

**Isolierung, Strukturaufklärung und stereochemische  
Untersuchungen neuer sesquiterpenoider Verbindungen  
aus vier Chemotypen des Lebermooses  
*Conocephalum conicum***

DISSERTATION

Zur Erlangung des Doktorgrades  
des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg

vorgelegt von  
**Stephanie Melching**  
aus Hamm/NRW

Hamburg 1999

*Für Lena und Tjark*

1. Gutachter: Prof. Dr. W.A. König

2. Gutachter: Prof. Dr. W. Francke

Tag der mündlichen Prüfung: 27. April 1999

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von September 1995 bis Juni 1998 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. W.A. König am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. W.A. König danke ich für die interessante Themenstellung, seine Unterstützung und das fortwährende Interesse am Verlauf der Arbeit.

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Ätherische Öle</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Moose als Quelle biologisch aktiver Inhaltsstoffe</b>	<b>3</b>
1.2.1 Systematik der Abteilung Bryophyta	3
1.2.2 Vorkommen, Lebensweise und Fortpflanzung der Moose unter besonderer Berücksichtigung der thallosen Lebermoose	4
1.2.3 Bedeutung der Moose in der Ökologie und in den Naturwissenschaften	6
1.2.4 Biologisch aktive Inhaltsstoffe und neue Strukturen	8
<b>2 Problemstellung</b>	<b>11</b>
<b>3 Allgemeiner Teil</b>	<b>12</b>
<b>3.1 Sesquiterpene</b>	<b>12</b>
<b>3.2 Biosynthese der Sesquiterpene</b>	<b>16</b>
3.2.1 Biosynthese der Brasilane	20
3.2.2 Biosynthese der Aristolane und Nardosinane	20
<b>3.3 Analytische Methoden</b>	<b>22</b>
3.3.1 Grundlagen der Chromatographie	22
3.3.1.1 Dünnschichtchromatographie	23
3.3.1.2 HPLC	23
3.3.1.3 SFC und SFE	24
3.3.1.4 Gaschromatographie	24
3.3.2 Chiralität und die Grundlagen der Enantiomerenanalytik	25
3.3.3 Enantiomerentrennungen in der Gaschromatographie	29
3.3.3.1 Präparative Gaschromatographie	31
3.3.3.2 Zweidimensionale GC	32
<b>3.4 Spektroskopische Methoden</b>	<b>33</b>
3.4.1 2D-NMR	33
3.4.2 NMR-Untersuchungen via C,H-long-range-couplings (COLOC und HMBC-Messungen)	34

3.4.3 NMR-Untersuchungen unter Ausnutzung des Kern- OverhauserEffekts (NOE)	35
3.4.4 Überblick über die NMR-Methoden und ihre Anwendung	36
<b>4 Spezieller Teil</b>	<b>38</b>
<b>4.1 Vergleichende Übersicht über die vier Chemotypen des Lebermooses <i>Conocephalum conicum</i></b>	<b>38</b>
<b>4.2 Sesquiterpenoide Inhaltsstoffe des Lebermooses <i>Conocephalum conicum</i> Typ I</b>	<b>41</b>
4.2.1 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Isobazzanenaldehyd ( <b>27</b> ) und Charakterisierung von (+)-Isobazzanen ( <b>28</b> )	41
4.2.2 Isolierung und Charakterisierung von (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol ( <b>29</b> )	43
4.2.3 Isolierung und Charakterisierung von (+)-epi-Cubenol ( <b>32</b> )	45
4.2.4 Überblick über die isolierten und identifizierten Inhaltsstoffe aus <i>Conocephalum conicum</i> Typ I	46
<b>4.3 Inhaltsstoffe des Lebermooses <i>Conocephalum conicum</i> Typ II</b>	<b>48</b>
4.3.1 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Aristola-1(10),8-dien ( <b>54</b> )	48
4.3.2 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Nardosina-7,9,11-trien ( <b>55</b> )	50
4.3.3 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol ( <b>56</b> )	53
4.3.4 Übersicht über die isolierten und charakterisierten Inhaltsstoffe des Lebermooses <i>Conocephalum conicum</i> Typ II	55
4.3.5 Vergleich von Wasserdampfdestillat und SFE-Extrakt des Lebermooses <i>Conocephalum conicum</i> "Hamburg/Aumühle (Billeufer)"	56
<b>4.4 Inhaltsstoffe des Lebermooses <i>Conocephalum conicum</i> Typ III</b>	<b>58</b>
4.4.1 Isolierung und Charakterisierung von Conocephalenol ( <b>25</b> )	58

4.4.2 Isolierung und Charakterisierung von Brasila-5,10-dien (58)	59
4.4.3 Isolierung und Charakterisierung von Brasila-5(10),6-dien (59)	61
4.4.4 Isolierung und Charakterisierung von Brasila-1(6),5(10)-dien (60)	62
4.4.5 Isolierung und Charakterisierung von Brasila-1,10-dien (61)	63
4.4.6 Isolierung und Charakterisierung von Presilphiperfolan-1-ol (62)	64
4.4.7 Isolierung und Charakterisierung von (-)-Dactylol (23)	68
4.4.8 Isolierung und Charakterisierung von Bicyclogermacran-14-al (63)	68
4.4.9 Charakterisierung von (-)-Selin-11-en-4-ol (65)	69
4.4.10 Charakterisierung von (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-11-ol (69)	70
4.4.11 Übersicht über die isolierten und charakterisierten Inhaltsstoffe des Lebermooses <i>Conocephalum conicum</i> Typ III	70
4.4.12 Vergleich von Wasserdampfdestillat und Lösungsmittlextrakt des Lebermooses <i>Conocephalum</i> <i>conicum</i> Typ III "Zachersmühle"	72
<b>4.5 Sesquiterpenoide Inhaltsstoffe des Lebermooses</b>	
<b><i>Conocephalum conicum</i> Typ IV</b>	<b>74</b>
4.5.1 Isolierung und Charakterisierung von (-)-Aromadendran-5-ol (26)	74
4.5.2 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Aromadendr-4-en-12-ol (75)	75
4.5.3 Übersicht über die isolierten und charakterisierten Inhaltsstoffe des Lebermooses <i>Conocephalum conicum</i> Typ IV "Vorarlberg/Gauertal 2100 m Höhe"	78
<b>4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse der identifizierten Inhaltsstoffe der vier Chemotypen des Lebermooses</b>	
<b><i>Conocephalum conicum</i></b>	<b>79</b>

<b>4.7 Weitere isolierte und identifizierte Sesquiterpene</b>	<b>82</b>
4.7.1 Isolierung und Charakterisierung von Nardosina-9,11-dien ( <b>80</b> ) und (+)-Nardosina-1(10),11-dien ( <b>81</b> ) durch Umlagerung von (-)-Aristolen ( <b>37</b> )	82
4.7.2 Isolierung und Charakterisierung von (-)-Nardosina-1(10),11-dien ( <b>81</b> ) aus <i>Ptilidium ciliare</i>	86
4.7.3 Isolierung und Charakterisierung von Presilphiperfol-1-en ( <b>83</b> ) durch Dehydratisierung von Presilphiperfolan-1-ol ( <b>62</b> )	88
<b>5 Zusammenfassung</b>	<b>90</b>
<b>6 Summary</b>	<b>92</b>
<b>7 Experimenteller Teil</b>	<b>94</b>
7.1 Meßgeräte und Methoden	94
7.2 Isolierung von Sesquiterpenen aus <i>Conocephalum conicum</i>	
<b>Typ I</b>	<b>98</b>
7.2.1 (+)-Isobazzanenaldehyd ( <b>27</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Mutlangen"	98
7.2.2 (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol ( <b>29</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Uracher Wasserfall"	98
7.2.3 (+)-epi-Cubenol ( <b>32</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Uracher Wasserfall"	99
7.3 Isolierung von Sesquiterpenen aus <i>Conocephalum conicum</i>	
<b>Typ II</b>	<b>99</b>
7.3.1 (+)-Aristola-1(10),8-dien ( <b>54</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Botanischer Garten HH, Ch.: 200"	99
7.3.2 (+)-Nardosina-7,9,11-trien ( <b>55</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Botanischer Garten HH, Ch.: 200" und <i>Conocephalum conicum</i> "Aumühle/Hamburg (Billeufer)"	100
7.3.3 (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol ( <b>56</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Aumühle/Hamburg (Billeufer)" und <i>Pallavicinia lyellii</i>	100
7.3.4 3,4-Dimethoxystyrol ( <b>57</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Botanischer Garten HH, Ch.: 200"	101

<b>7.4 Isolierung von Sesquiterpenen aus <i>Conocephalum conicum</i></b>	
<b>Typ III</b>	<b>102</b>
7.4.1 Conocephalenol ( <b>25</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Zachersmühle"	102
7.4.2 Brasila-5,10-dien ( <b>58</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Zachersmühle"	102
7.4.3 Brasila-5(10),6-dien ( <b>59</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Zachersmühle"	103
7.4.4 Brasila-1(6),5(10)-dien ( <b>60</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Devils Bridge Wales"	103
7.4.5 Brasila-1,10-dien ( <b>61</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Zachersmühle"	104
7.4.6 (-)-Dactylol ( <b>23</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Zachersmühle"	104
7.4.7 Presilphiperfolan-1-ol ( <b>62</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Zachersmühle"	105
7.4.8 (-)-Selin-11-en-4-ol ( <b>65</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Zachersmühle"	105
7.4.9 Bicyclogermacren-14-al ( <b>63</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Zachersmühle"	106
<b>7.5 Isolierung von Sesquiterpenen aus <i>Conocephalum conicum</i></b>	
<b>Typ IV</b>	<b>106</b>
7.5.1 (-)-Aromadendran-5-ol ( <b>26</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Vorarlberg/Gauertal 2100 m Höhe"	106
7.5.2 (+)-Aromadendr-4-en-12-ol ( <b>26</b> ) aus <i>Conocephalum conicum</i> "Vorarlberg/Gauertal 2100 m Höhe"	107
<b>7.6 Isolierung weiterer Sesquiterpene</b>	<b>107</b>
7.6.1 Nardosina-9,11-dien ( <b>80</b> ) aus der Umlagerung von (-)-Aristolon ( <b>37</b> )	107
7.6.2 Nardosina-1(10),11-dien ( <b>80</b> ) aus <i>Ptilidium ciliare</i>	108
7.6.3 Presilphiperfolan-1-en ( <b>83</b> ) aus der Umlagerungsreaktion von Presilphiperfolan-1-ol ( <b>62</b> )	108
<b>8 Spektrenanhang</b>	<b>110</b>
<b>9 Gefahrstoffanhang</b>	<b>114</b>
<b>10 Literatur</b>	<b>115</b>

# 1 Einleitung

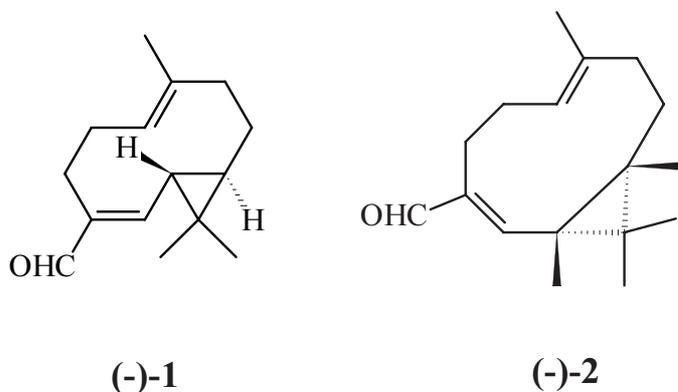
## 1.1 Ätherische Öle

Ätherische Öle sind Gemenge mehrerer, oft sehr zahlreicher - chemisch teils untereinander verwandter, teils verschiedenartiger, meist flüchtiger und flüssiger, seltener fester (kristallisierender) - organischer Verbindungen. Sie zeichnen sich durch oft starken und für die einzelnen ätherischen Öle charakteristischen, vorwiegend angenehm aromatischen, teilweise auch unangenehmen bis widerlichen Geruch aus. Hauptbestandteile des ätherischen Öls sind terpenoide Kohlenwasserstoffe, wobei die Geruchseigenschaften vorwiegend durch die flüchtigen Monoterpene bestimmt werden [1-3]. Der Name stammt von der lateinischen Bezeichnung für ätherisches Öl, Aetheroleum zur Unterscheidung von dem fetten Öl, Oleum. Beispiele für ätherische Öle sind Lavendel-, Rosen-, Orangen-, Anis- oder Zimtöl. Man gewinnt ätherische Öle durch Wasserdampfdestillation zerkleinerter Pflanzenteile, wobei es hier wegen der hohen Temperaturen zu Änderungen in der Ölzusammensetzung und zu Artefaktbildung kommen kann [4].

Die duftenden Eigenschaften der ätherischen Öle wurden bereits von den Ägyptern im Jahre 3200 v. Chr. genutzt, die zur Herstellung duftender Essenzen und Parfums zunächst verschiedene Pflanzen (wie z.B. Lilienblüten) auspressten [5, 6]. Die Verwendung von Riechstoffen zur Verhütung von Infektionsübertragungen sowie für das Bewahren von Lebensmitteln vor dem Verderb reicht bis in Vorgeschichte der asiatischen, amerikanischen und am Mittelmeer ansässigen Völker zurück. So wurden in frühesten Zeiten Leichname mit Balsamen oder ätherische Öle enthaltenden Pflanzenteilen behandelt, um sie vor Fäulnisverfall zu schützen. Von den hervorragenden medizinischen Eigenschaften und dem stark desinfizierenden Duft des Lavendels schrieb im 12. Jahrhundert die berühmte Äbtissin Hildegard von Bingen und Ende des 19. Jahrhunderts erschienen eine Reihe von Arbeiten, die die abtötende Wirkung verschiedener ätherischer Öle (Rosmarin, Eukalyptus- und Sandelholzöl) auf Mikroorganismen beschrieben [7]. In den fünfziger Jahren des 20. Jahrhunderts schließlich wurden Zusammenhänge zwischen der keimhemmenden Wirkung und der Struktur der einzelnen Komponenten ätherischer Öle untersucht. Aus diesen Untersuchungen geht u.a. hervor, daß eine höhere Anzahl an Doppelbindungen zu größerer Wirksamkeit führt und daß Ketone - vor allem solche mit niedriger Molmasse - besonders wirksam sind [8, 9].

Durch die wesentlich leistungstärkere Analytik ist es heutzutage möglich, in größerem Umfang und mit weniger pflanzlichen Material einzelne Wirkqualitäten ätherischer Öle bestimmten Inhaltsstoffen zuzuordnen [10], wie bspw. die bakteriostatische und fungi-

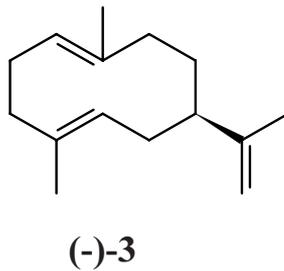
statische Aktivität von Terpenen, die sich von Carvon oder Campher ableiten [11] oder auch die wachstumshemmenden Eigenschaften des Lepidozenal (**1**) oder Isobicyclogermacrenal (**2**) auf Blättern und Wurzeln von Reiskeimlingen [12, 13].



**Abbildung 1:**  
(-)-Lepidozenal (**1**) und  
(-)-Isobicyclogermacrenal (**2**)

Hier wird für die pharmazeutische Industrie auch in Zukunft ein Bedarf an der Gewinnung und Analyse ätherischer Öle und der Strukturaufklärung der Inhaltsstoffe bestehen. Die Suche nach Heilpflanzen bzw. nach den für die medizinische Wirkung verantwortlichen Komponenten gewinnt nach einem Boom der synthetischen Chemie in den 70er und 80er Jahren - auch vor dem Hintergrund des ungebrochenen Trends zur "grünen Medizin" - wieder zunehmend an Bedeutung [14], da man sich eine Behandlung ohne die Nebenwirkungen chemisch-synthetischer Medikamente erhofft [15]. Die Phytotherapie, die Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten des Menschen durch Pflanzen, Pflanzenteile und deren Zubereitungen [16], hat nicht mehr den Charakter der Behandlung durch Kräuterfrauen und Hexen, sondern ist eine angesehene Wissenschaft.

In höheren Pflanzen werden ätherische Öle in Blüten, Früchten, Blättern, Wurzeln, Rhizomen und Hölzern, weniger häufig in Stengeln und Rinden gebildet [17]. Niedere Pflanzen produzieren im allgemeinen nur wenig oder überhaupt keine ätherischen Öle. Flechten, Farne und die Lebermoose stellen Ausnahmen dar. In den Lebermoosen sind die ätherischen Öle in speziellen Ölkörpern, die je nach Moosart unterschiedliche Größe haben, eingeschlossen [18]. Lange hatte man angenommen, die ätherischen Öle in den Pflanzen seien lediglich Abfallprodukte des Stoffwechsels. Mittlerweile weiß man, daß sie teilweise in den pflanzlichen Stoffwechsel wieder überführt und dort weiter metabolisiert werden. In tierischen Organismen z.B. bei Insekten können Sesquiterpene, z.B. Germacren A (**3**) als Alarmpheromon wirken [19].



**Abbildung 2:**  
(-)-Germacren A

## 1.2 Moose als Quelle biologisch aktiver Naturstoffe

### 1.2.1 Systematik der Abteilung Bryophyta

Die Pflanzengruppe der Moose stellt eine eigene Abteilung - Bryophyta - mit 22000 überwiegend landbewohnenden Arten in dem Organisationstyp der Embryophyten dar. Die Moose gehören zu den "echten" Landpflanzen, die sich vor etwa 300 Mio. Jahren (die ältesten fossilen Funde sind solche von thallosen Lebermoosen und stammen aus dem Oberdevon) aus dem Grenzbereich zwischen Wasser und Land ("Gezeitenalgen", Urtangen, Thallasiophyta) [20] oder parallel zu den übrigen Sproßpflanzen aus Grünalgen entwickelt haben. Eine kürzlich veröffentlichte Untersuchung zeigt, daß die Lebermoose zu den ältesten Landpflanzen gehören. Ihnen fehlen genauso wie den Grünalgen, aber nicht den Laub- und Hornmoosen, drei mitochondriale Introns, was auf ihr relatives Alter zwischen dem der Wasser- und dem der Landpflanzen schließen läßt [21].

Die Moose werden mit den Farnen zu einem Organisationstyp zusammengefaßt, da sie einer gemeinsamen Organisationsstufe (ausgedrückt durch die Anzahl der verschiedenen Zellsorten innerhalb einer Pflanzengruppe) zugehörig sind, deren wesentlichstes Merkmal die Archegonien sind [22]. Innerhalb der 15. Abteilung der Bryophyta unterscheidet man drei Klassen von Moosen: Hornmoose (Anthocerotae), Lebermoose (Hepaticae) und Laubmoose (Musci). Die Leber- und die Laubmoose sind jeweils in drei Unterklassen unterteilt, von denen im folgenden nur die Unterteilung der Hepaticae näher klassifiziert wird.

Abteilung: Bryophyta, Moospflanzen

1. Klasse: Anthocerotae, Hornmoose
2. Klasse: Hepaticae, Lebermoose
  - 2.1. Unterklasse: Sphaerocarpaceae (Ordnung Sphaerocarpaceales)
  - 2.2 Unterklasse: Marchantiidae

2.2.1. Ordnung: Marchantiales

2.2.1 Ordnung: Ricciales

2.3. Unterklasse: Jungermanniidae

2.3.1. Ordnung: Calobryales

2.3.2. Ordnung: Jungermanniales

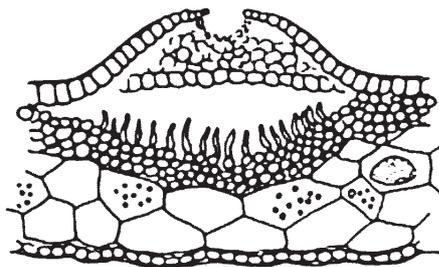
2.3.3. Ordnung: Metzgeriales

3. Klasse: Musci, Laubmoose [23]

Es ist bislang nicht möglich, den genauen stammesgeschichtlichen Verlauf deutlich zu machen, da fossile Funde von Übergangsorganismen bzw. von Organismen, die zur gleichen Zeit nebeneinander existiert haben, fehlen oder unsicher sind [24, 25]. Aus morphologischer Sicht vermitteln die Moose zwischen der Organisationsstufe der Lagerpflanzen (Thallophyten) und der der Sproßpflanzen (Kormophyten). Einige Lebermoose haben einen thallosen Vegetationskörper (z.B. *Conocephalum*, *Marchantia*, *Pellia*), während die "foliosen" Lebermoose - wie z.B. *Jungermannia*, *Lophocolea* - schon in Achse und Blättchen gegliedert sind [26]. Bei den thallosen Lebermoosen beobachtet man eine fortschreitende innere Differenzierung des Thallus bei ziemlich gleichbleibender äußerer Form, während die foliosen eine zunehmend äußere Differenzierung zeigen. Der Name ‚Lebermoos‘ stammt aus dem Mittelalter, da Thallusstücke von *Conocephalum* in ihrer Form an Leberlappen erinnern. Nach der Signaturlehre wurde *Conocephalum* als Heilpflanze gegen Leberleiden genutzt und der Name ‚Lebermoos‘ wurde später auf die gesamte Pflanzengruppe übertragen [27].

### **1.2.2 Vorkommen, Lebensweise und Fortpflanzung der Moose unter besonderer Berücksichtigung der thallosen Lebermoose**

Die Wasser- und Nährstoffaufnahme der Moose erfolgt über die gesamte Oberfläche. In den meisten Fällen fehlt ein inneres Wasserleitungssystem, das einen Beitrag zur Wasserversorgung im Organismus leisten könnte. Aus diesen Gründen sind die Moose in ihrem Lebensraum an besonders feuchte oder nasse Standorte gebunden, wie nebelreiche Wälder, feuchte oder wasserüberrieselte Felsen. Viele Moose sind wechselfeucht (poikilohydrisch). Dies ermöglicht ihnen, längere Austrocknungsphasen zu überleben, wodurch sie auch an extrem trockenen Standorten (transkaspische Wüstengebiete, Wüste Karoo in Südafrika) zu finden sind. Moose sind Landpflanzen, ihre Kutikula aber ist dünn und schützt sie nicht vor Austrocknung, die Rhizoiden sind schwach ausgeprägt und dienen mehr zum Festhalten am Untergrund als zur Aufnahme von Wasser und zum Gasaustausch mit der Umgebung gibt es nur bei einigen Arten Atemporen.



**Abbildung 3:**  
Atempore von  
*Conocephalum conicum*

Was wir als Moospflanze bezeichnen, ist der Gametophyt mit haploidem Chromosomensatz, der - im Gegensatz zu dem Erscheinungsbild der Gefäßpflanzen - im Vergleich zum Sporophyten (mit diploidem Chromosomensatz) eine höhere morphologische und anatomische Ausdifferenzierung erfahren hat. Das Lebermoos *Conocephalum conicum* bspw. hat eine haploide Anzahl von 8 - 9 Chromosomen [28]. Der Sporophyt der Lebermoose entsteht aus einer befruchteten Eizelle, die in einem Archegonium eingeschlossen ist [25].

Aus Oberflächenzellen am Ende des Thallus bilden sich die Antheridienstände (Träger der männlichen Erbanlagen) als ovale scheibenförmige Bildungen. Bei den Archegonien teilt sich eine Oberflächenzelle in zwei übereinanderliegende Tochterzellen, aus der unteren Zelle entsteht der Stiel des Archegoniums und aus der oberen durch weitere Teilungen die Deckel-, Bauchkanal- und Halskanalzellen und die Eizelle [22]. Bei dem getrenntgeschlechtlichen Lebermoos *Conocephalum conicum* ist der Stiel 4 - 6 cm lang mit einem kugelförmigen Köpfchen mit 6 - 8 Sporogonhüllen auf der Unterseite [29]. Die Befruchtung erfolgt durch Übertragung der nur im Wasser lebensfähigen begeißelten Spermatozoiden im Tau (bei innerhalb einer Hülle sitzenden Archegonien und Antheridien) oder durch spritzende oder aufprallende Regentropfen auf die geöffneten Archegonien bei auf verschiedenen Pflanzen stehenden Ständen.

Die Lebermoossporogonen enthalten ein- oder mehrschichtige Wände, die ein Gewebe aus anfänglich gleichartigen Zellen umschließen. Die Zellen werden inäqual in zwei Tochterzellen geteilt, von denen sich die eine (oft die kleinere) nicht mehr teilt. Die andere macht sehr schnell eine Reduktionsteilung durch und bildet Sporen. Die kleinen Zellen differenzieren sich zu Schleuderfäden, Elateren, die unterschiedlich aussehen. In der Regel ist ihre Wand mit spiralförmigen Verdickungen versteift. Während der Sporenbildung versorgen die Elateren die jungen Sporen mit Nährstoffen, anschließend sterben sie ab. Nach der Öffnung der Wandkapsel verdunsten die Wasserreste, die sich im Innern der Elateren oder der Wände befinden. Dadurch verkürzt sich die Membran und zieht die Spiralbänder enger zusammen, bis die Spannung im Innern der Elaterenwände so groß geworden ist, wie die Kräfte, die die Wasserteilchen zusammenhalten. Geht die Verdunstung noch weiter, dann reißt die Kette der Wasserteilchen, die

Spannung der Wand wird schlagartig aufgehoben und die Verdrehung der Elateren rückgängig gemacht. Durch diese ruckartige Bewegung werden die Sporen, die in der Nähe der Elateren liegen, aus der Kapsel herausgeschleudert [22]. Sporen können auf diese Weise 4 - 5 cm weit geschleudert werden [30].

Die vegetative Vermehrung spielt bei den Moosen eine große Rolle. Ihr dienen spezielle "Einrichtungen", die als Brutkörper bezeichnet werden. *Conocephalum conicum* z.B. bildet Knospen auf der Thallusunterseite und Sprossungen am Thallusscheitel [29].

### **1.2.3 Bedeutung der Moose in der Ökologie und in den Naturwissenschaften**

Moose sind ubiquitär verbreitet. Sie bedecken gemeinsam mit den Flechten ca. 10 % der gesamten kontinentalen Erdoberfläche [31]. In Wäldern und in den arktischen Ökosystemen spielen Moose und Flechten eine gewisse Rolle in der Nahrungsversorgung, da sie selbst Nahrung einer großen Anzahl von Invertebraten und einiger Wirbeltiere (Lemminge, einige Vogelarten) sind [32]. Die Bedeutung der Moose im Nahrungskreislauf von Wäldern wird an einer Studie von Rieley et al. deutlich, die einen Eichenwald in Nord Wales untersucht haben. 90 % des Calcium-, Magnesium-, Kalium- und Natriumgehalts waren - dieser Studie zufolge - in Moosen enthalten und Moose waren vor allen anderen Pflanzen für den Mineralienaustausch des Ökosystems verantwortlich. Es gibt mehrere Arten von Moosen, die als Pionierpflanzen bei der Besiedlung unverwitterten Gesteins und nackten Bodens tätig sind und damit die Keimung und die ersten Wachstumsphasen weiterer (höherer) Pflanzen erst ermöglichen.

Moose bilden eine weiche polsterförmige Schicht in unseren Wäldern, die die Wirkung eines Schwamms zum Speichern von Wasser erzielt. Teilweise legen sie sich so nah an den Untergrund, daß in den Zwischenräumen von Thallus und Substrat Wasser gespeichert werden kann. Einige Moose haben zur Wasserspeicherung spezielle "Einrichtungen" ausgebildet, wie die umgeklappten Unterlappen folioser Lebermoose, die die Form von Wassersäckchen haben oder die zusätzlichen Kapillarräume der Torfmoose, in denen Wasser dochtartig festgehalten und transportiert werden kann [26]. Moose sind als Indikatoren für Feuchtigkeit, Frischezustand und Säuregrad des Substrates aber auch für Klimaveränderungen (Temperaturzunahme, Niederschlagsabnahme) und für Stickstoffeinträge von besonderer Bedeutung [20, 33]. Die Fähigkeit, über die gesamte Oberfläche Wasser, Nähr- aber auch Schadstoffe aufzunehmen, macht sie genauso wie die Flechten zu ausgezeichneten Indikatoren für Luftverschmutzung. Seit den siebziger Jahren werden Moose als Umweltmonitoren zur Indikation von

Schwermetallbelastungen eingesetzt [34, 35].

Als Heilpflanzen spielten Moose eine untergeordnete Rolle; es gibt nur wenige Berichte von in der Behandlung von Krankheiten genutzten Moosen. Es wird berichtet, daß in Frankreich *Marchantia polymorpha* als harntreibendes Medikament und eine konzentrierte Mischung von getrocknetem *Conocephalum conicum* gegen Gallensteinleiden gegeben wurden. In China hat man *Rhodobryum giganteum* als Medikament zur Behandlung der Herzgefäße verwendet, aber in keinem der beschriebenen Fälle wurden die biologisch aktiven Substanzen isoliert [36]. Noch bis in die achtziger Jahre ging man davon aus, daß in Moosen keine interessanten und möglicherweise pharmakologisch wirksamen Inhaltsstoffe enthalten sind [37].

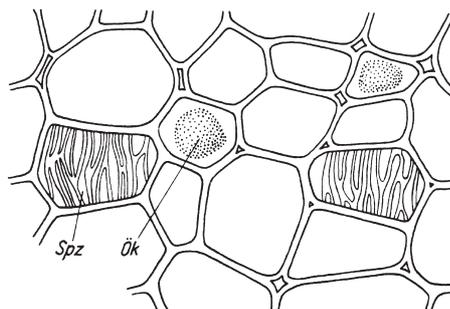
Aus diesen Gründen und wegen der schwierigen Beschaffung und der mühevollen Aufarbeitung genügender Mengen an Pflanzenmaterial wurde die chemische Analyse der Moose lange Zeit vernachlässigt, fand aber in den letzten 25 Jahren - durch die Isolierung und Strukturaufklärung der Sekundärmetaboliten - einen großen Aufschwung [18]. Die Isolierung und Strukturaufklärung einzelner Komponenten der ätherischen Öle von Lebermoosen, hat ergeben, daß sehr viele isoprenoide Verbindungen enthalten sind, die man in den ätherischen Ölen höherer Pflanzen ebenfalls findet, allerdings häufig in enantiomerer Form [38-41].

Der Isolierung und Strukturaufklärung der isoprenoiden Inhaltsstoffe aus Lebermoosen kommt vor dem Hintergrund der möglicherweise unterschiedlichen biologischen Wirksamkeiten von Enantiomeren, der in vielen Fällen ungeklärten zugrundeliegenden Biosynthesewege und nicht zuletzt wegen der zum Teil nur in Moosen gebildeten Verbindungen (siehe unten) eine gewisse Bedeutung zu. Die Charakterisierung der Inhaltsstoffe der ätherischen Öle hat aber auch für die Chemotaxonomie eine Bedeutung. Die chemische Untersuchung eines Organismus kann sehr viel präziser erfolgen als die Untersuchung morphologischer Strukturen, so daß die Klassifikation auf Grundlage der Chemotaxonomie eine gute Hilfestellung bei schon sehr lang existierenden Unklarheiten oder bei morphologischen Konfusionen sein kann [42].

Die Problematik der taxonomischen Klassifizierung trat bei der Art *Wiesnerella* auf. Seit Ende des 19. Jahrhundert wurden hier unterschiedliche Vorschläge der Zuordnung gemacht. Asakawa et al. untersuchten die unpolaren Inhaltsstoffe von 10 Arten von *Wiesnerella denudata* [43-46] und konnten durch vergleichende Untersuchungen mit den Inhaltsstoffen *Conocephalum conicum* zeigen, daß *Wiesnerella* eine Species der Conocephalaceae ist [42].

### 1.2.4 Biologisch aktive Inhaltsstoffe und neue Strukturen

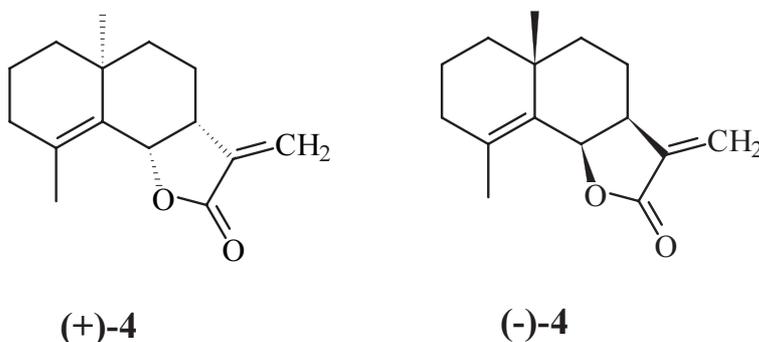
Bezüglich der Sekundärmetaboliten ist die Klasse der Lebermoose am besten untersucht; in Pflanzen dieser Gattung findet man Ölkörper, in denen terpenreiche ätherische Öle enthalten sind.



**Abbildung 4:**  
Thallusquerschnitt von *Marchantia polymorpha* mit Darstellung eines Ölkörpers (Ök - Ölkörper; Spz - Speicherzelle mit Wandverdickungen)

Über die biologische Bedeutung der Speicherung ätherischer Öle für die Pflanze ist man sich bis heute nicht im klaren. Versuche haben gezeigt, daß es sich nicht um Nahrungsreserven handelt [22]. Die bei den Marchantiales bekannten sekundären Pflanzenstoffe können für Pflanzenfresser toxisch oder für konkurrierende Pflanzen pathogen sein, aber ihre Wirkung wurde noch nicht experimentell unter natürlichen Bedingungen geprüft [42].

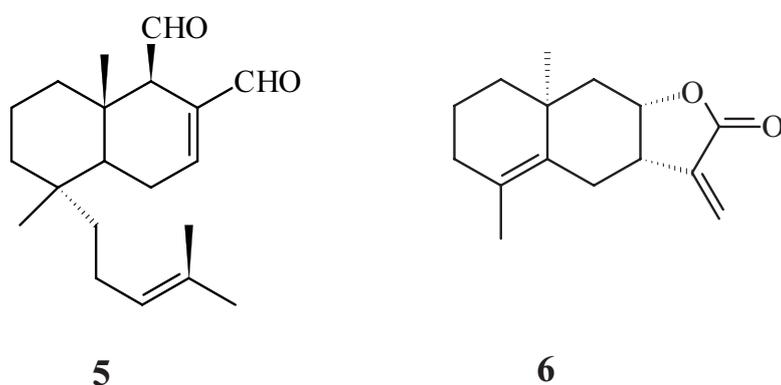
Erste Beispiele von aus Lebermoosen isolierten auf den menschlichen Körper biologisch aktiv wirkenden Inhaltsstoffe sind die Sesquiterpenlactone (-)- und (+)-Frullanolid (**4**), isoliert aus *Frullania tamarisci* und *Frullania dilatata* [47, 48]. Diese Substanzen wirken als Hapten einer Kontakt-Dermatitis der sog. Waldarbeiterallergie, die auftreten kann, wenn man mit moosüberzogenem Holz arbeitet [49].



**Abbildung 5:**  
(+)- und (-) Frullanolid

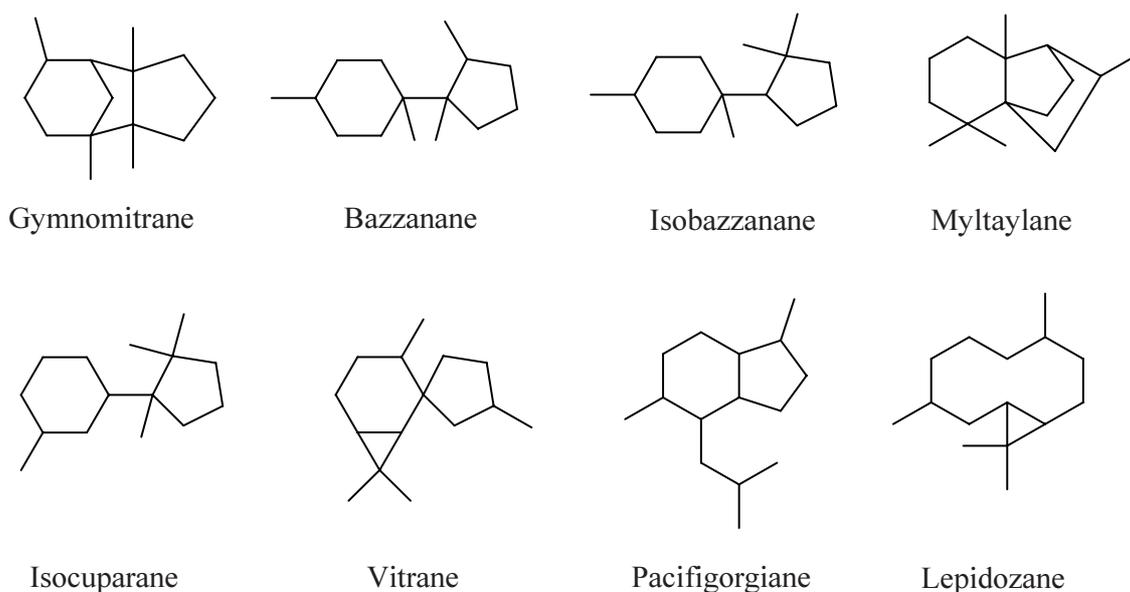
Einige der bislang aus Lebermoosen isolierten Sesqui- und Diterpene sind für den bitteren und scharfen Geschmack etlicher Lebermoose verantwortlich und besitzen z. T. biologische Aktivität, wie antibiotische, cytotoxische, fungitoxische, wachstumsregulatorische oder piscizide Wirkungen [36].

Es sind vor allem aus Moosen isolierte Sesquiterpenlactone und -aldehyde, die biologische Aktivitäten aufweisen; so wirkt das Sesquiterpentialdehyd Sacculatal (**5**) stark fischtoxisch [50] und das aus *Diplophyllum albicans* und *Diplophyllum taxifolium* isolierte Sesquiterpen Diplophyllin (**6**) zeigte in KB-Zellkulturen eine antikarzinogene Aktivität (ED<sub>50</sub> 1,4 - 12 µg/ml) gegen den beim Menschen auftretenden Hautkrebs [51].



**Abbildung 6:**  
Sacculatal (**5**),  
Diplophyllin (**6**)

Neben den Enantiomeren zu - als Naturstoffen höherer Pflanzen - bekannten Verbindungen werden gerade aus Lebermoosen neuartige Verbindungen mit z.T. bislang unbekanntem sesquiterpenoiden Gerüsten isoliert. Eine Auswahl dieser Gerüste gibt Abbildung 7.



**Abbildung 7:**  
Auswahl typischer Grundgerüste von Sesquiterpenen in Lebermoosen

## 2 Problemstellung

Das Kegelkopffmoos *Conocephalum conicum* (L.) Lindb. ist ein weltweit verbreitetes thalloses Lebermoos aus der Unterklasse der Marchantiales. Die Moose aus der Unterklasse der Marchantiidae zeichnen sich durch einen Thallus mit Atemporen aus, sowie durch vorhandene Elateren und Ölkörper [23]. Die Atemporen sind bei *Conocephalum conicum* deutlich als weiße Punkte inmitten von sechseckigen Feldern erkennbar. Der Thallus ist dunkelgrün, grob gefeldert, häufig glänzend, bis zu 2 cm breit und gabelig geteilt.



**Abbildung 8:** *Conocephalum conicum*

*Conocephalum conicum* bildet lappige, glänzende, meist dichte und nicht selten mehrere Quadratdezimeter große Überzüge an Ufern, auf Bachgeröll, feuchter Erde und auf schattigen, etwas feuchten oder nassen und meist kalkreichen Felsen aus. Man findet es vom Tiefland bis in ca. 2000 m Höhe. Die Pflanze weist beim Zerreiben einen terpenähnlichen Geruch auf und ist durch die fehlenden Brutbecher - die auf den Thallii der *Marchantia polymorpha* selten fehlen - kaum zu verwechseln [22, 29]

Das Auftreten von unterschiedlichen Chemotypen oder geographischen Rassen dieses Lebermooses ist lange bekannt. Drei in Japan untersuchte Chemotypen von *Conocephalum conicum* zeichnen sich durch unterschiedliche Duftnoten aus; während das eine süß und kampferartig riecht, duftet der zweite Chemotyp moosig und der dritte hat eine stark pilzartige Duftnote [52]. Untersucht wurden die geographischen Rassen

anhand der verschiedenen flavonoiden Inhaltsstoffe [53, 54] und kürzlich auch auf Grundlage der unterschiedlichen flüchtigen Komponenten [55].

Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit der Aufklärung der Inhaltsstoffe der vorhandenen Moosproben und der Zuordnung zu den in unserem Arbeitskreis vorliegenden unterschiedlichen vier Chemotypen des Lebermooses *Conocephalum conicum*. Die Strukturen der neuen Inhaltsstoffe sollten aufgeklärt und parallel dazu neue Sesquiterpene mit analogem Gerüst aus anderen Moosen (*Pallavicinia lyellii*, *Ptilidium ciliare*) isoliert werden. Umlagerungs- und Dehydratisierungsreaktionen sollten zu neuen Sesquiterpenen führen, die in nicht isolierbaren Mengen in den ätherischen Ölen von *Conocephalum conicum* enthalten sind, gerüstanaloge Vertreter zu bereits isolierten Verbindungen darstellen oder zu Verbindungen führen, die bislang noch nicht als Naturstoffe identifiziert wurden.

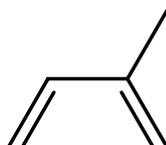
Weiterhin sollten die stereochemischen Parameter der isolierten sesquiterpenoiden Inhaltsstoffe mittels Gaschromatographie an chiralen Phasen, Drehwertmessungen und Überführung in Komponenten bekannter Stereochemie untersucht werden.

Es sollte untersucht werden, welchen Einfluß verschiedene Herstellungsverfahren der ätherischen Öle auf die beobachteten Inhaltsstoffe haben. Hierzu sollten durch Wasserdampfdestillation gewonnene ätherische Öle mit Lösungsmittel- und SFE-Extrakten verglichen werden.

### 3 Allgemeiner Teil

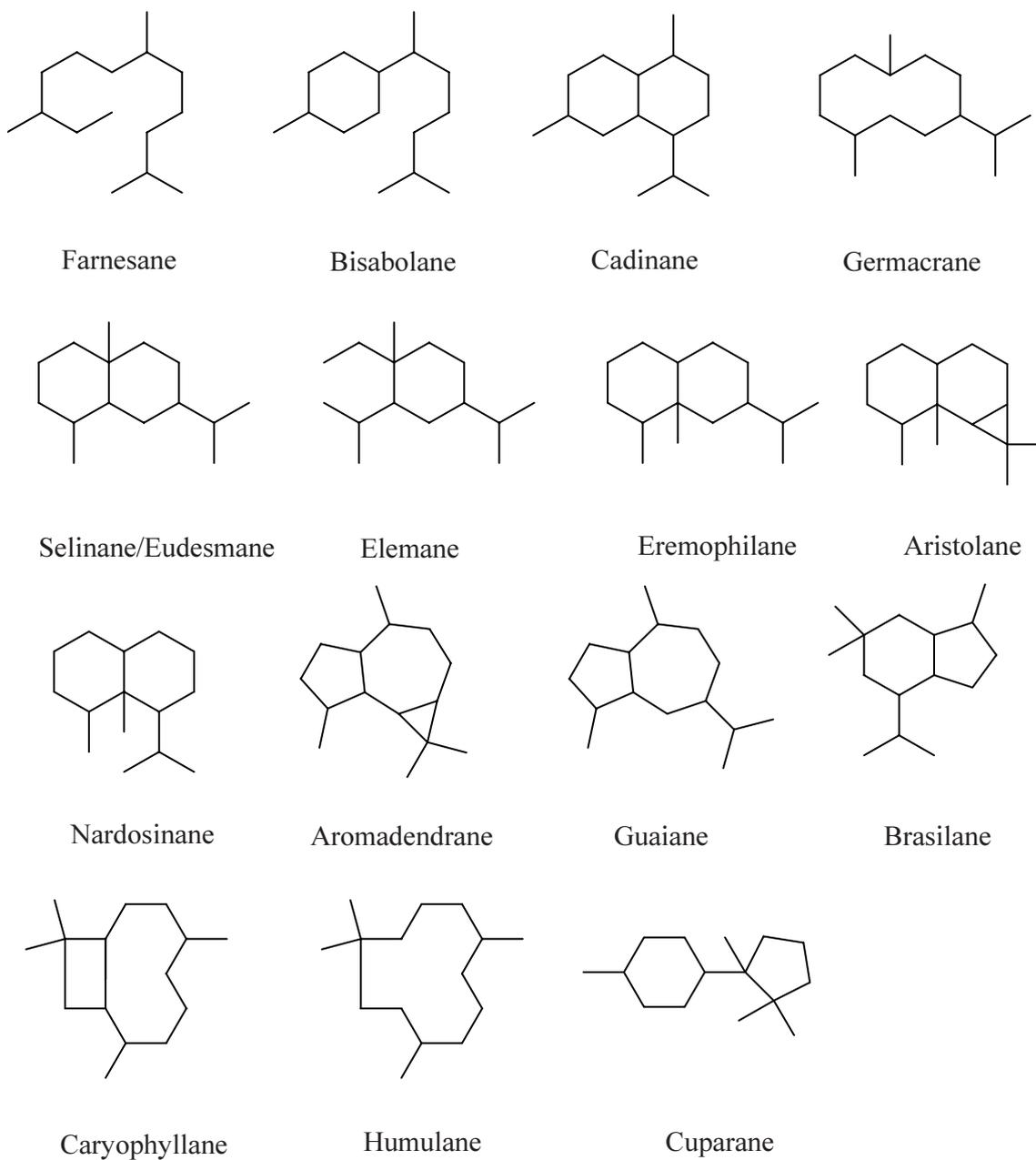
#### 3.1 Sesquiterpene

Die Terpene sind eine außerordentlich große Gruppe von Naturstoffen, deren allgemeine Einheit das Isopren ist.



**Abbildung 9:**  
Isopren

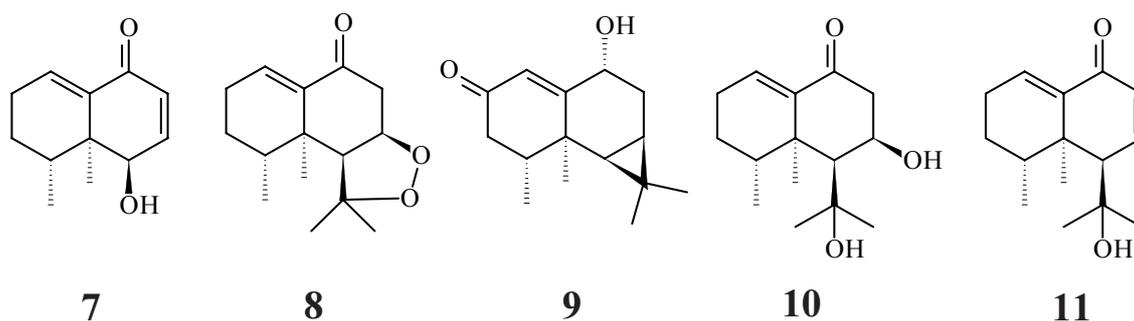
Durch Kopf-Schwanz-Verknüpfung einer definierten Anzahl von Isopreneinheiten ( $(C_5H_8)_n$ ) werden formell die Monoterpene (2 Einheiten), Sesquiterpene (3 Einheiten), Diterpene (4 Einheiten), Triterpene (6 Einheiten) usw. aufgebaut. Diese empirische "Isoprenregel" wurde 1921 von Ruzicka aufgestellt [56, 57]. Demzufolge haben Sesquiterpene eine allgemeine Summenformel von  $C_{15}H_{24}$ ; sie können mono-, bi-, tri- oder tetracyclisch aufgebaut sein und weisen eine große Vielfalt an möglichen Strukturen auf, von denen man auch heute noch Verbindungen mit bislang nicht bekannten Gerüsten identifiziert [58]. Sesquiterpene findet man vor allem in den ätherischen Ölen höherer Pflanzen, aber auch in Pilzen [59], marinen Organismen [60], verschiedenen Farnpflanzen (z.B. *Pteridium aquilinum*) [3] und in Lebermoosen. Sesquiterpene mit dem gleichen Kohlenstoffgrundgerüst werden in einer Gruppe zusammengefaßt; schon seit langem bekannt sind die Farnesane, Bisabolane, Cadinane, Humulane, Germacrane und Selinane.



**Abbildung 10:**  
Auswahl einiger bekannter Sesquiterpengerüste

Die dehydrierten Verbindungen mit Molmasse 202 ( $C_{15}H_{22}$ ) oder 200 ( $C_{15}H_{20}$ ) und auch die entsprechend oxygenierten Moleküle wie Alkohole, Aldehyde, Carbonsäuren und Ketone, ebenfalls die zusätzlich drei- bis siebengliedrigen Ether- oder Furanringe enthaltenden Verbindungen werden den Grundgerüsten zugeordnet; weiterhin die durch Chlor oder Brom substituierten Sesquiterpene. Von einigen Sesquiterpengerüsten lassen sich Nor-Sesquiterpene ableiten, die 12 oder 14 Kohlenstoffatome enthalten [61].

Sesquiterpenlactone - hier findet man vor allem gesättigte oder  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\gamma$ -Lactone - sind in besonders hohem Maße biologisch aktiv, desweiteren Dialdehyde, Aldehyde, Ketone und Diole. Ein Beispiel für die cytotoxische Aktivität gegen P-388 Zellen der oxygenierten Sesquiterpene sind die aus *Nardostachys chinensis* - einer chinesischen Heilpflanze, die bei Magenbeschwerden und zu beruhigenden Zwecken eingesetzt wurde - isolierten Nardosinane, Nornardosinan bzw. Aristolane Desoxo-Narchinol-A (7), Nardosinon (8), Debilon (9), Nardosinondiol (10) und Kanshone A (11) [62].



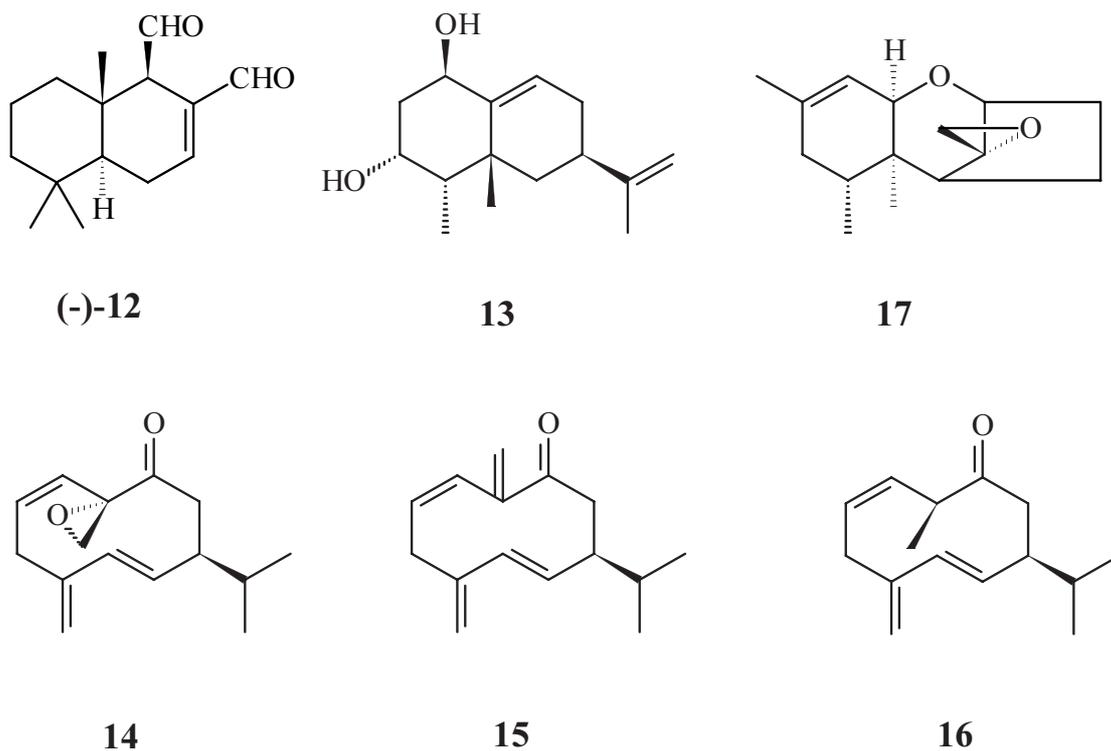
**Abbildung 11:**  
Biologisch wirksame Sesquiterpene mit Nardosinan- und Aristolangerüst

Sesquiterpene spielen als Wirkstoffe eine wichtige Rolle. So dienen sie Pflanzen, Pilzen, Insekten und Mikroorganismen als Abwehrstoffe. Das scharf schmeckende Polygodial (12) zum Beispiel ist eine insektenfraßhemmende Komponente der Polygonaceen - *Polygonum hydropiper* (Wasserpfeffer). Polygodial wirkt antimikrobiell, inhibiert das Pflanzenwachstum ist cytotoxisch und fischgiftig [63, 64]. Polygodial (12) wurde ebenfalls aus dem Lebermoos *Porella vernicosa* isoliert.

Sesquiterpene können Pflanzen auch als Streßmetabolite dienen. Capsidiol (13), das man aus Tabakpflanzen und Paprika (*Capsicum annuum*) isoliert hat, wird nur in einer - durch Pilzbefall hervorgerufenen - Streßsituation freigesetzt und wirkt fungizid [65, 66].

Bei Insekten und Schleimpilzen dienen Sesquiterpene als Sexualhormone und Hormone. So werden germacrenoide Pheromone wie Periplanon A (14), Periplanon D1 (15) und Periplanon D2 (16) von den Weibchen der amerikanischen Küchenschabe *Periplaneta americana* produziert [67, 68].

Weitere Beispiele für die biologische Aktivität vieler Sesquiterpene sind die aus auf Getreide und Getreideprodukten wachsenden Actomyceten und *Fungi imperfecti* isolierten Trichothecane, z.B. 3-Scirpen (17), die als Mycotoxine eine Rolle spielen und phyto-toxische, insektizide, fungizide, antivirale und cytotoxische Wirkungen haben [69].

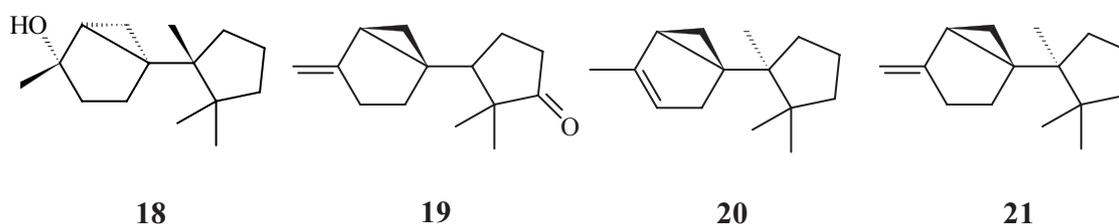
**Abbildung 12:**

Aus Pflanzen und Tieren isolierte sesquiterpenoide Wirkstoffe

Neben der Gerüststrukturvielfalt existiert in der Gruppe der Terpene eine hohe stereochemische Variabilität. Es wurde schon erwähnt, daß man in Moosen häufig die Enantiomere zu aus höheren Pflanzen isolierten Sesquiterpenen findet. Weiterhin gibt es bei  $n$  Stereozentren  $2^n$  mögliche Stereoisomere, die möglicherweise verschiedene biologische Aktivitäten haben, so daß der stereochemischen Untersuchung viel Zeit gewidmet werden muß. Vor diesem Hintergrund werden künftig verstärkt Totalsynthesen vorgenommen werden müssen, spektroskopische Untersuchungen in chiraler Umgebung - wie NMR-Untersuchungen mit Shiftreagenzien oder ORD- und CD-Messungen - und Derivatisierungen (wie Umlagerungen, Hydrierungen, Dehydratisierungen, Deoxygenierungen), die zu bekannten Strukturen führen, deren Stereochemie untersucht werden kann (siehe unten).

