

Martina Heim

Untersuchungen zu Enzymen der
Rosmarinsäurebiosynthese aus Zellkulturen
von *Anthoceros crispulus*

Diplomarbeit

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek:

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek: Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de/> abrufbar.

Dieses Werk sowie alle darin enthaltenen einzelnen Beiträge und Abbildungen sind urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsschutz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlanges. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen, Auswertungen durch Datenbanken und für die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronische Systeme. Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdrucks, der fotomechanischen Wiedergabe (einschließlich Mikrokopie) sowie der Auswertung durch Datenbanken oder ähnliche Einrichtungen, vorbehalten.

Copyright © 1998 Diplomica Verlag GmbH
ISBN: 9783832486471

Martina Heim

Untersuchungen zu Enzymen der Rosmarinsäurebiosynthese aus Zellkulturen von *Anthoceros crispulus*

Martina Heim

Untersuchungen zu Enzymen der Rosmarinsäurebiosynthese aus Zellkulturen von Anthoceros crispulus

**Diplomarbeit
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Mathematisch- Naturwissenschaftlichen Fakultät
Abgabe Februar 1998**



Diplom.de

Diplomica GmbH _____
Hermannstal 119k _____
22119 Hamburg _____

Fon: 040 / 655 99 20 _____
Fax: 040 / 655 99 222 _____

agentur@diplom.de _____
www.diplom.de _____

ID 4039

Sommer, Maik: Der Rat des Kreises Putbus 1952 - 1955

Hamburg: Diplomica GmbH, 2005

Zugl.: Universität Hamburg, Magisterarbeit, 2002

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrags, der Entnahme von Abbildungen und Tabellen, der Funksendung, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes der Bundesrepublik Deutschland in der jeweils geltenden Fassung zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungspflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechtes.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Die Informationen in diesem Werk wurden mit Sorgfalt erarbeitet. Dennoch können Fehler nicht vollständig ausgeschlossen werden, und die Diplomarbeiten Agentur, die Autoren oder Übersetzer übernehmen keine juristische Verantwortung oder irgendeine Haftung für evtl. verbliebene fehlerhafte Angaben und deren Folgen.

Diplomica GmbH

<http://www.diplom.de>, Hamburg 2005

Printed in Germany

Diese Arbeit wurde am Institut für Entwicklungs- und Molekularbiologie der Pflanzen unter Anleitung von Professor Dr. A. W. Alfermann und Betreuung durch Frau Dr. M. Petersen durchgeführt.

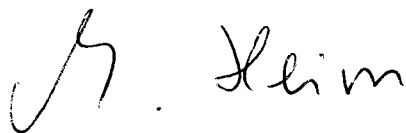
Ich danke Herrn Alfermann für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und seine freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt auch Frau PD. Dr. M. Petersen für ihre zahlreichen Anregungen und wertvollen Hilfestellungen. Ihre guten Ratschläge und ständige Diskussionsbereitschaft haben viel zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Weiterhin gilt mein Dank all denen, die mir im Verlauf dieser Arbeit mit vielen guten Ratschlägen und Anregungen geholfen haben.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie und meinen Freuden für ihr Verständnis und für all die zahlreichen Unterstützungen bedanken.

Hiermit erkläre ich, daß ich diese Arbeit selbst verfaßt habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

