



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Analytische Methoden und Bioaktivität ausgewählter
sekundärer Inhaltsstoffe
der Gattung *Brugmansia* (Solanaceae)

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasserin:	Sonja Leißer
Studienrichtung:	A 474 Ernährungswissenschaften
Betreuerin:	Ao.Univ.-Prof. Dr. Karin Valant-Vetschera

Wien, November 2010

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	SYSTEMATIK & MORPHOLOGIE	3
2.1	Systematik und Morphologie der Familie Solanaceae	3
2.1.1	Systematik der Solanaceae.....	3
2.1.2	Morphologie der Solanaceae	4
2.2	Systematik und Morphologie der Gattung <i>Brugmansia</i>	5
2.2.1	Systematik und Nomenklatur der Gattung <i>Brugmansia</i>	5
2.2.2	Morphologie der Gattung <i>Brugmansia</i>	7
2.2.3	Bestäubung der Gattung <i>Brugmansia</i>	7
2.2.4	Morphologische Unterscheidungsmerkmale: <i>Brugmansia</i> und <i>Datura</i>	8
2.2.5	Merkmale der untersuchten <i>Brugmansia</i> -Arten	8
2.3	Ethnobotanische Bedeutung der Solanaceae.....	14
3	SEKUNDÄRE PFLANZENSTOFFE	18
3.1	Alkaloide	19
3.1.1	Tropanalkaloide.....	19
3.1.2	Biosyntheseweg der Tropanalkaloide.....	21
3.1.3	Ort der Biosynthese von Tropanalkaloiden	23
3.1.4	Atropin.....	23
3.1.5	Scopolamin	24
3.1.6	Die Bedeutung der Alkaloide für pflanzliche und tierische Organismen.....	25
3.2	Flavonoide	27
3.2.1	Biosynthese von Flavonoiden	28
3.2.2	Quellen, Aufnahme und Resorption von Polyphenolen.....	31

3.2.3	Empfehlung der Tagesdosis.....	31
3.2.4	Bioverfügbarkeit und Metabolismus von Flavonoiden	32
3.2.5	Reduktion des Flavonoidgehaltes	33
3.2.6	Biologische Wirkung von Flavonoiden im tierischen Organismus ..	34
3.2.7	Biologische Aktivität in pflanzlichen Organismen	38
3.2.8	Exkretflavonoide.....	39
4	MATERIAL & METHODE	43
4.1	Pflanzenmaterial.....	43
4.2	Phytochemische Untersuchungen	44
4.2.1	Extraktion & Abspülung	44
4.2.2	Analytische Chromatographie	45
4.2.3	Präparative Chromatographie	49
4.3	Bioassays mit <i>Spodoptera littoralis</i>	52
4.3.1	Testorganismen	52
4.3.2	Zucht	54
4.3.3	Herstellung der künstlichen Nahrung	54
4.3.4	Einarbeitungsversuch.....	55
4.3.5	Auswertung der Versuche	56
5	ERGEBNISSE & DISKUSSION.....	58
5.1	Inhaltsstoffe	59
5.1.1	Vergleich der Exsudate in Blättern und Blüten von <i>Brugmansia</i>	59
5.1.2	Alkaloid-Nachweis.....	60
5.1.3	Versuchte Isolierung der unbekannten Substanz (P 18) aus Exsudaten und Gesamtextrakten	61
5.2	Biotests mit <i>Spodoptera littoralis</i>	64
6	ZUSAMMENFASSUNG	71

7	LITERATURVERZEICHNIS	72
8	ANHANG	83
8.1	Abbildungen der Herbarbelege	83
8.2	Danksagung.....	91
8.3	Lebenslauf	92

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Verbreitung der Solanaceae	3
Abb. 2: charakteristische Merkmale verschiedener <i>Brugmansia</i> -Arten.....	13
Abb. 3: Klassifizierung der sekundären Pflanzenstoffe	18
Abb. 4: charakteristische Tropanalkaloide der Gattung <i>Brugmansia</i>	21
Abb. 5: Die Biosynthese der Tropanalkaloide	22
Abb. 6: Grundstruktur der Flavonoide	28
Abb. 7: Biosyntheseweg der Flavonoide.....	30
Abb. 8: Verschiedene Stadien der <i>S. littoralis</i>	52
Abb. 9: Verbreitung der <i>S. littoralis</i>	53
Abb. 10: Drüsenhaare von <i>B. aurea</i>	58
Abb. 11: Vergleich der Exsudat-Menge von Blüten und Blättern verschiedener <i>Brugmansia</i> -Arten.....	59
Abb. 12: DC-Nachweis der Alkaloide in <i>B. aurea</i>	60
Abb. 13: HPLC-Profil und UV-Spektrum: Scopolamin	60
Abb. 14: HPLC-Profil: <i>B. aurea</i>	62
Abb. 15: Wachstumshemmungsrate von <i>S. littoralis</i>	65
Abb. 16: Letalitätsrate von <i>S. littoralis</i>	67
Abb. 17: Vergleich der Wachstumsraten von <i>S. littoralis</i> , Eriodictyol-7-Me und Nikotin	69

Abb. 18: Herbarbeleg von <i>B. aurea</i> , WU045045.....	83
Abb. 19: Herbarbeleg von <i>B. aurea</i> , WU045046.....	84
Abb. 20: Herbarbeleg von <i>B. suaveolens</i> , WU045047	85
Abb. 21: Herbarbeleg von <i>B. suaveolens</i> , WU045048.....	86
Abb. 22: Herbarbeleg von <i>B. candida</i> , WU045049	87
Abb. 23: Herbarbeleg von <i>B. candida</i> , WU045050	88
Abb. 24: Herbarbeleg von <i>B. suaveolens</i> , WU045052.....	89
Abb. 25: Herbarbeleg von <i>B. suaveolens</i> , WU045053.....	90

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht über das verwendete Pflanzenmaterial.....	43
Tab. 2: Ausbeute der Exsudate	44
Tab. 3: Laufmittel-Gradient-HPLC: Methode 1, für Flavonoide	47
Tab. 4: Laufmittel-Gradient-HPLC: Methode 2, für Flavonoide	47
Tab. 5: Laufmittel-Gradient-HPLC: Methode 3, für Alkaloide	48
Tab. 6: Gradient der Lösungsmittelgemische für die Trockensäule	50
Tab. 7: Gradient der Lösungsmittelgemische für die MPLC.....	51
Tab. 8: Futterzusammensetzung für <i>S. littoralis</i>	55
Tab. 9: Vitaminlösung für <i>S. littoralis</i>	55
Tab. 10: R _f -Werte der Dünnschichtchromatographie.....	61
Tab. 11: gemessene UV-Shift-Daten nach Mabry et al. (1970)	64
Tab. 12: EC ₅₀ -Werte der Bioassays mit <i>S. littoralis</i>	67
Tab. 13: LC ₅₀ -Werte der Bioassays mit <i>S. littoralis</i>	68

1 EINLEITUNG

Sekundäre Pflanzenstoffe sind in erster Linie für den Fortbestand der Pflanzen in ihrer Umwelt verantwortlich, sind strukturell vielfältig und werden nach ihrer biogenetischen Herkunft in Stoffklassen wie etwa Alkaloide, Flavonoide oder Terpenoide gruppiert (Hartmann, 1985). Somit tragen sie wesentlich zur Chemodiversität der Pflanzen bei. Darüber hinaus sind viele dieser sekundären Stoffe aufgrund ihrer pharmakologischen Wirkung auch für den Menschen bedeutsam (Watzl & Leitzmann, 2005). Häufig werden Sekundärstoffprofile zur Charakterisierung von Arten und Gattungen herangezogen und chemosystematisch interpretiert. Flavonoide kommen sowohl in Geweben (meist als Glykoside) sowie in Drüsenexkreten (meist als freie Aglyka) vor (Valant-Vetschera & Brem, 2006; Vetschera, 1999).

Die Familie der Solanaceae umfasst neben den bekannten toxischen Pflanzen (*Nicotiana*) auch eine Reihe von Nutzpflanzen, wie etwa Kartoffeln, Auberginen etc. Die bekannten Hauptwirkstoffe sind Alkaloide aus unterschiedlichen Derivatgruppen. Weniger bekannt ist das Vorkommen von Exkretflavonoiden, welche zumeist auf Blättern als Produkt sezernierender Drüsen akkumuliert werden. Bislang konnten für einige Gattungen (z.B. *Nicotiana*, *Solanum*, *Datura*) entsprechende Nachweise erbracht werden. Speziell *Nicotiana*- und *Solanum*-Arten wiesen komplexere Flavonoidprofile auf, jedoch konnte nicht in allen untersuchten Arten das Vorkommen von Exkretflavonoiden nachgewiesen werden (Wollenweber et al., 2005). In Fortführung dieser Untersuchungen sollten nunmehr Arten der Gattung *Brugmansia* Pers., welche mit der Gattung *Datura* eng verwandt ist, erstmalig diesbezüglich analysiert werden. Die Flavonoidprofile der Exkrete bisher untersuchter Arten der Gattung *Datura* weisen allerdings nur wenige Flavonoide in eher geringeren Mengen auf (Wollenweber et al., 2005).

Das Hauptinteresse dieser Arbeit galt zunächst der Entwicklung unterschiedlicher analytischer und präparativer Methoden zur Isolierung sowie der Strukturaufklärung von Exkretflavonoiden. Dies war umso wichtiger, als in

früheren Arbeiten vorwiegend dünnschichtchromatographische Vergleiche zur Erfassung der Exkretflavonoidprofile herangezogen wurden, welche mit der empfindlicheren HPLC-Analytik deutlich besser erfassbar sein sollten. Nachdem Exkretflavonoide meist durch sezernierende Drüsenhaare von der Pflanze nach außen abgegeben werden, bietet das Vorhandensein dieser Strukturen einen ersten Anhaltspunkt bei der Suche nach Exkretflavonoiden, weshalb dieser Punkt ebenfalls zu berücksichtigen war.

Weiters wurde der Fokus dieser Arbeit auf Tropanalkaloide gelegt, welche besonders häufig in Solanaceae vorkommen. Ihre toxische Wirkung ist sowohl für den pflanzlichen Organismus (als Fraßschutz) als auch für den Menschen (pharmazeutische Wirkung) von Bedeutung. Nach Literaturergebnissen reduziert das Tropanalkaloid Scopolamin das Wachstum der Generalisten *Spodoptera exigua* Hübner und *S. frugiperda* Smith, übt jedoch keine Wirkung auf den Generalisten *Heliothis zea* Boddie oder den Spezialisten *Manduca sexta* L. aus. Untersuchungen mit *S. frugiperda* zeigten ebenfalls wachstumshemmende und letale Wirkung bei Verabreichung von Blattextrakten der *B. suaveolens* (Willd.) Bercht. & C.Presl (Alves et al., 2007). In der vorliegenden Arbeit sollten daher Bioassays mit einem anderen Generalisten, *S. littoralis* durchgeführt werden, um auf insektizide Wirkung zu testen. Bei *S. littoralis* handelt es sich um einen bedeutenden Agrarschädling in Tomatenkulturen (Harborne, 1995; Jandl, 1993), weshalb hier Vergleiche zwischen diesen verwandten Gattungen vielversprechend erscheinen.

Neben dem methodischen Teil und der Darstellung der Ergebnisse werden überdies wichtige Hintergrundinformationen zur Botanik der Gattung *Brugmansia* und der Familie Solanaceae gegeben sowie die wichtigen Stoffklassen der Flavonoide und Alkaloide umfassend dargestellt. Insbesondere wird auch auf die Wirkung dieser Stoffe in der menschlichen Ernährung eingegangen und die pharmakologischen Aktivitäten beleuchtet.

2 SYSTEMATIK & MORPHOLOGIE

2.1 SYSTEMATIK UND MORPHOLOGIE DER FAMILIE SOLANACEAE

2.1.1 Systematik der Solanaceae

Die Familie der Solanaceae (Nachtschattengewächse) umfasst mehr als 90 Gattungen mit rund 2000 Arten. In dieser Familie findet man krautige Pflanzen, Sträucher, Lianen und Bäume (Heywood, 2007). Solanaceae sind fast weltweit verbreitet, besonders findet man sie in tropischen und gemäßigten Zonen. Da in Mittel- und Südamerika mehr als 40 Gattungen endemisch sind, geht man davon aus, dass die Familie dort ihren Ursprung hat (Heywood, 1982).



Abb. 1: Verbreitung der Solanaceae (www.mobot.org)

Solanaceae sind in der Ordnung Solanales die größte Familie neben Convolvulaceae, Hydroleaceae, Montiniaceae und Sphenocleaceae (Heywood, 2007; www.mobot.org). Laut phylogenetischer Untersuchung (DNA-Sequenzen: *rbcL*), stehen die Convolvulaceae den Solanaceae am nächsten (Heywood, 2007; Savolainen et al., 2000).

Die taxonomische Untergliederung der Familie Solanaceae ist noch nicht zur Gänze geklärt und Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Traditionell

werden die beiden Unterfamilien Cestroideae und Solanoideae, basierend auf Samen- und Embryomerkmalen, unterschieden (Haegi, 1986; Heywood, 2007; Olmstead et al., 2008). Aufgrund molekularer Untersuchungen (Chloroplasten-DNA-Sequenzen: *rbcL* und *ndhF*) ergibt sich eine Gliederung in 7 Unterfamilien mit insgesamt 20 Triben (Olmstead et al., 1999). Während die Familie nach Hunziker (2001) in 6 Unterfamilien mit 21 Triben gegliedert ist, legen andere molekularsystematische Studien (Chloroplasten-DNA-Sequenzen: *ndhF* und *trnLF*) eine Gliederung in 4 Unterfamilien mit 14 Triben nahe. Viel diskutierte Gattungen wie *Goetzea*, *Nolana*, *Duckeodendron* und *Sclerophylax* werden nach diesen Ergebnissen der Familie der Solanaceae zugeordnet (Olmstead et al., 2008).

2.1.2 Morphologie der Solanaceae

Die Blätter der Solanaceae sind in Größe und Form mannigfaltig, gewöhnlich einfach oder verschiedenartig geteilt und wechsel- oder manchmal auch gegenständig. Nebenblätter sind nie vorhanden. Thyrsen und cymöse Infloreszenzen sind für die Familie der Solanaceae typisch. In einigen Fällen treten auch Einzelblüten auf (z. B. bei *Datura* L.). Die Blüten sind zwittrig, meist radiär und bestehen häufig aus 5 Sepalen und 5 Petalen, welche teilweise und auf verschiedene Arten miteinander verwachsen sein können. Die Kronenform erscheint rund und flach, glocken- oder röhrenförmig, selten auch zweilippig. Die Staubbeutel der 5 (selten 4) überwiegend gleichlangen Stamina berühren sich meist, jedoch ohne zu verkleben. Die oberständigen Fruchtknoten bestehen aus 2 (selten 3 bis 5) verwachsenen Karpellen, mit meist 2 oder mehr Fächern, und sind im Allgemeinen mit zahlreichen zentralwinkelständigen Samenanlagen ausgestattet. Es ist nur ein Griffel vorhanden. Die vielsamige Frucht ist eine Beere oder selten eine Kapsel. Ihre glatten oder vernetzten Samen sind reich an Endosperm (Bhattacharyya & Johri, 1998; Heywood, 1982; Heywood 2007). Viele Arten der Solanaceae weisen drüsenartige Trichome (Drüsenhaare) auf (Wollenweber et al., 2005).

2.2 SYSTEMATIK UND MORPHOLOGIE DER GATTUNG *BRUGMANSIA*

2.2.1 Systematik und Nomenklatur der Gattung *Brugmansia*

Die hier untersuchte Gattung *Brugmansia* Pers. ist ebenso wie die nah verwandte Gattung *Datura* L. innerhalb der Unterfamilie Solanoideae dem Tribus Datureae zugeordnet, wobei *Brugmansia* ca. 6 Arten und *Datura* 11 Arten umfasst (Olmstead et al., 2008). Der Tribus Datureae selbst ist von den anderen Triben Solaneae, Capsiceae, Physaleae und Salpichroina stark abgegrenzt. Die Wildarten von *Brugmansia* und ihre natürlichen Hybriden kommen vom Meeresniveau bis über 3000 m Seehöhe in den Anden, von Kolumbien, Ecuador, Peru und möglicherweise auch in Bolivien, vor (Hunziker, 1979). Die meisten Arten der Gattung *Datura* sind im südlichen Teil von Nordamerika, in südöstlichen Staaten von Amerika bis Mexiko und Zentralamerika, sowie auf den Karibischen Inseln vertreten. Im Gegensatz zu diesem relativ gut abgegrenzten Gebiet, werden zwei Arten von entfernteren Gebieten angegeben: *D. ferox* L. in China und *D. metel* L. im südlichen Zentralasien. *D. leichhardtii* F. Muell. Ex Benth. soll nicht nur in Zentralamerika, sondern auch in Australien beheimatet sein (Symon & Haegi, 1991).

Die Taxonomie und Nomenklatur von *Brugmansia* war im Laufe der Zeit starken Veränderungen unterworfen. Linnè (1753) beschrieb die heutige *Brugmansia* zunächst als *Datura arborea*. Später fasste Persoon alle baumartigen, mehrjährigen Arten in der Gattung *Brugmansia* zusammen. Für Bernhardt waren die Gründe einer Abtrennung als eigene Gattung jedoch nicht ausreichend. Er ordnete *Brugmansia* 1833 erneut der Gattung *Datura* zu (Lockwood, 1973; Preissel & Preissel, 1997). Auch Safford bezeichnete *Brugmansia* als ‚baumartige *Datura*‘ und stellte sie 1921 zur Gattung *Datura*. (Luna-Cavazos et al., 2009; Safford, 1921). Die Diskussion über die Abtrennung der *Brugmansia* von der Gattung *Datura* wird bis heute kontrovers diskutiert. Demnach wird wiederholt die Eigenständigkeit der Gattung *Brugmansia* angezweifelt. Zwischenzeitlich wurde weiters die (heute ungültige)

Gattung *Pseudodatura* von Zijp eingeführt (Lockwood, 1973). Schließlich entschied sich Lockwood 1973 für die Zusammenfassung aller baumartigen (als Abgrenzung zu krautigen) Arten in die eigene Gattung *Brugmansia*, welche in der Literatur größtenteils nach seinen Vorgaben geführt wird (Lockwood, 1973; Luna-Cavazos et al., 2000; Preissel & Preissel, 1997).

Die endgültige Abklärung der taxonomischen Position von *Brugmansia*, nämlich ob sie als eigenständige Gattung oder doch nur als Sektion der Gattung *Datura* aufzufassen wäre, regte zu weiteren Untersuchungen an. So untersuchte Mino (1994) mit Hilfe des Edman-Abbaues die Aminosäuresequenz des Ferredoxins von *D. arborea* L. Dabei stellte er 3 bis 4 Unterschiede zu *D. stramonium* L. und *D. metel* L. fest. Diese Analyse gab ihm den Hinweis dafür, der Meinung von Bernhardt und Safford zu folgen und die ‚baumartigen *Daturae*‘ nicht als eigenständige Gattung zu führen. Dennoch sprechen traditionelle biogeographische, morphologische und genetische Ergebnisse für die Aufrechterhaltung der Gattung *Brugmansia* (Persson et al., 1999). Auch die pollenmorphologischen Differenzierungen ergaben weitere Hinweise zur Trennung der beiden Gattungen (Persson et al., 1999).

Nach Mace (1999) formt *Brugmansia* aufgrund Untersuchungen der Amplified Fragment Length Polymorphism Methode (AFLP technique) eine eigenständige Gruppe, stark abgegrenzt zur krautigen Gattung *Datura*. Die Ähnlichkeit der beiden Gruppen beträgt demnach nicht mehr als 20%. Dieses Resultat wurde auch durch eine phytochemische Studie bekräftigt. Blätter von *Brugmansia*-Arten beinhalten demzufolge höhere Konzentrationen an 3,6-disubstituierten Tropanen sowie β -isomerischen Tropanestern, die in *Datura*-Arten kaum nachgewiesen werden konnten. Die ähnliche Alkaloid-Zusammensetzung in den Wurzeln der Gattung *Brugmansia* und der Sektion *Dutra* weisen auf die enge Beziehung der beiden hin, während das Alkaloid-Derivatmuster der Sektion *Stramonium* von beiden abweicht. (Doncheva et al., 2006). Das Ergebnis aktueller phylogenetischer Untersuchungen auf Basis der Chloroplasten DNA-Regionen (*ndhF* und *trnLF*) bestätigt ebenso die Beibehaltung von *Brugmansia* als eigenständige Gattung. Jedoch wurden in dieser

Arbeit nur je 2 Arten pro Gattung mit Hilfe dieser Analyse untersucht (Olmstead et al., 2008). Obwohl die bisherigen Arbeiten noch keine eindeutige Klärung der taxonomischen Verhältnisse brachten, wird mehrheitlich *Brugmansia* doch als eigenständige Gattung angesehen und damit der Auffassung Lockwoods (1973) gefolgt.

2.2.2 Morphologie der Gattung *Brugmansia*

Die Arten und Hybriden der Gattung *Brugmansia* sind Sträucher oder kleine Bäume, mit hängenden oder nickenden Blüten. Die Fruchtknoten sind bicarpellat und zweifächerig. Es werden trockene Beeren mit großen Samen (7 bis 12 mm lang und 5 bis 8 mm weit) gebildet, die meist eine dicke, korkartigen Samenschale aufweisen (Hunziker, 1979). Die einzelnen Sepalen und Petalen der *Brugmansien* sind normalerweise vollständig miteinander verwachsen. Die Blütenblätter bilden die Kronröhre, die im vorderen Teil in den Blütensaum übergeht. Dieser hat mehr oder weniger ausgeprägte Zipfel, die durch die Spitzen der miteinander verwachsenen Blütenblätter gebildet werden. Aufgrund der Blütenkronenform, die von trompeten- und trichterförmig über röhrig reichen kann, wird *Brugmansia* auch ‚Engelstrompete‘ genannt (Preissel & Preissel, 1997).

2.2.3 Bestäubung der Gattung *Brugmansia*

Die natürliche Bestäubung erfolgt bevorzugt von Nachtfaltern oder verschiedenen kleinen Insektenarten. Darwin schrieb bereits 1889 von der Bestäubung der *Brugmansia* durch langschnabelige Kolibris (Kodric-Brown et al., 1984; Darwin, 2005). Bestäuber (außer Kolibris) werden durch die Blütenfarbe und den in frühen Abendstunden stärker ausgeprägten Duft angelockt. Die Intensität des Duftes ist von Art zu Art verschieden (Preissel & Preissel, 1997).

2.2.4 Morphologische Unterscheidungsmerkmale: *Brugmansia* und *Datura*

Das wohl wichtigste Merkmal ist der verholzte strauch- und baumförmige Wuchs von *Brugmansia*-Arten. Eine Pflanze kann bis zu 8 m Höhe erreichen. Im Gegensatz dazu sind *Daturae* krautige Pflanzen, die bestenfalls an der Basis etwas verholzen und eine Höhe von 1,5 m erreichen können. Weiters sind *Brugmansia*-Arten langlebige Pflanzen, während *Daturae* meist einjährig sind, oder durch unterirdische Speicherorgane überdauern. Die Blütenbildung und -entwicklung von *Brugmansia* wird durch die Temperatur beeinflusst. Auf *Datura*-Arten hingegen wirkt die tägliche Lichtmenge (Lichtdauer x Lichtstärke). Auch die Blütenstellung ist eindeutig unterschiedlich: nickend bis vollständig hängend bei *Brugmansia* und aufrecht bei allen *Datura*-Arten. Die Kelchbasis verbreitert sich während der Fruchtreife bei *Brugmansia* nicht. Bei *Datura*-Arten wächst dabei in der Regel die Basis zu einer Manschette heran. Ein typisches Merkmal von *Datura* ist die meist bestachelte Kapselfrucht, welche sich während der Reifung öffnen kann. Brugmansien hingegen verfügen immer über unbestachelte, stets geschlossene Beerenfrüchte. Die Samenschale von *Brugmansia* ist, im Gegensatz zu *Datura*, vorwiegend mit einer dicken, korkartigen Hülle umgeben. Diese Hülle tritt bei *Datura* nicht auf (Preissel & Preissel, 1997).

2.2.5 Merkmale der untersuchten *Brugmansia*-Arten

Generell ist die Abgrenzung der einzelnen *Brugmansia*-Arten und ihrer Hybriden problematisch. Da die Blätter in ihrer Form, Größe oder ihrem Behaarungszustand oft innerhalb der Art stärker variieren als zwischen den Arten, können sie als Bestimmungsmerkmal in der Regel nicht herangezogen werden. Auch Größe und Ausfärbung der Blüten einer Art lassen sich nie eindeutig festlegen, da diese ständig Ernährungs-, Licht- und Temperaturschwankungen unterliegen. Somit nehmen physiologische Faktoren und Umweltbedingungen Einfluss auf die Ausprägung morphologischer Merkmale (Preissel & Preissel, 1997; Shaw, 1999).

