



Tobias Fiesel (Autor)

## Aromatische Prenyltransferasen aus *Hypericum*-Arten

Biosynthese (poly-)prenylierter Acylphloroglucin-Derivate im Johanniskraut



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/7449>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

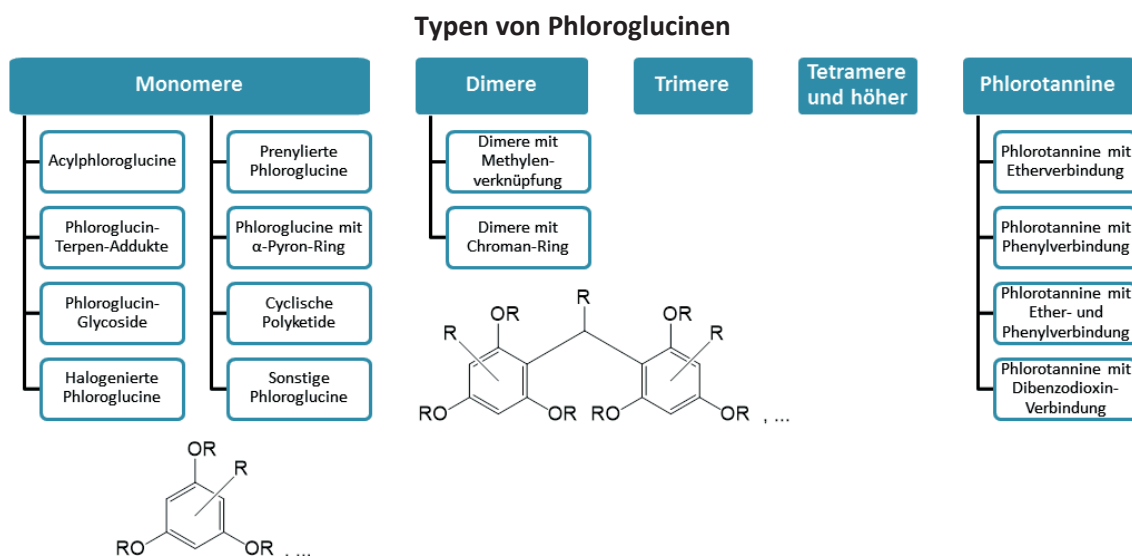


# 1 EINLEITUNG UND GRUNDLAGEN

## 1.1. Pflanzliche Phloroglucin-Derivate

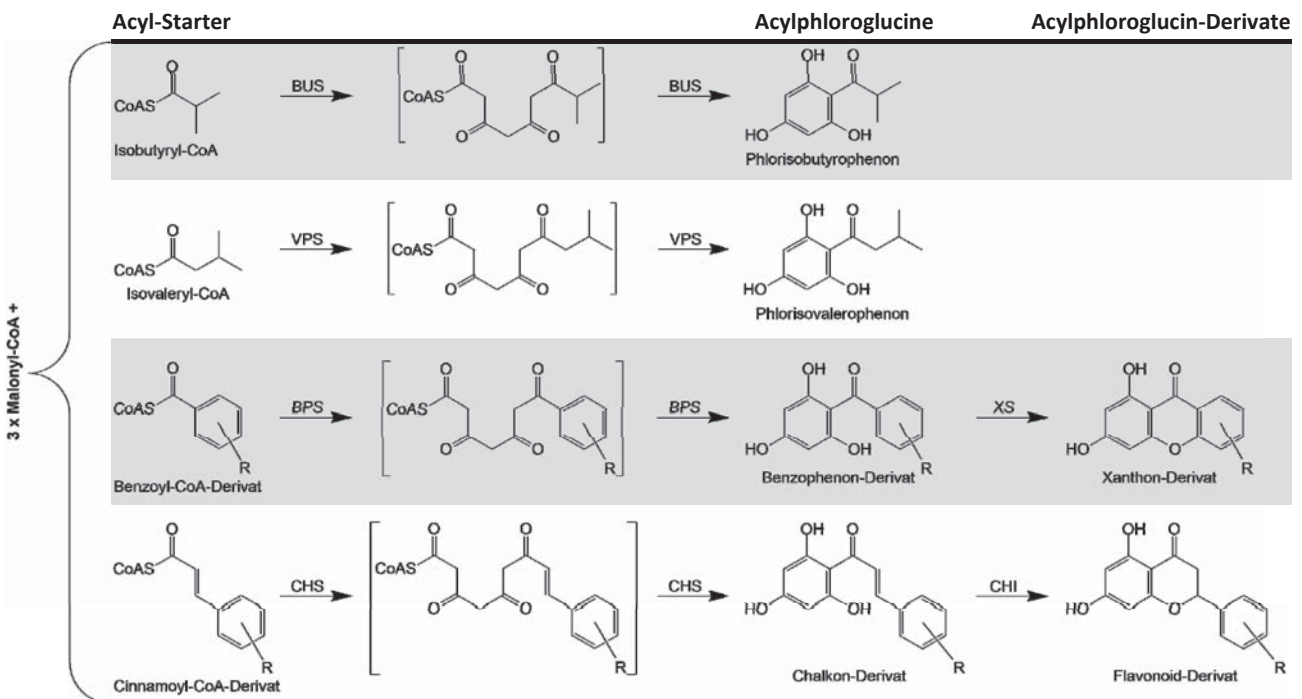
Das dreiwertige Phenol Phloroglucin (1,3,5-Trihydroxybenzol) ist das strukturelle Grundgerüst einer Vielzahl von bedeutenden Naturstoffklassen, die ubiquitär im Pflanzenreich, v.a. in Asteraceae, Cannabaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, Fagaceae, Hypericaceae, Myrtaceae, Rosaceae und Rutaceae sowie bei Pilzen, marinen Lebewesen und Mikroorganismen zu finden sind<sup>[1]</sup>. Derivate des Phloroglucins sind insbesondere für Pflanzen, die permanent an ihren Standort und die dort vorherrschenden Bedingungen gebunden sind, wichtige phytochemische Stoffwechselprodukte. Diese werden entweder konstitutiv oder als Reaktion auf akute äußere Umwelteinflüsse gebildet und dienen den Pflanzen zur Interaktion mit der Außenwelt, v.a. der Anlockung von Bestäubern durch Farb-/Duftstoffe, der chemischen Verteidigung gegen Pathogene und Fressfeinde (Herbivoren) sowie dem Schutz vor UV-Strahlung und Verdunstung. Bezeichnet werden derart funktionelle Metabolite als Sekundärstoffe, Sekundärmetabolite oder sekundäre Pflanzenstoffe – Produkte des pflanzlichen oder mikrobiellen Sekundärmetabolismus, die nicht zwingend existenziell für den sie produzierenden Organismus sind, sondern ihm (Selektions-)Vorteile zum Überleben am Standort und bei der Vermehrung/Fortbestand bieten<sup>[2]</sup>. Im Gegensatz dazu ist der Primärstoffwechsel, der generell in jedem einzelnen Organismus die Aufgabe lebensnotwendiger Prozesse wie Wachstum, Entwicklung und Energiehaushalt übernimmt, absolut essentiell und unentbehrlich.

In der Natur vorkommende Phloroglucin-Derivate zeichnen sich durch eine erstaunliche strukturelle Diversität aus (Abbildung 1.1). Die vielfältigen Variationen kommen durch unterschiedliche Substitutionsmuster der Phenolgruppen und der unbesetzten, freien C-Atome am zentralen Grundkörper zustande. Neben funktionellen Gruppen und einzelnen Heteroatomen können zwischen einer und vier Kohlenstoff-Seitenketten in Form von aliphatischen bzw. aromatischen Acylresten oder unterschiedlich langen und verzweigten Prenylresten angeknüpft werden, z.T. unter Aufhebung des aromatischen Charakters des Phloroglucins. Weiterhin sind Cyclisierungen angeknüpfter Seitenketten hin zur Ausbildung benachbarter Ringsysteme ebenso wie die Verbindung zu überbrückten Käfigstrukturen keine Seltenheit. Bis heute sind mehr als 700 natürlich vorkommende Phloroglucin-Derivate bekannt<sup>[3]</sup>.



**Abbildung 1.1** Klassifizierung von natürlich vorkommenden Phloroglucin-Derivaten nach Kondensationsgrad, Verknüpfung und Substitutionsmuster (nach SINGH & BHARATE<sup>[1]</sup>) inkl. des allgemeinen Grundgerüsts monomerer und dimerer Phloroglucine

Alle pflanzlichen Phloroglucin-Derivate werden phytochemisch zu der großen und sehr heterogenen Naturstoffgruppe der Polyketide gezählt. Sie entstehen nach dem Biosynthese-Schema des Acetat-Malonat-Weges („Polyketidweges“) und werden enzymatisch durch sich wiederholende, decarboxylierende Claisen-Kondensationen eines aktivierten Acyl-Starter-Moleküls mit einem ebenfalls aktivierten Extender aufgebaut<sup>[4–7]</sup>. Im Fall der **Acylphloroglucine (APs)**, welche die größte Gruppe aller Phloroglucin-Derivate in Pflanzen ausmachen, ist die Startereinheit immer eine mit Coenzym A (CoA) veresterte Carbonsäure, meist abgeleitet von einer Aminosäure. An deren reaktives Carbonyl-C-Atom wird von einer Typ III-Polyketid-Synthase (Typ III-PKS), einer pflanzlichen Acyltransferase, die für die Bildung aromatischer Polyketid-Verbindungen verantwortlich ist, in drei aufeinander folgenden Elongationsschritten jeweils eine durch Decarboxylierung von Malonyl-CoA (seltener auch Methylmalonyl-CoA) gewonnene Acetyl-Verlängerungseinheit kondensiert. Durch C–C-Verknüpfungen entsteht bei diesem sequenziellen Kohlenstoffketten-Aufbau ein lineares  $\beta$ -Polyketoacyl-CoA als Zwischenstufe, welches dann in einer intramolekularen Dieckmann-Kondensation zum AP-Grundgerüst cyclisiert<sup>[8,9]</sup>.