A. Helm

Düsseldorf, im Februar 1998

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| 1. Einleitung | 1 |
| 1.1 Vorkommen und Funktion pflanzlicher Sekundärstoffe | 1 |
| 1.1.1 Pflanzliche Naturstoffe bei Moosen (Bryophyta) | 3 |
| 1.2 Pflanzliche Zellkulturen | 5 |
| 1.2.1 <i>In vitro</i> -Kulturen von Moosen (Bryophyta) | 6 |
| 1.3 Rosmarinsäure | 7 |
| 1.3.1 Biosyntheseweg der Rosmarinsäure | 8 |
| 1.4 <i>Anthoceros crispulus</i> | 10 |
| 1.5 Nachzuweisende Enzyme des Rosmarinsäurebiosyntheseweges | 12 |
| 1.5.1 Phenylalanin Ammonium-Lyase (PAL) | 12 |
| 1.5.2 Hydroxyphenylpyruvat Reduktase (HPPR) | 13 |
| 1.5.3 Tyrosin Aminotransferase (TAT) | 14 |
| 1.6 Zielsetzung dieser Arbeit | 15 |
| 2. Material und Methoden | 16 |
| 2.1 Pflanzenmaterial | 16 |
| 2.1.1 Kulturbedingungen | 16 |
| 2.2 Herstellung der Enzymextrakte | 19 |
| 2.2.1 Gewinnung von Rohextrakt (Standardaufarbeitung) | 19 |
| 2.2.2 Ammoniumsulfatfällung der Proteine | 20 |
| 2.3 Bestimmung der Proteinkonzentration | 21 |
| 2.4 Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) | 22 |
| 2.5 Bestimmung der Enzymaktivitäten | 22 |
| 2.5.1 Phenylalanin Ammonium-Lyase (PAL) | 22 |
| 2.5.1.1 Nachweis des Reaktionsproduktes der PAL mittels HPLC | 23 |
| 2.5.2 Hydroxyphenylpyruvat Reduktase (HPPR) | 23 |
| 2.5.2.1 Optimierter HPPR-Test für <i>Anthoceros crispulus</i> | 25 |
| 2.5.3 Tyrosin Aminotransferase (TAT) | 25 |
| 2.5.3.1 Photometrischer TAT-Test | 25 |
| 2.5.3.2 HPLC-Nachweis des Reaktionsproduktes der TAT | 27 |
| 2.6 Charakterisierung der Enzyme | 28 |
| 2.6.1 Phenylalanin Ammonium-Lyase | 28 |
| 2.6.1.1 Proteinabhängigkeit der PAL | 28 |
| 2.6.1.2 pH-Optimum der PAL | 28 |
| 2.6.1.3 Vergleich der Enzymaktivitäten in Borsäure-Borax- und Glyzin-NaOH-Puffer | 28 |
| 2.6.1.4 Temperaturoptimum der PAL | 28 |

| | |
|--|----|
| 2.6.1.5 Fällungsbereiche der PAL bei fraktionierter Ammoniumsulfatfällung | 29 |
| 2.6.1.6 Gefrierbeständigkeit der PAL | 29 |
| 2.6.2 Hydroxyphenylpyruvat Reduktase | 29 |
| 2.6.2.1 Zeitabhängigkeit der HPPR | 29 |
| 2.6.2.2 Proteinabhängigkeit der HPPR | 29 |
| 2.6.2.3 pH-Optimum der HPPR | 30 |
| 2.6.2.4 Temperaturabhängigkeit der HPPR | 30 |
| 2.6.2.5 Fällungsbereiche der HPPR bei fraktionierter Ammoniumsulfatfällung | 31 |
| 2.6.2.6 NADPH als Reduktionsäquivalent | 31 |
| 2.6.2.7 Gefrierbeständigkeit der HPPR | 31 |
| 2.7 Bestimmung der K_m -Werte | 31 |
| 2.7.1 Bestimmung der K_m -Werte für die PAL | 32 |
| 2.7.2 Bestimmung der K_m -Werte für die HPPR | 32 |
| 2.8 Charakterisierung der Suspensionskultur von <i>Anthoceros crispulus</i> im Kulturverlauf | 33 |
| 2.8.1 Wachstumsparameter | 33 |
| 2.8.1.1 Frischgewicht der Zellen (FG) | 33 |
| 2.8.1.2 Trockengewicht der Zellen (TG) | 33 |
| 2.8.2 Mediumsparameter | 33 |
| 2.8.2.1 Bestimmung des pH-Wertes | 33 |
| 2.8.2.2 Bestimmung der Leitfähigkeit | 34 |
| 2.8.2.3 Bestimmung des Zuckergehaltes | 34 |
| 2.8.2.4 Bestimmung des Nitratgehaltes | 34 |
| 2.8.2.5 Bestimmung des Phosphatgehaltes | 36 |
| 2.9 Extraktion der Rosmarinsäure (RA) | 37 |
| 2.10 Enzymaktivitäten im Kulturverlauf | 39 |
| 2.10.1 PAL-Aktivitäten im Kulturverlauf | 39 |
| 2.10.2 HPPR-Aktivitäten im Kulturverlauf | 39 |
| 2.10.3 TAT-Aktivitäten im Kulturverlauf | 39 |
| 2.11 Berechnungen der Enzymaktivitäten | 39 |
| 3. Ergebnisse | 41 |
| 3.1 Charakterisierung der Phenylalanin Ammonium-Lyase | 41 |
| 3.1.1 Abhängigkeit der PAL-Aktivität von der Proteinkonzentration | 41 |
| 3.1.2 pH-Optimum der PAL | 42 |
| 3.1.3 Vergleich der Enzymaktivitäten in 0,1 M Glyzin-NaOH-Puffer pH 9,0 und Borsäure-Borax-Puffer pH 8,8 | 44 |
| 3.1.4 Temperaturoptimum der PAL | 44 |