Zur Bestimmung von *Brugmansia*-Arten und -Hybriden werden folglich Merkmale herangezogen, die keinen wechselnden Umweltbedingungen unterliegen (Preissel & Preissel, 1997):

- Öffnung des Kelches
- Verengter Teil der Blütenkrone nach Kelchaustritt
- Form und Länge der Petalen
- Länge der Blütensaumspitzen
- Blütenstellung
- Antheren
- Fruchtform

Nachfolgend werden die wesentlichsten Merkmale der untersuchten Arten sowie deren Nomenklatur näher beschrieben.

Brugmansia suaveolens (Willd.) Bercht. & C.Presl

- | | |
|-----------|---|
| 1700-1804 | Entdeckung während der Amerikareise: Alexander von Humboldt und Aimé Bonpland |
| 1809 | Erstbeschreibung durch Carl Ludwig von Willdenow unter dem Namen <i>Datura suaveolens</i> |
| 1823 | Einordnung in die Gattung <i>Brugmansia</i> |

B. suaveolens ist heute die wohl am weitesten verbreitetste unter den Engelstropfen. Diese reichblühende und großblütige Art sowie ihre Hybriden, werden in Europa gerne kultiviert. Aufgrund ihrer Starkwüchsigkeit und ihrer relativ wetterunabhängigen, sicheren Blüte ist sie als Zierpflanze besonders beliebt. Da sie selbst im Winter (bei entsprechenden Licht- und Temperaturverhältnissen) blüht, eignet sie sich besonders gut für die Bepflanzung von Wintergärten. Ihre ursprüngliche Heimat ist die Küstenregion von Südostbrasilien (unter 1000 m), wo hohe Luftfeuchtigkeit, hohe Niederschlagsmengen und hohe Temperaturen herrschen. Gegenwärtig findet man *B. suaveolens* in weiten Teilen von Süd- und Zentralamerika, Mexiko, der Karibik

und im tropischen Afrika. Die Antheren von *B. suaveolens* sind nach dem Öffnen der Blütenknospen miteinander verklebt (Abb. 2: F). Erst während des Verblühens beginnen sie sich voneinander zu lösen. Dies gilt als sicheres Erkennungsmerkmal für *B. suaveolens*, da bei den anderen Arten die Staubgefäße bereits zu Blühbeginn einzeln und unverklebt sichtbar sind. Die Blütenkronen sind vorwiegend weiß bis cremeweiß, selten auch gelb oder rosa gefärbt. Die nickende, manchmal sogar waagrechte Blütenstellung (Abb. 2: E) ist typisch für *B. suaveolens* und zählt somit ebenfalls zu den sicheren Erkennungsmerkmalen. Der Blütenbau sowie die in der Dämmerung intensive Duftausprägung und die leuchtende Blütenfarbe weisen auf Nachtfalter als mögliche Bestäuber hin. *B. suaveolens* blüht zwar schubweise, doch zeigt sie sich nie zeitweilig blütenlos wie einige andere Arten. Als besonders stark wachsende Art dieser Gattung erlangt sie eine Höhe von 5 bis 8 m. Ihre Blätter haben eine ovale bis elliptische Form und sind wenig behaart und glänzend. Der glänzende Kelch ist leicht aufgeblasen, und verbreitert mit annähernd eckiger Form. Die längliche, spindelartige Frucht wird 10 bis 22 cm lang und vertrocknet noch am Baum. Die natürliche Verbreitung des Samens erfolgt durch Wind oder abfließendes Wasser (Preissel & Preissel, 1997).

Brugmansia aurea Lagerh.

1893 Erstbeschreibung durch Nils Gustav Lagerheim

Ihre ursprüngliche Heimat liegt in den 2000 bis 3000 m hohen Andenregionen von Nordkolumbien, Venezuela und Ecuador. *B. aurea* ist sehr frostempfindlich und hat daher kühlere Gebiete nie besiedelt. Der Name *aurea* (lat. ‚golden‘) weist auf die meist gelbe Blütenfarbe hin. Alle Nuancen dieses Farbtönen, von schwefelgelb, goldgelb über apricotgelb bis hin zu cremeweiß und rosafarbenen Tönen, können auftreten. Die trompetenförmigen Blüten (Abb. 2: B) sind von einer festen, wachsartigen Konsistenz und erreichen bis zu 29 cm Länge. Ihre Blütenstellung ist nickend bis senkrecht hängend. Ihre Blütensaumspitzen werden 4 bis 8 cm lang und sind meist zurückgerollt. Durch den besonders intensiven Duft den *B. aurea* in der Dämmerung abgibt, werden Nachtfalter zur Bestäubung angelockt. An ihren Naturstandorten wurden oft-

mals auch Kolibris bei der Bestäubung beobachtet. Der Kelch ist schwach behaart, glänzend, und bedeckt den röhrenförmigen basalen Teil der Blütenkrone. Die Kelchöffnung ist zwei- bis fünffach gezähnt. *B. aurea* weist keinen verengten Teil der Blütenkrone nach dem Kelchaustritt auf. Die Frucht von *B. aurea* ist länglich, eiförmig, und erreicht eine Länge von etwa 10 cm. Die Verwitterung und natürliche Verbreitung erfolgt wie bei *B. suaveolens*. Obgleich die Blätter von *Brugmansia* als Merkmalskriterium nicht herangezogen werden, zeichnet sich *B. aurea* (im Vergleich zu anderen Arten) durch ihre außergewöhnlich großen, imposanten Blätter (Abb. 2: A) aus (Preissel & Preissel, 1997).

Brugmansia candida Pers.

1799 in der ‚Flora Peruviana‘ erscheint eine Abbildung von Ruiz und Pavon unter dem Namen *Datura arborea*

1805 Erstbeschreibung durch C.H. Persoon als *Brugmansia candida*

1973 erkannte T. E. Lockwood ihren Hybridcharakter (*B. x candida*)

B. x candida zählt neben *B. x insignis*, *B. suaveolens* x *B. versicolor* und *B. x flava* zu den Naturhybriden. *B. x candida* entstand aus der Kreuzung von *B. versicolor* & *B. aurea*. In freier Natur kommt *B. x candida* nur an den westlichen und östlichen Hängen der ecuadorianischen Anden in 1000 bis 1500 m Höhe vor. In diesen Gebieten waren die Elternpflanzen (*B. versicolor* & *B. aurea*) nicht beheimatet. Erst der Mensch hat sie dort angesiedelt und es erfolgte vermutlich eine Spontankreuzung der beiden Arten. Spätere Kreuzungsversuche zwischen *B. versicolor* und *B. aurea* bestätigen den Hybridcharakter von *B. x candida*. Angesichts ihrer positiven Eigenschaften (dekoratives Aussehen, Umweltresistenz, Blüte zwischen 0 und 2000 m Seehöhe) ist sie heute in Nordchile, Peru, Ecuador, Kolumbien, Zentralamerika, Mexiko und auf den Karibischen Inseln zu finden. Auch in Afrika und Europa wird sie kultiviert.

Als Hybridpflanze zeigt sie Eigenschaften der beiden Elternarten. Alle Variationsmöglichkeiten sind denkbar. Da sich *B. x candida* gerne mit *B. versicolor* und *B. aurea* rückkreuzen lässt, können auch nur kleine Veränderungen zu den Elternteilen sichtbar werden. Häufig kommt es zu folgenden Ausprägungen: Die Blüte von *B. x candida* verströmt einen starken Duft und wird zwischen 23 und 33 cm lang. Die Kronröhre weist keine oder nur eine sehr schwache Verengung außerhalb des Kelches auf (Abb. 2: D). Der Kelchtyp hat deutlich Ähnlichkeit mit *B. versicolor*. Er ist nur einseitig geschlitzt und hat eine glänzende, behaarte Oberfläche. Der Blütensaum ist stark erweitert und die Blütensaumspitzen erreichen eine Länge von bis zu 6 cm. Das lateinische ‚candidus‘ bedeutet ‚weiß‘ und betont die meist schneeweiße Blütenfarbe. Es können jedoch auch gelbe, apricot- oder rosafarbige Blüten vorkommen. Die Blütenstellung ist hängend. Selten kommt es zu einer blütenlosen Zeit. Selbst im Winter *kann B. x candida* bei geeigneten Temperaturen schubweise blühen. Als Besonderheit dieser Hybridform sind manchmal gefüllte Blüten vorhanden. Dabei treten zwei ineinander liegende Petalen auf (Abb. 2: C). Hinsichtlich der Früchte finden sich alle Varianten, vom länglichen *B. versicolor*-Typ bis zu eiförmigen *B. aurea* Früchten. Genau wie bei den oben beschriebenen Arten vertrocknen auch diese Früchte am Baum (Preissel & Preissel, 1997).



A



B



C



D



E



F

Abb. 2: charakteristische Merkmale verschiedener *Brugmansia*-Arten

A *B. aurea*: außergewöhnlich große Blätter; **B** *B. aurea*: trompetenförmige Blütenkronen; **C** *B. candida*: ineinander liegende Petalen; **D** *B. candida*: keine Verengung der Kronröhre außerhalb des Kelches; **E** *B. suaveolens*: nickende, manchmal sogar waagrechte Blütenstellung; **F** *B. suaveolens*: verklebte Antheren.

2.3 ETHNOBOTANISCHE BEDEUTUNG DER SOLANACEAE

Die Familie der Solanaceae umfasst eine Reihe von Nutz-, Zier- (Heywood, 1982) und Medizinalpflanzen (Hawkes, 1999) und stellt somit eine bedeutende Pflanzenfamilie für den Menschen dar. Verschiedene Arten der Solanaceae werden als Nahrungsmittel verwendet. Dazu zählen die Sprossknolle von *Solanum tuberosum* L. (Kartoffel), und die Früchte von *S. melongena* L. (Aubergine), *Lycopersicon esculentum* Mill. (Tomate; Heywood, 1982), *Capsicum annuum* L. (Gemüsepaprika), *C. annuum* L. var. *annuum* (Gewürz-paprika) und *C. frutescens* L. (Chili; Lieberei & Reisdorff, 2007). Im tropischen Amerika werden auch noch andere beliebte Pflanzen, beispielsweise *S. muricatum* Ait. (Pepino) und *Physalis pubescens* L. (Kapstachelbeere) kultiviert (Heywood, 1982; Hawkes, 1999). Viele Arten der Solanaceae sind überdies als Zierpflanzen sehr beliebt und deshalb in Gärten weit verbreitet. Dazu zählen u. a. *Petunia*-, *Brunfelsia*-, *Nierembergia*- und *Brugmansia*-Arten (Heywood, 1982).

Der Name der Solanaceae ‚Nachtschattengewächse‘ stammt von ‚Nachtschade‘ was so viel wie ‚Alptraum‘ bedeutet. Dies weist auf den Zusammenhang mit der Giftwirkung und den psychoaktiven Auswirkungen der Inhaltsstoffe der Pflanzenfamilie hin (Dietrich, 2006). Diese Familie stellt eine wichtige Quelle für medizinische, toxische und halluzinogene Pflanzen dar (Griffin & Lin, 2000). Für diese physiologischen Wirkungen sind vor allem die Tropanalkaloide (siehe 3.1.1) als Hauptinhaltsstoffe verantwortlich (Roddick, 1991). Viele Arten der Solanaceae werden seit Beginn der Zivilisation zur gesundheitlichen Prävention und bei unterschiedlichen Gesundheitsstörungen eingesetzt (Roddick, 1991).

In der Antike war *Atropa belladonna* L. bei Griechen und Römern bekannt als ‚tödliches Gift‘ (Nee, 2007) und wurde im Mittelalter in Europa von Hexen für Aufgussgetränke verwendet (Schultes, 1970). Ihren Namen ‚belladonna‘ (ital. ‚schöne Frau‘) erhielt die Pflanze aufgrund ihrer Verwendung

von Frauen im antiken Rom. Erweiterte Pupillen galten zu dieser Zeit als Schönheitsideal, was durch Atropin (hemmt Acetylcholin im Auge) erreicht wurde (Bullimore, 2002). Im mediterranen und asiatischen Raum, speziell in Indien, fand *Datura metel* als Narkotikum Anwendung. Andere Arten von *Datura* wurden im frühen Europa in der Hexenkunst für Zaubersprüche hoch geschätzt. Auch in der neuen Welt fanden *D. meteloides* Dunal und *D. inoxia* Mill. im antiken und modernen Mexico als Halluzinogen in Ritualen rege Verwendung. *D. stramonium* L., auch 'jimson weed' genannt, wurde von Indianern in Teilen Nordost-Amerikas in Initiationsriten angewandt (Schultes, 1970).

Ethnobotanische Bedeutung der Gattung *Brugmansia*

Die halluzinogene Verwendung von *Brugmansia* in der Alten Welt ist aufgrund schriftlicher Aufzeichnungen zwar bekannt, jedoch liegt die Hauptanwendung in der Neuen Welt, wo weitaus mehr Arten magische, medizinische und religiöse Bedeutung in unterschiedlichen Kulturkreisen haben (Schultes, 1979).

Bereits über viele Generationen hinweg wurden Rezepte und Mixturen über Verwendung von Brugmansien mündlich weitergegeben. Daraus lässt sich schließen, dass verschiedene Völker schon früh die halluzinogene Wirkung für sich entdeckten. Brugmansien wurde nicht als Rauschmittel missbraucht, sondern verwendet, um mit den Göttern und Ahnen in Kontakt zu treten. In dieser Bewusstseinsveränderung baten die Menschen um Hilfe um das Leben ihres Stammes positiv zu beeinflussen. Brugmansien waren der Schlüssel, um die Tür zu anderen Welten zu öffnen (Preissel & Preissel, 1997).

B. aurea

B. aurea, die unter anderem den volkstümlichen Namen 'Borrachero' trägt, findet in Ecuador Gebrauch zur Auslösung prophetischer Träume, welche dem weiteren Leben eine Richtung geben sollen (Rätsch, 1998). Auch als Betäubungsmittel wurde 'Borrachero' nach Berichten aus dem Jahre 1589 vom Stamm der Muisca eingesetzt (Preissel & Preissel, 1997). Die Samen von *B.*

aurea werden Maisbier (Chicha) zugesetzt, welches bei religiösen Ritualen und Festen getrunken wird. Die medizinische Wirkung entspricht grundsätzlich der von *B. candida* (Rätsch, 1998). Zusätzlich findet sie auch bei Kopfschmerzen Anwendung (De Feo, 2003).

B. candida

Diese Art wird in schamanischen Zeremonien von Kamsa und Inga-indianer Kolumbiens (Sibundoy) verwendet, um Methoden der Hexerei, des Schamanismus und der Prophetie zu erlernen. Zu diesem Zweck werden Kalt-auszüge aus 2 bis 24 Blättern bereitet. Diese Menge ist als schamanische Dosierung angegeben und könnte bei durchschnittlichen Menschen zu toxischen Symptomen führen. Die Art der Einnahme des Auszugs ist streng geregelt (Schultes, 1955). Von peruanischen Volksheilern wird das Dekokt zur Erlangung helllichtiger Trancezustände verwendet. Getrocknete Blüten und Blätter von *B. candida* werden in Kombination mit *Nicotiana rustica* oder *Cannabis indica* geraucht (Rätsch, 1998). Für die medizinische Anwendung werden in Kolumbien frische Blüten und Blätter in Wasser erhitzt und auf Schwellungen und Tumore gelegt. Ein Bad in einer warmen Abkochung wird von Medizinmännern bei Fieber und Schüttelfrost verordnet (Schultes, 1955). Bei traumatischen und rheumatischen Beschwerden werden frische Blätter an die schmerzhafteste Stelle gelegt (De Feo, 2003).

B. suaveolens

B. suaveolens spielt eine wichtige Rolle in Zeremonien und Ritualen (Hunziker, 1979) und wird von allen *Brugmansia*-Arten im oberen Amazonasgebiet am häufigsten verwendet. Die Völker Shuar und Achuar bereiten einen ‚Tee‘, um Visionen zu erhalten, in denen die Seele ausgeschiedt wird, um ‚andere Welten‘ zu erkunden (Rätsch, 1998). Im medizinischen Sinn wird *B. suaveolens* hauptsächlich äußerlich angewendet: bei Wunden, Ausschlägen, Geschwüren, Kriegsverletzungen, Schlangenbissen, aber beispielsweise auch bei Augenentzündungen von Hühnern (De Feo, 2003; Rätsch, 1998).

Die halluzinogene und toxische Wirkung der *Brugmansien*

Die Symptomentwicklung verläuft zwischen 5 bis 10 Minuten nach Aufnahme von Pflanzenextrakten, in Form eines Aufgusses, oder zwischen 1 und 3 Stunden durch Essen der Blüten oder Blätter. Obwohl Fälle bekannt sind, in denen Personen die Aufnahme von mehr als 500 mg Scopolamin und 1000 mg Atropin überlebt haben, gibt es Berichte über Todesfälle nach wesentlich geringerer Aufnahme von etwa 10 mg Scopolamin (Greene, 1996). Die richtige Dosierung ist bei Tropanalkaloiden schwer einschätzbar, da zum Einen jeder Mensch anders auf sie reagiert (Rätsch, 1998) und zum Anderen die Konzentration in den Pflanzen aufgrund verschiedener Faktoren variiert (Macchiaiolo et al., 2010). Schamanen warnen vor der Verwendung, da es zu Halluzinationen kommen kann, die nicht als solche erkannt werden. Eine Überdosierung kann wochenlange Nachwirkungen zur Folge haben (Rätsch, 1998) oder zu gefährlichen Aktionen führen (Teuscher & Lindequist, 2010). Ein Zeitungsbericht aus dem Jahre 2003 beschreibt einen Fall, in welchem ein 18-jähriger Mann in Deutschland Blüten der Engelstropfete kochte und trank. Zunächst verhielt er sich nach Aussagen der Mutter einige Zeit normal. Plötzlich jedoch schnitt sich der junge Mann im elterlichen Garten mit einer Heckenschere Penis und Zunge ab (www.spiegel.de).

3 SEKUNDÄRE PFLANZENSTOFFE

Erstmals wurde der Begriff ‚sekundäre Pflanzenstoffe‘ von Albrecht Kossel 1910 verwendet. Es gibt jedoch keine präzisen Kriterien zur Unterscheidung von Primär- und Sekundärstoffwechsel. Am ehesten lassen sie sich aufgrund ihrer unterschiedlichen Funktion für die Pflanzen definieren. Unter primären Pflanzenstoffen werden Kohlenhydrate (einschließlich Ballaststoffe), Proteine und Fette verstanden, die direkt am Energiestoffwechsel der Zellen beteiligt sind und welche unentbehrlich für Wachstum und Entwicklung der Pflanzen sind. Sie bilden mengenmäßig den Hauptbestandteil der Pflanzen und werden daher vom Menschen als Nährstoffe genutzt. Sekundäre Pflanzenstoffe kommen dagegen nur in geringen Mengen, jedoch in großer struktureller Vielfalt in Pflanzen vor (Abb.3). Diese Stoffe tragen maßgeblich zum Überleben der Pflanzen im Ökosystem bei, indem sie wesentliche Funktionen bei biotischen (Anlockung, Abwehr) und abiotischen (z. B. Stress durch UV-Licht, Trockenheit etc.) Interaktionen ausüben bzw. als Wachstumsregulatoren fungieren (Hartmann, 1985; Watzl & Leitzmann, 2005). Viele dieser sekundären Stoffe sind aufgrund ihrer pharmakologischen Wirkung auch für den Menschen bedeutsam (Watzl & Leitzmann, 2005).

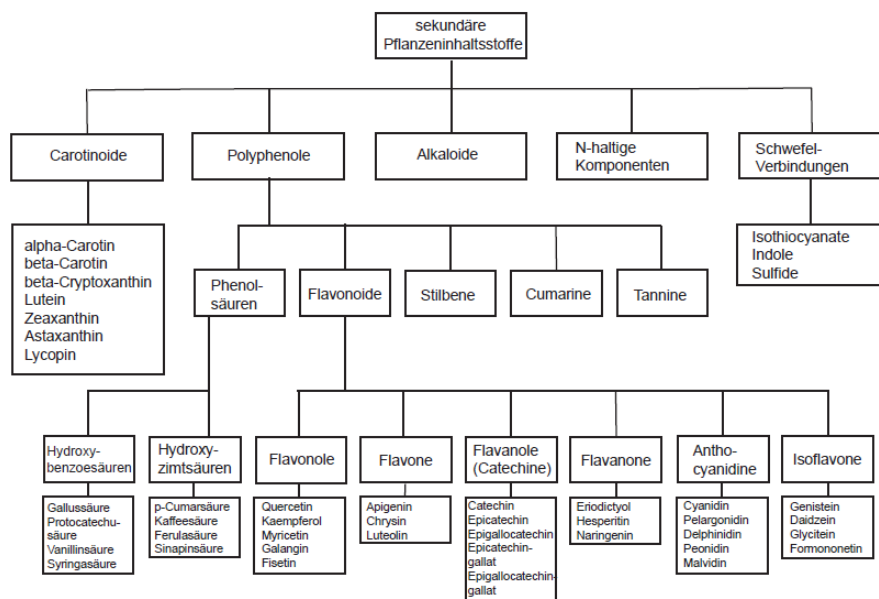


Abb. 3: Klassifizierung der sekundären Pflanzenstoffe (Liu, 2004; verändert)

3.1 ALKALOIDE

Der Begriff ‚Alkaloide‘ wurde 1818 durch den Apotheker Wilhelm Meissner geprägt, welcher darunter basisch reagierende, N-haltige heterozyklische Naturstoffe verstand. Die Abgrenzung dieser Stoffgruppe zu anderen stickstoffhaltigen Verbindungen ist allerdings problematisch. So werden Stoffe, welche die genannten Eigenschaften nicht erfüllen, trotzdem der Gruppe der Alkaloide zugeordnet, während andere Stoffe, welche die Merkmale aufweisen, ausgeschlossen werden (Teuscher & Lindequist, 2010). Generell spricht man von ‚Echten Alkaloiden‘ bei heterozyklischen Systemen die sich aus einem biogenen Amin (Decarboxylierungsprodukt einer proteinogenen Aminosäure) und einer Nichtaminkomponente zusammensetzen. ‚Protoalkaloide‘ umfassen jene biogenen Amine, welche mit Nichtaminkomponenten kein heterozyklisches System bilden. Ist der Stickstoff nicht Teil eines biogenen Amins oder einer Aminosäure, so bezeichnet man sie als ‚Pseudoalkaloide‘ (z. B. Steroidalkaloide). Derzeit sind mehr als 12.000 Alkaloide hauptsächlich in höheren Pflanzen vertreten. Für den Menschen gelten Alkaloide im Allgemeinen als toxisch (Hänsel & Sticher, 2007), haben aber positiv potentielle physiologische Effekte und können in geringen Mengen auch zu therapeutischen Zwecken eingesetzt werden. So zeigt Morphin narkotische Wirkung, während Reserpin als Antihypertensivum eingesetzt wird (Briellmann et al., 2006). Aufgrund ihres bitteren Geschmacks sowie ihrer toxischen Wirkung gegenüber Tieren sind viele Alkaloide wesentliche Abwehrstoffe der Pflanzen. Aufgrund antimikrobieller Aktivitäten spielt diese Stoffklasse eine weitere Rolle in den Verteidigungsmechanismen pflanzlicher Organismen (Schneider & Hiller, 1999).

3.1.1 Tropanalkaloide

Das Hauptvorkommen der Tropanalkaloide liegt mit ca. 150 Derivaten in den Familien der Solanaceae und Erythroxylaceae. Außerdem sind sie in Proteaceae, Rhizophoraceae, Brassicaceae, Convolvulaceae und Dioscoreaceae sporadisch vertreten (Teuscher & Lindequist, 2010). Bei

Tropanalkaloiden ist das Ringsystem des Tropans substituiert. u. a. meist durch eine Hydroxylgruppe in Stellung 3. Durch diese und weitere Substitutionen (z. B. Epoxidierung in Stellung 6 und 7) entstehen verschiedene Grundkörper. Verestert die Hydroxylgruppe mit verschiedenen Säuren, entstehen Tropeine. Bei Atropin bzw. (-)-Hyoscyamin handelt es sich um eine Verknüpfung von Tropin mit L-Tropasäure. Scopolamin besteht aus einem Ester aus Scopin und L-Tropasäure (Luckner, 1969).

