

Zur Phytochemie südamerikanischer *Nephroma*-Arten

The Phytochemistry of South American *Nephroma*-Species

Bernd Renner, Aino Henssen und Ernst Gerstner

Fachbereich Biologie und Fachbereich Chemie der Universität Lahnberge, D-3550 Marburg/Lahn

Z. Naturforsch. **37 c**, 739–747 (1982); received May 19/June 3, 1982

Nephroma-Species, South America, Lichen Metabolites, Falling into Nine Groupings

New results on the phytochemistry of *Nephroma*, a genus of the lichen family Peltigeraceae are presented. Further eight species occurring in South America have been studied. Including earlier results, nine groupings of secondary metabolites within the genus are defined: The phytochemistry of pattern I is represented by *N. analogicum* containing ergochromes (ergochrome AB and AA), hitherto found only in members of the Parmeliaceae; pattern II: tenuiorin, methylgyrophorate, gyrophoric acid, 4-O-methyl gyrophoric acid, methylevernate, lecanoric acid, zeorin and usnic acid (represented by *N. gyalnikii* and *N. pseudoparile*); pattern III: Zeorin, 15 α -acetoxy-22-hydroxyhopane and 15 α -22-dihydroxyhopane (represented by *N. parile* and *N. expallidum*); pattern IV: stictic, constictic, hypostictic, hyposalazinic and usnic acid, zeorin and one unknown depsidone [PQ 4] (represented by *N. antarcticum* and *N. lobuligerum*); pattern V: no lichen metabolites (represented by *N. resupinatum* and *N. plumbeum*); pattern VI: perlatolic, stenosporic and glomelliferic acid, zeorin and five further metabolites being most likely O-methyl-derivatives of stenosporic and perlatolic acid (represented by *N. cellulolum* and *N. lepidophyllum*); pattern VII: usnic acid and phenarctin, including three further unknown depsides (represented by *N. microphyllum* and *N. kuehnemaniai*); pattern VIII: usnic acid, phenarctin, nephroarctin and zeorin (represented by *N. arcticum*); pattern IX: usnic acid and 6 α -7 β -22-trihydroxyhopane (represented by *N. chubutense*). A considerable variation in accessory compounds exists in pattern II, IV and VI which does not correlate with the variation in morphological characters.

N. patagonicum Kremp. is placed to synonymy with *N. analogicum* Nyl.

Einleitung

Die vorliegende Studie ist eine Weiterführung unserer Arbeiten zur Phytochemie der Flechtengattung *Nephroma* [1, 2]. Untersucht wurden acht weitere südamerikanische Arten.

Die von uns zur Familie der Peltigeraceae gestellte Gattung *Nephroma* [3] enthält sowohl Arten mit Blaualgen (*Nostoc*) als auch Arten mit einzelligen Grünalgen (*Coccomyxa* u. a.) als Phycobionten. Ein Zusammenhang zwischen der jeweiligen Lageralge und bestimmten Sekundärstoffen, aus dem ein Einfluß der symbiotischen Alge auf den Sekundärstoffwechsel abzuleiten wäre, konnte nicht nachgewiesen werden [4]. Das dieser Studie zugrundeliegende Material stammt aus Aufsammlungen von Henssen und Vobis (1973/74) aus Chile und Argentinien. Zusätzlich wurden Typusexemplare und weitere Proben aus diversen Herbarien sowie Material von anderen Sammlern untersucht.

Ein überraschendes und zugleich bemerkenswertes Ergebnis unserer Analysen ist der Nachweis von Ergochromen in *Nephroma analogicum*. Derart komplexe Pigmente der bis-Hexa(bzw. Tetra-)hydroxanthonyl-Gruppe, vor allem als Inhaltsstoffe von *Claviceps purpurea* [5] und einigen imperfekten Pilzen [6] bekannt, wurden in Flechten bisher nur in den beiden Parmeliaceen-Gattungen *Parmelia* [7] und *Cetraria* [8] gefunden.

Unsere phytochemischen Analysen von 67 Proben 15 verschiedener *Nephroma*-Arten führten zu neun verschiedenen Sekundärstoff-Mustern, die im folgenden genauer dargestellt werden sollen. Eine auffällige Korrelation dieser Sekundärstoff-Muster mit variierenden morphologischen Merkmalen, über die an anderer Stelle ausführlich berichtet werden soll (Henssen *et al.* unveröffentlicht), war bisher nicht festzustellen.

Material und Methoden

Material

Die Abkürzung der Herbarien folgt den internationalen Regeln [9]. Die Angaben in der Probenliste beschränken sich auf Sammler, Sammelnummern bzw.

Sonderdruckanforderungen an: Dr. Bernd Renner, Institut für Angewandte Botanik, Marseillerstraße 7, 2000 Hamburg 36.

0341-0382/82/0900-0739 \$ 01.30/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Revisionsnummern; Einzelheiten zu den Fundorten werden an anderer Stelle publiziert. *Nephroma analogicum* Nyl.: Argentinien, James 1842 (H), Dusén 39 (W). Chile, R. O. Cunningham (Isotypus W), Henssen & Vobis 24292 w (MB), Kunkel L 333 (UPS), Dusén 187, 44 (S), Roivainen (Holotypus von var. *macrospora* Räs., H), Roivainen (Holotypus von var. *squamosa* Räs., H), Wawra (Isotypus von *N. patagonicum* Kremp., UPS, W).