Da es sich bei den einzelnen Sesquiterpenen fast ausschließlich um isolierte Naturstoffe handelt, existiert eine Vielfalt an Trivialnamen, die auf die entsprechende Pflanze rückschließen lassen, Ausdruck besonderer Eigenschaften sind oder sich auf bereits isolierte Vertreter des gleichen Gerüsts beziehen. So wurde beispielsweise ein aus *Microbiota decussata* isolierter Alkohol mit Cyclocuparangerüst Microbiotol (**18**) genannt [70, 71]. Das gerüstanaloge aus *Mannia fragrans* isolierte, für den sehr starken und angenehmen Geruch verantwortliche Keton, wurde mit Grimaldon (**19**) (nach dem alten Namen der Pflanzenart Grimaldia) bezeichnet [72]. Und die entsprechenden aus

Microbiotol (**18**) durch Dehydratisierung herstellbaren, aber auch aus *Mannia fragrans* isolierten Sesquiterpenkohlenwasserstoffe wurden mit  $\alpha$ -Microbioten (**20**) und  $\beta$ -Microbioten (**21**) bezeichnet [73].



**Abbildung 13:**  
Einige Cyclocuparane

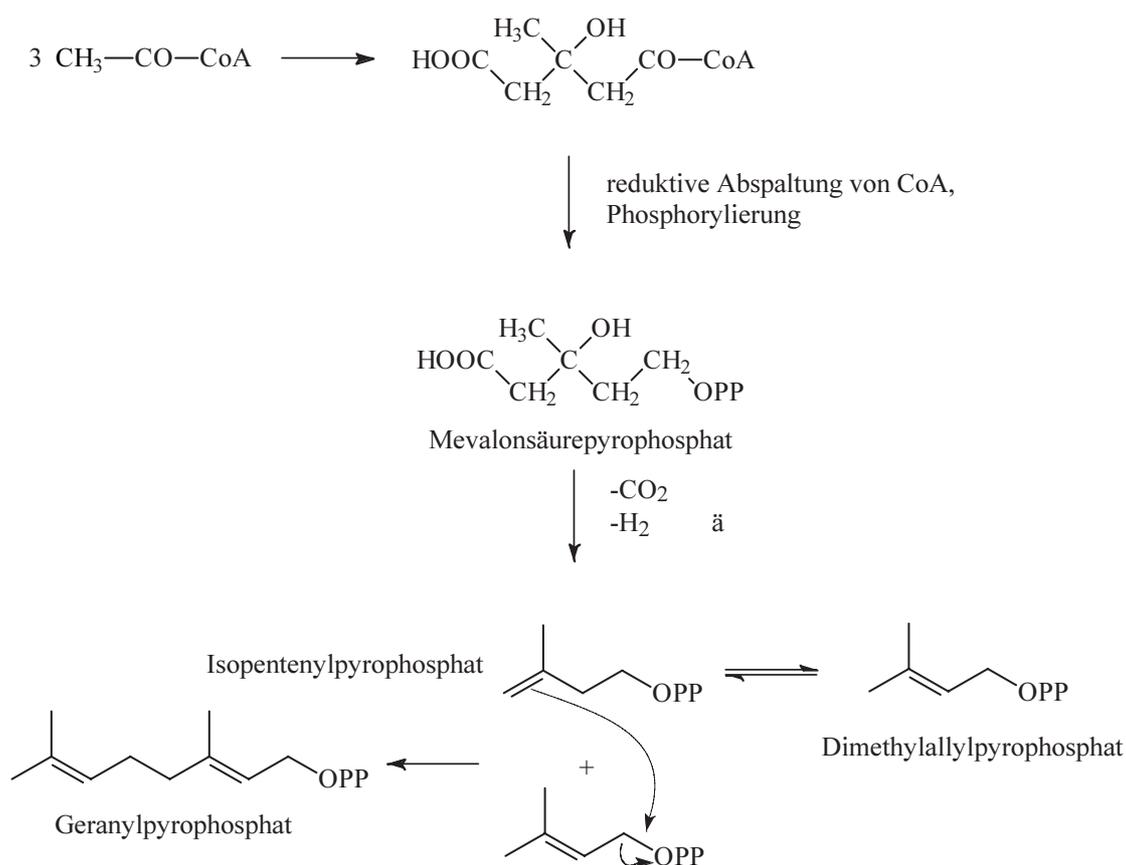
### 3.2 Biosynthese der Sesquiterpene

Die formale Aneinanderreihung mehrerer Isopreneinheiten zu Mono-, Sesquiterpenen usw. sagt zunächst nichts über die Biosynthese der Verbindungen aus, da Isopren selbst nicht die natürlich genutzte funktionelle Einheit sein kann. Die von Ruzicka 1953 "eingeführte" biogenetische Isoprenregel beschreibt die aktivierte Form des Isoprens und läßt Umlagerungen und Wasserstoff- und Methylgruppenverschiebungen zur biosynthetischen Bildung von Terpenen zu [74].

Unter Biosynthese versteht man den in Organismen ablaufenden enzymvermittelten Weg der Bildung der einzelnen Terpene. Die Biogenese dagegen ist eine rein hypothetische Betrachtung mit dem Ziel, sich den natürlichen Prozessen anzunähern und sie zu verstehen. Erst wenn man die einzelnen Reaktionsschritte bzw. intermediär gebildeten Verbindungen auch in vivo nachweisen kann oder Enzyme, die die Darstellung einzelner postulierter Verbindungen vermitteln, isoliert werden können, ist die Hypothese bewiesen. Biogenetische Abläufe können in Teilen im Labor mit Hilfe von sauer katalysierten Umlagerungen isolierter Verbindungen - sogenannte biomimetische Reaktionen - mit anschließender Isolierung der intermediär gebildeten Substanzen simuliert werden [75].

Terpene zählen zu den Substanzen, die sich biogenetisch von der Essigsäure ableiten; in der Biosynthese dieser Verbindungen ist das Coenzym A von zentraler Bedeutung [76]. Das Coenzym A stellt die aktivierte Essigsäure in Form ihres Thioesters zur Verfügung, der ein großes Übertragungspotential für Acetylgruppen hat. Aus drei Acetyl-CoA-Einheiten entsteht nach Reduzierung mit NADH die Mevalonsäure, die nach Aktivierung mit drei Einheiten ATP und Eliminierung von Phosphorsäure zu

Isopentenylpyrophosphat decarboxyliert wird. Isopentenylpyrophosphat kann zu Dimethylallylpyrophosphat isomerisiert werden. Durch Kopf-Schwanz-Verknüpfung zweier Moleküle von Isopentenylpyrophosphat kommt es zur Bildung von Geranylpyrophosphat.



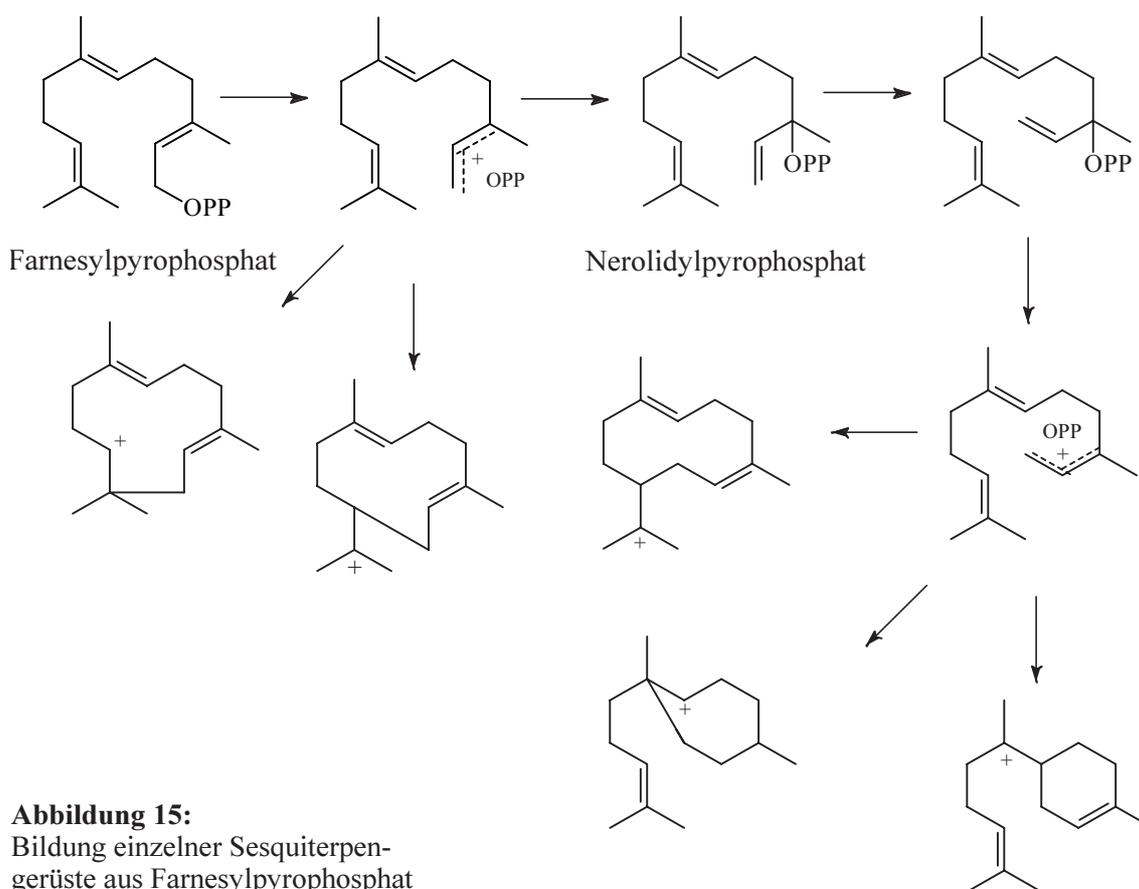
**Abbildung 14:**  
Bildung von Geranylpyrophosphat aus AcetylCoA

Diese gut untersuchte Reaktion wird durch die Farnesylpyrophosphatsynthetase katalysiert; sie beinhaltet eine elektrophile Addition des C-1 von Dimethylallylpyrophosphat an das C-4 von Isopentenylpyrophosphat. Die Reaktion verläuft stereospezifisch, wie die Studien von Cornforth und Popjak zum Cholesterinstoffwechsel ergeben haben [77].

Unter Anlagerung eines weiteren Moleküls Isopentenylpyrophosphat an Geranylpyrophosphat kommt es zur Bildung von 2-trans-6-trans-Farnesylpyrophosphat, welches - auch schon von Ruzicka und Hendrickson [78] - als biogenetischer Vorläufer nahezu aller Sesquiterpene angesehen wird. Im Falle der Mono-, Diterpene und Carotenoide

kann - beobachtet hat man das in isotopenmarkierten Experimenten - Isopentenylpyrophosphat in vivo auch über den Triose/Pyruvat-Weg entstehen [79].

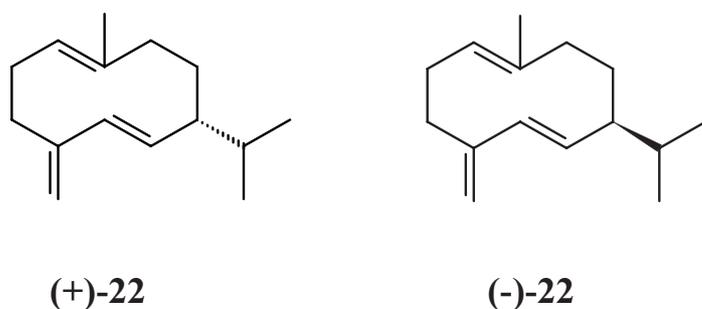
Der erste Schritt der Sesquiterpenbiosynthese ist die enzymatische Ionisierung des trans-trans-Farnesylpyrophosphat zu dem entsprechenden transoiden allylischen Kation-Pyrophosphatanion Ionenpaar. Von dieser Verbindung sind alle weiteren Umlagerungsschritte möglich, auch solche die zu sechsgliedrigen Ringsystemen führen. Hier wird zunächst Nerolidylpyrophosphat gebildet, welches die Reaktivität und konformative Flexibilität hat, zu solchen Systemen zu cyclisieren.



**Abbildung 15:**  
Bildung einzelner Sesquiterpen-  
gerüste aus Farnesylpyrophosphat

Die intermediär gebildeten allylischen Kationen greifen elektrophil an den Kohlenstoffatomen der Doppelbindungen an. Durch 1,2 oder 1,3-Hydrid-Verschiebungen können elektronisch und sterisch kontrollierte Cyclisierungen über die verbliebenen beiden Doppelbindungen stattfinden, durch Wagner-Meerwein-Umlagerungen, 1,2-Verschiebungen von Methylgruppen, 1,2- oder 1,3-Hydridverschiebungen oder auch durch Verlust der positiven Ladung durch Abspaltung eines Protons oder Anlagerung eines Nucleophils (wie Wasser oder das Pyrophosphatanion) können aus diesen Carbokationen eine ganze Reihe von Sesquiterpengerüsten abgeleitet werden.

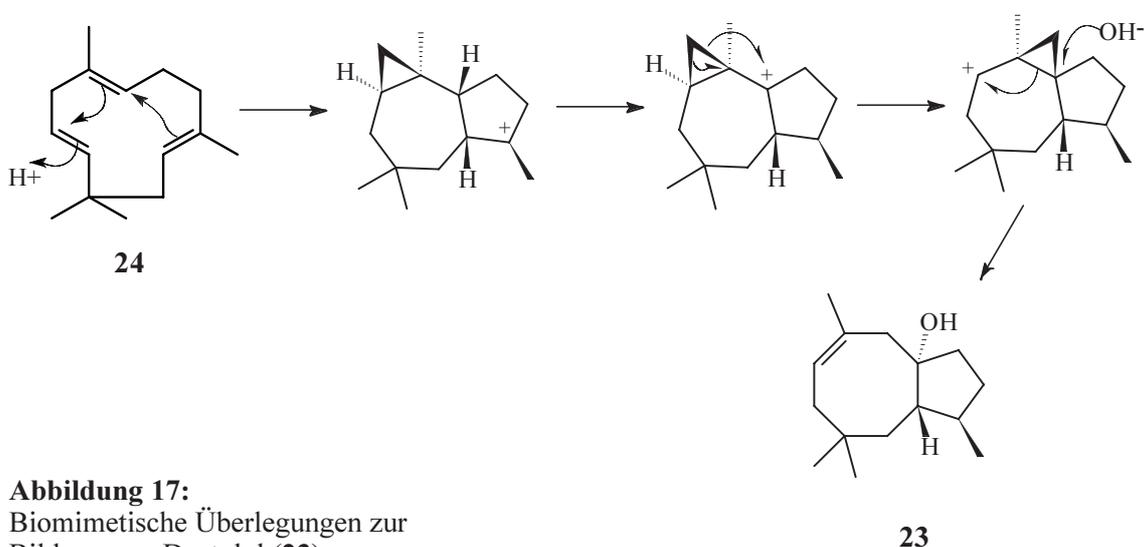
Viele dieser Synthasen (Cyclasen) sind bekannt, wie bspw. die Bisabolan-, Trichodien-, Aristolochen- und Humulen-synthase [80]. Die Cyclisierung des Farnesylpyrophosphats erfolgt im Fall der Cyclisierung zu Germacren D (**22**) in *Solidago canadensis* durch enantioselektive Synthasen [81].



**Abbildung 16:**  
(+)- und (-)-Germacren D

Trotz dieser großen Fortschritte um unser Wissen der Biosynthese, sind viele Erkenntnisse und Hypothesen noch nicht *in vivo* überprüft worden und bei selten auftretenden Gerüsten - wie einigen bislang nur aus Moosen isolierten Sesquiterpenen (siehe Abbildung 7) - gibt es noch großen Forschungsbedarf. Hier stützen sich die Erkenntnisse auf biomimetische Untersuchungen und biogenetische Überlegungen.

Für die Bildung von Dactylol (**23**) - einem Sesquiterpen mit Precapnellangerüst - bspw. geht man von einer Dreiringbildung des  $\alpha$ -Humulens (**24**) (führt zu den Africananen) mit anschließender 1,2-Verschiebung einer Methylgruppe mit sich öffnendem und wieder bildendem Dreiring und anschließendem nukleophilem Angriff einer Hydroxylgruppe aus [82].

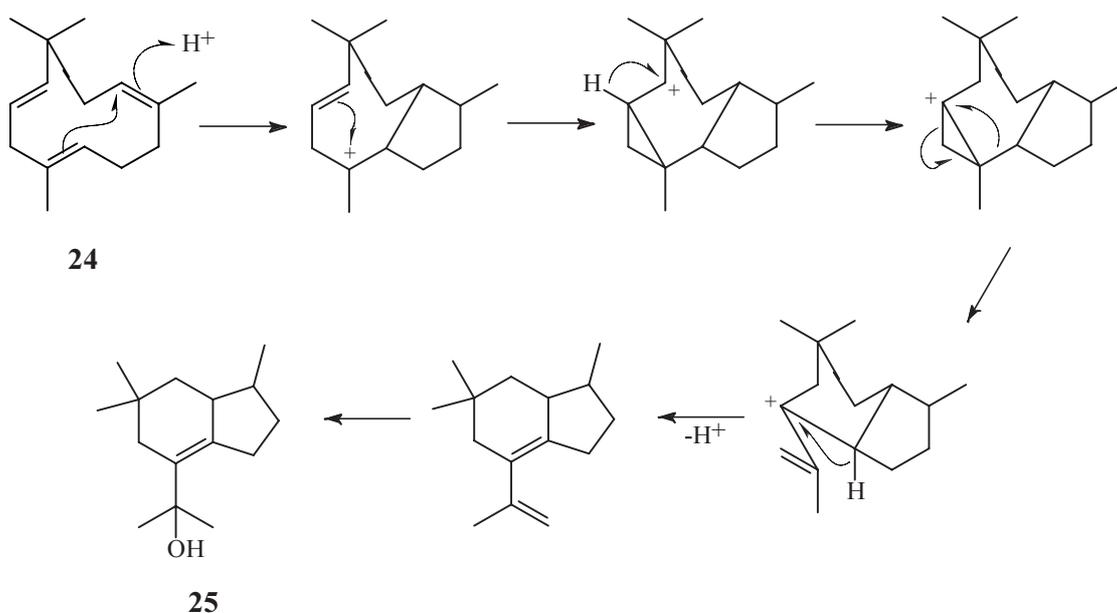


**Abbildung 17:**  
Biomimetische Überlegungen zur  
Bildung von Dactylol (**23**)

In den folgenden zwei Abschnitten werden biosynthetische Überlegungen zur Bildung von im Rahmen dieser Arbeit wichtigen Gerüstklassen - Sesquiterpene mit Brasilan-, Aristolan und Nardosinangerüst - vorgestellt

### 3.2.1 Biosynthese der Brasilane

Sesquiterpene mit Brasilangerüst sind schon seit langer Zeit in marinen Organismen bekannt und aus ihnen isoliert worden [83, 84]. Aus dem Lebermoos *Conocephalum conicum* ist erstmals ein Brasilanalkohol isoliert worden. Tori et al. haben Conocephalenol (**25**) synthetisiert [85, 86] und einen Vorschlag zur Biosynthese von Conocephalenol (**25**), ausgehend von einem Ringschluß des  $\alpha$ -Humulens (**24**), gemacht [87].



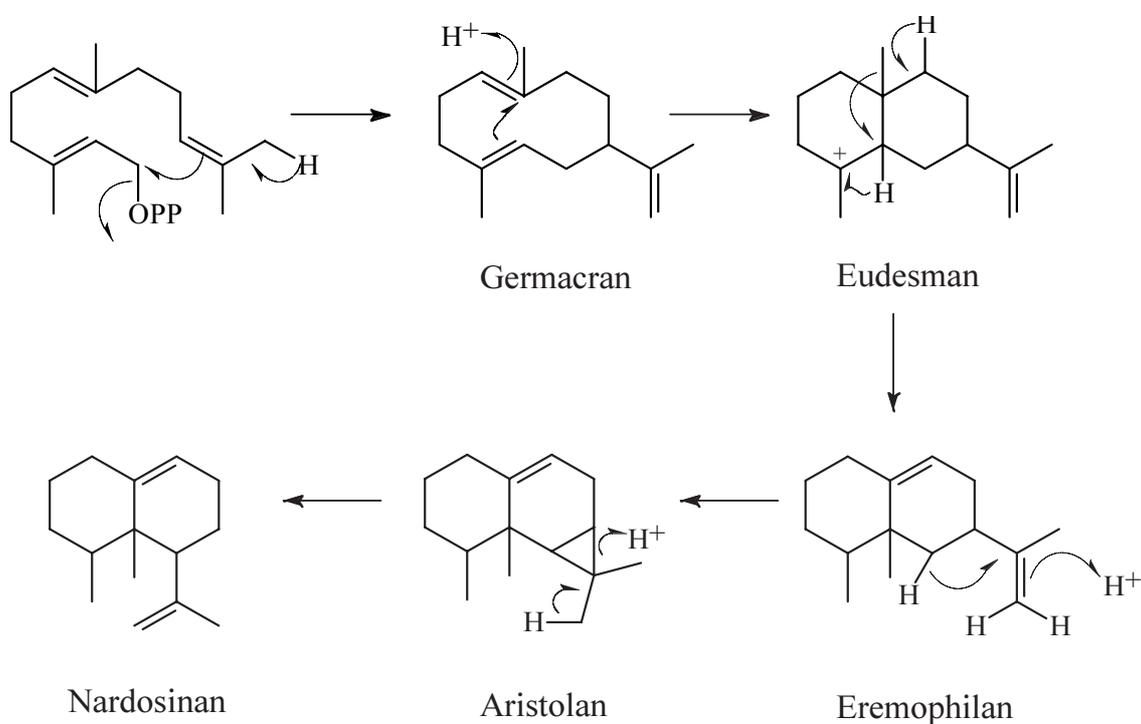
**Abbildung 18:**  
Biogenetische Überlegungen zur Bildung von Conocephalenol (**25**)

### 3.2.2 Biosynthese der Aristolane und Nardosinane

Sesquiterpene mit Nardosinangerüst sind aus marinen Organismen (vor allem Korallen) bekannt [88, 89], aber auch als Inhaltsstoffe der chinesischen Heilpflanze *Nardostachys chinensis* [62, 90]. Sie stehen in enger struktureller und vermutlich auch biogenetischer Beziehung zu den Aristolanen, die man häufig gemeinsam isolieren kann. In vitro lassen

sich Nardosinane sehr leicht durch sauer katalysierte Umlagerung aus den Aristolanen gewinnen; bei diesem Prozeß entstehen ebenfalls Selinane [91].

Man geht davon aus, daß zunächst durch zwei Cyclisierungsschritte des Farnesylpyrophosphats ein Eudesman - eine Cyclase, die die Bildung von  $\beta$ -Selinen aus Farnesylpyrophosphat katalysiert, wurde Anfang der 90er Jahre isoliert [92] - entsteht, das, vermittelt durch die Aristolochensynthetase, einer 1,2-Methylgruppenverschiebung zum Eremophilangerüst unterliegt. Im nächsten Schritt findet, ausgehend von dem Isopropylfragment, eine Cyclopropylbildung zum Aristolangerüst statt. Durch Öffnung des Cyclopropylrings hat netto eine Wanderung der Isopropylfunktion stattgefunden, die zu den Nardosinanen führt.



**Abbildung 19:**  
Biogenetische Überlegungen zur Bildung der Aristolane und Nardosinane

### 3.3 Analytische Methoden

#### 3.3.1 Grundlagen der Chromatographie

Chromatographie ist die Bezeichnung für physikalische Trennmethode, bei denen Substanzgemische durch multiplikative Verteilung zwischen zwei Phasen in ihre Komponenten zerlegt werden [93]. Sie dient der Trennung bzw. Reinigung komplexer Gemische (bspw. ätherischer Öle) im analytischen wie im präparativen Maßstab. Das Wort 'Chromatographie' (griechisch chroma für "Farbe" und graphein für "schreiben") wurde von dem russischen Botaniker Michael Tswett kreiert, der mit Hilfe einer gepackten Säule aus fein verteiltem Calciumcarbonat Extrakte von Blattfarbstoffen, wie Chlorophylle, auftrennen konnte und dabei unterschiedlich gefärbte Zonen erhielt.

Stationäre Phasen können Feststoffe (Kieselgel, Aluminiumoxid), Flüssigkeiten (z.B. Polyethylenglycol in Dünnschichtkapillaren) oder Gele sein, mobile Phasen Gase (Helium, H<sub>2</sub>), überkritische Flüssigkeiten (CO<sub>2</sub>) oder Flüssigkeiten (Methanol, Wasser, organische Lösungsmittel). In der Säulenchromatographie unterscheidet man zwischen festen oder flüssigen stationären Phasen und gasförmigen, fluiden und flüssigen mobilen Phasen (siehe Tabelle 1), wobei die Flüssigchromatographie mit mobilen flüssigen Phasen sowohl als Säulenchromatographie, als auch als Planarchromatographie (Papier- und Dünnschichtchromatographie) betrieben werden kann.

**Tabelle 1:** Übersicht über chromatographische Trennmethode

Stationäre Phase	Mobile Phase		
	Gasförmig	Fluid	Flüssig
<b>Fest</b>	GSC (Gas-Solid-Chromatography)	SFC (Supercritical-Fluid-Chromatography)	LSC (Liquid-Solid-Chromatography)
<b>Flüssig</b>	GLC (Gas-Liquid-Chromatography)		LLC (Liquid-Liquid-Chromatography)

Die beiden wichtigsten Trennprinzipien beim Übergang zwischen der mobilen und stationären Phase sind Verteilung und Adsorption [94, 95]. Die Verteilungschromatographie ist mit dem Vorliegen einer immobilisierten flüssigen stationären Phase verknüpft.

### 3.3.1.1 Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie ist eine gängige analytische Methode, die es erlaubt, schnell eine Aussage über die Zusammensetzung eines Gemisches zu machen. Sie ist auch präparativ nutzbar, indem größere Platten und eine entsprechende Auftragsmenge genutzt werden. Es gibt viele unterschiedliche Detektionsmethoden und durch die Auswahl und variierende Zusammensetzung der mobilen Phase kann man eine große Anzahl einzelner Substanzen voneinander trennen [96]. Die Trennung ähnlicher Verbindungen mit einer oder mehreren Doppelbindungen, wie beispielsweise sesquiterpenoide Konstitutionsisomere, bereitet allerdings in Einzelfällen nach wie vor Schwierigkeiten. Eine in einigen Fällen sehr erfolgreiche Methode ist die Imprägnierung von DC-Folien mit Silbernitrat, das auf dem Kieselgel adsorbiert wird. Die Trennung auf den Silbernitratsschichten beruht auf der Komplexbildung von  $\text{Ag}^+$ -Ionen mit den  $\pi$ -Elektronen einer oder mehrerer Doppel oder Dreifachbindungen der zu trennenden Substanzen und hängt von der Stärke der Bindung ab [97].

### 3.3.1.2 HPLC

Die klassische LC (Liquid Chromatography) wurde durch Tswett 1906 eingeführt [98, 99]. Man arbeitete mit Glassäulen mit einem Innendurchmesser von 1 bis 5 cm, einer Länge von 50 bis 500 cm, Fließgeschwindigkeiten von bis zu 1 ml/min und Korngrößen von 150 bis 200  $\mu\text{m}$ . Die Trennungen dauerten oft sehr lange. Prinzipiell strebt man in der Chromatographie effektive Trennungen in kurzen Analysenzeiten an. Dazu benötigt man

- \* geringe Korngrößen fester bzw. geringe Filmdicken immobilisierter flüssiger stationärer Phasen
- \* homogene Packungen der stationären Phase unter Verwendung engverteilter Packungsmaterialien
- \* kleine Säulendurchmesser
- \* große Diffusionskoeffizienten in der stationären Phase (beschreibt die Kornumströmung) und kleine Diffusionskoeffizienten in der mobilen Phase (in der GC durch niedrige Temperaturen erreichbar)

Will man Analysenzeiten durch Erhöhung der Fließgeschwindigkeit verkürzen, benötigt man bei geringerer Korngröße höhere Drücke. Diese Technologie, die auch sehr viel kleinere Säulendurchmesser als die klassische LC benutzt, wird als High Performance Liquid Chromatography (HPLC) bezeichnet.

Die HPLC wurde in den späten 60er Jahren entwickelt (Horvath et al konstruierten eines der ersten HPLC-Systeme [100]), typische Säulenlängen sind zwischen 10 und 25 cm mit einem Innendurchmesser von 4,6 mm. Durch die dichte Packung der kleinen Teilchen ist ein entsprechend hoher Druck notwendig, um die mobile Phase durchzupumpen. Es gibt eine große Anzahl sehr selektiver Detektoren, wie UV-Absorptions-Detektoren, die bei bestimmten Wellenlängen messen, Fluoreszenzdetektoren, elektrochemische Detektoren oder (sehr universell einsetzbare) Brechungsindex-Detektoren, die allerdings den Nachteil haben, relativ unempfindlich zu sein [101]. Die Trennungen mit Hilfe einer flüssigen mobilen Phase gelingen in unterschiedlichen Variationen, von denen die Bonded-Phase-Chromatography einen großen Stellenwert hat. Hier wird die stark polare Oberfläche des Kieselgels durch Derivatisierungen verändert. Dies kann unter "normal phase"- (NP z.B. -NH<sub>2</sub>, -CN) als auch unter "reverse phase"- (RP z.B. Phenyl-, C-8-, C-18-Alkylreste) Bedingungen geschehen. Mobile Phasen sind im Falle der RP-HPLC typischerweise Acetonitril/ oder Methanol/Wasser-Gemische. Derivatisiert man die polaren Kieselgelgruppen mit Sulfonsäuren oder werden quartäre Ammoniumsalze gebildet, so erhält man gebundene Phasen mit Ionenaustauscherfähigkeiten. Die Trennung entspricht dem Prinzip der Ionenaustauscherchromatographie [102].

### 3.3.1.3 SFC und SFE

Eine neuerliche Weiterentwicklung in der Chromatographie ist die Verwendung eines Fluids, also eines superkritischen Gases (z.B. CO<sub>2</sub> oberhalb der kritischen Temperatur und des kritischen Drucks), als mobile Phase. Die überkritischen Gase bewegen sich in ihrer Viskosität, ihrer Dichte und ihrem Diffusionskoeffizienten zwischen denen der Gase und der Flüssigkeiten und bilden deshalb eine wichtige Kombination zwischen GC und HPLC. Superkritische Gase sind dazu in der Lage, Komponenten mit relativ hoher Molmasse unter besonders milden Bedingungen zu eluieren bzw. zu extrahieren (SFE) [103]. So beschreiben Temelli et al., daß bei der Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> bei niedrigen Temperaturen sich die Terpenkohlenwasserstoffe des ätherischen Öls von Orangen besser lösten und die oxygenierten Substanzen im Rückstand blieben [104].

### 3.3.1.4 Gaschromatographie

Die Gaschromatographie bezeichnet Trennvorgänge, in denen die mobile Phase ein Gas ist; stationäre Phasen können Feststoffe (GSC) oder Flüssigkeiten (GLC) sein. Sie nimmt unter den analytischen Trennmethode eine herausragende Stellung ein. Die ersten

Trennungen in der Gasphase erfolgten mit einem festen Adsorbens als stationärer Phase in den 50er Jahren [105]. Aus diesen Experimenten und der Feststellung, daß die Trennung von der Einheitlichkeit der Korngröße des Packungsmaterials der Säule beeinflußt wird, entdeckte Golay 1957 die Kapazität und das hohe Trennvermögen von mit flüssigen Phasen belegten Kapillarsäulen. Das dominierende Trennprinzip ist die Verteilung der Stoffe zwischen der flüssigen stationären und der gasförmigen mobilen Phase. Ihre Herstellung wie auch die Handhabung (Dosierung, und Empfindlichkeit der Detektion, die erst durch den 1958 entwickelten Flammenionisationsdetektor FID gewährleistet wurde [106]) waren zu der damaligen Zeit schwierig, so daß erst nach Entwicklung der Fused-silica-Kapillarsäulen (hochflexible und chemisch inerte aus der Glasfaseroptik stammende Materialien) die GLC zur überragenden Methode in der Analytik wurde. Die Trennleistung der Kapillarsäulen ist sehr viel größer als die der gepackten Säulen, was vor allem auf die viel größere Länge und die geringere Trennstufenhöhe zurückzuführen ist.

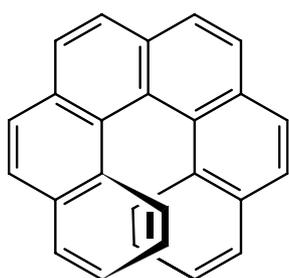
Mobile Phasen sind inerte Gase, die sogenannten Trägergase, die weder mit den Probenkomponenten reagieren, noch einen Einfluß auf den Rückhalteprozeß (Sorption-Desorption, Verteilung) ausüben. In den meisten Fällen werden Helium, Wasserstoff oder Stickstoff benutzt, wobei Wasserstoff aufgrund seiner niedrigen Viskosität, die bei Temperaturerhöhungen wesentlich langsamer ansteigt als im Fall von Helium und Stickstoff [107], für mit hoher Gasgeschwindigkeit betriebene Kapillaren geeignet ist. Die in der Gaschromatographie wichtigsten stationären Phasen sind Siliconphasen wie Polydimethylsiloxan, Polydiphenyldimethylsiloxan oder Cyanopropylphenylsiloxan, modifizierte Siloxanpolymere (Einbau von Carboran- oder Phenylgruppen) und Polyethylenglycol. Die Polysiloxane werden derzeit am häufigsten als Stationärphasen verwendet, da sie thermisch stabil sind, gute Filme bilden und ihre Viskosität mit steigender Temperatur nur wenig abnimmt. Weiterhin sind sie unempfindlich gegenüber oxidierenden Einflüssen und sie können mit verschiedenen selektiv wirkenden Molekülen (wie Cyclodextrinderivaten) modifiziert werden, wodurch man besondere Selektivitäten erhält.

### **3.3.2 Chiralität und die Grundlagen der Enantiomerenanalytik**

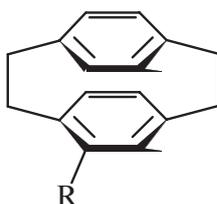
Lebende Systeme sind chiral [108]; zu einem chiralen Gegenstand - wie bspw. der rechten Hand - existiert ein nicht deckungsgleiches Spiegelbild - die linke Hand. Unsere Ohren, Hände, Füße sind Beispiele dafür, aber auch der Elektronenspin, der rechts- oder linksherum gerichtet sein kann, die DNA (es gibt links- und rechtsgängige Helices),

Aminosäuren (Proteine bestehen aus L-Aminosäuren) und Enzyme mit vielen Chiralitätszentren, die zwischen stereoisomeren Substraten unterscheiden (glycolytische Enzyme z.B. unterscheiden zwischen stereoisomeren Zuckern) [109].

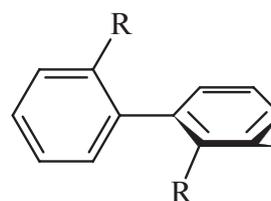
Auf molekularer Ebene schließlich gibt es eine große Anzahl chiraler Moleküle, deren Spiegelbilder man Enantiomere nennt. Cahn, Ingold und Prelog haben eine Systematik erarbeitet, die es ermöglicht chirale Moleküle in ihrer Konfiguration eindeutig zu beschreiben [110]. Man unterscheidet zentrale, axiale, planare und helicale Chiralität.



Hexahelicen



Paracyclophan

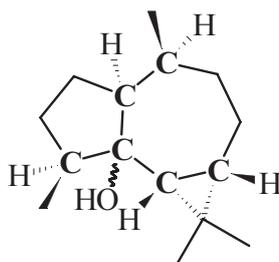


Biphenyl

**Abbildung 20:**  
Darstellung einiger chiraler Moleküle

Zur Gruppe der helical-chiralen Moleküle gehört die DNA und auch die Helicene, planar-chirale Moleküle sind beispielsweise die sogenannten Ansaverbindungen oder die rotationsgehinderten substituierten Paracyclophane. Zu den axial-chiralen Molekülen zählen substituierte Biphenyle, deren freie Drehbarkeit behindert ist, Allene und die Spiroverbindungen.

Die meisten chiralen Moleküle indes haben ein oder mehrere Asymmetriezentren, gehören also zur Gruppe der zentral-chiralen Moleküle. Meist werden die Asymmetriezentren durch Kohlenstoffatome gebildet, die vier verschiedene Liganden tragen. Möglich sind aber auch asymmetrische Stickstoff- (Ammoniumion), Phosphor- (Phosphinoxid), Bor- (Boratanion) oder Schwefelzentren (Sulfidamid mit freiem Elektronenpaar). Im



(-)-26

**Abbildung 21:**  
Aromadendran-5-ol (26)

Aromadendran-5-ol (**26**) liegen bspw. 6 Stereozentren vor; hier sind  $2^6$  Stereoisomere möglich, von denen immer jeweils 2 enantiomer zueinander sind (diese werden entsprechend als Enantiomere und alle anderen als Diastereomere bezeichnet).

In achiraler Umgebung - also bei den meisten Untersuchungsmethoden - verhalten sich Enantiomere völlig identisch. In chiraler Umgebung verhalten sie sich jedoch durch die Ausbildung diastereomerer Wechselwirkungen unterschiedlich. Anfang des 19. Jahrhunderts stellte Biot fest, daß es Verbindungen gibt, die die Schwingungsebene linear polarisierten Lichtes um einen bestimmten Winkel drehen können. Er gilt somit als "Entdecker" chiraler Verbindungen [111]. Diese Entdeckung spielte zunächst allerdings keine Rolle, bis im Jahr 1848 Pasteur die Enantiomere auskristallisierter Weinsäuresalze trennen konnte. Er beobachtete auch, daß enantiomere Moleküle die Schwingungsebene linear polarisierten Lichtes um den gleichen Betrag, aber in entgegengesetzte Richtungen zu drehen vermögen [112]. Hierdurch ergibt sich eine Möglichkeit die optische Reinheit einer Verbindung zu bestimmen. Sie errechnet sich als Quotient des beobachteten Drehwerts  $\alpha_{\text{obs}}$  und des spezifischen Drehwerts  $\alpha_{\text{max}}$  einer Probe.

$$\% \text{ p} = \frac{\alpha_{\text{obs}}}{\alpha_{\text{max}}} \cdot 100$$

Der gemessene Drehwert  $\alpha$  ist abhängig von der Meßtemperatur, von der Wellenlänge des verwendeten Lichts (in der Regel Natrium-D-Licht,  $\lambda = 589 \text{ nm}$ ), von der Länge  $l$  der Probenküvette, durch die das Licht strahlt (in dm) und der Konzentration  $c$  der Probenlösung (in g/100 ml Lösung) und ergibt sich aus:

$$[\alpha_{\text{m}}] = \frac{\alpha_{\text{b}}}{l \cdot c}$$

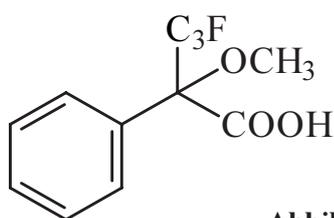
Diese Gleichung bezeichnet man als das Biot'sche Gesetz.

Die Messung eines exakten Drehwertes und der Bestimmung des spezifischen Drehwertes ist aufgrund der Temperaturabhängigkeit und - hat man nur sehr geringe Mengen - der Ungenauigkeit der Konzentrationsangabe schwierig. Demzufolge ist auch die Angabe der Enantiomerenreinheit nach dieser Methode sehr ungenau.

Nimmt man an, daß zwischen dem Drehwert  $\alpha$  und der Konzentration  $c$  eine lineare Abhängigkeit besteht, so läßt sich die optische Reinheit einer Enantiomerenmischung auch durch den Enantiomerenüberschuß (enantiomeric excess, % ee) ausdrücken.

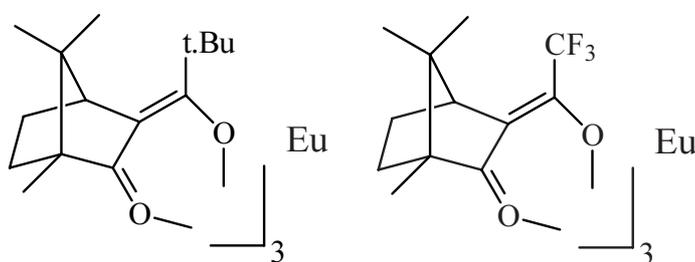
$$\% \text{ e} = \frac{R - S}{R + S} \cdot 100 \quad R > S$$

Nach dieser allgemeinen Gleichung hat man die Möglichkeit ohne Messung eines Drehwerts bei Kenntnis der jeweiligen Konzentrationen der Enantiomere den Enantiomerenüberschuß zu bestimmen. Eine Möglichkeit dazu bietet die NMR-Spektroskopie. Setzt man einem zu bestimmenden Enantiomerengemisch ein reines Enantiomer zu, so bilden sich zwei Diastereomere, die im NMR-Spektrum unterschiedliche und entsprechend integrierbare Signale bilden. Vergleicht man die Integrale zweier äquivalenter Signale, so kann man den ee bestimmen. Ein häufig verwendetes Derivatisierungsreagens ist Mosher's Säure [113], deren Enantiomerenreinheit aber für genaue Bestimmungen nicht immer ausreichend ist [114].



**Abbildung 22:**  
Mosher's Säure

Eine weitere Möglichkeit zur Bestimmung der optischen Reinheit ist die Messung von Enantiomerenmischungen in optisch aktiven Lösungsmitteln, wie (R)- bzw. (S)-2,2,2-Trifluor-1-phenyl-ethanol, in denen sich diastereomere Solvatationskomplexe ausbilden können, die unterschiedliche Spektren liefern. Diese Methode ist allerdings relativ selten erfolgreich [115, 116]. Häufig wird die NMR-spektroskopische Untersuchung chiraler Verbindung unter Zusatz chiraler Shift-Reagenzien durchgeführt. Hier werden durch Bildung diastereomerer Komplexe mit chiralen Lanthanoidverschiebungsreagenzien, wie Tris-pivaloyl-*d*-camphorato-Europium -  $\text{Eu}[\text{pvc}]_3$  oder Tris-trifluoromethyl-hydroxymethylen-*d*-camphorato-Europium, bzw. -Praseodym oder -Ytterbium ( $\text{Eu}[\text{tfc}]_3$ ,  $\text{Pr}[\text{tfc}]_3$ ,  $\text{Yb}[\text{tfc}]_3$ ) unterschiedliche NMR-Spektren erhalten [117, 118].



**$\text{Eu}[\text{pvc}]_3$**

**$\text{Eu}[\text{tfc}]_3$**

**Abbildung 23:**  
Lanthanoid-Shift-Reagenzien

Weitere Möglichkeiten der Bestimmung der Konfiguration von Verbindungen bieten CD- bzw. ORD-Messungen unter Ausnutzung des Cotton-Effektes. Diese Messungen

sind aber nur bei Vorhandensein eines Chromophors [119] möglich. Zum anderen besteht die Möglichkeit der Bestimmung der absoluten Konfiguration durch anomale Röntgenbeugung [120]. Voraussetzung dafür ist eine als Einkristall vorliegende Verbindung.

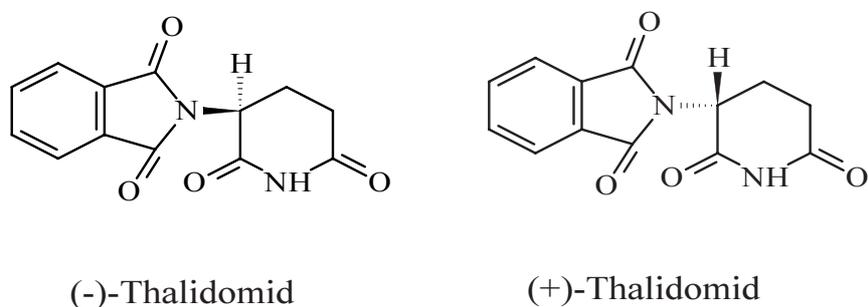
Problemloser und genauer ist die Messung von Enantiomerenüberschüssen durch chromatographische Methoden (Hochleistungsflüssigchromatographie - HPLC, Gaschromatographie - GC, Chromatographie mit überkritischen Gasen - SFC und Kapillarelektrophorese - CE) mit stationären chiralen Phasen oder durch Zusatz chiraler Selektoren, die heute auch wesentlich gebräuchlicher sind (siehe unten). Ganz allgemein kann hier eine Enantiomerentrennung durch den Trennfaktor  $\alpha$  beschrieben werden, der gegeben ist durch:

$$\alpha = \frac{t_1}{t_2}$$

wobei  $t_1$  die Retentionszeit des einen Enantiomers und  $t_2$  die des anderen Enantiomers ist;  $\alpha$  ist immer größer als 1.

### 3.3.3 Enantiomerentrennungen in der Gaschromatographie

Enantiomere haben zum Teil völlig unterschiedliche biologische Eigenschaften. Der zum Teil deutlich unterschiedliche Geruch von Enantiomeren ist ein Beispiel dafür, aber auch die gänzlich unterschiedlichen Metabolisierungswege von (+)- und (-)-Thalidomid. Während das R(+)-N-Phthalylglutaminsäureimid therapeutisch sedativ wirksam ist, wirkt das S(-)-Enantiomer teratogen [121].

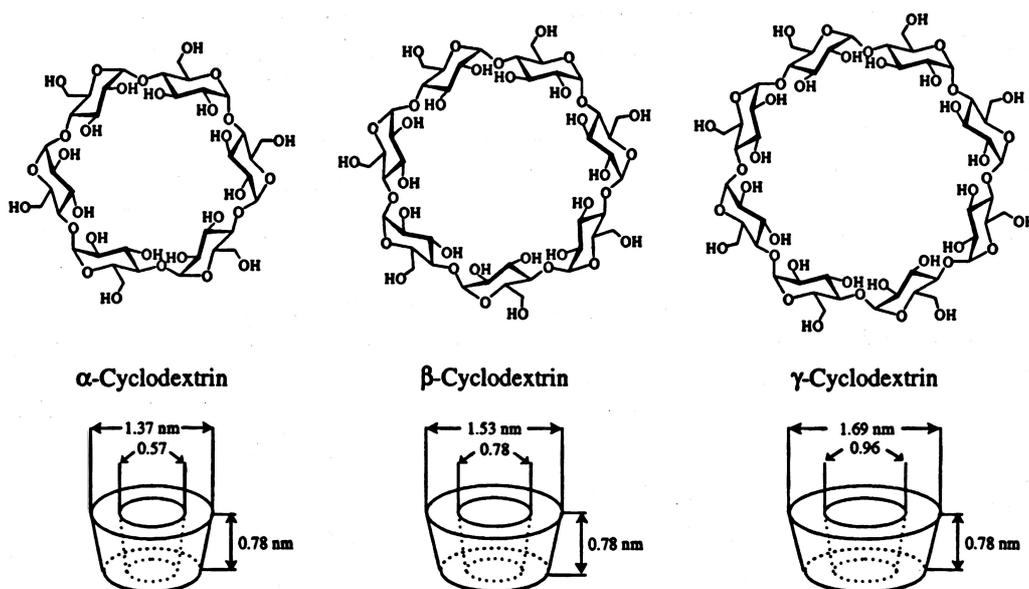


**Abbildung 24:**  
(+)- und (-)-Thalidomid

Vor diesem Hintergrund hat in den letzten 10 bis 20 Jahren das Interesse an und die Notwendigkeit der Synthese enantiomerenreiner Naturstoffe und Pharmaka stark zugenommen [122]. Im gleichen Maße steigt die Notwendigkeit der Enantiomerentrennungen im präparativen und analytischen Maßstab.

Enantiomerentrennungen sind zum einen durch die chemische Derivatisierung von Enantiomeren (zu den entsprechenden Diastereomeren) und anschließender GC- oder auch HPLC-Analyse an konventionellen achiralen Säulen zu realisieren. Weit leistungsfähiger ist allerdings die direkte Analyse optisch aktiver Verbindungen an chiralen stationären Phasen. Die Retentionszeiten und die Verteilungskoeffizienten zweier Enantiomere sind in dieser asymmetrischen Umgebung unterschiedlich. Auf molekularer Ebene gehen die Enantiomeren reversible diastereomere Komplexe mit den chiralen Strukturen der stationären Phase ein. Die damit verbundenen für zwei Enantiomere unterschiedlichen Entropie- und Enthalpieänderungen können durch Wasserstoffbrückenbindungen, Dipol-Dipol-,  $\pi$ - $\pi$ -, Van-der-Waals- und hydrophobe Wechselwirkungen verursacht werden, wobei die Prozesse noch nicht in allen Einzelheiten bekannt sind [123].

Nach den Pionierarbeiten von Gil-Av in den 70er Jahren, der mit Trifluoracetylderivaten von Aminosäuren und Peptiden als chirale stationäre Phasen arbeitete [124], konnten 1983 erste gaschromatographische Trennungen mit in Formamid gelöstem nativem Cyclodextrin auf gepackten Säulen von Koscielski et al. realisiert werden [125]. Der Durchbruch in der enantioselektiven Gaschromatographie gelang durch die Einführung modifizierter Cyclodextrine als chirale stationäre Phasen. Gute Erfolge erzielten Schurig und Nowotny mit in Polysiloxan gelöstem geschmolzenem, permethylierten  $\beta$ -Cyclodextrin [126, 127], und später, um den Anteil an chiralem Selektor zu erhöhen, mit an Polydimethylsiloxan gebundenem  $\beta$ -Cyclodextrin [128, 129]. König et al. verwendeten mit Pentylresten veretherte Cyclodextrine als chirale stationäre Phasen [130, 131]. Cyclodextrine sind  $\alpha$ -1,4-glycosidisch verknüpfte cyclische Oligosaccharide, die aus 6, 7 oder 8 D-Glucopyranoseeinheiten aufgebaut sind und entsprechend als  $\alpha$ -  $\beta$ - bzw.  $\gamma$ -Cyclodextrine bezeichnet werden. Cyclodextrineinheiten lassen sich an den freien Hydroxylgruppen in 2-,3- und 6-Position alkylieren oder acylieren. Auf diese Weise sind eine große Anzahl unterschiedlich modifizierter enantioselektiver Phasen entstanden [131], wie Tripenylderivate [132, 133], Dipenylderivate mit Acyl- oder Methylgruppen in 3-Position [134-138], in 6-Position [139-141] und in 2-Position [142], Dimethylcyclodextrine [143-146] und 6-Trialkylsilyl-Cyclodextrine [147, 148]. Diese Cyclodextrine sind bei Raumtemperatur hochviskose Flüssigkeiten, die direkt als stationäre Phase in der enantioselektiven Gaschromatographie eingesetzt werden können.



**Abbildung 25:**  
Struktur und Dimensionen von  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Cyclodextrin

Die Wirt-Gast-Beziehung zwischen den Hohlräumen der chiralen Cyclodextrine und darin eingelagerter chiraler Verbindungen führt zu enantioselektiven Trennungen. Die Inklusionskomplexe werden offensichtlich in der Form gebildet, daß die Enantiomere so eingelagert werden, daß Wechselwirkungen mit den innerhalb der Hohlräume befindlichen modifizierten Hydroxylgruppen stattfinden können [149], die je nach Konfiguration unterschiedlich stark sind und zu unterschiedlichen  $\alpha$ -Werten führen.

Die Anwendungsbreite modifizierter Cyclodextrine als chirale stationäre Phasen in der Gaschromatographie ist außerordentlich groß. So können sehr viele natürliche Verbindungen wie Hormone [150], Duftstoffe [151], Terpene [152-154], Agrochemikalien [155], Pharmaka und andere an ihnen getrennt werden. Weitere Anwendungsmöglichkeiten liegen in sehr schnellen und genauen Kontrollmöglichkeiten der Reinheit bzw. Alterung ätherischer Öle [156].

Cyclodextrine werden auch als chirale Selektoren in der SFC [157] und der Kapillarelektrophorese [158] verwendet.

### 3.3.3.1 Präparative Gaschromatographie

Die präparative Enantiomerentrennung ist eine wichtige Methode zur Isolierung optisch reiner Verbindungen in präparativem Maßstab. Ein wichtiger Einsatz der präparativen Enantiomerentrennung liegt in der Aufreinigung diastereomerer und racemischer Produktgemische, die bei einigen Syntheseschritten anfallen.

Auch zur Isolierung chiraler Naturstoffe aus komplexen Stoffgemischen ist man auf Systeme angewiesen, die Enantiomerentrennungen im präparativen Maßstab gewährleisten können. Eine Methode zur Trennung flüchtiger Komponenten in präparativem Maßstab ist die präparative Gaschromatographie. Unter Verwendung gepackter Säulen, die mit chiralen stationären Phasen belegt werden, können enantiomerenreine Verbindungen erhalten werden [159-161]. Einige wichtige von Hardt zur präparativen Gaschromatographie verwendeten Phasen sind [162]:

- \* Heptakis(6-O-methyl-2,3-di-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin
- \* Octakis(6-O-methyl-2,3-di-O-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin
- \* Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin
- \* Octakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin
- \* Heptakis(6-O-t.butyl-dimethylsilyl-2,3-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin

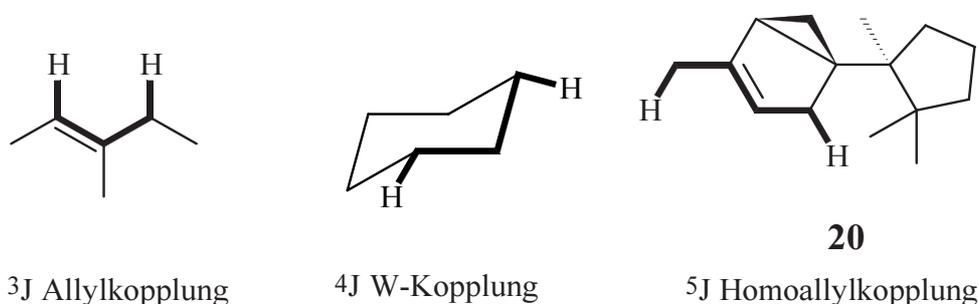
### 3.3.3.2 Zweidimensionale GC

In der Enantiomerenanalytik ist die zweidimensionale Gaschromatographie ein sehr wertvolles Werkzeug. Man benötigt dafür einen Gaschromatographen, der mit zwei Säulen, eine mit achiraler und eine mit chiraler Trennphase belegt, ausgerüstet ist. Das zu untersuchende Stoffgemisch wird auf der achiralen Säule eingespritzt und detektiert; die Substanz, deren Stereochemie untersucht werden soll, wird selektiv auf die Säule mit chiraler Phase übertragen (ausgeschnitten) und detektiert. Mittels Koinjektion der zu untersuchenden Substanz mit dem entsprechenden racemischen Standard oder dem Enantiomer der zu untersuchenden Verbindung kann so schnell und unzweifelhaft bestimmt werden, welches Enantiomer einer bekannten Verbindung in einem komplexen Stoffgemisch enthalten ist. Über die Beobachtung eines Doppelpeaks bzw. einer Peak-Flächenveränderung der Komponenten eines racemischen Gemisches erhält man direkt eine Aussage über die absolute Konfiguration der gesuchten Verbindung [163, 164].