Tropanalkaloide in der Gattung *Brugmansia*

Etwa 70 verschiedene Tropanalkaloide kommen in 21 Gattungen der Familie der Solanaceae vor (Teuscher & Lindequist, 2010), wobei die Gattungen *Datura* und *Brugmansia* die größte Mannigfaltigkeit aufweisen (Doncheva et al., 2006; Griffin & Lin, 2000). Scopolamin (Abb. 4: C), Hyoscyamin (Abb. 4: B) und Atropin (Abb. 4: A+B; Donck et al., 2004; Capasso et al., 1997; Greene et al., 1996) kommen als Haupttropanalkaloide in den oberirdischen Teilen von *Datura* und *Brugmansia* vor. In geringeren Mengen sind weitere Derivate dieser Tropanalkaloide vorhanden. In den Wurzeln werden vorzugsweise Ester von Dihydroxytropanen und Teloidin akkumuliert (Griffin & Lin, 2000). In den oberirdischen Teilen wurden Alkaloide in Blättern, Samen, Blüten und Spross nachgewiesen, außerdem kommen sie vermutlich auch in Drüsenhaaren vor. Der Alkaloidgehalt der Blätter verändert sich während der Saison, mit der Hydratation (Macchiaiolo et al., 2010) und dem Entwicklungszustand der Pflanze. So erreicht er in jungen Pflanzen ein Maximum und sinkt zur Zeit der Blüte auf sein Minimum (Teuscher & Lindequist, 2010).

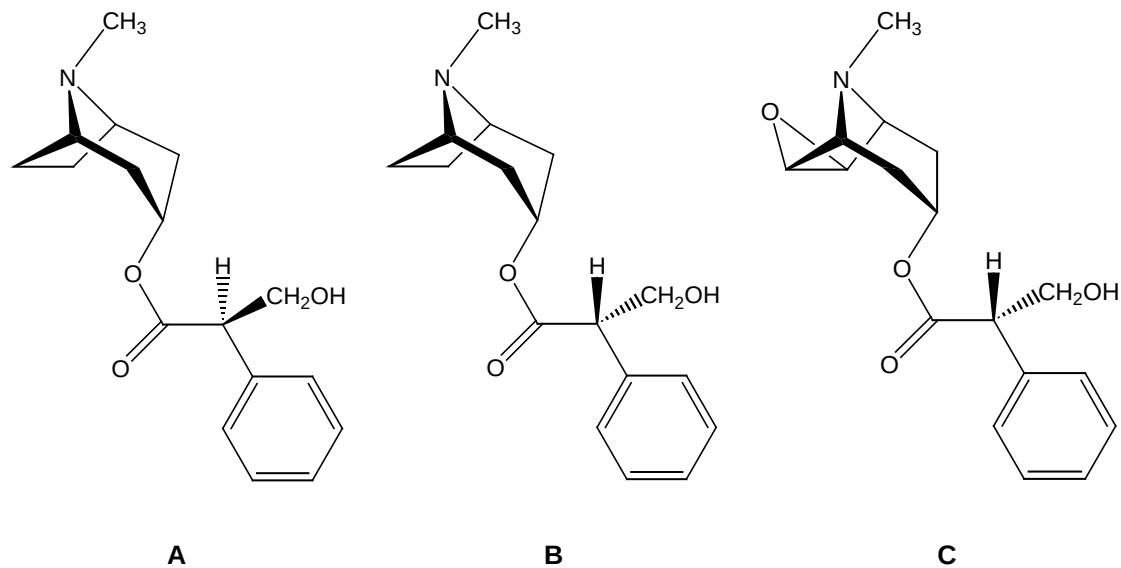


Abb. 4: charakteristische Tropanalkaloide der Gattung *Brugmansia*
A (+)-Hyoscyamin **B** (-)-Hyoscyamin **C** Scopolamin (Harborne & Baxter, 1993)

3.1.2 Biosyntheseweg der Tropanalkaloide

Tropanalkaloide weisen einen relativ komplexen Biosyntheseweg auf (Robins, 1998). Dieser geht von den Aminosäuren L-Arginin oder L-Ornithin aus (Boswell et al., 1999), welche über Arginindecarboxylase (ADC) zu Putrescin umgewandelt werden. Letztere Verbindung kann im pflanzlichen Organismus auch zu Polyaminen (Spermidin und Spermin) synthetisiert werden, und übt Funktionen in Zellteilung und Pflanzenentwicklung aus (Halász et al., 1999; Hibi et al., 1992; Smith, 1985). Als erstes tropanalkaloidspezifisches Enzym (Dräger, 1996) katalysiert Putrescin-*N*-Methyltransferase (PMT) den Umbau von Putrescin zu *N*-Methylputrescin (Boswell, 1999; Kaiser, 2006). Nach erfolgter Desaminierung und Ringschluss über *N*-Methylputrescin-Oxidase (MPO) entsteht *N*-Methylpyrrolinium, welches Acetoacetyl-CoA anlagert und schließlich zu Tropinon umgewandelt wird. Die Reduktion des Alkohols erfolgt mit Hilfe der Tropinonreduktase I (TRI). Daraus entsteht Tropin, das mit Phenyllaktat (aus L-Phenylalanin) zu Littorin verestert. Littorin bildet die Vorstufe von Hyoscyamin, aus welchem durch das Enzym Hyoscyamin-6 β -Hydroxylase (H6H) Scopolamin entsteht (Robins, 1998) (Abb. 5).

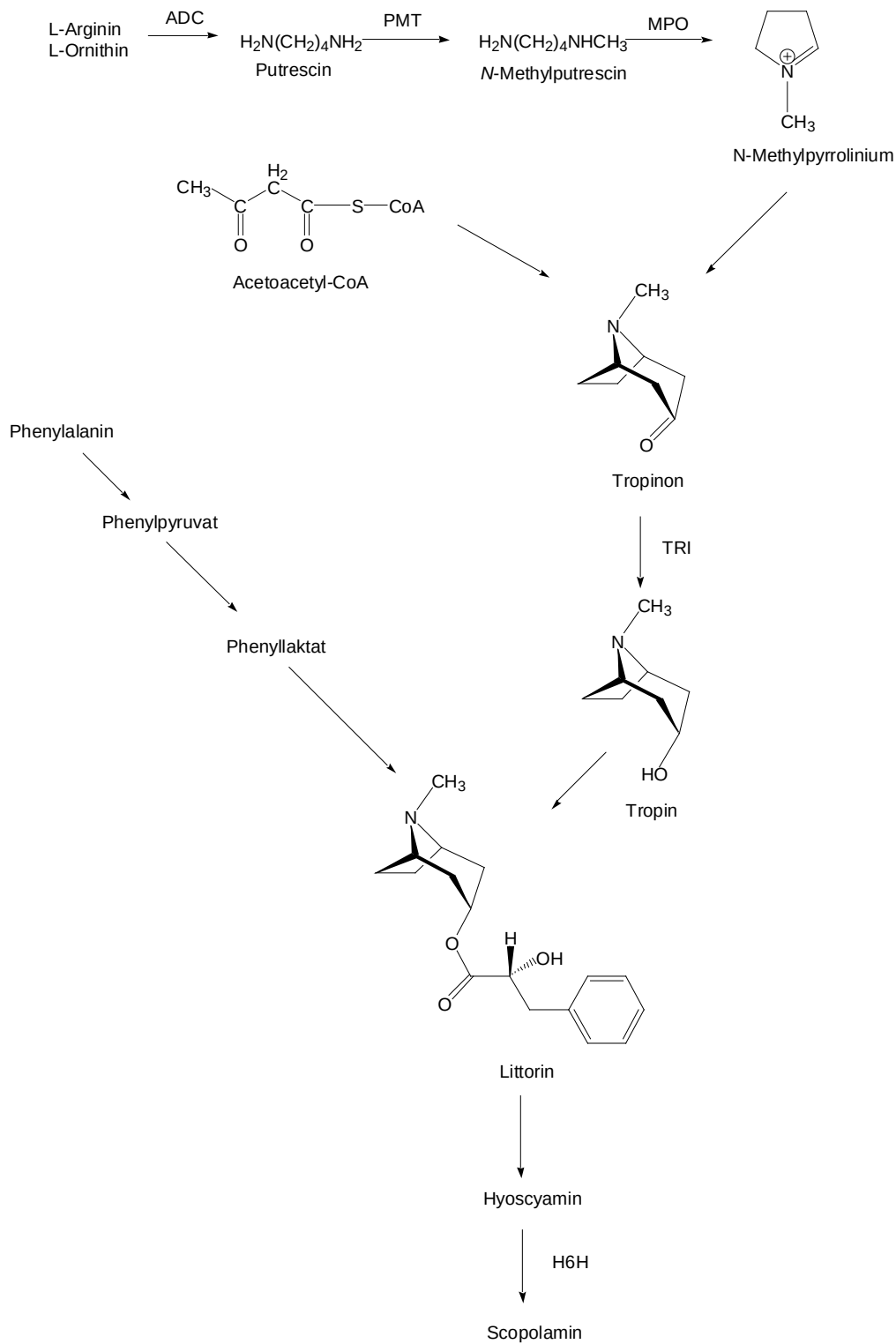


Abb. 5: Die Biosynthese der Tropanalkaloide

ADC = Arginindecarboxylase; **PMT** = Putrescin-*N*-Methyltransferase; **MPO** = *N*-Methylputrescin-Oxidase; **TRI** = Tropinonreduktase I; **H6H** = Hyoscyamin-6 β -Hydroxylase (Boswell et al., 1999; Robins, 1998; verändert)

3.1.3 Ort der Biosynthese von Tropanalkaloiden

Aufgrund von Untersuchungen an verschiedenen Arten der Gattung *Datura* liegen die bevorzugten Syntheseorte von Scopolamin in der Wurzel (bei *D. tatula* L., *D. ferox* L. und *D. inoxia*), aber auch in den oberirdischen Teilen (bei *D. tatula* und *D. ferox*). Atropin hingegen soll nach älterer Literatur nur in den oberirdischen Teilen synthetisiert werden (Evans & Patridge, 1953), was jedoch als zweifelhafte Angabe erscheint. Sowohl Dräger (1996), als auch Kanegae et al. (1994) sprechen von ausschließlicher Biosynthese der Tropanalkaloide in den Wurzeln der Pflanzen. Nach Kaiser (2006) werden die Alkaloide anschließend durch das Xylem in die oberirdischen Teile der Pflanze transportiert.

3.1.4 Atropin

Zum ersten Mal wurde Atropin als Hauptalkaloid aus *Atropa belladonna* isoliert (Harborne, 1995). Atropin ist das Racemat aus (-)-Hyoscyamin und (+)-Hyoscyamin, und aufgrund der geringen Wirksamkeit des (+)-Hyoscyamin, nur halb so wirksam wie reines (-)-Hyoscyamin. Es entsteht während des Extraktionsprozesses aus Pflanzen (John et al., 2010; Tahara et al., 1999), ist aber vermutlich auch in geringen Mengen neben (-)-Hyoscyamin in ruhenden Pflanzenteilen (reife Früchte und Wurzeln) im Winterhalbjahr vorhanden. Atropin gilt als Prototyp in der Gruppe der Muscarin-Antagonisten (Weiner, 1985). Es verhindert die Freisetzung von Acetylcholin und wirkt somit parasympatholytisch. Folglich kommt es zu Spasmolyse der glatten Muskulatur, Erhöhung der Pulsfrequenz (Tachykardie), Einschränkung der Speichel-, Magensaft- und Schweißsekretion sowie zur Weitsichtigkeit (Akkommodationslähmung) (Teuscher & Lindequist, 2010). Aufgrund dieser Wirkung findet Atropin Anwendung in der Pharmazie in Form von Augentropfen zur Pupillenerweiterung und bei Krämpfen des Gastrointestinaltraktes (Weiner, 1985). Bei schweren Vergiftungen kann es weiters zu Hyperthermie (Wärmestau, besonders gefährlich für Kinder), Unruhe, Muskelschwäche, Erregungszustände, Koordinationsstörungen, Delirien, Apathie und Bewusstlosigkeit bzw.

Koma kommen. Bei gleichzeitiger Aufnahme von Opiaten ist die Gefahr einer zentralen Atemlähmung besonders hoch (Ludewig, 1999).

Der LD₅₀ -Wert von Atropin beträgt 400 mg/ kg KG, Maus (per oral), bzw. 622 mg/ kg KG Ratte (per oral) (Teuscher & Lindequist, 2010). Die therapeutische Dosis für den Menschen ist 0,1 bis 1 mg. Höhere Dosen, um 10 mg, wirken zentral lähmend. 100 mg oral eingenommen, können für den erwachsenen Menschen tödlich sein. Für Kinder liegt die tödliche Dosis bei etwa 2 mg. Die individuelle Empfindlichkeit unterliegt aber großen Schwankungen (Ludewig, 1999; Teuscher & Lindequist, 2010).

3.1.5 Scopolamin

Scopolamin, auch Hyoscin genannt, weist das gleiche Wirkungsspektrum wie Atropin auf. Es ist jedoch die mydriatische und die sekretionshemmende Wirkung verstärkt und die spasmolytische verringert. Erregungszustände treten durch Scopolamin kaum auf, eher tritt eine narkotische Wirkung ein (Ludewig, 1999). Es wirkt vorwiegend zentral dämpfend, kann jedoch auch visuelle Halluzinationen hervorrufen, welche lange andauern können. Tropanalkaloide wie Atropin und Scopolamin werden über die Schleimhäute rasch aufgenommen und vollständig resorbiert. Beide passieren sowohl die Blut-Hirn-Schranke sowie die Plazentaschranke und wurden auch in Muttermilch nachgewiesen. Die Ausscheidung von Tropanalkaloiden und deren Abbauprodukte erfolgt über die Nieren. Die letale Dosis für den Menschen ist etwa so hoch wie die von Atropin (Ludewig, 1999; Teuscher & Lindequist, 2010). Der LD₅₀ -Wert von Scopolamin liegt bei Mäusen bei 163 mg/ kg KG (intravenös), und 1700 mg/ kg KG (subkutan). Im therapeutischen Sinne wird Scopolamin als Narkosevorbereitung verwendet. Die Dosis dabei beträgt 0,6 mg (Teuscher & Lindequist, 2010).

Scopolamin in *Brugmansia*

Scopolamin ist neben (-)-Hyoscyamin das Hauptalkaloid von *Datura*- und *Brugmansia*-Arten (Alves et al., 2007; Doncheva et al., 2006; Evans, 1979). Der

Anteil des Scopolamins an den Gesamtalkaloiden wurde in *B. candida* mit 58 – 72 % nachgewiesen (Teuscher & Lindequist, 2010). Die Konzentration von Scopolamin ändert sich in der Pflanze im Laufe der Entwicklung, wie durch Untersuchungen an *B. suaveolens* festgestellt wurde. Demnach ist der Gehalt an Scopolamin in der Stecklingsphase (cutting stage) in den jungen Blättern und im Stängel deutlich höher als in den Wurzeln. Im Laufe der weiteren Entwicklung (expanded leaf stage) ist die Scopolamin-Konzentration im Stängel am höchsten. Die Blüten, junge Blätter und der Stängel weisen in der Blühphase den höchsten Gehalt auf, während alte Blätter und Wurzeln die geringste Menge an Scopolamin akkumulieren. In der Zeit der Fruchtbildung findet man die höchste Menge in den noch unreifen Früchten. Diese unterschiedliche Verteilung von potentiellen Abwehrstoffen ist auch von anderen Pflanzen bekannt (Alves et al., 2007). Weiters zeigte sich, dass in geschädigten Blättern von *B. suaveolens* der Gehalt an Scopolamin deutlich erhöht ist. Der Maximalgehalt wurde 24 h nach erfolgter Schädigung festgestellt. Anschließend sank der Gehalt wieder auf sein Normalniveau zurück (Alves et al., 2007). Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung der Alkaloide als potentielle Verteidigungsstoffe der Pflanzen.

3.1.6 Die Bedeutung der Alkaloide für pflanzliche und tierische Organismen

Verschiedene Solanaceae-Alkaloide zeigten starke Abwehr gegenüber herbivoren Insekten. Das Steroidalkaloid Demissin aus der knollentragenden Wildkartoffelart *Solanum demissum* Lindl. kann die Angriffe des gelb-schwarz gestreiften *Leptinotarsa decemlineata* Say (Kartoffelkäfer) abwehren. Das Alkaloid Tomatin aus *Solanum lycopersicum* (Tomate) ist mit der Wirkung von Demissin vergleichbar. Werden Kartoffelblätter in eine Tomatinlösung (2 mmol/ kg) getränkt, so führt dies zu einem Rückgang des Käferfraßes um 50 %. Eine Erhöhung der Konzentration auf 3 mmol/ kg Blattgewicht verursacht eine Larvensterblichkeit von 100 % (Harborne, 1995). Einige tierische Organismen verfügen über ein spezielles Entgiftungssystem, sodass es u. a. Kaninchen und Rehen möglich ist, die Tropanalkaloide Scopolamin und Hyoscyamin durch Esterasen zu spalten und damit zu entgiften (Schneider & Hiller, 1999).

Die Wirkung der Tropanalkaloide gegen herbivore Insekten ist gut untersucht. In Bioassays mit *Spodoptera frugiperda* (die ebenfalls zu den Generalisten zählen) wurde die Reaktion auf *B. suaveolens* überprüft. Dabei konnte eine gesteigerte Mortalität und eine länger dauernde Entwicklungszeit nachgewiesen werden (Alves et al., 2007).

3.2 FLAVONOIDE

Flavonoide bilden zusammen mit Alkaloiden und isoprenoiden Verbindungen die drei Hauptgruppen der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe (Shirley, 1996). Als ‚Polyphenole‘ werden Stoffe bezeichnet, die auf der chemischen Struktur des Phenols beruhen. Es werden zwei Gruppen unterschieden: Flavonoide und Phenolsäuren. Unter dem Begriff ‚Phenolsäuren‘ sind die eigentlichen Phenolsäuren, auch Hydroxybenzoesäuren genannt (C_6-C_1), und Hydroxyzimtsäuren (C_6-C_3) zusammengefasst (Watzl & Leitzmann, 2005).

Der Name ‚Flavone‘ (lat. ‚flavus‘ bedeutet ‚gelb‘) geht auf deren Verwendung als Färbemittel zurück. Früher wurden Auszüge bestimmter Pflanzen, z. B. die Rinde der *Quercus tinctoria* Willd. (Färbereiche) oder das Holz des *Morus tinctoria* L. (Färbemaulbeerbaumes) zum Färben von Baumwolle verwendet. Als weitere Pflanzeninhaltsstoffe mit demselben chemischen Aufbau bekannt wurden, nannte man die gesamte Stoffklasse ‚Flavonoide‘. Dazu gehören auch farblose, sowie blau bis violett gefärbte Blütenfarbstoffe (Anthocyanidine; Hänsel & Sticher, 2007).

Die große Anzahl von derzeit rund 9000 bekannten verschiedenen Flavonoiden (Williams & Grayer, 2004) entsteht aus den zahlreichen möglichen Hydroxylierungsmustern am Phenylbenzopyran-Grundkörper (Abb. 6) der Flavonoide (Nagl, 2002). Mit der Entdeckung neuer Derivate ist jedenfalls zu rechnen (Williams & Grayer, 2004). Flavonoide sind in allen höheren Pflanzen vertreten, werden jedoch im gesamten Tierreich nicht synthetisiert (Hänsel & Sticher, 2007). Der menschliche Organismus ist nicht in der Lage diese Stoffe biosynthetisch herzustellen (Ebermann & Elmadfa, 2008).

Aufgrund ihrer physiologischen Wirkungen wurden Flavonoide kurzzeitig als Vitamin (Vitamin P) angesehen. Da diese Wirkungen aber nur mit relativ hohen Dosen zu erreichen waren, wurden sie wieder aus der Liste der Vitamine entfernt (Ebermann & Elmadfa, 2008).

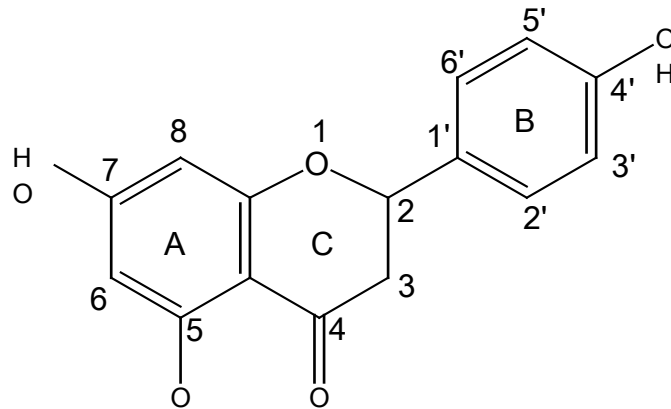


Abb. 6: Grundstruktur der Flavonoide (anhand des Beispiels Flavanons)
(Ross & Kasum, 2002; verändert)

3.2.1 Biosynthese von Flavonoiden

Die Biosynthese der Flavonoide (Abb. 7) erfolgt im Zytosol der Pflanze (Kitamura, 2008). Flavonoide sind aus 3 Kohlenstoffringen aufgebaut und resultieren aus zwei biosynthetisch unterschiedlichen Wegen (Watzl & Leitzmann, 2001). Während der A-Ring aus dem Polyketidbiosyntheseweg stammt, wird der B-Ring aus dem Shikimat-Stoffwechselweg gebildet. Als Schlüsselsubstanz für den B-Ring fungiert die aromatische Aminosäure Phenylalanin, die am Ende des Shikimat-Stoffwechselweges steht (Nagl, 2002). Der Shikimisäure-Stoffwechselweg ist nur in Pflanzen, Pilzen und Bakterien vorhanden. Für tierische Organismen sind aromatischer Aminosäuren somit essentiell (Taiz & Zeiger, 2007). Durch das Enzym Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL) wird Phenylalanin über den Phenylpropanoid-Stoffwechselweg zu trans-Zimtsäure desaminiert und danach über Zimtsäure-4-Hydroxylase (CH) in p-Cumarsäure umgewandelt. Das Enzym PAL stellt eine wichtige Verbindung zwischen primärem und sekundärem Stoffwechsel dar. Weiters erfolgt die Bildung von p-Cumaroyl-CoA aus p-Cumarsäure durch das Enzym p-Cumaroyl-CoA-Ligase (CL; Davies & Schwinn, 2006; Winkel, 2008). Aus diesem Phenylpropanoid-Stoffwechselweg werden auch weitere Naturstoffe wie Lignine, Stilbene und Phenolsäuren (z.B. Kaffee- und Ferulasäure) gebildet (Davies & Schwinn, 2006). Für die Synthese des A-Ringes werden 3 Moleküleinheiten Malonyl-CoA benötigt (Davies & Schwinn, 2006), welche aus dem

Polyketid-Stoffwechsel stammen. Sie werden aus Kohlendioxid und Acetyl-CoA gebildet, die im Kohlenhydratstoffwechsel entstehen. Als Katalysator für die Reaktion von Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA dient Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC) (Heller & Forkmann, 1986). Die Chalcon-Synthase (CHS) katalysiert den Zusammenschluss von p-Cumarsäure mit 3 Malonyl-CoA-Einheiten zu einem Chalcon ($C_6-C_3-C_6$ -Grundstruktur), welches die Ausgangsbasis für die Bildung weiterer Flavonoidstrukturen darstellt. Durch die Chalcon-Isomerase (CHI) kommt es zum Ringschluss und somit zur Bildung der Flavanone. Diese sind wichtige Zwischenprodukte zur Biosynthese von weiteren Unterklassen, welche sich durch den Oxidationsgrad an der C_3 -Brücke unterscheiden (Flavone, Dihydroflavonole, Flavonole und Leucoanthocyanidine). Aus Leucoanthocyanidinen entstehen Catechine und Anthocyanidine (Sticher & Hänsel, 2007). Bei Isoflavonen ist die Bindungsstelle des Ringes B an den Ring C von Position 2 auf Position 3 durch Arylmigration verschoben (Ebermann & Elmadfa, 2008).

3.2.2 Quellen, Aufnahme und Resorption von Polyphenolen

Global gesehen sind die wichtigsten Quellen an Polyphenolen unserer Nahrung: Grüner Tee [z. B: Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), Epigallocatechin (EGC), Epicatechin-3-gallate (ECG), Epicatechin (EC)], Schwarzer Tee (verschiedene monomerische Catechine, Theaflavin und Thearubigin), Rotwein (Flavan-3-ole, Anthocyanidine, Quercetin) und Kakao [(-)-Epicatechin, (+)-Catechin, Procyanidin B2, Procyanidin B5; Hooper et al., 2008; Crozier et al., 2009]. Grundnahrungsmittel enthalten keine dieser sekundären Pflanzeninhaltsstoffe. Jedoch tragen die Flavone Luteolin und Apigenin in Olivenöl, Kräutern und Gewürzen maßgeblich zur Versorgung mit Flavonoiden bei (Kyle & Duthie, 2006). Obst und Gemüse weisen eher einen geringen Gehalt an Flavonoiden auf (Crozier et al., 2009). In Früchten sind Catechine die häufigsten Flavonoide und kommen als Besonderheit auch im Fruchtfleisch von Obst vor (Kyle & Duthie, 2006). Flavonoide sind weitgehend in den Randschichten von Obst und Gemüse zu finden, weshalb diese am besten ungeschält verzehrt werden sollten. Bei der Herstellung von Apfelsaft gehen fast 90% der Flavonoide durch den Pressrückstand verloren (Watzl & Rechkemmer, 2001). Quercetin ist das vorherrschende Flavonol in Früchten (Kyle & Duthie, 2006) und außerdem eines der häufigsten in der Natur vorkommenden Flavonoide (Hertog et al., 1993b; Watzl & Leitzmann, 2005). Mit einem Quercetinanteil von 12 mg/ 100 g *Vaccinium vitis-idaea* L. (Preiselbeeren), 17 mg/ 100 g *Vaccinium myrtillus* L. (Holunderbeeren) und 65 bis 95 mg/ 100 g *Allium* sp. L. (Zwiebel) zählen diese zu den quercetinreichsten Lebensmitteln (Kyle & Duthie, 2006).