N. antarcticum (Wulf.) Nyl. inklusive *N. lobuligerum* (Müll. Arg.) Gyeln.: Argentinien, Henssen & Vobis 24361 a, 24364 d, 24402 b, c, 24461 a, 24484 j, m, 24497 g, 24572 k, 24582 m, 24583 e (alle Proben MB), M. Lamb 5812, 5946 (beide UPS). Chile, Henssen & Vobis 24297 d (MB), Harriot (Holotypus von *N. lobuligerum*, G). Neuseeland, v. Zanten 1467 (MB).

N. arcticum (L.) Torss.: Schweden, Henssen 21055 a (MB). *N. cellulsum* (Sm.) Ach. inklusive *N. lepidophyllum* Räs.: Argentinien, Menzies (Lectotypus von *N. cellulsum*, BM), Hensson & Vobis 24484 b, 24487 b, 24547 g, 24549 e, k, 24584 a, 24604 d (alle Proben MB), M. Lamb 6010 (Isotypus von *N. lepidophyllum* f. *hypomelaena* Räs., UPS). Chile, Roivainen (Holotypus von *N. lepidophyllum*, H), Henssen & Vobis 24258 g, 24296 c, 24320 d (alle MB).

N. expallidum (Nyl.) Nyl.: Norwegen, Schimper (Lectotypus H). Schweden, Henssen 18511 b (MB).

N. gyelnikii (Räs.) Lamb: Argentinien, Henssen & Vobis 24566 a, 24677 a (MB), Kühnemann 809 (UPS). Chile, Hollermayer (Holotypus und Isotypus H).

N. parile (Ach.) Ach.: Argentinien, Henssen & Vobis 24434 a (MB). Österreich, Henssen 18055 i (MB). USA, Nash 10392 (MB).

N. plumbeum (Mont.) Mont.: Argentinien, Kalela 114 c, 243 b (H). Chile Henssen & Vobis 24297 h (MB), Dusén 152 (S), Krause Rev. Nr. 554 (S), Santesson 2311 (Lich. austr. ex Herb. Regn. 442, H), Gunkel Rev. Nr. 555 (H).

N. pseudoparile Räs.: Argentinien, Henssen & Vobis 24661 a (MB). Chile, Looser 2973 (Holotypus H), Henssen & Vobis 24176 c, 24259 d, 24263 a (alle MB), Follmann 15663 (Kassel).

N. resupinatum (L.) Ach.: Schweden, Henssen 5307, 6556 (Hb. Henssen). Österreich, Henssen 6258 (Hb. Henssen).

Die Kennzeichnung der untersuchten Proben von *N. chubutense* M. Lamb, *N. kuehnemaniae* M. Lamb

und *N. microphyllum* Henssen erfolgte bereits in einer früheren Arbeit [1].

Methode

Die dünnschichtchromatographische Trennung von Vollextrakten in Aceton erfolgte in den Fließmitteln A, B, C [10] und G [11] sowie im Fall von *Nephroma analogicum* zusätzlich in einem für die Untersuchung von Ergochromen geeigneten System [5]; hier Fließmittel F: Chloroform (99 ml)/Methanol (1 ml) auf imprägnierten Kieselgel-G-Schichten. Zur Isolierung einzelner Komponenten aus den Chromatogrammen wurde ein Eluchrom (Fa. Camag) verwendet [2]. Die Registrierung der UV/VIS-Spektren eluierter Reinsubstanzen oder Substanzgemische in Methanol erfolgte mit einem DMR-10-Spektralphotometer (Fa. Zeiss). Die Massenspektren wurden mit einem Varian CH 7 A Massenspektrometer aufgenommen; Bedingungen: Direkteinlaß, Einlaßtemperatur: 240 °C; Source-Temperatur: variabel, zwischen 150 °C und 250 °C; Elektronenenergie: 70 eV; Ionenbeschleunigungsspannung: 3 kV; Vakuum: 10⁻⁶ Torr; Eichsubstanz: Perfluorkerosin.

Ergebnisse und Diskussion

Sekundärstoff-Muster I: *Nephroma analogicum*

Nach unseren Untersuchungen sind *Nephroma analogicum* und *Nephroma patagonicum* identisch. *N. analogicum* als der offensichtlich ältere Name hat Priorität: *N. analogicum* Nyl. [in Crombie J. Linn. Soc. London, Bot. **15**, 231 (gedruckt: 11. 7. 1876). Isotypus: W] syn. *N. patagonicum* Kremp. [in Verhandl. zool. bot. Ges. Wien **24**, 439 (dem Verein vorgelegt am 7. 6. 1876). Isotypus: W].