### 3.4 Spektroskopische Methoden

#### 3.4.1 2D-NMR

Die Technik der zweidimensionalen NMR-Spektroskopie [165, 166] bietet eine große Anzahl an Meßmethoden, die Aussagen über Struktur, Konfiguration und Konformation von Molekülen machen. Die Aufnahme homonuklearer 2D-Spektren macht die Auswertung von  $^2J$ ,  $^3J$  und bestimmter  $^4J$ -Kopplungen, wenn z.B. sterisch fixierte M- oder W-förmige Bindungsanordnungen oder allylische Systeme vorliegen, möglich. In Ausnahmefällen sind auch  $^5J$ -Kopplungen bei zickzackförmiger Bindungsanordnung oder homoallylständigen Protonen, beobachtbar.

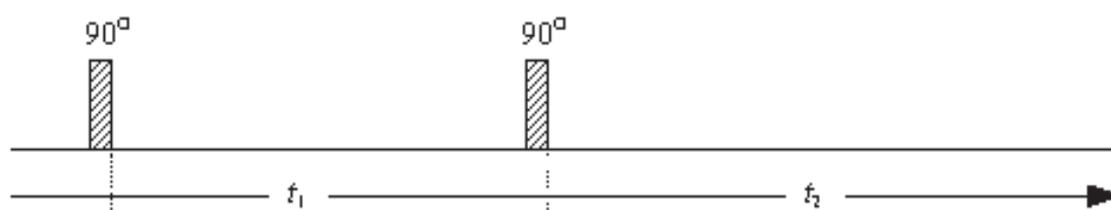


#### Abbildung 26:

Einige im  $^1H^1H$ -COSY beobachtbare  $^3J$ -,  $^4J$ - und  $^5J$ -Kopplung

Heteronukleare 2D-Spektren zeigen auswertbare Kopplungen zwischen Protonen und Kohlenstoffatomen an.

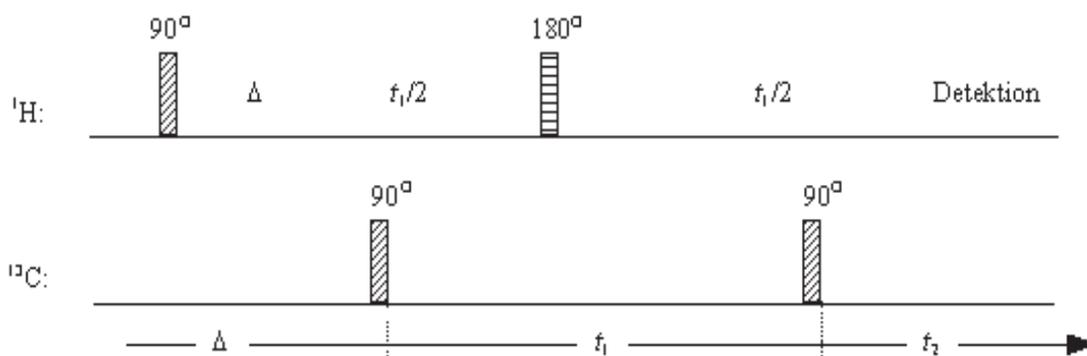
Die Aufnahme von 2D-Spektren basiert auf einer Abfolge von drei Zeitintervallen, der Präparation, der Evolution und der Detektion. In der Präparationsphase erhalten die Kerne einen Impuls und werden transversal magnetisiert, in der Evolutionsphase werden eine ganze Serie von  $n$  eindimensionalen Spektren aufgenommen, die Evolutionszeit wird dabei stufenweise erhöht:  $t_1(k) = t_1 + kDt_1$  ( $k = 0, 1, 2, \dots, n$ ). Abbildung 27 zeigt die Pulsfolge einer homonuklearen ( $^1H^1H$ -COSY) Messung



#### Abbildung 27:

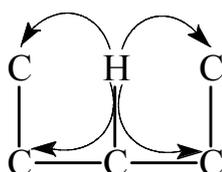
Pulsfolge einer  $^1H^1H$ -COSY-Messung;  $t_1$ -Evolutionszeit,  $t_2$ -Detektion)

Im Falle der heteronuklearen 2D-Messungen ist die ca. 8 mal empfindlichere (als herkömmliche 2D-Messungen) inverse Aufnahmetechnik zu erwähnen, die mit dementsprechend kleineren Substanzmengen auskommt. Bei der inversen Spektroskopie werden die im Kanal der unempfindlichen Kerne erzeugten Kohärenzen auf die empfindlichen Kerne übertragen, deren Resonanzen man dann auch mißt. Diese Übertragung findet in der sich an die Evolutionsphase anschließenden Mischphase statt. Eine häufig angewandte Pulsfolge zeigt Abbildung 28



**Abbildung 28:**  
Pulsfolge einer inversen  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ -COSY-Messung

### 3.4.2 NMR-Untersuchungen via C,H-long-range-couplings (COLOC und HMBC-Messungen)



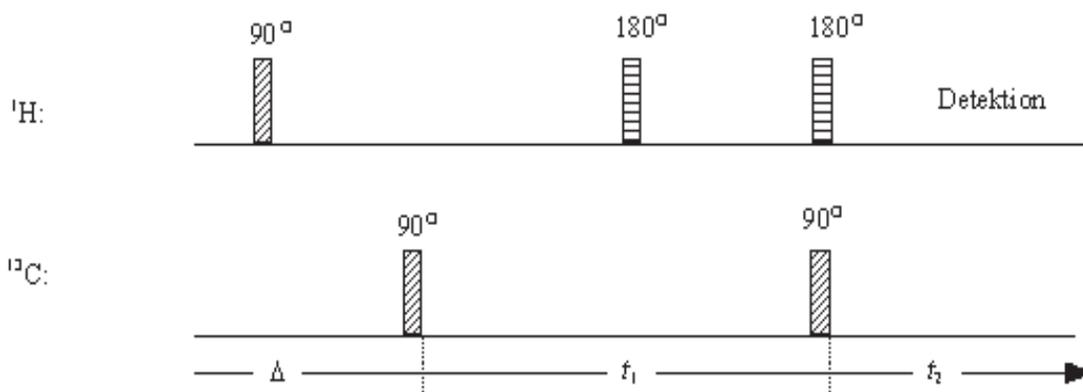
**Abbildung 29:**  
In COLOC Messungen detektierte C,H-Kopplungen

Zur Strukturaufklärung organischer Moleküle ist es oftmals unverzichtbar, weiterreichende Kopplungen zwischen Proton und Kohlenstoffkern zu erkennen. Mit der zweidimensionalen heteronuklearen Verschiebungskorrelation mittels kleiner Kopplungen (H,C-COLOC = Correlation spectroscopy via long range Couplings) gelingt dies.

Mit Hilfe dieser Meßtechnik, die die 2D-Variante des INEPT-Experimentes darstellt, gelingt es,  $^2J_{\text{CH}}$  und  $^3J_{\text{CH}}$ -Kreuzsignale zu detektieren [167]. Diese Methode ist vor allem geeignet, um die Nachbarschaft quartärer Kohlenstoffatome zu detektieren.

Auch im Falle der COLOC-Messungen arbeitet man häufig mit der inversen Aufnahmetechnik [168, 169], in dem man die Kohärenz des Protons detektiert und so die

Empfindlichkeit erhöht. Das HMBC-Experiment (heteronuclear multi-bond correlation) ist sehr empfindlich und die Identität der Fernkopplungen ergibt sich direkt aus der Zuordnung der 2D-Kreuzsignale. Während des langen Zeitraums  $t_1$  entwickeln sich die kleinen heteronuclearen Weitbereichskopplungen und ermöglichen so einen Kohärenztransfer auf  $^{13}\text{C}$  [170]. Das Schema einer Pulsfolge gibt Abbildung 30 [171].



**Abbildung 30:**  
Pulsfolge einer HMBC-Messung

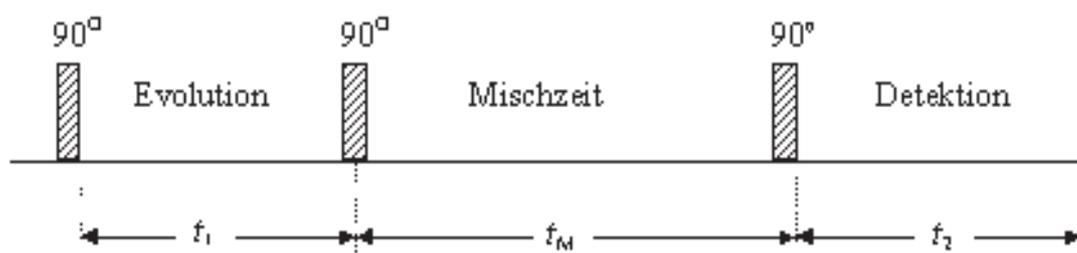
Die Ausschaltung der direkten C,H-Kopplung ermöglicht eine wesentlich leichtere Auswertung des Spektrums, da man selektiv nur die  $^2\text{J}_{\text{CH}}$  und  $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen als Kreuzsignale beobachtet; das gelingt über die Verwendung entsprechender Low-Pass J Filter [172].

### 3.4.3 NMR-Untersuchungen unter Ausnutzung des Kern-Overhauser-Effekts (NOE)

Mit dem Begriff Overhauser Effekt werden heute verschiedene Phänomene in Verbindung gebracht, bei denen es sich immer um Intensitätsänderungen von Resonanzlinien im Zusammenhang mit Doppelresonanz-Experimenten handelt. Beim ursprünglichen Overhauser-Effekt beobachtet man eine Intensitätszunahme des Kernresonanzsignals, wenn man die Elektronenresonanz mit einem Hochfrequenzfeld sättigt. Übertragen auf ein Zweikernsystem (z.B. A und X) bedeutet das, wenn eine Probe mit der Resonanzfrequenz des Kerns A bestrahlt wird, man eine Intensitätszunahme der Resonanzlinien des Kerns X beobachtet. Eine Anwendung des Kern-Overhauser-Effekts, den man in diesem Fall NOE (nuclear Overhauser enhance-

ment) nennt, ist der durch die Dipol-Dipol-Wechselwirkung erreichte Intensitätsgewinn in der breitbandenkoppelten  $^{13}\text{C}$ -Spektroskopie, da der mit einem magnetischen Moment ausgestattete Kern empfindlicher gemacht wird.

Der NOE ist aber nicht auf eine skalare Kopplung zwischen den Kernen angewiesen, er ist proportional zum Abstand der Kerne. Diese Tatsache ist die Grundlage dafür, daß man die Messung des NOE dazu benutzen kann, eine räumliche Aussage über die untersuchte Struktur zu machen, denn die Verstärkung der Signalintensität des Kerns wird umso größer, je räumlich näher der Kern ist, mit dessen Resonanzfrequenz das System bestrahlt wird. NOE-Messungen können ein- oder zweidimensional aufgenommen werden. Im eindimensionalen Fall werden je nach zu lösendem Problem selektive Frequenzen eingestrahlt. Im zweidimensionalen Fall (NOESY-Messung) werden insgesamt alle Resonanzfrequenzen in das zu messende System eingestrahlt. Als Kreuzsignale beobachtet man diejenigen Peaks, die durch die Einstrahlung einer Resonanzfrequenz eine Intensitätszunahme erfahren haben. Ein Beispiel einer Pulssequenz der Aufnahme eines NOESY-Spektrums gibt Abbildung 31 [173].



**Abbildung 31:** Pulsfolge einer NOESY-Messung

#### 3.4.4 Überblick über die NMR-Methoden und ihre Anwendung

Einen Überblick über die im Rahmen dieser Arbeit wichtigen zur Verfügung stehenden NMR-spektroskopischen Meßmethoden und ihre Anwendung bietet Tabelle 2.

**Tabelle 2** Überblick über die Informationen, die die einzelnen NMR-Experimente liefern

Experiment	Untersuchte Kerne	Information und Anwendung
<b>Eindimensionale Verfahren</b>		
INEPT (refokussiertes INEPT) mit Breitbandentkopplung	$^{13}\text{C}$	CH- und $\text{CH}_3$ -Gruppen geben Singulets mit positiver Amplitude, $\text{CH}_2$ -Gruppen Singulets mit negativer Amplitude
DEPT		Zahl der direkt an C gebundenen H-Atome: CH, $\text{CH}_2$ , $\text{CH}_3$ ; keine Probleme bei eng zusammenliegenden Signalen
<b>Zweidimensionale Verfahren</b>		
H,H-korrelierte NMR-Spektroskopie	$^1\text{H}$	Zuordnung in komplizierten Spektren ( $^2\text{J}$ , manchmal $^3\text{J}$ ; siehe unten)
H,C-korrelierte NMR-Spektroskopie (HC-COSY) Analog dazu inverses Verfahren: HMQC	$^{13}\text{C}$ , $^1\text{H}$	Zuordnung der Protonensignale zu den entsprechenden Kohlenstoffatom-Signalen der eindimensionalen Spektren ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ )
C,H-korrelierte NMR-Spektroskopie über kleine Kopplungen (COLOC) Analog dazu inverses Verfahren: HMBC	$^{13}\text{C}$ , $^1\text{H}$	Zuordnung über Korrelationen von Kernen über mehrere Bindungen hinweg ( $^2\text{J}_{\text{CH}}$ und $^3\text{J}_{\text{CH}}$ ); Zuordnung quartärer Kohlenstoffe
Austausch-Spektroskopie; NOESY	$^1\text{H}$	Qualitativer Nachweis des Austauschs; Nachweis der räumlichen Nachbarschaft von Kernen

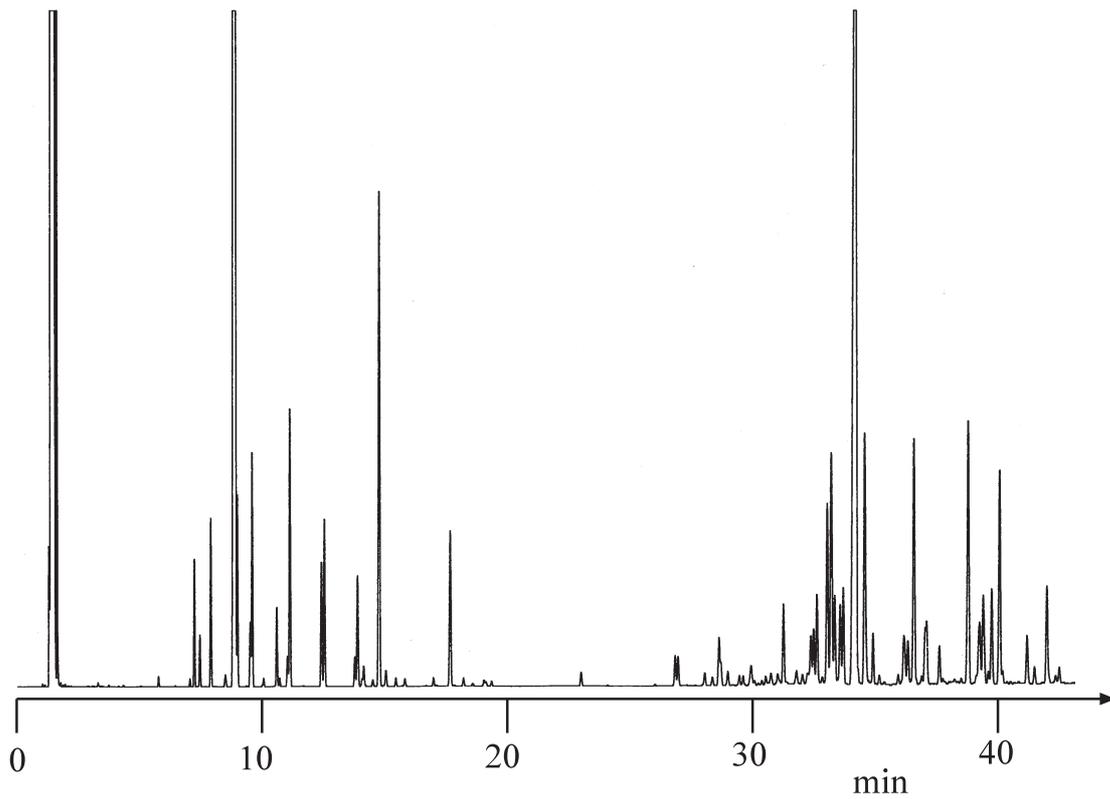
## 4 Spezieller Teil

### 4.1 Vergleichende Übersicht über die vier Chemotypen des Lebermooses *Conocephalum conicum*

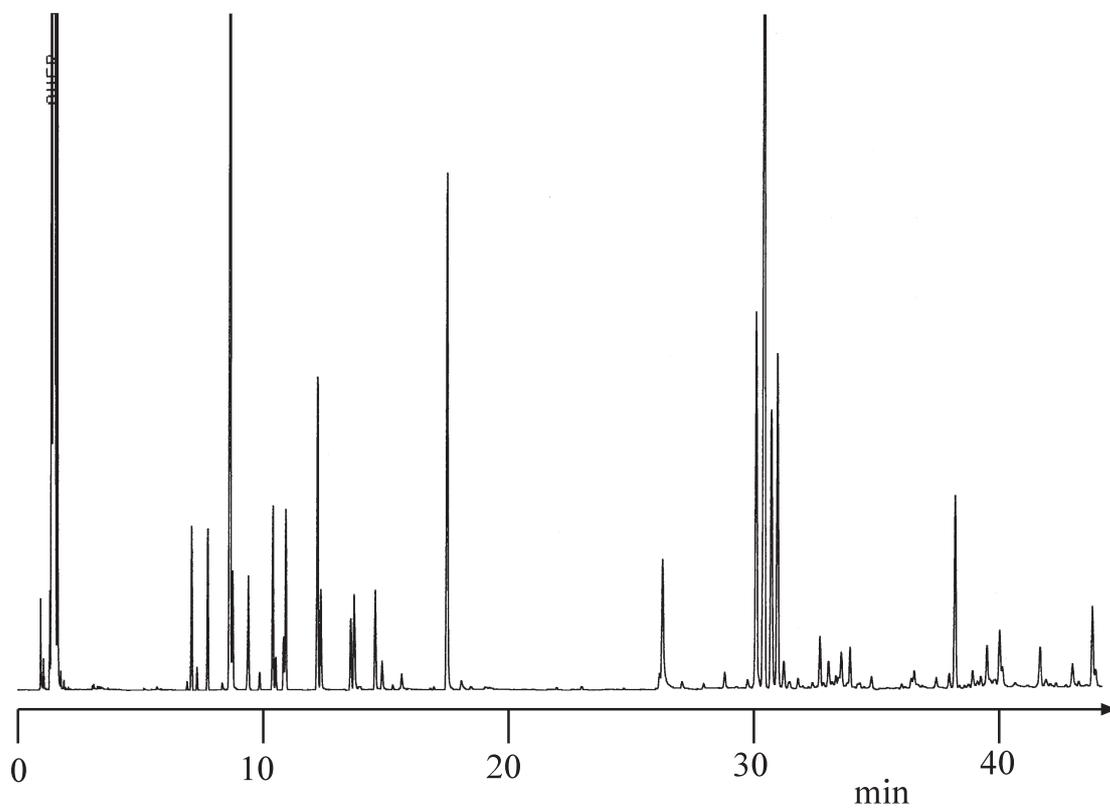
Die gaschromatographische und massenspektroskopische Untersuchung der ätherischen Öle von Pflanzenproben des Lebermooses *Conocephalum conicum*, die an verschiedenen Standorten zu unterschiedlichen Zeiten gesammelt worden waren, ergab bzgl. der sesquiterpenoiden Inhaltsstoffe deutliche Unterschiede. Die Inhaltsstoffe unterschieden sich - unabhängig von zeitlichen, lebenszyklischen oder geographischen Effekten - zum Teil gravierend in Art, Anzahl und Menge. Die Untersuchung von ca. 30 Wasserdampfdestillaten von *Conocephalum conicum*-Proben unterschiedlicher Standorte ließ eine Zuordnung zu vier Chemotypen sinnvoll erscheinen, die im folgenden anhand ihrer Gaschromatogramme dargestellt werden (Abbildung 32 - 35). Im weiteren Verlauf dieses Abschnitts der Arbeit werden die Inhaltsstoffe der Chemotypen im einzelnen vorgestellt.

Es wurden Moosproben aus Baden-Württemberg, Bayern, Sachsen und Norddeutschland untersucht, weiterhin Proben aus Österreich (Vorarlberg), Wales, den USA, Norditalien, Ostfrankreich und dem asiatischen Raum und eine Probe aus der Ukraine. Chemotyp I wurde am häufigsten beobachtet, Typ II ist bislang lediglich in Norddeutschland an drei Standorten gefunden worden. Chemotyp III ist an zwei Standorten in Süddeutschland und in Wales gefunden worden und Typ IV schließlich ist bis zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit nur einmal in Österreich (Vorarlberg) gesammelt worden.

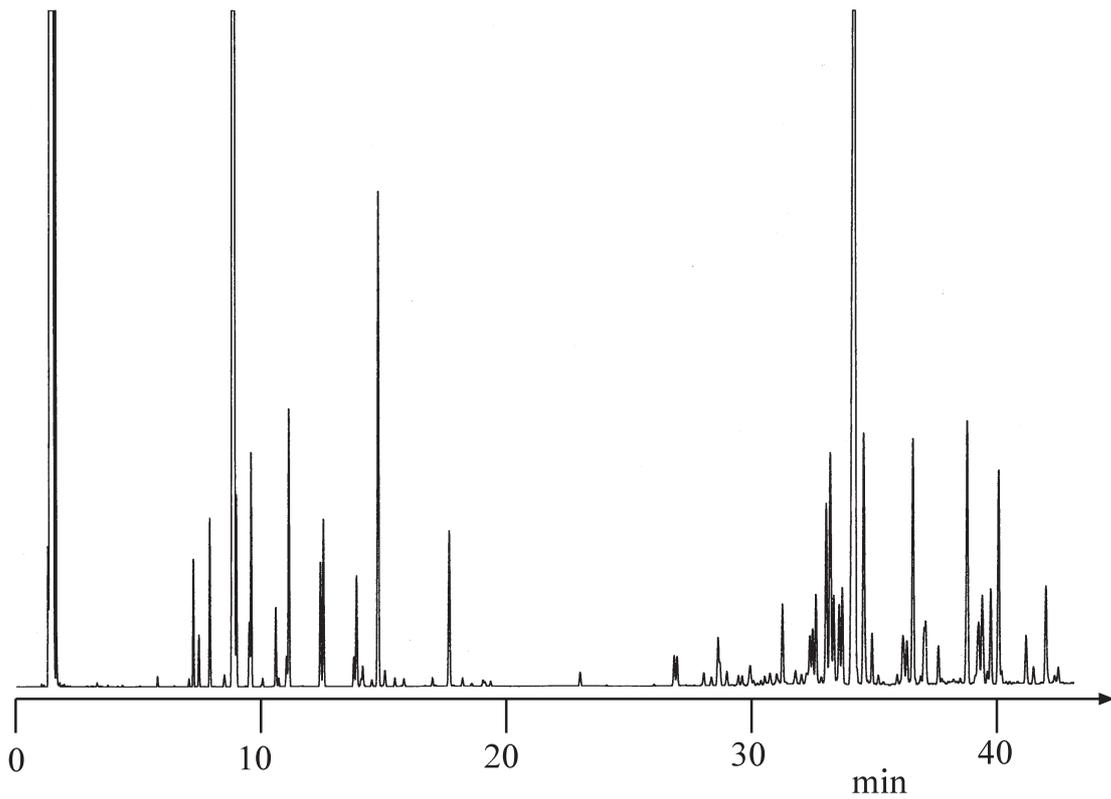
Es wurden außerdem Mischtypen gefunden, die Inhaltsstoffe von Typ I/Typ III oder Typ II/Typ III enthielten. Die hier vorgestellten Vertreter der einzelnen Typen entsprechen jedoch dem Bild, das sich in der Mehrzahl bot.



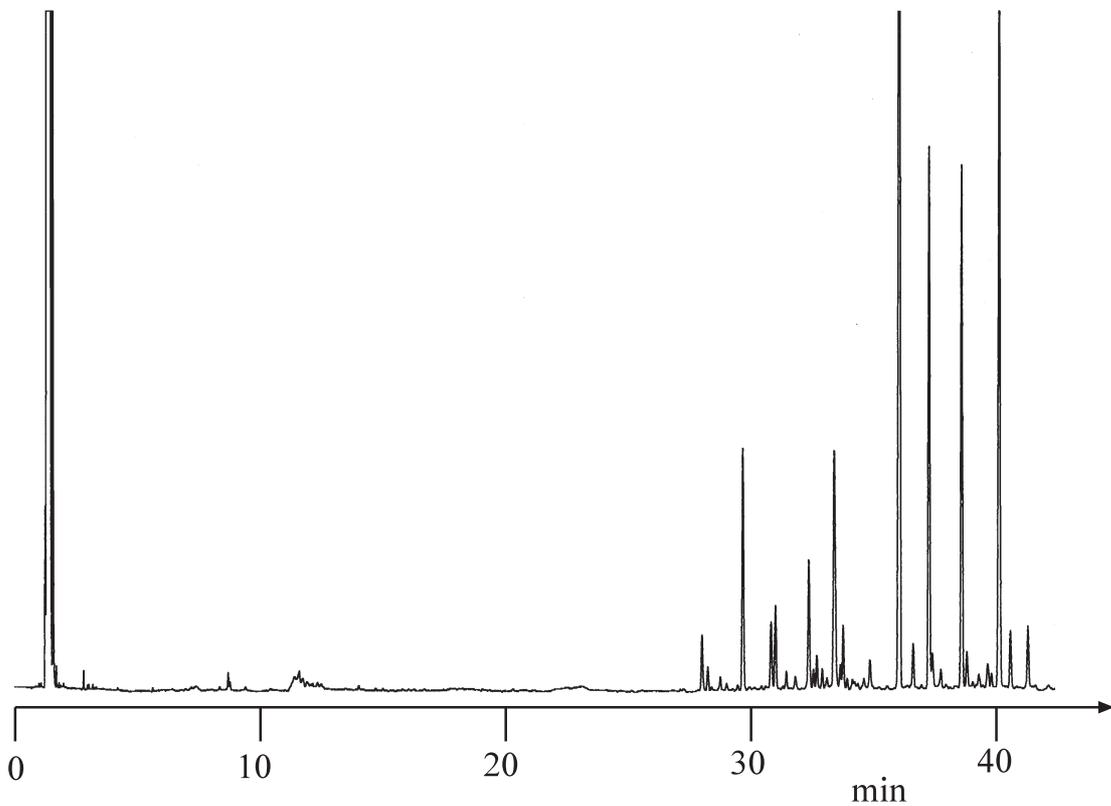
**Abbildung 32:** Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Typ I; CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C



**Abbildung 33:** Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Typ II; CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C



**Abbildung 34:** Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Typ III; CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C

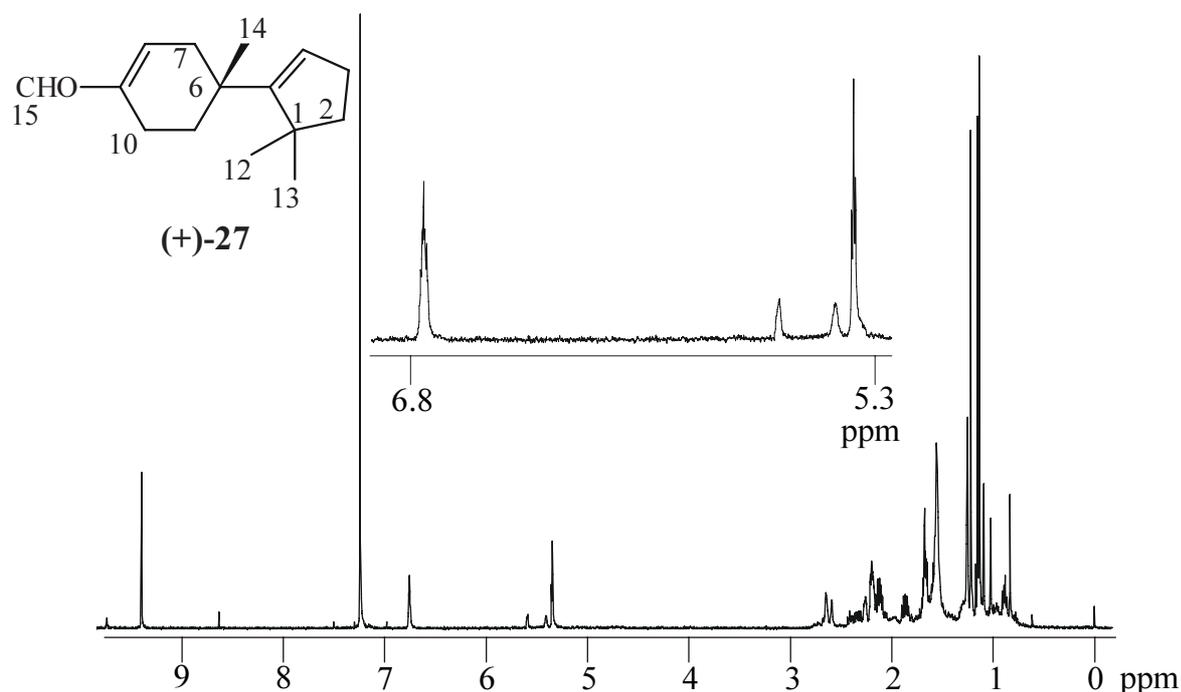


**Abbildung 35:** Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Typ IV; CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C

## 4.2 Sesquiterpenoide Inhaltsstoffe des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ I

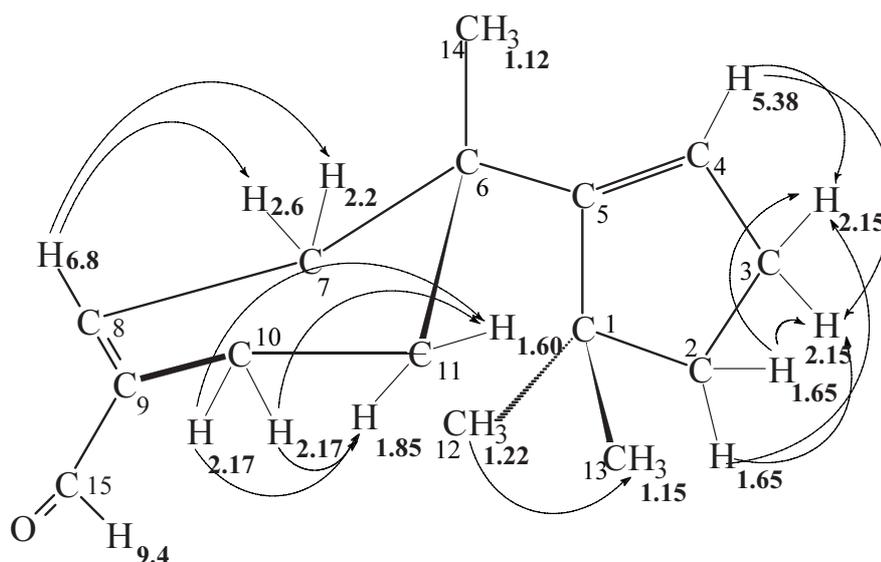
### 4.2.1 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Isobazzanenaldehyd (27) und Charakterisierung von (+)-Isobazzanen (28)

Der überwiegende Anteil der sesquiterpenoiden Inhaltsstoffe von *Conocephalum conicum* Typ I sind literaturbekannte Cadinane, Germacrane, Cubebane und Elemene [174-176]. In dem Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats einer bei Mutlangen gesammelten *Conocephalum conicum*-Probe fiel nach langer Retentionszeit ein Signal auf, dessen Massenspektrum ein Molekülionsignal  $m/z = 218$  ( $C_{15}H_{22}O$ ) aufwies. Man beobachtet im Massenspektrum keine  $[M^+ - 18]$ -Fragmentierung, wie sie für Alkohole typisch wäre. Mittels präparativer Gaschromatographie wurde (+)-Isobazzanenaldehyd (27) isoliert



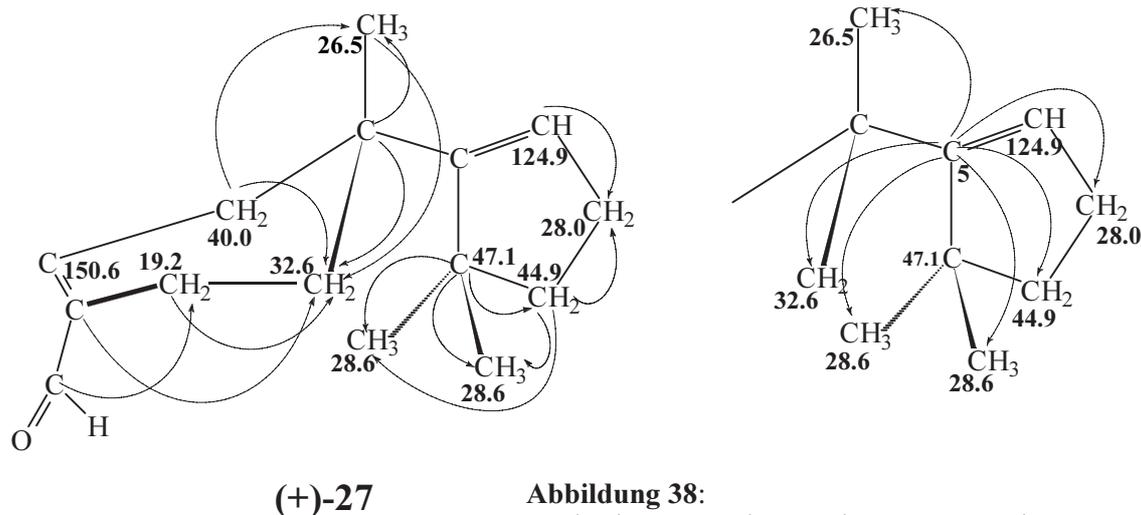
**Abbildung 36:**  
<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Isobazzanenaldehyd (27)

Nach einer ersten Durchsicht der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren erkennt man ein Singulett bei 9.43 ppm, das einem Aldehydproton entspricht. Bei 6.78 ppm erkennt man ein schwach ausgeprägtes Triplet, das zu dem olefinischen Proton an C-8 gehört und im 2D-Spektrum Kopplungen zu den weit aufgespaltenen Signalen der Methylenprotonen an C-7 aufweist, die im Bereich von 2.58 - 2.69 ppm und von 2.20 - 2.30 ppm jeweils als Multiplettsignale erscheinen. Die beiden anderen Methylengruppen des Cyclohexensystems an C-10 (erscheinen als Multiplett im Bereich von 2.15 bis 2.25 ppm) und an C-11 (erscheinen weit aufgespalten jeweils als Multipletts bei 1.88 ppm und im Bereich von 1.58 - 1.63 ppm) koppeln miteinander. Das Signal des zweiten olefinischen Protons H-4 erscheint ebenfalls als Triplet bei 5.37 ppm und koppelt mit dem Multiplettsignal der Methylengruppe an C-3, das im Bereich von 2.09 - 2.17 ppm erscheint. Die letztgenannten Protonen koppeln weiterhin mit dem Multiplettsignal der Methylengruppe C-2, welches im Bereich von 1.65 - 1.72 ppm erscheint. Abbildung 37 bietet einen Überblick über die beobachteten  $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-Kopplungen.



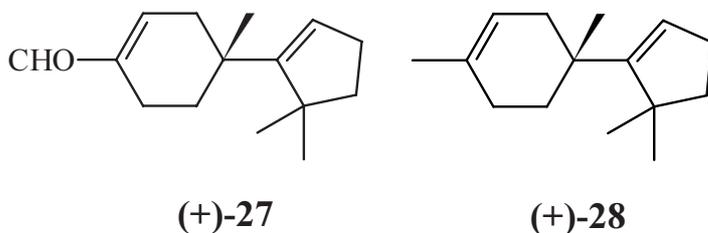
**(+)-27** **Abbildung 37:**  
Beobachtete Kopplungen des  $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-Spektrums von **27**

Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum erkennt man bei hohem Feld weiterhin 3 Singuletts, von denen die beiden Signale bei 1.16 und bei 1.23 ppm zu den Methylgruppen 12 und 13 gehören und im HMBC jeweils mit dem Signal des quartären Kohlenstoffatoms C-1, welches bei 47.05 ppm erscheint, koppeln. Das Signal der Methylgruppe 14 erscheint bei 1.15 ppm. Eine Übersicht über die long-range-Kopplungen des HMBC bietet Abbildung 38.



**Abbildung 38:**  
Beobachtete Kopplungen des HMBC-Spektrums von **27** und die HMBC-Kopplungen des C-5 von **27**

In dieser Probe von *Conocephalum conicum* tritt auch der entsprechende Sesquiterpenkohlenwasserstoff (+)-Isobazzanen (**28**) auf, dessen absolute Konfiguration untersucht wurde. Die Koinjektion von **28** mit einer aus dem Lebermoos *Mylia taylorii* isolierten Probe von (+)-Isobazzanen (**28**) [177, 178] an chiralen Säulen ergab, daß es sich um Verbindungen gleicher absoluter Konfiguration handelt. Vermutlich hat (+)-Isobazzanaldehyd (**27**) die entsprechende absolute Konfiguration.

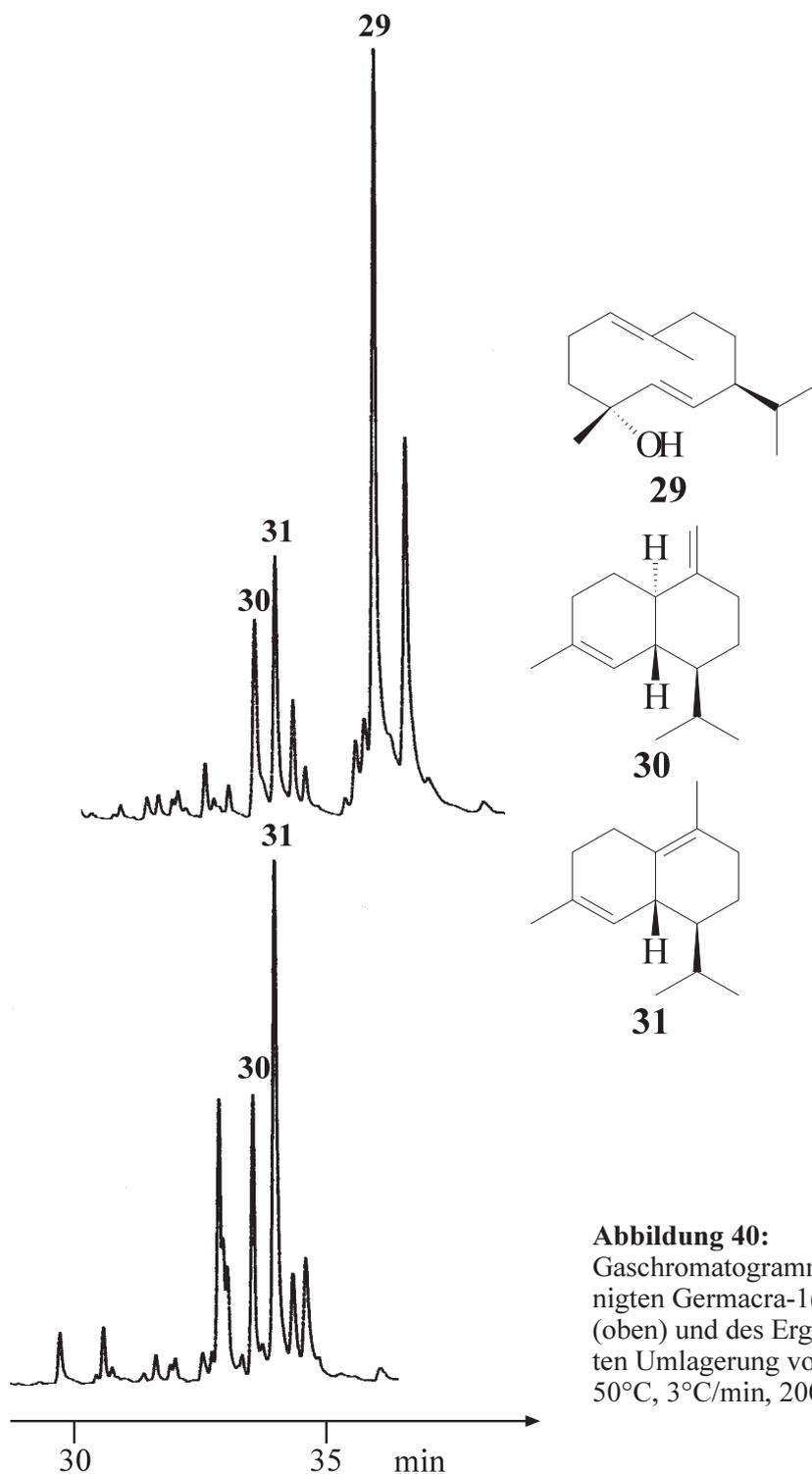


**Abbildung 39:**  
(+)-Isobazzanaldehyd (**27**)  
und (+)-Isobazzanen (**28**)

#### 4.2.2 Isolierung und Charakterisierung von (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**)

Ein in den Wasserdampfdestillaten von *Conocephalum conicum* Typ I enthaltener Alkohol mit einer Masse von 222 ist (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**). Verschiedene Diastereomere von Germacra-1(10)E,5E-dien-4-ol sind aus *Peucedanum palustre* [179], *Pseudobrickellia brasiliensis* [180], *Senecio* und *Juniperus*-Arten [181] aber auch aus *Lemnalia africana* [182] - einer Weichkoralle - isoliert worden. Aus

*Conocephalum conicum* Typ I wurde "gewöhnliches" (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**) (Hydroxylgruppe und Isopropylfunktion sind trans-ständig) mittels präparativer Gaschromatographie isoliert und als verunreinigte Komponente (Reinheit ca. 60 %) erhalten. **29** ist thermisch und gegenüber Säuren nicht stabil. Es wurde ein zwar verunreinigtes aber auswertbares  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in deuteriertem Benzol erhalten, und die



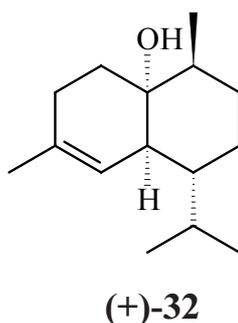
**Abbildung 40:**  
Gaschromatogramm des isolierten verunreinigten Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**) (oben) und des Ergebnis der sauer katalysierten Umlagerung von **29** (unten); CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C

Charakterisierung erfolgte aufgrund guter Übereinstimmung mit den Literaturdaten [183]. Der Drehwert konnte aufgrund der unzureichenden Reinheit der Substanz nicht bestimmt werden. Die Zuordnung der absoluten Konfiguration erfolgte durch Umlagerung einer kleinen Probe an **29** in saurem Ionenaustauscher. Nach massenspektrometrischer Untersuchung entstanden als Hauptprodukte der Umlagerung  $\gamma$ -Cadinen (**30**) und  $\delta$ -Cadinen (**31**). In Abbildung 40 erkennt man einen deutlichen Anstieg der Signale für **30** und **31** bei vollständigem Verschwinden des Signals für Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**).

Bei dem aus der Umlagerung von **29** entstandenen  $\delta$ -Cadinen (**31**) handelte es sich um gewöhnliches (+)-**31**, wie durch Untersuchung an den Säulen Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin und Heptakis(6-O-t.butylidimethylsilyl-2,3-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin festgestellt wurde. Das isolierte Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**) muß demzufolge ebenfalls in der "gewöhnlichen" Konfiguration als (-)-**29** vorliegen.

#### 4.2.3 Isolierung und Charakterisierung von (+)-epi-Cubenol (**32**)

Eine oxygenierte sesquiterpenoide Verbindung, die in größeren Mengen in allen untersuchten Chargen von *Conocephalum conicum* Typ I enthalten ist, ist (+)-epi-Cubenol (**32**). Diese Verbindung wurde mittels präparativer Gaschromatographie aus dem ätherischen Öl isoliert und wies im Massenspektrum ein Molekülionsignal von  $m/z = 222$  aus. Die für Alkohole typische  $[M^+ - 18]$ -Abspaltung ergibt ein Signal von  $m/z = 204$ .



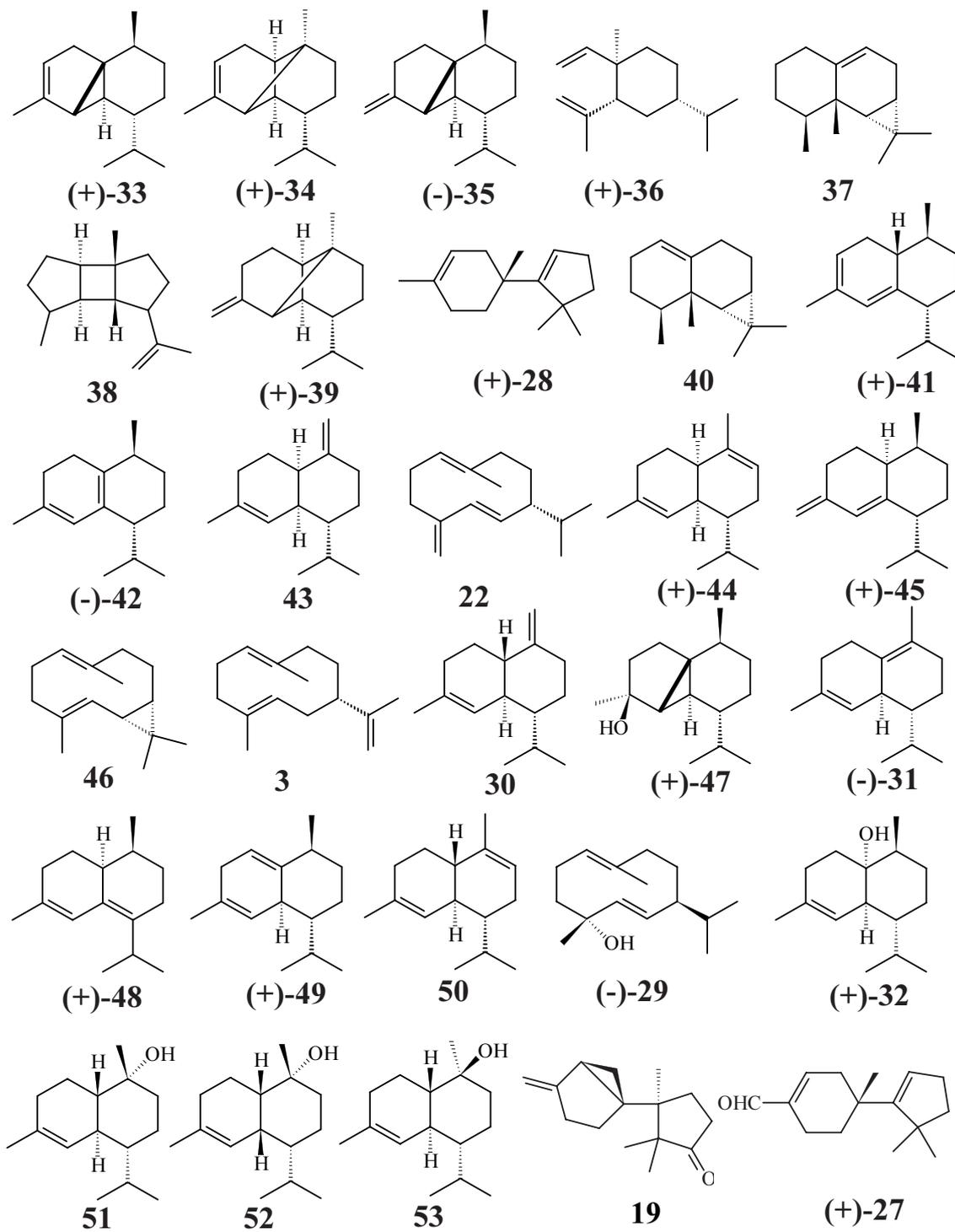
**Abbildung 41:**  
(+)-epi-Cubenol (**32**)

(+)-epi-Cubenol (**32**) wurde aus dem Lebermoos *Scapania undulata* [184] bereits isoliert. Die Identifizierung von **32** erfolgte durch Vergleich der spektroskopischen Daten. Die Zuordnung der absoluten Konfiguration erfolgte durch Drehwertmessung und Vergleich mit der Literatur.

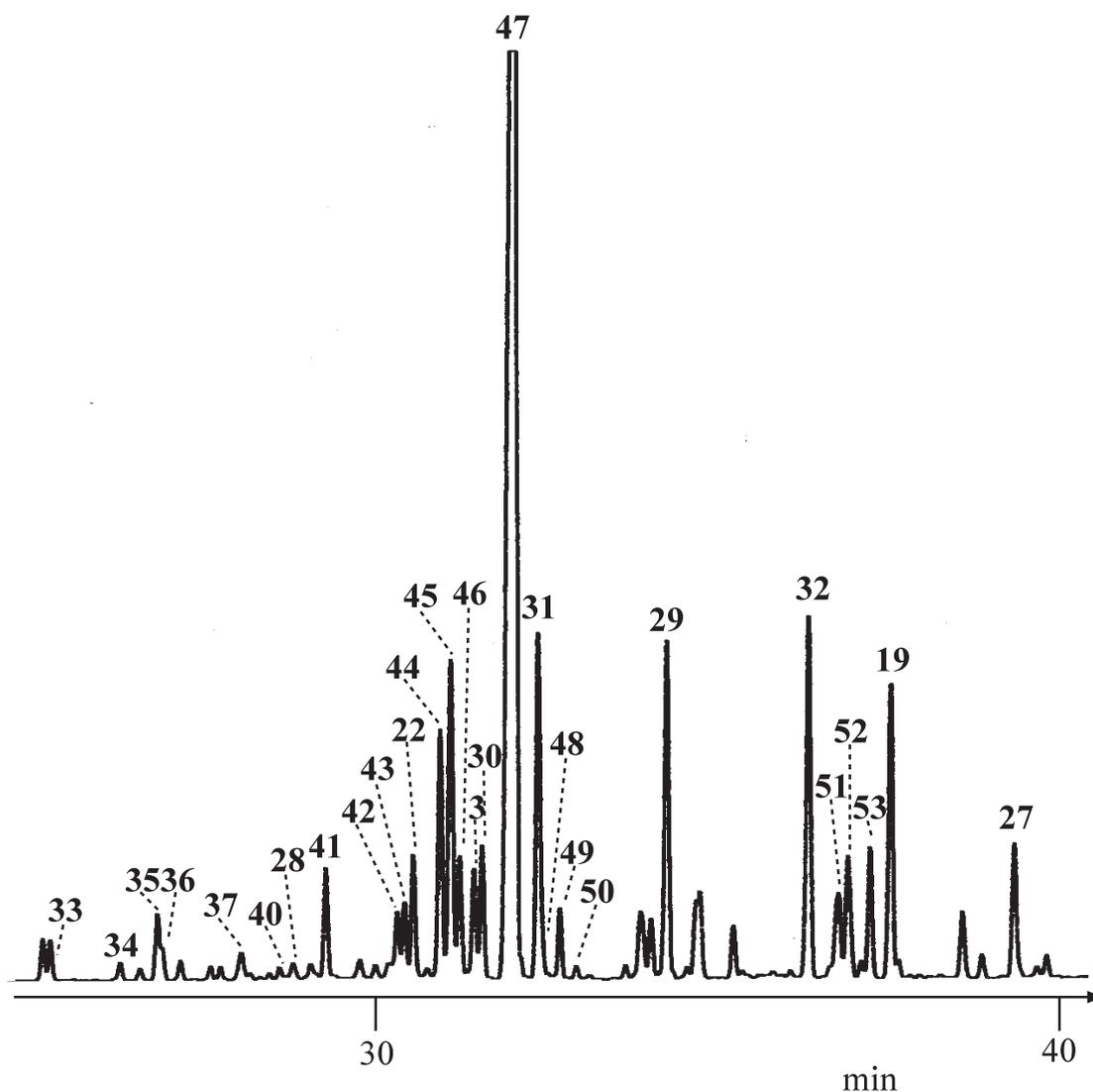
#### 4.2.4 Überblick über die isolierten und identifizierten Inhaltsstoffe aus *Conocephalum conicum* Typ I

Abbildungen 42 und 43 bieten einen Überblick über die identifizierten Inhaltsstoffe von *Conocephalum conicum* Typ I (ausgewählt ist hier ein Chromatogramm des Wasserdampfdestillats einer in Mutlangen gesammelten Charge). Die einzelnen Substanzen sind teilweise isoliert [174], teils aufgrund der Identität der Massenspektren zugeordnet worden. Die absolute Konfiguration der Verbindungen wurde durch Drehwertmessungen, Umlagerungsreaktionen zu Verbindungen bekannter absoluter Konfiguration, Untersuchungen an Säulen mit chiralen Phasen und Koinjektionen mit vorhandenen Standards bestimmt. In den Fällen, in denen keine Aussage über die absolute Konfiguration der Verbindung gemacht werden kann, sind die entsprechenden Strukturen ohne Vorzeichen genannt.