3.2.3 Empfehlung der Tagesdosis

Die Zahl der gesundheitlich relevanten Flavonoide ist groß. Eine klare Empfehlung für die tägliche Aufnahme an Polyphenolen wurde bisher noch nicht festgelegt. Deshalb liegt die momentane Empfehlung für die Aufnahme von Flavonoiden, welche auch als ‚lifespan essentials‘ bezeichnet werden, bei ‚5 am Tag‘. Dabei handelt es sich um eine Kampagne, die nach dem Vorschlag

der Welternährungsorganisation (FAO) von vielen Ländern geführt wird. Sie dient dem Zweck, die Bevölkerung zu animieren, mindestens 5 Portionen (zu jeweils mindestens 80 g) Obst oder Gemüse pro Tag zu verzehren (D'Archivio et al., 2010; Williamson & Holst, 2008). Es gibt derzeit Bestrebungen zur Einführung eines ‚Dietary Reference Intake‘ (DRI) für Polyphenole. Dieser Wert wird vom Institute of Medicine (USA/Kanada) festgelegt. Der DRI vereinigt u.a. die ‚Recommended Dietary Allowance‘ (RDA) mit den ‚Tolerable Upper Level‘ (TUL) und liefert einen erweiterten, quantitativen Referenzwert. Um den DRI für Polyphenole bestimmen zu können, sind noch weitere Studien zur Bioverfügbarkeit, der Dosis-Wirkungsbeziehung und des toxischen Levels notwendig (Williamson & Holst, 2008).

Tatsächliche Aufnahme

Über die tatsächliche Aufnahme von Flavonoiden sind nur Schätzungen möglich. So wurde von Kühnau 1976 angenommen, dass je nach Saison in den USA eine Aufnahme an Flavonoiden (in Form von Glykosiden) zwischen 1 - 1,1 g/ Person/ d erfolgte (Hollmann & Katan, 1999; Ross & Kasum, 2002; Watzl & Leitzmann, 2005). Hertog et al. (1993b) stellten die tägliche Aufnahme von 23 mg Flavonoiden in den Niederlanden fest. Diesen enormen Unterschied erklärten sich Hertog et al. (1993a) aufgrund der zweifelhaften Genauigkeit der Untersuchungsmethoden in den 70er Jahren. Auch eine dänische Studie kam zu ähnlichen Ergebnissen mit der Aufnahme von 28 mg/ d an Flavonole, Flavonen und Flavanonen (Ross & Kasum, 2002).

3.2.4 Bioverfügbarkeit und Metabolismus von Flavonoiden

Flavonoide werden in der menschlichen Ernährung hauptsächlich in Form von Aglyka im Dünndarm absorbiert. Die meisten Polyphenole kommen jedoch als Ester, Glykoside oder Polymere in unseren Lebensmitteln vor. Da Resorption in dieser Form nicht möglich ist, werden sie zur Aufnahme durch Enzyme oder die Mikroflora hydrolisiert. Jene Polyphenole, welche am häufigsten in Lebensmitteln vorkommen, müssen nicht zwangsläufig auch die

höchste Aktivität im Körper aufweisen. So werden Proanthocyanidine, welche in unserer Nahrung reichlich vorhanden sind, sehr schlecht bis überhaupt nicht absorbiert. Die Aufnahme von Flavonolen, Flavonen und Flavanolen ist generell gering. Außerdem werden sie auch rasch eliminiert. Flavanone bzw. Isoflavone weisen die beste Resorption unter den Flavonoiden auf. Ihr Vorkommen ist jedoch auf Zitrusfrüchte (Flavanone) bzw. Sojaprodukte (Isoflavone) beschränkt (Manach et al., 2004).

Nicht nur die Aufnahmemenge einer bestimmten Substanz ist von Bedeutung, sondern auch ihre Bioverfügbarkeit. Diese ist abhängig von folgenden Punkten: geringer oder rascher Resorption im Dünndarm, dem Stoffwechsel in der Mikroflora, ihrer Bindung an Albumin, der zellulären Aufnahme, intrazellulärem Stoffwechsel, Akkumulation im Gewebe und nicht zuletzt der Form ihrer Ausscheidung (Manach et al., 2004). Viele Studien überprüften bisher die Bioverfügbarkeit aufgrund von Blutplasmakonzentrationen nach oraler Aufnahme. Kenntnis über die Konzentration von Flavonoiden in den Zielgeweben wäre von größerem Interesse als ihr Gehalt im Blut (D'Archivio et al., 2010; Manach et al., 2004), welche nur die Information dafür liefert, wieviel Menge an Flavonoiden aus der Nahrungsmatrix freigegeben wurde. Dieser Marker dient somit bloß als ‚voraussagender Indikator‘ für die tatsächliche Gewebsaufnahme (D'Archivio et al., 2010). Untersuchungen der Akkumulation von Flavonoiden in Zielzellen, die auch relativ einfach zugänglich sind, wären somit aussagekräftiger (Porrini & Riso, 2008).

3.2.5 Reduktion des Flavonoidgehaltes

Durch Lagerung bzw. Verarbeitung von Lebensmitteln kann es zu Reduktion des Flavonoidgehaltes kommen. So zeigten Untersuchungen, dass eine Lagerung von 7 Tagen in Dunkelheit bei 1°C und 98% Feuchtigkeit, den Gesamtflavonolglykosidgehalt von *Cichorium endivia* L. (Endivie) und *Lactuca sativa* L. (Gartensalat) um 7 bis 46% reduziert (DuPont et al., 2000). Auch die Lichtintensität wirkt sich auf die Flavonoidproduktion aus. Endivie und Gartensalat enthalten, wenn im August geerntet, 3- bis 5-mal mehr Flavonoide

als zu anderen Erntezeiten, wie beispielsweise im April (Hertog et al., 1992; Watzl & Rechkemmer, 2001). Untersuchungen an *Allium cepa* L. (Küchenzwiebeln) zeigten, dass durch die Lagerung der Gehalt an Quercetin um 16 bis 36% sinkt. Die höchste Reduktion des Quercetiningehaltes findet in den ersten 12 Tagen nach der Ernte statt. Bei der weiteren Lagerung von bis zu 28 Wochen (Zeitpunkt des Austreibens) traten kaum bis keine weiteren Verluste von Quercetin auf (Price et al., 1997). Darüber hinaus ist bekannt, dass Verarbeitungsprozesse wie Extraktion, Pasteurisation, Konservierung, Bestrahlung, Trocknung und Fermentation der Lebensmittel den natürlichen Gehalt von verschiedenen Flavonoiden beeinflussen. Weitere Verarbeitungsschritte wie Schneiden, Zerhacken, Schälen und Kochen können ebenso einen Verlust des Flavonoidgehaltes von 21 bis 54% bedeuten. So wurde ein verminderter Flavonoidanteil in Zwiebel, Brokkoli, Tomaten, Spargel und grünen Bohnen durch den Kochvorgang nachgewiesen. Beim Erhitzen in wässrigem Milieu kommt es aufgrund der Wasserlöslichkeit der Flavonoidglykoside zu stärkerem Verlust im Vergleich zur Mikrowellenbehandlung oder beim Braten in Öl (Kyle & Duthie, 2006).

3.2.6 Biologische Wirkung von Flavonoiden im tierischen Organismus

Epidemiologische Studien zeigten, dass der regelmäßige Konsum von Obst und Gemüse das Risiko für chronische Erkrankungen wie Krebs und Herz-Kreislauferkrankungen reduziert (Liu, 2004). Außerdem weisen diese Untersuchungen auf einen Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Flavonoiden und dem Erkrankungsrisiko hin (Watzl & Rechkemmer, 2001). Flavonoide verfügen über eine Reihe von biologischen Aktivitäten, wobei jedoch nicht alle Studien zu dem selben Ergebnis kamen. Zum Teil wurden die positiven Wirkungen der Zellkulturen-Studien nur bei sehr hoher Dosierung erreicht, welche über normale Ernährung nicht möglich ist (Lambert et al., 2005). Ebenso wird der positive Effekt der Flavonoide auf die menschliche Gesundheit durch epidemiologische Studien nicht eindeutig bestätigt (Ross & Kasum, 2002).

3.2.6.1 Antioxidative Wirkung

Freie Radikale sind Atome oder Moleküle, welche freie Elektronen besitzen. Radikale des Sauerstoffes, werden auch als ROS (reactive oxygen species) bezeichnet [z. B. Superoxidanionradikal ($\bullet\text{O}_2^-$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Hydroxylanion (OH^-) und Hydroxylradikal ($\bullet\text{OH}$); Gosslau & Rensing, 2002] und sind Produkte des aeroben Stoffwechsels, die im menschlichen Organismus eine große Rolle spielen. Sie treten auch während Entzündungsvorgängen auf, indem freie Radikale von Abwehrzellen freigesetzt werden, um Antigene zu zerstören (Biesalski, 2007). Damit gesundes Gewebe nicht geschädigt wird, verfügt der menschliche Organismus über Mechanismen in Form von Enzymen, beispielsweise Superoxiddismutase (SOD), Katalase und Glutathionperoxidase (Biesalski, 2007), sowie über endogene Antioxidantien, beispielsweise Coenzym Q10 (Bayer & Schmidt, 2002).

„Bei Antioxidantien handelt es sich um niedermolekulare Substanzen, die auch bei geringer Konzentration im Verhältnis zu oxidierbaren Molekülen deren Oxidation durch ROS auf direktem oder indirektem Wege verhindern, zumindest verzögern“ (Böhm et al., 1998). Antioxidantien sind für die physiologischen Funktionen folglich genauso wichtig wie Radikale. Verschiebt sich dieses Gleichgewicht jedoch zugunsten der ROS, so resultiert dies im ‚oxidativen Stress‘, und zeigt sich in Form von Schädigung der DNA, Proteinen sowie Lipiden (Böhm et al., 1998). Weiters folgen Funktionsstörungen, welche unterschiedliche Krankheitsbilder mit sich bringen (u. a. Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Krebs). Exogene Antioxidantien stehen dem Körper in Form von Vitamin (C, E) und sekundären Pflanzeninhaltsstoffen (Polyphenole) zur Verfügung (Duthie & Bellizzi, 1999). Flavonoide zählen zu den besten Ernährungsantioxidantien *in vitro* (Williamson & Holst, 2008), und sind sowohl im hydrophilen und als auch im lipophilen Bereich aktiv. Die antioxidative Aktivität basiert auf ihrer Fähigkeit, H-Atome aus den phenolischen Hydroxylgruppen abgeben zu können, wodurch sie Radikale abfangen. Im Speziellen sind ortho-ständige OH-Gruppen am B-Ring und die Kohlenstoff-Doppelbindung sowie die 3-Hydroxylgruppe am C-Ring dafür verantwortlich (Watzl & Rechkemmer,

2001). So zeigen Flavonoide großen Effekt als Radialfänger von Superoxid-anion- ($\bullet\text{O}_2^-$), Hydroxyl- ($\bullet\text{OH}$) und Peroxyradikalen ($\text{ROO}^\bullet$, Harborne & Williams, 2000). Flavonoide sind außerdem in der Lage, oxidiertes α -Tocopherol in seine aktive Form zurückzuführen (Burda, 2001). Je mehr Hydroxylgruppen als Substituenten vorhanden sind, desto stärker ist die antioxidative bzw. prooxidative Wirkung des Flavonoids (Cao et al., 1997). Ob ein Flavonoid anti- oder prooxidativ wirkt, ist struktur-, konzentrations- und pH-Wert abhängig. Prooxidative Wirkung ist bei Flavonoiden mit drei Hydroxylgruppen am A- oder B-Ring zu erwarten [z. B. Quercetagenin (A-Ring) oder Myricetin (B-Ring)], besonders bei Anwesenheit hoher Sauerstoff- und Stickoxidgehalten (Ebermann & Elmadfa, 2008).

3.2.6.2 Antikarzinogene Wirkung

Karzinogenese stellt einen komplexen Vorgang dar, der sich in drei Hauptphasen, Initiation (Auslösung), Promotion (Förderung) und Progression (Tumorzunahme, Metastasenbildung), gliedert (Watzl & Leitzmann, 2005). Flavonoide zeigen in tierexperimentellen Studien hemmende Wirkung in all diesen Phasen (Chen & Dou, 2008; Lambert, 2005; Lin & Wenig, 2005). So wirkt z. B. Quercetin und Apigenin dem Wachstum von Melanomen sowie ihrem invasiven und metastatischen Potential entgegen (Caltagirone et al., 2000). Einige Ergebnisse deuten auf eine krebspräventive Aktivität der Tee-Polyphenole hin. Allerdings konnten diese Wirkungen *in vivo* noch nicht eindeutig bestätigt werden (Yang et al., 2009).

3.2.6.3 Antithrombotische Wirkung

Flavonoide wirken antithrombotisch und vasoprotektiv (Bravo, 1998), indem sie die Blutgerinnung über Hemmung des Arachidonsäurestoffwechsels beeinflussen. Die Bildung der Endprodukte Prostaglandine und Thromboxane wird somit reduziert. Durch ihre antioxidative Wirkung tragen Flavonoide zusätzlich indirekt zur Hemmung der Thrombozytenaggregation bei, indem sie Lipidperoxidation verhindern, welche die Thromboxan-A₂-Synthese fördern

würde (Watzl & Leitzmann, 2005). Aktuelle Studien berichten von besonders guter Wirkung des Flavons Apigenin, wobei jedoch die Dosis, welche über Lebensmittel aufgenommen werden kann, nicht ausreichend ist (Navarro-Núñez et al., 2009).

3.2.6.4 Entzündungshemmende Wirkung

Durch die oben beschriebene Wirkung der Flavonoide auf den Arachidonsäurestoffwechsel und somit auch auf Prostaglandine und Thromboxane, besteht ein entzündungshemmender Effekt. Flavanone (u. a. Hesperidin und Naringenin) sowie Flavone (Diosmin, Apigenin, Luteolin) von Zitrusfrüchten zeigen in diesem Bereich besonders starke Wirkung und können demnach eine bedeutende Rolle bei verschiedenen degenerativen Krankheitsbildern und insbesondere bei Gehirnerkrankungen spielen (Benavente-Garcia & Castillo, 2008).

3.2.6.5 Kardioprotektive Wirkung

Flavonoide in Obst und Gemüse, Tee und Wein zeigen *in vitro* eine Hemmung der Oxidation von low-density-protein (LDL), welches eine bedeutende Ursache für Arteriosklerose und koronare Herzerkrankungen darstellt. In bestimmten Gebieten Frankreichs werden Rotwein und Speisen mit hohem Gehalt an gesättigten Fettsäuren gerne konsumiert. Trotzdem weisen diese Regionen verhältnismäßig geringe Mortalitätsraten auf. Diese Besonderheit wird den Inhaltsstoffen des Rotweines zugeschrieben und als ‚French Paradox‘ bezeichnet (Harborne & Williams, 2000; Hollman & Katan, 1999; Zern & Fernandez, 2005). Der Kombination von Flavonoiden (u. a. Catechin, Epicatechin, Malvidin-3-Glucosid, Myricetin, Quercetin) kommt in Bezug auf die Reduktion der koronaren Herzerkrankungen und den Schutz vor Arteriosklerose, eine bedeutendere Rolle als dem Stilben Resveratrol zu (Harborne & Williams, 2000). Zusätzlich gibt es starke Hinweise, dass Polyphenole den Cholesterin- und Triglyceridstoffwechsel positiv beeinflussen (Zern & Fernandez, 2005).

3.2.6.6 Sonstige Wirkungen

Des Weiteren werden immunmodulatorische (Watzl & Rechkemmer, 2001) antimikrobielle, antiöstrogene (Watzl & Leitzmann, 2005), präbiotische (Clifford & Brown, 2006) und enzymhemmende (z.B. Xanthin-Oxidase, NADH-Oxidase; Harborne & Williams, 2000) Wirkungen der Flavonoide diskutiert.

Einige Autoren sprechen eine Empfehlung zur supplementären Einnahme von Flavonoiden aus, um gewünschte gesundheitliche Erfolge erzielen zu können (Navarro-Núñez et al., 2009). Andere wiederum stehen der Einnahme hoher Dosen sehr skeptisch gegenüber und empfehlen die Aufnahme flavonoidreicher Lebensmittel (Halliwell, 2007; Liu, 2004).

Die Wirkung der durch die Ernährung aufgenommenen Flavonoide auf die Gesundheit des Menschen bedarf weiterer Erforschung. Da zahlreiche *in vitro* Studien vielversprechende Wirkungen der Polyphenole zeigen, ist es nötig, diese auch durch *in vivo* Experimente zu bestätigen. Weiters bedarf es der Kenntnis über genaue gesundheitsförderliche Dosierung, um eine Empfehlung über die tägliche Aufnahme von Flavonoiden aussprechen zu können (D'Archivio et al., 2010).

3.2.7 Biologische Aktivität in pflanzlichen Organismen

Flavonoide erfüllen im pflanzlichen Organismus eine Reihe wichtiger Aufgaben (Rausher, 2008). Keiner anderen Gruppe an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen werden so viele Schlüsselfunktionen für das Wachstum und die Entwicklung der Pflanze zugeschrieben. Sie tragen somit maßgeblich zum Überleben der Pflanzen bei (Gould & Lister, 2006). Vermutlich spielten ihre Fähigkeiten bereits bei den ersten Landpflanzen eine Rolle, indem sie außerhalb des Wassers den nötigen Schutz vor UV-Licht boten (Stafford, 1991). Flavonoide befinden sich in den Vakuolen der Epidermis in nahezu jedem grünen Blatt. Sie ermöglichen einen effektiven UV-Schutz für die Pflanze, da sie über die Fähigkeit verfügen, UV-Strahlung zu absorbieren (Harborne & Williams, 2000), was zur Reduktion der DNA-Schädigung und zum Schutz des

Photosynthese-Apparates (im speziellen Photosystem II) führt (Cockell & Knowland, 1999). Gleichzeitig sind Flavonoide in der Lage, längerwelliges, sichtbares Licht für die Photosynthese durchzulassen (Cockell & Knowland, 1999). Dass Anthocyane eine besondere Rolle im Schutz vor UV-B-Strahlung spielen, wurde durch Untersuchungen an roten Blättern (Gould & Lister, 2006) sowie an anthocyanreichen roten Apfelschalen nachgewiesen (Kootstra, 1994). Anthocyane spielen als blaue, rote oder violette Pigmente eine wesentliche Rolle in der Bestäubung (Harborne & Williams, 2000) und der Fruchtverbreitung (Deluc et al., 2008). Flavonoide sind ebenso bei der Abwehr gegen Bakterien, pathogene Pilze und herbivore Insekten involviert. Außerdem regulieren sie die Aktivität von Pflanzenhormonen (Rausher, 2008) und sind beteiligt an allelopathischen Interaktionen mit anderen Pflanzen (Shirley, 1996). Für die Funktion als Antioxidantien werden kleine Pools an Flavonoiden auch im Zytoplasma und in den Zellwänden angelegt, um direkt mit ROS in Interaktion treten zu können (Gould & Lister, 2006). Damit ist die antioxidative Wirkung nicht nur auf tierische Organismen beschränkt.

3.2.8 Exkretflavonoide

In Vakuolen von Pflanzengeweben kommen Flavonoide zumeist als Glykoside vor, während sie an Oberflächen von Blättern und Stängeln meist in Form von Aglyka akkumulieren (Wollenweber & Valant-Vetschera, 1996) und dann als ‚Exkretflavonoide‘ bezeichnet werden (Onyilagha & Grotewold, 2004). Untersuchungen von Exkretflavonoiden wurden bereits 1873 durchgeführt. Damals konnte das Hauptflavonoid des Pappelknospenöls, das Flavon ‚Chrysin‘, isoliert werden (Wollenweber, 1985). Flavonoide welche sich an den Pflanzenoberflächen oder im epikutikulären Wachs befinden, sind vorwiegend nicht glykosyliert, jedoch häufig O-methyliert und lipophil (Harborne & Williams, 2000). Diese lipophilen Flavonoid-Aglyka können in Form mehlartigen Belägen auf Infloreszenz, Blättern und Stängeln (z. B. *Primula* sp. L.), von Blattwachs (z. B. *Eucalyptus* sp. L'Hér.) oder als Harz (z. B. *Flourensia resinosa* S.F. Blake) vorkommen (Wollenweber, 1990).

Exkretflavonoide und andere Bestandteile der Exsudate werden in der Regel durch sezernierende Trichome nach außen abgegeben. Es wurden jedoch auch lipophile Ablagerungen ohne Vorkommen sezernierender Strukturen gefunden (Valant-Vetschera & Brem, 2006; Wollenweber, 1985). Trichome (Haare) sind Ausstülpungen der Epidermiszellschicht wobei zwischen sezernierenden (Drüsenhaare) und nicht sezernierenden Haaren unterschieden wird (Wagner et al., 2004). Die Morphologie der Trichome, speziell der Drüsenhaare, variiert in Bezug auf Form, Größe und Aufbau (Schilmiller et al., 2008).

Viele Arten der Solanaceae weisen drüsige Trichome und teilweise harzige Exsudate auf. In manchen Pflanzen wurden sogar mehrere Typen von Trichomen entdeckt. So ist die Gattung *Nicotiana* L. mit langen Trichomen ausgestattet, welche harzige Exsudate abgeben und mit kurzen Trichomen, die wässrige Tröpfchen entlassen. Zweitere sezernieren u. a. das Alkaloid Nikotin, welches rund um die Trichome an der Pflanzenoberfläche akkumuliert wird (Wollenweber et al., 2005). Dieser Trichomtyp ist nicht in der Lage, Stoffe selbst zu produzieren. Nikotin wird beispielsweise in der Wurzel synthetisiert, zu den Blättern transportiert und anschließend sezerniert (Schilmiller et al., 2008; Wagner et al., 2004).

Ascensão et al. (1999) konnten an Blättern und Blüten von *Plectranthus ornatus* Codd (Lamiaceae) sogar fünf drüsige Trichomtypen feststellen: Die orange- bis braunfärbigen Drüsenschuppen („peltate trichomes“) sind mit einer Basalzelle und einer sehr kurzen Stielzelle ausgestattet. In der obersten sekretorischen Zelle findet die Biosynthese der Exkrete statt, welche danach in einem Hohlraum gespeichert werden, der durch die Abhebung der Kutikula entsteht. Durch die Akkumulation ergibt sich eine kugelförmige Struktur. Die Exkrete werden durch Aufreißen der Kutikula (Ascensão et al., 1999) oder über Kutikulaporen abgegeben (Schilmiller et al., 2008). Weiters sind zwei Arten von Drüsenköpfchen („capitate trichomes“) vorhanden, welche kurz- oder langgestielt sein können. Diese weisen ein- oder mehrzellige Stielzellen auf. Zusätzlich wurden kegel- („conoidale trichomes“) und fingerförmige („digitiform trichomes“) Trichome beschrieben. Sowohl Drüsenköpfchen also auch finger-

förmige Trichome können Flavonoide freisetzen (Ascensão et al., 1999), ebenso wie Drüsenschuppen, was schon früher von Voirin et al. (1993) bei *Mentha x piperita* L. (Pfefferminze) nachgewiesen wurde.

Die Funktionen von Exkretflavonoiden decken sich weitgehend mit den Aufgaben, welche Flavonoide auch im Inneren der Pflanze erfüllen. Stoffe, die an der Pflanzenoberfläche akkumulieren, treten in direkten und gleichzeitig ersten Kontakt mit Insekten, Pathogenen und Herbivoren (Wagner et al., 2004). Neben der toxischen Wirkung mancher Exsudate (Onyilagha & Grotewold, 2004) weisen einige Flavone und Flavanone eine fraßabwehrende Wirkung gegen Raupen von *Mamestra configurata* Wlk. auf (Onyilagha et al., 2004). Die in Exkreten häufig vorkommenden O-methylierte Flavonoide schützen die Pflanzen besonders gut vor UV-B-Strahlung (Harborne & Williams, 2000). Zusätzlich zeigen Exkretflavonoide antimikrobielle Wirkung (Onyilagha & Grotewold, 2004).