N. analogicum enthält eine Chlorococcale als Phycobionten. Es besteht eine beträchtliche Variabilität in der Gestalt der Sporen und des Lagers, was zur Beschreibung von zwei Varietäten (var. *macrospora* und var. *squamosa*) durch [12] führte. Alle 11 untersuchten Proben dieser Art einschließlich der beiden o. g. Varietäten erwiesen sich hinsichtlich ihrer phytochemischen Merkmale als identisch. Das Sekundärstoffspektrum setzt sich aus vier sehr charakteristischen Pigmenten zusammen. Drei davon sind in den Fließmitteln A, B und C nachzuweisen (Abb. 1 a, b), jedoch wegen ausgeprägter

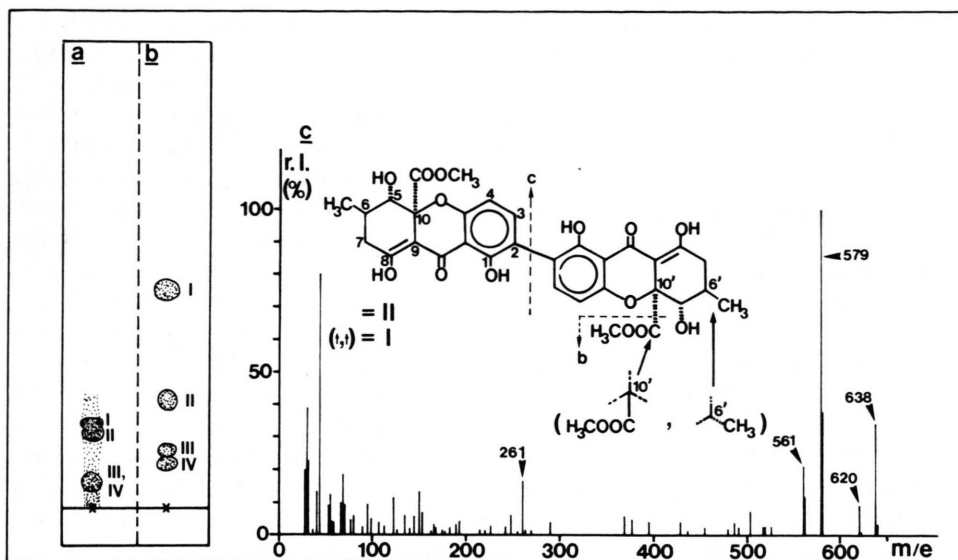


Abb. 1. Sekundärstoffanalytische Daten zu den Pigmenten von *N. analogicum*; a: Chromatogramm des Aceton-Extrakts in Fließmittel C; b: in Fließmittel F (Schicht mit L-Weinsäure imprägniert); I: Ergochrom AB; II: Ergochrom AA; III, IV: unbekannte Pigmente; c: Massenspektrum von Komponente I und II bei 240 °C und 70 eV; Fragmentierungen erfolgen durch Abspaltung der Carboxymethylester-Gruppe (b) und Bindungsbruch zwischen beiden Molekülhälften (c), ferner durch Abspaltung von H₂O (nicht eingezeichnet); die Konfigurationsunterschiede von Ergochrom AB (↑, ↑) beziehen sich auf die Carboxymethylester-Gruppe am C-10' und die Methylgruppe am C-6'.

Schweifbildung der Einzelkomponenten nicht klar voneinander zu trennen. Eine vollständige Trennung war dagegen zu erreichen, wenn mit L-Weinsäure (7,5%, w/v) oder Oxalsäure (6,3%, w/v) imprägniertes Kieselgel als Trennschicht [5] und das Fließmittelsystem (F) verwendet wurde [5], das sich zur Auftrennung von Ergochrom-, Ergoflavin- und Ergochrysingemischen bewährt hatte (Abb. 1 b).

Die Chromatographie führte zu zwei deutlich voneinander getrennten, gelbgefärbten Komponenten (I und II, Abb. 1 b) sowie einer weiteren gelbgefärbten (III, Abb. 1 b) und einer orangegefärbten (IV, Abb. 1 b). Auf eine Strukturaufklärung der Komponenten III und IV mußte wegen Substanzmangels verzichtet werden. Die methanolischen Eluate von Komponente I und II besitzen Maxima bei 238 und 341 nm (Komponente II) bzw. 239 und 339 nm (Komponente I). Die spektralen Daten machen eine Zuordnung dieser Komponenten zu den Ergochromen des Typs AA bzw. AB wahrscheinlich.

Die Massenspektren beider Eluate (Abb. 1 c) zeigen keine Unterschiede. Der beiden Pigmenten gemeinsame Molmassenpeak wird bei *m/e* 638 registriert. Eine Fragmentierung unter Verlust von H₂O

führt zu einem Fragment bei *m/e* 620. Der Verlust einer Carboxymethylester-Gruppe resultiert aus einem Fragment bei *m/e* 579 (Basispeak mit der rel. Int. von 100%). Die weitere Fragmentation der beiden Pigmente (s. Schema in Abb. 1 c) führt zu Fragmentationen bei *m/e* 561 (M – H₂O, – CH₃OCO) und *m/e* 261 (Spaltung der beiden Hexahydroxanthonhälften an der C-2/C-2'-Bindung und Abspaltung einer CH₃OCO-Gruppe).

Unter Berücksichtigung der spektralen und massenspektrometrischen Daten sowie des Fließverhaltens in Fließmittel F kommt Komponente I die Struktur des Ergochroms AB (= Secalonsäure C) zu. Komponente II ist das Konfigurationsisomere von Komponente I, das Ergochrom AA (= Secalonsäure A).

Die genannten Pigmente verleihen der Medulla von *N. analogicum* die auffallend gelbe Färbung, auf die bereits Nylander in der Originalbeschreibung (s. o.) aufmerksam machte. Außer in dieser Art tritt eine derart charakteristisch gelbgefärbte Medulla nur in *N. laevigatum* auf. Bei *N. laevigatum* ist diese Färbung des Marks jedoch auf ein komplexes Gemisch von mindestens sechs verschiedenen Anthrachinonen zurückzuführen [13]. Außerdem ent-

hält *N. laevigatum* im Unterschied zu *N. analogicum* das Triterpen $6\alpha,7\beta,22$ -trihydroxyhopan [4].