**Abbildung 1.2** Vereinfachtes Biosynthese-Schema von APs und AP-Derivaten. BPS: Benzophenon-Synthase; BUS: Isobutyrophenon-Synthase; CHI: Chalkon-Isomerase; CHS: Chalkon-Synthase; CoAS: Coenzym A-Thioester; VPS: Isovalerophenon-Synthase; XS: Xanthon-Synthase

Die Struktur des eingesetzten, aktivierten Starter-Moleküls legt beim Polyketidweg bereits grundlegend fest, zu welcher Naturstoffgruppe mit Phloroglucin-Grundgerüst die Biosynthese führen kann (Abbildung 1.2). Ausgehend von kurzkettigen aliphatischen Ausgangsstoffen wie Isobutyryl-, Isovaleryl-, 2-Methylbutyryl-, Acetyl- oder Propionyl-CoA werden strukturell entsprechende C-Substituenten an Acylphloroglucinen erhalten, während aromatische Acyl-Starter wie (Hydroxy-)Benzoyl-CoA zu dem Diphenylketon-Grundgerüst der Benzophenone führen<sup>[10,11]</sup>. Diese stellen einerseits eine eigene Sekundärstoffgruppe dar, fungieren auf der anderen Seite aber auch als eine Zwischenstufe in der Xanthon-Biosynthese. Durch einen zusätzlichen enzymatischen Ringschluss, katalysiert durch eine Cytochrom P450-Oxidoreduktase, reagiert das Benzophenon unter Ausbildung eines cyclischen Ethers weiter zum Dibenzo- $\gamma$ -pyron-Grundgerüst der Xanthone<sup>[12–15]</sup>. Zwei weitere, ans Phloroglucin angelehnte Naturstoffgruppen können ausgehend von einem Phenylpropan-Derivat auf dem gemischten Polyketidweg gewonnen werden. Aus aktivierten Phenyl-



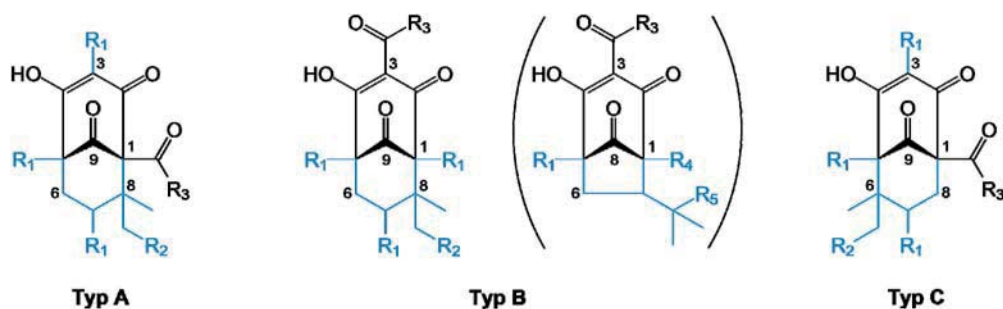
propansäuren wie beispielsweise Cinnamoyl-, *p*-Cumaroyl- oder Caffeoyle-CoA, die sich von den aromatischen Aminosäuren (Phenylalanin oder Tyrosin) aus dem Shikimisäure-Weg ableiten, entstehen die natürlichen Chalkone (Benzylidenacetophenone). Kommt es im weiteren Verlauf durch eine Isomerase zu einem intramolekularen Ringschluss zwischen dem Phloroglucin und der ungesättigten Seitenkette, so entsteht mit dem Flavanon (2-Phenylchroman-4-on) die zentrale Grundstruktur aller Flavonoide<sup>[16–18]</sup>.

Wie für den überwiegenden Großteil aller natürlich vorkommenden Polyketide gilt typischerweise auch im Fall der zuvor beschriebenen APs und davon abgeleiteten Derivate (Abbildung 1.2), dass ihre Grundstrukturen in den Organismen, in denen sie gebildet werden, äußerst selten frei und unsubstituiert vorliegen. Stattdessen stellen sie hauptsächlich phytochemische Zwischenstufen auf dem Biosyntheseweg hin zu weitaus komplexeren Sekundärstoffen dar. Dabei werden die Grundgerüste mittels diverser Modifizierungsreaktionen wie Hydroxylierungen, Glycosylierungen, Reduktionen/Oxidationen, Methylierungen, Prenylierungen und Cyclisierungen strukturell zu den finalen Sekundärmetaboliten umgesetzt.

## 1.2. Polycyclische polyprenylierte Acylphloroglucine

Anhand der nachträglichen Veränderungen der zentralen chemischen Struktur eines Naturstoffes ist in der Regel leicht nachzuvollziehen, von welchem Biosyntheseweg oder von welcher zentralen Vor-/Zwischenstufe er sich ableitet. Es gibt jedoch in der Natur ebenso eine Fülle von sekundären Metaboliten, die nicht nur einfache Modifizierungen durchlaufen, sondern mit Kombinationen bzw. mehrfach wiederholten Reaktionen umgeformt werden. Aus den zuvor beschriebenen, chemisch eher einfach aufgebauten APs geht mit den **polycyclischen polyprenylierten Acylphloroglucinen (PPAPs)** eine solche Naturstoffklasse komplexer pflanzlicher Verbindungen hervor. Bis zum Jahr 2005 wurden erst 119 PPAPs aus Gattungen der Hypericaceae und Clusiaceae sowie verwandten Pflanzenfamilien der Clusioide-Klade isoliert und strukturell beschrieben. Diese Anzahl hat sich durch ein gesteigertes naturwissenschaftliches Interesse an diesen Substanzen (siehe 1.2.1) bis heute mit annähernd 300 identifizierten Naturstoffen mehr als verdoppelt<sup>[19]</sup>.

PPAPs zeichnen sich durch eine faszinierende (stereo-)chemische Architektur aus – ein Bicyclo[3.3.1]nona-2,4,9-trion (deutlich seltener ein Bicyclo[3.2.1]octa-2,4,8-trion) als überbrückte Kernstruktur, dekoriert mit sauerstoffhaltigen funktionellen Gruppen und unterschiedlichen Prenyl- und Acylresten<sup>[20,21]</sup>. Anhand ihrer isomeren Formen werden alle bekannten PPAPs nach ihrem Substitutionsmuster in die Typen A–C eingeteilt (Abbildung 1.3). Eine wichtige Rolle spielen dabei die Positionen der Acyl-Seitenkette und eines asymmetrisch substituierten C-Atoms (Stereozentrum) im Bicyclus, in direkter Nachbarschaft zu einem der beiden Brückenkopf-C-Atome. Befindet sich nach der von CIOCHINA & GROSSMAN<sup>[22]</sup> vorgeschlagenen Nomenklatur das stereogene C-Atom (C–8) unmittelbar neben der acylierten Brückenkopfposition (C–1), so werden die Verbindungen dem am häufigsten auftretenden Typ A zugeordnet. Beim Typ B, der immerhin noch halb so häufig zu finden ist, wandert ausschließlich der Acylsubstituent vom Brückenkopf an die vinyloge Position C–3. Der sehr selten auftretende Typ C hat hingegen das quartäre Zentrum an Position C–6, so dass es der Acylkette am Brückenkopf-Atom (C–1) gegenüberliegt. Für die Entstehung dieser drei unterschiedlichen Arten von PPAPs werden keine zufälligen An-/Umlagerungsreaktionen am bicyclischen Kern verantwortlich gemacht, sondern es wird eigens das postulierte Biosynthese-Schema, das im Anschluss an die allgemeine Vorstellung näher dargestellt wird (siehe 1.2.3), zur Erklärung herangezogen.



$R_1 = \text{CH}_3, \text{C}_5\text{H}_9 \text{ oder } \text{C}_{10}\text{H}_{17}$

$R_2 = \text{H} \text{ oder } \text{C}_5\text{H}_9$

$R_3 = \textit{iso}$ -Propyl,  $\textit{iso}$ -Butyl,  $\textit{sec}$ -Butyl, Phenyl, 3-(OH) $\text{C}_6\text{H}_4$  oder 3,4-(OH) $_2\text{C}_6\text{H}_3$

$R_4 = \text{CH}_3, R_5 = \text{OH} \text{ oder } R_4, R_5 = \text{CH}_2\text{CHR}_6$

$R_6 = \text{H}, \text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2 \text{ oder } \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$

**Abbildung 1.3** Strukturelle Einteilung von PPAPs (Typ A–C) anhand ihres bicyclischen Grundgerüsts

### 1.2.1. Bioaktivität und wissenschaftliches Interesse

Viele Vertreter der PPAP-Naturstofffamilie entspringen Pflanzen, die schon lange und traditionell zur Behandlung von unterschiedlichen Beschwerden und Krankheiten eingesetzt werden. Das naturwissenschaftliche Interesse an den wirksamkeitsbestimmenden Bestandteilen in diesen Pflanzen bzw. ihren Zubereitungen ist daher nicht ganz neu und unbegründet. Die Idee, einzelne Komponenten eines Sekundärstoffgemisches zu isolieren und als mögliche neue Arzneistoffe zu testen, ist dementsprechend auch beinahe genauso alt wie die Wirkstoffforschung selbst. Durch immer weiter verbesserte Extraktions- und Analysetechniken sind folglich in den letzten Jahren immer mehr PPAPs entdeckt worden, und das pharmazeutische Interesse an diesen Monosubstanzen mit ihren vermuteten, interessanten Bioaktivitäten stieg nochmals mit der Aussicht, mögliche neue Arzneistoffe zu finden. Die vorangetriebene Strukturaufklärung isolierter PPAPs und die anschließende Untersuchung ihrer pharmakologischen Eigenschaften zeigt in der Tat großes klinisches Potential, da für sie bereits u.a. antibakterielle (selbst gegen MRSA), antiprotozoische (gegen Malaria, Leishmaniose und Chagas-Krankheit), antikanzerogene, anti-neurodegenerative sowie auch antivirale (gegen HIV und HBV) Aktivitäten beschrieben sind. Eine ausführliche, aktuelle Übersicht der nachweislich als signifikant bioaktiv getesteten PPAPs (Tabelle 1.1) sowie eine Sammlung ausgewählter Molekülformeln (Abbildung 1.4) sind auf den nachfolgenden Seiten illustriert. Einer der bekanntesten und bioaktivsten Naturstoffe aus der Gruppe der PPAPs ist das **Hyperforin** (siehe 1.2.2) aus dem Echten Johanniskraut (siehe 1.4.1), welches Wirksamkeit bei unzähligen, breit gefächerten Aktivitätstests zeigt und sowohl als Bestandteil von apothekenpflichtigen als auch verschreibungspflichtigen Phytopharmaka und Pflegeprodukten in Deutschland und Europa angewendet wird. Aufgrund seiner Sonderstellung und seiner Relevanz in der Pharmakotherapie lohnt es sich, die Eigenschaften des Hyperforins im nächsten Abschnitt detaillierter zu betrachten.

