

Sesquiterpene aus Lebermoosen

Isolierung und Identifizierung neuer Verbindungen und Untersuchung der Biosynthese der Gymnomitrane

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Ute Warmers
aus Hamburg

Hamburg 1999

Sesquiterpene aus Lebermoosen
Isolierung und Identifizierung neuer Verbindungen
und
Untersuchung der Biosynthese der Gymnomitrane

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Ute Warmers
aus Hamburg

Hamburg 1999

1. Gutachter: Prof. Dr. W. A. König, Universität Hamburg
2. Gutachter: Prof. Dr. W. Francke, Universität Hamburg
3. Gutachter: Prof. Dr. H. Becker, Universität des Saarlandes, Saarbrücken
4. Gutachter: Prof. Dr. A. Zeeck, Universität Göttingen

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 20.12.1999

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom März 1997 bis zum November 1999 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. W. A. König am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg und in den Arbeitskreisen von Frau Prof. Dr. E. Pratje und Herrn Prof. Dr. H.-P. Mühlbach am Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. W. A. König danke ich für die interessante Themenstellung und sein stetes Interesse am Verlauf der Arbeit, sowie für die Möglichkeit zur Tagungsteilnahme und zum Besuch bei Herrn Prof. Dr. H. Becker in Saarbrücken, Frau Prof. Dr. I. Capesius in Heidelberg und Frau Prof. Dr. C.-L. Wu in Tamsui, Taiwan.

Für meine Eltern

Inhalt

1. Einleitung	1
2. Aufgabenstellung	3
3. Allgemeiner Teil	4
3.1. Moose	4
3.2. Pflanzenkulturen	6
3.3. Inhaltsstoffe der Moose	7
3.4. Terpene und Terpenoide – Isoprenoide	8
3.5. Biosynthese der Isoprenoide	10
3.5.1. Untersuchungsmethoden zur Aufklärung der Biosynthese der Isoprenoide	10
3.5.2. Biosynthese der Isoprenoide ausgehend von Isopentenylidiphosphat	11
3.5.3. Biosynthese von Isopentenylidiphosphat	12
3.5.4. Biosynthese der Sesquiterpene aus Farnesylidiphosphat	18
3.6. Biologische Bedeutung der Terpene	20
3.7. Gewinnung von ätherischen Ölen und Pflanzenextrakten	22
3.8. Auftrennung der ätherischen Öle und Extrakte in Einzelkomponenten	22
3.8.1. Chromatographie – Prinzip	23
3.8.2. Gaschromatographie (GC)	23
3.8.3. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	24
3.9. Strukturaufklärung	25
3.9.1. Kernresonanzspektroskopie (NMR)	26
3.9.2. Massenspektrometrie (MS)	28
3.9.3. Enantiomerenanalytik	28
4. Spezieller Teil	32
4.1. Analytischer Teil – Untersuchung der Inhaltsstoffe der ätherischen Öle und der Extrakte von Lebermoosen	32
4.1.1. <i>Calypogeia fissa</i> , <i>Calypogeia muelleriana</i> und <i>Calypogeia suecica</i>	34
4.1.1.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Calypogeia suecica</i>	35
- (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid	38
4.1.1.2. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls und des Extrakts von <i>Calypogeia muelleriana</i>	45
- (+)-4,5-Dehydroviridiflorol	50

4.1.1.3. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Calypogeia fissa</i>	52
- (+)-10 β (H)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol	55
- Dehydratisierung von (+)-10 β (H)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol zu (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien	56
- Umlagerung von (+)-10 β (H)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol zu (+)- <i>cis</i> -Cadina-4,6-dien-11-ol, (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien, (+)- <i>cis</i> -Calamenen und (-)- <i>trans</i> -Calamenen	57
- Bestimmung der absoluten Konfiguration von (+)-10 β (H)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol, (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien und (+)- <i>cis</i> -Cadina-4,6-dien-11-ol	59
- (-)- α -Alasken-6 β -ol	61
- Dehydratisierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol zu 5,6-Dehydro- α -alasken	62
- (-)- α -Alasken-8-on	63
- Reduktion von (-)- α -Alasken-8-on zu α -Alasken-8 α -ol und α -Alasken-8 β -ol und Dehydratisierung der Alkohole zu 7,8-Dehydro- α -acoradien	64
- Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)- α -Alasken-6 β -ol, 5,6-Dehydro- α -alasken, (-)- α -Alasken-8-on, α -Alasken-8 α -ol, α -Alasken-8 β -ol und 7,8-Dehydro- α -acoradien	65
4.1.1.4. Vergleich der Inhaltsstoffe der ätherischen Öle von <i>Calypogeia fissa</i> , <i>Calypogeia muelleriana</i> und <i>Calypogeia suecica</i>	66
4.1.2. <i>Bazzania trilobata</i>	67
4.1.2.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls und des Extrakts von <i>Bazzania trilobata</i>	68
- (-)- <i>cis</i> -Cadina-1(6),4-dien	74
- (+)- <i>trans</i> -Dauca-4(11),8-dien	75
- Viridiflorol und Ledol	79
4.1.3. <i>Tritomaria quinquedentata</i>	81
4.1.3.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Tritomaria quinquedentata</i>	82
- (-)-7- <i>epi</i> -Isojunenol	85
- (+)-7- <i>epi</i> -Junenol	87
- Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-7- <i>epi</i> -Isojunenol und (+)-7- <i>epi</i> -Junenol	87
4.1.4. <i>Reboulia hemisphaerica</i>	88
4.1.4.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls und des Extrakts von <i>Reboulia hemisphaerica</i>	89
- (-)-Gymnomitra-3(15),4-dien	92
4.1.5. <i>Gymnomitrion obtusum</i>	94
4.1.5.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Gymnomitrion obtusum</i>	95
- Gymnomitron	96
- Dehydratisierung und Umlagerung von Gymnomitrol und Isogymnomitrol – Synthese des neuen Sesquiterpen-Grundgerüsts der Isohirsutane	97

- Isohirsuta-1(6),3(15)-dien	98
- Isohirsuta-3(15),6(14)-dien	99
- Isohirsuta-1(6),3-dien	100
- Isohirsuta-3,6(14)-dien	100
- Umlagerung von Isohirsuta-3(15),6(14)-dien	100
4.2. Biochemischer Teil – Untersuchung der Biosynthese der Gymnomitrane	101
4.2.1. Pflanzenkulturen	102
4.2.2. Zusatz von Jasmonsäure zum Nährmedium der Lebermoose	102
4.2.3. Markierungsexperimente der Gymnomitrane aus <i>Reboulia hemisphaerica</i> und <i>Bazzania trilobata</i>	103
4.3. Chemischer Teil – Synthese von Jasmonsäure und Mevalolacton	112
4.3.1. Darstellung von Jasmonsäure	112
4.3.2. Darstellung von isotopenmarkierten Mevalolactonen	112
- Darstellung von 4,4-D ₂ -Mevalolacton	112
- Darstellung von 2,2-D ₂ -Mevalolacton	113
5. Zusammenfassung	115
6. Summary	119
7. Experimenteller Teil	123
7.1. Geräte und Chemikalien	123
- NMR-Spektroskopie	123
- Massenspektrometrie	123
- Polarimetrie	123
- Verwendete Chemikalien	124
- Absolutierung von Lösungsmitteln	124
7.2. Analytischer Teil	124
7.2.1. Trennmethoden	124
- Gaschromatographie	124
- Präparative Gaschromatographie	125
- Präparative HPLC	125
7.2.2. Herstellung der ätherischen Öle und Pflanzenextrakte	126
- Wasserdampfdestillation	126
- Extraktion	126
7.2.3. Derivatisierungsreaktionen	126
- Dehydratisierung von Alkoholen	126
- Hydrierung von ungesättigten Verbindungen	126
- Säure-katalysierte Umlagerung von ungesättigten Verbindungen	126
- Reduktion von Ketonen zu Alkoholen	127

7.2.4. <i>Calypogeia suecica</i>	127
- Pflanzenmaterial	127
- Herstellung des ätherischen Öls von <i>Calypogeia suecica</i>	127
- Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Calypogeia suecica</i>	127
- (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid	127
- Hydrierung von (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid und (-)- β -Curcumen	128
7.2.5. <i>Calypogeia muelleriana</i>	128
- Pflanzenmaterial	128
- Herstellung des ätherischen Öls und des Extrakts von <i>Calypogeia muelleriana</i>	128
- Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Calypogeia muelleriana</i>	128
- (+)-4,5-Dehydroviridiflorol	129
- Hydrierung von (+)-4,5-Dehydroviridiflorol und (-)-Leden	129
7.2.6. <i>Calypogeia fissa</i>	129
- Pflanzenmaterial	129
- Herstellung des ätherischen Öls von <i>Calypogeia fissa</i>	130
- Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Calypogeia fissa</i>	130
- (+)-10 β (<i>H</i>)-Muurola-3,7(11)-dien-1-ol	130
- Dehydratisierung von (+)-10 β (<i>H</i>)-Muurola-3,7(11)-dien-1-ol zu (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien	130
- Säure-katalysierte Umlagerung von (+)-10 β (<i>H</i>)-Muurola-3,7(11)-dien-1-ol zu (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien, (+)- <i>cis</i> -Cadina-4,6-dien-11-ol, (+)- <i>cis</i> -Calamenen und (-)- <i>trans</i> -Calamenen	131
- Hydrierung von (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien und (+)- δ -Cadinen	132
- (-)- α -Alasken-6 β -ol	132
- (-)- α -Alasken	133
- Dehydratisierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol zu 5,6-Dehydro- α -alasken	133
- (-)- α -Alasken-8-on	133
- Reduktion von (-)- α -Alasken-8-on zu α -Alasken-8 α -ol und α -Alasken-8 β -ol	134
- Dehydratisierung von α -Alasken-8 α -ol und α -Alasken-8 β -ol zu 7,8-Dehydro- α -acoradien	134
- Hydrierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol, 7,8-Dehydro- α -acoradien und (-)- α -Alasken	135

7.2.7. <i>Bazzania trilobata</i>	135
- Pflanzenmaterial	135
- Herstellung des ätherischen Öls und des Extrakts von <i>Bazzania trilobata</i>	135
- Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Bazzania trilobata</i>	135
- (-)- <i>cis</i> -Cadina-1(6),4-dien	136
- Oxidation von (-)- <i>cis</i> -Cadina-1(6),4-dien zu (+)- <i>cis</i> -Calamenen	136
- (+)- <i>trans</i> -Dauca-4(11),8-dien	136
- Säure-katalysierte Umlagerung von (+)- <i>trans</i> -Dauca-4(11),8-dien	137
- Hydrierung von (+)- <i>trans</i> -Dauca-4(11),8-dien und (+)-Daucen	137
- Viridiflorol	138
- Ledol	138
7.2.8. <i>Tritomaria quinquedentata</i>	139
- Pflanzenmaterial	139
- Herstellung des ätherischen Öls von <i>Tritomaria quinquedentata</i>	139
- Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Tritomaria quinquedentata</i>	139
- (-)-7- <i>epi</i> -Isojunenol	139
- Dehydratisierung von (-)-7- <i>epi</i> -Isojunenol	139
- (+)-7- <i>epi</i> -Junenol	140
- Dehydratisierung von (+)-7- <i>epi</i> -Junenol	141
- Hydrierung von (-)- <i>trans</i> -Eudesma-3,5-dien, <i>trans</i> -Eudesma- 4(15),6-dien, <i>trans</i> -Eudesma-4(15),7-dien und (+)- δ -Selinen	141
7.2.9. <i>Reboulia hemisphaerica</i>	142
- Pflanzenmaterial	142
- Herstellung des ätherischen Öls und des Extrakts von <i>Reboulia hemisphaerica</i>	142
- Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Reboulia hemisphaerica</i>	142
- (-)-Gymnomitra-3(15),4-dien	142
- Dehydratisierung von (+)-Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol	142
- Hydrierung von (-)-Gymnomitra-3(15),4-dien und (-)- β -Barbaten	143
7.2.10. <i>Gymnomitrion obtusum</i>	143
- Pflanzenmaterial	143
- Herstellung des ätherischen Öls von <i>Gymnomitrion obtusum</i>	143
- Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von <i>Gymnomitrion obtusum</i>	143
- Gymnomitron	143
- Reduktion von Gymnomitron zu (+)-Gymnomitrol	144
- Dehydratisierung und Umlagerung von Gymnomitrol zu Isohirsuta-1(6),3(15)-dien und Isohirsuta-3(15),6(14)-dien	144
- Dehydratisierung und Umlagerung von Isogymnomitrol zu Isohirsuta-1(6),3-dien und Isohirsuta-3,6(14)-dien	145
- Säure-katalysierte Umlagerung von Isohirsuta-3(15),6(14)-dien zu Isohirsuta-3,6(14)-dien	146

7.3. Biochemischer Teil	146
7.3.1. Pflanzenkulturen	146
- Anlage von Pflanzenkulturen von <i>Reboulia hemisphaerica</i> und <i>Bazzania trilobata</i>	146
- Nährmedien für Pflanzenkulturen	147
- Kultur von <i>Reboulia hemisphaerica</i>	147
- Kultur von <i>Bazzania trilobata</i>	148
- Kultur von <i>Lophocolea heterophylla</i>	148
- Kultur von <i>Ricciocarpos natans</i>	148
- Kulturbedingungen	148
7.3.2. Zugabe von Jasmonsäure zum Nährmedium der Pflanzen	148
7.3.3. Markierungsexperimente mit markierter Glucose und markiertem Mevalolacton bei Gymnomitranen aus <i>Reboulia hemisphaerica</i> und <i>Bazzania trilobata</i>	149
- Markierungsexperimente mit <i>Reboulia hemisphaerica</i>	149
- Markierungsexperimente mit <i>Bazzania trilobata</i>	149
- Herstellung der ätherischen Öle von <i>Reboulia hemisphaerica</i> und <i>Bazzania trilobata</i>	149
- Isolierung der Inhaltsstoffe der ätherischen Öle von <i>Reboulia hemisphaerica</i> und <i>Bazzania trilobata</i>	149
- β -Barbaten	149
- Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol	150
- Gymnomitran-4-on	150
- Durch 1- ¹³ C-Glucose markiertes β -Barbaten aus <i>R. hemisphaerica</i>	151
- Durch 1- ¹³ C-Glucose markiertes Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol aus <i>R. hemisphaerica</i>	151
- Durch 1- ¹³ C-Glucose markiertes Gymnomitran-4-on aus <i>R. hemisphaerica</i>	151
- Durch 2- ¹³ C-Glucose markiertes β -Barbaten aus <i>R. hemisphaerica</i>	151
- Durch 2- ¹³ C-Glucose markiertes Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol aus <i>R. hemisphaerica</i>	152
- Durch 2- ¹³ C-Glucose markiertes Gymnomitran-4-on aus <i>R. hemisphaerica</i>	152
- Durch 6,6-D ₂ -Glucose markiertes Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol aus <i>R. hemisphaerica</i>	152
- Durch 4,4-D ₂ -Mevalolacton markiertes β -Barbaten aus <i>B. trilobata</i>	152

7.4. Chemischer Teil	152
7.4.1. Darstellung von Jasmonsäure	152
7.4.2. Darstellung von 4,4-D ₂ -Mevalolacton – Probesynthese mit unmarkierten Ausgangsverbindungen	153
- Darstellung von <i>n</i> -Butylacetat	153
- Darstellung von Ethyl-(3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat	154
- Darstellung von 3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol	154
- Darstellung von 3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol-1-acetat	155
- Darstellung von Mevalolacton	155
7.4.3. Darstellung von 4,4-D ₂ -Mevalolacton – Synthese mit markierten Ausgangsverbindungen	156
- Darstellung von D ₃ - <i>n</i> -Butylacetat	156
- Darstellung von <i>n</i> -Butyl-(2,2-D ₂ -3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat	157
- Darstellung von 2,2-D ₂ -3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol	158
- Darstellung von 2,2-D ₂ -3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol-1-acetat	158
- Darstellung von 4,4-D ₂ -Mevalolacton	159
7.4.4. Darstellung von 2,2-D ₂ -Mevalolacton – Probesynthese mit unmarkierten Ausgangsverbindungen	160
- Darstellung von 3-Hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxypentan-1-carbonsäure-Bariumsalz	160
- Darstellung von Mevalolacton	160
7.4.5. Darstellung von 2,2-D ₂ -Mevalolacton – Synthese mit markierten Ausgangsverbindungen	161
- Darstellung von 2,2-D ₂ -3-Hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxypentan-1-carbonsäure-Bariumsalz	161
- Darstellung von 2,2-D ₂ -Mevalolacton	161
7.5. Gefahrstoffanhang	163
8. Spektrenanhang	164
9. Literatur	179
10. Publikationen	191
- Veröffentlichungen	191
- Poster	192
- Vorträge	192

Abkürzungen

α	Drehwert
$[\alpha]$	spezifischer Drehwert
Abb.	Abbildung
Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
Acetoacetyl-CoA	Acetoactetyl-Coenzym A
Ac ₂ O	Acetanhydrid
äq.	Äquivalente
<i>b</i>	breit
Ba ⁺⁺	Bariumion
Ba(OH) ₂	Bariumhydroxid
bar	Bar
BB	Breitbandentkopplung (broad band decoupling)
<i>B. trilobata</i>	<i>Bazzania trilobata</i>
C	Celsius, Kohlenstoffatom
<i>c</i>	Konzentration
CD	Cyclodextrin
C ₆ D ₆	Hexadeuterobenzol
CDCl ₃	Deuteriochloroform
CD ₃ OD	Tetradeuteromethanol
<i>C. fissa</i>	<i>Calypogeia fissa</i>
CH	Methingruppe
CH ₂	Methylengruppe
CH ₃	Methylgruppe
C ₆ H ₆	Benzol
CHCl ₃	Chloroform
cm	Zentimeter
<i>C. muelleriana</i>	<i>Calypogeia muelleriana</i>
¹³ C-NMR	Kohlenstoff-13-Kernresonanzspektroskopie
COSY-GS	Correlated spectroscopy with gradient selection
CpSil 5	Gaschromatographie-Phase aus Polymethylsiloxan
CpSil 19	Gaschromatographie-Phase aus Polymethylsiloxan mit 7% Phenyl-, 7% Cyanopropyl- und 86% Methylsubstituenten
<i>C. suecica</i>	<i>Calypogeia suecica</i>
<i>C. trichomanis (azurea)</i>	<i>Calypogeia trichomanis (azurea)</i>
D	Deuteriumatom
<i>d</i>	Dublett
δ	chemische Verschiebung
D ₃ CCOCD ₃	Hexadeuteroaceton
DEPT	Distortionless enhancement by polarisation transfer
dm	Dezimeter
DMADP	Dimethylallyldiphosphat
² D-NMR	Deuteriumkernresonanzspektroskopie
DOPA	3,4-Dihydroxyphenylalanin
DOXP	1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat
EI	Elektronenstoßionisation
eV	Elektronenvolt
FDP	Farnesyldiphosphat
Fig.	Figure

g	Gramm
GAP	Glycerinaldehyd-3-phosphat
GC	Gaschromatographie
GDP	Geranyldiphosphat
GGDP	Geranylgeranyldiphosphat
<i>G. obtusum</i>	<i>Gymnomitrion obtusum</i>
H	Wasserstoffatom
H ₂	Wasserstoffmolekül
H ⁺	Proton
HCl	Salzsäure
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym A
HMQC	Heteronuclear multiple quantum correlation
¹ H-NMR	Protonenresonanzspektroskopie
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
Hz	Hertz
IDP	Isopentenylidiphosphat
<i>J</i>	Kopplungskonstante
l	Länge, Liter
λ	Wellenlänge
LDA	Lithiumdiisopropylamin
<i>L. heterophylla</i>	<i>Lophocolea heterophylla</i>
Li	Lithium
LiAlH ₄	Lithiumaluminiumhydrid
M	molar
m	Meter
<i>m</i>	Multipllett
[M ⁺]	Molekülion
max	maximal
Me	Methylgruppe
2,6-Me-3-Pe-β-CD	Heptakis(2,6-di- <i>O</i> -methyl-3- <i>O</i> -pentyl)-β-cyclodextrin
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
μm	Mikrometer
μmol	Mikromol
mol	Mol
MS	Massenspektrometrie
MVA	Mevalonsäure (mevalonic acid)
<i>m/z</i>	Masse pro Ladung
N	normal, Stickstoffatom
<i>n</i>	normal
NaBH ₄	Natriumborhydrid
NDP	Nerolidyldiphosphat
NMR	Kernresonanzspektroskopie (nuclear magnetic resonance)
NOESY	Nuclear Overhauser effect spectroscopy
NP	Normalphasenchromatographie (normal phase)

O	Sauerstoff
ODS	Octadecylsilan
OH	Hydroxygruppe
OH ⁻	Hydroxidion
OPP	Diphosphatrest
OV 1701	Gaschromatographie-Phase aus Polymethylsiloxan mit 5% Phenyl-, 7% Cyanopropyl- und 88% Methylsubstituenten
Ox.	Oxidation
P	optische Reinheit, Phosphoratom
<i>p</i>	<i>para</i>
p.a.	per analysis
Pe	Pentylgruppe
pH	Stärke des Wasserstoffs (potentia hydrogenii)
ppm	parts per million
<i>q</i>	Quartett
<i>quin</i>	Quintett
R	Rest
Red.	Reduktion
rel. Int.	relative Intensität der Signale im ¹³ C-NMR-Spektrum von ¹³ C-markierten Verbindungen bezüglich der entsprechenden Signale im ¹³ C-NMR-Spektrum der unmarkierten Verbindungen
<i>R. hemisphaerica</i>	<i>Reboulia hemisphaerica</i>
<i>R. natans</i>	<i>Ricciocarpos natans</i>
RP	Umkehrphasenchromatographie (reversed phase)
RP 18	HPLC-Phase aus Silicagel mit Octadecylgruppen
S	Schwefelatom
<i>s</i>	Singulett
SE 30	Gaschromatographie-Phase aus Polymethylsiloxan
SE 52	Gaschromatographie-Phase aus Polymethylsiloxan mit 5% Phenyl- und 95% Methylsubstituenten
<i>sept</i>	Septett
<i>sext</i>	Sextett
SOCl ₂	Thionylchlorid
T	Temperatur, <i>tert</i> -Butyldimethylsilylgruppe
<i>t</i>	Triplett
<i>tert</i>	tertiär
6-T-2,3-Me-β-CD	Heptakis(6- <i>O-tert</i> -butyldimethylsilyl-2,3-di- <i>O</i> -methyl)-β-cyclodextrin
<i>T. quinquedentata</i>	<i>Tritomaria quinquedentata</i>
Ts	Tosylatrest
Tx	<i>tert</i> -Hexyldimethylsilylgruppe
6-Tx-2,3-Me-β-CD	Heptakis(6- <i>O-tert</i> -hexyldimethylsilyl-2,3-di- <i>O</i> -methyl)-β-cyclodextrin
w/w	Gewichtsverhältnis

1. Einleitung

Ätherische Öle und Pflanzenextrakte sind flüchtige, lipophile, teils stark riechende Stoffgemische pflanzlichen Ursprungs [1].

Geringe Mengen lipophiler Inhaltsstoffe dürften in allen Pflanzen enthalten sein; größere Mengen treten in einigen ölführenden Arten auf, die 30% aller Pflanzen ausmachen. Zu den ölführenden Arten gehören Pflanzen aus den Abteilungen und Familien der Doldengewächse (*Apiaceae*, *Umbelliferae*), Kohlgewächse (*Brassicaceae*), Lippenblütler (*Lamiaceae*, *Labiatae*), Lorbeergewächse (*Lauraceae*), Myrtengewächse (*Myrtaceae*), Kieferngewächse (*Pinaceae*), Pfeffergewächse (*Piperaceae*), Rautengewächse (*Rutaceae*), Ingwergewächse (*Zingiberaceae*), Lebermoose (*Hepaticae*), Flechten (*Lichenes*) und Farne (*Pteridophyta*) [1,2]. Diese Pflanzen zeichnen sich durch Öldrüsen oder Ölkörperchen aus, in denen die lipophilen Pflanzeninhaltsstoffe enthalten sind. Die lipophilen Pflanzeninhaltsstoffe kommen in verschiedenen Pflanzenteilen vor: besonders in Blättern, Blüten, Früchten, Wurzeln, Rhizomen und Hölzern, weniger in Stengeln und Rinden [2]. Bei einigen Pflanzenarten sind sie streng auf bestimmte Pflanzenteile beschränkt, wie bei den Rosen auf die Blüten, bei der Pfefferminze auf die Stengel und Blätter, beim Zimtbaum auf die Blätter und die Rinde.

Durch Wasserdampfdestillation des Pflanzenmaterials oder durch Auspressen der Schalen einiger Zitrusarten können die lipophilen Pflanzeninhaltsstoffe als ätherisches Öl oder durch Extraktion des Pflanzenmaterials als Extrakt gewonnen werden [1]. Hauptbestandteile der ätherischen Öle und Extrakte sind Sekundärmetabolite, wie die niederen Terpene – die Mono- und Sesquiterpene – sowie die Phenylpropane [1].

Die lipophilen, leicht flüchtigen Pflanzeninhaltsstoffe finden seit dem Altertum als Duft-, Aroma- und Arzneistoffe Verwendung [3,4].

Zunächst wurden sie hauptsächlich für rituelle Zwecke als Opfertgabe für die Götter verwendet. Beim Rauchopfer wurden Harze, Hölzer, Rinden und andere aromatische Pflanzenteile verbrannt. Vor 5000 Jahren opferten die Assyrer ihrem Sonnengott Weihrauch und zur Zeit der Pharaone bereiteten die Ägypter ihre Rauchopfer aus Myrrhe-, Weihrauch- und Opoponax-Harz, sowie Zimtrinde. Seit 3200 v.Chr. ist das Zedernholzöl bekannt und wurde im Totenkult der Ägypter zur Einbalsamierung verwendet. Sandelholzöl wird seit 4000 Jahren als Duftstoff genutzt und galt in verschiedenen Kulturkreisen als wertvolles Gastgeschenk.

Die Griechen und Römer setzten die Duftstoffe nicht mehr hauptsächlich für rituelle Zwecke ein, sondern sie dienten ihnen auch als Luxusgüter – als Parfüm. Rose, Veilchen und Lilie waren in Griechenland die bevorzugten Duftnoten, während im Römischen Reich Safran dominierte. Zu den klassischen Düften zählten ebenfalls Narzisse, Iris, Kalmus, Zimt, Costus, Vetiver, Quitte, Thymian und Majoran. Die Griechen setzten Parfüms wohldosiert ein, die Römer hingegen waren für ihren verschwenderischen Umgang mit den Duftstoffen bekannt. Auch die heilende Wirkung einiger pflanzlicher Öle wurde bereits genutzt.

Im 10. Jahrhundert n.Chr. nahm der Einsatz von pflanzlichen Ölen als Parfüm einen enormen Aufschwung. Die größte Nachfrage kam aus Frankreich, Griechenland und Italien. Die Herstellung erfolgte in Arabien, wo durch Mischen verschiedener pflanzlicher Öle ständig neue Parfüms kreiert wurden. Am häufigsten wurden Rosenöl und Rosenwasser verwendet.

Heute sind die ätherische Öle und Pflanzenextrakte weiterhin für die Parfümindustrie von Bedeutung; sie dienen aber auch in der Lebensmitteltechnologie zur Aromatisierung von Nahrungsmitteln und Spirituosen und werden als Arzneimittel und Pharmazeutika eingesetzt [1,2,4,5]. Dabei werden zur Gewinnung interessanter Pflanzeninhaltsstoffe auch Pflanzenkulturen eingesetzt.

Aufgrund der Bedeutung der ätherischen Öle und Pflanzenextrakte ist eine genauere Untersuchung wünschenswert [4]. Die Analyse der pflanzlichen Öle begann erst im letzten Jahrhundert. Zunächst wurden die kristallisierbaren Bestandteile isoliert und charakterisiert. Mit fortschreitender Entwicklung der Destillationstechnik unter Vakuum ließen sich bald auch flüssige Verbindungen gewinnen. Einen großen Fortschritt brachte die Gaschromatographie in den 50er Jahren und anschließend die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, die die Auftrennung der ätherischen Öle und Extrakte in ihre Bestandteile ermöglichten. Die Entwicklung der Analysemethoden, wie Kernresonanzspektroskopie und Massenspektrometrie, hat die Aufklärung der Pflanzeninhaltsstoffe wesentlich erleichtert.

Neben der Strukturaufklärung ist auch die Aufklärung der Biosynthese der Naturstoffe von Interesse, zum einen um grundlegende Erkenntnisse über die Bildung dieser Stoffe zu gewinnen, zum anderen um dann gezielt in die Biosynthese eingreifen zu können. Auf diese Weise läßt sich die Produktion bestimmter Stoffe verstärken oder unterbinden.

2. Aufgabenstellung

Im Rahmen dieser Arbeit sollten die ätherischen Öle oder Extrakte der Lebermoose *Calypogeia suecica*, *Calypogeia muelleriana*, *Calypogeia fissa*, *Bazzania trilobata*, *Tritomaria quinquedentata*, *Reboulia hemisphaerica* und *Gymnomitrium obtusum* untersucht werden. Sie waren bisher nur zum Teil analysiert worden. Die lipophilen Inhaltsstoffe der Lebermoose, die hauptsächlich aus Sesquiterpenen bestehen, sollten möglichst vollständig aufgeklärt werden, wobei die Suche nach neuen, bisher noch nicht bekannten Verbindungen im Vordergrund stehen sollte. Die ätherischen Öle oder Extrakte sollten durch GC-MS untersucht werden. Mit Hilfe einer umfangreichen Sammlung von GC-MS-Daten von Sesquiterpenen sollten bereits bekannte Verbindungen zugeordnet werden [6]. Die interessant erscheinenden Komponenten sollten durch chromatographische Methoden isoliert und durch NMR-Spektroskopie charakterisiert werden. Zum Beweis von Strukturvorschlägen sollten Derivatisierungsreaktionen durchgeführt werden. Mit Hilfe von Korrelationsreaktionen, polarimetrischen Messungen und enantioselektiver Gaschromatographie war die absolute Konfiguration der Verbindungen zu bestimmen.

Weiterhin sollte die Biosynthese der Gymnomitrane – einer Sesquiterpenklasse – in den Lebermoosen *Reboulia hemisphaerica* und *Bazzania trilobata* aufgeklärt werden. Bisher wurde die Biosynthese dieser Verbindungen noch nicht untersucht. Für die Biosynthese-Untersuchung wurde eine Pflanzenkultur benötigt, in deren Nährmedium die markierten biogenetischen Vorläufer der Sesquiterpene einzubringen waren. Die Pflanzenkulturen mußten angelegt und einige der markierten Vorläufer – 2,2-D₂- und 4,4-D₂-Mevalolacton – synthetisiert werden. In diesem Zusammenhang sollte auch der Einfluß des Pflanzenhormons Jasmonsäure auf die Sesquiterpenproduktion in Lebermoosen untersucht werden.

3. Allgemeiner Teil

3.1. Moose

Die Moose (*Bryophyta*) sind eine eigene Abteilung des Pflanzenreichs mit mehr als 15000 überwiegend landbewohnenden Arten [7-12]. Dies entspricht einem Anteil von etwa fünf Prozent der Pflanzenarten der Welt.

Die Moose sind niederwüchsige, wurzellose Pflanzen, die taxonomisch zwischen den Algen (*Algae*) und den Farnpflanzen (*Pteridophyta*) einzuordnen sind. Sie wachsen vorzugsweise an kühlen, feuchten, schattigen und bodensauren Orten und bilden meist dichte Polster. Aufgrund ihrer Fähigkeit beträchtliche Wassermengen zu speichern, spielen sie eine wichtige Rolle im Wasserhaushalt der Wälder.

Bezüglich ihrer Morphologie nehmen sie eine Mittelstellung zwischen den lappigen Lagerpflanzen (thallosen Pflanzen) und den beblätterten Sproßpflanzen (foliosen Pflanzen) ein. Sie werden in drei Klassen eingeteilt:

1. Klasse: Hornmoose (*Anthocerotae*),
2. Klasse: Lebermoose (*Hepaticae*),
3. Klasse: Laubmoose (*Musci* oder *Bryatae*).

Während die Hornmoose zu den thallosen Pflanzen und die Laubmoose zu den foliosen Pflanzen zählen, ist bei den Lebermoosen keine eindeutige Zuordnung möglich. Die Lebermoose werden in Unterklassen und Ordnungen gegliedert:

1. Unterklasse: *Marchantiidae*,
 1. Ordnung: *Sphaerocarpales*,
 2. Ordnung: *Marchantiales*,
2. Unterklasse: *Jungermanniiidae*,
 1. Ordnung: *Metzgeriales*,
 2. Ordnung: *Calobryales*,
 3. Ordnung: *Jungermanniales*.

Bei den Vertretern der *Marchantiidae* handelt es sich um thallose Pflanzen; die Vertreter der *Jungermanniiidae* gehören dagegen meist zu den foliosen Pflanzen (**Abb. 3-1**).

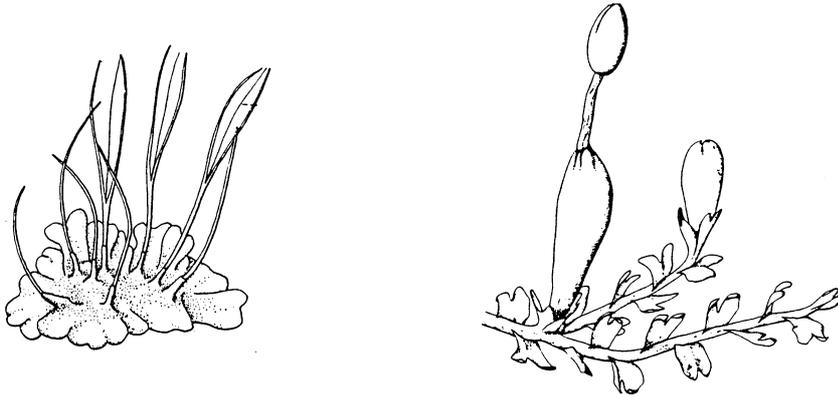


Abb. 3-1: Thalloses und folioses Moos

Die Lebermoose zeichnen sich gegenüber den Laub- und Hornmoosen durch das Vorhandensein von Ölkörperchen aus. Die Ölkörperchen sind tropfenförmige, von einer Membran umschlossene Gebilde im Cytoplasma, die in dieser Form bei keiner anderen Gruppe des Pflanzenreiches auftreten (**Abb. 3-2**).

In diesen Ölkörperchen werden die Pflanzenexkrete abgesondert, die als ätherisches Öl oder Extrakt gewonnen werden können. Die biologische Bedeutung der Speicherung von ätherischen Ölen in der Pflanze ist noch weitgehend ungeklärt [9]. In einigen Fällen konnte eine Schutzwirkung gegen Tierfraß und Pilzbefall festgestellt werden [13].

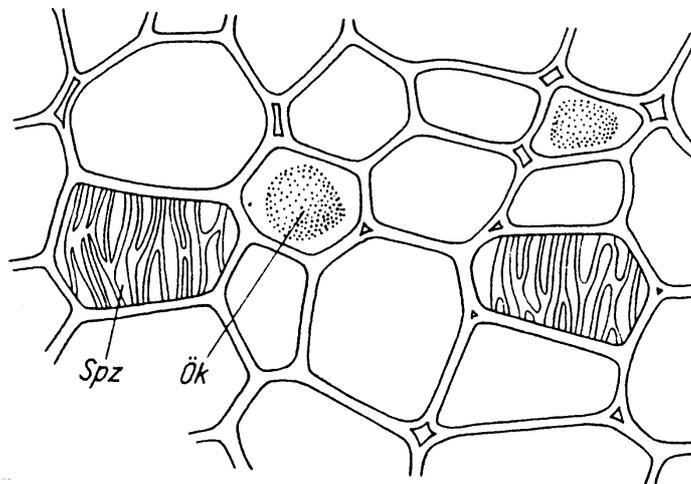


Abb. 3-2: Gewebestück aus der Thallusmitte eines Lebermooses;
Spz- Speicherezellen mit Wandverdickungen, Ök- Ölkörperchen

Die Bezeichnung der Lebermoose leitet sich von der Form der Thalli einiger Vertreter ab, die weitläufig an die lappige Gestalt einer Leber erinnert. Nach der mittelalterlichen Signaturlehre wurde davon ausgegangen, daß von der Form oder Farbe einer Pflanze auf deren pharmakologische Wirkung geschlossen werden könne. Daher wurde den Lebermoosen im Mittelalter Heilkraft bei Leberkrankheiten zugeschrieben [14].

3.2. Pflanzenkulturen

Es können Kulturen von ganzen Pflanzen, von Pflanzenteilen und von Pflanzenzellen angelegt werden [15-20]. Die Kultivierung der Pflanzen erfolgt unter geeigneten äußeren Bedingungen – wie Temperatur, Atmosphäre und Licht-Dunkel-Wechsel – auf einem Nährmedium, das der Pflanze die notwendigen Nährstoffe bereitstellt. Es kann zwischen Flüssig- und Festkulturen unterschieden werden. Bei den Festkulturen wird dem Nährmedium Agar zugesetzt und die Pflanze wird auf die Oberfläche des Nährmediums gesetzt. Bei den Flüssigkulturen schwimmt die Pflanze in dem Nährmedium; diese Kulturen werden auf Schüttlern gehalten, um eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Pflanzen zu gewährleisten. Für zahlreiche Pflanzen wurden geeignete Nährmedien entwickelt, die eine optimale Versorgung und damit ein optimales Wachstum der Pflanze sicherstellen. Die Nährmedien enthalten einige Makroelemente – wie Kalium-, Calcium-, Natrium-, Magnesium-, Ammonium-, Chlorid-, Sulfat-, Nitrat- und Phosphat-haltige Salze – , Spurenelemente – wie Eisen-, Zink-, Kupfer-, Mangan-, Molybdän-, Cobalt-, Aluminium-, Nickel-, Bor- und Iod-haltige Salze – und als Nährstoff häufig Zucker; es können ferner noch Vitamine und Wachstumshormone hinzugefügt werden [21].

Voraussetzung für die Anlage einer Pflanzenkultur ist Sterilität; die Kultur muß frei von Kontaminationen – wie Bakterien, Algen, Pilzen und anderen Verunreinigungen – sein, die eventuell besser als die gewählte Pflanze wachsen würden. Die Pflanzen werden durch Behandlung mit Natriumhypochlorit-Lösung sterilisiert, die Nährmedien durch Autoklavieren und die Geräte durch Hitze. Es wird unter einem sterilen Abzug gearbeitet.

Pflanzenkulturen können als ständig nachwachsende Quelle interessanter oder auch pharmakologisch bedeutsamer Verbindungen genutzt werden [22,23]. Die Produktion von Sekundärmetaboliten unterscheidet sich bei höheren Pflanzen aus dem Freiland und aus der Kultur, wobei die Biosynthese der Sekundärmetaboliten bei den kultivierten Pflanzen häufig reduziert ist [24]. Durch Veränderungen der Zusammensetzung des Nährmediums kann die Produktion der Sekundärmetaboliten beeinflusst werden. Bei den Lebermoosen zeigt sich eine Übereinstimmung der Inhaltsstoffe in den freiwachsenden und den kultivierten Pflanzen [25-38].

3.3. Inhaltsstoffe der Moose

Moose sind im Vergleich zu anderen Pflanzen bisher chemisch wenig untersucht. Lange Zeit wurde angenommen, daß die Moose arm an sekundären Inhaltsstoffen seien und daher auch nicht als Arzneipflanzen in Frage kämen. Untersuchungen der letzten 30 Jahre haben jedoch gezeigt, daß mit neuen biologisch aktiven Substanzen auch bei den Moosen zu rechnen ist [13,14].

Ein Problem bei der Untersuchung der Inhaltsstoffe ist die schwierige Beschaffung und die mühevollte Aufarbeitung größerer Mengen an Pflanzenmaterial. Moose wachsen häufig vergesellschaftet miteinander, so daß eine sorgfältige Sortierung erforderlich ist. Daher können meist nur wenige Milligramm an Reinsubstanzen gewonnen werden. Die Strukturaufklärung wurde erst durch die verbesserte Analytik ermöglicht.

Vor diesem Hintergrund nahm die chemische Untersuchung der Moose – insbesondere der Lebermoose – in den letzten Jahren einen unerwarteten Aufschwung. Bislang wurden jedoch erst ungefähr fünf Prozent der bekannten Arten auf ihre Inhaltsstoffe untersucht. Die Ergebnisse weisen auf eine Fülle an neuen und seltenen Naturstoffen – darunter auch solche mit bisher unbekanntem Grundgerüst – hin [26,39-43].

In den Moosen treten insbesondere eine Reihe von Sekundärmetaboliten auf. Zu den Inhaltsstoffen gehören Terpene, Steroide, Prenylchinone, Phenole, Alkaloide, Cyanglycoside, Tetrapyrrole, S-Acrylate, Azulane, Naphthalinderivate, Phenanthren-derivate, Cyclophane und Vitamine [13,14].

Die Terpene sind vor allem bei den Lebermoosen als wesentliche Inhaltsstoffe der Ölkörperchen zu finden. Sie werden mit dem ätherischen Öl oder dem Extrakt gewonnen. In den Lebermoosen kommen Mono-, Sesqui- und Diterpene vor, wobei sich insbesondere die Sesquiterpene durch eine große Strukturvielfalt auszeichnen. Viele der in Lebermoosen gefundenen chiralen Sesquiterpene sind Enantiomere der entsprechenden Verbindungen in höheren Pflanzen [44].

Der Sekundärmetabolismus der Lebermoose ist ebenso wie derjenige der höheren Pflanzen von verschiedenen Faktoren abhängig. Die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe kann je nach Jahreszeit, Entwicklungsstadium, Geschlecht und Standort des Moores differieren [45]. Außerdem wurde das Auftreten von Chemotypen beobachtet; d.h. bei einer Pflanzenart wurden Typen mit verschiedenen Inhaltsstoffen gefunden [46,47].

Die Untersuchung der Pflanzeninhaltsstoffe erleichtert die taxonomische Zuordnung einer Pflanzenart, die sich morphologisch nur wenig von verwandten Arten unterscheidet. Dies macht sich die Chemotaxonomie zunutze [26,39,40].

3.4. Terpene und Terpenoide - Isoprenoide

Bereits 1887 nahm *Wallach* den Aufbau der Terpene aus Isopreneinheiten an. *Ruzicka* formulierte 1922 die „Isopren-Regel“ und 1953 die „Biogenetische Isopren-Regel“. Danach werden die Terpene als Polyisoprene (Polyprene) aufgefaßt [2,48-52]. Es wird zwischen Hemiterpenen (C_5) aus einer, Monoterpenen (C_{10}) aus zwei, Sesquiterpenen (C_{15}) aus drei, Diterpenen (C_{20}) aus vier, Sesterterpenen (C_{25}) aus fünf, Triterpenen (C_{30}) aus sechs und hochmolekularen Polyprenen – wie Naturkautschuk und Guttapercha – aus unendlich vielen Isopreneinheiten unterschieden.

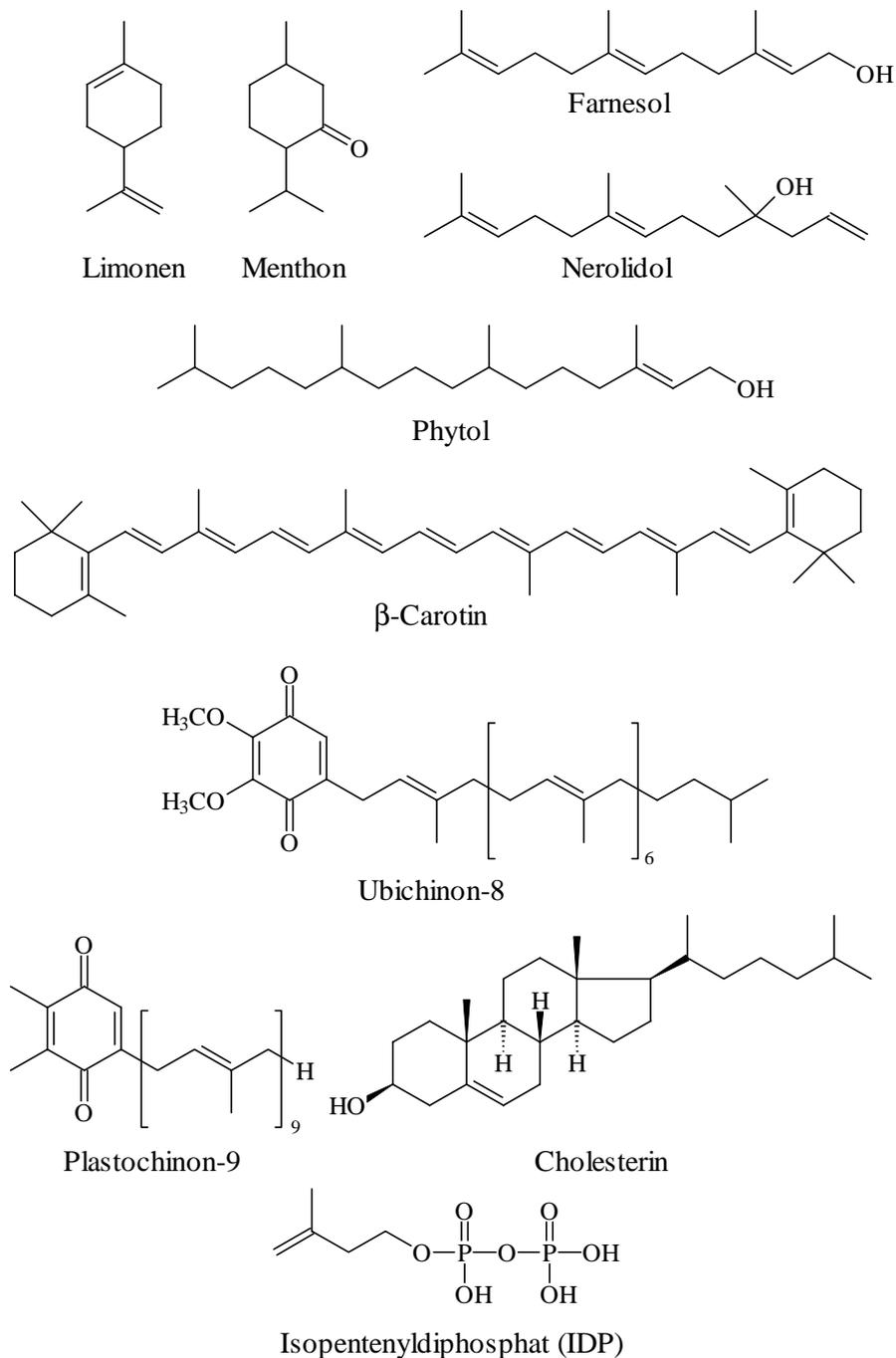


Abb. 3-3: Auswahl einiger Isoprenoide und ihr biogenetischer Vorläufer

Die Carotinoide und die Steroide werden zu den Terpenoiden gezählt, da sie sich von den Terpenen ableiten lassen. Die Ubichinone und die Plastochinone besitzen eine isoprenoide Seitenkette.

Gemeinsam ist diesen Verbindungen der biogenetische Vorläufer Isopentenyl-diphosphat (IDP), weshalb sie auch als Isoprenoide bezeichnet werden (**Abb. 3-3**).

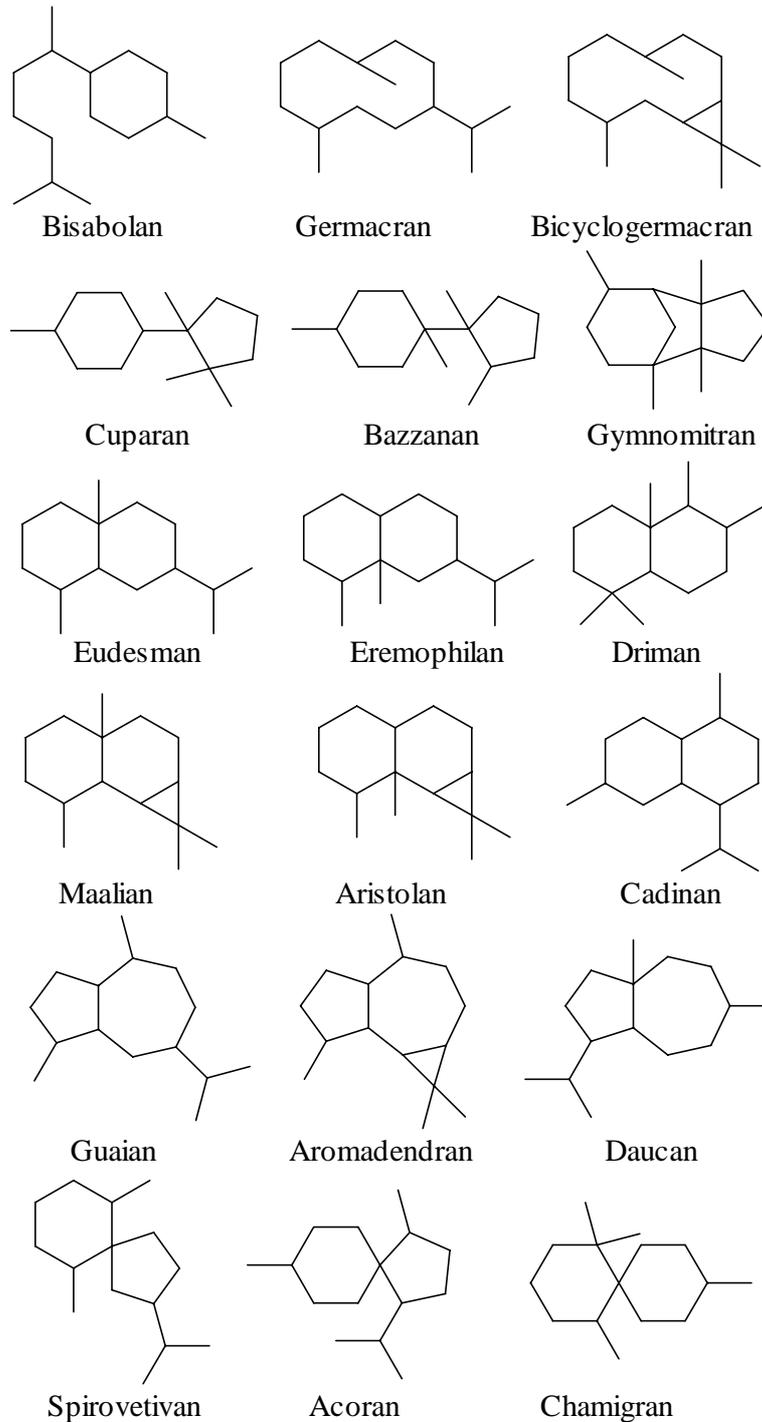


Abb. 3-4: Auswahl einiger Sesquiterpen-Grundgerüste

Die Terpene bilden mit 30000 Verbindungen die größte Klasse der Sekundärmetabolite, wobei der größte Teil mit mehreren Tausend Vertretern zu den Sesquiterpenen zählt. Das Grundgerüst der Sesquiterpene kann acyclisch oder mono-, bi-, tri- und tetracyclisch aufgebaut sein (**Abb. 3-4**) [53,54]. Es sind über 300 verschiedene Grundgerüste bekannt. Die Sesquiterpene können funktionelle Gruppen – wie Hydroxy-, Carbonyl- und Carboxygruppen – und zusätzlich Furan-, Lacton- und drei- bis siebengliedrige Ether-Ringe enthalten. Aus Algen wurden auch chlor- und bromsubstituierte Sesquiterpene sowie stickstoffhaltige Verbindungen isoliert. Bei den Norsesquiterpenen fehlen eine oder mehrere Methylgruppen.

Die niederen Terpene – insbesondere die Sesquiterpene – sind in zahlreichen ätherischen Ölen und Extrakten enthalten. Sie kommen vor allem in höheren Pflanzen, aber auch in Farnen, Flechten, Lebermoosen, Pilzen und marinen Organismen vor. Die leicht flüchtigen Verbindungen sind für den charakteristischen Geruch der Öle verantwortlich. Verbindungen mit einem polaren Molekülteil – wie Carbonyl-, Ester-, Hydroxy- und Alkoxyreste – zeigen besondere sensorische Aktivität. Die Untersuchung dieser Verbindungen ist für die Duftstoffindustrie von Bedeutung.

3.5. Biosynthese der Isoprenoide

Ein wichtiger Aspekt der Terpen- und Isoprenoidforschung ist die Aufklärung der Biosynthese dieser Verbindungen.

3.5.1. Untersuchungsmethoden zur Aufklärung der Biosynthese der Isoprenoide

Für Biosyntheseuntersuchungen ist eine Kultivierung der vollständigen Organismen oder einzelner Zellen auf einem Nährmedium erforderlich. Dem Nährmedium werden isotopenmarkierte Vorläuferverbindungen der Isoprenoide zugesetzt, die von dem Organismus aufgenommen und in seinen Stoffwechsel einbezogen werden. Die isotopenmarkierten, von dem Organismus synthetisierten Isoprenoide werden isoliert und die Positionen der Markierungen in den Verbindungen ermittelt [17,31,55-60]. Bei radioaktiv markierten Verbindungen werden geeignete Abbaureaktionen durchgeführt und bei mit stabilen Isotopen markierten Verbindungen erfolgt eine Charakterisierung durch NMR-Spektroskopie, um die markierten Positionen im Molekül zu bestimmen.

3.5.2. Biosynthese der Isoprenoide ausgehend von Isopentenylidiphosphat

Der gemeinsame biogenetische Vorläufer der Isoprenoide ist Isopentenylidiphosphat (IDP) (**Abb. 3-5**) [61,62]. Isopentenylidiphosphat (IDP) kann zu Dimethylallyldiphosphat (DMADP) isomerisieren.

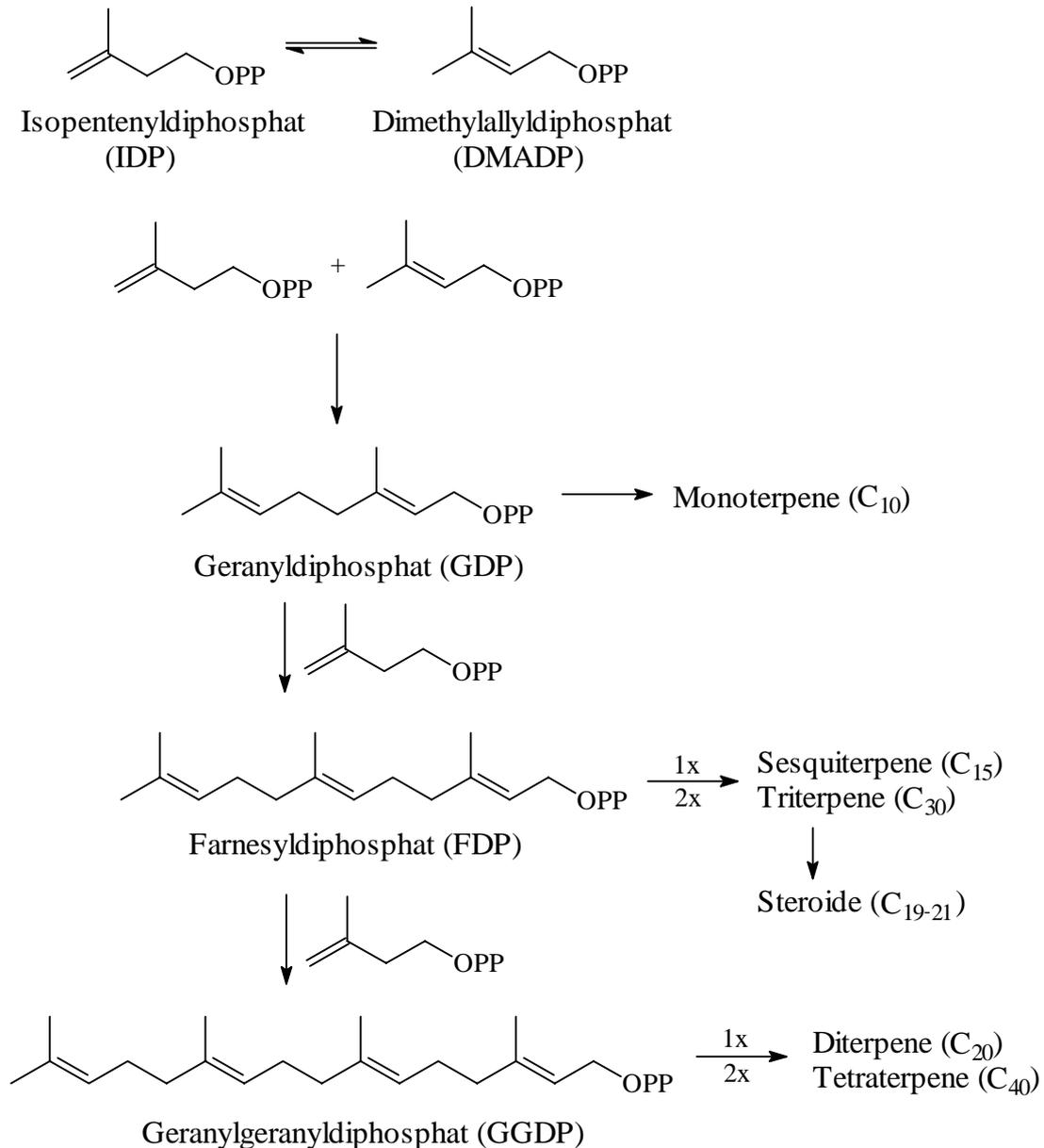


Abb. 3-5: Biosynthese der Isoprenoide ausgehend von Isopentenylidiphosphat (IDP)

Kopf-Schwanz-Verknüpfung beider Verbindungen führt zu Geranyldiphosphat (GDP), dem Vorläufer der Monoterpene. Anlagerung von Isopentenylidiphosphat an Geranyldiphosphat unter Kopf-Schwanz-Verknüpfung liefert Farnesyldiphosphat (FDP), den Vorläufer der Sesquiterpene. Dimerisierung von Farnesyldiphosphat unter Kopf-Kopf-Verknüpfung führt zu dem Vorläufer der Triterpene, von denen sich auch die Steroide ableiten lassen. Anlagerung von Isopentenylidiphosphat an Farnesyldiphosphat unter Kopf-Schwanz-Verknüpfung hingegen liefert Geranylgeranyldiphosphat (GGDP), den Vorläufer der Diterpene. Durch Dimerisierung von Geranylgeranyldiphosphat unter Kopf-Kopf-Verknüpfung entsteht der Vorläufer der Tetraterpene, zu denen auch die Carotinoide zählen.

3.5.3. Biosynthese von Isopentenylidiphosphat

Die Biosynthese von Isopentenylidiphosphat (IDP) erfolgt auf zwei verschiedenen Wegen: dem klassischen Acetat-Mevalonat-Weg oder dem erst kürzlich entdeckten Triose-Pyruvat-Weg.

Bereits seit 1958 schien die Biosynthese der Isoprenoide durch Markierungsversuche mit Acetat und Mevalolacton grundsätzlich geklärt zu sein. Aufgrund der Ergebnisse dieser Markierungsexperimente wurde der Acetat-Mevalonat-Weg aufgestellt (**Abb. 3-6**) [63-71]. Ausgangsverbindung ist Acetyl-Coenzym A. Aus drei Molekülen Acetyl-CoA wird über Acetoacetyl-CoA 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) gebildet. Eine zweistufige Reduktion liefert Mevalonsäure (MVA). Phosphorylierung, Decarboxylierung und Dehydratisierung führt zu Isopentenylidiphosphat (IDP).

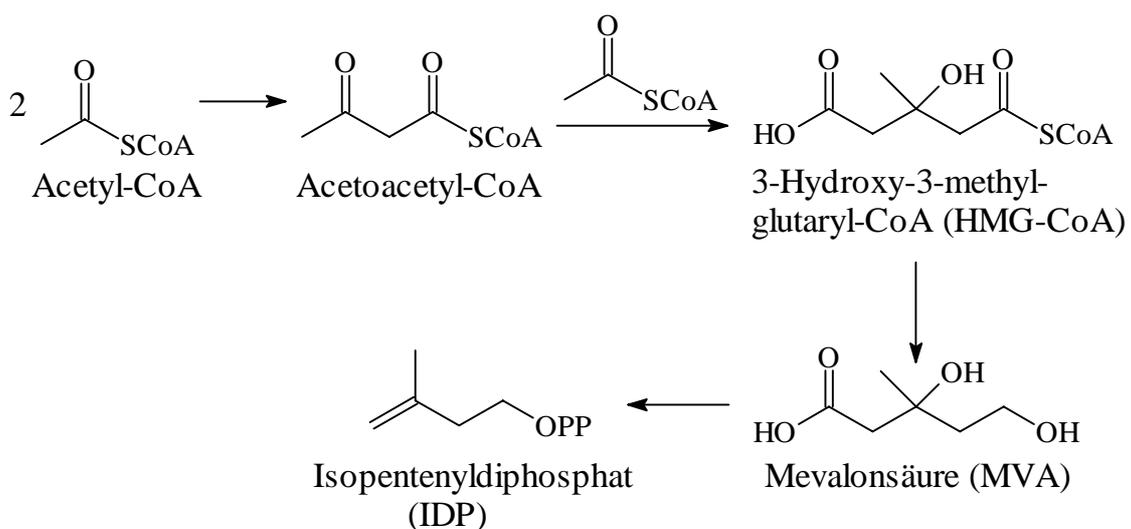


Abb. 3-6: Klassischer Biosyntheseweg von Isopentenylidiphosphat: Acetat-Mevalonat-Weg

Der Acetat-Mevalonat-Weg wurde über 30 Jahre als universeller Biosyntheseweg von Isopentenylidiphosphat angesehen. Es wurden jedoch einige Beobachtungen gemacht, die im Widerspruch zu diesem Biosyntheseweg standen. Bei höheren Pflanzen wurde photosynthetisch fixiertes markiertes Kohlendioxid rasch in die Carotinoide, in Phytol und Plastochinon-9 eingebaut, während markiertes Acetat und Mevalonat sehr gut in die Sterole, jedoch nur in geringer Rate in die Carotinoide, in Phytol und in Plastochinon-9 inkorporiert wurde. Mevinolin (**Abb. 3-7**) ist ein hoch spezifischer Inhibitor der 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA-Reduktase; dennoch hemmt er bei höheren Pflanzen nur die Biosynthese der Sterole, nicht die der Carotinoide, des Phytols und des Plastochinon-9 [72].

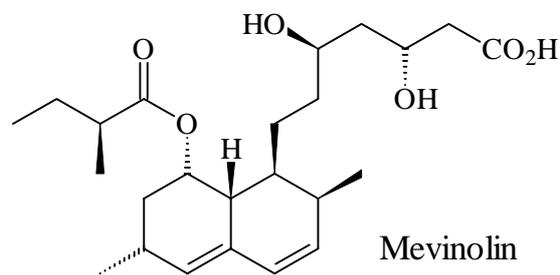


Abb. 3-7: HMG-CoA-Reduktase-Inhibitor

Die entscheidenden Experimente waren jedoch Markierungsversuche mit D-Glucose, die zu markierten Isoprenoiden führten, deren Markierungsmuster nur zum Teil mit dem klassischen Acetat-Mevalonat-Weg erklärt werden konnten. Diese Ergebnisse hatten die Aufstellung eines neuen, alternativen Biosyntheseweges Anfang der 90er Jahre zur Folge: des Triose-Pyruvat-Weges (**Abb. 3-8**) [73-76]. Die Ausgangsverbindungen sind Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-phosphat (GAP). In einer thiamin-abhängigen Reaktion wird eine C₂-Einheit von Pyruvat auf Glycerinaldehyd-3-phosphat übertragen, wobei 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat (DOXP) entsteht. Die weiteren Schritte sind bisher noch nicht vollständig aufgeklärt. Es muß eine intramolekulare Umlagerung erfolgen, bei der sich die von Pyruvat stammende C₂-Einheit zwischen die Kohlenstoffatome C-1 und C-2 der aus Glycerinaldehyd-3-phosphat stammenden C₃-Einheit schiebt. Zwischenprodukte auf dem Weg zu Isopentenylidiphosphat könnten 2-Methyl-D-erythrose-4-phosphat und 2-Methyl-D-erythritol-4-phosphat sein. Diese Schritte schließen neben der Umlagerungsreaktion Reduktionen, Dehydratisierung und Phosphorylierung ein.

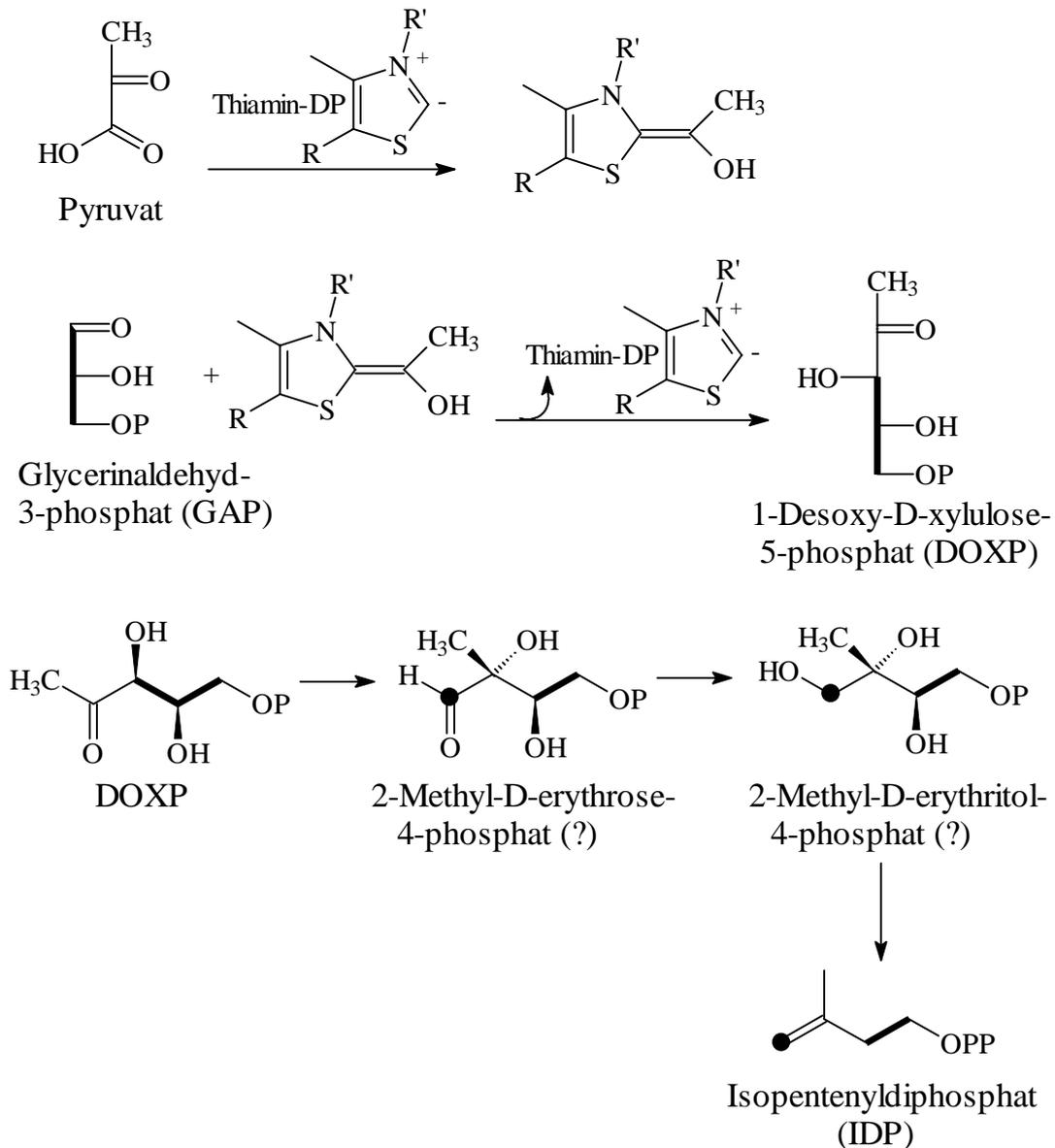


Abb. 3-8: Neuer Biosyntheseweg von Isopentenyl diphosphat: Triose-Pyruvat-Weg, Einheiten aus Glycerinaldehyd-3-phosphat (GAP)

Inzwischen wurden auch Markierungsversuche mit 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat durchgeführt, die zu markierten Isoprenoiden führten.

Markierungsversuche mit D-Glucose ermöglichen die Unterscheidung des klassischen Acetat-Mevalonat-Weges und des neuen Triose-Pyruvat-Weges zu Isopentenyl diphosphat. Die dem Nährmedium einer Kultur des untersuchten Organismus' zugesetzte D-Glucose wird von dem Organismus aufgenommen und abgebaut, wobei verschiedene Abbauewege für D-Glucose auftreten können. Zumeist erfolgt der Abbau der D-Glucose über den Embden-Meyerhof-Weg; er wird in höheren Pflanzen und in einigen Bakterien, wie beispielsweise in *E. coli*, gefunden [77]. Es werden jedoch auch andere Abbauewege gewählt, wie der Entner-Doudoroff-Weg beispielsweise im Bakterium *Zymomonas mobilis* [78].

Beim Embden-Meyerhof-Weg erfolgt zunächst Isomerisierung von D-Glucose zu D-Fructose (Abb. 3-9). Nach Phosphorylierung wird D-Fructose-1,6-bisphosphat in Dihydroxyacetonphosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat (GAP) gespalten. Dihydroxyacetonphosphat kann in Glycerinaldehyd-3-phosphat umlagern und Glycerinaldehyd-3-phosphat seinerseits kann in Pyruvat umgewandelt werden. Oxidative Decarboxylierung von Pyruvat führt zu Acetyl-CoA.

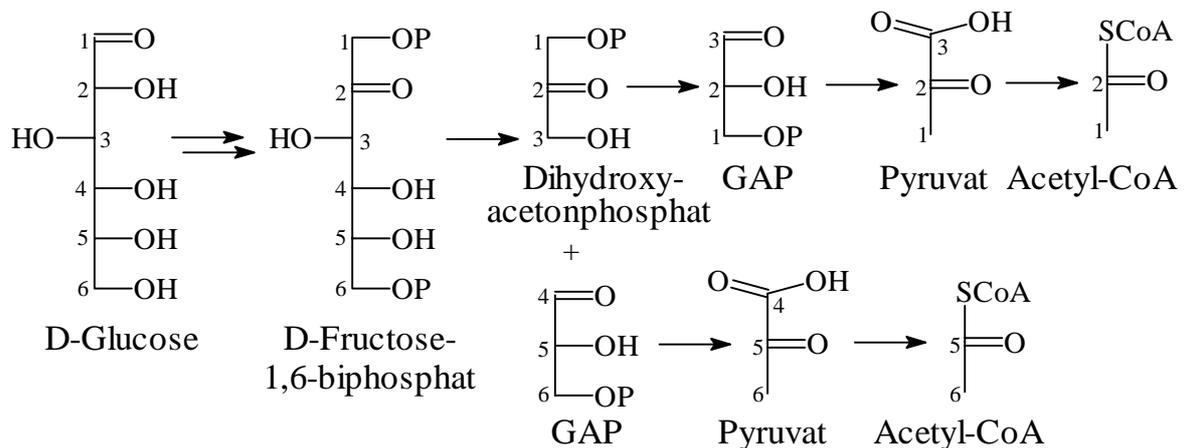


Abb. 3-9: Embden-Meyerhof-Weg zum Abbau von D-Glucose

Beim Entner-Doudoroff-Weg wird D-Glucose zunächst in 2-Keto-3-desoxy-6-phosphogluconat umgewandelt (Abb. 3-10). Anschließend erfolgt Spaltung in Glycerinaldehyd-3-phosphat (GAP) und Pyruvat. Wiederum kann Glycerinaldehyd-3-phosphat in Pyruvat und dieses in Acetyl-CoA umgewandelt werden.

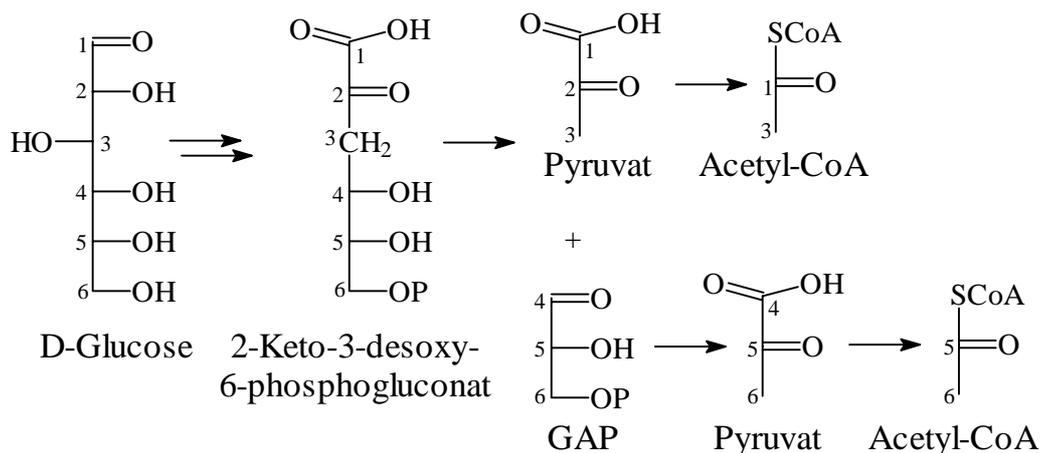


Abb. 3-10: Entner-Doudoroff-Weg zum Abbau von D-Glucose

Entsprechend den verschiedenen Abbauwegen für D-Glucose und den verschiedenen Biosynthesewegen für Isopentenylidiphosphat kann ausgehend von markierter D-Glucose zwischen vier verschiedenen Markierungsmustern bei Isopentenylidiphosphat unterschieden werden (**Abb. 3-11**). Anhand dieser Markierungsmuster ist eine eindeutige Bestimmung der in einem Organismus ablaufenden Abbauwege und Biosynthesewege möglich.

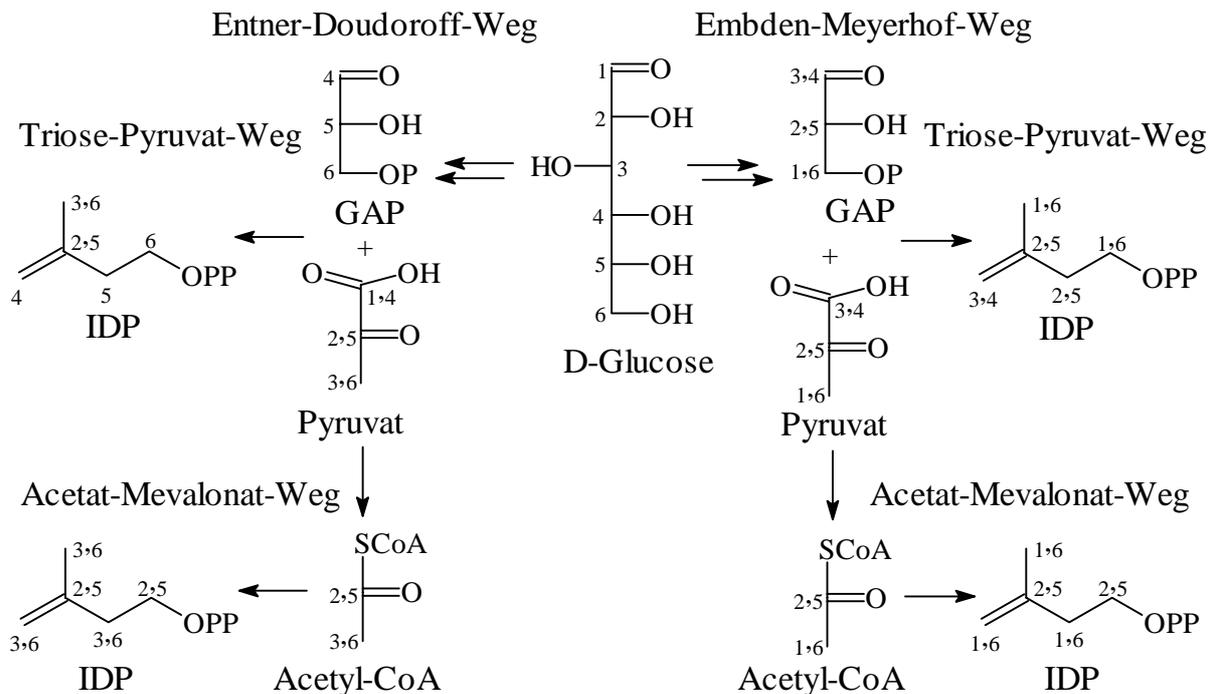


Abb. 3-11: Markierungsmuster von Isopentenylidiphosphat (IDP) ausgehend von markierter D-Glucose

Die beiden Biosynthesewege zu Isopentenylidiphosphat treten in der Natur nebeneinander auf. Die Wahl des Biosyntheseweges ist für verschiedene Organismen sehr unterschiedlich.

Bei Bakterien wird je nach Bakterienart sowohl der Acetat-Mevalonat- als auch der Triose-Pyruvat-Weg gefunden [79-83]. Es gibt (noch) keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer der Biosynthesewege und der Art des Bakteriums. Bei höheren Pflanzen treten beide Biosynthesewege nebeneinander auf; sie sind jedoch in der pflanzlichen Zelle räumlich voneinander getrennt und führen zu verschiedenen Isoprenoiden. Die Biosynthese der Sesquiterpene, Triterpene, Steroide und Ubichinone erfolgt im Cytosol über den Acetat-Mevalonat-Weg, die der Monoterpene, Diterpene und Carotinoide in den Plastiden über den Triose-Pyruvat-Weg und die der Plastochinone in den Mitochondrien ebenfalls über den Triose-Pyruvat-Weg (**Abb. 3-12**) [84-89].

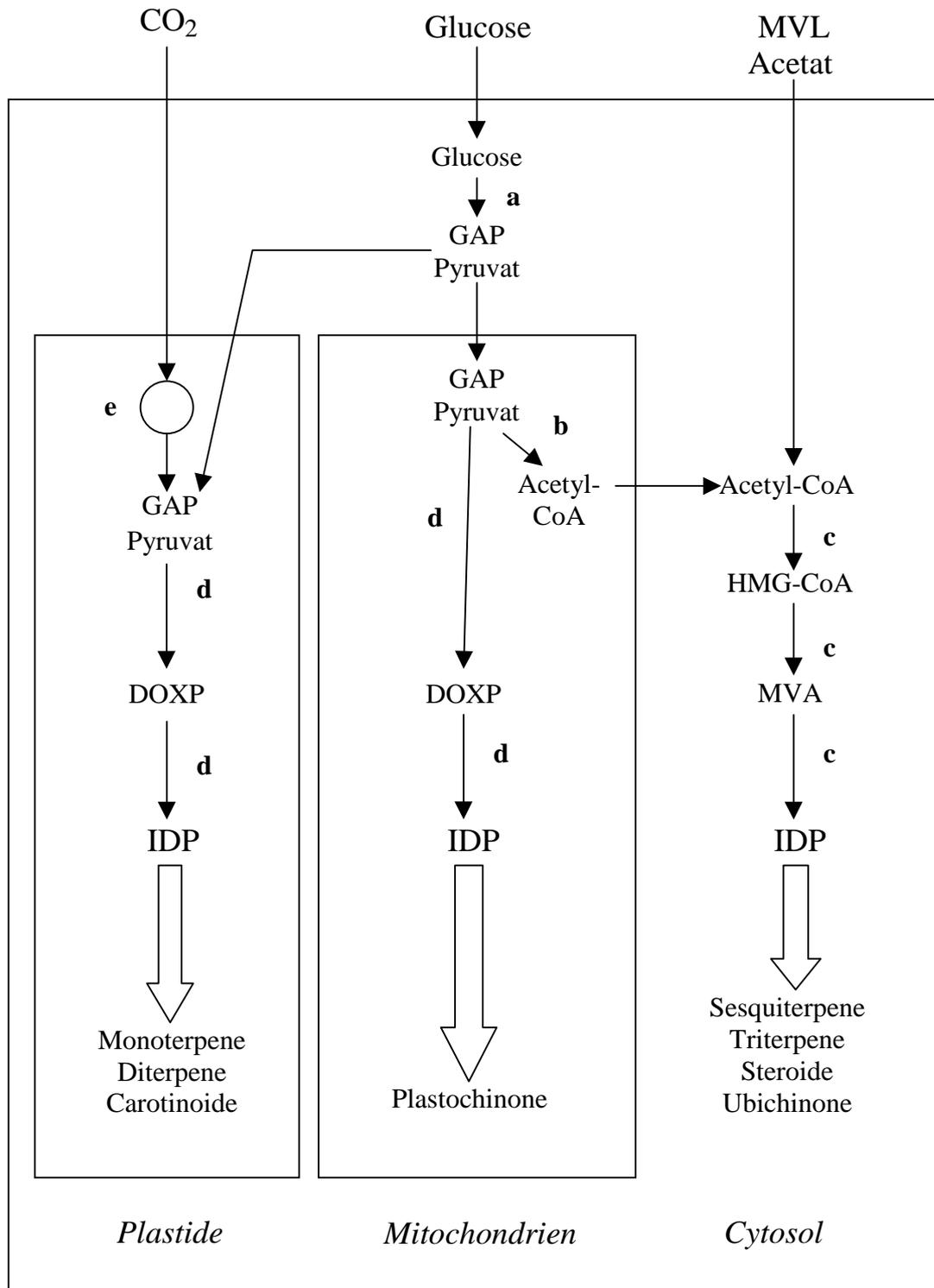


Abb. 3-12: Kompartimentierung der Biosynthese der Isoprenoide in höheren Pflanzen

Da die plastidären Isoprenoide zu einem geringen Anteil die Markierungsmuster des Acetat-Mevalonat-Weges tragen [90], ist möglicherweise von einem Austausch von Farnesyldiphosphat oder Isopentenylidiphosphat zwischen Cytosol und Plastiden auszugehen. Die Isoprenoide werden nur bis zu einer bestimmten Stufe in den Plastiden synthetisiert, weitere Umwandlungen, wie beispielsweise Oxidationen, erfolgen im Cytosol.

Bei den Rotalgen und den Lebermoosen treten entsprechend wie bei den höheren Pflanzen beide Biosynthesewege nebeneinander auf [91]. Bei den Grünalgen hingegen erfolgt die Isoprenoid-Biosynthese sowohl im Cytosol als auch in den Plastiden über den Triose-Pyruvat-Weg [89,92], während bei den Euglenophyten allein der Acetat-Mevalonat-Weg gewählt wird [89]. Die Untersuchung der Ubichinon-Biosynthese in den Mitochondrien von Rattenleber deutet darauf hin, daß hier dem Triose-Pyruvat-Weg gefolgt wird [75,93].

Für die Medizin ist die Aufklärung der Biosynthese der Isoprenoide von Bedeutung, da einige Medikamente direkten Einfluß auf die Biosynthese nehmen sollen. Bei der Hypercholesterinämie, beispielsweise, werden HMG-CoA-Reduktase-Hemmer eingesetzt; dabei wird von der Voraussetzung ausgegangen, daß die Biosynthese von Cholesterin auf dem Acetat-Mevalonat-Weg erfolgt.

3.5.4. Biosynthese der Sesquiterpene aus Farnesyldiphosphat

Biogenetischer Vorläufer der Sesquiterpene ist Farnesyldiphosphat (FDP). Für einige Sesquiterpene muß aus sterischen Gründen eine Isomerisierung von Farnesyldiphosphat (FDP) zu Nerolidyldiphosphat (NDP) angenommen werden (**Abb. 3-13**) [94].

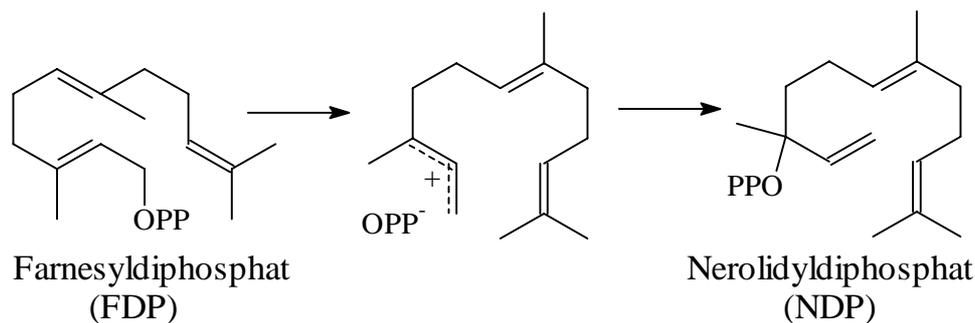


Abb. 3-13: Isomerisierung von Farnesyldiphosphat (FDP) zu Nerolidyldiphosphat (NDP)

Durch Abspaltung des Diphosphatrestes aus Farnesyldiphosphat (FDP) oder Nerolidyldiphosphat (NDP) entstehen Carbenium-Ionen, die durch Ringschluß cyclische Carbenium-Ionen bilden können. Durch Cyclisierungen mit den verbliebenen Doppelbindungen, Wagner-Meerwein-Umlagerungen, [1,2]-, [1,3]- oder

[1,4]-Hydridverschiebungen und [1,2]-Verschiebungen von Methylgruppen können die Sesquiterpene abgeleitet werden (Abb. 3-14) [2,74,95-99].

Die Sesquiterpene sind miteinander biogenetisch verknüpft und in einer Pflanze kommen meist verwandte Grundgerüste vor.

