

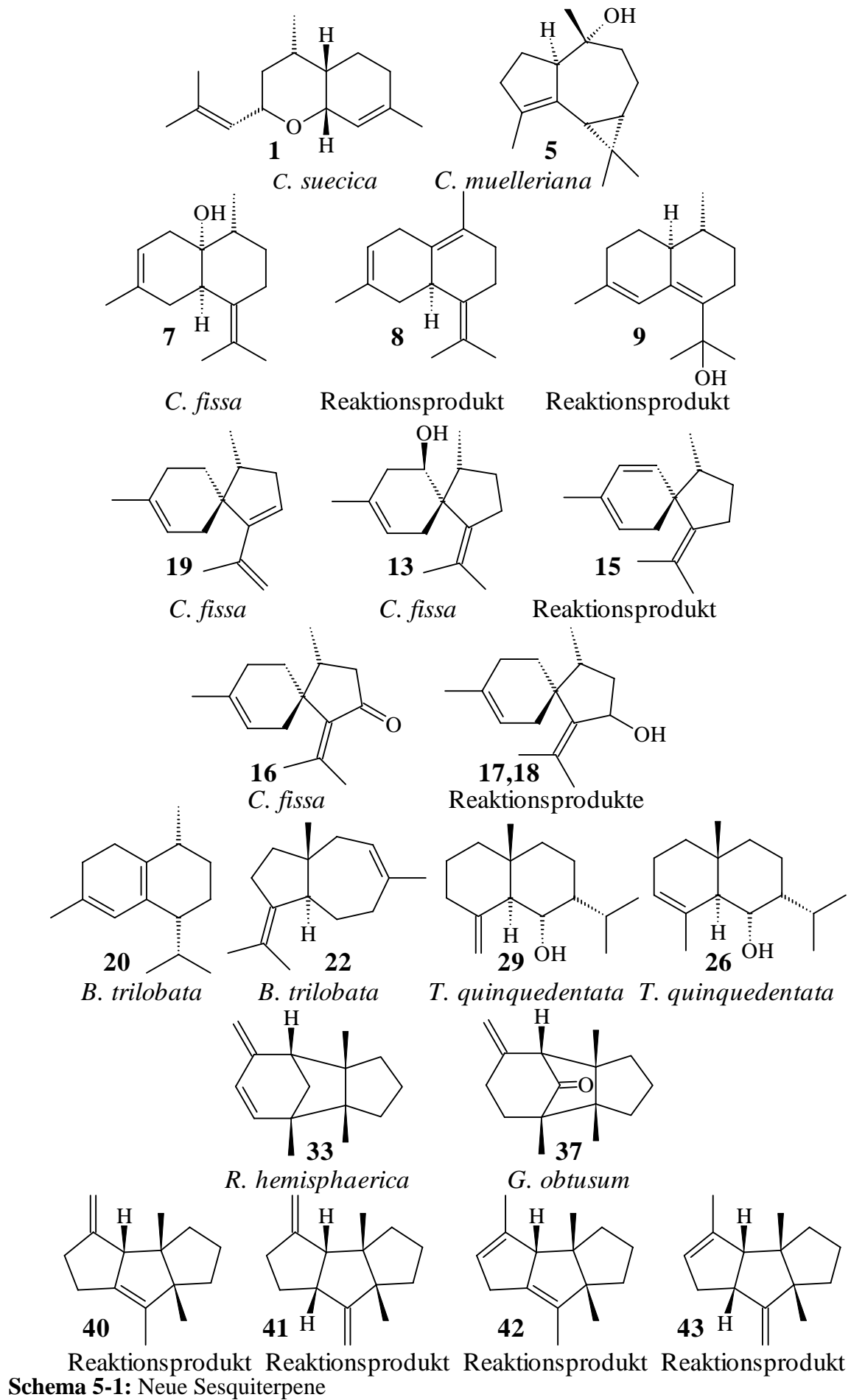
5. Zusammenfassung

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

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

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

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



