

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Sekundärstoffprofil und Bioaktivität ausgewählter
Alpinia-Arten (Zingiberaceae)

angestrebter akademischer Grad

Magister der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasserin / Verfasser: Alexander Holly

Studienrichtung /Studienzweig A 438, A 444
(lt. Studienblatt):

Betreuerin / Betreuer: Ao.Univ.-Prof. Dr. Karin Valant-Vetschera

Wien, Dezember 2010

Gewidmet allen meinen Lehrern
für das Wissen
und
die Erfahrung ihres Könnens.

Inhalt

1. Einleitung.....	7
2. Systematik und Morphologie.....	8
2.1. Die Ordnung Zingiberales.....	8
2.2. Die Familie Zingiberaceae	8
2.3. Die Gattung <i>Alpinia</i> ROXB.....	11
2.4. Testorganismus <i>Spodoptera littoralis</i> BOISDUVAL	13
2.4.1. Die Ordnung Lepidoptera	13
2.4.2. Die Familie Noctuidae	13
2.4.3. Die Gattung <i>Spodoptera</i> GUENÉE	13
2.5. Testorganismus <i>Cladosporium sphaerospermum</i> PENZ. (Davidiellaceae- Capnodiales).....	16
2.5.1. Die Ordnung Capnodiales	16
2.5.2. Die Gattung <i>Cladosporium</i> LINK.....	16
3. Interaktionen zwischen Pflanzen und Tieren	17
3.1. Abwehrstrategien der Pflanzen	17
3.2. Die Rolle von Giften zur Abwehr von herbivoren Insekten	18
3.3. Resistenz der chemischen Abwehr von Pflanzen durch Insekten	19
3.3.1. Vermeidung der Nahrungsaufnahme	19
3.3.2. Exkretion und Sequestrierung	19
3.3.3. Abbau des Giftes	20
3.3.4. Mutation am Zielort der Substanz	20
4. Stoffklassen.....	21
4.1. Curcuminoide	21
4.2. Flavonoide: Chalkonderivate	24
4.3. Einfache Phenylpropanoide	26
4.4. Indole	27
4.5. Terpenoide	29
5. Material und Methode	32
5.1. Pflanzenmaterial	32
5.1.1. Extraktion	32
5.2. Analytische Methoden	33
5.2.1. Dünnschichtchromatographie	33

5.2.2. High Performance Liquid Chromatography	33
5.3. Präparative Methoden	34
5.3.1. Trockensäule	34
5.3.2. Sephadex® LH-20 Säule	34
5.3.3. Präparative Dünnschichtchromatographie	34
5.4. Spektroskopische Methoden	35
5.4.1. UV-VIS-Spektroskopie	35
5.4.2. NMR-Spektroskopie	35
5.5. Bioassay mit <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	35
5.5.1. Kulivierung und Sporengewinnung	35
5.5.2. Bioautographie auf DC-Platten mit Chloroform-Phasen	36
5.6. Bioassay mit <i>Spodoptera littoralis</i>	36
5.6.1. Herstellung der Futtermischung	36
5.6.2. Herstellung der Futterkuchen	36
5.7. Auflistung der verwendeten Geräte und Chemikalien	39
6. Ergebnisse	40
6.1. Phytochemische Ergebnisse	40
6.1.1. Isolierung von Reinstoffen aus <i>Alpinia nutans</i>	40
6.1.2. Nachweis von isolierten Stoffen in anderen <i>Alpinia</i> -Arten	41
6.2. Biologische Aktivität	43
6.2.1. Bioautographie auf DC-Platten mit <i>Cladosporium sphaerospermum</i>	43
6.2.2. Bioassay mit <i>Spodoptera littoralis</i>	46
7. Diskussion	52
7.1. Freies Indol in der Gattung <i>Alpinia</i>	52
7.2. Bioaktivität	53
8. Literaturverzeichnis	56
9. Anhang	67
9.1. Rohdaten des Bioassays mit <i>Spodoptera littoralis</i>	67
9.2. Spektraldatenkatalog	73
9.3. Danksagung	75
9.4. Zusammenfassung	76
9.5. Abstract	77
9.6. Curriculum Vitae	78

1. Einleitung

Alpinia ROXB. ist die größte Gattung innerhalb der Zingiberaceae (Ingwergewächse) und in ihrem derzeitigen Konzept polyphyletisch (Kress et al., 2005). Sie besitzt ihren Verbreitungsschwerpunkt in Australien, im Südpazifik und vor allem im Osten und Süden Asiens. Dort prägen die bis zu acht Meter hohen Arten die vorherrschende Flora. Besonders in China wird der Gattung aufgrund der medizinischen und kulinarischen Verwendung große Bedeutung beigemessen (Tseng et al., 2010; Kress et al., 2005). Schon im Mittelalter wurde *A. galanga* Willd. zum Würzen von Speisen benutzt. Auch in Europa erlangte die Gattung *Alpinia* durch Hildegard von Bingen Bekanntheit, wurde jedoch im Laufe der Zeit wieder vergessen (Germann, 2009). Aus dem Rhizom von *Alpinia*-Gewächsen, das reich an ätherischen Ölen ist, konnten schon viele chemische Verbindungen isoliert werden, die ein breites Wirkungsspektrum zeigen. Es wurden in der Literatur vor allem antibakterielle, antivirale, antifungale und antioxidative Eigenschaften dieser Strukturen beschrieben (Ray et al., 1976; Chopra et al., 1957; Lee et al., 2003). Dagegen wurden etwa insektizide Aktivitäten bisher nur bei wenigen Arten nachgewiesen (Miyazawa et al., 2000; Lü et al., 2009).

Die Inhaltsstoffe von *Alpinia*-Arten sind strukturell äußerst vielfältig und zumeist Derivate des Phenylpropanstoffwechsels oder entstammen der Terpenoidbiosynthese. So wurden mehrere Phenylpropanoide, Flavonoide, Curcuminoide und Terpenoide (Mono-, Di- und Sesquiterpene) aus unterschiedlichen Organen isoliert (Pancharoen et al., 2000). Ngo et al. (1998) konnte außerdem aus dem Rhizom und aus den Blättern von *A. katsumadai* HAYATA Labdan-Diterpene und Stilbene isolieren. Das unterschiedliche Vorkommen der hier genannten Derivate innerhalb der taxonomisch umstrittenen Gattung *Alpinia* erweist sich bei den untersuchten Sippen als chemosystematisch bedeutsam (Gilli, in Vorb.)

Bisher wurden bereits einige Arten in Hinblick auf die Bioaktivität ihrer Sekundärstoffe analysiert (Raninger, 2009). Im Rahmen weiterführender Untersuchungen sollte nun versucht werden, Pflanzenextrakte ausgewählter Arten der Gattung *Alpinia* phytochemisch zu charakterisieren, in Hinblick auf ihr bioaktives Wirkungsspektrum zu testen und die Ergebnisse mit den bisher bekannten Befunden zu vergleichen. Dabei sollten vor allem auch Aspekte der organspezifischen Akkumulation berücksichtigt werden. Biotische Interaktionen mit Pilzen und Insekten werden auf Basis der Ergebnisse kurz diskutiert.

2. Systematik und Morphologie

2.1. Die Ordnung Zingiberales

Die Zingiberales werden gemeinsam mit den Arecales, Poales und Commelinales zu den Commeliniden zusammengefasst. Die Ordnung umfasst acht Familien (Abb. 1). Diese können, basierend auf der Anzahl der fertilen pollentragenden Stamina, morphologisch in zwei Gruppen eingeteilt werden. Demnach besitzen Musaceae, Strelitziaceae, Lowiaceae und Heliconiaceae – mit Ausnahme von zwei Gattungen - fünf fertile Stamina. Die restlichen vier Familien sind entweder durch ein fertiles Staubblatt mit zwei Theken (Zingiberaceae, Costaceae), oder durch ein Staubblatt mit nur einer Theka (Cannaceae, Marantaceae), gekennzeichnet. Die geographische Verbreitung der Zingiberales erstreckt sich von den feuchten Tropen Asiens, Afrikas und Amerikas bis zu den Subtropen und den temperaten Zonen. Die Familie der Musaceae ist im tropischen Asien und Afrika vertreten. Fossilfunde deuten auch auf ein Vorkommen in Nordamerika und Europa im Tertiär hin (Manchester, 1993). Strelitziaceae kommen in Madagaskar, Südafrika und dem Amazonasbecken vor, während die Lowiaceae ihr natürliches Vorkommen nur in Südostasien haben. Die größte Familie der basalen Gruppe, die Heliconiaceae, ist vor allem in den Neotropen beheimatet. Zingiberaceae, Costaceae, und Marantaceae sind weltweit in den tropischen Regionen zu finden, die Cannaceae haben jedoch ihren Schwerpunkt in den Neotropen.

2.2. Die Familie Zingiberaceae

Die Zingiberaceae ist mit 53 Gattungen und über 1.200 Arten die größte Familie der Zingiberales. Sie zeichnet sich durch krautige Pflanzen mit fleischig verdickten Rhizomen aus. Die Blätter besitzen eine Blattscheide mit Ligula sowie eine große lanzettliche bis eiförmige Spreite. Die Sprossachse ist meist kurz und gestaucht, wobei die Blattscheiden oft einen Scheinstengel ausbilden. Die meist zygomorphen Blüten der Zingiberaceae sind zwittrig und in Sepalen und Petalen gegliedert. Sie besitzen ein fertiles Staubblatt mit bis zu drei Staminodien. Der Fruchtknoten, der viele Samenanlagen aufweist, ist unterständig und meist dreifächrig. Die Samen der Zingiberaceae sind von einem Arillus umgeben, die Früchte werden als Kapseln bezeichnet. Aufgrund molekularsystematischer Analysen von Kress et al. (2002) wird die Familie in vier Unterfamilien und sechs Triben gegliedert (Abb. 2).

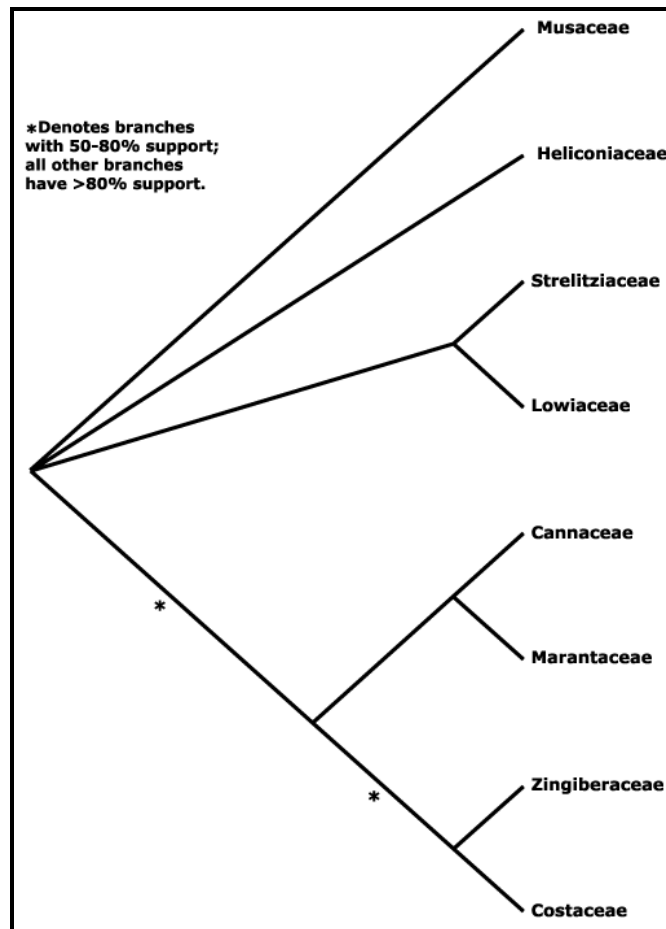


Abb. 1: Cladogramm der Familien der Zingiberales, nach Stevens (2009).