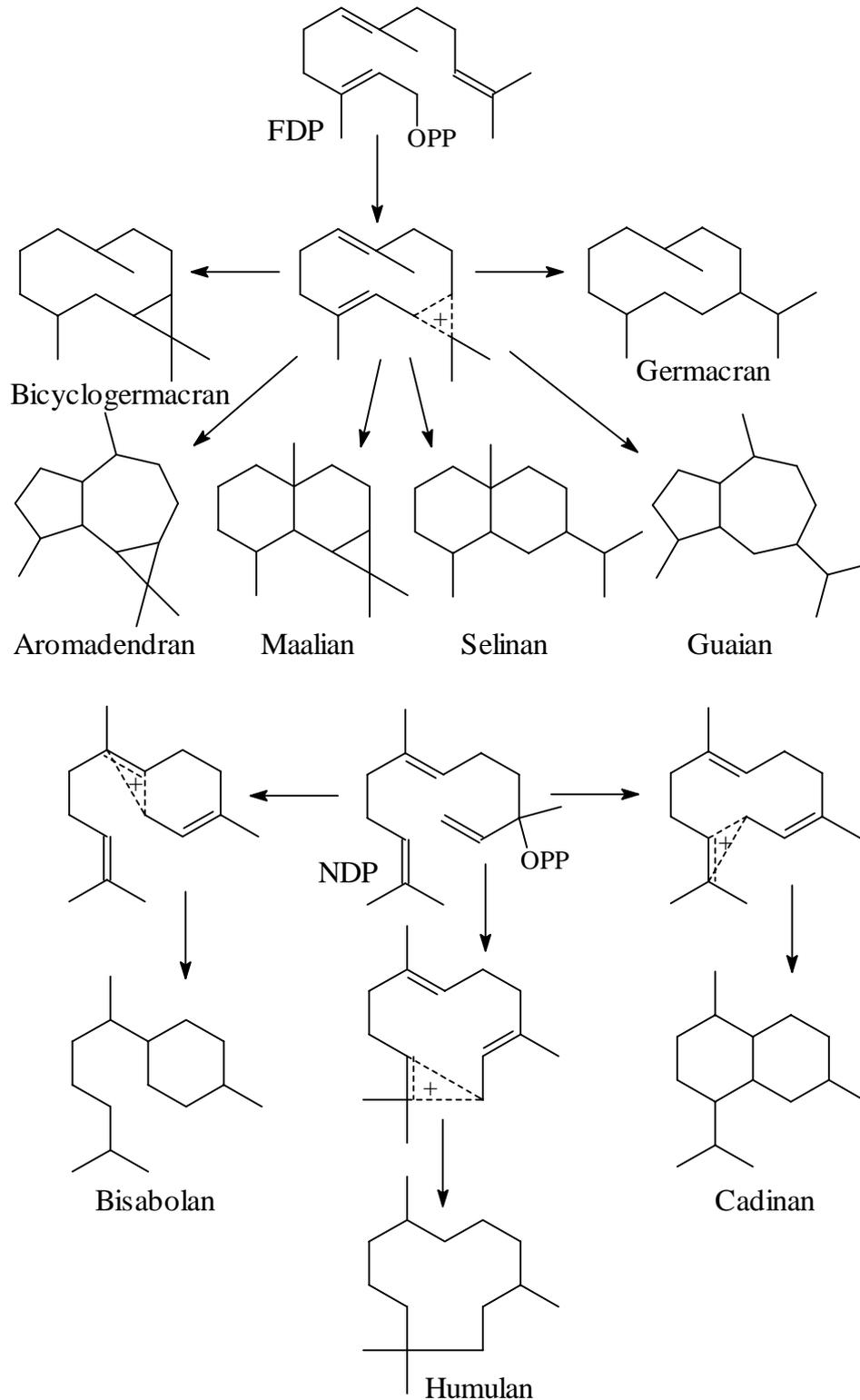


Abb. 3-14: Cyclisierung von Farnesyl- (FDP) und Nerolidyldiphosphat (NDP) zu einigen Sesquiterpen-Grundgerüsten

3.6. Biologische Bedeutung der Terpene

Die biologische Bedeutung der Terpene ist noch weitgehend ungeklärt, jedoch handelt es sich keinesfalls um „Abfallprodukte“ des Stoffwechsels. Aufgrund ihrer Flüchtigkeit spielen Vertreter der niederen Terpene als Kommunikationsmittel im Pflanzen- und Tierreich eine wichtige Rolle [100].

Pflanzen locken Insekten als Bestäuber nicht nur durch farbige Blüten, sondern auch durch Duft an. Andere Pflanzen versuchen sich mit Hilfe von Terpenen vor Fraßfeinden und Parasiten zu schützen [101]. Beispielsweise ist das Furanosesquiterpen Norpinguison aus der Lebermoosgattung *Porella* fungitoxisch und das Sesquiterpen-Hemiacetal Plagiochilin A aus *Plagiochila* ein sehr starker Fraßhemmstoff, während der Sesquiterpentialdehyd Polygodial aus *Porella* antimikrobielle Wirkung zeigt (**Abb. 3-15**) [13,14,43]. Baumwollpflanzen rufen bei Befall durch Eulenraupen mit Hilfe von Terpenen die Feinde der Raupen zu Hilfe: Die parasitischen Brackwespenweibchen legen ihre Eier direkt in den Raupen ab und die geschlüpften Larven töten dann ihren Wirt.

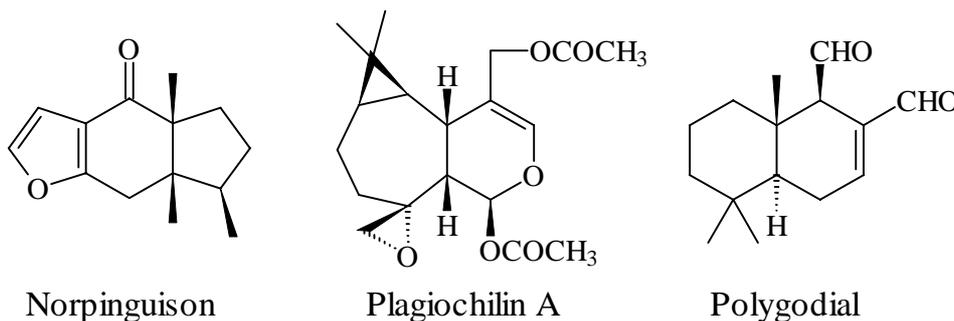
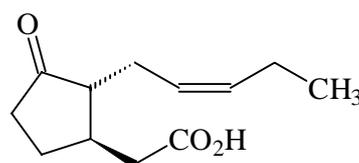


Abb. 3-15: Terpene mit biologischer Bedeutung

Auslöser der verstärkten Terpenproduktion sind bei Befall der Pflanze durch Fraßfeinde deren Speichelinhaltsstoffe, bei Befall durch Pilze deren Cellulasen [102,103]. Die Terpenproduktion wird durch das Pflanzenhormon Jasmonsäure reguliert (**Abb. 3-16**) [104,105]. Die Konzentration der Jasmonsäure steigt 30 Minuten nach Befall der Pflanze durch Fraßfeinde oder Parasiten; die verstärkte Terpenproduktion setzt dann nach 12-24 Stunden ein. Weiterhin reagiert die Pflanze auf den Befall durch Pilze oder Fraßfeinde mit einem Wechsel vom Acetat-Mevalonat-Weg zum Triose-Pyruvat-Weg, um die Isoprenoide zu biosynthetisieren [106].



Jasmonsäure

Abb. 3-16: Pflanzenhormon

Die Pflanzen kommunizieren auch untereinander. So warnen verletzte Tomatenpflanzen ihre Nachbarn vor Gefahren durch die Abgabe von Methyljasmonat [107]. Auch Insekten nutzen die Terpene zur Kommunikation. Sie bedienen sich dabei der von Pflanzen synthetisierten Verbindungen, die sie zum Teil derivatisieren. Beispielsweise sondert der Borkenkäfer *Ips paraconfusus* die Pheromone Ipsdienol, Ipsenol und Verbenol als Sekret ab, um damit Artgenossen anzulocken und Feinde und Nahrungskonkurrenten abzuschrecken (**Abb. 3-17**) [100].

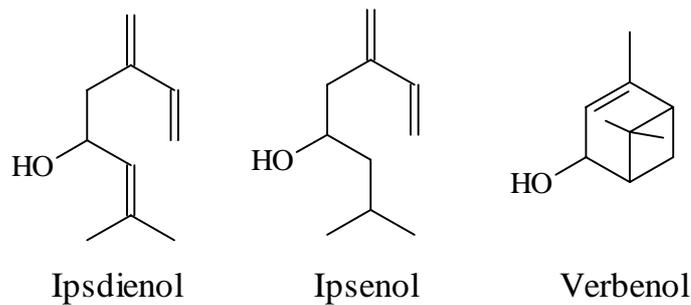


Abb. 3-17: Pheromone des Borkenkäfers

Bei Nadelbäumen wird die Terpenproduktion bei erhöhter Umgebungstemperatur verstärkt. Die Terpene werden unter der Blattoberfläche abgelagert und halten die Blattoberfläche auf diese Weise auch bei Hitze geschmeidig.

Weiterhin dienen die Terpene der Regulation des Wachstums und der Entwicklung der Pflanze [108].

Diese Beispiele machen bereits deutlich, daß die Terpene für den Menschen bei der Beeinflussung des Wachstums von Kulturpflanzen und im Bereich des Pflanzenschutzes interessant sein könnten [53].

Auch für die Arzneimittelforschung bieten die Terpene Ansätze. Bisher wurden die pharmakologischen Wirkungen nur für wenige Verbindungen untersucht. Dabei konnten unterschiedliche Bioaktivitäten – wie cytotoxische, cytostatische, antibiotische, antimikrobielle, antibakterielle, antifungische, virostatische, piscizide (fischtöxische), molluscizide (schneckentöxische), anthelmintische (wurmbekämpfende), entzündungshemmende, schleimlösende, harntreibende, entkrampfende, verdauungsfördernde, Herz-Kreislauf-anregende und beruhigende Eigenschaften – beobachtet werden [1,2,5,53]. Cytotoxische und cytostatische Wirkungen zeigen einige neue Sesquiterpenlactone aus Moosen: 4-*epi*-Arbusculin, Epoxyfrullanolid und Diplophyllin (**Abb. 3-18**) [13,14,26,39,40,43,109].

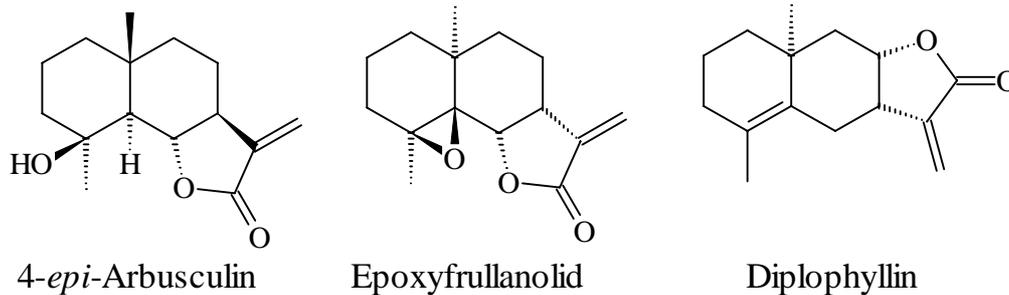


Abb. 3-18: Sesquiterpenlactone mit cytotoxischen und cytostatischen Eigenschaften

3.7. Gewinnung von ätherischen Ölen und Pflanzenextrakten

Zur Gewinnung der flüchtigen, lipophilen Inhaltsstoffe der Pflanzen bieten sich verschiedene Methoden an. Die ätherischen Öle werden durch Wasserdampfdestillation gewonnen. Eine Alternative ist die Extraktion mit organischen Solventien, die die Pflanzenextrakte liefert [1,2].

Am häufigsten wird zur Gewinnung der flüchtigen Pflanzeninhaltsstoffe die Wasserdampfdestillation herangezogen. Dabei werden leichtflüchtige, mit Wasser nicht mischbare Substanzen gemeinsam mit Wasser destilliert. Auf diese Weise können empfindliche Verbindungen unterhalb ihres Siedepunktes bei Normaldruck destilliert werden. Die Verbindungen werden in einer *n*-Hexan-Vorlage gesammelt.

Ein Problem bei der Wasserdampfdestillation stellt die Artefaktbildung und die thermische Zersetzung auch schon beim Siedepunkt des Wassers dar. Dieses Problem tritt bei der Extraktion nicht auf.

Bei der Extraktion werden mit organischen Solventien die darin löslichen Bestandteile aus dem Pflanzenmaterial gelöst. Die auf diese Weise gewonnen Extrakte enthalten jedoch auch Sterole, Fette, Bestandteile der Kutikula und Pigmente.

3.8. Auftrennung der ätherischen Öle und Extrakte in Einzelkomponenten

Die ätherischen Öle und die Extrakte stellen komplexe Stoffgemische dar, die zunächst in ihre Einzelkomponenten aufgetrennt werden müssen, bevor eine Strukturaufklärung der Inhaltsstoffe erfolgen kann. Zur Trennung bieten sich chromatographische Methoden an.

3.8.1. Chromatographie – Prinzip

Bei der Chromatographie werden Substanzgemische durch Verteilung über zwei Phasen – einer stationären und einer mobilen Phase – in ihre Komponenten zerlegt [110,111]. Die mobile Phase wird an der stationären Phase vorbeibewegt. Durch den Fluß muß sich die Gleichgewichtsverteilung zwischen mobiler und stationärer Phase ständig neu einstellen. Aufgrund der unterschiedlich starken Wechselwirkungen der einzelnen Komponenten eines Gemisches mit der stationären Phase durchlaufen diese die Trennstrecke mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten und besitzen damit unterschiedliche Retentionszeiten. Die einzelnen Substanzen werden nach Durchlaufen der Trennsäule mit einem geeigneten Detektor erfaßt und registriert.

3.8.2. Gaschromatographie (GC)

Bei der Gaschromatographie ist die stationäre Phase eine Flüssigkeit und die mobile Phase ein Gas [112]. Als Trägergase werden Helium, Stickstoff oder Wasserstoff verwendet. Die Trennung beruht zum einen auf der Verteilung zwischen stationärer und mobiler Phase und zum anderen auf den unterschiedlichen Siedepunkten der Komponenten.

Die Gaschromatographie eignet sich nur zur Trennung flüchtiger oder durch Erhitzen unzersetzt verdampfbarer Substanzen. Es wird bei Temperaturen gearbeitet, die höchstens 30° unter dem Siedepunkt der höchstsiedenden Verbindung eines Stoffgemisches liegen. Zur schnelleren Auftrennung kann anstatt isotherm mit einem Temperaturprogramm gearbeitet werden. Die Analysenproben werden in einem organischen Lösungsmittel gelöst und in den ca. 200°C heißen Injektor eingespritzt, wo die Verbindungen verdampfen, bevor sie auf die Trennsäule gelangen.

Im analytischen Maßstab wird zur Trennung von Substanzmengen im Mikrogramm-Bereich mit Kapillarsäulen gearbeitet, bei präparativen Trennungen im Milligramm-Bereich hingegen mit gepackten Säulen.

Gängige Kapillarsäulen bestehen aus "fused silica"-Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 10-500 µm und einer Länge von 1-100 m. Die stationäre Phase befindet sich als dünner Film von 0.05-10 µm Dicke auf der Innenwand der offenen Kapillare.

Gepackte Säulen bestehen aus Stahl- oder Glasrohren mit einem Innendurchmesser von 1-50 mm und einer Länge von 0.5-5 m. Sie enthalten poröse Trägermaterialien, wie z.B. Chromosorb G-HP aus Kieselgur, auf die die stationäre Phase aufgebracht wird. Die Menge der stationären Phase macht etwa 0.5-25% des Trägermaterials aus.

Kapillarsäulen zeichnen sich gegenüber gepackten Säulen durch eine wesentlich effektivere Trennung aus, die sich in einer besseren Peakauflösung äußert. Die geringere Effizienz der gepackten Säulen gegenüber den Kapillarsäulen hat verschiedene Ursachen: 1) Die Filmdicke der stationären Phase ist bei den gepackten Säulen uneinheitlich. 2) Innerhalb einer gepackten Säule bieten sich den Molekülen unterschiedliche Fließmöglichkeiten, während bei den Kapillarsäulen nur eine einzige Möglichkeit besteht. 3) Die Trägermaterialien der gepackten Säulen sind schlechte Wärmeleiter, so daß es entlang des Säulenquerschnittes zu einem Temperaturgradienten kommt. Die Moleküle, die sich im Inneren der Säule bewegen, besitzen infolgedessen eine längere Retentionszeit, als solche die an der Wand entlang wandern.

Die stationäre Phase der Trennsäule besteht meist aus Polysiloxan-Derivaten, wie z.B. die SE 30- und die CpSil 5-Phase aus Polymethylsiloxan, die SE 52-Phase aus Polysiloxan mit 5% Phenyl- und 95% Methylsubstituenten, die CpSil 19-Phase mit 7% Phenyl-, 7% Cyanopropyl- und 86% Methylsubstituenten oder die OV 1701-Phase mit 5% Phenyl-, 7% Cyanopropyl- und 88% Methylsubstituenten.

Als Detektor wird gewöhnlich ein Flammenionisationsdetektor verwendet.

Bei der präparativen Gaschromatographie sollen die getrennten Verbindungen nach Durchlaufen der Säule gewonnen werden. Da die Substanzen innerhalb eines Flammenionisationsdetektors zerstört werden, muß das Eluat vor dem Detektor mit Hilfe eines Splitventils aufgeteilt werden, wobei nur ein möglichst kleiner Teil zum Detektor weitergeleitet und der größte Teil gesammelt wird. Die Proben können am Säulenausgang in mit flüssigem Stickstoff gekühlten Teflonschläuchen aufgefangen werden.

3.8.3. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Bei der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ist die stationäre Phase ein Feststoff und die mobile Phase eine Flüssigkeit [113]. Die Trennung beruht hier allein auf der Verteilung der Substanzen zwischen mobiler und stationärer Phase.

Die HPLC bietet sich für schwerer flüchtige Verbindungen an, die mittels der Gaschromatographie nicht getrennt werden können. Bedingung für die Anwendbarkeit der HPLC ist eine gewisse Löslichkeit der zu trennenden Substanzen im Laufmittel.

Als Säulen werden meist druckfeste Edelstahlrohre, die eine glatte Innenseite besitzen, verwendet. Analytische Säulen haben einen Innendurchmesser von 2-5 mm, präparative einen solchen von 10-25.4 mm. Die Länge der Säulen liegt zwischen 5 und 30 cm. Für die stationäre Phase wird poröses Material mit einer einheitlichen Korngröße von 5-10 µm eingesetzt.

Die HPLC kann an zwei verschiedenen Systemen betrieben werden. Bei der Normalphasenchromatographie (normal phase, NP) wird eine polare stationäre und eine unpolare mobile Phase verwendet, bei der Umkehrphasenchromatographie (reversed phase, RP) hingegen eine unpolare stationäre und eine polare mobile Phase. Unpolare Substanzen werden vorzugsweise über die Normalphasenchromatographie getrennt, während für polare Substanzen die Umkehrphasenchromatographie besser geeignet ist. Die Substanzen werden an dem jeweiligen System schneller eluiert, so daß die Trennung schärfer und die Analysenzeit kürzer ist.

Für die Normalphasenchromatographie sind stationäre Phasen aus Silicagel und Aluminiumoxid geeignet. Als Laufmittel dienen unpolare organische Lösungsmittel. Für die RP-Chromatographie wird als stationäre Phase modifiziertes Silicagel verwendet. Neben Derivaten mit Octadecylgruppen (Octadecylsilan, ODS, RP-18) kommen auch Derivate mit kürzeren Alkylketten oder Cyclohexyl- und Phenylgruppen zum Einsatz. Das Laufmittel setzt sich aus Wasser und verschiedenen mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln – wie Methanol, Acetonitril, Ethanol, Isopropanol, Dimethylformamid, *n*-Propanol, Dioxan und Tetrahydrofuran – zusammen.

Das Laufmittel wird mit Hilfe einer Pumpe durch die Säule gepreßt. Zur Trennung komplizierter Substanzgemische kann die Zusammensetzung des Laufmittels während der Trennung geändert werden, wobei die Elutionskraft zunehmen sollte (Gradient-Elution).

Die Probe wird in dem verwendeten Laufmittel gelöst; ist dies nicht möglich, ist ein Lösungsmittel mit geringerer Elutionskraft als das Laufmittel zu wählen.

Zur Detektion kann ein UV-Detektor eingesetzt werden. Die Registrierung von Substanzen ohne Chromophor kann mit einem Refraktometer erfolgen.

Da UV-Detektor und Refraktometer zersetzungsfrei arbeiten, können bei der präparativen HPLC die Proben direkt nach Durchlaufen des Detektors aufgefangen werden.

3.9. Strukturaufklärung

Die Strukturaufklärung und Identifizierung der Inhaltsstoffe von ätherischen Ölen und Extrakten kann nur mit Hilfe sehr empfindlicher Methoden erfolgen, da die Substanzen meist in geringen Mengen vorliegen. Reinsubstanzen lassen sich mit Hilfe der Kernresonanzspektroskopie und der Massenspektrometrie untersuchen. Für Verbindungen, die nicht in reiner Form isoliert werden können, bietet sich die Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektrometrie an.

Zur Strukturaufklärung gehört auch die Bestimmung der absoluten Konfiguration und ggf. der Enantiomerenzusammensetzung. Dafür kommen verschiedene Untersuchungsmethoden in Frage.

3.9.1. Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die Kernresonanz wurde im Jahre 1946 von *Purcell* und *Bloch* entdeckt und die Kernresonanzspektroskopie ist in dieser relativ kurzen Zeit zu einer der wichtigsten Methoden der Strukturaufklärung geworden [114-119].

Bei der Kernresonanzspektroskopie wird die Wechselwirkung zwischen Atomkernen und elektromagnetischer Strahlung des Radiowellen-Bereichs in einem starken homogenen Magnetfeld untersucht. Atomkerne mit einem magnetischen Moment werden in einem starken äußeren Magnetfeld bezüglich zur Magnetfeldrichtung ausgerichtet. Diese verschiedenen Zustände besitzen unterschiedliche Energie. Entspricht die Energie der eingestrahlten elektromagnetischen Welle gerade der Energiedifferenz zwischen zwei benachbarten Zuständen, so wird sie absorbiert und es erfolgt ein Übergang des Atomkerns von einem energieärmeren in einen energiereicheren Zustand.

Die Atomkerne befinden sich jedoch nicht nur im äußeren Magnetfeld, sondern auch die Elektronen des Moleküls erzeugen ein Magnetfeld. Je nach gegebenen Strukturelementen im Molekül erfolgt die magnetische Resonanz bei unterschiedlichen Wellenlängen der elektromagnetischen Strahlung – bei verschiedenen chemischen Verschiebungen. Weiterhin wechselwirken – koppeln – die Atomkerne miteinander, so daß es zur Signalaufspaltung – zur Bildung von Kopplungsmustern – kommt.

Es gibt verschiedene Techniken der NMR-Spektroskopie. In der organischen Chemie findet vor allem die Protonen- und die Kohlenstoff-13-Kernresonanzspektroskopie Anwendung. Für Markierungsexperimente ist außerdem noch die Deuteriumkernresonanzspektroskopie von Bedeutung. Neben der Aufnahme von eindimensionalen Spektren wurden in den 70er Jahren die zwei- und mehrdimensionalen Experimente entwickelt [120,121].

Für die Strukturaufklärung ist die Aufnahme folgender Kernresonanzspektren sinnvoll: ^1H -NMR-, ^{13}C -BB-NMR-, DEPT-, HMQC-, COSY-GS-, HMBC- und NOESY-Spektren.

Aus dem ^1H -NMR-Spektrum können die chemischen Verschiebungen der Protonensignale, die Informationen über die chemische Umgebung der Protonen enthalten, und die Kopplungsmuster der Protonensignale, die die Anzahl der benachbarten Protonen andeuten, ermittelt werden. Die Signalintensitäten geben Auskunft über die relative Anzahl der Protonen, die den Signalen zugeordnet werden.

Das ^{13}C -BB-NMR-Spektrum (Breitbandentkopplung, broad band decoupling) liefert allein die chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffkern-Signale, die Informationen über die chemische Umgebung der Kohlenstoffkerne geben. Die Wechselwirkungen zwischen den Kohlenstoffkernen und den benachbarten Protonen werden durch die Breitbandentkopplung aufgehoben, so daß die Kohlenstoffkern-Signale keine Kopplungsmuster aufweisen. Das DEPT-Spektrum (distortionless enhancement by polarisation transfer) ermöglicht die Unterscheidung zwischen Signalen von Kohlenstoffkernen von Methyl-, Methylen- und Methingruppen. Unter Zuhilfenahme des ^{13}C -BB-NMR-Spektrums können auch die Signale für die Kerne der quartären Kohlenstoffatome ermittelt werden. Mit Hilfe des HMQC-Spektrums (heteronuclear multiple quantum correlation) ist eine Korrelation zwischen dem ^{13}C - und dem ^1H -NMR-Spektrum möglich.

Das COSY-GS-Spektrum (correlated spectroscopy with gradient-selection) zeigt die Kopplungen zwischen geminalen, vicinalen, allylischen und homoallylischen Protonen. Bei günstigen starren stereochemischen Verhältnissen können auch Fernkopplungen in Erscheinung treten. Ein Beispiel ist die sog. W-Kopplung, die bei starrer W-förmiger Anordnung der Atome im Molekül auftritt. Im HMBC-Spektrum (heteronuclear multiple bond correlation) sind die (Fern-)Kopplungen zwischen Kohlenstoffkernen und den Protonen der benachbarten Gruppen zu erkennen. Mit Hilfe der Informationen aus dem HMQC-, dem COSY-GS- und dem HMBC-Spektrum läßt sich das Gerüst einer Verbindung identifizieren.

Die relative Konfiguration einer Verbindung kann aus dem NOESY-Spektrum (Nuclear Overhauser effect spectroscopy) ermittelt werden, in dem die Wechselwirkungen der Protonen durch den Raum erkennbar sind.

Derzeit werden Computerprogramme zur automatisierten Strukturaufklärung entwickelt [122-125].

Für Markierungsexperimente kann zur Bestimmung der markierten Positionen in einem Molekül die Kernresonanzspektroskopie herangezogen werden. Bei Markierungsexperimenten mit Kohlenstoff-13 werden die ^{13}C -BB-NMR-Spektren der markierten und der unmarkierten Verbindungen miteinander verglichen, um die Intensitätszunahme einzelner Signale zu ermitteln. Bei Markierungsexperimenten mit Deuterium wird das ^2D -NMR-Spektrum der deuterierten Verbindung mit dem ^1H -NMR-Spektrum der unmarkierten Verbindung verglichen. Da die chemischen Verschiebungen der Deuteriumkerne und der Protonen gut übereinstimmen, können auf diese Weise die Signale des ^2D -NMR-Spektrums Deuteriumatomen an bestimmten Positionen im Molekül zugeordnet werden.

Für die NMR-Spektroskopie im Routine-Betrieb sind Substanzmengen in der Größenordnung von 1-2 mg erforderlich.

3.9.2. Massenspektrometrie (MS)

Obwohl die massenspektrometrische Methode von *Thomson* bereits 1911 zur Trennung von Neon-Isotopen herangezogen wurde, gelang ihr Durchbruch als wichtige Analysenmethode in der organischen Chemie erst um 1960 [114,126].

Bei der Massenspektrometrie werden die Verbindungen im Hochvakuum verdampft, durch Elektronenbeschuß ionisiert und in Bruchstücke zerschlagen. Die Zerfallsprodukte sind überwiegend positiv geladene Ionen, die mit Hilfe eines elektromagnetischen Feldes getrennt und einem Auffänger zugeführt werden. Neben der Molekülmasse liefert das Massenspektrum durch Auftreten bestimmter Fragmentionen Informationen über mögliche funktionelle Gruppen und Struktureinheiten im Molekül. Ein Massenspektrum ist für eine Verbindung sehr charakteristisch und kann daher zur Identifizierung herangezogen werden, obwohl in Einzelfällen verschiedene Verbindungen nahezu identische Massenspektren aufweisen können.

Die Massenspektrometrie kommt mit sehr geringen Substanzmengen im Pikogramm-Bereich aus.

Zur Analyse von Substanzgemischen bietet sich die Kopplung des Massenspektrometers mit einem Gaschromatographen an, in dem die Probe aufgetrennt wird, bevor sie in das Massenspektrometer gelangt. Eine GC-MS-Analyse liefert neben dem Massenspektrum die Retentionszeit, die ebenfalls für eine Verbindung charakteristisch ist. Für diese Methode sind nur äußerst geringe Substanzmengen im Nano- bis Femtogramm-Bereich erforderlich.

3.9.3. Enantiomerenanalytik

Zur Strukturaufklärung gehört auch die Bestimmung des vorliegenden Enantiomers, also die Bestimmung der absoluten Konfiguration einer chiralen Verbindung, oder auch die Untersuchung der Enantiomerenzusammensetzung. Die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Enantiomere sind gleich; sie zeichnen sich jedoch durch unterschiedliche optische Eigenschaften und durch unterschiedliche Wechselwirkung mit chiralen Verbindungen aus. Liegt eine Referenzverbindung mit bekannter absoluter Konfiguration vor, können diese Eigenschaften zur Untersuchung herangezogen werden.

Chirale Moleküle sind in der Regel optisch aktiv, d.h. sie drehen die Schwingungsebene linear polarisierten Lichtes [127]. Der Drehwert α einer Lösung eines chiralen Stoffes hängt von der Konzentration c der Lösung, der Schichtdicke l , der Wellenlänge λ des Lichtes, der Temperatur T und dem Lösungsmittel ab. Für ein reines Enantiomer wird der spezifische Drehwert $[\alpha]$ angegeben.

$$[\alpha]_{\lambda}^T = 100\alpha/lc$$

$$[c] = \text{g}/100\text{ml}$$

$$[l] = 1\text{dm}$$

Die Enantiomere zeigen entgegengesetztes optisches Verhalten; der spezifische Drehwert nimmt also denselben Wert an, weist jedoch das umgekehrte Vorzeichen auf. Da sich die Drehwerte additiv verhalten, kann für ein Enantiomergemisch aus dem gemessenen Drehwert α und dem spezifischen Drehwert des reinen Enantiomers $[\alpha]_{\text{max}}$ die optische Reinheit P bestimmt werden.

$$P = [\alpha]/[\alpha]_{\text{max}}$$

Die Enantiomere bilden mit anderen chiralen Verbindungen diastereomere Komplexe, die sich in ihren Eigenschaften unterscheiden. Auf dieser Grundlage beruhen verschiedene Analyse- und Trennverfahren.

In der Gaschromatographie können chirale stationäre Phasen zur Enantiomerenanalytik und -trennung eingesetzt werden.

Ein großer Fortschritt auf diesem Gebiet wurde durch die Einführung modifizierter Cyclodextrine als chirale Phase erzielt [128-134]. Cyclodextrine sind cyclische Oligosaccharide aus sechs, sieben oder acht α -1,4-glykosidisch verknüpften D-Glucopyranoseeinheiten, die durch enzymatischen Abbau aus Stärke gewonnen werden. Nach der Größe des Oligosaccharids wird zwischen α -, β - und γ -Cyclodextrinen unterschieden (**Abb. 3-19**).

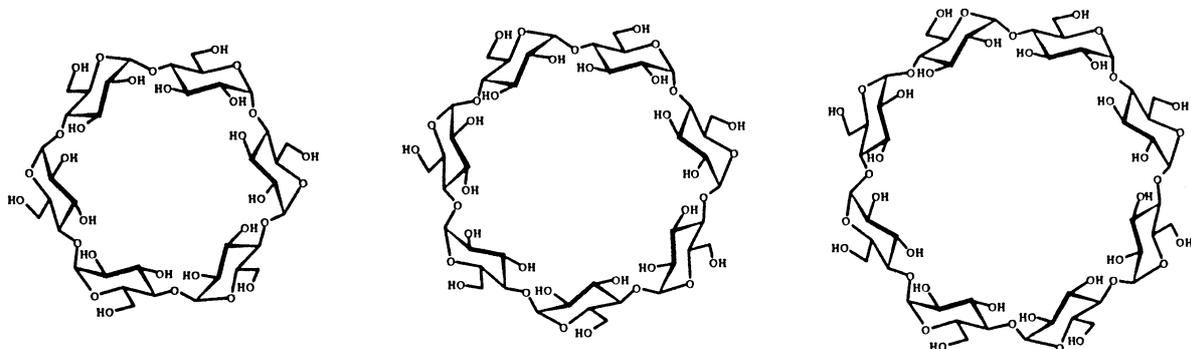


Abb. 3-19: Struktur der Cyclodextrine

Erste gaschromatographische Enantiomerentrennungen gelangen *Sybilka* 1983 mit gepackten Säulen, die in Formamid gelöstes natives Cyclodextrin enthielten. Kapillarsäulen können mit underivatisiertem Cyclodextrin nicht belegt werden, da beim Schmelzen Zersetzung eintritt und ein Lösen in Polysiloxanphasen nicht möglich ist. *Juvancz*, *Alexander* und *Szejtli* sowie *Venema* und *Tolsma* verwendeten geschmolzenes permethyliertes β -Cyclodextrin in Glaskapillarsäulen. Nachteilig wirkt sich jedoch der hohe Schmelzpunkt der permethylierten Verbindung aus. *Schurig* und *Novotny* lösten daher permethyliertes β -Cyclodextrin in geringen Konzentrationen in einem mäßig polaren Polysiloxan. *König* und *Wenz* hingegen verwendeten Cyclodextrin-Derivate mit längeren Alkyl- bzw. Acylketten, die bei Raumtemperatur flüssig sind.

Inzwischen liegt eine Vielzahl verschiedener Cyclodextrin-Derivate, die unterschiedliche Trenneigenschaften besitzen, vor. Einige Beispiele sind:

- Heptakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-pentyl)- β -cyclodextrin (2,6-Me-3-Pe- β -CD),
- Heptakis(6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin (6-T-2,3-Me- β -CD),
- Heptakis(6-*O*-*tert*-hexyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin (6-Tx-2,3-Me- β -CD),
- Heptakis(6-*O*-methyl-2,3-di-*O*-pentyl)- γ -cyclodextrin (6-Me-2,3-Pe- γ -CD).

Die geeignete Phase für ein Trennproblem muß empirisch ermittelt werden, zumal über den Trennmechanismus wenig bekannt ist. Die Cyclodextrine sind Moleküle mit einem Hohlraum, die Inklusionsverbindungen bilden können. Die Cyclodextrin-Phasen eignen sich zur Trennung zahlreicher unterschiedlicher Moleküle.

Bei Vorliegen der reinen Enantiomere kann durch Vergleich der Elutionsreihenfolge die Enantiomerenzusammensetzung eines Gemisches bestimmt werden.

Existiert jedoch keine Referenzverbindung mit bekannter absoluter Konfiguration, sind die obigen Methoden nicht anwendbar. Die Verbindung kann jedoch durch chemische Reaktionen in ein Derivat mit bekannter absoluter Konfiguration überführt werden; die Reaktionen müssen dabei stereoselektiv ablaufen.

Zur Untersuchung der Verbindung selbst ist die anomale Röntgenbeugung geeignet.

Die Enantiomerenanalytik und -trennung ist insbesondere für biologisch wirksame Verbindungen von Bedeutung, da die Enantiomere unterschiedliche Eigenschaften besitzen können. Dies spielt bei Pharmaka, Pflanzenschutzmitteln, Aroma- und Duftstoffen eine Rolle [128]. Ein Beispiel ist 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA), ein Medikament gegen die Parkinson-Krankheit, bei dem nur das L-Enantiomer wirksam,

das D-Enantiomer hingegen toxisch ist (**Abb. 3-20**). Die Trennung der trifluoracetylierten Methylester gelingt durch Gaschromatographie an verschiedenen Cyclodextrin-Phasen.

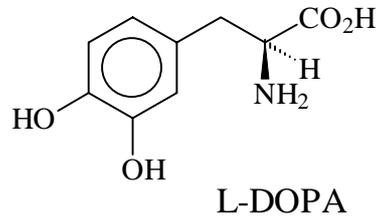


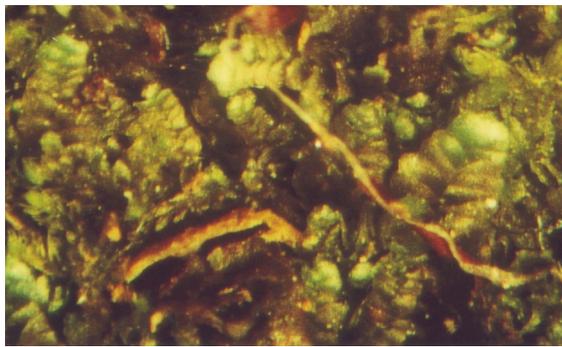
Abb. 3-20: Medikament gegen die Parkinson-Krankheit

4. Spezieller Teil

4.1. Analytischer Teil

Untersuchung der Inhaltsstoffe der ätherischen Öle und der Extrakte von Lebermoosen

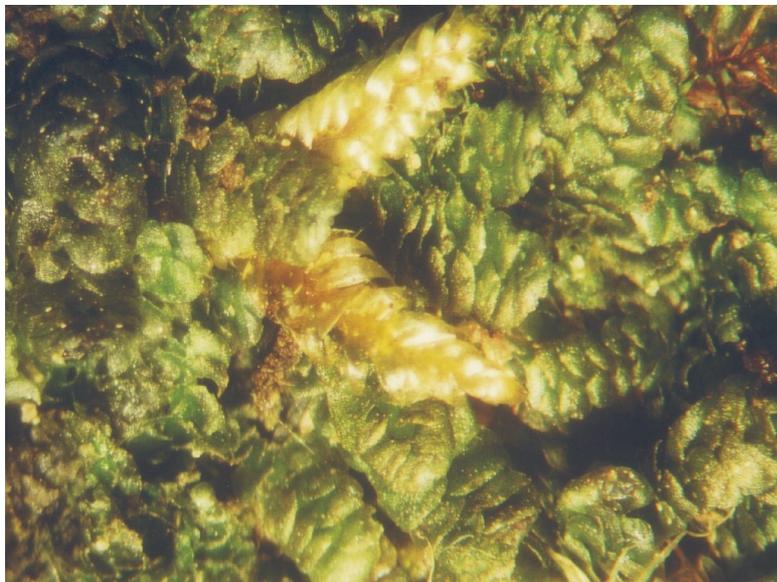
Es wurden die Inhaltsstoffe der ätherischen Öle oder der Extrakte der Lebermoose *Calypogeia suecica*, *Calypogeia muelleriana*, *Calypogeia fissa*, *Bazzania trilobata*, *Tritomaria quinquedentata*, *Reboulia hemisphaerica* und *Gymnomitrium obtusum* untersucht (**Farbtafel 4-1**).



Calypogeia suecica



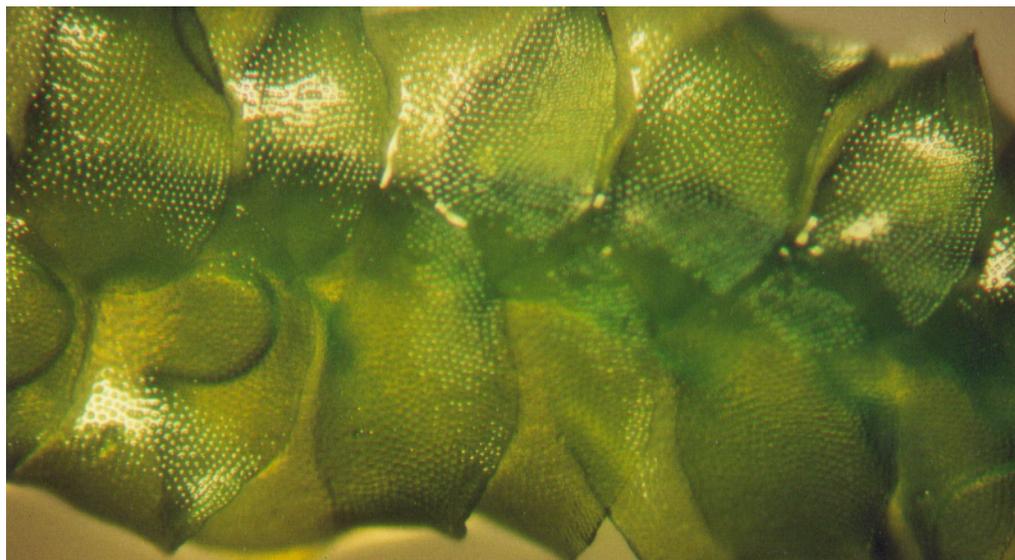
Calypogeia fissa



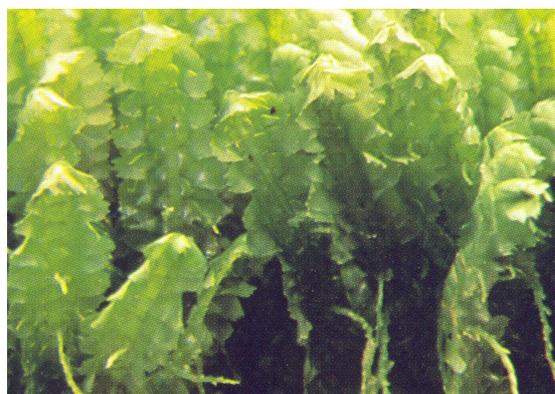
Calypogeia muelleriana



Calypogeia muelleriana



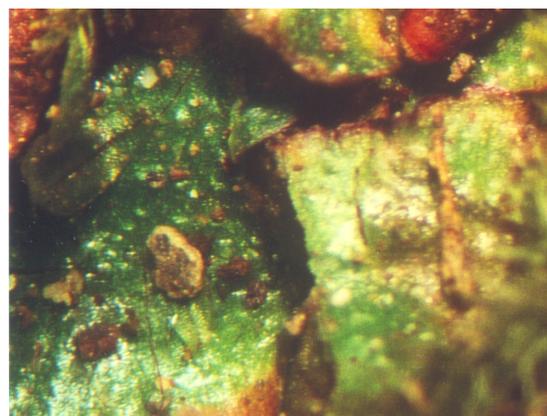
Bazzania trilobata



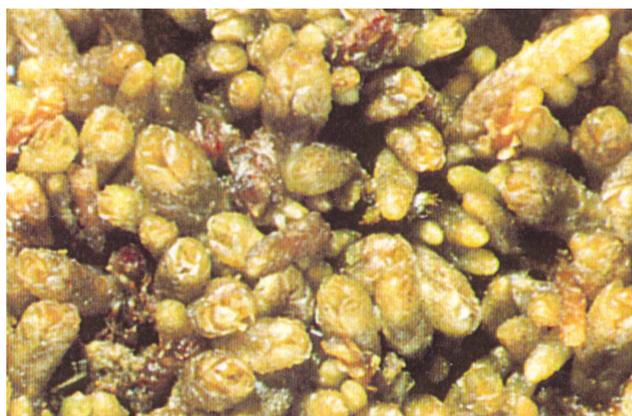
Bazzania trilobata



Tritomania quinquedentata



Reboulia hemisphaerica



Gymnomitrium obtusum

Farbtafel 4-1: Lebermoose

Die ätherischen Öle wurden durch Wasserdampfdestillation gewonnen; da hierbei jedoch Artefakte entstehen können, wurden alternativ Pflanzenextrakte hergestellt. Durch präparative Gaschromatographie oder Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurden die ätherischen Öle in Einzelkomponenten aufgetrennt. Sämtliche Inhaltsstoffe wurden durch Gaschromatographie, Massenspektrometrie und die isolierten Verbindungen zusätzlich durch Kernresonanzspektroskopie charakterisiert. Die Strukturaufklärung neuer Verbindungen beruhte auf den Informationen aus ein- und zweidimensionalen NMR-Spektren. Zum Beweis der Strukturvorschläge wurden Derivatisierungsreaktionen durchgeführt. Die Bestimmung der absoluten Konfiguration der neuen Verbindungen erfolgte durch Korrelationsreaktionen mit bekannten Verbindungen, wobei zum Vergleich polarimetrische Messungen und enantioselektive Gaschromatographie eingesetzt wurden.

**4.1.1. *Calypogeia fissa* (Eingekerbtes Bartkelchmoos),
Calypogeia muelleriana (Müllersches Bartkelchmoos) und
Calypogeia suecica (Schwedisches Bartkelchmoos)**

Bei diesen Moosen handelt es sich um foliose Lebermoose [8-11], für die folgende Zuordnung getroffen werden kann:

Klasse:	<i>Hepaticae</i> (Lebermoos)
Unterklasse:	<i>Jungermanniidae</i>
Ordnung:	<i>Jungermanniales</i>
Familie:	<i>Calypogeiaceae</i>
Art:	<i>Calypogeia fissa</i> (L.) Raddi <i>Calypogeia muelleriana</i> (Schiffn.) K. Müll. <i>Calypogeia suecica</i> (Arn. & Perss.) K. Müll.

C. fissa bildet grüne bis blaugrüne, *C. muelleriana* grüne bis gelbgrüne und *C. suecica* gelbgrüne angedrückte Überzüge. Die Pflanzen von *C. fissa* und *C. muelleriana* sind 2-4 cm lang und 1.5-2 mm breit; die von *C. suecica* sind mit einer Länge von 0.5-1 cm deutlich kleiner. Die Flankenblätter stehen parallel zur Stengellängsachse, meist so dicht, daß der obere Rand eines Blattes den unteren Rand des nächsthöheren Blattes verdeckt (**Abb. 4-1**). Bei allen drei *Calypogeia*-Arten treten zweilappige Unterblätter, die oft einen Zahn auf der Außenseite besitzen, auf. Eine Unterscheidung der verschiedenen *Calypogeia*-Arten ist anhand der Blattgestalt möglich: Die Flankenblätter von *C. fissa* sind schief eiförmig oder abgerundet dreieckig; das Blattende ist schmal und spitz und meist schwach, aber deutlich zweigeteilt. *C. muelleriana*

hingegen weist ovale, breit abgerundete oder nach oben verschmälerte und schwach eingebuchtete Flankenblätter auf. Die Flankenblätter von *C. suecica* sind herz- bis breit eiförmig und stumpf zugespitzt. Bei *C. fissa* sind die Unterblätter kaum breiter als das Stämmchen, während sie bei *C. muelleriana* und *C. suecica* doppelt so breit sind. Auf der Stämmchenunterseite sind buschige Rhizoide zu finden. Bei den drei *Calypogeia*-Arten treten 3-8 Ölkörperchen pro Zelle auf.

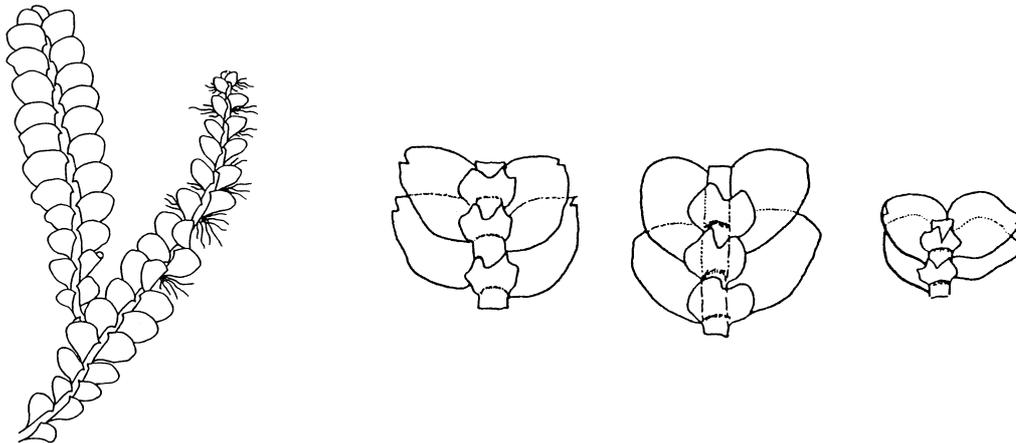


Abb. 4-1: Lebermoose *Calypogeia fissa*, *Calypogeia muelleriana* und *Calypogeia suecica*

C. fissa und *C. muelleriana* sind recht häufig und kommen hauptsächlich im Flachland auf feuchter, lehmiger Erde, saurem, moorigem Humus und morschem Holz vor.

Das untersuchte Pflanzenmaterial von *C. fissa* stammte aus dem Harz und dem Schwarzwald, das von *C. muelleriana* aus Trittau in der Nähe von Hamburg, aus der Lüneburger Heide, aus dem Harz und aus Adelberg bei Göppingen.

C. suecica ist eine seltene, montane Art, die auf feuchtem, morschem Nadelholz wächst. Das untersuchte Material wurde in den Karpathen in der Ukraine gesammelt.

4.1.1.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Calypogeia suecica*

Die Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *C. suecica* wurden bisher noch nicht untersucht. Folgende Inhaltsstoffe des Wasserdampfdestillats konnten identifiziert werden: 7-*epi*-Sesquithujen [6], (+)- γ -Curcumen [135], (+)-*ar*-Curcumen [136], (*Z*)- γ -Bisabolen [6,137], β -Sesquiphellandren [6,138], (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid [a], Bicyclogermacren [6,139], Anastrepten [6,140], 4,5-Dehydroviridiflorol [b], 9-Aristolon [6,141], 1(10),8-Aristoladien [6], Calaren [6], β -Barbaten [6,142] und Italicen [6,143] (**Abb. 4-2, Schema 4-1**).

Durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase wurden (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**), (+)- γ -Curcumen (**3**) und (+)-*ar*-Curcumen (**4**) aus dem ätherischen Öl von *C. suecica* isoliert.

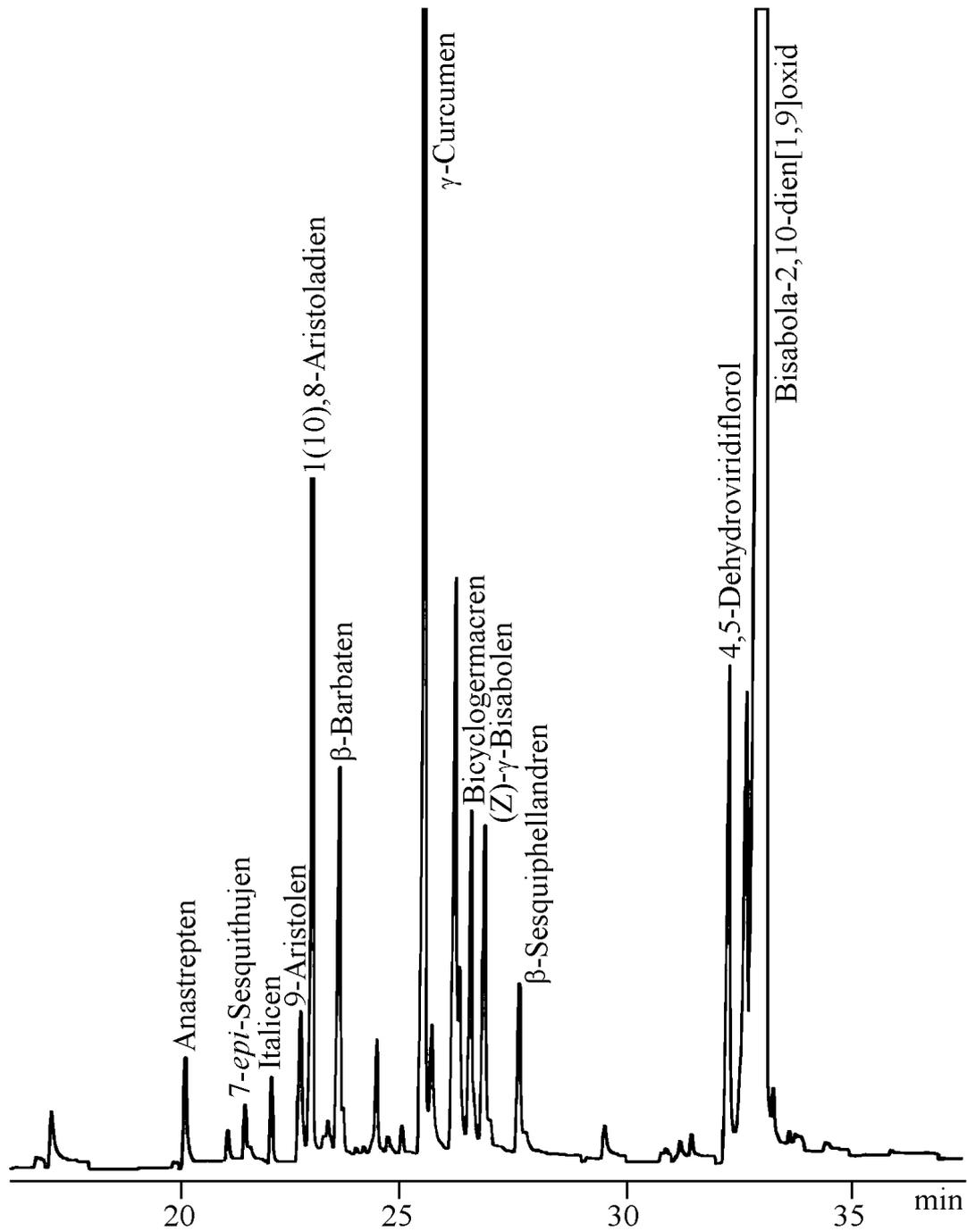
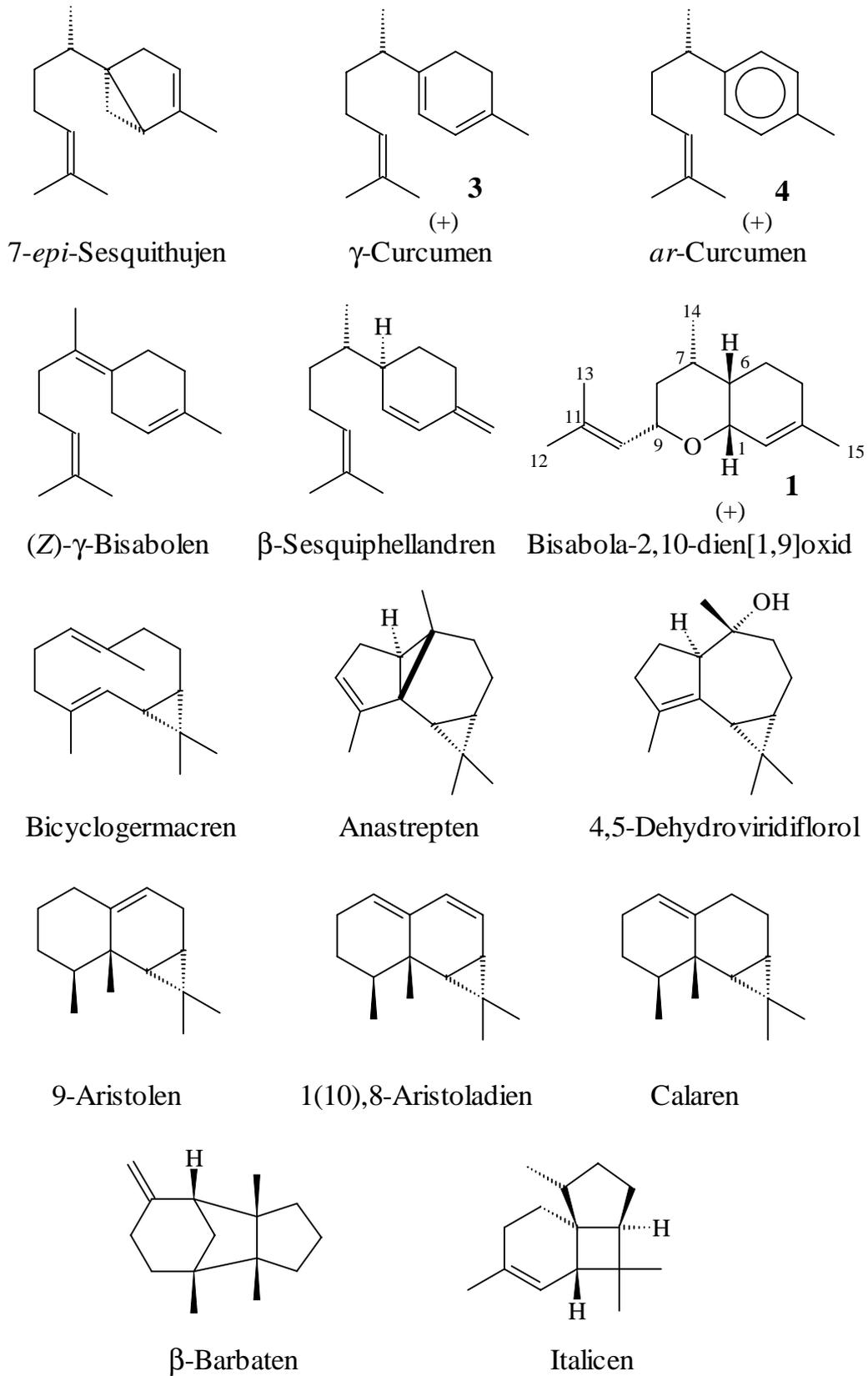


Abb. 4-2: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *Calypogeia suecica*
(CpSil 19, 50°C, 3°/min, 230°C)



Schema 4-1: Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Calypogeia suecica*

(+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid

Die Hauptkomponente des ätherischen Öls von *C. suecica* ist das neue Sesquiterpenoxid (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid {(2*S*,4*S*,4*aS*,8*aR*)-2*H*-3,4,4*a*,5,6,8*a*-Hexahydro-4,7-dimethyl-2-(2-methylpropyliden)-chromen} (**1**). Dessen Massenspektrum zeigt ein Molekülion-Signal bei m/z 220, was einer Summenformel von $C_{15}H_{24}O$ entspricht.

Im 1H -NMR-Spektrum treten ein Dublett für die Protonen einer sekundären Methylgruppe bei δ 0.96, Singulets für die Protonen dreier tertiärer Methylgruppen an Doppelbindungen bei δ 1.67, 1.67 und 1.69, zwei Signale für allylische Protonen in der Nachbarschaft eines Sauerstoffatoms bei δ 3.78 und 4.07 und zwei Signale für olefinische Protonen bei δ 5.21 und 5.57 auf (**Abb. 4-3**).

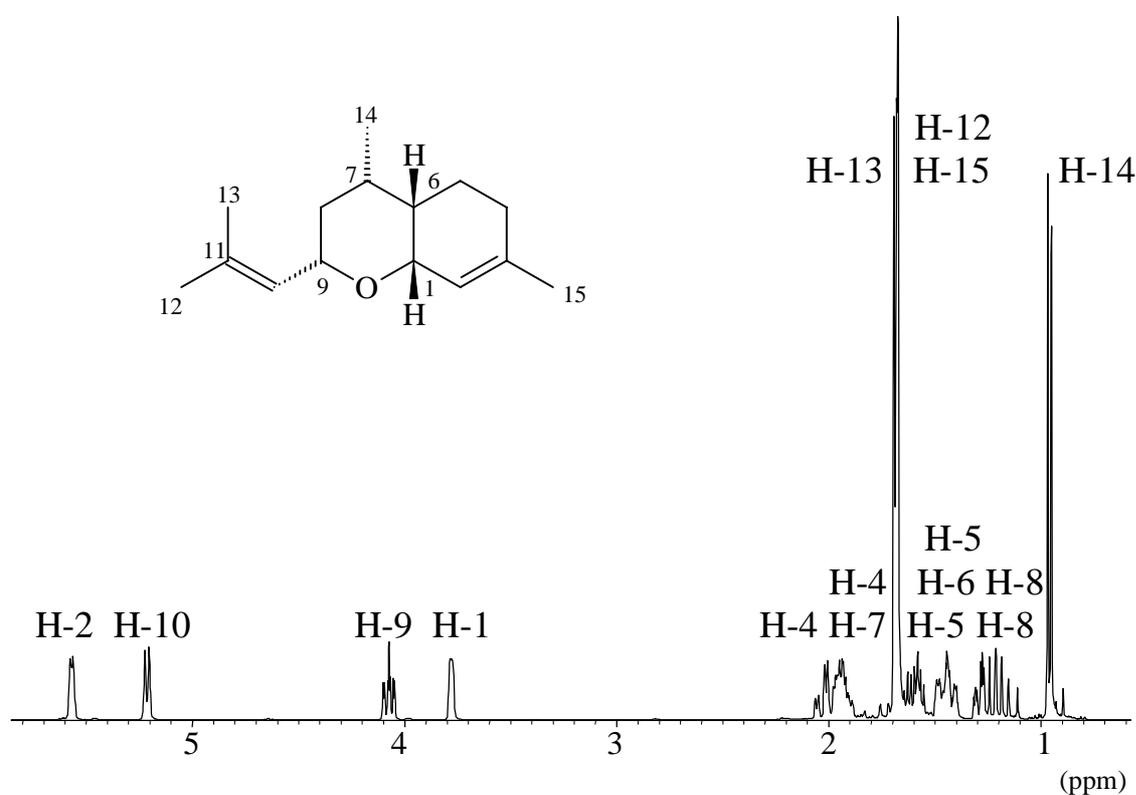


Abb. 4-3: 1H -NMR-Spektrum von Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) (400 MHz, $CDCl_3$)

Im ^{13}C -NMR- und im DEPT-Spektrum sind Signale für die Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 18.8, 19.4, 24.0 und 26.1, drei sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 16.5, 31.6 und 36.1, sechs tertiären Kohlenstoffatomen bei δ 33.4, 38.7, 73.9, 75.3, 122.0 und 127.0 und zwei quartären Kohlenstoffatomen bei δ 135.0 und 140.9 zu erkennen (**Abb. 4-4**). Die schwach zum tiefen Feld verschobenen Signale bei δ 73.9 und 75.3 weisen auf zwei tertiäre Kohlenstoffatome in Nachbarschaft zu einem Sauerstoffatom hin, während die stark zum tiefen Feld verschobenen Signale bei δ 122.0, 127.0, 135.0 und 140.9 die Anwesenheit zweier Doppelbindungen anzeigen.

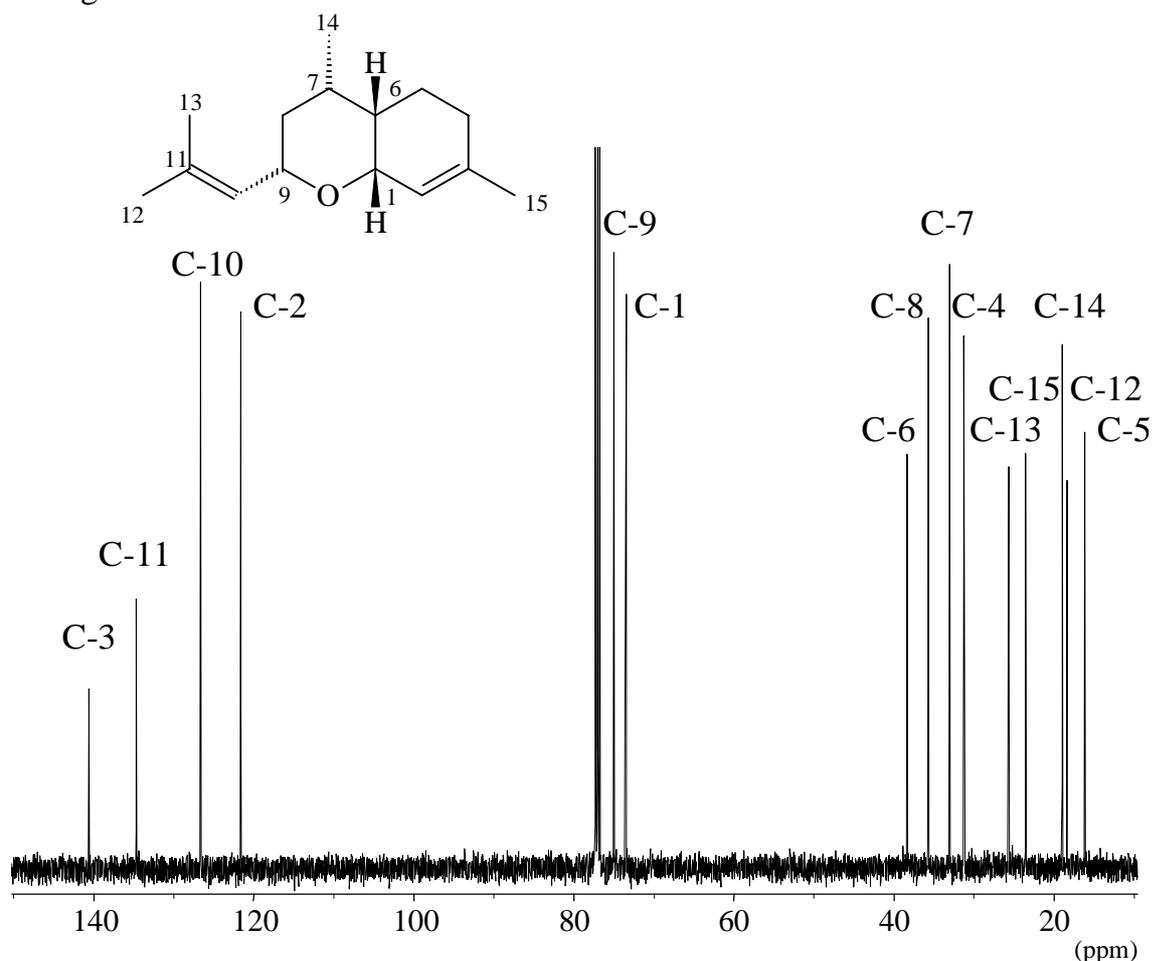


Abb. 4-4: ^{13}C -NMR-Spektrum von Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) (125.7 MHz, CDCl_3)

Das HMQC-Spektrum stellte die Korrelation zwischen dem ^1H - und dem ^{13}C -NMR-Spektrum her (**Abb. 4-5**). Die Verknüpfung der Gruppen ergab sich dann aus dem COSY-GS- und dem HMBC-Spektrum.

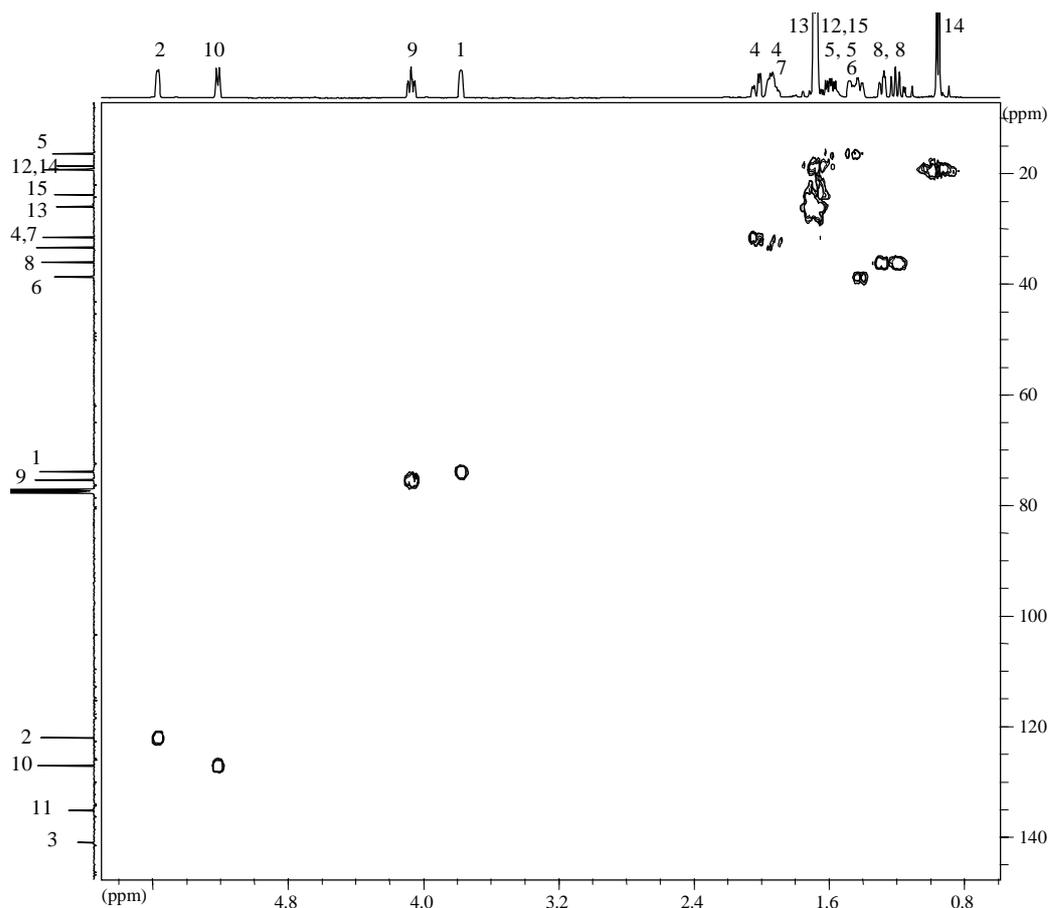


Abb. 4-5: HMBC-Spektrum von Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) (500/125.7 MHz, CDCl_3)

Im COSY-GS-Spektrum sind die Kopplungen zwischen geminalen, vicinalen und allylischen Protonen zu erkennen. Anhand der Kopplung vicinaler und allylischer Protonen konnte eine Kette von benachbarten Methin-, Methylen- und Methylgruppen aufgestellt werden. Da in diesem Molekül nur zwei quartäre olefinische Kohlenstoffatome vorhanden sind, ergab sich bereits aus dem COSY-GS-Spektrum ein fast vollständiges Bild des Moleküls (**Abb. 4-6**, **Abb. 4-7**).

In dem Molekül sind zwei Doppelbindungssysteme vorhanden: Das eine Doppelbindungssystem ist endständig und besteht aus einer Methingruppe (δ 5.21, 127.0, CH-10) und zwei Methylgruppen (δ 1.67, 18.7, CH_3 -12; 1.69, 26.1, CH_3 -13) an einem quartären olefinischen Kohlenstoffatom, während das andere Doppelbindungssystem innerhalb einer Kohlenstoffkette liegt und aus einer Methingruppe (δ 5.57, 122.0, CH-2) und einer Methylgruppe (δ 1.67, 24.0, CH_3 -15) an einem quartären Kohlenstoffatom zusammengesetzt ist. Die Protonen beider Doppelbindungssysteme koppeln untereinander und mit dem Proton jeweils einer der beiden allylischen Methingruppen, die über eine Sauerstoffbrücke miteinander verknüpft sein müssen (δ 4.07, 75.3, CH-9; 3.78, 73.9, CH-1). Das kettenständige Doppelbindungssystem ist

ferner mit einer Kette aus zwei Methylengruppen (δ 1.88 – 2.00, 2.03, 31.6, CH₂-4; 1.38 – 1.51, 1.54 – 1.66, 16.5, CH₂-5) verbunden, die ihrerseits an eine Methingruppe (δ 1.38 – 1.51, 38.7, CH-6) geknüpft ist. Das Proton dieser Methingruppe CH-6 koppelt mit den Protonen der allylischen Methingruppe CH-1 und einer weiteren Methingruppe (δ 1.88 – 2.00, 33.4, CH-7), die außerdem an eine Methylengruppe (δ 1.20, 1.29, 36.1, CH₂-8) und eine Methylgruppe (δ 0.96, 19.4, CH₃-14) gebunden ist. Die Methylengruppe CH₂-8 ist ferner mit der allylischen Methingruppe CH-9 verknüpft. Somit besitzt das Molekül ein Chromen-Gerüst, d.h. es handelt sich um einen Bicyclus aus zwei sechsgliedrigen Ringen mit einem Sauerstoffatom und einer Doppelbindung im Ring und zwei Methylgruppen und einer 2-Methylpropyliden-gruppe als Substituenten.

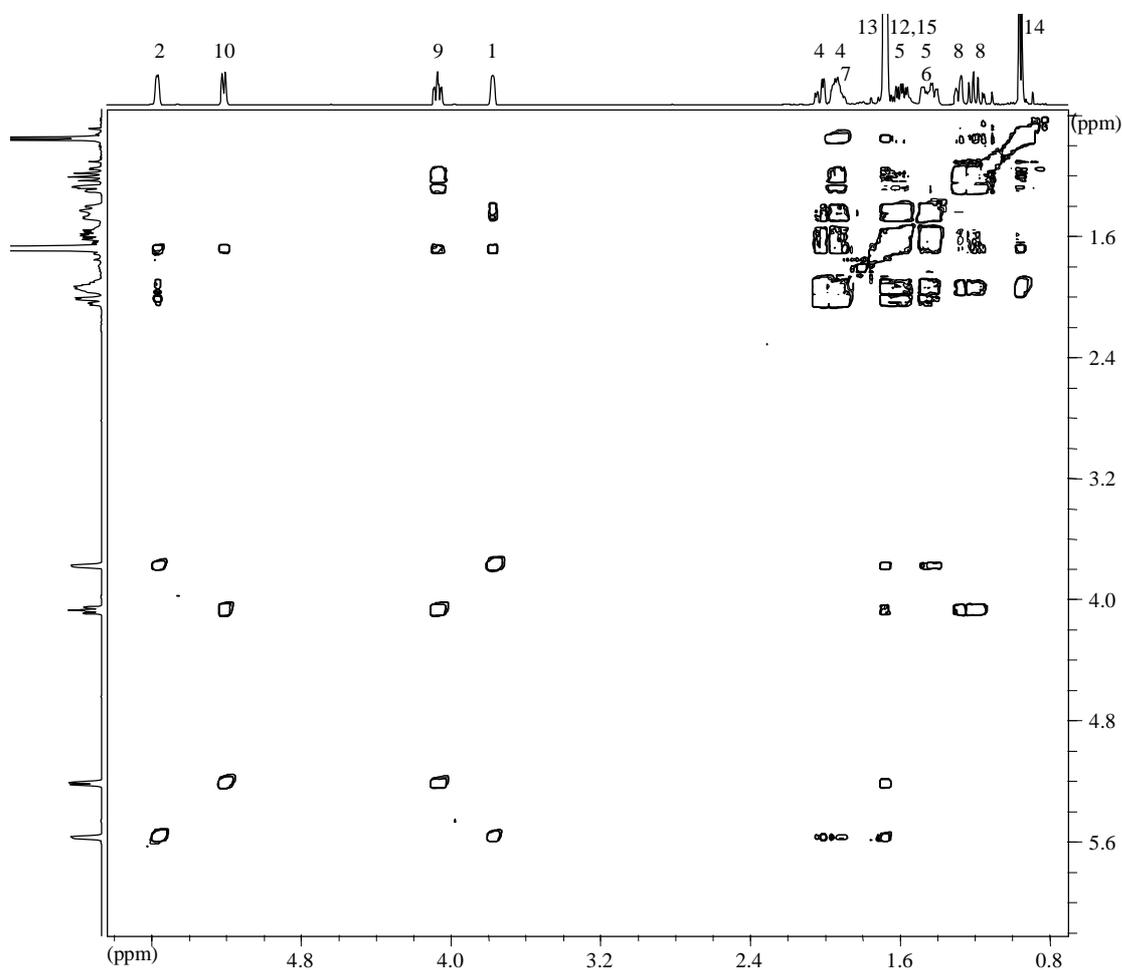


Abb. 4-6: COSY-GS-Spektrum von Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) (500 MHz, CDCl₃)

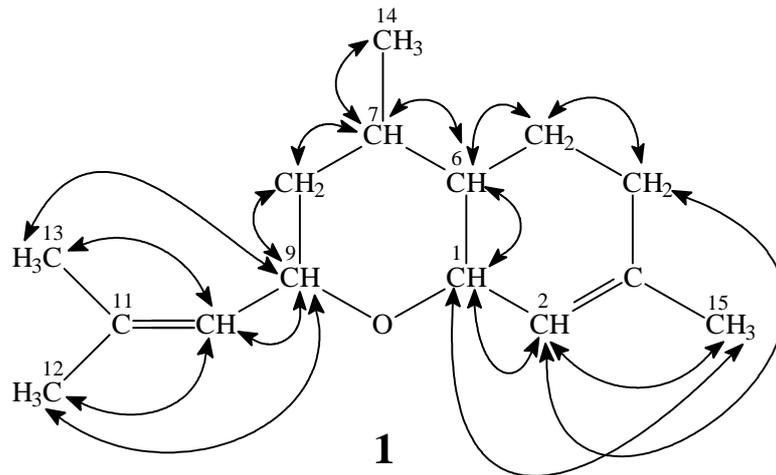


Abb. 4-7: Wechselwirkungen der Protonen im COSY-GS-Spektrum von Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**)

Im HMBC-Spektrum sind die Fernkopplungen eines Kohlenstoffkerns zu den Protonen der benachbarten Gruppen zu erkennen, woraus sich einige zusätzliche Informationen ergeben (**Abb. 4-8**, **Abb. 4-9**).

Zum einen ist eine Fernkopplung der Protonen und Kohlenstoffkerne der Methingruppen CH-9 und CH-1 über die Sauerstoffbrücke zu beobachten, zum anderen ergaben sich aus dem HMBC-Spektrum Informationen über die quartären olefinischen Kohlenstoffatome, die im COSY-GS-Spektrum nur indirekt zu erkennen waren. Der Kern eines der quartären olefinischen Kohlenstoffatome (δ 135.0, C-11) koppelt mit den Protonen der Methingruppe CH-9 und der Methylgruppen CH₃-12 und CH₃-13, während der Kern des anderen quartären olefinischen Kohlenstoffatoms (δ 140.9, C-3) eine Kopplung zu den Protonen der Methingruppe CH-1, der Methylgruppe CH₃-15 und der Methylengruppen CH₂-4 und CH₂-5 zeigt. Es sind einige weitere Fernkopplungen zu erkennen, die sich problemlos mit der Molekülkette, die sich aus dem COSY-GS-Spektrum ergab, vereinbaren lassen.

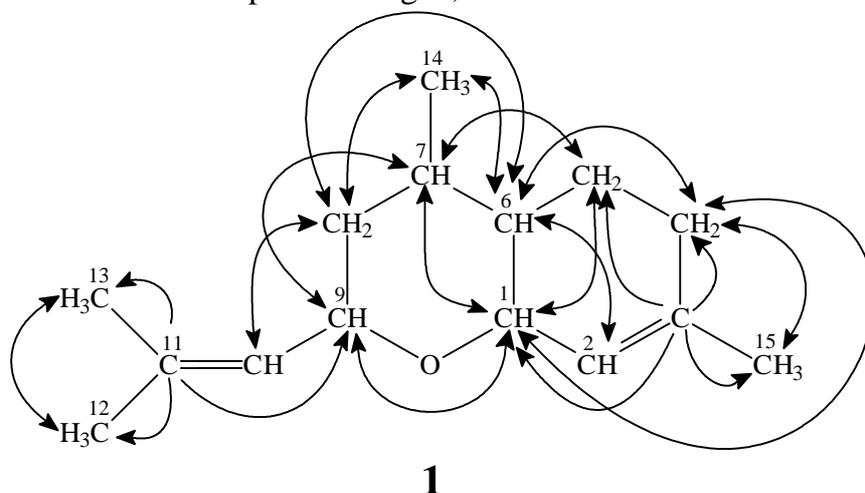


Abb. 4-8: Wechselwirkungen der Protonen und Kohlenstoffkerne im HMBC-Spektrum von Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) (Die Wechselwirkungen, die denen im COSY-GS-Spektrum entsprechen, wurden hier weggelassen.)

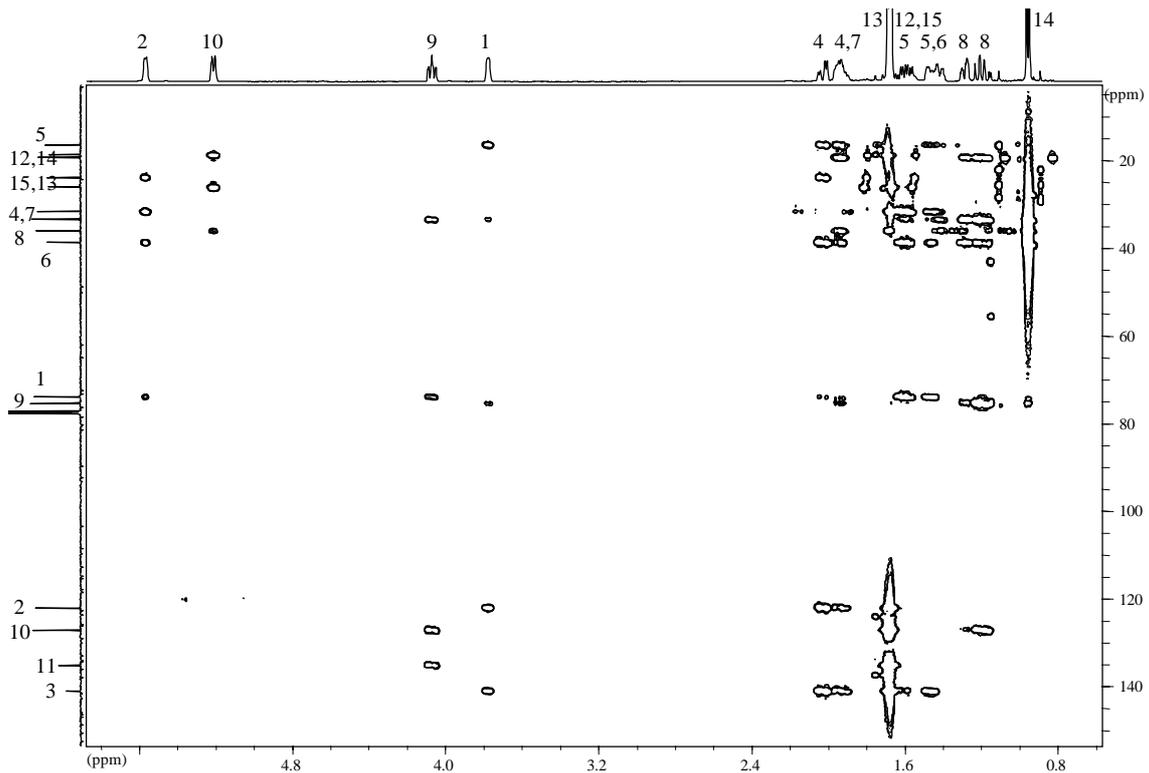


Abb. 4-9: HMBC-Spektrum von Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) (500/125.7 MHz, CDCl_3)

Die relative Konfiguration an den Kohlenstoffatomen C-1, C-6, C-7 und C-9 konnte mit Hilfe eines NOESY-Spektrums ermittelt werden (**Abb. 4-10**, **Abb. 4-11**). Aufgrund der Wechselwirkung der Protonen H-1, H-6, H-7 und H-11 durch den Raum müssen diese Wasserstoffatome im Molekül auf derselben Seite liegen.

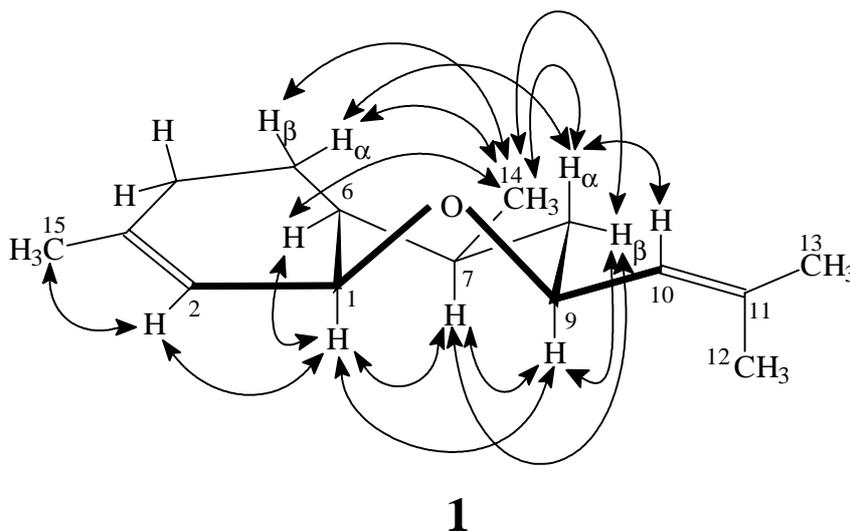


Abb. 4-10: Wechselwirkungen der Protonen im NOESY-Spektrum von Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**)

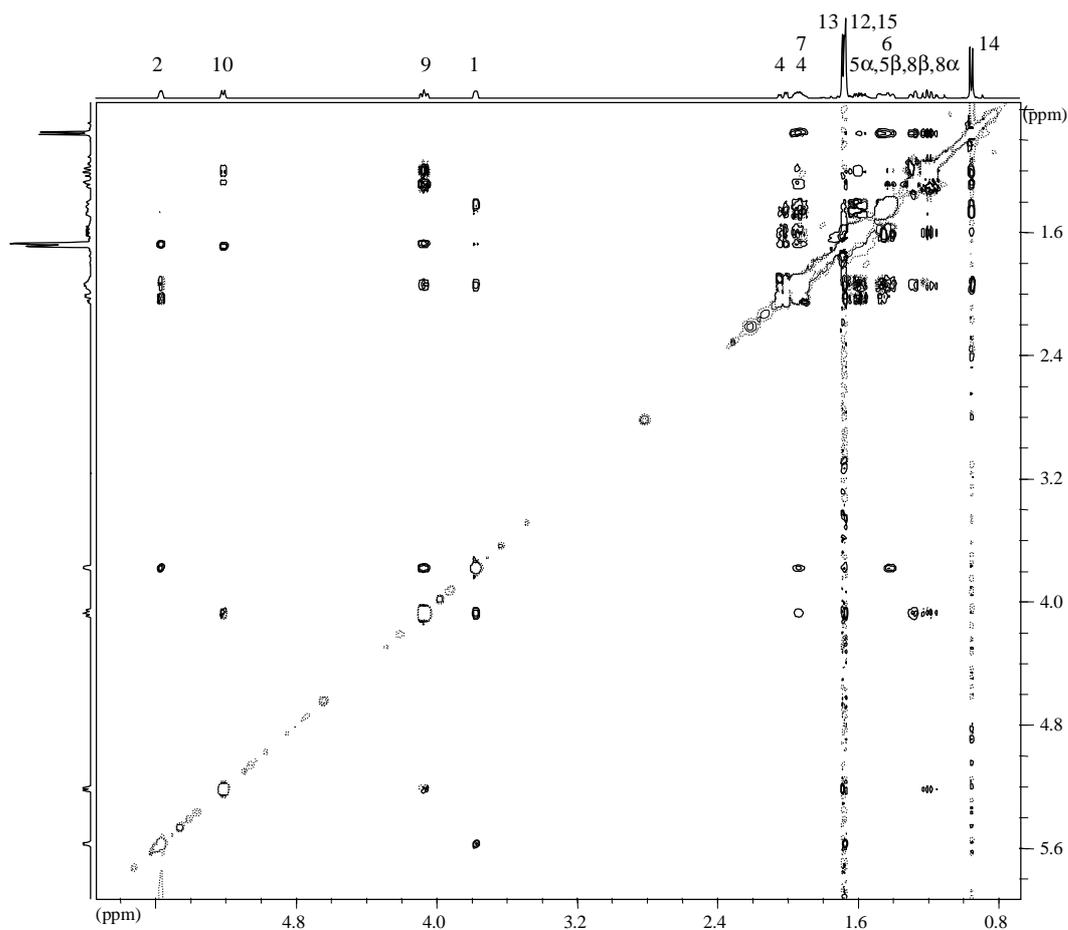


Abb. 4-11: NOESY-Spektrum von Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) (500 MHz, CDCl_3)

Die absolute Konfiguration wurde durch eine Korrelationsreaktion bestimmt. (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) wurde schrittweise hydriert und die Reaktion mittels GC-MS verfolgt. Nach Öffnung des Oxids führte weitere Hydrierung unter Verlust der Hydroxygruppe zu vollständig gesättigten Bisabolanen. Diese Bisabolane wurden mit den Hydrierungsprodukten von (–)- β -Curcumen (**2**) [6,135], dessen absolute Konfiguration bekannt war, verglichen: Einige der Reaktionsprodukte beider Hydrierungen haben identische Massenspektren und identische Retentionszeiten auf achiralen GC-Phasen, können jedoch auf einer chiralen GC-Phase getrennt werden. Daher müssen die gesättigten Bisabolane aus den beiden Reaktionen die entgegengesetzte absolute Konfiguration besitzen (**Abb. 4-12**).

(–)- β -Curcumen (**2**) stammte aus dem ätherischen Öl von *Curcuma javanica* [144].

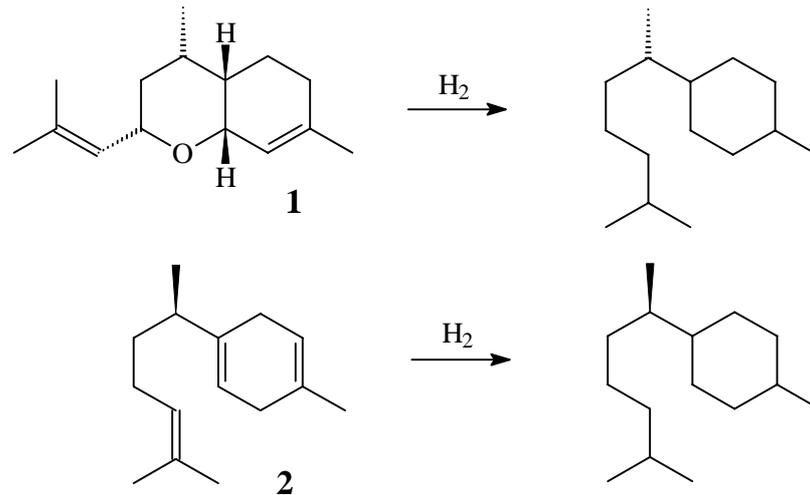


Abb. 4-12: Hydrierung von (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) und (-)-β-Curcumen (**2**)

Wie zu erwarten, haben (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) und die anderen Sesquiterpene mit Bisabolan-Grundgerüst aus *C. suecica*, (+)-γ-Curcumen (**3**) und (+)-α-Curcumen (**4**), dieselbe absolute Konfiguration (**Schema 4-1**).