| | |
|--|----|
| 3.1.5 Fällungsbereiche der PAL bei fraktionierter Ammoniumsulfatfällung | 45 |
| 3.1.6 Gefrierbeständigkeit der PAL | 47 |
| 3.1.7 Bestimmung des K_m -Wertes für Phenylalanin | 48 |
| 3.1.8 Nachweis der Zimtsäure mittels HPLC | 52 |
| 3.2 Charakterisierung der Hydroxyphenylpyruvat Reduktase (HPPR) | 52 |
| 3.2.1 Zeitlicher Verlauf der HPPR-Reaktion | 52 |
| 3.2.2 Proteinabhängigkeit der HPPR | 53 |
| 3.2.3 pH-Optimum der HPPR | 57 |
| 3.2.4 Temperaturoptimum der HPPR | 58 |
| 3.2.5 Fällungsbereich der HPPR bei fraktionierter Ammoniumsulfatfällung | 59 |
| 3.2.6 NADPH als Reduktionsäquivalent | 61 |
| 3.2.7 Gefrierstabilität der HPPR | 61 |
| 3.2.8 Bestimmung der K_m -Werte der HPPR | 62 |
| 3.2.8.1 K_m -Wert für 3,4-Dihydroxyphenylpyruvat (DHPP) | 62 |
| 3.2.8.2 K_m -Wert für p-Hydroxyphenylpyruvat (pHPP) | 65 |
| 3.2.8.3 K_m -Wert für NADH | 68 |
| 3.2.8.4 K_m -Wert für NADPH | 70 |
| 3.3 Charakterisierung der Suspensionskultur von <i>Anthoceros crispulus</i> im Kulturverlauf | 72 |
| 3.3.1 Wachstumsparameter | 72 |
| 3.3.2 Mediumsparameter | 74 |
| 3.3.2.1 pH-Wert | 74 |
| 3.3.2.2 Leitfähigkeit | 75 |
| 3.3.2.3 Zuckerkonzentration im Medium | 77 |
| 3.3.2.4 Nitratgehalt im Medium | 78 |
| 3.3.2.5 Phosphatgehalt im Medium | 79 |
| 3.3.3 Proteingehalte der <i>Anthoceros crispulus</i> -Zellen | 81 |
| 3.3.4 Rosmarinsäuregehalt der Zellen (RA-Gehalt) | 82 |
| 3.3.5 Gehalt der Zellen an "Anthoceros-Substanz" (ACS) | 84 |
| 3.3.6 Enzymaktivitäten im Kulturverlauf | 86 |
| 3.3.6.1 Aktivität der PAL in Bezug auf das Frischgewicht | 86 |
| 3.3.6.2 Spezifische Aktivität der PAL | 88 |
| 3.3.6.3 Aktivität der TAT in Bezug auf das Frischgewicht | 89 |
| 3.3.6.4 Spezifische TAT-Aktivität | 91 |