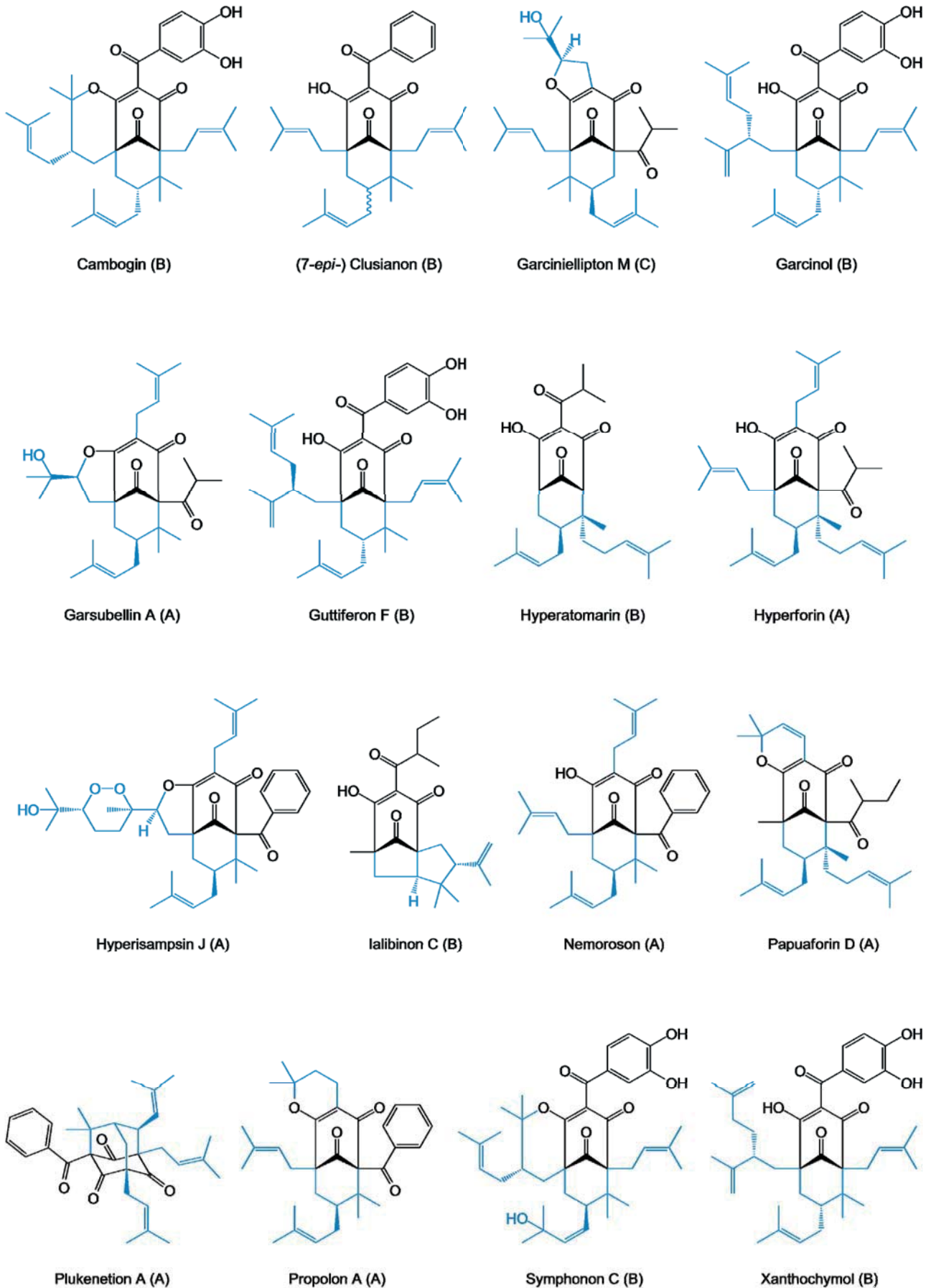


Abbildung 1.4 Strukturformeln ausgewählter, bioaktiver pflanzlicher PPAPs. (A/B/C): PPAP-Typ nach Grundgerüst



**Tabelle 1.1** Übersicht ausgewählter, bioaktiver pflanzlicher PPAPs

Name (PPAP)	Biologische Aktivität (Wirkung und Target)
Aristophenon A	zytotoxisch (SW-480-Zellen; Darmkrebs) <sup>[23]</sup>
Cambogin	zytotoxisch (HT-29 / HCT116-Zellen; Darmkrebs) <sup>[24]</sup>
Chamon I	antibakteriell (gegen <i>Paenibacillus larvae</i> und <i>Paenibacillus alvei</i> ) <sup>[25]</sup>
7- <i>epi</i> -Clusianon	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ antiviral (HIV) (humane, HIV-1 infizierte C8166-T-Zellen)<sup>[26,27]</sup></li> <li>▪ antiprotozoisch (gegen <i>Trypanosoma cruzi</i> und <i>Leishmania amazonensis</i>)<sup>[28,29]</sup></li> </ul>
Clusianon	zytotoxisch (HeLa-, MIA-PaCa-2-, MCF7-Zellen; Cervix-, Pankreas- und Brustkrebs) <sup>[30]</sup>
Coccinon A–H	antiprotozoisch (gegen <i>Plasmodium falciparum</i> FcB1) <sup>[31]</sup>
Garcicowin C, D	zytotoxisch (HT-29 / HCT116-Zellen; Darmkrebs) <sup>[24]</sup>
Garcinalipton A–D	zytotoxisch (A549-, DU145-Zellen; Lungen-, Prostatakrebs) <sup>[32]</sup>
Garciellipton FB	zytotoxisch (MCF-7-, Hep 3B-, HT-29-Zellen; Brust-, Leber-, Darmkrebs) <sup>[33]</sup>
Garciellipton FC	antiprotozoisch (gegen Leishmanien) <sup>[34]</sup>
Garciellipton F, I, L, M	antiphlogistisch (Hemmung von $\beta$ -Glucuronidase- und Histamin-Ausschüttung) <sup>[35,36]</sup>
Garcinol	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ antibakteriell (gegen MRSA)<sup>[37]</sup></li> <li>▪ zytotoxisch (Hemmung der Topoisomerasen I und II)<sup>[38]</sup></li> <li>▪ antioxidativ (chemopräventiv als Radikalfänger)<sup>[39–41]</sup></li> <li>▪ zytotoxisch (MDA-MB-231 / BT-549-, BxPC-3 / Panc-1-, HL-60-Zellen; Brustkrebs, Pankreaskarzinom, Leukämie)<sup>[42–44]</sup></li> </ul>
Garsubellin A	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ antiphlogistisch (Hemmung von <math>\beta</math>-Glucuronidase- und Histamin-Ausschüttung)<sup>[45]</sup></li> <li>▪ antidementiv (Induktion der Cholin-Acetyltransferase)<sup>[46]</sup></li> </ul>
Guttiferon A	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ antimikrobiell (gegen <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Plasmodium falciparum</i>, <i>Trypanosoma cruzi</i> und <i>Leishmania amazonensis</i>)<sup>[28,47–49]</sup></li> <li>▪ antioxidativ (bei oxidativem Stress und als Radikalfänger)<sup>[50]</sup></li> </ul>
Guttiferon A–F	antiviral (HIV) (gegen HIV-1) <sup>[51,52]</sup>
Guttiferon B, E, G, H, K	zytotoxisch (A2780-, HT-29 / HCT116 / SW-480-Zellen; Ovarial-, Darmkrebs) <sup>[23,24,53,54]</sup>
Hyperascyron C, G	zytotoxisch (HL60-Zellen; akute myeloische Leukämie) <sup>[55]</sup>
Hyperatomarin	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ antibakteriell (gegen <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Micrococcus luteus</i> und <i>Bacillus subtilis</i>)<sup>[56]</sup></li> <li>▪ zytotoxisch (LAMA-84 / K-562 / SKW-3-, U-266-, DOHH-2-, HD-MY-Z-, EJ-, MCF-7-Zellen; Leukämie, multiples Myelom, Non-Hodgkin-Lymphom, Hodgkin-Lymphom, Blasen-, Brustkrebs)<sup>[57]</sup></li> </ul>
Hyperattenin K	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ antiviral (HIV) (humane, HIV-1 infizierte C8166-T-Zellen)<sup>[58]</sup></li> <li>▪ zytotoxisch (HL-60-, A549-Zellen; Leukämie, Brustkrebs)<sup>[58]</sup></li> </ul>
Hypercohin K	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ zytotoxisch (HL-60-, SMMC-7721-, A-549-, MCF-7-Zellen; Leukämie, Leber-, Lungen-, Brustkrebs)<sup>[59]</sup></li> <li>▪ antidementiv (Hemmung der Acetylcholinesterase)<sup>[59]</sup></li> </ul>
Hyperforin	siehe 1.2.2 <sup>[60]</sup>
Hyperguinon B	antioxidativ (bei oxidativem Stress und als Radikalfänger) <sup>[61]</sup>
Hyperibon J, K, L	zytotoxisch (A549-, MCF-7-Zellen; Lungen-, Brustkrebs) <sup>[27]</sup>