Identifiziert wurden (+)- $\alpha$ -Cubeben (**33**), (+)- $\alpha$ -Copaen (**34**), (-)- $\beta$ -Cubeben (**35**), (+)- $\beta$ -Elemen (**36**), Aristolen (**37**), 11-Bourbonen (**38**), (+)- $\beta$ -Copaen (**39**), (+)-Isobazzanen (**28**) (nicht in allen Chargen), Calaren (**40**), (+)-Cadina-3,5-dien (**41**), (-)-Cadina-1(6),4-dien (**42**),  $\alpha$ -Muurolen (**43**), Germacren D (**22**), (+)- $\gamma$ -Muurolen (**44**), (+)-Bicyclosesquiphellandren (**45**), Bicyclogermacren (**46**), Germacren A (**3**),  $\gamma$ -Cadinen (**30**), (+)-Cubebol (**47**), (-)- $\delta$ -Cadinen (**31**), (+)-Zonaren (**48**), (+)-Cadina-1,4-dien (**49**),  $\alpha$ -Cadinen (**50**), (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**), (+)-epi-Cubenol (**32**), T-Cadinol (**51**), T-Muurolol (**52**),  $\alpha$ -Cadinol (**53**), Grimaldon (**19**) (nicht in allen Chargen), (+)-Isobazzanaldehyd (**27**) (nicht in allen Chargen)



**Abbildung 42:**  
Sesquiterpenoide Inhaltsstoffe von *Conocephalum conicum* Typ I



**Abbildung 43:**

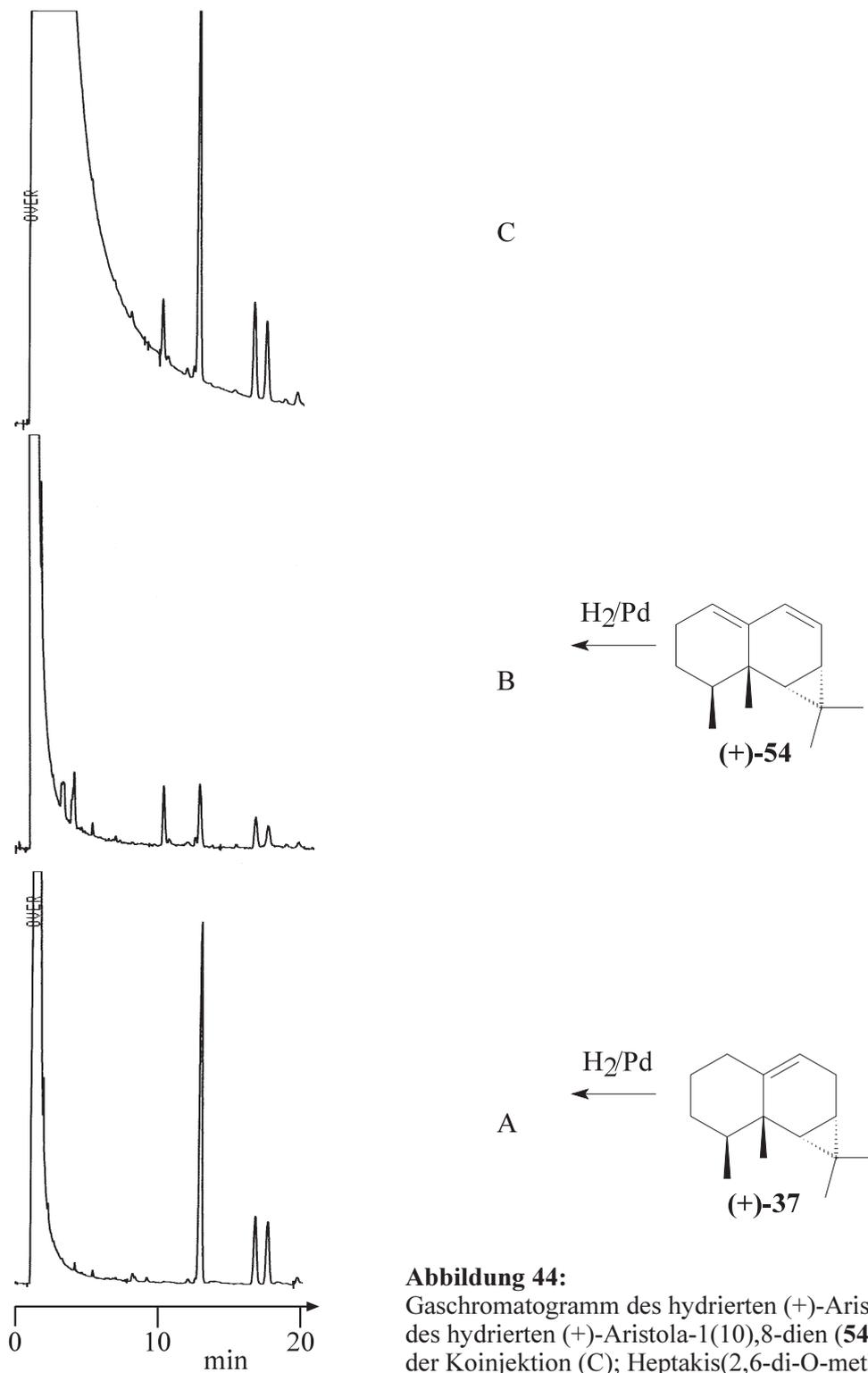
Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Typ I (Mutlangen) mit Zuordnung der bekannten sesquiterpenoiden Substanzen; CP Sil 5, 50°C, 3°C/min, 200°C

### 4.3 Inhaltsstoffe des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ II

#### 4.3.1 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Aristola-1(10),8-dien (54)

Der Hauptpeak der Sesquiterpenfraktion des Wasserdampfdestillats und des SFE-Extrakts (siehe Abbildung 52) von *Conocephalum conicum* Typ II zeigt im Massenspektrum ein Molekülionsignal  $m/z = 202$ . (+)-Aristola-1(10),8-dien (54) konnte mittels präparativer Gaschromatographie mit einer ca. 5 %igen Verunreinigung von (-)-Calaren (40) isoliert werden. Die Identifizierung erfolgte auf Grundlage der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren und Vergleich mit Literaturdaten [185]. Aristola-1(10),8-dien (54) wurde auch als Inhaltsstoff des Lebermooses

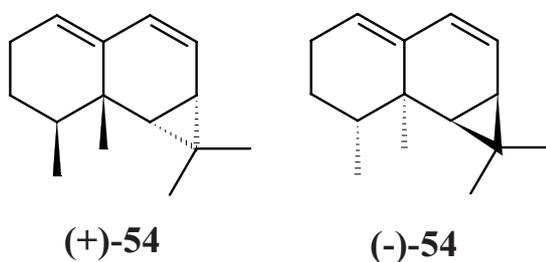
*Reboulia hemisphaerica* [186] und der Fruchtkörper von *Russula lepida* [187] beschrieben. Zur Bestimmung der absoluten Konfiguration wurde eine Probe von **54** hydriert und die hydrierten Produkte mit denen von (+)-Aristolen (**37**) verglichen; es wurden identische Produkte erhalten. Eine Koinjektion der gesättigten, diastereomeren Aristolane bzw. Nardosinane an Säulen mit chiraler Phase und der Erhalt identischer Signale ergibt den Beweis der absoluten Konfiguration (siehe Abbildung 44).



**Abbildung 44:**

Gaschromatogramm des hydrierten (+)-Aristolen (**37**) (A), des hydrierten (+)-Aristola-1(10),8-dien (**54**) (B) und der Koinjektion (C); Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin; 115°C

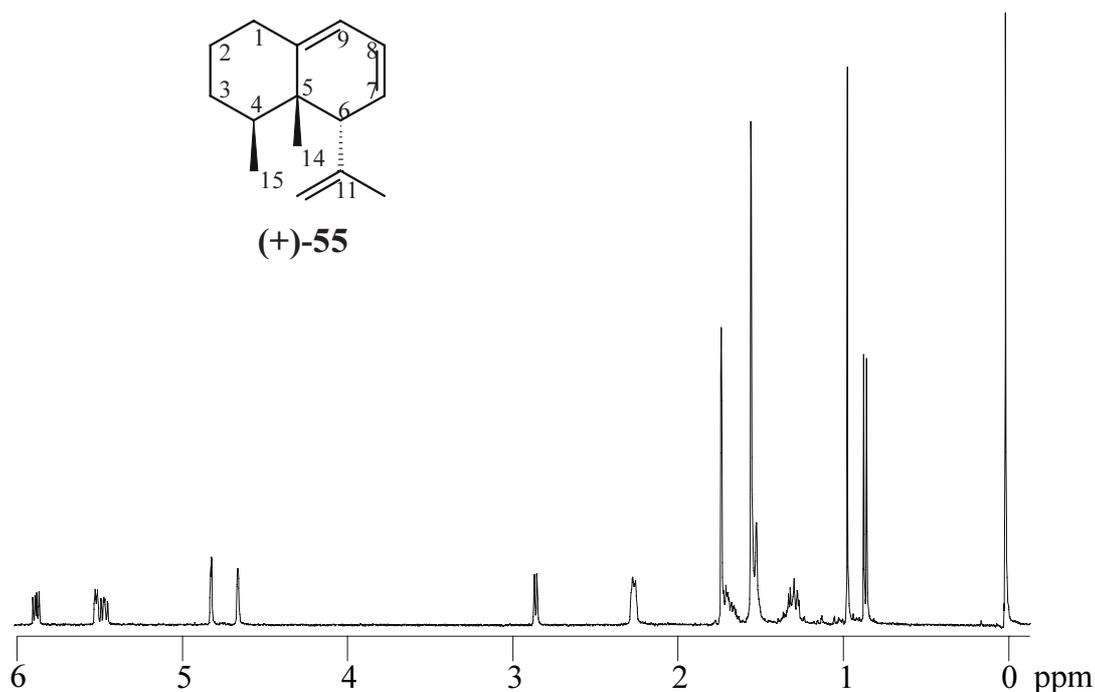
In der Pflanze *Nardostachys jatamansii* konnte durch zweidimensionale Gaschromatographie des Wasserdampfdestillats mit einer isolierten Probe von (+)-**54** (-)-Aristola-1(10),8-dien (**54**) nachgewiesen werden.



**Abbildung 45:**  
(+)- und (-)-**54**

#### 4.3.2 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Nardosina-7,9,11-trien (**55**)

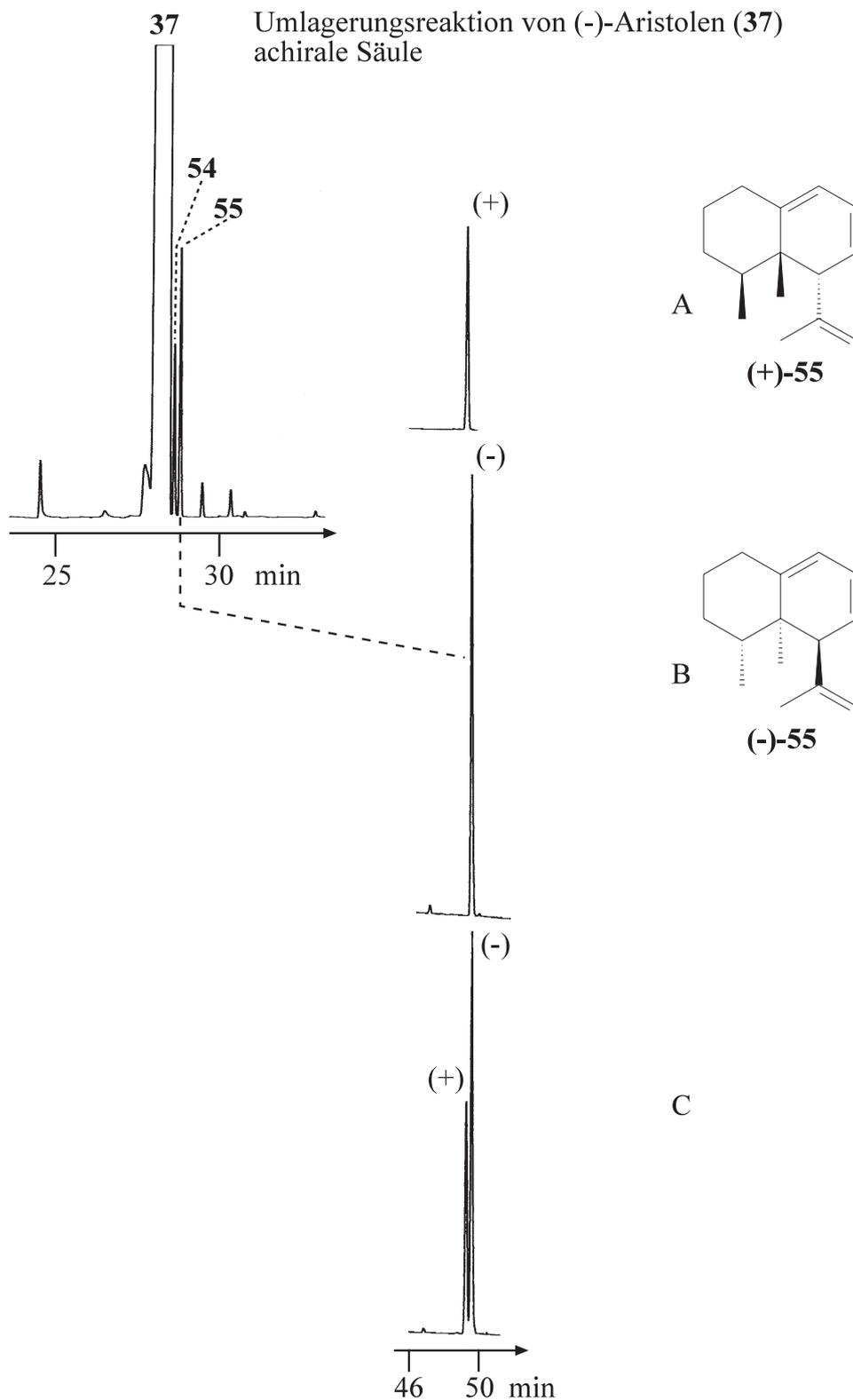
In dem Wasserdampfdestillat und SFE-Extrakt von *Conocephalum conicum* Typ II beobachtet man noch eine zweite Verbindung mit der Masse von 202. (+)-Nardosina-7,9,11-trien (**55**) konnte mittels präparativer Gaschromatographie aus dem Wasserdampfdestillat isoliert werden. Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum dieser Verbindung ist gut auswertbar (siehe Abbildung 46).



**Abbildung 46:**  
 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Nardosina-7,9,11-trien (**55**)

Bei  $\delta$  5.84 ppm - erkennt man ein doppeltes Dublett, das zu H-8 gehört und mit den beiden anderen olefinischen Protonen H-9, welches als breites Dublett bei 5.47 ppm und H-7, das als doppeltes Dublett bei 5.43 ppm erscheint, koppelt. Das letztgenannte Signal weist eine weitere Kopplung zu einem Dublett bei 2.83 ppm auf, welches zu H-6 gehört. Bei 4.78 ppm und 4.62 ppm erkennt man die jeweils breiten Singulets einer exocyclischen Doppelbindung der Methylenprotonen an C-12 gehören, die mit der olefinischen Methylgruppe 13, die bei 1.71 ppm als breites Singulett erscheint, koppeln. Eine allylische Kopplung erkennt man vom Signal des H-9 zu einem Multiplett bei 2.24 ppm, welches zu den Methylenprotonen an C-1 gehört. Die Identifizierung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren, HMQC- und HMBC-Spektren. Nardosina-7,9,11-trien (**55**) wurde auch als Inhaltsstoff von *Russula lepida* identifiziert [187].

Zum Nachweis der absoluten Konfiguration wurde eine Probe von (-)-Aristolen (**37**) unter der Wirkung von schwach saurem Ionenaustauscher einen Tag umgelagert. Es entstanden in geringen Mengen (-)-Nardosina,7,9,11-trien (**55**) und (-)-Aristola-1(10),8-dien (**54**). Mittels zweidimensionaler Gaschromatographie wurde diese Mischung mit einer Probe des isolierten (+)-**55** verglichen; es handelt sich also um enantiomere Verbindungen (siehe Abbildung 47).



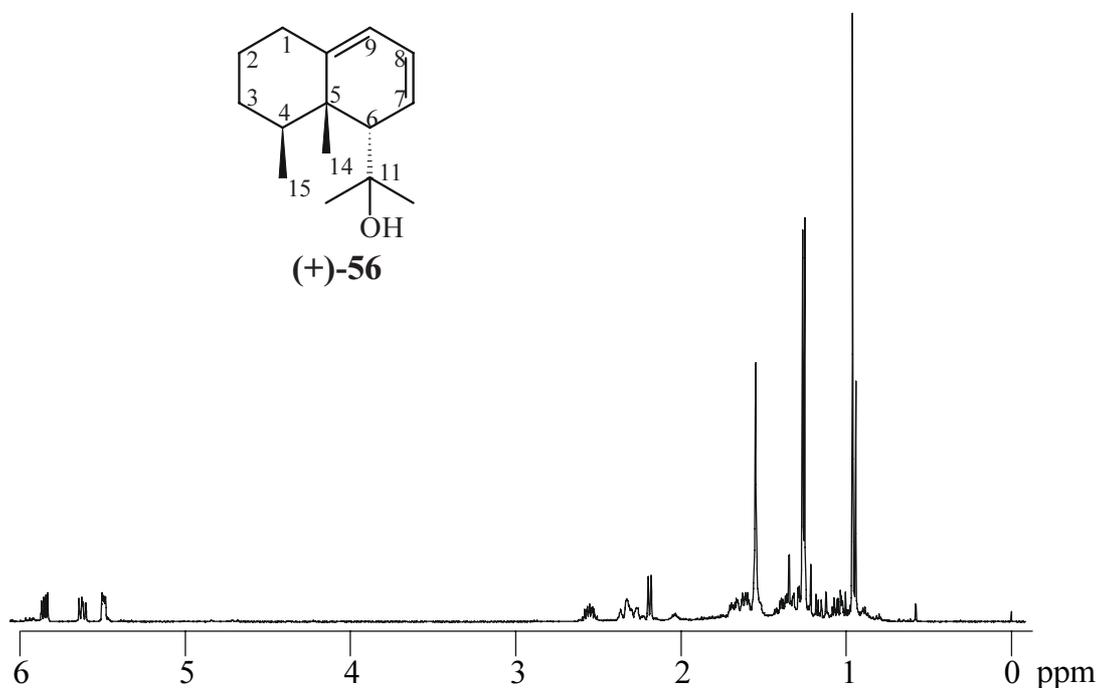
**Abbildung 47:**

Zweidimensionale Gaschromatographie von (+)- und (-)-**55**. Untersucht wurde die aus *Conocephalum conicum* Typ II isolierte Probe des (+)-Nardosina-7,9,11-trien (**55**) (A), (-)-Nardosina-7,9,11-trien (**55**) aus der Umlagerungsreaktion von (-)-**37** (B) und die Koinjektion (C) an Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrrin (120°C); achirale Säule: CpSil5 (50°C, 3°C/min, 230°C)

### 4.3.3 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol (**56**)

Im Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats und des SFE-Extraktes ist nach längerer Retentionszeit eine Substanz zu erkennen, deren Molekülionensignal im EI-Massenspektrum nicht erkennbar ist. Im Massenspektrum unter den Bedingungen der chemischen Ionisation beobachtet man ein Molekülionensignal  $m/z = 220$ , was auf eine Verbindung vom Typ  $C_{15}H_{24}O$  hinweist. Abspaltung von  $H_2O$  führt zu  $m/z = 202$  (dieses Signal erkennt man als vermeintliches Molekülionensignal im EI-Massenspektrum). Das Massenspektrum bietet noch einen weiteren Hinweis auf die Identität des Moleküls: Ein intensives Signal bei  $m/z = 59$  repräsentiert das Hydroxy-Isopropyl-Fragment.

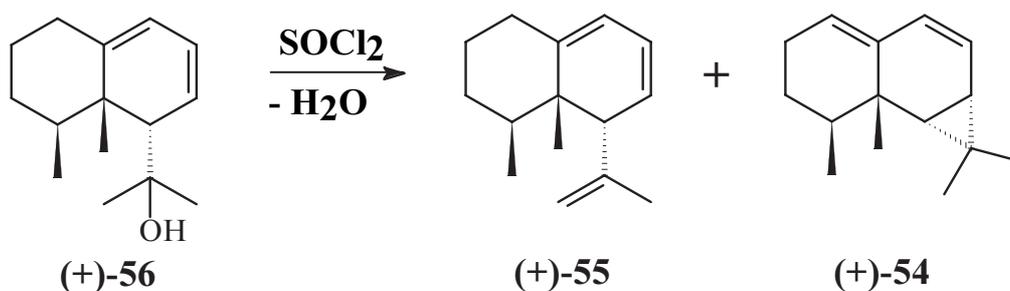
Mittels präparativer Gaschromatographie konnte (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol (**56**) isoliert werden. Die Identifizierung dieser Substanz erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren, des Kohlenstoff-NMR- und eines HMQC-Spektrums. Das Protonen-NMR-Spektrum hat große Ähnlichkeit mit dem Spektrum von Nardosina-7,9,11-trien (**55**), was die Vermutung nahelegt, daß es sich bei Substanz **56** um den gerüstanalogen Alkohol handelt.



**Abbildung 48:**  
 $^1H$ -NMR-Spektrum von Nardosina-7,9-dien-11-ol (**56**)

Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erkennt man drei Signale, die zu den olefinischen Protonen gehören. Bei tiefstem Feld erscheint ein doppeltes Dublett bei 5.83 ppm, welches das im Zentrum des konjugierten Systems stehende Proton H-8 repräsentiert und Kopplungen zu den beiden anderen olefinischen Protonen aufweist. Diese erscheinen als doppeltes Dublett bei 5.60 ppm (H-7) und als Multiplett bei 5.48 ppm (H-9). Das letztgenannte Signal zeigt wiederum eine Allylkopplung zu dem Signal der Methylenprotonen an C-1, die als Multiplett im Bereich von 2.25 - 2.39 ppm absorbieren. Das Signal des H-7 koppelt zu einem Dublett, welches bei 2.19 ppm erscheint und zu H-6 gehört. Weiterhin sichtbar sind die - im Vergleich zum  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **55** - deutlich zu tiefem Feld hin verschobenen Singulettssignale der beiden Methylgruppen 12 und 13, die bei 1.27 ppm und 1.26 ppm auftreten. Die beiden anderen Methylgruppensignale erscheinen bei höherem Feld (0.97 ppm, Singulett von  $\text{CH}_3$ -14 und 0.96 ppm, Dublett von  $\text{CH}_3$ -15). Auffällig ist das Auftreten des Signals von H-4 bei relativ tiefem Feld bei 2.55 ppm, welches eine Kopplung zum Dublett der Methylgruppe 15 aufweist. Die Tieffeldverschiebung ist durch die Wechselwirkung der räumlich nah stehenden Hydroxylgruppe erklärbar.

Die Bestimmung der absoluten Konfiguration des Moleküls erfolgte durch Dehydratisierung von (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol (**56**) zu (+)-Nardosina-7,9,11-trien (**55**) und (+)-Aristola-1(10),8-dien (**54**) und anschließender Koinjektion an GC-Säulen mit chiralen Phasen.



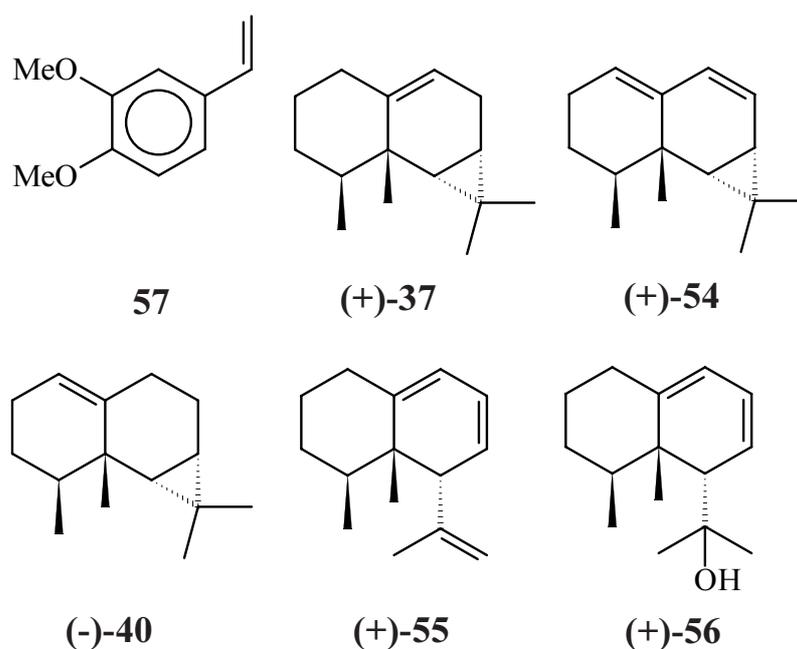
**Abbildung 49:**  
Dehydratisierung von (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol (**56**)

**56** wurde ebenfalls aus *Pallavicinia lyellii* isoliert und als Inhaltsstoff von *Reboulia hemisphaerica* [186] und *Russula lepida* [187] beschrieben.

#### 4.3.4 Übersicht über die isolierten und charakterisierten Inhaltsstoffe des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ II

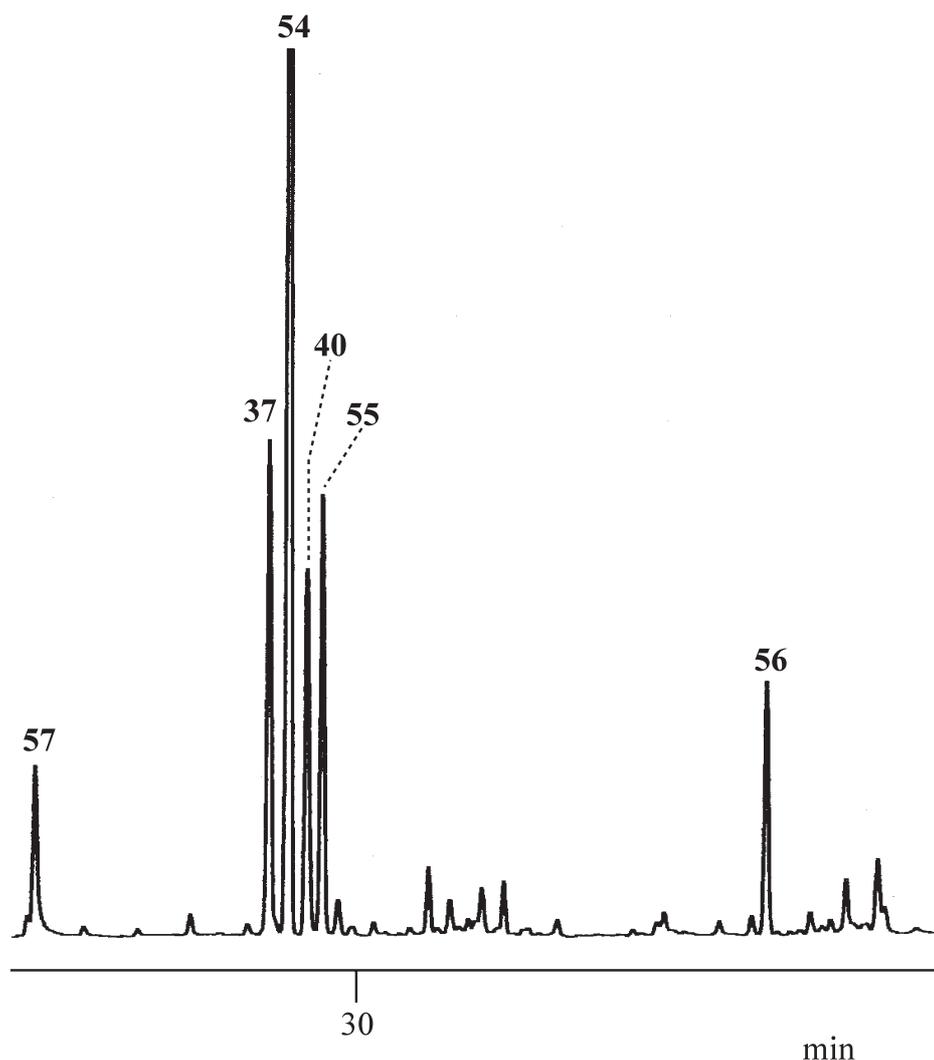
Abbildungen 50 und 51 bieten einen Überblick über die isolierten und charakterisierten Inhaltsstoffe von *Conocephalum conicum* Typ II. 3,4-Dimethoxystyrol (**57**) wurde in der Diplomarbeit von Melching S. aus *Conocephalum conicum* isoliert [174] und durch Vergleich des NMR-Spektrums mit Literaturdaten identifiziert [188]. **57** ist auch als Komponente einer unbekanntes *Asterella*- oder *Mannia*-Spezies isoliert worden [189].

Identifiziert wurden 3,4-Dimethoxystyrol (**57**), (+)-Aristolen (**37**), (+)-Aristola-1(10),8-dien (**54**), (-)-Calaren (**38**), (+)-Nardosina-7,9,11-trien (**55**), (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol (**56**)



**Abbildung 50:**

Sesquiterpenoide Inhaltsstoffe und 3,4-Dimethoxystyrol (**57**) von *Conocephalum conicum* Typ II

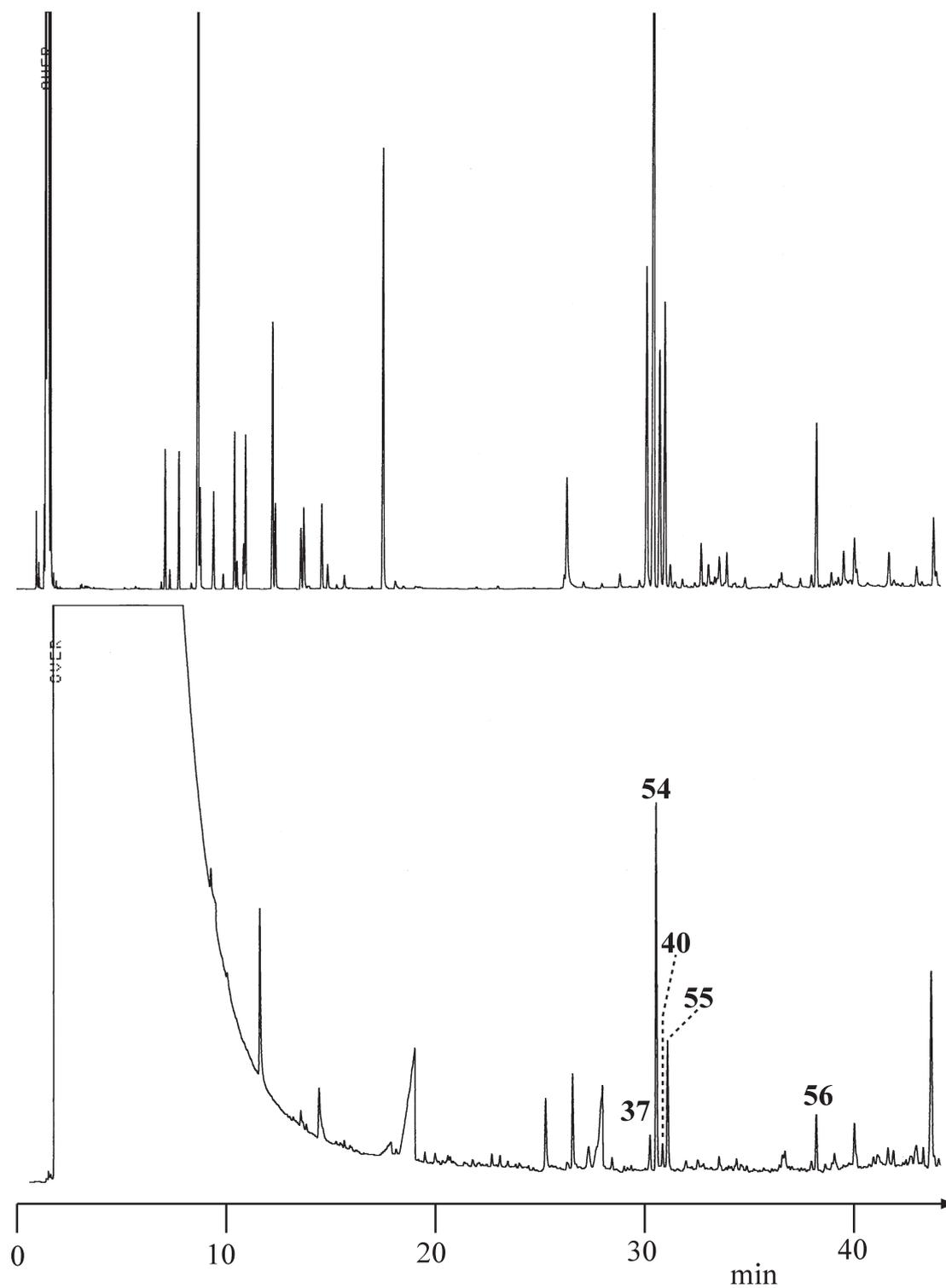


**Abbildung 51:**

Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Typ I (Bille) mit Zuordnung der bekannten sesquiterpenoiden Substanzen und 3,4-Dimethoxystyrol (**57**); CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C

#### 4.3.5 Vergleich von Wasserdampfdestillat und SFE-Extrakt des Lebermooses *Conocephalum conicum* "Hamburg/Aumühle (Billeufer)"

Solange die Biosynthese der Sesquiterpene nicht vollständig geklärt ist, stellt sich immer wieder die Frage, ob Sesquiterpenkohlenwasserstoffe Artefakte sind, die während der Wasserdampfdestillation durch Dehydratisierung aus den entsprechenden sesquiterpenoiden Alkoholen entstehen, oder ob sie biogenetische Vorläufer der entsprechend oxygenierten Verbindungen der Pflanze sind. Der Vergleich des SFE-Rohextraktes, der eine sehr schonende Gewinnung der Pflanzeninhaltsstoffe darstellt, mit dem Wasserdampfdestillat der gleichen Moosprobe zeigt, daß sich alle identifizierten Komponenten des Wasserdampfdestillats im SFE-Extrakt wiederfinden (siehe Abbildung 52).

**Abbildung 52:**

Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Bille (oben) und des SFE-Extraktes der gleichen Charge (unten); CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C

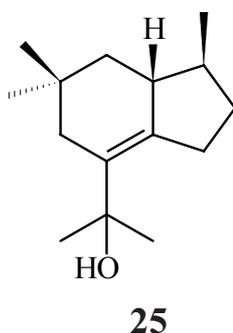
#### 4.4 Inhaltsstoffe des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ III

##### 4.4.1 Isolierung und Charakterisierung von Conocephalenol (25)

Die Isolierung und Charakterisierung von Conocephalenol (**25**) aus *Conocephalum conicum* gelang erstmals 1990 Connolly et al. [190]. 1991 wurde **25** von Tori et al. [85, 86] synthetisiert (siehe Kapitel 3.2.1).

Die absolute Konfiguration des aus deutschem *Conocephalum conicum* in unserer Arbeitsgruppe isolierten Conocephalenol (**25**) konnte nicht zweifelsfrei bestimmt werden, weshalb die im folgenden gezeigten Abbildungen von Conocephalenol (**25**) und der entsprechenden Brasilane (Kapitel 4.4.2 - 4.4.5) keine Angabe der Drehrichtung enthalten; die gezeigte Stereochemie macht demzufolge nur eine Aussage über die relative Konfiguration. Sie entspricht der entgegengesetzten Konfiguration der aus *Aplysia brasiliiana* identifizierten Brasilanalkohole [83, 84].

Conocephalenol (**25**) ist eine säurelabile und thermisch unbeständige Verbindung. Der im Wasserdampfdestillat des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ III zu den Hauptkomponenten gehörende Peak lagert sich unter Einwirkung von Kieselgel nahezu vollständig zu den entsprechenden Kohlenwasserstoffen mit Brasilangrundgerüst (Kapitel 4.4.2 - 4.4.5) um. Auch unter den Bedingungen der präparativen Gaschromatographie wurde Conocephalenol (**25**) teilweise dehydratisiert. Trotzdem konnte diese Verbindung mittels präparativer Gaschromatographie isoliert werden. Im Massenspektrum erscheint ein Molekülionsignal bei  $m/z = 222$  (entspricht einer Verbindung der Summenformel  $C_{15}H_{26}O$ ) und ein Signal bei  $m/z = 204$ . Beobachtet wird ebenso ein Signal bei  $m/z = 59$ , das auf ein Hydroxy-Isopropyl-Strukturfragment hinweist.

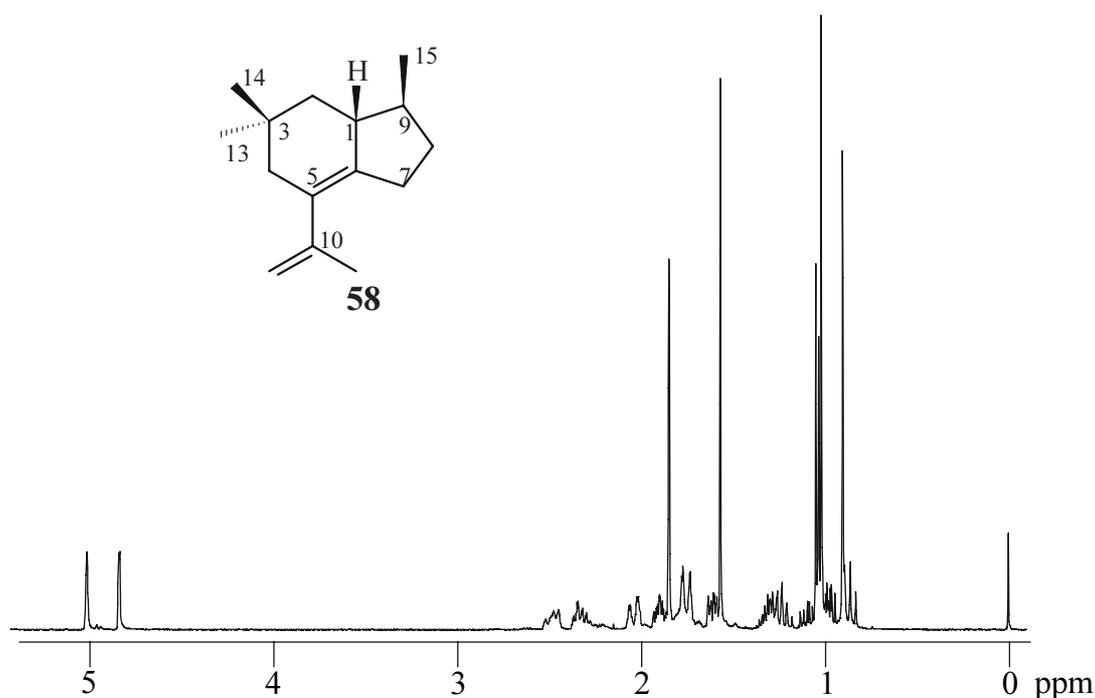


**Abbildung 53:**  
Conocephalenol

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **25** in deuteriertem Benzol entspricht den in der Literatur veröffentlichten Daten [85].

#### 4.4.2 Isolierung und Charakterisierung von Brasila-5,10-dien (**58**)

Brasila-5,10-dien (**58**) ist im Wasserdampfdestillat und Dichlormethanextrakt von *Conocephalum conicum* Typ III in geringen Mengen vorhanden. Während des Versuchs der Isolierung mittels präparativer Gaschromatographie wurde der Peak proportional der Abnahme des Peaks, der Conocephalenol (**25**) repräsentiert, größer. Es gelang demzufolge, **58** in relativ großen Mengen zu isolieren und eine Strukturaufklärung vorzunehmen. **58** weist im Massenspektrum ein Molekülionsignal bei  $m/z = 204$  auf.

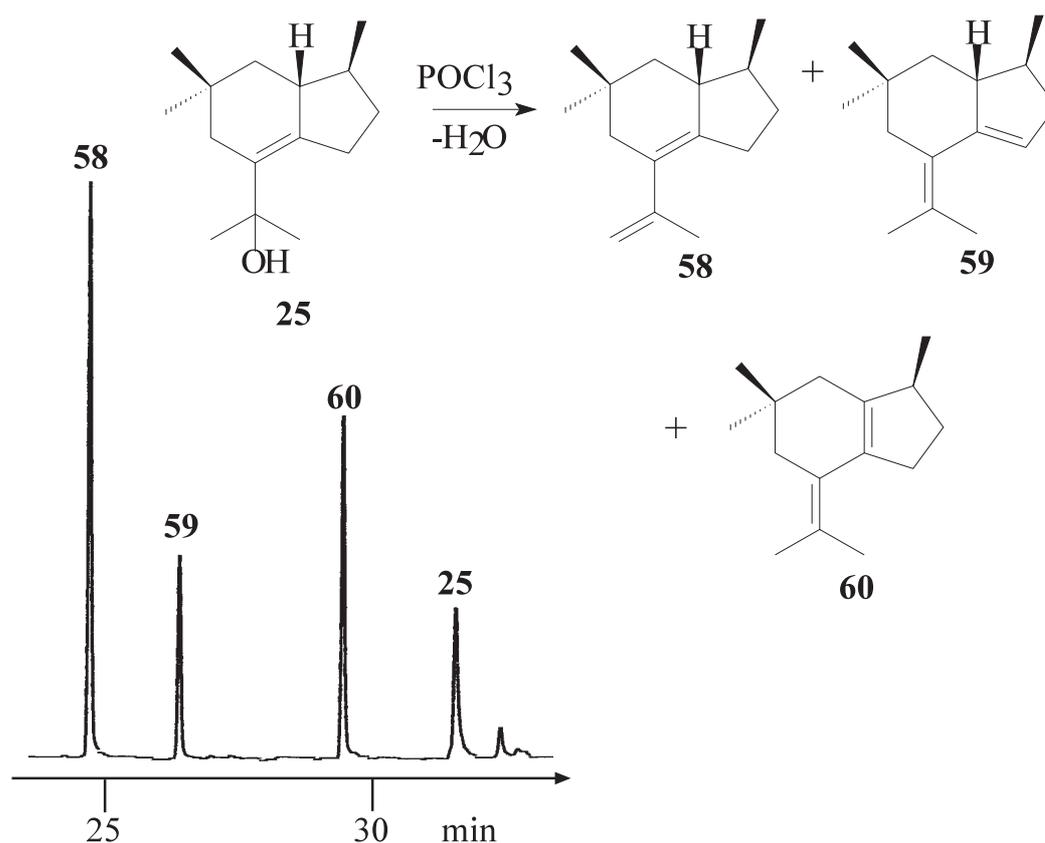


**Abbildung 54:**  
 $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Brasila-5,10-dien (**58**)

Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum erkennt man bei 4.88 ppm und bei 5.02 ppm die typischen Signale einer exocyclischen Doppelbindung, die mit einem Singulett bei 1.82 ppm koppeln und somit die Existenz einer Isopropenylgruppe anzeigen. Entsprechend sieht man im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum bei 112,6 ppm das Signal eines sekundären Kohlenstoffatoms, das der olefinischen Methylengruppe zugeordnet werden kann. Deutlich sind ebenfalls drei Singuletts, bei 129.6 ppm, 137.9 ppm und 146.4 ppm, die zu den drei quartären olefinischen Kohlenstoffatomen C-5, C-6 und C-10 gehören. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum sieht

man drei weitere Methylgruppen; zwei davon - bei 0.94 ppm und 0.99 ppm jeweils als Singulets - müssen geminal zueinander stehen, da sie im 2D-Spektrum miteinander koppeln. Weiterhin taucht bei 1.00 ppm das Dublett der Methylgruppe 15 auf, die mit dem Methinproton H-9 - im Bereich von 1.15 - 1.3 ppm - koppelt. Interessant ist das Auftreten eines hochfeldverschobenen Signals des Methylenprotons an Position 2 $\alpha$  bei 0.86 ppm, das mit dem entsprechenden Proton 2 $\beta$  bei 1.56 ppm koppelt. Die Identifizierung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen  $^1\text{H-NMR}$ -,  $^{13}\text{C-NMR}$ -, HMQC- und HMBC-Spektren [191].

Zur weiteren Identifizierung wurde Conocephalenol (**25**) mit Phosphorylchlorid dehydratisiert und die entsprechenden Dehydratisierungsprodukte analysiert (siehe Abbildung 55). Als Hauptkomponente wurde erwartungsgemäß Brasila-5,10-dien (**58**) beobachtet. Eine Koinjektion des Wasserdampfdestillats mit den bei der Dehydratisierung von **25** entstandenen Substanzen an enantioselektiven Säulen ergab die analoge Konfiguration wie die von Conocephalenol (**25**).

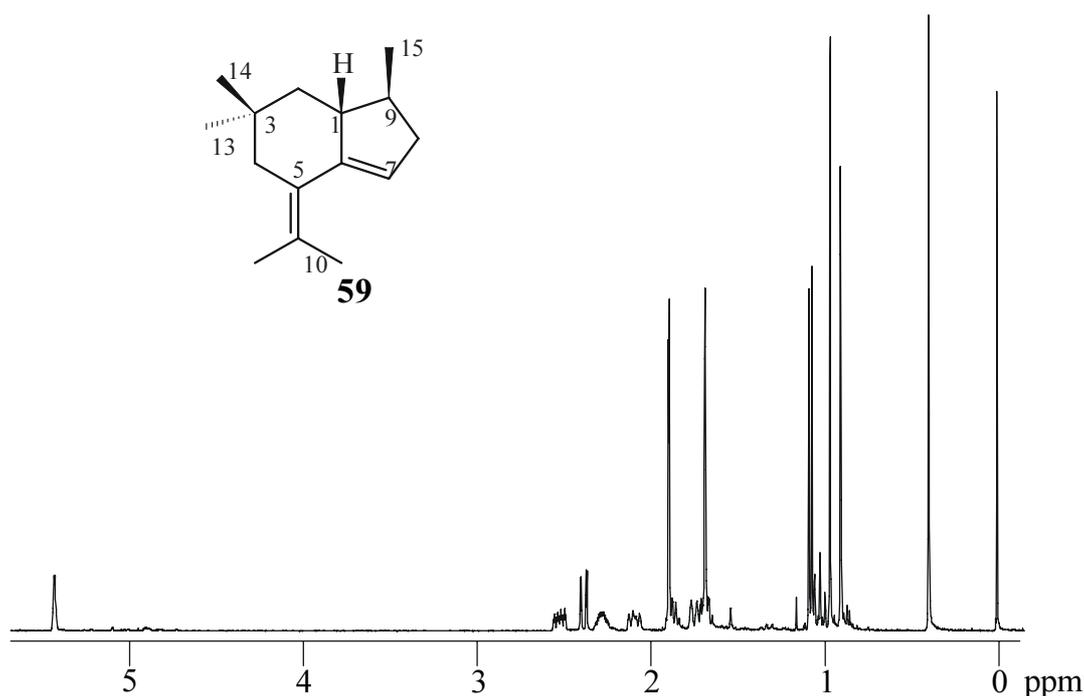


**Abbildung 55:**

Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm der Dehydratisierungsreaktion von Conocephalenol (**25**); CP Sil 5, 50°C, 3°C/min, 200°C

#### 4.4.3 Isolierung und Charakterisierung von Brasila-5(10),6-dien (59)

Eine im Wasserdampfdestillat und SFE-Extrakt von *Conocephalum conicum* Typ III in geringen Mengen vorkommende Verbindung mit der Masse 204, findet man ebenfalls in der Reihe der Dehydratisierungsprodukte von Conocephalenol (**25**) wieder (siehe Abbildung 55). Mittels präparativer Gaschromatographie konnte Brasila-5(10),6-dien (**59**) aus dem Wasserdampfdestillat von *Conocephalum conicum* Typ III isoliert werden.



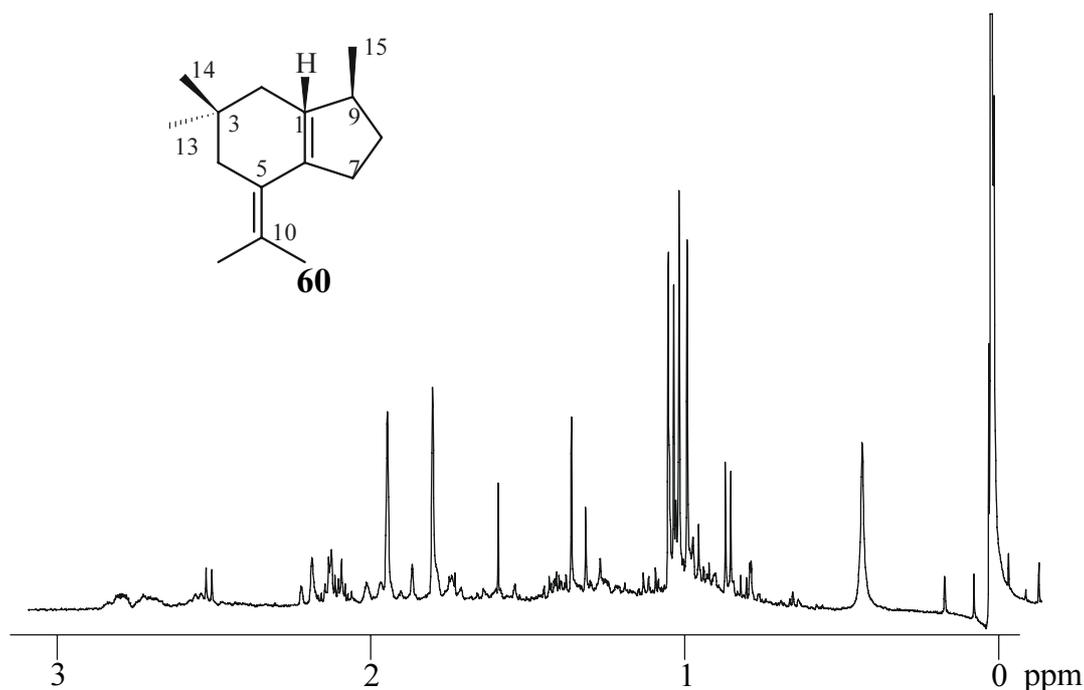
**Abbildung 56:**  
<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Brasila-5(10),6-dien (**59**)

Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum erkennt man zunächst das Auftreten von 5 Signalen, die jeweils einer Methylgruppe zugeordnet werden können. Die zwei Signale bei hohem Feld - Singulets bei 0.91 ppm und 0.97 ppm - koppeln wiederum im 2D-Spektrum miteinander und repräsentieren demzufolge die beiden geminalen Methylgruppen 13 und 14. Die zwei Signale bei tieferem Feld - Singuletsignale bei 1.69 ppm und 1.90 ppm - koppeln ebenfalls miteinander und sind den Methylgruppen 11 und 12 zuzuordnen. Das Dublett bei 1.08 ppm zeigt eine Kopplung zu dem Methinproton H-9, das wiederum zu der weit aufgespaltenen C-8-Methylengruppe bei 2.10 ppm und 2.53 ppm koppelt. Von diesen Signalen ausgehend erkennt man auch die Kopplungen zu dem einzigen olefinischen Proton, das als breites Singulett bei 5.46 ppm erscheint. Das oben erwähnte ungewöhn-

lich hochfeldverschobene Signal der C-2-Methylengruppe taucht in diesem Spektrum ebenfalls auf. Bei 1.03 ppm und 2.29 ppm erscheinen die Signale der entsprechenden CH<sub>2</sub>-Gruppe jeweils als Multipletts. Die Strukturzuordnung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren und der Dehydratisierung von Conocephalenol (**25**).

#### 4.4.4 Isolierung und Charakterisierung von Brasila-1(6),5(10)-dien (**60**)

Eine weitere im Wasserdampfdestillat und Dichlormethanextrakt des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ III vorhandene Verbindung vom Brasilantyp ist Brasila-1(6),5(10)-dien (**60**). Dieses Sesquiterpen ist in isoliertem Zustand extrem instabil. Eine durch präparative Gaschromatographie isolierte Probe zersetzte sich innerhalb von 1 bis 2 Tagen in deuteriertem Chloroform ebenso wie in deuteriertem Benzol und in n-Hexan. Die Zersetzungsprodukte sind nach massenspektrometrischer Untersuchung keine Sesquiterpene, sondern Moleküle mit niedrigerer Molmasse. Möglicherweise spielen hier durch Licht induzierte Vorgänge eine Rolle.



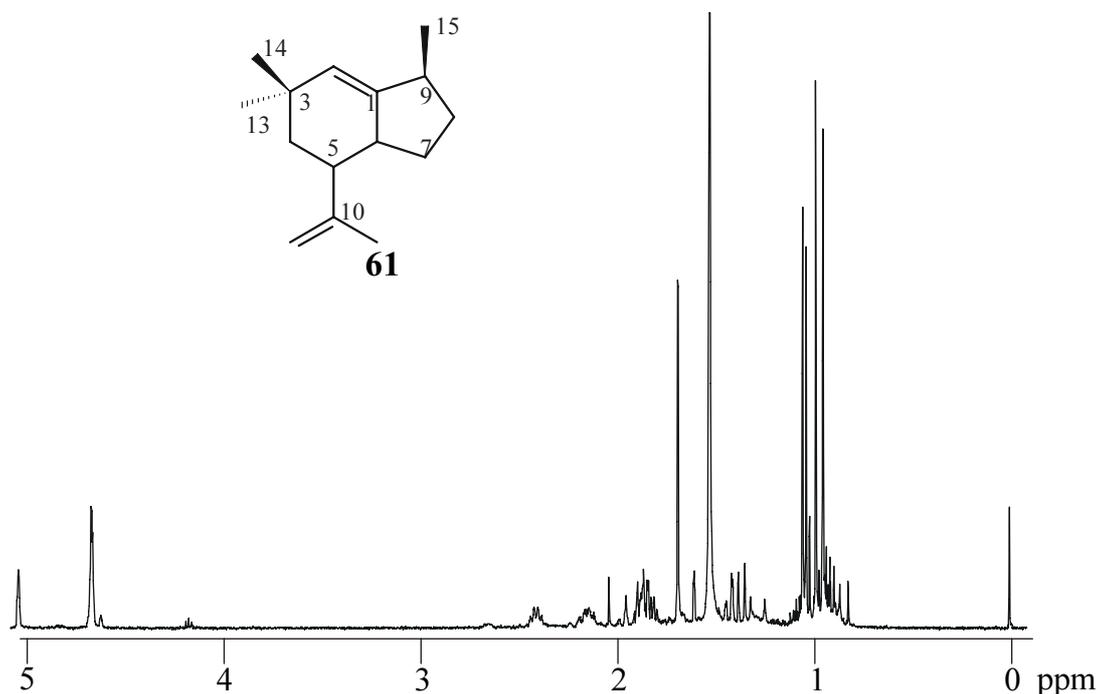
**Abbildung 57:**  
<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Brasila-1(6),5(10)-dien (**60**)

Eine zeitlich kurz nach der Isolierung NMR-spektroskopisch vermessene Probe konnte charakterisiert werden. Die Auswertung stützt sich auf ein- und zweidimensionale Protonen-NMR-Spektren.

Bei hohem Feld erkennt man als Singulets bei 0.96 ppm und 0.98 ppm die geminalen Methylgruppen 13 und 14. Bei tieferem Feld bei 1.76 ppm und 1.90 ppm beobachtet man die Singulets der an einer Doppelbindung sitzenden Methylgruppen 11 und 12. Das bei 1.01 ppm beobachtbare Dublett repräsentiert die Methylgruppe 15. Man erkennt keine olefinischen Protonen. **60** entsteht ebenfalls als Dehydratisierungsprodukt von Conocephalenol (**25**) (siehe Abbildung 55).

#### 4.4.5 Isolierung und Charakterisierung von Brasila-1,10-dien (**61**)

Eine Verbindung, die im Gaschromatogramm und Wasserdampfdestillat von *Conocephalum conicum* Typ III als Sesquiterpen mit niedrigster Retentionszeit erscheint und in sehr kleinen Mengen vorhanden ist, hat ein ähnliches Massenspektrum, wie die



**Abbildung 58:**  
<sup>1</sup>H-NMR von Brasila-1,10-dien (**61**)

als Brasilane identifizierten Verbindungen **58** und **59**. Brasila-1,10-dien (**61**) entsteht nicht bei der Dehydratisierung von Conocephalenol (**25**). Isoliert wurde die Verbindung mittels präparativer Gaschromatographie.