Sekundärstoff-Muster II: *Nephroma gyechnikii* und *Nephroma pseudoparile*

Beiden Arten gemeinsam ist der Phycobiont *Nostoc*. Gleichzeitig kommen bei ihnen Soral-ähnliche Gebilde und echte Sorale vor. Von *N. gyechnikii* wurden vier, von *N. pseudoparile* sechs Proben untersucht.

Tripeptide wie Tenuiorin, Methylgyrophorat und Gyrophorsäure sind in den Familien der Lecanorineae und Peltigerineae weit verbreitet. Sie treten einzeln oder zusammen auf in der Familie Parmeliaceae (*Parmelia*, z. B. [14, 15]; *Cetraria* [16]), Stictaceae (*Lobaria* [17]; *Pseudocyphellaria* [4, 18]) und auch in der Familie Peltigeraceae (bisher nur *Peltigera* [19]). Auch *Nephroma* als Gattung der Peltigeraceae bzw. Peltigerineae [20] enthält diese Sekundärstoffe, wie unsere Untersuchungen an *N. gyechnikii* und *N. pseudoparile* zeigen (Abb. 2 b).

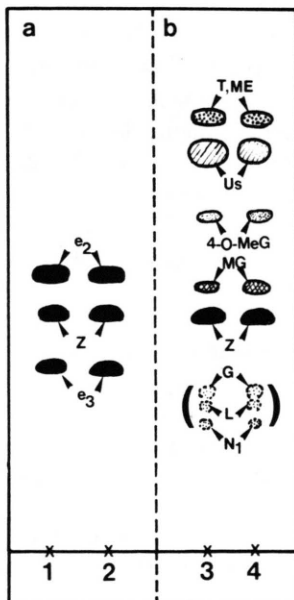


Abb. 2. Chromatogramme von Aceton-Extrakten der Arten *N. parile* (a, 1) und *N. expallidum* (a, 2) sowie *N. gyechnikii* (b, 3) und *N. pseudoparile* (b, 4) in Fließmittel C; e_2 : 15α -acetoxy-22-hydroxyhopan; Z: Zeorin; e_3 : 15α -22-dihydroxyhopan; T: Tenuiorin; ME: Methylevernat; 4-O-MeG: 4-O-Methylgyrophorsäure; MG: Methylgyrophorat; G: Gyrophorsäure; L: Lecanorsäure; N_1 : Unbekannte Komponente; () : nicht konstitutive Stoffe.

Der Nachweis dieser und anderer Depside ist dünnschichtchromatographisch möglich. Die Chromatographie der Aceton-Vollextrakte von *Lobaria linita* (Tenuiorin, Methylgyrophorat) und *Peltigera aphthosa* (Tenuiorin, Methylgyrophorat, Gyrophor- und Lecanorsäure) lieferte die für den Vergleich notwendigen Referenzsubstanzen. Die in den beiden *Nephroma*-Arten ebenfalls vorkommenden Depside 4-O-Methylgyrophorsäure und Lecanorsäure wurden mittels Chromatographie hochkonzentrierter (!) Aceton-Vollextrakte nachgewiesen. Die Vergleichssubstanz 4-O-Methylgyrophorsäure war durch Cochromatographie eines Extraktes von *Lobaria erosa* zugänglich.

Erst die zweidimensionale Chromatographie der Vollextrakte in Fließmittel A (1. Dimension) und B (2. Dimension) belegte das Vorhandensein von Methylevernat, einem Depsid, das häufig als Assoziat von Tenuiorin auftritt [4, 18]. Die spektralphotometrische Analyse von methanolischen Eluatens dieser Depside (Tenuiorin, 4-O-Methylgyrophorsäure, Methylgyrophorat, Gyrophor- und Lecanorsäure) sowie deren massenspektrometrische Untersuchung weisen wegen nahezu identischer Absorptionsmaxima bzw. Fragmentationen keine guten Unterscheidungskriterien auf [4].

Außer den o. g. Depsiden kommen in beiden Arten noch Usninsäure und das Triterpen Zeorin vor (Abb. 2 b). Diese beiden Inhaltsstoffe bestätigten auch Huneck und Follmann [21] bei ihren Analysen von *N. gyechnikii*. Ferner konnten wir in beiden Species noch eine unbekannte Komponente N_1 (Abb. 2 b) nachweisen, die allerdings nur in Spuren auftritt und daher einer exakten Analyse nicht zugänglich ist. Diese Komponente (N_1) sowie die Depside Gyrophor- und Lecanorsäure sind weder in *N. gyechnikii* noch in *N. pseudoparile* konstitutiv.

Sekundärstoff-Muster III: *Nephroma parile* und *Nephroma expallidum*

Von der auf der nördlichen Hemisphäre häufigen Arten *N. parile* lag uns eine eigene Aufsammlung aus Südamerika vor, die anatomisch und chemisch vollständig mit den beiden nördlichen Proben übereinstimmte. *N. expallidum*, die im Gegensatz zu *N. parile* nicht *Nostoc*, sondern eine einzellige Grünalge als Phycobionten enthält, haben wir in diese Übersicht mitaufgenommen (zwei untersuchte Proben), da sie phytochemische Übereinstimmung zeigt.

