

Diss. ETH No. 13582

**Biological Screening of Cyanobacteria and Phytochemical  
Investigation of *Nostoc commune* and *Tolypothrix byssoidea***

A dissertation submitted to the

**SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH**

for the degree of  
Doctor of Natural Science

Presented by

**Birgit Jaki**

Pharmacist  
Born May 4, 1970  
Karlsruhe, Germany

accepted on recommendation of

Prof. Dr. Otto Sticher, examiner  
Dr. Jörg Heilmann, co-examiner  
Dr. Hans-Rudolf Bürgi, co-examiner

Zürich 2000

## Summary

The extracts of 43 different cyanobacterial strains were investigated during a biological screening for their antibacterial, antifungal, cytotoxic, and molluscicidal activity. Thirty-six of these strains were selected from the Culture Collection of Algae of the Swiss Federal Institute of Water Resources and Water Pollution Control (EAWAG), while seven further isolated strains originated from three different field collections. Additionally, the three field-collected samples (one *Nostoc commune* strain and two mixed samples) were added to the same biological screening program.

Based on the results of the biological screening two cyanobacterial strains, *Nostoc commune* (EAWAG 122b) and *Tolypothrix byssoidea* (EAWAG 195) were chosen for large-scale cultivation.

Using different chromatographic methods, such as VLC and HPLC, a bioguided fractionation of the culture medium of both strains and of the cell material of the strain *Nostoc commune* led to the isolation of eleven compounds that were unknown in literature.

Seven diterpenoids, isolated from the culture medium of the strain *Nostoc commune* comprise two different unprecedented diterpenoid skeletons. Additionally, a new anthraquinone with an unusual substitution pattern and an indan derivative, that is only reported as synthetic product were obtained from the cell mass.

The investigation of the culture medium of the strain *Tolypothrix byssoidea* resulted in the isolation of two novel cyclic tridecapeptides, both comprising the unusual amino acid didehydrohomoalanine (Dhha).

All isolates show a biological activity in at least one of the test systems applied.

The structures of the isolates were established by spectroscopic and chemical methods, including UV, IR, and NMR spectroscopy, MS and MS-MS spectrometry, as well as by single-crystal X-ray analysis.

LC-NMR experiments were done to detect the extracellular compounds also in the cell material.

The presented results support the general notation that cyanobacteria are a promising source to yield chemical and pharmaceutical interesting compounds.

## Zusammenfassung

Die Extrakte von insgesamt dreiundvierzig verschiedenen Cyanobakterienstämmen wurden im Rahmen eines biologischen Screenings bezüglich ihrer antibakteriellen, antifungalen, zytotoxischen und molluskiziden Wirkung untersucht. Sechsenddreißig dieser Stämme wurden aus der Algenkultursammlung der Eidgenössischen Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz (EAWAG), ausgewählt, während sieben weitere isolierte Stämme aus drei verschiedenen Wildsammlungen resultierten. Zusätzlich wurden die drei wild gesammelten Proben (ein *Nostoc commune* Stamm und zwei gemischte Proben) direkt in das biologische Screening eingeschleust.

Anhand der Resultate des biologischen Screenings wurden zwei Cyanobakterienstämmen, *Nostoc commune* (EAWAG 122b) und *Tolypothrix byssoidea* (EAWAG 195), für eine Kultivierung im großen Maßstab ausgewählt.

Die bioaktivitätsgeleitete Fraktionierung der Kulturmedien beider Stämme und des Zellmaterials des Stammes *Nostoc commune* führte mit Hilfe verschiedener chromatographischer Methoden zur Isolierung von elf in der Literatur bisher nicht beschriebenen Substanzen.

Sieben Diterpene, die aus dem Kulturmedium des Stammes *Nostoc commune* isoliert wurden, weisen zwei neue diterpenoide Grundkörper auf. Darüber hinaus wurden aus der Zellmasse des selben Stammes ein neues Anthrachinon mit bisher nicht bekanntem Substitutionsmuster und ein Indan Derivat, das bisher nur synthetisch gewonnen werden konnte, isoliert.

Die Untersuchung des Kulturmediums des Stammes *Tolypothrix byssoidea* führte zur Isolierung von zwei neuartigen zyklischen Tridecapeptiden, die beide die nicht-natürliche Aminosäure Dehydrohomoalanin (Dhha) enthalten.

Alle isolierten Reinsubstanzen zeigen eine biologische Aktivität in mindestens einem der eingesetzten Testsysteme.

Die Strukturaufklärung der isolierten Substanzen erfolgte mittels spektroskopischer, spektrometrischer und chemischer Methoden, einschließlich UV-, IR- und NMR-Spektroskopie, MS- und MS-MS-Spektrometrie, sowie durch Einkristall-Röntgenstrukturanalyse. LC-NMR Untersuchungen wurden durchgeführt um

extrazellulär gewonnene Substanzen auch im Zellmaterial des Stammes *Nostoc commune* nachzuweisen.

Die hier beschriebenen Ergebnisse unterstützen die allgemeine Ansicht, daß Cyanobakterien eine vielversprechende Quelle für die Gewinnung chemisch und pharmazeutisch interessanter Substanzen sind.