Tabelle 1.1, fortgesetzt

Name (PPAP)	Biologische Aktivität (Wirkung und Target)	
Hyperisampsin H–M	zytotoxisch	(HL60 / NB40-Zellen; Leukämie) <sup>[62]</sup>
Hypermongon G	antiphlogistisch	(Hemmung von NO-Produktion) <sup>[63]</sup>
Hypersampson D–F	antiviral (HBV)	(Inhibierung des Virus-Antigens) <sup>[64]</sup>
Hypersubon B	zytotoxisch	(HeLa-, Eca109-, HepG2-, A549-Zellen; Cervix-, Ösophagus-, Leber, Lungenkrebs) <sup>[65]</sup>
Hyperuralon C–D	antidementiv	(Hemmung der Acetylcholinesterase) <sup>[66]</sup>
Ialibinin A–D	antibakteriell	(gegen <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> und <i>Micrococcus luteus</i> ) <sup>[67]</sup>
Ialibinin E	antioxidativ	(bei oxidativem Stress und als Radikalfänger) <sup>[61]</sup>
Laxifloranon	antiviral (HIV)	(gegen Zellinfizierung) <sup>[68]</sup>
7- <i>epi</i> -Nemoroson	zytotoxisch	(LNCaP-Zellen; Prostatakrebs) <sup>[69]</sup>
Nemoroson	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ antiviral (HIV) (humane, HIV-1 infizierte C8166-T-Zellen)<sup>[26,47,70]</sup></li> <li>▪ zytotoxisch (Jurkat-, MCF-7 / MDA-MB-231-, PC-3-, HeLa-, MIA-PaCa-2 / Capan-1 / AsPC-1-, Hep-2-Zellen; Leukämie, Brust-, Prostata-, Cervix-, Pankreas-, Kehlkopfkrebs)<sup>[30,71–74]</sup></li> <li>▪ antimikrobiell (u.a. gegen <i>Staphylococcus aureus</i>)<sup>[75]</sup></li> <li>▪ antiprotozoisch (gegen <i>Plasmodium falciparum</i> und <i>Trypanosoma cruzi</i>)<sup>[47]</sup></li> </ul>	
Nemoroson II	antibakteriell	(gegen <i>Paenibacillus larvae</i> und <i>Paenibacillus alvei</i> ) <sup>[25]</sup>
Papuaforin A, C, D, E	zytotoxisch	(KB-Zellen; Cervixkrebs) <sup>[76]</sup>
Plukenetion A	antiviral (HIV)	(gegen HIV-1) <sup>[70]</sup>
Propolon A	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ antiviral (HIV) (humane, HIV-1 infizierte C8166-T-Zellen)<sup>[26]</sup></li> <li>▪ antibakteriell (gegen <i>Streptomyces chartrensis</i> und <i>Streptomyces violochromogenes</i>)<sup>[77]</sup></li> </ul>	
Sampsonion A, I	zytotoxisch	(P388-Zellen; Leukämie) <sup>[78]</sup>
Symphonon A–I	antiprotozoisch	(gegen <i>Plasmodium falciparum</i> ) <sup>[79]</sup>
Vismiaphenon D	antiviral (HIV)	(gegen HIV-1) <sup>[80]</sup>
Xanthochymol	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ antibakteriell (gegen MRSA)<sup>[37]</sup></li> <li>▪ zytotoxisch (Hemmung der Topoisomerasen I und II)<sup>[38]</sup></li> <li>▪ zytotoxisch (SW-480 / HCT116 / HT29-Zellen; Darmkrebs)<sup>[23,53]</sup></li> </ul>	

### 1.2.2. Hyperforin

Das äußerst lipophile und instabile PPAP Hyperforin ist ein natürlich vorkommender Pflanzensekondärstoff, der bereits in den 1970er Jahren aus dem **Echten Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.**; siehe 1.4.1) isoliert und identifiziert wurde<sup>[81,82]</sup>. Es ist der Hauptinhaltsstoff von *H. perforatum* und gehört strukturell zu den PPAPs vom Typ A. Hyperforin akkumuliert im ätherischen Öl von *H. perforatum*, und zwar sowohl in den durchscheinenden Ölbehältern der vegetativen Blätter als auch verstärkt in durchscheinenden Kanälen der Blüten und Früchte<sup>[83,84]</sup>. Über die zeitliche Entwicklung der Pflanze hinweg steigt mit zunehmendem Alter auch der durchschnittliche Hyperforingehalt im Echten Johanniskraut an, bis er ein Maximum in den unreifen Früchten mit bis zu 8,5% des Trockengewichts ausmacht<sup>[85,86]</sup>. Neben Hyperforin kommen mit dem Derivat Adhyperforin und den postulierten Vorstufen Hyperfirin und Adhyperfirin noch



weitere strukturverwandte PPAPs vor, die jedoch mengenmäßig kein bedeutendes Ausmaß in der Pflanze bzw. deren Extrakten einnehmen<sup>[87]</sup>. Außerdem sind noch weitere PPAPs, die strukturell Oxidationsprodukte des thermolabilen, oxidationsempfindlichen und photosensiblen Hyperforins darstellen, beschrieben<sup>[88,89]</sup>. Es ist jedoch zweifelhaft, ob derartige Derivate wie beispielsweise Furohyperforin wirklich genuin im Johanniskraut vorkommen oder als Abbauprodukte des Hyperforins erst während der Extraktion aus dem Pflanzenmaterial oder bei der Lagerung entstehen<sup>[90]</sup>.

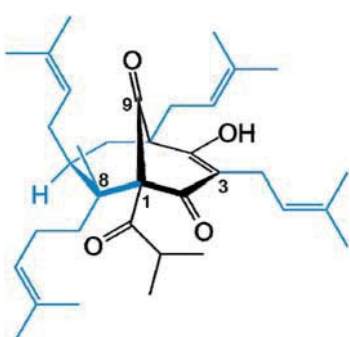
Strukturformel	Wirkung	Quelle	
 <p>Hyperforin</p>	antidepressiv	[91–95]	
	antibakteriell	[76,96–99]	
	antiinflammatorisch	[100–103]	
	neuroprotektiv	[91,104–106]	
	antiproliferativ	antitumoral	[107–109]
	antileukämisch		[110–113]
	antimetastatisch		[109,114]
	proapoptotisch	[107,115–117]	
	antiangiogenetisch	[118–120]	
	larvizid / antiplasmodisch	[90,121,122]	
anti-autoimmun	[123]		

Abbildung 1.5 Übersicht nachgewiesener Hyperforin-Bioaktivitäten (*in vitro* und *in vivo*)

Nach zahlreichen Untersuchungen von Johanniskraut-Extrakten auf deren pharmazeutisch wirksame Bestandteile wird Hyperforin heutzutage in vielerlei Hinsicht als der wichtigste und potenteste Inhaltsstoff genannt. Sein vielfältiges pharmakologisches Potential (siehe Abbildung 1.5 und dort erwähnte Originalliteratur) wird hauptsächlich in der Anwendung von Johanniskraut-Extrakten bei leichter bis mittelschwerer Depression ausgeschöpft. Antriebslosigkeit, gebremstes Empfinden von Freude und Hoffnung sowie emotionale Anteilnahmslosigkeit sind typische Symptome dieser psychischen Erkrankung, die multifaktoriell ausgelöst wird, jedoch immer mit einer Verarmung an sowie einem entgleisten Zusammenspiel und einer gestörten Signalübertragung von Neurotransmittern (NTs; „Monoamin-Mangel-Hypothese“) zusammenhängt<sup>[124]</sup>. Nachdem anfänglich fälschlicherweise Hypericin für die antidepressive Wirkung von Johanniskraut-Extrakten verantwortlich gemacht wurde<sup>[125]</sup>, konnte um die Jahrtausendwende der Beweis erbracht werden, dass stattdessen – wenn auch nicht ausschließlich – Hyperforin die antidepressive Komponente ist<sup>[126]</sup>. Bis heute beweisen zahlreiche darauf aufbauende Untersuchungen mit reinem Hyperforin an Zellkulturmodellen und (isolierten) neuronalen Geweben, dass die einzigartige Wirkung hochspezifisch über eine Interaktion mit dem nichtselektiven Ionenkanal TRPC6 (*engl.* transient receptor potential channel) vermittelt wird. Durch ligandengebundene Aktivierung dieses TRPC6 kommt es zum Ioneneinstrom von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Ca}^{2+}$  in Nervenzellen, wodurch die intrazellulären Konzentrationen beider Ionen ansteigen. Als entscheidende Folge davon verringert sich der transmembranäre  $\text{Na}^+$ -Gradient, der eine treibende Kraft der unspezifischen Wiederaufnahme von NTs aus dem synaptischen Spalt ist<sup>[127,128]</sup>. Weil im Gegensatz zum Mechanismus synthetischer, nicht-selektiver Monoamin-Wiederaufnahmehemmer (*engl.* non selective monoamine reuptake inhibitor, NSMRI) also nicht-kompetitiv spezifische NT-Transporter präsynaptisch blockiert werden, wirkt sich der außergewöhnliche Hyperforin-Effekt auf ein viel breiteres Spektrum an NTs aus<sup>[129]</sup>. Die Konzentrationen von Serotonin, Noradrenalin, Dopamin,  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) und L-Glutamat im synaptischen Spalt werden gleichermaßen beeinflusst, was in einem komplexen Zusammen-



spiel nachfolgend zu adaptiven Veränderungen (u.a. postsynaptische Rezeptordichte und Signaltransduktionsmechanismen) führt und letztlich die antidepressive Wirkung bedingt. Da allerdings auch Hyperforin-armen Johanniskraut-Extrakten ein antidepressiver Effekt nachzusagen ist<sup>[130–133]</sup>, muss vom derzeitigen Stand der Forschung immer noch davon ausgegangen werden, dass Hyperforin zwar entscheidend, aber letztlich nur im Zusammenspiel mit anderen Sekundärstoffen im Gesamtextrakt des Johanniskrauts für die Wirkung als Antidepressivum verantwortlich ist.