4.1.1.2. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls und des Extrakts von *Calypogeia muelleriana*

Die Inhaltsstoffe von *C. muelleriana* wurden durch Wasserdampfdestillation oder durch Extraktion gewonnen.

Das Wasserdampfdestillat zeigt je nach verwendetem Pflanzenmaterial eine mehr oder weniger intensive blaugrüne Färbung, die auf die Anwesenheit von Azulenen schließen lässt. Eine intensive Färbung auch schon der Ölkörperchen der Pflanze tritt bei dem Lebermoos aus Süddeutschland auf, während die Färbung bei dem Lebermoos aus Norddeutschland schwach ist. Dies steht im Einklang mit der Beschreibung zweier verschiedener *Calypogeia*-Arten: *Calypogeia trichomanis* (*azurea*) – das nur in Süddeutschland vorkommt und blaugrüne Ölkörperchen aufweist – und *Calypogeia muelleriana* – das weitverstreut ist und helle Ölkörperchen besitzt [8,9]. Morphologisch sind sich diese beiden Lebermoos-Arten sehr ähnlich. Da die Konzentration der Azulene der einzige Unterschied zwischen den ätherischen Ölen der verschiedenen Pflanzenproben war, scheint es vernünftig, sie einer Lebermoos-Art zuzuordnen.

Die Inhaltsstoffe der ätherischen Öle und Extrakte von *C. muelleriana* und *C. trichomanis* (*azurea*) waren bereits früher untersucht worden.

Als Inhaltsstoffe von *C. muelleriana* waren einige Sesquiterpene bekannt [39,40]: β -Elemen, Bicycloelemen, Anastrepten, Leden, Bicyclogermacren, 3α -Hydroxybicyclogermacren, 3α -Acetoxybicyclogermacren, 2-Acetoxy-3-hydroxybicyclogermacren, 3-Acetoxy-2-hydroxybicyclogermacren und Eremophilin.

Für *C. trichomanis* (*azurea*) waren folgende Azulene, Indene und Sesquiterpene bekannt [26,39,40,57,145-151]: 1,4-Dimethylazulen, 4-Methyl-1-methoxycarbonylazulen, 4-Methylazulen-1-carbaldehyd, 4-Methylazulen-1-carbonsäure, 4-Hydroxymethylazulen-1-carbonsäuremethylester, Azulen-1,4-dicarbonensäure, 4-Carboxy-1-methoxycarbonylazulen, 1-Methoxycarbonylazulen-4-carbaldehyd, 1,4-Dimethylazulen-3-carbaldehyd, 3,7-Dimethyl-5-methoxycarbonylinden, 2,7-Dimethyl-5-methoxycarbonylinden, Guaiazulen, β -Elemen, Bicycloelemen, Trinoranastrepten, Anastrepten, Leden, Bicyclogermacren, 3α -Hydroxybicyclogermacren, 3α -Acetoxybicyclogermacren, 2-Acetoxy-3-hydroxybicyclogermacren, 3-Acetoxy-2-hydroxybicyclogermacren, 1,2-Dehydro-3-oxo- β -gurjunen, Calamenen und Eremophilin.

Bei der erneuten Untersuchung des ätherischen Öls und des Extrakts von *C. muelleriana* wurden 47 Komponenten identifiziert: 1,4-Dimethylazulen [152], Guaiazulen [6], (-)-Bicyclogermacren [139], Bicycloelemen [6], β -Elemen [6], (+)-Anastrepten [140], (+)- α -Gurjunen [153], (-)-10(14)-Aromadendren [154], (-)- β -Spathulen [155], (+)-*allo*-10(14)-Aromadendren [154], 9-Aromadendren [6,153], *allo*-9-Aromadendren [6,153], (-)-Leden [154], β -Spathulenol [155,156], (+)-Globulol [154,156], (-)-Viridiflorol [154,156], (+)-3-Hydroxyleden [b,157], (+)-4,5-Dehydroviridiflorol [b], Guaia-1(5),6-dien [6], γ -Gurjunen [6], (-)-Guai-5-en-11-ol [158], (+)-11-Bourbonen [b,6,159-161], Tritomaren [b,6,159-161], (+)-Maali-1,3-dien [b,6], α -Maalien [162], (+)- γ -Maalien [163], (-)-Maaliol [164], δ -Selinen [6], (-)-Rosifoliol [165], 9-Aristolen [6], Calaren [6], Valenc-1(10)-en-7-ol [166], (+)-Spirovetiv-1(10)-en-7-ol [167], Germacren D [6], γ -Cadinen [6], Calamenen [6], (+)- δ -Cadinen [6], Cadina-1,4-dien [6], α -Calacoren [6], γ -Calacoren [6], (-)-T-Muurolol [168,169], T-Cadinol [168,169], (-)- α -Cadinol [168], Cadalen [6], 5-Hydroxycalamenen [170], δ -Cuprenen [6] und β -Barbaten [6,142] (**Abb. 4-13, Schema 4-2**).

Wasserdampfdestillat und Extrakt haben dieselbe Zusammensetzung der Inhaltsstoffe. Durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung von Säulen mit SE 30- und 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase wurden unter anderem (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**5**) und (-)-Leden (**6**) aus dem ätherischen Öl von *C. muelleriana* isoliert.

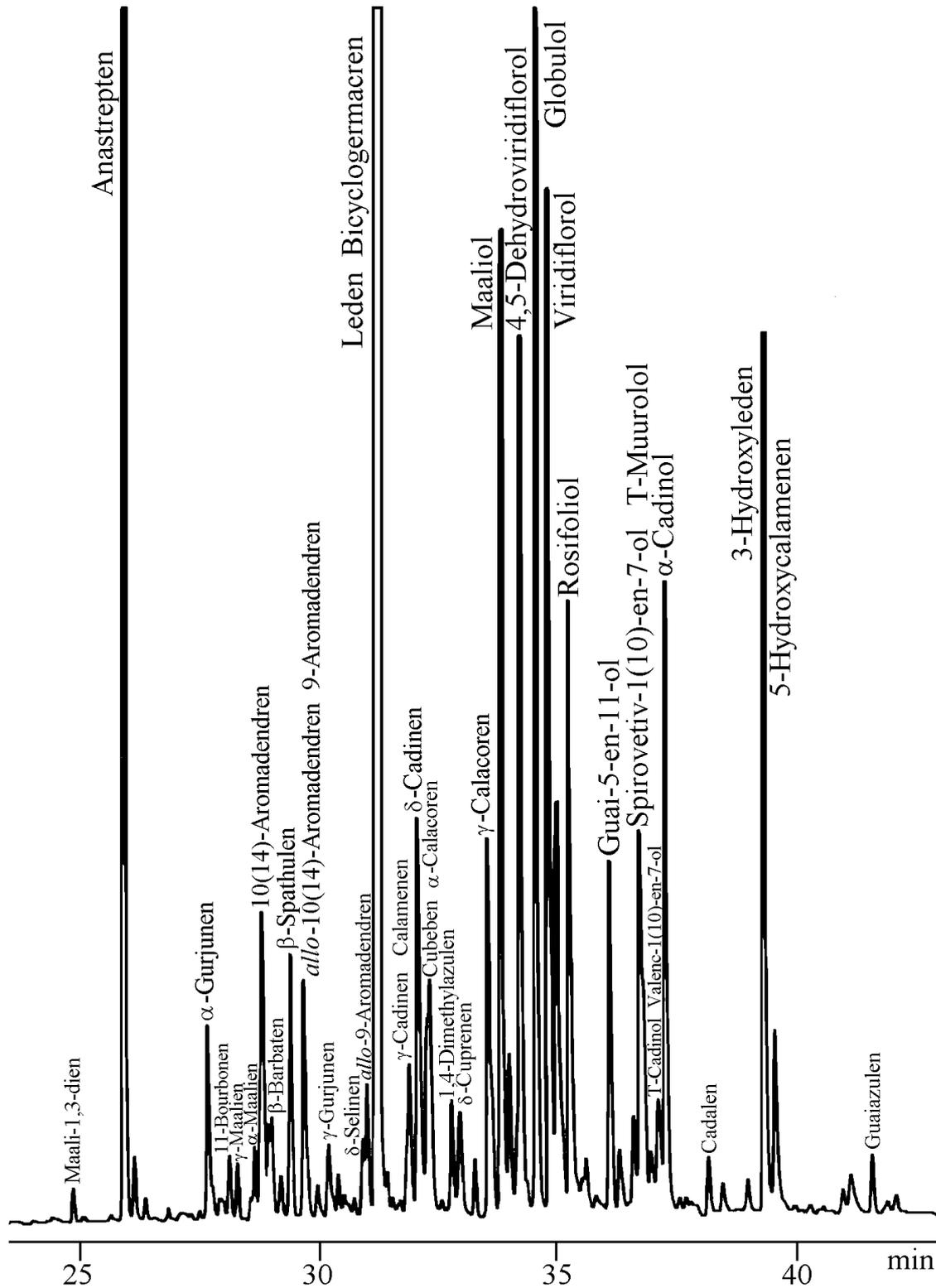
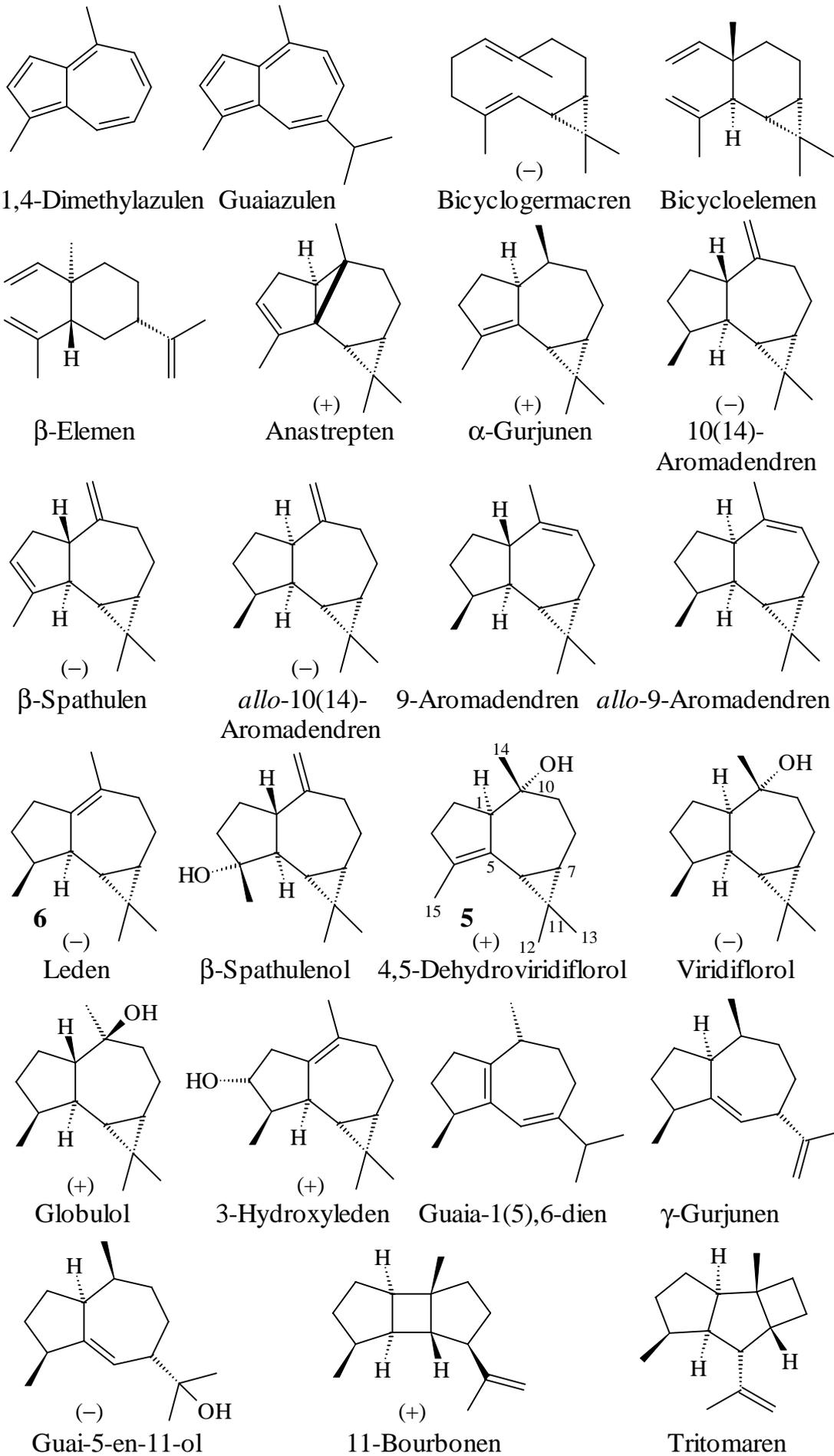
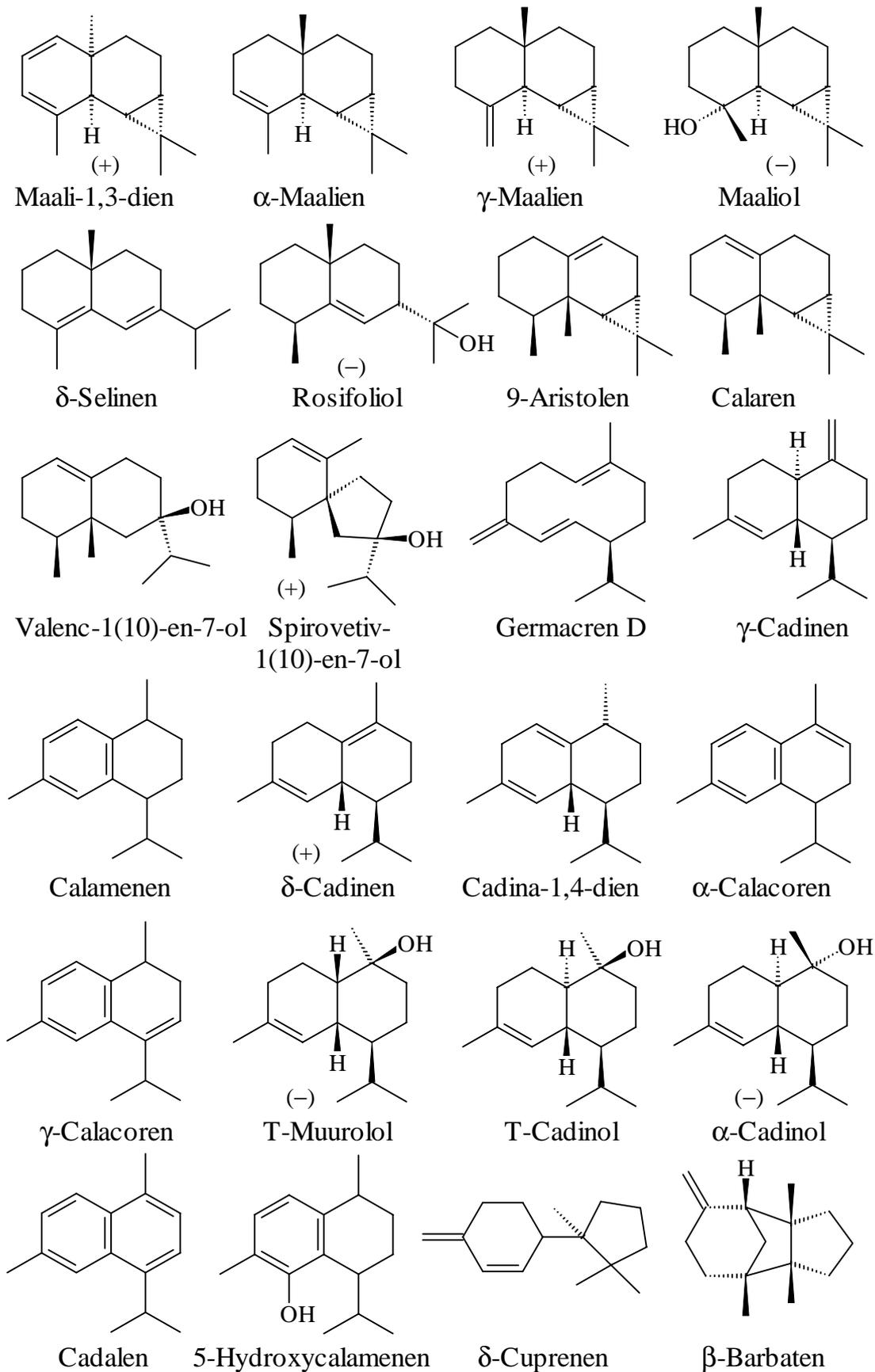


Abb. 4-13: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *Calypogeia muelleriana* (CpSil 5, 50°C, 3°/min, 230°C)





Schema 4-2: Inhaltsstoffe des ätherischen Öls und des Extrakts von *Calypogeia muelleriana*

(+)-4,5-Dehydroviridiflorol

(+)-4,5-Dehydroviridiflorol $\{(1aS,4R,4aR,7bR)-1a,2,3,4,4a,5,6,7b-1H\text{-Octahydro-4-hydroxy-1,1,4,7-tetramethylcycloprop[}e\text{]azulen}\}$ (**5**) ist ein neuer Sesquiterpenalkohol mit Aromadendran-Grundgerüst.

Im Massenspektrum tritt das Molekülion-Signal bei m/z 220 auf, womit der Verbindung die Summenformel $C_{15}H_{24}O$ zugeordnet wird.

Das $^1H\text{-NMR}$ -Spektrum weist Singulets für Protonen von vier tertiären Methylgruppen bei δ 0.89, 1.11, 1.15 und 1.67 auf. Das stark tieffeldverschobene Signal bei δ 1.67 deutet auf eine Methylgruppe an einer Doppelbindung, das schwach tieffeldverschobene Signal bei δ 1.15 auf eine Methylgruppe in Nachbarschaft zu einer Hydroxygruppe hin. Die Signale der Protonen des Cyclopropan-Ringes sind aufgrund des Einflusses der benachbarten Doppelbindung nur schwach hochfeldverschoben und erscheinen bei δ 0.82 – 0.92 und 1.13.

Das $^{13}C\text{-NMR}$ - und das DEPT-Spektrum zeigen Signale für Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 14.6, 16.2, 25.2 und 29.1, vier sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 19.3, 25.4, 35.8 und 42.7, drei tertiären Kohlenstoffatomen bei δ 26.0, 28.0 und 55.1 und vier quartären Kohlenstoffatomen bei δ 21.7, 74.7, 133.3 und 138.1. Auffällig sind die beiden tieffeldverschobenen Signale bei δ 133.3 und 138.1, die quartären Kohlenstoffatomen einer Doppelbindung entsprechen, und das schwach tieffeldverschobene Signal bei δ 74.7, das ein quartäres Kohlenstoffatom mit einer Hydroxygruppe andeutet.

Mit Hilfe der COSY-GS-, HMQC- und HMBC-Spektren konnte die Struktur von 4,5-Dehydroviridiflorol (**5**) aufgestellt werden (Abb. 4-14).

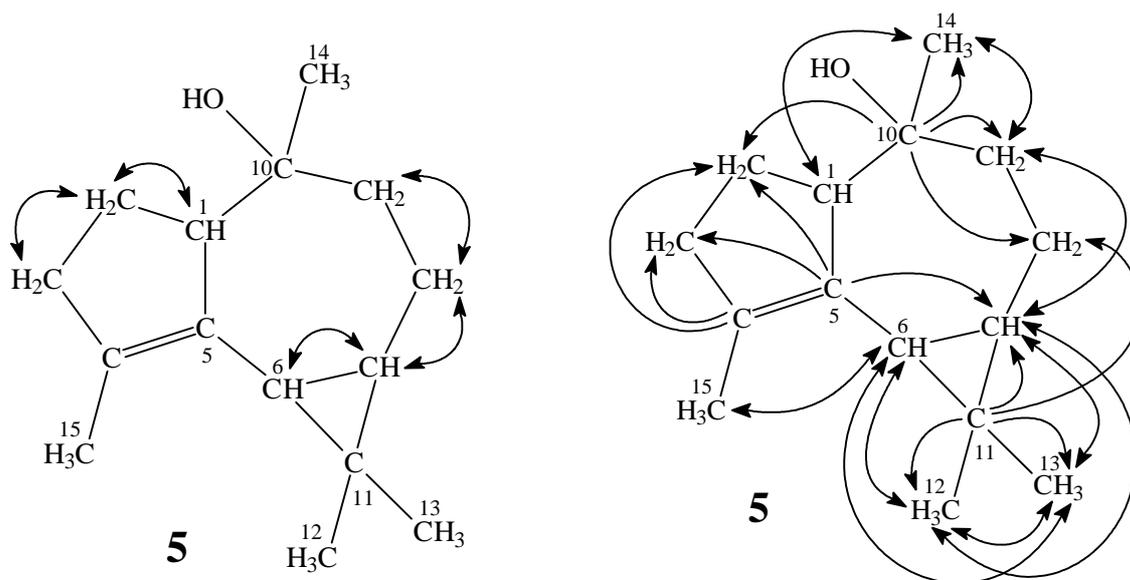
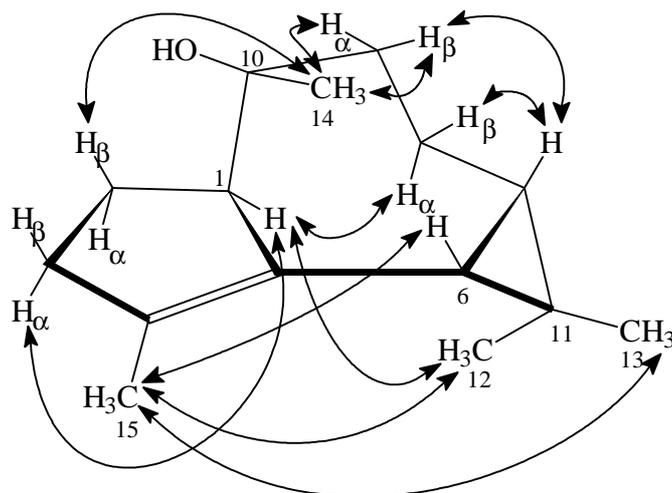


Abb. 4-14: Wechselwirkungen im COSY-GS- und im HMBC-Spektrum von 4,5-Dehydroviridiflorol (**5**) (Die Wechselwirkungen im HMBC-Spektrum, die denen im COSY-GS-Spektrum entsprechen, wurden hier weggelassen.)

Die relative Konfiguration an den chiralen Zentren C-1, C-6, C-7 und C-10 ergab sich aus dem NOESY-Spektrum. Da die Sättigung der Resonanz des Protons H-1 zu einer Intensitätszunahme des Signals der Protonen der Methylgruppe CH₃-12, nicht jedoch des Signals der Protonen der Methylgruppe CH₃-14 führt, ist davon auszugehen, daß sich der Cyclopropan-Ring und das Proton H-1 auf derselben Molekülseite und die Methylgruppe CH₃-14 auf der gegenüberliegenden Molekülseite befinden (**Abb. 4-15**).



5

Abb. 4-15: Wechselwirkungen im NOESY-Spektrum von 4,5-Dehydroviridiflorol (**5**)

Die absolute Konfiguration wurde durch eine Korrelationsreaktion bestimmt. Die Hydrierung von (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**5**) führte unter Verlust der Hydroxygruppe zu vollständig gesättigten Aromadendranen, die mit den Reaktionsprodukten der Hydrierung von (–)-Leden (**6**) korreliert werden konnten. Da einige der Hydrierungsprodukte identische Massenspektren und Retentionszeiten an achiralen und an chiralen GC-Phasen besitzen, sollten die relative und die absolute Konfiguration dieser gesättigten Aromadendrane übereinstimmen (**Abb. 4-16**).

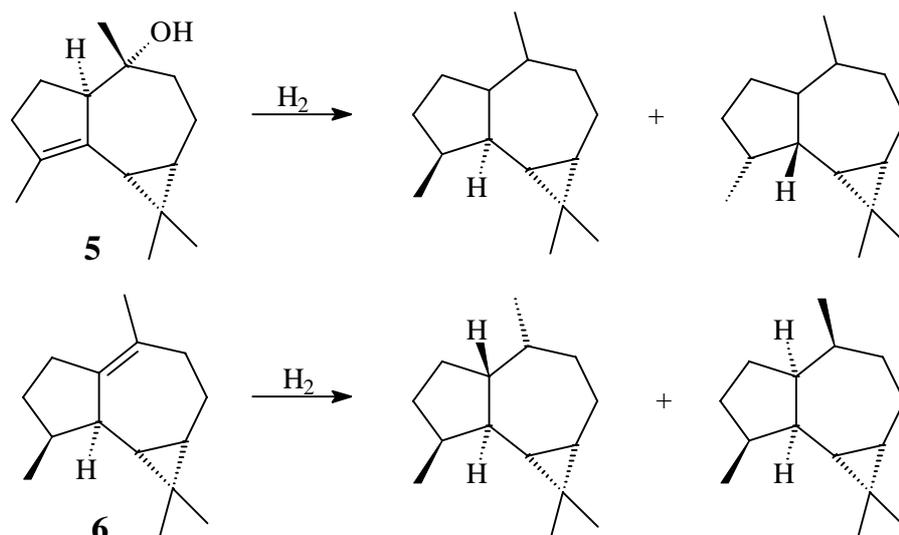


Abb. 4-16: Hydrierung von (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**5**) und (-)-Leden (**6**)

4.1.1.3. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Calypogeia fissa*

Die Sesquiterpene des ätherischen Öls von *C. fissa* wurden bisher noch nicht untersucht.

Folgende Sesquiterpene wurden in dem Wasserdampfdestillat gefunden: Maali-1,3-dien [b,6], Anastrepten [6,140], *cis*- α -Bergamoten [6], α -Cedren [6], β -Cedren [6], 10(14)-Aromadendren [6,154], 7,8-Dehydro- α -acoradien [c], α -Acoradien [6,171], *ar*-Curcumen [136], γ -Curcumen [135], δ -Selinen [6], *allo*-9-Aromadendren [6,153], Bicyclogermacren [6,139], Leden [6,154], β -Alasken [6,172,173], β -Bisabolen [6], (-)- α -Alasken [172-174], (-)-Maaliol [164], 4,5-Dehydroviridiflorol [b], Globulol [154], Rosifoliol [165], (+)-10 β (*H*)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol [c], (-)- α -Alasken-6 β -ol [c] und (-)- α -Alasken-8-on [c] (**Abb. 4-17, Schema 4-3**).

C. fissa wurde im Harz und im Schwarzwald gesammelt. Die ätherischen Öle der beiden Pflanzenproben unterscheiden sich durch das Auftreten von (-)- α -Alasken-8-on, das allein in dem Lebermoos aus dem Harz enthalten ist.

Die meisten Inhaltsstoffe von *C. fissa* waren bekannt, vier der identifizierten Sesquiterpene sind jedoch neu: (+)-10 β (*H*)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol (**7**) [c], (-)- α -Alasken-6 β -ol (**13**) [c], (-)- α -Alasken-8-on (**16**) [c] und 7,8-Dehydro- α -acoradien (**19**) [c]. Diese Verbindungen konnten durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase aus dem ätherischen Öl von *C. fissa* isoliert werden.

Derivatisierungsreaktionen lieferten weitere neue Verbindungen: (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) [c], (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (**9**) [c], 5,6-Dehydro- α -alasken (**15**) [c], α -Alasken-8 α -ol (**17**) [c] und α -Alasken-8 β -ol (**18**) [c].

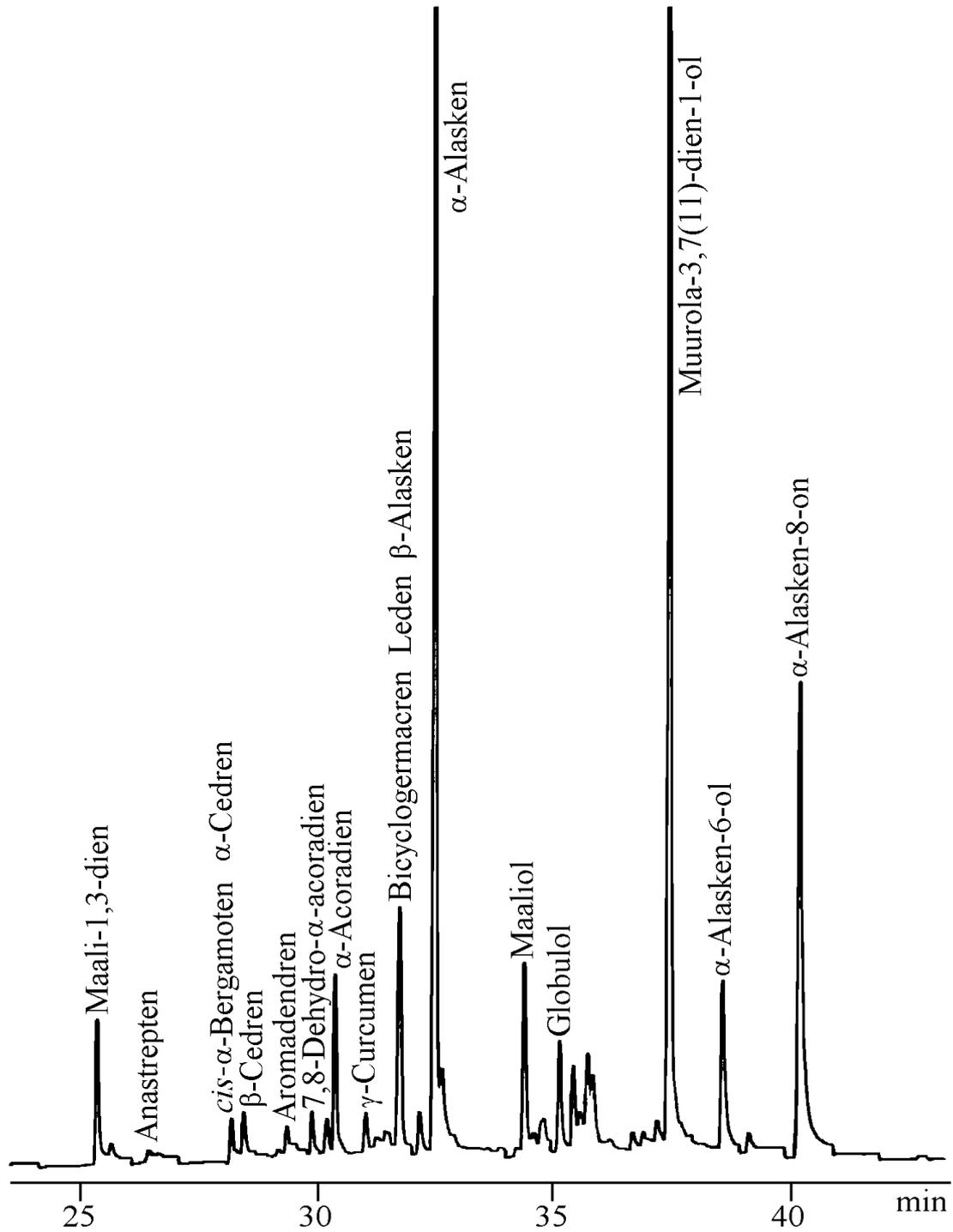
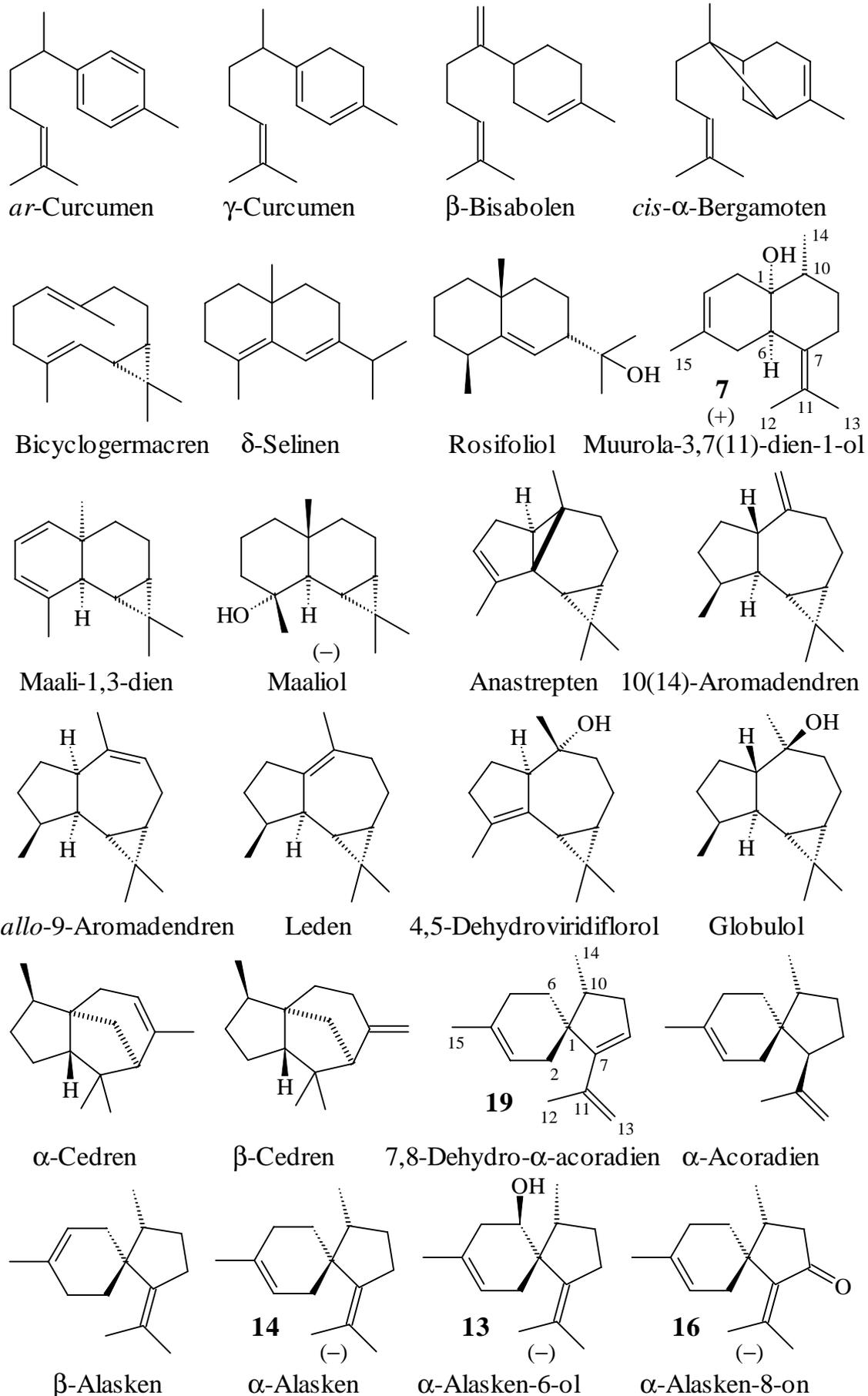


Abb. 4-17: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *Calypogeia fissa*
(CpSil 5, 50°C, 3°/min, 230°C)



Schema 4-3: Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Calypogeia fissa*

(+)-10 β (H)-Muurola-3,7(11)-dien-1-ol

(+)-10 β (H)-Muurola-3,7(11)-dien-1-ol $\{(4R,4aR,8aR)$ -1,2,3,4,4a,5,8,8a-Octahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyliden)-naphthalen-4a-ol $\}$ (**7**) ist ein neuer Sesquiterpenalkohol, dessen Massenspektrum ein Moleküllion-Signal bei m/z 220 zeigt und dem Molekül damit die Summenformel $C_{15}H_{24}O$ zuweist.

Im 1H -NMR-Spektrum sind ein Signal für ein olefinisches Proton bei δ 5.27, Singulets für Protonen dreier tertiärer Methylgruppen an Doppelbindungen bei δ 1.64, 1.72 und 1.72 und ein Dublett für Protonen einer sekundären Methylgruppe bei δ 0.84 zu erkennen.

Das ^{13}C -NMR- und das DEPT-Spektrum zeigen Signale für Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 14.8, 20.0, 20.7 und 22.8, vier sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 24.2, 30.9, 34.0 und 35.3, drei tertiären Kohlenstoffatomen bei δ 30.8, 44.5 und 118.7 und vier quartären Kohlenstoffatomen bei δ 72.6, 127.0, 130.1 und 132.6. Durch das schwach zum tiefen Feld verschobene Signal bei δ 72.6 gibt sich ein quartäres Kohlenstoffatom, das an ein Sauerstoffatom gebunden ist, zu erkennen. Die stark zum tiefen Feld verschobenen Signale bei δ 118.7, 127.0, 130.1 und 132.6 deuten die Anwesenheit zweier olefinischer Doppelbindungen an.

Mit Hilfe der Informationen aus dem HMQC-, dem COSY-GS- und dem HMBC-Spektrum konnte die Struktur des Moleküls aufgestellt werden (**Abb. 4-18**).

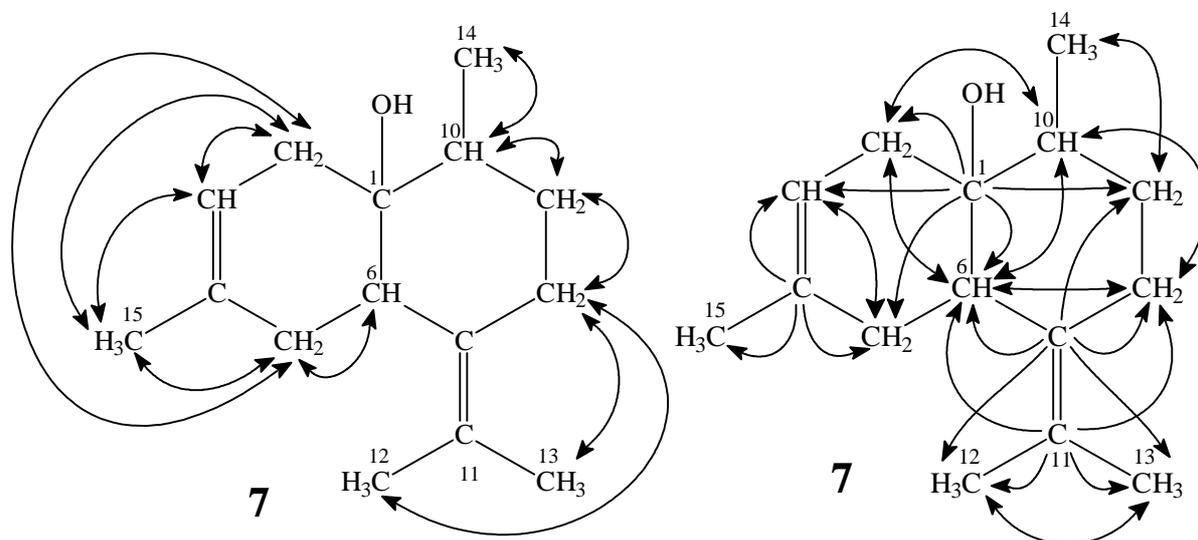


Abb. 4-18: Wechselwirkungen im COSY-GS- und im HMBC-Spektrum von 10 β (H)-Muurola-3,7(11)-dien-1-ol (**7**) (Die Wechselwirkungen im HMBC-Spektrum, die denen im COSY-GS-Spektrum entsprechen, wurden hier weggelassen.)

Die relative Konfiguration an den Kohlenstoffatomen C-1, C-6 und C-10 ergab sich aus dem NOESY-Spektrum. Die Sättigung der Resonanz des Protons H-6 hat eine Zunahme der Intensität der Signale der Protonen H-5 α und H-2 α zur Folge, während das Proton H-10 mit den Protonen H-5 β und H-8 β wechselwirkt. Die beobachteten Wechselwirkungen sind nur für ein *cis*-verknüpftes bicyclisches System möglich, in dem sich die Wasserstoffatome H-6 und H-10 auf verschiedenen Seiten des Moleküls befinden (**Abb. 4-19**).

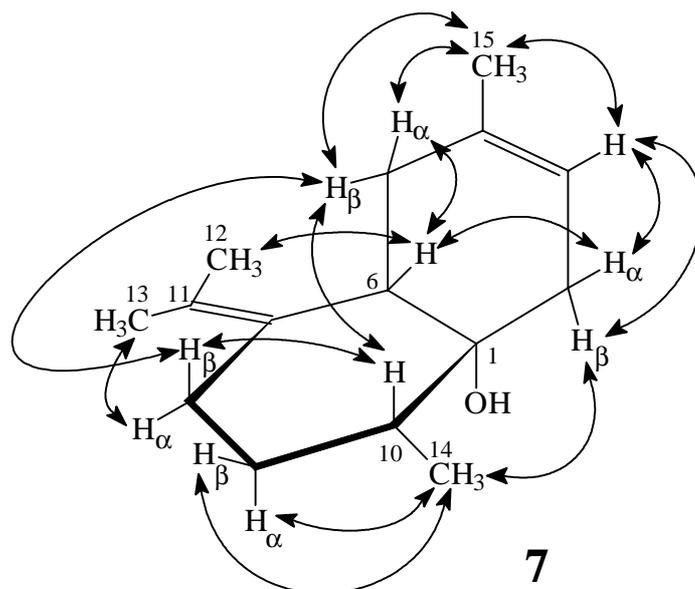


Abb. 4-19: Wechselwirkungen im NOESY-Spektrum von 10 β (*H*)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol (**7**)

Dehydratisierung von (+)-10 β (*H*)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol zu (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien

Bei der Dehydratisierung von (+)-10 β (*H*)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol (**7**) entstand ein Produkt, das als (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien {(4*aR*)-2,3,4,4*a*,5,8-Hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyliden)-naphthalen} (**8**) identifiziert wurde. Es handelt sich um einen neuen Sesquiterpenkohlenwasserstoff (**Abb. 4-20**), der durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase gereinigt wurde.

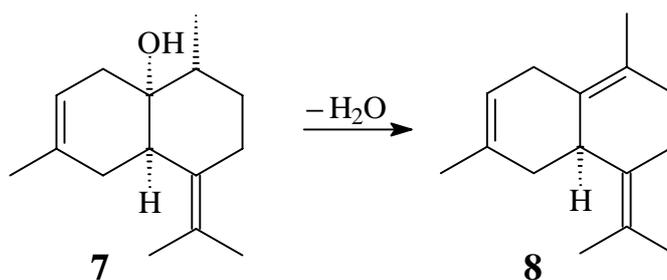


Abb. 4-20: Dehydratisierung von (+)-10 β (*H*)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol (**7**) zu (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**)

Das Massenspektrum von (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) zeigt ein Molekülion-Signal bei m/z 202 und weist dem Molekül damit die Summenformel $C_{15}H_{22}$ zu. Im 1H -NMR-Spektrum können Singulets für Protonen von vier allylischen Methylgruppen an quartären Kohlenstoffatomen bei δ 1.64, 1.66, 1.70 und nochmals 1.70 und ein Signal für ein olefinisches Proton bei δ 5.38 beobachtet werden. Die Strukturklärung basierte auf einem COSY-GS-Spektrum (Abb. 4-21).

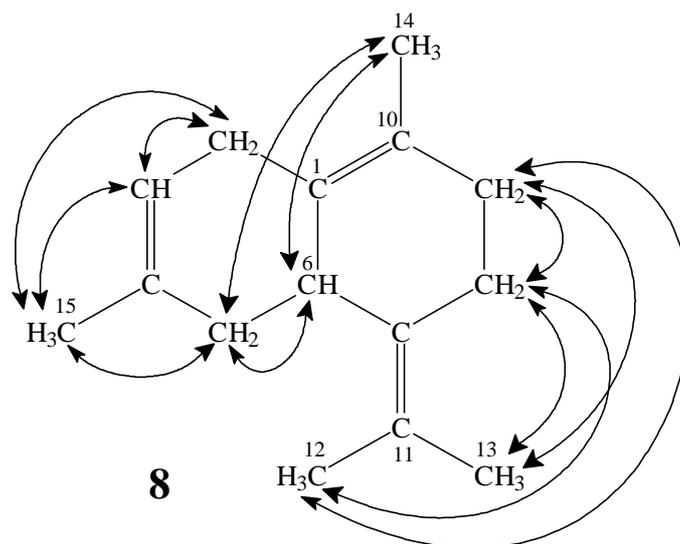


Abb. 4-21: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**)

Umlagerung und Dehydratisierung von (+)-10 β (*H*)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol zu (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol, (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien, (+)-*cis*-Calamenen und (–)-*trans*-Calamenen

Eine sauer katalysierte Umlagerungsreaktion von (+)-10 β (*H*)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (**7**) lieferte (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (**9**), (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**), (+)-*cis*-Calamenen (**10**) [6] und (–)-*trans*-Calamenen (**11**) [6] (Abb. 4-22), wobei (+)-*cis*-Calamenen (**10**) und (–)-*trans*-Calamenen (**11**) die stabilen Endprodukte der Reaktion sind.

(+)-*cis*- (**10**) und (–)-*trans*-Calamenen (**11**) wurden durch Vergleich der Massenspektren und der Retentionszeiten auf Polysiloxan- und auf Cyclodextrin-GC-Phasen mit denen einer Probe aus beiden Enantiomerenpaaren von *cis*- und *trans*-Calamenen identifiziert [134].

(+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) und (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (**9**) wurden durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase isoliert. (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) war bereits als Dehydratisierungsprodukt von (+)-10 β (*H*)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (**7**) bekannt.

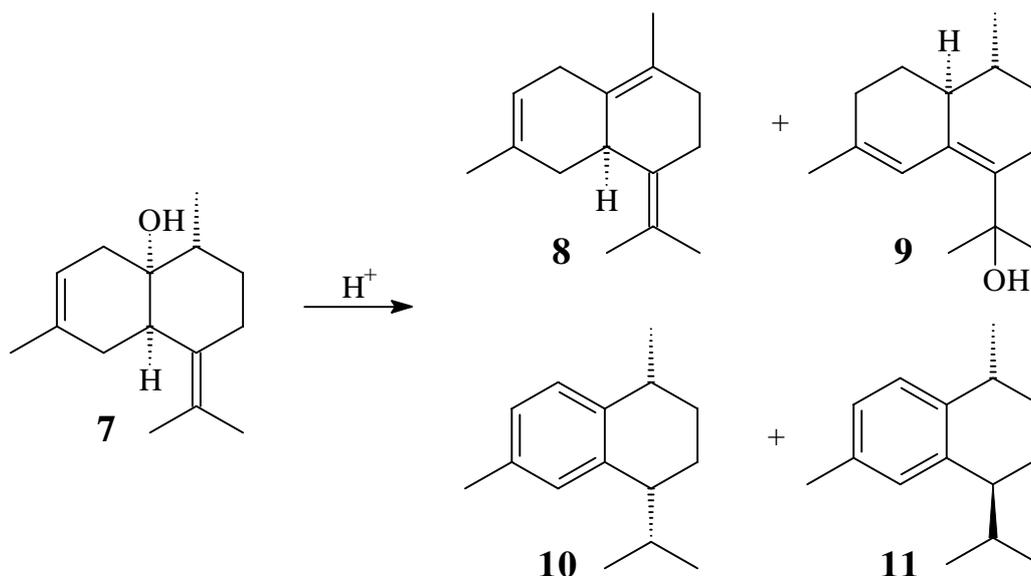


Abb. 4-22: Umlagerung von (+)-10 β (H)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (**7**) zu (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**), (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (**9**), (+)-*cis*-Calamenen (**10**) und (-)-*trans*-Calamenen (**11**)

(+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol {(4*R*,4*aS*)-2,3,4,4*a*,5,6-Hexahydro- α,α ,4,7-tetramethylnaphthalen-1-methanol} (**9**) ist ein neuer Sesquiterpenalkohol. Das Massenspektrum weist dem Molekül die Masse m/z 220 und damit die Summenformel C₁₅H₂₄O zu. Im ¹H-NMR-Spektrum sind ein Signal für ein olefinisches Proton bei δ 5.28, ein Dublett für Protonen einer sekundären Methylgruppe bei δ 0.75 und Singulets für Protonen von drei tertiären Methylgruppen bei δ 1.26, 1.39 und 1.71 zu erkennen. Durch das stark zum tiefen Feld verschobene Signal bei δ 1.71 wird auf eine allylische Methylgruppe hingewiesen; die schwach zum tiefen Feld verschobenen Signale bei δ 1.26 und 1.39 zeigen zwei Methylgruppen in der Nachbarschaft zu einem Sauerstoffatom an. Die Struktur wurde anhand der Informationen aus einem COSY-GS-Spektrum aufgestellt (**Abb. 4-23**).

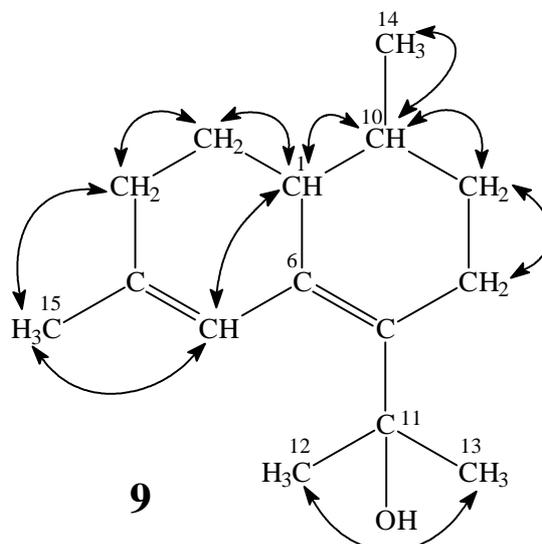


Abb. 4-23: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von *cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (**9**)

Die Umlagerung von (+)-10 β (H)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol (**7**) zu (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (**9**) könnte durch folgenden Reaktionsmechanismus erklärt werden (**Abb. 4-24**): Unter Säurekatalyse wurde die Hydroxygruppe des Alkohols als Wasser abgespalten und das entstandene Carbenium-Ion lagerte in mehreren Schritten um. Zunächst erfolgte eine [1,2]-Hydridverschiebung vom Kohlenstoffatom C-6 zum Kohlenstoffatom C-1. Das Hydrid-Ion wurde dabei auf der Unterseite des Moleküls übertragen, wodurch die Konfiguration am Kohlenstoffatom C-1 vorgegeben war. Dann wurde die exocyclische Doppelbindung in den Ring verschoben. Die positive Ladung befand sich nun am Kohlenstoffatom C-11 und wurde durch den nukleophilen Angriff von Wasser stabilisiert. Weiterhin erfolgte eine säurekatalysierte Verschiebung der zweiten Doppelbindung von der Position C-3/4 in die Position C-4/5 unter Bildung eines Systems aus zwei konjugierten Doppelbindungen.

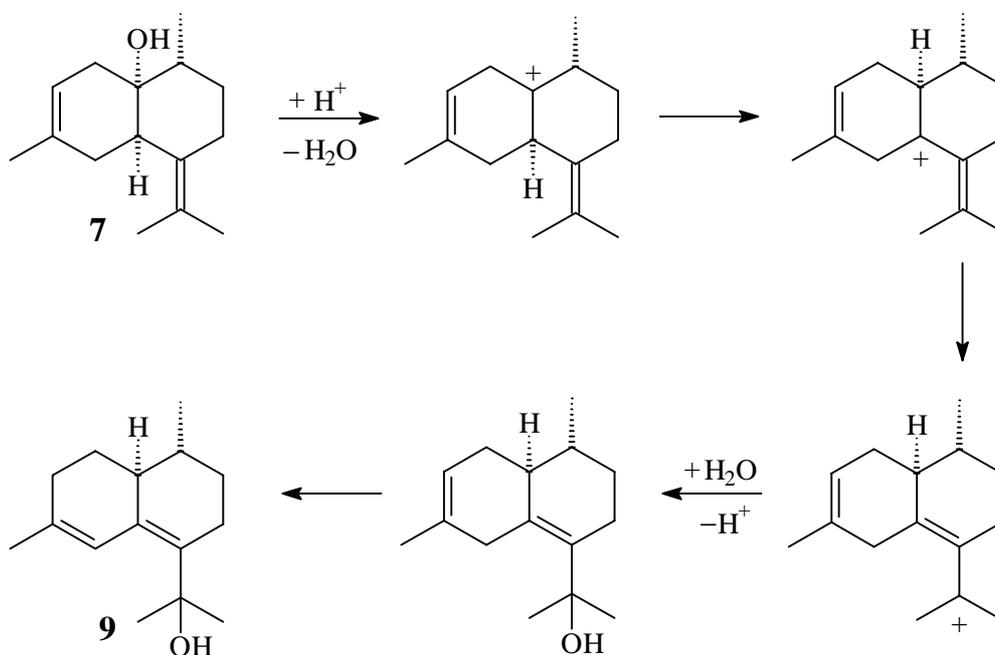


Abb. 4-24: Reaktionsmechanismus der Umlagerung von (+)-10 β (H)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol (**7**) zu (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (**9**)

Bestimmung der absoluten Konfiguration von (+)-10 β (H)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol, (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien und (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol

Die absolute Konfiguration von (+)-10 β (H)-Muuro-la-3,7(11)-dien-1-ol (**7**), (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) und (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (**9**) wurde durch eine Korrelationsreaktion mit (+)- δ -Cadinen (**12**), das aus dem ätherischen Öl von *Calypogeia muelleriana* durch präparative Gaschromatographie an Säulen mit SE 30- und 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase isoliert wurde, bestimmt. Die katalytische Hydrierung von (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) und (+)- δ -Cadinen (**12**) lieferte vier Hydrierungsprodukte mit denselben Massenspektren, denselben Retentionszeiten auf

achiralen GC-Phasen, aber unterschiedlichen Retentionszeiten auf chiralen GC-Phasen (**Abb. 4-25**). Daher müßte die relative Konfiguration dieser gesättigten Cadinane identisch und die absolute entgegengesetzt sein.

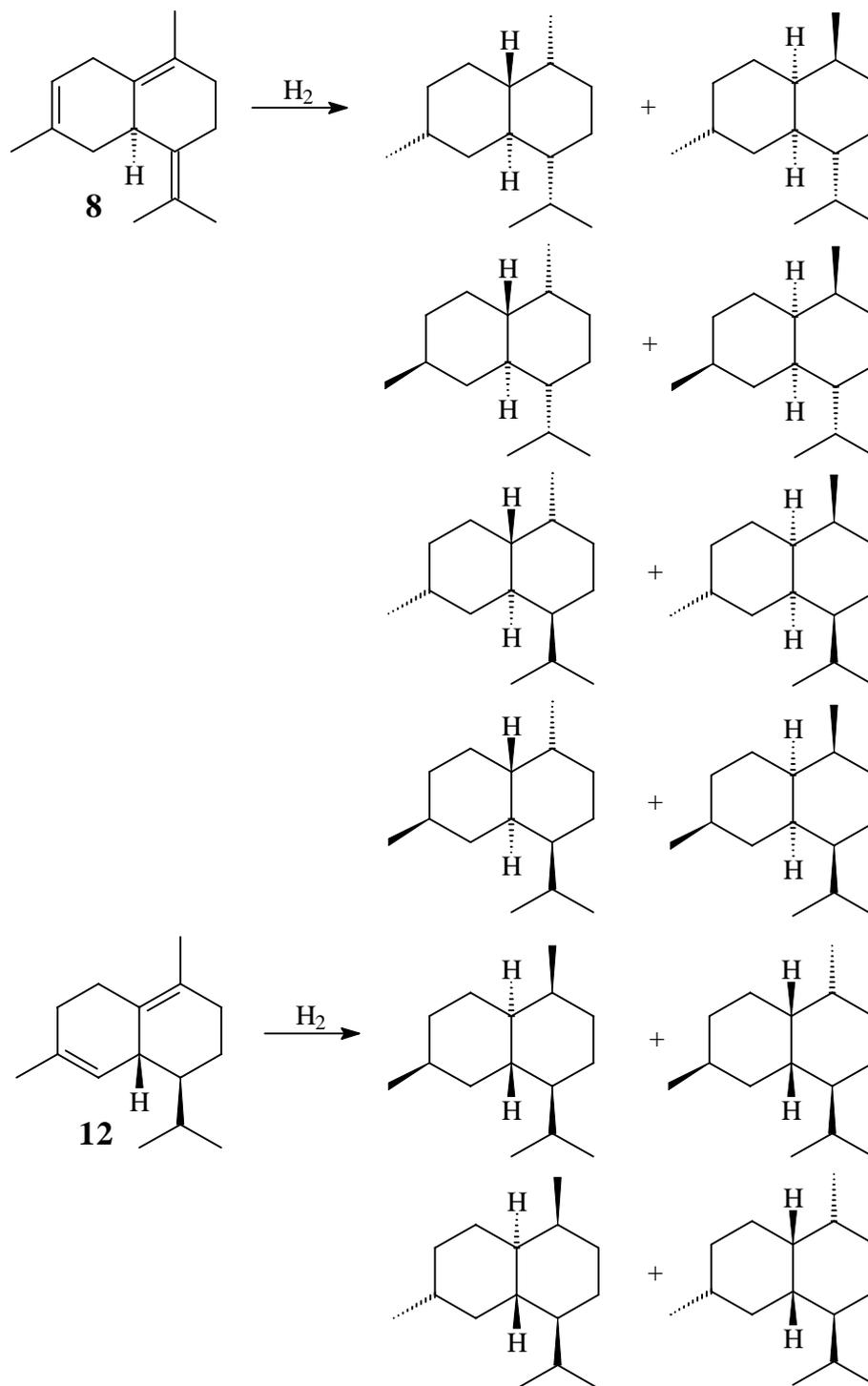


Abb. 4-25: Hydrierung von (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) und (+)- δ -Cadinen (**12**)

(-)- α -Alasken-6 β -ol

(-)- α -Alasken-6 β -ol {(1*R*,5*R*,6*R*)-1,8-Dimethyl-4-(1-methylethyliden)-spiro[4.5]dec-8-en-6-ol} (**13**) ist ein weiterer neuer Sesquiterpenalkohol. Das Massenspektrum dieser Verbindung zeigt ein Molekülion-Signal bei m/z 220, was einer Summenformel von $C_{15}H_{24}O$ entspricht.

Im 1H -NMR-Spektrum können ein Signal für ein olefinisches Proton bei δ 5.22, ein Signal für ein Proton in der Nachbarschaft zu einem Sauerstoffatom bei δ 4.75, Singulets für Protonen dreier tertiärer Methylgruppen an Doppelbindungen bei δ 1.70 und 1.83 und ein Dublett für Protonen einer sekundären Methylgruppe bei δ 1.08 beobachtet werden.

Das ^{13}C -NMR- und das DEPT-Spektrum zeigen Signale für Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 18.0, 19.5, 23.1 und 24.5, vier sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 30.6, 30.9, 35.9 und 37.2, drei tertiären Kohlenstoffatomen bei δ 39.4, 72.0 und 120.0 und vier quartären Kohlenstoffatomen bei δ 54.1, 124.5, 132.9 und 137.4. Durch die stark zum tiefen Feld verschobenen Signale bei δ 120.0, 124.5, 132.9 und 137.4 wird die Anwesenheit zweier Doppelbindungen angedeutet, während das schwach zum tiefen Feld verschobene Signal bei δ 72.0 auf ein Kohlenstoffatom, das an ein Sauerstoffatom gebunden ist, hinweist.

Die NMR-Spektren von α -Alasken-6 β -ol (**13**) ähneln – bis auf die Tieffeldverschiebung der Signale der Protonen und der Kohlenstoffkerne in der Nachbarschaft zum Sauerstoffatom in Position C-6 – denen von α -Alasken (**14**), einer weiteren Verbindung aus *C. fissa* (**Schema 4-3**).

Die Strukturaufklärung stützte sich auf die Informationen aus dem HMQC-, dem HMBC- und dem COSY-GS-Spektrum (**Abb. 4-26**, **Abb. 4-27**).

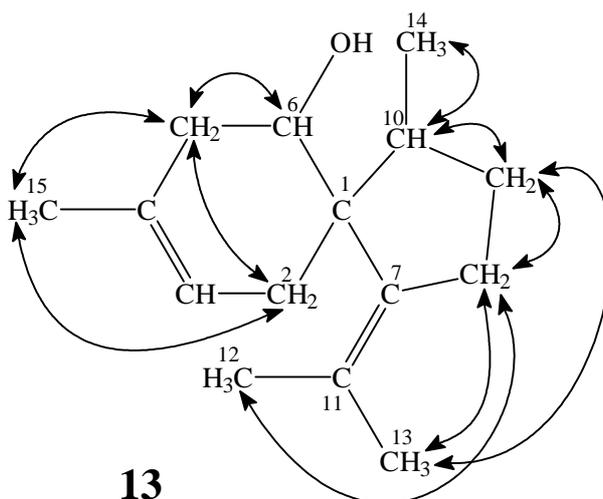


Abb. 4-26: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von α -Alasken-6 β -ol (**13**)

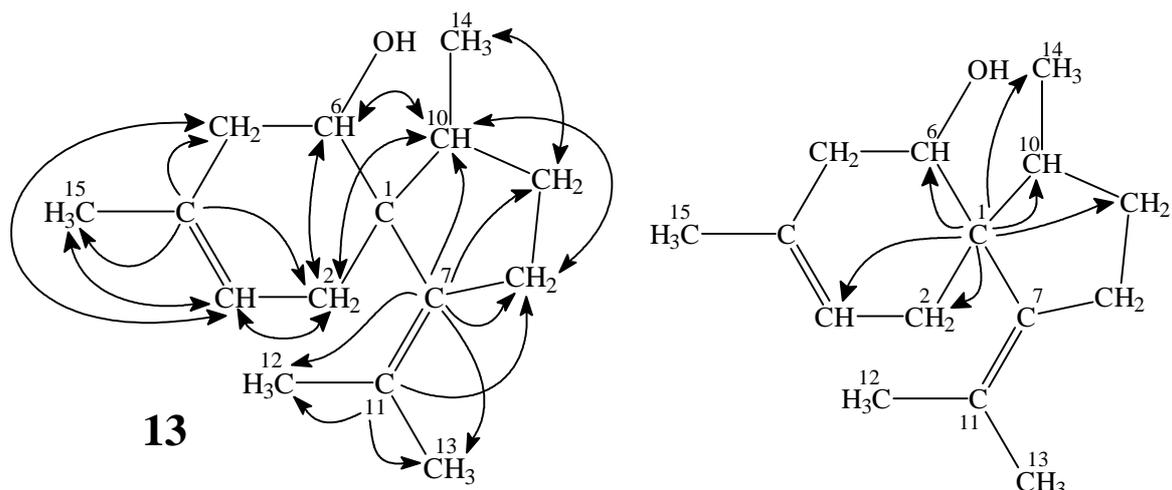


Abb. 4-27: Wechselwirkungen im HMBC-Spektrum von α -Alasken-6 β -ol (**13**) (Die Wechselwirkungen, die denen im COSY-GS-Spektrum entsprechen, wurden hier weggelassen.)

Zur Bestimmung der relativen Konfiguration an den Kohlenstoffatomen C-1, C-6 und C-10 wurde ein NOESY-Spektrum herangezogen. Die Protonen der Methylgruppe CH₃-14 wechselwirken mit dem Proton H-5 β und das Proton H-6 mit den Protonen H-5 α und H-2 α , sowie mit den Protonen der Methylgruppe CH₃-12 (**Abb. 4-28**).

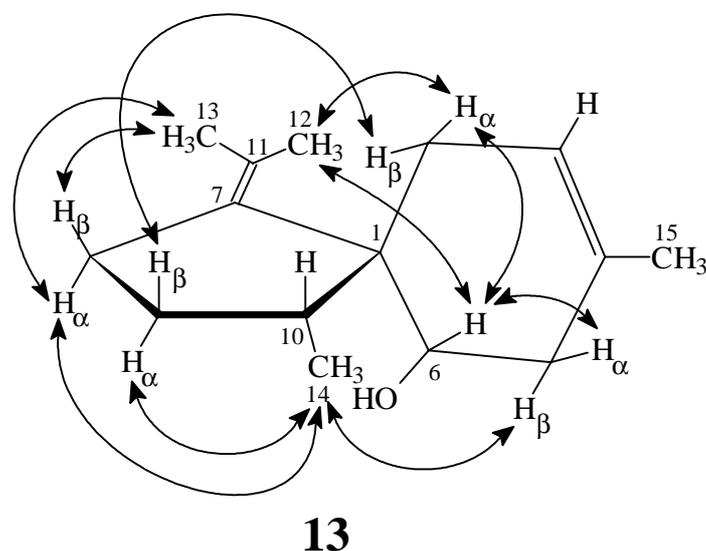


Abb. 4-28: Wechselwirkungen im NOESY-Spektrum von α -Alasken-6 β -ol (**13**)

Dehydratisierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol zu 5,6-Dehydro- α -alasken

Die Dehydratisierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol (**13**) mit Thionylchlorid führte zu einem Produkt, bei dem es sich um 5,6-Dehydro- α -alasken {(1*R*,5*S*)-1,8-Dimethyl-4-(1-methylethyliden)-spiro[4.5]deca-6,8-dien} (**15**) handeln sollte (**Abb. 4-29**). Es wurde nur durch GC-MS charakterisiert. Das Massenspektrum weist dem Molekül eine Masse von m/z 202 und damit die Summenformel C₁₅H₂₂ zu.

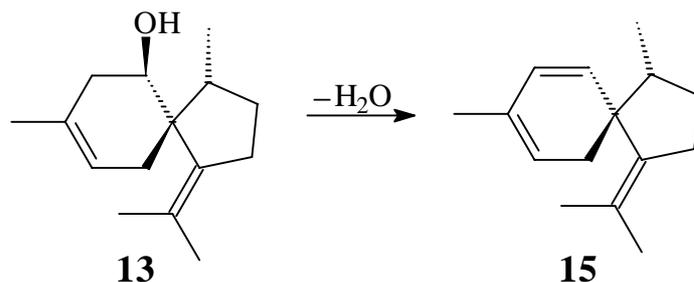


Abb. 4-29: Dehydratisierung von (-)- α -Alaska-6 β -ol (**13**) zu 5,6-Dehydro- α -Alaska (**15**)

(-)- α -Alaska-8-on

(-)- α -Alaska-8-on {(4*R*,5*S*)-4,8-Dimethyl-1-(1-methylethyliden)-spiro[4.5]dec-7-en-2-on} (**16**) ist ein neues Sesquiterpenketon. In dessen Massenspektrum tritt das Molekülion-Signal bei m/z 218 auf, wodurch dem Molekül die Summenformel $C_{15}H_{22}O$ zugeordnet wird.

Das 1H -NMR-Spektrum zeigt ein Signal für ein olefinisches Proton bei δ 5.34, Singulets für Protonen von drei tertiären Methylgruppen an Doppelbindungen bei δ 1.70, 1.93 und 2.23 und ein Dublett für Protonen einer sekundären Methylgruppe bei δ 0.94.

Im ^{13}C -NMR- und im DEPT-Spektrum sind Signale für Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 16.8, 23.5, 23.5 und 23.9, vier sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 27.9, 28.0, 34.4 und 45.7, zwei tertiären Kohlenstoffatomen bei δ 33.6 und 119.9 und fünf quartären Kohlenstoffatomen bei δ 46.4, 134.7, 138.3, 149.5 und 208.6 zu erkennen. Das sehr stark zum tiefen Feld verschobene Signal bei δ 208.6 ist für ein Carbonylkohlenstoffatom und die anderen zum tiefen Feld verschobenen Signale bei δ 119.9, 134.7, 138.3 und 149.5 sind für olefinische Kohlenstoffatome charakteristisch.

Weitere Informationen konnten aus dem HMQC-, dem COSY-GS- und dem HMBC-Spektrum erhalten werden (**Abb. 4-30**, **Abb. 4-31**).

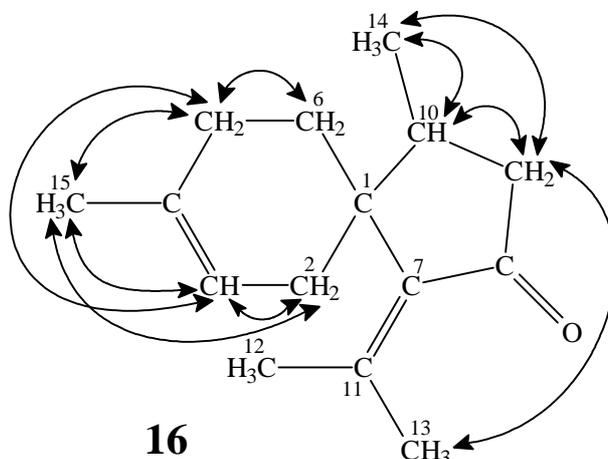


Abb. 4-30: Wechselwirkung im COSY-GS-Spektrum von α -Alaska-8-on (**16**)

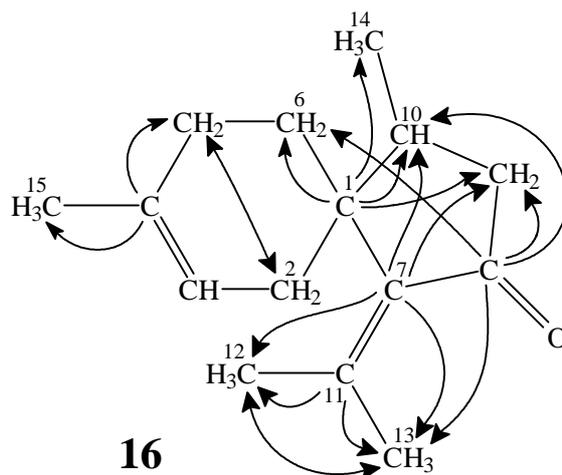


Abb. 4-31: Wechselwirkung im HMBC-Spektrum von α -Alasken-8-on (**16**) (Die Wechselwirkungen, die denen im COSY-GS-Spektrum entsprechen, wurden hier weggelassen.)

Im NOESY-Spektrum sind Wechselwirkungen der Protonen der Methylgruppe CH_3 -14 mit den Protonen $\text{H-6}\beta$ und $\text{H-9}\alpha$ zu beobachten. Außerdem führt die Sättigung der Resonanz der Protonen der Methylgruppe CH_3 -12 zu einer Intensitätszunahme des Signals von dem Proton $\text{H-2}\alpha$ (**Abb. 4-32**).

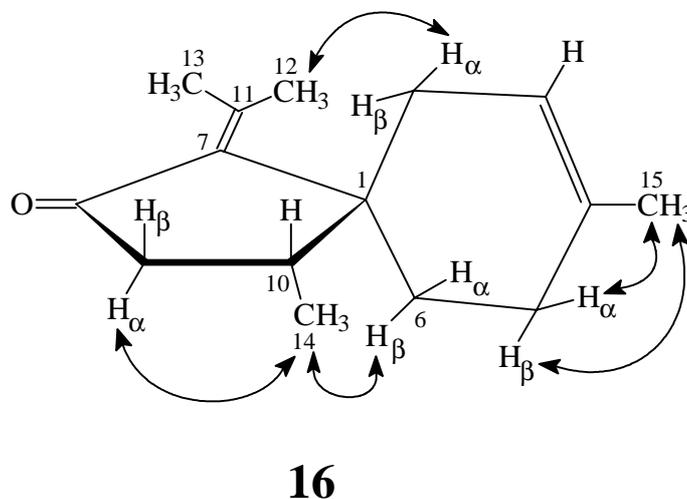


Abb. 4-32: Wechselwirkungen im NOESY-Spektrum von α -Alasken-8-on (**16**)

Reduktion von (-)- α -Alasken-8-on zu α -Alasken-8 α -ol und α -Alasken-8 β -ol und Dehydratisierung der Alkohole zu 7,8-Dehydro- α -acoradien

(-)- α -Alasken-8-on (**16**) wurde zu zwei diastereomeren Alkoholen reduziert: zu α -Alasken-8 α -ol (**17**) und α -Alasken-8 β -ol (**18**) {(2*R/S*,4*R*,5*S*)-4,8-Dimethyl-1-(1-methylethyliden)-spiro[4,5]dec-7-en-2-ol} (**Abb. 4-33**). Durch eine GC-MS-Untersuchung wird den Molekülen eine Masse von m/z 220 und damit die Summenformel $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ zugewiesen.

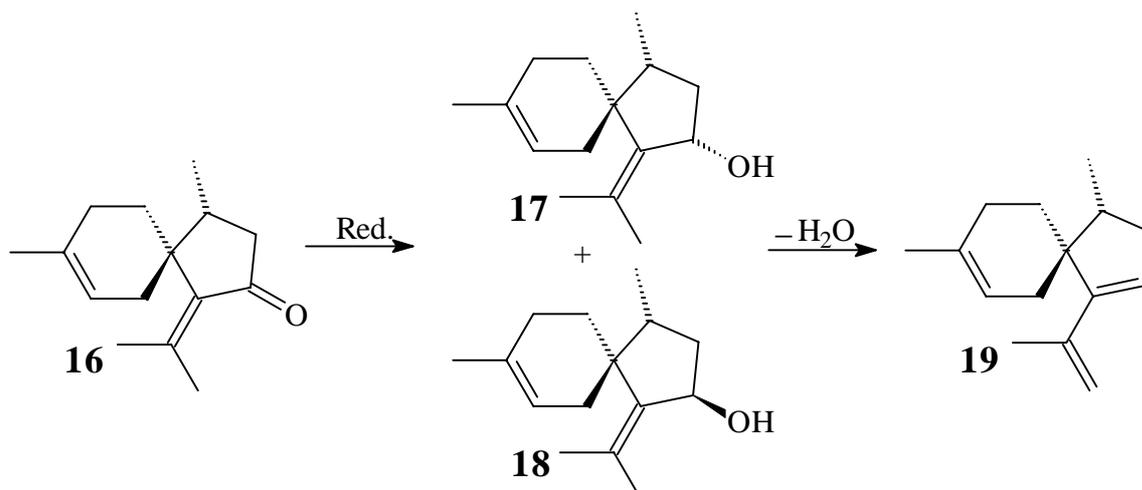


Abb. 4-33: Reduktion von (-)-α-Alasken-8-on (**16**) zu α-Alasken-8α-ol (**17**) und α-Alasken-8β-ol (**18**) und Dehydratisierung der Alkohole zu 7,8-Dehydro-α-acoradien (**19**)

Bei der Isolierung der Alkohole durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase erfolgte Dehydratisierung zu dem Kohlenwasserstoff 7,8-Dehydro-α-acoradien $\{(1R,5S)\text{-}1,8\text{-Dimethyl-4-(methyläthenyl)-spiro[4.5]deca-3,7\text{-dien}}\}$ (**19**) (**Abb. 4-33**). 7,8-Dehydro-α-acoradien (**19**) ist ein neuer Sesquiterpenkohlenwasserstoff, der auch als Naturstoff in dem ätherischen Öl von *C. fissa* auftritt. Das Massenspektrum zeigt ein Molekülion-Signal bei m/z 202, was einer Summenformel von $C_{15}H_{22}$ entspricht. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum können ein Dublett für Protonen einer sekundären Methylgruppe bei δ 0.91, Singulets für Protonen zweier tertiärer Methylgruppen an Doppelbindungen bei δ 1.67 und 1.89, Signale für zwei geminale olefinische Protonen bei δ 4.84 und 4.92 und für zwei weitere olefinische Protonen bei δ 5.33 und 5.62 beobachtet werden.

Bestimmung der absoluten Konfiguration

von (-)-α-Alasken-6β-ol, 5,6-Dehydro-α-alasken, (-)-α-Alasken-8-on, α-Alasken-8α-ol, α-Alasken-8β-ol und 7,8-Dehydro-α-acoradien

Zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-α-Alasken-6β-ol (**13**), 5,6-Dehydro-α-alasken (**15**), (-)-α-Alasken-8-on (**16**), α-Alasken-8α-ol (**17**), α-Alasken-8β-ol (**18**) und 7,8-Dehydro-α-acoradien (**19**) wurde eine Korrelationsreaktion mit (-)-α-Alasken (**14**), einem weiteren Inhaltsstoff von *C. fissa*, durchgeführt. (-)-α-Alasken (**14**) wurde durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase aus dem ätherischen Öl von *C. fissa* isoliert. Die Hydrierung von (-)-α-Alasken-6β-ol (**13**), 7,8-Dehydro-α-acoradien (**19**) und (-)-α-Alasken (**14**) führte zu vier identischen gesättigten Acoranen, die dieselben Massenspektren und dieselben Retentionszeiten auf achiralen und chiralen GC-Phasen besitzen (**Abb. 4-34**). Somit müssten die relative

und die absolute Konfiguration der gesättigten Acorane aus den drei Hydrierungsreaktionen identisch sein.

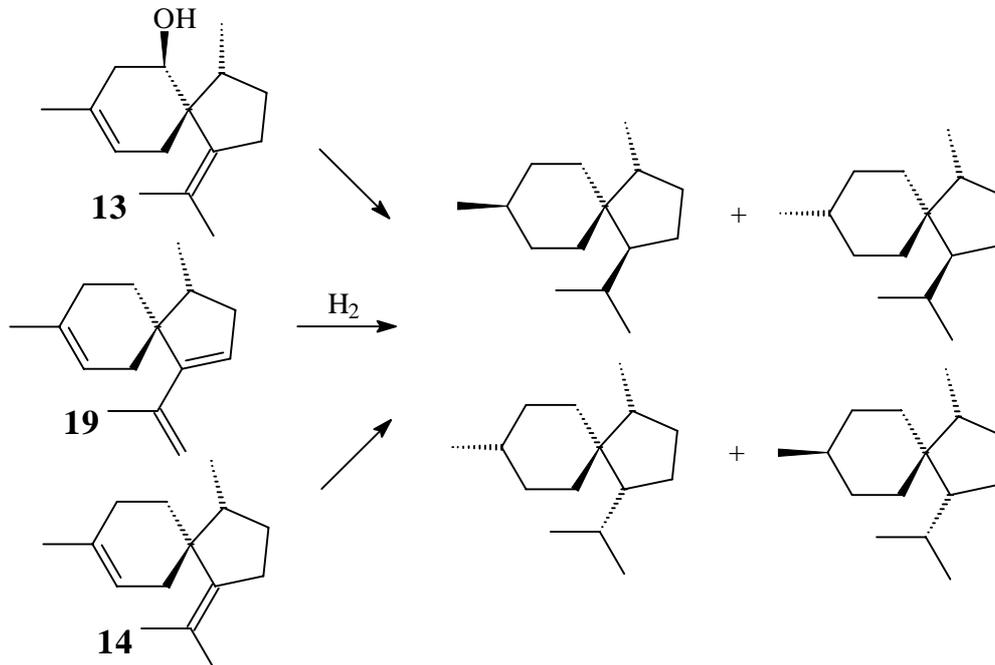


Abb. 4-34: Hydrierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol (**13**), 7,8-Dehydro- α -acoradien (**19**) und (-)- α -Alasken (**14**)

4.1.1.4. Vergleich der Inhaltsstoffe der ätherischen Öle von *Calypogeia fissa*, *Calypogeia muelleriana* und *Calypogeia suecica*

Die Identifizierung der Inhaltsstoffe von Lebermoosen ist von chemotaxonomischer Bedeutung und kann alternativ zur Pflanzenbestimmung nahe verwandter Lebermoose herangezogen werden. So unterscheiden sich die Inhaltsstoffe der drei *Calypogeia*-Arten sehr deutlich, während die morphologischen Unterschiede [8-11], insbesondere zwischen *C. fissa* und *C. muelleriana*, nur gering sind.

Für *C. muelleriana* sind Azulene und Sesquiterpene mit Aromadendran-Grundgerüst charakteristisch, für *C. fissa* Sesquiterpene mit Acoran-Grundgerüst und für *C. suecica* Sesquiterpene mit Bisabolan-Grundgerüst.

Azulene wurden bisher als typische chemische Indikatoren für *Calypogeia*-Arten angesehen [39,40,146,147]; allerdings konnten nur in *C. muelleriana*, nicht jedoch in *C. fissa* und *C. suecica* Azulene detektiert werden.

4.1.2. *Bazzania trilobata* (Dreilappiges / Großes Peitschenmoos)

Es handelt sich um ein folioses Lebermoos [8-11], das folgendermaßen in die Systematik der Pflanzen eingeordnet werden kann:

Klasse:	<i>Hepaticae</i> (Lebermoos)
Unterklasse:	<i>Jungermanniidae</i>
Ordnung:	<i>Jungermanniales</i>
Familie:	<i>Lepidoziaceae</i>
Art:	<i>Bazzania trilobata</i> (L.) S.F. Gray

B. trilobata wächst in großen grünen, polsterförmigen Rasen. Die aufrechten oder niederliegenden Stämmchen sind bis zu 20 cm lang und 6 mm breit, nicht oder gabelig verzweigt und an den Spitzen umgebogen. Die länglich eiförmigen Flankenblätter, die an den Spitzen drei kurze breite Zähne aufweisen, stehen quer zur Stengelachse und sind dachziegelartig angeordnet (**Abb. 4-35**). Auf der Stämmchenunterseite treten neben Unterblättern zahlreiche große Ausläufer und einige Rhizoide auf. Die Unterblätter haben vier große Zähne und kleinere Zähnchen am Rand. Es sind 4-8 Ölkörperchen pro Zelle zu finden.

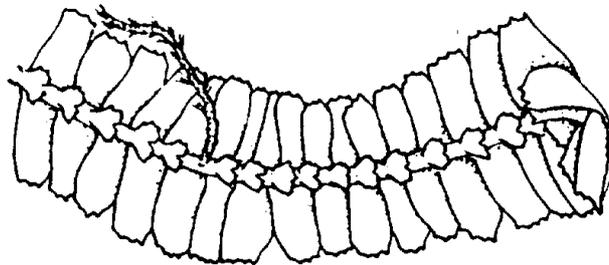


Abb. 4-35: Lebermoos *Bazzania trilobata*

B. trilobata wächst auf schwach saurem, feuchtem bis nassem, beschattetem Waldboden. Es ist im Gebirge bis 1500 m Höhe häufig, im Flachland jedoch selten. Das untersuchte Material wurde an verschiedenen Stellen in Europa – in Adelberg bei Göppingen, in Bad Herrenalb im Schwarzwald, im Bayrischen Wald und bei Göteborg in Schweden – und in den USA – im Pickett National Forest – gesammelt.

4.1.2.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls und des Extrakts von *Bazzania trilobata*

Das ätherische Öl und der Extrakt von *B. trilobata* wurden bereits früher mehrfach untersucht [39,40,175-183]. Die folgenden Sesquiterpene waren als Inhaltsstoffe von *B. trilobata* bekannt: α -Barbaten, β -Barbaten, Gymnomitrol, β -Bazzanen, Isobazzanen, Cuparen, δ -Cuparenol, β -Chamigren, (+)-*cis*-Calamenen, (-)-*cis*-5-Hydroxycalamenen, 3-Hydroxycalamenen, 2-Hydroxycalamenen, 7(10)-Peroxy-cadina-5-en, Leden, Viridiflorol, Drimenol und (-)-Myltayl-4(12)-en-5-ol. Es war ein Unterschied zwischen dem ätherischen Öl von *B. trilobata* aus der Tschechoslowakei und aus Japan aufgefallen [177]. 2-Hydroxycalamenen war nur in dem tschechoslowakischen Lebermoos enthalten, während δ -Cuparenol nur in dem japanischen Lebermoos gefunden wurde.

Die erneute Untersuchung von *B. trilobata* ergab nur geringe Unterschiede in den relativen Verhältnissen der Inhaltsstoffe von Wasserdampfdestillaten und Extrakten, so daß davon ausgegangen werden kann, daß es sich bei den identifizierten Verbindungen tatsächlich um Pflanzeninhaltsstoffe und nicht um Artefakte handelt. Das europäische und das amerikanische Lebermoos liefern unterschiedliche ätherische Öle und Extrakte. 44 Sesquiterpene wurden als Inhaltsstoffe des europäischen Lebermooses und 29 als Inhaltsstoffe des amerikanischen Lebermooses identifiziert (**Tabelle 4-1, Abb. 4-36, Abb. 4-37, Schema 4-4**).

Der Hauptunterschied besteht in dem Auftreten von α -Cuprenen und *cis*-2-Hydroxycalamenen nur in dem europäischen Lebermoos und von Cuparen, δ -Cuparenol und des Diterpenalkohols Manool allein in dem amerikanischen Lebermoos. Dies stimmt mit dem Unterschied zwischen dem tschechoslowakischen und dem japanischen Lebermoos weitgehend überein.

Die meisten der identifizierten Inhaltsstoffe von *B. trilobata* waren bereits bekannt, zwei davon sind jedoch neu: (-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien (**20**) [d] und (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) [d]. Sie wurden durch präparative Gaschromatographie an Säulen mit SE 30-, 2,6-Me-3-Pe- β -CD- und 6-T-2,3-Me- β -CD-Phase aus dem ätherischen Öl von *B. trilobata* isoliert.