3.2.8.1 Exkretflavonoide der Solanaceae

Die Chemodiversität der Exkretflavonoide verschiedener Gattungen der Familie wurden von Wollenweber et al. (2005) überprüft. Diverse Arten der Gattungen *Nicotiana* und *Solanum* L. sowie weitere Mitglieder der Familie der Solanaceae konnten dieser Untersuchung unterzogen werden. Aufgrund der morphologischen Diversität dieser Familie wurde ein entsprechendes Flavonoidprofil erwartet. In vielen Fällen zeigte sich jedoch nur eine geringe Zahl an akkumulierenden Exkretflavonoiden. Am häufigsten konnten Flavonol-Aglyka nachgewiesen werden, jedoch sind auch vereinzelt selten vorkommende Flavonole vertreten. Flavone treten in der gesamten Familie auf, hingegen sind Flavanone kaum zu finden. Die größte Vielfalt an Exkretflavonoiden hat die Gattung *Solanum* zu bieten. Innerhalb der Gattung *Datura* wurde nur für *Datura innoxia* Mill. die Anwesenheit weniger Exkretflavonoiden bestätigt. Weitere Aglyka konnten aus *D. stramonium* L. isoliert werden, jedoch nur aus hydrolysierten Extrakten. In *Atropa belladonna* und *Hyoscyamus albus*

L. wurden lediglich zwei bzw. ein Flavonol-Derivat nachgewiesen (Wollenweber et al., 2005).

4 MATERIAL & METHODE

4.1 PFLANZENMATERIAL

In der vorliegenden Arbeit wurden die vorhandenen Bestände der Gattung *Brugmansia* des Botanischen Gartens der Universität Wien verwendet. Die Ernte der Blätter und Blüten der vier Individuen (Tab. 1) erfolgte im Oktober 2008. Die angefertigten Herbarbelege wurden im Herbarium des Instituts für Botanik der Universität Wien hinterlegt.

Tab. 1: Übersicht über das verwendete Pflanzenmaterial

Herbarcode	Art	Gartenbezeichnung	Organ	Sammeldatum
WU045045	<i>B. aurea</i>	AM 26/07 gelb blühend	Blätter	30. 09. 2008
WU045046			Blüten	
WU045050	<i>B. candida</i>	AM 27/07 weiß blühend	Blätter	30. 09. 2008
WU045049			Blüten	
WU045053	<i>B. suaveolens</i>	AM 28/07 rosa blühend	Blätter	19. 09. 2008
WU045052			Blüten	
WU045048	<i>B. suaveolens</i>	AM 29/07 weiß blühend	Blätter	30. 09. 2008
WU045047			Blüten	

4.2 PHYTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN

4.2.1 Extraktion & Abspülung

Zunächst wurde das gesamte Pflanzenmaterial im Trockenschrank für ca. 7 Tage bei 30°C getrocknet und anschließend gewogen. Zur Gewinnung der Exkrete erfolgte sodann die Abspülung der einzelnen Organe mit Aceton und anschließend mit Ethylacetat (EtOAc). Für die Herstellung der Gesamt-extrakte wurden die abgespülten Pflanzenteile mit einem Mixer zerkleinert und mit Methanol (MeOH) überschichtet. In einem lichtgeschützten Raum erfolgte bei Raumtemperatur für 2-3 Tage die Extraktion. Der Extrakt wurde abfiltriert und das verbleibende Pflanzenmaterial erneut mit MeOH für weitere 2-3 Tage extrahiert. Die beiden gewonnenen Extrakte wurden vereinigt, mit Hilfe eines Rotavapors eingengt, in MeOH aufgenommen und zur Aufbewahrung bei -20 °C gekühlt.

Tab. 2: Ausbeute der Exsudate

Herbar Code	Spezies	Organ	Trocken-Masse [g]	Exsudat [mg]	% Exsudate/ Gesamtrockenmasse
WU045045	<i>B. aurea</i>	Blätter	249	709	2,84
WU045046	<i>B. aurea</i>	Blüten	46	104	2,24
WU045050	<i>B. candida</i>	Blätter	87	22	0,26
WU045049	<i>B. candida</i>	Blüten	48	80	1,69
WU045053	<i>B. suaveolens</i>	Blätter	197	29	0,15
WU045052	<i>B. suaveolens</i>	Blüten	71	138	1,96
WU045048	<i>B. suaveolens</i>	Blätter	145	38	0,26
WU045047	<i>B. suaveolens</i>	Blüten	4	4	0,98

4.2.2 Analytische Chromatographie

4.2.2.1 Dünnschichtchromatographie (DC)

Diese Form der Chromatographie ermöglicht einen vergleichenden Überblick über verschiedene Inhaltsstoffe und die Reinheit von Fraktionen. Bei diesem chemisch-physikalischen Trennverfahren unterscheidet man stationäre und mobile Phase. Für diese Arbeit wurden als stationäre Phase DC-Platten (Silica Gel 60) der Firma Merck aus Glas (Schichtdicke 0,25 mm) und aus Alufolie (Schichtdicke 0,20 mm) verwendet. Bei DC-Platten mit Fluoreszenz-Indikator erfolgte die Detektion der Platten nach der Entwicklung mittels UV-Licht bei 254 nm unter Fluoreszenzlösung. Eine weitere Detektionsmöglichkeit ergibt sich durch die Eigenfluoreszenz einiger Substanzen bei einer Wellenlänge von 366 nm.

Als geeignete Laufmittel erwiesen sich folgende Lösungsmittelgemische:

für Flavonoide: Toluol/ Dioxan/ Essigsäure (90: 25: 5) (Valant-Vetschera & Wollenweber, 1996)

für Alkaloide: Aceton/ H₂O/ konz. Ammoniaklösung (90: 7: 3) (Stahl & Schild, 1981)

Zur Detektion wurden folgende Reagenzien verwendet:

Anisaldehyd 85 mL MeOH, 10 mL Eisessig, 8 mL konzentrierter Schwefelsäure und 0,5 mL Anisaldehyd. Sprühreagenz Nr. 15 (Krebs et al., 1967). Die DC-Platte wird nach dem Besprühen erhitzt. Anschließend werden auch Substanzen ohne chromophore Gruppe in Form von färbigen Spots sichtbar.

- Dragendorff Lösung A: 0,85 g basisches Bismutnitrat in 10 mL Eisessig + 40 mL H₂O; Lösung B: 4 g Kaliumjodid in 10 mL H₂O gelöst. Sprühlösung: 10 mL A+B (1:1) + 10 mL Eisessig + 80 mL H₂O. Sprühreagenz Nr. 89 (Krebs et al., 1967). Nach dem Besprühen mit Dragendorff-Reagenz werden Alkaloide und andere N-haltigen Verbindungen durch orange Färbung sichtbar.
- Naturstoffreag. A 0,2 %ige Lösung von Diphenylborsäure-β-aminoethylester in MeOH (Wollenweber & Dörr, 2008). Die Eigenfluoreszenz von Flavonoide wird durch Besprühen mit Naturstoffreagenz A verstärkt und unter UV-Licht (366 nm) sichtbar.

4.2.2.2 High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC)

Auch bei diesem Trennverfahren unterscheidet man stationäre und mobile Phase, wobei sich diese Technik durch ihre ausgesprochen hohe Trennleistung auszeichnet. Aufgrund der geringen Korngröße des Säulenmaterials (3 bis 10 µm) wird mit hohem Druck gearbeitet (um 300 bar). Eine HPLC setzt sich aus einer Pumpe, dem Einspritzsystem, der Trennsäule und einem Detektor zusammen. Besitzen die zu trennenden Substanzen chromophore Gruppen, so können sie durch einen UV-Photodiodenarray-Detektor erfasst werden. Die resultierenden UV-Spektren und Retentionszeiten wurden für Vergleiche mit der Spektrenbibliothek herangezogen. Für die durchgeführten Messungen wurde die bewährte Methode der Umkehrphase (reversed phase) eingesetzt, bei welcher es zu einer Umkehrung der Elutionsreihenfolge kommt.

Technische Daten zur HPLC:

Gerät: Agilent 1100 Series mit UV-Diodenarraydetektor (210 und 230 nm) und automatischem Probegeber

Säule: Agilent Hypersil BDS C-18; Korngr.: 5 µm; 250 x 4,6 mm; Säulenofen: 35° C

Zur Auftrennung der unterschiedlichen Stoffklassen wurden folgende Methoden verwendet:

Tab. 3: Laufmittel-Gradient-HPLC: Methode 1, für Flavonoide

Time [min]	Reisch-Puffer [%]	MeOH [%]	Flow [mL/ min]
00.01	45	55	1
17.00	10	90	1
20.00	-	100	1
28.00	-	100	1

Tab. 4: Laufmittel-Gradient-HPLC: Methode 2, für Flavonoide

Time [min]	Reisch-Puffer [%]	Acetonitril [%]	Flow [mL/ min]
00.01	70	30	0,5
17.00	10	90	0,5
20.00	-	100	1
20.50	-	100	1
28.00	-	100	1

Tab. 5: Laufmittel-Gradient-HPLC: Methode 3, für Alkaloide

Time [min]	NH ₄ OAc (1mM) [%]	MeOH [%]	Flow [mL/ min]
00.01	45	55	1
19.00	10	90	1
20.00	-	100	1
28.00	-	100	1

4.2.2.3 Nuclear Magnetic Resonance (NMR) - Spektroskopie

Zur Strukturaufklärung wurden ¹H- und ¹³C-Kernsresonanz-Spektren-Messungen am Institut für organische Chemie der Universität Wien durchgeführt. Hierzu wurde ein AM-400 WB bzw. ein WM 250 FT-Spektrometer von Bruker verwendet.

4.2.2.4 Liquid Chromatography – Mass Spectrometry (LC-MS)

Die Massenspektrometrie dient der Strukturaufklärung. Durch Ionisierung werden Molekülionen gebildet, die entsprechend ihrer Masse zur Ladung (m/z) im elektrischen Feld gemessen werden. Dadurch werden Informationen über die Molekülmasse, vorhandene Bruchstücke und die Menge der detektierten Ionen erhalten. Im Fall von LC-MS wird einem Massenspektrometer eine Flüssigchromatographie vorgeschaltet. So erhält man durch die Kopplung mit einem Trennverfahren zusätzliche Daten, die für die Strukturaufklärung hilfreich sein können. Die Messungen wurden am Institut für Pharmakognosie der Universität Wien durchgeführt.

4.2.2.5 Verschiebungsspektren (Shift-Experimente nach Mabry)

Durch die Zugabe der Reagenzien zeichnen sich Veränderungen im Vergleich zum UV-Spektrum eines Flavonoids, gemessen in MeOH, ab. Daraus können Rückschlüsse auf die Struktur und vor allem auf das Substitutionsmuster von Flavonoiden geschlossen werden. Für UV/Vis-Untersuchungen (UV-Photometer: Specord 203, Analytik Jena) mit verschiedenen Shift-Reagenzien wurde die Probe zunächst in MeOH gelöst gemessen, und weiters nach Angaben von Mabry (1970) mit Reagenzien (AlCl_3 , NaOAc, NaOMe und NaOAc/ H_3BO_3) versetzt.

4.2.3 Präparative Chromatographie

4.2.3.1 Säulenchromatographie

Trockensäule

Die erste grobe Auftrennung erfolgte mittels Trockensäulenchromatographie. Hierzu fand eine ca. 80 cm lange Säule (mit einem Innendurchmesser von 17 mm) Verwendung, welche mit 60 g Kieselgel (Merck Kieselgel 60, Korngröße 0,2 bis 0,5 mm) befüllt und durch Klopfen verdichtet wurde. Die Probe wurde mit etwas Kieselgel in einem Mörser vermischt, trocken auf die Säule aufgetragen und mit Quarzsand überschichtet. Durch die relativ großen Partikel reicht die Schwerkraft aus. Die Auftrennung erfolgte durch Lösungsmittelgemische mit steigender Polarität. Je 100 mL Gemisch wurden auf die Säule aufgetragen (Tab. 6). Die Trennung des Eluats erfolgte durch 50 mL Fraktionen die anschließend zur Trockene gebracht wurden.

Tab. 6: Gradient der Lösungsmittelgemische für die Trockensäule

Fraktion	Petrolether [Vol%]	EtOAc [Vol%]	MeOH [Vol%]
I	85	15	-
II	70	30	-
III	60	40	-
IV	50	50	-
V	25	75	-
VI	-	100	-
VII	-	90	10
VIII	-	75	25
IX	-	50	50
X	-	-	100

Sephadexsäule

Zur weiteren Auftrennung von Trockensäulen-Fractionen wurden Sephadex-Säulen LH-20 (Gelchromatographie) verwendet. Das Trennprinzip beruht dabei auf unterschiedlichen Molekülgrößen der einzelnen Substanzen. Hierbei wurde mit isokratischer Elution getrennt, wobei das Lösungsmittel MeOH bzw. ein Lösungsmittelgemisch (CHCl_3 / MeOH – 90: 10) verwendet wurde.

4.2.3.2 Mitteldruckflüssigchromatographie (MPLC)

Das Prinzip der MPLC entspricht dem der HPLC, jedoch mit dem Unterschied, dass eine Säule größerer Dimension mit dementsprechender Korngröße (40-63 μm) und wesentlich niedrigerem Druck (2 bis 4 bar) verwendet wird. Die Apparatur ist mit einem UV-Detektor ausgestattet, sodass die Detektion von Stoffen mit chromophoren Gruppen während der Trennung möglich ist. Zusätzlich ist durch einen zyklischen Betrieb eine verbesserte

Trennung möglich. Die Fraktionen wurden entweder nach 50 mL oder nach Färbung des Eluats geschnitten.

Technische Daten zur MPLC:

Säule: Glassäule Lobar[®], 440 x 37 mm, nass gepackt mit Merck Kieselgel LiChroprep[™] SI 60, Korngröße 40-63 µm

Pumpe: Büchi Pump Module C-601

Fluss: ca. 25 mL/ min

Detektor: UV-Detektor UA-6 von ISCO, Wellenlänge: 280 nm

Tab. 7: Gradient der Lösungsmittelgemische für die MPLC

Fraktion	Petrolether [Vol%]	EtOAc [Vol%]	MeOH [Vol%]
1 - 11	90	10	-
12 - 14	80	30	-
15 - 20	70	30	-
21 - 25	50	50	-
26 - 27	-	100	-
28 - 30	-	-	100

4.2.3.3 Präparative Dünnschichtchromatographie

Für die präparative Trennung mittels Dünnschichtchromatographie wurden DC-Platten der Firma Merck (Kieselgel 60, F 254) mit einer Schichtdicke von 0,5 mm verwendet. Die Probe wurde bandförmig aufgetragen und mit einem experimentell optimierten Laufmittelgemisch (CHCl₃/ MeOH - 95: 5) entwickelt. Die Detektion erfolgte durch UV-Licht bei 254 nm und 366 nm. Die Banden wurden ausgekratzt, in Diethylether (Et₂O) extrahiert und über eine G4-Fritte abfiltriert.

4.2.3.4 Semipräparative HPLC

Zur Durchführung wurde die für die analytische Auftrennung verwendete HPLC adaptiert. Dabei kam ein verkürzter Laufmittelgradient der HPLC-Methode 1 (Tab. 3) zur Anwendung. Die Methode der semipräparativen HPLC stellt eine sehr leistungsfähige Variante zur Isolation von Naturstoffen dar und hat zum Ziel, kleine Substanzmengen in hoher Reinheit zu gewinnen. Der hohe Verbrauch an Lösungsmittel bringt jedoch einen erheblichen Nachteil mit sich. Um die gewünschte Substanz nach Detektion zu sammeln wurden mehrere Trennungen durchgeführt.

4.3 BIOASSAYS MIT *SPODOPTERA LITTORALIS*

4.3.1 Testorganismen

4.3.1.1 Systematik von *Spodoptera littoralis*

Der in dieser Arbeit verwendete Testorganismus *Spodoptera littoralis* Boisduval ist der Familie Noctuidea, innerhalb der Ordnung Lepidoptera, zugeordnet. Folgende Trivialnamen sind für das herbivore Insekt bekannt: Afrikanischer Baumwollwurm, Ägyptische Baumwolleule, Egyptian cottonworm, Cotton leafworm und Mediterranean brocade moth.

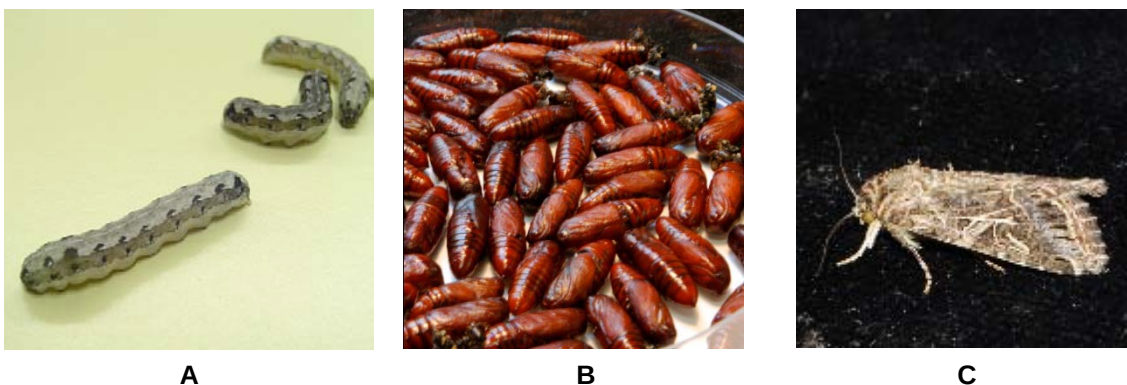


Abb. 8: Verschiedene Stadien der *S. littoralis*
A Raupen, B Puppen und C Falter

Verbreitung von *S.littoralis*

S. littoralis ist in weiten Teilen Afrikas, im westlichen Asien und auch im südlichen Europa (bis Griechenland, Italien) verbreitet.

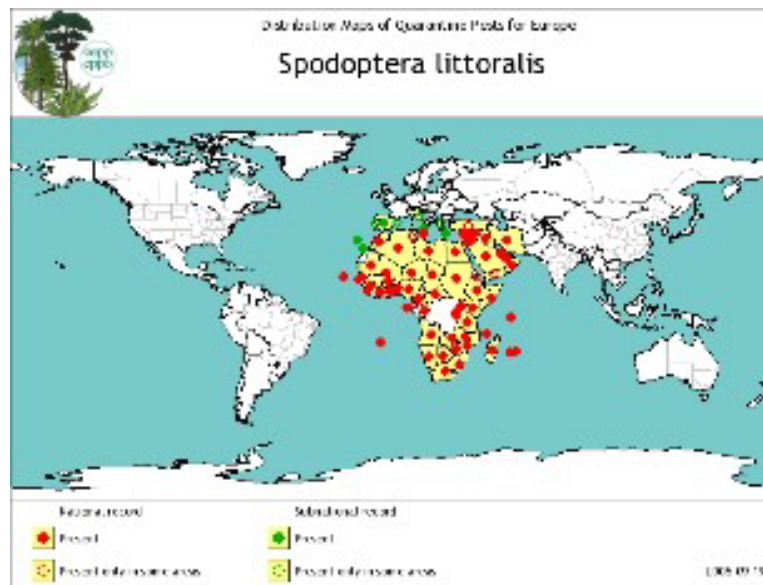


Abb. 9: Verbreitung der *S. littoralis* (www.eppo.org)

Grundsätzlich werden Spezialisten („Oligophage“), die nur wenige Nahrungsquellen akzeptieren von Generalisten („Polyphage“) welche ein breites Spektrum an Nahrung tolerieren, unterschieden (Jandl, 1993). Polyphage besitzen besonders hohe Kapazität an Entgiftungsmechanismen, wodurch dem tierischen Organismus ermöglicht wird, toxische lipophile Substanzen in hydrophile Verbindungen umzuwandeln und auszuscheiden. Dafür sind die Cytochrom P-450 abhängigen Polysubstrat-Monooxygenasen zuständig, welche auch als mischfunktionelle Oxygenasen bezeichnet werden (Proksch, 1991). Als polyphager Organismus weist *S. littoralis* ein entsprechendes Wirtsspektrum über 112 Arten innerhalb 44 Pflanzenfamilien auf. 87 Arten davon sind von ökonomischer Bedeutung. Besonders Baumwollplantagen und Tomatenkulturen werden durch *S. littoralis* geschädigt. Diese breite Toleranz

macht *S. littoralis* zu einem beliebten Testorganismus, denn die Verwertung so vieler unterschiedlicher Nahrungspflanzen lässt auf einen weit entwickelten Entgiftungsmechanismus schließen. Folglich ist ein Sekundärstoff mit negativen Auswirkungen auf diese Art mit hoher Wahrscheinlichkeit auch für viele andere herbivore Insekten schädlich (Jandl, 1993).

4.3.2 Zucht

Die Vorteile von *S. littoralis* sind die relativ einfache Zuchtmethode und die rasche Generationsfolge von 4-5 Wochen. Die geteilte Raupenkultur in zwei Generationsabfolgen ermöglicht alle 14 Tage die Durchführung von Bioassays. Durch die Haltung im Brutschrank (29°C, 80% Luftfeuchtigkeit, Hell-Dunkelrhythmus 16:8 Stunden) verkürzt sich der Entwicklungszyklus gegenüber dem natürlichen Rhythmus von *S. littoralis* um mehr als eine Woche (Jandl, 1993). Im Laufe der letzten 4 Jahre hat sich eine Temperatur- (26°) und Luftfeuchtigkeitsreduktion (auf 60%) bewährt. Somit beträgt die Länge eines Zyklus ca. 30 Tage: Larvalstadium 12-14 Tage, Puppenstadium 7-8 Tage, Falter 6-8 Tage. Die Raupen wurden mit Bohnen-Agar Kunstfutter gefüttert (Stefan Mikulicic, unpubl.).

4.3.3 Herstellung der künstlichen Nahrung

Um einen mikrobiellen Verderb vorzubeugen, wurden 150 g getrocknete Bohnen mit 1,5 mL Formaldehyd und 460 mL heißem H₂O eingeweicht. Nach 12-24 Stunden wurden die Bohnen im Mixer zerkleinert, und im Fall von bakteriellem Befall der Insektenkultur mit 180 mg Chloramphenicol oder Gentamycin sowie den übrigen Futterbestandteilen vermengt (Tab. 8). In 315 mL lauwarmen Wasser wurde der gelöste Agar aufgekocht, und unter ständigem Rühren ca. 30 Sekunden im gebildeten weiß-schäumenden Zustand gehalten. Nach abkühlen des Agars (unter 50°C) konnten alle Komponenten vermischt werden. Diese Rezeptur des Kunstfutters wurde von Singh (1977) übernommen und abgeändert. Das fertige Kunstfutter hat eine Haltbarkeit von ca. einer Woche und wurde zunächst 1 Stunde bei Raumtemperatur und

danach bei 6°C im Kühlschrank gelagert. Für Einarbeitungsversuche wurde das Kunstfutter 6 bis 8 Tage lang gefriergetrocknet und war somit bei -20°C mehrere Monate lang haltbar. Laut Mikulicic (unpubl.) hat sich die Gabe von Antibiotika nur bei Notwendigkeit, mit gleichzeitiger Einführung einer regelmäßigen Vitaminzufuhr bewährt. Im Falle eines bakteriellen Befalls ist es günstig, Temperatur und Luftfeuchtigkeit noch weiter abzusenken.

Tab. 8: Futterzusammensetzung für *S. littoralis* (Singh, 1977; verändert)

Bestandteil	Menge
Weißer Bohnen	150 g
Hefe	30 g
Agar	10 g
Ascorbinsäure	3 g
Nipagin (p-Hydrobenzoesäureethylester)	3 g
Gentamycin bez. Chloramphenicol	0,18 g
H ₂ O dest.	775 mL
Vitaminlösung (siehe Tab. 9)	2 mL
37%iges Formaldehyd	1,5 mL

Tab. 9: Vitaminlösung für *S. littoralis* (Singh, 1977; verändert)

Bestandteil	Menge
H ₂ O dest.	100 mL
Nikotinsäure	100 mg
Ca ⁺⁺ -Panthothenat	100 mg
Riboflavin	50 mg
Thiamin-Hydrochlorid	25 mg
Pyridoxin-Hydrochlorid	25 mg
Folsäure	25 mg
i-Inositol	2 mg
Biotin	2 mg
Vitamin B ₁₂	0,2 mg

4.3.4 Einarbeitungsversuch

Diese Methode wird verwendet um toxische und wachstumshemmende Substanzen bzw. Gesamtextrakte auf insektizide Wirkung zu testen. Dazu werden die Proben in künstliches Futter eingearbeitet und diese den Insekten im neonaten Stadium angeboten. Für Gesamtextrakte (CHCl₃- und H₂O-Phasen) wurden Konzentrationen zwischen 1 bis 20 mg/ g Futterstück gewählt, für Reinstoffe zwischen 0,5 und 10 mg/ g Futterstück.