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

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

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

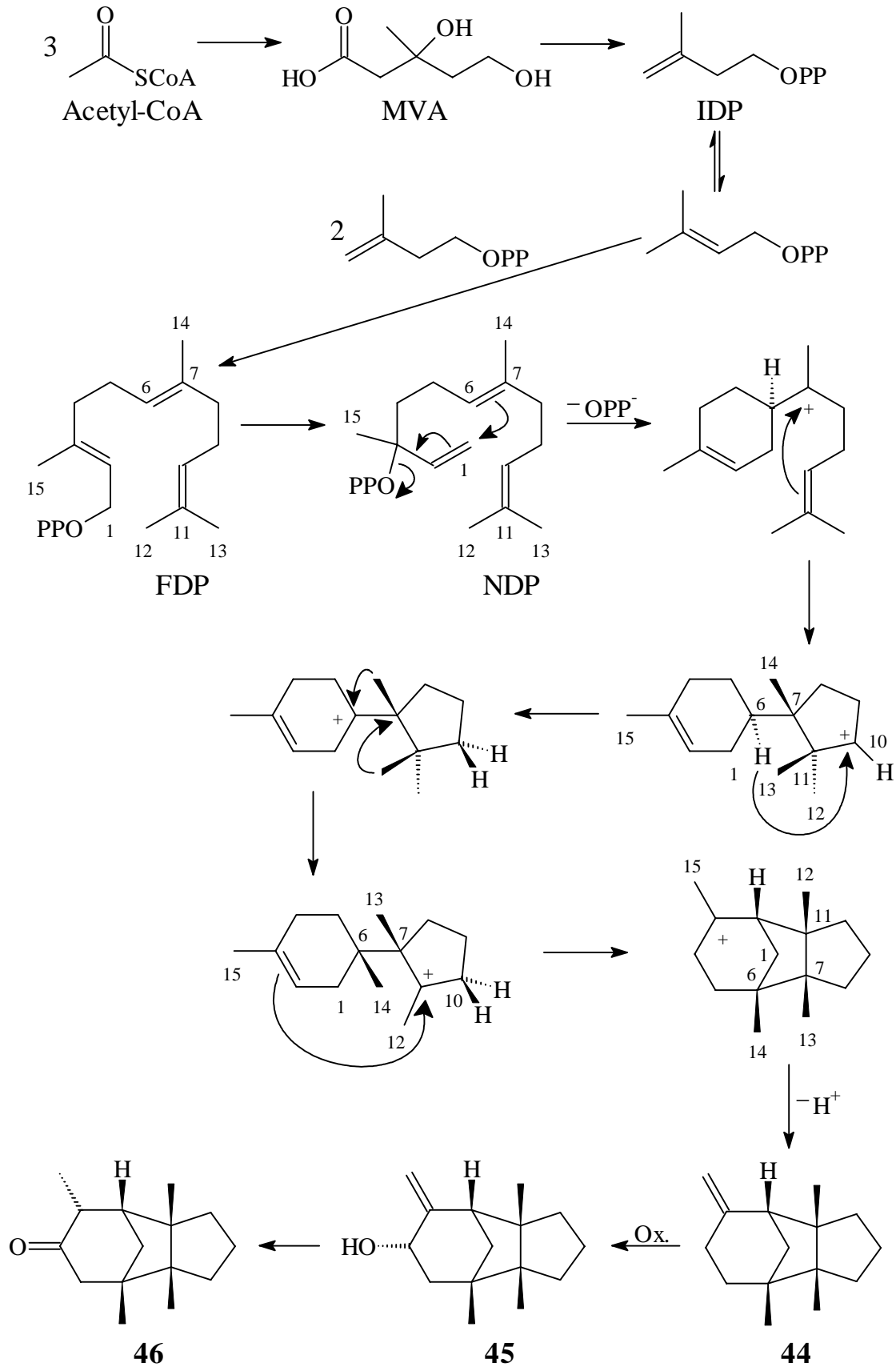


Abb. 5-1: Biosynthese der Gymnomitrane