In mikrobiellen Untersuchungen weist Hyperforin ausgeprägte antibakterielle Eigenschaften gegen grampositive Bakterien – darunter sogar multiresistente Problemstämme wie MRSA – auf, was einen Erklärungsansatz für den traditionellen Einsatz von Johanniskraut-Extrakten bei äußerlichen Verletzungen wie Brand-, Schnitt- und Schürfwunden bietet. Dazu wird sich zusätzlich auch die entzündungshemmende Wirkqualität von Hyperforin, die sich auf eine Hemmung der proinflammatorischen Enzyme Cyclooxygenase-1 (COX-1) und Arachidonat-5-Lipoxygenase (5-LO) zurückführen lässt, in topischen Johanniskraut-Zubereitungen bei entzündlichen Hauterkrankungen (z.B. atopisches Ekzem, chronische Dermatitis) zunutze gemacht. Weiterhin ahmt Hyperforin über den erhöhten  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom die zentralnervösen, neurotrophen Effekte von Nerven-Wachstumsfaktoren (NGF und BDNF) nach, verringert Astroglie und die Aktivierung von Mikroglia-Zellen, kann die Aktivierung vom neurotoxischen Amyloid-Vorläuferprotein (*engl.* amyloid precursor protein, APP) vermindern und ist sogar fähig, *in vitro* senile Plaques des  $\beta$ -Amyloid-Peptids abzubauen. All diese neuroprotektiven Wirkungen machen Hyperforin zu einer äußerst interessanten, möglicherweise zukünftigen Behandlungsoption neurodegenerativer Erkrankungen wie beispielsweise der Alzheimer-Krankheit. Darüber hinaus ist Hyperforin ein äußerst potenter antitumoraler Wirkstoff, der an vielen isolierten Zelllinien, aber auch *in vivo* in Tierversuchen sein Potential als Zytostatikum bewiesen hat. Durch Unterdrückung von Tumor-bedingter Angiogenese und Induktion von Apoptose in entarteten Zellen wirkt es antiproliferativ und hemmt sowohl das Krebswachstum als dass es auch die Metastasierung einschränken kann. Aufgrund der antiproliferativen Eigenschaften, gepaart mit der antientzündlichen Wirkkomponente, befinden sich Hyperforin-haltige Formulierungen ebenfalls in der Erforschung neuer Therapieoptionen bei Psoriasis und verwandten Dermatitisformen. Außer den genannten Charakteristika wurden in einzelnen Studien noch eine gute Wirksamkeit von Hyperforin und einigen seiner Analoga gegen den Malaria-Erreger *Plasmodium falciparum* und gegen Larven der Gemeinen Stechmücke entdeckt.

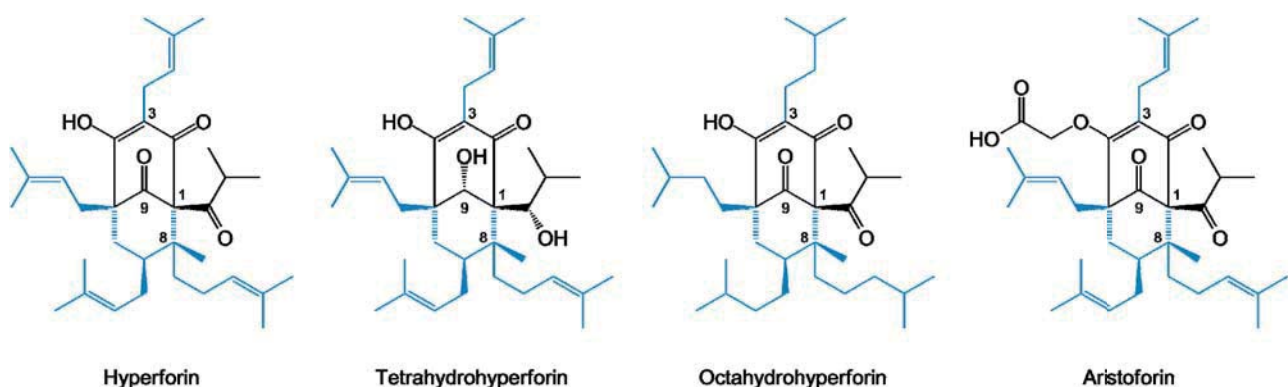


Abbildung 1.6 Hyperforin und hydrophilere, semisynthetische Hyperforin-Derivate

Bei all den positiven Anwendungsbeispielen treten problematischer Weise jedoch auch Schwierigkeiten in der Anwendung und der Verfügbarkeit auf. Wegen seiner hohen Lipophilie ist Hyperforin schlecht löslich in pharmazeutischen/therapeutischen Trägersystemen (fest/halbfest/flüssig), und seine stabilitätsrelevante Anfälligkeit gegenüber Wärme, UV-Licht, Sauerstoff und unpolaren Lösemitteln erschwert es, Hyperforin-

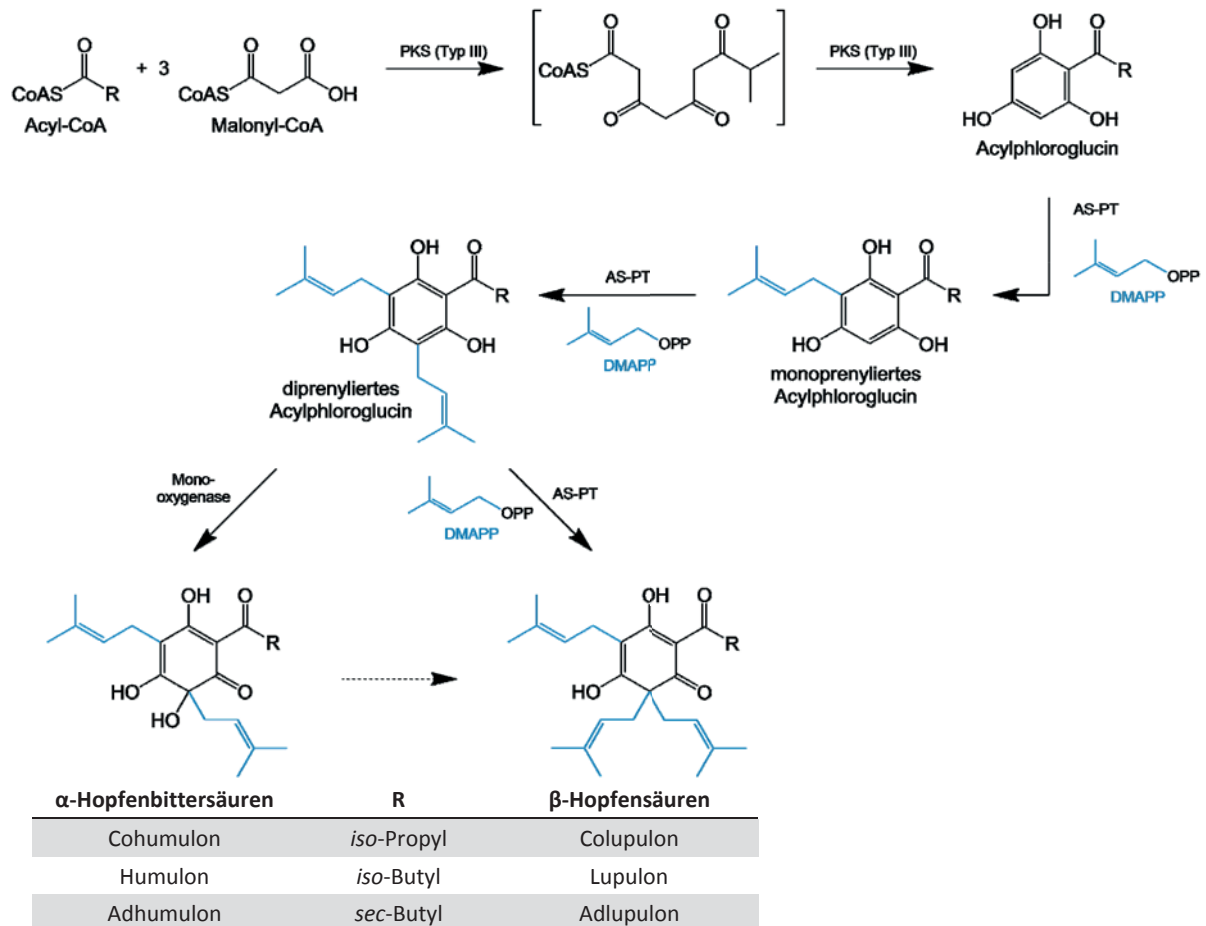


haltige Zubereitungen einfach in die Therapie einzubringen. Um diese Hürde zu umgehen, werden inzwischen auch stabilere und hydrophilere, semisynthetische Derivate wie Aristoforin und Tetra- oder Octahydrohyperforin auf ihre pharmakologischen Wirkeigenschaften untersucht und mit Hyperforin verglichen<sup>[96,97,134,135]</sup>. Eine weitere Schwierigkeit ergibt sich aus der Tatsache, dass Hyperforin ein potenter Ligand am Pregnan-X-Rezeptor (PXR) ist, der die Transkription von Xenobiotika-metabolisierenden Enzymen reguliert<sup>[136–138]</sup>. Durch Aktivierung wird die Expression von Genen für derartige Biotransformationsenzyme (v.a. CYP3A4), aber auch Transporter-Proteine (v.a. P-Glycoprotein = MDR1) induziert, die einen Großteil körperfremder Stoffe umsetzen und deren Verfügbarkeit im Organismus und am Bestimmungsort herabsetzen<sup>[139]</sup>. Dadurch entsteht ein immenses Interaktionspotential zwischen Hyperforin und anderen co-applizierten Arzneistoffen, die als Enzymsubstrate über CYP3A4 metabolisiert werden (z.B. Immunsuppressiva, Zytostatika). Als Folge der Enzyminduktion kann es zu einer drastischen Reduktion der Plasmaspiegel betroffener Arzneistoffe und folglich bis zum lebensbedrohlichen Therapieversagen kommen<sup>[140]</sup>. Derartige Wechselwirkungen dürfen daher bei einer Anwendung Hyperforin-haltiger Formulierungen, gerade auch bei Gabe als Co-Medikation im Rahmen einer kombinierten Therapie, niemals außer Acht gelassen werden.