| | |
|---|-----|
| 3.3.6.5 HPPR-Aktivität in Bezug auf das Frischgewicht | 92 |
| 3.3.6.6 Spezifische Enzymaktivität der HPPR | 93 |
| 4. Diskussion | 95 |
| 4.1 Charakterisierung der Phenylalanin Ammonium-Lyase | 95 |
| 4.2 Charakterisierung der Hydroxyphenylpyruvat Reduktase | 100 |
| 4.3 Charakterisierung der Suspensionskultur von <i>Anthoceros crispulus</i> im Kulturverlauf | 104 |
| 5. Zusammenfassung | 112 |
| 6. Anhang | 115 |
| 6.1 Abkürzungen | 115 |
| 6.2 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis | 116 |
| 6.3 Chemikalien und Verbrauchsmaterial | 120 |
| 6.4 Geräte | 124 |
| 7. Literaturverzeichnis | 126 |

1. Einleitung

1.1 Vorkommen und Funktion pflanzlicher Sekundärstoffe

Pflanzen haben im Verlauf der Evolution Sekundärstoffe entwickelt, die für das Überleben der Pflanzen in ihrer Umwelt von besonderer Bedeutung sind. Sekundäre Pflanzenstoffe sind Produkte des Sekundärstoffwechsels, der sich evolutiv neben dem Primärstoffwechsel etabliert hat. Während der Primärstoffwechsel verantwortlich ist für Wachstum und Entwicklung des Individuums, ist der Sekundärstoffwechsel unentbehrlich für Existenz und Fortbestand einer Art (HARTMANN, 1985). Viele Pflanzenphysiologen, Botaniker und Naturstoffchemiker haben den Sekundärstoffen lange Zeit keine funktionelle Bedeutung zugemessen und sie bestenfalls als chemisch-systematische Marker betrachtet, ansonsten aber angenommen, es handele sich bei diesen Substanzen um Abfallstoffe ohne weitere Bedeutung für die Pflanze. Inzwischen liegt jedoch eine recht beachtliche experimentelle Basis vor, die klar belegt, daß die Sekundärstoffe wichtig für die "Fitneß" der Pflanzen sind und häufig als chemische Abwehrkomponenten in der Auseinandersetzung Pflanze-Tier, Pflanze-Mikroorganismus (Pilze, Bakterien, Viren) oder gegenüber anderen Pflanzen (Allelopathie) anzusehen sind. Einige Naturstoffe werden auch zur Anlockung von bestäubenden oder samenverbreitenden Tieren eingesetzt oder dienen der inter/intraspezifischen Kommunikation (WINK, 1993). Von ihrer Entstehung her sind sekundäre Pflanzenstoffe Produkte des Stoffwechsels von Kohlenhydraten, Fetten und Aminosäuren (RICHTER, 1988). Weit mehr als 80 000 dieser Sekundärstoffe sind bekannt, davon ein Drittel Alkaloide (RICHTER, 1997). Sie weisen eine ungeheure Mannigfaltigkeit auf, so daß zahlreiche chemische Substanzklassen wie Cumarine, Phenole, Betalaine, Alkaloide, Chinone, Flavonoide, Terpenoide und viele andere mehr vertreten sind. Diese Vielfalt ist notwendig, da das Ökosystem an die Pflanze mit ihrer fehlenden Mobilität hinsichtlich Standortanpassung, Anlockung und Abwehr auch vielfältige Anforderungen stellt. Man bedenke die Vielzahl der anzulockenden und abzuschreckenden Tiere, Pflanzen und Mikroorganismen und deren dauernde Veränderung im Laufe der Evolution (KARWATZKI, 1992). Innerhalb verwandter Pflanzenarten können völlig unterschiedliche Sekundärstoffe auftreten. Taxonomisch entfernt stehende Species können durchaus den gleichen Sekundärstoff enthalten, jedoch möglicherweise auf unterschiedliche Art und Weise synthetisieren.