Sesquiterpene (und Diterpene)	Lebermoos Europa	Lebermoos Amerika
Bicycloelemen [6]	x	x
α -Longipinen [6]	x	
Cyclomylytalan [6]	x	
Isoleden [6]	x	x
β -Longipinen [6]	x	
β -Caryophyllen [6]		x
α -Barbaten [6]	x	x
Thujopsen [6]	x	x
Isobazzanen [6]	x	
(-)- β -Barbaten [6,142]	x	x
α -Himachalen [6]	x	
<i>allo</i> -10(14)-Aromadendren [6,154]	x	
α -Humulen [6]	x	x
(-)- <i>cis</i> -Cadina-1(6),4-dien [d]	x	x
β -Acoradien [6,184]	x	x
β -Chamigren [6]	x	x
γ -Humulen [6,185]	x	x
δ -Selinen [6]	x	
<i>allo</i> -9-Aromadendren [6,153]	x	
Bicyclogermacren [6,139]	x	x
Leden [6,154]	x	
Cuparen [6, 186]		x
α -Cuprenen [6]	x	
Drimenen [6]	x	
α -Chamigren [6]	x	x
(+)- <i>cis</i> -Calamenen [6,177]	x	x
(+)- β -Bazzanen [6,187,188]	x	x
γ -Cuprenen [6]		x
α -Calacoren [6]	x	x
(-)- δ -Cuprenen [6,189]	x	x
γ -Calacoren [6]	x	
(+)- <i>trans</i> -Dauca-4(11),8-dien [d]	x	x
Maaliol [164]	x	
Palustrol [156]	x	x
β -Spathulenol [155,156]	x	x
4,5-Dehydroviridiflorol [b]	x	
Globulol [154]	x	x
(-)-Viridiflorol [154,156]	x	x
Rosifoliol [165]	x	
Ledol [190]	x	
Guai-5-en-11-ol [158]	x	
(+)-Isogymnomitrol [191,192]	x	x
Cadalen [6]	x	
(+)-Gymnomitrol [192,193]	x	x
(-)- <i>cis</i> -5-Hydroxycalamenen [170,180]	x	x
(-)-Drimenol [181,194,195]	x	x
(+)- <i>cis</i> -2-Hydroxycalamenen [177]	x	
(-)- δ -Cuparenol [186,196]		x
Manool [197]		x

Tabelle 4-1: Inhaltsstoffe der ätherischen Öle und Extrakte von *Bazzania trilobata* aus Europa und aus den USA

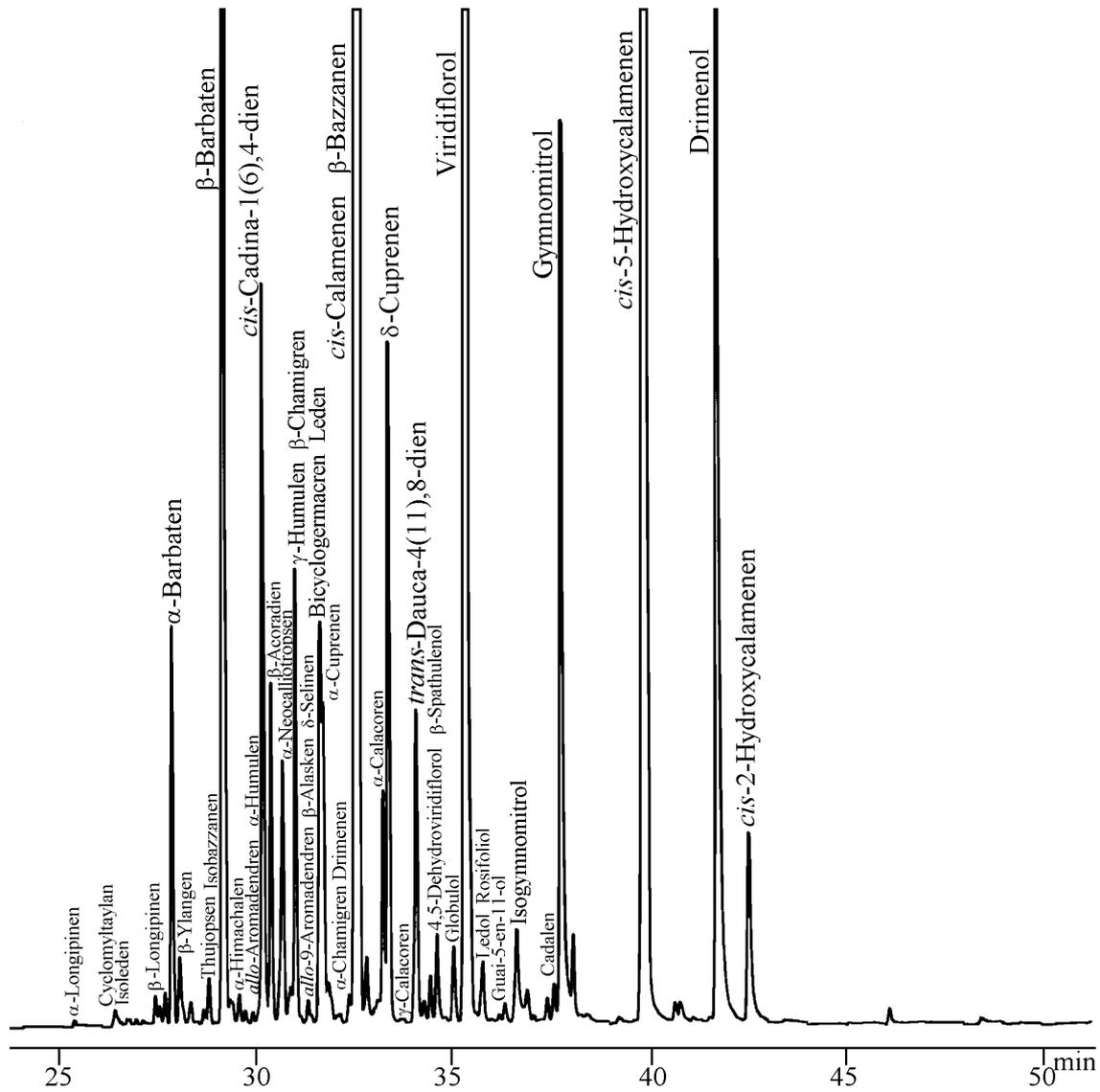


Abb. 4-36: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *Bazzania trilobata* aus Europa (CpSil 5, 50°C, 3°/min, 230°C)

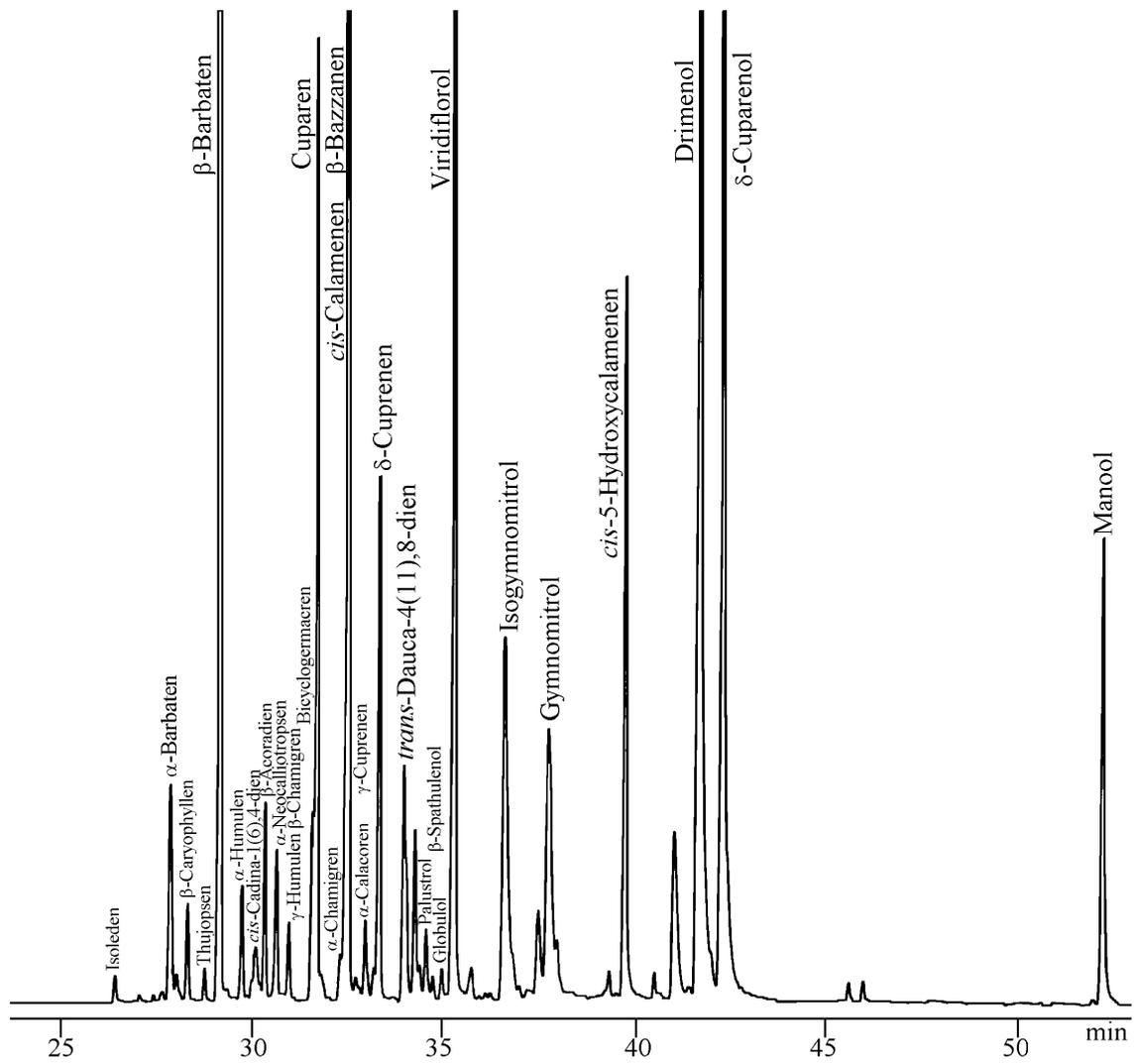
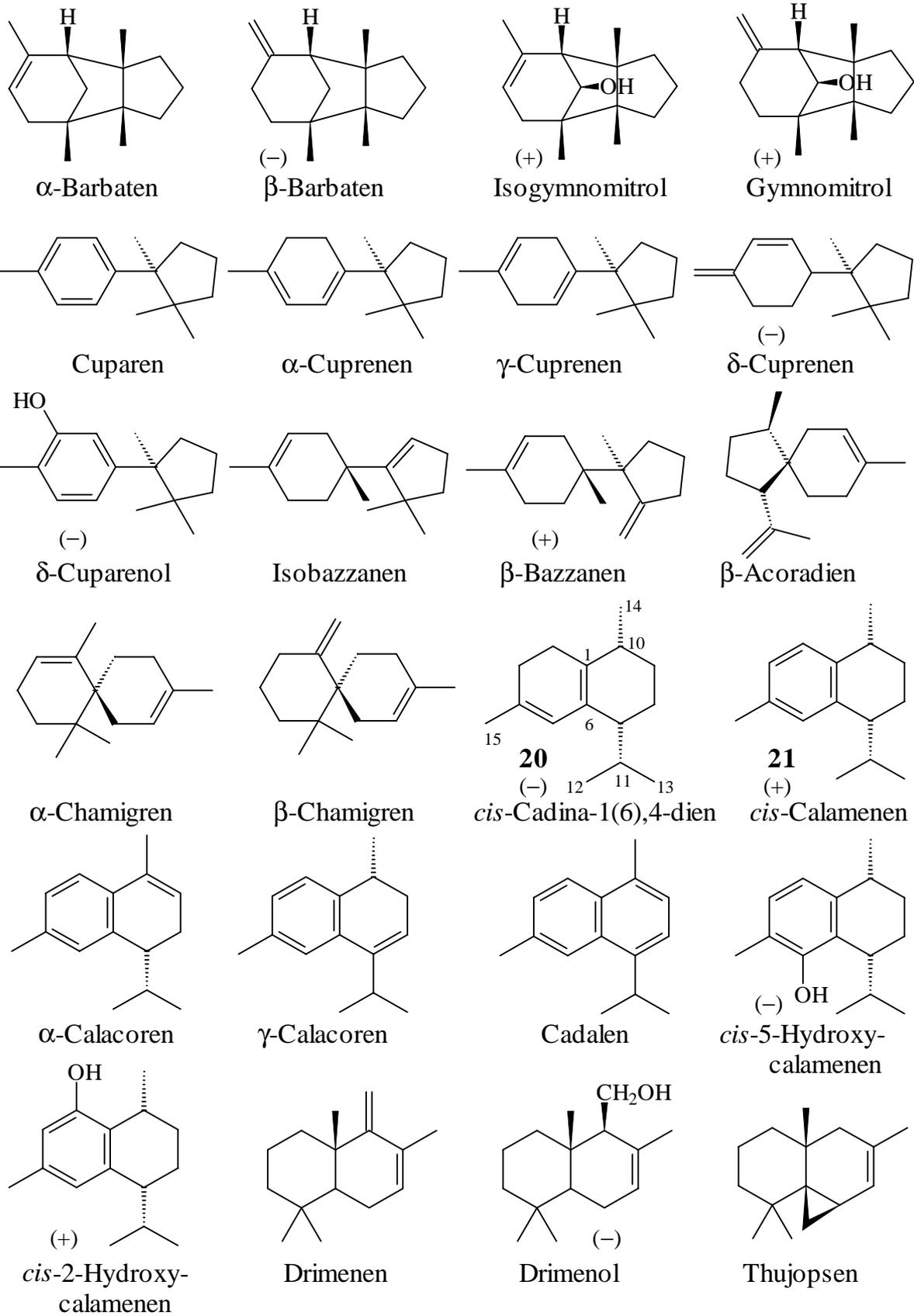
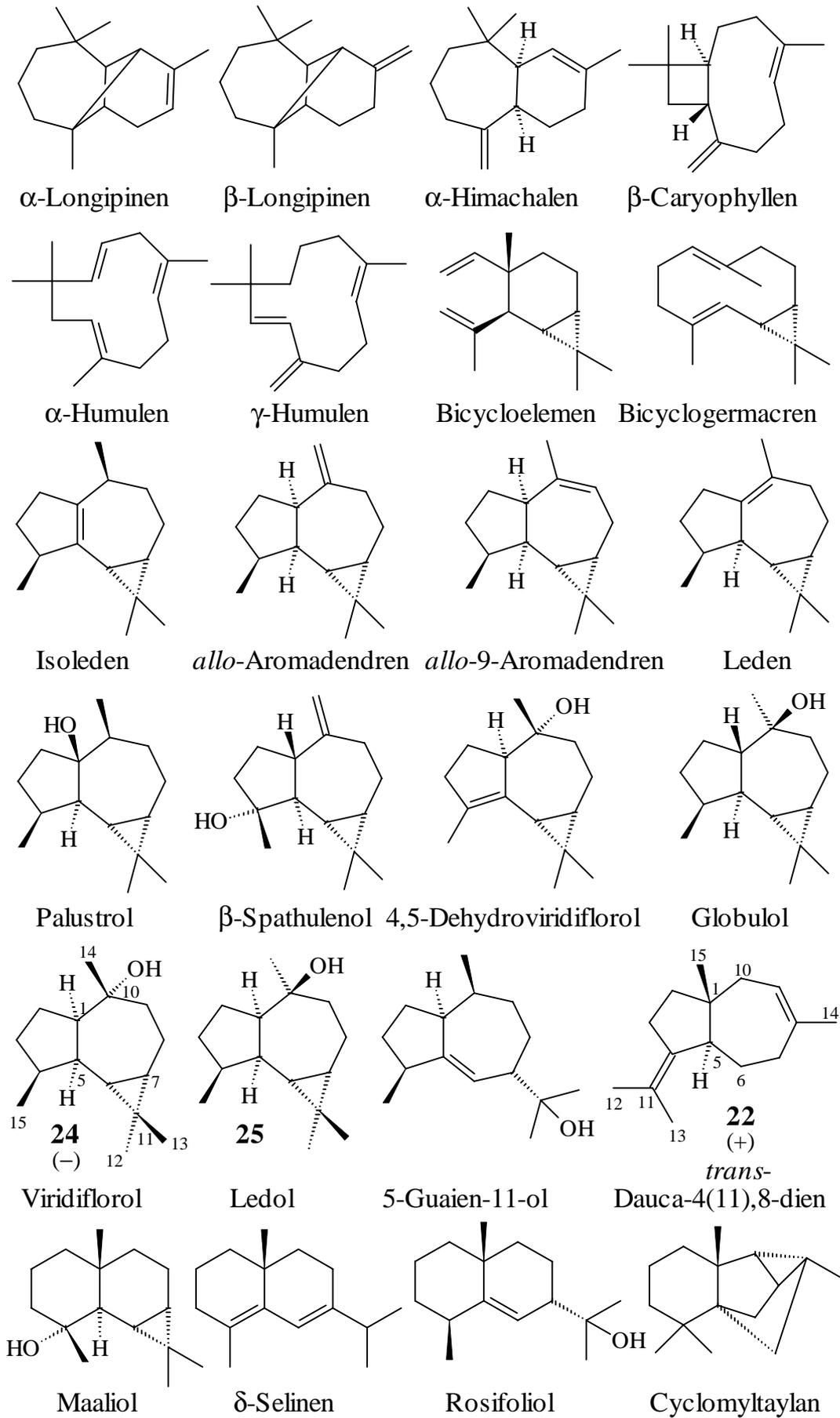


Abb. 4-37: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *Bazzania trilobata* aus den USA (CpSil 5, 50°C, 3°/min, 230°C)





Schema 4-4: Inhaltsstoffe der ätherischen Öle und Extrakte von *Bazzania trilobata*

(-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien

(-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien {(1*R*,4*R*)-1,2,3,4,7,8-Hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-naphthalen} (**20**) ist ein neuer Sesquiterpenkohlenwasserstoff mit Cadinan-Grundgerüst. Das Massenspektrum dieser Verbindung zeigt ein Molekülion-Signal bei m/z 204, was einer Summenformel von $C_{15}H_{24}$ entspricht.

Im 1H -NMR-Spektrum fallen besonders Dubletts für Protonen von drei sekundären Methylgruppen bei δ 0.68, 0.93 und 1.03, ein Singulett für Protonen einer tertiären Methylgruppe an einer Doppelbindung bei δ 1.79 und ein Singulett für ein olefinisches Proton bei δ 5.62 auf.

Das ^{13}C -NMR- und das DEPT-Spektrum zeigen Signale für Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 17.1, 20.4, 21.3 und 23.6, vier sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 19.0, 28.0, 29.2 und 29.5, vier tertiären Kohlenstoffatomen bei δ 29.3, 33.4, 43.0 und 122.1 und drei quartären Kohlenstoffatomen bei δ 129.9, 133.0 und 133.7, wobei die zum tiefen Feld verschobenen Signale auf zwei olefinische Doppelbindungen hinweisen.

Die Struktur konnte mit Hilfe des HMQC- und des COSY-GS-Spektrums abgeleitet werden (**Abb. 4-38**).

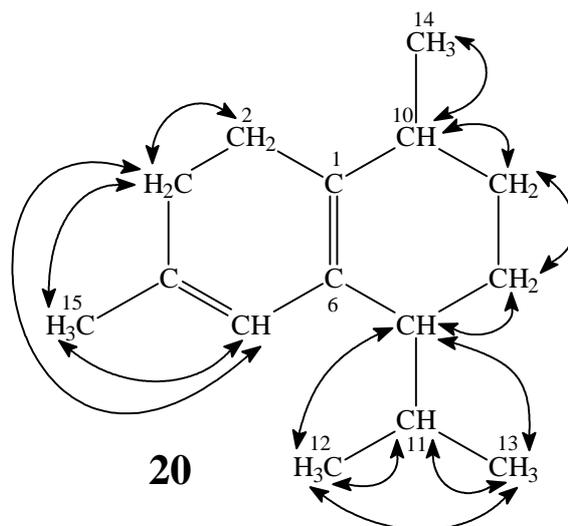


Abb. 4-38: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von *cis*-Cadina-1(6),4-dien (**20**)

(-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien (**20**) oxidierte leicht zu (+)-*cis*-Calamenen (**21**) [6,134] (**Abb. 4-39**), einem weiteren Inhaltsstoff von *B. trilobata*. Die Identifizierung des Oxidationsproduktes erfolgte durch Vergleich der Massenspektren und der Retentionszeiten auf achiralen und chiralen GC-Phasen mit denen beider Enantiomerenpaare von *cis*- und *trans*-Calamenen. Durch die Korrelation mit (+)-*cis*-Calamenen (**21**) konnte die relative und die absolute Konfiguration von (-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien (**20**) bewiesen werden.

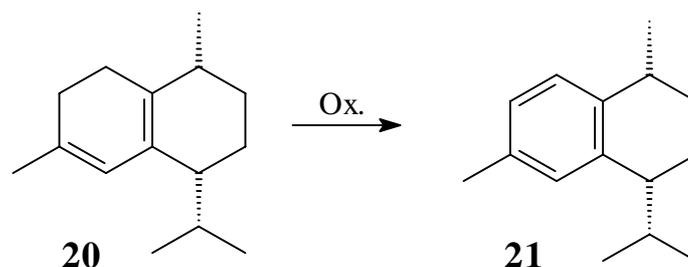


Abb. 4-39: Oxidation von (-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien (**20**) zu (+)-*cis*-Calamenen (**21**)

(+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien

(+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien [(3*aR*,8*aR*)-1,2,3,3*a*,4,7,8,8*a*-Octahydro-3*a*,6-dimethyl-1-(1-methylethyliden)-azulen] (**22**) ist ein neuer Sesquiterpenkohlenwasserstoff mit Daucan-Grundgerüst. Das Massenspektrum weist dem Molekül eine Masse von m/z 204 und damit die Summenformel $C_{15}H_{24}$ zu.

Im 1H -NMR-Spektrum sind Singulets für Protonen von vier tertiären Methylgruppen bei δ 0.93, 1.70, 1.76 und 1.81 zu erkennen, wobei die drei zum tiefen Feld verschobenen Signale allylische Methylgruppen andeuten. Bei δ 5.61 tritt ein Multiplett für ein olefinisches Proton auf.

Das ^{13}C -NMR- und das DEPT-Spektrum zeigen Signale für Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 17.4, 20.8, 23.0 und 28.7, fünf sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 30.0, 30.2, 31.0, 40.2 und 41.2, zwei tertiären Kohlenstoffatomen bei δ 52.4 und 124.2 und vier quartären Kohlenstoffatomen bei δ 44.7, 122.5, 136.1 und 139.0. Die zum tiefen Feld verschobenen Signale weisen auf vier olefinische Kohlenstoffatome hin.

Die Struktur von *trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) konnte aus dem HMQC-, dem HMBC- und dem COSY-GS-Spektrum abgeleitet werden (**Abb. 4-40**, **Abb. 4-41**).

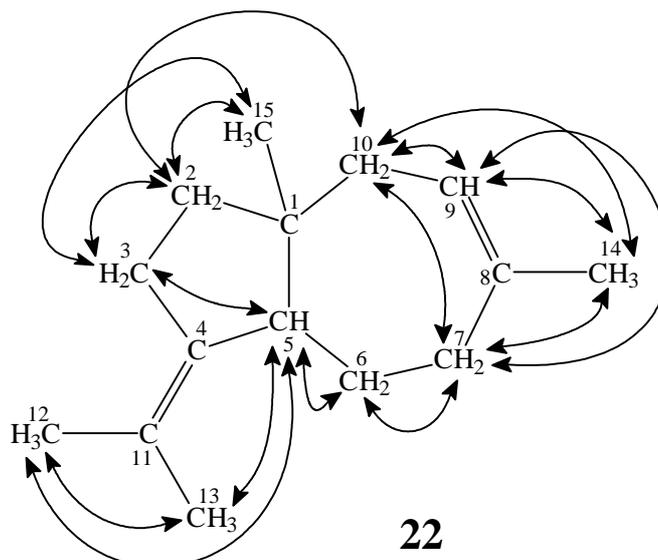


Abb. 4-40: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von *trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**)

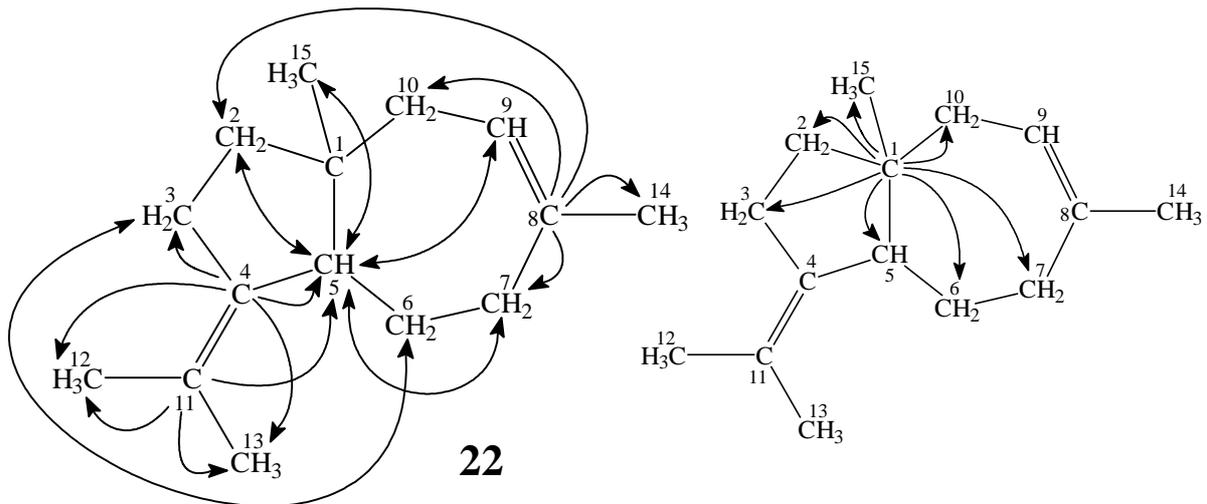


Abb. 4-41: Wechselwirkungen im HMBC-Spektrum von *trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**)
(Die Wechselwirkungen, die denen im COSY-GS-Spektrum entsprechen, wurden hier weggelassen.)

Die Informationen aus den NMR-Spektren sind allerdings auch mit der Struktur des Doppelbindungsisomers *trans*-Dauca-4(11),7-dien (**22a**) vereinbar (**Abb. 4-42**, **Abb. 4-43**). Die Methylengruppen und die olefinische Methingruppe wären bei Beibehaltung der Signal-Atom-Zuordnung um jeweils eine Position im Molekül nach rechts zu verschieben. Die Probleme bei der Auswertung der Spektren basieren auf den nahezu identischen chemischen Verschiebungen der Protonen H-5, H-6 α und H-6 β , so daß eine gewisse Interpretationsfreiheit der erkennbaren Wechselwirkungen gegeben ist. Ferner treten aufgrund der Anwesenheit zweier Doppelbindungen und der starren stereochemischen Verhältnisse in dem Bicyclus zahlreiche Fernkopplungen auf.

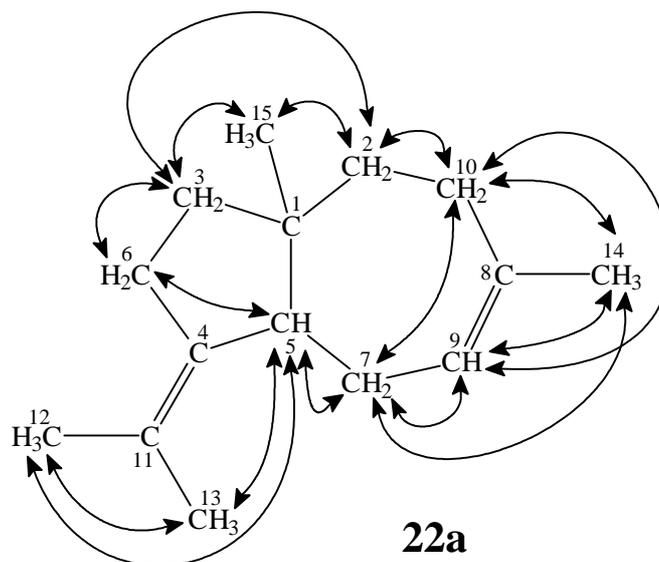


Abb. 4-42: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von *trans*-Dauca-4(11),7-dien (**22a**)

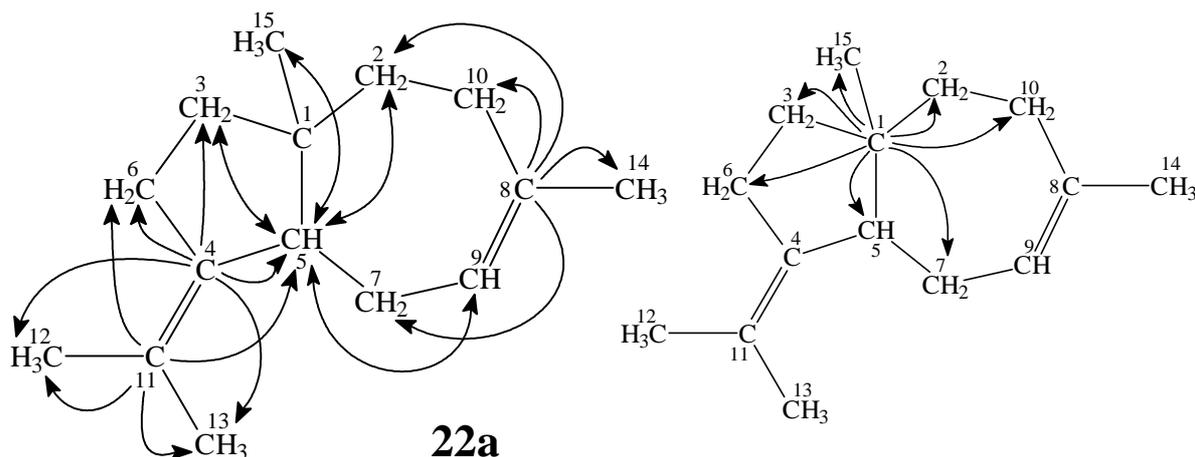


Abb. 4-43: Wechselwirkungen im HMBC-Spektrum von *trans*-Dauca-4(11),7-dien (**22a**)
(Die Wechselwirkungen, die denen im COSY-GS-Spektrum entsprechen, wurden hier weggelassen.)

Zur Bestimmung der relativen Konfiguration an den Kohlenstoffatomen C-1 und C-5 wurde ein NOESY-Spektrum herangezogen. Die Sättigung der Resonanz der Protonen der Methylgruppe CH₃-15 führt zu einer Intensitätszunahme der Signale der Protonen H-2 β , H-3 β , H-6 β , H-7 β und H-10 β , aber nicht des Signals des Protons H-5. Das Proton H-5 hingegen wechselwirkt mit den Protonen H-2 α , H-3 α und H-7 α . Somit müssen die Ringe sowohl von Dauca-4(11),8-dien (**22**) als auch von Dauca-4(11),7-dien (**22a**) *trans*-verknüpft sein (**Abb. 4-44**, **Abb. 4-45**).

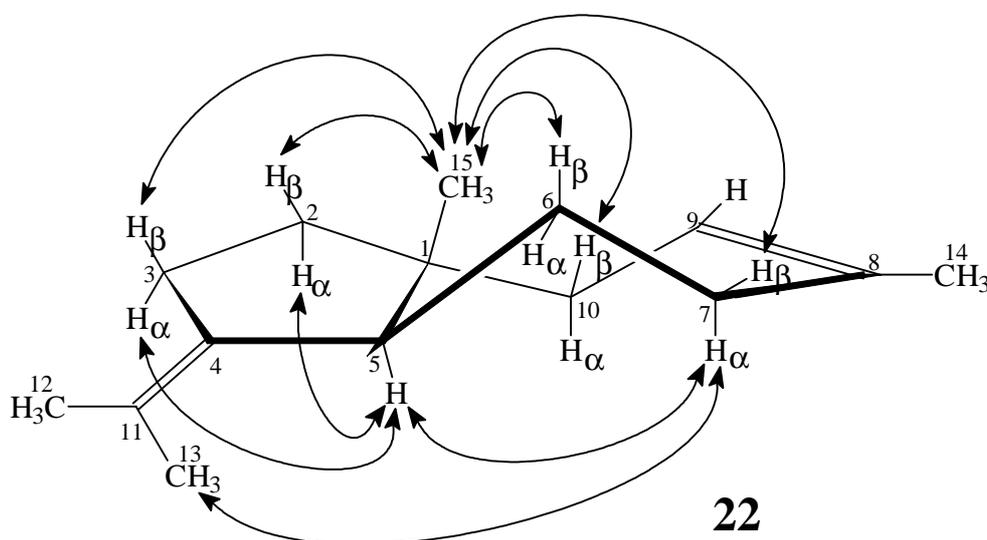


Abb. 4-44: Wechselwirkungen im NOESY-Spektrum von *trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**)

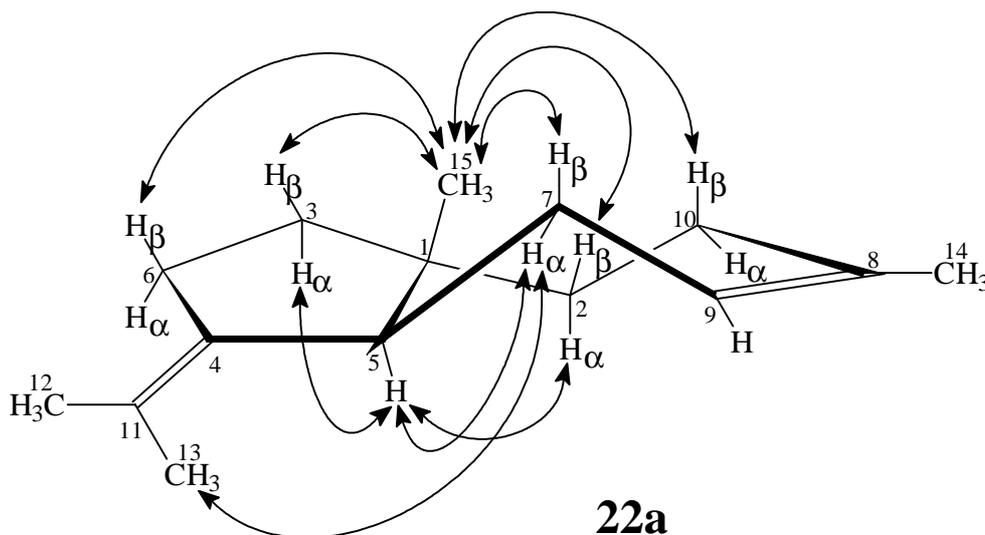


Abb. 4-45: Wechselwirkungen im NOESY-Spektrum von *trans*-Dauca-4(11),7-dien (**22a**)

Die sauer katalysierte Umlagerung des Daucadiens lieferte (+)-Daucen (**23**) [6,198,199] (**Abb. 4-46**). Da (+)-Daucen (**23**) das Hauptprodukt der Umlagerungsreaktion darstellt, ist davon auszugehen, daß es sich bei dem Edukt um (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) handelt. (+)-Daucen (**23**) entsteht aus (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) durch Verschiebung der exocyclischen Doppelbindung in den Ring; die zweite Doppelbindung verbleibt an derselben Position. Das Umlagerungsprodukt wurde durch Vergleich der Massenspektren und der Retentionszeiten an achiralen und chiralen GC-Phasen mit denen einer authentischen Probe als (+)-Daucen (**23**) identifiziert.

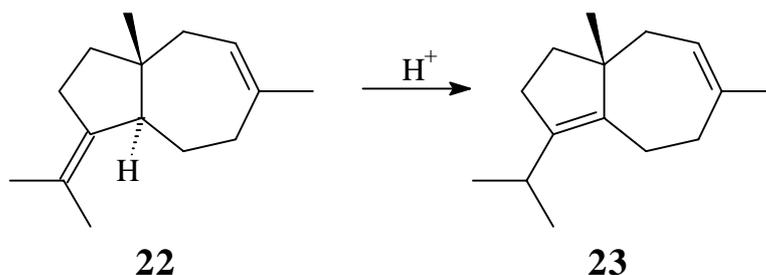


Abb. 4-46: Umlagerung von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) zu (+)-Daucen (**23**)

Die Hydrierung von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) und (+)-Daucen (**23**) führte zu identischen Produkten: zu zwei partiell und fünf vollständig hydrierten Verbindungen, die dieselben Massenspektren und Retentionszeiten an achiralen und chiralen GC-Phasen besitzen. Bei *cis*-Addition von Wasserstoff wären nur vier vollständig gesättigte diastereomere Daucane für (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) und (+)-Daucen (**23**) zu erwarten: zwei identische und zwei unterschiedliche Verbindungen (**Abb. 4-47**).

(+)-Daucen (**23**) führte hauptsächlich zu zwei gesättigten Daucanen (41%, 33%), die vermutlich durch *cis*-Addition von Wasserstoff an den Positionen C-4 und C-5 von der

Unterseite des Moleküls gebildet wurden, während die Hydrierung von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) hauptsächlich drei gesättigte Daucane (46%, 29%, 21%) lieferte. Zwei der Hauptprodukte der Hydrierungen von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) und (+)-Daucen (**23**) sind identisch. Das Auftreten der Nebenprodukte (1-8%) könnte durch eine Isomerisierung von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) zu (+)-Daucen (**23**) und einen geringen Anteil an *anti*-Addition erklärt werden. Die Korrelation von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) und (+)-Daucen (**23**) deutet auf eine identische Konfiguration an der Position C-1 in beiden Molekülen hin.

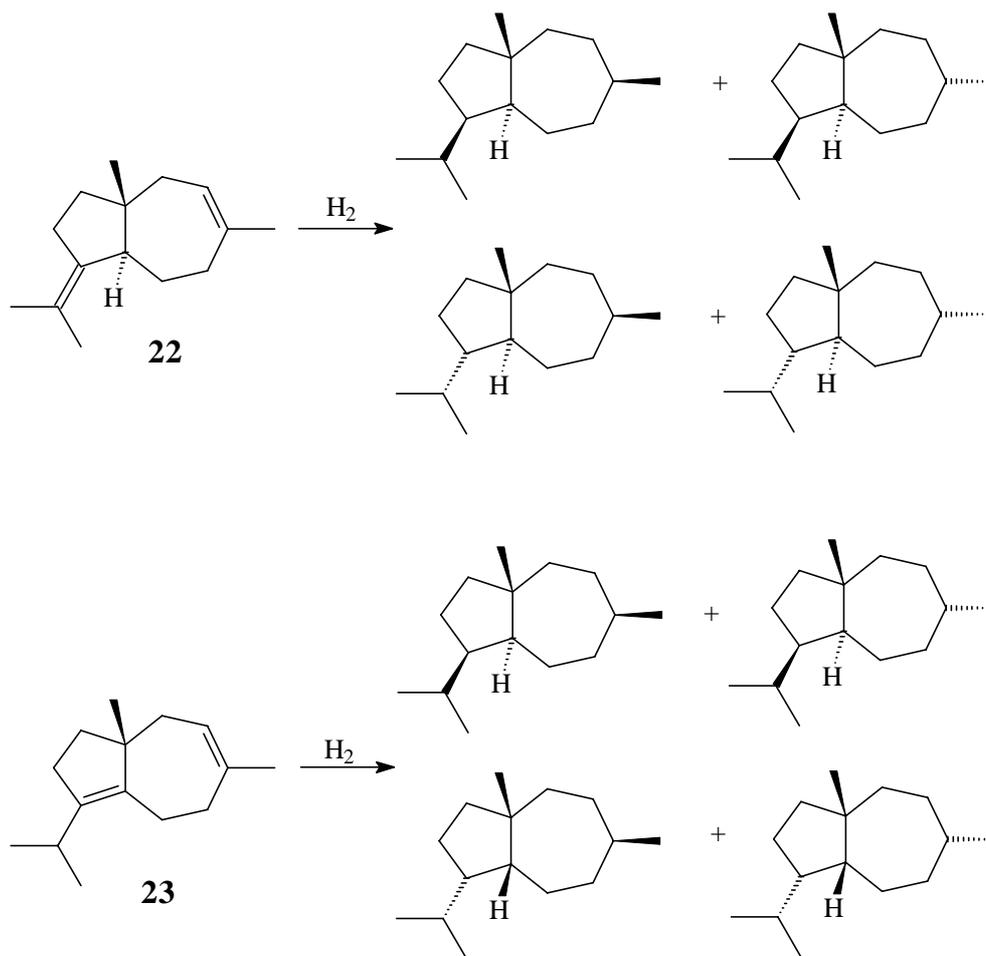


Abb. 4-47: Hydrierung von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) und (+)-Daucen (**23**)

Viridiflorol und Ledol

Viridiflorol (**24**) und Ledol (**25**) sind zwei diastereomere Aromadendranalkohole aus *B. trilobata* (**Abb. 4-48**). Es handelt sich um bereits bekannte Verbindungen, deren Zuordnung zu den NMR-Daten angezweifelt wurde [200]. Daher sollte geprüft werden, ob die Daten in der Literatur vertauscht worden waren.

Um die Verbindungen aus *B. trilobata* eindeutig zu charakterisieren und zu identifizieren, wurden sie mit ein- und zweidimensionalen NMR-Methoden untersucht. Mit Hilfe der HMQC-, HMBC- und COSY-GS-Spektren konnten die Signale der

NMR-Spektren bestimmten Kohlenstoff- und Wasserstoffatomen im Molekül zugeordnet werden.

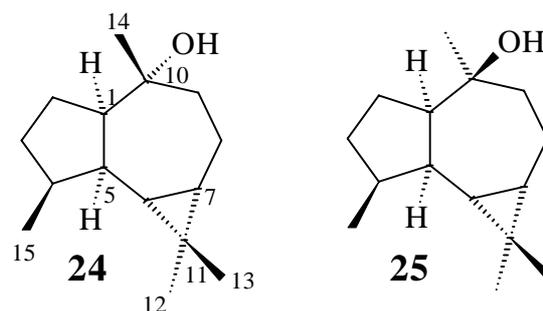


Abb. 4-48: Diastereoisomere Viridiflorol (**24**) und Ledol (**25**)

Die Bestimmung der Konfiguration am Kohlenstoffatom C-10 und damit eine Unterscheidung zwischen den Diastereomeren Viridiflorol (**24**) und Ledol (**25**) war anhand der Informationen aus den NOESY-Spektren möglich (**Abb. 4-49**, **Abb. 4-50**). Ein wichtiger Unterschied liegt in der Wechselwirkung der Protonen der Methylgruppe CH₃-14 mit ihrer Umgebung. Im Falle von Ledol (**25**) führt die Sättigung der Resonanz der Protonen der Methylgruppe CH₃-14 zu einer Intensitätszunahme der Signale der Protonen H-1 und H-5, im Falle von Viridiflorol (**24**) hingegen nur des Signals von Proton H-1. Die Wasserstoffatome H-1 und H-5 befinden sich bei Ledol und Viridiflorol auf der Unterseite des Moleküls. Erfolgt eine Wechselwirkung der Protonen der Methylgruppe CH₃-14 mit beiden Protonen H-1 und H-5, muß sich die Methylgruppe in α -Stellung – wie bei Ledol (**25**) – befinden. Eine Wechselwirkung zwischen Proton H-1 und den Protonen der Methylgruppe CH₃-14 wäre auch bei β -Stellung der Methylgruppe – wie bei Viridiflorol (**24**) – möglich.

Damit konnten die Zweifel an der korrekten Zuordnung der NMR-Daten zu Viridiflorol (**24**) [154] und Ledol (**25**) [190] ausgeräumt werden.

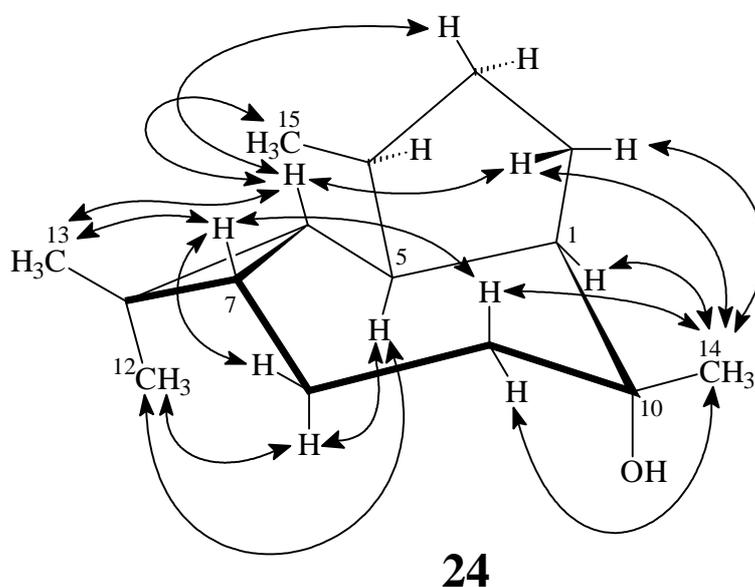


Abb. 4-49: Wechselwirkungen im NOESY-Spektrum von Viridiflorol (**24**)

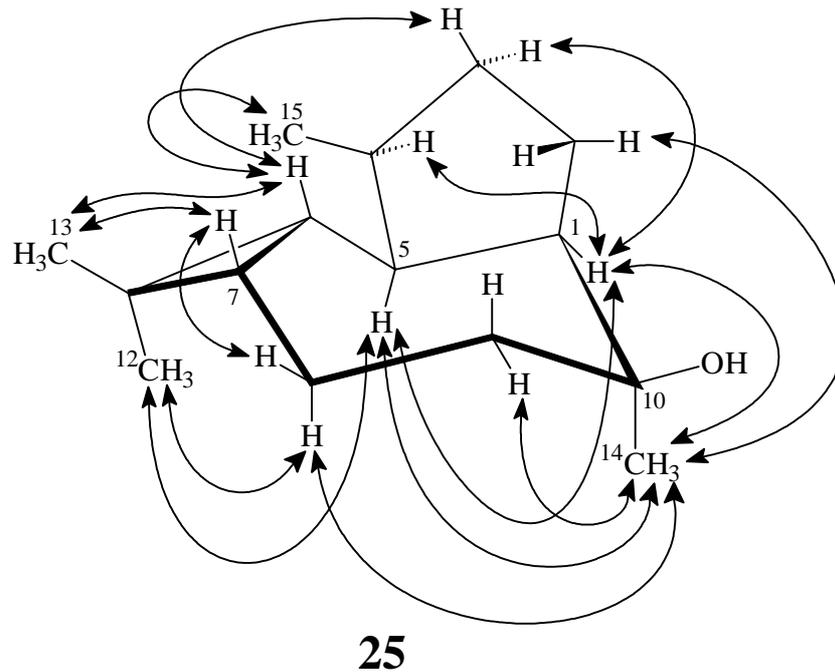


Abb. 4-50: Wechselwirkungen im NOESY-Spektrum von Ledol (**25**)

Viridiflorol (**24**) wurde durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase aus dem ätherischen Öl von *B. trilobata* isoliert. Ledol (**25**) war als Referenzverbindung vorhanden und wurde mit dem Naturstoff aus *B. trilobata* durch Massenspektrometrie und Gaschromatographie verglichen.

4.1.3. *Tritomaria quinquedentata* (Fünfzahnmoos)

Es handelt sich um ein folioses Lebermoos [8-11], für das folgende Einordnung in die Systematik der Pflanzen getroffen werden kann:

Klasse:	<i>Hepaticae</i> (Lebermoos)
Unterklasse:	<i>Jungermanniiidae</i>
Ordnung:	<i>Jungermanniales</i>
Familie:	<i>Lophoziaceae</i>
Art:	<i>Tritomaria quinquedentata</i> (Huds.) Buch.

T. quinquedentata bildet flache, meist lockere, gelb- bis dunkelgrüne Überzüge. Die Pflanzen wachsen kriechend oder aufsteigend, sind 2-5 cm lang, 2-3 mm breit und wenig verzweigt. Die Flankenblätter stehen schief am Stämmchen (**Abb. 4-51**) und weisen drei asymmetrische, teilweise doppelt gezähnte Spitzen auf. Die Blätter sind so breit wie lang, wobei die eine Blattseite halbkreisförmig gekrümmt und viel länger als die andere ist. Auf der Unterseite der Stämmchen befinden sich zahlreiche Rhizoide,

während Unterblätter fehlen oder nur am Stämmchenende vorhanden sind. Es sind 6-15 Ölkörperchen pro Zelle zu finden.

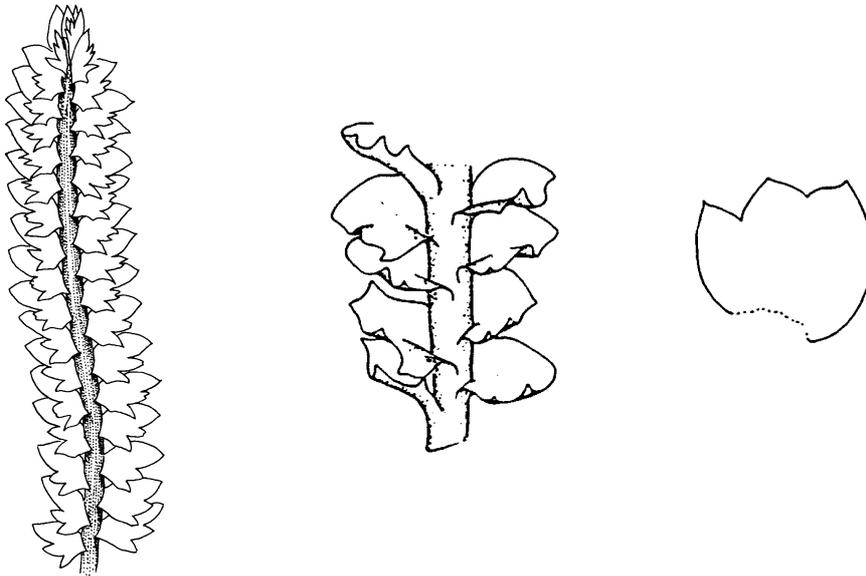


Abb. 4-51: Lebermoos *Tritomaria quinquedentata*

T. quinquedentata bevorzugt feuchtes, schwach saures Gestein in den Mittelgebirgen und Alpen. Das untersuchte Pflanzenmaterial wurde im Genova-Tal in den italienischen Alpen gesammelt.

4.1.3.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Tritomaria quinquedentata*

Bei früheren Untersuchungen des ätherischen Öls von *T. quinquedentata* wurden 11-Bourbonen, Tritomaren, α -Cedren, β -Cedrol, (-)-Dihydrodiplophyllolid, (-)- β -Spathulenol, (-)-Diplophyllolid und Stigmasterol als Inhaltsstoffe gefunden [161,201]. Die erneute Untersuchung des Wasserdampfdestillats von *T. quinquedentata* führte zur Identifizierung der folgenden Verbindungen als Inhaltsstoffe: Anastrepten [6,140], Isoleden [6], β -Elemen [6], Tritomaren [b,6], 11-Bourbonen [b,6], Calaren [6], β -Barbaten [6,142], *allo*-10(14)-Aromadendren [6,154], β -Acoradien [6], α -Selinen [6,202], Bicyclogermacren [6,139], Maaliol [164], β -Spathulenol [155,156], 4,5-Dehydroviridiflorol [b], Globulol [154], β -Cedrol [203], Guai-5-en-11-ol [158], (+)-7-*epi*-Junenol [e], (-)-7-*epi*-Isojunenol [e], Isoalantolacton [204] und Diplophyllolid A [205] (**Abb. 4-52, Schema 4-5**).

Die ätherischen Öle verschiedener Pflanzenproben aus derselben Gegend in den italienischen Alpen unterscheiden sich durch das Auftreten der beiden Alkohole (+)-7-

epi-Junenol und (-)-7-*epi*-Isojunenol, die entweder in höheren Konzentrationen vorliegen oder aber völlig fehlen.

(-)-7-*epi*-Isojunenol (**26**) [e] ist ein neuer Sesquiterpenalkohol mit Eudesman-Grundgerüst. Ein weiterer Sesquiterpenalkohol dieses Grundgerüsts, (+)-7-*epi*-Junenol (**29**) [e], war bereits als Syntheseprodukt bekannt [206,207] und wurde nun erstmals in der Natur gefunden. Beide Verbindungen wurden durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase aus dem ätherischen Öl von *T. quinquedentata* isoliert.

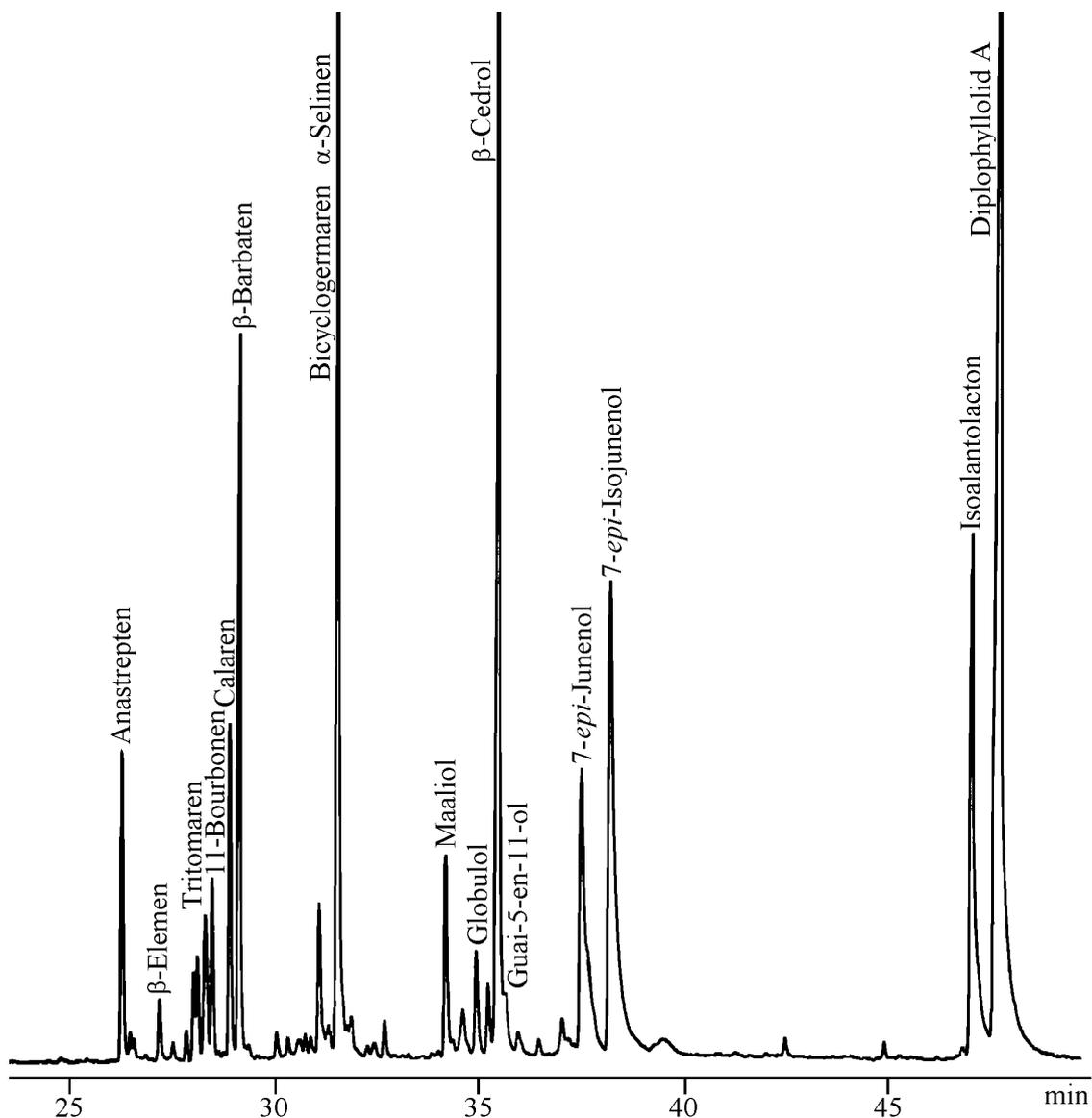
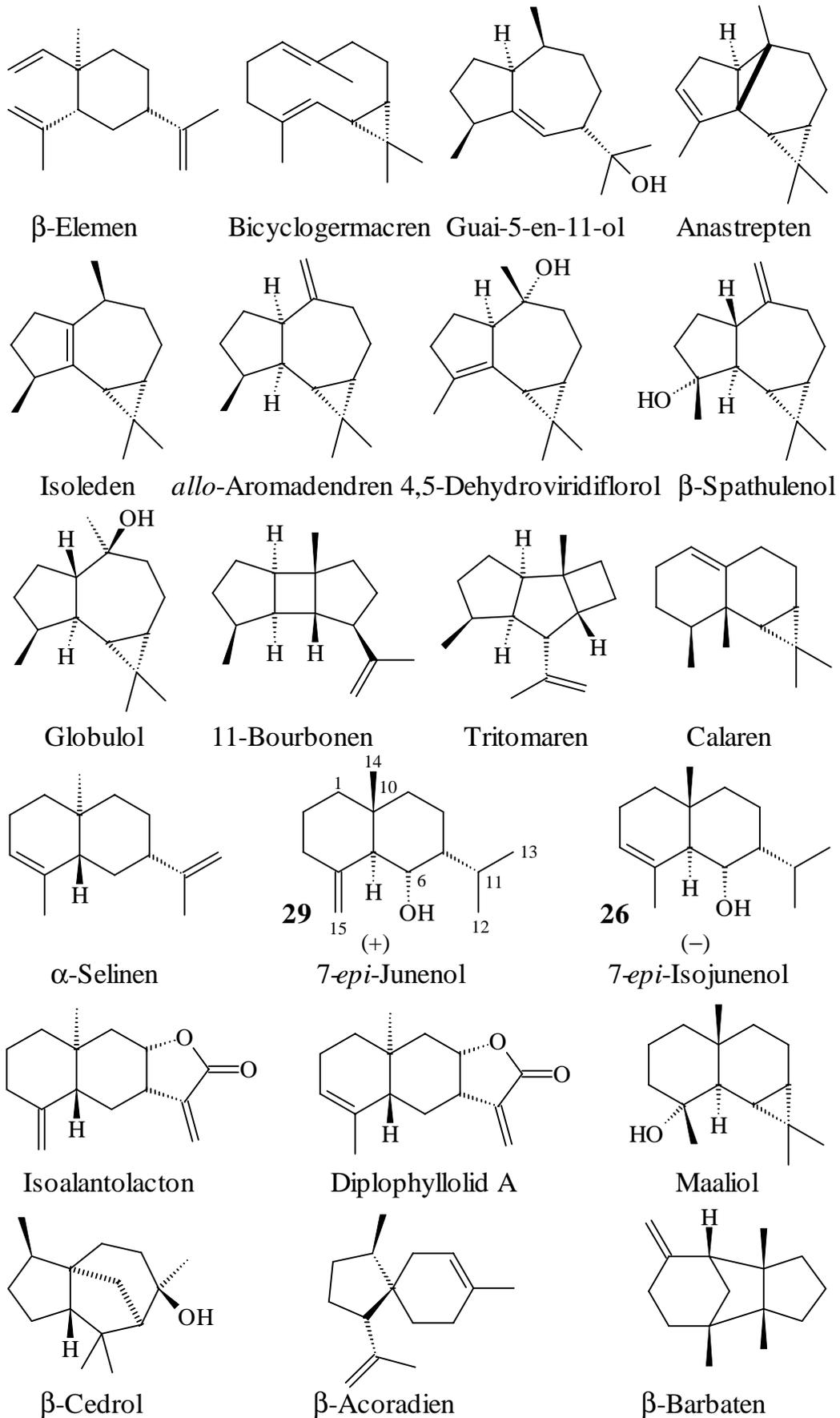


Abb. 4-52: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *Tritomaria quinquedentata* (CpSil 5, 50°C, 3°/min, 230°C)



Schema 4-5: Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Tritomaria quinquedentata*

(-)-7-*epi*-Isojunenol

Durch das Massenspektrum wird (-)-7-*epi*-Isojunenol {(1*S*,2*R*,4*aS*,8*aR*)-1,2,3,4,4*a*,5,6,8*a*-Octahydro-4*a*,8-dimethyl-2-(1-methylethyl)-naphthalen-1-ol} (**26**) die Masse m/z 222 und damit die Summenformel $C_{15}H_{26}O$ zugewiesen.

Das 1H -NMR-Spektrum zeigt ein Signal für ein olefinisches Proton bei δ 5.36, ein Signal für ein Proton in der Nachbarschaft zu einem Sauerstoffatom bei δ 3.95, Dubletts für Protonen von zwei sekundären Methylgruppen bei δ 0.95 und 1.04 und Singulets für Protonen von zwei tertiären Methylgruppen bei δ 0.90 und 1.87, wobei das zum tiefen Feld verschobene Signal auf eine allylische Methylgruppe aufmerksam macht.

Im ^{13}C -NMR- und im DEPT-Spektrum sind Signale für Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 21.5, 21.6, 22.5 und 22.7, vier sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 20.3, 23.3, 37.5 und 39.8, fünf tertiären Kohlenstoffatomen bei δ 27.3, 45.7, 50.4, 70.1 und 122.6 und zwei quartären Kohlenstoffatomen bei δ 31.8 und 134.9 zu erkennen. Das schwach zum tiefen Feld verschobene Signal bei δ 70.1 ist charakteristisch für ein tertiäres Kohlenstoffatom in Nachbarschaft zu einem Sauerstoffatom, während die stark zum tiefen Feld verschobenen Signale bei δ 122.6 und 134.9 olefinische Kohlenstoffatome repräsentieren.

Aus dem HMQC-Spektrum ergab sich die Korrelation von 1H - und ^{13}C -NMR-Signalen und aus dem COSY-GS- und dem HMBC-Spektrum die Verknüpfung der einzelnen Gruppen (**Abb. 4-53**, **Abb. 4-54**).

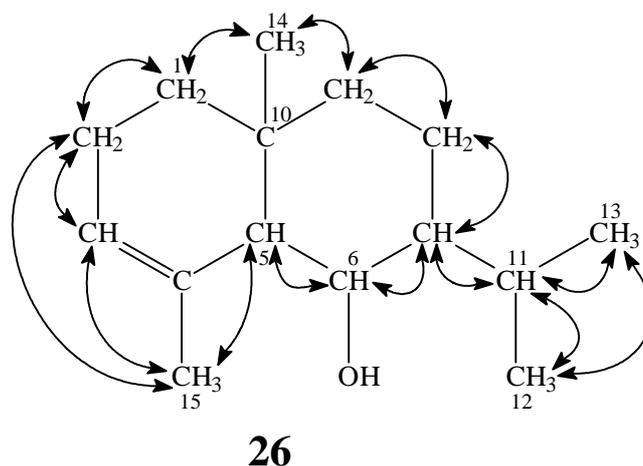


Abb. 4-53: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von 7-*epi*-Isojunenol (**26**)

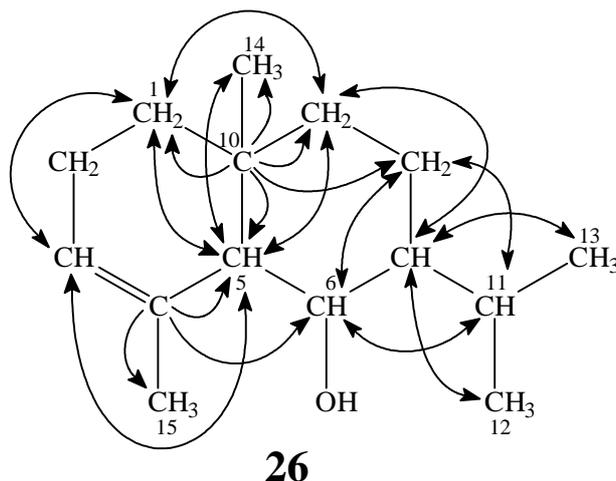


Abb. 4-54: Wechselwirkungen im HMBC-Spektrum von 7-*epi*-Isojunenol (**26**) (Die Wechselwirkungen, die denen im COSY-GS-Spektrum entsprechen, wurden hier weglassen.)

Mit Hilfe eines NOESY-Spektrums wurde die relative Konfiguration an den Kohlenstoffatomen C-5, C-6, C-7 und C-10 ermittelt. Zum einen wechselwirkt das Proton H-6 mit dem Proton H-7 und den Protonen der Methylgruppe CH₃-14, zum anderen das Proton H-5 mit dem Proton H-11. Daher müssen die Wasserstoffatome H-6 und H-7 und die Methylgruppe CH₃-14 auf der einen Seite des Moleküls liegen und das Wasserstoffatom H-5 und die Isopropylgruppe auf der anderen Seite (**Abb. 4-55**).

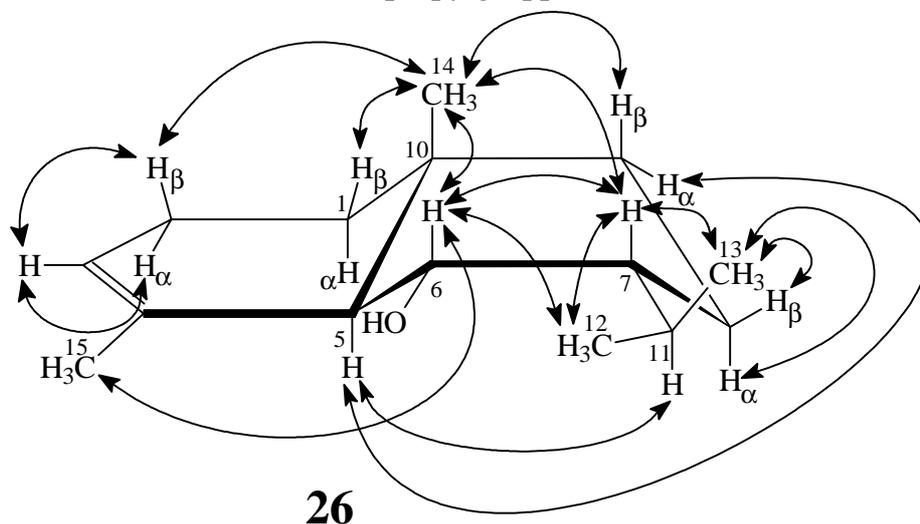


Abb. 4-55: Wechselwirkungen im NOESY-Spektrum von 7-*epi*-Isojunenol (**26**)

Um die Struktur von (-)-7-*epi*-Isojunenol (**26**) zu beweisen, wurde eine Dehydratisierungsreaktion durchgeführt. Die beiden Dehydratisierungsprodukte wurden durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase getrennt, durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie charakterisiert und als (-)-*trans*-Eudesma-3,5-dien (**27**) [208] und (-)-*trans*-Eudesma-3,7-dien (**28**) [6] identifiziert

(Abb. 4-56). (-)-*trans*-Eudesma-3,7-dien (**28**) entsteht infolge einer Umlagerungsreaktion.

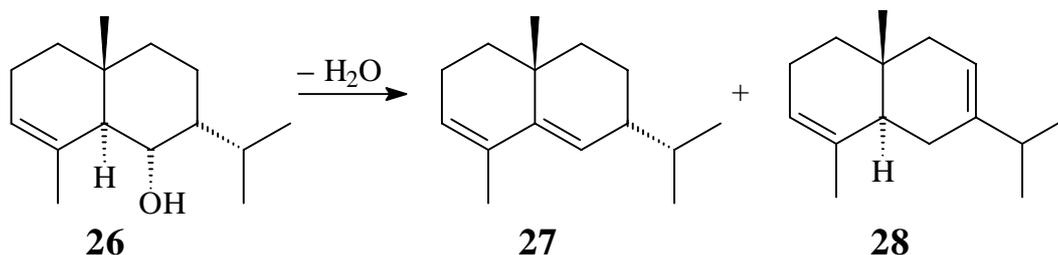


Abb. 4-56: Dehydratisierung von (-)-7-*epi*-Isojunenol (**26**) zu (-)-*trans*-Eudesma-3,5-dien (**27**) und (-)-*trans*-Eudesma-3,7-dien (**28**)

(+)-7-*epi*-Junenol

(+)-7-*epi*-Junenol (**29**), ein bekanntes Syntheseprodukt [206,207], wurde nun erstmals in der Natur gefunden. Die Spektral-Daten von Naturstoff und Syntheseprodukt sind identisch.

Dehydratisierung von (+)-7-*epi*-Junenol (**29**) führte zu *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (**30**) [6,209] und *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (Vetiselinen) (**31**) [6] (Abb. 4-57). Die Dehydratisierungsprodukte wurden durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase gereinigt und durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie charakterisiert. *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (**31**) kann durch Umlagerung von *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (**30**) entstanden sein.

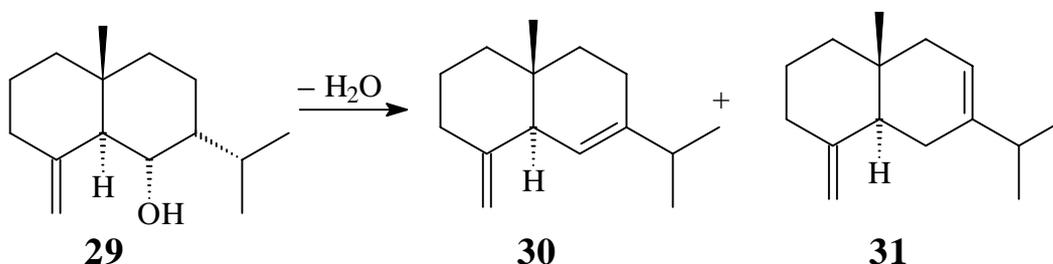


Abb. 4-57: Dehydratisierung von (+)-7-*epi*-Junenol (**29**) zu *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (**30**) und *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (Vetiselinen) (**31**)

Bestimmung der absoluten Konfiguration

von (-)-7-*epi*-Isojunenol und (+)-7-*epi*-Junenol

Zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-7-*epi*-Isojunenol (**26**) und (+)-7-*epi*-Junenol (**29**) wurde eine Korrelationsreaktion mit (+)- δ -Selinin (**32**) [6] durchgeführt. Die Dehydratisierungsprodukte beider Alkohole, sowie (+)- δ -Selinin (**32**) wurden hydriert (Abb. 4-58). Die Hydrierung von *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (**30**), *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (**31**) und (+)- δ -Selinin (**32**) führte hauptsächlich zu zwei identischen gesättigten Eudesmanen, wobei die Addition des Wasserstoffs an die Doppelbindung C-4/15 bzw. C-4/5 vermutlich nur von der Unterseite des Moleküls erfolgte. Bei der Hydrierung von (-)-*trans*-Eudesma-3,5-dien (**27**) entstanden vier

gesättigte Eudesmane, von denen eines identisch ist mit einem Hydrierungsprodukt von *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (**30**), *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (**31**) und (+)- δ -Selinen (**32**). Die Hydrierungsprodukte wurden durch Massenspektrometrie und durch Gaschromatographie an achiralen und an chiralen GC-Phasen miteinander verglichen.

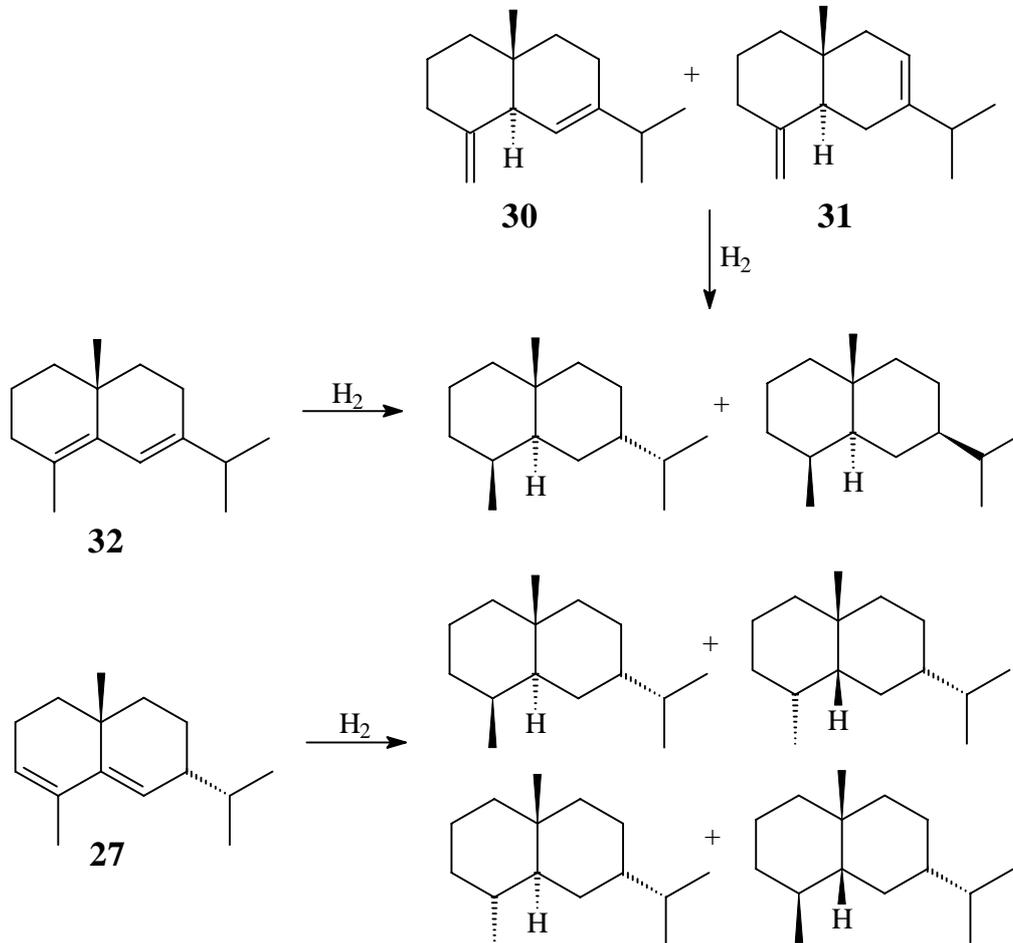


Abb. 4-58: Hydrierung von *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (**30**), *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (**31**) und (+)- δ -Selinen (**32**)

4.1.4. *Reboulia hemisphaerica* (Halbkugelkopfmoss)

Dieses thallose Lebermoos [9,11] kann wie folgt in die Systematik der Pflanzen eingeordnet werden kann:

Klasse: *Hepaticae* (Lebermoos)
 Unterklasse: *Marchantiidae*
 Ordnung: *Marchantiales*
 Art: *Reboulia hemisphaerica* (L.) Raddi

R. hemisphaerica besitzt einen 3-7 mm dicken, 0.5-3 cm langen und 0.5-1 cm breiten herzförmigen Thallus mit vielen halbkreisförmigen Läppchen am Rand (**Abb. 4-59**). Die Thallusoberseite ist mattglänzend grün, die Unterseite rotviolett mit zweispitzigen, rotvioletten Bauchschuppen und zahlreichen Rhizoiden. Die Ölkörperchen der Oberseite sind schwarzbraun, die der Unterseite wasserhell.



Abb. 4-59: Lebermoos *Reboulia hemisphaerica*

R. hemisphaerica ist kosmopolitisch, aber selten. Es wächst auf der Erde und an Felsen, besonders auf kalkhaltigem Untergrund. In Europa findet man *R. hemisphaerica* in den Alpen und den Mittelgebirgen, im Flachland dagegen nur vereinzelt.

Das untersuchte Pflanzenmaterial wurde einerseits an dem Fluß Argout in der Nähe von Burlats und Les Salvages in Südfrankreich gesammelt und stammte andererseits von einer Pflanzenkultur, die im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. H. Becker in Saarbrücken angelegt wurde [28].

4.1.4.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls und des Extrakts von *Reboulia hemisphaerica*

Frühere Untersuchungen der ätherischen Öle oder Extrakte von *R. hemisphaerica* führten zur Unterscheidung von drei verschiedenen Chemotypen dieses Lebermooses: einem europäischen, einem japanischen und einem taiwanesischen Chemotyp [210,211]. Für den taiwanesischen Chemotyp sind Sesquiterpene mit Cuparan-, Cyclomylytalan- und Cadinan-Grundgerüst charakteristisch, für den japanischen solche mit Cuparan- und Aristolan-Grundgerüst und für den europäischen solche mit Cuparan- und Gymnomitran-Grundgerüst.

Als Inhaltsstoffe des europäischen Chemotyps waren (+)-Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol, (+)-3 β -Hydroxygymnomitran-4-on, (-)-(R)-1,4-Dihydro- α -cuparenon und (-)-(R)- α -Cuparenon bekannt [212-214].

Die erneute Untersuchung der Inhaltsstoffe des Wasserdampfdestillats und des Extrakts von *R. hemisphaerica* führte zur Identifizierung der folgenden Sesquiterpene: (-)-Gymnomitra-3(15),4-dien [f], α -Barbaten [6], (-)- β -Barbaten [6,142], Gymnomitr-3(15)-en-4-on [212], Gymnomitran-4-on [212], (+)-Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol [212], Gymnomitrol [192,193], Isobazzanen [6], β -Bazzanen [6,187,188], Cuparen [6], α -Cuprenen [6], δ -Cuprenen [6] und β -Acoradien [6] (**Abb. 4-60, Schema 4-6**).

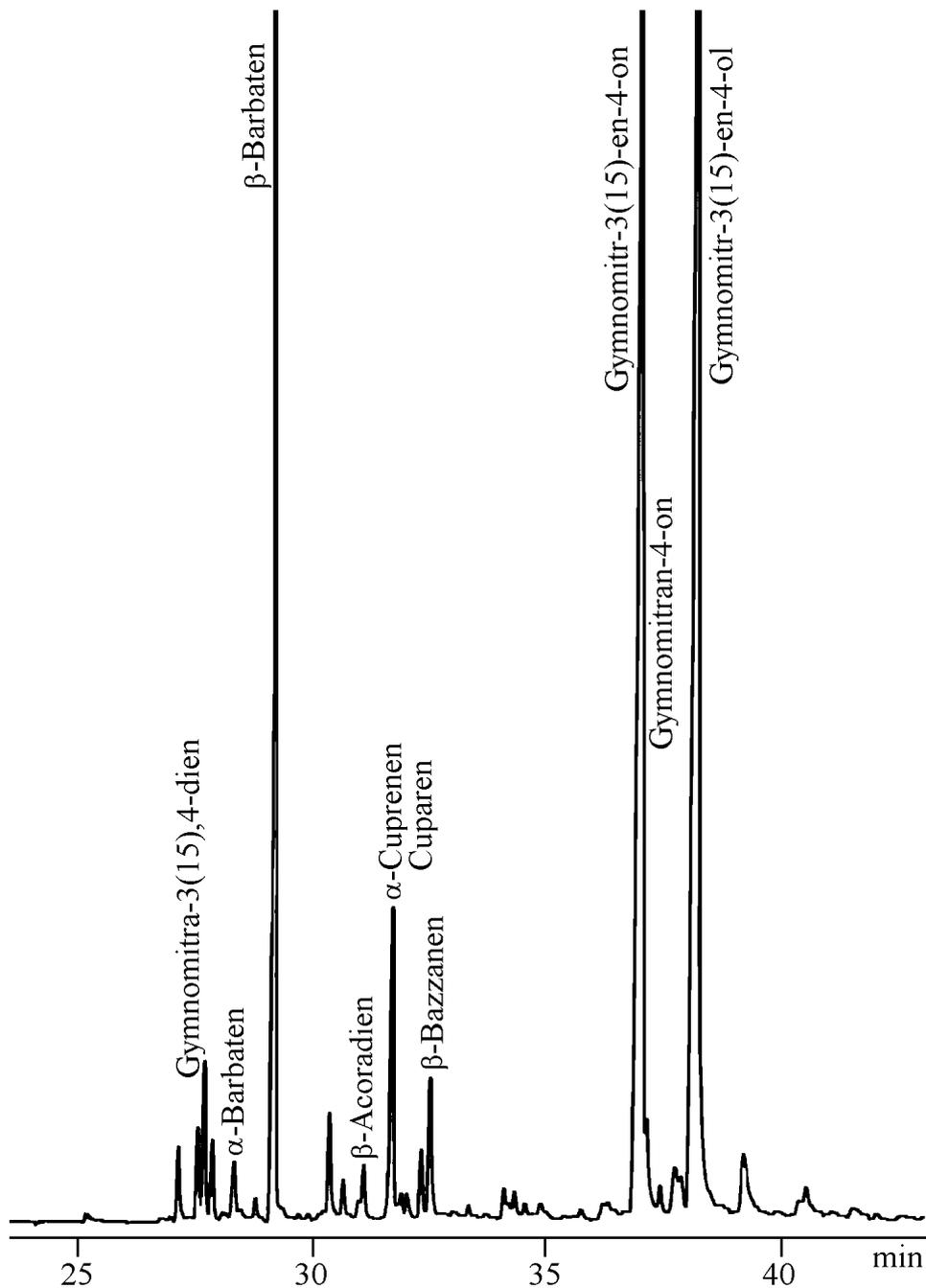
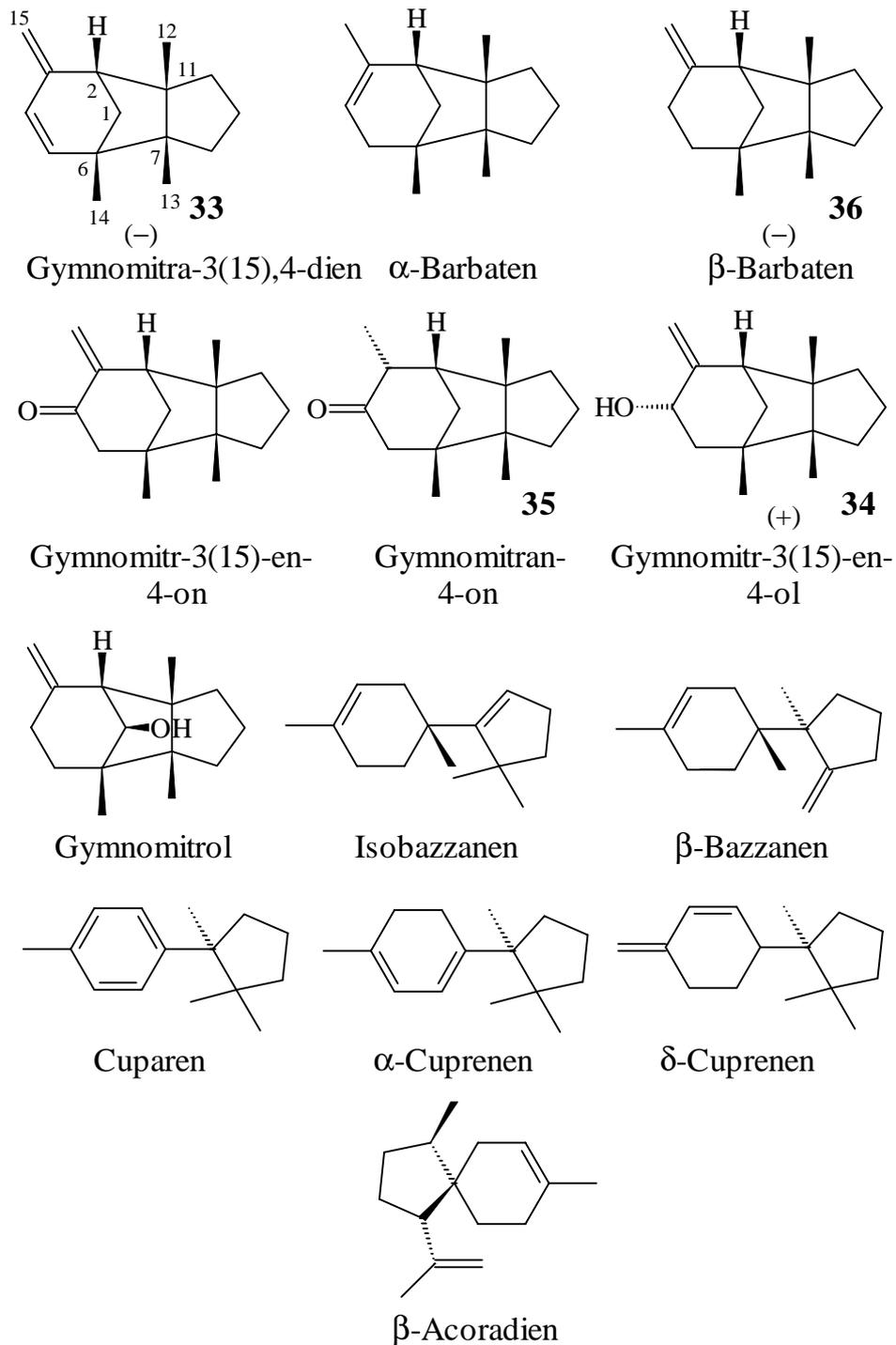


Abb. 4-60: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *Reboulia hemisphaerica* (CpSil 5, 50°C, 3°/min, 230°C)



Schema 4-6: Inhaltsstoffe des ätherischen Öls und des Extrakts von *Reboulia hemisphaerica*

Wasserdampfdestillat und Extrakt unterscheiden sich nur geringfügig in den relativen Verhältnissen der einzelnen Komponenten, so daß davon ausgegangen werden kann, daß die gefundenen Verbindungen tatsächlich Pflanzeninhaltsstoffe und keine Artefakte sind.

Die meisten der identifizierten Sesquiterpene sind bekannte Verbindungen; (-)-Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**) [f] ist jedoch ein neuer Sesquiterpenkohlenwasserstoff, der auch in den ätherischen Ölen der Lebermoose *Plagiochasma rupestre*

und *Gymnomitrion corallioides* vorkommt. Aus dem ätherischen Öl von *R. hemisphaerica* wurde er durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung von Säulen mit SE 30- und 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase isoliert.

(-)-Gymnomitra-3(15),4-dien

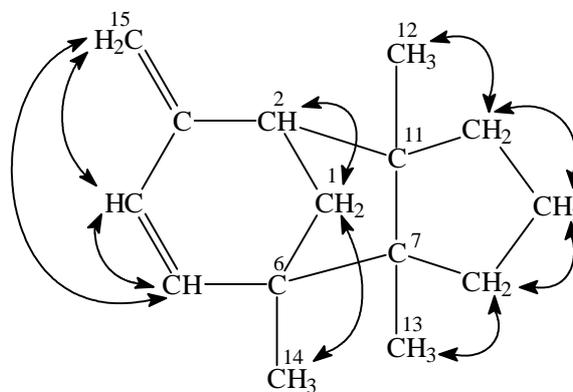
Das Massenspektrum von (-)-Gymnomitra-3(15),4-dien {(3*aR*,4*S*,8*R*,8*aS*)-1,2,3,3*a*,4,7,8,8*a*-Octahydro-3*a*,4,8*a*-trimethyl-7-methylen-4,8-methanoazulen} (**33**) zeigt ein Moleküllion-Signal bei m/z 202 und weist dem Molekül damit die Summenformel $C_{15}H_{22}$ zu.

Im 1H -NMR-Spektrum sind Singulets für Protonen von drei tertiären Methylgruppen bei δ 0.84, 0.91 und 1.03, breite Singulets für zwei geminale olefinische Protonen bei δ 4.72 und 4.85, Dubletts für zwei vicinale olefinische Protonen bei δ 5.59 und 6.02 und ein breites Dublett für ein allylisches Proton bei δ 2.32 zu erkennen.

Die Informationen über die Verknüpfung der Gruppen konnten aus dem COSY-GS-Spektrum erhalten werden. Die beiden vicinalen olefinischen Protonen (δ 5.59, CH-5; 6.02, CH-4) koppeln miteinander und mit den beiden Protonen der exocyclischen Doppelbindung (δ 4.72, 4.85, CH₂-15). Das Proton der allylischen Methingruppe (δ 2.32, CH-2), die mit dem quartären Kohlenstoffatom der exocyclischen Doppelbindung (C-3) verknüpft sein muß, koppelt mit einem Proton einer Methylengruppe (δ 1.62, 1.83 – 1.93, CH₂-1).

Ferner wechselwirken die Protonen dreier Methylengruppen (δ 1.04 – 1.14, 1.20 – 1.28, 1.54 – 1.70, 1.65 – 1.81, 1.83 – 1.93, 1.86 – 1.99, CH₂-8, CH₂-9, CH₂-10) miteinander, wodurch auf die Existenz einer Kette von drei Methylengruppen hingewiesen wird.

An den Enden dieser beiden Substrukturen müssen sich drei quartäre Kohlenstoffatome mit Methylgruppen (δ 0.84, 0.91, 1.03, CH₃-12, CH₃-13, CH₃-14) befinden, so daß sich ein tricyclisches Molekül mit der Struktur **33** ergibt (**Abb. 4-61**).



33

Abb. 4-61: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**)

Der Beweis der Struktur von Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**) erfolgte durch eine chemische Korrelationsreaktion mit der Hauptkomponente des ätherischen Öls von *R. hemisphaerica*, (+)-Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**34**). Nach Isolierung des Alkohols durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase wurde eine Dehydratisierungsreaktion durchgeführt, die zu dem Umlagerungsprodukt Gymnomitran-4-on (**35**) und zu dem Kohlenwasserstoff (-)-Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**) führte (**Abb. 4-62**). Somit müssen die relative und die absolute Konfiguration an den Positionen C-2, C-6, C-7 und C-11 von (-)-Gymnomitr-3(15),4-dien (**33**) und (+)-Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**34**) identisch sein. Das Dehydratisierungsprodukt und der Naturstoff (**33**) wurden durch Massenspektrometrie und Gaschromatographie an achiralen und chiralen GC-Phasen miteinander verglichen.