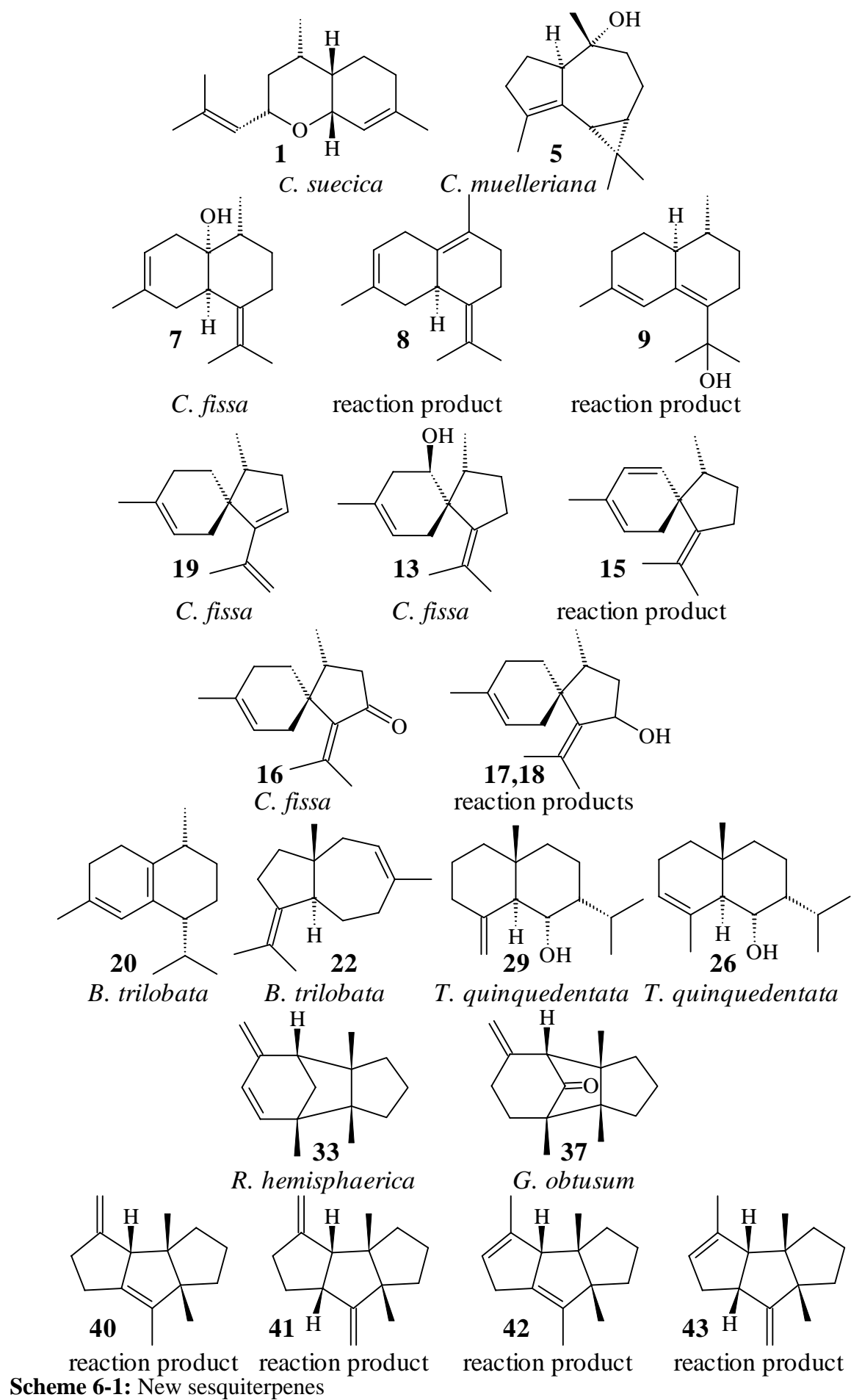
6. Summary

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

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

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

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