Viele Vertreter der Familie der Zingiberaceae werden als Medizinal- und Gewürzpflanzen genutzt und zeigen auch eine dementsprechende chemische Stoffausstattung. Die Stoffe der Zingiberaceae lassen sich nach Hegnauer (1963) in ätherische Öle, in nicht flüchtige Stoffe, sowie in polyphenolische Verbindungen gliedern. Ätherische Öle werden in Idioblasten gespeichert und kommen je nach Sippe gehäuft in Rhizomen, Stengeln, Blättern oder Samenschalen vor. Die Öle der einzelnen Organe einer Pflanze unterscheiden sich nicht wesentlich. Terpenkohlenwasserstoffe wie Camphen oder Pinen, sauerstoffhaltige Terpene wie Campher, Cineol oder Borneol, Sesquiterpenkohlenwasserstoffe wie Zingiberen oder Curcumen und sauerstoffhaltige Sesquiterpene wie Zingiberol oder Nerolidol, bilden größere Bestandteile der Öle. Nicht flüchtige Stoffe können in Idioblasten als Harze vorliegen. Hierzu zählen auch die Scharfstoffe, wobei vor allem Gingerole, Shogaole, Curcumine und Zingerone typische Bestandteile sind. An polyphenolischen Verbindungen sind Kaffeesäuren, Leucoanthocyane und Flavonole sehr verbreitet (Pancharoen et al., 2000). Eine Untersuchung von El-Ghorab et al. (2010) an *Zingiber officinale* ROSCOE und *Cuminum cyminum* L. zeigte außerdem die starke antioxidative Wirkung polyphenolischer Verbindungen.

Unterfamilie	Sipphonochiloideae	Tamijioideae	Alpinioideae		Zingiberoideae	
Tribus	Sipphonochileae	Tamijieae	Alpinieae	Riedelieae	Zingibereae	Globbeae
Gattung	<i>Sipphonochilus</i>	<i>Tamijia</i>	<i>Aframomum</i> <i>Alpinia</i> <i>Amomum</i> <i>Aulotandra</i> <i>Cyphostigma</i> <i>Elettaria</i> <i>Elettariopsis</i> <i>Etlingera</i> <i>Geocharis</i> <i>Geostachys</i> <i>Hornstedtia</i> <i>Leptosolena</i> <i>Paramomum</i> <i>Plagiostachys</i> <i>Renealmia</i> <i>Vanoverberghia</i>	<i>Pleuranthodium</i> <i>Burbidgea</i> <i>Riedelia</i> <i>Siamanthus</i>	<i>Boesenbergia</i> <i>Camptandra</i> <i>Cautleya</i> <i>Cornukaempferia</i> <i>Curcuma</i> <i>Curcumorpha</i> <i>Distichochlamys</i> <i>Haniffia</i> <i>Haplochorema</i> <i>Hedychium</i> <i>Hitchenia</i> <i>Kaempferia</i> <i>Laosanthus</i> <i>Nanochilus</i> <i>Paracautleya</i> <i>Parakaempferia</i> <i>Pommereschea</i> <i>Pyrgophyllum</i> <i>Rhynchanthus</i> <i>Roscoea</i> <i>Scaphochlamys</i> <i>Smithatris</i> <i>Stadiochilus</i> <i>Stahlianthus</i> <i>Zingiber</i>	<i>Gagnepainia</i> <i>Globba</i> <i>Hemiorchis</i> <i>Mantisia</i>

Abb. 2: Unterfamilien und Triben der Zingiberaceae, verändert nach Kress et al. (2002).

2.3. Die Gattung *Alpinia* ROXB.

Alpinia Roxb. ist mit über 230 Arten die größte Gattung der Familie der Zingiberaceae. Der Gattungsname wurde erstmals von Linnaeus (1753) eingeführt, als er die neotropische *A. racemosa* L. beschrieb. Anschließend wurden die meisten asiatischen Arten der Gattung *Alpinia* und amerikanischen Arten der Gattung *Renealmia* L. zugeschrieben. Erst Schumann (1904) vereinte alle asiatischen *Alpinia*-Arten unter der Bezeichnung *Alpinia* ROXB. mit *A. galanga* Willd. als Typusart. Die Gattung *Alpinia* gliedert sich, basierend auf einer Gensequenzanalyse von Kress et al. (2007) in sechs monophyletische Gruppen („clades“) (Abb. 4):

Die *Alpinia galanga* Gruppe umfasst vier monophyletische Arten. Besonders charakteristisch für diese Gruppe sind die verzweigten Infloreszenzen mit kleinen Blüten, die offenen Brakteen, ein zipfeliges Labellum und die dünnwandigen Früchte (Abb. 3). Verbreitet sind die Vertreter der Gruppe vor allem im kontinentalen Asien.

Die *Alpinia fax* BURTT & R.M.SM. Gruppe setzt sich aus drei monophyletischen Arten zusammen und ist die Schwesterngruppe von jener, die *Renealmia* und *Aframomum* SCHUM. beinhaltet. Bezeichnend für die Vertreter dieser Art ist die kopfförmige Infloreszenz, die von einem langen und blattlosen Blütenstiel getragen wird. Dieser besitzt außerdem auffällige sterile Tragblätter. Das Vorkommen dieser Gruppe beschränkt sich auf Sri Lanka und Südindien.

Die *Alpinia eubractea* SCHUM. Gruppe ist morphologisch schwierig zu beschreiben, da keine guten Merkmale vorliegen. Sie beinhaltet Taxa die früher in die Gattungen *Alpinia*, *Leptosolena* C.PRESL und *Vanoverberghia* MERR. gestellt wurden. Arten dieser Gruppe findet man vorwiegend im pazifischen Ozean, sowie in Ozeanien, in Australien und auf den Philippinen.

Die *Alpinia carolinensis* KOIDZ. Gruppe zeichnet sich durch Pflanzen mit großer Wuchshöhe aus. Sie besitzen ein früh abfallendes Infloreszenz-Tragblatt und ein fleischiges Labellum, das an das Staubblatt gepresst ist. Verbreitet ist diese Gruppe auf der Insel Sulawesi und im östlichen pazifischen Ozean.

Die *Alpinia zerumbet* BURTT & R.M.SM. Gruppe umfasst die meisten Arten der Gattung *Alpinia*. Außerdem ist diese Gruppe in noch vier weitere Untergruppen unterteilt : Die *A. aquatica* ROSCOE Untergruppe, die *A. nutans* ROSCOE Untergruppe, die *A. calcarata* ROSCOE Untergruppe und die *A. plagiostachys* Untergruppe. Das Fehlen von Tragblättern bei Infloreszenzen und das Vorhandensein von Wickel mit zwei bis drei Blüten kennzeichnet die meisten Arten dieser Gruppe. Weit verbreitet sind die Vertreter im tropischen Asien.

Die *Alpinia rafflesiana* WALL. Gruppe umfasst zwei Arten, die wegen ihrem breit gespreizten Labellum und / oder der hängenden Infloreszenz charakteristisch sind. Als Schwesterngruppe zu *Silivamomum* BAILL. findet man sie auf Malaysia und Südthailand.

Alpinia-Arten haben auch ein breites Spektrum ökologischer Anpassung. Sie wachsen in niederen bis mittelhohen Wäldern. Entlang von Waldrändern und unter Lücken im Blätterdach können sie Wuchshöhen von acht Metern erreichen (Wu, 2000). Manche Arten, wie zum Beispiel *Alpinia nigra* (GAERTN.) B.L.BURTT, sind in Feuchtgebieten und an Gewässern dominant vertreten, während andere in Bergwälder auf 2.000 Höhenmetern wachsen. Da *Alpinia*-Arten nicht sehr frostresistent sind, erstreckt sich ihr nördlichstes Vorkommen in den Nordosten von Honshū, der für Winterperioden unter 2°C bekannt ist (Kress et al., 2005).

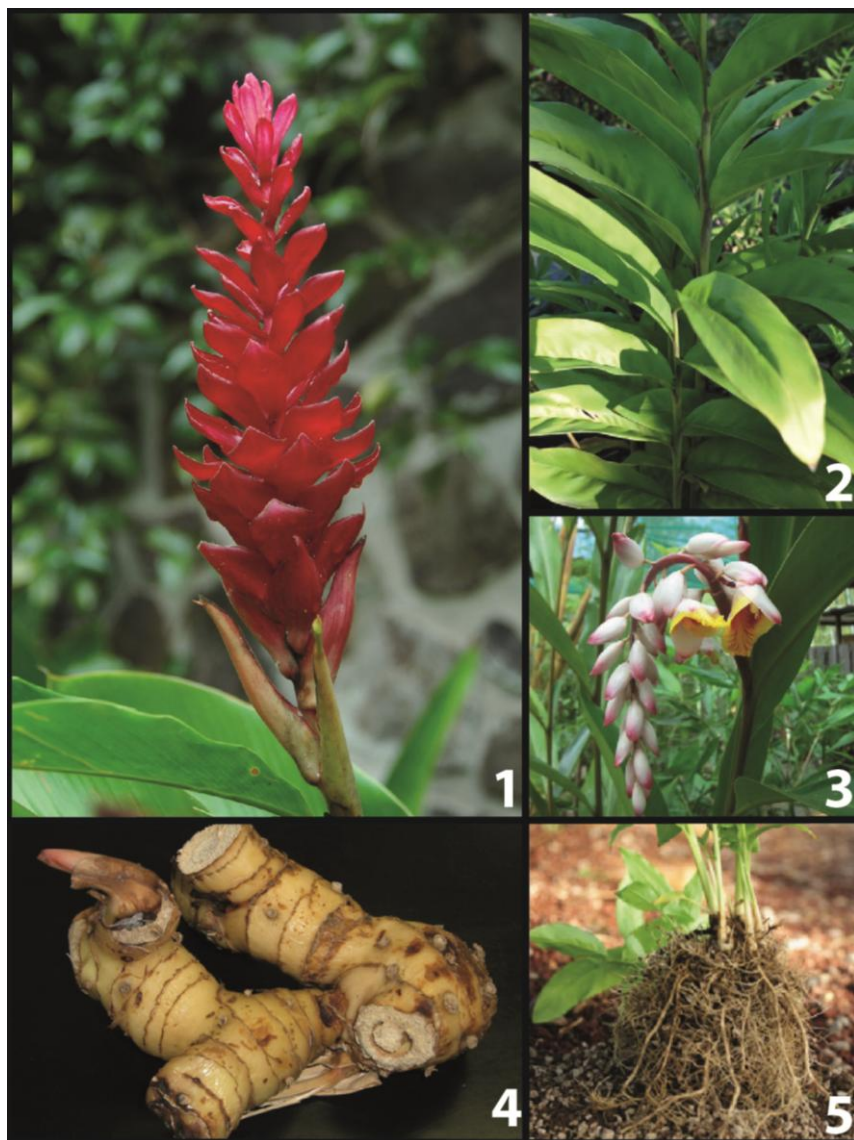


Abb. 3: Unterschiedliche Organe der Gattung *Alpinia*. **1:** Blütenstand von *A. purpurata* SCHUM.; **2:** Blätter von *A. galanga*; **3:** Blütenstand von *A. nutans*; **4:** Rhizom von *A. galanga*; **5:** Wurzeln von *A. galanga*

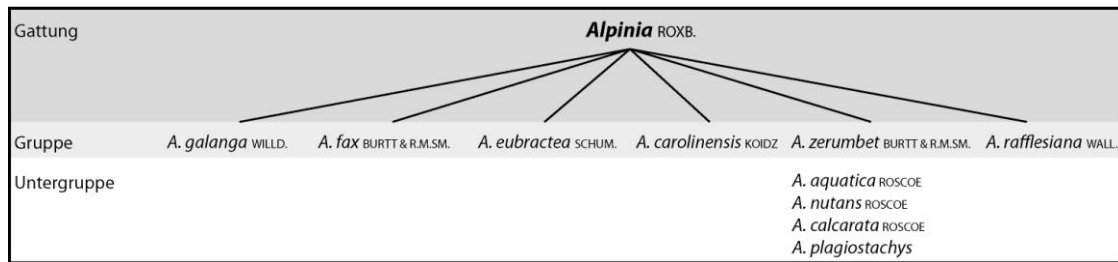


Abb. 4: Übersicht der Gruppen und Untergruppen der Gattung *Alpinia*, verändert nach Kress et al. (2007).