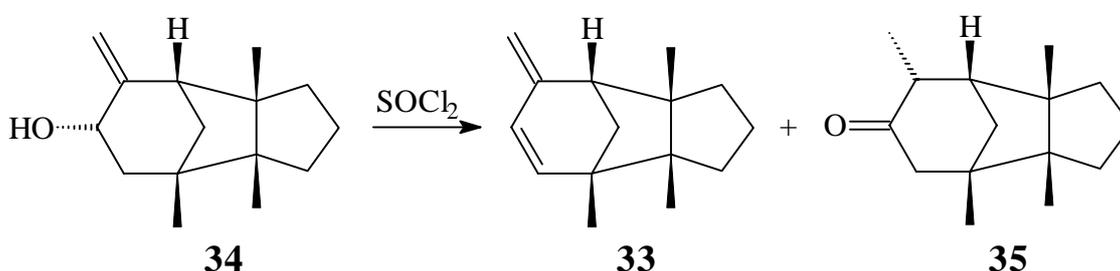


Abb. 4-62: Dehydratisierung und Umlagerung von (+)-Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**34**) zu (-)-Gymnomitr-3(15),4-dien (**33**) und Gymnomitran-4-on (**35**)

Außerdem wurde (-)-Gymnomitr-3(15),4-dien (**33**) mit (-)- β -Barbaten (**36**), einem weiteren Inhaltsstoff von *R. hemisphaerica*, korreliert. Die Hydrierung von (-)-Gymnomitr-3(15),4-dien (**33**) und (-)- β -Barbaten (**36**) führte zu denselben Produkten (**Abb. 4-63**). (-)- β -Barbaten (**36**) wurde zuvor durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase aus dem ätherischen Öl von *R. hemisphaerica* isoliert.

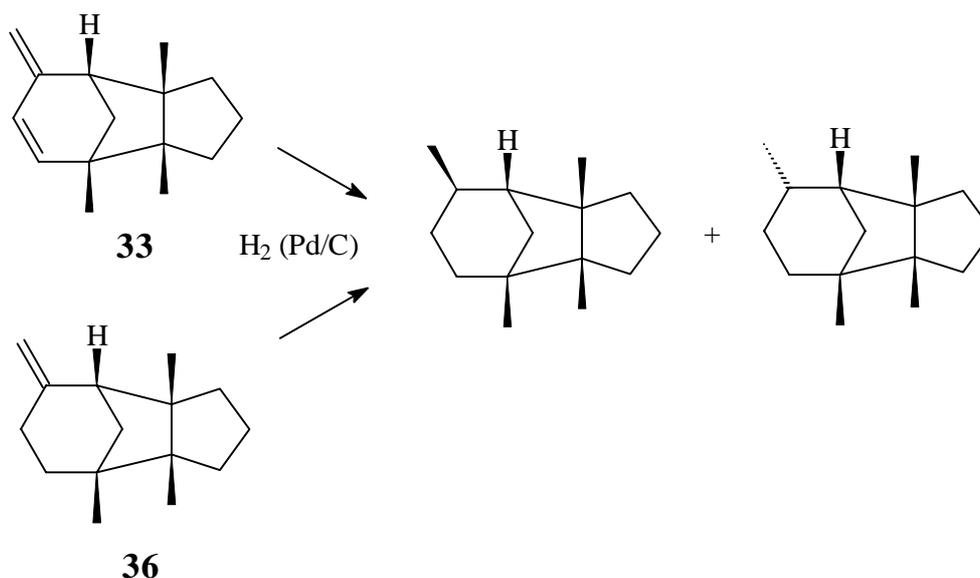


Abb. 4-63: Hydrierung von (-)-Gymnomitr-3(15),4-dien (**33**) und (-)- β -Barbaten (**36**)

4.1.5. *Gymnomitrium obtusum* (Abgestumpftes Nachtmützenmoos)

Hierbei handelt es sich um ein folioses Lebermoos [8,10,11], das wie folgt in die Systematik der Pflanzen eingeordnet werden kann:

Klasse:	<i>Hepaticae</i> (Lebermoos)
Unterklasse:	<i>Jungermanniidae</i>
Ordnung:	<i>Jungermanniales</i>
Familie:	<i>Gymnomitriaceae</i>
Art:	<i>Gymnomitrium obtusum</i> (Lindb.) Pears

G. obtusum wächst in dichten graugrünen bis hellgrünen Polstern. Die 0.5-3 cm hohen und 0.5 mm breiten Pflanzen sind wurmförmig, am Stämmchenende verdickt, kaum verzweigt und schuppenförmig beblättert (**Abb. 4-64**). Die zweilappigen Blätter sind eiförmig und haben stumpfe Blattzipfel. *G. obtusum* weist meist zwei Ölkörperchen pro Zelle auf.

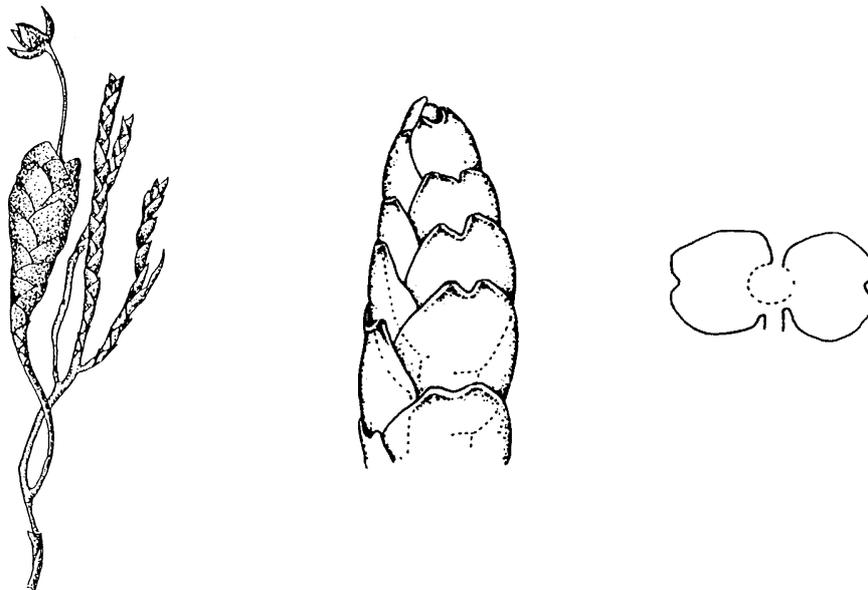


Abb. 4-64: Lebermoos *Gymnomitrium obtusum*

G. obtusum ist überwiegend an alpinen und subalpinen Standorten zu finden, ist jedoch selten. Es wächst auf Felsen im Bayrischen Wald, in der Rhön, auf dem Meißner, im Harz und in Tübingen.

Das untersuchte Pflanzenmaterial wurde auf dem Meißner gesammelt.

4.1.5.1. Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Gymnomitron obtusum*

Wie *R. hemisphaerica* ist auch *G. obtusum* reich an Sesquiterpenen mit Gymnomitran-Grundgerüst. Frühere Untersuchungen führten zur Identifizierung von (–)- β -Barbaten, (+)-Gymnomitrol und (+)-Gymnomitrylacetat als Inhaltsstoffe von *G. obtusum* [192,215].

Die Inhaltsstoffe des Wasserdampfdestillats wurden nun erneut untersucht, wobei folgende Sesquiterpene identifiziert wurden: α -Barbaten [6], (–)- β -Barbaten [6,142], Gymnomitron [f,193,216], Isogymnomitrol [191,192], (+)-Gymnomitrol [192,193,216], (+)-Gymnomitrylacetat [192,193], Isobazzanen [6] und Cuparen [6] (**Abb. 4-65**, **Schema 4-7**). Durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase konnten die Komponenten des ätherischen Öls von *G. obtusum* voneinander getrennt werden.

Gymnomitron (**37**) [f] wurde erstmals in der Natur gefunden; bislang war es nur als Syntheseprodukt bekannt [193,216-219]. Durch Derivatisierung von Gymnomitrol (**38**) und Isogymnomitrol (**39**) konnten vier Sesquiterpenkohlenwasserstoffe mit einem neuen Grundgerüst gewonnen werden: Isohirsuta-1(6),3(15)-dien (**40**), Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (**41**), Isohirsuta-1(6),3-dien (**42**) und Isohirsuta-3,6(14)-dien (**43**).

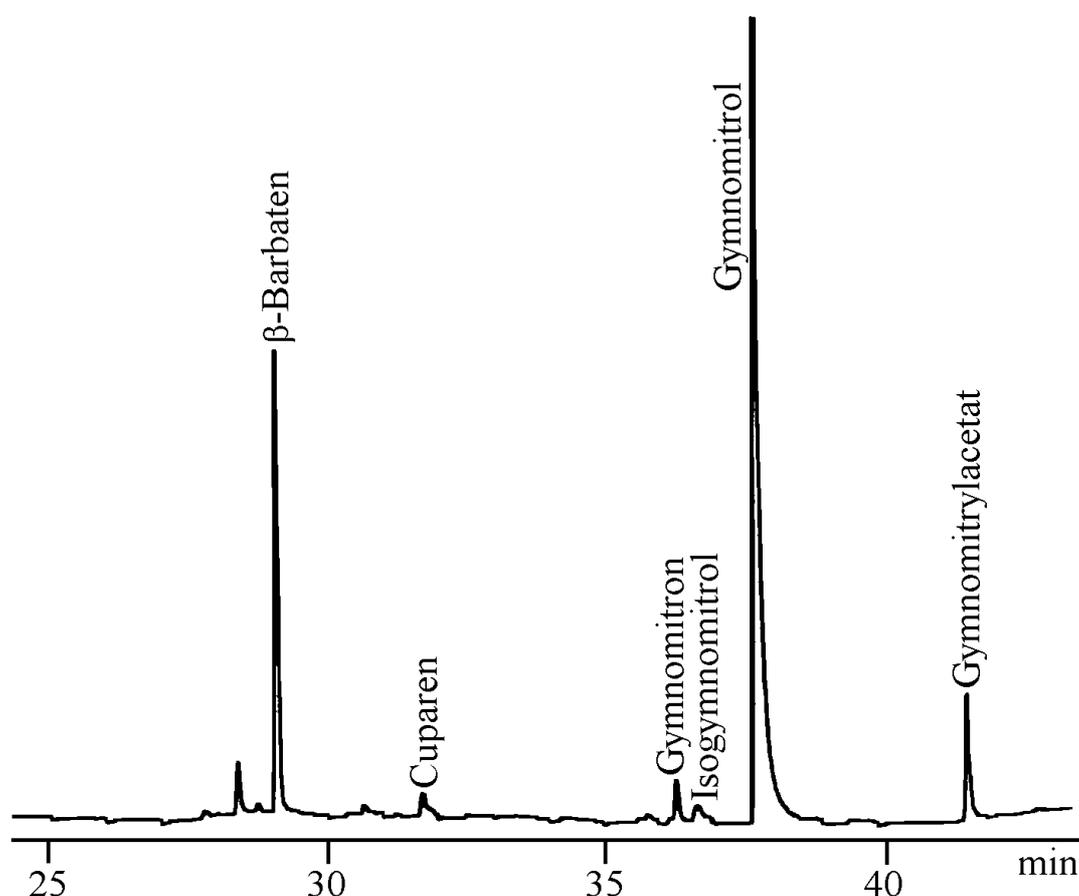
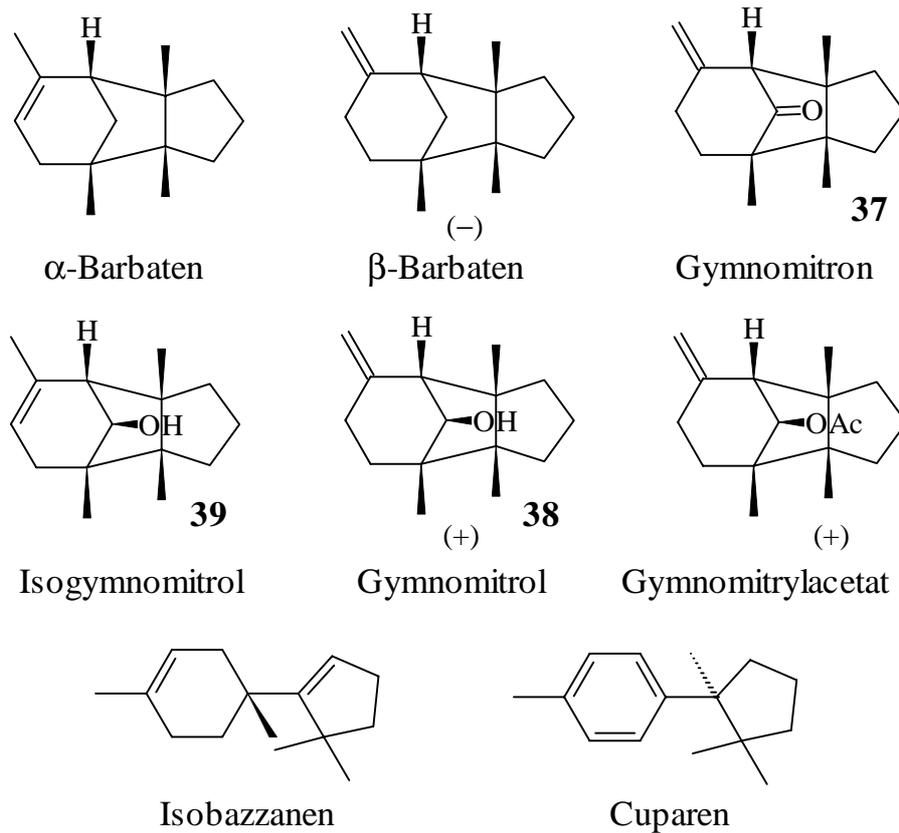


Abb. 4-65: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *Gymnomitron obtusum* (CpSil 5, 50°C, 3°/min, 230°C)



Schema 4-7: Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Gymnomitrion obtusum*

Gymnomitron

Gymnomitron (**37**) war bereits als Syntheseprodukt bekannt [193,216-219] und wurde nun erstmals in der Natur gefunden. Die Spektral-Daten des Naturstoffes sind identisch mit denen des Syntheseprodukts.

Die Reduktion von Gymnomitron (**37**) führte zu (+)-Gymnomitrol (**38**), der Hauptkomponente von *G. obtusum* (**Abb. 4-66**). Somit muß die absolute Konfiguration von Gymnomitron (**37**) an den Positionen C-2, C-6, C-7 und C-11 identisch mit derjenigen von (+)-Gymnomitrol (**38**) sein. Der Vergleich des Reduktionsproduktes und des Naturstoffes (**38**) erfolgte durch Massenspektrometrie und durch Gaschromatographie an achiralen und an chiralen GC-Phasen.

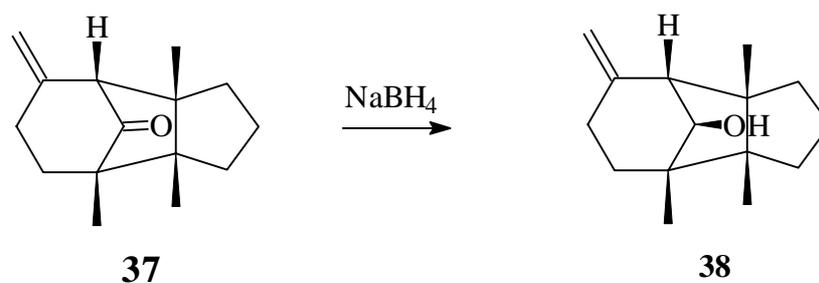


Abb. 4-66: Reduktion von Gymnomitron (**37**) zu (+)-Gymnomitrol (**38**)

Dehydratisierung und Umlagerung von Gymnomitrol und Isogymnomitrol – Synthese des neuen Sesquiterpen-Grundgerüsts der Isohirsutane

Bei der Dehydratisierung von Gymnomitrol (**38**) und Isogymnomitrol (**39**) mit Thionylchlorid kam es zu einer Umlagerungsreaktion, die zur Bildung von isomeren Kohlenwasserstoffen mit einem neuen Sesquiterpen-Grundgerüst führte. Dieses neue Grundgerüst wurde in Anlehnung an die Hirsutane, die ebenfalls auf ein 1*H*-Cyclopenta[*a*]pentalensystem zurückzuführen sind [54], als Isohirsutane bezeichnet (**Abb. 4-67**). Ein verwandtes Grundgerüst besitzen auch die Capnellane.

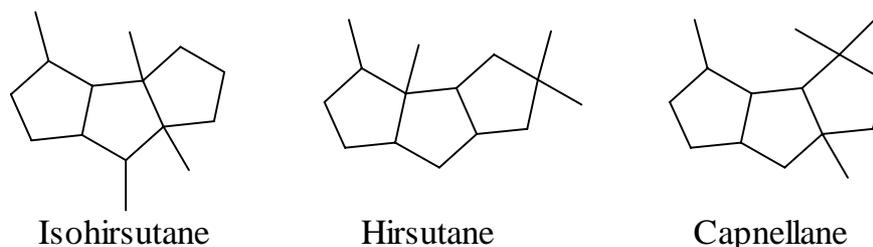


Abb. 4-67: Isohirsutan-, Hirsutan- und Capnellan-Grundgerüst

Die Reaktion lief vermutlich nach folgendem Mechanismus ab (**Abb. 4-68**): Unter dem Einfluß von Thionylchlorid wurde die Hydroxygruppe abgespalten. Das entstandene sekundäre Carbenium-Ion mit der Ladung am Kohlenstoffatom C-1 lagerte in ein stabileres tertiäres Carbenium-Ion um, wobei die Bindung zwischen den Kohlenstoffatomen C-5 und C-6 gespalten und die Bindung zwischen den Kohlenstoffatomen C-5 und C-1 neu gebildet wurde. Der nukleophile Angriff am Kohlenstoffatom C-1 konnte nur von der Unterseite her erfolgen, so daß die Konfiguration dieses neuen Stereozentrums durch die Reaktion vorgegeben war. Durch die Abspaltung eines benachbarten Protons wurde das Carbenium-Ion mit der Ladung am Kohlenstoffatom C-6 stabilisiert, wobei zwei Doppelbindungsisomere gebildet wurden. Die Konfiguration an den Positionen C-2, C-7 und C-11 ergab sich aus der der Ausgangsverbindungen.

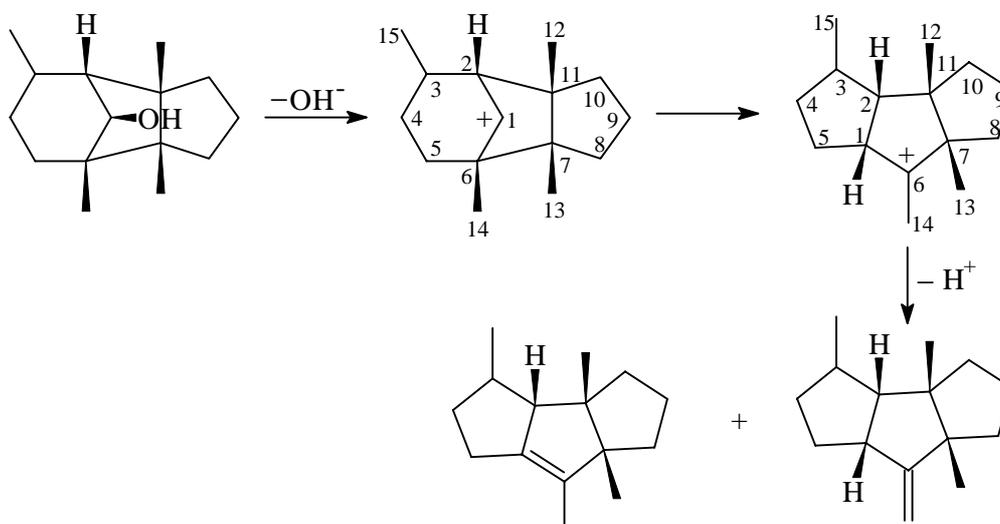


Abb. 4-68: Reaktionsmechanismus der Dehydratisierung und Umlagerung von 1-Hydroxygymnomitranen zu Isohirsutanen

Aus Gymnomitrol (**38**) entstanden Isohirsuta-1(6),3(15)-dien (**40**) und Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (**41**) und aus Isogymnomitrol (**39**) Isohirsuta-1(6),3-dien (**42**) und Isohirsuta-3,6(14)-dien (**43**) (Abb. 4-69). Die Reaktionsprodukte wurden durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase isoliert. In den Massenspektren dieser neuen Kohlenwasserstoffe treten die Molekülion-Signale bei m/z 202 auf, was einer Summenformel $C_{15}H_{22}$ entspricht.

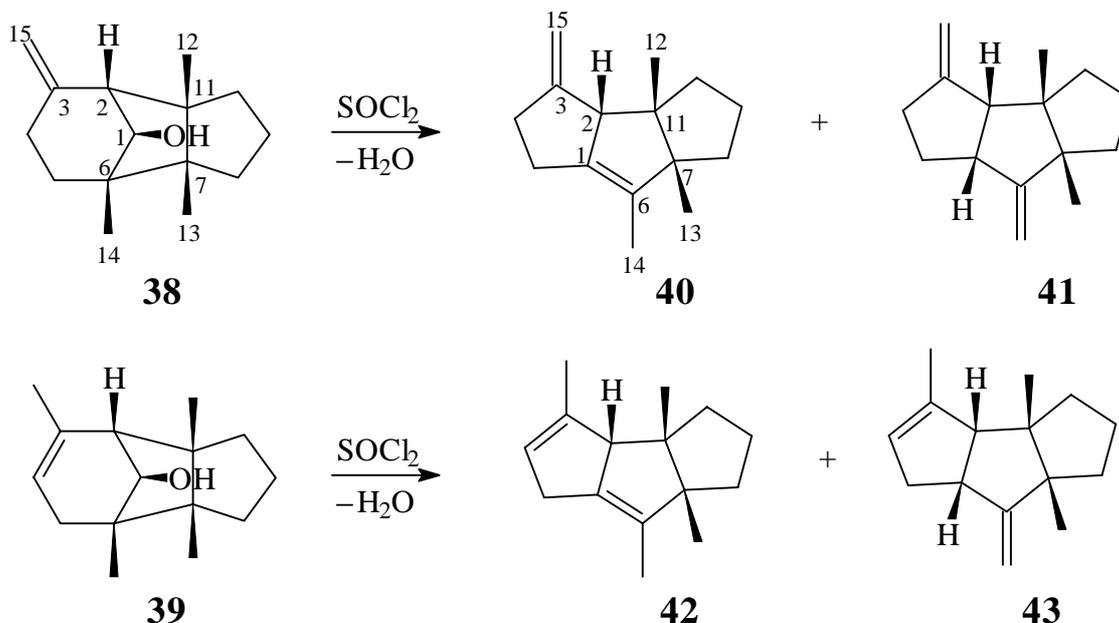


Abb. 4-69: Dehydratisierung und Umlagerung von Gymnomitrol (**38**) zu Isohirsuta-1(6),3(15)-dien (**40**) und Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (**41**) und von Isogymnomitrol (**39**) zu Isohirsuta-1(6),3-dien (**42**) und Isohirsuta-3,6(14)-dien (**43**)

Isohirsuta-1(6),3(15)-dien

Im 1H -NMR-Spektrum von Isohirsuta-1(6),3(15)-dien $\{(4aS,7aS,7bS)-1H-2,3,4a,5,6,7,7a,7b$ -Octahydro-4,4a,7a-trimethyl-1-methylcyclopenta[a]pentalen $\}$ (**40**) sind Signale für zwei geminale olefinische Protonen bei δ 4.81 und 4.93, ein Singulett für ein doppelt allylisches Proton bei δ 3.17 und Singulett für Protonen von drei tertiären Methylgruppen bei δ 0.95, 1.07 und 1.48 zu erkennen, wobei das letzte zum tiefen Feld verschobene Signal auf eine allylische Methylgruppe hinweist.

Die Verknüpfung der Gruppen wurde aus dem COSY-GS-Spektrum ermittelt, in dem deutlich zwei Spinsysteme zu erkennen sind. Zum einen liegt eine Kette von drei Methylengruppen vor (δ 1.15 – 1.76, CH_2 -8, CH_2 -9, CH_2 -10), zum anderen enthält das Molekül eine Gruppierung aus zwei Methylengruppen (δ 1.93 – 2.03, 2.18, CH_2 -5; 2.33 – 2.43, 2.58, CH_2 -4). Die Protonen der Methylengruppe CH_2 -4 zeigen eine schwache Fernkopplung zu den Protonen der exocyclischen Doppelbindung (δ 4.81, 4.93, CH_2 -15), die ihrerseits mit dem doppelt allylischen Proton (δ 3.17, CH -2) koppeln. Die zweite Doppelbindung muß aus zwei quartären Kohlenstoffatomen und einer allylischen Methylgruppe bestehen (δ 1.48, CH_3 -14).

An den Enden dieser beiden Substrukturen müssen sich quartäre Kohlenstoffatome mit Methylgruppen befinden (δ 0.95, 1.07, CH₃-12, CH₃-13), so daß die Verknüpfung aller Strukturelemente zu einem tricyclischen Molekül mit Struktur **40** führt (**Abb. 4-70**).

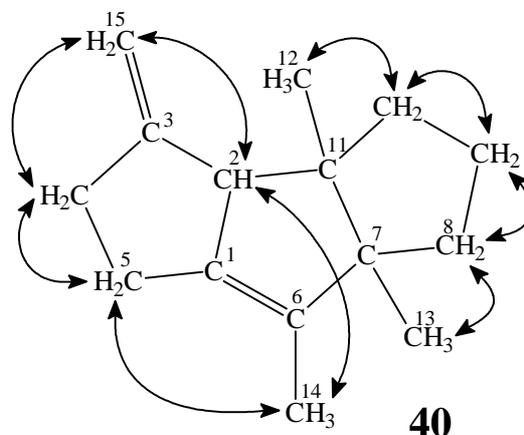


Abb. 4-70: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von Isohirsuta-1(6),3(15)-dien (**40**)

Isohirsuta-3(15),6(14)-dien

Das ¹H-NMR-Spektrum von Isohirsuta-3(15),6(14)-dien {(3*aR*,4*aR*,7*aS*,7*bR*)- 1*H*-Decahydro-4*a*,7*a*-dimethyl-1,4-dimethylcyclopenta[*a*]pentalenen} (**41**) zeigt Singuletts für Protonen von zwei tertiären Methylgruppen bei δ 0.95 und 1.00, Signale für zwei mal zwei geminale olefinische Protonen bei δ 4.75, 4.78, 4.83 und 4.86 und Signale für zwei besonders tieffeldverschobene allylische Protonen bei δ 2.75 und 3.21 – 3.30.

Die Verknüpfung der Gruppen ergab sich aus dem COSY-GS-Spektrum. Zum einen enthält das Molekül eine Kette aus drei Methylengruppen (δ 1.14 – 1.22 (1H), 1.45 – 1.50 (4H), 1.86 – 1.95 (1H), CH₂-8, CH₂-9, CH₂-10), zum anderen ist eine zweite Substruktur zu erkennen: Die Protonen der einen exocyclischen Doppelbindung (δ 4.83, 4.86, CH₂-15) zeigen eine Fernkopplung zu dem stark tieffeldverschobenen Proton einer Methingruppe (δ 2.75, CH-2) und zu den Protonen einer Methylengruppe (δ 2.31 – 2.45, CH₂-4). Diese Methylengruppe ist mit einer weiteren Methylengruppe (δ 1.53 – 1.60, 1.95 – 2.03, CH₂-5) verknüpft, deren Protonen mit dem stark tieffeldverschobenen Proton einer weiteren Methingruppe (δ 3.21 – 3.30, CH-1) wechselwirken. Dieses Proton zeigt eine Kopplung zu dem Proton der Methingruppe CH-2 und eine Fernkopplung zu den Protonen der zweiten exocyclischen Doppelbindung (δ 4.75, 4.78, CH₂-14).

An den Enden dieser beiden Substrukturen müssen zwei quartäre Kohlenstoffatome mit Methylgruppen (δ 0.95, 1.00, CH₃-12, CH₃-13) liegen. Die Verknüpfung zu einem tricyclischen System ergibt Struktur **41** (**Abb. 4-71**).

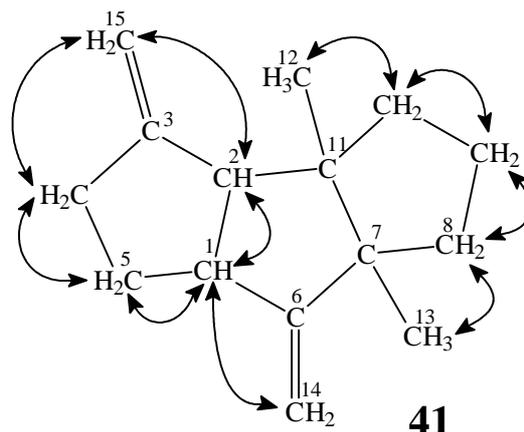


Abb. 4-71: Wechselwirkungen im COSY-GS-Spektrum von Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (**41**)

Isohirsuta-1(6),3-dien

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Isohirsuta-1(6),3-dien $\{(4aS,7aS,7bS)\text{-}3H\text{-}4a,5,6,7,7a,7b\text{-Hexahydro-1,4,4a,7a-tetramethylcyclopenta[a]pentalenen}\}$ (**42**) zeigt breite Singulets für ein olefinisches Proton bei δ 5.37 und für ein doppelt allylisches Proton bei δ 3.16, sowie weitere Singulets für Protonen von vier tertiären Methylgruppen bei δ 0.95, 1.02, 1.47 und 1.71. Die letzten beiden zum tiefen Feld verschobenen Signale bei δ 1.47 und 1.71 deuten auf allylische Methylgruppen hin, wobei sich die eine Methylgruppe in der Nähe einer weiteren Doppelbindung befinden muß.

Isohirsuta-3,6(14)-dien

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Isohirsuta-3,6(14)-dien $\{(3aR,4aR,7aS,7bR)\text{-}3H\text{-}3a,4,4a,5,6,7,7a,7b\text{-Octahydro-1,4a,7a-trimethyl-4-methylcyclopenta[a]pentalenen}\}$ (**43**) fallen Dubletts für zwei geminale olefinische Protonen bei δ 4.87 und 4.94 und ein Signal für ein weiteres olefinisches Proton bei δ 5.26 auf. Ferner treten Singulets für Protonen von drei tertiären Methylgruppen bei δ 0.96, 1.01 und 1.69 auf, wobei das tieffeldverschobene Signal eine allylische Methylgruppe andeutet.

Umlagerung von Isohirsuta-3(15),6(14)-dien

Unter dem Einfluß von Säure lagerte Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (**41**) in Isohirsuta-3,6(14)-dien (**43**) um (**Abb. 4-72**). Die Reaktion wurde durch GC-MS verfolgt.

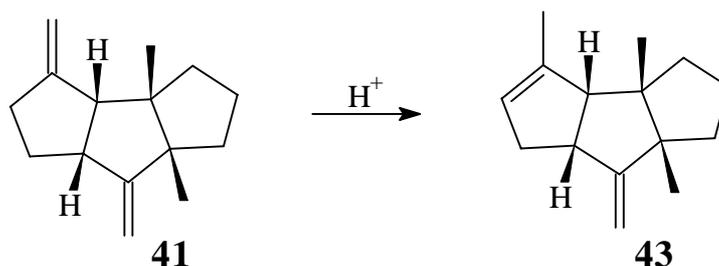


Abb. 4-72: Umlagerung von Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (**41**) zu Isohirsuta-3,6(14)-dien (**43**)

4.2. Biochemischer Teil

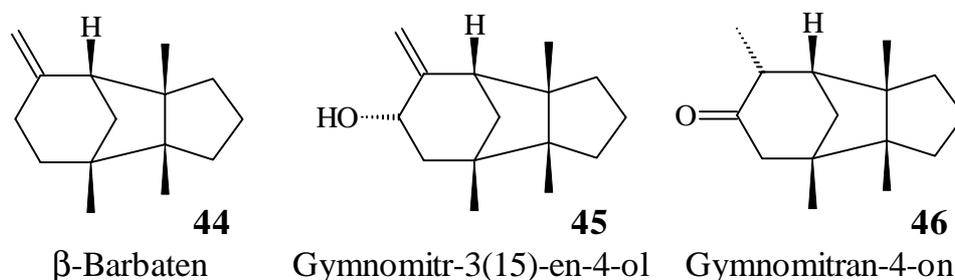
Untersuchung der Biosynthese der Gymnomitrane

Die Gymnomitrane sind tricyclische Sesquiterpene, die in der Natur nicht sehr verbreitet sind. Sie sind charakteristisch für die Lebermoose und kommen in anderen Pflanzen nur selten vor [142,220].

Bisher wurde die Biosynthese dieser Verbindungsklasse noch nicht untersucht. Zu ihrer Bildung gab es nur einzelne Plausibilitätserklärungen [192]. So wurden die Cuparane als mögliche Zwischenprodukte bei der Biosynthese der Gymnomitrane angesehen, da die Cuparane und die Gymnomitrane meist zusammen in einer Pflanze vorkommen.

Zur Untersuchung der Biosynthese der Gymnomitrane gehört neben der Aufklärung des 'Cyclisierungsmechanismus' von Farnesyldiphosphat zu dem tricyclischen Sesquiterpen, auch die Aufklärung der frühen Schritte der Biosynthese bis zur Bildung von Isopentenylidiphosphat [g]. Ausgehend von Acetyl-CoA kann Isopentenylidiphosphat auf zwei verschiedenen Wegen gebildet werden: auf dem klassischen Acetat-Mevalonat-Weg oder auf dem neuen Triose-Pyruvat-Weg [63-71,73-76].

Für die Untersuchung der Biosynthese der Gymnomitrane in Lebermoosen wurde eine Pflanzenkultur benötigt, in deren Nährmedium die markierten biogenetischen Vorläufer der Sesquiterpene eingebracht wurden. Diese markierten Vorläufer wurden von der Pflanze aufgenommen und in ihren Stoffwechsel einbezogen. In der Pflanze erfolgte die Biosynthese von markierten Sesquiterpenen. Anhand der Verteilung der Markierungen in den Gymnomitranen ließ sich die Biosynthese dieser Verbindungen zurückverfolgen. Als geeignete Lebermoose für die Untersuchung der Biosynthese der Gymnomitrane kamen *Reboulia hemisphaerica* und *Bazzania trilobata* in Frage, die beide Sesquiterpene dieses Typs enthalten [d,f]. Zu den Hauptkomponenten mit Gymnomitran-Grundgerüst gehören bei *R. hemisphaerica* β -Barbaten (**44**), Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) und Gymnomitran-4-on (**46**) und bei *B. trilobata* β -Barbaten (**44**) (**Schema 4-8**).



Schema 4-8: Gymnomitrane aus *Bazzania trilobata* und *Reboulia hemisphaerica*

Jasmonsäure hatte sich bei verschiedenen Pflanzen als Stimulator des Sekundärmetabolismus' erwiesen [104,105]. Es könnte daher vorteilhaft sein, Jasmonsäure neben den markierten Vorläufern dem Nährmedium zuzusetzen, um eine verstärkte Produktion der markierten Sesquiterpene zu erreichen.

4.2.1. Pflanzenkulturen

Frisches Pflanzenmaterial wurde gereinigt und oberflächlich mit Natriumhypochlorit sterilisiert. Auf diese Weise konnten Kulturen von *Reboulia hemisphaerica* und *Bazzania trilobata* gewonnen werden. Der Verlust an Pflanzenmaterial war dabei sehr hoch, da viele Pflanzen entweder noch nicht steril oder schon abgestorben waren. Nur kräftige Pflanzen überlebten die Behandlung mit Natriumhypochlorit. Die nicht sterilen Pflanzen wurden bald von Bakterien und Pilzen überwuchert.

Die Kultur von *R. hemisphaerica* wurde zum Teil selbst angelegt und zum Teil von Herrn Prof. Dr. H. Becker übernommen und weitervermehrt [213]. *R. hemisphaerica* wuchs auf einem festen, modifizierten B5-Nährmedium mit 0.5% Glucose, *B. trilobata* auf einem festen, modifizierten Knop-Nährmedium und als Flüssigkultur in Wasser.

4.2.2. Zusatz von Jasmonsäure zum Nährmedium der Lebermoose

Die Zugabe des Pflanzenhormons Jasmonsäure zum Nährmedium verschiedener Pflanzen löst eine verstärkte Produktion von Sekundärmetaboliten aus [104,105]. Die Wirkung von Jasmonsäure auf Lebermoose sollte untersucht werden.

Jasmonsäure wurde in Mengen von 1 μmol und 10 μmol pro ml dem Nährmedium der Flüssigkultur von *Bazzania trilobata* zugesetzt. Die Pflanzen wurden nach zwei Tagen geerntet und einer Wasserdampfdestillation unterzogen. Es zeigten sich kaum quantitative und qualitative Unterschiede der ätherischen Öle des mit und ohne Jasmonsäure kultivierten Lebermooses. Der Vergleich erfolgte durch Gaschromatographie und durch GC-MS. Entsprechende Untersuchungen wurden auch mit den Lebermoosen *Lophocolea heterophylla* und *Ricciocarpos natans* durchgeführt. Hier ergab sich durch den Zusatz von Jasmonsäure keine Veränderung der ätherischen Öle. Somit hat Jasmonsäure bei Lebermoosen scheinbar keinen Einfluß auf die Produktion von Sekundärmetaboliten. Die Zugabe von 10 μmol Jasmonsäure pro ml Nährmedium erwies sich als zu hoch; einige Pflanzen waren bereits nach zwei Tagen abgestorben.

Aufgrund dieser negativen Erfahrungen wurde bei den Markierungsexperimenten keine Jasmonsäure zugesetzt.

4.2.3. Markierungsexperimente der Gymnomitrane aus *Reboulia hemisphaerica* und *Bazzania trilobata*

Als markierte Vorläufer der Sesquiterpene wurden 1-¹³C-, 2-¹³C- und 6,6-D₂-Glucose, sowie 4,4-D₂- und 2,2-D₂-Mevalolacton in das Nährmedium von *Reboulia hemisphaerica* bzw. *Bazzania trilobata* eingeführt.

Die markierte Glucose wird von der Pflanze aufgenommen und zu Pyruvat, Glycerinaldehyd-3-phosphat und Acetyl-CoA abgebaut [77,78]. Durch die Verwendung von markierter Glucose ist eine Unterscheidung der beiden Biosynthesewege von Isopentenylidiphosphat möglich. Für jeden Biosyntheseweg ergibt sich eine charakteristische Markierungsverteilung bei Isopentenylidiphosphat [63-71,73-76].

Das markierte Mevalolacton sollte nur gut in die Sesquiterpene eingebaut werden, wenn die Biosynthese über den klassischen Acetat-Mevalonat-Weg liefere.

Zunächst wurden dem Nährmedium von *R. hemisphaerica* 4,4-D₂- und 2,2-D₂-Mevalolacton zugesetzt. Das Lebermoos wurde nach 3 Monaten geerntet. Bei der Untersuchung der Inhaltsstoffe der Wasserdampfdestillate durch GC-MS zeigte sich eine sehr geringe Einbaurate von 5%. Diese kleine Einbaurate der markierten Mevalolactone in die Sesquiterpene konnte zwei verschiedene Ursachen haben: Zum einen war es möglich, daß die Biosynthese der Sesquiterpene in *R. hemisphaerica* nicht auf dem klassischen Acetat-Mevalonat-Weg erfolgt, so daß das zugesetzte markierte Mevalolacton kein geeigneter Vorläufer der Sesquiterpene ist und daher auch nicht gut eingebaut werden konnte; zum anderen konnten die Schwierigkeiten auch bei der Aufnahme der markierten Mevalolactone durch *R. hemisphaerica* auftreten, da der Transport von Stoffwechselprodukten durch die Zellwände und Membranen häufig erschwert ist. Es war also die Ursache der geringen Einbaurate der markierten Mevalolactone in *R. hemisphaerica* zu ermitteln.

Daher wurde dem Nährmedium von *R. hemisphaerica* 1-¹³C-, 2-¹³C- und 6,6-D₂-Glucose zugesetzt. Das Lebermoos wurde nach 6 Wochen geerntet. Die Untersuchung der Wasserdampfdestillate durch GC-MS zeigte eine höhere Einbaurate, so daß eine Untersuchung der markierten Gymnomitrane mit Hilfe der NMR-Spektroskopie und eine Bestimmung der markierten Positionen in diesen Verbindungen möglich war. Die Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *R. hemisphaerica* wurden durch präparative Gaschromatographie voneinander getrennt.

Es wurden β -Barbaten (**44**), Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) und Gymnomitran-4-on (**46**) isoliert. Mit Hilfe der Informationen aus den HMQC-, HMBC- und COSY-GS-Spektren der unmarkierten Verbindungen konnte jedes Signal in den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren eindeutig einem Wasserstoff- bzw. einem Kohlenstoffatom im Molekül zugeordnet werden.

Aus dem Vergleich der Signalintensitäten in den ^{13}C -NMR-Spektren der unmarkierten und der ^{13}C -markierten Gymnomitrane konnten die Positionen der ^{13}C -Markierungen in den Verbindungen ermittelt werden (**Abb. 4-73**, **Abb. 4-74**, **Abb. 4-75**). Bei den verschiedenen Markierungsexperimenten ergaben sich für die drei Sesquiterpene mit Gymnomitran-Grundgerüst aus *R. hemisphaerica* – β -Barbaten (**44**), Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) und Gymnomitran-4-on (**46**) – jeweils dieselben Markierungsverteilungen.

Die Bestimmung der Positionen der ^2D -Markierungen in Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) erfolgte durch Vergleich des ^2D -NMR-Spektrums der deuterierten Verbindung mit dem ^1H -NMR-Spektrum der unmarkierten Verbindung (**Abb. 4-76**, **Abb. 4-77**). Da die Protonen und die Deuteriumkerne nahezu dieselbe chemische Verschiebung besitzen, konnten auf diese Weise die Signale in dem ^2D -NMR-Spektrum Deuteriumatomen an bestimmten Positionen im Molekül zugeordnet werden.

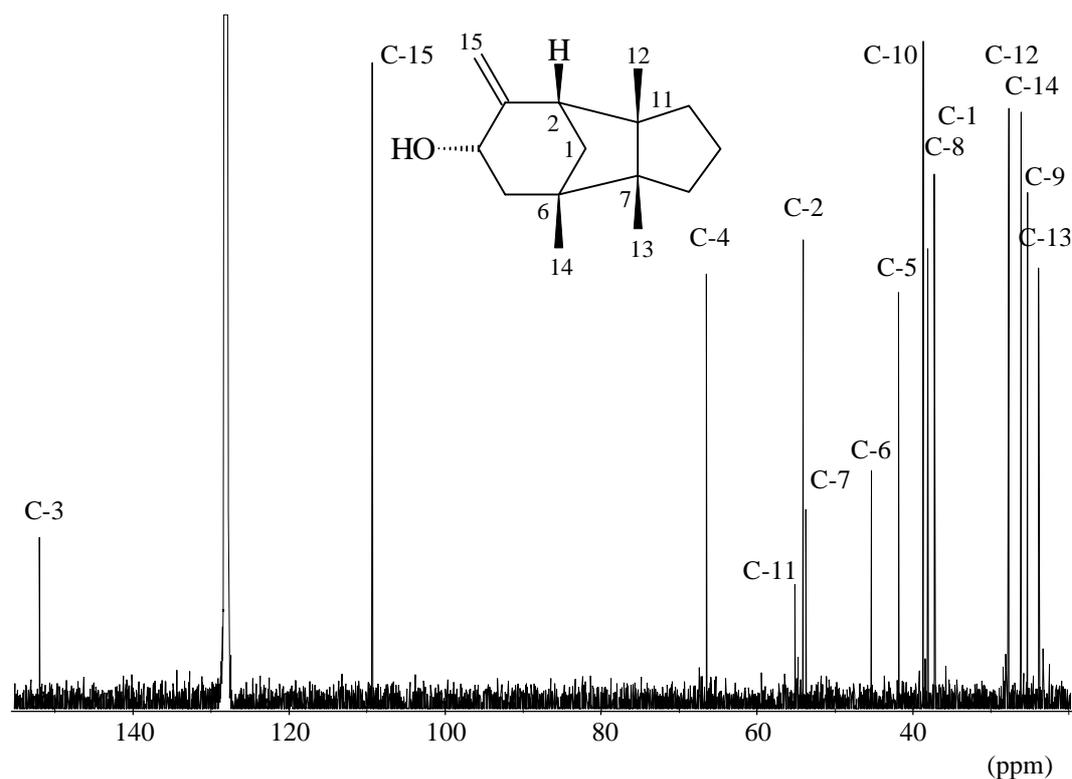


Abb. 4-73: ^{13}C -NMR-Spektrum von Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) (125.7 MHz, C_6D_6)

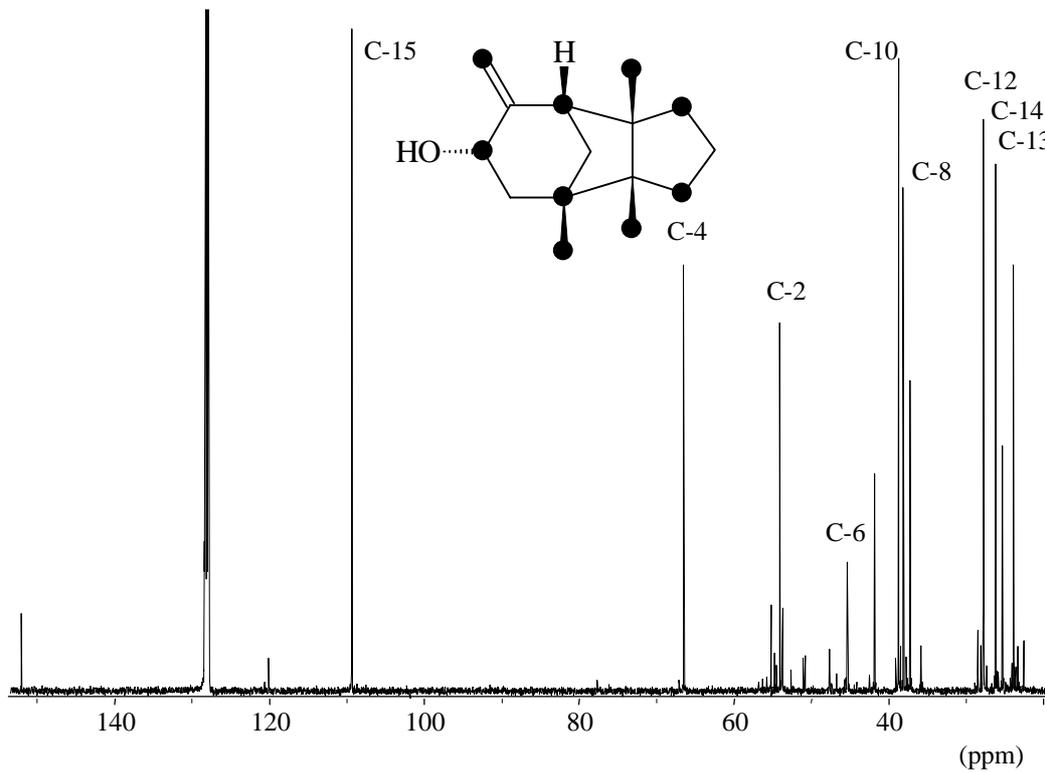


Abb. 4-74: ^{13}C -NMR-Spektrum von mit Hilfe von $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Glucose markiertem Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) (125.7 MHz, C_6D_6), \blacktriangledown markierte Position

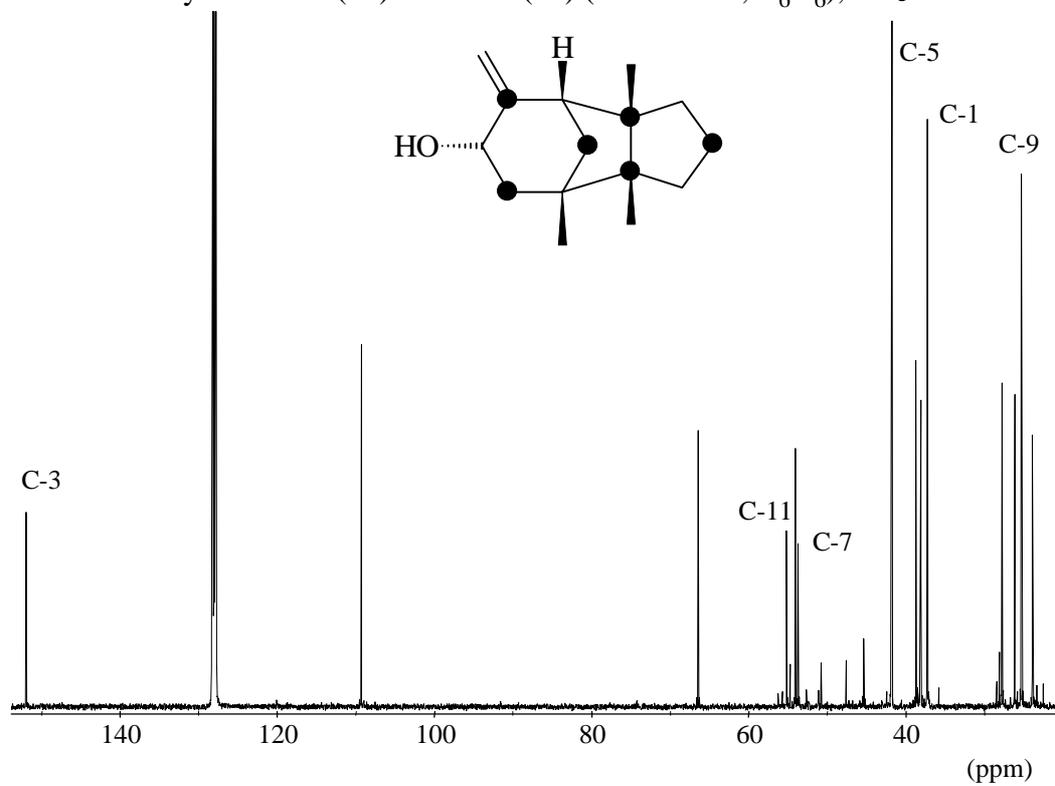


Abb. 4-75: ^{13}C -NMR-Spektren von mit Hilfe von $2\text{-}^{13}\text{C}$ -Glucose markiertem Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) (125.7 MHz, C_6D_6), \blacktriangledown markierte Position

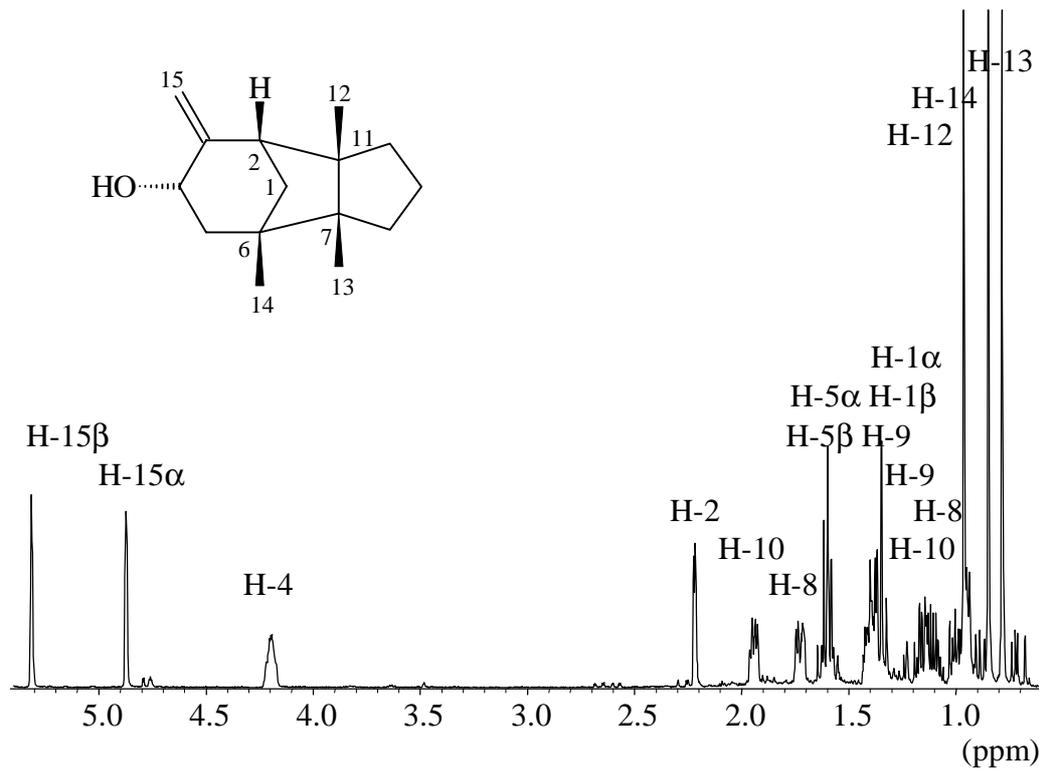


Abb. 4-76: ^1H -NMR-Spektrum von unmarkiertem Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) (500 MHz, C_6D_6)

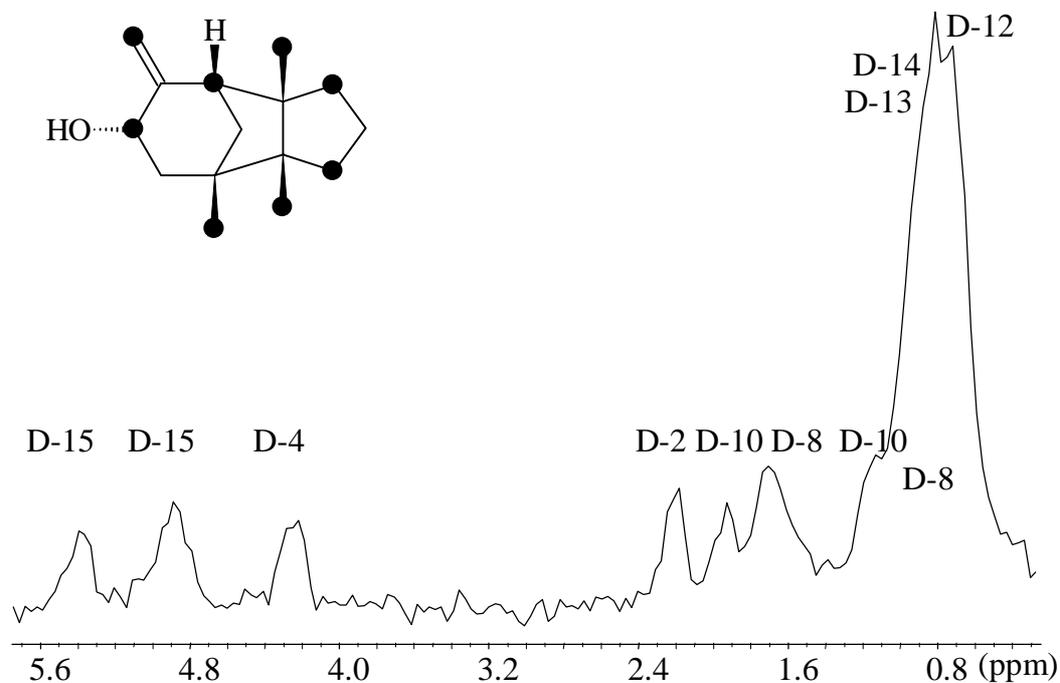


Abb. 4-77: ^2D -NMR-Spektrum von mit Hilfe von 6,6- D_2 -Glucose markiertem Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) (30.7 MHz, C_6H_6), ● markierte Position

Die D-Glucose wird in der Pflanze durch Glykolyse zu Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-phosphat abgebaut, wobei zwischen zwei Abbauwegen zu unterscheiden ist: dem Embden-Meyerhof-Weg und dem Entner-Doudoroff-Weg [77,78]. Im Falle des neuen Triose-Pyruvat-Weges wären Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-phosphat die Ausgangsverbindungen für die Biosynthese von Isopentenylidiphosphat [73-76]; im Falle des klassischen Acetat-Mevalonat-Weges würde zunächst weiterer Abbau von Pyruvat zu Acetyl-CoA und dann der Aufbau von Isopentenylidiphosphat erfolgen [63-71]. Dementsprechend kann zwischen vier verschiedenen Markierungsmustern bei Isopentenylidiphosphat unterschieden werden, die für die verschiedenen Abbauwege von D-Glucose und die verschiedenen Biosynthesewege von Isopentenylidiphosphat charakteristisch sind (Abb. 4-78).

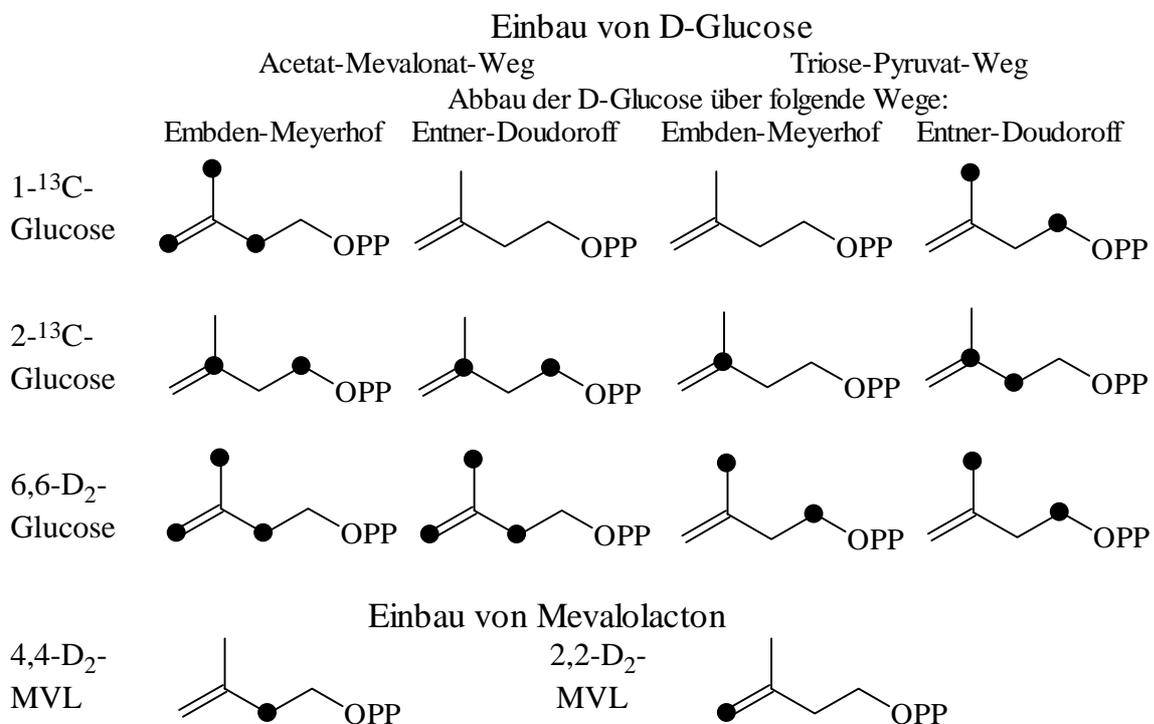


Abb. 4-77: Markierungsmuster von Isopentenylidiphosphat (IDP),

markierte Position

Aus drei Molekülen Isopentenylidiphosphat wird in der Pflanze Farnesylidiphosphat, der direkte Vorläufer der Sesquiterpene, gebildet [61,62]. Daher sollten die verschiedenen Markierungsmuster von Isopentenylidiphosphat auch in den Sesquiterpenen wiederzufinden sein.

Aus den Markierungsverteilungen in den Gymnomitranen ergab sich, daß die D-Glucose in *R. hemisphaerica* über den Embden-Meyerhof-Weg zu Pyruvat und Pyruvat weiter zu Acetyl-CoA abgebaut und dann Isopentenylidiphosphat (IDP) bzw.

Farnesyldiphosphat (FDP) über den klassischen Acetat-Mevalonat-Weg mit Mevalonsäure (MVA) als Zwischenprodukt aufgebaut wird (Abb. 4-79).

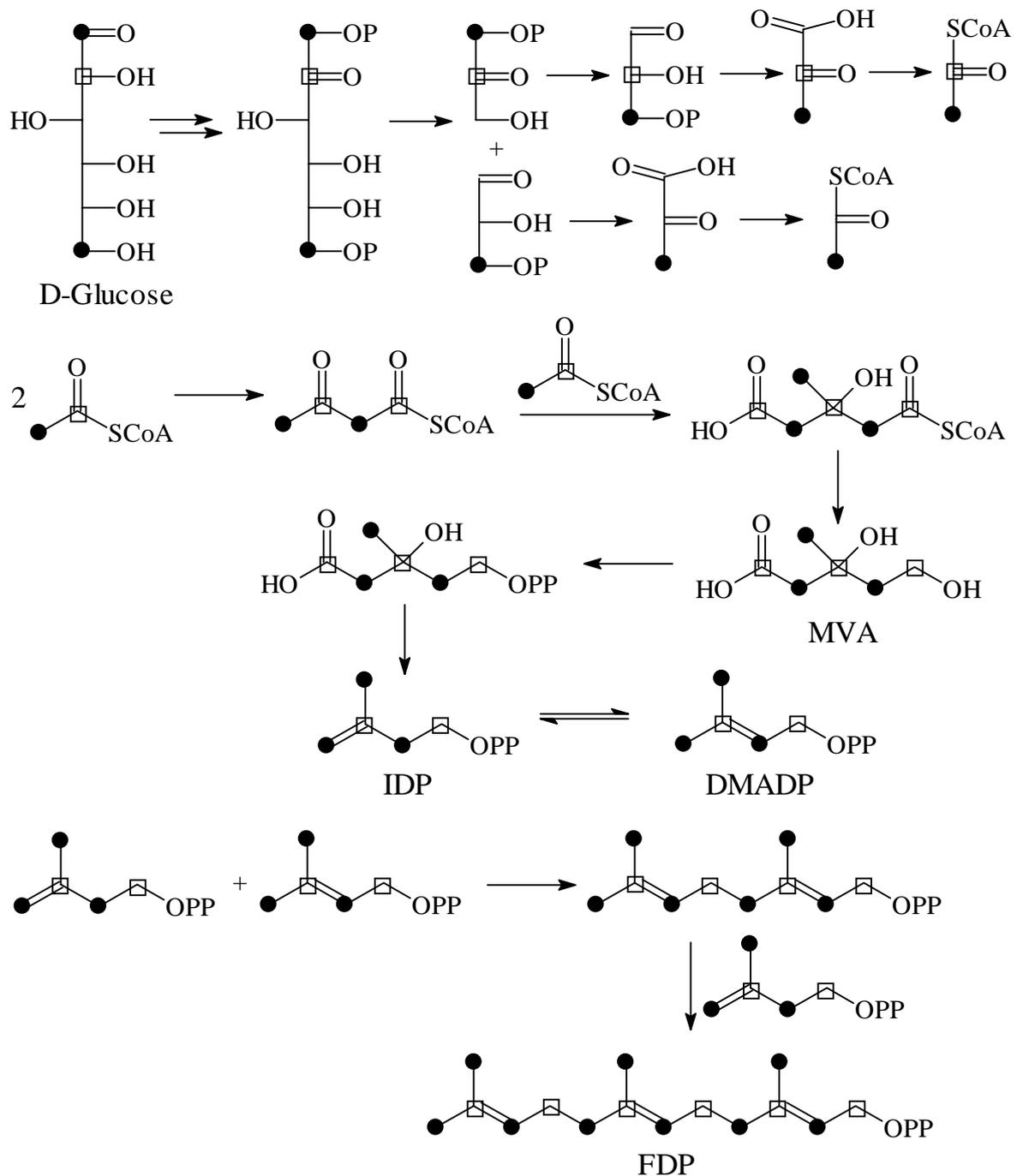


Abb. 4-79: Frühe Schritte der Biosynthese der Gymnomitrane – vom Abbau der D-Glucose zu Acetyl-CoA bis zum Aufbau von Isopentenyl diphosphat (IDP) und Farnesyldiphosphat (FDP),

 mit Hilfe von $2\text{-}^{13}\text{C}$ -Glucose markierte Position,
 mit Hilfe von $1\text{-}^{13}\text{C}$ - oder $6,6\text{-D}_2$ -Glucose markierte Position

Aus Farnesyldiphosphat (FDP) oder dem Isomer Nerolidyldiphosphat (NDP) sollten nach Abspaltung des Diphosphatrestes durch Cyclisierungs- und Umlagerungsreaktionen die Gymnomitrane gebildet werden. Anhand der Markierungsverteilung bei den Gymnomitranen konnte ein Cyclisierungsmechanismus entworfen werden (**Abb. 4-80**).

Der direkte Vorläufer der Gymnomitrane ist Nerolidyldiphosphat (NDP), das durch Isomerisierung aus Farnesyldiphosphat (FDP) gebildet wird. Nerolidyldiphosphat kann im Gegensatz zu Farnesyldiphosphat eine geeignete Konformation für die folgenden Cyclisierungsreaktionen annehmen. Nach Abspaltung des Diphosphatrestes von Nerolidyldiphosphat (NDP) erfolgt ein nukleophiler Angriff der 6,7-Doppelbindung am Carbenium-Ion in Position C-1. Es wird nur das eine Stereoisomer gebildet, bei dem die Bindung zwischen den Kohlenstoffatomen C-1 und C-6 auf der Oberseite des Moleküls geknüpft wird. Anschließend erfolgt ein nukleophiler Angriff der 10,11-Doppelbindung am Carbenium-Ion in Position C-7. Auch hier entsteht nur ein Stereoisomer; die Bindung zwischen den Kohlenstoffatomen C-7 und C-11 wird auf der Unterseite des Moleküls geknüpft. Nun erfolgt eine [1,4]-Hydridverschiebung vom Kohlenstoffatom C-6 zum Kohlenstoffatom C-10 auf der Unterseite des Moleküls. Es schließt sich die [1,2]-Wanderung zweier Methylgruppen an: zunächst die Wanderung der Methylgruppe CH₃-14 vom Kohlenstoffatom C-7 zum Kohlenstoffatom C-6 und dann die Wanderung der Methylgruppe CH₃-13 vom Kohlenstoffatom C-11 zum Kohlenstoffatom C-7; die Wanderung beider Methylgruppen findet auf der Oberseite des Moleküls statt und ist stereoselektiv. Bis zu diesem Schritt entspricht die Biosynthese der Gymnomitrane der bereits bekannten Biosynthese von Trichodien [221-228]. Das Carbenium-Ion in Position C-11 wird durch einen nukleophilen Angriff der 2,3-Doppelbindung auf der Molekülunterseite stabilisiert. Durch die Abspaltung eines Protons vom Kohlenstoffatom C-15 wird β -Barbaten (**44**) gebildet. Anschließende enzymatische Oxidation führt zu Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**46**) und eine Umlagerungsreaktion zu Gymnomitr-4-on (**45**).

Besonders interessant ist die direkte Hydridverschiebung vom Kohlenstoffatom C-6 zum Kohlenstoffatom C-10. Diese Hydridverschiebung ließ sich aus der Markierungsverteilung des mit Hilfe von 6,6-D₂-Glucose markierten Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ols (**45**) ableiten. Das ²D-NMR-Spektrum der deuterierten Verbindung zeigte, daß beide Wasserstoffatome der Methylengruppe CH₂-10 markiert waren. Da das Signal des einen Wasserstoffkerns der Methylengruppe CH₂-10 fast dieselbe chemische Verschiebung wie das Signal eines Wasserstoffkerns der Methylengruppe CH₂-9 hat, war die Zuordnung der Markierung durch das ²D-NMR-Spektrum nicht eindeutig. Eine Markierung der Methylengruppe CH₂-9 konnte jedoch aus keinem sinnvollen Cyclisierungsmechanismus resultieren. Die Markierung beider Wasserstoffatome der Methylengruppe CH₂-10 konnte nur durch eine direkte Übertragung eines Deuterid-

Ions vom Kohlenstoffatom C-6 auf das Kohlenstoffatom C-10 erklärt werden. Die beiden Gruppen sind räumlich zu weit voneinander entfernt, als daß die Verschiebung des Deuterid-Ions chemisch möglich wäre. Die Übertragung des Deuterid-Ions muß über ein Enzym erfolgen.

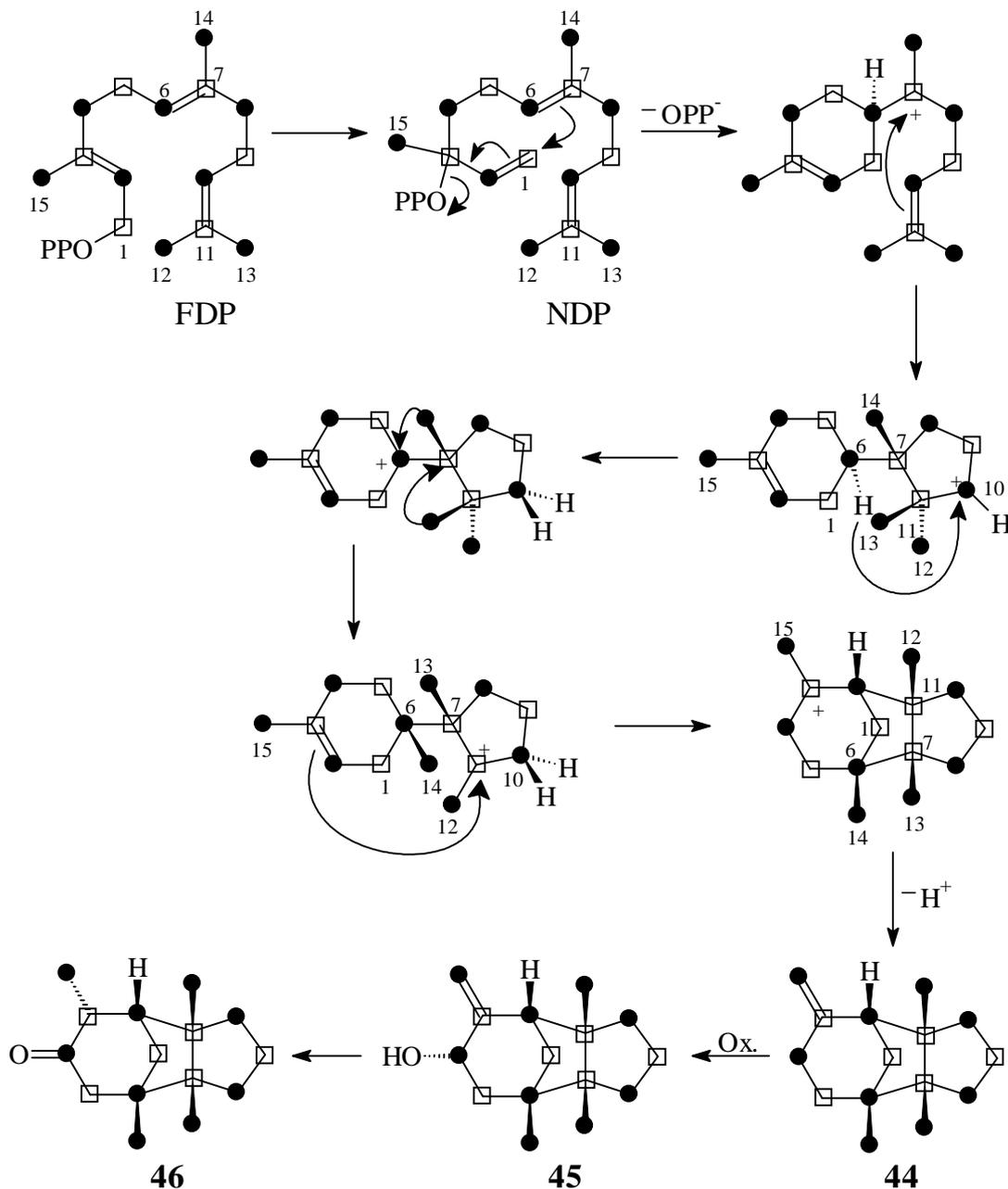


Abb. 4-80: Späte Schritte der Biosynthese der Gymnomitrane – Isomerisierung von Farnesyldiphosphat (FDP) zu Nerolidyldiphosphat (NDP) und Cyclisierungs- und Umlagerungsreaktionen von Nerolidyldiphosphat (NDP) zu den Gymnomitranen,
 □ mit Hilfe von $2\text{-}^{13}\text{C}$ -Glucose markierte Position,
 ● mit Hilfe von $1\text{-}^{13}\text{C}$ - oder $6,6\text{-D}_2$ -Glucose markierte Position

Die Kationen der Bisabolane, Cuparane, Isobazzanane und Bazzanane sind Zwischenprodukte der Biosynthese der Gymnomitrane. Dies legt die Vermutung nahe, daß die Cyclisierungsreaktionen von einer Multi-Produkt-Synthese katalysiert werden. Danach würde die Biosynthese der Bisabolane, Cuparane, Isobazzanane, Bazzanane und Gymnomitrane durch dasselbe Enzym katalysiert. Dies steht im Einklang mit der Beobachtung, daß die Sesquiterpene mit diesen Grundgerüsten häufig als Inhaltsstoffe derselben Pflanze auftreten.

Die Biosynthese von Isopentenylidiphosphat verläuft in *R. hemisphaerica* über den klassischen Acetat-Mevalonat-Weg, wie durch die Markierungsexperimente mit markierter D-Glucose gezeigt werden konnte. Dennoch war der Einbau von markiertem Mevalolacton in die Sesquiterpene sehr gering. Die Begründung dafür ist offenbar die schlechte Aufnahme dieses Stoffwechselproduktes von der Pflanze aus dem Nährmedium.

Um zu untersuchen, ob diese Schwierigkeiten ein generelles Problem bei den Lebermoosen darstellen, wurden die Markierungsexperimente mit markiertem Mevalolacton und *B. trilobata* wiederholt. Dem Nährmedium von *B. trilobata* wurden 4,4-D₂- und 2,2-D₂-Mevalolacton zugesetzt. Das Lebermoos wurde nach 3 Monaten geerntet. Bei der Untersuchung der Inhaltsstoffe des Wasserdampfdestillats durch GC-MS zeigte sich mit 15% eine höhere Einbaurrate als bei *R. hemisphaerica*.

Die Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *B. trilobata* wurden durch präparative Gaschromatographie voneinander getrennt. Es wurde β -Barbaten (**44**) isoliert. Das ²D-NMR-Spektrum von mit Hilfe von 4,4-D₂-Mevalolacton markiertem β -Barbaten (**44**) wies auf eine Markierungsverteilung hin, die im Einklang mit dem oben beschriebenen Biosyntheseweg der Gymnomitrane in *R. hemisphaerica* stand (**Abb. 4-81**).

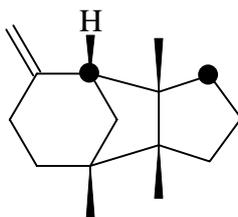


Abb. 4-81: Markierungsmuster von mit Hilfe von 4,4-D₂-Mevalolacton markiertem β -Barbaten, ● markierte Position

4.3. Chemischer Teil

Synthese von Jasmonsäure und Mevalolacton

4.3.1. Darstellung von Jasmonsäure

Es sollte der Einfluß von Jasmonsäure auf die Produktion von Sekundärmetaboliten in Lebermoosen untersucht werden. Die benötigte Jasmonsäure wurde durch Verseifung aus dem Jasmonsäuremethylester gewonnen (**Abb. 4-82**) [229,230].

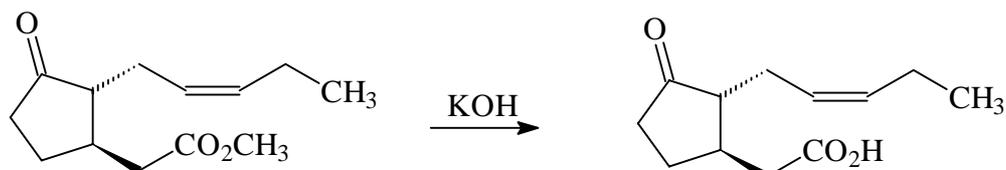


Abb. 4-82: Darstellung von Jasmonsäure

4.3.2. Darstellung von isopenmarkierten Mevalolactonen

Für die Untersuchung der Biosynthese der Sesquiterpene wurden isopenmarkierte biogenetische Vorläufer dieser Verbindungen benötigt. Dazu kann das Mevalolacton bzw. die Mevalonsäure gezählt werden.

Es wurden 4,4-D₂- und 2,2-D₂-Mevalolacton dargestellt, wobei auf bereits bekannte Synthesevorschriften zurückgegriffen werden konnte.

Darstellung von 4,4-D₂-Mevalolacton

4,4-D₂-Mevalolacton konnte nach der folgenden Synthese gewonnen werden (**Abb. 4-83**) [75,231].

D₄-Essigsäure wurde mit *n*-Butanol säurekatalytisch unter dem Einfluß von *para*-Toluolsulfonsäure verestert. D₃-*n*-Butylacetat wurde zunächst mit Lithiumdiisopropylamin aktiviert und anschließend in einer Aldolreaktion mit 3-Oxobutyraldehyddimethylacetal umgesetzt. Die verbleibende Esterfunktion wurde mit Lithiumaluminiumhydrid zum Alkohol reduziert und anschließend acetyliert. Oxidation mit Wasserstoffperoxid führte zum 4,4-D₂-Mevalolacton.

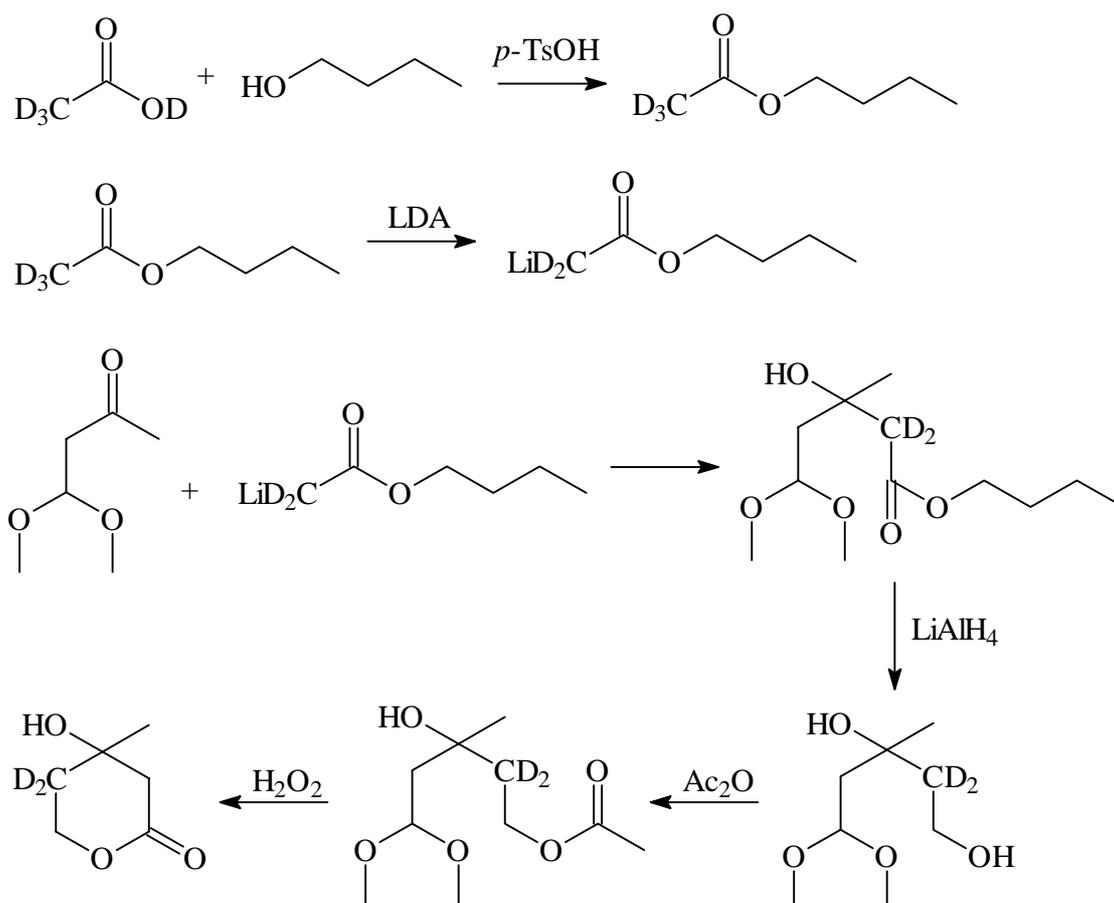


Abb. 4-83: Darstellung von 4,4-D₂-Mevalolacton

Darstellung von 2,2-D₂-Mevalolacton

2,2-D₂-Mevalolacton konnte nach der folgenden Synthese dargestellt werden (**Abb. 4-84**) [75].

Das Aldolprodukt aus D₃-*n*-Butylacetat und 3-Oxobutyraldehyddimethylacetal wurde verseift und die Schutzgruppe der Aldehydgruppe entfernt, wobei die 2,2-D₂-Mevaldinsäure freigesetzt wurde. Die Aldehydgruppe wurde zum Alkohol reduziert. Unter Ringschluß entstand das 2,2-D₂-Mevalolacton.

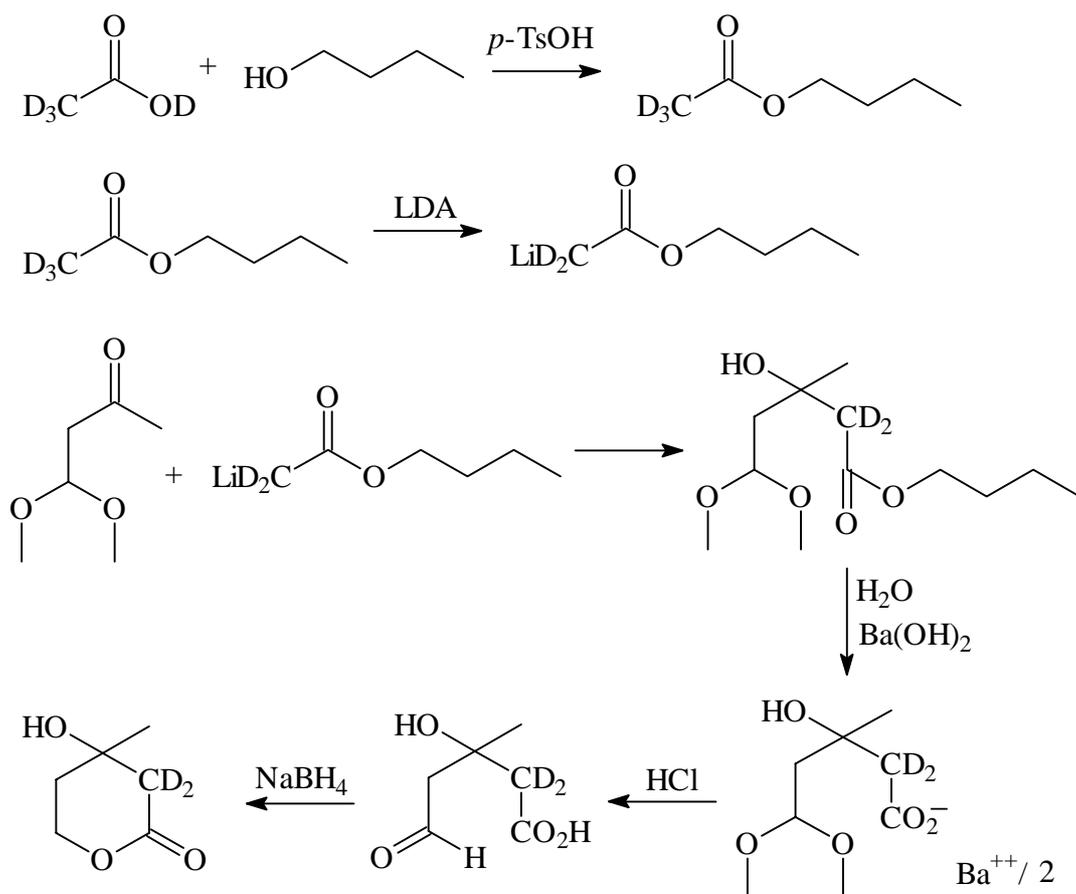


Abb. 4-84: Darstellung von 2,2-D₂-Mevalolacton

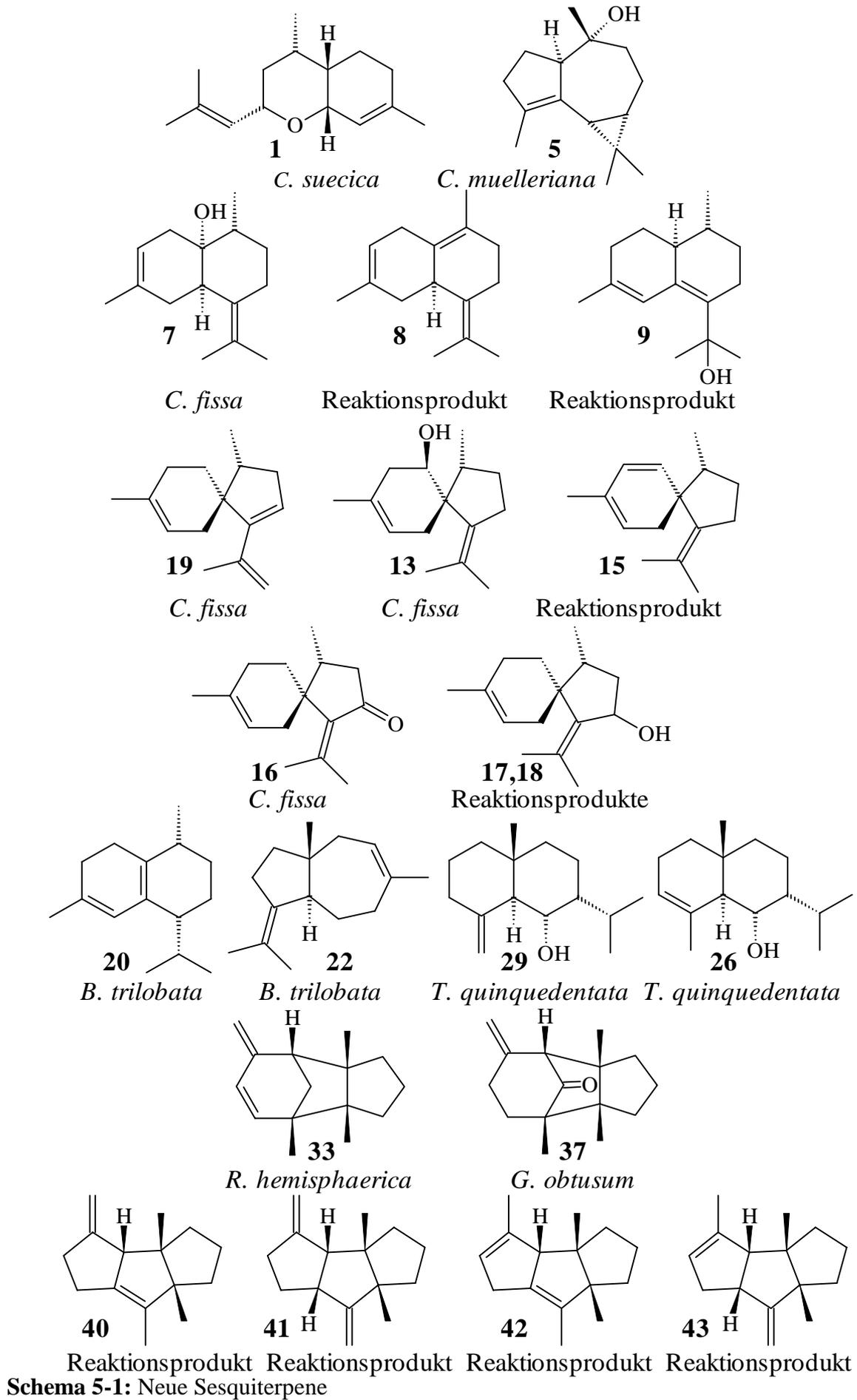
5. Zusammenfassung

Die Lebermoose zeichnen sich durch das Vorhandensein von Ölkörperchen aus, in denen Pflanzenexkrete abgesondert werden. Die Inhaltsstoffe der Lebermoose sind bislang wenig untersucht. Zu den Hauptbestandteilen der ätherischen Öle und Extrakte aus Lebermoosen gehören die Sesquiterpene.