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

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

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

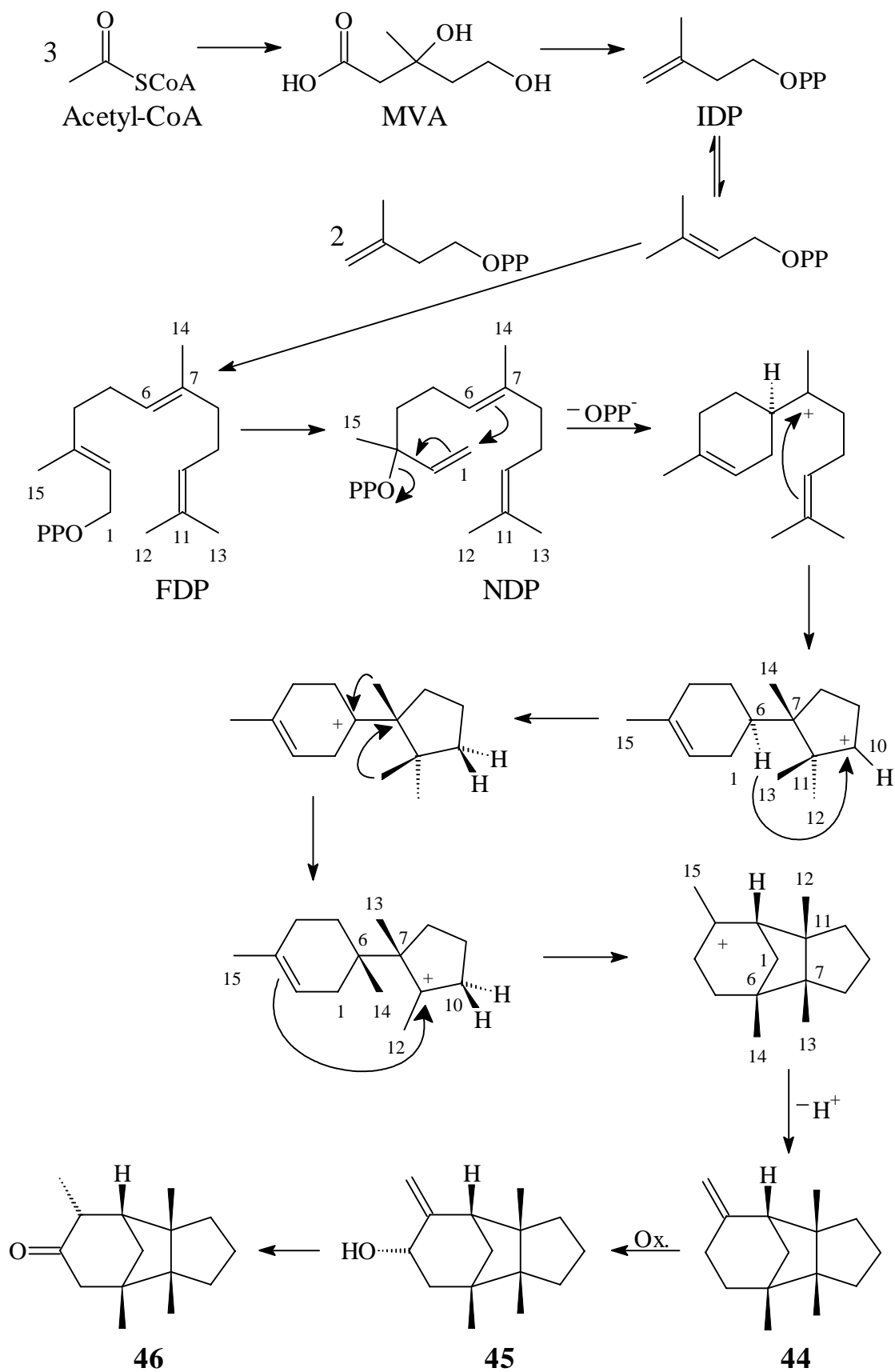


Fig. 6-1: Biosynthesis of the gymnomitranes