2.4. Testorganismus *Spodoptera littoralis* BOISDUVAL

2.4.1. Die Ordnung Lepidoptera

Die Ordnung der Lepidoptera umfasst mehr als 180.000 Arten in 128 Familien und 47 Überfamilien (Mallet, 2007) und ist weltweit verbreitet. Die ökologische Relevanz von Vertretern dieser Ordnung liegt darin, dass sie einerseits phytophag und andererseits in all ihren Entwicklungsstadien Beute von Insektenfressern und Parasiten sind.

2.4.2. Die Familie Noctuidae

Die Familie der Noctuidae ist mit über 25.000 beschriebenen Arten die größte innerhalb der Lepidoptera (Wagner, 2001). Verbreitet ist sie weltweit, vor allem in den Tropen. Die Noctuidae gliedern sich nach Lafontaine et al. (2006) in 48 Unterfamilien. Die Larven dieser Familie besitzen eine zylindrische Form und haben gewöhnlich gut ausgebildete Abdominalbeine mit Hakenkränzen. Sie sind überwiegend phytophag, manchmal carnivor und selten koprophag. Einige Arten sitzen auf Blättern, die sie fressen, andere bohren sich in Früchte, Stengel und Wurzeln. Vereinzelt Arten besitzen verkürzte Abdominalbeine und können somit Blätter und Stengel zerschneiden.

2.4.3. Die Gattung *Spodoptera* GUENÉE

Der in den Bioassays verwendete Testorganismus *Spodoptera littoralis* (Abb. 5) ist ein Vertreter der Unterfamilie Xyleninae, die sich nach Fibiger et al. (2007) in acht Triben gliedert. Der Tribus Prodeniini mit seiner einzigen Gattung *Spodoptera*, beinhaltet sehr viele Schädlinge, die in den warmen Teilen aller zoografischen Regionen beheimatet sind. Verbreitet ist *S. littoralis* im tropischen und subtropischen Afrika, im mediterranen

Becken, sowie in Israel, Libanon, Syrien, Irak, Iran, Turkmenistan, der Türkei und der arabischen Halbinsel. Die Art ist im Flachland sehr häufig und auf mittlerer Höhenstufe seltener anzutreffen.

S. littoralis ist im Nahen Osten am häufigsten im Mai und Oktober zu beobachten (Kravchenko et al., 2008). Der Falter entwickelt sich im Sommer auf Baumwolle und produziert pro Monat eine Generation. Ein Lebenszyklus von *S. littoralis* dauert ein bis vier Monate, und somit können sich bis zu sieben Generationen der Insekten im Jahr entwickeln. Das Leben der Tiere umfasst sechs Larvalstadien, danach beginnt die Metamorphose. Die Tiere verlieren an Gewicht und werden zu Vorpuppen. Aus ihnen schlüpft in wenigen Tagen die Puppe, aus der sich nach einwöchiger Puppenruhe der nachtaktive, kurzlebige Falter entwickelt. Die Larven und Falter sind extrem polyphag und ein ernstzunehmender Schädling für die Landwirtschaft. Sie fressen sowohl an Zierpflanzen, als auch an Kulturpflanzen wie etwa *Solanum lycopersicum* L. oder *Gossypium* L., sowie an Blättern von *Populus sp.* L. und *Ulmus sp.* L. (Kravchenko et al., 2008). Die Larve ist nachtaktiv und versteckt sich während der Tageszeit am Boden.

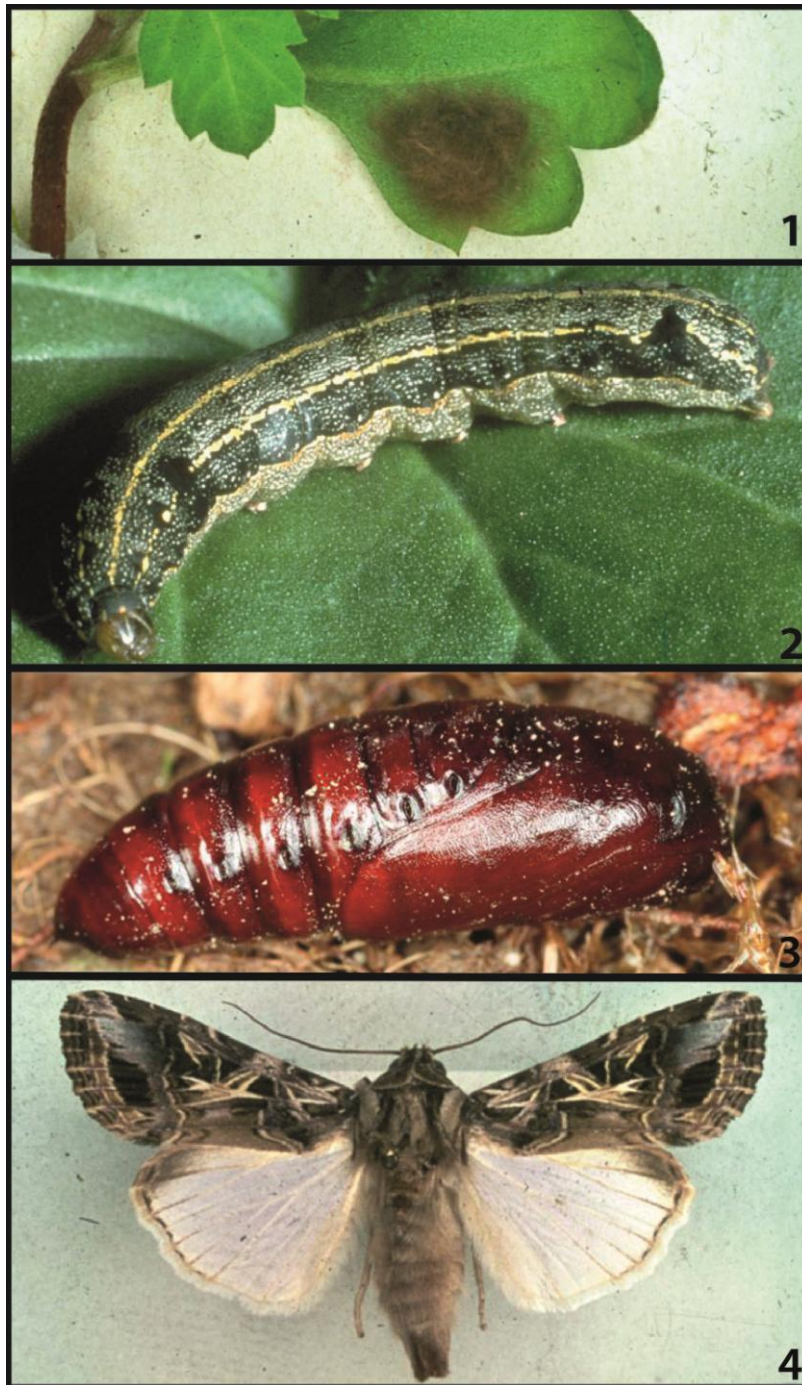


Abb. 5: Unterschiedliche Entwicklungsstadien von *S. littoralis* 1: Eihaufen auf Blatt; 2: Larve; 3: Puppe; 4: Adulttier

2.5. Testorganismus *Cladosporium sphaerospermum* PENZ. (Davidiellaceae-Capnodiales)

2.5.1. Die Ordnung Capnodiales

Morphologisch charakteristisch ist für diese Ordnung die Bildung von Asci bei der sexuellen Fortpflanzung. Der Fruchtkormtyp wird als Pseudothecium bezeichnet und ist braun bis schwarz gefärbt. Die Hyphen sind ebenfalls braun bis schwarz pigmentiert und ihre Querwände von einem einfachen Porus durchbrochen. Da Vertreter dieser Ordnung auch in Felswänden der Antarktis und dem mediterranem Becken gefunden wurden (Gueidan, 2008), kann angenommen werden, dass die Ordnung weltweit verbreitet ist.

2.5.2. Die Gattung *Cladosporium* LINK

Cladosporium mit seinem Arttyp *C. herbarum* LINK ist die Nebenfruchtform der Gattung *Davidiella* c. L.. Mit mehr als 772 Arten ist sie einer der größten Gattungen der Hyphenpilze (Dugan et al., 2004).

Cladosporium beinhaltet sowohl saprophile, für Menschen oder Pflanzen pathogene, sowie endophytische Arten. Die saprophile Art *C. sphaerospermum* tritt vor allem auf alternden Blättern oder toten Stämmen von Pflanzen auf. Außerdem kann sie leicht von Erde, Luft, Textilien, sowie anderem organischen Material isoliert werden (Schubert et al., 2007). Manche Vertreter diese Gattung können auch allergische Reaktionen hervorrufen, wie zum Beispiel *C. herbarum*, der in Labors Lungenmykose auslösen kann (Hoog et al., 2000).

Die Konidiophore von *Cladosporium* sind aufrecht und leicht differenziert. Zur Bestimmung unterschiedlicher Arten ist die Länge des Konidiophors ausschlaggebend. Speziell *C. sphaerospermum* ist morphologisch an seinen kugelförmigen, warzigen Konidien zu erkennen (Zalar et al., 2007). Beschrieben wurde dieser Art von Penzig (1882), der sie auf den Blättern und Zweigen von *Citrus* sp. L. fand.

Verbreitet ist *C. sphaerospermum* in stark salzhaltigem Wasser sowohl in mediterranen, als auch in tropischen Arealen. Außerdem ist die Art auch auf Pflanzen der temperaten Zone, Menschen und in der Luft zu finden. Die weite Verbreitung zeigt, dass *C. sphaerospermum* keine speziellen Lebensraumpräferenzen besitzt.

3. Interaktionen zwischen Pflanzen und Tieren

Tiere sind heterotrophe, mobile Lebewesen, die sich herbivor, omnivor oder karnivor ernähren können. Pflanzen hingegen sind photoautotroph und sessil. Dennoch zeigt ein noch immer von Grünpflanzen dominiertes Landschaftsbild, dass Pflanzen nicht vollkommen wehrlos gegenüber ihren Fraßfeinden sind. Nach Befall durch Herbivore hat die Pflanze mit unterschiedlichen Konsequenzen zu kämpfen. Eine Reduktion der Blattfläche führt zu einer schwächeren Photosyntheseleistung, was das Wachstum und die Reproduktion hemmt. Außerdem begünstigen die Wunden an den Organen der Pflanze weitere Infektion, weshalb die Pflanze durch diese Faktoren höherem Konkurrenzdruck ausgesetzt ist (Spotswood et al., 2002).

Es gibt vier grundsätzliche Strategien, um den Schaden an Pflanzen durch Herbivore zu reduzieren (Painter, 1951; Atsatt et al., 1976):

1. Die Pflanze bildet eine Assoziation mit anderen Arten, die abweisend auf Herbivore wirken,
2. sie verbreitet sich in Areale, die durch abiotische Faktoren ungünstig für ihre Fraßfeinde sind,
3. sie toleriert Fraßschäden und kompensiert gefressene Samen durch Bildung von weiteren, oder
4. die Pflanze konfrontiert die Herbivoren mit morphologischen oder chemischen Abwehrmechanismen.