### 1.2.3. Biosynthese polycyclischer polyprenylierter Acylphloroglucine

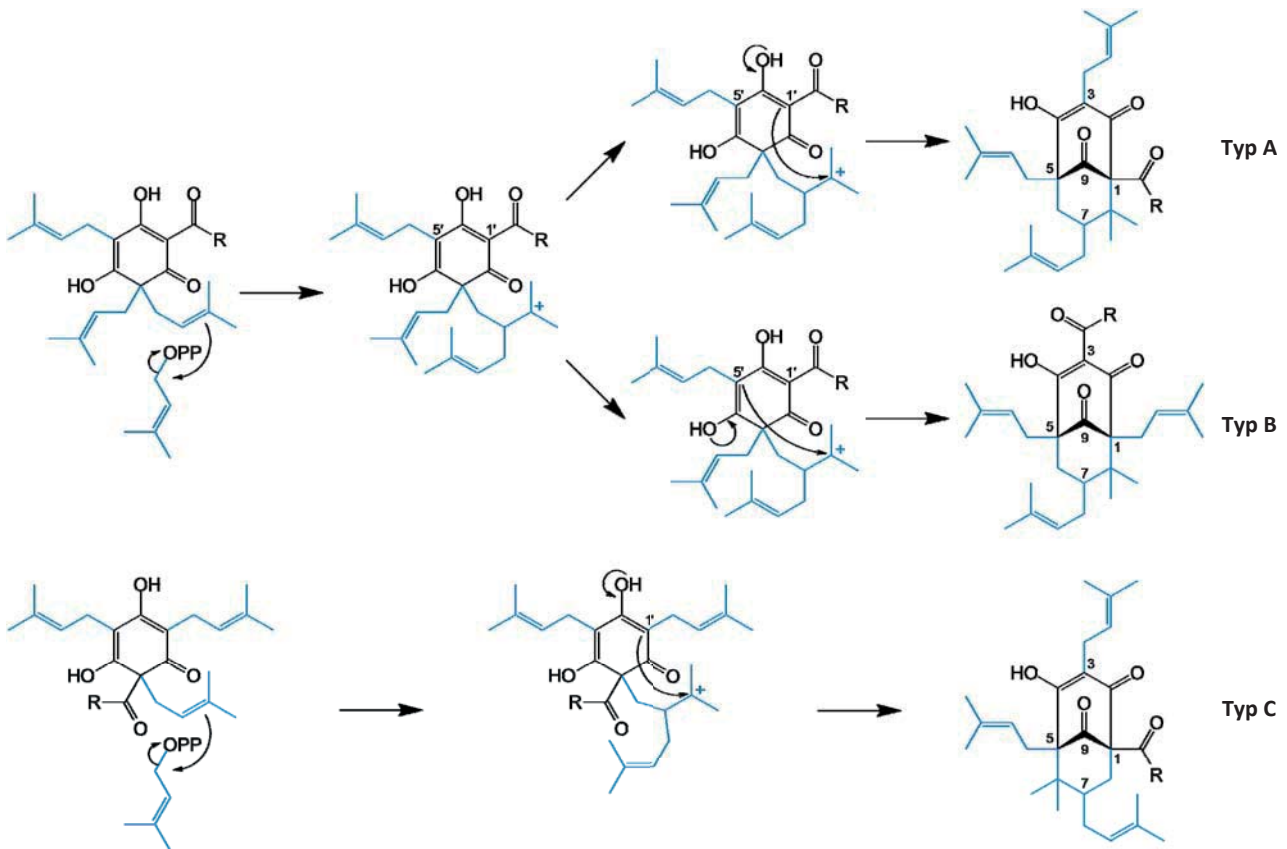
Die Biosynthese aller PPAPs verläuft, ausgehend vom Polyketid-Grundgerüst der APs, über die Zwischenstufe der zunächst weniger komplex aufgebauten **monocyclischen (poly-)prenylierten Acylphloroglucine (MPAPs)** – eine Gruppe von Sekundärstoffen, die hauptsächlich in den Pflanzenfamilien der Cannabaceae und Myrtaceae zu finden sind<sup>[22]</sup>. Als bekannteste Vertreter gelten die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Hopfensäuren aus *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae), die als Bestandteil von Hopfen-Extrakten vornehmlich wegen deren sedierender Wirkung bei Schlafproblemen und nervöser Unruhe sowie ihrer östrogenartigen Wirkung bei menopausalen Beschwerden pharmazeutisch Anwendung finden<sup>[141]</sup>. Darüber hinaus werden die einzelnen Hopfensäuren wegen ihrer antimikrobiellen und chemopräventiven Aktivität in der Krebstherapie untersucht, und für die Bier-Brauindustrie sind die  $\alpha$ -Hopfensäuren unersetzlich, weil die während des Brauprozesses aus ihnen entstehenden *iso*- $\alpha$ -Säuren für den herben Geschmack des Bieres sorgen<sup>[142–144]</sup>.

Die Bildung von MPAPs in Hopfen kann aufgrund ihrer umfangreichen Untersuchung in den letzten 40 Jahren als Modellmechanismus stellvertretend für deren generelle Biosynthese herangezogen werden (Abbildung 1.7). Mittels radioaktiv markierter Vorstufen war es bereits früh möglich, die Formulierung des Polyketid-Grundgerüsts durch Kondensation von Isobutyryl-, Isovaleryl- oder 2-Methylbutyryl-CoA mit drei Molekülen Malonyl-CoA aufzuklären<sup>[145–148]</sup>. Ein folgender, enzymatisch katalysierter Ringschluss des intermediären, offenkettigen Tetraketids über eine intramolekulare Dieckmann-Reaktion konnte ebenfalls durch Untersuchungen pflanzlicher Polyketid-Synthasen gezeigt werden<sup>[149,150]</sup>. Im weiteren Verlauf der Biosynthese werden durch **prenylierende Enzyme** (siehe 1.3) nacheinander zwei Moleküle Dimethylallyldiphosphat (DMAPP) an die so entstandene AP-Struktur angeknüpft, und zwar an beide unsubstituierte C-Atome des Aromaten unter Ausbildung von C–C-Bindungen<sup>[90,151–153]</sup>. Abschließend wird durch erneute enzymatische Addition eines weiteren Substituenten das aromatische System des diprenylierten MPAP aufgelöst. Dies geschieht entweder mittels einer zusätzlichen Hydroxylgruppe, wodurch die Biosynthese zu den Humulonen ( $\alpha$ -Hopfensäuren) führt<sup>[154]</sup>, oder über Anknüpfung einer weiteren, dritten Isopreneinheit, was schließlich die Lupulone ( $\beta$ -Hopfensäuren) hervorbringt.



**Abbildung 1.7** Biosynthese-Schema der Hopfensäuren als Vorstufen von PPAPs. AS-PT: aromatische Sekundärstoffwechsel-Prenyltransferase; CoAS: Coenzym A-Thioester; DMAPP: Dimethylallyldiphosphat; PKS (Typ III): Typ III-Polyketid-Synthase; OPP: Diphosphatrest

Es ist mehrfach postuliert und derzeit vom wissenschaftlichen Standpunkt aus anerkannt, dass sowohl die PPAPs vom Typ A als auch vom Typ B über eine gemeinsamen MPAP-Vorstufe, ähnlich den  $\beta$ -Hopfenensäuren (siehe oben), gebildet werden<sup>[u.a. 21,63,65,155]</sup>. Durch einen nukleophilen Angriff einer der beiden geminalen Prenyl-Gruppen an das C-1-Atom eines Moleküls DMAPP wird unter Bildung eines Carbokations ein weiterer Prenylrest angelagert. Diese instabile Zwischenstufe reagiert durch einen nukleophilen Angriff des C-1'- (für Typ A) oder des C-5'-Enols (für Typ B) in einem intramolekularen Ringschluss zum überbrückten System der PPAPs und generiert die für Typ A und B charakteristisch substituierten Bicyclen (Abbildung 1.8). Die Bildung der PPAPs vom Typ C geht dem gegenüber von einer MPAP-Struktur aus, bei der ein gleichzeitig acyliertes und prenyliertes C-Atom vorliegt. Durch eine Anlagerung von DMAPP an den Prenylrest dieses C-Atoms entsteht auch hier ein Carbokation, das nach Angriff des C-1' auf die positiv geladene Seitenkette zum entsprechenden bicyclischen Grundgerüst reagiert. Alle Typen von PPAPs werden dabei ebenso wie bereits die MPAPs unter dem katalytischen Einfluss von speziellen **Prenyltransferasen (PTs;** siehe 1.3) biosynthetisiert. Oft unterliegen PPAPs im Anschluss noch weiteren, sekundären Ringschlüssen unter Beteiligung der Seitenketten und können so unter Ausbildung von angelagerten Pyran-/Dihydrofuran-Ringen gleichsam wie mit zusätzlichen Überbrückungen zu Adamantan-ähnlichen Käfigstrukturen weiter biosynthetisch verändert werden<sup>[78,156,157]</sup>. Trotz der vorhergesagten Mechanismen bleiben jedoch die Biosynthesen der PPAPs letztlich Vorhersagen, da bis zu diesem Zeitpunkt für keinen dieser Naturstoffe (auch nicht für Hyperforin) die Biosynthese durch Entdeckung und Charakterisierung aller daran beteiligten Enzyme (siehe u.a. 1.3) und Zwischenstufen komplett aufgedeckt ist.