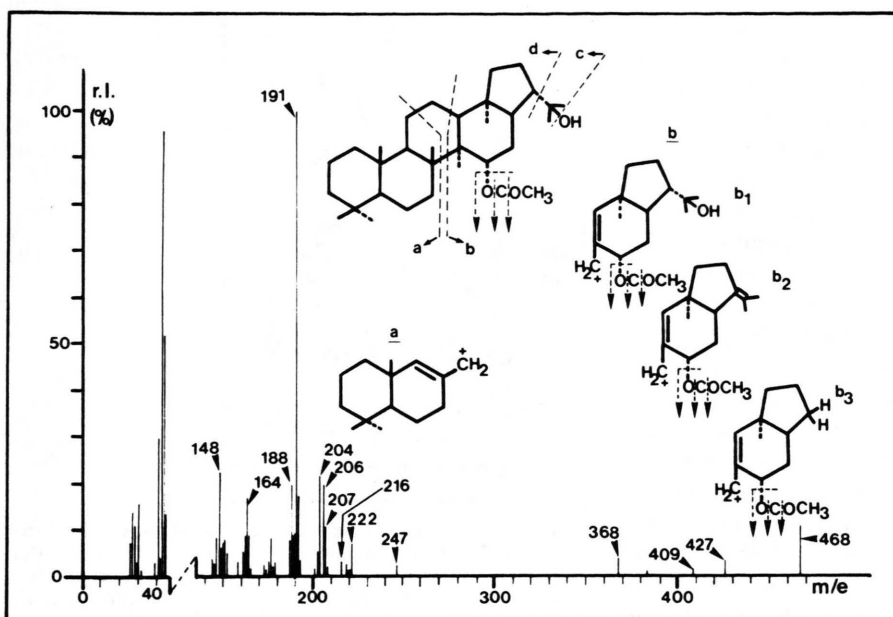


Abb. 3. Massenspektrum von Komponente e_2 (15 α -acetoxy-22-hydroxyhopan) bei 180 °C und 70 eV; die Fragmentierung des Hopan-Gerüsts führt zu Fragmenten des Typs a, b, c, d; das Fragment b, fragmentiert schrittweise unter Abspaltung des Isopropanol-Restes über das Fragment b_2 zum Fragment b_3 ; alle drei Fragmentionen können wiederum drei Einzelfragmente aus der sukzessiven Abspaltung der Acetoxy-Gruppe am C-15 liefern.

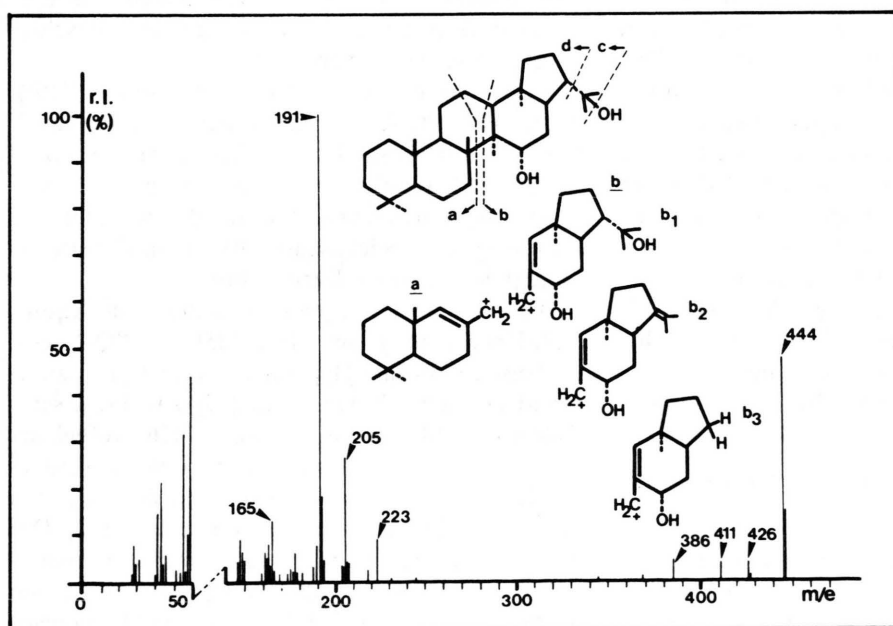


Abb. 4. Masenspektrum von Komponente e_3 (15 α -22-dihydroxyhopan) bei 180 °C und 70 eV; die Fragmentierung erfolgt wie für Komponente e_2 beschrieben.

Beide Arten enthalten drei Triterpene, die sich besonders in Fließmittel C gut auftrennen lassen (Abb. 2 a) und durch ihre spezifischen Fluoreszenzfarben bei der Detektierung mit UV-Licht der Wellenlänge 366 nm nach (!) dem Entwickeln der Chromatogramme mit 10-prozentiger Schwefelsäure eindeutig voneinander zu unterscheiden sind. Das Triterpen mit dem größten R_F -Wert (Komponente e_2 , Abb. 2 a) erwies sich aufgrund seiner Mobilität in allen Chromatogrammen als identisch mit 15 α -acetoxy-22-hydroxyhopan (= Dolichorrhizin [22]). Da Takahashi et al. [23] diesen Neutralstoff für *Peltigera dolichorrhiza* beschrieben, wurde diese Art zur Co-chromatographie herangezogen. Die Identität von e_2 mit dem Triterpen 15 α -acetoxy-22-hydroxyhopan wird auch massenspektrometrisch bestätigt, wie das Auftreten der aus dem Fragmentationsschema theoretisch ableitbaren Fragmente zeigt (Abb. 3): Fragment a: m/e 191; b_1 ($-\text{OCH}_3$): m/e 234; b_1 ($-\text{COCH}_3$): m/e 222; b_1 ($-\text{OCOCH}_3$): m/e 207; b_2 : m/e 247; b_2 ($-\text{OCH}_3$): m/e 216; b_2 ($-\text{COCH}_3$): m/e 204; b_2 ($-\text{OCOCH}_3$): m/e 188; b_3 : m/e 207; b_3 ($-\text{OCH}_3$): m/e 176; b_3 ($-\text{COCH}_3$): m/e 164; b_3 ($-\text{OCOCH}_3$): m/e 148; c: m/e 468; d: m/e 427; der Molmassenpeak sowie das Fragment b_1 wurden unter den gewählten Bedingungen nicht registriert.