Für ein Futterstück wurde tiefgefrorenes Kunstfutter (wie oben beschrieben) mit einem Mörser zerstoßen und zu je 735 mg in einem 25 mL Becherglas eingewogen. Anschließend wurde die zu testenden Substanzen mit einer Mikroliterpipette in der jeweiligen Konzentration auf das Kunstfutter aufgebracht. Der Ansatz wurde mit Aceton (bei lipophilen Substanzen) bzw. MeOH (für polare Substanzen) überschichtet, um eine gleichmäßige Verteilung im Futterstück zu erzielen. Für die Entfernung der Lösungsmittel wurden die Bechergläser mit Aceton für ca. 2 Stunden unter den Abzug gestellt, während jene Bechergläser mit MeOH über Nacht im Abzug und zusätzlich unter Anwendung einer Vakuumpumpe abgedampft wurden. Anschließend erfolgte die Zugabe von 0,75 mg Gentamycin und 46 µL der vorbereiteten Vitaminlösung (siehe Tab. 9) inklusive 1,41 mL H₂O dest. pro Becherglas. Daraufhin wurden rasch 78,6 mg Agar in 2,2 mL aufgekochtem H₂O dest. zugefügt und mit einem Glasstab verrührt. Nach dem Abkühlen konnten die fertigen Pellets (mit einem durchschnittlichen Gewicht von 3,6 g) in Petrischalen überführt werden. Da Glaspetrischalen eine höhere Luftfeuchtigkeit gewährleisten, hat sich ihre Verwendung bei Versuchen über längere Zeiträume bewährt (Mikulicic, unpubl.). Pro Futterstück wurden je nach Versuch 10 – 15 frischgeschlüpfte Raupen eingezählt. Die Gefäße wurden während der gesamten Versuchsdauer in einem Trockenschrank bei konstanter Temperatur (26°C) in Dunkelheit gelagert. Die Versuchsdauer betrug in der Regel 7 Tage, wobei Kontrollauswertungen am Tag 4 und Tag 7 durchgeführt wurden.

4.3.5 Auswertung der Versuche

Für die Auswertung der Versuche wurden jeweils Wachstums- und Letalitätsrate nach 4 bzw. 7 Tagen ermittelt. Um die relativen Wachstumsrate zu bestimmen, wurden die lebenden Raupen von Kot und Futterresten befreit, gewogen und die Masse einer Raupe errechnet. Auch die Kontrollraupen wurden gewogen und ihre Durchschnittsmasse der Wachstumsrate von 100 % gleichgesetzt.

$$\text{Wachstumsrate (\%)} = \frac{\text{Durchschnittsmasse eines Versuchstieres}}{\text{Durchschnittsmasse einer Kontrollraupe}} \times 100$$

Zur Bestimmung der relativen Letalitätsrate wurden die Kontrolltiere gezählt und als Überlebensrate von 100 % übernommen. Die Anzahl der Versuchsruppen wurde ebenfalls ermittelt und daraus die Letalitätsrate berechnet.

$$\text{Letalitätsrate (\%)} = \frac{\text{Anzahl der letalen Raupen}}{\text{Anzahl der Kontrollraupen}} \times 100$$

Für die Berechnung des EC₅₀-Wertes (,effective concentration') und des LC₅₀-Wertes (,lethal concentration') wurde die Probitanalyse mit dem Programm SPSS 16.0 für Windows herangezogen. Der EC₅₀-Wert gibt an, bei welcher Dosis das Wachstum der Versuchstiere gegenüber der Kontrolltiere zu 50 % gehemmt ist. Der LC₅₀-Wert entspricht jener Konzentration, bei der 50% der Versuchstiere im Vergleich zur Kontrolle den Versuch nicht überleben.

5 ERGEBNISSE & DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war, charakteristische Stoffklassen der Solanaceae anhand der Gattung *Brugmansia* zu isolieren, ihre molekularen Strukturen aufzuklären und ihre biologische Aktivität zu testen. Im Rahmen dessen wurden vier Individuen dieser Gattung des Botanischen Gartens der Universität Wien untersucht. Die für *Brugmansia*-Arten typischen Tropanalkaloide sind bereits lange bekannt (Hegnauer, 1973). Auch Exkretflavonoide sind in der Familie der Solanaceae (einschließlich der nahe verwandten Gattung *Datura*) keine Seltenheit, wie die Arbeit von Wollenweber et al. (2005) beweist.

Zunächst wurde das Pflanzenmaterial auf das Vorkommen von Exkretflavonoiden untersucht. Erste Hinweise auf die Bildung von Exkreten ergaben sich aus der mikroskopischen Analyse der Blattoberflächen von *B. aurea* (Abb. 10).



Abb. 10: Drüsenhaare von *B. aurea*.

A Laubblatt **B** Kelchblatt **C** Kronenblatt. Die Pflanzenteile wurden unter Anwendung eines Lichtmikroskops (Microphot-SA, Firma Nikon) mit einer Canon EOS 40 D fotografiert.

Ziel war daher die Analyse der Exkretprofile sowie die Isolierung und Strukturaufklärung der darin vorkommenden Verbindungen. Da die Menge der Exkrete jedoch nicht ausreichte, um Reinstoffe zu gewinnen, wurden zunächst Exkrete mehrerer Pflanzen vereinigt, um eine größere Ausgangsmenge zu schaffen. Auch dieses Ausmaß an Exkretgemisch war nicht genügend, um eine

vollständige Trennung mit entsprechender Ausbeute zu erzielen. Daraufhin wurde der Versuch unternommen, jene Stoffe, die aufgrund des gleichen UV-Spektrums auch im Gesamtextrakt vermutet wurden, aus diesem zu isolieren. Dieses Experiment scheiterte erneut an den resultierten geringen Mengen. Die biologische Aktivität von *B. aurea* wurde sodann mit Gesamtextrakten (CHCl₃- und H₂O-Phase) und einzelnen, durch chromatographische Methoden gewonnenen Fraktionen sowie käuflich erworbenen Reinstoffen gemessen.

5.1 INHALTSSTOFFE

5.1.1 Vergleich der Exsudate in Blättern und Blüten von *Brugmansia*

Durch die Abspülung des Pflanzenmaterials wurde unterschiedliche Ausbeute an Exsudaten gewonnen (siehe Tab. 2). Abgesehen von *B. aurea*, weisen alle anderen drei Individuen einen wesentlich höheren Anteil an Exsudaten in den Blüten als in den Blättern auf (Abb. 11).

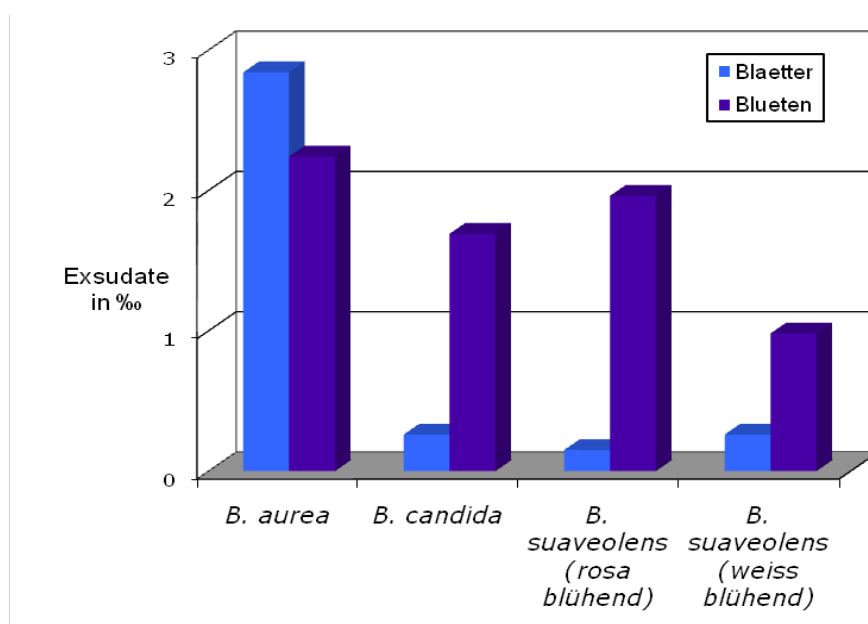


Abb. 11: Vergleich der Exsudat-Menge von Blüten und Blättern verschiedener *Brugmansia*-Arten.

5.1.2 Alkaloid-Nachweis

Die bekannten Tropanalkaloide konnten aus dem Gesamtextrakt der Blätter von *B. aurea* nicht unmittelbar nachgewiesen werden. Deshalb wurde das Pflanzenmaterial zunächst mit CHCl_3 und H_2O ausgeschüttelt. Die nun gewonnene CHCl_3 -Phase wurde anschließend mit verdünnter Salzsäure (0,2 N HCl), CHCl_3 und H_2O ausgeschüttelt. Weiters wurde die daraus resultierende H_2O -Phase abermals mit CHCl_3 und Ammoniakwasser (NH_4OH) ausgeschüttelt, um die Alkaloide aus ihrer Salzbindung freizusetzen. In der folglich erhaltenen CHCl_3 -Phase II konnte Scopolamin durch Dünnschichtchromatographie (Abb. 12) und HPLC-Messung (Abb. 13) detektiert werden.

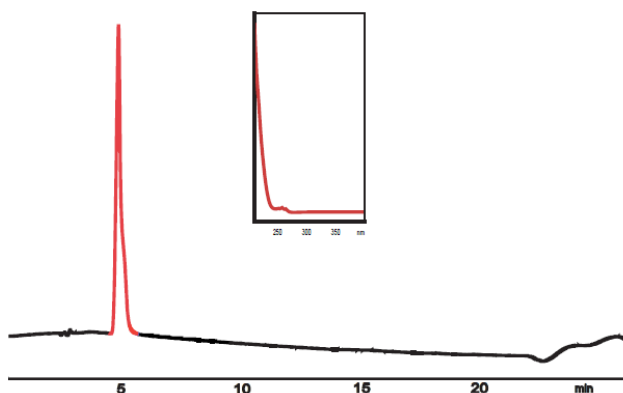
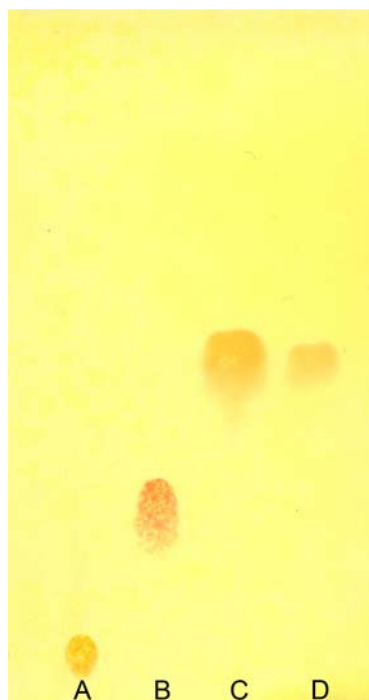


Abb. 12: DC-Nachweis der Alkaloide in *B. aurea*; Laufmittel und Detektion siehe 4.2.2.1.

A Atropin **B** Nikotin **C** Scopolamin
D CHCl_3 -Phase II

Abb. 13: HPLC-Profil und UV-Spektrum: Scopolamin

Tab. 10: Rf-Werte der Dünnschichtchromatographie von Abb. 12

Substanz	Rf-Wert
Atropin	0,03
Nikotin	0,24
Scopolamin	0,46
CHCl ₃ -Phase <i>B. aurea</i> nach dem Ausschütteln	0,46

$$\text{Rf - Wert} = \frac{\text{Wanderungsstrecke der Substanz}}{\text{Laufmittelfront}}$$

Dies lässt sich dadurch erklären, dass zum Zeitpunkt der Ernte die Pflanze in Blüte stand und somit der Scopolamin-Anteil verringert war (Teuscher & Lindequist, 2010). Erst durch Erhöhung der Konzentration des Alkaloids im Gemisch konnte der Nachweis des Vorkommens erbracht werden.

Aufgrund des übereinstimmenden Rf-Wertes in der analytischen Dünnschichtchromatographie (Tab. 10; Abb. 12), sowie der Übereinstimmung des HPLC/UV-Spektrums (Abb. 13) konnte die Anwesenheit von Scopolamin im Gesamtextrakt der Blätter nachgewiesen werden. Literaturhinweise zur Bioaktivität von Scopolamin (Alves et al., 2007) decken sich gut mit eigenen Beobachtungen zur Letalität und Wachstumshemmung von *S. littoralis*.

5.1.3 Versuchte Isolierung der unbekannten Substanz (P 18) aus Exsudaten und Gesamtexttrakten

Die HPLC Profile aller Exsudate (Blätter und Blüten) der untersuchten *Brugmansia*-Arten zeigten das Vorhandensein einer Substanz (Abb. 14) mit der Retentionszeit +/- 18.0 min (HPLC-Methode 2, Tab. 4). Aufgrund der Ähnlichkeit zu flavonoid typischen UV-Spektren wurden folgende Versuche zur Isolierung dieser Verbindung unternommen:

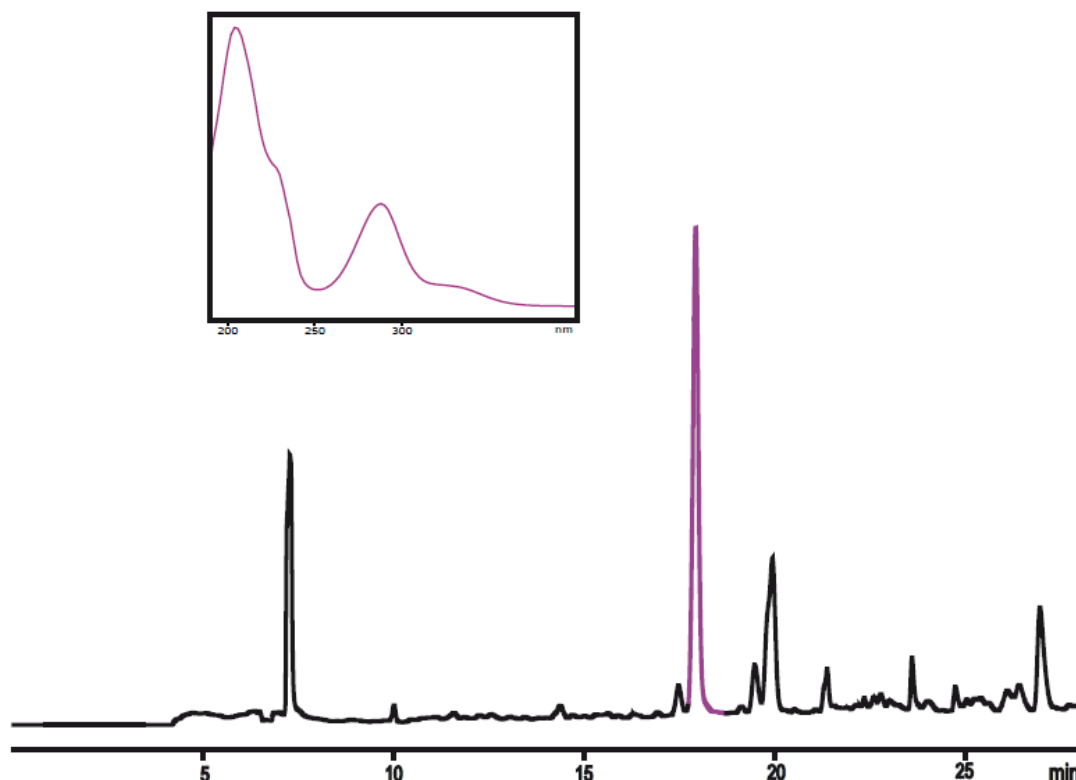


Abb. 14: HPLC-Profil: *B. aurea* (Exsudate der Blätter) und UV-Spektrum: Substanz P 18 (in MeOH).

Um eine erste Auftrennung zu erhalten, wurde das gesamte Material des Exsudates der Blätter von *B. aurea* (670 mg) mit einer Trockensäule (TS 1) vorfraktioniert. Aufgrund der DC-Kontrolle (DC-Laufmittel 1, Naturstoffreagenz A) und HPLC-Kontrolle (Methode 2, Tab. 4) wurde die TS-Fraktion III₁ (48 mg) über eine Sephadex-Säule (Lösungsmittel: MeOH) weiter gereinigt. Die daraus resultierende Sephadex-Fraktion V₂ (1,3 mg) erwies sich als rein (DC, HPLC). Durch Vergleiche mit der Datenbank ergaben sich Ähnlichkeiten zum Flavanon Eriodictyol-7,4'-Me. Da Flavanone einen Hauptabsorptionspeak (Bande II) zwischen 270 und 295 nm aufweisen, konnte auf das Vorliegen eines Flavanons geschlossen werden. Die nachfolgende NMR-Analyse führte zu keinem genauen Ergebnis, da zur Aufklärung der Struktur die Probe einerseits zu unrein war und überdies der vorhandene Flavonoid-Anteil zur Detektion nicht ausreichte. Um die gesuchte Substanz zu isolieren, wurden daraufhin die Exsudate der Infloreszenzen von *B. aurea* (Herbarcode: WU045046) und *B. suaveolens* (Herbarcode: WU045052) vereinigt, welche beide einen

vergleichbar hohen Anteil dieser Substanz enthielten. Die Vereinigung ergab eine Menge von 230 mg, welche über eine Sephadexsäule (Lösungsmittel: MeOH) fraktioniert wurde. Die erhaltenen Fraktionen waren jedoch für weitere Auftrennung oder Strukturaufklärung mengenmäßig unzureichend.

Da die gesuchte Verbindung auch im Gesamtextrakt der Blätter von *B. aurea* nachgewiesen werden konnte, wurde zunächst der eingeeengte Rohextrakt in H₂O aufgenommen und mehrmals mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Nach dem Abdestillieren des CHCl₃ und Aufnehmen in MeOH erfolgte eine weitere Reinigung durch TS-Chromatographie (TS 2). Die erhaltenen Fraktionen IV₂ – VI₂ wurden weiters für eine Auftrennung über MPLC verwendet. Dabei konnte eine farbliche Trennung des Eluats vollzogen werden. Die MPLC-Fraktionen 19 + 20 zeigten eindeutig gelbe Färbung. Sie wurden vereinigt und ergaben zusammen eine Menge von 15,4 mg. Um weitere Verluste zu vermeiden, wurde die Methode der semipräparativen HPLC gewählt. Innerhalb von 9 Durchgängen konnten 0,6 mg Substanz gewonnen werden. Dies war ausreichend um eine LC-MS-Analyse durchzuführen, welche auf das Vorliegen eines zweifach O-methylierten Flavonoids vermuten ließ. Allerdings war das Ergebnis nicht eindeutig (Martin Zehl, mündl. Mitteilung).

Als weitere Analysemethode wurde die UV-Spektralphotometrie einschließlich der diagnostischen Zusatzreaktionen nach Mabry et al. (1970) gewählt. Diese ergab Hinweise auf die Struktur eines Flavanons mit einer freien Hydroxylgruppe an der Position 5. Für Flavanone ist eine intensive Absorption der Bande II (A-Ring) und die Anwesenheit einer kleinen Schulter für Bande I (B-Ring) typisch zu (siehe Abb. 13: λ_{Max} = 208sh, 286, 336sh nm). Generell weisen Flavanone in methanolischer Lösung die Bande II bei 270 – 295 nm auf. Diese Eigenschaften treffen auf Substanz P 18 zu. Aufgrund der fehlenden bathochromen Verschiebung nach Zugabe von NaOMe handelt es sich weder um ein 5,7 Dihydroxyflavanon, noch um ein 7-Hydroxyflavanon. Weiters zeigt sich der bathochrome Shift von 22 nm durch den Zusatz von ALCL₃/ HCl als charakteristisch für 5-Hydroxyflavanone. Durch die fehlende Verschiebung zwischen ALCL₃ und ALCL₃/ HCl kann eine ortho-Dihydroxygruppe an Position

6,7 oder 7,8 ausgeschlossen werden. Nachdem bei der Reaktion mit NaOAc ebenfalls keine Verschiebung erfolgte, befindet sich an Position 7 keine freie Hydroxylgruppe. Die Zugabe von NaOAc/ H_3BO_3 gibt generell den Hinweis für eine 6,7 Dihydroxygruppe. Auch hier konnte keine Verschiebung festgestellt werden.

Tab. 11: gemessene UV-Shift-Daten nach Mabry et al. (1970)

Zusatz	λ_{max} in nm					
	MeOH	NaOMe	AlCl_3	AlCl_3/HCl	NaOAc	NaOAc/ H_3BO_3
Schulter	208sh	218sh	-	224sh	238sh	-
Bande II (A-Ring)	286	284	308	308	288	286
Schulter	336sh	-	-	-	-	-

5.2 BIOTESTS MIT *SPODOPTERA LITTORALIS*

Die durchgeführten Einarbeitungsversuche von lipophilen (CHCl_3) und hydrophilen (H_2O) Phasen der Blattextrakte von *B. aurea* zeigen eine deutliche Wachstumsreduktion ab 5 mg/ g Futterstück (Abb. 15). Die lipophile Phase führt zu einer kontinuierlichen Abnahme des Wachstums über den getesteten Konzentrationsbereich. Bei der Dosierung von 20 mg Extrakt/ g Futterstück kam das Wachstum der Raupen fast vollständig zum Erliegen. Die hydrophile Phase führt allerdings zu einer Erhöhung des Wachstums bis zu einer Konzentration von 5 mg/ g Futterstück, zeigt jedoch bei weiterer steigender Dosis stetige Wachstumsreduktion. Im Vergleich zur lipophilen Phase ist der Effekt der hydrophilen Phase auf die Reduktion des Insektenwachstums deutlich geringer. Nach Doncheva et al. (2006) enthalten die Blätter von *B. aurea* 26 verschiedene Tropanalkaloide. Die Anwesenheit stark toxischer Alkaloide in der lipophilen Phase, wie das nachgewiesene Scopolamin (siehe Punkt 5.1.2), ist eine Erklärung für die stärkere Wachstumshemmung der lipophilen im Vergleich zur hydrophilen Phase. Wie in Abb. 15 ersichtlich, verlaufen die

Wachstumskurven der Blattextrakte völlig unterschiedlich zu den beiden ebenfalls getesteten Tropanalkaloiden Scopolamin und Atropin. Der Kurvenverlauf des Scopolamins gleicht einer logarithmischen Kurve. Eine Erhöhung der Dosis von 0,5 mg auf 1 mg je g Futterstück führt zu einer Wachstumsreduktion von beinahe 60% (Abb. 15). Mit steigender Konzentration von Scopolamin bleibt der Effekt jedoch annähernd gleich. Nach Literaturergebnissen reduziert Scopolamin ebenfalls das Wachstum der Generalisten *Spodoptera exigua* und *S. frugiperda*, übt jedoch keine Wirkung auf den Generalisten *Heliothis zea* oder den Spezialisten *Manduca sexta* aus (Alves et al., 2007). Atropin hingegen zeigt eine vom Scopolamin abweichenden Kurvenverlauf im niedrigen Konzentrationsbereich. Obwohl die Wachstumshemmung nicht kontinuierlich mit der Dosiserhöhung zunimmt, ist ein deutlicher Effekt der Substanz auf *S. littoralis* erkennbar (siehe Abb. 15).

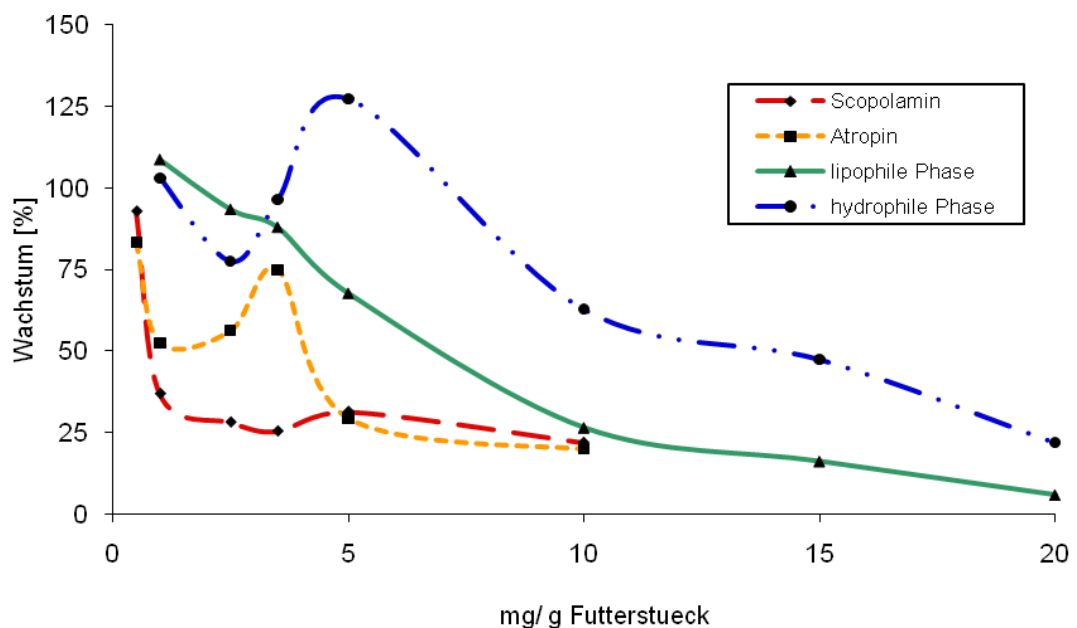


Abb. 15: Wachstumshemmungsrate von *S. littoralis* in % (bezogen auf die Kontrolle) im Einarbeitungsversuch von Scopolamin, Atropin, lipophilen und hydrophilen Blattextrakten von *B. aurea* nach 7 Tagen. Dargestellt sind die Mittelwerte der Testreihen.