In dieser Arbeit wurden die Inhaltsstoffe der Lebermoose *Calypogeia suecica*, *Calypogeia muelleriana*, *Calypogeia fissa*, *Bazzania trilobata*, *Tritomaria quinquedentata*, *Reboulia hemisphaerica* und *Gymnomitrium obtusum* untersucht. Neben zahlreichen bekannten Sesquiterpenen konnten 19 neue, in der bekannten Literatur noch nicht beschriebene Verbindungen aus den Lebermoosen isoliert oder durch Derivatisierungsreaktionen aus anderen Verbindungen gewonnen werden: (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) aus *C. suecica*, (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**5**) aus *C. muelleriana*, (+)-10 β (*H*)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (**7**), (-)- α -Alasken-6 β -ol (**13**), (-)- α -Alasken-8-on (**16**) und 7,8-Dehydro- α -acoradien (**19**) aus *C. fissa*, (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) und (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (**9**) als Dehydratisierungs- und Umlagerungsprodukte von (+)-10 β (*H*)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (**7**), 5,6-Dehydro- α -alasken (**15**) als Dehydratisierungsprodukt von (-)- α -Alasken-6 β -ol (**13**), α -Alasken-8 α -ol (**17**) und α -Alasken-8 β -ol (**18**) als Reduktionsprodukte von (-)- α -Alasken-8-on (**16**), (-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien (**20**) und (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) aus *B. trilobata*, (-)-7-*epi*-Isojunenol (**26**) aus *T. quinquedentata*, (-)-Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**) aus *R. hemisphaerica* sowie Isohirsuta-1(6),3(15)-dien (**40**), Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (**41**), Isohirsuta-1(6),3-dien (**42**) und Isohirsuta-3,6(14)-dien (**43**) als Dehydratisierungs- und Umlagerungsprodukte von Gymnomitrol und Isogymnomitrol (**Schema 5-1**). Zwei weitere Verbindungen, die zuvor nur als Syntheseprodukte bekannt waren, wurden erstmals in der Natur gefunden: (+)-7-*epi*-Junenol (**29**) aus *T. quinquedentata* und Gymnomitron (**37**) aus *G. obtusum* (**Schema 5-1**).

Die Verbindungen wurden durch präparative Gaschromatographie und Hochleistungsflüssigkeitschromatographie isoliert und durch Massenspektrometrie und Kernresonanzspektroskopie charakterisiert. Die Bestimmung der absoluten Konfiguration erfolgte durch Korrelationsreaktionen mit bekannten Verbindungen, wobei zum Vergleich polarimetrische Messungen und enantioselektive Gaschromatographie an Cyclodextrin-Phasen eingesetzt wurden.

Es konnte gezeigt werden, daß die Lebermoose eine reiche Quelle für Sesquiterpene und auch für neue Verbindungen sind.



Schema 5-1: Neue Sesquiterpene

Zu den charakteristischen Verbindungen aus Lebermoosen gehören die Gymnomitrane – tricyclische Sesquiterpene. Es wurde die Biosynthese von β -Barbaten (**44**), Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) und Gymnomitr-4-on (**46**) in *Reboulia hemisphaerica* und in *Bazzania trilobata* untersucht.

Dem Nährmedium einer Pflanzenkultur wurden markierte Vorläufer der Sesquiterpene zugesetzt. Die markierten Vorläufer wurden von der Pflanze aufgenommen, in ihren Stoffwechsel einbezogen und für den Aufbau der Sesquiterpene verwendet. Als markierte Vorläufer der Sesquiterpene wurden Mevalolacton und D-Glucose eingesetzt. D-Glucose wird in der Pflanze zu Pyruvat, Glycerinaldehyd-3-phosphat und Acetyl-CoA abgebaut. Anhand der Markierungsmuster der Gymnomitrane ließ sich deren Biosynthese zurückverfolgen. Die Bildung von Isopentenylidiphosphat (IDP), dem Vorläufer der Terpene, erfolgt in *R. hemisphaerica* und in *B. trilobata* über den klassischen Acetat-Mevalonat-Weg. Aus drei Molekülen Isopentenylidiphosphat entsteht Farnesyldiphosphat (FDP). Voraussetzung für die Cyclisierungsreaktionen, die zu den Gymnomitrane führen, ist die Isomerisierung von Farnesyldiphosphat zu Nerolidyldiphosphat (NDP), da nur dieses Molekül eine geeignete Konformation annehmen kann. Die Markierungsmuster der Gymnomitrane deuten darauf hin, daß die Kationen der Bisabolane, Cuparane, Isobazzanane und Bazzanane Zwischenprodukte der Biosynthese der Gymnomitrane sind (**Abb. 5-1**). Vermutlich werden die Cyclisierungsreaktionen von einer Multi-Produkt-Synthase katalysiert. Die Biosynthese der Bisabolane, Cuparane, Isobazzanane, Bazzanane und Gymnomitrane wird danach durch dasselbe Enzym katalysiert. Dies steht im Einklang mit der Beobachtung, daß die Sesquiterpene mit diesen Grundgerüsten häufig in derselben Pflanze auftreten.

Jasmonsäure ist als Pflanzenhormon mit stimulierender Wirkung auf die Produktion von Sekundärmetaboliten in höheren Pflanzen bekannt. Bei den Lebermoosen *Bazzania trilobata*, *Lophocolea heterophylla* und *Ricciocarpos natans* konnte jedoch kein Einfluß der Jasmonsäure auf die Produktion von Sesquiterpenen beobachtet werden. Dennoch sind Lebermoos-Kulturen durch den ohnehin schon hohen Gehalt an Sesquiterpenen in den Lebermoosen als nachwachsende Quelle dieser Verbindungen geeignet.

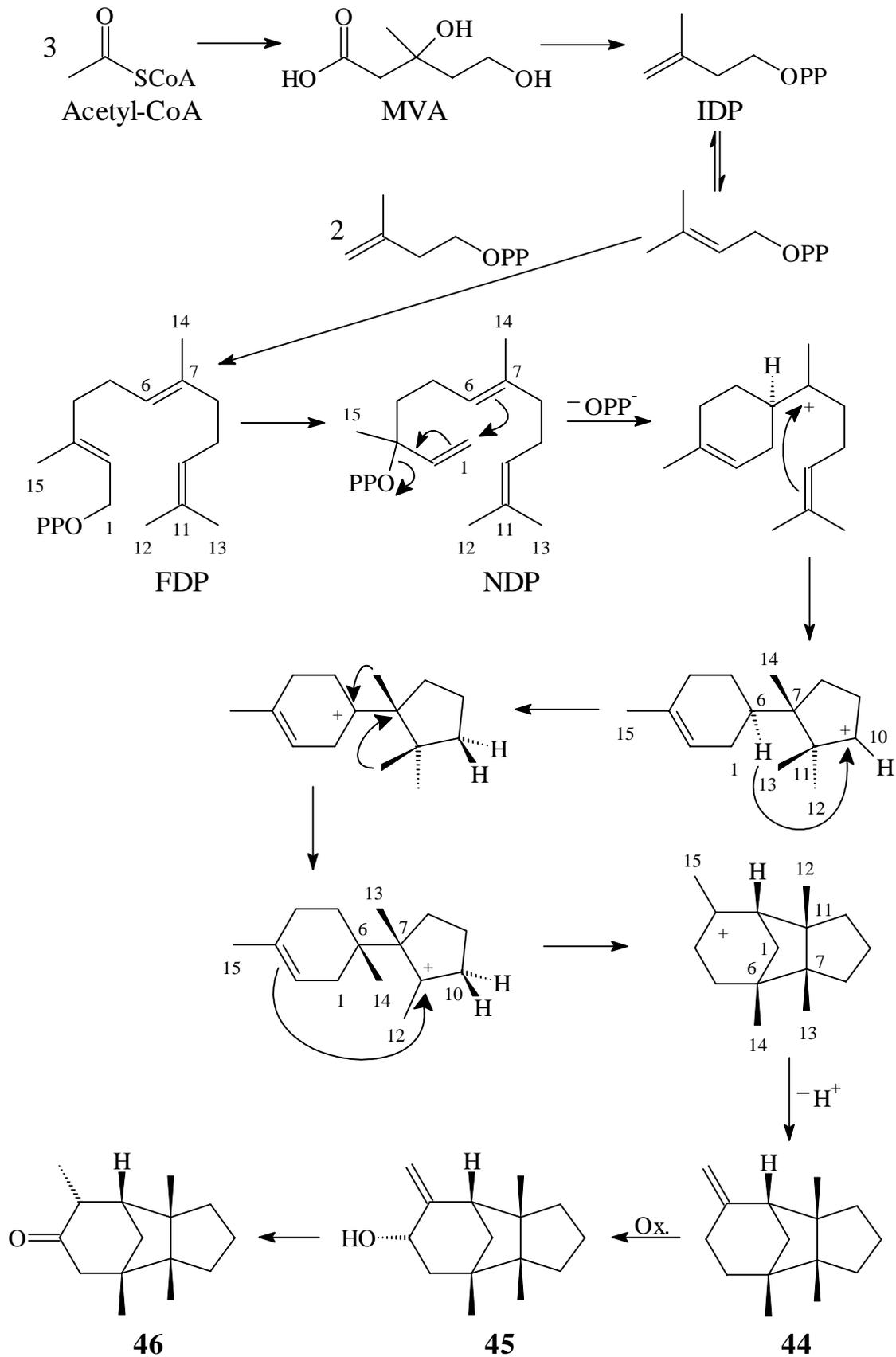


Abb. 5-1: Biosynthese der Gymnomitrane

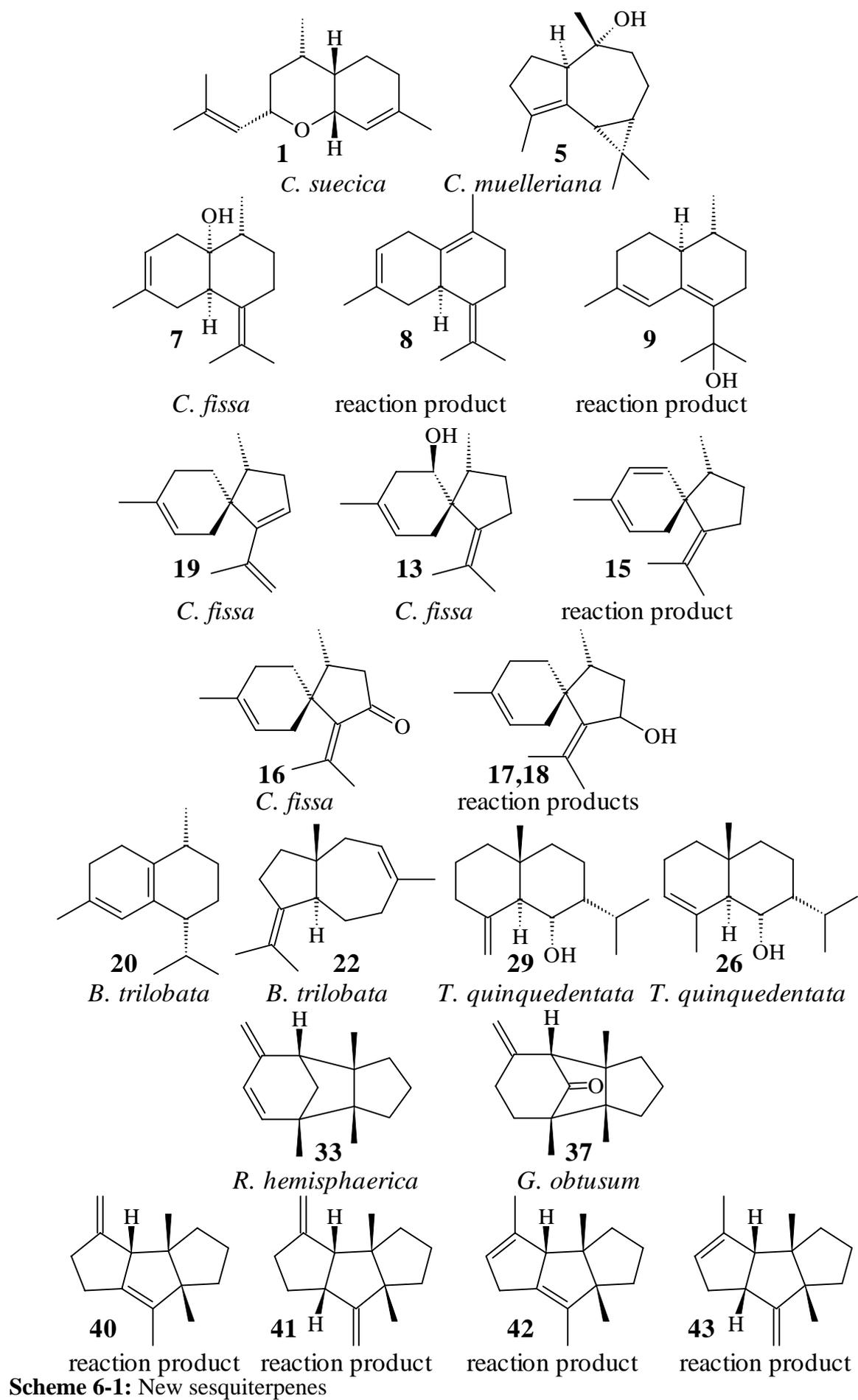
6. Summary

The liverworts produce a great variety of terpenoid secondary metabolites concentrated in special oil bodies. The constituents of the liverworts are so far not investigated in detail. The main components of the hydrodistillate or extract of the liverworts were sesquiterpenes.

The sesquiterpenes of the liverworts *Bazzania trilobata*, *Calypogeia fissa*, *Calypogeia muelleriana*, *Calypogeia suecica*, *Gymnomitrium obtusum*, *Reboulia hemisphaerica* and *Tritomaria quinquedentata* were investigated. In addition to many known compounds 19 new sesquiterpenes were isolated from the essential oils of the liverworts or were obtained by derivatisation reactions from other compounds: (+)-Bisabola-2,10-diene[1,9]oxide (**1**) from *C. suecica*, (+)-4,5-dehydroviridiflorol (**5**) from *C. muelleriana*, (+)-10 β (*H*)-muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (**7**), (–)- α -alasken-6 β -ol (**13**), (–)- α -alasken-8-one (**16**) and 7,8-dehydro- α -acoradiene (**19**) from *C. fissa*, (+)-cadina-1(10),3,7(11)-triene (**8**) and (+)-*cis*-cadina-4,6-dien-11-ol (**9**) as dehydration- and rearrangement products of (+)-10 β (*H*)-muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (**7**), 5,6-dehydro- α -alaskene (**15**) as dehydration product of (–)- α -alasken-6 β -ol (**13**), α -alasken-8 α -ol (**17**) and α -alasken-8 β -ol (**18**) as reduction products of (–)- α -alasken-8-one (**16**), (–)-*cis*-cadina-1(6),4-diene (**20**) and (+)-*trans*-dauca-4(11),8-diene (**22**) from *B. trilobata*, (–)-7-*epi*-isojunenol (**26**) from *T. quinquedentata*, (–)-gymnomitra-3(15),4-diene (**33**) from *R. hemisphaerica* and isohirsuta-1(6),3(15)-diene (**40**), isohirsuta-3(15),6(14)-diene (**41**), isohirsuta-1(6),3-diene (**42**) and isohirsuta-3,6(14)-diene (**43**) as dehydration- and rearrangement products of gymnomitrol and isogymnomitrol (**Scheme 6-1**). Two sesquiterpenes known as synthetic products were found for the first time in nature: (+)-7-*epi*-junenol (**29**) from *T. quinquedentata* and gymnomitrone (**37**) from *G. obtusum* (**Scheme 6-1**).

The compounds were isolated by preparative GC and HPLC and were investigated by MS and NMR. The absolute configuration was derived by correlation reactions with known compounds and comparison by polarimetric measurements and enantioselective GC with cyclodextrin phases.

The liverworts are a rich source of sesquiterpenes and even of new compounds.



The gymnomitranes, tricyclic sesquiterpenes, are characteristic constituents of liverworts. The biosynthesis of β -barbatene (**44**), gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) and gymnomitran-4-one (**46**) in *Bazzania trilobata* and *Reboulia hemisphaerica* was investigated.

Isotopically labelled precursors were added to the tissue culture media on which the liverworts were grown. These precursors were incorporated by the plants and used for the formation of the sesquiterpenes. As labelled precursors mevalonic lactone or D-glucose were used. D-Glucose is metabolised to pyruvate, glyceraldehyde-3-phosphate and acetyl CoA. Knowing the position of the isotope labels in the gymnomitranes, the mechanism of the biosynthesis can be proposed. Isopentenyl diphosphate (IDP), the precursor of the terpenes, is biosynthesised in *R. hemisphaerica* and *B. trilobata* via the acetate-mevalonate pathway. Three isopentenyl diphosphate molecules yield farnesyl diphosphate (FDP). Nerolidyl diphosphate (NDP) is formed by isomerisation of farnesyl diphosphate. In contrast to farnesyl diphosphate nerolidyl diphosphate can adopt the appropriate conformation for further cyclisation reactions leading to the gymnomitranes. The initial step is the ionisation of nerolidyl diphosphate generating a cation. The labelling patterns of the gymnomitranes indicated that the cations of the bisabolanes, the cuparanes, the isobazzananes and the bazzananes are intermediates of the biosynthesis of the gymnomitranes (**Fig. 6-1**). Presumably the cyclisation reactions leading to the bisabolanes, cuparanes, isobazzananes, bazzananes and gymnomitranes are catalysed by a multi product synthase. This is in accordance with the occurrence of these sesquiterpene skeletons in the same plant.

Plant tissue cultures are a rich source of secondary metabolites. The effect of the plant hormone jasmonic acid on the production of sesquiterpenes in liverworts was investigated. In contrast to the higher plants jasmonic acid does not stimulate the biosynthesis of sesquiterpenes in the liverworts *Bazzania trilobata*, *Lophocolea heterophylla* and *Ricciocarpos natans*.

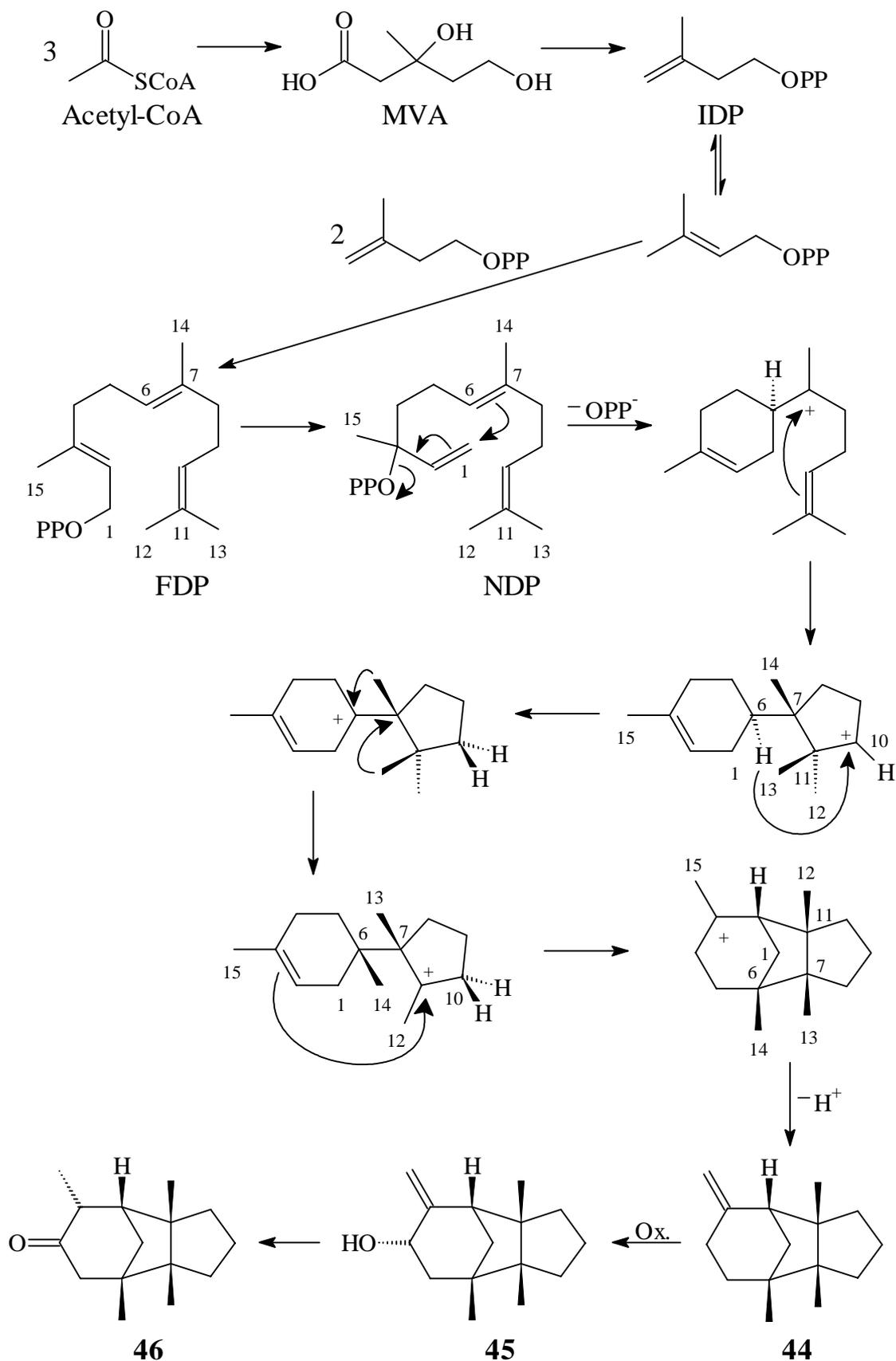


Fig. 6-1: Biosynthesis of the gymnomitranes

7. Experimenteller Teil

7.1. Geräte und Chemikalien

NMR-Spektroskopie

Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Messungen wurden mit einem Bruker WM 400- und einem Bruker WM 500-Instrument durchgeführt.

Die ^2D -NMR-Messungen erfolgten an einem Varian AM 360-Instrument.

Als Lösungsmittel wurden bei den ^1H - und ^{13}C -Messungen deuteriertes Chloroform, Benzol, Aceton oder Methanol, bei den ^2D -Messungen undeuteriertes Chloroform oder Benzol verwendet. Als interner Standard wurde Tetramethylsilan zugesetzt oder es wurde auf das Lösungsmittel-Signal kalibriert.

Es erfolgt die Angabe der chemischen Verschiebung δ in ppm, der Signalintensität, der Multiplizität und der Kopplungskonstante J in Hz.

Für die Multiplizitäten wurden folgende Abkürzungen verwendet: *s* für Singulett, *d* für Dublett, *t* für Triplett, *q* für Quartett, *quin* für Quintett, *sext* für Sextett und *sept* für Septett *m* für Multiplett, sowie *b* für breites Signal.

Bei den ^{13}C -NMR-Spektren der isotopenmarkierten Verbindungen wurden die relativen Signalintensitäten bezogen auf die entsprechenden Signale der unmarkierten Verbindungen angegeben. Die Signalintensitäten wurden durch Integration bestimmt.

Einige der im Spektrenanhang abgebildeten ^1H -NMR-Spektren, die in deuteriertem Chloroform aufgenommen wurden, zeigen Signale von folgenden Verunreinigungen: Wasser mit einem Singulett bei δ 1.56, Aceton mit einem Singulett bei δ 2.17, sowie *n*-Hexan mit einem Triplett bei δ 0.88 und einem Multiplett bei δ 1.26.

Massenspektrometrie

GC-MS-Messungen wurden mit einem HP 5890-Gaschromatographen und einem VG Analytical 70-250S-Massenspektrometer durchgeführt.

Es erfolgt die Angabe der Masse pro Ladung m/z der Fragment- und Molekülionen und der Signalintensität bezogen auf das Basissignal in Prozent.

Polarimetrie

Die Bestimmung der Drehrichtung erfolgte mit einem Perkin Elmer 243- oder einem Perkin-Elmer 341-Gerät bei einer Wellenlänge von 589 nm und einer Temperatur von 20°C. Es wurde eine 1 dm-Küvette verwendet. Als Lösungsmittel dienten Chloroform, Benzol und *n*-Hexan.

Aufgrund der kleinen Substanzmengen wurde lediglich die Drehrichtung, nicht der spezifische Drehwert der chiralen Verbindungen ermittelt.

Verwendete Chemikalien

Die Lösungsmittel wurden von den Firmen Merck, Fluka und Janssen Chimica bezogen. Im Reinheitsgrad „p.a., absolut“ wurden sie direkt verwendet, im Reinheitsgrad „zur Synthese“ wurden sie vor ihrer Verwendung destilliert.

Die Reagenzien wurden von den Firmen Merck, Fluka und Aldrich bezogen. Die isotopenmarkierten Verbindungen wurden bei der Firma Isotec erworben.

Für die Flüssigkeitschromatographie wurde Kieselgel 60 mit einer Korngröße von 0.040 – 0.063 mm der Firma Merck verwendet.

Absolutierung von Lösungsmitteln

Tetrahydrofuran wurde durch mehrstündiges Kochen über Kalium getrocknet und anschließend abdestilliert.

Diisopropylamin wurde mit pulverisiertem Calciumhydrid versetzt. Die Suspension wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt, bevor das Diisopropylamin abdestilliert wurde.

7.2. Analytischer Teil

7.2.1. Trennmethoden

Gaschromatographie

Für die Gaschromatographie wurden folgende Geräte benutzt:

- Orion Micromat 412-Doppelsäulen-Instrument mit 25 m fused silica-Kapillaren mit Polysiloxan CpSil 5 und Polysiloxan CpSil 19 (Chrompack),
- Carlo Erba Fractovap 2150-, 4160-Instrument mit 25 m fused silica-Kapillaren mit Heptakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-pentyl)- β -cyclodextrin (2,6-Me-3-Pe- β -CD) oder Heptakis(6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin (6-T-2,3-Me- β -CD) in OV 1701 (1:1, w/w).

Sie waren mit einem Split-Injektor und einem Flammenionisationsdetektor ausgestattet. Die Injektortemperatur betrug 200°C, die Detektortemperatur 250°C. Als Trägergas wurde Wasserstoff mit einem Druck von 0.5 bar verwendet.

Präparative Gaschromatographie

Für die präparative Gaschromatographie wurde ein modifiziertes Varian 1400- oder ein Varian 2800-Instrument verwendet, das mit einer der folgenden Säulen ausgestattet war:

- einer stainless steel-Säule (1.85 m × 4.3 mm) mit 5.9% oder 10% Polydimethylsiloxan SE 30 auf Chromosorb W-HP (SE 30),
- einer stainless steel-Säule (2.00 m × 5.3 mm) mit 3% Heptakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-pentyl)- β -cyclodextrin/OV 1701 (1:1, w/w) auf Chromosorb G-HP (2,6-Me-3-Pe- β -CD),
- einer stainless steel-Säule (2.00 m × 5.3 mm) mit 6.4% Heptakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-pentyl)- β -cyclodextrin/SE 52 (1:1, w/w) auf Chromosorb W-HP (2,6-Me-3-Pe- β -CD),
- einer stainless steel-Säule (1.95 m × 5.3 mm) mit 2.5% Heptakis(6-*O*-*tert*-hexyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin/SE 52 (1:4, w/w) auf Chromosorb G-HP (6-Tx-2,3-Me- β -CD),
- einer stainless steel-Säule (2.00 m × 4.3 mm) mit 6.5% Heptakis(6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin/SE 52 (1:1, w/w) auf Chromosorb W-HP (6-T-2,3-Me- β -CD).

Die Ansatzstücke der verwendeten Säulen waren nicht mit Packungsmaterial beschickt, sondern mit fused silica-Wolle gefüllt, so daß direkt in die Säulen eingespritzt werden konnte. Die Geräte waren mit einem Flammenionisationsdetektor ausgestattet. Die Injektortemperatur betrug 200°C, die Detektortemperatur 250°C. Als Trägergas wurde Helium mit einem Vordruck von 3.0 bar und einer Flußrate von 240 ml/min verwendet.

Bei den Trennungen wurde folgendes Temperaturprogramm durchlaufen: 90°C, 10°/3min, 200°C.

Präparative HPLC

Für die HPLC wurde eine Phenomenex Prodigy-Säule (25 cm × 4.6 mm) mit einer ODS(3)-Phase aus sphärischen Partikeln der Größe 5 μ m verwendet. Als Laufmittel diente Methanol/Wasser 80:20 mit einer Flußrate von 1 ml/min und bei einem Druck von 163 bar. Es wurden eine Merck-Hitachi L-6200-Pumpe und ein Merck-Hitachi 655A-UV-Detektor eingesetzt.

7.2.2. Herstellung der ätherischen Öle und Pflanzenextrakte

Wasserdampfdestillation

Das ätherische Öl wurde durch eine zwei- bis fünfstündige kontinuierliche Wasserdampfdestillation von zerkleinertem Pflanzenmaterial erhalten. Als Auffang-Lösungsmittel wurde *n*-Hexan verwendet. Aufgrund des unterschiedlichen Feuchtigkeitsgehaltes der eingesetzten Lebermoose wurde das Pflanzenmaterial nicht gewogen.

Extraktion

Pflanzenextrakte wurden durch einwöchiges Stehenlassen von zerkleinertem Pflanzenmaterial unter bis zu 200 ml Lösungsmittel bei Raumtemperatur gewonnen. Als Lösungsmittel wurden Diethylether, Ethylacetat und Dichlormethan verwendet. Zur Abtrennung der Pigmente wurden die Extrakte über eine kurze Kieselgelsäule gegeben. Auch das hierfür verwendete Pflanzenmaterial wurde aufgrund des unterschiedlichen Feuchtigkeitsgehaltes der Lebermoose nicht gewogen.

7.2.3. Derivatisierungsreaktionen

Dehydratisierung von Alkoholen

Zu einer Lösung von 1 mg Alkohol in 1 ml Pyridin wurde 0.1 ml Thionylchlorid hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0°C für 10 Minuten gerührt. Anschließend wurden *n*-Hexan und Wasser hinzugegeben. Die organische Phase wurde dreimal mit Wasser gewaschen.

Hydrierung von ungesättigten Verbindungen

Zu einer Lösung von 1 mg der ungesättigten Verbindung in 1 ml *n*-Hexan wurden 0.5 mg Palladium auf Kohle hinzugefügt. Die Suspension wurde 3 Minuten lang mit Wasserstoff behandelt und anschließend eine Stunde bei Raumtemperatur unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert.

Säure-katalysierte Umlagerung von ungesättigten Verbindungen

Zu einer Lösung von 1 mg der ungesättigten Verbindung in 1 ml *n*-Hexan wurden 0.5 mg des sauren Ionenaustauschers Amberlyst 15 gegeben. Die Reaktionsmischung wurde für eine variable Zeitdauer bei Raumtemperatur gerührt.

Reduktion von Ketonen zu Alkoholen

Eine Lösung von 1 mg eines Ketons in 1 ml Methanol wurde bei 0°C mit 1 mg Natriumborhydrid versetzt. Die Reaktionsmischung wurde eine Stunde bei 0°C gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe eines Tropfens 1 M Salzsäure abgebrochen. Anschließend wurde *n*-Hexan hinzugegeben und die organische Phase mit 1 M Salzsäure und Wasser gewaschen.

7.2.4. *Calypogeia suecica*

Pflanzenmaterial

C. suecica wurde in den Karpathen in der Ukraine von Herrn Dr. H. Muhle, Universität Ulm, gesammelt und von Herrn Prof. Dr. R. Mues, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, identifiziert.

Herstellung des ätherischen Öls von *Calypogeia suecica*

Das ätherische Öl von *C. suecica* wurde durch Wasserdampfdestillation gewonnen und durch GC-MS untersucht.

Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Calypogeia suecica*

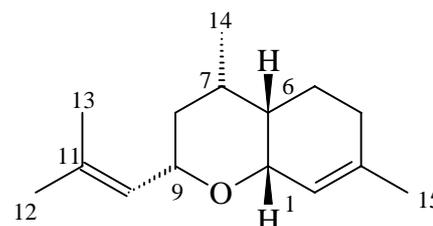
Die Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *C. suecica* erfolgte durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase. Es konnten unter anderem (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**), (+)- γ -Curcumen (**3**) und (+)-*ar*-Curcumen (**4**) isoliert werden. Die isolierten Verbindungen wurden durch Massenspektrometrie, NMR-Spektroskopie und Polarimetrie charakterisiert.

(+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 220 (2) [M^+], 202 (3) [$M^+ - H_2O$], 164 (16), 131 (13), 121 (16), 109 (12), 105 (11), 94 (100), 79 (36), 67 (16), 55 (17), 41 (24);

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.96 (3H, *d*, $J = 7.1$ Hz, H-14), 1.20 (1H, *m*, H-8 α), 1.29 (1H, *ddd*, $J = 3.6, 3.6, 12.7$ Hz, H-8 β), 1.38 – 1.51 (2H, *m*, H-5 β , H-6), 1.54 – 1.66 (1H, *m*, H-5 α), 1.67 (6H, *s*, H-12, H-15), 1.69 (3H, *s*, H-13), 1.88 – 2.00 (2H, *m*, H-4 α/β , H-7), 2.03 (1H, *dd*, $J = 5.6, 17.8$ Hz, H-4 α/β), 3.78 (1H, *bs*, H-1), 4.07 (1H, *ddd*, $J = 3.6, 8.2, 10.9$ Hz, H-9), 5.21 (1H, *bd*, $J = 8.2$ Hz, H-10), 5.57 (1H, *d*, $J = 5.6$ Hz, H-2);

^{13}C -NMR (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 16.5 (*t*, C-5), 18.8 (*q*, C-12), 19.4 (*q*, C-14), 24.0 (*q*, C-15), 26.1 (*q*, C-13), 31.6 (*t*, C-4), 33.4 (*d*, C-7), 36.1 (*t*, C-8), 38.7 (*d*, C-6),



73.9 (*d*, C-1), 75.3 (*d*, C-9), 122.0 (*d*, C-2), 127.0 (*d*, C-10), 135.0 (*s*, C-11), 140.9 (*s*, C-3);

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆): δ (ppm) 0.85 (3H, *d*, *J* = 7.1 Hz, H-14), 1.20 – 1.28 (2H, *m*, H-8α, H-8β), 1.25 – 1.37 (2H, *m*, H-5α/β, H-6), 1.58 (3H, *s*, H-15), 1.60 (3H, *s*, H-12), 1.62 (3H, *s*, H-13), 1.66 – 1.84 (3H, *m*, H-4α/β, H-7, H-5α/β), 1.88 (1H, *dd*, *J* = 5.6, 17.8 Hz, H-4α/β), 3.76 (1H, *s*, H-1), 4.10 (1H, *dd*, *J* = 8.2, 10.9 Hz, H-9), 5.46 (1H, *bd*, *J* = 8.2 Hz, H-10), 5.74 (1H, *d*, *J* = 5.6, 1.0 Hz, H-2);

¹³C-NMR (125.7 MHz, C₆D₆): δ (ppm) 18.0 (*t*, C-5), 20.0 (*q*, C-12), 20.7 (*q*, C-14), 25.0 (*q*, C-15), 27.2 (*q*, C-13), 33.1 (*t*, C-4), 34.9 (*d*, C-7), 37.8 (*t*, C-8), 40.4 (*d*, C-6), 75.3 (*d*, C-1), 76.8 (*d*, C-9), 124.5 (*d*, C-2), 129.4 (*d*, C-10), 134.5 (*s*, C-11), 140.5 (*s*, C-3).

Hydrierung von (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) und (–)-β-Curcumen (**2**)

Die Hydrierung von (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) bzw. (–)-β-Curcumen (**2**) wurde entsprechend der allgemeinen Hydrierungsvorschrift durchgeführt. Die Hydrierungsprodukte wurden durch GC-MS und durch GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- und Cyclodextrin-Phasen untersucht. Die Hydrierungsprodukte von (–)-β-Curcumen (**2**) und (+)-Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (**1**) wurden miteinander verglichen. Einige der Hydrierungsprodukte beider Reaktionen zeigten identische GC-MS-Daten und identische Retentionszeiten auf achiralen GC-Phasen, jedoch unterschiedliche Retentionszeiten auf chiralen GC-Phasen.

7.2.5. *Calypogeia muelleriana*

Pflanzenmaterial

C. muelleriana wurde in Adelberg bei Göppingen, im Harz, in der Lüneburger Heide und in Trittau bei Hamburg von Herrn Prof. Dr. W. A. König gesammelt und von Herrn Dr. H. Muhle, Universität Ulm, identifiziert.

Herstellung des ätherischen Öls und des Extrakts von *Calypogeia muelleriana*

Das ätherische Öl von *C. muelleriana* wurde durch Wasserdampfdestillation gewonnen und die Extraktion wurde mit Dichlormethan durchgeführt. Extrakt und Wasserdampfdestillat wurden durch GC-MS untersucht; sie hatten dieselbe Zusammensetzung der Inhaltsstoffe.

Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Calypogeia muelleriana*

Die Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *C. muelleriana* erfolgte durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung von Säulen mit SE 30-, 6-Tx-2,3-

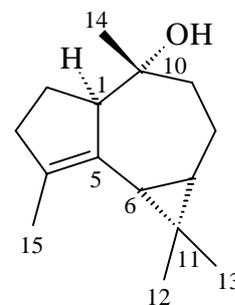
Me- β -CD- und 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase und durch präparative HPLC unter Verwendung einer Säule mit ODS-Phase. Es konnten unter anderem (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**5**), (-)-Leden (**6**) und (+)- δ -Cadinen (**12**) isoliert werden. Die isolierten Verbindungen wurden durch Massenspektrometrie, NMR-Spektroskopie und Polarimetrie charakterisiert.

(+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**5**)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 220 (17) [M^+], 202 (43) [$M^+ - H_2O$], 187 (35) [$M^+ - H_2O - CH_3$], 177 (18), 159 (87), 149 (33), 147 (43), 145 (48), 131 (52), 119 (48), 107 (37), 105 (51), 95 (42), 93 (39), 91 (63), 79 (44), 77 (38), 55 (36), 43 (100), 41 (75);

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.82 – 0.91 (1H, *m*, H-7), 0.89 (3H, *s*, H-12), 1.11 (3H, *s*, H-13), 1.13 (1H, *d*, $J = 7.0$ Hz, H-6), 1.15 (3H, *s*, H-14), 1.38 – 1.46 (1H, *m*, H-8 α), 1.67 (3H, *s*, H-15), 1.63 – 1.95 (5H, *m*, H-2 α , H-2 β , H-8 β , H-9 α , H-9 β), 2.18 – 2.24 (2H, *m*, H-3 α , H-3 β), 2.82 (1H, *m*, H-1);

^{13}C -NMR (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 14.6 (*q*, C-15), 16.2 (*q*, C-12), 19.3 (*t*, C-8), 21.7 (*s*, C-11), 25.2 (*q*, C-14), 25.4 (*t*, C-2), 26.0 (*d*, C-6), 28.0 (*d*, C-7), 29.1 (*q*, C-13), 35.8 (*t*, C-3), 42.7 (*t*, C-9), 55.1 (*d*, C-1), 74.7 (*s*, C-10), 133.3 (*s*, C-5), 138.1 (*s*, C-4).



Hydrierung von (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**5**) und (-)-Leden (**6**)

Die Hydrierung von (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**5**) bzw. (-)-Leden (**6**) wurde entsprechend der allgemeinen Hydrierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch GC-MS und durch GC an diversen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- und Cyclodextrin-Phasen untersucht. Die Hydrierungsprodukte von (-)-Leden (**6**) und (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**5**) wurden miteinander verglichen. Einige der Hydrierungsprodukte beider Reaktionen zeigten identische GC-MS-Daten und identische Retentionszeiten an achiralen und chiralen GC-Phasen.

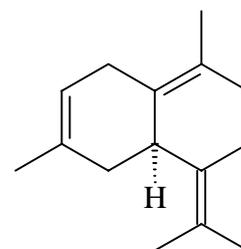
7.2.6. *Calypogeia fissa*

Pflanzenmaterial

C. fissa wurde am Sieber im Harz und bei Gaggenau im Schwarzwald von Herrn Prof. Dr. W. A. König gesammelt. Es wurde von Herrn Prof. Dr. R. Mues, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, identifiziert.

(+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (8)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (100) [M^+], 187 (59) [$M^+ - CH_3$], 159 (56), 145 (41), 143 (11), 132 (13), 131 (40), 129 (12), 128 (12), 119 (35), 117 (17), 115 (12), 105 (33), 91 (27), 77 (15), 41 (26);



1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 1.64 (3H, *s*, H-14), 1.66 (3H, *s*, H-15), 1.70 (6H, *s*, H-12, H-13), 1.89 – 2.06 (5H, *m*, H-5 α/β , H-8 α , H-8 β , H-9 α , H-9 β), 2.56 – 2.62 (1H, *m*, H-5 α/β), 2.59 – 2.65 (1H, *m*, H-2 α/β), 2.94 (1H, *bd*, $J = 19.3$ Hz, H-2 α/β), 3.12 (1H, *t* (*dd*), $J = 8.2$ Hz, H-6), 5.38 (1H, *bs*, H-3).

Säure-katalysierte Umlagerung von (+)-10 β (H)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (7)

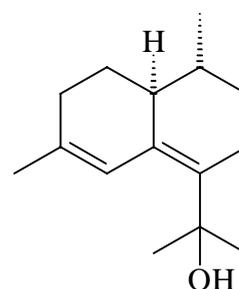
zu (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (8), (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (9),

(+)-*cis*-Calamenen (10) und (–)-*trans*-Calamenen (11)

Die Umlagerungsreaktion von (+)-10 β (H)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (7) wurde entsprechend der allgemeinen Umlagerungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsdauer betrug 2 Stunden bzw. 2 Tage. Die Reaktion wurde durch GC-MS über diese Zeitspanne verfolgt. Nach 2 Stunden Reaktionszeit waren (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (8) und (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (9) die Hauptprodukte. Nach 2 Tagen Reaktionszeit wurden (+)-*cis*-Calamenen (10) und (–)-*trans*-Calamenen (11) gefunden. (+)-*cis*-Calamenen (10) und (–)-*trans*-Calamenen (11) wurden durch Vergleich der GC-MS-Daten und der Retentionszeiten auf achiralen und chiralen GC-Phasen mit einer Probe aus beiden Enantiomerenpaaren von *cis*- und *trans*-Calamenen identifiziert. (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (8) und (+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (9) wurden durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase isoliert und durch Massenspektrometrie, NMR-Spektroskopie und Polarimetrie charakterisiert.

(+)-*cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (9)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 220 (24) [M^+], 205 (9) [$M^+ - CH_3$], 202 (6) [$M^+ - H_2O$], 187 (3) [$M^+ - H_2O - CH_3$], 163 (25), 159 (16), 147 (10), 133 (10), 132 (11), 121 (12), 119 (28), 110 (41), 109 (100), 108 (78), 107 (14), 105 (29), 95 (26), 93 (24), 91 (30), 81 (19), 80 (12), 79 (21), 77 (21), 69 (33), 41 (58);



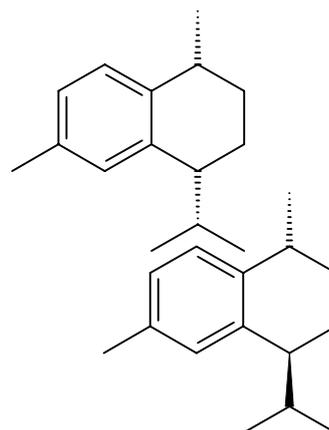
1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.75 (3H, *d*, $J = 6.3$ Hz, H-14), 1.26 (3H, *s*, H-12/13), 1.29 – 1.38 (1H, *m*, H-8/9 α/β), 1.39 (3H, *s*, H-12/13), 1.49 – 1.58 (1H, *m*, H-8/9 α/β), 1.58 – 1.77 (3H, *m*, H-8/9 α/β , H-8/9 α/β , H-10), 1.71 (3H, *bs*, H-15), 1.91 – 1.99 (1H, *dm*, $J = 12.0$ Hz, H-3 α/β), 2.01 (1H, *t* (*dd*), $J = 15.0, 5.1$ Hz, H-2 α/β), 2.16 (1H, *t* (*dd*), $J = 15.0$ Hz, H-2 α/β), 2.39 – 2.47 (2H, *m*, H-3 α/β , H-1), 5.28 (1H, *d*, $J = 5.3$ Hz, H-5).

(+)-*cis*-Calamenen (10)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (9) [M^+], 159 (100), 144 (10), 129 (13), 128 (13), 119 (3), 115 (8), 105 (9), 91 (7), 77 (4), 67 (3), 65 (3), 55 (2), 53 (3), 41 (8).

(-)-*trans*-Calamenen (11)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (9) [M^+], 159 (100), 144 (10), 129 (13), 128 (13), 119 (3), 115 (8), 105 (9), 91 (7), 77 (4), 67 (3), 65 (3), 55 (2), 53 (3), 41 (8).

**Hydrierung von (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (8) und (+)- δ -Cadinen (12)**

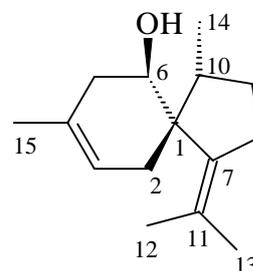
Die Hydrierung von (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) bzw. (+)- δ -Cadinen (**12**) wurde entsprechend der allgemeinen Hydrierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch GC-MS und durch GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- und Cyclodextrin-Phasen untersucht. Die Hydrierungsprodukte von (+)- δ -Cadinen (**12**) und (+)-Cadina-1(10),3,7(11)-trien (**8**) wurden miteinander verglichen. Einige der Hauptprodukte der erhaltenen gesättigten Cadinane zeigten identische GC-MS-Daten und Retentionszeiten an achiralen GC-Phasen, aber unterschiedliche Retentionszeiten an chiralen GC-Phasen.

(-)- α -Alasken-6 β -ol (13)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 220 (7) [M^+], 202 (12) [$M^+ - H_2O$], 187 (9) [$M^+ - H_2O - CH_3$], 159 (17), 153 (11), 152 (100), 145 (12), 137 (17), 131 (9), 123 (29), 121 (11), 119 (14), 109 (9), 105 (17), 91 (14), 81 (15), 77 (10), 67 (9), 55 (8), 41 (17);

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 1.08 (3H, *d*, $J = 7.1$ Hz, H-14), 1.24 – 1.32 (1H, *m*, H-9 α), 1.70 (6H, *s*, H-13, H-15), 1.72 – 1.80 (1H, *m*, H-9 β), 1.83 (3H, *bs*, H-12), 2.02 (1H, *dd*, $J = 4.6, 17.3$ Hz, H-2 β), 2.08 – 2.15 (1H, *m*, H-2 α), 2.12 – 2.19 (1H, *m*, H-10), 2.18 – 2.29 (1H, *m*, H-5 α), 2.25 – 2.35 (1H, *m*, H-8 α/β), 2.27 – 2.37 (1H, *m*, H-5 β), 2.36 – 2.47 (1H, *m*, H-8 α/β), 4.57 (1H, *dd*, $J = 5.6, 10.4$ Hz, H-6), 5.22 (1H, *bs*, H-3);

^{13}C -NMR (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 18.0 (*q*, C-14), 19.5 (*q*, C-12), 23.1 (*q*, C-15), 24.5 (*q*, C-13), 30.6 (*t*, C-9), 30.9 (*t*, C-8), 35.9 (*t*, C-5), 37.2 (*t*, C-2), 39.4 (*d*, C-10), 54.1 (*s*, C-1), 72.0 (*d*, C-6), 120.0 (*d*, C-3), 124.5 (*s*, C-11), 132.9 (*s*, C-4), 137.4 (*s*, C-7).

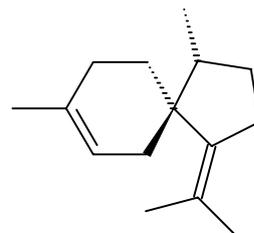


(-)- α -Alasken (14)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 204 (13) [M^+], 189 (2) [$M^+ - CH_3$], 161 (10), 137 (6), 136 (58), 122 (10), 121 (100), 119 (6), 107 (6), 105 (8), 93 (10), 79 (7), 55 (4), 53 (4), 41 (10);

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.87 (3H, *d*, $J = 7.0$ Hz, H-14), 1.25 – 1.33 (1H, *m*, H-9 α/β), 1.53 – 1.61 (1H, *m*, H-6 β), 1.62 (3H, *s*, H-13), 1.67 (3H, *s*, H-15), 1.70 (3H, *s*, H-12), 1.67 – 1.75 (1H, *m*, H-9 α/β), 1.79 – 1.87 (1H, *m*, H-5 α/β), 1.87 – 1.92 (1H, *m*, H-10), 1.91 – 1.99 (1H, *m*, H-2 α/β), 1.97 – 2.04 (2H, *m*, H-5 α/β , H-6 α), 2.11 (1H, *dm*, $J = 17.7$ Hz, H-2 α/β), 2.21 – 2.29 (1H, *m*, H-8 α/β), 2.29 – 2.39 (1H, *m*, H-8 α/β), 5.32 (1H, *bs*, H-3);

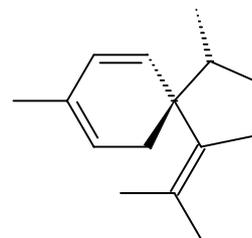
^{13}C -NMR (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 15.7 (*q*, C-14), 20.2 (*q*, C-12), 23.6 (*q*, C-15), 24.0 (*q*, C-13), 27.6 (*t*, C-6), 28.6 (*t*, C-5), 29.8 (*t*, C-9), 30.4 (*t*, C-8), 35.1 (*t*, C-2), 41.1 (*d*, C-10), 46.7 (*s*, C-1), 120.8 (*d*, C-3), 122.7 (*s*, C-11), 134.3 (*s*, C-4), 140.7 (*s*, C-7).

**Dehydratisierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol (13) zu 5,6-Dehydro- α -alasken (15)**

Die Dehydratisierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol (**13**) wurde entsprechend der allgemeinen Dehydratisierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch GC-MS untersucht. Es war ein Hauptprodukt entstanden, bei dem es sich vermutlich um 5,6-Dehydro- α -alasken (**15**) handelte.

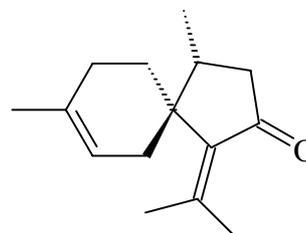
5,6-Dehydro- α -alasken (15)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (24) [M^+], 187 (32) [$M^+ - CH_3$], 173 (14), 161 (19), 159 (40), 147 (17), 146 (20), 145 (80), 133 (15), 132 (28), 131 (53), 129 (16), 128 (16), 120 (15), 119 (75), 117 (24), 115 (20), 107 (32), 106 (26), 105 (100), 93 (24), 92 (24), 91 (64), 79 (25), 77 (40), 65 (21), 53 (29), 41 (66).

**(-)- α -Alasken-8-on (16)**

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 218 (28) [M^+], 203 (3) [$M^+ - CH_3$], 197 (2), 177 (9), 151 (11), 150 (100), 136 (8), 135 (81), 121 (8), 107 (33), 105 (13), 93 (10), 91 (27), 79 (20), 77 (20), 65 (10), 53 (15), 41 (31), 39 (20);

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.94 (3H, *d*, $J = 7.0$ Hz, H-14), 1.70 (3H, *s*, H-15), 1.71 – 1.75 (1H, *dm*, $J = 14.5$ Hz, H-6 β), 1.74 – 1.79 (1H, *m*, H-6 α), 1.91 (1H, *dd*, $J = 17.5, 2.9$ Hz, H-9 α), 1.93 (3H, *s*, H-12), 2.05 – 2.14 (4H, *m*, H-2 β , H-5 α , H-5 β , H-10), 2.16 – 2.24 (1H, *m*, H-2 α), 2.23 (3H, *s*, H-13), 2.53 (1H, *dd*, $J = 17.5, 7.9$ Hz, H-9 β), 5.34 (1H, *bs*, H-3);



$^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 16.8 (*q*, C-14), 23.5 (*q*, C-15), 23.5 (*q*, C-12), 23.9 (*q*, C-13), 27.9 (*t*, C-5), 28.0 (*t*, C-6), 33.6 (*d*, C-10), 34.4 (*t*, C-2), 45.7 (*t*, C-9), 46.4 (*s*, C-1), 119.9 (*d*, C-3), 134.7 (*s*, C-4), 138.3 (*s*, C-7), 149.5 (*s*, C-11), 208.6 (*s*, C-8);

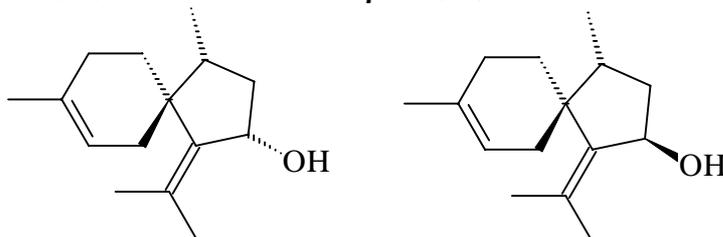
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_6D_6): δ (ppm) 0.78 (3H, *d*, $J = 7.0$ Hz, H-14), 1.57 – 1.63 (1H, *m*, H-6 α/β), 1.65 (6H, *s*, H-12, H-15), 1.66 – 1.74 (1H, *m*, H-6 α/β), 1.83 – 1.92 (2H, *m*, H-9 α/β , H-10), 1.83 – 1.94 (2H, *m*, H-5 α , H-5 β), 1.90 – 1.98 (1H, *m*, H-2 α/β), 2.05 – 2.12 (1H, *m*, H-2 α/β), 2.37 (3H, *s*, H-13), 2.40 (1H, *dd*, $J = 17.5, 7.9$ Hz, H-9 α/β), 5.26 (1H, *bs*, H-3);

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, C_6D_6): δ (ppm) 16.6, 23.1, 23.5, 23.7, 27.9, 28.2, 33.7, 34.5, 45.7, 46.3, 120.4, 134.2, 138.5, 147.9, 206.5.

Reduktion von (-)- α -Alasken-8-on (**16**) zu α -Alasken-8 α -ol (**17**) und α -Alasken-8 β -ol (**18**)

Die Reduktion von (-)- α -Alasken-8-on (**16**) wurde entsprechend der allgemeinen Reduktionsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch GC-MS analysiert.

α -Alasken-8 α -ol (**17**) und α -Alasken-8 β -ol (**18**)



MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (35) [$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$], 187 (17) [$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3$], 174 (18), 159 (21), 152 (14), 145 (26), 137 (21), 134 (61), 133 (13), 123 (30), 121 (50), 119 (100), 109 (15), 105 (33), 95 (17), 93 (21), 91 (51), 79 (29), 77 (37), 67 (21), 59 (16), 55 (23), 53 (28), 43 (95), 41 (62), 39 (35).

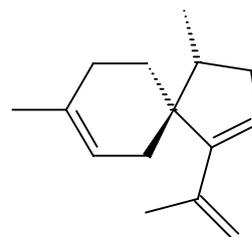
MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (45) [$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$], 187 (26) [$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3$], 174 (33), 159 (38), 151 (31), 145 (26), 136 (32), 134 (75), 121 (95), 119 (100), 105 (33), 93 (22), 91 (40), 79 (22), 77 (27), 73 (21), 67 (13), 55 (18), 53 (19), 43 (28), 41 (42), 39 (21).

Dehydratisierung von α -Alasken-8 α -ol (**17**) und α -Alasken-8 β -ol (**18**) zu 7,8-Dehydro- α -acoradien (**19**)

α -Alasken-8 α -ol (**17**) und α -Alasken-8 β -ol (**18**) dehydratisierten bei der Isolierung durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase. Anstatt der Alkohole wurde ein Kohlenwasserstoff isoliert, der durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie charakterisiert und als 7,8-Dehydro- α -acoradien (**19**) identifiziert wurde.

7,8-Dehydro- α -acoradien (19)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (26) [M^+], 187 (11) [$M^+ - CH_3$], 159 (9), 145 (26), 134 (42), 120 (12), 119 (100), 106 (15), 105 (28), 93 (12), 92 (13), 91 (43), 79 (18), 77 (25), 65 (11), 53 (17), 41 (33), 39 (23);



1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.91 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-14), 1.67 (3H, *bs*, H-15/12), 1.89 (3H, *s*, H-12/15), 2.21 (1H, *dm*, $J = 17.8$ Hz), 2.48 (1H, *ddd*, $J = 17.7$, 7.4, 2.8 Hz), 4.84 (1H, *s*, H-13 α/β), 4.92 (1H, *s*, H-13 α/β), 5.33 (1H, *m*, H-3/8), 5.62 (1H, *t* (*dd*), $J = 2.8$ Hz, H-3/8).

Hydrierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol (13),**7,8-Dehydro- α -acoradien (19) und (-)- α -Alasken (14)**

Die Hydrierung von (-)- α -Alasken-6 β -ol (**13**), 7,8-Dehydro- α -acoradien (**19**) bzw. (-)- α -Alasken (**14**) wurde entsprechend der allgemeinen Hydrierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch GC-MS und durch GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- und Cyclodextrin-Phasen analysiert. Die Hydrierungsprodukte von (-)- α -Alasken-6 β -ol (**13**), (-)- α -Alasken (**14**) und 7,8-Dehydro- α -acoradien (**19**) wurden miteinander verglichen. Sie hatten identische GC-MS-Daten und Retentionszeiten an achiralen und chiralen GC-Phasen.

7.2.7. *Bazzania trilobata***Pflanzenmaterial**

B. trilobata wurde in Adelberg bei Göppingen, in Bad Herrenalb im Schwarzwald, im Bayrischen Wald, bei Göteborg in Schweden und im Pickett National Forest in den USA von Herrn Prof. Dr. W. A. König gesammelt und von Herrn Dr. H. Muhle, Universität Ulm, identifiziert.

Herstellung des ätherischen Öls und des Extrakts von *Bazzania trilobata*

Das ätherische Öl von *B. trilobata* wurde durch Wasserdampfdestillation gewonnen und die Extraktion wurde mit Ethylacetat durchgeführt. Wasserdampfdestillat und Extrakt wurden durch GC-MS untersucht; sie hatten dieselbe Zusammensetzung der Inhaltsstoffe.

Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Bazzania trilobata*

Die Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *B. trilobata* erfolgte durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung von Säulen mit SE 30-, 2,6-Me-3-Pe- β -CD- und 6-T-2,3-Me- β -CD-Phase. Es konnten unter anderem (-)-*cis*-Cadina-

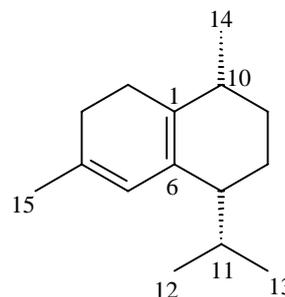
1(6),4-dien (**20**), (+)-*cis*-Calamenen (**21**), (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) und (-)-Viridiflorol (**24**) isoliert werden. Die isolierten Verbindungen wurden durch Massenspektrometrie, NMR-Spektroskopie und Polarimetrie charakterisiert.

(-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien (20**)**

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 204 (52) [M^+], 189 (16) [$M^+ - CH_3$], 162 (19), 161 (100), 145 (6), 134 (12), 119 (16), 105 (24), 91 (11), 81 (19), 69 (5), 55 (6), 41 (11);

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.68 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-12/13), 0.93 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-12/13), 1.03 (3H, *d*, $J = 7.1$ Hz, H-14), 1.40 – 1.68 (4H, *m*, H-8 α , H-8 β , H-9 α , H-9 β), 1.79 (3H, *s*, H-13), 1.88 – 2.22 (7H, *m*, H-2 α , H-2 β , H-3 α , H-3 β , H-7, H-10, H-11), 5.62 (1H, *s*, H-5);

^{13}C -NMR (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 17.1 (*q*, C-12/13), 19.0 (*t*, C-8/9), 20.4 (*q*, C-14), 21.3 (*q*, C-12/13), 23.6 (*q*, C-15), 28.0 (*t*, C-8/9), 29.2 (*t*, C-2/3), 29.3 (*d*, C-11), 29.5 (*t*, C-2/3), 33.4 (*d*, C-10), 43.0 (*d*, C-7), 122.1 (*d*, C-5), 129.9 (*s*, C-1/4/6), 133.0 (*s*, C-1/4/6), 133.7 (*s*, C-1/4/6).

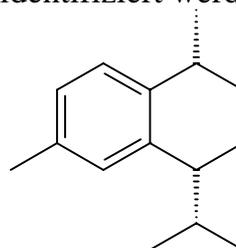


Oxidation von (-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien (20**) zu (+)-*cis*-Calamenen (**21**)**

1 mg (-)-*cis*-Cadina-1(6),4-dien (**20**) wurde in 1 ml Chloroform gelöst und für 7 Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das Reaktionsprodukt wurde durch GC-MS und GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- und Cyclodextrin-Phasen analysiert. Durch Vergleich mit einer Probe aus beiden Enantiomerenpaaren von *cis*- und *trans*-Calamenen konnte es als (+)-*cis*-Calamenen (**21**) identifiziert werden.

(+)-*cis*-Calamenen (21**)**

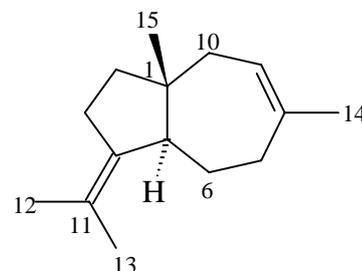
MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (9) [M^+], 159 (100), 144 (10), 129 (13), 128 (13), 119 (3), 115 (8), 105 (9), 91 (7), 77 (4), 67 (3), 65 (3), 55 (2), 53 (3), 41 (8).



(+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (22**)**

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 204 (54) [M^+], 189 (32) [$M^+ - CH_3$], 175 (5), 161 (95), 147 (15), 136 (39), 135 (61), 121 (83), 119 (65), 107 (94), 105 (74), 93 (100), 91 (63), 81 (33), 79 (48), 77 (41), 67 (26), 55 (44), 41 (76);

1H -NMR (400 MHz, C_6D_6): δ (ppm) 0.93 (3H, *s*, H-15), 1.30 – 1.42 (1H, *m*, H-3 β), 1.43 – 1.54 (2H, *m*, H-2 β , H-3 α), 1.70 (3H, *s*, H-12), 1.67 – 1.77 (1H, *m*, H-2 α), 1.76 (3H, *s*, H-13), 1.81 (3H, *s*, H-14), 1.98 – 2.07 (1H, *m*, H-10 α), 2.03 – 2.14 (1H, *m*, H-



7 β), 2.18 – 2.29 (1H, *m*, H-10 β), 2.24 – 2.34 (1H, *m*, H-6 α), 2.29 – 2.44 (2H, *m*, H-5, H-6 β), 2.86 (1H, *ddd*, $J = 17.0, 6.1, 2.5$ Hz, H-7 α), 5.61 (1H, *dd*, $J = 7.6, 1.0$ Hz, H-9); $^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, C_6D_6): δ (ppm) 17.4 (*q*, C-15), 20.8 (*q*, C-13), 23.0 (*q*, C-12), 28.7 (*q*, C-14), 30.0 (*t*, C-6), 30.2 (*t*, C-7), 31.0 (*t*, C-10), 40.2 (*t*, C-2), 41.2 (*t*, C-3), 44.7 (*s*, C-1), 52.4 (*d*, C-5), 122.5 (*s*, C-11), 124.2 (*d*, C-9), 136.1 (*s*, C-8), 139.0 (*s*, C-4);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.84 (3H, *s*, H-15), 1.23 – 1.34 (1H, *m*, H-3 β), 1.36 – 1.47 (2H, *m*, H-2 β , H-3 α), 1.62 (3H, *s*, H-12), 1.68 (3H, *s*, H-13), 1.72 (3H, *s*, H-14), 1.66 – 1.78 (1H, *m*, H-2 α), 1.84 (1H, *bt*, $J = 14.9$ Hz, H-7 β), 2.03 (1H, *dt*, $J = 17.7, 3.8$ Hz, H-10 α), 2.16 – 2.32 (4H, *m*, H-5, H-6 α , H-6 β , H-10 β), 2.66 (1H, *ddd*, $J = 17.0, 6.1, 2.5$ Hz, H-7 α), 5.45 (1H, *dd*, $J = 7.6, 1.0$ Hz, H-9);

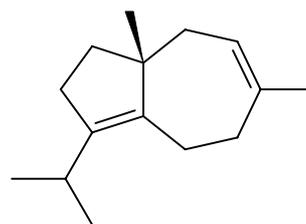
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 17.4 (*q*, C-15), 20.9 (*q*, C-13), 23.1 (*q*, C-12), 28.7 (*q*, C-14), 29.7 (*t*, C-7), 30.1 (*t*, C-6), 31.0 (*t*, C-10), 40.1 (*t*, C-2), 41.0 (*t*, C-3), 44.7 (*s*, C-1), 52.2 (*d*, C-5), 122.7 (*s*, C-11), 123.9 (*d*, C-9), 136.6 (*s*, C-8), 139.1 (*s*, C-4).

Säure-katalysierte Umlagerung von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**)

Die Umlagerungsreaktion von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) wurde entsprechend der allgemeinen Umlagerungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionszeit betrug zwei Tage. Die Reaktionsprodukte wurden durch GC-MS und durch GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- und Cyclodextrin-Phasen analysiert. Das Hauptprodukt wurde durch Vergleich mit einer authentischen Probe als (+)-Daucen (**23**) identifiziert.

(+)-Daucen (**23**)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 204 (6) [M^+], 189 (4) [$\text{M}^+ - \text{CH}_3$], 162 (19), 161 (100), 135 (11), 121 (53), 119 (12), 107 (15), 105 (16), 93 (21), 91 (17), 79 (13), 77 (13), 55 (9), 41 (20).



Hydrierung von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) und (+)-Daucen (**23**)

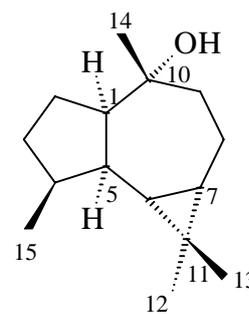
Die Hydrierung von (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) bzw. (+)-Daucen (**23**) wurde entsprechend der allgemeinen Hydrierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch GC-MS und durch GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- und Cyclodextrin-Phasen analysiert. Die Hydrierungsprodukte von (+)-Daucen (**23**) und (+)-*trans*-Dauca-4(11),8-dien (**22**) wurden miteinander verglichen. Einige der Produkte beider Reaktionen waren identisch.

Viridiflorol (24)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 222 (2) [M^+], 204 (17) [$M^+ - H_2O$], 189 (22) [$M^+ - H_2O - CH_3$], 161 (39), 147 (17), 135 (18), 133 (17), 122 (28), 109 (56), 107 (44), 93 (42), 81 (46), 79 (35), 69 (65), 55 (46), 43 (100), 41 (85);

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.11 (1H, *t* (*dd*), $J = 9.1$ Hz, H-6), 0.58 – 0.64 (1H, *m*, H-7), 0.94 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-15), 1.03 (3H, *s*, H-12), 1.05 (3H, *s*, H-13), 1.17 (3H, *s*, H-14), 1.19 – 1.31 (1H, *m*, H-3 β), 1.34 – 1.44 (1H, *m*, H-8 α), 1.50 – 1.62 (2H, *m*, H-2 β , H-9 α), 1.60 – 1.69 (1H, *m*, H-8 β), 1.63 – 1.74 (2H, *m*, H-2 α , H-9 β), 1.75 – 1.83 (1H, *m*, H-3 α), 1.78 – 1.84 (1H, *m*, H-1), 1.80 – 1.85 (1H, *m*, H-5), 1.94 – 2.02 (1H, *m*, H-4);

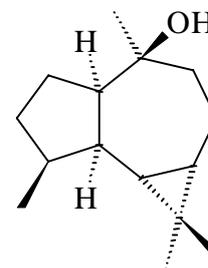
^{13}C -NMR (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 16.1 (*q*, C-12), 16.3 (*q*, C-15), 18.4 (*q*, C-11), 18.8 (*t*, C-8), 22.3 (*q*, C-6), 25.8 (*t*, C-2), 28.6 (*d*, C-7), 28.7 (*q*, C-13), 29.1 (*t*, C-3), 32.1 (*q*, C-14), 37.8 (*t*, C-9), 38.5 (*d*, C-4), 39.7 (*d*, C-5), 58.2 (*d*, C-1), 74.6 (*s*, C-10).

**Ledol (25)**

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 222 (4) [M^+], 204 (16) [$M^+ - H_2O$], 189 (16) [$M^+ - H_2O - CH_3$], 161 (35), 147 (21), 133 (18), 123 (16), 122 (58), 121 (33), 119 (21), 111 (34), 109 (61), 108 (22), 107 (51), 105 (37), 95 (44), 93 (46), 91 (35), 82 (37), 81 (60), 79 (37), 69 (74), 67 (48), 55 (51), 43 (100), 41 (94);

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.33 (1H, *t* (*dd*), $J = 9.8$ Hz, H-6), 0.69 – 0.74 (1H, *m*, H-7), 0.93 (3H, *d*, $J = 7.0$ Hz, H-15), 0.98 (3H, *s*, H-12), 1.04 (3H, *s*, H-13), 1.14 (3H, *s*, H-14), 1.17 – 1.24 (1H, *m*, H-8 α), 1.23 – 1.33 (1H, *m*, H-3 β), 1.64 – 1.74 (3H, *m*, H-2 α/β , H-3 α , H-9 α), 1.75 – 1.82 (1H, *m*, H-5), 1.78 – 1.86 (1H, *m*, H-8 β), 1.83 – 1.89 (1H, *m*, H-9 β), 1.88 – 1.93 (1H, *m*, H-2 α/β), 1.95 – 2.03 (1H, *m*, H-4), 2.06 – 2.11 (1H, *m*, H-1), 2.23 (1H, *s*, OH);

^{13}C -NMR (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 15.4 (*q*, C-12), 16.0 (*q*, C-15), 19.2 (*s*, C-11), 20.3 (*t*, C-8), 23.5 (*d*, C-6), 24.6 (*t*, C-2), 25.0 (*d*, C-7), 28.7 (*q*, C-13), 30.5 (*q*, C-14), 30.8 (*t*, C-3), 38.5 (*d*, C-4), 39.3 (*t*, C-9), 40.8 (*d*, C-5), 53.8 (*d*, C-1), 74.6 (*s*, C-10).



7.2.8. *Tritomaria quinquedentata*

Pflanzenmaterial

T. quinquedentata wurde im Genova-Tal in den italienischen Alpen gesammelt und von Herrn Prof. Dr. R. Mues, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, identifiziert.

Herstellung des ätherischen Öls von *Tritomaria quinquedentata*

Das ätherische Öl von *T. quinquedentata* wurde durch Wasserdampfdestillation gewonnen und durch GC-MS charakterisiert.

Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Tritomaria quinquedentata*

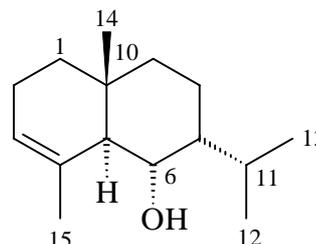
Die Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *T. quinquedentata* erfolgte durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase. Es konnte unter anderem (-)-7-*epi*-Isojunenol (**26**) und (+)-7-*epi*-Junenol (**29**) isoliert werden. Die isolierten Verbindungen wurden durch Massenspektrometrie, NMR-Spektroskopie und Polarimetrie charakterisiert.

(-)-7-*epi*-Isojunenol (**26**)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 222 (3) [M^+], 207 (13), 204 (22) [$M^+ - H_2O$], 189 (22), 161 (70), 133 (15), 121 (20), 109 (100), 108 (34), 107 (66), 105 (40), 97 (20), 95 (32), 93 (52), 91 (36), 81 (39), 79 (27), 77 (24), 69 (28), 67 (28), 55 (38), 43 (39), 41 (79);

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.90 (3H, *s*, H-14), 0.95 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-13), 1.04 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-12), 1.33 – 1.40 (2H, *m*, H-1 α , H-1 β), 1.39 – 1.43 (2H, *m*, H-9 α , H-9 β), 1.43 – 1.52 (1H, *m*, H-8 α), 1.53 – 1.69 (2H, *m*, H-7, H-8 β), 1.71 – 1.83 (1H, *m*, H-11), 1.87 (3H, *s*, H-15), 1.89 – 1.99 (1H, *m*, H-2 α), 1.99 – 2.10 (2H, *m*, H-2 β , H-5), 3.95 (1H, *dd*, $J = 5.6, 9.2$ Hz, H-6), 5.36 (1H, *bs*, H-3);

^{13}C -NMR (125.7 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 20.3 (*t*, C-8), 21.5 (*q*, C-14), 21.6 (*q*, C-13), 22.5 (*q*, C-12), 22.7 (*q*, C-15), 23.3 (*t*, C-2), 27.3 (*d*, C-11), 31.8 (*s*, C-10), 37.5 (*t*, C-9), 39.8 (*t*, C-1), 45.7 (*d*, C-7), 50.4 (*d*, C-5), 70.1 (*d*, C-6), 122.6 (*d*, C-3), 134.9 (*s*, C-4).



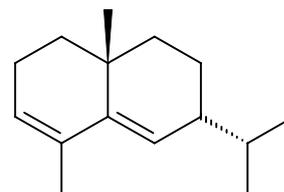
Dehydratisierung von (-)-7-*epi*-Isojunenol (**26**)

Die Dehydratisierung von (-)-7-*epi*-Isojunenol (**26**) wurde entsprechend der allgemeinen Dehydratisierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase isoliert, durch Massenspektrometrie, NMR-Spektroskopie und Polarimetrie

charakterisiert und als (-)-*trans*-Eudesma-3,5-dien (**27**) und (-)-*trans*-Eudesma-3,7-dien (**28**) identifiziert.

(-)-*trans*-Eudesma-3,5-dien (27)

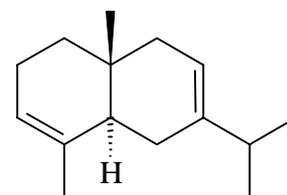
MS (EI, 70 eV): m/z (%) 204 (43) [M^+], 189 (10), 162 (39), 161 (100), 145 (11), 133 (16), 131 (17), 119 (39), 105 (64), 95 (31), 93 (26), 91 (45), 81 (76), 79 (19), 77 (21), 67 (34), 55 (23), 41 (47), 39 (21);



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.90 (3H, *d*, $J = 6.9$ Hz, H-12/13), 0.94 (3H, *d*, $J = 6.9$ Hz, H-12/13), 0.96 (3H, *s*, H-14), 1.30 – 1.40 (3H, *m*, H-1 α / β , H-9 α , H-9 β), 1.44 (1H, *dd*, $J = 5.7, 12.6$ Hz, H-1 α / β), 1.56 – 1.66 (2H, *m*, H-8 α / β , H-11), 1.79 (3H, *bs*, H-15), 1.79 – 1.87 (1H, *m*, H-8 α / β), 1.96 (1H, *m*, H-7), 2.04 (1H, *dt*, $J = 5.6, 17.0$ Hz, H-2 α / β), 2.25 (1H, *t*, $J = 17.0$ Hz, H-2 α / β), 5.51 (1H, *d*, $J = 4.4$ Hz, H-3), 5.56 (1H, *d*, $J = 4.4$ Hz, H-6).

(-)-*trans*-Eudesma-3,7-dien (28)

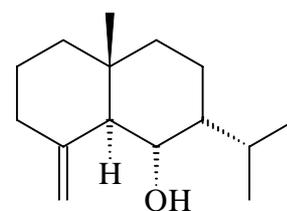
MS (EI, 70 eV): m/z (%) 204 (86) [M^+], 189 (63), 175 (15), 161 (100), 147 (39), 133 (45), 121 (35), 119 (39), 108 (70), 107 (41), 105 (88), 95 (41), 93 (86), 91 (79), 81 (41), 79 (37), 77 (41), 67 (30), 55 (40), 53 (33), 43 (36), 41 (85), 39 (39);



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.75 (3H, *s*, H-14), 1.01 (6H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-12, H-13), 1.65 (3H, *bs*, H-15), 5.34 (1H, *bs*, H-3/8), 5.37 (1H, *bs*, H-3/8).

(+)-7-*epi*-Junenol (29)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 222 (2) [M^+], 207 (5), 204 (21) [$M^+ - \text{H}_2\text{O}$], 189 (10), 179 (11), 161 (30), 137 (21), 121 (23), 109 (100), 105 (21), 95 (37), 93 (33), 91 (24), 81 (39), 79 (30), 77 (18), 69 (20), 67 (28), 55 (34), 43 (27), 41 (64), 39 (21);



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.80 (3H, *s*, H-14), 0.95 (3H, *d*, $J = 7.1$ Hz, H-13), 1.11 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-12), 1.14 – 1.21 (1H, *dt*, $J = 3.6, 13.7$ Hz, H-9 β), 1.26 – 1.36 (2H, *m*, H-1 α , H-9 α), 1.36 – 1.43 (1H, *m*, H-1 β), 1.51 – 1.61 (1H, *m*, H-8 β), 1.55 – 1.71 (2H, *m*, H-2 α , H-2 β), 1.61 – 1.73 (1H, *m*, H-8 α), 1.69 – 1.78 (1H, *m*, H-7), 1.87 (1H, *bs*, OH), 1.94 – 2.07 (2H, *m*, H-3 α / β , H-11), 2.17 (1H, *d*, $J = 10.7$ Hz, H-5), 2.32 (1H, *bd*, $J = 12.2$ Hz, H-3), 4.06 (1H, *J = dd*, 5.1, 10.7 Hz, H-6), 4.66 (1H, *d*, $J = 1.0$ Hz, H-15 α / β), 4.97 (1H, *d*, $J = 1.0$ Hz, H-15 α / β);

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 17.9 (*q*, C-14), 22.1 (*q*, C-13), 22.5 (*t*, C-8), 24.3 (*t*, C-2), 25.0 (*q*, C-12), 25.2 (*d*, C-11), 36.1 (*t*, C-9), 37.6 (*s*, C-10), 38.2 (*t*, C-3), 42.1 (*d*, C-1), 44.8 (*d*, C-7), 52.9 (*d*, C-5), 70.1 (*d*, C-6), 106.4 (*t*, C-15), 148.1 (*s*, C-4).

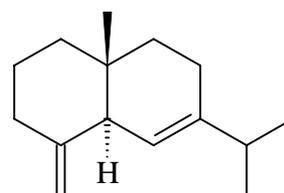
Dehydratisierung von (+)-7-*epi*-Junenol (29)

Die Dehydratisierung von (–)-7-*epi*-Junenol (29) wurde entsprechend der allgemeinen Dehydratisierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase isoliert, durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie charakterisiert und als *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (30) und *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (31) identifiziert.

***trans*-Eudesma-4(15),6-dien (30)**

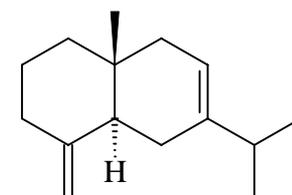
MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) 204 (41) [M⁺], 189 (22), 161 (100), 133 (43), 119 (30), 105 (54), 95 (23), 93 (24), 91 (54), 81 (27), 79 (25), 77 (23), 67 (25), 55 (24), 41 (52);

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.63 (3H, *s*, H-14), 1.02 (6H, *d*, *J* = 7.0 Hz, H-12, H-13), 2.53 (1H, *bs*, H-5), 4.56 (1H, *bs*, H-15α/β), 4.75 (1H, *bs*, H-15α/β), 5.41 (1H, *s*, H-6).

***trans*-Eudesma-4(15),7-dien (31)**

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) 204 (68) [M⁺], 189 (38), 161 (80), 147 (33), 133 (70), 121 (24), 119 (42), 108 (42), 107 (31), 105 (100), 95 (35), 93 (84), 91 (80), 81 (33), 79 (50), 77 (39), 67 (36), 55 (36), 53 (29), 43 (29), 41 (68), 39 (30);

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.67 (3H, *s*, H-14), 1.01 (3H, *d*, *J* = 7.0 Hz, H-12), 1.02 (3H, *d*, *J* = 7.0 Hz, H-13), 4.57 (1H, *bs*, H-15α/β), 4.78 (1H, *bs*, H-15α/β), 5.29 (1H, *d*, *J* = 5.7 Hz, H-8).

**Hydrierung von (–)-*trans*-Eudesma-3,5-dien (27), *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (30), *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (31) und (+)-δ-Selinen (32)**

Die Hydrierung von (–)-*trans*-Eudesma-3,5-dien (27), *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (30) und *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (31) bzw. (+)-δ-Selinen (32) wurde entsprechend der allgemeinen Hydrierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch GC-MS und durch GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- und Cyclodextrin-Phasen untersucht. Die Hydrierungsprodukte von (+)-δ-Selinen (32) wurden mit den Hydrierungsprodukten von (–)-*trans*-Eudesma-3,5-dien (27), *trans*-Eudesma-4(15),6-dien (30) und *trans*-Eudesma-4(15),7-dien (31) verglichen. Einige der Produkte waren identisch.

7.2.9. *Reboulia hemisphaerica*

Pflanzenmaterial

Frisches Pflanzenmaterial von *R. hemisphaerica* wurde an dem Fluß Argout in der Nähe von Burlats und Les Salvages in Frankreich von Herrn U. Heseler, St. Ingbert, gesammelt. Eine Pflanzenkultur von *R. hemisphaerica* wurde von Herrn Prof. Dr. H. Becker, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, zur Verfügung gestellt. *R. hemisphaerica* wurde von Herrn Prof. Dr. R. Mues, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, identifiziert. Die Inhaltsstoffe des natürlichen und des kultivierten Pflanzenmaterials waren identisch.

Herstellung des ätherischen Öls und des Extrakts von *Reboulia hemisphaerica*

Das ätherische Öl von *R. hemisphaerica* wurde durch Wasserdampfdestillation gewonnen und die Extraktion wurde mit Diethylether durchgeführt. Wasserdampfdestillat und Extrakt wurden durch GC-MS charakterisiert; sie hatten dieselbe Zusammensetzung der Inhaltsstoffe.

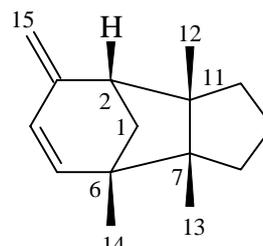
Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Reboulia hemisphaerica*

Die Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *R. hemisphaerica* erfolgte mit Hilfe der präparativen Gaschromatographie unter Verwendung von Säulen mit SE 30- und 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase. Es konnten unter anderem (–)-Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**), (+)-Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**34**) und (–)- β -Barbaten (**36**) isoliert werden. Die isolierten Verbindungen wurden durch Massenspektrometrie, NMR-Spektroskopie und Polarimetrie charakterisiert.

(–)-Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (4) [M^+], 159 (2), 107 (19), 106 (94), 105 (17), 96 (21), 95 (22), 91 (100), 81 (17), 79 (13), 77 (14), 65 (9), 55 (15), 41 (19);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_6D_6): δ (ppm) 0.84 (3H, *s*, H-12/13), 0.91 (3H, *s*, H-14), 1.03 (3H, *s*, H-12/13), 1.04 – 1.14 (1H, *m*, H-8/10 α/β), 1.20 – 1.28 (1H, *m*, H-8/10 α/β), 1.54 – 1.70 (1H, *m*, H-9 α/β), 1.62 (1H, *d*, $J = 11.1$ Hz, H-1 α/β), 1.65 – 1.81 (1H, *m*, H-9 α/β), 1.83 – 1.93 (2H, *m*, H-1 α/β , H-8/10 α/β), 1.86 – 1.99 (1H, *m*, H-8/10 α/β), 2.32 (1H, *d*, $J = 4.4$ Hz, H-2), 4.72 (1H, *bs*, H-15 α/β), 4.85 (1H, *bs*, H-15 α/β), 5.59 (1H, *d*, $J = 9.5$ Hz, H-5), 6.02 (1H, *d*, $J = 9.5$ Hz, H-4).



Dehydratisierung von (+)-Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**34**)

Die Dehydratisierung von (+)-Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**34**) wurde entsprechend der allgemeinen Dehydratisierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte

wurden durch GC-MS und durch GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- oder Cyclodextrin-Phasen untersucht. Das Dehydratisierungsprodukt war identisch mit dem Naturstoff (**33**).

Hydrierung von (–)-Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**) und (–)-β-Barbaten (**36**)

Die Hydrierung von (–)-Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**) bzw. (–)-β-Barbaten (**36**) wurde entsprechend der allgemeinen Hydrierungsvorschrift durchgeführt. Die Reaktionsprodukte wurden durch GC-MS und durch GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- oder Cyclodextrin-Phasen untersucht. Die Hydrierungsprodukte von (–)-β-Barbaten (**36**) waren identisch mit dem Hydrierungsprodukten von (–)-Gymnomitra-3(15),4-dien (**33**).

7.2.10. *Gymnomitrion obtusum*

Pflanzenmaterial

G. obtusum wurde von Herrn Dr. H. Muhle, Universität Ulm, am Meißner gesammelt und identifiziert.

Herstellung des ätherischen Öls von *Gymnomitrion obtusum*

Das ätherische Öl von *G. obtusum* wurde durch Wasserdampfdestillation gewonnen und durch GC-MS charakterisiert.

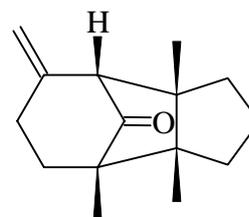
Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *Gymnomitrion obtusum*

Die Isolierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls von *G. obtusum* erfolgte mit Hilfe der präparativen Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase. Es konnten unter anderem Gymnomitron (**37**), (+)-Gymnomitrol (**38**) und Isogymnomitrol (**39**) isoliert werden. Die isolierten Verbindungen wurden durch Massenspektrometrie, NMR-Spektroskopie und Polarimetrie charakterisiert.

Gymnomitron (**37**)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 218 (10) [M^+], 175 (4), 133 (5), 123 (18), 122 (10), 119 (9), 105 (12), 96 (12), 95 (100), 94 (16), 93 (13), 91 (18), 81 (14), 79 (26), 77 (16), 67 (13), 55 (15), 41 (29), 39 (16);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.83 (3H, *s*, H-13), 0.93 (3H, *s*, H-14), 0.95 (3H, *s*, H-12), 1.37 (1H, *dd*, $J = 6.3, 12.9$ Hz, H-8 α/β), 1.46 (1H, *dd*, $J = 6.3, 13.2$ Hz, H-10 α/β), 1.57 – 1.69 (1H, *m*, H-5 α/β), 1.72 – 1.84 (2H, *m*, H-9 α , H-9 β), 1.91 – 1.99



(2H, *m*, H-5 α / β , H-10 α / β), 2.07 – 2.14 (1H, *m*, H-8 α / β), 2.14 – 2.20 (1H, *m*, H-4 α / β), 2.50 – 2.59 (1H, *m*, H-4 α / β), 2.62 (1H, *s*, H-2), 4.76 (2H, *s*, H-15 α , H-15 β);

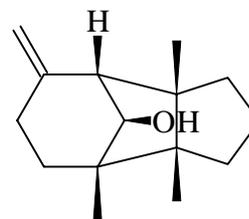
¹³C-NMR (125.7 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 17.7 (*q*, C-14), 23.3 (*q*, C-13), 24.0 (*t*, C-9), 26.8 (*q*, C-12), 28.0 (*t*, C-4), 35.7 (*t*, C-8), 36.8 (*t*, C-10), 38.6 (*t*, C-5), 47.3 (*s*, C-11), 48.9 (*s*, C-7), 51.2 (*s*, C-6), 69.0 (*d*, C-2), 112.2 (*t*, C-15), 149.9 (*s*, C-3), 175.8/186.7 (*s*, C-1).