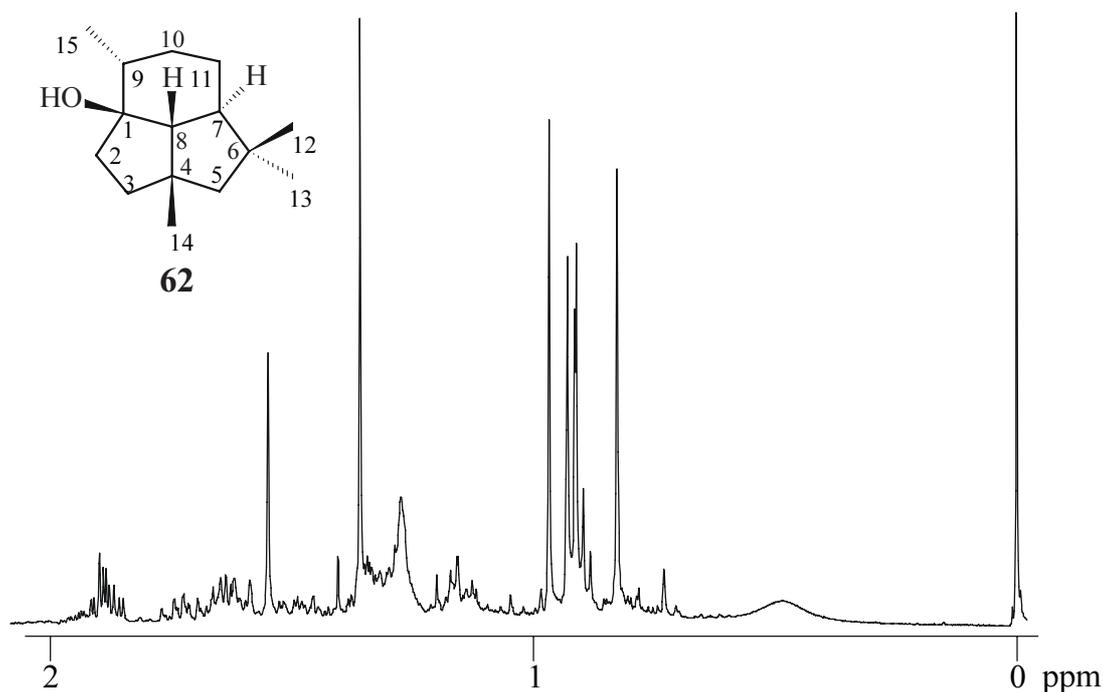
Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abbildung 58) erkennt man wiederum fünf Methylgruppen. Die Existenz einer Isopropenylfunktion ist durch eine exocyclische Doppelbindung bei 4.63 ppm und Kopplung zu einem - zu drei Protonen integrierbaren - Singulett bei 1.71 ppm gesichert. Zwei weitere jeweils zu drei Protonen integrierbare Signale, die im 2D-Spektrum miteinander koppeln, beobachtet man bei 0.96 ppm und 0.99 ppm; sie repräsentieren die geminalen Methylgruppen 13 und 14. Methylgruppe 15 erscheint als Dublett bei 1.04 ppm. Ein olefinisches Proton kann bei 5.10 ppm als Singulett beobachtet werden. Nach Auswertung dieser NMR-Daten, unterstützt durch die Tatsache, daß das Brasilangerüst in *Conocephalum conicum* Typ III oft vorkommt, liegt die Vermutung nahe, daß es sich um Brasila-1,10-dien (**61**) handelt.

Für alle weiteren Versuche, wie Hydrierungen oder Umlagerungen war die Menge an isoliertem **61** zu klein, da sich ein Teil der Substanz in deuteriertem Chloroform in nicht identifizierbare Substanzen zersetzt hatte.

#### 4.4.6 Isolierung und Charakterisierung von Presilhiperfolan-1-ol (**62**)

Presilhiperfolan-1-ol (**62**) ist sowohl im Wasserdampfdestillat als auch im Dichlormethanextrakt von *Conocephalum conicum* Typ III enthalten. Das Massenspektrum zeigt ein Molekülionsignal  $m/z = 222$  mit charakteristischer  $[\text{M}^+ - 18]$ -Fragmentierung; es handelt sich demzufolge um einen Alkohol der Summenformel  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ . Zur Isolierung der nicht zu den Hauptkomponenten des ätherischen Öls gehörenden Verbindung wurde das Wasserdampfdestillat zunächst mit Petrolether und einem Dichlormethangradienten bis zum reinen Dichlormethan an Kieselgel aufgetrennt. Die entsprechenden Fraktionen wurden mittels präparativer Gaschromatographie gereinigt und man erhielt Presilhiperfolan-1-ol (**62**).

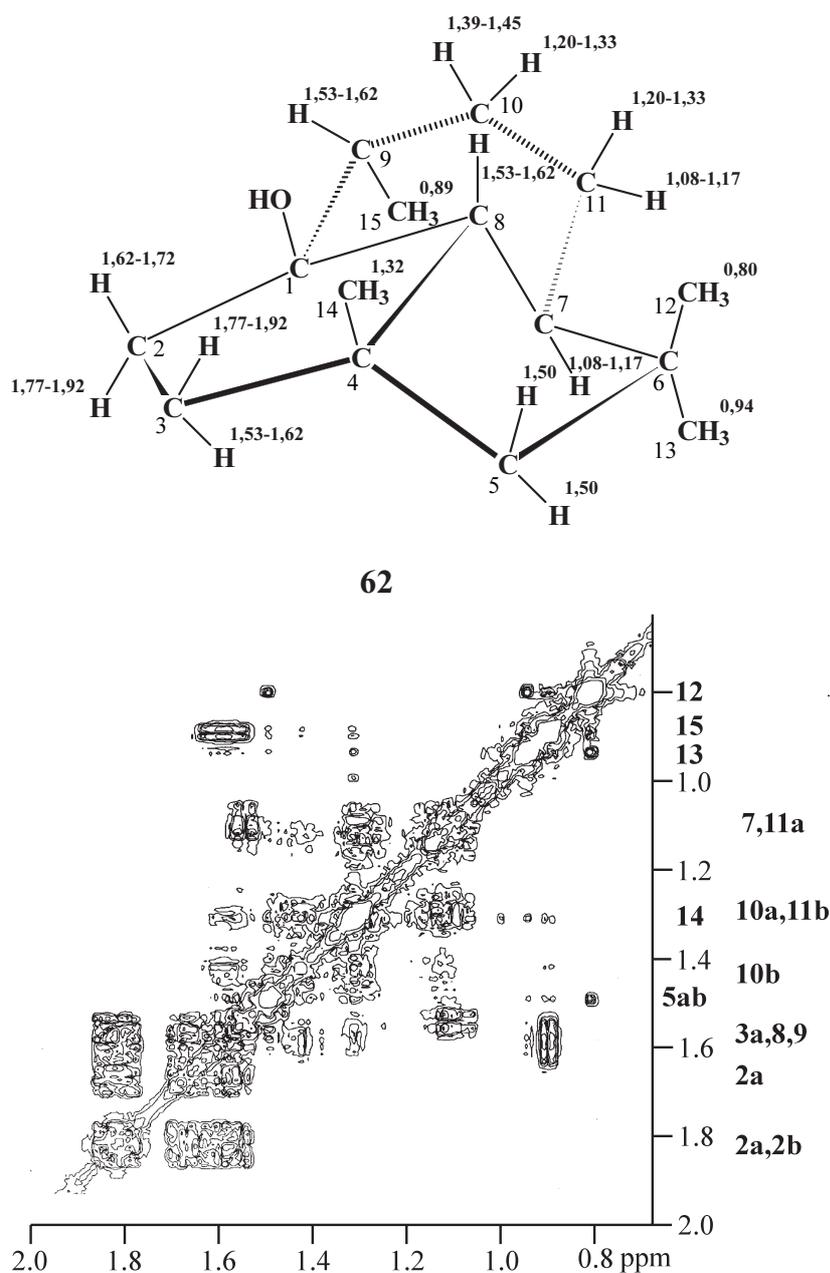
Die Identifizierung von Presilhiperfolan-1-ol (**62**) war schwierig, da nur sehr wenig Substanz zur Verfügung stand, und es sich nach einer ersten Durchsicht des  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums um einen tricyclischen Alkohol ohne olefinische Doppelbindung handeln mußte, alle Signale also sehr stark überlappten.



**Abbildung 59:**  
 $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Presilphiperfolan-1-ol (**62**)

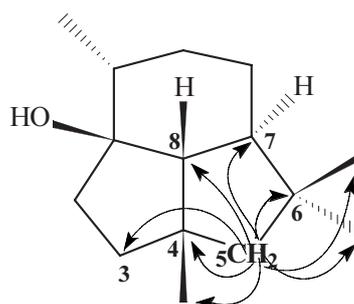
Im  $^1\text{H}$ -Spektrum absorbieren vier Methylgruppen (drei Singuletts und ein Dublett), von denen eine deutlich tieffeldverschoben bei 1.32 ppm erscheint. Dieses Singulettssignal repräsentiert die Methylgruppe 14, die in räumlicher Nähe zur Hydroxylgruppe an C-1 steht. Die beiden Singulettssignale bei 0.80 ppm und 0.94 ppm zeigen im 2D-NMR eine deutliche Kopplung zueinander, müssen daher geminal sein und zu den Methylgruppen 12 und 13 gehören. Das Dublett bei 0.89 ppm, der verbleibenden Methylgruppe 15 zeigt im 2D-Spektrum eine Kopplung zu einem Multiplett im Bereich von 1.52 - 1.65 ppm, in dem sich insgesamt 3 Protonen finden. Interessant ist das Auftreten eines Singuletts im  $^1\text{H}$ -Spektrum bei 1.50 ppm, dem 2 Protonen zugeordnet werden und das im 2D-Spektrum eine Kopplung zu einem der beiden hochfeldverschobenen Methylsinguletts aufweist. Abbildung 60 zeigt einen Ausschnitt des  $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-Spektrum mit den beobachteten Kopplungen.

Im HMBC erkennt man deutlich die Kopplungen der Methylgruppen 12, 13 und 14 zu den tertiären Kohlenstoffatomen C-8, C-7, den quartären Kohlenstoffatomen C-4 und C-6 und dem sekundären Kohlenstoffatom C-3. Einen Überblick über die von C-5 ausgehenden long-range-Kopplungen bietet Abbildung 61.

**Abbildung 60:**

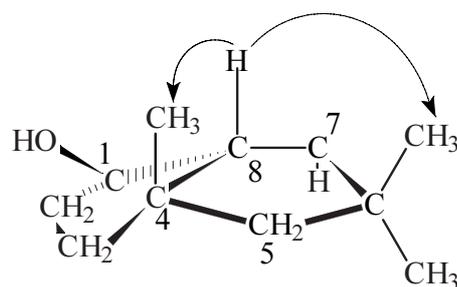
Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-Spektrum von **62** mit Zuordnung der Kreuzsignale zu den zugehörigen Protonen

Die Struktur und relative Konfiguration dieses Moleküls wurde durch NOESY-Messungen und aufgrund der chemischen Verschiebungen der Methylsignale aufgeklärt. Hydroxylgruppe und Methylgruppe 14 müssen aufgrund der chemischen Verschiebung von  $\text{CH}_3$ -14 beide auf derselben Seite des Moleküls liegen. Aus dem gleichen Grunde müssen sich  $\text{CH}_3$ -15 und Hydroxylgruppe auf unterschiedlichen Seiten des Moleküls befinden. Ein deutliches NOE-Signal erkennt man von H-8 zu einer Methylgruppe 12 oder 13 und zu  $\text{CH}_3$ -14.



**Abbildung 61:**  
Beobachtete Kopplungen des  
C-5 von **62** im HMBC-Spektrum

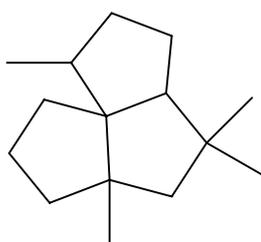
**62**



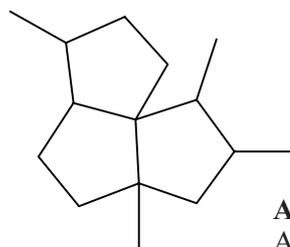
**Abbildung 62:** Beobachtete  
NOE-Kopplungen von **62**  
(gezeigt ist ein Ausschnitt des  
Moleküls)

**62**

Bei den Presilphiperfolanen handelt es sich um Sesquiterpene, deren erster Vertreter 1981 von Bohlmann et al aus *Eriophyllum staechadifolium* isoliert werden konnte [192] und die als biosynthetische Vorläufer der Silphinane, Silphiperfolane und Terrecyclane gelten [193].



**Silphinane**



**Silphiperfolane**

**Abbildung 63:**  
Auswahl an Gerüsten als  
deren Vorläufer die  
Presilphiperfolane gelten

Die Struktur des Presilphiperfolan-1-ol (**62**) wurde in einer russischen Arbeitsgruppe per Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt. Sie erhielten den Sesquiterpenalkohol - der lediglich kurze Zeit stabil war - durch Behandlung von Isocaryophyllen mit einem  $\text{HSO}_3\text{F}/\text{SO}_2\text{FCl}$ -Gemisch bei  $-120\text{ }^\circ\text{C}$  [194].

Die Strukturaufklärung von **62** erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen  $^1\text{H}$ -NMR-, der  $^{13}\text{C}$ -NMR-, sowie der HMQC- und HMBC-Spektren und des NOESY-Spektrums. Es konnte lediglich die relative Konfiguration aufgeklärt werden.

#### 4.4.7 Isolierung und Charakterisierung von (-)-Dactylol (**23**)

Aus dem Wasserdampfdestillat von *Conocephalum conicum* Typ III konnte ein weiterer Alkohol nach Säulenchromatographie und präparativer Gaschromatographie des ätherischen Öls isoliert werden. (-)-Dactylol (**23**) erscheint im Massenspektrum als Verbindung der Molmasse 222 (C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O) mit charakteristischer [M<sup>+</sup>-18]-Fragmentierung.

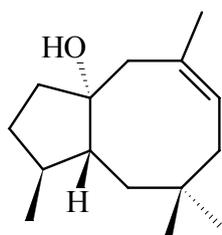


Abbildung 64:  
(-)-Dactylol

(-)-**23**

Sesquiterpene mit Precapnellangerüst sind genau wie die Brasilane aus marinen Organismen bekannt. Ein Vergleich der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren und eines HMQC-Spektrums mit den Literaturdaten ergab, daß es sich bei der isolierten Verbindung **23** um Dactylol handelt, eine Verbindung, die aus dem karibischen Seehasen *Aplysia dactylomela* isoliert wurde. Das aus diesem Organismus isolierte Dactylol (**23**) wurde basierend auf CD-Spektren und Messungen mit NMR-Shift-Reagenzien als (+)-Dactylol (**23**) identifiziert. Für die aus *Conocephalum conicum* Typ III isolierte Verbindung wurde ein negativer Drehwert bestimmt: Es handelt sich demzufolge um (-)-**23** [195].

#### 4.4.8 Isolierung und Charakterisierung von Bicyclogermacren-14-al (**63**)

Eine außerordentlich instabile Komponente wurde aus dem Wasserdampfdestillat des in Wales gesammelten *Conocephalum conicum* mittels präparativer Gaschromatographie isoliert. Im Massenspektrum weist die Verbindung die Molmasse 218 auf, [M<sup>+</sup>-18]-

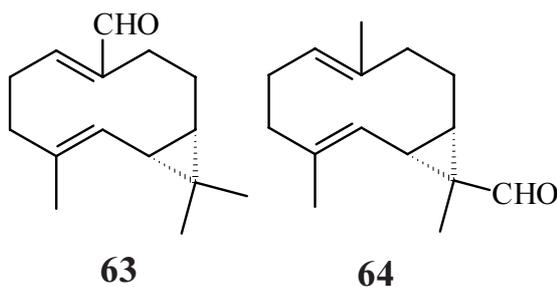


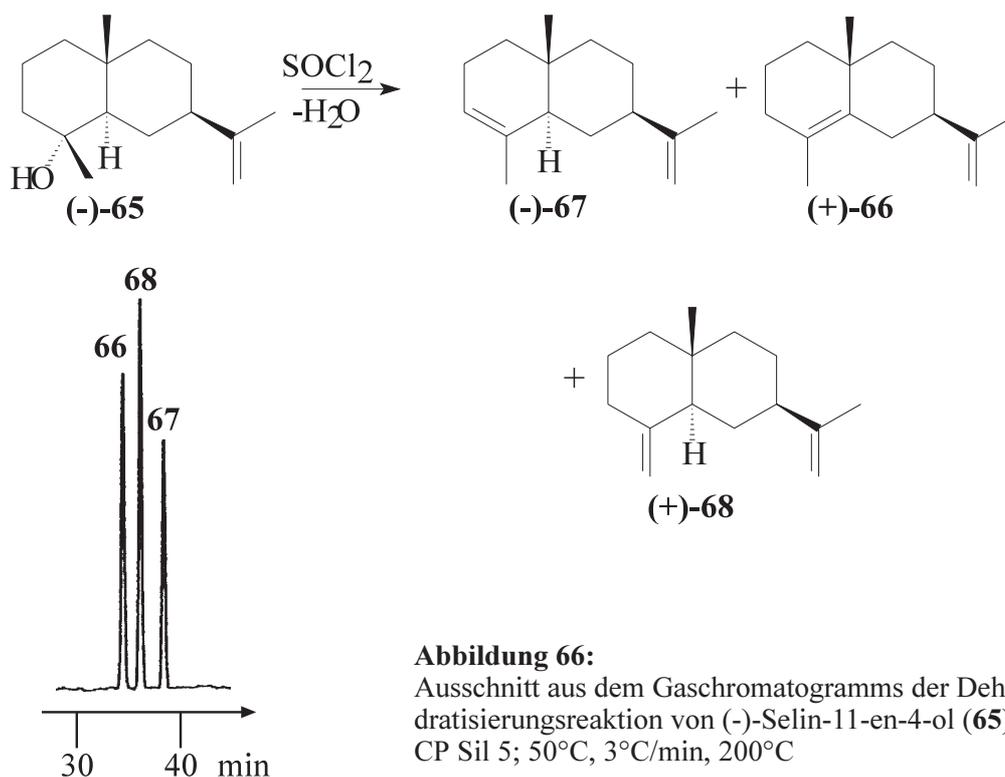
Abbildung 65:  
Bicyclogermacren-14-al (**63**) und Bicyclogermacren-15-al (**64**)

Fragmentierung tritt nicht auf. Die Existenz einer Aldehydfunktion wurde durch das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum bestätigt. Die Charakterisierung von Bicyclogermacren-14-al (**63**) erfolgte aufgrund des Vergleichs mit Literaturdaten [190]. Die absolute Konfiguration von **63** konnte aufgrund der geringen Menge und der Zersetzung der isolierten Substanz in deuteriertem Chloroform nicht bestimmt werden. Vermutlich liegt Bicyclogermacren-14-al (**63**) in der von Connolly et al. vorgeschlagenen *ent*-Konfiguration vor, analog des aus *Conocephalum conicum* isolierten *ent*-(-)-Bicyclogermacrens (**44**) [196]. Das von Toyota et al. aus japanischem *Conocephalum conicum* isolierte (-)-Bicyclogermacren-13-al (**64**) [197] konnte nicht identifiziert werden.

#### 4.4.9 Charakterisierung von (-)-Selin-11-en-4-ol (**65**)

(-)-Selin-11-en-4-ol (**65**) wurde bereits als Inhaltsstoff von *Conocephalum conicum* beschrieben [55, 174]. Zum Nachweis der absoluten Konfiguration wurde (-)-Selin-11-en-4-ol (**65**) dehydratisiert und die entstehenden Produkte massenspektrometrisch untersucht. Es entstanden (+)-Selina-4,11-dien (**66**), (-)- $\alpha$ -Selinene (**67**), und (+)- $\beta$ -Selinene (**68**).

Die absolute Konfiguration aller Produkte wurde durch enantioselektive Gaschromatographie an Heptakis(6-O-*t*.butyldimethylsilyl-2,3-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin als stationäre Phase durch Vergleich mit authentischen Standards verifiziert.

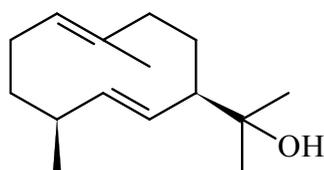


**Abbildung 66:**

Ausschnitt aus dem Gaschromatogramms der Dehydratisierungsreaktion von (-)-Selin-11-en-4-ol (**65**); CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C

#### 4.4.10 Charakterisierung von (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-11-ol (69)

(-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-11-ol (69) [198] ist ein tertiärer Germacranalkohol, der aus japanischem *Conocephalum conicum* [55] und aus *Dumortiera hirsuta* [199] isoliert wurde. Aus *Conocephalum conicum* Typ III wurde diese Verbindung per Massenspektrometrie identifiziert und zur Bestimmung der absoluten Konfiguration mit einer aus *Porella obtusata* isolierten Probe an chiralen Säulen untersucht [200]. Demzufolge handelt es sich um "gewöhnliches" (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-11-ol (69).



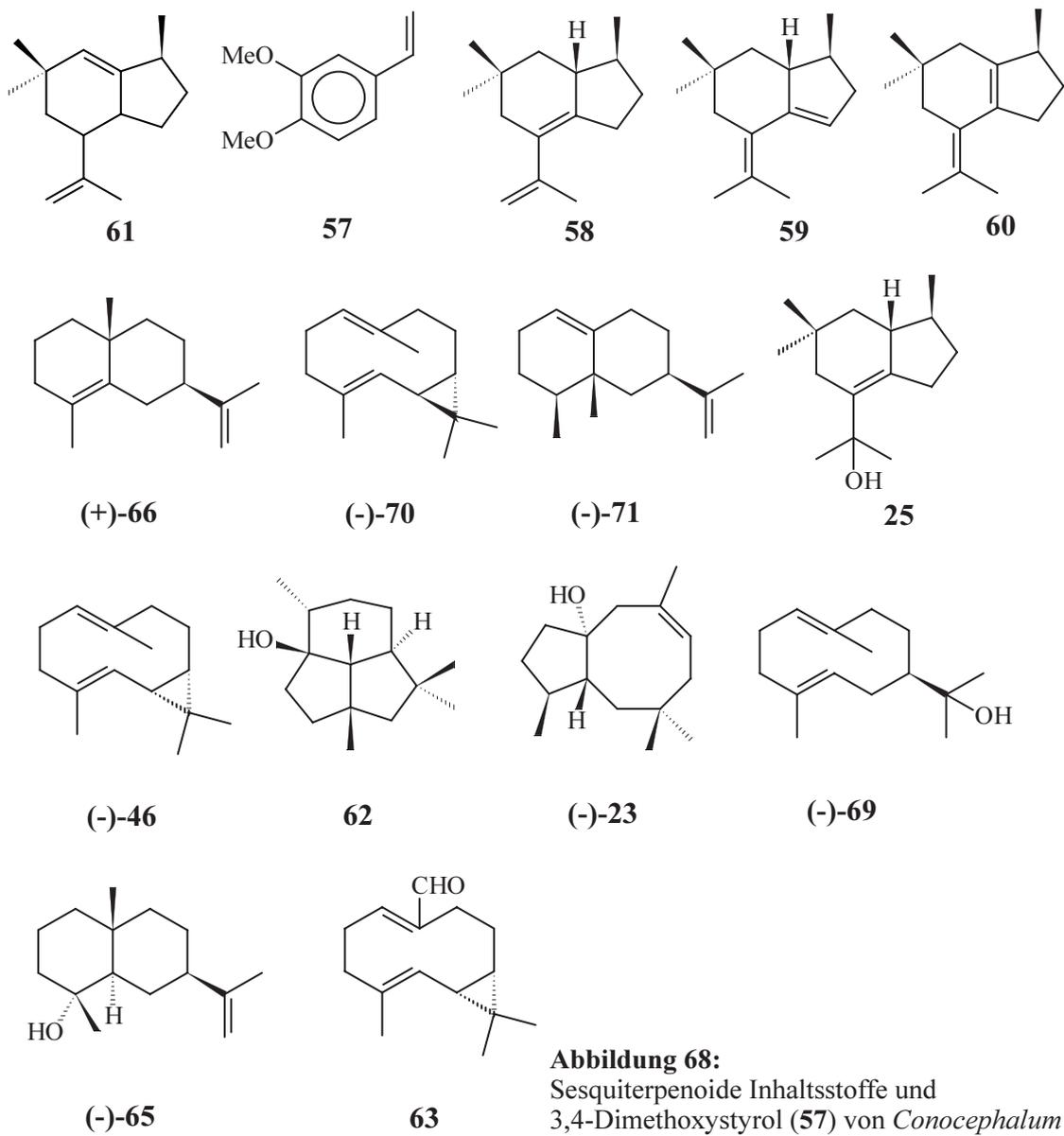
(-)-69

Abbildung 67:  
(-)-Germacra-1(10)-dien-11-ol (69)

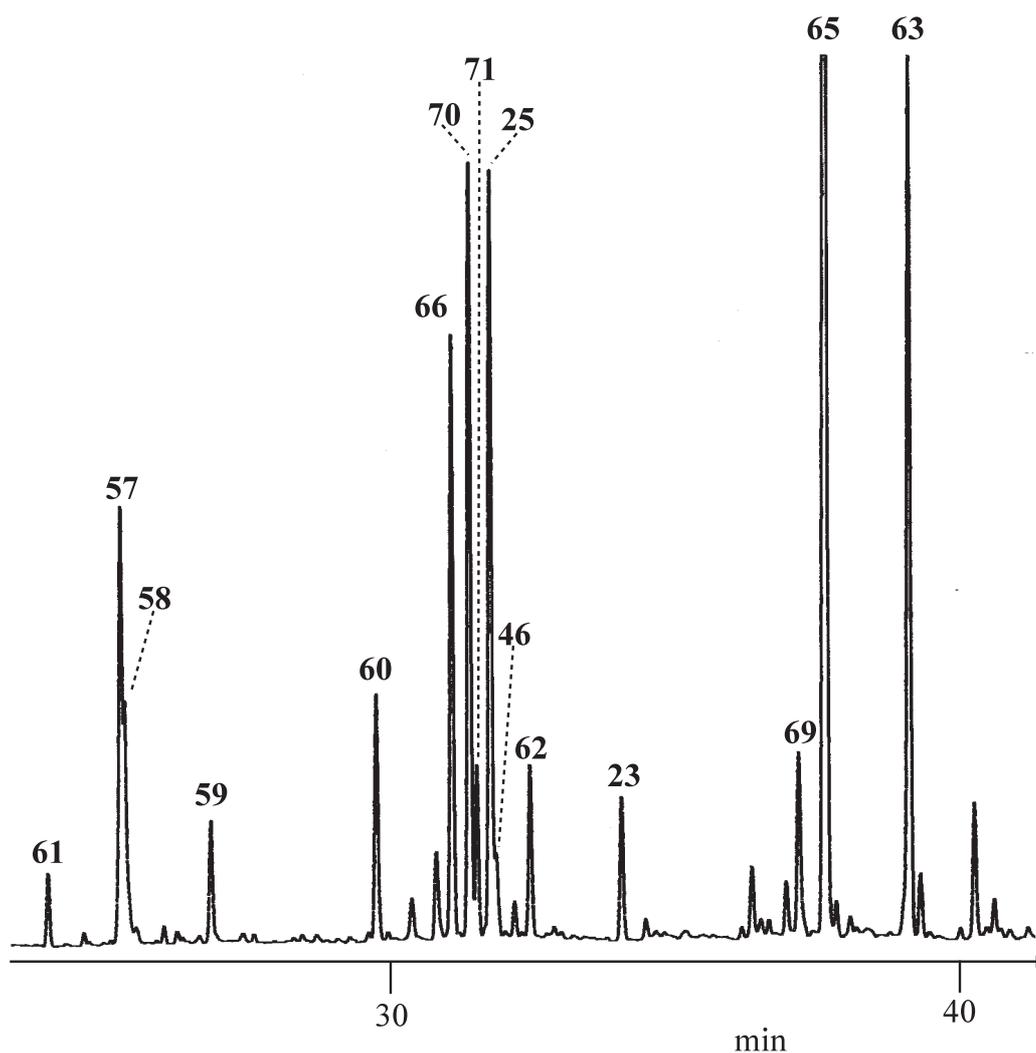
#### 4.4.11 Übersicht über die isolierten und charakterisierten Inhaltsstoffe des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ III

Abbildung 69 bietet einen Überblick über die im Wasserdampfdestillat vorhandenen identifizierten Sesquiterpenkohlenwasserstoffe, der oxygenierten Sesquiterpene und 3,4-Dimethoxystyrol (57). Die einzelnen Substanzen sind teilweise isoliert, teils aufgrund der Identität der Massenspektren zugeordnet worden. Die absolute Konfiguration der Verbindungen wurde durch Drehwertmessung, Umlagerungsreaktionen zu Verbindungen bekannter absoluter Konfiguration, Untersuchungen an chiralen Säulen und Koinjektionen mit vorhandenen Standards bestimmt. In den Fällen, in denen keine Aussage über die absolute Konfiguration der Verbindung gemacht werden kann, sind die entsprechenden Strukturen ohne Vorzeichen genannt.

Identifiziert wurden Brasila-1,10-dien (61), 3,4-Dimethoxystyrol (57), Brasila-5,10-dien (58), Brasila-5(10),6-dien (59), Brasila-1(6),5(10)-dien (60), (+)-Selina-4,11-dien (66), (-)-Isolepidozen (70), (-)-Eremophilen (71), Conocephalenol (25), (-)-Bicyclogermacren (44), Presilphiperfolan-1-ol (62), (-)-Dactylool (23), (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-11-ol (69), (-)-Selin-11-en-4-ol (65), Bicyclogermacren-14-al (63)



**Abbildung 68:**  
 Sesquiterpenoide Inhaltsstoffe und  
 3,4-Dimethoxystyrol (57) von *Conocephalum*  
*conicum* Typ III

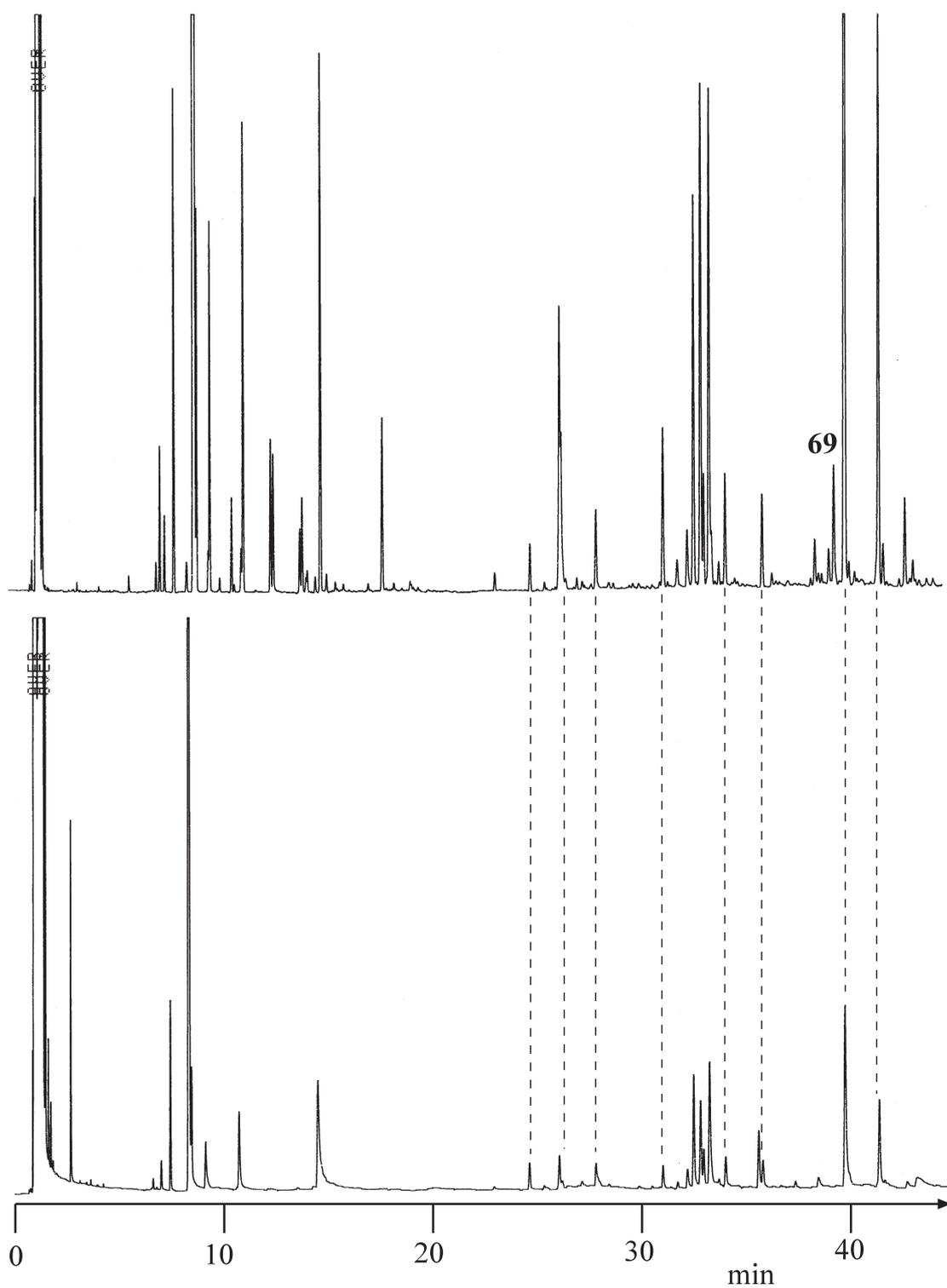


**Abbildung 69:**

Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Typ III (Zachersmühle) mit Zuordnung der bekannten sesquiterpenoiden Substanzen und 3,4-Dimethoxystyrol (**57**); CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C

#### 4.4.12 Vergleich von Wasserdampfdestillat und Lösungsmittelextrakt des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ III "Zachersmühle"

Zum Beweis des natürlichen Vorkommens der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe wurde ein Dichlormethanextrakt des Pflanzenmaterials hergestellt. Wie in Abbildung 70 erkennbar, sind alle Substanzen mit Ausnahme von **69** sowohl im Wasserdampfdestillat, als auch im Dichlormethanextrakt von *Conocephalum conicum* Typ III enthalten.

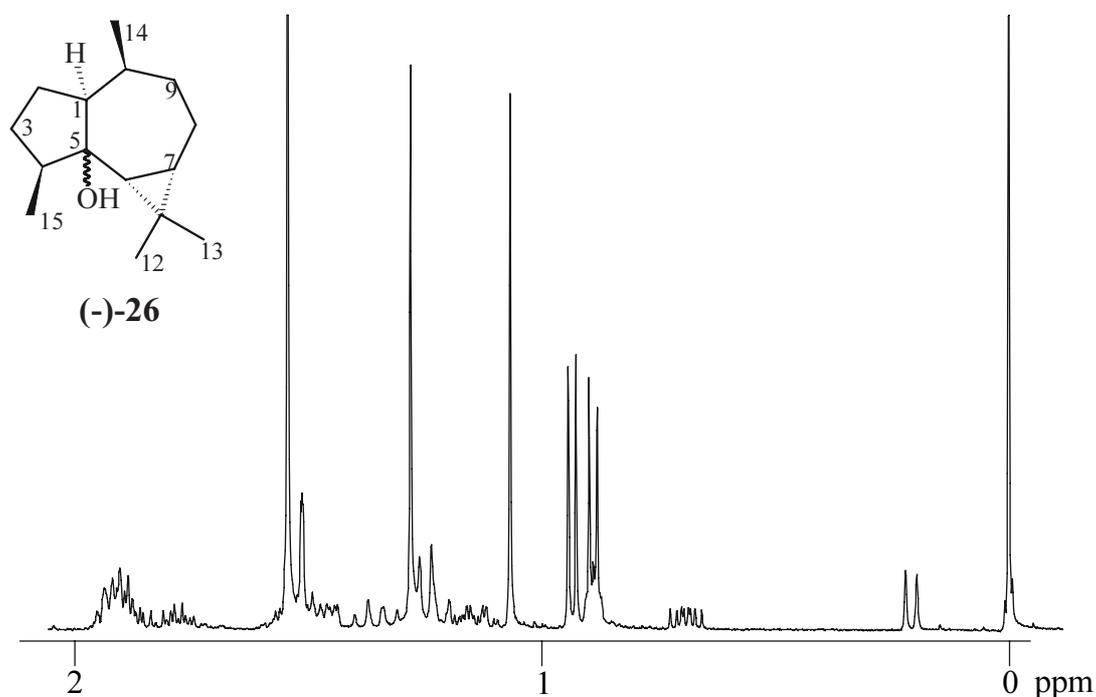
**Abbildung 70:**

Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Zachersmühle (oben) und des Dichlormethan-Extraktes der gleichen Charge (unten); CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C

## 4.5 Sesquiterpenoide Inhaltsstoffe des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ IV

### 4.5.1 Isolierung und Charakterisierung von (-)-Aromadendran-5-ol (**26**)

Die isolierten bzw. identifizierten sesquiterpenoiden Inhaltsstoffe von *Conocephalum conicum* Typ IV (Vorarlberg, 2100 m Höhe) sind ausnahmslos vom Aromadendran- bzw. Guaiantyp. Eine der vier Hauptkomponenten des Wasserdampfdestillats ist (-)-Aromadendran-5-ol (**26**). Es wurde durch präparative Gaschromatographie isoliert. Im Massenspektrum beobachtet man ein Molekülionsignal bei  $m/z = 222$ , sowie  $[M^+ - 18]$ -Fragmentierung, was auf einen Alkohol der Summenformel  $C_{15}H_{26}O$  hinweist.

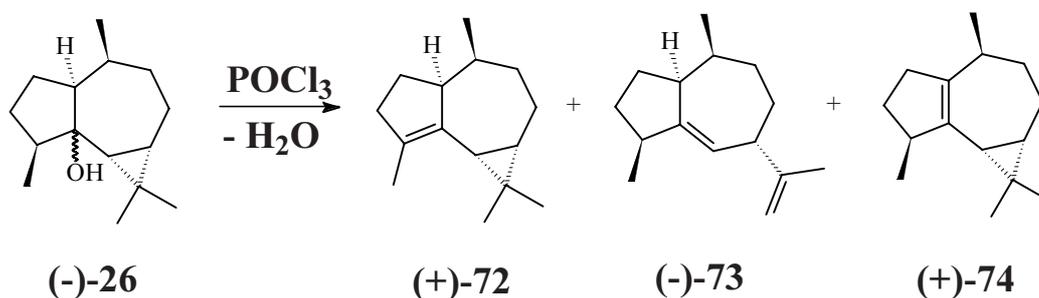


**Abbildung 71:**  
<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Aromadendran-5-ol (**26**)

Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum finden sich alle Signale in einem Bereich von 0.2-2.0 ppm; Signale für olefinische Protonen fehlen. Es muß sich demzufolge um einen tricyclischen gesättigten Alkohol handeln. Die typischen Signale einer Cyclopropylfunktion erscheinen bei 0.22 ppm als Dublett (H-6) und bei 0.70 ppm als Dublett eines doppelten Dubletts (H-7). Im <sup>1</sup>H<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum koppeln diese Protonen miteinander. Zwei weitere Dubletts, die zu je drei Protonen integriert werden, beobachtet man bei 0.94 ppm und 0.90 ppm. Sie repräsentieren die Methylgruppen 14 und 15 und koppeln - beobachtbar im 2D-NMR - mit den Methinprotonen H-4 bzw. H-10. H-4 erscheint als Multipllett

im Bereich von 1.73-1.82 ppm und H-10 im Bereich von 1.84-1.96 ppm ebenfalls als Multipllett. Desweiteren sieht man zwei Singuletts, die wiederum zu je drei Protonen integriert werden, bei 1.28 ppm und 1.07 ppm. Diese Signale weisen im 2D-NMR ein Kreuzsignal auf und repräsentieren demzufolge die geminalen Methylgruppen 12 und 13.

(-)-Aromadendran-5-ol (**26**) wurde mit Phosphorylchlorid dehydratisiert. Die dabei entstehenden Produkte wurden als (+)- $\alpha$ -Gurjunen (**72**), (-)- $\gamma$ -Gurjunen (**73**) und (+)-Isoleden (**74**) durch GC-MS und Vergleich mit Referenzsubstanzen identifiziert.



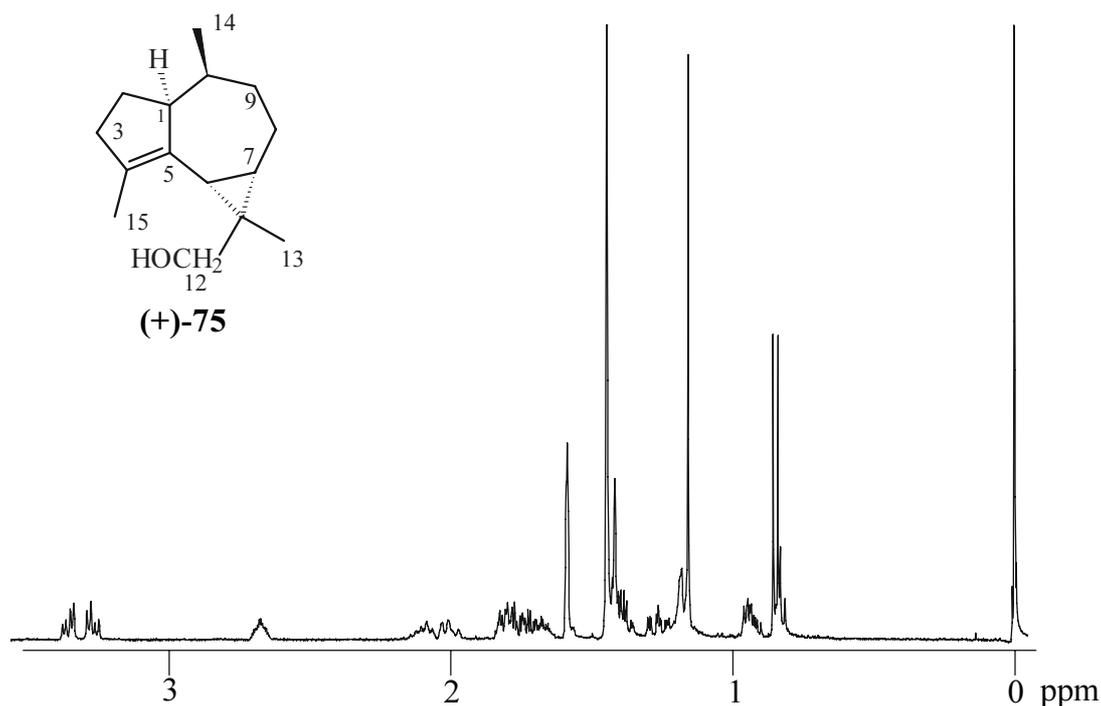
**Abbildung 72:**

Dehydratisierung von (-)-Aromadendran-5-ol (**26**)

Die absolute Konfiguration von (+)- $\alpha$ -Gurjunen (**72**) wurde durch Koinjektionen mit einem racemischen Standard mittels Kapillargaschromatographie an einer Säule mit Heptakis(6-O-t.butylidimethylsilyl-2,3-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin bestimmt. Auf dieser Säule wird das (-)-Enantiomer vor dem (+)-Enantiomer mit einem Trennfaktor  $\alpha = 1.34$  eluiert. Da (+)-**72** ein Produkt der Dehydratisierung von (-)-**26** ist, ist die absolute Konfiguration von (-)-Aromadendran-5-ol (**26**) mit Ausnahme der C-5-Position bestimmt.

#### 4.5.2 Isolierung und Charakterisierung von (+)-Aromadendr-4-en-12-ol (**75**)

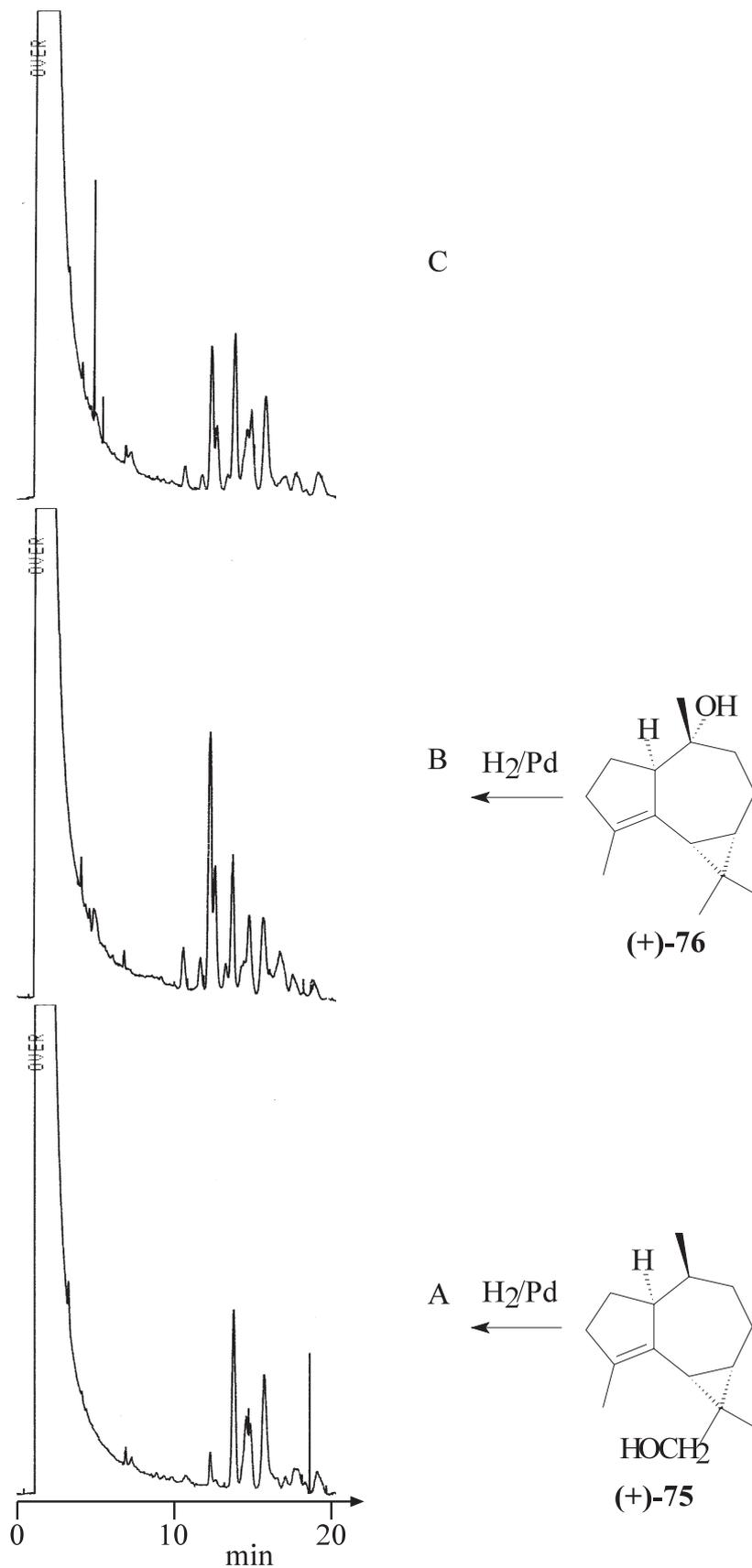
Ein weiterer Alkohol vom Aromadendrartyp ist (+)-Aromadendr-4-en-12-ol (**75**). Diese Komponente wurde als Substanz der längsten Retentionszeit der 4 Hauptkomponenten des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Typ IV (Vorarlberg, 2100 m Höhe) mittels präparativer Gaschromatographie isoliert. Das Massenspektrum zeigt ein Molekülionsignal von  $m/z = 220$  an, was einer Summenformel von C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O entspricht. Da eine [M<sup>+</sup>-18]-Fragmentierung zu beobachten ist, ist von einem Alkohol auszugehen.



**Abbildung 73:**  
 $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Aromadendr-4-en-12-ol (**75**)

Das eindimensionale Protonen-NMR-Spektrum zeigt bei tiefem Feld zwei dd-Signale (3.48 ppm und 3.57 ppm), die laut Auswertung des zweidimensionalen Spektrums miteinander koppeln. Sie repräsentieren die diastereotopen Methylenprotonen der primären Alkoholfunktion an C-12. Die beiden Signale zeigen eine weitere Kopplung mit für eine Fernkopplung ungewöhnlich hoher Kopplungskonstante  $J = 5$  Hz zu dem Cyclopropylproton H-7, das als Multiplettsignal im Bereich von 0.96-1.04 ppm erscheint. Das zweite Proton des Dreirings ist ebenfalls tieffeldverschoben und erscheint in einem Bereich von 1.25-1.27 ppm. Es zeigt eine Homoallylkopplung zu dem breiten Singulett bei 1.70 ppm, das zu drei Protonen integriert wird und die Methylgruppe 15 repräsentiert. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum erkennt man weiterhin ein Dublett bei 0.91 ppm, das der Methylgruppe 14 zugeordnet werden kann und im 2D-NMR eine Kopplung zu dem Methinproton H-10 zeigt, das als Multiplett in einem Bereich von 1.75-1.83 ppm absorbiert. Ein weiteres Singulett beobachtet man bei 1.24 ppm, das die Methylgruppe 13 repräsentiert.

Zur Verifizierung der Strukturzuordnung wurde eine Probe von (+)-**75** hydriert und mit den Hydrierungsprodukten von (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**76**) verglichen [201]. Es entstanden nach massenspektrometrischem Vergleich und nach Koinjektion an Säulen mit chiraler Phase identische gesättigte diastereomere Guaiane (Masse 208).

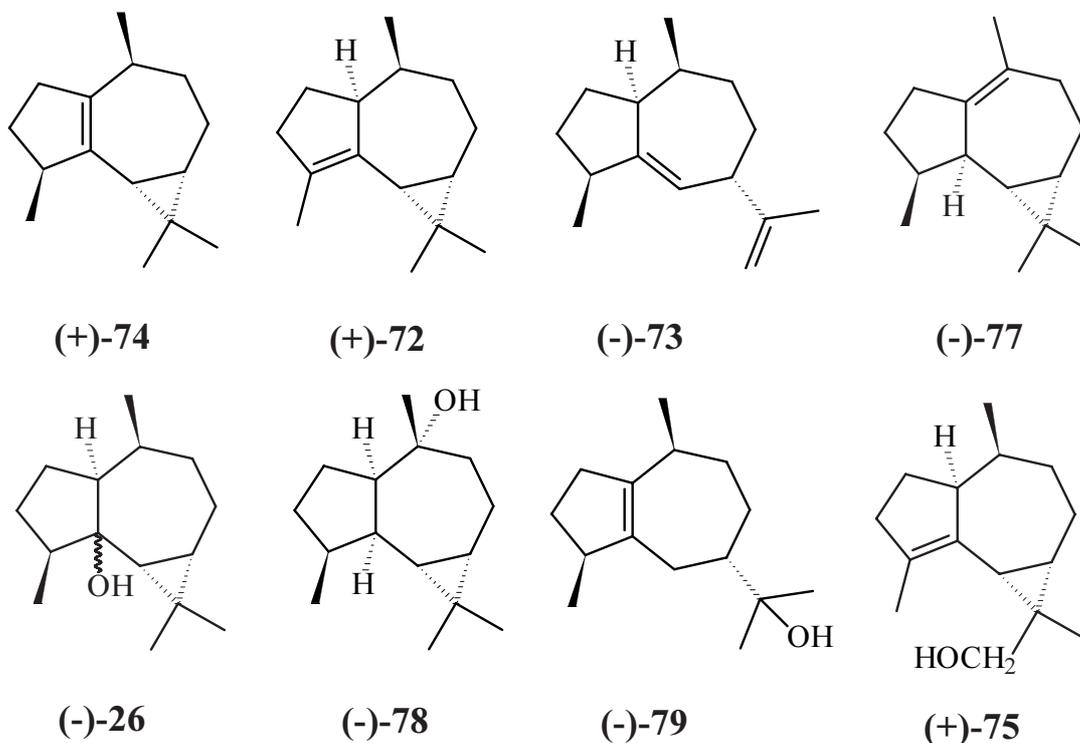
**Abbildung 74:**

Gaschromatogramm der Hydrierungsprodukte von (+)-Aromadendr-4-en-12-ol (**75**) (A) und (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**76**) (B) und der Koinjektion (C); Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin, 110°C

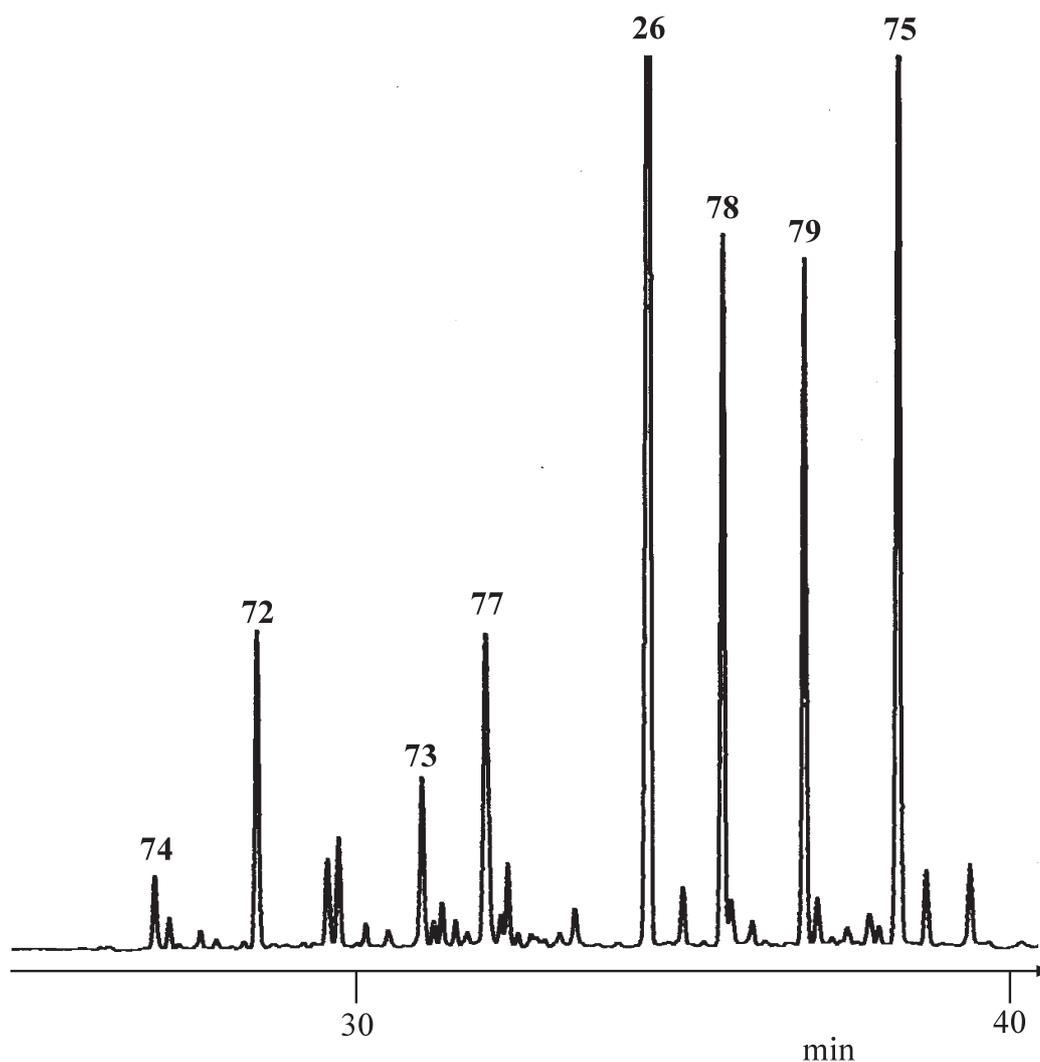
(+)-4,5-Dehydroviridiflorol (**76**) und (+)-Aromadendr-4-en-12-ol (**75**) haben demzufolge sehr wahrscheinlich identische absolute Konfigurationen; die Konfiguration der C-12-Position von (+)-**75** konnte aufgrund der geringen Substanzmenge nicht zugeordnet werden.