3.1. Abwehrstrategien der Pflanzen

Die Abwehr der Pflanze gegenüber Fraßfeinden kann entweder konstitutiv oder induziert erfolgen (Agrawal, 1999). Konstitutive Mechanismen sind bereits im Bauplan der Pflanze beinhaltet und können sowohl morphologischer als auch chemischer Natur sein. Morphologische Abwehrmechanismen wären etwa die Bildung einer starken Epidermis mit dicker Kutikula (Kearsley et al., 1989), oder die Bildung von Dornen, Stacheln oder stechenden Härchen (Gowda et al., 2003; Traw et al., 2008). Eine andere Möglichkeit liegt in der chemischen Abwehr. Die Pflanze produziert abwehrende Substanzen, die meist über den Sekundärstoffwechsel aufgebaut werden. Diese können bitter schmecken, toxisch sein, oder die Eiablage und Verdauung von Fraßfeinden hemmen (Elger et al., 2009; Goodger et al., 2006). Induzierte Mechanismen sind Abwehrreaktionen, die erst nach dem Befall aktiviert werden. Hierzu können erhöhter Blattabwurf, die Umverteilung von Ressourcen zwischen den Organen, die Akkumulation von Sekundärstoffen oder die Sekretion von Duftstoffen zählen. Solche Duftstoffe

bewirken ein Anlocken von Tieren, wie zum Beispiel Ameisen oder Parasitoiden, die die Pflanze gegenüber ihrem Fraßfeind quasi verteidigen (Ness, et al., 2009).

3.2. Die Rolle von Giften zur Abwehr von herbivoren Insekten

Toxine werden von Pflanzen oft als abwehrende Substanzen eingesetzt. Die Fraßfeinde werden dann, noch bevor sie zu fressen beginnen, durch ein visuelles oder olfaktorisches Warnsignal auf die Anwesenheit dieser Gifte aufmerksam gemacht. Als Beispiel können Senföle angeführt werden. Sie liegen bei vielen Brassicaceae in gebundener Form vor, wobei sie erst in freier Form für Insekten toxisch sind. Der scharfe Geruch warnt jedoch den Fraßfeind, noch bevor es zu einem starken Befall kommt. Auch drüsige Haare an *Primula obconica* HANCE, die ein toxisches Chinon absondern, können als visuelles Warnsignal dienen (Woodhead et al., 1986).

Nach Harborne (1988) lassen sich Pflanzentoxine in zwei Klassen einteilen: Stickstoffhaltige Toxine und nicht-stickstoffhaltige Toxine. Die einfachsten Strukturen stickstoffhaltiger Toxine sind nicht-proteinogene Aminosäuren. Sie kommen sehr häufig in Pflanzen vor und sind äußerst effektiv, da sie zu nicht funktionierenden Proteinen umgebaut werden. Das Toxin Azetidin-2-carbonsäure kann beispielsweise im Organismus fälschlicherweise in die Proteinsynthese eingebaut werden, was zu einer unnatürlichen Enzymproduktion und folgendessen zum Tod des Organismus führt. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Klassen der stickstoffhaltigen Toxine.

Tab. 1: Übersicht der wichtigsten stickstoffhaltigen Toxinklassen, nach Harborne (1988).

Klasse	Beispiel	Giftig für
Nicht-proteinogene Aminosäuren	L-Dihydroxyphenylalanin	Insekten
Cyanogene Glykoside	Linamarin	allgemein toxisch
Glucosinolate	Sinigrin	Säugetiere, Insekten
Alkaloide	Atropin	Säugetiere
Peptide	Viscotoxin	allgemein toxisch, außer für Vögel
Proteine	Abrin	allgemein toxisch

Toxine müssen nicht immer Stickstoff enthalten, um für Insekten giftig zu sein. Viele nicht-stickstoffhaltige Toxine sind aus einfachen Kohlenwasserstoffen aufgebaut. Eine der einfachsten Verbindungen nicht-stickstoffhaltiger Toxine ist Fluoressigsäure, welche in der südafrikanischen Pflanze *Dichapetalum cymosum* ENGL. vorkommt. Diese Substanz stoppt bei Säugetieren die Atmung, indem sie den Citratzyklus hemmt. Fluoressigsäure

wird in den Zyklus anstelle von Essigsäure aufgenommen, wird zu Fluorcitronensäure metabolisiert und das Enzym Aconitase interagiert mit Fluorcitronensäure anstatt mit Citronensäure. Dies führt zum Stillstand des Citratzyklus. Tabelle 2 veranschaulicht die unterschiedlichen Klassen nicht-stickstoffhaltiger Toxine in Pflanzen.

Tab. 2: Übersicht der wichtigsten nicht-stickstoffhaltigen Toxinklassen, nach Harborne (1988).

Klasse	Beispiel	Giftig für
Iridoide	Aucubin	Insekten, Vögel
Sesquiterpenlactone	Hymenovin	Insekten
Herzglycoside	Ouabain	allgemein toxisch
Saponine	Medigacosäuren	Fische, Insekten
Furanocumarine	Xanthotoxine	Insekten
Isoflavonoide	Rotenone	Fische, Insekten
Chinone	Hypericin	Säugetiere
Polyethine	Oenanthe-toxin	Säugetiere

3.3. Resistenz der chemischen Abwehr von Pflanzen durch Insekten

Im natürlichen Umfeld sind Insekten nicht nur mit pflanzlicher Abwehr, sondern auch mit selektivem Druck der Konkurrenten, Räuber und Parasitoiden konfrontiert. Die Resistenz gegenüber pflanzlichen Abwehrstoffen variiert und hängt mit der geographischen Verbreitung des pflanzlichen Phenotyps, der Spezifität der Pflanzen-Insekten Assoziation und der lokalen Zusammensetzung der Pflanzengesellschaft zusammen. Nach Després et al. (2007) können Insekten mit folgenden Mechanismen die chemische Abwehr von Pflanzen umgehen: Kontakt und Vermeidung der Nahrungsaufnahme, Exkretion, Sequestrierung, Abbau des Giftes und Mutationen am Zielort der allelochemischen Substanz.

3.3.1. Vermeidung der Nahrungsaufnahme

Vermeidungsmechanismen können entweder genetisch festgelegt, oder durch Lernprozesse entstanden sein. Ein Vermeiden der Pflanze ist dann für Insekten möglich, wenn visuell oder olfaktorisch erkennbar ist, ob die Pflanze Giftstoffe enthält.

3.3.2. Exkretion und Sequestrierung

Viele gifte Pflanzeninhaltsstoffe können von Insekten ausgeschieden oder bei der Häutung mit der Exuvie „abgeworfen“ werden. Auch durch Sequestrierung können

Toxine von Insekten verwertet werden. Sie werden als Verteidigungssubstanz gegenüber Räubern eingesetzt, dienen als UV-Schutz, oder werden zu Pigmenten oder Pheromonen umgebaut (Ode, 2006; Nishida, 2002; Carroll et al., 1997).

3.3.3. Abbau des Giftes

Der Abbau von Toxin wird hauptsächlich mit Hilfe von Enzymen bewerkstelligt. Nach Després et al. (2007) werden vier Familien an Entgiftungsenzymen unterschieden: Die Cytochrom-P450-Monooxygenase (P450), die Glutathion-S-Transferase (GST), die Carboxylesterase (COE) und die UDP-Glycosyltransferase (UGT). P450 sind membrangebundene Proteine die entweder im Endoplasmatischen Retikulum oder in den Mitochondrien von Insekten vorkommen. Sie katalysieren die Übertragung von einem Sauerstoffatom eines Sauerstoffmoleküls zum organischen Substrat (RH), wodurch das andere Sauerstoffatom zu Wasser reduziert wird: $RH + O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow ROH + H_2O$. Die toxische Wirkung des Substrats wird dadurch verringert oder ausgeschaltet und das Insekt kann die Substanz leichter ausscheiden. GST-Enzyme katalysieren die Konjugation von Glutathion zu elektrophilen toxischen Molekülen. Die Löslichkeit der Substanz wird erhöht, was eine einfachere Ausscheidung der Toxine durch die Insekten ermöglicht. Über die letzten zwei Enzymfamilien ist in Bezug auf Entgiftung bei Insekten noch wenig bekannt. Carboxylesterasen sind Enzyme, die Esterverbindungen von unterschiedlichen Substraten hydrolysieren können, UGT Enzyme katalysieren den Transfer von einer Glycosylgruppe von UDP-Glucose zu unterschiedlichen Akzeptormolekülen (Després et al., 2007).

3.3.4. Mutation am Zielort der Substanz

Holzinger et al. (1996) beobachten, dass einige Insekten unempfindlich gegenüber dem toxischen Ouabain sind. Dieses Herzglykosid hemmt die Na^+ , K^+ -ATPase, indem es an die α -Untereinheit bindet. Ouabain-empfindliche Insekten besitzen Asparagin an der Toxin-Bindungsstelle. Bei jenen Insekten die resistent sind, konnte jedoch, anstelle von Asparagin, Histidin nachgewiesen werden. Das Toxin kann somit am Zielort nicht aktiviert werden und ist folgedessen nicht wirksam.

4. Stoffklassen

4.1. Curcuminoiden

Curcuminoiden sind aufgrund ihrer konjugierten Doppelbindungen orange-gelbliche Pigmente, die primär aus drei phenolischen Verbindungen zusammengesetzt sind: Curcumin, Demethoxycurcumin und Bisdemethoxycurcumin, wobei meist Curcumin den mengenmäßig größten Anteil bildet. Die in der Grundstruktur enthaltene Diketofunktion führt bei Curcuminoiden zu einer Keto-Enol Tautomerie, wobei in Lösung ausschließlich die Enolform auftritt (Abb. 6; Hoehle et al., 2006).

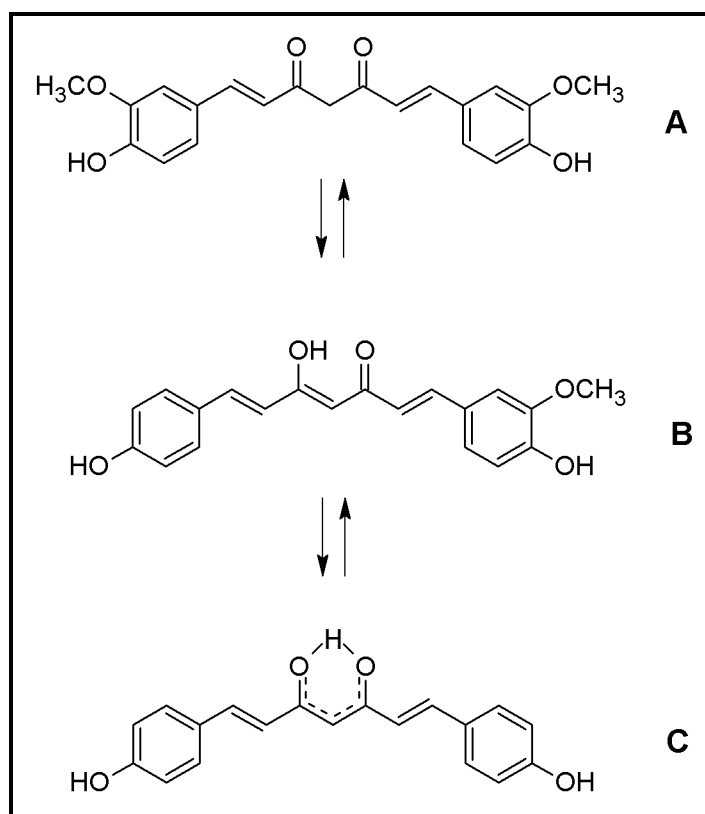


Abb. 6: Keto-Enol Tautomerie der curcuminoiden Verbindung.
A: Curcumin; **B:** Demethoxycurcumin; **C:** Bisdemethoxycurcumin. Verändert nach Hoehle et al. (2006).