Die Pflanze ist Schädlingen wie Insekten und Säugetieren jederzeit ausgeliefert, benötigt jedoch zwecks Bestäubung Kontakt mit diesen. Alkaloide, cyanogene Glycoside und Herzglykoside wirken als Fraßschutz. Zur Anlockung von Insekten kommen visuelle Reizstoffe aber auch Duftstoffe zum Tragen. Viele Pflanzen enthalten Steroide mit Hormoncharakter, die sich auf den Hormonhaushalt ihrer Fraßfeinde auswirken können. So synthetisieren einige Pflanzen Ecdyson- und Juvenilhormon-ähnliche Substanzen, die in die

Wachstums- und Metamorphoseprozesse der Insekten eingreifen (MENKE, 1990). Einigen Insekten ist es gelungen, die Abwehrchemie ihrer Wirtspflanzen zu tolerieren und diese Abwehrsubstanz zu ihrem Vorteil zu nutzen. Zum Beispiel können die Larven der Schmetterlingsart *Uresiphita reversalis* (Pyralidae) Alkaloide vom besonders toxischen Cytisintyp selektiv aus ihrer Nahrung aufnehmen und sie in ihrer Haut speichern. Bevor die Larve sich verpuppt, webt sie einen mechanisch stabilen Kokon, den sie zusätzlich chemisch schützt, indem sie ihre als Larve gespeicherten Alkaloide dorthin transferiert (WINK, 1993). Oft werden niedermolekulare phenolische Verbindungen der verschiedensten Art von der Pflanze erst bei Verletzung oder bei Infektion durch pathogene Organismen gebildet. Diese Phytoalexine ("phyton" = Pflanze, "alexin" = abwehren) dienen zum Schutz vor akuten Infektionen gegen Pilz- und Bakterienbefall. Eingehend studiert sind Phytoalexine, die von der Kartoffelpflanze (*Solanum tuberosum*) bei Befall durch *Phytophthora infestans*, einem Pilz der Abteilung *Oomycota*, synthetisiert werden. Dazu gehören unter anderem Chlorogensäure, Kaffeesäure und Scopoletin, sowie die fungitoxischen Sesquiterpene Rishitin und Lubimin. Phytoalexine wie die Glyceolline und Phaseolin treten in *Glycine max* und *Phaseolus* auf. Bei Auflösung oder Beschädigung ihrer Peribacteroidenmembran führen die freigesetzten und als Fremdkörper empfundenen Bacteroiden zu einer massiven Produktion spezifischer Abwehrstoffe (RICHTER, 1988). Auch Phytoalexine, die unspezifisch gegen das Wachstum von Mikroorganismen wirken und nicht nur nach Infektionen sondern auch nach Einwirkung verschiedener abiotischer Streßfaktoren (extreme Temperatur, hohe Salzkonzentrationen, Nährstoff- und Wassermangel) gebildet werden, sind bekannt (STRASBURGER, 1991). Die Nutzung von Sekundärstoffen als Signal- und Wirksubstanzen ist nicht allein auf die Pflanze beschränkt, sondern auch bei vielen Tieren, insbesondere den Arthropoden in Form von Pheromonen weit verbreitet (WINK, 1993). Ein Pheromon wirkt als Botenstoff innerhalb verschiedener Exemplare einer Art und darüber hinaus auch zwischen Exemplaren (Allomone) verschiedener Arten (STRASBURGER, 1991). Auch für den Menschen sind pflanzliche Naturstoffe bedeutungsvoll. Stimulierende Sekundärstoffe wie Koffein, Theophyllin, Theobromin und Nicotin die in Kaffee, Tee, Kakao und Tabak enthalten sind, gehören zum alltäglichen Gebrauch. Auch beeinflussen sie in Form von Geschmacks-, Geruchs- und Farbstoffen unsere Vorlieben und Abneigungen gegenüber Nahrungsmitteln. Zum Beispiel sorgen stickstoffhaltige Naturstoffe in Form von Senfölen wie Sinigrin aus dem schwarzen Senf (*Brassica nigra*) oder Sinalbin aus dem weißen Senf (*Sinapis alba*) für den stechenden Geruch oder scharfen Geschmack (RICHTER, 1988). Für den scharfen Geschmack der Paprika (*Capsicum annuum*) sorgt das Amid Capsaicin. Ätherische Öle in Petersilie (*Petroselinum crispum*), Estragon (*Artemisia dracuncululus*), Koriander (*Coriandrum sativum*), Fenchel (*Foeniculum vulgare*) und Majoran (*Majorana hortensis*) sorgen für den jeweils typischen Sinneseindruck (SCHAUENBERG und PARIS, 1981). Auch die Kosmetik- und Parfümindustrie bedient sich der großen Vielfalt der Sekundärstoffe. Naturstoffe werden auch in pharmazeutischer Hinsicht genutzt und zu