#### 4.5.3 Übersicht über die isolierten und charakterisierten Inhaltsstoffe des Lebermooses *Conocephalum conicum* Typ IV "Vorarlberg/Gauertal 2100 m Höhe"

Abbildungen 75 und 76 bietet einen Überblick über die isolierten und charakterisierten Inhaltsstoffe von *Conocephalum conicum* Typ IV. Identifiziert wurden (+)-Isoleden (**74**), (+)- $\alpha$ -Gurjunen (**72**), (-)- $\gamma$ -Gurjunen (**73**), (-)-Leden (**77**), (-)-Aromadendran-5-ol (**26**), (-)-Viridiflorol (**78**), (-)-Guai-5-en-11-ol (**79**) und (+)-Aromadendr-4-en-12-ol (**75**).



**Abbildung 75:**  
Sesquiterpenoide Inhaltsstoffe von *Conocephalum conicum* Typ IV

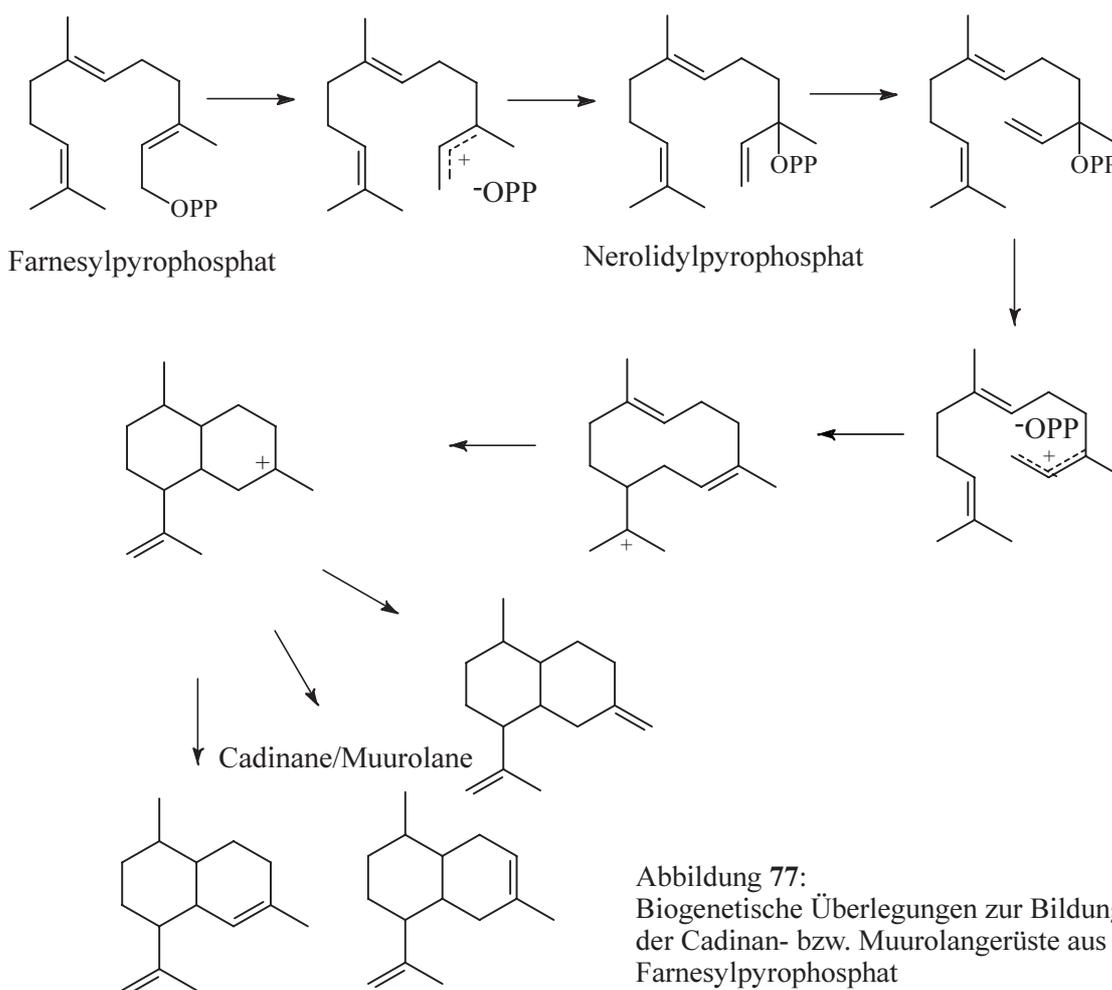


**Abbildung 76:**

Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* Typ IV (Vorarlberg, 2100 m Höhe) mit Zuordnung der bekannten sesquiterpenoiden Substanzen; CP Sil 5; 50°C, 3°C/min, 200°C

#### 4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse der identifizierten Inhaltsstoffe der 4 Chemotypen des Lebermooses *Conocephalum conicum*

In dem Wasserdampfdestillat von *Conocephalum conicum* Typ I finden sich vor allem Sesquiterpene mit Cadinan- (zwei trans-verknüpfte Sechsringe) und Muurolangerüst (zwei cis-verknüpfte Sechsringe), desweiteren Elemene, Bicyclogermacrane, Copaane und Cubebane. Alle Inhaltsstoffe werden in der *ent*-Konfiguration beobachtet. Eine Ausnahme stellt (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**), das mit "gewöhnlicher" Konfiguration gefunden wird. Möglicherweise enthält die Pflanze unterschiedliche Enzyme zur Bildung des Germacranalkohols bzw. des Germacrankohlenwasserstoffs. Vertreter anderer Sesquiterpengerüste finden sich nur in geringen Mengen oder sind nicht in allen Chargen, die Typ I zugeordnet wurden, vorhanden.



In *Conocephalum conicum* Typ II finden sich aus der Klasse der sesquiterpenoiden Verbindungen lediglich Vertreter mit Aristolan bzw. Nardosinangerüst in der jeweiligen *ent*-Konfiguration; biogenetische Überlegungen dazu wurden in Kapitel 3.2.2 angestellt. Die im Wasserdampfdestillat bzw. SFE-Extrakt vorgefundenen Inhaltsstoffe sind qualitativ und quantitativ weitestgehend identisch.

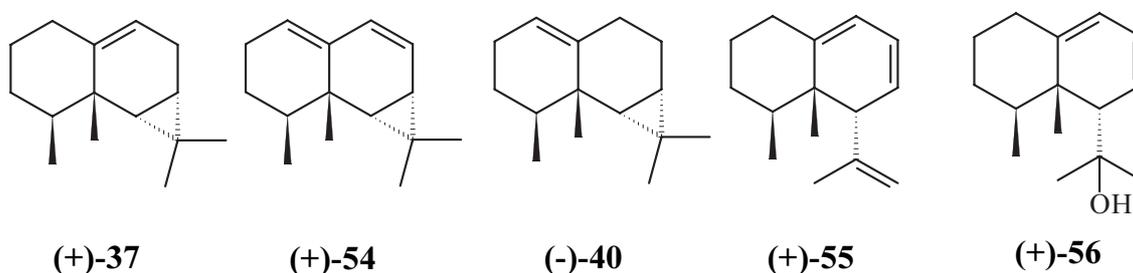


Abbildung 78:  
Sesquiterpene mit Aristolan- bzw. Nardosinangerüst aus *Conocephalum conicum* Typ II

In *Conocephalum conicum* Typ III beobachtet man Eudesmane und einen Vertreter mit Eremophilangerüst in der "gewöhnlichen" Konfiguration, (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-11-ol liegt (69), analog (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (29) aus Typ I, ebenfalls in der gewöhnlichen Konfiguration vor. Die untersuchten Verbindungen mit Bicyclogermacrangerüst liegen sehr wahrscheinlich in der *ent*-Konfiguration vor. Desweiteren beobachtet man eine Reihe der bislang aus pflanzlichen Organismen selten isolierten Vertreter vom Brasilantyp und weitere ebenfalls selten anzutreffende sesquiterpenoide Verbindungen vom Precapnellan- und Presilphiperfolan-Typ. Die im Wasserdampfdestillat bzw. Dichlormethanextrakt vorgefundenen Inhaltsstoffe sind qualitativ und quantitativ weitgehend identisch.

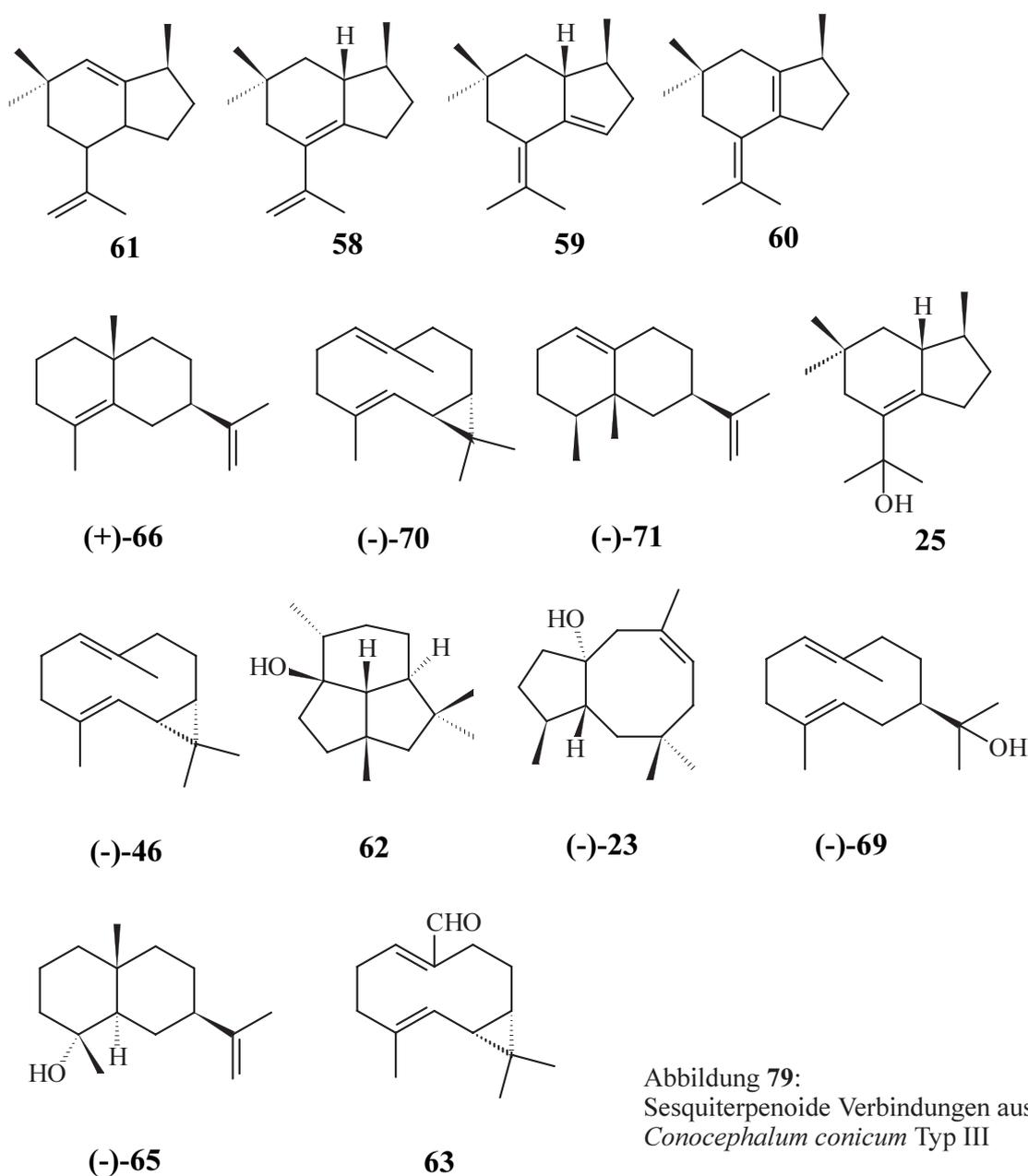


Abbildung 79:  
Sesquiterpenoide Verbindungen aus  
*Conocephalum conicum* Typ III

In *Conocephalum conicum* Typ IV schließlich finden sich ausschließlich Sesquiterpene vom Aromadendran- bzw. Guaiantyp; hier wird ausschließlich die *ent*-Konfiguration beobachtet.

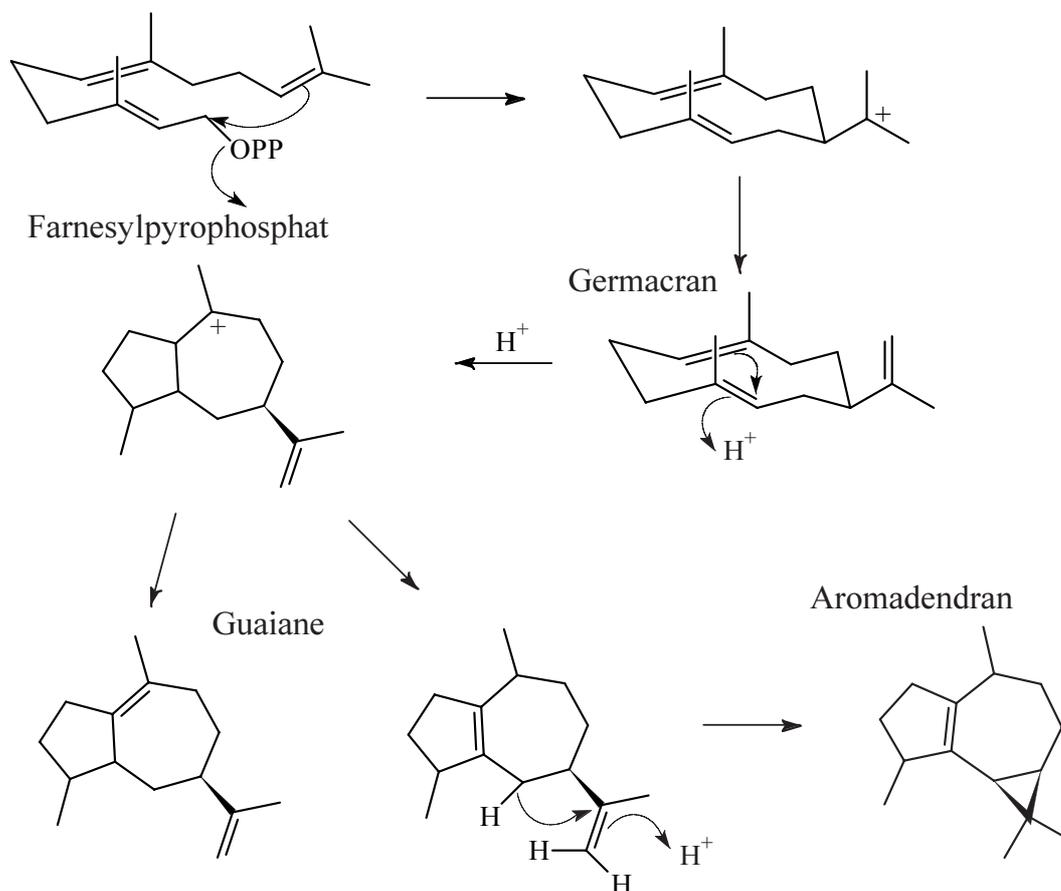


Abbildung 80:  
Biogenetische Überlegungen zur Bildung der Guaiane und Aromadendrane

## 4.7 Weitere isolierte und identifizierte Sesquiterpene

### 4.7.1 Isolierung und Charakterisierung von Nardosina-9,11-dien (80) und (+)-Nardosina-1(10),11-dien (81) durch Umlagerung von (-)-Aristolen (37)

Wie in Kapitel 4.3.2 erwähnt, wurde eine Probe von (-)-Aristolen (37) umgelagert. Nach kurzer Umlagerungsdauer (einen Tag) entstand in geringen Mengen (-)-Aristola-1(10),8-dien (54) und (-)-Nardosina-7,9,11-trien (55). Nach sechstägiger Umlagerungsdauer entstanden drei Substanzen, von denen eine (-)- $\delta$ -Selinen (82) war. 1,2-Methylgruppenverschiebung dieser Art sind in der Literatur bereits beschrieben [91]. Die anderen beiden Substanzen - Nardosina-9,11-dien (80) und Nardosina-1(10),11-dien (81) - waren nicht voneinander trennbar.

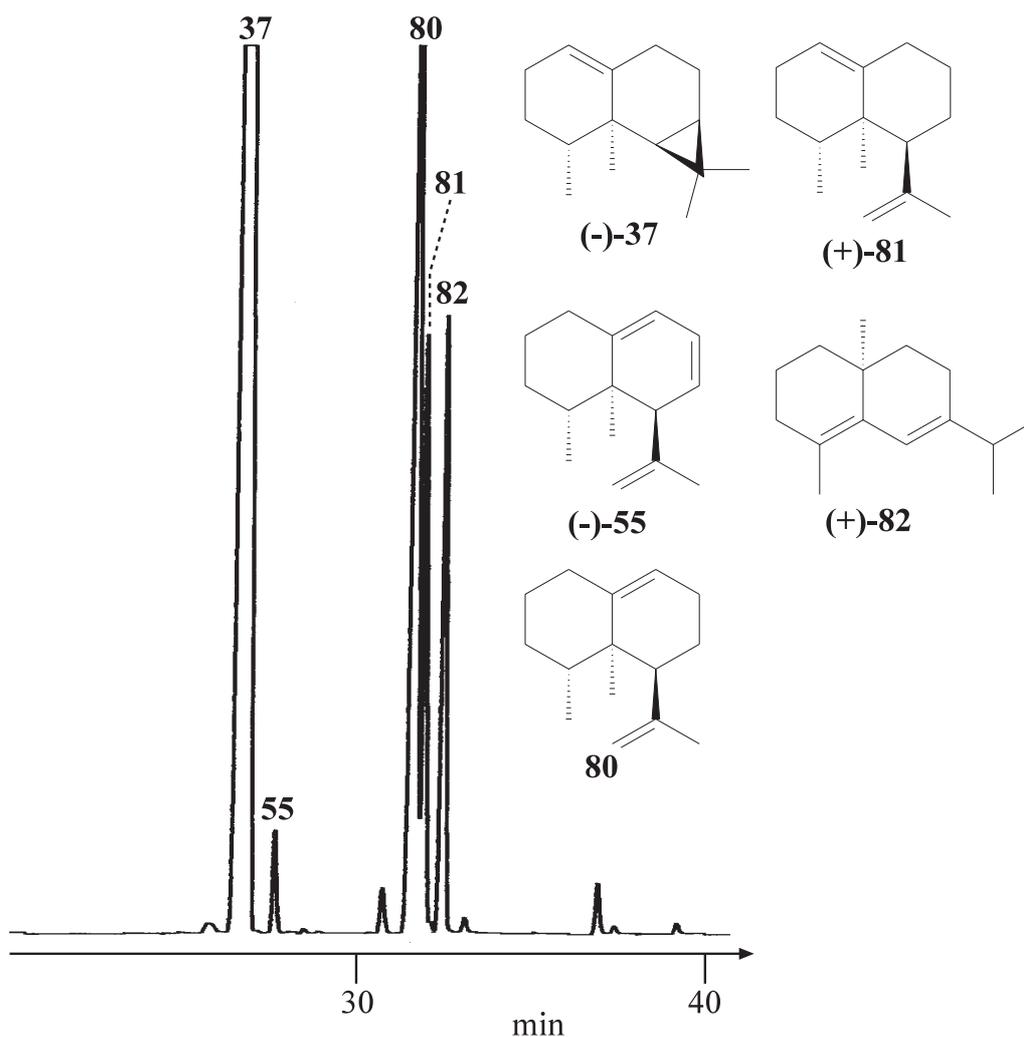


Abbildung 81:  
Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm der Produkte der sechstägigen Umlagerung von (-)-Aristolen (**37**); CP Sil 5, 50°C, 3°C/min, 200°C

Weder präparative Gaschromatographie an diversen Cyclodextrin-Phasen unterschiedlicher Polarität, noch präparative AgNO<sub>3</sub>-belegte Dünnschichtchromatographie, noch HPLC an einer semipräparativen RP-18-Säule mit unterschiedlichen Laufmitteln führten zu einem reinen Produkt **80**. Es konnte nur mit einer 10 %igen Verunreinigung an **81** mittels präparativer Gaschromatographie erhalten werden konnte.

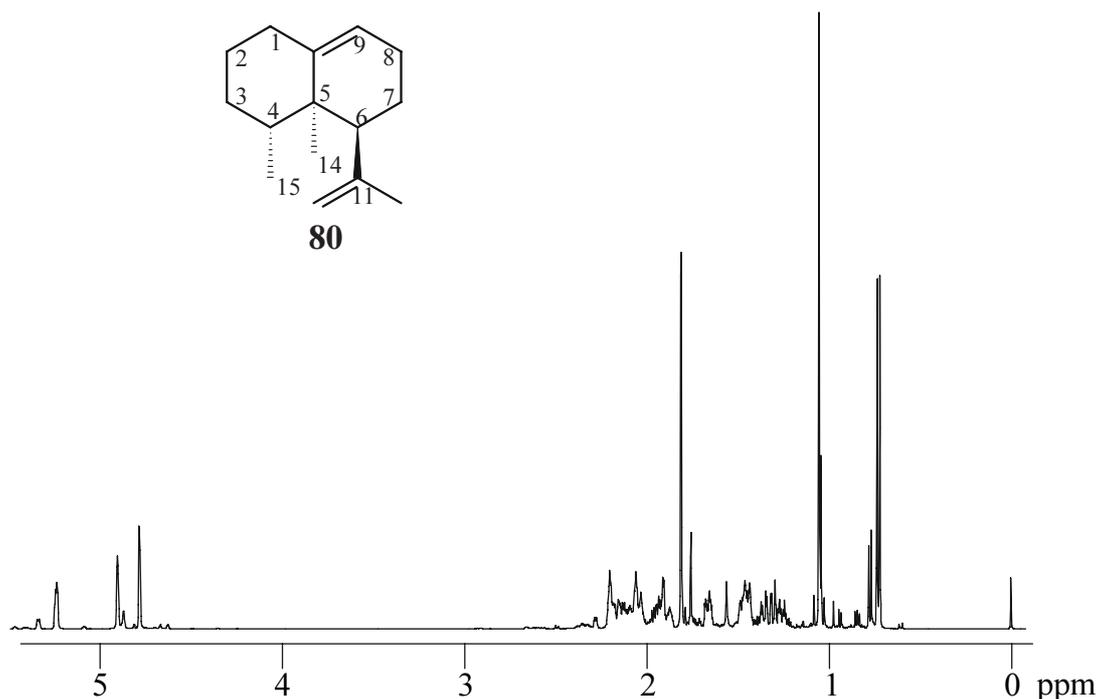
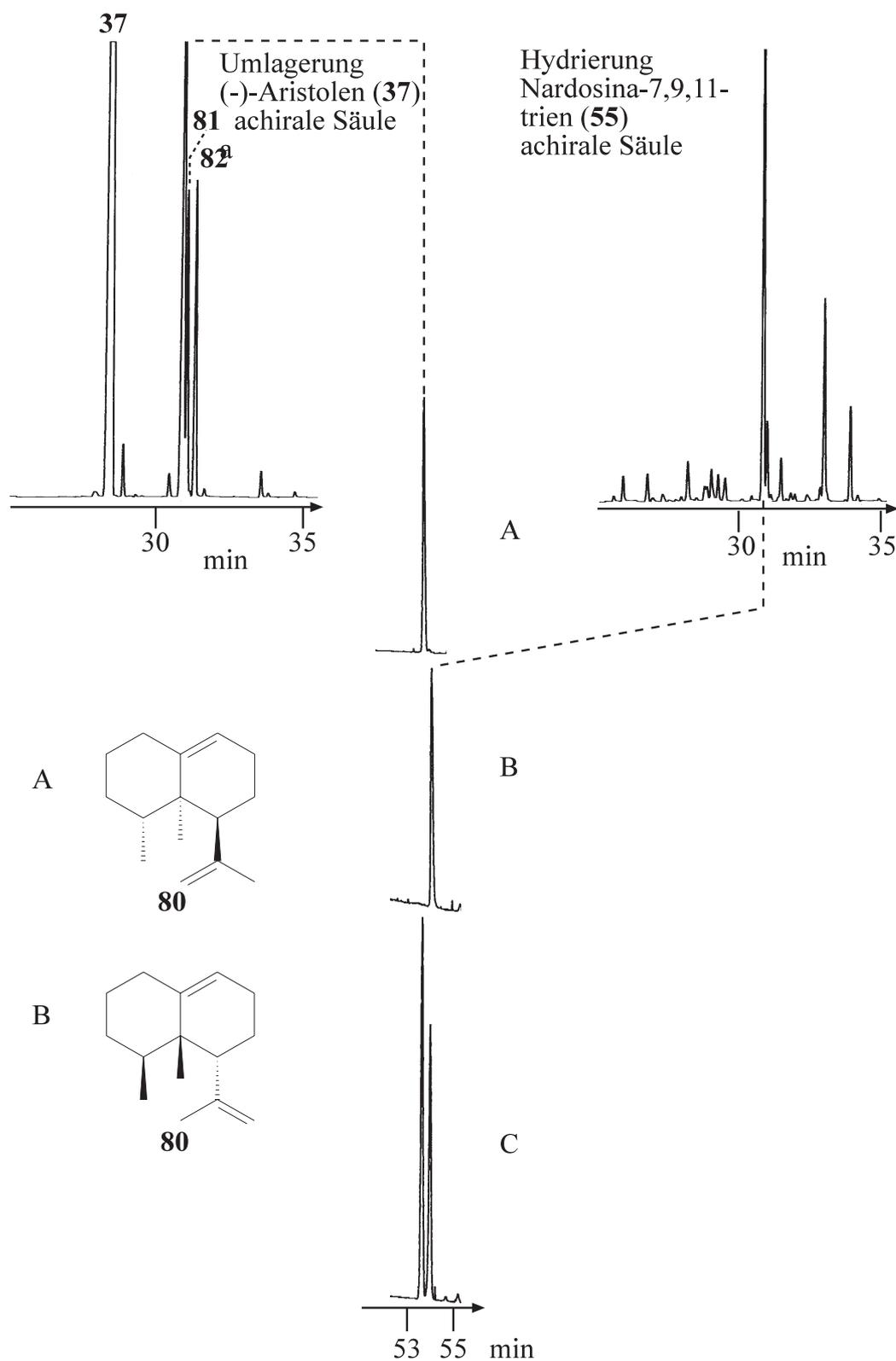


Abbildung 82:  
 $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Nardosina-9,11-dien (**80**)

Die NMR-Spektren ( $^1\text{H}$ , 2D,  $^{13}\text{C}$ , HMBC, HMQC) von Nardosina-9,11-dien (**80**) sind trotz der Verunreinigung vollständig auswertbar. Bei 5.24 ppm erscheint das Signal des olefinischen Protons H-9, das als breites Singulett mit der weit aufgespaltenen C-8-Methylengruppe im Bereich von 1.98 - 1.89 ppm und von 1.50 - 1.42 ppm koppelt. Die allylische Kopplung zu der Methylengruppe C-1, die im Bereich von 2.24 - 2.00 ppm als komplexes Multiplett mit weiteren Protonen koppelt, erkennt man ebenfalls. Deutlich ist die Kopplung der beiden zu der exocyclischen Doppelbindung an C-12 gehörenden Signale bei 4.91 ppm und 4.79 ppm mit der olefinischen Methylgruppe 13, deren Signal bei 1.80 ppm erscheint. Bei hohem Feld erscheint das Dublett der Methylgruppe 15 (0.73 ppm) und bei 1.05 ppm das Singulett der Methylgruppe 14.

Nardosina-9,11-dien (**80**) entsteht auch bei der partiellen Hydrierung von Nardosina-7,9,11-trien (**55**).

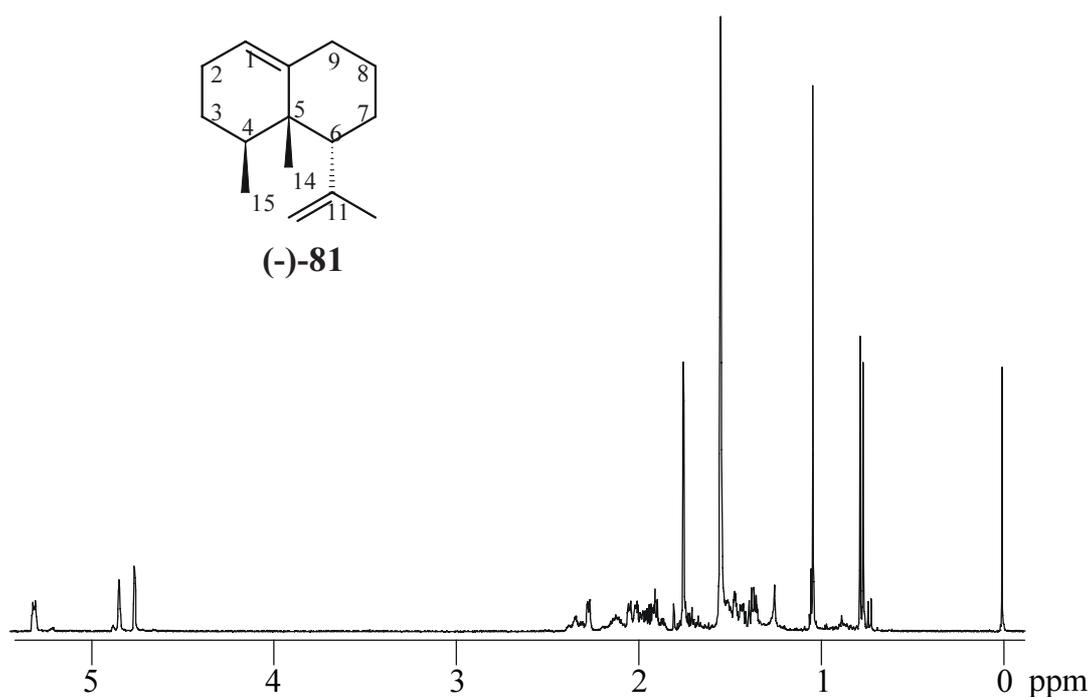
Eine Untersuchung mittels zweidimensionaler Gaschromatographie ergibt, daß es sich bei den beiden Verbindungen um Enantiomere handelt. Die absolute Konfiguration wurde durch Korrelation mit (-)-Aristolen (**37**) bestimmt, ein Drehwert konnte aufgrund der Verunreinigung nicht gemessen werden. Nardosina-9,11-dien (**80**) ist bislang nicht als Naturstoff bekannt.

**Abbildung 83:**

Zweidimensionale Gaschromatographie von Nardosina-9,11-dien (**80**); untersucht wurde aus der Umlagerung von (-)-Aristolon (**37**) isoliertes Nardosina-9,11-dien (**80**) (A), das Produkt der partiellen Hydrierung von (+)-Nardosina-7,9,11-trien (**55**) (B), und die Koinjektion (C) an Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin, 110°C; achirale Säule: CP Sil 5, 50°C, 3°C/min, 230°C

#### 4.7.2 Isolierung und Charakterisierung von (-)-Nardosina-1(10),11-dien (**81**) aus dem Lebermoos *Ptilidium ciliare*

Aus dem Wasserdampfdestillat von *Ptilidium ciliare* wurde (-)-Nardosina-1(10),11-dien (**81**) - ein Sesquiterpen der Masse 204 - in geringen Mengen isoliert [202].

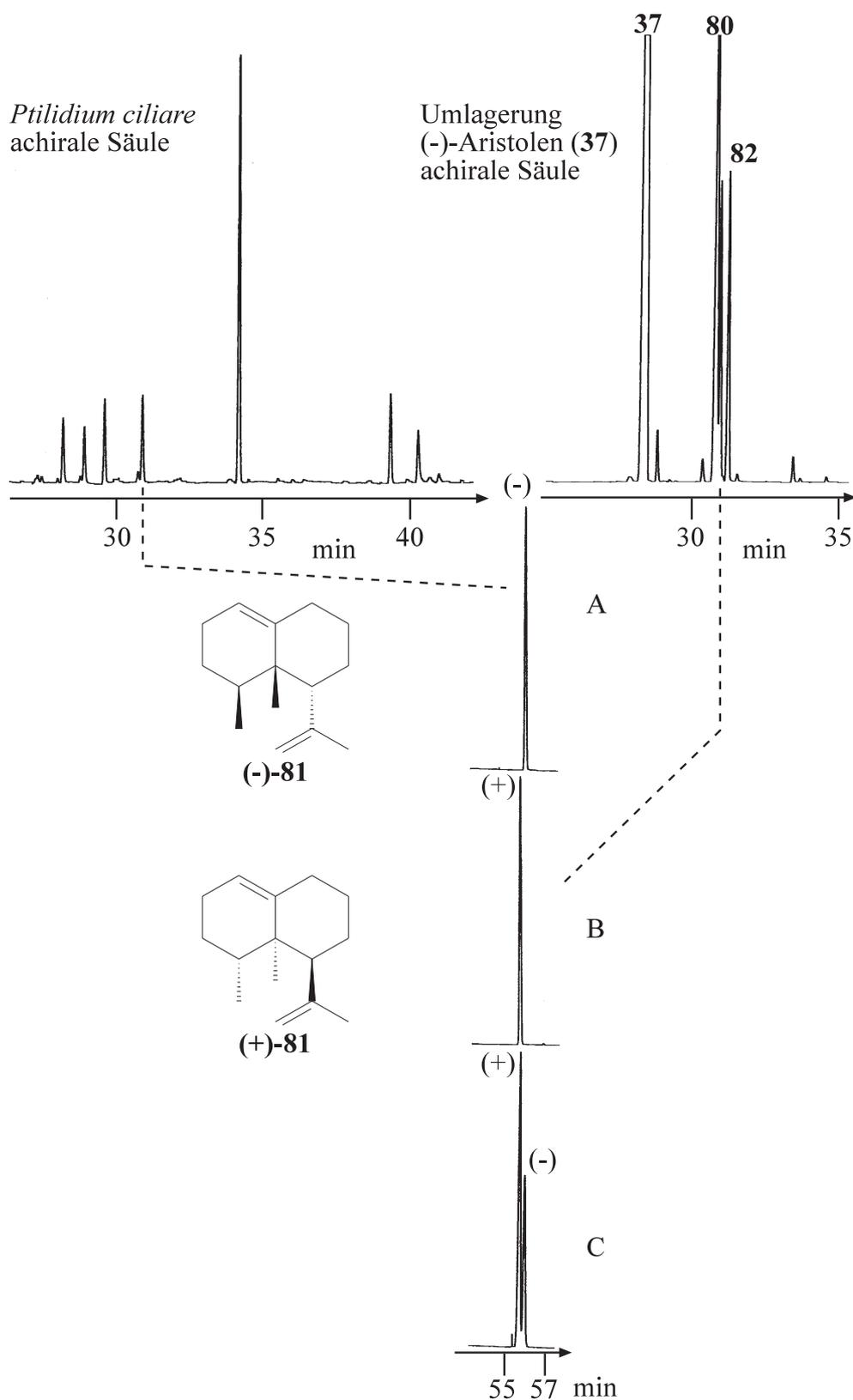


**Abbildung 84:**  
<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Nardosina-1(10),11-dien (**81**)

Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum ist aufgrund der geringen Substanzmenge nicht vollständig auswertbar. Man erkennt das Signal eines olefinischen Protons bei 5.34 ppm und die typischen Signale einer exocyclischen Doppelbindung bei 4.87 ppm und 4.79 ppm, die mit dem Signal der olefinischen Methylgruppe bei 1.76 ppm koppeln.

Ein Vergleich der Massenspektren der vollständig hydrierten Proben von Nardosina-7,9,11-trien (**55**) und Nardosina-1(10),11-dien (**81**) ergibt identische gesättigte, diastereomere Produkte. Ein weiterer Identitätsbeweis für **81** sind Umlagerungsversuche. Ein 2:1-Gemisch von **80** und **81** wurde in n-Hexan mit wenig Amberlyst 15<sup>R</sup> 2 Wochen gerührt. Es stellte sich ein Gleichgewicht von etwa 1:1 (**80:81**) ein. Der Drehsinn von aus *Ptilidium ciliare* isoliertem Nardosina-1(10),11-dien (**81**) wurde mit (-) bestimmt.

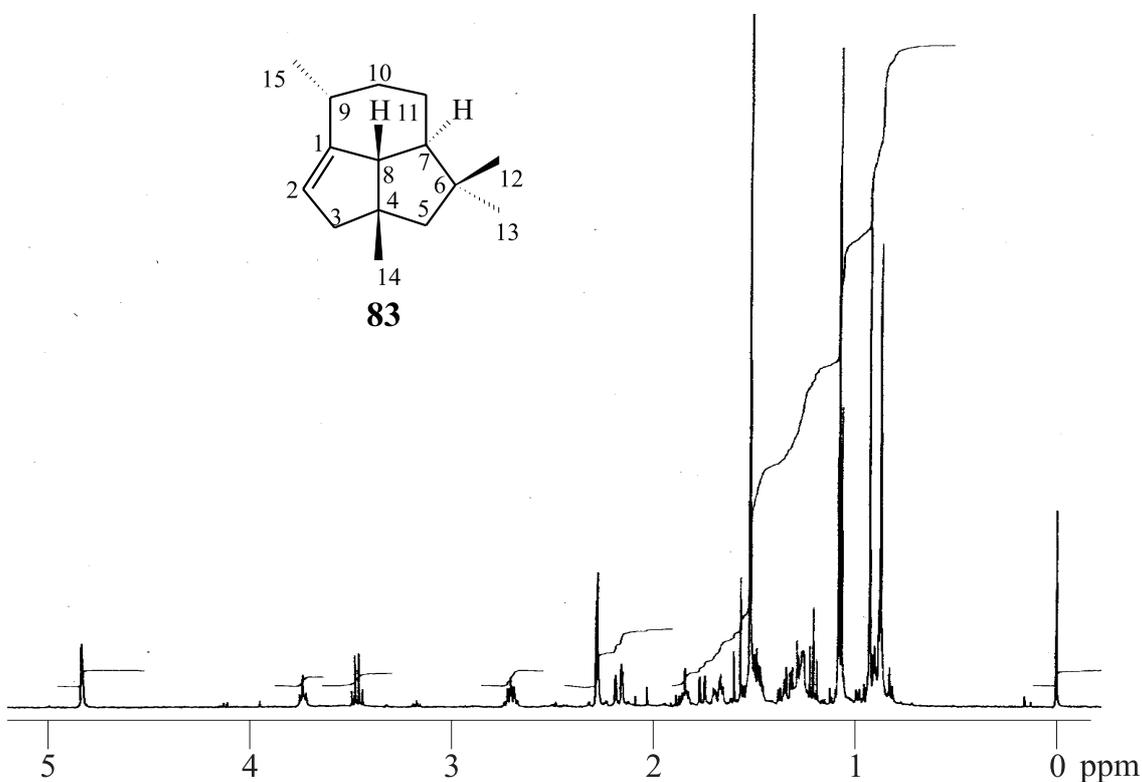
Zur Bestimmung der absoluten Konfiguration wurde eine Probe von (-)-Nardosina-1(10),11-dien (**81**) mit dem aus der Umlagerung von (-)-Aristolon (**37**) entstandenen (+)-**81** koinjiziert; die beiden Verbindungen stellten sich als enantiomer zueinander heraus.

**Abbildung 85:**

Zweidimensionale Gaschromatographie von (+)- und (-)-**81**; untersucht wurde aus *Ptilidium ciliare* isoliertes (-)-Nardosina-1(10),11-dien (**81**) (A), (+)-Nardosina-1(10),11-dien (**81**) aus der Umlagerung von (-)-Aristolen (**37**) (B) und die Koinjektion (C) an Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin, 110°C; achirale Säule: CpSil5, 50°C, 3°C/min, 230°C

### 4.7.3 Isolierung und Charakterisierung von Presilphiperfol-1-en (83) durch Dehydratisierung von Presilphiperfolan-1-ol (62)

Presilphiperfolan-1-ol (**62**) wurde aus *Conocephalum conicum* Typ III isoliert und charakterisiert (siehe Kapitel 4.4.6). Da in unserem Arbeitskreis bislang keine sesquiterpenoide Verbindung mit Presilphiperfolangerüst vorlag, wurde - um einen Kohlenwasserstoff diesen Gerüsttyps zu erhalten und die Spektren mit bislang unbekanntem Verbindungen zu vergleichen -, **62** mit saurem Ionenaustauscher umgelagert und der zu 80 % entstandene Sesquiterpenkohlenwasserstoff mittels präparativer Gaschromatographie gereinigt. Es wurde Presilphiperfol-1-en (**83**) erhalten, das NMR-spektroskopisch untersucht wurde.



**Abbildung 86:**  
<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Presilphiperfol-1-en (**83**)

Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum erkennt man wiederum 4 Methylgruppen, 2 Singulets bei 0.90 ppm und 0.94 ppm, die im 2D-Spektrum miteinander koppeln, somit geminal zueinander stehen und zu den Methylgruppen 12 und 13 gehören. Weiterhin beobachtet man ein Dublett bei 1.09 ppm, das zu Methylgruppe 15 gehört, und ein Singulett bei 1.09 ppm, das zur Methylgruppe 14 gehört, welches im Presilphiperfolan-1-ol (**62**) aufgrund der Wechselwirkung mit der Hydroxylgruppe noch einen starken Tieffeldshift aufwies. Das

der Methylgruppe 15 zugeordnete Dublett koppelt mit einem Multiplett bei 2.73 ppm, welches H-9 zugeordnet werden kann. Interessant ist hier das Auftreten eines Singulett bei 2.3 ppm, dem 2 Protonen zugeordnet werden können und das zur C-3-Methylen-Gruppe gehört, da es im 2D-Spektrum eine Kopplung zum olefinischen Proton bei 4.83 ppm zeigt. Ebenfalls interessant ist das Auftreten des Signals von H-7 im Bereich von 0.90 - 0.93 ppm bei sehr hohem Feld.

Die absolute Konfiguration ist nicht bekannt; es muß sich um die gleiche handeln, wie im Presilphiperfolan-1-ol (**62**), von dem ebenfalls nur eine relative Konfigurationszuordnung vorgenommen wurde. Presilphiperfol-1-en (**83**) ist bislang nicht als Naturstoff bekannt.

## 5 Zusammenfassung

Es wurden vier Chemotypen des Lebermooses *Conocephalum conicum* hinsichtlich ihrer sesquiterpenoiden Inhaltsstoffe untersucht. Chemotyp I war der am häufigsten vorgefundene Typus. Hier wurden in erster Linie Sesquiterpenkohlenwasserstoffe und oxygenierte Sesquiterpene mit Cadinan- und Muurolangerüst identifiziert; desweiteren Elemene, Cubebane und Copaane. Alle - mit Hilfe enantioselektiver Gaschromatographie - daraufhin untersuchten Komponenten lagen in der *ent*-Konfiguration vor mit Ausnahme des Germacranalkohols (-)-Germacra-1(10)*E*,5*E*-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**), der in der "gewöhnlichen" Konfiguration vorlag. Aus diesem Chemotyp wurde mit (+)-Isobazzanenaldehyd (**27**) eine bislang unbekannte Verbindung isoliert und charakterisiert. Die Struktur von **27** wurde mittels spektroskopischer Untersuchungen aufgeklärt.

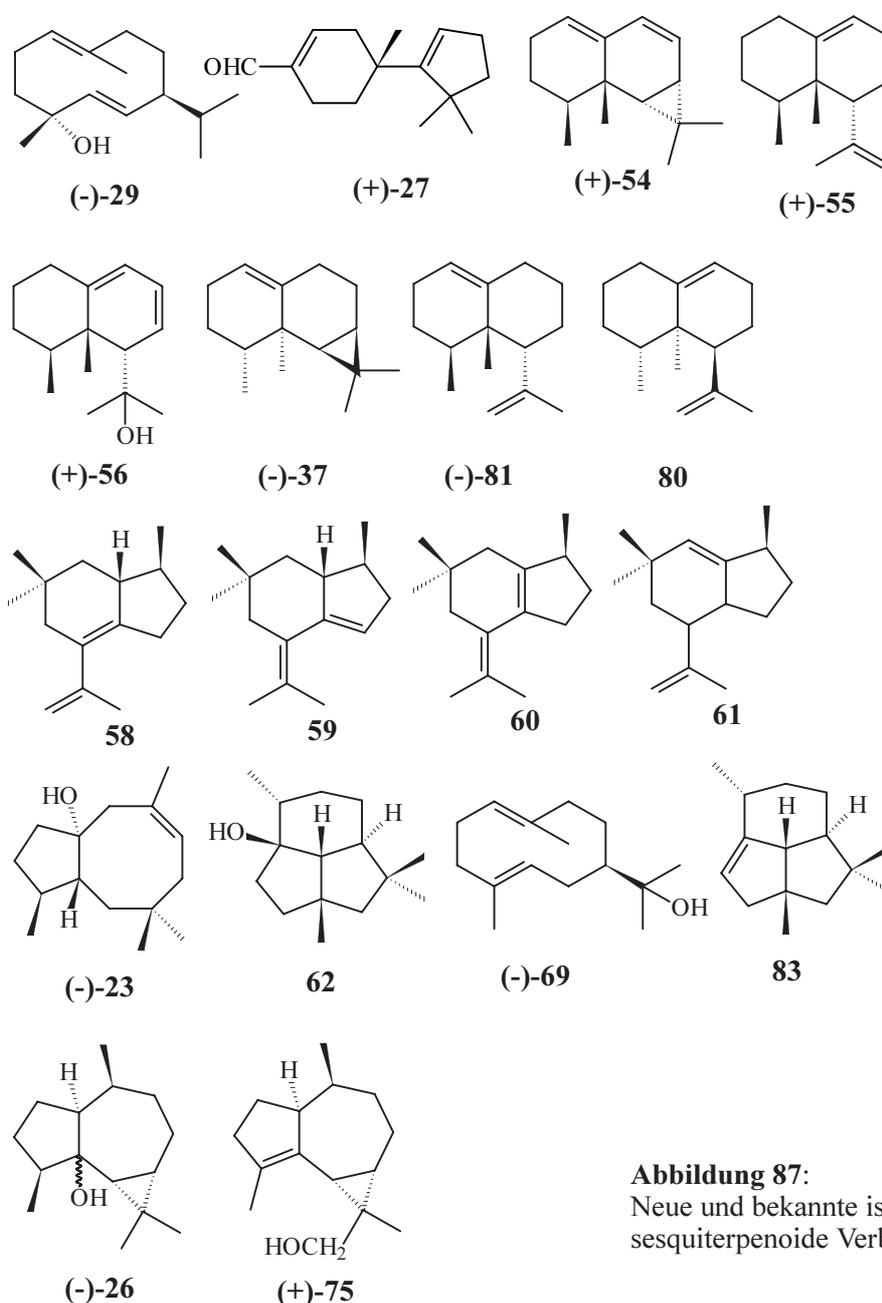
*Conocephalum conicum* Typ II wurde bislang nur in Norddeutschland gefunden. Die sesquiterpenoiden Inhaltsstoffe sind vom Aristolan- und Nardosinantyp, die in biogenetischem Zusammenhang zueinander stehen. Die Strukturen von (+)-Aristola-1(10),8-dien (**54**), (+)-Nardosina-7,9,11-trien (**55**) und (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol (**56**) wurden durch intensive NMR-Studien aufgeklärt. Die absolute Konfiguration aller sesquiterpenoiden Inhaltsstoffe wurde durch geeignete Umlagerungsreaktionen von (-)-Aristolen (**37**) und Dehydratisierungsreaktionen und anschließender enantioselektiver und zweidimensionaler Gaschromatographie untersucht. Alle sesquiterpenoiden Inhaltsstoffe lagen in der *ent*-Konfiguration vor. Als weitere Sesquiterpene vom Nardosinantyp wurden aus dem Lebermoos *Ptilidium ciliare* (-)-Nardosina-1(10),11-dien (**81**) isoliert und identifiziert. Nach Umlagerungsreaktion von (-)-Aristolen (**37**) wurde Nardosina-9,11-dien (**80**) identifiziert.

*Conocephalum conicum* Typ III enthielt eine Reihe neuer Sesquiterpenkohlenwasserstoffe vom Brasilantyp: Brasila-5,10-dien (**58**), Brasila-5(10),6-dien (**59**), Brasila-1(6),5(10)-dien (**60**) und vermutlich Brasila-1(10)-dien (**61**). Weiterhin wurde (-)-Dactylol (**23**) und Presilphiperfolan-1-ol (**62**) isoliert. Die in Chemotyp III identifizierten Sesquiterpene liegen teilweise in der gewöhnlichen Konfiguration vor, so bspw. (-)-Germacra-1(10),*E*,5*E*-dien-11-ol (**69**) mit analoger Stereochemie wie (-)-**29**. Durch sauer katalysierte Dehydratisierung von **62** wurde als ein weiterer neuer Sesquiterpenkohlenwasserstoff Presilphiperfol-1-en (**83**) erhalten.

*Conocephalum conicum* Typ IV wurde bislang nur einmal in Vorarlberg, Österreich gefunden; von daher ist die Bezeichnung Chemotyp zu relativieren. In diesem Organismus wurden ausnahmslos Sesquiterpene vom Aromadendran- bzw. Guaiantyp in der *ent*-Konfiguration charakterisiert. Neue Verbindungen sind das isolierte

(-)-Aromadendran-5-ol (**26**) und (+)-Aromadendr-4-en-12-ol (**75**), deren Strukturen durch NMR-Untersuchungen und Dehydratisierungs- bzw. Hydrierungsreaktionen zu bekannten Verbindungen aufgeklärt wurden.

Durch diese Arbeiten wurde gezeigt, daß Moose zum einen eine Quelle interessanter und neuer Inhaltsstoffe sind und daß es zum anderen auch hinsichtlich der sesquiterpenoiden Inhaltsstoffe unterschiedliche Chemotypen von *Conocephalum conicum* gibt. Weiterhin wurde gezeigt, daß es sich bei den sesquiterpenoiden Kohlenwasserstoffen um native Naturstoffe handelt, da die entsprechenden Verbindungen nicht nur in den Wasserdampfdestillaten, sondern auch in den SFE- bzw. Lösungsmittel-extrakten der zerkleinerten Pflanzenteile als Inhaltsstoffe identifiziert wurden.



**Abbildung 87:**  
Neue und bekannte isolierte  
sesquiterpenoide Verbindungen

## 6 Summary

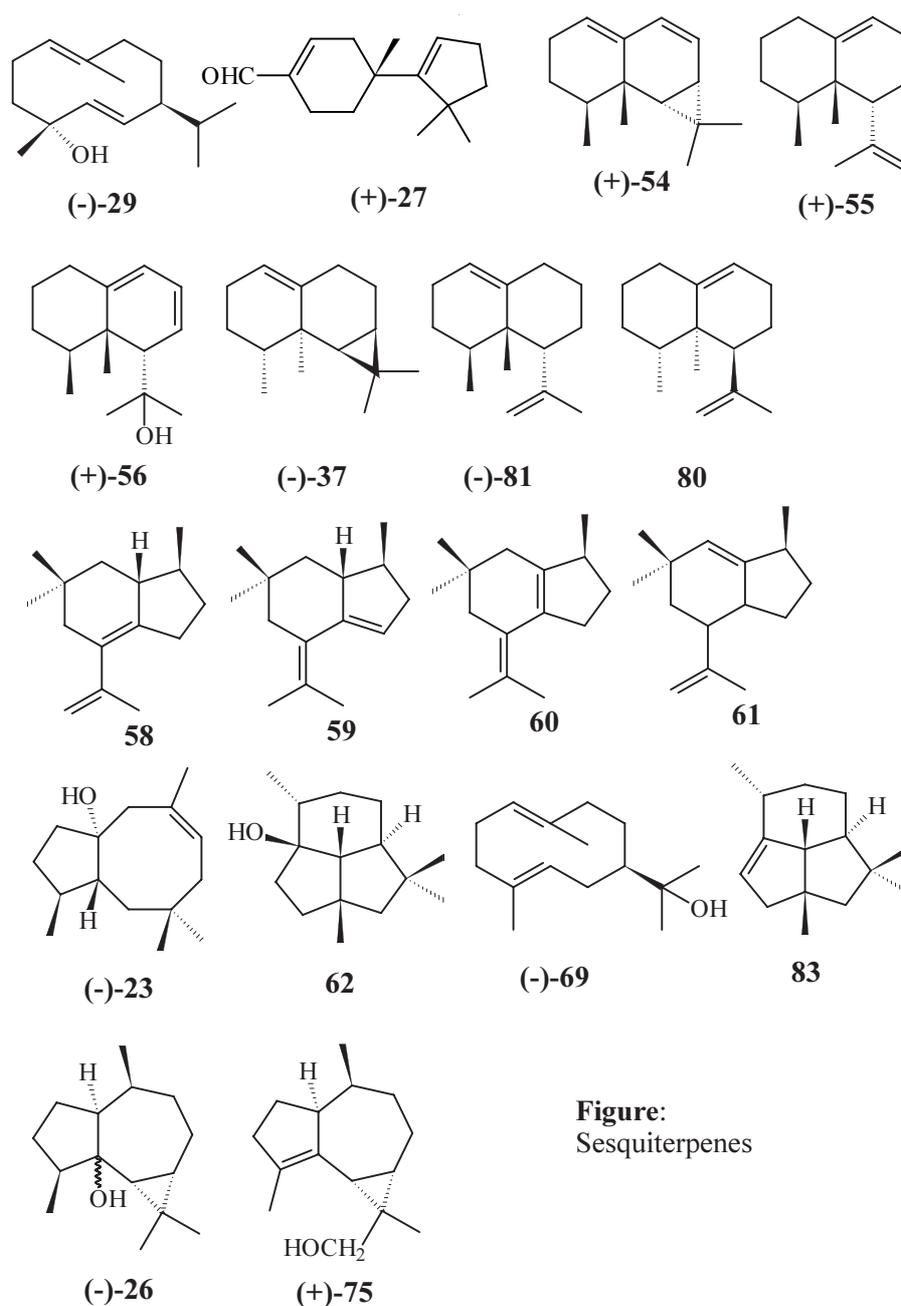
Four chemotypes of the liverwort *Conocephalum conicum* were investigated with regard to their sesquiterpenoid contents. Chemotype I was the most common type. Mainly sesquiterpene hydrocarbons and oxygenated sesquiterpenes of cadinan and muurolan type were identified, besides elemanes, cubebanes and copaanes. All - with the help of enantioselective gas chromatography - examined components were *ent*-configured, except (-)-germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**). Out of this chemotype the so far unknown component (+)-isobazzanenaldehyde (**27**) was isolated. The structure of (+)-**27** was clarified by spectroscopic examination.