Die Biosynthese der Curcumine geht von der Aminosäure Phenylalanin aus. Durch das Enzym Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL) erfolgt der Umbau zu Zimtsäure. Anschließend wird durch das Enzym Malonyl-CoA, unter Beteiligung einer zweiten Zimtsäure, Bisdeshydroxybisdesmethoxycurcumin (BDHDMC) gebildet. Durch Hydroxylierung entsteht Bisdesmethoxycurcumin (BDMC) und nach anschließender Anlagerung einer Methoxygruppe an einem der beiden Benzolringe, Desmethoxycurcumin (DMC). Nach einer zweiten Methoxylierung am anderen Benzolring entsteht das Endprodukt Curcumin. Ein weiterer, etwas seltenerer Biosyntheseweg verläuft ebenfalls über die Zimtsäure, die am Ring hydroxyliert wird. Es entsteht *p*-Cumarsäure. Durch die anschließende Substituierung einer Methoxygruppe am Benzolring bildet sich Ferulasäure und unter Beteiligung von Malonyl-CoA, sowie einer weiteren Ferulasäure, entsteht Curcumin (Kita et al., 2008). Weitere, weniger häufige Biosynthesewege, zeigen in Abbildung 7 die gepunkteten Pfeile.

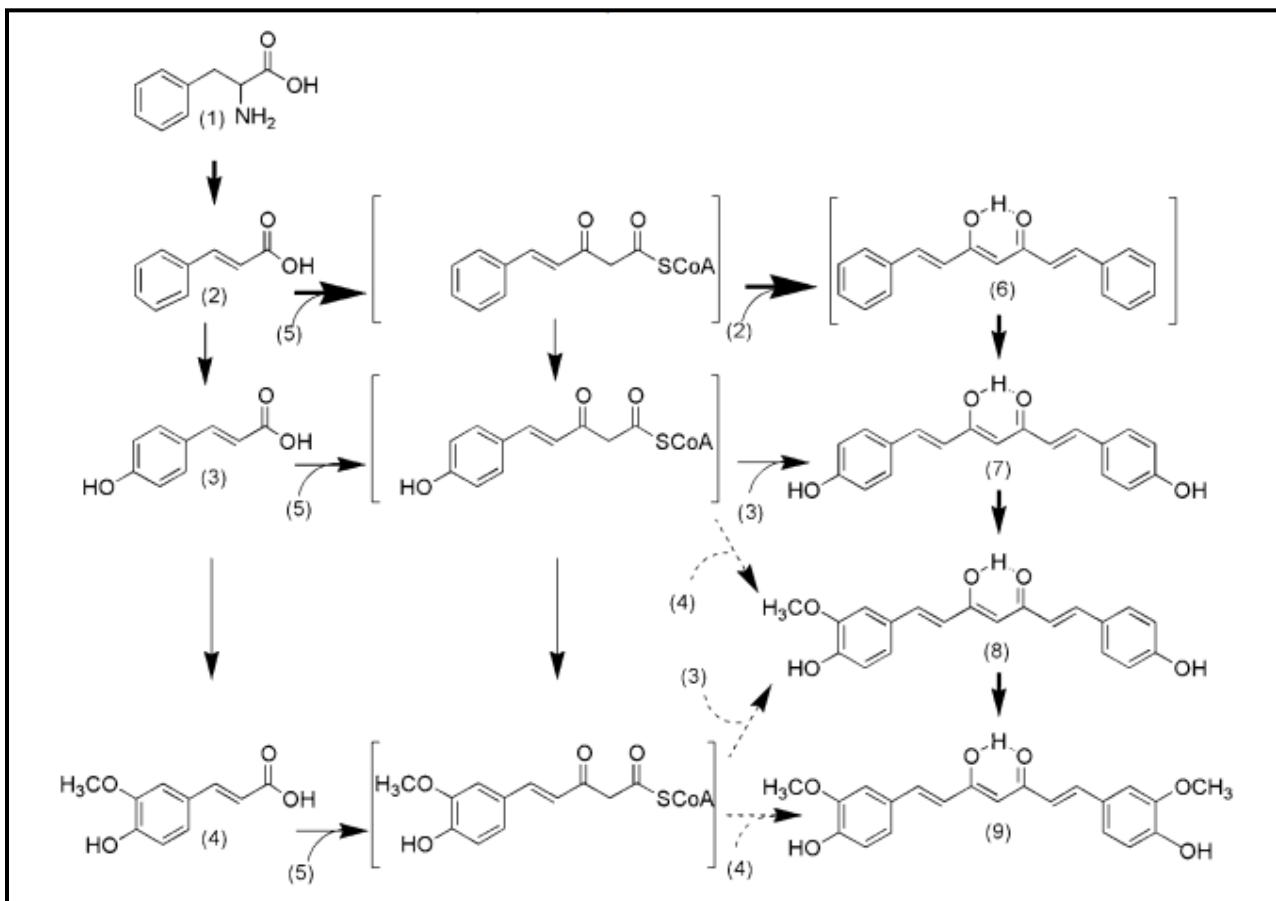


Abb. 7: Biosyntheseweg von Curcuminoiden. 1: Phenylalanin, 2: Zimtsäure, 3: *p*-Cumarsäure, 4: Ferulasäure, 5: Malonsäure, 6: Bisdeshydroxybisdesmethoxycurcumin (BDHDMC), 7: Bisdesmethoxycurcumin (BDMC), 8: Desmethoxycurcumin, 9: Curcumin. Dicke Pfeile zeigen häufige Biosynthesewege, dünne und gepunktete Pfeile weisen auf deutlich seltenere Wege hin. Nach Kita et al. (2008).

Curcumin, die aktivste und mengenmäßig größte Substanz im Rhizom von *Curcuma longa* L., zeigt viele positive Effekte im medizinischen Bereich. Es wirkt antioxidativ, entzündungshemmend, antimikrobiell und antikarzinogen (Kunnumakkara et al., 2008; Hatcher et al., 2008). Versuche an Tieren mit Herzerkrankungen zeigten auch die kardioprotektive Wirkung von Curcumin. Dies liegt einerseits an den antioxidativen und entzündungshemmenden Eigenschaften, andererseits an der regulativen Wirkung von Signaltransduktionskaskaden wie p38, JNK und MAP-Kinasen (Li et al., 2008; Fiorillo et al., 2008).

Chowdhury et al. (2000) haben bei Fraßversuchen beobachtet, dass viele Curcuminderivate starke insektizide Wirkungen bei Nymphen von *Schistocerca gregaria* FORSSKÄL und *Dysdercus koenigii* FABR. zeigen. Bei einer Menge von 20 mg Dibutyl-Curcumin pro Individuum wurde das Wachstum von *S. gregaria* um 60% gehemmt. Bei *D. koenigii* zeigte sich erst bei einer Dosis von 50 mg eine wachstumshemmende Wirkung von 45%. Curcuminoiden besitzen auch fungizide Aktivitäten. So konnte in Biotests mit *Phytophthora infestans* DE BARY, *Puccinia recondita* ROB. und *Rhizoctonia solani* KÜHN die fungizide Wirkung durch Curcumin, mit einer Letalitätsrate von über 65%, nachgewiesen werden (Kim et al., 2003). Nach Hoehle et al. (2006) werden die antioxidativen Eigenschaften von Curcuminen hauptsächlich seinen Metaboliten zugeschrieben. Studien an der Rattenleber haben gezeigt, dass durch fortlaufende Reduktion der vier Doppelbindungen von Curcumin die Metabolite Tetrahydrocurcumin und Hexahydrocurcumin als Hauptbestandteile und Dihydrocurcumin und Octahydrocurcumin nur in geringen Mengen gebildet werden (Abb. 8).

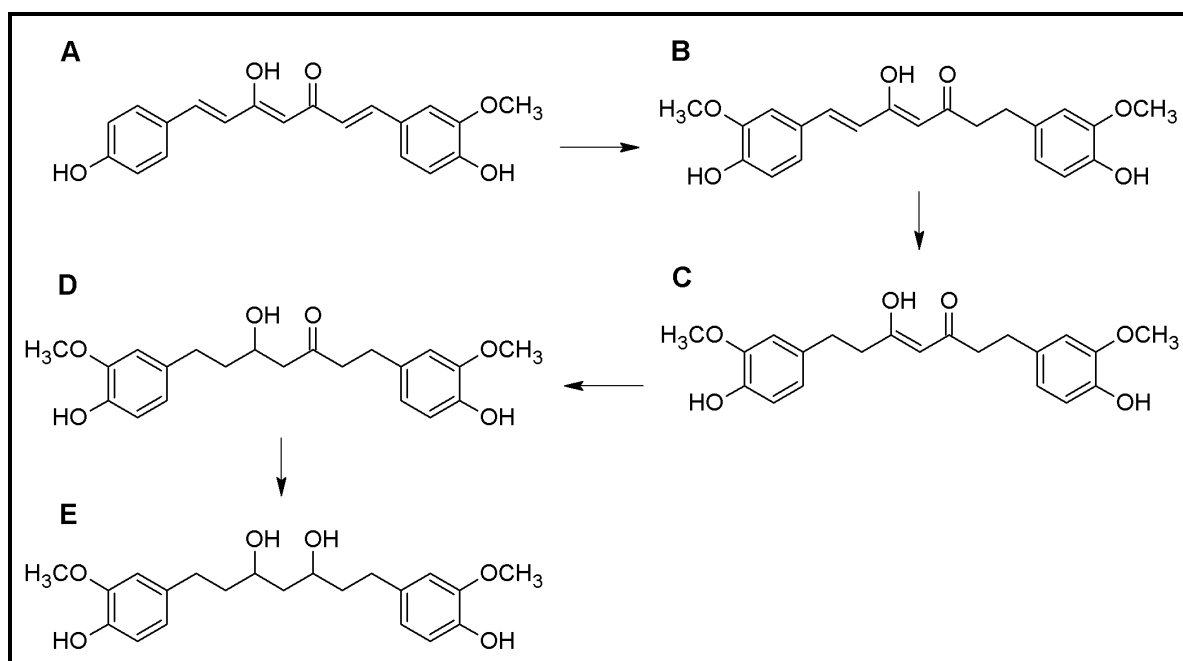


Abb. 8: Curcumin (A) und seine Metabolite Dihydrocurcumin (B), Tetrahydrocurcumin (C), Hexahydrocurcumin (D) und Octahydrocurcumin (E).

4.2. Flavonoide: Chalkonderivate

Chalkonderivate sind einer der häufigsten Verbindungen in Naturstoffen und zeigen eine weite Verbreitung in Früchten, Gemüse, Gewürzen und Tees (Di Carlo et al., 1999). Sie besitzen eine offenkettige Grundstruktur in welcher zwei aromatische Ringe zusammen mit drei α , β -ungesättigten Kohlenstoffen ein Carbonylsystem bilden. Anzumerken ist auch, dass viele natürlich vorkommende Chalkonderivate in den Arylringen sekundär polyhydroxyliert sind (Nowakowska, 2006). Das Chalkon, mit einer 1,3-Diaryl-2-propen-1-on Grundstruktur (Abb. 9), ist das erste Produkt in der der Flavonoidbiosynthese.

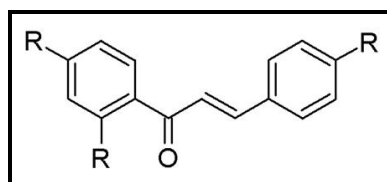


Abb. 9: Grundstruktur eines *trans*-Chalkon

Die Biosynthese von Chalkonen (Abb. 10) startet mit der Aminosäure Phenylalanin. Durch das Enzym Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL) wird, durch Freisetzung von Ammonium, Zimtsäure gebildet. Durch die Anlagerung einer Hydroxygruppe an den Phenylring, die durch das Enzym Zimtsäure-4-Hydroxylase katalysiert wird, entsteht *p*-Cumarsäure. Unter Beteiligung von 4-Cumarsäure-CoA-Ligase entsteht als nächstes Zwischenprodukt *p*-Cumaroyl-CoA. Anschließend erfolgt durch Addition von drei Malonyl-CoA über eine tetraketide Zwischenstufe die Chalkonbildung, die durch das Enzym Chalkonsynthase katalysiert wird (Chong et al., 2009).

