

## E ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY

Ziel der Untersuchungen war die chemische Charakterisierung von bisher unbekanntem ätherischen Ölen volksheilkundlich verwendeter Arten Venezuelas. Der Schwerpunkt der Arbeit lag dabei auf der Gattung *Lepechinia* (Lamiaceae), die im Páramos der venezolanischen Anden verbreitet ist. Diese Gattung war nur ansatzweise wissenschaftlich untersucht und bot somit die Möglichkeit, neben der Durchführung phytochemischer Untersuchungen auch chemotaxonomische Fragestellungen zu bearbeiten sowie sensorische und pharmakologische Tests durchzuführen. Hauptobjekte der Untersuchungen waren die beiden venezolanischen *Lepechinia*-Arten *Lepechinia salviaefolia* (KUNTH) EPL. und *L. bullata* (KUNTH) EPL. Mit in die Untersuchungen einbezogen wurden außerdem *Lantana caracasana* TURCZ. (Verbenaceae), *Salvia palaefolia* H.B.K. (Lamiaceae) aus Venezuela und eine aus Mexiko stammende Handelsware von *Lepechinia caulescens* (ORT.) EPL.

Alle in der Arbeit untersuchten Öle bestanden fast ausschließlich aus Terpenen mit jedoch jeweils unterschiedlichen Anteilen an Mono-, Sesqui- und Diterpenen. Im ätherischen Öl (Blatt) von *L. salviaefolia* wurden 84 Komponenten gefunden, wobei das Komponentenspektrum einzelner Pflanzen stark variierte. Mit Hilfe multivariater statistischer Analysemethoden konnten drei Chemotypen definiert werden. Der Palustrol-Typ enthielt als Hauptkomponenten Palustrol (19%),  $\beta$ -Phellandren (14%) und Borneol (12%). Der Premnaspirodien-Typ zeichnete sich durch die Hauptkomponenten  $\beta$ -Phellandren (13%), Borneol (12%) und Premnaspirodien (9%) aus. Der dritte Chemotyp wurde als  $\Delta^3$ -Caren/T-Cadinol-Typ bezeichnet und enthielt als Hauptkomponenten  $\Delta^3$ -Caren (13%), T-Cadinol (9%) und Palustrol (9%). Insgesamt wurden 60 Einzelpflanzen der Art von vier Standorten in Venezuela untersucht.

Das ätherische Öl (Blatt) von *L. bullata* enthielt 65 Komponenten, davon als Hauptkomponenten die Sesquiterpene Premnaspirodien (36%), Spathulenol (12%) und Spirolepechinen (9%). Es zeichnete sich gegenüber *L. salviaefolia* durch das Vorkommen von Diterpenen (8%) aus. Die Art erwies sich dabei als vergleichsweise gleichförmig in der Ausprägung des Komponentenspektrums ihres ätherischen Öls. Insgesamt wurden 40 Einzelpflanzen von *L. bullata* dreier Standorte in Venezuela untersucht.

Die Reproduzierbarkeit der Chemotypen von *L. salviaefolia* sowie die Reproduzierbarkeit der Ölzusammensetzung von *L. bullata* in der Tochtergeneration konnte durch Nachzucht aus Samen in Hamburg belegt werden. Damit können die Chemotypen von *L. salviaefolia* als chemische Rassen im Hegnauerschen Sinn bezeichnet

werden. Diese Untersuchungen zeigten auch, daß die Ausprägung des Ölmusters weitgehend unabhängig von Umweltbedingungen wie Standort und Klima ist.

Die *in vitro*-Prüfung der ätherischen Öle von *L. bullata* und *L. salviaefolia* auf ihre Hemmaktivität gegenüber der Cyclooxygenase-1 und Cyclooxygenase-2 ergab eine gute Wirksamkeit ( $IC_{50}$  = ca. 50  $\mu$ l/ml, COX-1) des Öls von *L. salviaefolia* (Palustrol-Typ) im Testsystem und eine nur sehr geringe Aktivität des ätherischen Öls von *L. bullata*.

Aus den beiden anderen venezolanischen Arten konnten ätherische Öle mit weniger interessanten Hauptkomponenten gewonnen werden.  $\beta$ -Caryophyllen (93%) erwies sich als Hauptkomponente des Öls von *Salvia palaefolia* (Kraut); ebenfalls  $\beta$ -Caryophyllen (19%) sowie  $\alpha$ -Humulen (10%) charakterisierten das Blattöl von *Lantana caracasana* (Verbenaceae). Als interessanter Naturstoff konnte hier Guaiol (4%) gefunden werden. Weiterhin kam das ätherische Öl zweier Handelswaren von *Lepechinia caulescens* aus Mexiko zur Untersuchung. Sie erwiesen sich als sehr unterschiedlich in ihrer Zusammensetzung mit  $\beta$ -Pinen (25%), Limonen (18%) und Camphen (9%) bzw. Limonen (33%) und Sabinen (20%) als Hauptkomponenten.

Als neuer Naturstoff konnte (-)-Spirolepechinen aus dem ätherischen Öl von *L. bullata* isoliert und strukturell charakterisiert werden. Es handelt sich bei dem Sesquiterpenkohlenwasserstoff um ein Spiro[4.5]decan, das zur Gruppe der Spirojatamane gehört. Auch der Hauptinhaltsstoff des Öls von *L. bullata*, (-)-Premnaspirodien, zählt als Spirovetivan zu den Spirosesquiterpenen. Beide Komponenten sind seltene und außergewöhnliche Strukturen. Ausgehend von einem gemeinsamen biogenetischen „Precursor“ wurde ein Biosyntheseweg für Spirolepechinen und Premnaspirodien vorgeschlagen. Der ebenfalls als Hauptinhaltsstoff seltene Sesquiterpenalkohol (-)-Palustrol konnte aus dem ätherischen Öl von *L. salviaefolia* isoliert und die in der Literatur unterschiedlich dokumentierte Struktur mittels zweidimensionaler NMR-Spektroskopie klargestellt werden.