therapeutischen Zwecken verwendet. In der Analgesie (Schmerzausschaltung) findet Morphium Verwendung. Kodein, ein Methylnorphin, wird zur Linderung bei quälendem Hustenreiz eingesetzt. Die den Herzrhythmus stabilisierenden Herzglycoside als Arzneimittel gegen Herzschwäche sind nicht mehr wegzudenken. Trotz aller Bemühungen ist es bisher leider nicht gelungen, Herzglycoside in Zellsuspensionskulturen (siehe unter 1.2) des Fingerhutes nachzuweisen. Auch in der Onkologie wird mit den mitosehemmenden Alkaloiden Vincristin und Vinblastin aus *Catharanthus roseus* chemotherapeutisch gegen Blut-, Brust- und Lungenkrebs therapiert. Taxol, gewonnen aus der Rinde der pazifischen Eibe, wird zur Bekämpfung von Brust- und Eierstockkrebs eingesetzt. Eine ausführliche Beschreibung aller Sekundärstoffe, die im täglichen Gebrauch Verwendung finden, würde in diesem Rahmen zu weit führen.

1.1.1 Pflanzliche Naturstoffe bei Moosen (*Bryophyta*)

Die Pflanzenabteilung der Moose (*Bryophyta*) wurde lange Zeit in phytochemischer Hinsicht vernachlässigt. Viele Moose werden weder von Tieren gefressen noch von Schadorganismen befallen, so daß etwaige endogene Abwehrstoffe vermutet wurden. Auch ein Befall durch Viren ist bei Bryophyten nicht bekannt (ZINSMEISTER et al., 1991). Erst in den letzten beiden Jahrzehnten widmete man sich intensiver ihrer Phytochemie. Die chemische Untersuchung von Moosinhaltsstoffen, insbesondere von Sekundärmetaboliten legte ein erstaunliches Potential zahlreicher Naturstoffe mit beachtlichen biologischen Aktivitäten dar, einschließlich solcher mit neuartigen Strukturtypen. Terpene, Steroide, Prenylchinone und Phenole sind keine Seltenheit, auch Alkaloide, Tetrapyrrole sowie Phenathrenderivate konnten in geringen Mengen isoliert werden. Nach dem heutigen Wissensstand überwiegen bei Moosen allgemein phenolische und isoprenoide Inhaltsstoffe. Zwischen Leber-, Laub- und Hornmoosen lassen sich dabei hinsichtlich der gefundenen Klassen von Sekundärmetaboliten deutliche Unterschiede feststellen. Laubmoose und Lebermoose sind reich an phenolischen Derivaten, insbesondere an Flavonoiden. Hornmoose hingegen zeichnen sich neben zahlreichen ungesättigten Fettsäuren durch kondensierte Zimtsäurederivate wie z.B. Anthocerossäure (siehe Abb. 1) und Megacerossäure (siehe Abb. 2) aus, mit denen erstmals Lignane bei Moosen entdeckt wurden. Auch Rosmarinsäure (siehe unter 1.3), die bei höheren Pflanzen verbreitet ist, konnte nachgewiesen werden (ZINSMEISTER et al., 1991). TAKEDA, HASEGAWA und SINOZAKI (1990) konnten Megacerossäure in *Anthoceros*-Arten sowie *Dendroceros japonicus*, *Megaceros flagellaris*, *Nototylas temperata* und *Phaeoceros laevis* nachweisen. Anthocerossäure entsteht möglicherweise bei *Anthoceros punctatus* direkt aus Rosmarinsäure und p-Cumarsäure (TAKEDA et al. 1990). Einen beträchtlichen Gehalt an Rosmarinsäure wiesen die Hornmoose *Anthoceros punctatus* und *Foliceros fuciformis* auf. Inwieweit die Synthese von Rosmarinsäure auf denselben

Syntheseweg zurückzuführen ist wie bei höheren Pflanzen bedarf der Klärung (PETERSEN, 1993).