Komponente Z ist identisch mit dem Triterpen Zeorin. Dieses pentacyclische Dihydroxyhopan charakterisierten wir bereits als Inhaltsstoff von *Nephroma cellulosum* (Renner und Gerstner 1978). Komponente e_3 besitzt in Fließmittel C den kleinsten R_F -Wert und zeigt dasselbe Fließverhalten wie das Triterpen 15 α -22-dihydroxyhopan, das von Corbett und Young [24] für *Pseudocyphellaria billardieri* beschrieben wurde. Im Massenspektrum von Komponente e_3 werden die erwarteten Fragmentationen registriert (Abb. 4); damit ist vorbehaltlos das Vorliegen dieses Triterpens bestätigt: M^+ : m/e 444; Fragment a: m/e 191; b_1 : m/e 223; b_2 : m/e 205; b_3 : m/e 165; c: m/e 426; d: m/e 384; ferner tritt noch das Fragment $M^+ (-\text{H}_2\text{O}, -\text{CH}_3)$ bei m/e 411 auf.

Sekundärstoff-Muster IV: *Nephroma antarcticum* und *Nephroma lobuligerum*

Die beiden südhemisphärischen Arten enthalten einzellige Grünalgen als symbiotische Algen. Sie sind durch morphologische Übergangsformen verbunden. Die drei phytochemischen Untergruppen zeigen keine Korrelation zu den Morphotypen.

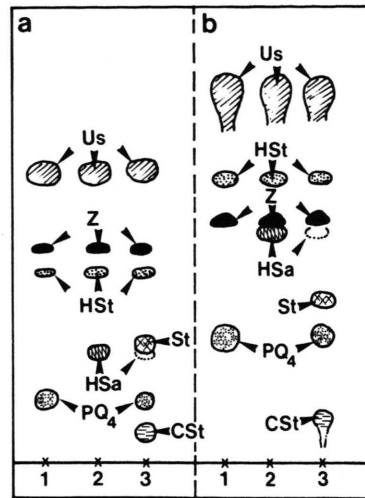


Abb. 5. Chromatogramme von Aceton-Extrakten der beiden Arten *N. antarcticum* und *N. lobuligerum* in Fließmittel A (a) und G (b); 1–3: Sekundärstoffverteilung in den phytochemischen Untergruppen 1–3; Us: Usninsäure; Z: Zeorin; HSt: Hypostictinsäure; HSa: Hyposalazinsäure; St: Stictinsäure; PQ-4: unbekanntes Depsidon; CSt: Constictinsäure.

Als konstant phytochemische Merkmale treten bei allen 16 analysierten Proben Usninsäure und das Triterpen Zeorin auf (Abb. 5 a, b). Qualitative und z. T. quantitative Unterschiede bestehen dagegen in den zusätzlich vorhandenen Depsidonen. Entsprechend ihres Auftretens ergeben sich drei verschiedene Untergruppen (Abb. 5 a, b):

1. Usninsäure (Us), Hypostictinsäure (HSt), Zeorin (Z), PQ-4, vertreten durch eine Probe; 2. Usninsäure, Hypostictinsäure, Zeorin, Hyposalazinsäure (HSa), vertreten durch eine Probe; 3. Usninsäure, Hypostictinsäure, Zeorin, Hyposalazinsäure (nur in Spuren), Stictinsäure (St), PQ-4, Constictinsäure (CSt), vertreten durch 14 Proben.

Die Struktur von Hypostictinsäure (syn. „quintaria-Unbekannte 1“ sens. Hale [25] bzw. PQ-1 sens. Culbertson [10]) und Hyposalazinsäure (syn. „quintaria-Unbekannte 2“ sens. Hale [25] bzw. PQ-2 sens. Culbertson [10]) konnte von Koegh [26] aufgeklärt und durch unsere Untersuchungen bestätigt werden. Die Depsidone Stictin- und Constictinsäure wurden bereits ausführlich von uns charakterisiert [27]. Die weiterhin in Untergruppe 1 und 3 enthaltene Komponente PQ-4 (sens. Culbertson [10]) – auch sie wurde von Hale [25] als Inhaltsstoff von *Xanthoparmelia quintaria* beschrieben – ist wahrscheinlich ebenfalls ein Depsidon; dies wird aus dem massen-

spektrometrischen Fragmentationsmuster [4] deutlich. Eine genaue Analyse der Substituenten im A- und B-Ring durch NMR-Spektroskopie steht wegen Substanzmangels noch aus.