Die in Abb. 16 dargestellten Letalitätsraten zeigen ebenfalls wie zuvor die Wachstumsraten einen unsteten Kurvenverlauf im niedrigen

Konzentrationsbereich. Die lipophile Phase weist im getesteten Konzentrationsbereich eine Kurve mit sigmoidem Charakter auf. Diese Phase übt zwischen Konzentration von 5 und 10 mg/ g Futterstück besondere Wirkung aus, indem die Letalität von 14,7% auf 73,6% ansteigt. Mit weiter steigender Dosis erhöht sich die Letalitätsrate nur geringfügig. Die hydrophile Phase zeigt hingegen einen abgeflachten Kurvenverlauf mit kontinuierlicher Wirkung bei der Anwendung höherer Konzentrationen. Auch bei der Wachstumsreduktion setzt ein deutlicher Effekt bei einer Dosierung von 5 mg/ g Futterstück ein. Die Letalitätsrate von Scopolamin ist sehr viel höher als die des strukturell nahe verwandten Atropins. Sowohl das Wachstum (Abb. 15), als auch die Letalität (Abb. 16) wird von Scopolamin bereits bei geringer Dosierung stark beeinflusst. Der abweichende letale Effekt von Scopolamin zu Atropin könnte ein Hinweis auf die unterschiedliche Wirkung von toxischen Pflanzeninhaltsstoffen sein. Atropin scheint im Gegensatz zu Scopolamin eine bessere Wirkung als Repellent zu besitzen, da die Raupen die Versuche überlebten, jedoch im Vergleich zur Kontrolle sehr klein waren. Die Aussagekraft der Wachstums- sowie Letalitätsraten der Konzentrationen < 5 mg/ g Futterstück der getesteten Extrakte von *B. aurea* und der Reinstoffe (Abb. 15 und Abb. 16) sind jedoch gering, da sie durch mögliche physiologische Unterschiede der Raupen beeinflusst sein können. Frisch geschlüpfte Raupen sind besonders empfindlich, weshalb manche mehr oder weniger robust auf niedrig dosierte toxische Stoffe reagieren als andere (Proksch, 1991). Eine eventuelle Inhomogenität der Substanzen im Futterstück könnte ebenfalls Einfluss bezüglich der fluktuierenden Ergebnisse im unteren Konzentrationsbereich ausüben. Zusätzlich ist ein methodischer Fehler u.a. durch die hohe Fehlerquote bei niedrigen Dosierungen denkbar. Ein Anhaften der Flüssigkeit an der Pipettenspitze könnte die Konzentration stark beeinflussen, genauso wie unpassende Pipettenspitzen.

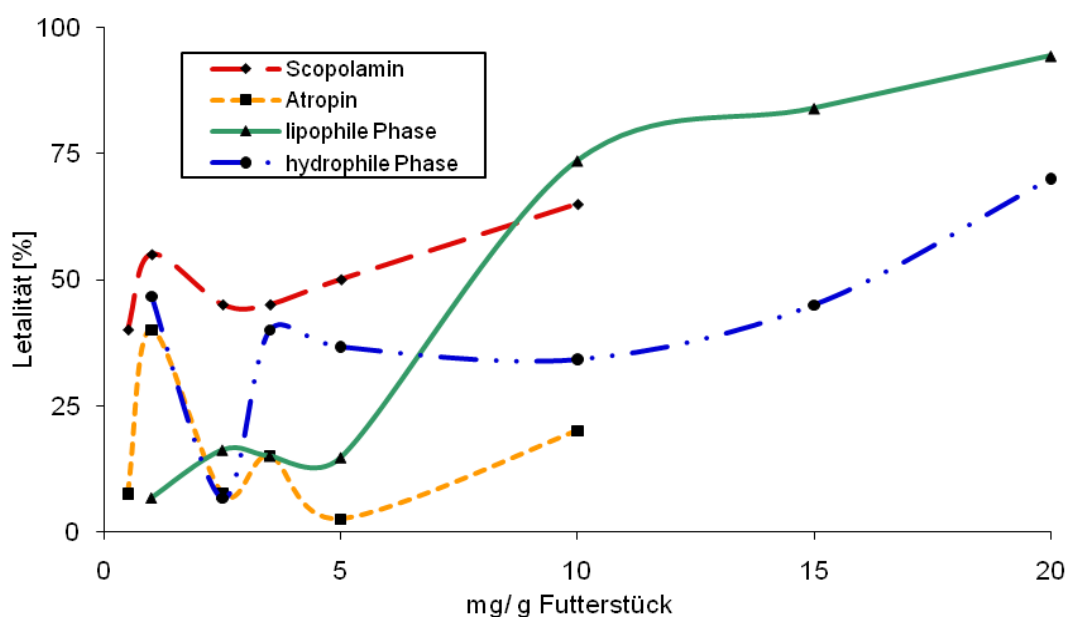


Abb. 16: Letalitätsrate von *S. littoralis* in % (bezogen auf die Kontrolle) im Einarbeitungsversuch von Scopolamin, Atropin, lipophilen und hydrophilen Blattextrakten von *B. aurea* nach 7 Tagen. Dargestellt sind die Mittelwerte der Testreihen.

Tab. 12: EC₅₀-Werte der Bioassays mit *S. littoralis* (das Konfidenzintervall gibt den 95%igen Vertrauensbereich an).

	Substanz	EC ₅₀ [mg/ g Futterstück]	Konfidenzintervall [mg/ g]
Tag 4	Scopolamin	1,2	-
	Atropin	10,0	4,6 – 1472,6
	<i>B. aurea</i> lipophile Phase	5,1	3,0 – 7,8
	<i>B. aurea</i> hydrophile Phase	14,8	6,1 – 2,1E7
Tag 7	Scopolamin	0,8	-
	Atropin	2,2	-
	<i>B. aurea</i> lipophile Phase	4,7	6,3 – 95,3
	<i>B. aurea</i> hydrophile Phase	12,2	3,0 – 7,8

Tab. 13: LC₅₀-Werte der Bioassays mit *S. littoralis* (das Konfidenzintervall gibt den 95%igen Vertrauensbereich an).

	Substanz	LC ₅₀ [mg/ g Futterstück]	Konfidenzintervall [mg/ g]
Tag 4	Scopolamin	7,4	-
	<i>B. aurea</i> lipophile Phase	8,0	6,0 – 12,0
	<i>B. aurea</i> hydrophile Phase	81,6	-
Tag 7	Scopolamin	3,1	-
	<i>B. aurea</i> lipophile Phase	7,2	5,4 – 10,4
	<i>B. aurea</i> hydrophile Phase	52,7	-

Die EC₅₀- und LC₅₀-Werte von Scopolamin, Atropin, lipophilen und hydrophilen Phasen der Blattextrakte von *B. aurea* im Einarbeitungsversuch mit *S. littoralis* sind in Tab. 12 bzw. Tab. 13 angegeben. Die geringen (bzw. bei Atropin größeren) Differenzen der EC₅₀- und LC₅₀-Werte zwischen Tag 4 und Tag 7 sind durch die durchwegs stärkeren Wirkungen der Stoffe nach längerer Versuchsdauer zu erklären. Der LC₅₀-Werte für Atropin konnte bezüglich der oben besprochenen unregelmäßigen Letalitätswerte nicht berechnet werden. Ein Vergleich der EC₅₀- und LC₅₀-Werte mit Ergebnissen aus der Literatur ist aufgrund unterschiedlicher Testorganismen und verschiedener Untersuchungsmethoden nicht möglich. Durch die verschiedenen physiologischen Gegebenheiten der Organismen lassen sich Testergebnisse nur bedingt auf andere Organismen übertragen (Carvalho et al., 2003).

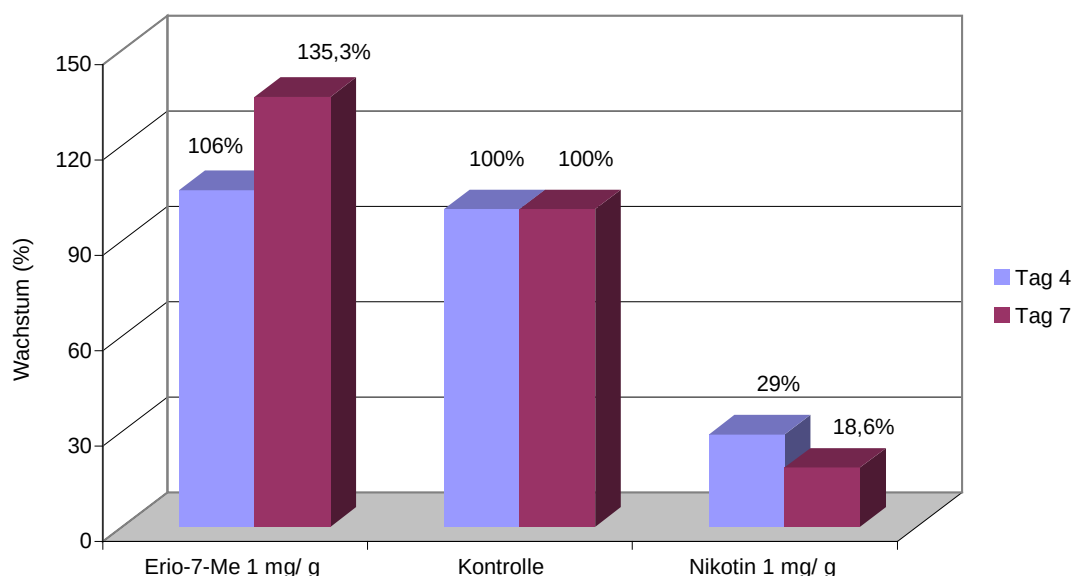


Abb. 17: Vergleich der Wachstumsraten von *S. littoralis*, Eriodictyol-7-Me und Nikotin nach 4 und 7 Tagen.

Der Einarbeitungsversuch mit dem Flavanon Eriodictyol-7-Me zeigt eindeutige wachstumsfördernde Wirkung auf *S. littoralis* (Abb. 17). Schon am Tag 4 ist ein verstärktes Wachstum um 6% im Vergleich zur Kontrolle zu verzeichnen, was bis zum Tag 7 des Bioassays um weitere 29% zunimmt. Deutlich ersichtlich ist die toxische Wirkung von Nikotin, das bei Insektentests als Positiv-Kontrolle üblicherweise herangezogen wird. Nikotin verursacht einen Wachstumsverlust von bis zu 81% am Tag 7 des Versuchs.

In der Arbeit von Beninger et al. (2004) wird die bedeutende Rolle der Flavonoide in der Fraßabwehr betont. Sie führten Untersuchungen mit *Trichoplusia ni* Hubner (Aschgraue Höckereule) sowie *Lymantria dispar* L. (Schwammspinner) und dem Glykosid Eriodictyol-7-O-glucuronide durch. Beninger et al. (2004) kamen zu dem Ergebnis, dass geringe Mengen (10 ppm) an Eriodictyol-7-O-glucuronid das Wachstum beide Insekten erhöhen, während höhere Konzentrationen (100 ppm) ihr Wachstum reduzieren. In der vorliegenden Arbeit kam eine Konzentration von 1000 ppm zum Einsatz und führte zu der oben besprochenen Wachstumsförderung von *S. littoralis*. Die zu der Arbeit von Beninger et al. (2004) doch sehr deutlichen Unterschiede im Wachstumsverlauf könnten auf die unterschiedliche Molekülstruktur der

getesteten Substanz zurückzuführen sein, nachdem es sich bei Eriodictyol-7-Me um ein Aglykon und in der Arbeit von Beninger et al. (2004) ein Glykosid handelt.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Im Zuge dieser Arbeit wurden vier Individuen der Gattung *Brugmansia* auf das Vorkommen von Exkretflavonoiden zum ersten Mal vergleichend analysiert. Erste Hinweise auf Exkrete ergaben sich aus der mikroskopischen Analyse der Blattoberflächen, auf welchem sezernierende Drüsen festgestellt werden konnten. Zur Gewinnung der Exkrete wurde das Blattmaterial vorsichtig abgespült, um Verunreinigungen durch Gewebsinhaltsstoffe zu vermeiden. Allerdings war die mengenmäßige Ausbeute gering, sodass in weiterer Folge mit Extrakten weiter gearbeitet wurde. Die Analyse der Extrakte erfolgte durch DC und HPLC, und zur Fraktionierung bzw. Reindarstellung der Substanzen wurden Säulenchromatographie bzw. präparative DC und semi-präparative HPLC eingesetzt. Isolierte Verbindungen wurden durch UV-Spektroskopie (einschließlich der diagnostischen Verschiebungsspektren), LC-MS und durch NMR-Spektroskopie strukturell aufgeklärt. Die LC-MS Analyse einer flavonoiden Verbindung ließ auf eine 2-fach O-methylierte Struktur schließen, und die UV-Spektraldaten gaben Hinweise auf das Vorliegen eines Flavanons. Aufgrund der zu geringen Menge konnte die Verbindung allerdings nicht eindeutig identifiziert werden. Im Gegensatz dazu wurde das Vorkommen des Tropanalkaloids Scopolamin durch verschiedene chemisch-analytische Nachweismethoden eindeutig bestätigt. Dabei hat sich die Anreicherung des Alkaloids durch Ausschütteln mit CHCl_3 , H_2O , HCl und NH_4OH bewährt. Zur weiteren Detektion wurden DC-Analysen und HPLC-Messungen durchgeführt. Zusätzlich erfolgten zur Abklärung der insektiziden Wirkung von Fraktionen und alkaloiden Reinsubstanzen Bioassays mit dem herbivoren Insekt *Spodoptera littoralis*. Die lipophile Phase der Blattextrakte von *B. aurea* sowie der Reinstoff Scopolamin wiesen eine deutlich stärkere wachstumshemmende bzw. letale Wirkung auf als die hydrophile Phase und der Reinstoff Atropin. Vergleichbare Ergebnisse wurden über *B. suaveolens* in Bioassays mit *S. frugiperda* in der Literatur berichtet. Umfassende Diskussionen der Bioaktivität von Flavonoiden und Alkaloiden ergänzen die experimentelle Arbeit.

7 LITERATURVERZEICHNIS

ALVES M N, SARTORATTO A, TRIGO J R. Scopolamine in *Brugmansia Suaveolens* (Solanaceae): Defense, Allocation, Costs, and Induced Response. *Journal of Chemical Ecology*, 2007; 33: 297-309.

ASCENSÃO L, MOTA L, CASTRO M D. Glandular Trichomes on the Leaves and Flowers of *Plectranthus ornatus*: Morphology, Distribution and Histochemistry. *Annals of Botany*, 1999; 84: 437-447.

BAYER W, SCHMIDT K. Coenzym Q10 – Aktueller Erkenntnisstand. *Ernährung & Medizin*, 2002; 17: 138-140.

BENAVENTE-GARCIA O, CASTILLO J. Update on Uses and Properties of *Citrus* Flavonoids: New Findings in Anticancer, Cardiovascular, and Anti-inflammatory Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008; 56: 6185-6205.

BENINGER C W, ABOU-ZAID M M, KISTNER A L E, HALLETT R H, IQBAL M J, GRODZINSKI B, HALL J C. A Flavanone and two phenolic acids from *Chrysanthemum morifolium* with phytotoxic and insect growth regulating activity. *Journal of Chemical Ecology*, 2004; 30: 589-606.

BHATTACHARYYA B, JOHRI B M. Flowering Plants Taxonomy and Phylogeny. Springer Verlag, Narosa publishing house, India, 1998: 483.

BIESALKSI H K. Die Rolle von antioxidativen Mikronährstoffen, Vitaminen und Selen in der Onkologie. *Der Onkologe*, 2007; 13: 481-489.

BÖHM H, BOEING H, HEMPEL J, RAAB B, KROKE A. Flavonole, Flavone und Anthocyane als natürliche Antioxidantien der Nahrung und ihre mögliche Rolle bei der Prävention chronischer Erkrankungen. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 1998; 37: 147-163.

BOSWELL H D, DRÄGER B, EAGLES J, MC CLINTOCK C, PARR A, PORTSTEFFEN A, ROBINS D J, ROBINS R J, WALTEN N J, WONG C. Metabolism of *N*-alkyldiamines and *N*-alkylnortropinones by transformed root cultures of *Nicotiana* and *Brugmansia*. *Phytochemistry*, 1999; 52: 855-869.

BRAVO L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 1998; 56: 317-333.

BRIELMANN H L, SETZER W N, KAUFMAN P B, KIRAKOSYAN A, CSEKE L J. Phytochemicals: The Chemical Components of Plants. In: *Natural Products from Plants* (CSEKE L J, KIRAKOSYAN A, KAUFMAN P B, WARBER S L, DUKE J A, BRIELMANN H L, Editors). Taylor & Francis Group, London, 2006: 1-49.

BULLIMORE M A. Lazy Eyes Benefit from Beautiful Lady. *The Journal of the American Academy of Optometry*, 2002; 79: 275.

BURDA S, OLESZEK W. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001; 49: 2774-2779.

CALTAGIRONE S, ROSSI C, POGGI A, RANELLETTI F, NATALI P G, BRUNETTI M, AIELLO F B, PIANTELLI M. Flavonoids Apigenin and Quercetin inhibit Melanoma Growth and Metastatic Potential. *International Journal of Cancer*, 2000; 87: 595-600.

CAO G, SOFIC E, PRIOR R. Antioxidant and Prooxidant behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. *Free Radical Biology & Medicine*, 1997; 22: 749-760.

CAPASSO A, DE FEO V, DE SIMONE F, SORRENTION L. Activity-directed Isolation of Spasmolytic (anti-cholinergic) Alkaloids from *Brugmansia arborea* (L.) Lagerheim. *International Journal of Pharmacognosy*, 1997; 35: 43-48.

CARVALHO F D, MACHADO I, MARTINEZ M S, SOARES A, GUILHERMINO L. Use of atropine-treated *Daphnia magna* survival for detection of environmental contamination by acetylcholinesterase inhibitors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2003; 53: 43-46.

CHEN D, DOU Q P. Tea Polyphenols and Their Roles in Cancer Prevention and Chemotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 2008; 9: 1196-1206.

CLIFFORD M, BROWN J E. Dietary Flavonoids and Health – Broadening the Perspective. In: *Flavonoids, Chemistry, Biochemistry and Applications* (ANDERSEN Ø M, MARKHAM K R, Editors). Taylor & Francis Group, New York, 2006: 143-218.

COCKELL C S, KNOWLAND J. Ultraviolet radiation screening compounds. *Biological Reviews*, 1999; 74: 311-345.

CROZIER A, LEAN M E J, MCDONALD M S, BLACK C. Quantitative Analysis of the Flavonoid Content of Commerical Tomatoes, Onions, Lettuce, and Celery. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997; 45: 590-595.

D' ARCHIVIO M, FILESÌ C, VARI R, SCAZZOCCHIO B, MASELLA R. Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversies. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010; 11: 1321-1342.

DARWIN C R. *The Effects of Cross and Self-Fertilisation in the Vegetable Kingdom*. Elibron Classics, London, 2005: 371.

DAVIES K M, SCHWINN K E. Molecular Biology and Biotechnology of Flavonoid Biosynthesis. In: *Flavonoids, Chemistry, Biochemistry and Applications* (ANDERSEN Ø M, MARKHAM K R, Editors). Taylor & Francis Group, New York, 2006: 143-218.

DE FEO V. Ethnomedical field study in Northern Peruvian Andes with particular reference to divination practices. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003; 85: 243-256.

DELUC L, BOGS J, WALKER A, FERRIER T, DECENDIT A, MERILLON J-M, ROBINSON S P, BARRIEU F. The Transcription Factor VvMYB5b Contributes to the Regulation of Anthocyanin and Proanthocyanidin Biosynthesis in Developing Grape Berries. *Plant Physiology*, 2008; 147: 2041-2053.

DIETRICH G, KALOUS E. Keine Angst vor Giftpflanzen. Österreichischer Agrarverlag, Wien, 2006: 89.

DONCHEVA T, BERKOV S, PHILIPOV S. Comparative study of the alkaloids in tribe Datureae and their chemosystematic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2006; 34: 478-488.

DONCK V, MULLIEZ E, BLANCKAERT J. Angel's trumpet (*Brugmansia arborea*) and mydriasis in a child - a case report. *Bulletin de la Société Belge d' Ophatalmologie*, 2004; 292: 53-56.

DRÄGER B. Wie kommt Atropin in die Tollkirsche? Neues zur Regulation des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels. *Pharmazie in unserer Zeit*, 1996; 5: 242-249.

DUPONT M S, MONDIN Z, WILLIAMSON G, PRICE K R. Effect of Variety, Processing, and Storage on the Flavonoid Glycoside Content and Composition of Lettuce and Endive. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000; 48: 3957-3964.

DUTHIE G G, BELLIZZI M C. Effects of antioxidants on vascula health. *British Medical Bulletin*, 1999; 55: 568-577.

EBERMANN R, ELMADFA I. Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung. Springer-Verlag, Wien, New York, 2008: 202-208.

EVANS W C, PARTRIDGE M W. Alkaloid biogenesis I. Site of synthesis of alkaloids in *Datura*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1953; 5: 293-300.

EVANS W C. Tropane alkaloids of the Solanaceae. In: *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae* (HAWKES J G, LESTER R N, SKELDING A D, Editors). Academic Press, London, 1979: 241-256.

GOSSLAU A, RENSING L. Oxidativer Stress, altersabhängige Zellschädigungen und antioxidative Mechanismen. *Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie*, 2002; 35: 139-150.

GOULD K S, LISTER C. Flavonoid Functions in Plants. In: *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications* (ANDERSEN Ø M, MARKHAM K R, Editors). Taylor & Francis Group, New York, 2006: 397-441.

GREENE G S, PATTERSON S G, WARNER E. Ingestion of Angel's Trumpet: An Increasingly Common Source of Toxicity. *Southern Medical Journal*, 1996; 89:365-369.

GRIFFIN W J, LIN G D. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry*, 2000; 53: 623-637.

HAEGI L. The Affinities of *Anthocercis* (Solanaceae) and Related Genera. In: *Solanaceae Biology and Systematics* (D'ARCY W G., Editor). Columbia University Press, New York, 1986: 27-40.

HALÁSZ A, BARÁTH A, HOLZAPFEL W H. The biogenic amine content of beer; the effect of barley, malting and brewing on amine concentration. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung*, 1999; 208: 418-423.

HALLIWELL B. Dietary polyphenols: Good, bad, or indifferent for your health? *Cardiovascular Research*, 2007; 73: 341-347.

HÄNSEL R, STICHER O. *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. Springer Verlag, Heidelberg, 2007: 1188-1241, 1318-1359.

HARBORNE J B. *Ökologische Biochemie*. Spektrum, Akademischer Verlag, Heidelberg, 1995: 172-174, 238, 242.

HARBORNE J B, BAXTER H. *Phytochemical Dictionary*. Taylor & Francis, London, 1993: 300-308.

HARBORNE J B, WILLIAMS C A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 2000; 55: 481-504.

HARTMANN T. Prinzipien des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels. *Plant Systematics and Evolution*, 1985; 150: 15-34.

HAWKES J G. The economic importance of the family Solanaceae. In: *Solanaceae IV* (NEE M, SYMON D E, LESTER R N, JESSOP J P, Editors). The Royal Botanic Gardens, Kew, 1999: 1-8.

HEGNAUER R. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Birkhäuser Verlag, Basel, 1973; Band 6: 402-452.

HELLER W, FORKMANN G. Biosynthesis of flavonoids. In: *The Flavonoids, Advances in Research since 1986* (HARBORNE J B, Editor). Chapman & Hall, London, 1986: 499-535.