Chalkonderivate besitzen aufgrund ihrer enthaltenen Arylgruppe radikalfangende Eigenschaften und zeigen ein breites Wirkungsspektrum. Sie wirken antikarzinogen, (Batovska et al., 2007), antiviral und gegen Lipidämie (Trivedi et al. 2007). Studien haben gezeigt, dass Xanthoangelol, ein komplexes Chalkon, die Apoptose begünstigt und Metastasen zahlreicher Krebsstämme hemmt (Tabata et al., 2005; Kimura et al., 2003). Chalkonderivate besitzen auch wirksame Eigenschaften gegenüber Bakterien. So hemmt Dihydroxychalkon das Wachstum von Bakterien und zeigt in niedriger Konzentration antibakterielle Aktivitäten. Jedoch ist anzumerken, dass weitere Additionen von Hydroxygruppen an den Arylring zu einer Senkung der antibakteriellen Wirkung führen. Auch fungizide Wirkungen konnten beobachtet werden. Vor allem Verbindungen mit angelagerten Hydroxygruppen zeigen die höchste Aktivität. Tests an *Spodoptera littoralis* bestätigten außerdem die insektizide Wirkung von Chalkonderivaten. Verbindungen die

mehrere Methoxygruppen besitzen, zeigen hierbei die stärkste Wirkung (Dimmok et al., 1999).

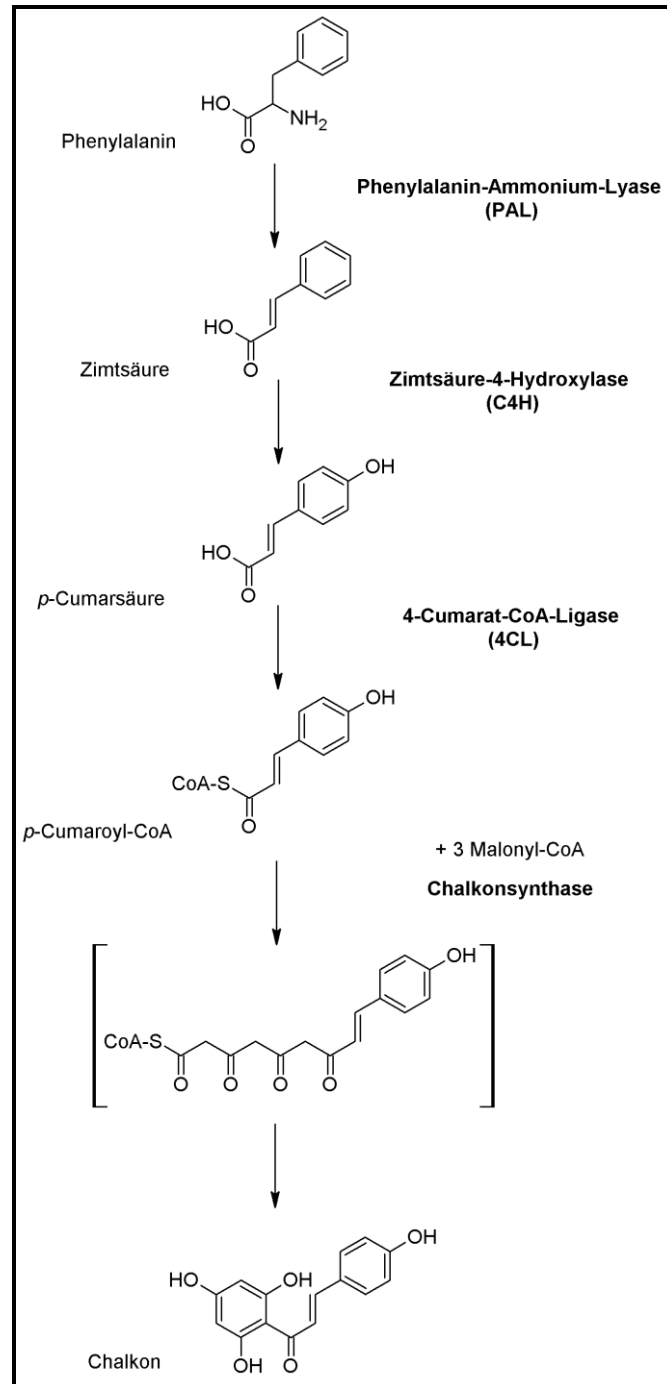


Abb. 10: Biosynthese der Chalkone, verändert nach Chong et al. (2009).

4.3. Einfache Phenylpropanoide

Phenylpropanoide zählen zu der größten Gruppe sekundärer Pflanzenmetabolite. Sie werden meist als Reaktion auf Verletzungen, hoher UV Strahlung oder Ozonbelastung gebildet (Korkina, 2007). Sie bestehen aus einem aromatischen C-6 Ring und einem Propengerüst.

Die Biosynthese von Phenylpropanoiden (Abb. 11) kann über die Aminosäuren Phenylalanin oder Tyrosin erfolgen. Durch die Desaminierung von Phenylalanin, die durch das Enzym Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL) katalysiert wird, entsteht Zimtsäure, die als Ausgangsprodukt für Phenylpropanoide wie Zimtsäurealdehyde dient. Bei Tyrosin erfolgt die Desaminierung durch das Enzym Tyrosin-Ammonium-Lyase, wodurch *p*-Cumarsäure gebildet wird. Diese kann auch über Zimtsäure mittels *trans*-Zimtsäure-4-Monooxygenase gebildet werden. *p*-Cumarsäure dient als Ausgangsprodukt für Kaffeesäure und weitere Phenylpropanoide.

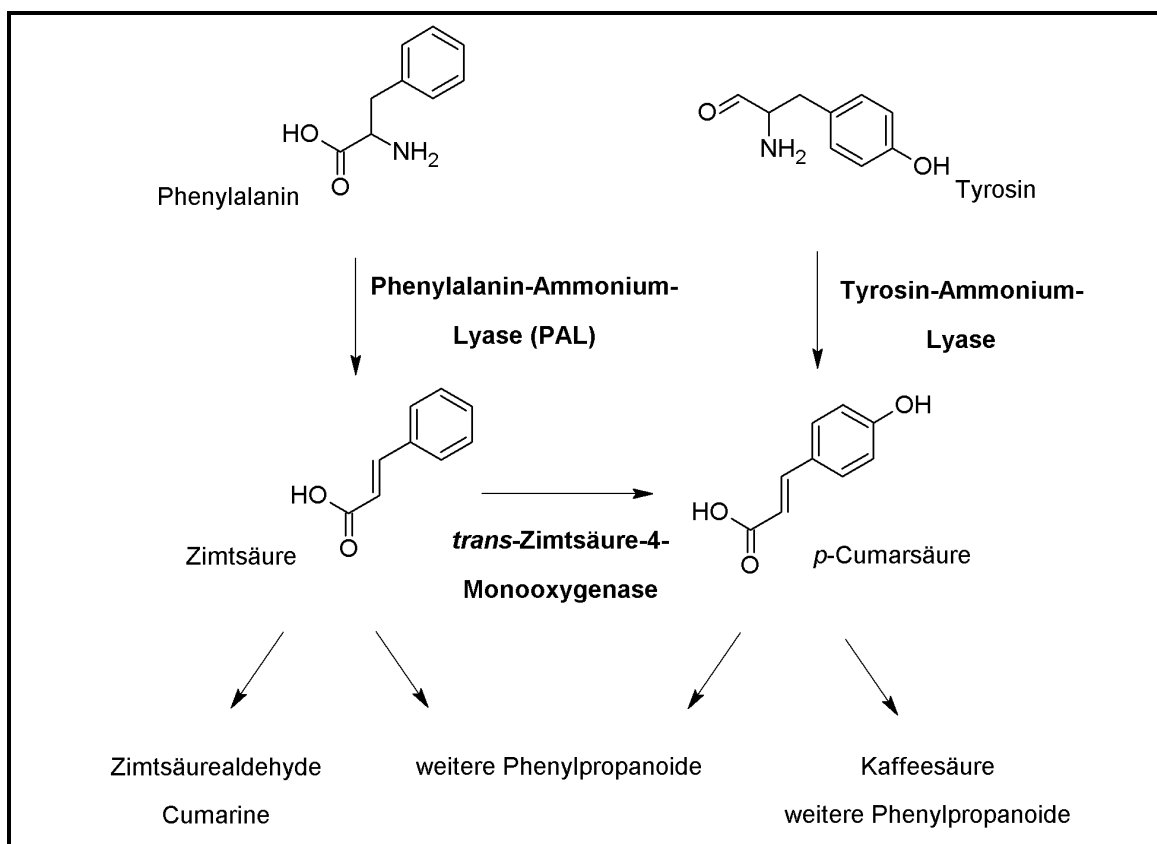


Abb. 11: Zwei mögliche Ausgangsverbindungen bei der Biosynthese von Phenylpropanoiden: Phenylalanin und Tyrosin. Verändert nach Kanehisa Laboratories (2010).

Pflanzliche Phenylpropanoide und ihre Derivate sind die häufigsten biologisch aktiven Verbindungen in Speisen, Gewürzen, Aromastoffen, Duftstoffen, Wein, Bier, Ölen, und Medikamenten. Sie werden in der Medizin als Antioxidantien genutzt und wirken außerdem antiviral, UV-schützend, entzündungshemmend, wundheilend, antibakteriell und krebshemmend (Barmejo et al., 2002). Sowohl natürliche als auch künstlich synthetisierte Phenylpropanoide werden auch in der Kosmetik und Parfumindustrie genutzt (Tanimoto et al., 2006). Medizinisch oder kosmetisch genutzte Phenylpropanoide werden meist aus Pflanzenextrakten oder kultivierten Pflanzenzellen isoliert und gereinigt, da die chemische Synthese komplex und teuer ist (Korkina, 2007). Reichling et al. (1991) haben beobachtet, dass Phenylpropanoide auch starke Wirkungen gegen Insekten (*Musca domestica* L.), Spinnentieren (*Tetranychus telarius* L.), Algen (*Scenedesmus acutus* TOMASELLI) und höheren Pflanzen (*Zea mays* L.) zeigen. Epoxy-Isoeugenol-Isobutytrat, ein komplexes Phenylpropanoid, konnte dabei die stärkste Wirkung erzielen. Antifungale Aktivitäten von Phenylpropanoiden konnten bei *Microsporum canis* GUÉG., *M. gypseum* BODIN, *Trichophyton mentagrophytes* BODIN, *T. rubrum* SABOUR., und *Epidermophyton floccosum* HARZ nachgewiesen werden. Dabei zeigte sich jedoch bei komplexen Phenylpropanoiden eine deutlich höhere Aktivität als bei einfachen Verbindungen (Zacchino et al., 1999).