Sekundärstoff-Muster V: *Nephroma plumbeum* und *Nephroma resupinatum*

Die beiden Arten enthalten *Nostoc* als Phycobionten. Sie sind anatomisch durch eine glasklare, aus isodiametrischen Zellen bestehende obere Lagernde ausgezeichnet. *N. plumbeum* fehlen die Tuberkel („Attemporen“) als Auswüchse der unteren Thallusrinde [20]. Die von uns untersuchten sieben Proben von *N. Plumbeum* und vier Proben von *N. resupinatum* variieren in der Farbe und der Dicke des Lagers.

Weder in *N. plumbeum* noch in *N. resupinatum* konnten wir Flechteninhaltsstoffe nachweisen. Das Vorkommen solcher sekundärstofffreier Arten in Gattungen, die sich durch einen z. T. sehr komplexen Sekundärstoffwechsel auszeichnen, ist nicht auf die Gattung *Nephroma* beschränkt. Auch in der nach unseren bisherigen Untersuchungen [4] phytochemisch wesentlich komplexeren Stictaceen-Gattung *Pseudocyphellaria* treten sekundärstofffreie Arten auf. Darüber hinaus zeigen die beiden Beispiele *Pseudocyphellaria hirsuta* (Phycobiont: *Nostoc*) und *Ps. nitida* (Phycobiont: einzellige Grünalge), daß die Erscheinung, keine Sekundärstoffe zu synthetisieren, nicht mit der symbiotischen Assoziation bestimmter Phycobionten korreliert (Renner unveröffentlicht).

Sekundärstoff-Muster VI: *Nephroma cellulolum* und *Nephroma lepidophyllum*

Eine ausführliche Charakterisierung der Sekundärstoffe von *N. cellulolum* erfolgte bereits früher [2]. *N. lepidophyllum* ist phytochemisch mit *N. cellulolum* völlig identisch. Die fünf in diesen beiden Arten vorkommenden akzessorischen Stoffe ($N_2 - N_6$), höchstwahrscheinlich O-Methyl-Derivate von Perlatolin- und Stenosporinsäure, sind im Gegensatz zu den vier Hauptinhaltsstoffen (Stenosporinsäure, Perlatolinsäure, Glomellifensäure und Zeorin) nicht alle konstitutiv und korrelieren außerdem nicht mit den äußerst variierenden morphologischen Merkmalen. Beide Arten sind durch eine Reihe morphologischer Übergangsformen eng miteinander verbunden. Alle übrigen Sekundärstoff-Muster (VII,

VIII und IX) sowie Einzelheiten über die Morphologie und Anatomie der sie repräsentierenden Arten wurden bereits detailliert von uns beschrieben [1].

Zusammenfassung

Die Ergebnisse aller von uns durchgeführten phytochemischen Analysen sind in Tab. I zusammengefaßt. Von den insgesamt 34 nachgewiesenen Sekundärstoffen stellt die Gruppe der Depside mit 14 Stoffen den bei weitem größten Anteil dar. Dieser Gruppe müssen auch noch einige der z. Z. unbekannten Komponenten ($N_2 - N_6$) zugerechnet werden. Der Depsidcharakter der ebenfalls noch nicht vollständig identifizierten Komponenten a_{19} , a_{P1} und a_{P2} ist sichergestellt [4]. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse einiger bereits beschriebener *Nephroma*-Arten [13, 28] sowie unserer Untersuchungen an weitgehend nur in Südamerika vorkommenden Arten wird schätzungsweise mit insgesamt 45–55 Inhaltsstoffen in dieser Gattung zu rechnen sein. *Nephroma* besitzt eine ähnliche phytochemische Komplexität wie *Peltigera*. Legt man die in Tab. I aufgeführten Sekundärstoffe zugrunde, besteht zur Parmeliaceen-Gattung *Parmelia* die auffälligste phytochemische Ähnlichkeit.

Wird von Sekundärstoff-Muster V als Muster im eigentlichen Sinne abgesehen, erweisen sich die Sekundärstoff-Muster I, III, VII und IX (Tab. I), d. h. die Zahl und Art der Sekundärstoffe, bei allen untersuchten Proben als konstant. Im Gegensatz dazu zeigen die drei anderen Muster (Tab. I, II, IV, VI) eine z. T. weitreichende Variabilität, denen eine Variabilität in morphologischen Kriterien entspricht, ohne daß eine Korrelation vorhanden wäre.

Eine Beziehung zwischen bestimmten Inhaltsstoffen und den systematisch sehr verschiedenen Phycobionten (Prokaryont: *Nostoc*, Eukaryont: Chlorococcale) existiert nicht. In einzelnen Fällen besteht nahezu völlige Identität des Sekundärstoffspektrums zwischen Blau- und Grünalgen-Morphotypen (Tab. I, III, VII).

Danksagung

Diese Arbeit wurde durch eine Forschungsbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt. Unser Dank gilt ferner den Kuratoren der internationalen Herbarien für das zur Verfügung gestellte Material sowie Herrn Dr. K. Steinbach (Fachbereich Chemie) für die Aufnahme der Massenspektren.

Tab. I. Sekundärstoffe in *Nephroma*-Arten; X: Stoff vorhanden; (X): Stoff nicht konstitutiv, Lageralge, G: Grünalge, B: Blaualge.