Die sensorischen Qualitäten der untersuchten ätherischen Öle wurde durch Vertreter der Duftstoffindustrie beurteilt. Eine sehr gute Note erhielten die ätherischen Öle von *L. bullata* und *L. caulescens*; das ätherische Öl von *Lantana caracasana* erhielt die Note gut. Damit sind sie als Ausgangsstoffe für die Duftstoffindustrie von großem Interesse.

Insgesamt konnte mit der vorliegenden Arbeit ein Beitrag zur Chemie und Taxonomie der Gattung *Lepechinia* auch unter Berücksichtigung angewandter Fragestellungen geleistet werden.

## SUMMARY

The aim of this study was the chemical characterisation of unknown essential oils from Venezuelan plants used in traditional medicine. The genus *Lepechinia* (Lamiaceae) which is widely distributed in the Páramos of the Venezuelan Andes was the main target of the investigations because only a few species have been studied before. Phytochemical analyses and chemotaxonomic investigations were the main tasks. Additionally sensory and pharmacological aspects were considered. *Lepechinia salviaefolia* (KUNTH) EPL. and *L. bullata* (KUNTH) EPL. the only Venezuelan *Lepechinia* species were the objects of this study. *Lantana caracasana* TURCZ. (Verbenaceae), *Salvia palaefolia* H.B.K. (Lamiaceae) from Venezuela and commercial samples of *Lepechinia caulescens* (ORT.) EPL. purchased in Mexico were included.

All the investigated oils almost exclusively consisted of terpenes with differing portions of mono-, sesqui-, and diterpenes. In the essential leaf oil from *L. salviaefolia* 84 compounds could be detected. The pattern of the essential oils within individual plants varied considerably. This phenomenon was investigated in a more detailed way by means of multivariate statistical analysis resulting in the definition of three chemotypes. The palustrol-type contained palustrol (19%),  $\beta$ -phellandrene (14%) and borneol (12%) as the main compounds. In the oil of the premnaspirodien-type  $\beta$ -phellandrene (13%), borneol (12%) and premnaspirodien (9%) dominated. A third chemotype called  $\Delta^3$ -carene/T-cadinol-type showed  $\Delta^3$ -carene (13%), T-cadinol (9%) and palustrol (9%) to be the main components. In total 60 individual plants collected at four different sites in Venezuela were analysed.

In the leaf oil of *L. bullata* 65 compounds could be detected with the sesquiterpenes premnaspirodien (36%), spathulenol (12%), and spirolepechinene (9%) as the main components. The oil differed from that of *L. salviaefolia* by the occurrence of diterpenes (8%). The intraspecific variation of the oil pattern turned out to be comparatively low. In total 40 individual plants of *L. bullata* collected at three different sites were analysed.

The reproducibility of the chemotypes of *L. salviaefolia* and that of the oil composition of *L. bullata* was established by analysing various descendants cultivated from seeds in Hamburg. In consequence the chemotypes of *L. salviaefolia* can be described as "chemical races" according to Hegnauer's definition. Furthermore these investigations showed the oil pattern to be independent of environmental conditions such as habitat and climate.

Concerning the effects on cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2, an *in vitro*-assay testing the essential oils revealed that *L. salviaefolia* (palustrol-type) was effective (IC<sub>50</sub>= approx. 50 µl/ml, COX-1) whereas *L. bullata* showed only weak effects.

The main components of the essential oils of the other Venezuelan species were of less interest. β-Caryophyllene (93%) turned out to be the main component of the oil of *Salvia palaefolia* (aerial parts); again β-caryophyllene (19%) as well as α-humulene (10%) characterised the leaf oil of *Lantana caracasana* (Verbenaceae). In the latter guaiol (4%) was found to be an interesting compound. Additionally the essential oils of two commercial samples of *Lepechinia caulescens* from Mexico were investigated. Concerning their oil composition they proved to be very different with β-pinene (25%), limonene (18%), camphene (9%) or limonene (33%) and sabinene (20%) as main components respectively.

Spirolepechinene, a new natural compound, could be isolated from the essential oil of *L. bullata* and elucidated by means of spectroscopic methods. This sesquiterpene hydrocarbon turned out to be a spiro[4.5]decane belonging to the spirojatamane group. Also premnaspirodiene, the main component of the oil of *L. bullata*, can be described as spirosesquiterpene. Both compounds have rare and exceptional structures. Assuming an identical biogenetic precursor, a biosynthetic pathway of premnaspirodiene and spirolepechinene was proposed. (-)-Palustrol, a sesquiterpene alcohol also rare as a main component, could be isolated from the essential oil of *L. salviaefolia*. Its divergent structures published in literature were re-examined and corrected by means of two-dimensional NMR-spectroscopy.

The sensory quality of the essential oils was assessed by representatives of the fragrance industry and revealed excellent sensory properties of the essential oils of *L. bullata* and *L. caulescens*, and good sensory properties of the essential oil of *Lantana caracasana*. Consequently all three oils are of outstanding interest as raw materials in the fragrance industry.

With this study a contribution to the chemistry and taxonomy of the genus *Lepechinia* - including applied aspects - was achieved.