Reduktion von Gymnomitron (37) zu (+)-Gymnomitrol (38)

Die Reduktion von Gymnomitron (37) wurde entsprechend der allgemeinen Reduktionsvorschrift durchgeführt. Das Reaktionsprodukt wurde durch GC-MS und durch GC an verschiedenen Kapillarsäulen mit Polysiloxan- und Cyclodextrin-Phasen untersucht und durch Vergleich mit einer authentischen Probe als (+)-Gymnomitrol (38) identifiziert.

(+)-Gymnomitrol (38)

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) 220 (4) [M⁺], 205 (5), 202 (5), 187 (8), 159 (5), 150 (7), 137 (20), 124 (27), 123 (31), 109 (68), 108 (59), 107 (43), 96 (28), 95 (100), 94 (28), 93 (28), 91 (41), 81 (70), 79 (38), 77 (29), 67 (30), 55 (45), 53 (29), 43 (43), 41 (75).



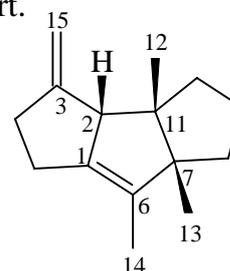
Dehydratisierung und Umlagerung von Gymnomitrol (38) zu Isohirsuta-1(6),3(15)-dien (40) und Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (41)

Die Dehydratisierung und Umlagerung von Gymnomitrol (38) erfolgte entsprechend der allgemeinen Dehydratisierungsvorschrift. Die Reaktionsprodukte wurden durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase getrennt, durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie charakterisiert und als Isohirsuta-1(6),3(15)-dien (40) und Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (41) identifiziert.

Isohirsuta-1(6),3(15)-dien (40)

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) 202 (43) [M⁺], 187 (100), 173 (30), 160 (35), 159 (66), 145 (42), 131 (24), 129 (16), 128 (16), 119 (16), 115 (16), 105 (24), 91 (36), 77 (25), 55 (14), 41 (33), 39 (26);

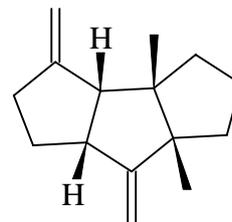
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.95 (3H, *s*, H-12/13), 1.07 (3H, *s*, H-12/13), 1.15 – 1.25 (3H, *m*, H-8/9/10 α / β), 1.44 – 1.53 (1H, *m*, H-8/9/10 α / β), 1.48 (3H, *t*, *J* = 2.2 Hz, H-14), 1.62 – 1.76 (2H, *m*, H-8/9/10 α / β), 1.93 – 2.03 (1H, *m*, H-5 α / β), 2.18 (1H, *dd*, *J* = 8.8, 14.5 Hz, H-5 α / β), 2.33 – 2.43 (1H, *m*, H-4 α / β), 2.58 (1H, *ddd*, *J* = 1.9, 8.8, 16.0 Hz, H-4 α / β), 3.17 (1H, *bs*, H-2), 4.81 (1H, *s*, H-15 α / β), 4.93 (1H, *s*, H-15 α / β);



¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆): δ (ppm) 1.03 (3H, *s*, H-12/13), 1.15 (3H, *s*, H-12/13), 1.16 – 2.05 (7H, *m*, H-5α/β, H-8α, H-8β, H-9α, H-9β, H-10α, H-10β), 1.48 (3H, *t*, *J* = 2.2 Hz, H-14), 2.13 (1H, *dd*, *J* = 8.8, 14.5 Hz, H-5α/β), 2.34 – 2.47 (1H, *m*, H-4α/β), 2.56 (1H, *m*, H-4α/β), 3.31 (1H, *bs*, H-2), 5.03 (1H, *s*, H-15α/β), 5.11 (1H, *s*, H-15α/β).

Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (41)

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) 202 (72) [M⁺], 187 (60), 159 (33), 145 (40), 131 (38), 120 (26), 119 (30), 108 (26), 107 (72), 106 (100), 105 (53), 95 (61), 93 (37), 91 (89), 81 (64), 80 (75), 79 (75), 77 (58), 65 (28), 55 (37), 53 (40), 41 (71), 39 (56);



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.95 (3H, *s*, H-12/13), 1.00 (3H, *s*, H-12/13), 1.14 – 1.22 (1H, *m*, H-8/9/10α/β), 1.45 – 1.50 (4H, *m*, H-8/9/10α/β), 1.53 – 1.60 (1H, *m*, H-5α/β), 1.86 – 1.95 (1H, *m*, H-8/9/10α/β), 1.95 – 2.03 (1H, *m*, H-5α/β), 2.31 – 2.45 (2H, *m*, H-4α, H-4β), 2.75 (1H, *dd*, *J* = 1.5, 10.4 Hz, H-2), 3.21 – 3.30 (1H, *m*, H-1), 4.75 (1H, *d*, *J* = 2.4 Hz, H-14α/β), 4.78 (1H, *d*, *J* = 2.4 Hz, H-14α/β), 4.83 (1H, *t*, *J* = 1.7 Hz, H-15α/β), 4.86 (1H, *t*, *J* = 1.7 Hz, H-15α/β);

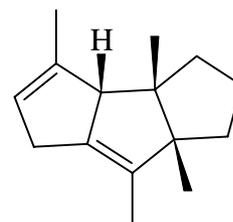
¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆): δ (ppm) 0.99 (3H, *s*, H-12/13), 1.01 (3H, *s*, H-12/13), 1.42 – 2.06 (8H, *m*, H-5α, H-5β, H-8α, H-8β, H-9α, H-9β, H-10α, H-10β), 2.20 – 2.48 (2H, *m*, H-4α, H-4β), 2.71 (1H, *dd*, *J* = 1.5, 10.4 Hz, H-2), 3.12 – 3.22 (1H, *m*, H-1), 4.86 (1H, *d*, *J* = 2.0 Hz, H-14α/β), 4.90 (1H, *d*, *J* = 2.0 Hz, H-14α/β), 4.99 (1H, *t*, *J* = 1.7 Hz, H-15α/β), 5.02 (1H, *t*, *J* = 1.7 Hz, H-15α/β).

Dehydratisierung und Umlagerung von Isogymnomitrol (39) zu Isohirsuta-1(6),3-dien (42) und Isohirsuta-3,6(14)-dien (43)

Die Dehydratisierung und Umlagerung von Isogymnomitrol (39) erfolgte entsprechend der allgemeinen Dehydratisierungsvorschrift. Die Reaktionsprodukte wurden durch präparative Gaschromatographie an einer Säule mit SE 30-Phase getrennt, durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie charakterisiert und als Isohirsuta-1(6),3-dien (42) und Isohirsuta-3,6(14)-dien (43) identifiziert.

Isohirsuta-1(6),3-dien (42)

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) 202 (96) [M⁺], 187 (100), 174 (41), 173 (26), 160 (60), 159 (98), 145 (60), 133 (27), 131 (41), 129 (29), 128 (30), 120 (36), 115 (27), 106 (66), 105 (41), 91 (59), 77 (39), 53 (25), 41 (47), 39 (37);



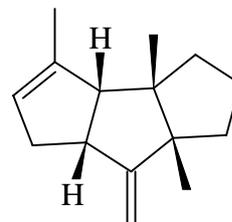
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.95 (3H, *s*, H-12/13), 1.02 (3H, *s*, H-12/13), 1.14 – 1.77 (6H, *m*, H-8α, H-8β, H-9α, H-9β, H-10α, H-10β), 1.47 (3H, *t*, *J* = 1.9 Hz,

H-14), 1.71 (3H, *bs*, H-15), 2.56 (1H, *dd*, $J = 1.9, 18.3$ Hz, H-5 α / β), 2.65 (1H, *d*, $J = 18.3$ Hz, H-5 α / β), 3.16 (1H, *bs*, H-2), 5.37 (1H, *bs*, H-4);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_6D_6): δ 1.07 (3H, *s*, H-12/13), 1.08 (3H, *s*, H-12/13), 1.10 – 1.90 (6H, *m*, H-8 α , H-8 β , H-9 α , H-9 β , H-10 α , H-10 β), 1.51 (3H, *t*, $J = 1.9$ Hz, H-14), 1.75 (3H, *bs*, H-15), 2.67 (1H, *dd*, $J = 1.9, 18.3$ Hz, H-5 α / β), 2.73 (1H, *d*, $J = 18.3$ Hz, H-5 α / β), 3.29 (1H, *bs*, H-2), 5.44 (1H, *bs*, H-4).

Isohirsuta-3,6(14)-dien (43)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 202 (78) [M^+], 187 (67), 159 (28), 147 (21), 145 (37), 131 (31), 119 (23), 107 (47), 106 (75), 105 (47), 95 (39), 91 (71), 81 (50), 80 (100), 79 (48), 77 (43), 55 (31), 53 (30), 41 (54), 39 (42);



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6): δ (ppm) 0.96 (3H, *s*, H-12/13), 1.01 (3H, *s*, H-12/13), 1.04 – 1.77 (5H, *m*, H-5/8/9/10 α / β), 1.69 (3H, *bs*, H-15), 1.98 – 2.06 (1H, *m*, H-5/8/9/10 α / β), 2.21 – 2.31 (1H, *m*, H-1/H-2/H-5 α / β), 2.64 – 2.75 (1H, *m*, H-1/H-2/H-5 α / β), 3.41 – 3.52 (1H, *m*, H-1/H-2), 4.87 (1H, *d*, $J = 2.7$ Hz, H-14 α / β), 4.94 (1H, *d*, $J = 2.7$ Hz, H-14 α / β), 5.26 (1H, *bs*, H-4).

Säure-katalysierte Umlagerung von Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (41) zu Isohirsuta-3,6(14)-dien (43)

1 mg Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (41) wurde in 1 ml Chloroform gelöst und für 7 Tage bei 12°C stehengelassen. Das Reaktionsprodukt wurde durch GC-MS charakterisiert und durch Vergleich mit einer authentischen Probe als Isohirsuta-3,6(14)-dien (43) identifiziert.

7.3. Biochemischer Teil

7.3.1. Pflanzenkulturen

Anlage von Pflanzenkulturen von *Reboulia hemisphaerica* und *Bazzania trilobata*

Frisches Pflanzenmaterial wurde in Einzelpflanzen zerteilt, von Verunreinigungen gründlich gesäubert und anschließend 90 – 210 Sekunden in 1%-iger Natriumhypochlorit-Lösung gewaschen. Die oberflächlich sterilisierten Pflanzenteile wurden dreimal mit autoklaviertem Wasser gewaschen und in Kultur gebracht.

Nährmedien für Pflanzenkulturen

Für die Lebermoos-Kulturen wurden ein modifiziertes B5-Nährmedium und ein modifiziertes Knop-Nährmedium verwendet.

Das modifizierte B5-Nährmedium enthielt pro Liter Medium folgende Salze:

- 2.500 g Kaliumnitrat,
- 0.150 g Calciumchlorid,
- 0.140 g Magnesiumsulfat-Monohydrat,
- 0.134 g Ammoniumsulfat,
- 0.150 g Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat,
- 0.0373 g Dinatriumdihydrogenethylendiamintetraacetat,
- 0.0278 g Eisen-(II)-sulfat-Heptahydrat,
- 6.2 mg Borsäure,
- 16.9 mg Mangan-(II)-sulfat-Monohydrat,
- 6.6 mg Zink-(II)-sulfat,
- 0.83 mg Kaliumiodid,
- 0.25 mg Natriummolybdat-Dihydrat,
- 0.025 mg Kupfer-(II)-sulfat-Pentahydrat,
- 0.025 mg Cobalt-(II)-chlorid-Hexahydrat.

Das modifizierte Knop-Nährmedium enthielt pro Liter Medium folgende Salze:

- 250 mg Kaliumdihydrogenphosphat,
- 250 mg Kaliumchlorid,
- 282 mg Magnesiumsulfat-Monohydrat,
- 1.0 g Kaliumnitrat,
- 1 mg Zink-(II)-sulfat-Heptahydrat,
- 1 mg Borsäure,
- 0.1 mg Mangan-(II)-sulfat-Monohydrat,
- 0.03 mg Kupfer-(II)-sulfat-Pentahydrat,
- 0.03 mg Aluminium-(III)-chlorid,
- 0.03 mg Nickel-(II)-chlorid,
- 0.01 mg Kaliumiodid,
- 30 mg Fetrilon.

Die Nährmedien wurden autoklaviert.

Kultur von *Reboulia hemisphaerica*

Die Kultur von *R. hemisphaerica* wurde zum Teil selbst angelegt und zum Teil von Herrn Prof. Dr. H. Becker, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, übernommen und weitervermehrt. *R. hemisphaerica* wuchs auf einem festen, modifizierten B5-Nährmedium mit 5 g Glucose und 9 g Agar pro Liter Medium.

Kultur von *Bazzania trilobata*

B. trilobata wuchs auf einem festen Knop-Nährmedium mit 9 g Agar pro Liter Medium und als Flüssigkultur in autoklaviertem Wasser.

Kultur von *Lophocolea heterophylla*

Die Kultur von *L. heterophylla* wurde von Frau Dr. A. Rieck im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. W. A. König angelegt. *L. heterophylla* wuchs als Flüssigkultur in einem Knop-Nährmedium.

Kultur von *Ricciocarpos natans*

Die Kultur von *R. natans* wurde von Herrn Prof. Dr. H. Becker, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, übernommen und weitervermehrt. *R. natans* wuchs als Flüssigkultur in einem modifizierten B5-Nährmedium mit 20 g Glucose pro Liter Medium.

Kulturbedingungen

Die Kulturen wuchsen in einer Klimakammer bei einer Temperatur von 25°C und einem Hell-Dunkel-Wechsel nach 12 Stunden. Die Flüssigkulturen von *B. trilobata* und *L. heterophylla* wurden auf einem Schüttler gehalten.

Das Umsetzen der Kulturen wurde in einem sterilen Abzug durchgeführt.

7.3.2. Zugabe von Jasmonsäure zum Nährmedium der Pflanzen

Den Nährmedien der Flüssigkulturen von *B. trilobata*, *L. heterophylla* und *R. natans* wurden 210 mg und 2.1 g Jasmonsäure pro Liter Medium zugesetzt. Die Pflanzen wurden nach zwei Tagen geerntet und an der Luft getrocknet.

Das ätherische Öl wurde durch Wasserdampfdestillation gewonnen, wobei in diesem Fall das Trockengewicht des eingesetzten Pflanzenmaterials und das Volumen des Auffang-Lösungsmittels *n*-Hexan bestimmt wurden. Das ätherische Öl wurde durch GC und GC-MS analysiert und mit dem ätherischen Öl einer entsprechenden Probe der Lebermoos-Kultur ohne Jasmonsäure verglichen. Es war kein Unterschied in der Zusammensetzung und der Menge der ätherischen Öle von den Lebermoos-Kulturen mit und ohne Jasmonsäure zu erkennen.

7.3.3. Markierungsexperimente

mit markierter Glucose und markiertem Mevalolacton

bei Gymnomitranen aus *Reboulia hemisphaerica* und *Bazzania trilobata*

Markierungsexperimente mit *Reboulia hemisphaerica*

Dem Nährmedium der Kultur von *R. hemisphaerica* wurden 1-¹³C-Glucose, 2-¹³C-Glucose bzw. 6,6-D₂-Glucose zugesetzt. Die Menge betrug 5 g Glucose pro Liter Medium, wobei im Falle der deuterierten Glucose nur die markierte Glucose eingesetzt wurde, im Falle der ¹³C-markierten Glucose die markierte Glucose jedoch mit unmarkierter Glucose im Verhältnis 1:4 verdünnt wurde. Die Lebermoose wuchsen 6 Wochen auf diesen Medien, bevor sie geerntet wurden.

4,4-D₂-Mevalolacton und 2,2-D₂-Mevalolacton wurden in Mengen von 1 g pro Liter Medium zugesetzt. Die Lebermoose wurden nach 3 Monaten geerntet.

Markierungsexperimente mit *Bazzania trilobata*

Dem Nährmedium der Flüssigkultur von *B. trilobata* wurden 1 g 4,4-D₂- bzw. 2,2-D₂-Mevalolacton pro Liter Medium zugesetzt. Die Lebermoose wurden nach 3 Monaten geerntet.

Herstellung der ätherischen Öle

von *Reboulia hemisphaerica* und *Bazzania trilobata*

Die ätherischen Öle von *R. hemisphaerica* und von *B. trilobata* wurden durch Wasserdampfdestillation gewonnen.

Isolierung der Inhaltsstoffe der ätherischen Öle

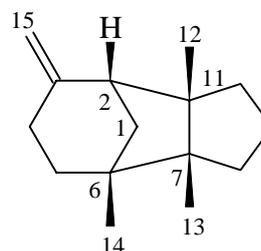
von *Reboulia hemisphaerica* und *Bazzania trilobata*

Die Isolierung der Inhaltsstoffe der ätherischen Öle von *R. hemisphaerica* und *B. trilobata* erfolgte durch präparative Gaschromatographie unter Verwendung einer Säule mit SE 30-Phase.

Aus dem ätherischen Öl von *R. hemisphaerica* wurden β -Barbaten (**44**), Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (**45**) und Gymnomitran-4-on (**46**) isoliert, aus dem ätherischen Öl von *B. trilobata* β -Barbaten (**44**). Die isolierten Verbindungen wurden durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie charakterisiert.

β -Barbaten (**44**)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) 204 (2) [M⁺], 189 (6), 133 (6), 119 (9), 111 (31), 109 (24), 108 (66), 107 (22), 96 (88), 95 (67), 94 (43), 93 (100), 91 (33), 81 (70), 79 (44), 77 (25), 69 (23), 67 (21), 55 (32), 41 (38);



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.84 (3H, *s*, H-14), 0.90 (3H, *s*, H-13), 1.03 (3H, *s*, H-12), 1.06 – 1.11 (1H, *m*, H-8β), 1.15 – 1.19 (1H, *m*, H-10α/β), 1.30 (1H, *d*, *J* = 11.2 Hz, H-1β), 1.38 – 1.45 (1H, *m*, H-5β), 1.68 – 1.78 (2H, *m*, H-5α, H-10α/β), 1.76 – 1.82 (2H, *m*, H-9α, H-9β), 1.88 – 1.91 (1H, *m*, H-8α), 2.04 – 2.08 (1H, *m*, H-1α), 2.15 (1H, *d*, *J* = 4.6 Hz, H-2), 2.22 (1H, *dd*, *J* = 8.2, 16.5 Hz, H-4β), 2.40 – 2.50 (1H, *m*, H-4α), 4.57 (1H, *t* (*dd*), *J* = 2.6 Hz, H-15α), 4.60 (1H, *t* (*dd*), *J* = 2.6 Hz, H-15β);

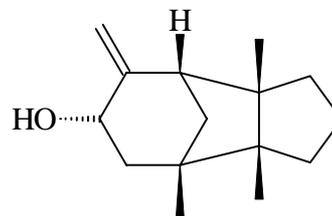
¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 23.4 (*q*, C-13), 24.8 (*q*, C-14), 27.5 (*t*, C-9), 27.5 (*q*, C-12), 28.7 (*t*, C-4), 35.6 (*t*, C-8), 37.1 (*t*, C-10), 38.1 (*t*, C-5), 43.1 (*s*, C-6), 46.8 (*t*, C-1), 54.2 (*s*, C-7), 55.4 (*s*, C-11), 56.0 (*d*, C-2), 107.5 (*t*, C-15), 152.0 (*s*, C-3).

Gymnomitr-3(15)-en-4α-ol (45)

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) 220 (2) [M⁺], 202 (4), 187 (7), 137 (10), 123 (63), 109 (21), 107 (21), 106 (56), 105 (15), 96 (61), 95 (100), 94 (21), 93 (16), 91 (56), 81 (67), 79 (23), 67 (18), 55 (28), 41 (29);

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ (ppm) 0.79 (3H, *s*, H-13), 0.85 (3H, *s*, H-14), 0.96 (3H, *s*, H-12), 0.92 – 1.03 (1H, *m*, H-8β), 1.05 – 1.20 (2H, *m*, H-9α/β, H-10β), 1.32 – 1.42 (3H, *m*, H-1α, H-1β, H-9α/β), 1.55 – 1.65 (2H, *m*, H-5α, H-5β), 1.71 – 1.75 (1H, *m*, H-8α), 1.92 – 1.96 (1H, *m*, H-10α), 2.22 (1H, *d*, *J* = 3.8 Hz, H-2), 4.16 – 4.23 (1H, *m*, H-4), 4.87 (1H, *s*, H-15α), 5.31 (1H, *s*, H-15β);

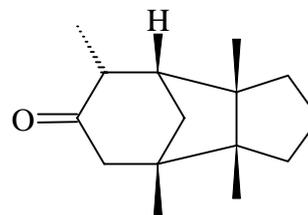
¹³C-NMR (125.7 MHz, C₆D₆): δ (ppm) 23.8 (*q*, C-13), 25.3 (*t*, C-9), 26.1 (*q*, C-14), 27.7 (*q*, C-12), 37.2 (*t*, C-1), 38.1 (*t*, C-8), 38.7 (*t*, C-10), 41.8 (*t*, C-5), 45.3 (*s*, C-6), 53.7 (*s*, C-7), 54.0 (*d*, C-2), 55.1 (*s*, C-11), 66.4 (*d*, C-4), 109.3 (*t*, C-15), 151.9 (*s*, C-3).



Gymnomitran-4-on (46)

MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) 220 (11) [M⁺], 205 (5), 165 (6), 137 (89), 136 (19), 125 (18), 124 (27), 123 (48), 121 (18), 109 (24), 107 (15), 97 (27), 96 (51), 95 (75), 81 (100), 67 (27), 55 (55), 41 (42);

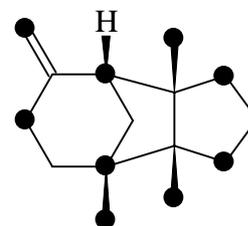
¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ (ppm) 0.71 (3H, *s*, H-14), 0.74 (3H, *s*, H-13), 0.87 (3H, *s*, H-12), 0.92 – 0.98 (1H, *m*, H-8β), 1.11 (1H, *ddd* (*dddd*), *J* = 1.6, 5.7, 12.5 Hz, H-10β), 1.23 (3H, *d*, *J* = 7.0 Hz, H-15), 1.32 (1H, *d*, *J* = 12.0 Hz, H-1β), 1.43 – 1.56 (2H, *m*, H-2, H-9β), 1.55 – 1.66 (1H, *m*, H-9α), 1.63 – 1.76 (1H, *m*, H-8α), 1.72 – 1.86 (1H, *m*, H-10α), 1.87 (1H, *dd*, *J* = 1.3, 16.4 Hz, H-5β), 1.96 – 2.02 (1H, *m*, H-1α), 2.00 – 2.08 (1H, *s*, H-3), 2.58 (1H, *dd*, *J* = 3.2, 16.4 Hz, H-5α);



^{13}C -NMR (125.7 MHz, C_6D_6): δ (ppm) 14.4 (*q*, C-15), 22.5 (*q*, C-13), 23.3 (*q*, C-14), 28.1 (*t*, C-9), 28.4 (*q*, C-12), 35.8 (*t*, C-8), 38.4 (*t*, C-10), 46.7 (*s*, C-6), 47.6 (*t*, C-1), 50.7 (*d*, C-3), 51.1 (*d*, C-2), 54.7 (*t*, C-5), 55.7 (*s*, C-11), 56.2 (*s*, C-7), 210.5 (*s*, C-4).

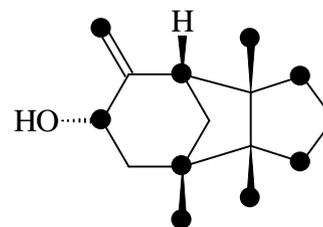
Durch $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Glucose markiertes β -Barbaten (44a) aus *R. hemisphaerica*

^{13}C -NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm, rel. Int.) 23.4 (1.78, C-13), 24.8 (1.65, C-14), 27.5 (1.28, C-9, C-12), 28.7 (1.42, C-4), 35.6 (1.68, C-8), 37.1 (1.98, C-10), 38.1 (1.00, C-5), 43.1 (1.77, C-6), 46.8 (0.94, C-1), 54.2 (C-7), 55.4 (C-11), 56.0 (1.80, C-2), 107.5 (1.71, C-15), 152.0 (C-3).



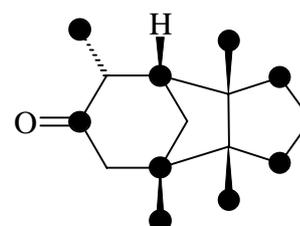
Durch $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Glucose markiertes Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (45a) aus *R. hemisphaerica*

^{13}C -NMR (125.7 MHz, C_6D_6): δ (ppm, rel. Int.) 23.8 (1.88, C-13), 25.3 (1.00, C-9), 26.1 (1.90, C-14), 27.7 (1.97, C-12), 37.2 (1.00, C-1), 38.1 (1.90, C-8), 38.7 (1.86, C-10), 41.8 (0.96, C-5), 45.3 (1.69, C-6), 53.7 (0.93, C-7), 54.0 (1.83, C-2), 55.1 (0.88, C-11), 66.4 (1.96, C-4), 109.3 (1.98, C-15), 151.9 (1.18, C-3).



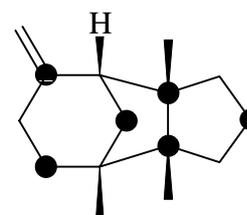
Durch $1\text{-}^{13}\text{C}$ -Glucose markiertes Gymnomitran-4-on (46a) aus *R. hemisphaerica*

^{13}C -NMR (125.7 MHz, C_6D_6): δ (ppm, rel. Int.) 14.4 (1.30, C-15), 22.5 (1.64, C-13), 23.3 (3.60, C-14), 28.1 (1.00, C-9), 28.4 (1.86, C-12), 35.8 (1.93, C-8), 38.4 (2.03, C-10), 46.7 (1.18, C-6), 47.6 (1.11, C-1), 50.7 (0.90, C-3), 51.1 (1.69, C-2), 54.7 (0.88, C-5), 55.7 (0.90, C-11), 56.2 (0.92, C-7), 210.5 (1.85, C-4).



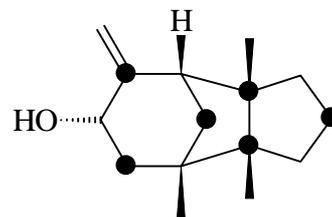
Durch $2\text{-}^{13}\text{C}$ -Glucose markiertes β -Barbaten (44b) aus *R. hemisphaerica*

^{13}C -NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm, rel. Int.) 23.4 (1.00, C-13), 24.8 (1.14, C-14), 27.5 (1.58, C-9, C-12), 28.7 (0.98, C-4), 35.6 (1.03, C-8), 37.1 (1.03, C-10), 38.1 (2.40, C-5), 43.1 (0.87, C-6), 46.8 (2.58, C-1), 54.2 (3.08, C-7), 55.4 (3.33, C-11), 56.0 (0.91, C-2), 107.5 (1.07, C-15), 152.0 (2.46, C-3).

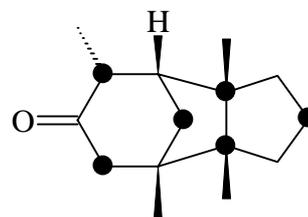


Durch 2-¹³C-Glucose markiertes Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (45b)aus *R. hemisphaerica*

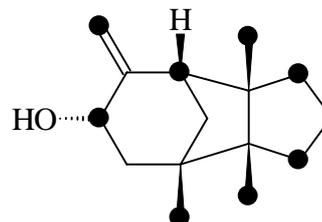
¹³C-NMR (125.7 MHz, C₆D₆): δ (ppm, rel. Int.) 23.8 (1.00, C-13), 25.3 (2.21, C-9), 26.1 (1.06, C-14), 27.7 (1.09, C-12), 37.2 (2.12, C-1), 38.1 (1.01, C-8), 38.7 (0.97, C-10), 41.8 (2.21, C-5), 45.3 (0.81, C-6), 53.7 (1.79, C-7), 54.0 (0.99, C-2), 55.1 (2.12, C-11), 66.4 (1.01, C-4), 109.3 (1.01, C-15), 151.9 (2.68, C-3).

**Durch 2-¹³C-Glucose markiertes Gymnomitran-4-on (46b) aus *R. hemisphaerica***

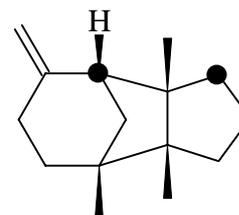
¹³C-NMR (125.7 MHz, C₆D₆): δ (ppm, rel. Int.) 14.4 (1.00, C-15), 22.5 (1.17, C-13), 23.3 (1.53, C-14), 28.1 (2.78, C-9), 28.4 (1.49, C-12), 35.8 (1.40, C-8), 38.4 (1.30, C-10), 46.7 (1.16, C-6), 47.6 (1.99, C-1), 50.7 (2.05, C-3), 51.1 (1.14, C-2), 54.7 (2.22, C-5), 55.7 (1.98, C-11), 56.2 (2.65, C-7), 210.5 (C-4).

**Durch 6,6-D₂-Glucose markiertes Gymnomitr-3(15)-en-4 α -ol (45c)**aus *R. hemisphaerica*

²D-NMR (30.7 MHz, C₆H₆): δ (ppm) 0.71 (D-13), 0.80 (D-14), 0.85 (D-12), 0.85 (D-8 β , verdeckt), 1.12 (D-10 α/β), 1.69 (D-8 α), 1.92 (D-10 α/β), 2.17 (D-2), 4.21 (D-4), 4.87 (D-15 α), 5.38 (D-15 β).

**Durch 4,4-D₂-Mevalolacton markiertes β -Barbaten (44c)**aus *B. trilobata*

²D-NMR (30.7 MHz, CHCl₃): δ (ppm) 1.14 (D-10 α/β), 1.67 (D-10 α/β), 2.14 (D-2).

**7.4. Chemischer Teil****7.4.1. Darstellung von Jasmonsäure**

1.12 g (5 mmol) Jasmonsäuremethylester und 1.00 g (17.5 mmol, 3.5 äq.) Kaliumhydroxid wurden in 5 ml Wasser und 10 ml Ethanol gelöst und vier Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde die Hauptmenge des Alkohols

abdestilliert und der Rückstand in wenig Wasser gelöst. Unter Kühlung wurde mit konzentrierter Salzsäure bis pH = 1 angesäuert.

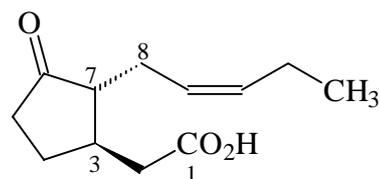
Die wäßrige Phase wurde fünfmal mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde mit einer wäßrigen Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert.

Es konnten 1.08 g (5 mmol) einer gelblichen, viskosen Flüssigkeit gewonnen werden. Die Ausbeute betrug 100%.

Jasmonsäure

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.95 (3H, *t*, *J* = 7.6 Hz, H-12), 1.45 – 1.59 (1H, *m*), 1.87 – 1.96 (1H, *m*), 1.99 – 2.09 (2H, *m*, H-11α, H-11β), 2.07 – 2.19 (1H, *m*), 2.24 – 2.45 (6H, *m*), 2.70 – 2.84 (1H, *m*, H-2α/β), 5.20 – 5.30 (1H, *m*, H-9), 5.40 – 5.51 (1H, *m*, H-10), 10.34 (1H, *bs*, OH);

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 14.1 (*q*, C-12), 20.5 (*t*, C-4), 25.4 (*t*, C-11/8), 27.1 (*t*, C-8/11), 37.7 (*t*, C-2), 37.7 (*d*, C-3), 38.7 (*t*, C-5), 53.8 (*d*, C-7), 124.8 (*d*, C-9/10), 134.2 (*d*, C-9/10), 178.1 (*s*, C-6), 219.0 (*s*, C-1).



7.4.2. Darstellung von 4,4-D₂-Mevalolacton –

Probesynthese mit unmarkierten Ausgangsverbindungen

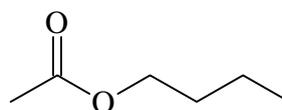
Darstellung von *n*-Butylacetat

In einem Kolben mit Wasserabscheider wurde ein Gemisch aus 2.0 ml (2.1 g, 0.035 mol, 1 äq.) Essigsäure, 2.9 ml (2.3 g, 0.031 mol, 0.9 äq.) *n*-Butanol, 63 mg (0.33 mmol, 1%) *para*-Toluolsulfonsäure und 10 ml Chloroform so lange zum Sieden erhitzt, bis sich die erwartete Menge an Wasser im Wasserabscheider gesammelt hatte. Die organische Phase wurde mit Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat- und gesättigter Natriumchlorid-Lösung ausgeschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Das Produkt konnte durch Destillation gereinigt werden.

Es konnten 3.5 g (0.030 mol) einer farblosen Flüssigkeit gewonnen werden. Die Ausbeute betrug 96%.

n-Butylacetat

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.87 (3H, *t*, *J* = 7.0 Hz, H-δ), 1.31 (2H, *sext*, *J* = 7.0 Hz, H-γ), 1.53 (2H, *quin*, *J* = 7.0 Hz, H-β), 1.97 (3H, *s*, H-2), 4.00 (2H, *t*, *J* = 7.0 Hz, H-α);



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 13.6 (*q*, C- δ), 19.0 (*t*, C- γ), 20.9 (*q*, C-2), 30.5 (*t*, C- β), 64.2 (*t*, C- α), 171.1 (*s*, C-1).

**Darstellung von Ethyl-(3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat
(Mevaldinsäureethylesterdimethylacetal)**

8.2 ml (5.9 g, 0.058 mol, 1.3 äq.) absolutes Diisopropylamin wurden bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre mit 37.8 ml (0.057 mol, 1.3 äq.) einer 1.50 M *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan tropfenweise versetzt. Die zähe Masse wurde 15 Minuten lang gerührt, anschließend in 120 ml absolutem Tetrahydrofuran gelöst und mittels Kryostat auf -90 bis -95°C abgekühlt.

Es wurden 5.9 ml (5.3 g, 0.059 mol, 1.3 äq.) Ethylacetat über 15 Minuten hinzugegossen und anschließend wurde 30 Minuten bei -90 bis -95°C gerührt. Nach Erwärmen auf -80°C und 20 Minuten Rühren bei dieser Temperatur wurden 5.8 ml (5.7 g, 0.043 mol, 1 äq.) Acetoacetaldehyd-1,1-dimethylacetal (3-Oxobutyaldehyddimethylacetal) hinzugegossen und 30 Minuten bei -80°C gerührt.

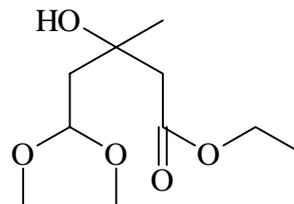
Anschließend wurden 80 ml gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung hinzugegossen, wobei das Wasser gefror. Das Kühlbad wurde entfernt und durch ein 40°C warmes Wasserbad ersetzt, bis das Eis geschmolzen war. Die organische und die wässrige Phase wurden voneinander getrennt und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Es wurden 9.0 g (0.041 mol) eines gelblichen Öls erhalten. Dies entsprach einer Ausbeute von 95%.

**Ethyl-(3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat
(Mevaldinsäureethylesterdimethylacetal)**

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1.28 (3H, *t*, $J = 7.1$ Hz, H- β), 1.30 (3H, *s*, H-3'), 1.91 (2H, *m*, H-4 α , H-4 β), 2.48 (1H, *d*, $J = 15.3$ Hz, H-2 α/β), 2.57 (1H, *d*, $J = 15.3$ Hz, H-2 α/β), 3.34 (3H, *s*, H-acetal), 3.35 (3H, *s*, H-acetal), 3.99 (1H, *s*, OH), 4.17 (2H, *q*, $J = 7.1$ Hz, H- α), 4.64 (1H, *t*, $J = 5.6$ Hz, H-5);

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 14.1 (*q*, C- β), 27.7 (*q*, C-3'), 43.1 (*t*, C-4/2), 45.5 (*t*, C-2/4), 52.9 (*q*, C-acetal), 53.0 (*q*, C-acetal), 60.4 (*t*, C- α), 69.5 (*s*, C-3), 102.3 (*d*, C-5), 172.2 (*s*, C-1).



**Darstellung von 3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol
(3,5-Dihydroxy-3-methylvaleraldehyddimethylacetal)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurde eine Lösung von 579 mg (2.63 mmol) Ethyl-(3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat in 2 ml absolutem Tetrahydrofuran zu

einer Suspension von 200 mg (5.26 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 10 ml absolutem Tetrahydrofuran getropft. Es trat leichte Erwärmung ein. Die Reaktionsmischung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Das Lithiumaluminiumhydrid war weitgehend aufgelöst.

Zur Zerstörung des überschüssigen Lithiumaluminiumhydrids wurde die Reaktionsmischung in einem Eisbad mit 1 ml Wasser, 1 ml 15%-iger Natronlauge und 3 ml Wasser in dieser Reihenfolge versetzt; dabei flockte Aluminiumhydroxid als weißer Niederschlag aus. Es wurde durch Filtration abgetrennt. Das Filtrat wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Es konnten 336 mg (1.89 mmol) eines leicht gelben Öls gewonnen werden. Die Ausbeute betrug 72%.

Darstellung von 3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol-1-acetat

(5-Acetoxy-3-hydroxy-3-methylvaleraldehyddimethylacetal)

336 mg (1.89 mmol) 3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol wurden unter Stickstoff in 3 ml absolutem Pyridin gelöst und bei 0°C mit 1.5 ml Acetanhydrid versetzt. Die Lösung wurde über Nacht zunächst bei 4°C und dann bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Zerstörung des überschüssigen Acetanhydrids wurden 2 g Eis hinzugefügt und anschließend eine halbe Stunde bei 40°C gerührt.

Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt durch eine Kieselgelsäule mit Petrolether/Ethylacetat 2:1 als Laufmittel gereinigt.

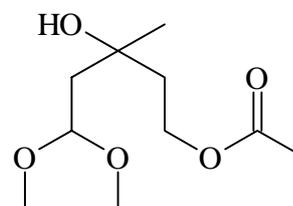
Es wurden 109 mg (0.50 mmol) eines schwach gelblichen Öls erhalten. Die Ausbeute betrug 26%.

3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol-1-acetat

(5-Acetoxy-3-hydroxy-3-methylvaleraldehyddimethylacetal)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.24 (3H, *s*, H-3'), 1.75 – 1.90 (4H, *m*, H-2α, H-2β, H-4α, H-4β), 2.05 (3H, *s*, H-acetat), 3.37 (3H *s*, H-acetal), 3.38 (3H, *s*, H-acetal), 4.23 (2H, *t* (*dd*), *J* = 7.1 Hz, H-1), 4.68 (1H, *t* (*dd*), *J* = 6.1 Hz, H-5);

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 21.1 (*q*, C-acetat), 27.3 (*q*, C-3'), 40.7 (*t*, C-2), 42.8 (*t*, C-4), 52.9 (*q*, C-acetal), 53.2 (*q*, C-acetal), 61.1 (*t*, C-1), 69.9 (*s*, C-3), 102.5 (*d*, C-5), 171.2 (*s*, C-acetat).



Darstellung von Mevalolacton

109 mg (0.50 mmol) 3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol-1-acetat wurden mit 0.48 ml Ameisensäure, 0.24 ml (2.35 mmol, 4 äq.) 30%-igem Wasserstoffperoxid und

0.48 ml 1%-iger Schwefelsäure versetzt. Die sich entfärbende Lösung wurde eine Stunde unter Rückfluß gekocht.

Nach dem Abkühlen wurde mit 24 mg (2.42 mmol) Kaliumcarbonat versetzt und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und filtriert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt durch eine Kieselgelsäule mit Petrolether/Ethylacetat 1:3 als Laufmittel gereinigt.

Es konnten 6.7 mg (0.06 mmol) Mevalolacton gewonnen werden. Die Ausbeute betrug 11%.

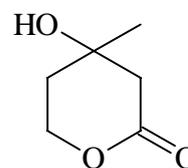
Mevalolacton

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ (ppm) 1.36 (3H, *s*, H-3'), 1.87 (1H, *m*, H-4α/β), 2.01 (1H, *ddd*, *J* = 5.6, 10.7, 14.2 Hz, H-4α/β), 2.20 (1H, *s*, OH), 2.57 (1H, *dd*, *J* = 2.0, 17.2 Hz, H-2α/β), 2.63 (1H, *d*, *J* = 17.2 Hz, H-2α/β), 4.40 (1H, *ddd*, *J* = 4.0, 5.6, 11.2 Hz, H-5α/β), 4.59 (1H, *ddd*, *J* = 4.1, 11.2 Hz, H-5α/β);

¹³C-NMR (100.6 MHz, CD₃OD): δ (ppm) 29.7 (*q*, C-3'), 36.8 (*t*, C-4), 45.4 (*t*, C-2), 67.9 (*t*, C-5), 68.8 (*s*, C-3), 174.0 (*s*, C-1);

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.39 (3H, *s*, H-3'), 1.92 (2H, *m*, H-4α, H-4β), 2.52 (1H, *dd*, *J* = 4.6, 17.2 Hz, H-2α/β), 2.60 (1H, *s*, OH), 2.68 (1H, *dd*, *J* = 2.6, 17.2 Hz, H-2α/β), 4.36 (1H, *m*, H-5α/β), 4.62 (1H, *m*, H-5α/β);

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 29.6 (*q*, C-3'), 35.8 (*t*, C-4), 44.7 (*t*, C-2), 66.2 (*t*, C-5), 68.1 (*s*, C-3), 171.0 (*s*, C-1).



7.4.3. Darstellung von 4,4-D₂-Mevalolacton – Synthese mit markierten Ausgangsverbindungen

Darstellung von D₃-*n*-Butylacetat

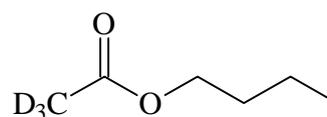
In einem Kolben mit Wasserabscheider wurde ein Gemisch aus 5.0 g (0.078 mol, 1 äq.) D₄-Essigsäure, 6.4 ml (5.2 g, 0.070 mol, 0.9 äq.) *n*-Butanol, 148 mg (0.78 mmol, 1%) *para*-Toluolsulfonsäure und 25 ml Chloroform so lange zum Sieden erhitzt, bis sich die erwartete Menge an Wasser im Wasserabscheider gesammelt hatte.

Die organische Phase wurde mit Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat- und gesättigter Natriumchlorid-Lösung ausgeschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Das Produkt konnte durch Destillation gereinigt werden.

Es konnten 7.7 g (0.064 mol) einer farblosen Flüssigkeit gewonnen werden. Die Ausbeute betrug 92%.

D₃-*n*-Butylacetat

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.87 (3H, *t*, *J* = 7.0 Hz, H-δ), 1.31 (2H, *sext*, *J* = 7.0 Hz, H-γ), 1.53 (2H, *quin*, *J* = 7.0 Hz, H-β), 4.00 (2H, *t*, *J* = 7.0 Hz, H-α);



¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 13.6 (*q*, C-δ), 19.0 (*sept*, C-γ), 20.9 (*q*, C-2), 30.5 (*t*, C-β), 64.2 (*t*, C-α), 171.1 (*s*, C-1);

¹H-NMR (400 MHz, D₃CCOCD₃): δ (ppm) 0.88 (3H, *t*, *J* = 7.0 Hz, H-δ), 1.35 (2H, *sext*, *J* = 7.0 Hz, H-γ), 1.56 (2H, *quin*, *J* = 7.0 Hz, H-β), 4.01 (2H, *t*, *J* = 7.0 Hz, H-α).

Darstellung von *n*-Butyl-(2,2-D₂-3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat (2,2-D₂-Mevaldinsäure-*n*-butylesterdimethylacetal)

9.0 ml (6.5 g, 0.064 mol, 1.3 äq.) absolutes Diisopropylamin wurden bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre mit 40.0 ml (0.064 mol, 1.3 äq.) einer 1.60 M *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan tropfenweise versetzt. Die zähe Masse wurde 15 Minuten lang gerührt, anschließend in 120 ml absolutem Tetrahydrofuran gelöst und mittels Kryostat auf –90 bis –95°C abgekühlt.

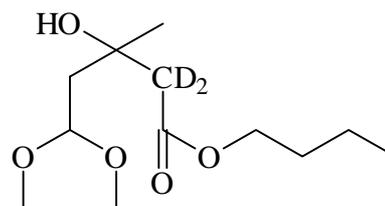
Es wurden 7.7 g (0.064 mol, 1.3 äq.) D₃-*n*-Butylacetat über 15 Minuten hinzuge tropft und anschließend wurde 30 Minuten bei –90 bis –95°C gerührt. Nach Erwärmen auf –80°C und 20 Minuten Rühren bei dieser Temperatur wurden 6.6 ml (6.5 g, 0.049 mol, 1 äq.) Acetoacetaldehyd-1,1-dimethylacetal (3-Oxobutyraldehyddimethylacetal) hinzuge tropft und 30 Minuten bei –80°C gerührt.

Anschließend wurden 100 ml gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung hinzuge tropft, wobei das Wasser gefror. Das Kühlbad wurde entfernt und durch ein 40°C warmes Wasserbad ersetzt, bis das Eis geschmolzen war. Die organische und die wäßrige Phase wurden voneinander getrennt und die wäßrige Phase mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Es wurden 12.3 g (0.049 mol) eines gelblichen Öls erhalten. Dies entsprach einer Ausbeute von 100%.

***n*-Butyl-(2,2-D₂-3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat (2,2-D₂-Mevaldinsäure-*n*-butylesterdimethylacetal)**

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.94 (3H, *t*, *J* = 7.1 Hz, H-δ), 1.30 (3H, *s*, H-3'), 1.39 (2H, *sext*, *J* = 7.1 Hz, H-γ), 1.63 (2H, *quin*, *J* = 7.1 Hz, H-β), 1.91 (2H, *t*, *J* = 5.3 Hz, H-4), 3.34 (3H, *s*, H-acetal), 3.35 (3H, *s*, H-acetal), 3.99 (1H, *s*, OH), 4.11 (1H, *t*, *J* = 7.1 Hz, H-α), 4.64 (1H, *t*, *J* = 5.3 Hz, H-5);



^{13}C -NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 13.7 (*q*, C- δ), 19.2 (*t*, C- γ), 27.7 (*q*, C-3'), 30.6 (*t*, C- β), 43.1 (*t*, C-4), 45.1 (*quin*, C-2), 52.9 (*q*, C-acetal), 53.1 (*q*, C-acetal), 64.4 (*t*, C- α), 69.4 (*s*, C-3), 102.4 (*d*, C-5), 172.4 (*s*, C-1).

Darstellung von 2,2-D₂-3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol

(4,4-D₂-3,5-Dihydroxy-3-methylvaleraldehyddimethylacetal)

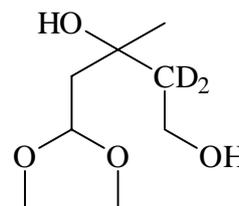
Unter Stickstoffatmosphäre wurde eine Lösung von 10.47 g (0.041 mol) *n*-Butyl-(2,2-D₂-3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat in 40 ml absolutem Tetrahydrofuran zu einer Suspension von 3.17 g (0.084 mol) Lithiumaluminiumhydrid in 320 ml absolutem Tetrahydrofuran getropft. Es trat leichte Erwärmung ein. Die Reaktionsmischung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Das Lithiumaluminiumhydrid war weitgehend aufgelöst.

Zur Zerstörung des überschüssigen Lithiumaluminiumhydrids wurde die Reaktionsmischung in einem Eisbad mit 20 ml Wasser, 20 ml 15%-iger Natronlauge und 60 ml Wasser in dieser Reihenfolge versetzt; dabei flockte Aluminiumhydroxid als weißer Niederschlag aus. Es wurde durch Filtration abgetrennt. Das Filtrat wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Es konnten 4.96 g (0.028 mol) eines leicht gelben Öls gewonnen werden. Die Ausbeute betrug 68%.

2,2-D₂-3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol

(4,4-D₂-3,5-Dihydroxy-3-methylvaleraldehyddimethylacetal)

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1.28 (3H, *s*, H-3'), 1.74 (1H, *dd*, $J = 5.1, 14.2$ Hz, H-4 α/β), 1.97 (1H, *dd*, $J = 7.1, 14.2$ Hz, H-4 α/β), 3.37 (3H, *s*, H-acetal), 3.39 (3H, *s*, H-acetal), 3.80 (1H, *d*, $J = 11.2$ Hz, H-1 α/β), 3.89 (1H, *d*, $J = 11.2$ Hz, H-1 α/β), 4.71 (1H, *dd*, $J = 5.1, 7.1$ Hz, H-5);



^{13}C -NMR (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27.0 (*q*, C-3'), 42.0 (*quin*, C-2), 43.0 (*t*, C-4), 52.9 (*q*, C-acetal), 53.4 (*q*, C-acetal), 59.3 (*t*, C-1), 72.0 (*s*, C-3), 102.5 (*d*, C-5).

Darstellung von 2,2-D₂-3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol-1-acetat

(4,4-D₂-5-Acetoxy-3-hydroxy-3-methylvaleraldehyddimethylacetal)

4.96 g (0.028 mol) 2,2-D₂-3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol wurden unter Stickstoff in 40 ml absolutem Pyridin gelöst und bei 0°C mit 40 ml Acetanhydrid versetzt. Die Lösung wurde über Nacht zunächst bei 4°C und dann bei Raumtemperatur gerührt. Zur Zerstörung des überschüssigen Acetanhydrids wurden 30 g Eis hinzugefügt und anschließend eine halbe Stunde bei 40°C gerührt.

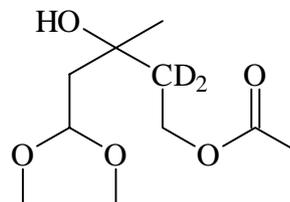
Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt.

Es wurden 4.88 g (0.022 mol) eines schwach gelblichen Öls erhalten. Die Ausbeute betrug 79%.

2,2-D₂-3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol-1-acetat

(4,4-D₂-5-Acetoxy-3-hydroxy-3-methylvaleraldehyddimethylacetal)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.24 (3H, *s*, H-3'), 1.78 (1H, *dd*, *J* = 5.3, 14.5 Hz, H-4α/β), 1.86 (1H, *dd*, *J* = 6.4, 14.5 Hz, H-4α/β), 2.05 (3H, *s*, H-acetat), 3.37 (3H, *s*, H-acetal), 3.38 (3H, *s*, H-acetal), 3.48 (1H, *bs*, OH), 4.23 (2H, *s*, H-1), 4.68 (1H, *t* (*dd*), *J* = 6.1 Hz, H-5);



¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 21.1 (*q*, C-acetat), 27.3 (*q*, C-3'), 40.0 (*quin*, C-2), 42.8 (*t*, C-4), 52.9 (*q*, C-acetal), 53.2 (*q*, C-acetal), 61.1 (*t*, C-1), 69.9 (*s*, C-3), 102.5 (*d*, C-5), 171.2 (*s*, C-acetat).

Darstellung von 4,4-D₂-Mevalolacton

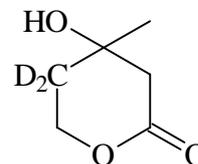
4.88 g (0.022 mol) 2,2-D₂-3-Methyl-5,5-dimethoxypentan-1,3-diol-1-acetat wurden mit 18.0 ml Ameisensäure, 9.0 ml (0.089 mol, 4 äq.) 30%-igem Wasserstoffperoxid und 18 ml 1%-iger Schwefelsäure versetzt. Die sich entfärbende Lösung wurde eine Stunde unter Rückfluß gekocht.

Nach dem Abkühlen wurde mit 892 mg (0.090 mol) Kaliumcarbonat versetzt und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und filtriert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt durch eine Kieselgelsäule mit Petrolether/Ethylacetat 1:3 als Laufmittel gereinigt.

Es konnten 1.42 g (0.012 mol) eines farblosen Öls gewonnen werden. Die Ausbeute betrug 54%.

4,4-D₂-Mevalolacton

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.39 (3H, *s*, H-3'), 2.51 (1H, *d*, *J* = 17.2 Hz, H-2α/β), 2.68 (1H, *d*, *J* = 17.2 Hz, H-2α/β), 3.10 (1H, *s*, OH), 4.36 (1H, *d*, *J* = 11.2 Hz, H-5α/β), 4.62 (1H, *d*, *J* = 11.2 Hz, H-5α/β);



¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 29.6 (*q*, C-3'), 35.0 (*quin*, C-4), 44.7 (*t*, C-2), 66.2 (*t*, C-5), 68.1 (*s*, C-3), 171.0 (*s*, C-1).

7.4.4. Darstellung von 2,2-D₂-Mevalolacton – Probesynthese mit unmarkierten Ausgangsverbindungen

Darstellung von 3-Hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxypentan-1-carbonsäure- Bariumsalz (Mevaldinsäuredimethylacetal-Bariumsalz)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden bei 40-50°C 2.25 g (7 mmol) Bariumhydroxid-Octahydrat in 35 ml entgastem, reinem Wasser gelöst. Es wurden zügig 2.00 g (8 mmol) Ethyl-(3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat eingetragen. Die orange, leicht trübe Lösung wurde drei Stunden bei 50°C gerührt.

Anschließend wurde eine Spatelspitze Aktivkohle hinzugegeben und 5 Minuten gerührt. Durch vorsichtige Zugabe von Trockeneis wurde überschüssiges Bariumhydroxid als Bariumcarbonat gefällt und durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde eingeengt und im Exsikkator über Calciumchlorid getrocknet. Der Feststoff konnte aus Ethanol umkristallisiert oder als Rohprodukt eingesetzt werden.

Es wurden 1.83 g (3.5 mmol) eines weißen Feststoffes gewonnen. Dies entsprach einer Ausbeute von 88%.

Darstellung von Mevalolacton

884.9 mg (1.70 mmol) des Bariumsalzes von 3-Hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxypentan-1-carbonsäure wurden in 3 ml Wasser gelöst und bei Raumtemperatur mit 4.3 ml 2.4 N Salzsäure in einer Portion versetzt. Die klare gelbe Lösung wurde 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde mit einem Eisbad gekühlt und bei 0°C durch Zugabe von 5.2 ml 2 N Natronlauge neutralisiert. Es lag eine Lösung der Mevaldinsäure vor.

Währenddessen wurden 2.5 ml Wasser mit einem Eisbad gekühlt und bei 0°C 64.4 mg (170.0 mmol) Natriumborhydrid hinzugefügt. Es wurde 5 Minuten bei 0°C gerührt, bis eine klare Lösung vorlag.

Nun wurde bei 0°C die kalte Lösung der Mevaldinsäure in die Lösung von Natriumborhydrid zügig eingetragen. Nach Erwärmen wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde wieder auf 0°C abgekühlt und vorsichtig mit 1.7 ml 5 N Salzsäure versetzt, um das überschüssige Natriumborhydrid zu zerstören. Die klare, leicht gelbliche Lösung wurde mit Natriumchlorid gesättigt und kontinuierlich in einer Kutscher-Steudel-Apparatur für 30 Stunden extrahiert. Der leicht gelbliche Diethylether-Extrakt wurde am Rotationsverdampfer eingeengt. Das Rohprodukt wurde durch eine Kieselgelsäule mit Petrolether/Ethylacetat 1:3 als Laufmittel gereinigt.

Es konnten 49.6 mg (0.42 mmol) eines farblosen Öls gewonnen werden. Damit betrug die Ausbeute 22%.

7.4.5. Darstellung von 2,2-D₂-Mevalolacton – Synthese mit markierten Ausgangsverbindungen

Darstellung von 2,2-D₂-3-Hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxypentan-1-carbonsäure-Bariumsalz (2,2-D₂-Mevaldinsäuredimethylacetal-Bariumsalz)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden bei 40-50°C 13.8 g (0.044 mol) Bariumhydroxid-Octahydrat in 250 ml entgastem, reinem Wasser gelöst. Es wurden zügig 12.3 g (0.049 mol) *n*-Butyl-(2,2-D₂-3-hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxy)-pentanoat eingetragen. Die orange, leicht trübe Lösung wurde drei Stunden bei 50°C gerührt.

Anschließend wurden sechs Spatelspitzen Aktivkohle hinzugegeben und 5 Minuten gerührt. Durch vorsichtige Zugabe von Trockeneis wurde überschüssiges Bariumhydroxid als Bariumcarbonat gefällt und durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde eingengt und im Exsikkator über Calciumchlorid getrocknet.

Es wurden 11.5 g (0.022 mol) eines weißen Feststoffes gewonnen. Dies entsprach einer Ausbeute von 88%.

Darstellung von 2,2-D₂-Mevalolacton

11.53 g (0.022 mol) des Bariumsalzes von 2,2-D₂-3-Hydroxy-3-methyl-5,5-dimethoxypentan-1-carbonsäure wurden in 50 ml Wasser gelöst und bei Raumtemperatur mit 63 ml 2.4 N Salzsäure in einer Portion versetzt. Die klare gelbe Lösung wurde 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde mit einem Eisbad gekühlt und bei 0°C durch Zugabe von 77 ml 2 N Natronlauge neutralisiert. Es lag eine Lösung der 2,2-D₂-Mevaldinsäure vor.

Währenddessen wurden 50 ml Wasser mit einem Eisbad gekühlt und bei 0°C 0.95 g (0.025 mol) Natriumborhydrid hinzugefügt. Es wurde 5 Minuten bei 0°C gerührt, bis eine klare Lösung vorlag.

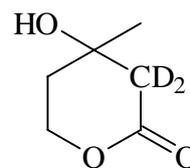
Nun wurde bei 0°C die kalte Lösung der 2,2-D₂-Mevaldinsäure in die Lösung von Natriumborhydrid zügig eingetragen. Nach Erwärmen wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde wieder auf 0°C abgekühlt und vorsichtig mit 25 ml 5 N Salzsäure versetzt, um das überschüssige Natriumborhydrid zu zerstören. Die klare, leicht gelbliche Lösung wurde mit Natriumchlorid gesättigt und kontinuierlich in einer Kutscher-Steudel-Apparatur für 72 Stunden extrahiert. Der leicht gelbliche Diethylether-Extrakt wurde am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde durch eine Kieselgelsäule mit Petrolether/Ethylacetat 1:3 als Laufmittel gereinigt.

Es konnten 0.44 g (3.6 mmol) eines farblosen Öls gewonnen werden. Damit betrug die Ausbeute 16%.

2,2-D₂-Mevalolacton

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.39 (3H, *s*, H-3'), 1.92 (2H, *m*, H-4α, H-4β), 3.04 (1H, *s*, OH), 4.36 (1H, *m*, H-5α/β), 4.62 (1H, *m*, H-5α/β);

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 29.6 (*q*, C-3'), 35.8 (*t*, C-4), 44.0 (*quin*, C-2), 66.2 (*t*, C-5), 68.1 (*s*, C-3), 171.0 (*s*, C-1).

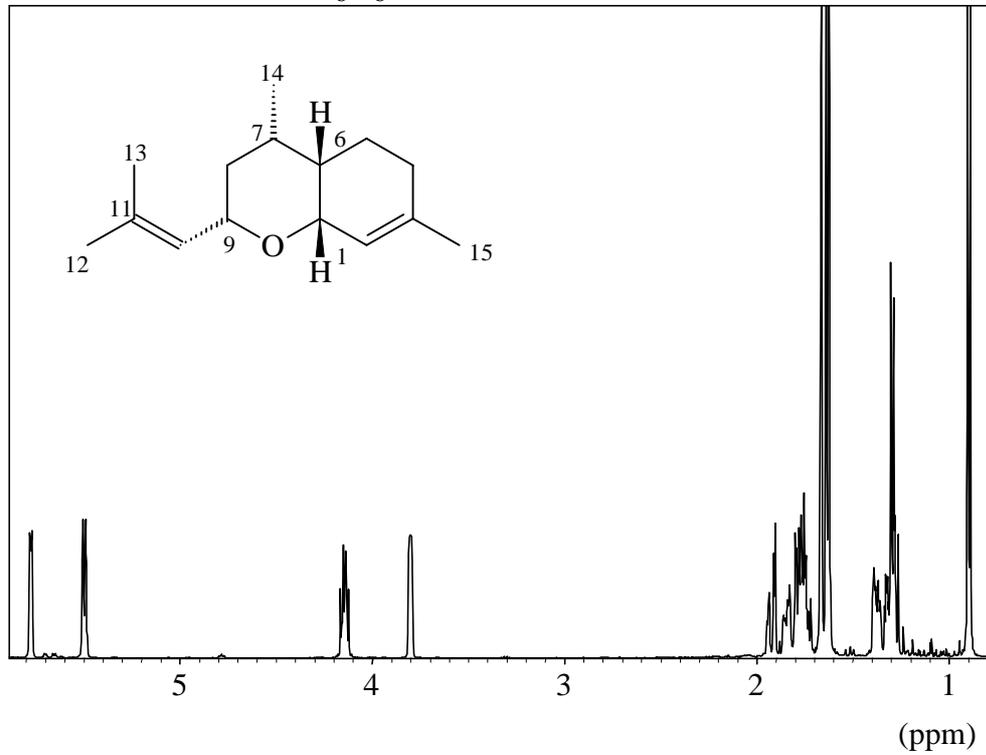


7.5. Gefahrstoffanhang

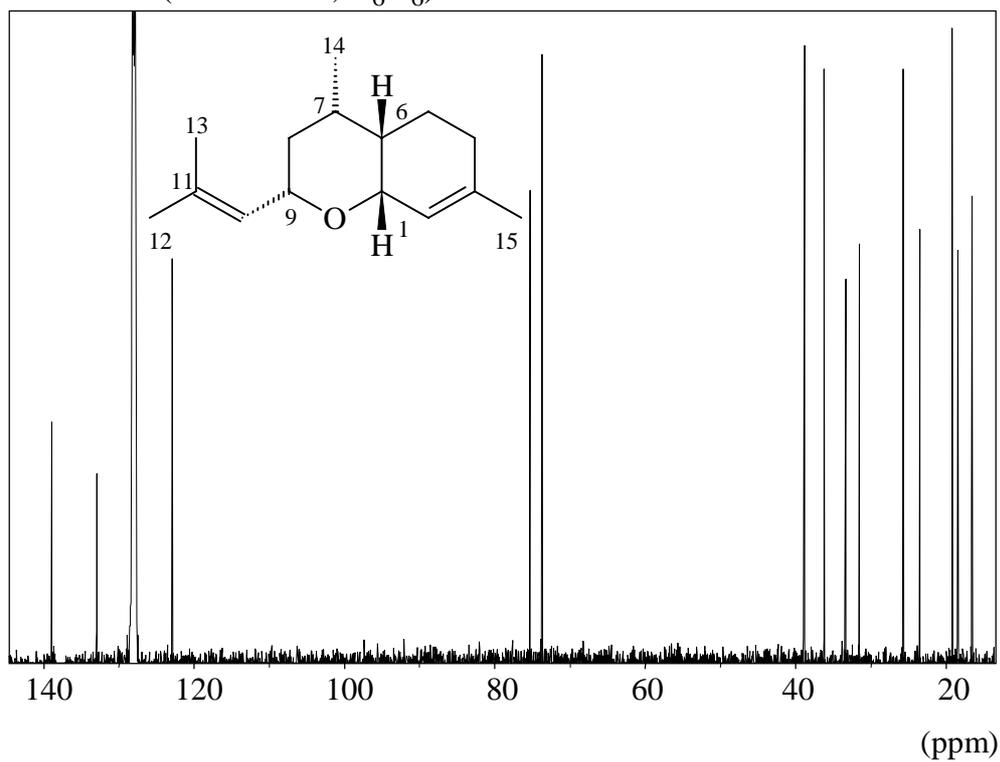
Chemikalie	Gefahrstoffsymbol	R- und S-Sätze
Acetanhydrid	C	R:10-34, S:26
Aluminium-(III)-chlorid	C	R:34, S:7/8-28.1
Ameisensäure	C	R:35, S:2-23.2-26
Ammoniumchlorid	Xn	R:22-36, S:22
Bariumcarbonat	Xn	R:20/22, S:28.1
Bariumhydroxid	C	R:20/22-34, S:26-28.1
Benzol	T, F	R:45.2-11-E23/24/25-48, S:53-16-29-44
<i>n</i> -Butanol	Xn	R:10-20, S:16
<i>n</i> -Butylacetat		R:10
<i>n</i> -Butyllithium	C, F+	R:12-15-20/21-34-40, S:9-16-26-29-33
Calciumhydrid	F	R:15, S:7/8-24/25-43.6
Calciumnitrat	Xi, O	R:8-36
Chloroform	Xn	R:47-20/22-38-40-48, S:53-36/37
Cobalt-(II)-chlorid	T	R:A45.3-22, S:53-24/25-44
Dichlormethan	Xn	R:40, S:23.2-24/25-36/37
Diethylether	F+	R:12-19, S:9-16-29-33
Diisopropylamin	Xi, F	R:11-36/37/38, S:9-16
Dinatriumdihydrogen-ethylendiamintetraacetat	Xn	R:22
Eisen-(II)-sulfat	Xn	R:22-41, S:26
Essigsäure	C	R:10-35, S:2-23.2-26
Ethanol	F	R:11, S:7-16
Ethylacetat	F	R:11, S:16-23.2-29-33
<i>n</i> -Hexan	Xn, F	R:11-20-48, S:9-16-24/25-29-51
Kalium	C, F	R:14/15-34, S:5-8-43.6
Kaliumcarbonat	Xn	R:22-36, S:22-26
Kaliumnitrat	O	R:8, S:16-41
Kupfer-(II)-sulfat	Xn	R:22
Lithiumaluminiumhydrid	F	R:15, S:7/8-24/25-43.6
Methanol	T, F	R:11-23/35, S:2-7-16-24
Natriumborhydrid	T, F	R:15.1-25-34, S:7/8-26-43.6-44
Natriumhydroxid	C	R:35, S:2-26-37/39
Natriumhypochlorit	C	R:31-34, S:2-28.1
Nickel-(II)-chlorid	T	R:A45.2-25-43, S:53-44
3-Oxobutyraldehyd-dimethylacetal		S:25
Pyridin	Xn, F	R:11-20/21/22, S:26-28.1
Salzsäure	C	R:34-37, S:2-26
Schwefelsäure	C	R:35, S:2-26-30
Tetrahydrofuran	Xi, F	R:11-19-36/37, S:16-29-33
Thionylchlorid	C	R:14-34-37, S:26
<i>para</i> -Toluolsulfonsäure	Xi	R:36/37/38, S:26-37
Wasserstoff	F	R:12, S:7/9
Wasserstoffperoxid	C	R:34, S:28.1-39
Zink-(II)-sulfat		S:25

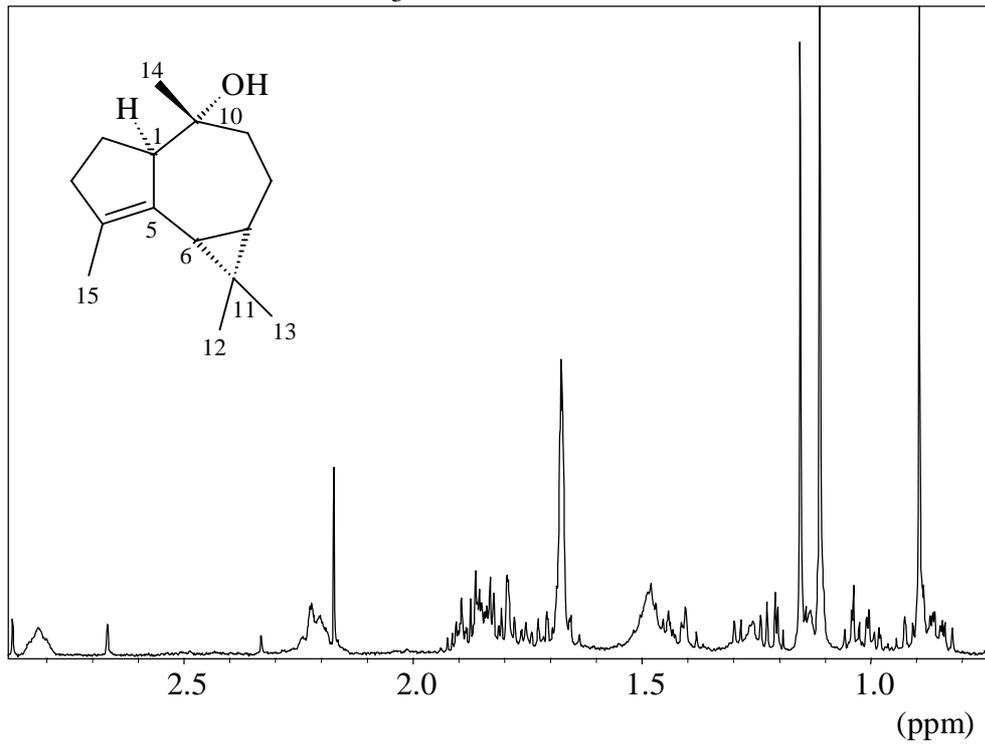
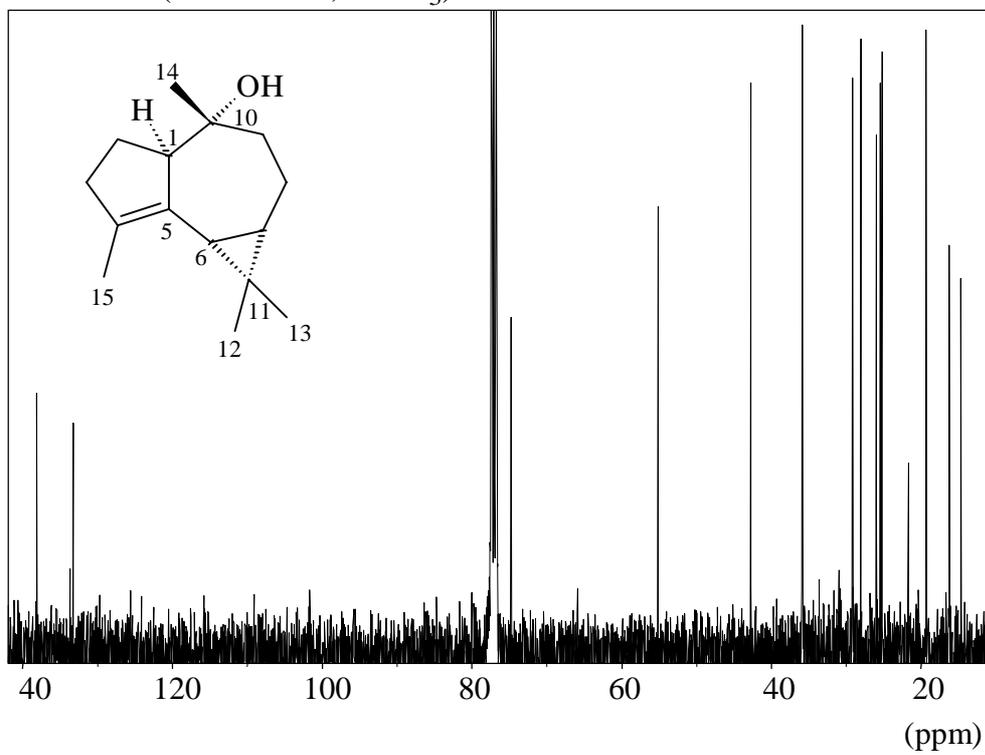
8. Spektrenanhang

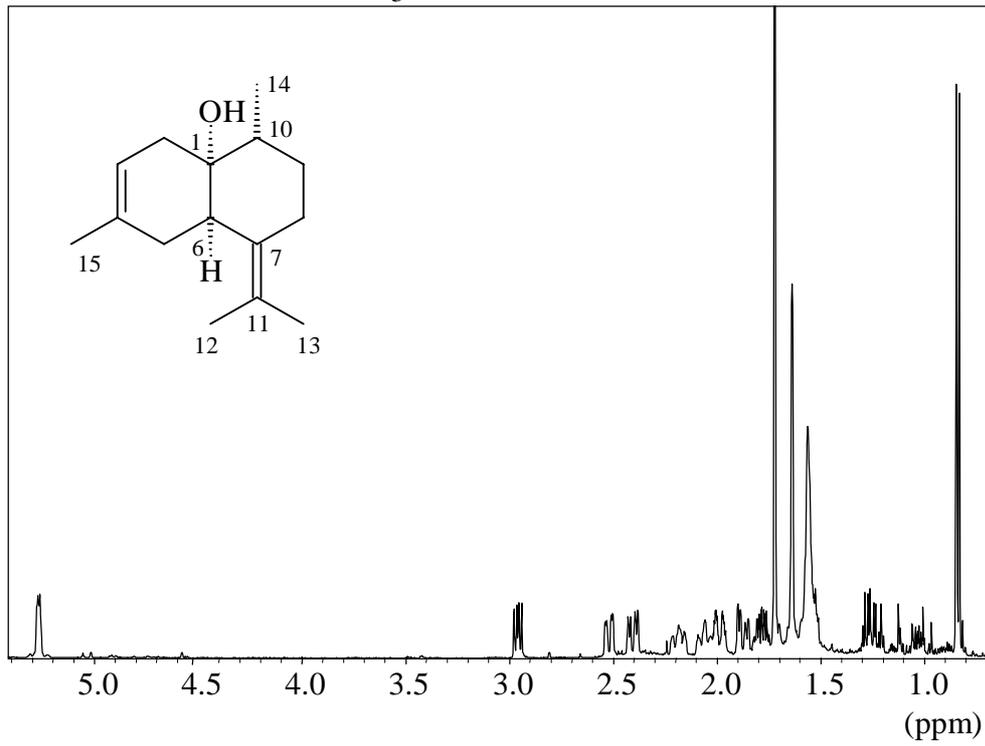
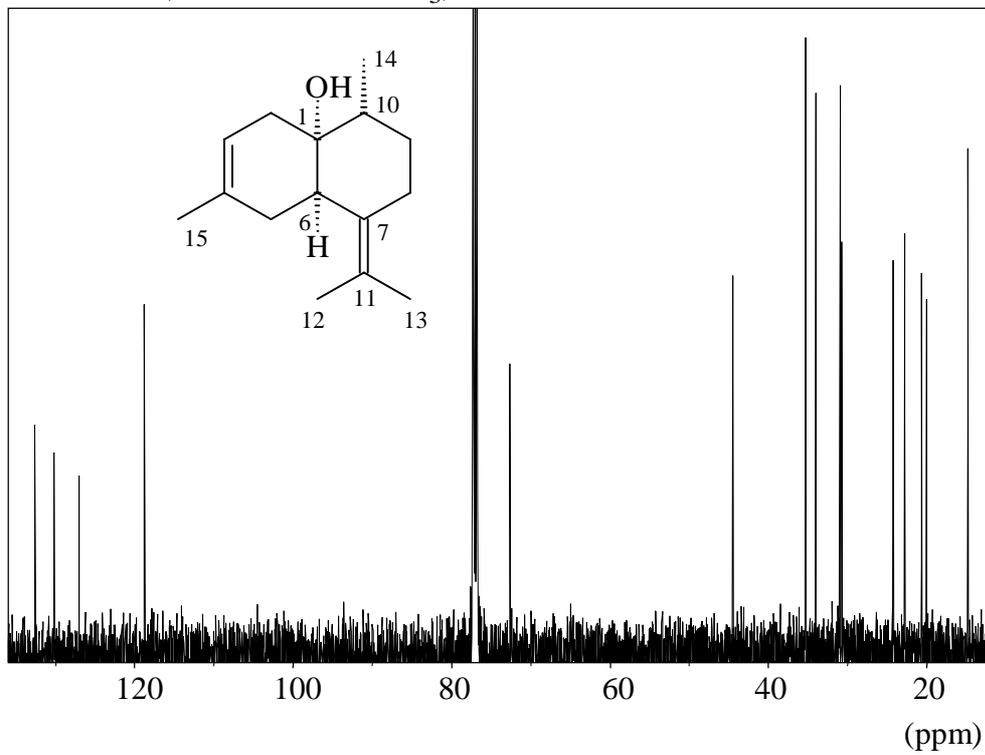
Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (1)

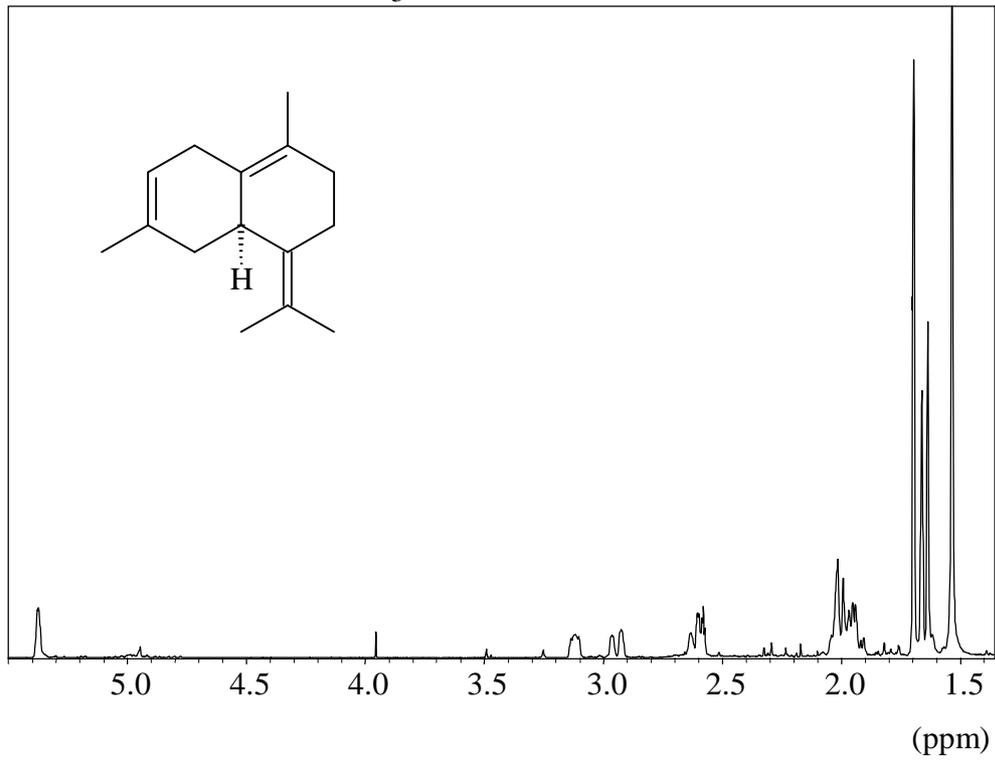
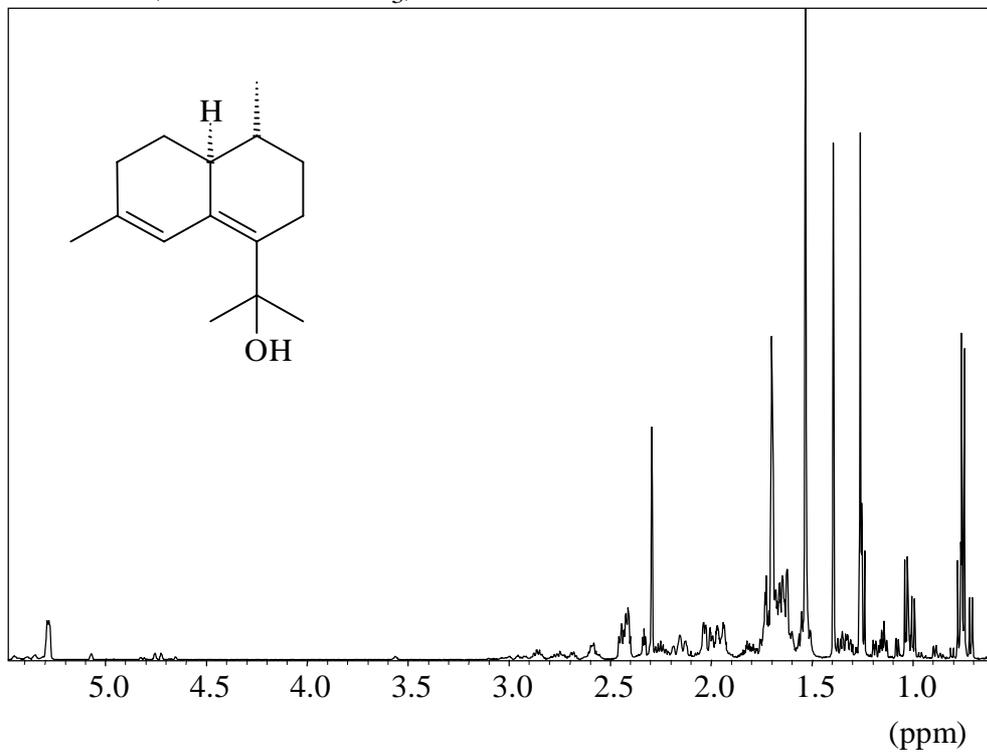
 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_6D_6)

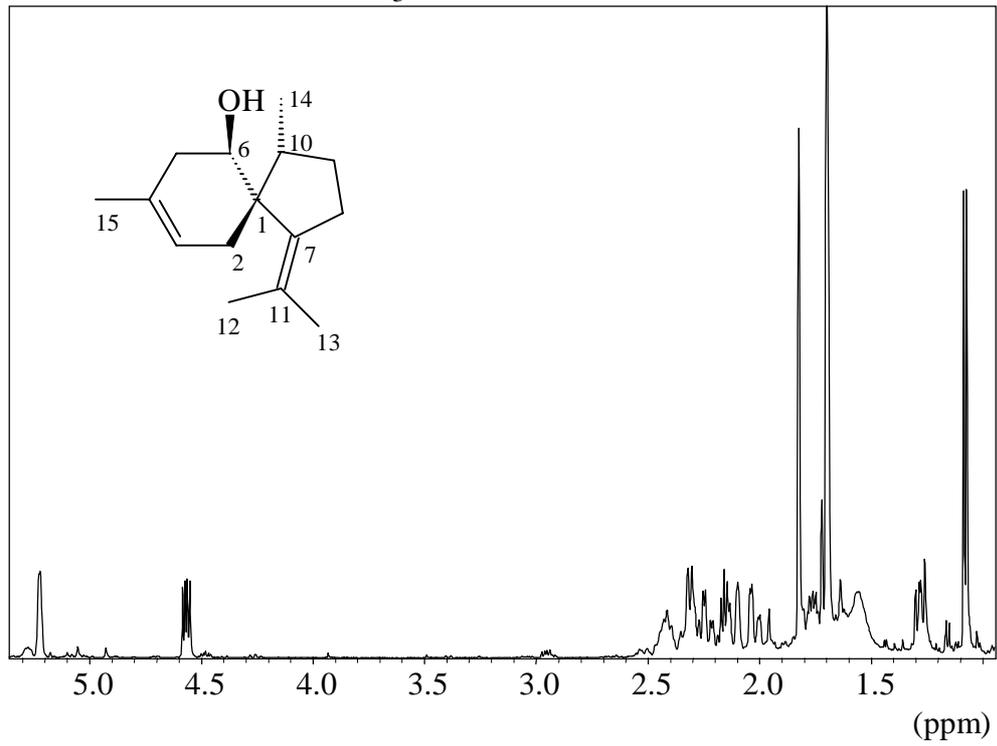
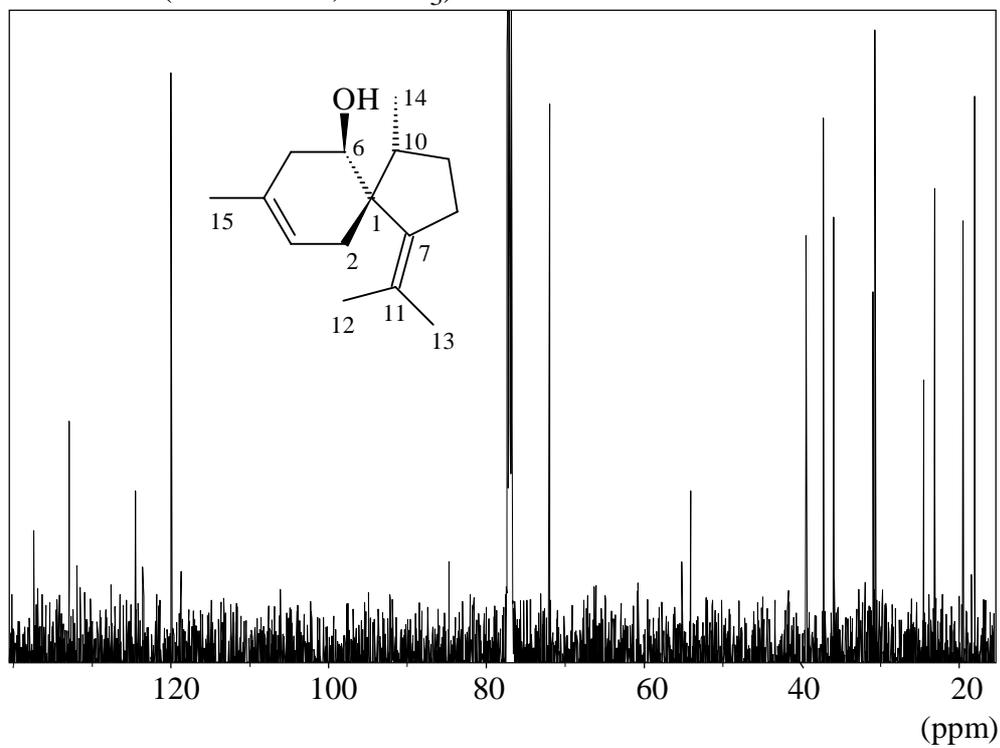
Bisabola-2,10-dien[1,9]oxid (1)