Arten	<i>N. analogicum</i> <i>N. patagonicum</i>	<i>N. gyeleikii</i> <i>N. pseudoparile</i>	<i>N. expallidum</i> <i>N. parile</i>	<i>N. antarcticum</i> /	<i>N. lobuligerum</i> <i>N. resupinatum</i> <i>N. plumbeum</i>	<i>N. cellulosum</i> [2] <i>N. lepidophyllum</i> [2]	<i>N. microphyllum</i> [1] <i>N. Kuehnemanni</i> [1]	<i>N. arcticum</i> [1]	<i>N. chubutense</i> [1]
Sekundärstoffe									
Usninsäure		x		x x x			x ?	x	x
Tenuiorin		x							
Methylgyrophorat		x							
4-O-Methylgyrophorsäure		x							
Methylevernat		x							
Gyrophorsäure		(x)							
Lecanorsäure		(x)							
Nephroarctin								x	
Phenarctin							x x x		
A19 [4]							x x		
AP1 [4]							x ?		
AP2 [4]							x x		
Perlatolinsäure						x			
Stenosporinsäure						x			
Glomellifersäure						x			
Stictinsäure					x				
Constictinsäure					x				
Hypostictinsäure				x x x					
Hyposalazinsäure				x x	x x				
PQ4					x x				
Ergochrom AA	x								
Ergochrom AB	x								
Komponente III	x								
Komponente IV	x								
Zeorin		x	x	x x x		x		x	
15 α -OAC,22-hydroxyhopan			x						
15 α ,22-Dihydroxyhopan			x						
6 α ,7 β ,22-Trihydroxyhopan									x
Unbekannte N1		(x)							
Unbekannte N2						x			
Unbekannte N3						x			
Unbekannte N4						x			
Unbekannte N5						x			
Unbekannte N6						(x)			
Sekundärstoff-Muster	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Lageralge	G	B	G/B	G	B	B	B G G	B	B

[1] A. Henssen, G. Keuck und B. Renner, *Mycotaxon* **7**, 357–370 (1978).[2] B. Renner und E. Gerstner, *Z. Naturforsch.* **33 c**, 340–345 (1978).[3] A. Henssen, G. Keuck, G. Vobis und B. Renner, *The Lecanoralean centrum In: Ascomycete Systematics. The Luttrellian Concept* (D. R. Reynolds ed.) S. 138–234. Springer Verlag New York, Heidelberg and Berlin 1981.

[4] B. Renner, Untersuchungen zum Einfluß der symbiotischen Alge auf den Stoffwechsel und die Struktur des Flechtenlagers. Dissertation Marburg 1980.

[5] B. Franck, E. M. Gottschalk, U. Ohnsorge und F. Hüper, *Chem. Ber.* **99**, 3842–3862 (1966).[6] P. S. Steyn, *Tetrahedron* **26**, 51–57 (1970).[7] I. Yosioka, T. Nakanishi und I. Kitagawa, *Chem. & Pharm. Bull.* (Tokyo) **16**, 2090–2091 (1968).[8] I. Yosioka, H. Yamauchi, K. Murata und I. Kitagawa, *Chem. Pharm. Bull. (Japan)* **20**, 1082–1084 (1972).[9] F. A. Stafleu (gen. Ed.), P. K. Holmgren und W. Keuken, *Index Herbariorum Part I: The herbaria of the world*. Oosthoek, Scheltema & Holkema publ. Utrecht 1974.[10] C. F. Culberson, *J. Chromatog.* **72**, 113–125 (1972).[11] C. F. Culberson, W. L. Culberson und A. Johnson, *The Bryologist* **84**, 16–29 (1981).[12] V. Räsänen, *Ann. Bot. Soc. zool.-bot. Fenn. Vanamo* **2**, 1–68 (1932).

- [13] G. Bohman, *Ark. Kemi* **30**, 217–223 (1968).
- [14] K. E. Ohlsson, *The Bryologist* **76**, 366–387 (1973).
- [15] E. L. Esslinger, *J. Hattori Bot. Lab.* **42**, 1–211 (1977).
- [16] Y. Asahina und S. Shibata, *Chemistry of lichen substances*. Japan Society for the promotion of science 1954.
- [17] C. F. Culberson, *The Bryologist* **72**, 19–27 (1969).
- [18] A. L. Wilkins und P. W. James, *Lichenologist* **11**, 271–281 (1979).
- [19] W. S. G. Maass, *Phytochemistry* **14**, 2487–2489 (1975).
- [20] A. Henssen und H. M. Jahns, *Lichenes, Eine Einführung in die Flechtenkunde*. Thieme Verlag Stuttgart 1973 [„1974“].
- [21] S. Huneck und G. Follmann, *Z. Naturforsch.* **20 b**: 1012–1013 (1965).
- [22] S. Kurokawa, Y. Jinzenji, S. Shibata und H.-D. Chiang, *Bull. Natl. Sci. Mus. Tokio* **9**, 101–114 (1966).
- [23] R. Takahashi, O. Tanaka und S. Shibata: *Phytochemistry* **9**, 2037–2040 (1970).
- [24] R. E. Corbett und H. Young, *J. Chem. Soc.* **1966 C**, 1564–1567.
- [25] M. E. Hale, *Bot. Notiser* **124**, 343–354 (1971).
- [26] M. F. Koegh, *Phytochemistry* **17**, 1192–1193 (1978).
- [27] B. Renner und E. Gerstner, *Z. Pflanzenphysiologie* (1982, im Druck).
- [28] C. M. Wetmore, *Biol. Ser.* **1**, 371–452 (1960).