**Abbildung 1.8** Angenommene Biosynthesewege der unterschiedlichen Grundgerüst-Typen von PPAPs (Typ A–C) aus MPAPs

### 1.3. Prenylierende Enzyme

Enzyme, die im Terpenstoffwechsel beheimatet sind und an der Synthese oder dem Transfer von (Oligo-)Prenyldiphosphaten (Isoprenreste/-einheiten) auf Akzeptor-Moleküle beteiligt sind, werden in die große und heterogene Familie der Prenyltransferasen (PTs) eingruppiert<sup>[158,159]</sup>. Sie sind in allen Organismen weit verbreitet und zeichnen sich durch ihre bedeutenden biologischen Funktionen im Metabolismus aus. Es gibt mehrere Wege, PTs zu unterscheiden und einzuteilen – die verbreitetste Methode richtet sich nach der Struktur der Substrate, auf die Isoprenreste übertragen werden. Unterschieden werden folglich

- aliphatische/kettenverlängernde PTs (Oligoprenyl-Synthasen, welche die Kondensation allylischer Diphosphate miteinander katalysieren (Kohlenstoffkettenverlängerung), und Terpen-Cyclasen/-Synthasen, die intramolekulare Ringschlüsse katalysieren)
- Protein-PTs (prenylieren im Rahmen der posttranslationalen Modifikation Cystein-Reste nahe dem C-Terminus von Zielproteinen mit FPP oder GGPP zur Verankerung in Biomembranen)
- PTs, die funktionelle Gruppen/Hetero-Atome prenylieren (inkl. Cytokinin- und Chlorophyll-Synthasen) und
- aromatische PTs (übertragen Isoprenreste auf aromatische Substrate).

Die Enzyme übernehmen unterschiedlichste Aufgaben sowohl im Primär- als auch dem Sekundärmetabolismus<sup>[u.a. 160–165]</sup>. Diejenigen PTs, die mit der Biosynthese von PPAPs (siehe 1.2.3) und anderen prenylierten APs in Pflanzen in Verbindung gebracht werden und dementsprechend bedeutungsvoll für die vorliegende Arbeit sind, finden sich dieser Einteilung folgend in der Gruppe der aromatischen PTs wieder (Abbildung 1.9).



Während die aromatischen PTs des Primärmetabolismus ubiquitär an der Bildung von Elektronenüberträgern der Atmungskette (Ubichinon, Plastochinon) und verschiedenen Vitaminen (u.a. Vit. K<sub>2</sub> = Menachinon, Vit. E = Tocopherole) beteiligt sind<sup>[162]</sup>, finden sich die **aromatischen Sekundärstoffwechsel-Prenyltransferasen (AS-PTs)** nur in Bakterien, Pilzen und Pflanzen – denjenigen Lebewesen, die zum Sekundärmetabolismus befähigt sind. In Bakterien und Pilzen prenylieren sie dabei aromatische Substrate im Rahmen der Biosynthese von wichtigen Sekundärstoffen (z.B. antibakterielle Aminocumarine wie Clorobiocin und Novobiocin, Indol-Alkaloide wie Ergotamin)<sup>[158,166,167]</sup>. Darüber hinaus spielt die enzymatische Prenylierung durch AS-PTs besonders in Pflanzen eine bedeutende Rolle, sowohl in der Biosynthese als auch der Derivatisierung von Naturstoffen. Dabei wird durch die Anknüpfung von Isoprenresten an strukturell unterschiedliche aromatische Grundgerüste (u.a. Acylphloroglucine, Flavonoide, Xanthone, Phenylpropane und Cumarine) eine Vielzahl an aromatischen bzw. dearomatisierten sekundären Inhaltsstoffen generiert (siehe Abbildung 1.10) – gerade auch dank zusätzlicher Variation in der Kettenlänge und der Anzahl angehängter Prenyleinheiten, woraus sich allein mehr als 1.000 prenylierte Flavonoide aus Pflanzen ableiten<sup>[163]</sup>.

Obwohl viele Strukturen von Produkten pflanzlicher AS-PTs genauso wie die Biosynthese über eine PT-vermittelte, enzymatische Katalyse bereits lange bekannt sind, wurden bisher nur wenige dieser prenylierenden Enzyme aus Pflanzen auf molekularer und biochemischer Ebene untersucht und publiziert. Die molekulargenetische Entdeckung der ersten pflanzlichen AS-PT wurde erst in diesem Jahrtausend veröffentlicht<sup>[168]</sup>. Seitdem folgten zu dieser spärlich erforschten Enzymfamilie nur wenige Veröffentlichungen und Charakterisierungen weiterer Vertreter<sup>[151,152,169–177]</sup>. Entgegen dem geringen Erfahrungsschatz an AS-PTs und ihrer Rolle in Biosynthesen von Sekundärstoffen steht das große medizinische Interesse an prenylierten Naturstoffen (wie beispielsweise dem PPAP Hyperforin; siehe 1.2.2). Viele von ihnen zeigen nämlich in Untersuchungen vielversprechende Bioaktivitäten, können aber aufgrund begrenzter Verfügungsmengen nur schwerlich weiter erforscht und schließlich klinisch zunutze gemacht werden. Daher ist die Charakterisierung von AS-PTs eine grundlegende Notwendigkeit, um die natürliche Bildung prenylierter Inhaltsstoffe besser zu verstehen und sich die Enzyme gentechnisch zugänglich zu machen.

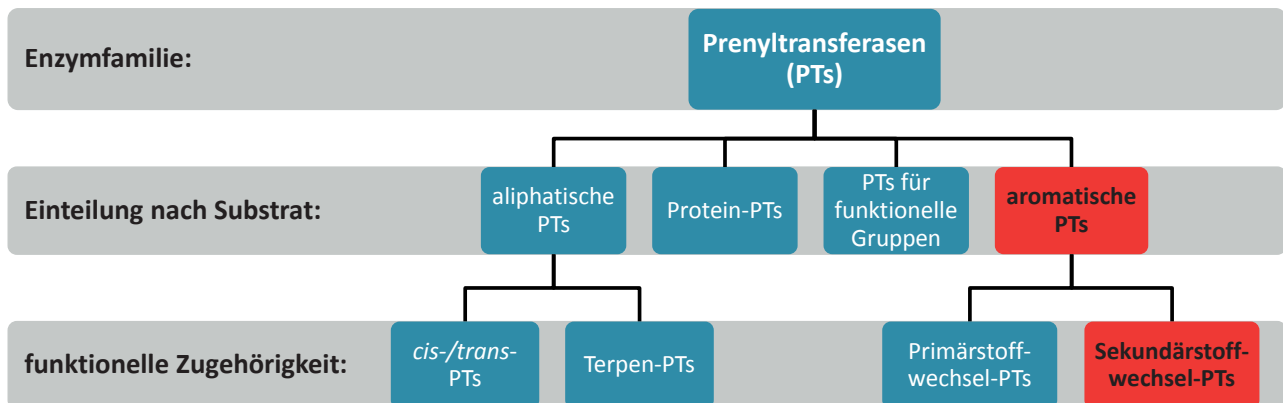


Abbildung 1.9 Einteilung von Prenyltransferasen

AS-PT	Organismus	Reaktion	Biosyntheseweg	Quelle
LePGT-1	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	<p>4-Hydroxybenzoesäure → 3-Geranyl-4-hydroxybenzoesäure</p>	Shikonin	[168]
SfN8DT	<i>Sophora flavescens</i>	<p>Naringenin → 8-Prenylnaringenin</p>	Sophoraflavanon G	[177]
CsPT-1	<i>Cannabis sativa</i>	<p>Olivetolsäure → Cannabigerolsäure</p>	$\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinolsäure	[172]
GmG4DT	<i>Glycine max</i>	<p>(-)-Glycinol → 4-Prenylglycinol</p>	(-)-Glyceollin I	[176]
PcPT / PsPT1	<i>Petroselinum crispum</i> / <i>Pastinaca sativa</i>	<p>Umbelliferon → Demethylsuberosin</p>	Psoralen	[169,170]

Abbildung 1.10 Beispiele pflanzlicher AS-PTs mit ihren katalysierten Reaktionen

AS-PTs repräsentieren mit ihrer Aktivität einen wichtigen Schnittpunkt zwischen allen pflanzlichen Biosynthesewegen: Viele (Zwischen-)Produkte des Shikimisäure- oder Polyketidweges dienen als aromatische Prenylakzeptoren für Kohlenwasserstoffketten, die dem Isoprenstoffwechsel entspringen. Diese von AS-PTs als Prenyldonor akzeptierten Isopreneinheiten leiten sich alle vom einfachsten Prenyldiphosphat **Dimethylallyldiphosphat (DMAPP)** ab, welches zusammen mit seinem Strukturanalogen Isopentenylidiphosphat (IPP) als Grundbaustein in der Terpenbiosynthese zu finden ist (Abbildung 1.11). DMAPP/IPP kann auf zwei unterschiedlichen Stoffwechselwegen biosynthetisiert werden, die in unterschiedlichen Zellkompartimenten ablaufen. Über den im Cytoplasma aller Organismen ablaufenden Mevalonsäure-Weg wird IPP aus drei Molekülen Acetyl-CoA aufgebaut und durch eine Isomerase entsteht mittels Umlagerung letztlich DMAPP. Alternativ existiert in Pflanzen, Bakterien, Algen und manchen Protozoen der Methylerythritolphosphat-Weg, der in Plastiden stattfindet. Bei dieser Biosynthese wird aus Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-phosphat eine gemeinsame Vorstufe gebildet, aus der durch Einfluss der IPP/DMAPP-Synthase sowohl DMAPP als auch IPP hervorgehen<sup>[178–181]</sup>. In sogenannten Kopf-Schwanz-Reaktionen können aus diesen C<sub>5</sub>-Bausteinen über 1'–4-Verknüpfungen lineare, ungesättigte, oligomere Isopren-Verbindungen (Geranyldiphosphat



(GPP) = C<sub>10</sub>, Farnesyldiphosphat (FPP) = C<sub>15</sub> etc.) entstehen, welche durch AS-PTs als Seitenketten an Aromaten kondensiert werden können oder als Vorläufer der Mono-, Sesqui-, Di-, Tri-, Tetra- und schließlich Polyterpene fungieren.