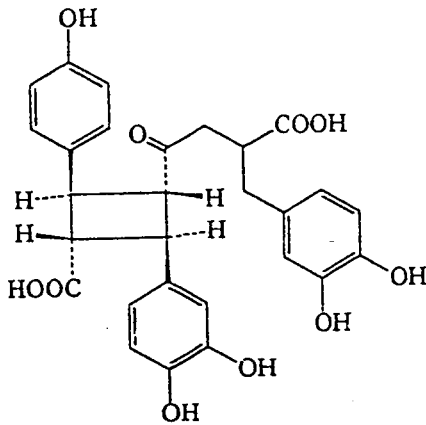


Abb. 1: Strukturformel
der Anthocerossäure
(aus ZINSMEISTER, 1991)

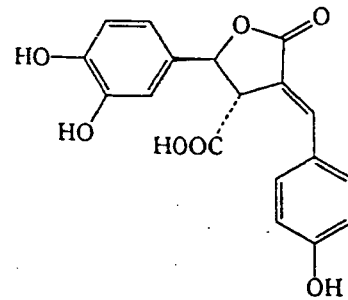


Abb. 2: Strukturformel
der Megacerossäure
(aus ZINSMEISTER, 1991)

Moose hatten bisher keinerlei Bedeutung als offizinelle Arznei- und Giftpflanzen. In der chinesischen und indianischen Volksmedizin fanden sie jedoch durchaus Verwendung. Bereits 1590 berichtete der Chinese Ri von diuretischen Eigenschaften zweier Laubmoose (*Fussidens*- und *Polytrichum*-Arten) sowie von der haarwuchsfördernden Wirkung der Asche des Frauenhaarmoses. Auch nordamerikanische Indianer verwendeten aus Laubmoosen (*Bryum*-, *Mnium*- und *Philonotis*-Arten) zubereitete Pasten und Salben zur Wundbehandlung. *Sphagnum*-Arten (Torfmoos) wurden im ersten Weltkrieg aufgrund ihrer absorptiven und antibiotischen Eigenschaften zur Herstellung von Verbandsmaterial benutzt (ZINSMEISTER et al., 1991). Mittlerweile kennt man eine Vielzahl von Moosinhaltsstoffen mit biologischer Wirkung. Das aus der Lebermoosgattung *Porella* stammende Furanosesquiterpen Norpiguison zeigt fungitoxische Wirkung gegen den Schimmelpilz *Aspergillus niger*. Die cytotoxischen und cytostatischen Eigenschaften von Epiarbusculin, Diplohyllin, Marchantin A, Riccardin B und Perrottetin E, einigen Lebermoosarten entstammend, sind ebenfalls bekannt. Erwähnenswert ist auch das stark molluscizid wirkende Furanosesquiterpen Ricciocarpin A aus *Ricciocarpos natans* mit letaler Wirkung auf die Wasserschnecke *Biomphalaria glabrata*, bekannt als Überträgerin der Bilharziose. Die biologischen Wirkungen der Moosinhaltsstoffe sind sehr vielfältig. Es wird über cardiotonische, Vasopressin-antagonistische sowie antibakterielle und piscizide (fischtoxische) -Wirkungen berichtet. Nennenswert ist auch die allergene Wirkung eines Laubmooses der Gattung *Frullania*, das in Kanada, Nordamerika und Europa zur Kontaktdermatitis bei Waldarbeitern führt. Während zahlreiche Zwischen- und Endprodukte des Moosstoffwechsels bekannt sind, existieren über ihre Biogenese und die