4.4. Indole

Indole sind aromatische Verbindungen mit bizyklischer Struktur. Sie besitzen einen Benzolring, der mit einem stickstoffhaltigen Pyrrolring verbunden ist. Indole kommen in Organismen in zwei Formen vor: 1-H-Indol und sein Tautomer 3-H-Indol, wobei 1-H-Indol stabiler ist. Die Chemie von Indolen ist stark von den Reaktionen elektrophiler Substituenten bestimmt, welche vor allem an der 3er-Position des Pyrrolrings ablaufen. Organometallische Verbindungen, insbesondere Lithiumverbindungen, ermöglichen Reaktionen an anderen Ringpositionen. Substituierte Indole sind Strukturelemente der Tryptamin-Alkaloide. Hierzu zählen Neurotransmitter wie Serotonin und Melatonin. In Pflanzen findet man Indolverbindungen als Bestandteil von Blütenduftstoffen, Hormonen wie Auxin und in Halluzinogenen wie Dimethyltryptamin (Sundberg, 1996). Die Akkumulation von freiem Indol in Pflanzen wurde bisher nur bei *Zea mays* beobachtet, wo es eine entscheidende Funktion in der Insektenabwehr hat. Ansonsten kommt Indol in Pflanzen nur in gebundener Form vor (Frey et al., 2000). In vielen Bakterienstämmen tritt freies Indol in größeren Mengen auf und besitzt wichtige Funktionen im Stoffwechsel und in der Signalübertragung zwischen Bakterien (Lee et al., 2010).

In *Zea mays* wird 1-H-Indol über Indol-3-Glycerol-Phosphat biosynthetisiert, das aus dem Primärstoffwechsel kommt. Anschließend kann sowohl das Enzym Indol-3-Glycerol Phosphat-Lyase (IGL) als auch BX1 die Bildung von 1-H-Indol katalysieren (Abb. 12; Frey et al., 2000). In *Escherichia coli* wird 1-H-Indol mit Hilfe des Enzyms Tryptophanase (TnaA1) biosynthetisiert. Dabei werden die Substrate Tryptophan und Wasser zu den Produkten Indol, Pyruvat und Ammoniak umgebaut (Abb. 12; Lee et al., 2010).

Indole besitzen eine große Vielfalt an wirksamen Eigenschaften. Dazu zählt die antivirale Aktivität, die die Replikation des Herpes Simplex Virus hemmt (Chen et al., 2000). Sie wirken außerdem entzündungshemmend (Mohamad et al., 1994), entkrampfend (Adel et al., 1993) und antibakteriell (Dandia et al., 1993). Andere Verbindungen, abgeleitet von 3-Acetylindol, werden bei der Behandlung von Magen-Darmerkrankungen (Ferro et al., 2007), Herzerkrankungen, Erkrankungen des Zentralnervensystems (Francis et al., 1994) und des Herpes Simplex-Typ 1 (Pais et al., 2002), eingesetzt. Freies Indol zeigt bei Insekten und Pilzen sehr geringe Aktivitäten. Bei Biotests mit Daphnien (Crustaceae) konnte jedoch bei 3,6 mg Reinstoff pro Liter Wasser eine starke toxische Wirkung beobachtet werden (Eisentraeger et al., 2008). In bestimmten Konzentrationen können Indolderivate, wie Indol-3-Essigsäure, herbizide Aktivitäten zeigen. In niedriger Konzentration fördert Indol-3-Essigsäure das Pflanzenwachstum, in hohen Dosen wird jedoch das Wurzelwachstum der Pflanze gehemmt (Wernicke et al., 1987).

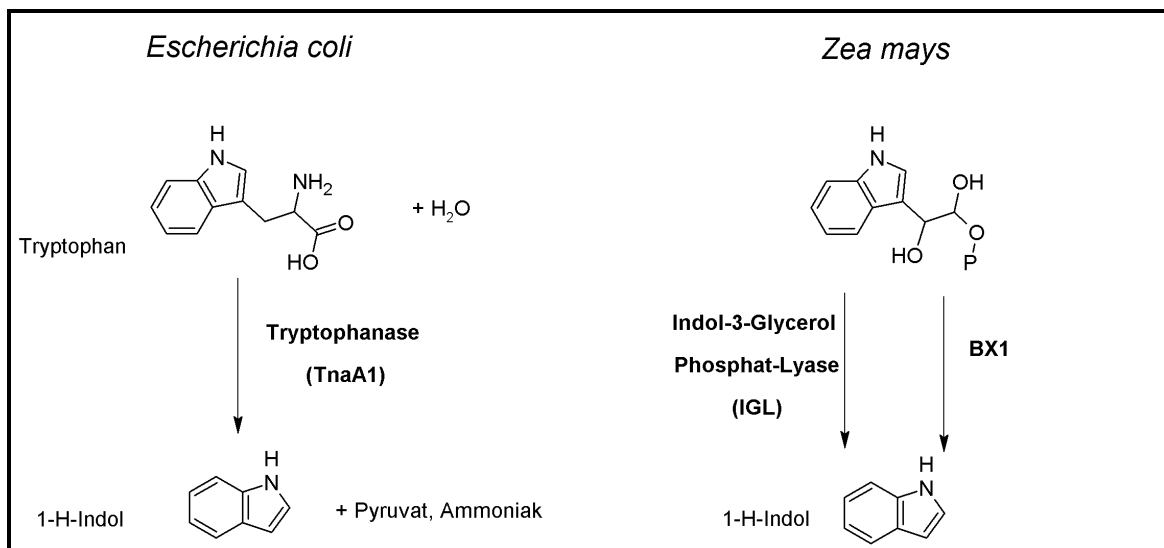


Abb. 12: Biosynthese von 1-H-Indol in *Escherichia coli* und *Zea mays*. Verändert nach Lee et al. (2010) und Frey et al. (2000).

4.5. Terpenoide

Terpenoide, auch Isoprenoide genannt, sind Verbindungen, die aus C-5 Isopreneinheiten (Abb. 13) aufgebaut sind. Sie sind evolutionär gesehen die älteste Gruppe sekundärer Pflanzenmetabolite (Bouvier et al., 2005). Es gibt mehr als 20.000 unterschiedliche natürliche Terpenoide (Salminen et al., 2008). Die Unterteilung von Terpenoiden erfolgt anhand der Anzahl ihrer Isopreneinheiten. Zwei Isopreneinheiten werden als Monoterpene bezeichnet, drei als Sesquiterpene, vier als Diterpene, sechs als Triterpene und acht als Tetraterpene. Verbindungen mit mehr als acht Isopreneinheiten werden als Polyterpene zusammengefasst.

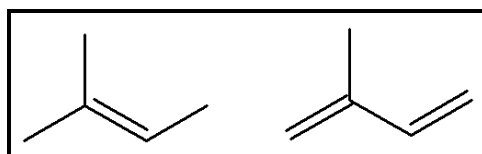


Abb. 13: Isopreneinheiten als Grundelemente der Terpenoide.

In höheren Pflanzen werden Terpene über zwei Biosynthesewege synthetisiert. Der Mevalonsäureweg findet im Cytoplasma, der Desoxyxyluloseweg jedoch in den Plastiden (Schwarz, 1994) statt. Aus Mevalonsäure wird durch die Enzyme Mevalonat-Kinase, Phosphomevalonat-Kinase und Mevalonat-5-diphosphat-Decarboxylase, unter Verbrauch von ATP, Isopentenylpyrophosphat (IPP) gebildet (Abb. 14). Aus 1-Desoxyxylulose-5-phosphat wird über den Verbrauch von NADH und ATP ebenfalls IPP gebildet. Durch die Kopf-Schwanz-Addition von IPP mit seinem Isomer Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP), entsteht Geranylpyrophosphat (GPP), das das Ausgangsprodukt für die Biosynthese aller Monoterpene ist. Wird ein weiteres IPP hinzugefügt, entsteht Farnesylpyrophosphat (FPP), das Ausgangsprodukt der Sesquiterpene. Mittels Addition eines weiteren IPP wird Geranylgeranylpyrophosphat (GGPP) gebildet, das Grundgerüst aller Diterpene. Diese Polymerisierungen werden durch das Enzym Prenyltransferase katalysiert. Die Synthese von Triterpenen erfordert die Addition von zwei FPP sowie Cyklasen, um Triterpenalkohole zu zyklisieren. Auch bei der Bildung von Tetraterpenen sind Cyklasen notwendig, die nach Addition von zwei GGPP zyklisieren (Salminen et al., 2008).

Terpene besitzen ein großes physiologisches Wirkungsspektrum. Sie werden vor allem in der Kosmetik als Aromastoffe und in der Medizin verwendet (Salminen et al., 2008).

Monoterpene werden bei der Behandlung von Entzündungen (Jeong et al., 2002) und Magenkrebs eingesetzt. Sesquiterpene, Triterpene und Diterpene zeigen positive Effekte gegen Malaria (Efferth, 2007; Alakurtti et al., 2006), Arthritis (O`Hara et al., 1998; Corson et al., 2007) und Metastasen (Cumar et al., 2006; Sethi et al., 2007). Tetraterpene werden zur Behandlung von arterieller Hypertonie (Hussein et al., 2006) und Makuladegeneration (Izumi-Nagai et al., 2007) eingesetzt. Viele Terpenoide, vor allem Sesquiterpenlactone, zeigen auch starke herbizide, antimikrobielle und insektizide Wirkungen (Duke et al., 1988). Yang et al. (2010) haben außerdem beobachtet, dass das Monoterpenlacton (6R)-3,7-Dimethyl-7-hydroxy-2-okten-6-olid starke fungizide Eigenschaften gegenüber *Sclerotinia sclerotiorum* LIB., *Thanatephorus cucumeris* DONK, *Pseudocercospora musae* ZIMM. und *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. besitzt. Verantwortlich dafür ist der in der Verbindung enthaltene Lactonring.

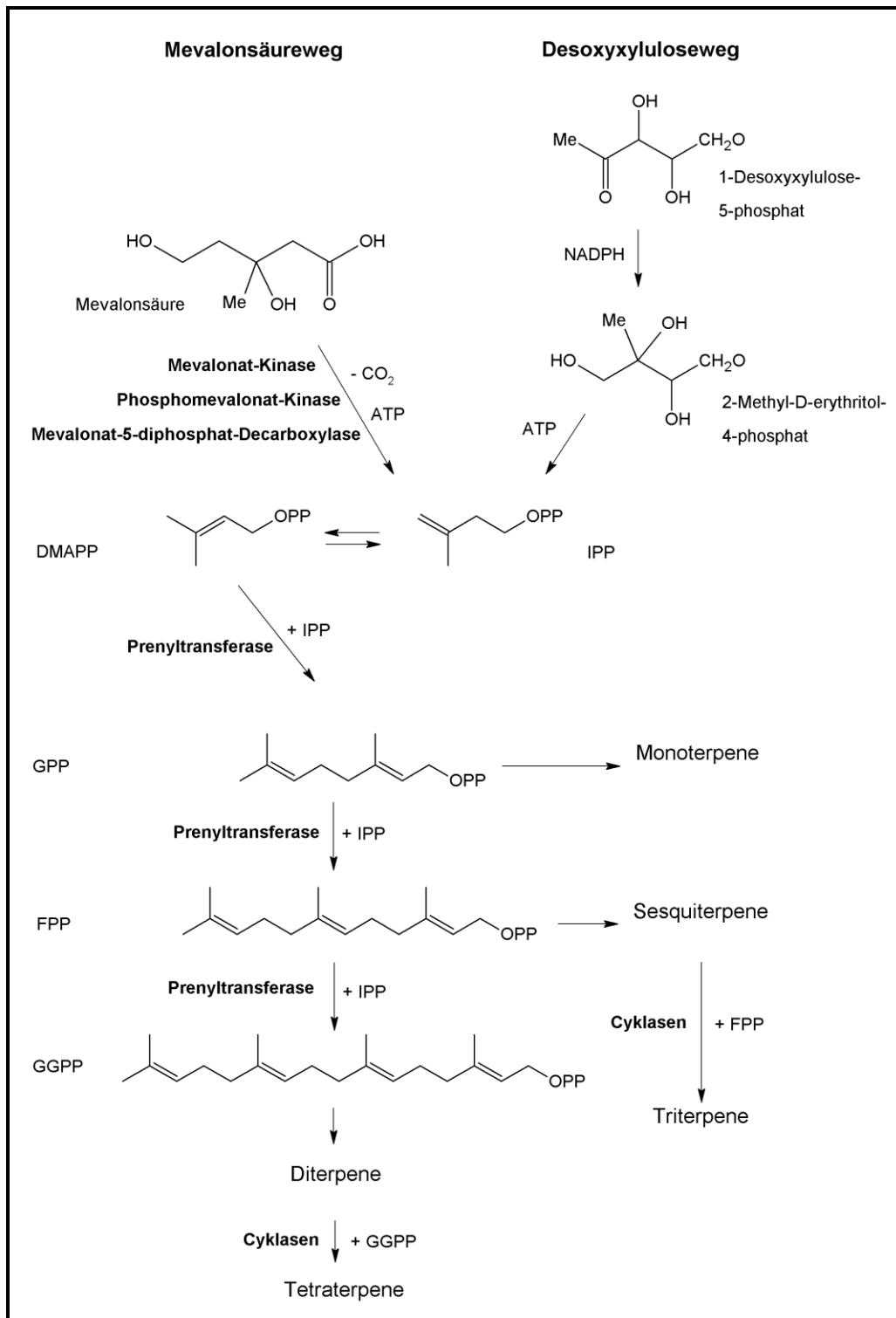


Abb. 14: Biosynthesewege der Terpene, nach Salminen et al. (2008). **IPP:** Isopentenylpyrophosphat, **DMAPP:** Dimethylallylpyrophosphat, **GPP:** Geranylpyrophosphat, **FPP:** Farnesylpyrophosphat, **GGPP:** Geranylgeranylpyrophosphat.