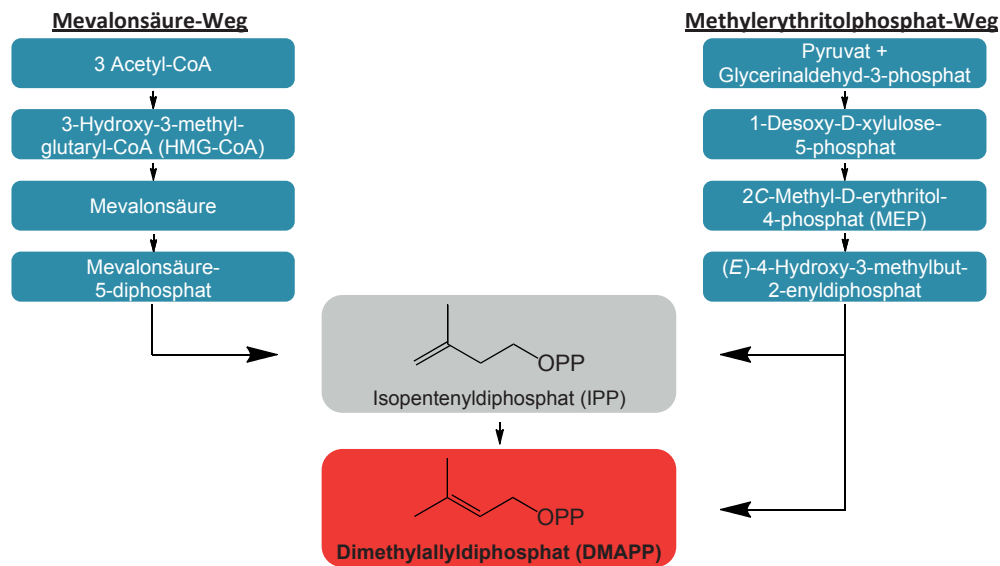


Abbildung 1.11 Unterschiedliche Biosynthesewege von DMAPP

## 1.4. Johanniskräuter – *Hypericum*

Zu der pflanzlichen Familie der Johanniskraut- bzw. Hartheugewächse (Hypericaceae) gehört die Gattung der Johanniskräuter (*Hypericum*), zu der knapp 500 unterschiedliche Arten Kräuter, Sträucher und auch wenige Bäume zählen<sup>[182]</sup>. Sie kommen nahezu weltweit verteilt vor mit einer Prävalenz für die gemäßigten Zonen der nördlichen Hemisphäre, wo ihre Standorte vornehmlich in Flach- bzw. Hochlandgebieten – und nur in tropischen Wachstumsgebieten an höher gelegenen Vegetationsorten (wie z.B. in den Anden) – zu finden sind (Abbildung 1.12).

Der lateinische Eigenname *Hypericum* leitet sich von der volksmedizinischen und apotropäischen Verwendung der Johanniskräuter in der Antike ab. Als erstes tauchte er im zweiten Jahrhundert v.Chr. als „*υπερικων*“ = *Upereikon* bei Nikandros aus Kolophon (*Alexipharmaka*) auf. Später wurde er dann im ersten Jahrhundert n.Chr. von Dioskurides (*Materia medica*) erwähnt. Außerdem erschien der Name in *De codicis Dioscuridei Aniciae Iulianae*, wo Johanniskraut als Schmuck von Götterbildnissen dargestellt wurde. Diese Dekoration hatte einen tieferen, spirituellen Hintergrund: Der Name *Upereikon* wurde damals denjenigen Pflanzen gegeben, die zur Vertreibung böser Geister über („*υπερ*“) religiöse Abbilder („*ικων*“ = Ikone) gehängt wurden. Johanniskraut mit seinen leuchtend hellen, sonnengelben Blüten und unzähligen Staubblättern wie Sonnenstrahlen wurde eine solche Bann- und Heilkraft nachgesagt, so wie die Sonne das Dunkel vertreibt. Es ist daher überzeugend, dass schon die Menschen im antiken Griechenland, ebenso wie später im Mittelalter, zum Abwenden böser Kräfte und Dämonen ihre Altäre und Ikonen mit dem dafür prädestinierten Johanniskraut („*Fuga daemonum*“, „*Jageteufel*“, „*Teufelsflucht*“) als Apotropaion schmückten<sup>[183,184]</sup>. Zugleich galt zu damaliger Zeit auch Johanniskraut als gemeines Heilmittel für mental verstimmte, melancholische Menschen selbst, da auch ihr Leiden – aus heutiger Sicht das Krankheitsbild der Depression – auf das Innewohnen böser Geister zurückgeführt wurde<sup>[185]</sup>.

Verantwortlich für den deutschen Gattungsnamen sind nach Überlieferungen höchstwahrscheinlich irische Christen, die den Kirchenheiligen JOHANNES mit der Namensgebung ehrten. Weil nämlich die begin-



nende Blütezeit des Johanniskrauts auf den 24. Juni und somit den Jahrestag von JOHANNES DEM TÄUFER fällt, benannten sie die zum Schmücken des christlichen Hochfestes gewählte Pflanze auch folglich nach ihm (*engl.* St. John's wort).

Bereits seit vielen Jahrhunderten werden mit dem Namen Johanniskraut wirksame Heilkräuter der Volksmedizin assoziiert. Der traditionelle Nutzen dieser Heilpflanzen in inneren und äußeren Anwendungen wurde bis heute bewahrt und hat nichts von seinem Potential und seiner Stellung in der Phytotherapie eingebüßt. Heutzutage ist das Echte Johanniskraut die bestuntersuchte und für Naturwissenschaftler interessanteste *Hypericum*-Art, weil nur diese pharmazeutisch Verwendung findet. Mit der Wahl des Echten Johanniskrauts zur Arzneipflanze des Jahres 2015<sup>[186,187]</sup> unterstrich der „Studienkreis Entwicklungsgeschichte der Arzneipflanzenkunde“ an der Universität Würzburg sogar nochmals seine aktuelle Relevanz für Medizin und Forschung. Da sich in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich mit dem Echten Johanniskraut und dem Großkelchigen Johanniskraut befasst wird, sollen diese beiden Arten nachfolgend genauer vorgestellt werden.

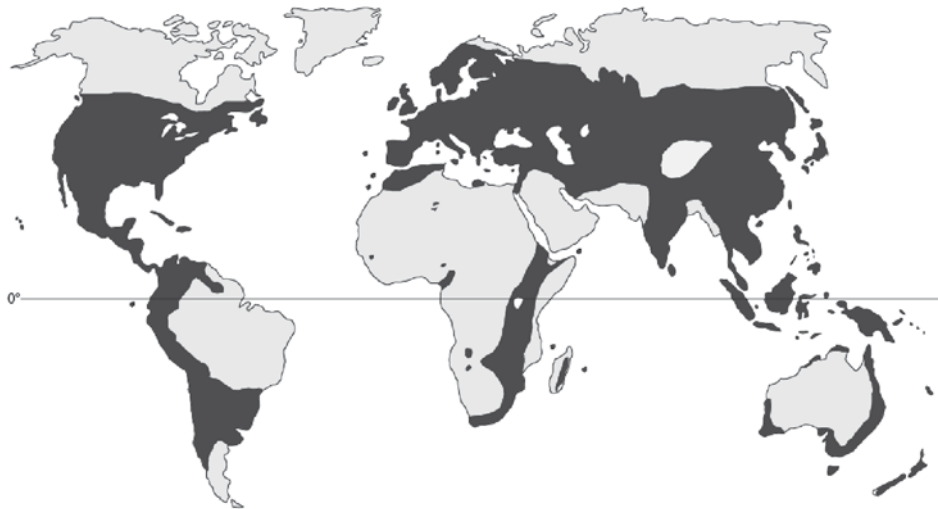


Abbildung 1.12 Weltweites Vorkommen der Gattung *Hypericum* (nach NÜRK<sup>[183]</sup>)

#### 1.4.1. Echtes Johanniskraut – *Hypericum perforatum* L.

Wenn im Allgemeinen im deutschsprachigen Raum von Johanniskraut gesprochen wird, so ist dabei nahezu immer die Arzneipflanze Echtes Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L., Hypericaceae) gemeint. Aufgrund seiner Blütezeit um den Johannistag am 24. Juni wird es im Deutschen altertümlich auch als Sonnenwendkraut bezeichnet, wegen des roten Saftes der Blüten als Herrgottsblut oder Blutkraut und bedingt durch den teilweise stark verholzten Stängel als (Tüpfel-)Hartheu. Es ist eine von neun in Deutschland vorkommenden *Hypericum*-Spezies und die einzige Art, dessen Droge im Europäischen Arzneibuch monographiert ist (Ph. Eur. 8.0/1438: Johanniskraut – „*Hyperici herba*“) und demnach in zugelassenen bzw. registrierten Arzneimitteln verarbeitet werden darf. Abgesehen von volkstümlichen Anwendungen oder traditionellen medizinischen Zubereitungen spielt also nur *H. perforatum* als Arzneipflanze eine Rolle in der rationalen Phytotherapie. Dieser Einsatz als Heilpflanze lässt sich bis in die Antike zurückverfolgen (siehe 1.4), u.a. mit der Erwähnung um 77 n.Chr. bei Plinius dem Älteren (*Naturalis historia*) gegen Verbrennungen. Um die gleiche Zeit hielt auch Dioskurides fest, dass zur Wundbehandlung, Fiebersenkung und Förderung der Diurese die Wirkung von Johanniskraut herangezogen werden kann. Als Anwendungsbeispiel bei melancholischen Verstimmungen und gegen dämonisches Treiben beschrieb Paracelsus im Jahr 1525 das erste Mal die wohltuende, psychoaktive Wirkkomponente einer *Hypericum*-Abkochung<sup>[188]</sup>.