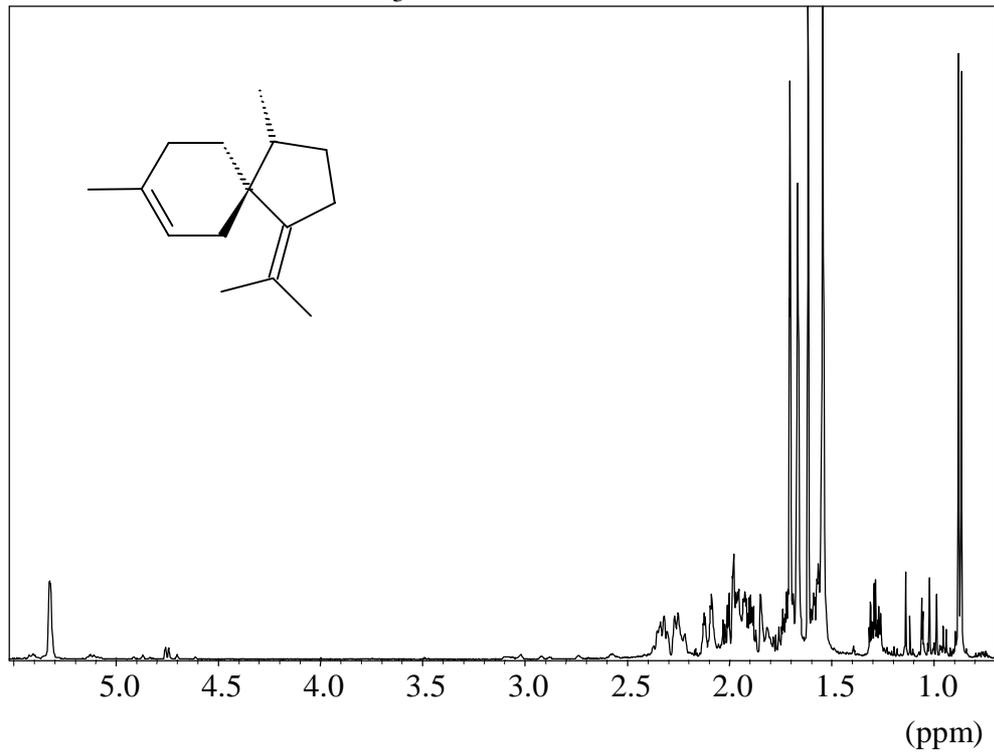
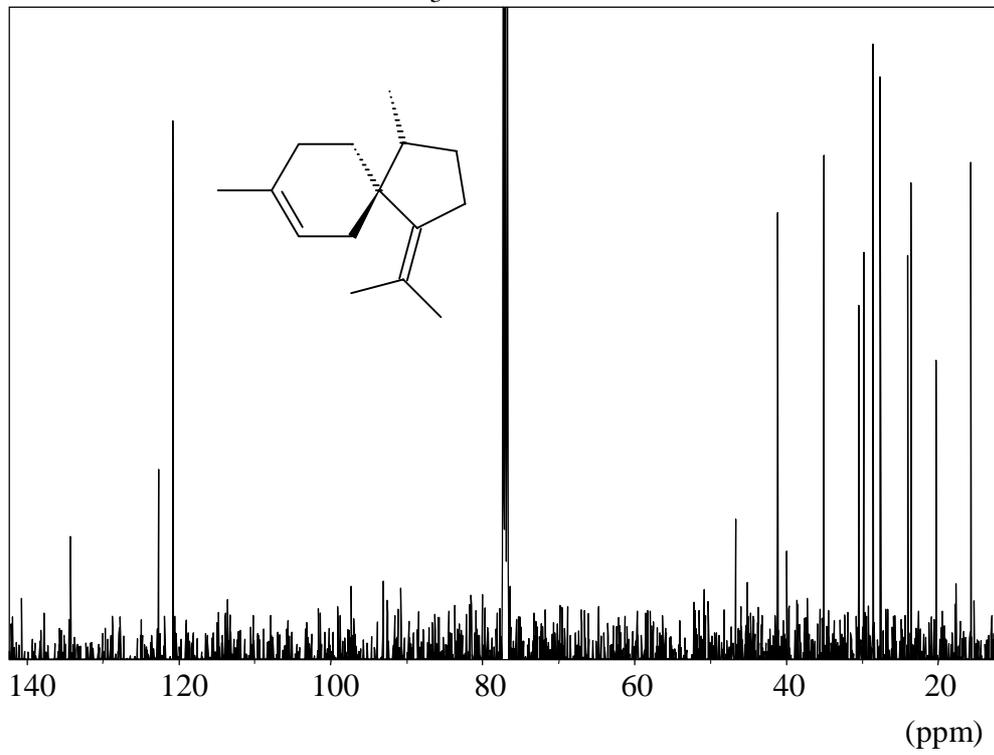
 $^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, C_6D_6)

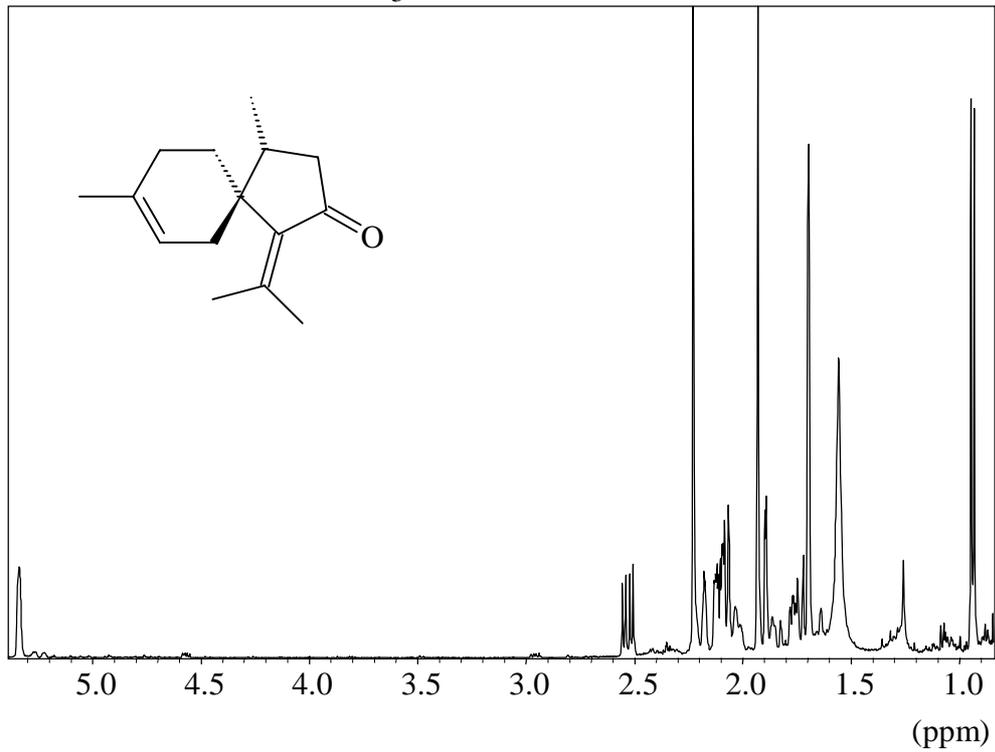
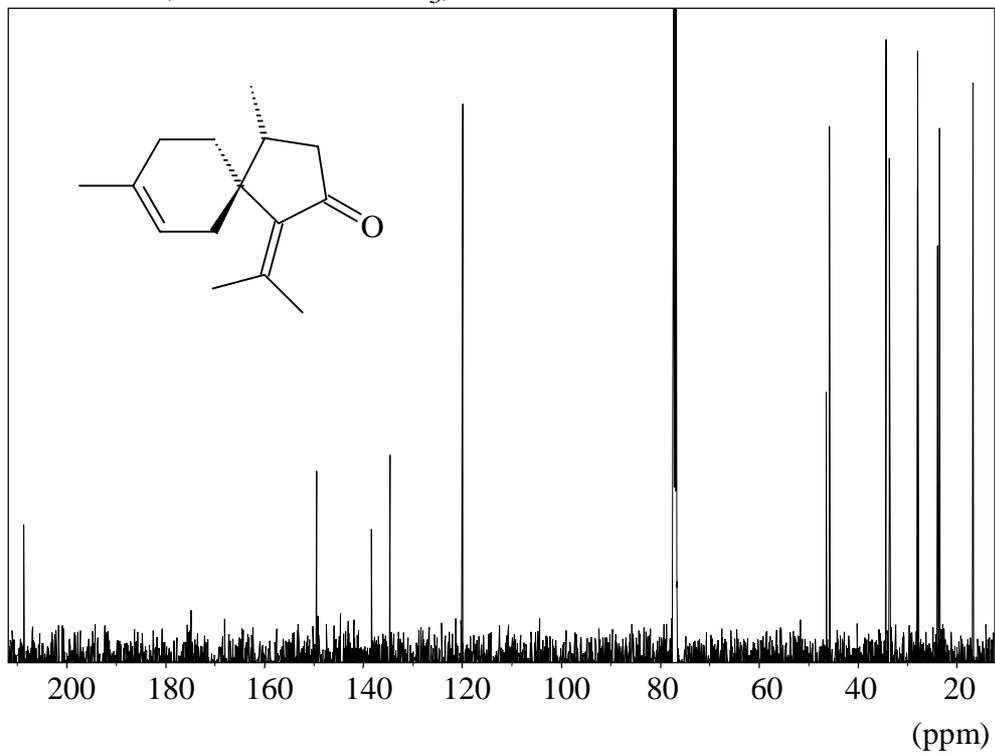
4,5-Dehydroviridiflorol (5) **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)****4,5-Dehydroviridiflorol (5)** **$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3)**

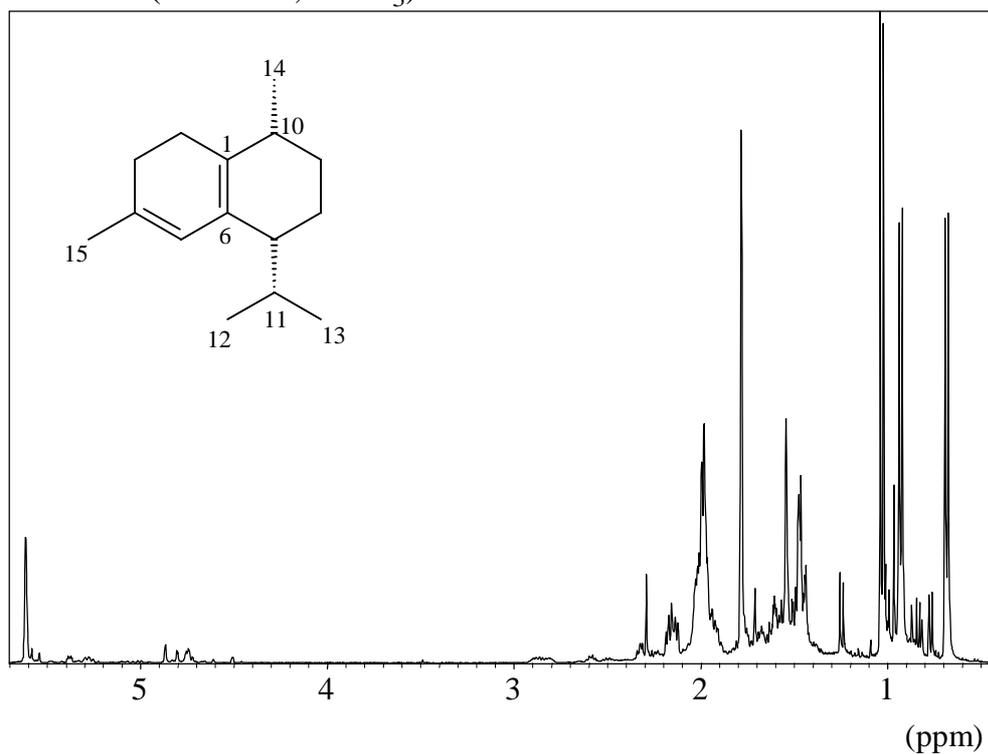
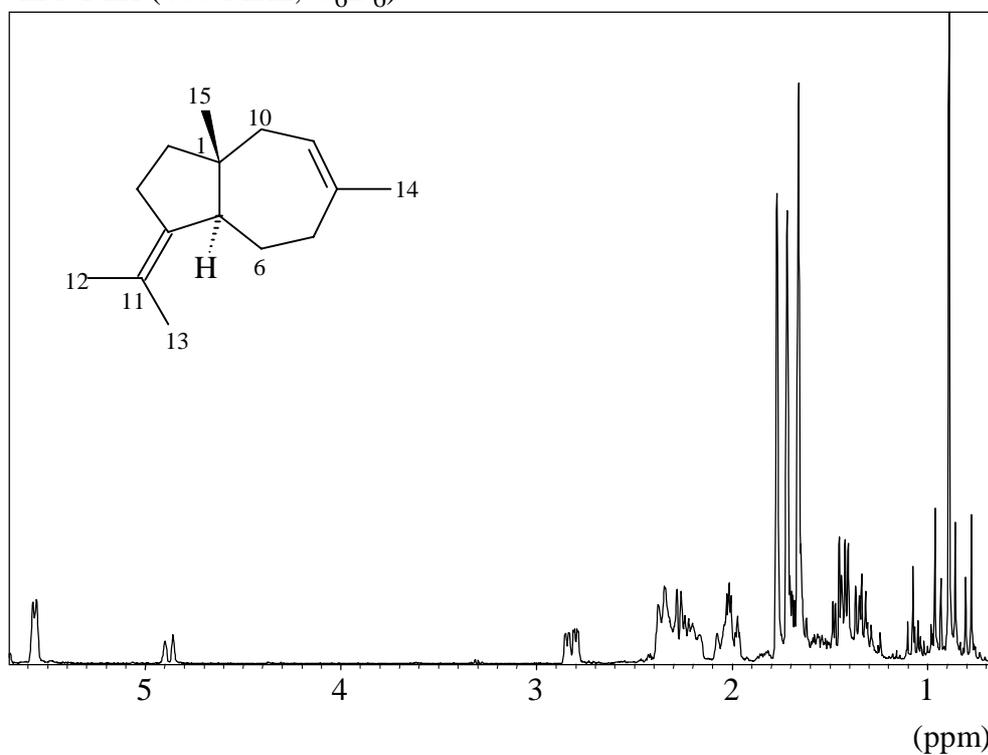
10 β (H)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (7) **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)****10 β (H)-Muurolo-3,7(11)-dien-1-ol (7)** **$^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, CDCl_3)**

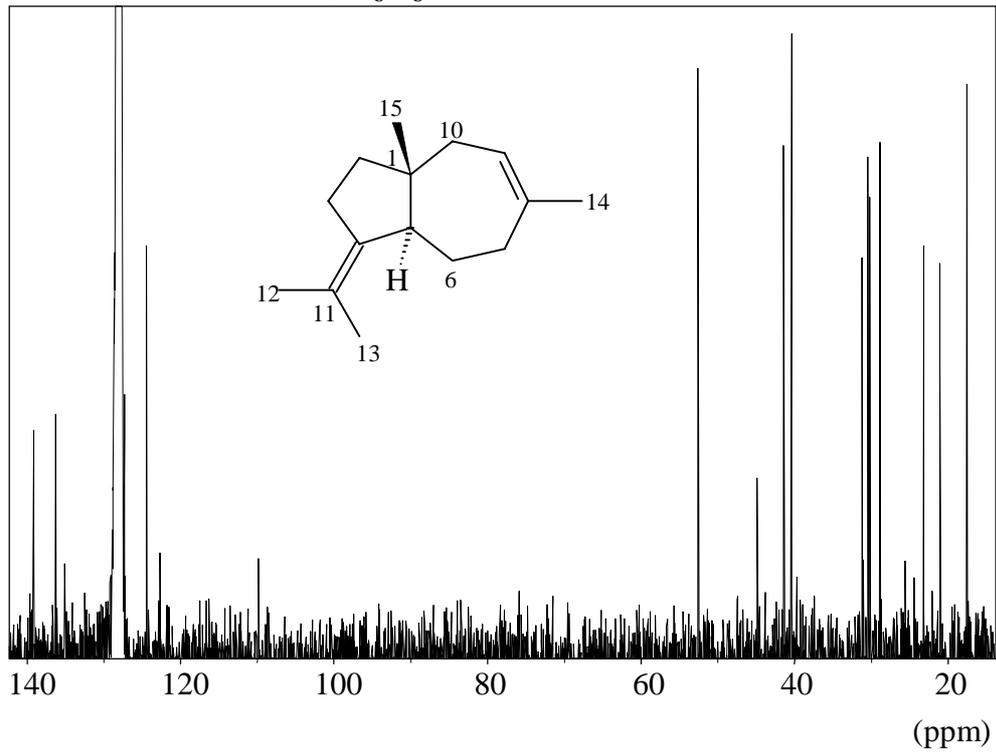
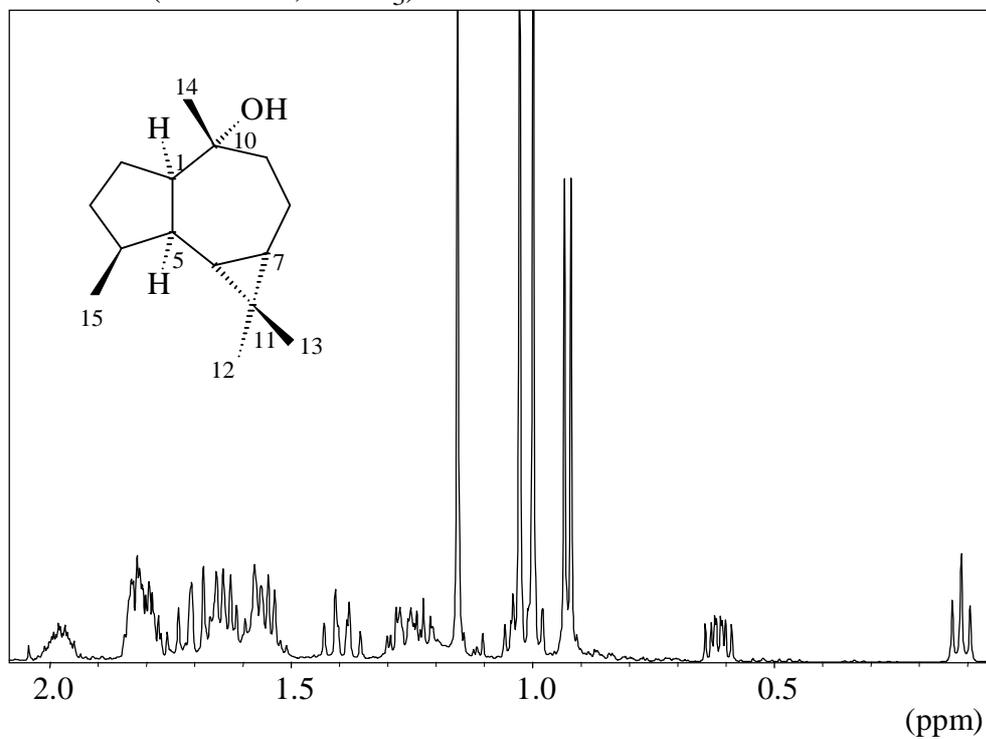
Cadina-1(10),3,7(11)-trien (8)**¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)*****cis*-Cadina-4,6-dien-11-ol (9)****¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃)**

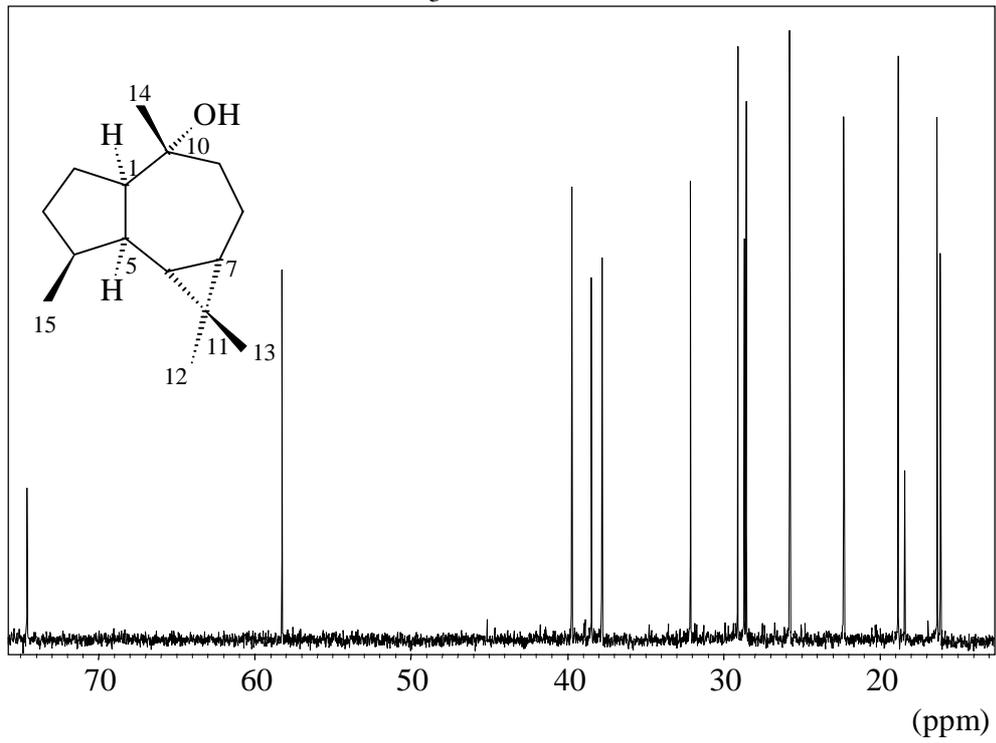
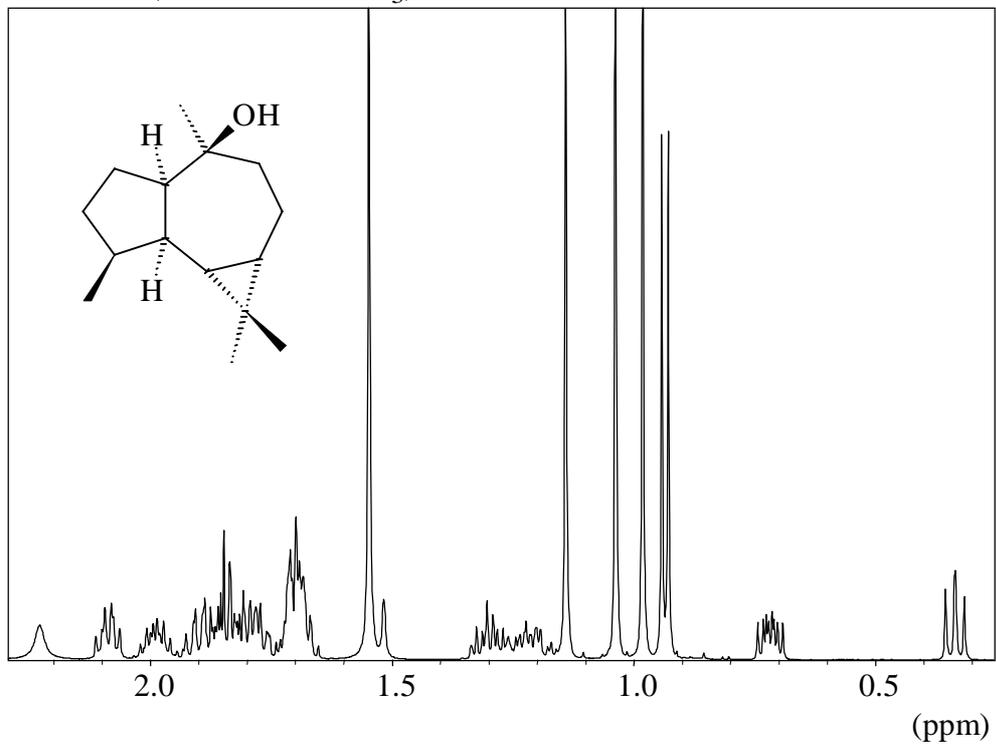
α -Alasken-6 β -ol (13) **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)** **α -Alasken-6 β -ol (13)** **$^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, CDCl_3)**

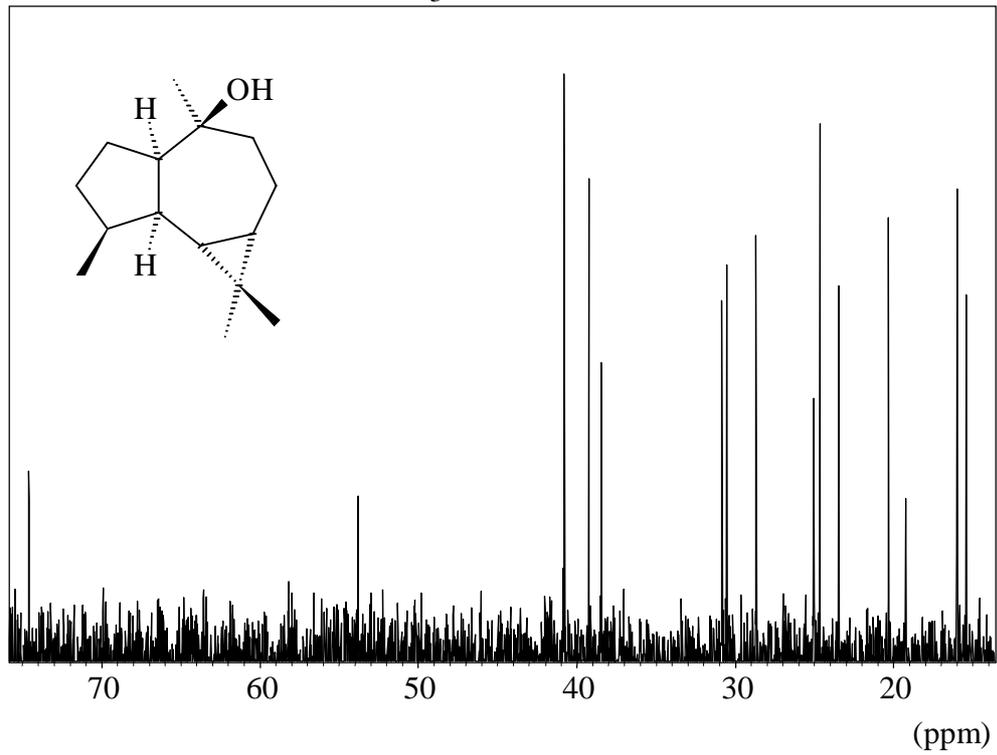
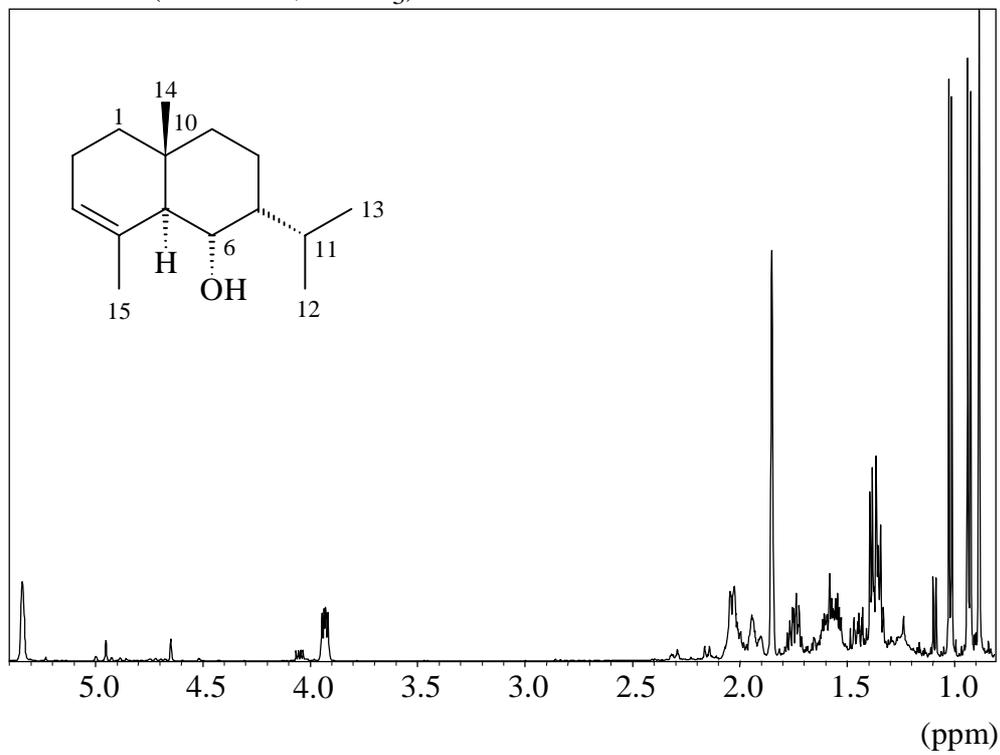
α -Alasken (14) **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)** **α -Alasken (14)** **$^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, CDCl_3)**

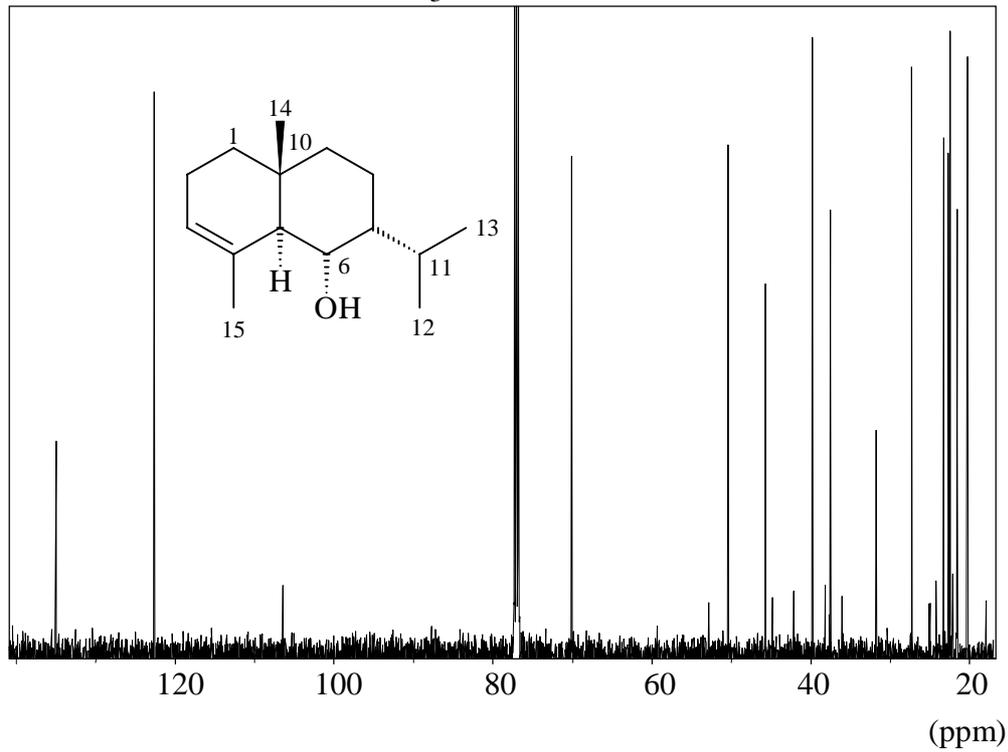
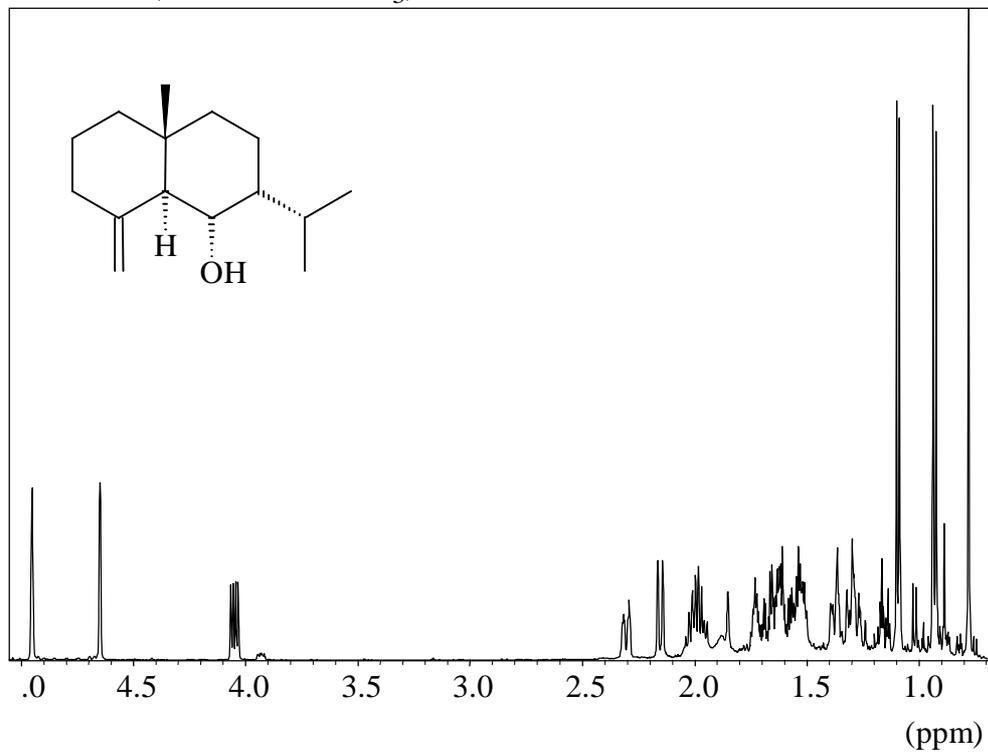
α -Alasken-8-on (16) **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)** **α -Alasken-8-on (16)** **$^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, CDCl_3)**

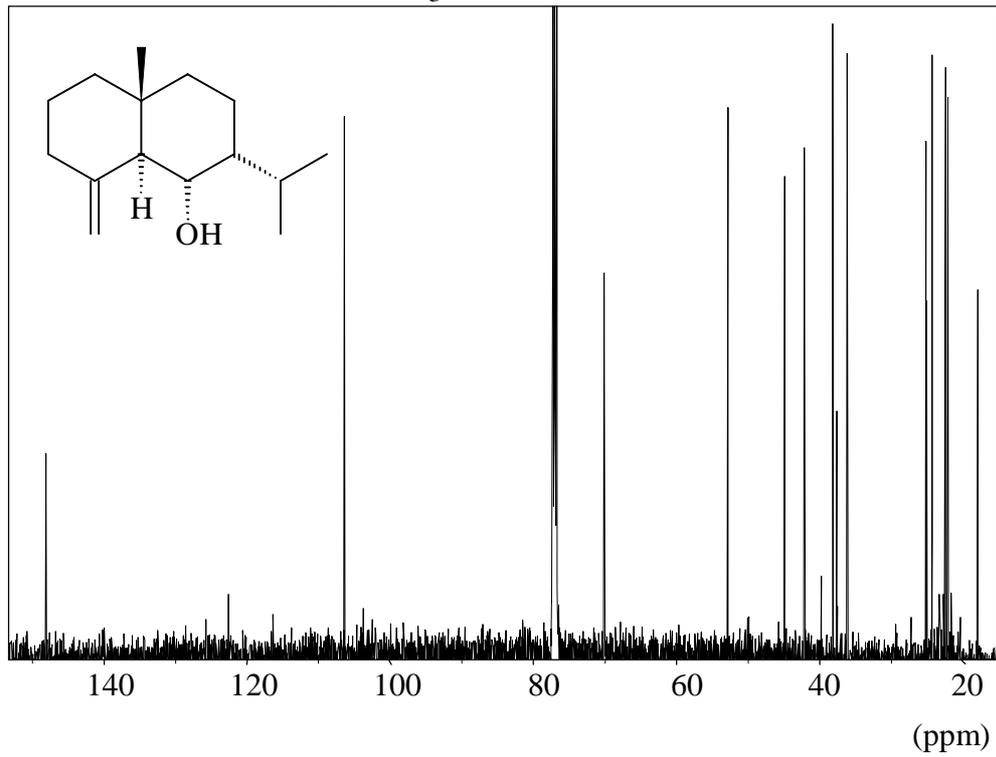
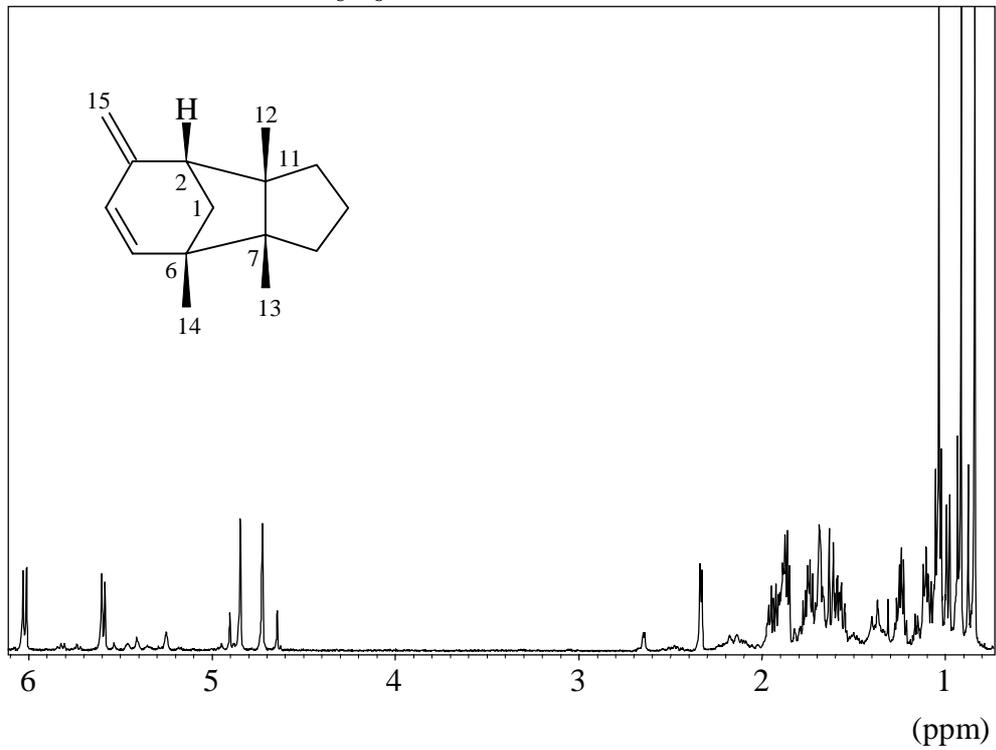
cis*-Cadena-1(6),4-dien (20)** **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3)**trans*-Dauca-4(11),8-dien (22)** **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6)**

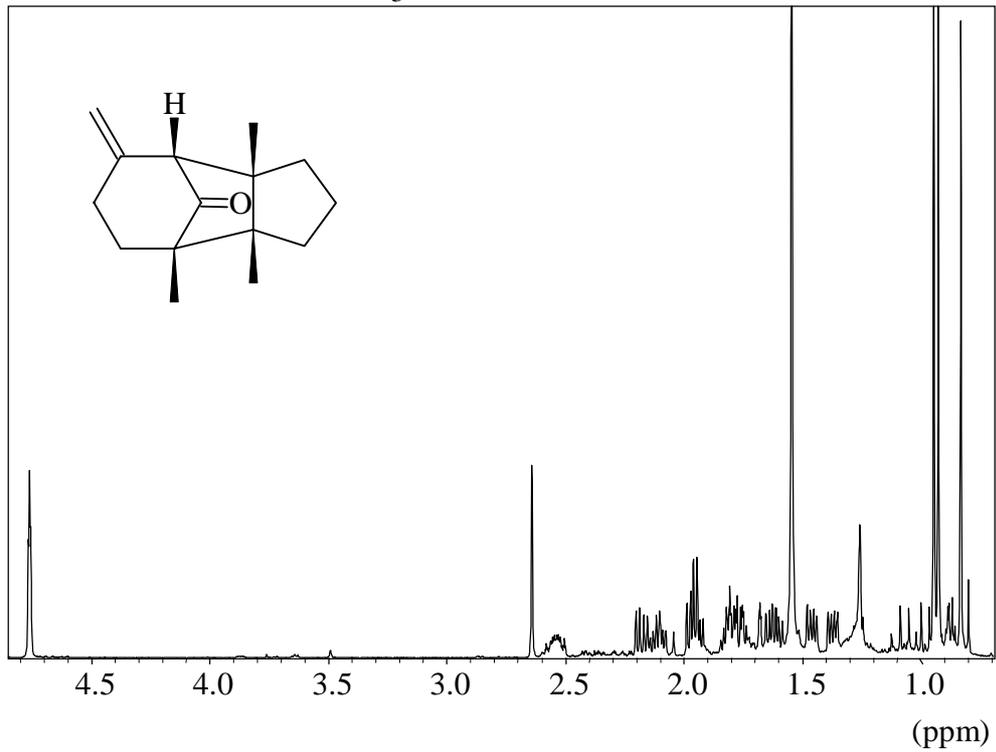
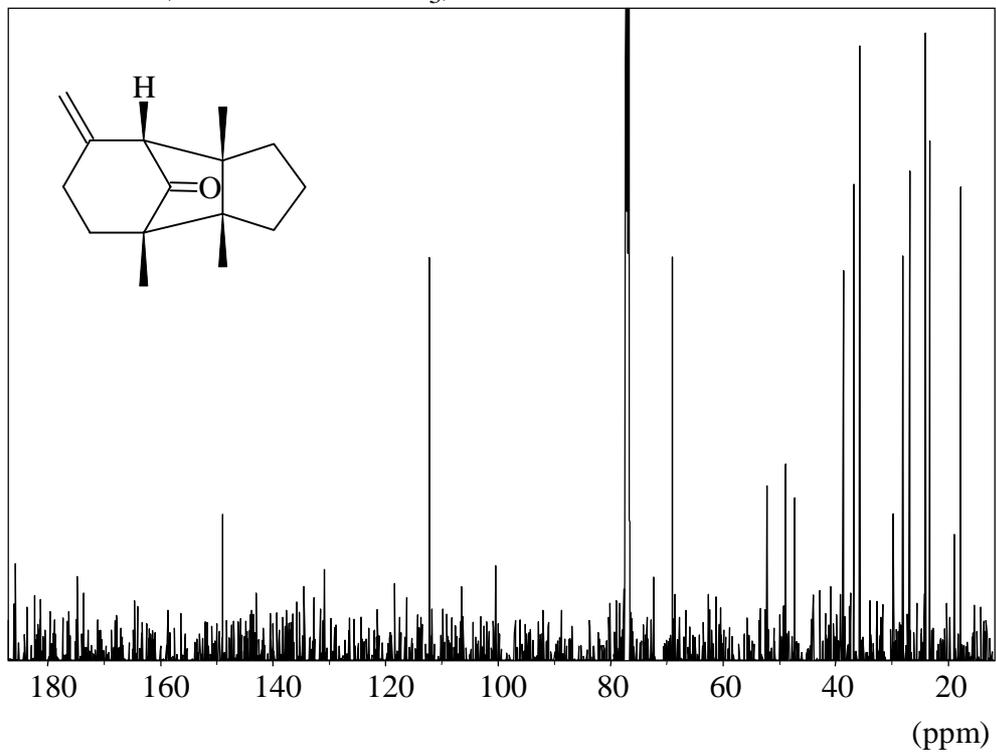
***trans*-Dauca-4(11),8-dien (22)** **^{13}C -NMR (100.6 MHz, C_6D_6)****Viridiflorol (24)** **^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3)**

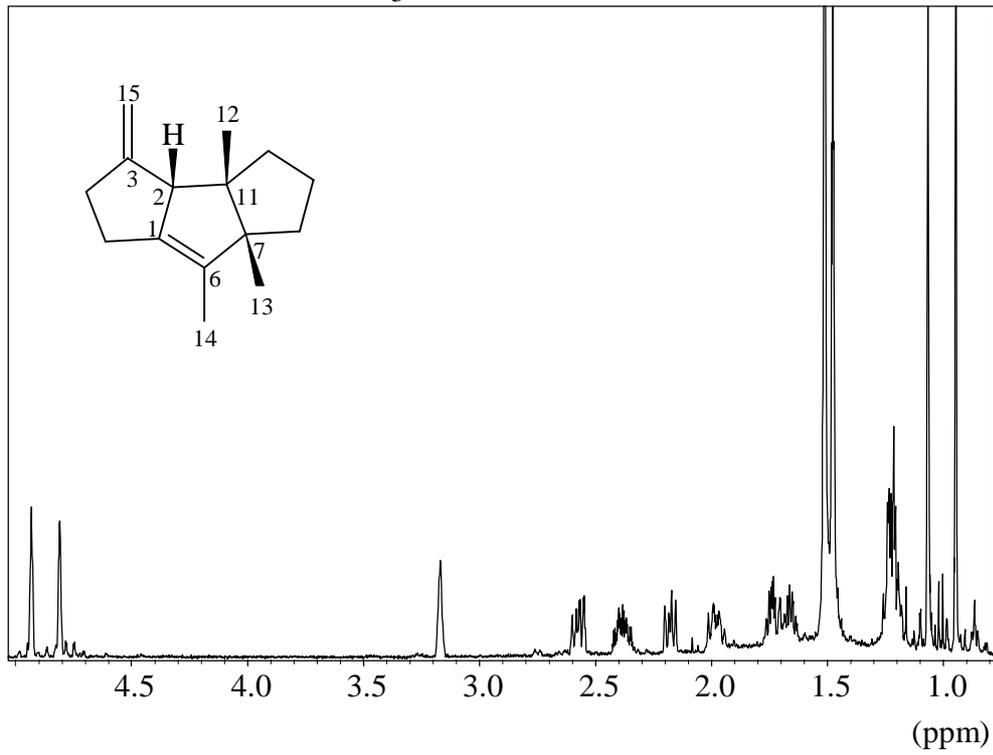
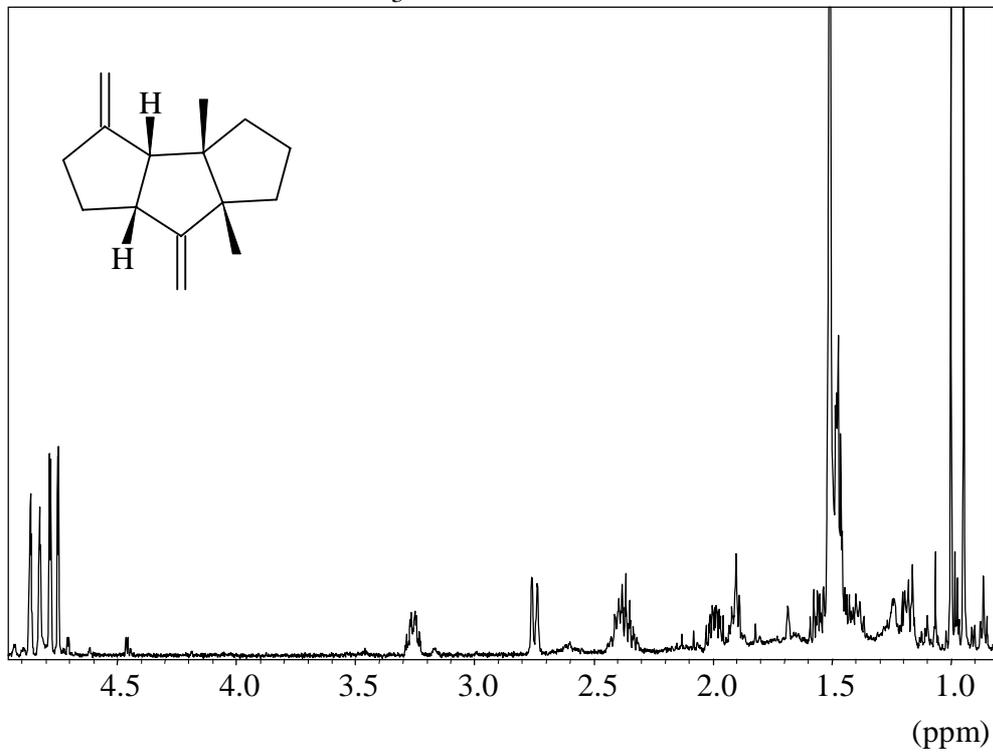
Viridiflorol (24) **^{13}C -NMR (125.7 MHz, CDCl_3)****Ledol (25)** **^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3)**

Ledol (25) **^{13}C -NMR (125.7 MHz, CDCl_3)****7-*epi*-Isojunenol (26)** **^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3)**

7-*epi*-Isojunenol (26) **^{13}C -NMR (125.7 MHz, CDCl_3)****7-*epi*-Junenol (29)** **^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3)**

7-*epi*-Junenol (29) **^{13}C -NMR (125.7 MHz, CDCl_3)****Gymnomitra-3(15),4-dien (33)** **^1H -NMR (500 MHz, C_6D_6)**

Gymnonitron (37) **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)****Gymnonitron (37)** **$^{13}\text{C-NMR}$ (125.7 MHz, CDCl_3)**

Isohirsuta-1(6),3(15)-dien (40) **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)****Isohirsuta-3(15),6(14)-dien (41)** **$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3)**

9. Literatur

- [1] R. Hänsel, *Lehrbuch der Pharmakognosie und Phytopharmazie*, **1992**, Springer-Verlag, Berlin.
- [2] H. Wagner, *Pharmazeutische Biologie, Band 2: Drogen und ihre Inhaltsstoffe*, **1993**, Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart.
- [3] F.-C. Czygan, *Pharmazie in unserer Zeit*, **1990**, 90, 1089-1103.
- [4] G. Ohloff, *Riechstoffe und Geruchssinn*, **1990**, Springer-Verlag, Berlin.
- [5] R. F. Weiß, *Lehrbuch der Phytotherapie*, **1991**, Hippokrates-Verlag, Stuttgart.
- [6] D. Joulain, W. A. König, *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*, **1998**, E.-B.-Verlag, Hamburg.
- [7] F. Fukarek, J. Schultze-Motel, M. Siegel, *Urania Pflanzenreich, Moose – Farne – Nacktsamer*, **1992**, Urania-Verlag, Leipzig.
- [8] H. M. Jahns, *Farne – Moose – Flechten Mittel-, Nord- und Westeuropas*, **1995**, BLV-Verlag, München.
- [9] D. Aichele, H.-W. Schwegler, *Unsere Moos- und Farnpflanzen*, **1993**, Franckh-Kosmos-Verlag, Stuttgart.
- [10] B. P. Kremer, H. Muhle, *Steinbachs Naturführer – Flechten, Moose, Farne*, **1991**, Mosaik-Verlag, München.
- [11] J.-P. Frahm, W. Frey, *Moosflora*, **1992**, Ulmer-Verlag, Stuttgart.
- [12] U. Lüttge, M. Kluge, G. Bauer, *Botanik*, **1989**, VCH-Verlag, Weinheim.
- [13] H. D. Zinsmeister, H. Becker, T. Eicher, *Angewandte Chemie*, **1991**, 103, 134-151.
- [14] H. Becker, G. Wurzel, *Pharmazie in unserer Zeit*, **1987**, 16, 151-156.
- [15] T. A. Thorpe (Ed.), *Plant tissue culture*, **1981**, Academic Press, New York.
- [16] S. S. Bhojwani (Ed.), *Plant tissue culture: applications and limitations*, **1990**, Elsevier Science Publishing Company, Amsterdam.
- [17] W. Barz, E. Reinhard, M. H. Zenk (Ed.), *Plant Tissue Culture and Its Biotechnological Applications*, **1977**, Springer-Verlag, Berlin.
- [18] W. R. Sharp, P. O. Larsen, E. F. Paddock, V. Raghavan (Ed.), *Plant Cell and Tissue Culture – Principles and Applications*, **1977**, Ohio State University Press, Columbus.
- [19] H. Sahm (Ed.), *Biotechnology, Volume 1: Biological Fundamentals*, **1993**, VCH-Verlag, Weinheim.
- [20] T. Lindl, J. Bauer, *Zell- und Gewebekultur*, **1994**, Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart.

- [21] O. L. Gamborg, R. A. Miller, K. Ojima, *Experimental Cell Research*, **1968**, *50*, 151-158.
- [22] I. K. Vasil (Ed.), *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Volume 5: Phytochemicals in Plant Cell Cultures*, **1988**, Academic Press, San Diego.
- [23] A. Pühler, P. Stadler (Ed.), *Biotechnology, Volume 7: Products of Secondary Metabolism*, **1993**, VCH-Verlag, Weinheim.
- [24] E.-J. Brunke (Ed.), *Progress in essential oil research*, **1986**, de Gruyter-Verlag, Berlin.
- [25] J. M. Glime (Ed.), *Methods in bryology*, **1988**, Hattori Botanical Laboratory Press, Nichinan.
- [26] H. D. Zinsmeister, R. Mues (Ed.), *Bryophytes – Their Chemistry and Chemical Taxonomy*, **1990**, Clarendon Press, Oxford.
- [27] H. Becker, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **1994**, 283-291.
- [28] R. Morais, *Dissertation: In vitro-Kultur und Sekundärstoffproduktion des Lebermooses Reboulia hemisphaerica (L.) Raddi*, **1990**, Universität des Saarlandes, Saarbrücken.
- [29] M. Blechschmidt, *Dissertation: Sterilkultur und sekundäre Inhaltsstoffe des Lebermooses Jamesoniella autumnalis (DC.) Steph.*, **1991**, Universität des Saarlandes, Saarbrücken.
- [30] G. Wurzel, H. Becker, *Phytochemistry*, **1990**, *29*, 2565-2568.
- [31] K. Nabeta, K. Katayama, S. Nakagawara, K. Katoh, *Phytochemistry*, **1993**, *32*, 117-122.
- [32] G. Wurzel, H. Becker, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **1989**, 373-375.
- [33] G. Wurzel, H. Becker, *Zeitschrift für Naturforschung*, **1990**, *45c*, 13-18.
- [34] M. Sauerwein, H. Becker, *Planta Medica*, **1990**, *56*, 364-367.
- [35] J. Spörle, H. Becker, N. S. Allen, M. P. Gupta, *Zeitschrift für Naturforschung*, **1991**, *46c*, 183-188.
- [36] R. Takeda, K. Katoh, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **1983**, *56*, 1265-1266.
- [37] R. Takeda, K. Katoh, *Planta*, **1981**, *151*, 525-530.
- [38] S. Nakagawara, N. Nakamura, Z.-J. Guo, K. Sumitani, K. Katoh, Y. Ohta, *Plant Cell Physiology*, **1993**, *34*, 421-429.
- [39] Y. Asakawa, M. Heidelberger, *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, Band 42*, **1982**, Springer-Verlag, Wien.
- [40] Y. Asakawa, *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, Band 65*, **1995**, Springer-Verlag, Wien.

- [41] H. Becker, J. Reichling, *Grundlagen der pharmazeutischen Biologie*, **1989**, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- [42] D. Frohne, U. Jensen, *Systematik des Pflanzenreiches unter besonderer Berücksichtigung chemischer Merkmale und pflanzlicher Drogen*, **1985**, Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart.
- [43] H. D. Zinsmeister, R. Mues, *GIT (Glas- und Instrumententechnik) Fachzeitschrift für das Laboratorium*, **1987**, 499-512.
- [44] S. Huneck, E. Klein, *Phytochemistry*, **1967**, 6, 383-390.
- [45] Y. Asakawa, C. Suire, M. Toyota, N. Tokunaga, T. Takemoto, S. Hattori, M. Mizutani, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **1980**, 285-303.
- [46] S. Huneck, S. Jänicke, E. Huneck, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **1983**, 125-132.
- [47] S. Melching, *Dissertation: Isolierung, Strukturaufklärung und stereochemische Untersuchungen neuer sesquiterpenoide Verbindungen aus vier Chemotypen des Lebermooses Conocephalum conicum*, **1999**, Universität Hamburg.
- [48] G. Habermehl, P. E. Hammann, *Naturstoffchemie*, **1992**, Springer-Verlag, Berlin.
- [49] E. A. Bell, B. V. Charlwood (Ed.), *Secondary Plant Products*, **1980**, Springer-Verlag, Berlin.
- [50] L. Ruzicka, M. Stoll, *Helvetica Chimica Acta*, **1922**, 5, 923-936.
- [51] L. Ruzicka, *Proceedings of the Chemical Society*, **1959**, 341-360.
- [52] L. Ruzicka, *Pure and Applied Chemistry*, **1963**, 6, 493-523.
- [53] G. Rücker, *Angewandte Chemie*, **1973**, 895-907.
- [54] J. D. Connolly, R. A. Hill, *Dictionary of Terpenoids*, **1991**, Chapman and Hall, London.
- [55] M. Luckner, *Secondary metabolism in microorganisms, plants and animals*, **1990**, Gustav-Fischer-Verlag, Jena.
- [56] T. A. Geissman, *Biosynthesis, Volume 1-2*, **1972**, The Chemical Society Press, London.
- [57] K. Nabeta, T. Ishikawa, H. Okuyama, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, **1995**, 3111-3115.
- [58] R. Takeda, K. Katoh, *Journal of the American Chemical Society*, **1983**, 105, 4056-4058.
- [59] K. Nabeta, T. Ishikawa, T. Kawae, H. Okuyama, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, **1994**, 3277-3280.
- [60] K. Nabeta, Y. Mototani, H. Tazaki, H. Okuyama, *Phytochemistry*, **1994**, 35, 915-920.

- [61] C. D. Poulter, H. C. Rilling, *Accounts of Chemical Research*, **1978**, *11*, 307-313.
- [62] F. M. Laskovics, C. D. Poulter, *Biochemistry*, **1981**, *20*, 1893-1901.
- [63] J. Mann, *Secondary metabolism*, **1978**, Oxford University Press, Oxford.
- [64] T. W. Goodwin (Ed.), *Natural substances formed biologically from mevalonic acid*, **1970**, Academic Press, London.
- [65] K. Bloch, S. Chaykin, A. H. Phillips, A. de Waard, *Journal of Biological Chemistry*, **1959**, *234*, 2595-2604.
- [66] I. F. Durr, H. Rudney, *Journal of Biological Chemistry*, **1960**, *235*, 2572-2578.
- [67] A. E. Purcell, G. A. Thompson, J. Bonner, *Journal of Biological Chemistry*, **1959**, *234*, 1081-1084.
- [68] H. R. Levy, G. Popjak, *Biochemical Journal*, **1960**, *75*, 417-428.
- [69] J. W. Cornforth, R. H. Cornforth, G. Popjak, L. Yengoyan, *Journal of Biological Chemistry*, **1966**, *241*, 3970-3987.
- [70] G. Popjak, J. W. Cornforth, *Biochemical Journal*, **1966**, *101*, 553-568.
- [71] T. J. Bach, *Plant Physiology and Biochemistry*, **1987**, *25*, 163-178.
- [72] T. J. Bach, H. K. Lichtenthaler, *Physiologia Plantarum*, **1983**, *59*, 50-60.
- [73] H. K. Lichtenthaler, *Biospektrum*, **1998**, *4*, 49-52.
- [74] D. E. Cane (Ed.), *Comprehensive Natural Products Chemistry, Volume 2: Isoprenoids including carotenoids and steroids*, **1999**, Elsevier-Verlag, Amsterdam.
- [75] M. K. Schwarz, *Dissertation: Terpen-Biosynthese in Ginkgo biloba – Eine überraschende Geschichte*, **1994**, ETH Zürich.
- [76] G. A. Sprenger, U. Schörken, T. Wiegert, S. Grolle, A. A. de Graaf, S. V. Taylor, T. P. Begley, S. Bringer-Meyer, H. Sahm, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **1997**, *94*, 12857-12862.
- [77] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, **1992**, VCH-Verlag, Weinheim.
- [78] G. Flesch, M. Rohmer, *Journal of Biochemistry*, **1988**, *175*, 405-411.
- [79] M. Rohmer, M. Knani, P. Simonin, B. Sutter, H. Sahm, *Biochemical Journal*, **1993**, *295*, 517-524.
- [80] S. R. Putra, L. M. Lois, N. Campos, A. Boronat, M. Rohmer, *Tetrahedron Letters*, **1998**, 23-26.
- [81] M. Rohmer, M. Seemann, S. Horbach, S. Bringer-Meyer, H. Sahm, *Journal of the American Chemical Society*, **1996**, *118*, 2564-2566.
- [82] M. Rohmer, B. Sutter, H. Sahm, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, **1989**, 1471-1472.

- [83] S. T. J. Boers, *Dissertation: I. Über die frühen Stufen der Biosynthese von Isoprenoïden in E. coli, II. Beitrag zur Aufklärung der Biosynthese von Vitamin B₁₂ in Propionibacterium shermanii*, **1994**, ETH Zürich.
- [84] H. K. Lichtenthaler, M. Rohmer, J. Schwender, *Physiologia Plantarum*, **1997**, *101*, 643-652.
- [85] H. K. Lichtenthaler, J. Schwender, A. Disch, M. Rohmer, *FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Letters*, **1997**, *400*, 271-274.
- [86] A. Disch, A. Hemmerlin, T. J. Bach, M. Rohmer, *Biochemical Journal*, **1998**, *331*, 615-621.
- [87] W. Knöss, B. Reuter, J. Zapp, *Biochemical Journal*, **1997**, *326*, 449-454.
- [88] D. Arigoni, S. Sagner, C. Latzel, W. Eisenreich, A. Bacher, M. H. Zenk, *Proceedings in the National Academic Science of the USA*, **1997**, *94*, 10600-10605.
- [89] J. Schwender, J. Zeidler, R. Gröner, C. Miller, M. Focke, S. Braun, F. W. Lichtenthaler, H. K. Lichtenthaler, *FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Letters*, **1997**, *414*, 129-134.
- [90] K.-P. Adam, J. Zapp, *Phytochemistry*, **1998**, *48*, 953-959.
- [91] R. Thiel, K.-P. Adam, J. Zapp, H. Becker, *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, **1997**, *7*, 103-105.
- [92] J. Schwender, M. Seemann, H. K. Lichtenthaler, M. Rohmer, *Biochemical Journal*, **1996**, *316*, 73-80.
- [93] K. Momose, H. Rudney, *Journal of Biological Chemistry*, **1972**, *247*, 3930-3940.
- [94] D. E. Cane, R. Iyengar, M. S. Shiao, *Journal of the American Chemical Society*, **1981**, *103*, 914-931.
- [95] W. Parker, J. S. Roberts, *Review, Chemical Society*, **1967**, *21*, 331-363.
- [96] G. A. Cordell, *Chemical Reviews*, **1976**, *76*, 425-460.
- [97] J. B. Hendrickson, *Tetrahedron*, **1959**, *7*, 82-89.
- [98] D. E. Cane, *Tetrahedron*, **1980**, *36*, 1109-1159.
- [99] D. E. Cane, *Chemical Reviews*, **1990**, *90*, 1089-1103.
- [100] D. Heß, *Pflanzenphysiologie*, **1991**, Ulmer-Verlag, Stuttgart.
- [101] P. W. Pare, J. H. Tumlinson, *Nature*, **1997**, *385*, 30-31.
- [102] T. Krumm, K. Bandemer, W. Boland, *FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Letters*, **1995**, *377*, 523-529.
- [103] J. Piel, R. Atzorn, R. Gäbler, F. Kühnemann, W. Boland, *FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Letters*, **1997**, *416*, 143-148.

- [104] W. Boland, J. Hopke, J. Donath, J. Nüske, F. Bublitz, *Angewandte Chemie*, **1995**, *107*, 1715-1717.
- [105] T. Koch, K. Bandemer, W. Boland, *Helvetica Chimica Acta*, **1997**, *80*, 838-850.
- [106] J. Piel, J. Donath, K. Bandemer, W. Boland, *Angewandte Chemie*, **1998**, *110*, 2622-2625.
- [107] V. Shulaev, P. Silverman, I. Raskin, *Nature*, **1997**, *385*, 718-721.
- [108] P. S. Kalsi, V. B. Sood, A. B. Masih, D. Gupta, K. K. Talwar, *Phytochemistry*, **1983**, *22*, 1387-1392.
- [109] D. M. Dey, J. B. Harborne (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry, Volume 7: Terpenoids*, **1991**, Academic Press, San Diego.
- [110] H. Naumer, W. Heller, *Untersuchungsmethoden in der Chemie*, **1990**, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart.
- [111] G. Schwedt, *Analytische Chemie*, **1995**, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart.
- [112] G. Schomburg, *Gaschromatographie*, **1987**, VCH-Verlag, Weinheim.
- [113] V. R. Meyer, *Praxis der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie*, **1990**, Otto-Salle-Verlag, Frankfurt am Main.
- [114] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, **1991**, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart.
- [115] H. Günther, *NMR-Spektroskopie*, **1992**, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart.
- [116] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, **1992**, VCH-Verlag, Weinheim.
- [117] S. W. Homans, *A Dictionary of Concepts in NMR*, **1995**, Clarendon Press, Oxford.
- [118] R. Freeman, *A Handbook of Nuclear Magnetic Resonance*, **1997**, Longman-Verlag, Essex.
- [119] S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger, *150 and More Basic NMR Experiments*, **1998**, Wiley-VCH-Verlag, Weinheim.
- [120] H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, *Angewandte Chemie*, **1988**, *100*, 507-554.
- [121] R. Benn, H. Günther, *Angewandte Chemie*, **1983**, *95*, 381-411.
- [122] J.-M. Nuzillard, G. Massiot, *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 3655-3664.
- [123] M. Jaspars, *Natural Product Reports*, **1999**, *16*, 241-248.
- [124] C. Steinbeck, *Angewandte Chemie*, **1996**, *108*, 2108-2110.
- [125] C. Steinbeck, *Poster: Recent Advancements in the Development of SENECA – a Program for NMR based Computer Assisted Structure Elucidation*, **14.-19. Aug. 1999**, 37th IUPAC Congress / 27th GDCh General Meeting, Berlin.

- [126] H. Budzikiewicz, *Massenspektrometrie*, **1998**, VCH-Verlag, Weinheim.
- [127] H. J. Roth, C. E. Müller, G. Folkers, *Stereochemie und Arzneistoffe*, **1998**, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- [128] W. A. König, *Kontakte*, **1990**, 3-14.
- [129] V. Schurig, H.-P. Nowotny, *Angewandte Chemie*, **1990**, *102*, 969-986.
- [130] I. Hardt, W. A. König, *Journal of Chromatography A*, **1994**, *666*, 611-615.
- [131] W. A. König, B. Gehrcke, D. Icheln, P. Evers, J. Dönnecke, W. Wang, *Journal of High Resolution Chromatography*, **1992**, *15*, 367-372.
- [132] W. A. König, R. Krebber, P. Mischnick, *Journal of High Resolution Chromatography*, **1989**, *12*, 732-738.
- [133] W. A. König, A. Krüger, D. Icheln, T. Runge, *Journal of High Resolution Chromatography*, **1992**, *15*, 184-189.
- [134] W. A. König, A. Rieck, I. Hardt, B. Gehrcke, K.-H. Kubeczka, H. Muhle, *Journal of High Resolution Chromatography*, **1994**, *17*, 315-320.
- [135] N. H. Andersen, D. D. Syrdal, *Phytochemistry*, **1970**, *9*, 1325-1340.
- [136] A. I. Meyers, D. Stoianova, *Journal of Organic Chemistry*, **1997**, *62*, 5219-5221.
- [137] Y. Saritas, N. Bülow, C. Fricke, W. A. König, H. Muhle, *Phytochemistry*, **1998**, *48*, 1019-1023.
- [138] D. W. Connell, M. D. Sutherland, *Australian Journal of Chemistry*, **1966**, *19*, 283-288.
- [139] J. E. McMurry, G. K. Bosch, *Journal of Organic Chemistry*, **1987**, *52*, 4885-4893.
- [140] N. H. Andersen, Y. Ohta, A. Moore, C.-L. W. Tseng, *Tetrahedron*, **1978**, *34*, 41-46.
- [141] C.-L. Wu, Y. Asakawa, *Phytochemistry*, **1988**, *27*, 940-942.
- [142] W. A. König, A. Rieck, Y. Saritas, I. H. Hardt, K.-H. Kubeczka, *Phytochemistry*, **1996**, *42*, 461-464.
- [143] J. Leimner, H. Marschall, N. Meier, P. Weyerstahl, *Chemistry Letters*, **1984**, 1769-1772.
- [144] A. Rieck, *Diplomarbeit: Synthese und gaschromatographische Enantiomerentrennung ausgewählter Sesquiterpene als Inhaltsstoffe ätherischer Öle*, **1993**, Universität Hamburg.
- [145] S. Huneck, *Zeitschrift für Naturforschung*, **1963**, *18b*, 1126.
- [146] H. Tazaki, T. Okihara, H. Koshino, K. Kobayashi, K. Nabeta, *Phytochemistry*, **1998**, *48*, 147-149.

- [147] S. Nakagawara, K. Katoh, T. Kusumi, H. Komura, K. Nomoto, H. Konno, S. Huneck, R. Takeda, *Phytochemistry*, **1992**, *31*, 1667-1670.
- [148] D. Meuche, S. Huneck, *Chemische Berichte*, **1969**, *102*, 2493-2501.
- [149] S. Huneck, D. Meuche, *Chemische Berichte*, **1969**, *102*, 2502-2507.
- [150] D. Meuche, S. Huneck, *Chemische Berichte*, **1966**, *99*, 2669-2674.
- [151] U. Siegel, R. Mues, R. Dönig, T. Eicher, M. Blechschmidt, H. Becker, *Phytochemistry*, **1992**, *31*, 1671-1678.
- [152] J.-R. Llians, D. Roard, M. Derbesy, E.-J. Vincent, *Canadian Journal of Chemistry*, **1975**, *53*, 2911-2916.
- [153] H. D. Friedel, R. Matusch, *Helvetica Chimica Acta*, **1987**, *70*, 1753-1759.
- [154] R. Faure, A. R. P. Ramanoelina, O. Rakotonirainy, J.-P. Bianchini, E. M. Gaydou, *Magnetic Resonance in Chemistry*, **1991**, *29*, 969-971.
- [155] C. M. Beechan, C. Djerassi, H. Eggert, *Tetrahedron*, **1978**, *34*, 2503-2508.
- [156] C. L. Queiroga, A. Fukai, A. J. Marsaioli, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **1990**, *1*, 105-109.
- [157] U. Warmers, *Diplomarbeit: Isolierung und Identifizierung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öls aus dem Lebermoos Calypogeia trichomanis*, **1997**, Universität Hamburg.
- [158] G. Rücker, W. F. Hefendehl, *Phytochemistry*, **1978**, *17*, 809-810.
- [159] A. D. Wright, G. M. König, C. K. Angerhofer, P. Greenidge, A. Linden, R. Desqueyroux-Faundez, *Journal of Natural Products*, **1996**, *59*, 710-716.
- [160] G. M. König, A. D. Wright, *Journal of Organic Chemistry*, **1997**, *62*, 3837-3840.
- [161] K. Wihstutz, *Diplomarbeit: Isolierung und Identifizierung von Inhaltsstoffen der ätherischen Öle von Aloysia sellowii, Leptospermum scoparium, Scapania nemorea, Trichocolea tomentella und Tritomaria quinquedentata*, **1997**, Universität Hamburg.
- [162] H. Tada, F. Yasuda, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1985**, *33*, 1941-1945.
- [163] A. J. Weinheimer, P. H. Washecheck, D. van der Helm, M. B. Hossain, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, **1968**, 1070-1071.
- [164] K. Nishiya, T. Kimura, K. Takeya, H. Itokawa, *Phytochemistry*, **1992**, *31*, 3511-3514.
- [165] I. A. Southwell, *Australian Journal of Chemistry*, **1978**, *31*, 2527-2538.
- [166] M. Tori, N. Tsuyama, K. Nakashima, M. Sono, Y. Asakawa, *Journal of Chemical Research, Synopses*, **1990**, 164-165.

- [167] A. Rieck, N. Bülow, S. Jung, Y. Saritas, W. A. König, *Phytochemistry*, **1997**, *44*, 453-457.
- [168] A.-K. Borg-Karlson, T. Nori, A. Talvitie, *Tetrahedron*, **1981**, *37*, 425-430.
- [169] B. A. Nagasampagi, L. Yankov, S. Dev, *Tetrahedron Letters*, **1968**, 1913-1918.
- [170] J. Tanaka, K. Adachi, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **1990**, *63*, 272-274.
- [171] D. Solas, J. Wolinsky, *Journal of Organic Chemistry*, **1983**, *48*, 670-673.
- [172] N. H. Andersen, D. D. Syrdal, *Tetrahedron Letters*, **1972**, 899-902.
- [173] N. H. Andersen, D. D. Syrdal, *Tetrahedron Letters*, **1970**, 2277-2280.
- [174] N. H. Andersen, C. R. Costin, C. M. Kramer, Y. Ohta, S. Huneck, *Phytochemistry*, **1973**, *12*, 2709-2716.
- [175] N. H. Andersen, P. Bissonette, C.-B. Liu, B. Shunk, Y. Ohta, C.-L. W. Tseng, A. Moore, S. Huneck, *Phytochemistry*, **1977**, *16*, 1731-1751.
- [176] M. Toyota, Y. Asakawa, T. Takemoto, *Phytochemistry*, **1981**, *20*, 2359-2366.
- [177] K. Konecny, M. Streibl, S. Vasickova, M. Budesinsky, D. Saman, K. Ubik, V. Herout, *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, **1985**, *50*, 80-93.
- [178] F. Nagashima, S. Momosaki, Y. Watanabe, S. Takaoka, S. Huneck, Y. Asakawa, *Phytochemistry*, **1996**, *42*, 1361-1366.
- [179] N. H. Andersen, S. Huneck, *Phytochemistry*, **1973**, *12*, 1818-1819.
- [180] S. Huneck, S. Jänicke, L. Meinunger, G. Snatzke, J. D. Connolly, Y. Asakawa, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **1984**, 337-342.
- [181] S. Huneck, *Zeitschrift für Naturforschung*, **1967**, *22b*, 462-463.
- [182] Y. Asakawa, R. Matsuda, M. Toyota, C. Suire, T. Takemoto, H. Inoue, S. Hattori, M. Mizutani, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **1981**, *50*, 165-177.
- [183] Y. Asakawa, N. Tokunaga, T. Toyota, T. Takemoto, S. Hattori, M. Mizutani, C. Suire, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* **1979**, *46*, 67-76.
- [184] B. Tomita, T. Isono, Y. Hirose, *Tetrahedron Letters*, **1970**, 1371-1372.
- [185] F. Bohlmann, C. Zdero, M. Grenz, *Chemische Berichte*, **1974**, *107*, 3928-3945.
- [186] A. Matsuo, M. Nakayama, T. Maeda, Y. Noda, S. Hayashi, *Phytochemistry*, **1975**, *14*, 1037-1040.
- [187] A. Matsuo, S. Hayashi, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, **1977**, 566-568.
- [188] J. C. Gilbert, T. A. Kelly, *Journal of Organic Chemistry*, **1986**, *51*, 4485-4488.
- [189] A. Matsuo, N. Nakayama, M. Nakayama, *Phytochemistry*, **1985**, *24*, 777-781.

- [190] S. K. Koul, S. C. Taneja, S. Malhotra, K. L. Dhar, *Phytochemistry*, **1993**, 32, 478-480.
- [191] T. Imanishi, M. Yamashita, Y. Hirokawa, T. Tanaka, K. Miyashita, C. Iwata, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1993**, 41, 1695-1697.
- [192] J. D. Connolly, A. E. Harding, I. M. S. Thornton, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, **1974**, 2487-2493.
- [193] S. V. O'Neil, C. A. Quickley, B. B. Snider, *Journal of Organic Chemistry*, **1997**, 62, 1970-1975.
- [194] S. W. Pelletier, S. Lajsic, Y. Ohtsuka, Z. Djarmati, *Journal of Organic Chemistry*, **1975**, 40, 1607-1609.
- [195] E. Wenkert, D. P. Strike, *Journal of the American Chemical Society*, **1964**, 86, 2044-2050.
- [196] B. J. Hopkins, G. W. Perold, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, **1974**, 32-36.
- [197] S. O. Almqvist, C. R. Enzell, F. W. Wehrli, *Acta Chemica Scandinavica*, **1975**, 29B, 695-702.
- [198] F. Audenaert, D. de Keukeleire, M. Vandewalle, *Tetrahedron*, **1987**, 43, 5593-5604.
- [199] J. Levisalles, H. Rudler, *Bulletin de la Societe Chimique de France*, **1967**, 2059-2066.
- [200] C.-L. Wu, Y.-M. Huang, J.-R. Chen, *Phytochemistry*, **1996**, 42, 677-679.
- [201] M. Tori, T. Nagai, Y. Asakawa, S. Huneck, K. Ogawa, *Phytochemistry*, **1993**, 34, 181-190.
- [202] H. J. Williams, I. Sattler, G. Moyna, A. I. Scott, A. A. Bell, S. B. Vinson, *Phytochemistry*, **1995**, 40, 1633-1636.
- [203] E. G. Breitholle, A. G. Fallis, *Journal of Organic Chemistry*, **1978**, 43, 1964-1968.
- [204] J. A. Marshall, N. Cohen, *Journal of Organic Chemistry*, **1964**, 29, 3727-3729.
- [205] B. Kaur, P. S. Kalsi, *Phytochemistry*, **1985**, 24, 2007-2010.
- [206] M. R. Brennan, K. L. Erickson, *Journal of Organic Chemistry*, **1982**, 47, 3917-3921.
- [207] M. Toyota, Y. Asakawa, *Phytochemistry*, **1990**, 29, 3664-3665.
- [208] J. Jakupovic, U. Ganzer, P. Pritschow, L. Lehmann, F. Bohlmann, R. M. King, *Phytochemistry*, **1992**, 31, 863-879.
- [209] W. A. König, N. Bülow, C. Fricke, S. Melching, A. Rieck, H. Muhle, *Phytochemistry*, **1996**, 43, 629-633.
- [210] H.-C. Wei, S.-J. Ma, C.-L. Wu, *Phytochemistry*, **1995**, 39, 91-97.

- [211] Y. Asakawa, R. Matsuda, *Phytochemistry*, **1982**, *21*, 2143-2144.
- [212] R. M. S. C. Morais, L. J. Harrison, H. Becker, *Journal of Chemical Research, Synopses*, **1988**, 380-381.
- [213] R. M. S. C. Morais, H. Becker, *Zeitschrift für Naturforschung*, **1990**, *46c*, 28-32.
- [214] R. M. S. C. Morais, L. J. Harrison, H. Becker, *Phytochemistry*, **1991**, *30*, 1013-1014.
- [215] J. D. Connolly, A. E. Harding, I. M. S. Thornton, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, **1972**, 1320-1321.
- [216] R. M. Coates, S. K. Shah, R. W. Mason, *Journal of the American Chemical Society*, **1982**, *104*, 2198-2208.
- [217] R. M. Coates, S. K. Shah, R. W. Mason, *Journal of the American Chemical Society*, **1979**, *101*, 6765-6767.
- [218] L. A. Paquette, Y.-K. Han, *Journal of the American Chemical Society*, **1981**, *103*, 1831-1835.
- [219] Y.-K. Han, L. A. Paquette, *Journal of Organic Chemistry*, **1979**, *44*, 3731-3733.
- [220] S. Huneck, N. H. Andersen, *Congres International de Bryologie*, **1977**, Bryophytorum Bibliotheca 13, Bordeaux.
- [221] D. E. Cane, H.-J. Ha, *Journal of the American Chemical Society*, **1986**, *108*, 3097-3099.
- [222] D. E. Cane, H.-J. Ha, *Journal of the American Chemical Society*, **1988**, *110*, 6865-6870.
- [223] D. E. Cane, Q. Xue, *Journal of the American Chemical Society*, **1996**, *118*, 1563-1564.
- [224] D. E. Cane, Q. Xue, J. E. van Epp, *Journal of the American Chemical Society*, **1996**, *118*, 8499-8500.
- [225] D. Arigoni, D. E. Cane, B. Müller, C. Tamm, *Helvetica Chimica Acta*, **1973**, *56*, 2946-2949.
- [226] D. E. Cane, S. Swanson, P. P. N. Murthy, *Journal of the American Chemical Society*, **1981**, *103*, 2136-2138.
- [227] D. E. Cane, J. L. Pawlak, R. M. Horak, *Biochemistry*, **1990**, *29*, 5476-5490.
- [228] D. E. Cane, G. Yang, R. M. Coates, H.-J. Pyun, T. M. Hohn, *Journal of Organic Chemistry*, **1992**, *57*, 3454-3462.
- [229] Autorenkollektiv, *Organikum*, **1990**, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin.
- [230] K. Weinges, H. Gethöffer, U. Huber-Patz, H. Rodewald, H. Irngartinger, *Liebigs Annalen der Chemie*, **1987**, 361-366.

- [231] D. E. Cane, R. H. Levin, *Journal of the American Chemical Society*, **1976**, 98, 1183-1188.

10. Publikationen

Veröffentlichungen

- [a] U. Warmers, A. Rieck, W. A. König, H. Muhle, *Phytochemistry*, **1999**, *51*, 679-682.
(+)-Bisabola-2,10-diene[1,9]oxide, a Constituent of the Liverwort *Calypogeia suecica*.
- [b] U. Warmers, K. Wihstutz, N. Bülow, C. Fricke, W. A. König, *Phytochemistry*, **1998**, *49*, 1723-1731.
Sesquiterpene Constituents of the Liverwort *Calypogeia muelleriana*.
- [c] U. Warmers, W. A. König, *Phytochemistry*, **1999**, *52*, 695-704.
Sesquiterpene Constituents of the Liverwort *Calypogeia fissa*.
- [d] U. Warmers, W. A. König, *Phytochemistry*, **1999**, *52*, 99-104.
Sesquiterpene Constituents of the Liverwort *Bazzania trilobata*.
- [e] U. Warmers, W. A. König, *Phytochemistry*, **1999**, *52*, 1519-1524.
(-)-7-*epi*-Isojunenol and (+)-7-*epi*-Junenol, Constituents of the Liverwort *Tritomaria quinquedentata*.
- [f] U. Warmers, W. A. König, *Phytochemistry*, **1999**, *52*, 1501-1505.
Gymnomitrane-type Sesquiterpenes of the Liverworts *Gymnomitrion obtusum* and *Reboulia hemisphaerica*.
- [g] U. Warmers, W. A. König, *Phytochemistry*, **2000**, *63*, 645-650.
Biosynthesis of the gymnomitrane-type Sesquiterpenes in Liverworts.
- [h] S. Melching, U. Warmers, W. A. König, H. Muhle, *Phytochemistry*, **1999**, *51*, 277-280.
Two aromadendrane type Alcohols from the Liverwort *Conocephalum conicum*.

Poster

- U. Warmers, W. A. König, *29th International Symposium on Essential Oils*, **6.-9. Sept. 1998**, Frankfurt am Main, Deutschland.
Sesquiterpene Constituents of the Liverworts *Calypogeia muelleriana* and *Bazzania trilobata*.
- U. Warmers, C. Fricke, K. Wihstutz, W. A. König, *4th Dutch-German Workshop on Regulation of Secondary Metabolism*, **27.-29. Sept. 1998**, Bad Herrenalb, Deutschland.
Sesquiterpene Constituents of the Liverwort *Calypogeia muelleriana*.

Vorträge

- U. Warmers, *Austauschprogramm zwischen der Universität Hamburg und der Tamkang-Universität in Tamsui, Taiwan*, **4.-26. April 1999**, Tamsui, Taiwan.
Sesquiterpene Constituents of Liverworts.
- U. Warmers, W. A. König, *4th Dutch-German Workshop on Regulation of Secondary Metabolism*, **27.-29. Sept. 1998**, Bad Herrenalb, Deutschland.
Sesquiterpene Constituents of the Liverwort *Calypogeia muelleriana* and *Bazzania trilobata*.

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei

der Universität Hamburg und der Technischen Universität Hamburg-Harburg für die Gewährung von Stipendien,

Frau Prof. Dr. E. Pratz und Herrn Prof. Dr. H.-P. Mühlbach für die Möglichkeit, einen Teil der Arbeit in ihren Arbeitskreisen am Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg durchzuführen,

Herrn Prof. Dr. H. Becker, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, für seine Gastfreundschaft, die Ermöglichung eines Besuches in seinem Arbeitskreis, um weitere Erfahrungen bei der Anlage von Pflanzenkulturen zu sammeln, und die Überlassung von Kulturen von *Reboulia hemisphaerica* und *Ricciocarpos natans*,

Frau Prof. Dr. I. Capesius, Universität Heidelberg, für ihre Gastfreundschaft und die Möglichkeit, erste Einblicke in die Methodik der Anlage von Pflanzenkulturen zu bekommen,

Herrn Prof. Dr. R. Mues, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, und Herrn Dr. H. Muhle, Universität Ulm, für das Sammeln und die Bestimmung zahlreicher Moosproben,

Herrn U. Heseler, St. Ingbert, und Herrn Prof. Dr. W. A. König für das Sammeln weiterer Moosproben,

Herrn Dr. V. Sinnwell und seinem Team für die Aufnahme zahlreicher ¹H-, ¹³C- und zweidimensionaler NMR-Spektren,

Herrn Dr. E. Haupt und seinem Team für die Aufnahme der ²D-NMR-Spektren,

Frau A. Meiners und Herrn M. Preuß für die Durchführung zahlreicher GC-MS-Messungen,

Frau A. Meiners für die Einarbeitung zur selbständigen Bedienung des GC-MS-Gerätes,

Frau Dr. Angela Rieck für die Anlage der Kultur von *Lophocolea heterophylla* und die Isolierung von (-)-β-Curcumen,

Frau Dr. Christiane Fricke für die Durchführung der Hydrierung von (+)-δ-Selinen, der italienischen Austauschstudentin Francesca Schillani für die Hilfe bei der Durchführung der Probesynthesen der Mevalolactone,

den aktiven und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises von

Herrn Prof. Dr. W. A. König, Dot. Andrea Arcamone, Dr. Nils Bülow, Dipl.-Chem. Helmut Dittmann, Dr. Christiane Fricke, Dr. Detlev Hochmuth, Dipl.-Chem. Hassan Iznaguen, Dipl.-Chem. Stefan Jung, Dipl.-Chem. Andre Krüger, Dipl.-Chem. Mesmin Mekem Sonwa, Dr. Steffi Melching, Dipl.-Chem. Claudia Paul, Dipl.-Chem. Martin Pietsch, Dipl.-Chem. Joachim Rösecke, Dipl.-Chem. Yücel Saritas, Dipl.-Chem. Klaus Scharwächter, Dr. Claus O. Schmidt und Dipl.-Chem. Kolja Wihstutz für das angenehme Arbeitsklima und die gute Zusammenarbeit,

den Mitgliedern der Arbeitskreise von Frau Prof. Dr. E. Pratje und Herrn Prof. Dr. H.-P. Mühlbach Dipl.-Biol. Winja Benthack, Gudrun Monnier, Dr. Jose Orsini, Dipl.-Biol. Sevenja Qualmann, Barbara Schumacher, Dipl.-Biol. Christina Timmermann und Dipl.-Biol. Ulrike Weber, sowie Dr. Gilbert Gorr für ihre freundliche Aufnahme und die ständige Hilfsbereitschaft,

Frau Prof. Dr. C.-L. Wu und den Mitgliedern ihres Arbeitskreises Chang Chin-Kuei (JK Fairy), Chang Yu-Chen (Haward), Shy Sorng-Shing (Seer), Yen Yun-Junn (Junn) und Yin Ming-Horng (Hook) für ihre Gastfreundschaft,

Herrn Dr. T. Feuerer für die Aufnahme einiger Lebermoose in das Herbarium Hamburgense im Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg und meinen Eltern für ihre verständnisvolle Unterstützung während des Studiums und der Promotion.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Ute Warmers
Geburtsdatum: 05.05.1972
Geburtsort: Hamburg

Schulbildung

1978 - 1982 Grundschole Strenge in Hamburg
1982 - 1991 Albert-Schweitzer-Gymnasium in Hamburg
14.06.1991 Abitur

Studium

Okt. 1991 Beginn des Diplom-Chemie-Studiums
an der Universität Hamburg
19.11.1993 Vordiplom Chemie
Sept. 1996 - März 1997 Diplomarbeit bei Prof. Dr. W. A. König
im Institut für Organische Chemie
der Universität Hamburg,
„Isolierung und Identifizierung der Inhaltsstoffe
des ätherischen Öls aus dem Lebermoos
Calypogeia trichomanis“
12.03.1997 Hauptdiplom Chemie
März 1997 Beginn der Doktorarbeit bei Prof. Dr. W. A. König
im Institut für Organische Chemie
der Universität Hamburg
05.04. - 26.04.1999 Austauschprogramm zwischen der Universität Hamburg
und der Tamkang-Universität in Tamsui, Taiwan,
Besuch von Prof. Dr. C.-L. Wu

Stipendien

01.05. - 30.6.1997 Stipendium der Technischen Universität Hamburg-Harburg
im Rahmen des Graduiertenkollegs „Biotechnologie“
01.10.1997 - 30.09.1999 Stipendium der Universität Hamburg