Until now *Conocephalum conicum* type II could only be found in Northern Germany. The sesquiterpenoid compounds identified in this type are of aristolane and nardosinane type, which are related to each other biogenetically. The structures of (+)-aristola-1(10),8-diene (**54**), (+)-nardosina-7,9,11-triene (**55**) and (+)-nardosina-7,9-dien-11-ol (**56**) were identified through intensive NMR investigations. The absolute configuration of all sesquiterpenoid compounds was examined by appropriate rearrangement reactions of (-)-aristolene (**37**) and dehydration reactions followed by enantioselective and two dimensional gas chromatography. All sesquiterpenes were *ent*-configured. Another sesquiterpene of nardosinane type, (-)-nardosina-1(10),11-diene (**81**), was isolated out of the liverwort *Ptilidium ciliare*. The new nardosinane type sesquiterpene nardosina-9,11-diene (**80**) was isolated out of the rearrangement reaction of (-)-aristolene (**37**)

*Conocephalum conicum* type III contained a sequence of new sesquiterpene hydrocarbons of brasilan type: brasila-5,10-diene (**58**), brasila-5(10),6-diene (**59**), brasila-1(6),5(10)-diene (**60**) and probably brasila-1(10)-diene (**61**). Further on (-)-dactylol (**23**) and presilphiperfolan-1-ol (**62**) were isolated. (-)-Germacra-1(10),E5E-dien-11-ol (**69**) has the analogous stereochemistry as (-)-**29**. Through acid catalyzed dehydration of **62** presilphiperfol-1-en (**83**) was received as another new sesquiterpene hydrocarbon.

So far *Conocephalum conicum* type IV has only been found once at Vorarlberg, Austria. For this reason the specification as a chemotype has to be relativized. Only sesquiterpenes of aromadendrane and guaiane type in *ent*-configuration have been characterized in this organism. New compounds are (-)-aromadendrane-5-ol (**26**) and (+)-aromadendr-4-en-12-ol (**75**), identified by nmr investigations and by conversion of **26** and **75** into a series of products of known configuration by hydrogenation and dehydration.

These studies are showing, that liverworts are a source of interesting and new compounds. Furthermore it has been shown that chemotypes of *Conocephalum conicum* also can be differentiated by their sesquiterpenoid constituents. It has been established, that the sesquiterpene hydrocarbons are native natural compounds. The isolated compounds were not only identified in the hydrodistillates but also in the SFE extracts and solvent extractions of crushed fresh plant material respectively.



**Figure:**  
Sesquiterpenes

## 7 Experimenteller Teil

### 7.1 Meßgeräte und Methoden

Kapillargaschromatographie:

Für die gaschromatographischen Untersuchungen wurden die Geräte Fractovap 2101AC, 2150, 4160 und Mega 5300 der Firma Carlo Erba, sowie ein Dani 3900, ein Micromat 412 der Firma Orion und ein Micromat HRGC 412 der Firma Nordion verwendet. Zweidimensionale Gaschromatographie wurde mit einem Siemens Sichromat 2 mit einer 25 m fused-silica-Kapillare CP Sil 5 als Vorsäule und einer 25 m fused-silica Kapillare mit 50 % Heptakis(2,6-di-O-Me,3-O-Pe)- $\beta$ -CD in OV-1701 als Hauptsäule durchgeführt. Alle Geräte waren mit Flammenionisationsdetektoren und Splitinjektoren ausgestattet, als Trägergas diente in allen Fällen Wasserstoff. Die Aufzeichnung und Integration erfolgte mit den Integratoren D-2000 und D-2500 der Firma Merck-Hitachi, sowie mit einem HP 3390 A der Firma Hewlett Packard.

Präparative Gaschromatographie:

Es wurde ein Varian 1400 Gaschromatograph und ein Varian 2800 Gaschromatograph verwendet, der mit unterschiedlich gepackten Säulen mit chiralen und achiralen stationären Phasen ausgestattet war. Folgende gepackte Säulen wurden verwendet:

**Tabelle 3:** Verwendete gepackte Säulen

Bezeichnung	Mischphase	Chirale Phase	Anteil CD (w/w)	Beladung (w/w)	Trägermaterial	D [mm]	Länge [m]	Säulenmaterial
[SE-30]				10 %	W-HP	4.3	1.85	Edelstahl
[2,6-Me-3-Pe- $\beta$ -CD]	OV-1701	Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin	50 %	3 %	G-HP	5.3	2.00	Silcosteel
[6-Me-2,3-Pe- $\gamma$ -CD]	PS-086	Octakis(6-O-methyl-2,3-di-O-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin	50 %	6 %	W-HP	5.1	2.05	Silcosteel
[6-T-2,3-Me- $\beta$ -CD]	SE-52	Heptakis(6-O-tertiärbutyldimethylsilyl-2,3-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin	50 %	6.4 %	W-HP	4.3	2.00	Silcosteel

Als Trägergas diente Helium mit einem Vordruck von 3.0 bar, was einer Strömungsgeschwindigkeit von ca. 240 ml/min entspricht. Die Injektionen erfolgten bei einer Injektortemperatur von 200 °C. Ein Splitventil am Ende der Säule ermöglicht es, die Hauptmenge der Substanz in Teflonschläuchen, die mit flüssigen Stickstoff gekühlt werden, außerhalb des Geräts aufzufangen, während ein kleiner Teil im Flammenionisationsdetektor erkannt und verbrannt wird. Die in der ersten Spalte von Tabelle 3 genannte Bezeichnung wird im folgenden zur Benennung der verwendeten präparativen Säulen benutzt.

### NMR-Spektroskopie

Die  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - COSY-, NOESY-, HMBC und HMQC-NMR-Spektren wurden an den Geräten WM 250 ( $^1\text{H}$ : 250 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 62.89 MHz), WM 400 ( $^1\text{H}$ : 400 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 100.62 MHz) und DRX 500 ( $^1\text{H}$ : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 125.77 MHz) der Firma Bruker durchgeführt. Als Lösungsmittel wurde deuteriertes Chloroform oder Deuterobenzol der Firma Merck benutzt. Als Referenzsignal wurde Tetramethylsilan ( $\delta = 0$  ppm) oder das  $\text{CHCl}_3$ -Signal ( $^1\text{H}$ :  $\delta = 7.26$  ppm,  $^{13}\text{C}$ :  $\delta = 77.7$  ppm) bzw.  $\text{C}_6\text{H}_6$ -Signal ( $^1\text{H}$ :  $\delta = 7.16$  ppm,  $^{13}\text{C}$ :  $\delta = 128.7$  ppm) verwendet.

### Massenspektrometrie

GC/MS-Messungen wurden unter EI - Bedingungen (70 eV) mit dem Sektorfeld-Gerät VG 70-250 S der Firma VG Analytical, das mit einem Hewlett-Packard Gaschromatographen HP 5890, ausgestattet mit einer 25 m Kapillarsäule CP Sil 5 CB, gekoppelt war. An diesem Gerät wurden auch die MS-CI-Messungen (Reaktandgas war Isobutan) durchgeführt. GC/MS-Messungen wurden weiterhin mit einem Iontrap-Massenspektrometer ITD 800 der Firma Finnigan durchgeführt, welches mit dem Dani 6500 Gaschromatographen, ausgestattet mit einer 30 m Kapillarsäule CP Sil 5, verbunden war. Als Trägergas diente jeweils Helium.

### Polarimetrie

Die qualitative Bestimmung des Drehwertes wurde mit einem Perkin-Elmer 243 und einem Perkin Elmer 314 Polarimeter mit einer 1 dm Küvette bei 589 nm durchgeführt. Als Lösungsmittel wurde deuteriertes Chloroform, Deuterobenzol oder n-Hexan in p.a. Qualität verwendet.

### Dünnschichtchromatographie

Es wurde Kieselgel 60 F254 auf Aluminiumfolie der Firma Merck verwendet. Die Detektion erfolgte durch Ansprühen mit ethanolischer Schwefelsäure (10 %) und anschließender Wärmebehandlung mit einem Heißluftfön.

### Flüssigchromatographie

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60 (Korngröße: 0.063 - 0.0200 mm) der Firma Merck verwendet.

### Reagenzien und Lösungsmittel

Für die gaschromatographischen Untersuchungen wurden ausschließlich p.a. Lösungsmittel der Firmen Merck und Fluka verwendet. Die für die Flüssigchromatographie und die Extraktionen benutzte Lösungsmittel wurden einmal am Rotationsverdampfer destilliert. Die als Standards bzw. für die Umlagerung verwendeten Proben (-)-Aristolon (**37**), (+)-Leden (**77**), (-)-Isoleden (**74**) und (+)- $\alpha$ -Gurjunen (**72**) wurden von der Firma Fluka bezogen. Alle anderen verwendeten Sesquiterpene sind aus Pflanzen isolierte Standards des Arbeitskreises von Herrn Prof. Dr. W. A. König an der Universität Hamburg.

### Herkunft und Identifizierung der Lebermoose bzw. Pflanzen

Die Proben des Lebermooses *Conocephalum conicum* vom Typ I wurden u.a. gesammelt in Mutlangen, bei Nürnberg, im Botanischen Garten der Universität Hamburg, Ch. 63, Geislingen/Türkheim, Blue Ridge Parkway, North Carolina (USA), Taiwan, Bitche (Frankreich), Vorarlberg/Gauertal 700 m Höhe, Uracher Wasserfall, Nenzinger Himmel (Pfälzer Hütte, Vorarlberg) 2000 m, Eybacher Tal bei Geislingen. Proben des Typ II wurden gesammelt in Hamburg/Aumühle (Billeufer), im Botanischen Garten Ch. 230 der Universität Hamburg und in Sittensen. Typ III wurde gesammelt an zwei Standorten an der Zachersmühle bei Göppingen und in Devils Bridge (Wales) und Typ IV wurde in Vorarlberg/Gauertal in 2100 m Höhe gesammelt.

Mischtyp I/III wurde am Nenzinger Himmel auf 740 m Höhe, ein Mischtyp II/III in Sachsen gesammelt und ein Mischtyp II/III aus dem Botanischen Garten in Hamburg (bezeichnet als "Botanischer Garten Hamburg, Ch.: 200") bezogen.

*Ptilidium ciliare* wurde im Nationalpark Gran Paradiso in Italien auf 1500 m Höhe gesammelt und *Pallavicinia lyellii* in Oldenburg/Niedersachsen. Das ätherische Öl von *Nardostachys jatamansii* wurde von Dr. D. Joulain, Grasse zur Verfügung gestellt. Die

Identifizierung der gesammelten Proben erfolgte durch Dr. H. Muhle (Universität Ulm)

#### Herstellung der ätherischen Öle

Die sortierten und zerkleinerten Moose wurden einer 2-stündigen Wasserdampfdestillation unterzogen. Das ätherische Öl wurde in 1 ml n-Hexan aufgenommen.

#### Herstellung der Lösungsmittelextrakte

Die unter flüssigem Stickstoff zermörserten Moosproben wurden mit n-Hexan, Dichlormethan oder Methanol versetzt und mindestens 24 Stunden stehen gelassen. Anschließend wurden die festen Bestandteile abfiltriert. Vor einer gaschromatographischen Analyse wurde der Extrakt über Kieselgel filtriert.

#### Herstellung der SFE-Extrakte

Die SFE-Extrakte wurden an der an der Technischen Universität Hamburg Harburg (TUHH) durchgeführt: Frische Pflanzenteile wurden mehrere Stunden mit überkritischem CO<sub>2</sub> extrahiert und in n-Hexan aufgefangen. Vor der gaschromatographischen Analyse wurde der Rohextrakt über MgSO<sub>4</sub> getrocknet.

#### Dehydratisierungen

Ca. 1 mg der in n-Hexan oder Deuterobenzol gelösten Substanz wurden mit 0,5 ml abs. Pyridin versetzt. 1 Tropfen Thionylchlorid bzw. Phosphorylchlorid wurde unter Eiskühlung zugegeben und es wurde 5 min (nach Zugabe von Thionylchlorid) bzw. 1 h (nach Zugabe von Phosphorylchlorid) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser gestoppt und 3 mal mit n-Hexan ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde mehrmals mit wenig Wasser gewaschen und anschließend über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> \* H<sub>2</sub>O getrocknet.

#### Hydrierungen

Ca. 1 mg der in n-Hexan oder Deuterobenzol gelösten Substanz wurde mit einer Spatelspitze Palladium/Aktivkohle versetzt. Nach einminütiger Einleitung von Wasserstoff wurde 1 bis 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und über Celite (Kieselgur verschiedener Korngrößen) filtriert.

## Umlagerungen

Die beschriebenen Umlagerungen wurden in einem inerten Lösungsmittel (n-Hexan oder Deuterobenzol) unter Zugabe von Amberlyst 15<sup>R</sup> (und anschließendem Rühren bei Raumtemperatur durchgeführt).

## 7.2 Isolierung von Sesquiterpenen aus *Conocephalum conicum* Typ I

### 7.2.1 (+)-Isobazzanenaldehyd (27) aus *Conocephalum conicum* “Mutlangen”

Nach mehreren Trennungen des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* “Mutlangen” mittels präparativer Gaschromatographie (SE-30) wurde (+)-Isobazzanenaldehyd (27) gewonnen. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 120 °C, nach 18 Minuten wurde der Ofen auf 150 °C hochgeheizt und nach weiteren 12 Minuten auf 170 °C. Die Strukturzuordnung erfolgte durch intensive NMR-Untersuchungen.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.15 (3H, *s*, H-14), 1.23, 1.16 (je 3H, *s*, H-12, H-13), 5.37 (1H, *t*, H-4), 6.78 (1H, *t*, H-8), 9.43 (1H, *s*, H-15)

<sup>13</sup>C NMR (125.8 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 19.19 (*t*, C-10), 26.51 (*q*, C-14), 28.02 (*t*, C-3), 28.62, 28.58 (je *q*, C-12, C-13), 32.64 (*t*, C-11), 40.03 (*t*, C-7), 44.86 (*t*, C-2), 47.05 (*s*, C-1), 124.87 (*d*, C-4), 150.61 (*d*, C-8), vier Kohlenstoffsignale fehlen.

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 218 (7) [M<sup>+</sup>], 203 (17), 189 (17), 175 (7), 161 (9), 136 (26), 121 (100), 105 (28), 95 (52), 93 (46), 91 (30), 79 (24), 77 (24), 41 (37).

### 7.2.2 (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (29) aus *Conocephalum conicum* “Uracher Wasserfall”

Aus mehreren Einspritzungen des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* “Uracher Wasserfall” wurde per präparativer Gaschromatographie (SE-30) (-)-Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (29) isoliert. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 130 °C. Die Strukturzuordnung erfolgte durch Auswertung des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums und Vergleich mit Literaturdaten.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  0.91 (3H, *d*), 0.96 (3H, *d*), 1.12 (3H, *s*), 1.59 (3H, *bs*), 4.97 (1H, *bd*), 5.07 (1H, *d*), 5.30 (1H, *dd*)

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 222 (2) [ $\text{M}^+$ ], 207 (9), 204 (11), 161 (42), 105 (26), 81 (100), 43 (37), 41 (26)

### 7.2.3 (+)-*epi*-Cubenol (**32**) aus *Conocephalum conicum* “Uracher Wasserfall”

Aus mehreren Einspritzungen des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* “Uracher Wasserfall” wurde mittels präparativer Gaschromatographie (SE-30) (+)-*epi*-Cubenol (**32**) isoliert. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 130 °C. Die Strukturzuordnung erfolgte durch Auswertung des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums und Vergleich mit Literaturdaten.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.45 (1H, *bs*), 1.70 (3H, *s*), 0.96 (3H, *d*), 0.88 (3H, *d*), 0.81 (3H, *d*).

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (24) [ $\text{M}^+-18$ ], 161 (61), 159 (100), 119 (79), 105 (60), 91 (30), 41 (31).

## 7.3 Isolierung von Sesquiterpenen aus *Conocephalum conicum* Typ II

### 7.3.1 (+)-Aristola-1(10),8-dien (**54**) aus *Conocephalum conicum* “Botanischer Garten HH, Ch.: 200”

Aus mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Botanischer Garten HH, Ch.: 200” am präparativen Gaschromatographen, ausgestattet mit einer [6-Me-2,3-Pe- $\beta$ -CD]-Säule wurde (+)-Aristola-1(10),8-dien (**54**) isoliert. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 110 °C, nach einer Minute wurde mit einer Rate von 2 °C/min auf 170 °C hochgeheizt. Die Strukturzuordnung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen NMR-Spektren und durch Vergleich mit der Literatur.

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.92 (3H, *s*), 0.93 (1H, *d*), 0.95 (3H, *s*), 0.99 (3H, *d*), 1.10 (3H, *s*), 1.17 (1H, *dd*), 5.28 (1H, *t*), 5.73 (1H, *dd*), 5.84 (1H, *d*).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100.6 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  14.98, 16.12, 23.22, 24.79, 25.51 (*t*), 27.98 (*t*), 29.34, 34.78, 34.96, 36.23, 119.28, 122.29, 124.60, 127.32; ein Kohlenstoffsignal fehlt.

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 202 (48) [ $\text{M}^+$ ], 187 (41), 159 (100), 145 (61), 131 (57), 117 (61), 105 (31), 91 (41), 41 (41).

### 7.3.2 (+)-Nardosina-7,9,11-trien (55) aus *Conocephalum conicum* “Botanischer Garten HH, Ch.: 200” und *Conocephalum conicum* “Aumühle/Hamburg (Billeufer)”

Aus mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Botanischer Garten HH, C 200” bzw. “Aumühle/Hamburg (Billeufer)” am präparativen Gaschromatographen, ausgestattet mit einer [6-Me-2,3-Pe- $\beta$ -CD]-Säule konnte (+)-Nardosina-7,9,11-trien (55) isoliert werden. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 110 °C, nach einer Minute wurde mit einer Rate von 2 °C/min bis auf 170 °C hochgeheizt. Die Strukturaufklärung erfolgte durch intensive NMR-Untersuchungen.

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.85 (3H, *d*, Me-15), 0.95 (3H, *s*, Me-14), 1.2 - 1.4 (2H, *m*, H-2a and H-3a), 1.46 - 1.51 (1H, *m*, H-3b), 1.6 - 1.7 (2H, *m*, H-2b and H-4), 1.71 (3H, *bs*, Me-12), 2.24 (2H, *m*, H<sub>2</sub>-1), 2.83 (1H, *d*, H-6,  $J_{67} = 6.3$ ), 4.62 (1H, *bs*, H-13a), 4.78 (1H, *bs*, H-13b), 5.43 (1H, *dd*, H-7,  $J_{67} = 6.3$ ,  $J_{78} = 9.4$ ), 5.47 (1H, *bd*, H-9,  $J_{89} = 5.4$ ), 5.84 (1H, *dd*, H-8,  $J_{78} = 9.4$ ,  $J_{89} = 5.4$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125.8 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta =$  17.10 (*q*, C-15), 17.53 (*q*, C-14), 18.62 (*q*, C-12), 25.66 (*t*, C-2), 31.69 (*t* C-3), 32.20 (*t*, C-1), 35.24 (*d*, C-4), 39.8 (*s*, C-5), 52.85 (*d*, C-6), 113.78 (*t*, C-13), 117.71 (*d*, C-9), 123.27 (*d*, C-8), 124.91 (*d*, C-7), 145.66 (*s*, C-10), 146.51 (*s*, C-11).

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 202 (54) [ $\text{M}^+$ ], 187 (46), 159 (26), 145 (68), 131 (100), 117 (28), 105 (76), 91 (52), 77 (32), 41 (57).

### 7.3.3 (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol (56) aus *Conocephalum conicum* “Aumühle/Hamburg Billeufer” und aus *Pallavicinia lyellii*

Aus mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Aumühle/Hamburg Billeufer” bzw. *Pallavicinia lyellii* konnte mittels präparativer Gaschromatographie an der [SE-30]-Säule (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol (56) isoliert

werden. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 120 °C, nach 24 Minuten wurde der Ofen auf 140 °C hochgeheizt. Die Strukturaufklärung erfolgte durch intensive NMR-Untersuchungen und durch Untersuchungen der Dehydratisierungsprodukte von (+)-Nardosina-7,9-dien-11-ol (**56**) ((+)-Aristolon-1(10),8-dien (**54**) und (+)-Nardosina-7,9,11-trien (**55**)).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 0.96 (3H, *d*, Me-15), 0.97 (3H, *s*, Me-14), 1.26 (3H, *s*, Me), 1.27 (3H, *s*, Me), 1.30 - 1.42 (1H, *m*, H-2a), 1.58 - 1.72 (3H, *m*, H-2b und H-2-3), 2.19 (1H, *d*, H-6, J<sub>67</sub> = 6.6), 2.24 - 2.39 (2H, *m*, H<sub>2</sub>-1), 2.55 (1H, *m*, H-4), 5.48 (1H, *m*, H-9), 5.60 (1H, *dd*, H-7, J<sub>67</sub> = 6.6, J<sub>78</sub> = 9.7), 5.83 (1H, *dd*, H-8, J<sub>78</sub> = 9.7, J<sub>89</sub> = 5.1).

<sup>13</sup>C-NMR (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 18.09 (*q*), 18.20 (*q*), 24.83 (*t*), 26.07 (*q*), 31.61 (*q*), 32.13 (*t*), 32.55 (*t*), 34.67 (*d*), 41.84 (*s*), 51.59 (*d*), 117.73 (*d*), 123.58 (*d*), 126.04 (*d*), 147.47 (*s*); ein Kohlenstoffsignal fehlt.

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 202 (2) [M<sup>+</sup>-18], 162 (28), 147 (14), 106 (31) 105 (100), 91 (28), 59 (72).

#### 7.3.4 3,4-Dimethoxystyrol (**57**) aus *Conocephalum conicum*

##### “Botanischer Garten HH, Ch.: 200”

Aus mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* Botanischer Garten Ch. 200 konnte 3,4-Dimethoxystyrol (**57**) (verunreinigt mit ca. 5 % Aristolen) mittels präparativer Gaschromatographie an der [6-Me-2,3-Pe-β-CD]-Säule und anschließender Reinigung an der [2,6-Me-3-Pe-β-CD]-Säule isoliert werden. Gearbeitet wurde bei einer Säulentemperatur von 110 °C, nach einer Minute wurde der Ofen mit einer Rate von 2°C/min hochgeheizt.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.88 (3H, *s*), 3.90 (3H, *s*), 5.15 (1H, *d*, H-8, J<sub>78</sub> = 11), 5.62 (1H, *d*, H-8, J<sub>78</sub> = 17), 6.65 (1H, *dd*, H-7, J<sub>78</sub> = 11, 17), 6.82 (1H, *d*, H-5, J<sub>56</sub> = 8), 6.94 (1H, *dd*, H-6, J<sub>56</sub> = 8, J<sub>26</sub> = 1.5), 6.97 (1H, *d*, H-2, J<sub>26</sub> = 1.5)

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 164 (100) [M<sup>+</sup>], 149 (31), 121 (13), 103 (11), 91 (16), 77 (12)

## 7.4 Isolierung von Sesquiterpenen aus *Conocephalum conicum* Typ III

### 7.4.1 Conocephalenol (**25**) aus *Conocephalum conicum* “Zachersmühle”

Mittels präparativer Gaschromatographie an der [2,6-Me-3-Pe- $\beta$ -CD]-Säule wurde nach mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” Conocephalenol (**25**) gewonnen. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 110 °C, nach einer Minute wurde mit einer Rate von 2 °C/min bis auf 160 °C hochgeheizt. Conocephalenol (**25**) dehydratisiert in deuteriertem Chloroform schnell zu Brasila-5,10-dien (**58**) als Hauptprodukt. Diese Reaktion findet teilweise schon auf der Säule des präparativen Gaschromatographen statt. Die Strukturzuordnung erfolgte durch Auswertung des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums und Vergleich mit Literaturdaten.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):  $\delta$  0.82 (1H, *t*), 0.90 (3H, *s*), 1.00 (3H, *s*), 1.01 (3H, *d*), 1.25 (6H, *s*), 1.53 (1H, *dd*), 2.47 - 2.70 (2H, *m*).

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 222 (2), [M<sup>+</sup>], 207 (20), 204 (72), 189 (100), 175 (25), 161 (28), 151 (26), 149 (26), 133 (69), 119 (36), 105 (56), 91 (50), 59 (41), 41 (57).

### 7.4.2 Brasila-5,10-dien (**58**) aus *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” und “Devils Bridge Wales”

Mittels präparativer Gaschromatographie an der [2,6-Me-3-Pe- $\beta$ -CD]-Säule wurde nach mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” bzw. “Devils Bridge Wales” Brasila-5,10-dien (**58**) gewonnen. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 110 °C, nach einer Minute wurde mit einer Rate von 2 °C/min bis auf 160 °C hochgeheizt. Die Substanz lagert in deuteriertem Chloroform schnell in Konstitutionsisomere um. Die Strukturaufklärung erfolgte durch Auswertung der NMR-Spektren und aufgrund der Dehydratisierung von Conocephalenol (**25**) zu Brasila-5,10-dien (**58**).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):  $\delta$  0.86 (1H, *m*, H-2a), 0.94 (3H, *s*, Me), 0.99 (3H, *s*, Me), 1.00 (3H, *d*, Me), 1.07 - 1.31 (2H, *m*, H-8a und H-9), 1.56 (1H, *m*, H-2b), 1.82 (3H, *s*, Me-11), 2.07 (1H, *m*, H-4a), 2.31 - 2.5 (2H, *m*, H<sub>2</sub>-7), 4.91 (1H, *bs*), 5.03 (1H, *bs*).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100.6 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  18.29 (*q*), 22.30 (*q*), 26.11 (*q*), 28.74 (*t*, C-7), 30.17 (*s*), 32.38 (*q*), 33.38 (*t*, C-8), 40.81 (*t*, C-2), 41.23 (*d*, C-9), 43.37 (*t*, C-4), 47.02 (*d*, C-1), 112.61 (*t*, C-12), 129.64 (*s*), 137.94 (*s*), 146.42 (*s*).

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (67) [ $\text{M}^+$ ], 189 (70), 175 (44), 161 (33), 147 (33), 133 (100), 119 (48), 105 (78), 91 (72), 77 (35), 55 (43), 41 (78).

#### 7.4.3 Brasila-5(10),6-dien (59) aus *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” und “Devils Bridge Wales”

Mittels präparativer Gaschromatographie an der [2,6-Me-3-Pe- $\beta$ -CD]-Säule wurde nach mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” und “Devils Bridge Wales” Brasila-5(10),6-dien (**59**) gewonnen. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 110 °C, nach einer Minute wurde mit einer Rate von 2 °C/min bis auf 160 °C hochgeheizt. Die Substanz lagert in deuteriertem Chloroform schnell in Konstitutionsisomere um. Die Strukturaufklärung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren.

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  0.91 (3H, *s*), 0.97 (3H, *s*), 1.03 (1H, *m*), 1.08 (3H, *d*), 1.69 (3H, *s*), 1.83 - 1.89 (1H, *m*), 1.90 (3H, *s*), 2.10 (1H, *m*), 2.24 - 2.33 (1H, *m*), 2.39 (1H, *bd*), 2.53 (1H, *td*), 5.46 (1H, *m*).

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (79) [ $\text{M}^+$ ], 189 (67), 175 (31), 161 (39), 148 (26), 147 (26), 133 (100), 119 (43), 105 (61), 91 (54), 77 (31), 55 (26), 41 (50).

#### 7.4.4 Brasila-1(6),5(10)-dien (60) aus *Conocephalum conicum* “Devils Bridge Wales”

Mittels präparativer Gaschromatographie an der [2,6-Me-3-Pe- $\beta$ -CD]-Säule wurde nach mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Devils Bridge Wales” Brasila-1(6),5(10)-dien (**60**) gewonnen. Die Substanz ist sowohl in deuteriertem Chloroform als auch deuteriertem Benzol und in n-Hexan instabil. Die Strukturaufklärung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren und durch die Auswertung der Dehydratisierungsergebnisse von Conocephalenol (**25**).

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  0.96 (3H, *s*), 0.98 (3H, *s*), 1.01 (3H, *d*), 1.33 - 1.40 (1H, *m*), 1.76 (3H, *s*), 1.90 (3H, *s*)

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (30) [ $\text{M}^+$ ], 189 (100), 133 (18), 105 (22), 41 (22).

#### 7.4.5 Brasila-1,10-dien (**61**) aus *Conocephalum conicum* “Zachersmühle”

Mittels präparativer Gaschromatographie an der [2,6-Me-3-Pe- $\beta$ -CD]-Säule wurde nach mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” Brasila-1,10-dien (**61**) gewonnen. Die Injektionen erfolgten bei einer Säulentemperatur von 110 °C, nach einer Minute wurde mit einer Rate von 2 °C/min bis auf 160 °C hochgeheizt. Brasila-1,10-dien (**61**) ist über längere Zeit in deuteriertem Chloroform stabil. Die vorläufige Strukturzuordnung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.96 (3H, *s*), 1.00 (3H, *s*), 1.05 (3H, *d*), 1.71 (3H, *s*), 4.72, (2H, *bs*), 5.09 (1H, *s*).

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (39) [ $\text{M}^+$ ], 189 (100), 175 (15), 161 (19), 147 (37), 136 (59), 133 (42), 121 (63), 105 (76), 95 (33), 93 (39), 91 (46), 81 (31), 79 (28), 77 (28), 55 (33), 41 (57).

#### 7.4.6 (-)-Dactylol (**23**) aus *Conocephalum conicum* “Zachersmühle”

Die polaren Bestandteile des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” wurden mittels Säulenchromatographie mit Petrolether (Siedebereich: 40 - 60 °C) und anschließendem Dichlormethangradienten abgetrennt. Zwei Verunreinigungen wurden mittels präparativer Gaschromatographie an der [SE-30]-Säule abgetrennt. Aus mehreren Einspritzungen wurde bei einer Ofentemperatur von 130 °C (-)-Dactylol (**23**) gewonnen. Die Strukturzuordnung erfolgte durch Auswertung der NMR-Spektren und den Vergleich mit Literaturdaten.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.91 (3H, *s*), 0.92 (3H, *s*), 0.96 (3H, *d*), 1.39 (1H, *m*), 1.59 (1H, *dd*), 1.76 - 1.70 (3H, *m*), 1.84 (3H, *bs*), 1.97 (1H, *dd*), 2.18 (1H, *d*), 2.40 (1H, *d*), 5.53 (1H, *bt*).

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 222 (7) [ $\text{M}^+$ ], 204 (14), 153 (100), 111 (69), 97 (45), 69 (74), 55 (64), 41 (78).

#### 7.4.7 Presilphiperfolan-1-ol (62) aus *Conocephalum conicum* “Zachersmühle”

Die polaren Bestandteile des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” wurden mittels Säulenchromatographie mit Petrolether (Siedebereich: 40 - 60 °C) und anschließendem Dichlormethangradienten abgetrennt. Diese wurde mittels präparativer Gaschromatographie an der [6-T-2,3-Me-β-CD]-Säule weiter aufgetrennt. Die gleiche Substanz erhielt man durch Aufreinigung der polaren Bestandteile des ätherischen Öls am präparativen Gaschromatographen ausgestattet mit der [SE-30]-Säule. Aus mehreren Einspritzungen wurde bei einer Ofentemperatur von 135 °C bzw. 130 °C Presilphiperfolan-1-ol (62) gewonnen. Die Strukturzuordnung erfolgte durch NMR-Strukturaufklärung.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): δ 0.80 (3H, *s*, Me), 0.89 (3H, *d*, Me-15), 0.94 (3H, *s*, Me), 1.08 - 1.17 (2H, *m*, H-11a und H-7), 1.32 (3H, *s*, Me-14), 1.20 - 1.33 (2H, *m*, H-11b und H-10a), 1.39 - 1.45 (1H, *m*, H-10b), 1.50 (2H, *s*, H<sub>2</sub>-5), 1.53 - 1.62 (3H, *m*, H-8 und H-3a und H-9), 1.62 - 1.72 (1H, *m*, H-2a), 1.77 - 1.92 (2H, *m*, H-2b und H-3b).

<sup>13</sup>C-NMR (125.8 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): β 15.69 (*q*, Me-15), 20.26 (*t*, C-11), 22.31 (*q*), 28.73 (*q*), 29.91 (*t*, C-10), 31.35 (*q*, Me-14), 36.87 (*d*, C-9), 39.71 (*t*, C-2), 41 (*s*, C-6), 42.64 (*t*, C-3), 46.21 (*s*, C-4), 51.69 (*d*, C-7), 59.43 (*t*, C-5), 63.90 (*d*, C-8), 89 (*q*, C-1).

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 222 (13) [M<sup>+</sup>], 207 (28), 204 (11), 189 (17), 166 (78), 165 (57), 151 (50), 133 (24), 123 (100), 111 (37), 110 (31), 105 (24), 97 (56), 91 (31), 81 (25), 55 (37), 41 (65).

#### 7.4.8 (-)-Selin-11-en-4-ol (65) aus *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” und “Devils Bridge Wales”

Aus mehreren Einspritzungen des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* “Zachersmühle” und “Devils Bridge Wales” wurde (-)-Selin-11-en-4-ol (65) mittels präparativer Gaschromatographie (6-Me-2,3-Pe-β-CD) isoliert. Die Einspritzungen erfolgten bei einer Ofentemperatur von 110 °C, nach 2 Minuten wurde mit 2 °C/min auf 180 °C hochgeheizt. Die Strukturzuordnung erfolgte durch Auswertung der Protonen- und Kohlenstoff-NMR-Spektren und durch Vergleich mit Literaturdaten.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 0.89 (3H, *s*), 1.18 (3H, *s*), 1.55 (3H, *s*), 1.74 (3H, *s*), 4.69 (1H, *bs*), 4.71 (1H, *bs*).

$^{13}\text{C}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  19.40, 20.84, 21.77, 23.42, 26.75, 27.58, 35.33, 41.80, 44.09, 45.37, 47.06, 55.62, 72.94, 108.84, 151.40.

EIMS (70 eV),  $m/z$  (rel. int.): 222 (7) [ $\text{M}^+$ ], 204 (43), 189 (48), 161 (28), 147 (22), 135 (56), 121 (33), 109 (44), 107 (43), 95 (52), 93 (52), 81 (89), 71 (67), 67 (50), 55 (52), 43 (100).

#### 7.4.9 Bicyclogermacren-14-al (**63**) aus *Conocephalum conicum* “Devils Bridge Wales”

Aus mehreren Einspritzungen des Wasserdampfdestillats von *Conocephalum conicum* “Devils Bridge Wales” wurde Bicyclogermacren-14-al (**63**) per präparativer Gaschromatographie (2,6-Me-3-Pe- $\beta$ -CD) isoliert. Die Einspritzungen erfolgten bei einer Ofentemperatur von 110 °C, nach 1 Minute wurde mit 2 °C/min auf 170 °C hochgeheizt. Die Strukturzuordnung erfolgte durch Auswertung des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums und durch Vergleich mit Literaturdaten.

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -0.10 (1H, *dd*), 0.62 (1H, *dd*), 1.03 (3H, *s*), 1.12 (3H, *s*), 1.51 (3H, *bs*), 4.80 (1H, *d*), 6.30 (1H, *dd*), 10.05 (1H, *s*).

EIMS (70 eV),  $m/z$  (rel. int.): 218 (6) [ $\text{M}^+$ ], 203 (7), 189 (20), 175 (12), 149 (18), 138 (24), 121 (67), 107 (98), 93 (81), 91 (69), 81 (45), 79 (54), 77 (46), 67 (39), 55 (39), 53 (43), 41 (100).

### 7.5 Isolierung von Sesquiterpenen aus *Conocephalum conicum* Typ IV

#### 7.5.1 (-)-Aromadendran-5-ol (**26**) aus *Conocephalum conicum* “Vorarlberg/Gauertal 2100 m Höhe”

Mittels präparativer Gaschromatographie an der [SE-30]-Säule wurde aus mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Vorarlberg” (-)-Aromadendran-5-ol (**26**) isoliert. Gearbeitet wurde bei einer konstanten Ofentemperatur von 140 °C. Die Strukturaufklärung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren und durch Dehydratisierung des Alkohols zu (+)- $\alpha$ -Gurjunen (**72**), (-)- $\gamma$ -Gurjunen (**73**) und (+)-Isoleden (**74**).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.22 (1H, *d*, H-6), 0.70 (1H, *dt*, H-7), 0.94, 0.90 (je 3H, *d*, H-14, H-15), 1.07, 1.28 (je 3H, *s*, H-12, H-13),

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 222 (2) [ $\text{M}^+$ ], 204 (49), 189 (44), 179 (9), 161 (75), 149 (29), 147 (29), 133 (37), 119 (54), 105 (78), 91 (66), 81 (61), 67 (41), 55 (62), 41 (100).

### 7.5.2 (+)-Aromadendr-4-en-12-ol (75) aus *Conocephalum conicum* “Vorarlberg/Gauertal 2100 m Höhe”

Mittels präparativer Gaschromatographie an der [SE-30]-Säule wurde aus mehreren Einspritzungen des ätherischen Öls von *Conocephalum conicum* “Vorarlberg” (+)-Aromadendr-4-en-12-ol (75) isoliert. Gearbeitet wurde bei einer konstanten Ofentemperatur von 140 °C. Die Strukturaufklärung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren und durch Hydrierung des Alkohols und Vergleich der Hydrierungsprodukte mit denen von (+)-4,5-Dehydroviridiflorol (76).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.91 (3H, *d*, H-14), 1.24 (3H, *s*, H-13), 1.70 (3H, *bs*, H-15), 2.85 (1H, *m*), 3.53 (2H, *ddd*, H-12)

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 220 (12) [ $\text{M}^+$ ], 202 (63), 189 (58), 173 (18), 159 (44), 145 (77), 131 (71), 119 (58), 105 (100), 91 (95), 79 (46), 77 (44), 67 (25), 55 (41), 41 (61).

## 7.6 Isolierung weiterer Sesquiterpene

### 7.6.1 Nardosina-9,11-dien (80) aus der Umlagerung von (-)-Aristolon (37)

Ca. 1 mg (-)-Aristolon (37) wurde unter Zusatz einer Spatelspitze Amberlyst 15<sup>R</sup> in *n*-Hexan als Lösungsmittel 6 Tage umgelagert. Das entstandene Sesquiterpengemisch wurde mittels präparativer Gaschromatographie an der [2,6-Me-3-Pe- $\beta$ -CD]-Säule aufgetrennt. Aus mehreren Einspritzungen bei einer konstanten Säulentemperatur von 120 °C konnte Nardosina-9,11-dien (80) mit einer ca. 10 %igen Verunreinigung von (+)-Nardosina-1(10),11-dien (81) gewonnen werden. Die Strukturaufklärung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen- und der Kohlenstoff-NMR-Spektren.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.73$  (3H, *d*, Me-15), 1.05 (3H, *s*, Me-14), 1.22 - 1.40 (2H, *m*), 1.42 - 1.50 (2H, *m*), 1.63 - 1.69 (1H, *m*), 1.81 (3H, *m*), 1.89 - 1.98 (1H, *m*), 4.79 (1H, *bs*, H-13a), 4.91 (1H, *bs*, H-13b), 5.24 (1H, *m*, H-9).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125.8 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 16.73$  (*q*), 21.93 (*q*), 22.73 (*t*), 23.24 (*q*), 27.62 (*t*), 32.11 (*t*), 34.21 (*t*), 35.11 (*d*), 40.45 (*s*), 49.56 (*d*), 113.01 (*t*), 120.51 (*d*), 144.14 (*s*), 146.25 (*s*); ein Kohlenstoffsignal fehlt.

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (26) [ $\text{M}^+$ ], 189 (11), 161 (13), 136 (89), 121 (100), 107 (37), 105 (31), 93 (44), 91 (37), 79 (26), 77 (22), 55 (24), 41 (48).

### 7.6.2 (-)-Nardosina-1(10),11-dien (81) aus *Ptilidium ciliare*

Mittels präparativer Gaschromatographie an der [SE-30]-Säule wurden nach mehreren Einspritzungen des Wasserdampfdestillats von *Ptilidium ciliare* bei einer konstanten Ofentemperatur von 120 °C (-)-Nardosina-1(10),11-dien (**81**) gewonnen. Die Strukturauflösung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren und durch Vergleich mit den Produkten der sauer katalysierten Umlagerungen von (-)-Aristolen (**37**).

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.77$  (3H, *d*, Me-15), 1.04 (3H, *s*, Me-14) 1.76 (3H, *s*, Me-12), 2.28 (1H, *m*), 4.79 (1H, *bs*, H-13a), 4.87 (1H, *bs*, H-13b), 5.34 (1H, *m*, H-1).

EIMS (70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (33) [ $\text{M}^+$ ], 189 (39), 161 (41), 147 (35), 133 (28), 123 (100), 121 (67), 107 (57), 105 (48), 93 (41), 91 (54), 81 (78), 79 (39), 77 (31), 67 (35), 55 (35), 41 (61).

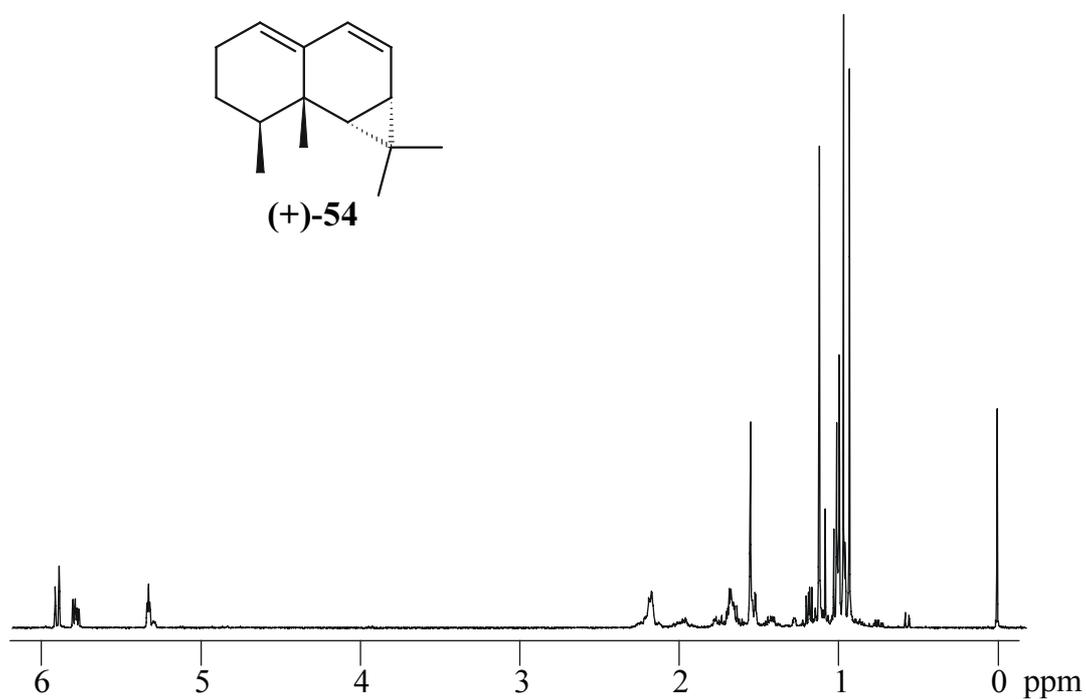
### 7.6.3 Presilphiperfol-1-en (83) aus der Umlagerungsreaktion von Presilphiperfolan-1-ol (62)

Presilphiperfolan-1-ol (**62**) wurde mit einer kleinen Spatelspitze schwach saurem Ionenaustauscher Amberlyst<sup>®</sup> versetzt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das nahezu quantitativ entstandene Presilphiperfol-1-en (**83**) wurde mithilfe präparativer Gaschromatographie (SE-30) durch zwei Injektionen bei einer Ofentemperatur von 125 °C gereinigt. Die Strukturauflösung erfolgte durch Auswertung der ein- und zweidimensionalen Protonen-NMR-Spektren.

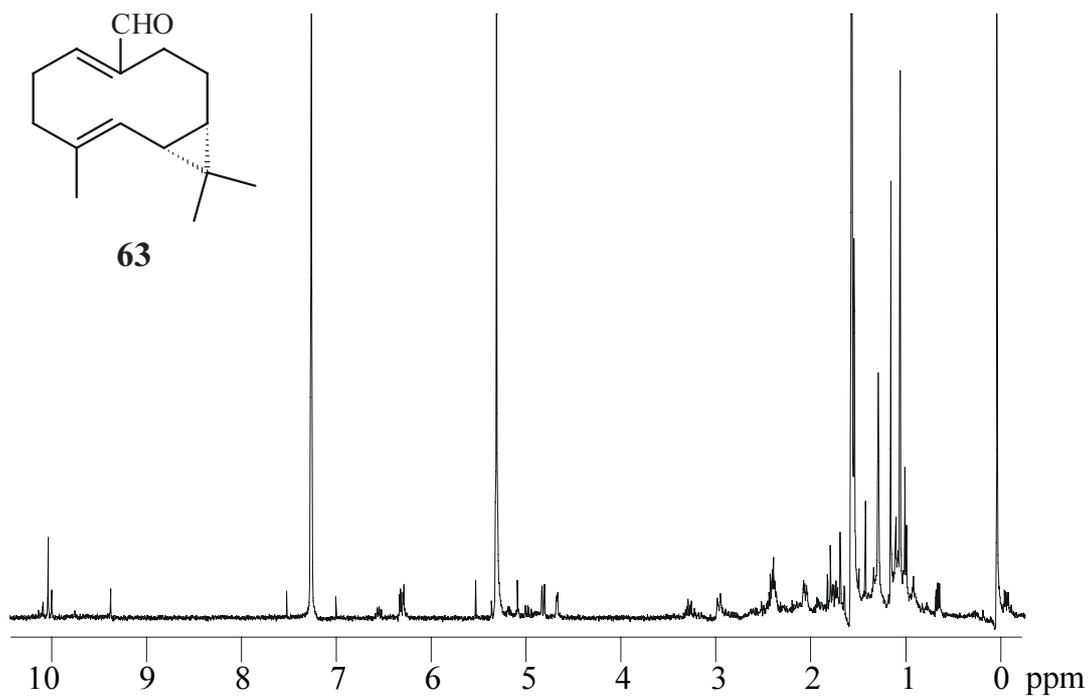
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.89$  (3H, *s*), 0.90 - 0.93 (1H, *m*), 0.94 (3H, *s*), 1.09 (3H, *d*), 1.09 (3H, *s*), 2.30 (2H, *m*), 4.83 (1H, *bs*).

EIMS (70 eV),  $m/z$  (rel. int.): 204 (46) [ $\text{M}^+$ ], 189 (65), 162 (15), 161 (15), 148 (72), 147 (65), 135 (52), 133 (100), 119 (44), 107 (37), 106 (67), 105 (76), 91 (89), 77 (33), 55 (33), 41 (70).