HERTOG M G L, HOLLMANN P C H, KATAN M B. Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 Fruits Commonly Consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992; 40: 2379-2383.

HERTOG M G L, HOLLMANN P C H, VAN DE PUTTE B. Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of Tea Infusions, Wines, and Fruit Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1993a; 41: 1242-1246.

HERTOG M G L, HOLLMANN P C H, KATAN M B, KROMHOUT D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutrition and Cancer*, 1993b; 20: 21-29.

HEYWOOD V H. Blütenpflanzen der Welt. Birkhäuser Verlag, Basel, 1982: 229.

HEYWOOD V H. Flowering plant families of the world. The Royal Botanic Gardens, Kew, 2007: 305-307.

HIBI N, FUJITA T, HATANO M, HASHIMOTO T, YAMADA Y. Putrescine *N*-Methyltransferase in Cultured Roots of *Hyoscyamus albus*. *Plant Physiology*, 1992; 100: 826-835.

HOLLMANN P C H, KATAN M B. Dietary Flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, 1999; 37: 937-942.

HOOPER L, KROON P A, RIMM E B, COHN J S, HARVEY I, CORNU K A L, RYDER J J, HALL W L, CASSIDY A. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2008; 88: 38-50.

HUNZIKER A T. South American Solanaceae: a synoptic survey. In: *The biology of The Taxonomy of Solanaceae* (HAWKES J G, LESTER R N, SKELDING A D , Editors). Academic Press, London, 1979: 57.

HUNZIKER A T. Genera Solanaceae: The genera of Solanaceae illustrated, arranged according to a new system. A.R.G. Gantner Verlag , Ruggell (Liechtenstein), 2001: 23-25.

JANDL B. Biotests mit *Spodoptera littoralis* (Noctuidae), Diplomarbeit, Universität Wien, 1993.

JOHN H, EYER F, ZILKER T, THIERMANN H. High-performance liquid-chromatographic tandem-mass spectrometric methods for atropinesterase-mediated enantioselective and chiral determination of *R*- and *S*-hyosyamine in plasma. *Analytica Chimica Acta*, 2010: doi:10.1016/j.aca.2010.09.018.

KAISER H, RICHTER U, KEINER R, BRABANT A, HAUSE B, DRÄGER B. Immunolocalisation of two tropinone reductases in potato (*Solanum tuberosum* L.) root, stolon, and tuber sprouts. *Planta*, 2006; 225: 127-137.

KANEGAE T, KAJIYA H, AMANO Y, HASHIMOTO T, YAMADA Y. Species-Dependent Expression of the Hyoscyamine 6 β -Hydroxylase Gene in the Pericycle. *Plant Physiology*, 1994; 105: 483-490.

KITAMURA S. Transport of Flavonoids: From Cytosolic Synthesis to Vacuolar Accumulation. In: *The Science of Flavonoids* (GROTEWOLD E, Editor). Springer Verlag, New York, 2008: 123-146.

KODRIC-BROWN A, BROWN J H, BYERS G S, GORI D F. Organization of a tropical Island community of Hummingbirds and Flowers. Ecological Society of America, 1984; 65: 1358-1368.

KOOTSTRA A. Protection from UV-B-induced DNA damage by flavonoids. Plant Molecular Biology, 1994; 26: 771-774.

KREBS K G, HEUSSER D, WIMMER H. Sprühreagentien. In: Dünnschicht-Chromatographie – Ein Laboratoriumshandbuch (STAHL E, Editor). Springer-Verlag, Berlin, 1967: 813-859.

KYLE J A M, DUTHIE G G. Flavonoids in Foods. In: Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications (ANDERSEN Ø M, MARKHAM K R, Editors). Taylor & Francis Group, New York, 2006: 219-262.

LAMBERT J D, HONG J, YANG G-Y, LIAO J, YANG C S. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. American Journal of Clinical Nutrition, 2005; 81: 284-291.

LIEBEREI R, REISDORFF C. Nutzpflanzenkunde. Thieme Verlag, Stuttgart, 2007: 235, 336.

LIN J-K, WENG M-S. Flavonoids as Nutraceuticals. In: The Science of Flavonoids (GROTEWOLD E, Editor). Springer Verlag, New York, 2008: 213-238.

LIU R H. Potential Synergy of Phytochemicals in Cancer Prevention: Mechanism of Action. The Journal of Nutrition, 2004; 134: 3479S-3485S.

LOCKWOOD E T. Generic Recognition of *Brugmansia*. Botanical Museum Leaflets, 1973; 23: 273-284.

LUCKNER M. Der Sekundärestoffwechsel in Pflanze und Tier. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1969: 226-228.

LUDEWIG R. Akute Vergiftungen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1999: 478.

LUNA-CAVAZOS M, BYE R, JIAO M. Phenetic analysis of *Datura* section Dutra (Solanaceae) in Mexico. Botanical Journal of the Linnean Society, 2000; 133: 493-507.

LUNA-CAVAZOS M, BYE R, JIAO M. The origin of *Datura metel* (Solanaceae): genetic and phylogenetic evidence. Genetic Resources and Crop Evolution, 2009; 56: 263-275.

MABRY T J, MARKHAM K R, THOMAS M B. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer Verlag, Berlin, 1970: 35, 165-174.

MACE E S, GEBHARDT C G, LESTER R N. AFLP analysis of genetic relationships in the tribe Datureae (Solanaceae). Theoretical and Applied Genetics, Springer Verlag, 1999; 99: 634-641.

MACCHIAIOLO M, VIGNATI E, GONFIANTINI M V, GRANDIN A, ROMANO M T, SALATA M, VALENTINI D, VILLANI A. An unusual case of anisocoria by vegetal intoxication: a case report. Italian Journal of Pediatrics, 2010; 36: 50-53.

MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, RÉMÉSY C, JIMÉNEZ L. Polyphenols: food sources and bioavailability. The American Journal of Clinical Nutrition, 2004; 79: 727-747.

MIKULICIC S. unpublished

MINO Y. Amino acid sequence of ferredoxin from *Datura arborea*. Phytochemistry, The International Journal of Plant Biochemistry, 1994; 37: 429-431.

NAGL M, Analyse phenolischer Inhaltsstoffe in Beeren von Holunder (*Sambucus nigra*). Dissertation, Universität Wien, 2002.

NAVARRO-NÚÑEZ L, CASTILLE J, LOZANO M L, MARTINEZ C, BENAVENTE-GARCIA O, VICENTE V, RIVERA J. Thromboxane A₂ Receptor Antagonism by Flavonoids: Structure-Activity Relationships. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009; 57: 1589-1594.

OLMSTEAD R G, BOHS L, MIGID H A, SANTIAGO-VALENTIN E, GARCIA V F, COLLIER S M. A molecular phylogeny of the Solanaceae. Molecular Phylogenetics, 2008; 47: 1159-1181.

OLMSTEAD R G, SWEERE J, SPANGLER R, BOHS L, PALMER J D. Phylogeny and Provisional Classification of the Solanaceae Based on Chloroplast DNA. In: Solanaceae IV (NEE M, SYMON D E, LESTER R N, JESSOP J P, Editors). The Royal Botanic Gardens, Kew, 1999: 111-138.

ONYILAGHA J C, GROTEWOLD E. The biology and structural distribution of surface flavonoids. Research Signpost, 2004.

ONYILAGHA J C, LAZORKO J, GRUBER M Y, SOROKA J, ERLANDSON M A. Effect of Flavonoids on feeding preference and development of the crucifer pest. Journal of Chemical Ecology, 2004; 30: 109-124.

PERSSON V, KNAPP S, BLACKMORE S. Pollen morphology and the phylogenetic analysis of *Datura* and *Brugmansia*. In: Solanaceae IV (NEE M, SYMON D E, LESTER R N, JESSOP J P, Editors). The Royal Botanic Gardens, Kew, 1999: 171-187.

PORRINI M, RISO P. Factors influencing the bioavailability of antioxidants in foods: A critical appraisal. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases, 2008; 18: 647-650.

PREISSEL U., PREISSEL H. Engelstropfen. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 1997: 9-17, 20-22, 28-33, 36-40, 44-46.

PRICE K R, BACON J R, RHODES M J C. Effect of Storage and Domestic Processing on the Content and Composition of Flavonol Glucosides in Onion (*Allium cepa*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997; 45: 938-942.

PROKSCH P. Pflanzliche Sekundärstoffe als chemischer Fraßschutz gegen herbivore Insekten. Pharmazie in unserer Zeit, 1991: 217-224.

RÄTSCH C. Enzyklopädie der psychoaktiven Pflanzen. AT Verlag, Aarau, Schweiz, 1998: 94-108.

RAUSHER M D. The Evolution of Flavonoids and their Genes. In: The Science of Flavonoids (GROTEWOLD E, Editor). Springer Verlag, New York, 2008: 175-211.

REISCH J, PROBST W, GRÖGER D. Die Anwendung der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie zur Trennung und Bestimmung von Acridonalkaloiden. Die Pharmazie, 1990; 45: 500-502.

ROBINS R J. The Biosynthesis of Alkaloids in Root Cultures. In: Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications (ROBERTS M R, WINK M, Editors). Plenum Press, New York, 1998: 199-218.

RODDICK J G. The Importance of the Solanaceae in Medicine and Drug Therapy. In: Solanaceae III (HAWKES J G, LESTER R N, NEE M, ESTRADA-R N, Editors). The Royal Botanic Gardens, Kew, 1991: 7-23.

ROSS J A, KASUM C M. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. Annual Review of Nutrition, 2002; 22: 19-34.

SAFFORD W E. Synopsis of the genus *Datura*. Journal of the Washington Academy of Sciences, 1921: 173-189.

SAVOLAINEN V, FAY M F, ALBACH D C, BACKLUND A, VAN DER BANK M, CAMERON K M, JOHNSON S A, LLEDÓ M D, PINTAUD J-C, POWELL M, SHEAHAN M C, SOLITS D E, WESTON P, WHITTEN W M, WURDACK K J, CHASE M W. Phylogeny of the eudicots: a nearly complete familial analysis based on rbcL gene sequences. Kew Bulletin, 2000; 55: 257-309.

SCHILLMILLER A L, LAST R L, PICHESKY E. Harnessing plant trichome biochemistry for the production of useful compounds. The Plant Journal, 2008; 54: 702-711.

SCHNEIDER G, HILLER K. Arzneidrogen. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 1999: 334-338.

SCHULTES R E. A new narcotic genus from the amazon slope of the colombian andes. Botanical Museum Leaflets, Harvard University Volume XVII, 1955: 1-11.

SCHULTES R E. The botanical and chemical distribution of hallucinogens. Annual Review of Plant Physiology, 1970; 21: 571-598.

SCHULTES R E. Solanaceous hallucinogens and their role in the development of New World cultures. In: The Biology and Taxonomy of the Solanaceae (HAWKES J G, LESTER R N, SKELDING A D, Editors). Academic Press, London, 1979: 137-160.

SHAW J M H. Specific identities and relationships in the *lochroma* gesnerioides/fuchsioides complex. In: Taxonomy of Cultivated Plants: Third International Symposium (ANDREWS S, LESLIE A C, ALEXANDER C, Editors). The Royal Botanic Gardens, Kew, 1999: 409-412.

SHIRLEY B W. Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. Trends in plant science, 1996; 11: 377-382.

SINGH PRITAM. Artificial diets for insects, mites, and spiders. IFI/Plenum, New York, 1977: 353.

SMITH T A. Polyamines. Annual Review of Plant Physiology, 1985; 36: 117-143.

STAFFORD H A. Flavonoid Evolution: An Enzymic Approach. Plant Physiology, 1991; 96: 680-685.

STAHL E, SCHILD W. Pharmazeutische Biologie, 5. Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierungen. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1981: 65.

SYMON D E, HAEGI L A R. *Datura* (Solanaceae) is a New World Genus. In: Solanaceae III (HAWKES J G, LESTER R N, NEE M, ESTRADA-R N, Editors). The Royal Botanic Gardens, Kew, 1991: 197-210.

TAHARA S-I, OKAYAMA A, KITADA Y, WATANABE T, NAKAZAWA H, KAKEHI K, HISAMATU Y. Enantiomeric separation of atropine in *Scopolia* extract and *Scopolia* Rhizome by capillary electrophoresis using cyclodextrins as chiral selectors. Journal of Chromatography, 1999; 848: 465-471.

TEUSCHER E, LINDEQUIST U. Biogene Gifte. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2010: 466, 601-606.

TIAZ L, ZEIGER E. Plant Physiology. Spektrum, Akademischer Verlag, Berlin, 2007: 323-326.

VALANT-VETSCHERA K M, BREM B. Chemodiversity of Exudate Flavonoids, as Highlighted by Selected Publications of Eckhard Wollenweber. Natural Product Communications, 2006; 1: 921-926.

VALANT-VETSCHERA K M, WOLLENWEBER E. Comparative Analysis of Leaf Exudate Flavonoids in *Achillea* subsect. *Filipendulinae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1996; 24: 435-446.

VETSCHERA K. Flavonoids as chemical characters in plant systematics: Chemodiversity and systematic significance. *Habilitationsschrift*, Universität Wien, 1999.

VOIRIN B, BAYET C, COLSON M. Demonstration that flavone aglycones accumulate in the peltate gland of *Mentha x piperita* leaves. *Phytochemistry*, 1993; 34: 85-87.

WAGNER G J, WANG E, SHEPHERD R W. New Approaches for Studying and Exploiting an Old Protuberance, the Plant Trichome. *Annals of Botany*, 2004; 93: 3-11.

WATZL B, LEITZMANN C. Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln. Hippokrates, Stuttgart, 2005: 33.

WATZL B, RECHKEMMER G. Flavonoide. *Ernährungs-Umschau*, 2001; 48: 498-502.

WEINER N. Atropine, Scopolamine, and related antimuscarinic drugs. In: Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics (GOODMAN L S, GILMAN A G, Editors). Macmillan, New York, 1985: 130-144.

WILLIAMS C A, GRAYER R J. Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Product Reports*, 2004; 21: 539-573.

WILLIAMSON G, HOLST B. Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: are we heading in the right direction? *British Journal of Nutrition*, 2008; 99: S55-S58.

WINKEL B S J. The Biosynthesis of Flavonoids. In: The Science of Flavonoids (GROTEWOLD E, Editor). Springer Verlag, New York, 2008: 71-95.

WOLLENWEBER E. Exkret-Flavonoide bei Höheren Pflanzen arider Gebiete. *Plant Systematics and Evolution*, 1985; 150: 83-88.

WOLLENWEBER E. On the distribution of exudate flavonoids among Angiosperms. *Revista Latinonamericana de Quimica*, 1990; 21: 115-121.

WOLLENWEBER E, DÖRR M. Flavonoid aglycones from the lipophilic exudates of some species of Rosaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2008; 36: 481-483.

WOLLENWEBER E, DÖRSAM M, DÖRR M, ROITMAN J N, VALANT-VETSCHERA K M. Chemodiversity of Surface Flavonoids in Solanaceae. *Zeitschrift für Naturforschung*, 2005; 60c: 661-670.

WOLLENWEBER E, VALANT-VETSCHERA K M. New results with exudate flavonoids in Compositae. In: Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference, Kew, 1994 (HIND D J N, BEENTJE H J, Editors). Royal Botanic Gardens, Kew, 1996: 169-185.

YANG C S, LAMBERT J D, SANG S. Antioxidative and anti-carcinogenic activities of tea polyphenols. Archives of Toxicology, 2009; 83: 11. doi:10.1007/s00204-008-0372-0.

ZERN T L, FERNANDEZ M L. Cardioprotective Effects of Dietary Polyphenols. The Journal of Nutrition, 2005; 10: 2291-2294.

Online-Resource:

http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Spodoptera_littoralis/SPODLI_map.htm

(abgerufen am: 28. 08. 2010).

<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APWeb/>

Missouri Botanical Garden, Angiosperm Phylogeny Website (Version 9, June 2008) Edited by Stevens P F. University of Missouri, St. Louis (abgerufen am: 12. 08. 2010).

<http://www.spiegel.de/panorama/0,1518,266845,00.html>

(abgerufen am: 18.7.2010).

8 ANHANG

8.1 ABBILDUNGEN DER HERBARBELEGE

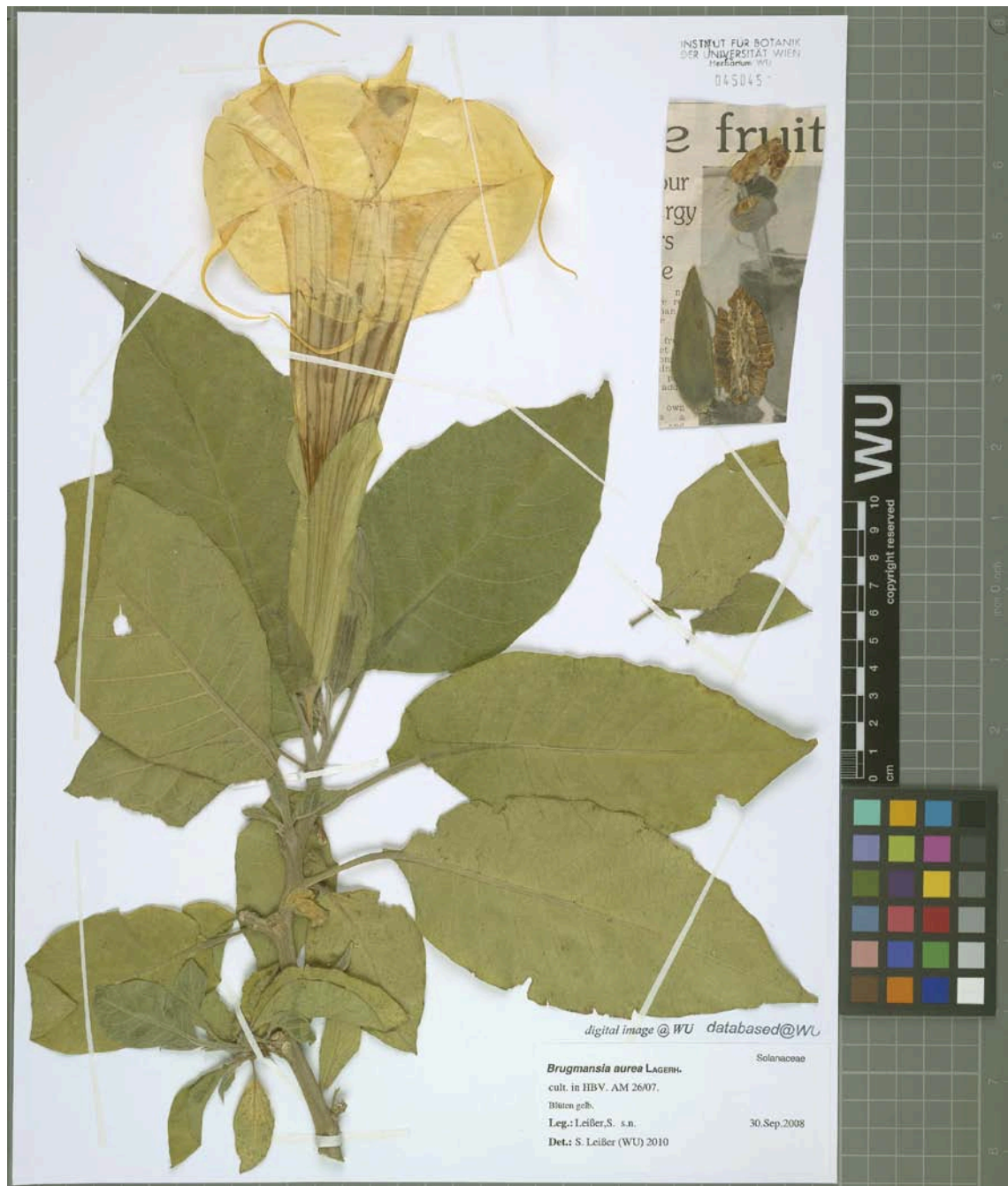


Abb. 18: Herbarbeleg von *B. aurea*, WU045045



Abb. 19: Herbarbeleg von *B. aurea*, WU045046

Abb. 20: Herbarbeleg von *B. suaveolens*, WU045047



Abb. 21: Herbarbeleg von *B. suaveolens*, WU045048

Abb. 22: Herbarbeleg von *B. candida*, WU045049



Abb. 23: Herbarbeleg von *B. candida*, WU045050



Abb. 24: Herbarbeleg von *B. suaveolens*, WU045052



Abb. 25: Herbarbeleg von *B. suaveolens*, WU045053

8.2 DANKSAGUNG

DANKESCHÖN an...

meine Betreuerin Frau Ao. Univ.-Prof. Dr. Karin Valant-Vetschera, welche mir die Welt der Chemodiversität näher gebracht hat. Danke für die Anregung, Möglichkeit und Hilfestellung zu und während dieser fächerübergreifenden Arbeit.

Mag. Johann Schinnerl und Mag.^a Tshering Doma Bhutia für die Betreuung im Labor und hilfreichen Erklärungen.

Stefan Mikulicic und Markus Hofbauer, die mir bei den Bioassays mit Ihrem Wissen und tatkräftiger Unterstützung jederzeit zur Seite standen.

Mag. Gregor Dietrich für die Hilfe bei der Bestimmung der *Brugmansia*-Arten.

Mag.^a Anne-Mette Hanak für die Zeit und Hilfe bei der mikroskopischen Analyse.

Dr. Michael Nagl für die Durchführung der NMR Messungen am Institut für organische Chemie der Universität Wien.

Dr. Martin Zehl für die Durchführung der LC-MS Messungen am Institut für Pharmakognosie der Universität Wien.

meinen Freund Adrian, der mir immer ein offenes Ohr schenkte und mich mit Herzenskraft auf diesem Weg begleitet hat.

meine Mutter, die mich stets mit Energie, Zuspruch und Nahrung versorgte und auf die ich immer zählen kann.

meinen Vater, ohne dessen finanzielle Hilfe und Unterstützung dies nie möglich gewesen wäre.

meinen Bruder Roman, dessen kluger Kopf mir immer ein Vorbild war.

meine Omi, die sich immer über meine Erfolge gefreut hat.

meine DA-Gefährtin und Freundin Birgit: wir waren das beste Team, das ich mir vorstellen kann.

meine Freundinnen und Studienkolleginnen („crazy hair chicks“) Karo, Silvia, Doris, Kristina und Sigrun, für unseren Austausch und unsere lustige gemeinsame Zeit. Eure treue Freundschaft hat für mich die Studienzeit noch wertvoller gemacht.

meine Freundin und Laufpartnerin Caroline, für unsere zahlreichen Runden und guten Gespräche.

meine Sandkistenfreundin Simone, welche die Idee zu studieren in mir zündete und an meiner wachsenden Begeisterung für diese Thematik maßgeblich beteiligt war.

8.3 LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE DATEN

Name	Sonja Leißer
E-mail	a0107127@unet.univie.ac.at
Adresse	A-1090 Wien, Säulengasse 19/5
Geburtsdatum/-Ort	19.03.1978 / Mistelbach
Nationalität	Österreich

AUSBILDUNG

2008 – 2010	Diplomarbeit: „Analytische Methoden und Bioaktivität ausgewählter sekundärer Inhaltsstoffe der Gattung <i>Brugmansia</i> (Solanaceae)“ Chemodiversity Research Group, Universität Wien, Ao. Univ.-Prof. Dr. Karin Valant-Vetschera
2003 – 2010	Studium der Ernährungswissenschaften Universität Wien, Diplomstudium: Ernährung & Umwelt
09/2002 – 06/2003	Studienberechtigungsprüfung, Volkshochschule Wien
1992 – 1995	Handelsschule, Laa/Thaya
1984 – 1992	Volks- und Hauptschule, Poysdorf

BERUFSERFAHRUNG

03/2005 – 03/2009	Firma Dogan / Wien – Service
08/2003 – 11/2004	Firma Manpower / Wien – Service
09/1995 – 02/2003	Wiener Gebietskrankenkasse / Wien – Verwaltungsangestellte
08/1994	Firma Gebauer & Griller / Poysdorf – Praktikum

PRAKTIKA

7/2009 – 9/2009	School of Food Science and Nutrition UK, University of Leeds, Department of Functional Food, Prof. Gary Williamson, Projekt: Flavonoid – Research
08/2007	Klinische Abteilung für Endokrinologie und Stoffwechsel AKH Wien, Projekt: Diabetes & Migration
07/2007	Vergleichende und Ökologische Phytochemie Universität Wien, Labortätigkeit
02/2007	Ethnobotanischer Studienaufenthalt in Thailand Vergleichende und Ökologische Phytochemie, Universität Wien, Prof. Dr. Harald Greger

SPRACHEN

Deutsch, Englisch

PERSÖNLICHE INTERESSEN

Bücher, Natur, Reisen, Kochen,
Sport (Laufen, Radfahren, Schwimmen, Yoga)

Wien, November 2010