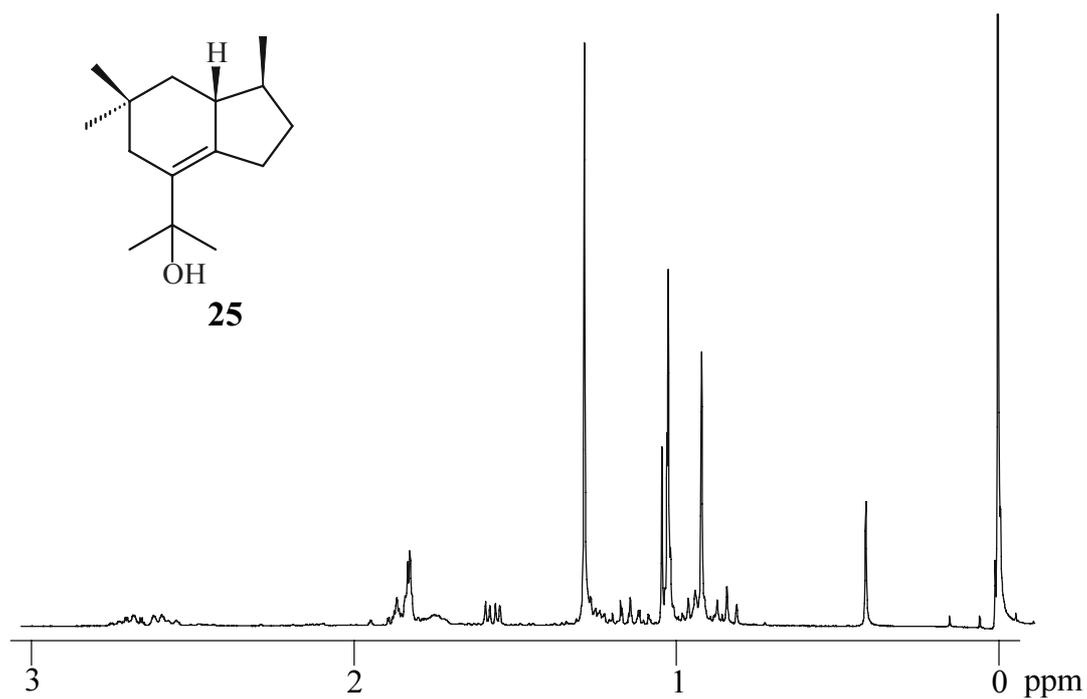
## 8 Spektrenanhang



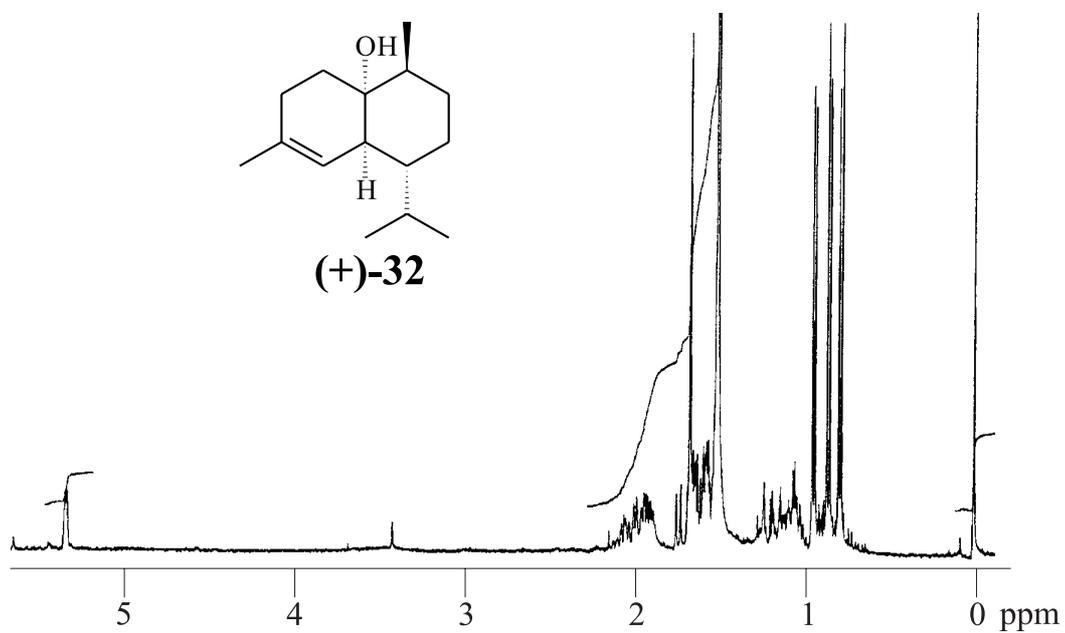
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Aristola-1(10),8-dien (**54**)



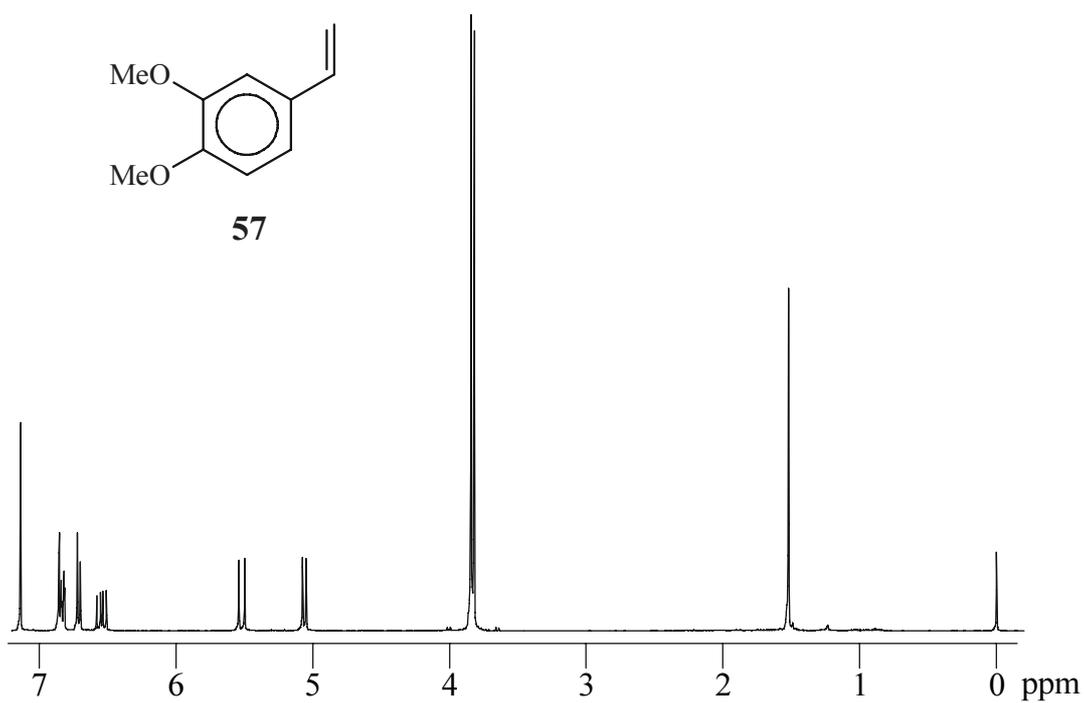
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Bicyclgermacren-14-al (**63**)



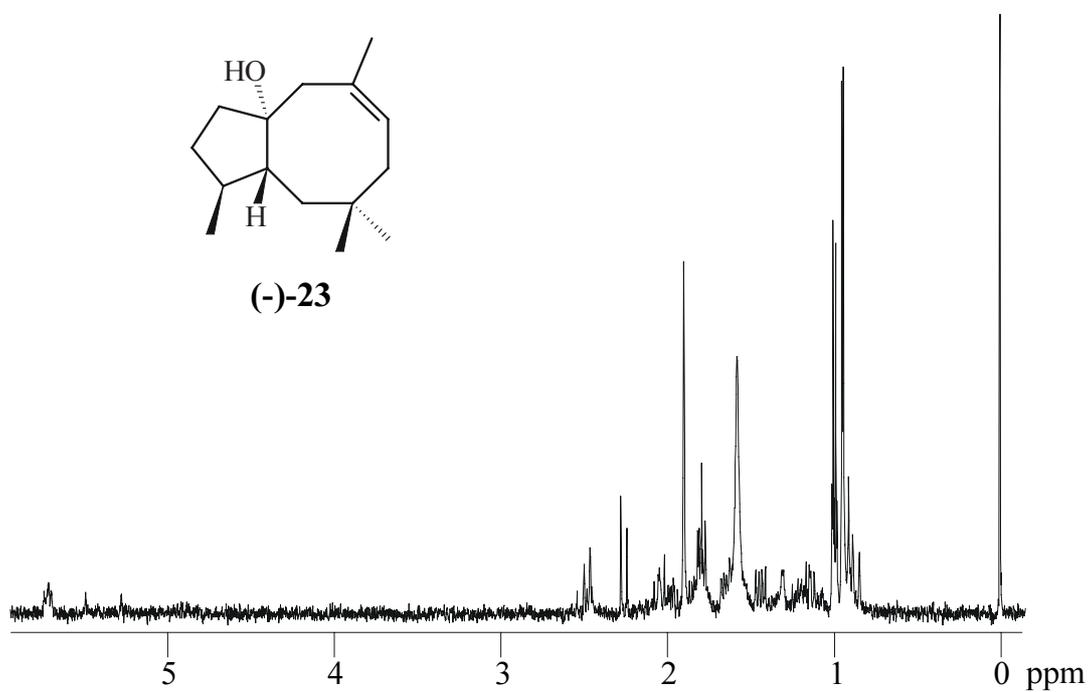
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): Conocephalenol (25)



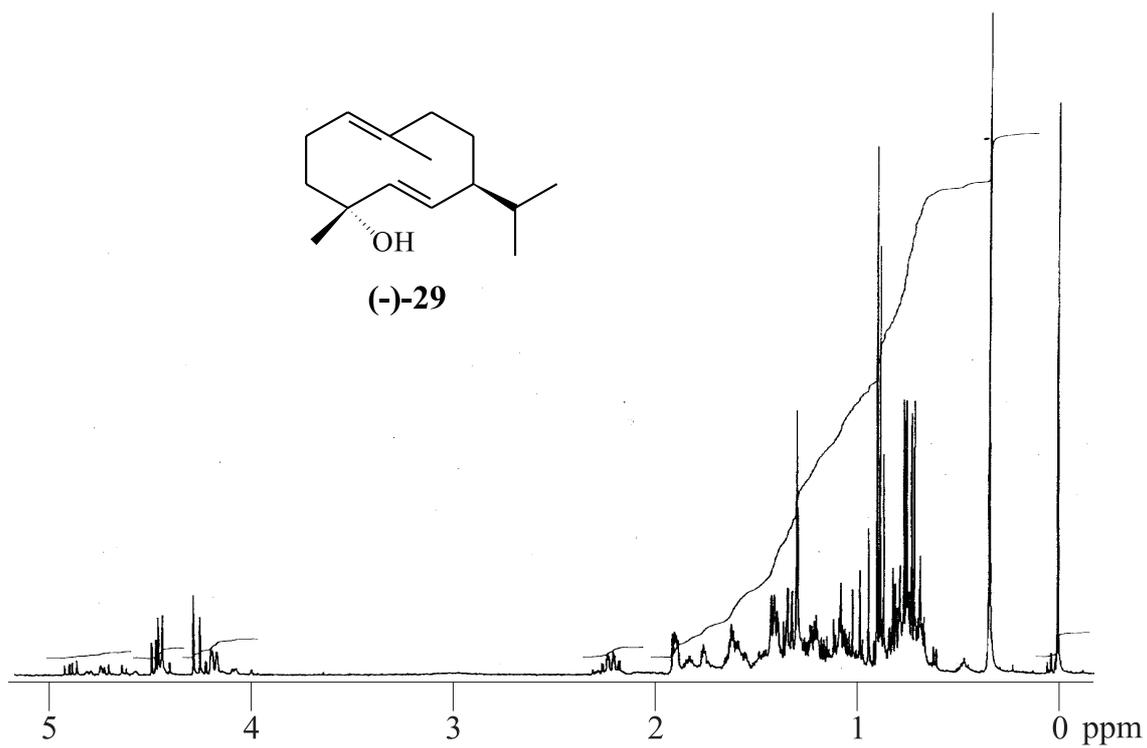
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): epi-Cubenol (32)



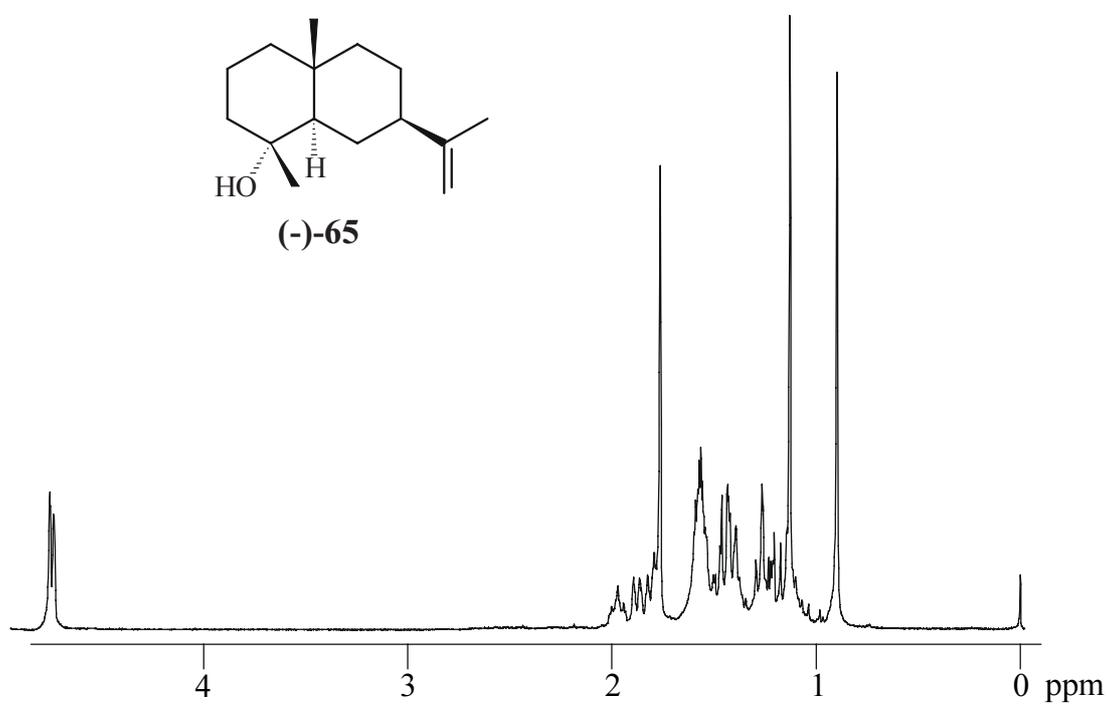
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3,4-Dimethoxystyrol (**57**)



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Dactyol (**23**)



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Germacra-1(10)E,5E-dien-4- $\alpha$ -ol (**29**)



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Selin-11-en-4-ol (**65**)

## 9 Gefahrstoffanhang

**Tabelle 4:** Gefahrenkennzeichnung der verwendeten Substanzen

Verbindung	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	F	11	9-16-23,2-33
Acetonitril	F, T	11-23/24/25	16-27-45
Benzol-d <sub>6</sub>	F, T	42,2-11-23/24/25-48	53-16-29-44
Chloroform	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
Chloroform-d <sub>1</sub>	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
Dichlormethan	Xn	20-40	24
Diethylether	F <sup>+</sup>	12-19	9-16-29-33
Ethylacetat	F	11	16-23,2-29-33
n-Hexan	Xn, F	11-48/20	9-16-24/25-29-51
Methanol	F, T	11-23/25	7-16-24-45
Petrolether	F	11	9-16-29-33
Pyridin	Xn, F	11-20/21/22	26-28,1
Phosphorylchlorid	C	34-37	7/8-26-45
Silbernitrat	C	34	26-45
Thionylchlorid	C	14-34-37	26-45
Wasserstoff	F	12	9-16-33

## 10 Literatur

- [1] Gildemeister, E. und Hoffmann, F., "Die ätherischen Öle", 4. Auflage, Akademie-Verlag Berlin, 1960
- [2] Gessner, O., "Gift- und Arzneipflanzen", 3. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1987
- [3] Frohne, D. und Jensen, U., "Systematik des Pflanzenreichs unter besonderer Berücksichtigung chemischer Merkmale und pflanzlicher Drogen", 4. Auflage, Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1992
- [4] Koedam, A., Über den Einfluß der Hydrodestillation auf die Zusammensetzung einiger Koniferenöle, in "Ätherische Öle", Hrsg.; Kubeczka, K. H., Thieme Verlag, Stuttgart, 188, 1982
- [5] Engel, F. M., "Zauber-Pflanzen, Pflanzenzauber", Landbuch-Verlag Hannover, 1978
- [6] Ohloff, G., "Riechstoffe und Geruchssinn: Die molekulare Welt der Düfte", Springer Verlag, Berlin, 1990
- [7] Koedam, A., Antimikrobielle Wirksamkeit ätherischer Öle, in "Ätherische Öle", Hrsg.: Kubeczka, K. H., Thieme Verlag, Stuttgart, 1982, Seite 232
- [8] Kellner, W und Kober, W., Möglichkeiten und Verwendung ätherischer Öle zur Raumdesinfektion 2. Mitteilung Ermittlung der für die keimtötende Wirkung verantwortlichen Einzelbestandteile relativ unschädlicher ätherischer Öle, Arzneimittelforschung, **5**, 224, 1955
- [9] Kellner, W. und Kober, W., Möglichkeiten und Verwendung ätherischer Öle zur Raumdesinfektion 3. Mitteilung, Arzneimittelforschung, **6**, 768, 1956
- [10] Schaffer, J. J. C. und Baerheim-Svendsen, A., Zehn Jahre "Vorkommen und Analytik ätherischer Öle", 1969 - 1979, in "Ätherische Öle", Hrsg.: Kubeczka, K. H., Thieme Verlag, Stuttgart, 251, 1982
- [11] Göckeritz, D., Weuffen, W. und Höpfe, H., Terpene und Terpenderivate vom Carvon- und Camphertyp - ihre antimikrobiellen und verminoxen Eigenschaften, Die Pharmazie, **29**, 339, 1974
- [12] Zinsmeister, H. D. und Mues, R., Moose als Reservoir bemerkenswerter sekundärer Inhaltsstoffe, GIT Fachzeitschrift für Labor, **6/87**, 499, 1987
- [13] Matsuo, A., Nozaki, H., Kubota, N., Uto, S. und Nakayama, M., Structures and Conformations of (-)-Isobicyclogermacrenal and (-)-Lepidozenal, Two Key Sesquiterpenoids of the *cis*- and *trans*-10,3-Bicyclic Ring Systems, from the Liverwort *Lepidozia vitrea*: X-Ray Crystal Structure Analysis of the Hydroxy Derivative of (-)-Isobicyclogermacrenal, Journal of the Chemical Society Perkin Transaction I, 203, 1984.
- [14] Austel V. und Kutter, E., in "Arzneimittelentwicklung Grundlagen-Strategien-Perspektiven", Hrsg.: Kutter, E., Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1978
- [15] DAK-Magazin, 3/98, 10
- [16] Weiss, R. E., "Lehrbuch der Phytotherapie", 4. Auflage, Hippokrates Verlag GmbH Stuttgart, 1997
- [17] Wagner, H., "Pharmazeutische Biologie II, Drogen und Inhaltsstoffe", Fischer Verlag, 3. Auflage, 1985
- [18] Zinsmeister, H. D., Becker, H. und Eicher, T., Moose, eine Quelle biologisch aktiver Naturstoffe?, Angewandte Chemie, **103**, 134, 1991

- [19] Bowers, W. S., und Nishino, C., Sesquiterpene Progenitor, Germacrene A: An Alarm Pheromone in Aphids, *Science*, **196**, 680, 1977
- [20] *Urania Pflanzenreich, Niedere Pflanzen*, 1. Auflage, Verlag Harri Deutsch, Zürich und Frankfurt/Main, 1974
- [21] Qiu, Y.-L., Cho, Y., Cox, J. C., Palmer, J. D., The gain of three mitochondrial introns identifies liverworts as the earliest land plants, *Nature*, **394**, 671, 1998
- [22] Aichele, D., und Schwegler, H.-W., "Unsere Moos- und Farnpflanzen", 10. Auflage, Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., Stuttgart, 1993
- [23] Frahm, J.-P. und Frey, W., "Moosflora", 3. Auflage, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, 1992
- [24] Oostendorp, C., The Bryophytes of the Palaeozoic and the Mesozoic in: "Bryophytorum bibliotheca", Hrsg. Frahm, J.-P. und Gradstein, S. R., J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung Berlin 1987
- [25] *Lehrbuch der Botanik*, 34. Auflage, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 1998
- [26] Haller, B. und Probst, W., "Botanische Exkursionen, Band I", 2. Auflage, Exkursionen im Winterhalbjahr, Gustav, Fischer Verlag, Stuttgart, 1983
- [27] Fukarek, F., Schultze-Motel, J., Siegel, M., Moose, Farne, Nacktsamer, in: "Die große farbige Enzyklopädie Urania-Pflanzenreich: in 4 Bänden", Urania-Verlagsgesellschaft mbH, Leipzig, 1992
- [28] Fritsch, R., Index to bryophyte chromosome counts, in: "Bryophytorum bibliotheca", Band 40, J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung Berlin, 1991
- [29] Kremer, B. P. und Muhle, H., "Flechten, Moose, Farne", Mosaik Verlag GmbH München, 1991
- [30] Müller K., Die Lebermoose Europas in: "Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz", Rabenhorst, L., 3. Auflage, Band 6, Leipzig, 1951-1957
- [31] Nash, T. H. und Egan, R. S., The Biology of Lichens and Bryophytes, in: "Lichens, Bryophytes and Air Quality", Hrsg.: Nash, T. H. und Wirth, V., J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin Stuttgart 1988, Seite 11
- [32] Slack, N. G., The Ecological Importance of Lichens and Bryophytes, in: "Lichens, Bryophytes and Air Quality", Hrsg.: Nash, T. H. und Wirth, V., J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin Stuttgart 1988, Seite 23
- [33] Stetzka, K. M., "Die Waldbodenvegetation als Bioindikator für Umweltbelastungen unter besonderer Berücksichtigung der Moosflora", J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin Stuttgart 1994
- [34] Nash, T. H., und Wirth, V., "Lichens, Bryophytes and Air Quality", J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin Stuttgart 1988
- [35] Herpin, U., Moose als Bioindikatoren von Schwermetalleinträgen: Möglichkeiten und Grenzen für flächenhafte und zeitabhängige Aussagen, Dissertation Universität Osnabrück, 1997
- [36] Asakawa, Y., Biologically active Substances obtained from Bryophytes, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **50**, 123, 1981

- [37] Schneider, G., "Pharmazeutische Biologie", 2. Auflage, Bibliographisches Institut, Mannheim, 1985
- [38] Huneck, S. in "New Manual of Bryology", Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, Miyazaki, Japan, Hrsg.: Schuster, R. M.
- [39] Matsuo, A., Nakayama, N. und Nakayama, M., Enantiomeric type Sesquiterpenoids of the Liverwort *Marchantia polymorpha*, *Phytochemistry*, **24**, 777, 1985
- [40] Huneck, S., Andersen, N. H., Sesquiterpene einiger europäischer Lebermoose und ihre chemotaxonomische Bedeutung, in: Suire, C. (Hrsg.), Congrès international de bryologie, 1977 in: "Bryophytorum bibliotheca", J. Cramer in der A. R. Gantner Verlag Kommanditgesellschaft, Vaduz, 1978
- [41] Huneck, S., Klein, E., Chemistry of mosses III. Comparative gas and thin-layer chromatographic study of essential oil of some liverworts and the isolation of (-)-longifolene and (-)-longiborneol from *Scapania undulata*, *Phytochemistry*, **6**, 383, 1967
- [42] Whittemore, A. T., The secondary chemistry of the Marchantiales in: Advances in Bryology, Volume 4, Hrsg.: Miller, N. G., J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin Stuttgart, 75, 1991
- [43] Asakawa, Y., Tokunaga, N., Toyota, M., Takemoto, T., Hattori, S., Mizutani, M. und Suire, C., Chemosystematics of Bryophytes II. The Distribution of Terpenoids in Hepaticae and Anthocerotae, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **46**, 67, 1979
- [44] Asakawa, Y., Matsuda, R. und Takemoto, T., Mono- and Sesquiterpenoids from *Wiesnerella denudata*, *Phytochemistry*, **19**, 567, 1980
- [45] Asakawa, Y., Tokunaga, N., Takemoto, T., Hattori, S., Mizutani, M. und Suire, C., *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **47**, 153, 1980
- [46] Asakawa, Y., Comparative study of Chemical Constituents found in the Thalli and Female receptacles of *Wiesnerella denudata* and *Conocephalum conicum*, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **48**, 277, 1980
- [47] Knoche, G., Ourisson, G., Perold, G. W., Foussereau, J. und Maleville, J., Allergenic Component of a Liverwort: A Sesquiterpene Lactone, *Science*, **166**, 239, 1969
- [48] Perold, G. W., Muller, J.-C. und Ourisson, G., Structure d'une Lactone allergisante: Le Frullanolide-I, *Tetrahedron*, **28**, 5797, 1972
- [49] Hausen, B. M., Allergiepflanzen, Pflanzenallergene, Handbuch und Atlas der allergieinduzierenden Wild- und Kulturpflanzen, Kontaktallergene, ecomed Verlagsgesellschaft mbH, Landsberg, München, 1988
- [50] Asakawa, Y., Harrison, L. J. und Toyota, M., Occurrence of a Potent Piscidal Diterpenoidal in the Liverwort *Riccardia lobata* var. *yakushiniensis*, *Phytochemistry*, **24**, 261, 1985
- [51] Ohta, Y., Andersen, N. H. und Liu, C. B., Sesquiterpene Constituents of two Liverworts of Genus *Diplophyllum*. Novel Eudesmanolides and Cytotoxicity Studies for Enantiomeric Methylene Lactones, *Tetrahedron*, **33**, 617, 1977
- [52] Asakawa, Y., "Bioactive Terpenoids and Phenolic Compounds in Liverworts", Vortrag an der Universität Hamburg, 11. September 1998

- [53] Markham, K. R., Porter, L. J., Mues, R. Zinsmeister, H. D. und Brehm, B. G., Flavonoid Variation in the Liverwort *Conocephalum conicum*: Evidence for Geographic Races, *Phytochemistry*, **15**, 147, 1976
- [54] Porter, L. J., Geographic Races of *Conocephalum* (Marchantiales) as defined by Flavonoid Chemistry, *Taxon*, **30**, 739, 1981
- [55] Toyota, M., Saito, T., Matsunami, J. und Asakawa, Y., A Comparative Study on three Chemo-Types of the Liverwort *Conocephalum conicum* using Volatile Constituents, *Phytochemistry*, **44**, 1265, 1997
- [56] Christen, H. R. und Vögtle, F., "Organische Chemie - Von den Grundlagen zur Forschung", Otto Salle Verlag GmbH & Co, Frankfurt am Main, Verlag Sauerländer AG, Aarau, 1988
- [57] Ruzicka, L., Stoll, M., Höhere Terpenverbindungen VII. Konstitution des Eudalins, des Selinens und des  $\alpha$ -Santalens. Das Kohlenstoffgerüst der Sesquiterpene, *Helvetica Chimica Acta*, **V**, 923, 1922
- [58] König, G. M. und Wright, A. D., New and Unusual Sesquiterpenes: Kelsoene, Prespatane, Epi- $\gamma$ -gurjunene, and T-Cadinthiol, from the Tropical Marine Sponge *Cymbastela hooperi*, *Journal of Organic Chemistry*, **62**, 3837, 1997
- [59] Ayer, W. A. und Browne, L. M., Terpenoid Metabolites of Mushrooms and related Basidiomycetes, *Tetrahedron*, **37**, 2199, 1981
- [60] Rodriguez, A. D., The Natural Products Chemistry of West Indian Gorgonian Octocorals, *Tetrahedron*, **51**, 4571, 1995
- [61] Rücker, G., Sesquiterpene, *Angewandte Chemie*, **20**, 895, 1973
- [62] Itokawa, H., Masuyama, K., Morita, H. und Takeya, K., Cytotoxic Sesquiterpenes from *Nardostachys chinensis*, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **41**, 1183, 1993
- [63] Barnes, C. S., Loder, J. W., The Structure of Polygodial: A New Sesquiterpene Dialdehyde from *Polygonum hydropiper* L., *Australian Journal of Chemistry*, **15**, 322, 1962,
- [64] D'Ischia, M., Prota, G., Sodano, G., Reaction of Polygodial with primary amines: An Alternative Explanantion to the Antifeedant Activity, *Tetrahedron Letters*, **23**, 3295, 1982
- [65] Baker, F. C., Brooks, C. J. W., Hutchinson, S. A., Biosynthesis of Capsidiol in Sweet Peppers (*Capsicum frutescens*) Infected with Fungi: Evidence for Methyl Group Migration from  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, *Journal of Chemical Society, Chemical Communication*, 293, 1975
- [66] Baker, F. C., Brooks, C. J. W., Biosynthesis of the Sesquiterpenoid, Capsidiol, in sweet Pepper Fruits inoculated with fungal spores, *Phytochemistry*, **15**, 689, 1976
- [67] Shizuri, Y., Yamaguchi, S. Terada, Y., Yamamura, S., Biomimetic reaction of Germacrene D epoxides in Connection with Periplanone A, *Tetrahedron Letters*, **28**, 1791, 1987 und die darin zitierte Literatur
- [68] Biendl M., Hauptmann, H., Periplanon D<sub>1</sub> und Periplanon D<sub>2</sub> - Zwei neue biologisch aktive Germacranoide Sesquiterpene aus *Periplaneta americana*, *Tetrahedron Letters*, **30**, 2367, 1989
- [69] Römpp Lexikon, Naturstoffe, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1997

- [70] Raldugin, V. A., Storozhenko, V. G., Rezvukhin, A. I., Pentegova, V. A., Gorovoi, P. G. und Baranov, V. I., Terpenoids from Plants of the Family Cupressaceae. I. Sesquiterpene Alcohols from the Needles of *Microbiota decussata*, Chemistry of Natural Compounds, **17**, 124, 1981; übersetzt aus Khimiya Prirodnikh Soedinenii, **2**, 163, 1981
- [71] Tkachev, A. V., Shakirov, M. M. und Raldugin, V. A., Structure of Microbiotol, A new Sesquiterpene alcohol from Needles of *Microbiota decussata*, Journal of Natural Products, **54**, 849, 1991
- [72] Huneck, S., Connolly, J. D., Freer, A. A. und Rycroft, D. S., Grimaldone, a tricyclic sesquiterpenoid from *Mannia fragrans*. Crystal Structure analysis, Phytochemistry, **27**, 1405, 1988
- [73] Melching, S., Blume, A. König, W. A. und Muhle, H., Natural Occurrence of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Microbiotene, Phytochemistry, **48**, 661, 1998
- [74] Ruzicka, L., The Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds, Experientia (Basel), **9**, 357, 1953
- [75] Coates, R. N. in Herz, W., Grisebach, H., Kirby, G. W. (Hrsg.), Biogenetic-Type Rearrangements of Terpenes, Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, **33**, 73, 1976
- [76] Habermehl, G. und Hammann, P., "Naturstoffchemie: Eine Einführung", 1. Auflage, Springer Verlag Berlin Heidelberg 1992
- [77] Cornforth J.W., Cornforth, R.H., Popjak, G., Yengoyan, L., Studies on the biosynthesis of Cholesterol, The Journal of biological Chemistry, **241**, 3970, 1966
- [78] Hendrickson, J., Stereochemical Implications in Sesquiterpene Biogenesis, Tetrahedron, **7**, 82, 1959
- [79] Thiel, R., Adam, K. P., Zapp, J. und Becker H., Isopentenyl diphosphate biosynthesis in liverworts, Pharmaceutical Pharmacological Letters, **2/3**, 103, 1997
- [80] Cane, D. E., Enzymatic Formation of Sesquiterpenes, Chemical Reviews, **90**, 1089, 1990
- [81] Schmidt, C. O., Bouwmeester, H. J., de Kraker, J.-W. und König, W. A., Biosynthese von (+)- und (-)-Germacren D in *Solidago canadensis*: Isolierung und Charakterisierung zweier enantioselektiver Germacren-D-Synthesen, Angewandte Chemie, **110**, 1479, 1998
- [82] Hayasaka, K., Ohtsuka, T. Shirahama, H. und Matsumoto, T., Chemical Conversion of Humulene to Dactylol. Biomimetic, apparent 1,2-shift of a Methyl group, Tetrahedron Letters, **26**, 873, 1985
- [83] Stallard, M. O., Fenical, W. and Kittredge, J. S., The Brasilenols, rearranged Sesquiterpene alcohols isolated from the marine opisthobranch *Aplysia brasiliiana*, Tetrahedron, **34**, 2077, 1984.
- [84] Wright, A.D., König, G.M., Sticher, O. New Sesquiterpenes and C<sub>15</sub>-Acetogenins from the Marine red Alga *Laurencia implicata* Journal of Natural Products, **54**, 1025, 1991

- [85] Tori, M., Sono, M., Nakashima, K., Nakaki, Y. und Asakawa, Y., Synthesis and Relative Structure of Conocephalenol, a Sesquiterpene Alcohol isolated from the European Liverwort *Conocephalum conicum*, Journal of the Chemical Society Perkin Transaction I, 447, 1991
- [86] Tori, M., Nakashima, K., Asakawa, Y., Connolly, J. D., Harrison, L. J., Rycroft, D. S., Singh, J. und Woods, N., Structure of Conocephalenol, a Sesquiterpenoid Alcohol from the European Liverwort *Conocephalum conicum*: Determination of the Absolute Configuration by Total Synthesis, Journal of the Chemical Society Perkin Transaction I, 593, 1995
- [87] Asakawa, Y., "Progress in the Chemistry of Organic Natural Compounds", Vol 65, Hrsg.: Herz, W., Kirby, G. W., Moore, R. E., Steglich, W. und Tamm, C., Springer Verlag Wien, 1995
- [88] A. Ahond, J. C. Coll and J. D. Fourneron, Studies of Australian Soft Corals. XIV The Structure of Lemnalactone and 7-Epi-Lemnalactone, Tetrahedron Letters, **21**, 1879, 1979
- [89] B. F. Bowden, J. C. Coll and S. J. Mitchell, Studies of Australian Soft Corals. XIX Two New Sesquiterpenes with the Nardosinane Skeleton from a *Paralemnalia* Species, Australian Journal of Chemistry, **33**, 885, 1980
- [90] G. Rücker, Zur Struktur des Nardosinons, IV Die Konstitution des Isonardosinons, Liebigs Ann. Chem. **733**, 152, 1970
- [91] Büchi, G., Greuter, F., Tokoroyama, T., Terpenes - XVII. Structures of Calarene and Stereochemistry of Aristolone, Tetrahedron Letters, 827, 1962
- [92] Belingheri, L., Cartayrade, A., Pauly, G., Gleizes, M., Partial purification and properties of the sesquiterpene  $\beta$ -selinene cyclase from *Citrofortunella mitis* fruits, Plant Science, **84**, 129, 1992
- [93] Naumer, H. und Heller, W. (Hrsg.), "Untersuchungsmethoden in der Chemie", 3. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1997
- [94] Otto, M., "Analytische Chemie", VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1995
- [95] Schwedt, G., "Analytische Chemie", Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1995
- [96] "Dünnschichtchromatographische Reagenzien und Nachweismethoden" VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, 1989
- [97] Hahn-Deinstrop, E., "Dünnschichtchromatographie", Wiley VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, 1998
- [98] Tswett, M., Physikalisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen, Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, **24**, 316, 1906
- [99] Tswett, M., Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls., Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, **24**, 384, 1906
- [100] Huber, J. F. K., Hulsman, J. A. R. J., A study of Liquid chromatography in Columns. The Time of Separation, Analytica Chimica Acta, **38**, 305, 1967
- [101] Linsay, S., "Einführung in die HPLC", vieweg Lehrbuch, 1996
- [102] Braithwaite, A. and Smith, F. J., "Chromatographic Methods", Fifth Edition, Blackie Academic and Professional, an imprint of Chapman and Hall

- [103] Lou, X., Habilitationsschrift Supercritical Fluids in Analytical Chemistry Chromatography and Extraction, Universitätsdruckerei Technische Universität Eindhoven, 1997
- [104] Temelli, F., Braddock, R. J., Chen, C. S. und Nagy, S., Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Terpenes from Orange Essential Oil, in: "Supercritical Fluid Extraction and Chromatography", Charpentier, B. A. and Sevenants, M. R. (Hrsg.), American Chemical Society, Washington, DC, 109, 1988
- [105] Bartle, K. D., "Einführung in die Theorie der chromatographischen Trennung mit speziellem Bezug zur Gaschromatographie", 1, Baugh, P. J. (Hrsg.) Gaschromatographie, vieweg, 1997
- [106] Mc William und I. G., Dewar, R. A., Flame Ionization Detector for Gas Chromatography, in: "Gas Chromatography", Desty, D. H. (Hrsg.), Butterworths, London, 142, 1958
- [107] Ettre, L. S., Hinshaw, J. V. und Rohrschneider, L., "Grundbegriffe und Gleichungen der Gaschromatographie", Hüthig Verlag Heidelberg, 1995
- [108] Chemical Society, Washington, DC, 1991
- [109] Voet, D. und Voet, J. G., "Biochemie", VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1992
- [110] Cahn, R. S., Ingold, C. und Prelog, V., Spezifikation der molekularen Chiralität, Angewandte Chemie, **8**, 413, 1966
- [111] de Meijere A., Vorlesungsskript "Organische Stereochemie", Universität Hamburg, 1992
- [112] Pasteur, L., Sur les relations qui peuvent exister entre la forme cristalline, la composition chimique et le sens de la polarisation rotatoire, Annales de Chimie et Physique, **24**, 442, 1848
- [113] Dale, J.A., Dull, D.L. und Mosher, H.S.,  $\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -trifluoromethylphenylacetic acid, a versatile reagent for the determination of enantiomeric composition of alcohols and amines, Journal of Organic Chemistry, **34**, 2543, 1969
- [114] König, W.A., Nippe, K.-S. und Mischnick, P., Enantiomeric purity of Mosher's acid, Tetrahedron Letters, **31**, 6867, 1990
- [115] Pirkle, W. H., The nonequivalence of physical properties of enantiomers in optically active solvents. Differences in nuclear magnetic resonance spectra, I, Journal of the American Chemical Society, **88**, 1837, 1966
- [116] Pirkle, W. H., Hoover, D. J., in Allinger, N. L., Eliel, E. L. und Wilen, S. H., NMR chiral solvating agents, in: "Topics in Stereochemistry", **13**, 263, 1982
- [117] Parker, D., NMR Determination of Enantiomeric Purity, Chemical Reviews, **91**, 1441, 1991
- [118] Schurig, V., Current Methods for Determination of Enantiomeric Compositions (Part 2): NMR Spectroscopy with Chiral Lanthanide Shift Reagents, Kontakte (Darmstadt), (2), 22, 1985
- [119] Snatzke, G., Circular dichroismus und optische Rotationsdispersion - Grundlagen und Anwendung auf die Untersuchung der Stereochemie von Naturstoffen, Angewandte Chemie, **80**, 15, 1968

- [120] Bijvoet, J. M., Peerdeman, A. F. und van Bommel A. J., Determination of the Absolute Configuration of Optically Active Compounds by Means of X-Rays, *Nature*, **168**, 271, 1951,
- [121] Blaschke, G., Kraft, H. P., Fickentscher, K. und Köhler, F., Chromatographic racemic separation of thalidomide and teratogenic activity of its enantiomers, *Arzneimittelforschung*, **29**, 1640, 1979
- [122] Seebach, D., *Organische Synthese - wohin?*, *Angewandte Chemie*, **102**, 1363, 1990
- [123] Baugh, P. J., *Gaschromatographie Eine anwenderorientierte Darstellung*, vieweg, 1997
- [124] Gil-Ay, E., Feibush, B. und Charles-Sigler, R., Separation of Enantiomers by Gas Liquid Chromatography with an Optically Active Stationary Phase, *Tetrahedron Letters*, 1009, 1966
- [125] Koscielski, T., Sybilska, D. und Jurczak, J., Separation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -pinene into enantiomers in gas-liquid chromatography systems via  $\alpha$ -cyclodextrin inclusion, *Journal of Chromatography*, **280**, 131, 1983
- [126] Schurig, V. und Nowotny, H.-P., Separation of Enantiomers on Diluted Permethylated  $\beta$ -Cyclodextrin by High-Resolution Gas Chromatography, *Journal of Chromatography*, **441**, 155, 1988
- [127] Schurig, V., Jung, M., Schmalzing, D., Schleimer, M., Duvekot, J., Buyten, J. C., Peene, J. A. und Mussche, P., CGC Enantiomer Separation on Diluted Cyclodextrin Derivatives Coated on Fusel Silica Columns, *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 470, 1990
- [128] Fischer, P., Aichholz, R., Bölz, U., Juza, M. und Krimmer, S., Polysiloxan-gebundenes Permethyl- $\beta$ -cyclodextrin - eine chirale stationäre Phase mit großer Anwendungsbreite in der gaschromatographischen Enantiomerentrennung, *Angewandte Chemie*, **102**, 439, 1990
- [129] Schurig, V., Schmalzing, D., Mühleck, U., Jung, M., Schleimer, M., Mussche, P., Duvekot, C. und Buyten, J. C., Gas Chromatographic Enantiomer Separation on Polysiloxane-Anchored Permethyl- $\beta$ -Cyclodextrin (Chirasil-Dex), *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 713, 1990
- [130] König, W. A., *Gas Chromatographic Enantiomer Separation with Modified Cyclodextrins*, Hüthig, Heidelberg, 1992
- [131] König, W. A., Lutz, S., Wenz, G., Modifizierte Cyclodextrine - neue, hoehenantio selektive Trennphasen für die Gaschromatographie, *Angewandte Chemie*, **100**, 989, 1988
- [132] König, W. A., Lutz, S., Hagen, M., Krebber, R., Wenz, G., Baldenius, K., Ehlers, J., tom Dieck, H., Cyclodextrins as Chiral Stationary Phases in Capillary Gas Chromatography Part IV: Heptakis(2,3,6-tri-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin, *Journal of High Resolution Chromatography*, **12**, 35, 1989
- [133] König, W. A., Krebber, R., Cyclodextrins as Chiral Stationary Phases in Capillary Gas Chromatography Part VI: Octakis(2,3,6-tri-O-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin, *Journal of High Resolution Chromatography*, **12**, 790, 1989
- [134] König, W. A., Lutz, S., Wenz, G., von der Bey, E., Cyclodextrins as Chiral Stationary Phases in Capillary Gas Chromatography Part II: Heptakis(3-O-acetyl-2,6-di-O-pentyl)- $\beta$ -cyclodextrin, *Journal of High Resolution Chromatography Chromatographic Communication*, **11**, 506, 1988

- [135] König, W. A., Lutz, S., Colberg, C., Schmidt, N., Wenz, G., von der Bey, E., Mosandl, A., Gunther, C. und Kusterman, A., Cyclodextrins as Chiral Stationary Phases in Capillary Gas Chromatography Part II: Hexakis(3-O-acetyl-2,6-di-O-pentyl)- $\alpha$ -cyclodextrin, *Journal of High Resolution Chromatography Chromatographic Communication*, **11**, 621, 1988
- [136] Lutz, S., Gaschromatographische Enantiomerentrennung an neuen chiralen Phasen, Dissertation Universität Hamburg, 1988
- [137] Krebber, R., Neue Cyclodextrinderivate als chirale stationäre Phasen für die gaschromatographische Enantiomerentrennung, Dissertation, Universität Hamburg, 1991
- [138] König, W. A., Krebber, R., Mischnick, P., Cyclodextrins as Chiral Stationary Phases in Capillary Gas Chromatography Part V: Octakis(3-O-butyryl-2,6-di-O-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin, *Journal of High Resolution Chromatography*, **12**, 732, 1989
- [139] Icheln D., Invers substituierte Cyclodextrine - Darstellung und Enantioselektivität, Diplomarbeit, Universität Hamburg, 1990
- [140] Runge, T., Darstellung und Selektivität modifizierter  $\gamma$ -Cyclodextrine als chirale Trennphasen in der enantioselektiven Kapillar-Gaschromatographie, Diplomarbeit, Universität Hamburg, 1990
- [141] König, W. A. Icheln, D., Runge, T., Pforr, I., Krebs, A., Cyclodextrins as Chiral Stationary Phases in Capillary Gas Chromatography Part VII: Cyclodextrins with an Inverse Substitution Pattern - Synthesis and Enantioselectivity, *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 702, 1990
- [142] Icheln, D., Synthese selektiv substituierter Cyclodextrine und ihre Anwendung in der enantioselektiven Kapillargaschromatographie, Dissertation, Universität Hamburg, 1993
- [143] Gehrcke, B., Neue hoehenantioselektive Cyclodextrinderivate für die Kapillarchromatographie, Diplomarbeit, Universität Hamburg, 1992
- [144] Bicchi, C., Artuffo, G. D'Amato, A., Pellegrino, G., GC Separation of Enantiomers of  $\gamma$ -and  $\delta$ -Lactones on a Mixture of 2,6-Dimethyl-3-trifluoroacetyl- $\gamma$ -cyclodextrin and OV1701, *Journal of High Resolution Chromatography*, **14**, 701, 1991
- [145] König, W. A., Gehrcke, B., Icheln D., Evers, P., Dönnecke, J., Wang, W., New, Selectively Substituted Cyclodextrins as Stationary Phases for the Analysis of Chiral Constituents of Essential Oils, *Journal of High Resolution Chromatography*, **15**, 367, 1992
- [146] Bicchi, C., Artuffo, G., Artuffo, G., D'Amato, A., Manzin, V., Galli, A., Galli, M., Cyclodextrin Derivatives in the GC Separation of Racemic Mixtures of Volatile Compounds, Part V: Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\beta$ -Cyclodextrin, *Journal of High Resolution Chromatography*, **15**, 710, 1992
- [147] Gehrcke, B., Cyclodextrine - Neue Substitutionsmuster, Enantioselektivität und Anwendungen, Dissertation Universität Hamburg, 1995
- [148] Dietrich, A., Maas, B., Messer, W., Bruche, G. Karl, V., Kaunzinger, A. Mosandl, A., Stereoisomeric Flavour Compounds, Part LV: Stereodifferentiation of Some Chiral Volatiles on Heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-tert-butyl-dimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin, *Journal of High Resolution Chromatography*, **15**, 590, 1992

- [149] Coventry, L., Cyclodextrin inclusion complexation, in: "Chiral Liquid Chromatography", Lough, W. J. (Hrsg.), New York, 1989
- [150] König, W. A., Gehrcke, B., Peter, M. G., Prestwich, Direct Gas Chromatographic Enantiomeric Resolution of Juvenile Hormones I-III, *Tetrahedron: Asymmetry* **4**, 165, 1993
- [151] Mosandl, A., Capillary gas chromatography in quality assesment of flavours and fragrances, *Journal of Chromatography*, **624**, 267, 1992
- [152] König, W. A., Krebber, R., Evers, P., Bruhn, G., Stereochemical Analysis of Constituents of Essential Oils and Flavour Compounds by Enantioselective Capillary Gas Chromatography, *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 328, 1990
- [153] König, W. A., Krüger, A., Icheln, D., Runge, T., Enantiomeric Composition of the Chiral Constituents of Essential Oils, Part 1 Monoterpene Hydrocarbons, *Journal of High Resolution Chromatography*, **15**, 184, 1992
- [154] König, W. A., Rieck, A., Hardt, I., Gehrcke, B., Enantiomeric Composition of the Chiral Constituents of Essential Oils, Part 2 Sesquiterpene Hydrocarbons, *Journal of High Resolution Chromatography*, **17**, 315, 1994
- [155] König, W. A., Icheln, D., Runge, T., Pfaffenberger, B., Ludwig, P., Hühnerfuss, H., Gas Chromatographic Enantiomer Separation of Agrochemicals using Modified Cyclodextrins, *Journal of High Resolution Chromatography*, **14**, 530, 1991
- [156] König, W. A., Fricke, C., Saritas, Y., Momeni, B., Hohenfeld, G., Critical Review Adulteration or Natural Variability? Enantioselective Gas Chromatography in Purity Control of Essential Oils, *Journal of High Resolution Chromatography*, **20**, 55, 1997
- [156] Dönnecke, J., König, W. A., Gyllenhaal, O., Vessman, J., Schulze, C., Enantiomer Separation by Capillary SFC and GC on Immobilized Octakis(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)- $\gamma$ -cyclodextrin, *Journal of High Resolution Chromatography*, **17**, 779, 1994
- [158] Schmitt, T., Engelhardt, H., Derivatized Cyclodextrins for the Separation of Enantiomers in Capillary Electrophoresis, *Journal of High Resolution Chromatography*, **16**, 525, 1993
- [159] Hardt, I., König, W. A., Preparative enantiomer separation with modified cyclodextrins as chiral stationary phases, *Journal of Chromatography A*, **666**, 611, 1994
- [160] Schurig, V., Grosenick, H., Green, B. S., Präparative Enantiomerentrennungen des Narkosegases Enfluran durch Einschluß-Gaschromatographie, *Angewandte Chemie*, **105**, 1690, 1993
- [161] Schurig, V., Grosenick, H., Preparative enantiomer separation of enflurane and iso flurane by inclusion gas chromatography, *Journal of Chromatography A*, **666**, 617, 1994
- [162] Hardt, I., Präparative enantioselective Gaschromatographie mit modifizierten Cyclodextrinen und ihre Anwendung in der Isolierung und Analytik von Sesquiterpenen, Dissertation, Universität Hamburg, 1994
- [163] Fricke, C., Rieck, A., Hardt, I. H., König, W. A., Muhle, H., Identification of (+)- $\beta$ -Caryophyllene in Essential Oils of Liverworts by Enantioselective Gas Chromatography, *Phytochemistry*, **39**, 1119, 1995

- [164] Hardt, I., Rieck, A., Fricke, C., König, W. A., Enantiomeric Composition of Sesquiterpene Hydrocarbons of the Essential Oil of *Cedrela odorata* L., *Flavour and Fragrance Journal*, **10**, 165, 1995
- [165] Friebolin, H., "Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie Eine Einführung", zweite Auflage, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1992
- [166] Kessler, H., Gehrke, M., Griesinger, C., Zweidimensionale NMR-Spektroskopie, Grundlagen und Übersicht über die Experimente, *Angewandte Chemie*, **100**, 507, 1988
- [167] Kessler, H., Bermel, W., Griesinger, C., Kolar, C., NMR-spektroskopische Konstitutionsaufklärung von Glycopeptiden mit der COLOC-Technik, *Angewandte Chemie*, **98**, 352, 1986
- [168] Kessler, H., Griesinger, C., Zarbock, J., Loosli, H. R., Assignment of Carbonyl Carbons and Sequence Analysis in Peptides by Heteronuclear Shift Correlation via Small Coupling Constants with Broadband Decoupling in t1 (COLOC), *Journal of Magnetic resonance*, **57**, 331, 1984
- [169] Kessler, H., Griesinger, C., Lautz, J., Bestimmung von Konnektivitäten über kleine Protonen-Kohlenstoff-Kopplungen mit einer neuen zweidimensionalen NMR-Technik, *Angewandte Chemie*, **96**, 434, 1984
- [170] Eberstadt, M., Gemmecker, G., Mierke, D. F., Kessler, H., Skalare Kopplungen - ihre Analyse und ihre Verwendung zur Strukturaufklärung, *Angewandte Chemie*, **107**, 1813, 1995
- [171] Titman, J. J., Neuhaus, D., Keeler, J., Measurement of Long-Range Heteronuclear Coupling Constants, *Journal of magnetic resonance*, **85**, 111, 1989
- [172] Kogler, H., Sorensen, O. W., Bodenhausen, G., Ernst, R. R., Low-Pass J Filters. Suppression of Neighbour Peaks in Heteronuclear Relayed Correlation Spectra, *Journal of magnetic resonance*, **55**, 157, 1983
- [173] Günther, H., "NMR-Spektroskopie", 3. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, 1992
- [174] Melching S., Untersuchungen der Sesquiterpene verschiedener Chemotypen des Lebermooses *Conocephalum conicum*, Diplomarbeit Universität Hamburg, 1995
- [175] Melching, S., Bülow, N., Wihstutz, K., Jung, S., König, W. A., Natural Occurrence of Both Enantiomers of Cadina-3,5-diene and  $\delta$ -Amorphene, *Phytochemistry*, **44**, 1291, 1997
- [176] König, W.A., Bülow, N., Fricke, C., Melching, S., Rieck, A., Muhle, H., The Sesquiterpene Constituents of the Liverwort *Preissia quadrata*, *Phytochemistry*, **43**, 629, 1996
- [177] Saritas, Y., Die Sesquiterpenkohlenwasserstoffe im Lebermoos *Marchantia polymorpha*, Diplomarbeit Universität Hamburg, 1995
- [178] Wu, C.-L., Liu, S., New Sesquiterpenes from Liverworts and from the Rearrangement of  $\beta$ -Bazzanene, *Tetrahedron*, **39**, 2657, 1983
- [179] Schmaus, G., Schultze W., Kubeczka, K.-H., Volatile Constituents of *Peucedanum palustre*, *Planta medica*, **55**, 482, 1989

- [180] Bohlmann, F., Zdero, C., King, R.M., Robinson, H., A Hydroxygermacrene and Other Constituents from *Pseudobrickellia brasiliensis*, *Phytochemistry*, **23**, 1798, 1984
- [181] San Feliciano, A., Medarde, M., Gordaliza, M., Lucas, M. J., Structure Elucidation of Germacrane Alcohols from *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica*, *Journal of Natural Products*, **58**, 1059, 1995
- [182] Izac, R. R., Bandurraga, M. M., Wasylyk, J. M., Dunn, F. W., Fenical, W., Germacrane Derivatives from Diverse Marine Soft-Corals (Octocorallia), *Tetrahedron*, **38**, 301, 1982
- [183] Bohlmann, F., Knoll, K.-H., Zdero, C., Mahanta, P.K., Grenz, M., Suwita, A., Ehlers, D., Le Van, N., Abraham, W.-R., Natu, A.A., Terpen-Derivate aus *Senecio*-Arten, *Phytochemistry*, **16**, 965, 1977
- [184] Connolly, J. D., Phillips, W. R., Huneck, S., (+)-Ent-Epicubenol from the Liverwort *Scapania undulata*, *Phytochemistry*, **21**, 233, 1982
- [185] Rücker, G., Shide, L., Olbrich, A., Peroxide als Pflanzeninhaltsstoffe, 7. Mitteilung: Bildung des Sesquiterpenperoxids Nardosinon aus einer Aristolan-Vorstufe, *Archiv der Pharmazie (Weinheim)*, **323**, 171, 1990
- [186] Hashimoto, T., Asakawa, Q., Nakashima, K., Tori, M., Chemical Constituents of 25 Liverworts, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **74**, 121, 1993
- [187] Vidari, G., Che, Z., Garlaschelli, L., New Nardosinane and Aristolane Sesquiterpenes from the Fruiting Bodies of *Russula lepida*, *Tetrahedron Letters*, **39**, 6073, 1998
- [188] Peterson, J.R., Russell, M.E. and Everson, T.P., Synthesis and Experimental Ionization Energies of Certain Methoxy-Substituted Styrenes, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, **29**, 933, 1991.
- [189] Asakawa, Y., Toyota, M., Tanaka, H., Hashimoto, T., Joulain, D., Chemical Constituents of an Unidentified Malaysian Liverwort *Asterella* (?) Species, *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, **78**, 183, 1995
- [190] Connolly, J. D., Monoterpenoids and sesquiterpenoids from the Hepaticae in: *Bryophytes Their Chemistry and chemical taxonomy*, Zinsmeister, H. and Mues, R. (eds.), Clarendon Press Oxford, 41, 1990
- [191] Melching, S., König, W. A., Sesquiterpenes from the Essential Oil of the Liverwort *Conocephalum conicum*, *Phytochemistry*, in press
- [192] Bohlmann, F. Zdero, C. Jakupovic, J. Robinson, H. King, R. M., Eriolanolides, Eudesmanolides and a Rearranged Sesquiterpene from *Eriophyllum* Species, *Phytochemistry*, **20**, 2239, 1981
- [193] Weyerstahl, P., Marschall, H., Schulze, M., Schwöpe, I., Synthesis of *rac*-Presilphiperfolan-9-ol, *Liebigs Annalen der Chemie*, 799, 1996
- [194] Khomenko, t.M., Bagryanskaya, I.Yu., Gatilov, Yu.V., Korchagina, D.V., Gatilova, V.P., Dubovenko, Zh.V., Barkash, V.A., *Zh. Org. Khim.*, **21**, 677, 1985 [Chemical Abstracts, **103**, 123718t, 1985]
- [195] Schmitz, F. J., Hollenbeak, K. H. and Vanderah, D. J., Marine natural products: Dactylol, a New Sesquiterpene Alcohol from a Sea hare, *Tetrahedron*, **34**, 2719, 1978
- [196] Suire, C., Asakawa, Y., Toyota, M. Takemoto, T., Chirality of Terpenoids isolated from the Liverwort *Conocephalum conicum*, *Phytochemistry*, **21**, 349, 1982

- 
- [197] Toyota, M., Nagashima, F., Fukuyama, Y., Honda, S., Asakawa, Y., Bicyclogermacrene Type Sesquiterpenoid from the Liverwort *Conocephalum conicum*, *Phytochemistry*, **27**, 3317, 1988
- [198] Ganßer, D., Pollak, F. C. and Berger, R. G., A Sesquiterpene Alcohol from *Streptomyces citreus* CBS 109.60, *Journal of Natural Products*, **58**, 1790, 1995
- [199] Toyota, M., Yoshida, T., Matsunami, J., Asakawa, Y., Sesquiterpene and Other Constituents of the Liverwort *Dumortiera hirsuta*, *Phytochemistry*, **44**, 293, 1997
- [200] Fricke, C., König, W. A., unveröffentlichte Ergebnisse
- [201] Warmers, U., Wihstutz, K., Bülow, N., Fricke, C., König, W. A., Sesquiterpene of the Liverwort *Calypogeia muelleriana*, *Phytochemistry*, **49**, 1723, 1998
- [202] Rieck, A., König, W.A., unveröffentlichte Ergebnisse

## Danksagungen

Für die Aufnahme zahlreicher NMR-Spektren und den netten Service danke ich vor allem Frau I. Schult, für viele hilfreiche Diskussionen und einige Extra-Messungen bedanke ich mich bei Herrn Dr. V. Sinnwell.

Frau Dr. A. Rieck danke ich für die Überlassung von Nardosina-1(10),11-dien aus *Ptilidium ciliare* und Frau Dipl.Chem. U. Warmers für die Ergebnisse der Hydrierungen von 4,5-Dehydroviridiflorol.

Herrn M. Budich danke ich für die Anfertigung von SFE-Extrakten.

Bei Herrn Dipl.Chem Martin Pietsch bedanke ich mich für die Zurverfügungstellung silbernitratbelegter DC-Folien.

Für das schnelle Korrekturlesen bedanke ich mich bei Frau Dipl.Chem. Christiane Fricke und Herrn Matthes Kleyboldt, ohne dessen computertechnische Unterstützung diese Arbeit wohl nie fertig geworden wäre.

Für das angenehme Arbeiten und die große Hilfsbereitschaft bedanke ich mich bei allen Mitgliedern des Arbeitskreises.

Für viel Hilfe und moralische Unterstützung in Streßsituationen bedanke ich mich besonders bei meiner lieben WG.

Für die gleichberechtigte Arbeitsauf- und Zeiteinteilung während der gesamten Promotionszeit bedanke ich mich bei meinem Freund Gunther Kollmuß.

Meinen Eltern danke ich für die finanzielle und moralische Unterstützung während der gesamten Studien- und Promotionszeit.

## Veröffentlichungen

"The Sesquiterpene Constituents of the Liverwort *Preissia quadrata*"; König, W. A., Bülow, N., Fricke, C., Melching, S., Rieck, A. and Muhle H.; *Phytochemistry*, **43**, 629, 1996

"Natural Occurrence of both Enantiomers of Cadina-3,5-diene and  $\delta$ -Amorphene"; Melching, S., Bülow, N., Wihstutz, K., Jung, S. and König, W. A.; *Phytochemistry*, **44**, 1291, 1997

"Natural Occurrence of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Microbiotene"; Melching, S., Blume, A. and König, W. A.; *Phytochemistry*, **48**, 661, 1998

"Sesquiterpenes from the Essential Oil of the Liverwort *Conocephalum conicum*"; Melching, S. and König, W. A.; *Phytochemistry*, 1999, in press

"Two Aromadendrane Type Alcohols from the Liverwort *Conocephalum conicum*"; Melching, S.; Warmers, U. and König, W. A.; *Phytochemistry*, 1999, in press

"Identification of rare Sesquiterpene Structures in Essential Oils"; König, W. A., Fricke, C., Melching, S., Wihstutz, K.; Vortrag von Prof. Dr. W. A. König auf dem 28<sup>th</sup> Symposium on Essential Oils, 1. -3. September 1997 in Eskisehir, Türkei

## Poster

Different Chemotypes of the Liverwort *Conocephalum conicum*; Melching, S. and König, W. A.; Symposium on Essential Oils, 6. - 9. September 1995 in Hamburg

Neue Sesquiterpene aus Lebermoosen; Fricke, C., Melching, S. und Wihstutz, K., Naturstofftagung, 26. - 28. Februar 1997 in Irsee

## **Lebenslauf**

Name, Vorname: Melching, Stephanie  
Geburtsdatum: 14.März 1966  
Geburtsort: Hamm/NRW  
Familienstand: ledig  
Kinder: Lena Melching, geb. 10. Januar 1996  
Tjark Melching, geb. 24. April 1998

## **Schulbildung**

8/1972 - 7/1976: Grundschule Bitburg  
8/1976 - 6/1985: Gymnasium Bitburg, Abschluß Abitur

## **Beruflicher Werdegang**

8/1985 - 6/1988: Ausbildung zur Chemielaborantin, BASF AG,  
Ludwigshafen, Abschluß: Chemielaborantin  
7/1988 - 9/1989: Tätigkeit als Chemielaborantin, BASF AG, Ludwigshafen

## **Akademische Ausbildung**

10/1989 - 3/1992: Grundstudium Chemie an der Johannes-Gutenberg-  
Universität Mainz; Vordiplom: 16. Dezember 1991  
4/1992 - 8/1995: Hauptstudium Chemie an der Universität Hamburg,  
Diplom: 31. August 1995  
Diplomarbeit bei Herrn Prof. Dr. W. A. König:  
"Untersuchungen der Sesquiterpene verschiedener  
Chemotypen des Lebermooses *Conocephalum conicum*"  
9/1995: Beginn der vorliegenden Dissertation

## **Stipendien**

10/1989 - 8/1995: Studienstipendium der Hans-Böckler-Stiftung  
10/1995 - 3/1999: Promotionsstipendium der Hans-Böckler-Stiftung