5. Material und Methode

5.1. Pflanzenmaterial

Die für die vorliegende Arbeit verwendeten Pflanzen wurden aus Thailand, Australien, den Niederlanden (Botanischer Garten Delft) und dem Botanischen Garten der Universität Wien bezogen. Bestimmt wurden die Arten anhand ihrer Morphologie. Das Pflanzenmaterial und dessen Herkünfte sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Die Herbarbelege liegen im Herbar des Fakultätszentrums für Biodiversität der Universität Wien auf.

5.1.1. Extraktion

Zusätzlich zu den bestehenden und bei -18°C gelagerten Chloroform-Phasen, wurden weitere Chloroform-Extrakte von *A. purpurata* (Rhizom und Wurzel), *A. sanderae* HORT.SAND. (Wurzel) und *Alpinia* sp. (Wurzel) hergestellt. Dazu wurden die Pflanzenteile im Botanischen Garten Wien geerntet, zerkleinert, mit Methanol überschichtet und extrahiert. Anschließend erfolgte eine Filtration der Suspension durch einen Faltenfilter. Das Filtrat wurde in einem Rundkolben aufgefangen und am Rotavapor bei 30°C eingeeengt. Anschließend wurde die Lösung in einen Scheidetrichter überführt sowie etwas Chloroform dazugegeben. Durch Ausschütteln kam es zur Phasentrennung in eine Wasserphase und eine Chloroform-Phase. Die Chloroform-Phase wurde einrotiert und das Gewicht der Trockensubstanz bestimmt (Tab. 3).

Tab. 3: Auflistung der Chloroform-Phasen unterschiedlicher *Alpinia*-Arten mit Gewichtsangaben zur Trockensubstanz und zum Organ.

Pflanzenmaterial	Organ	Frischgewicht [g]	Trockensubstanz [mg]
<i>A. purpurata</i>	Rhizom	62,7	870
<i>A. purpurata</i>	Wurzel	37,1	340
<i>A. sanderae</i>	Wurzel	51,7	550
<i>Alpinia</i> sp.	Wurzel	90,0	940

5.2. Analytische Methoden

5.2.1 Dünnschichtchromatographie

Anisaldehyd/Schwefelsäure Reagenz: 85 mL Methanol; 10 mL Eisessig; 8 mL Schwefelsäure; 0,5 mL Anisaldehyd

Die dünnschichtchromatographische Analysen erfolgten auf Kieselgelplatten mit den Laufmittelgemischen Ethylacetat/Petrolether/Methanol 55:45:1 für hydrophile und Petrolether/Diethylether 70:30 für lipophile Substanzen. Im UV-Licht bei Wellenlängen von 254 nm und 366 nm wurden die sichtbaren Stoffe markiert. Die Detektion von Verbindungen ohne Chromophor erfolgte durch Besprühen mit Anisaldehyd/Schwefelsäure Reagenz.

5.2.2. High Performance Liquid Chromatography

Die Hochdruckflüssigkeitschromatographie gewährt eine hohe Trennleistung bei relativ kurzer Trennstrecke und Retentionszeit. Die Trennung erfolgte an einem Gerät der Agilent 1100 Serie. Die verwendete Säule war eine Agilent Hypersil® BDS C-18; 4,6x250mm mit einer Korngröße von 5 µm. Das Laufmittel bestand aus einem Gemisch aus Methanol und wässrigem Puffer (o-Phosphorsäure 0,015 mol und Tetrabutylammoniumhydroxid 0,0015 mol; pH=3; Reisch et al.), die Flussrate betrug 1mL/min. Der Laufmittelgradient nach Raninger (2009) ist in Tabelle 4 ersichtlich. Die Detektion erfolgte bei der Wellenlänge von 230 nm.

Tab. 4: Laufmittelgradient der HPLC, nach Raninger (2009).

Zeit [min]	MeOH [Vol. %]
0,01	50
20	80
23	100
30	100

5.3. Präparative Methoden

5.3.1. Trockensäule

Die Chloroform-Phasen wurden über Trockensäule aufgetrennt. Dazu wurde eine Glassäule mit Watte und 57 g Kieselgel beladen. Auf zusätzlich 3 g des Kieselgels wurde die gesamte Menge der in Aceton gelösten Trockensubstanz aufgetragen. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels wurde die Mischung auf die Säule aufgetragen. Überschichtet wurde mit Quarzsand, um ein Aufschwemmen zu vermeiden. Eluiert wurde mit je 100 mL Lösungsmittel steigender Polarität (Abb. 5). Fraktionen zu je 50 mL wurden aufgefangen und im Rotavapor bei 30°C eingeeengt. Die aufkonzentrierten Fraktionen wurden anschließend dünnschichtchromatographisch untersucht.

Tab. 5: Mischverhältnisse der Lösungsmittel pro 100 mL

Petrolether [mL]	Ethylacetat [mL]	Methanol [mL]
85	15	
70	30	
50	50	
20	80	
	100	
	85	15
	70	30
	50	50
		200

5.3.2. Sephadex® LH-20 Säule

Eine Glassäule wurde mit Watte und in Aceton p.a. gequollenes Sephadex® LH-20 beladen. Eluiert wurde mit dem Laufmittel Aceton p.a.. Die Fraktionen wurden zu je 10 mL geschnitten und anschließend dünnschichtchromatographisch untersucht.

5.3.3. Präparative Dünnschichtchromatographie

Die präparative Dünnschichtchromatographie wurde mit dem Laufmittelgemisch Diethylether/Petrolether 20:80 auf einer Kieselgelplatte durchgeführt. Nach dem

Entwickeln wurden die bei 254 nm sichtbaren Banden markiert, ausgekratzt, mit Aceton p.a. extrahiert und über eine G4 Glasfritte abfiltriert. Die erhaltenen Proben wurden dünnschichtchromatographisch und mit HPLC untersucht.

5.4. Spektroskopische Methoden

5.4.1. UV-VIS-Spektroskopie

Die Spektren wurden mit dem UV-Diodenarraydetektor der HPLC aufgenommen.

5.4.2. NMR-Spektroskopie

Die Stoffe wurden an der Organischen Chemie der Universität Wien in deuteriertem Chloroform, mit einem AM-400 WB und einem WM 250 FT-Spektrometer von Bruker, gemessen. Die Identifizierung erfolgte über die am genannten Institut von Professor Robien aufgebaute NMR-Datenbank.

5.5. Bioassay mit *Cladosporium sphaerospermum*

5.5.1. Kultivierung und Sporengewinnung

Konservierungsmedium: 500 mL Aqua dest.; 70g Saccharose; 5 g Pepton aus Sojamehl; 15 Minuten sterilisiert bei 120°C

Malzextraktagar (MEA) - Platten: 500 mL Aqua dest.; 10 g Malzextrakt; 0,5 g Pepton aus Sojamehl; 10 g Agar; 10 g D-Glucose Monohydrat p.a.; 15 Minuten sterilisiert bei 120°C

Malz-Bouillon: 500 mL Aqua dest.; 10 g Malzextrakt; 15 Minuten sterilisiert bei 120°C

Es wurde für den Test eine fertige Sporensuspension verwendet, die nach Engelmeier (1997) hergestellt wurde.

5.5.2. Bioautographie auf DC-Platten mit Chloroform-Phasen

Auf einer Dünnschichtchromatographie-Platte wurden die Chloroform-Phasen aufgetragen und mit dem Laufmittel Ethylacetat/Petrolether/Methanol 45:55:1 aufgetrennt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels wurde die Sporensuspension mit 2% Malzbouillon verdünnt und auf die Platte aufgesprüht. Nach ein bis drei Tagen Inkubation, unter Lichtausschluss und hoher Luftfeuchtigkeit, wurde die Platte mit UV-Licht bestrahlt, um die Pilzsporen abzutöten. Anschließend wurde die Platte mit Klarsichtfolie zwecks Fixierung überklebt und ausgewertet.

5.6. Bioassay mit *Spodoptera littoralis*

5.6.1. Herstellung der Futtermischung

Futtermischung: 150 g getrocknete weiße Bohnen; 3 g Ascorbinsäure; 3 g p-Hydroxy-Benzoesäureethylester (Nipagin); 30 g Hefe; 460 mL Aqua dest.

Die Bohnen wurden mit Nipagin, Ascorbinsäure und Hefe sowie destilliertem Wasser vermengt und püriert, sodass eine homogene Mischung entstand. Die Mischung wurde dann für sechs Tage gefriergetrocknet und anschließend zu einem Pulver zerrieben. Zur Aufbewahrung wurde das fertige Futter bei -18°C gelagert.

5.6.2. Herstellung der Futterkuchen

Antibiotikumlösung: Pro Futterstück: 1,45 mL Aqua dest.; 0,75 mg

Vitaminlösung: 2 mg i-Inositol; 100 mg Nikotinsäure; 100 mg Kalzium-Panthothenat; 50 mg Riboflavin; 25 mg Thiamin Hydrochlorid; 25 mg Pyridoxin Hydrochlorid; 25 mg Folsäure; 2 mg Biotin; 0,2 mg Vitamin B₁₂; 100 mL Aqua dest.

Nach Jandl (1993) wurden 735 mg der Futtermischung in je 25 mL Bechergläser eingewogen. Danach wurden die zu testenden Chloroform-Phasen mit einer Mikroliterpipette auf je eine Futtermischung im Becherglas aufgetragen. Bei diesem Versuch wurden Konzentrationen von 1 mg, sowie 2,5 mg Trockengewicht der Chloroform-Phase pro 1 mg Futterstück hergestellt. Für die Tests wurden die Proben in Aceton p.a. gelöst, da es rasch verdampfte und keine Beeinträchtigung der Raupen zeigte. Jedoch ließen sich manche Proben nicht in Aceton p. a. lösen und somit wurde stattdessen Chloroform als Lösungsmittel verwendet (Tab. 6).

Anschließend wurden die einzelnen Proben der 23 Chloroform-Phasen mit ca. 3 mL des jeweiligen Lösungsmittels überschichtet, in dem die Chloroform-Phasen gelöst waren, und gut vermischt. Da sich Methanol sehr langsam verflüchtigt, wurden diese Ansätze ca. 18 Stunden im Abzug gestellt. Im Anschluss wurden die Proben in einen Exsikkator gestellt, der an einer Wasserstrahlpumpe angeschlossen war. Ein 30 minütiges Absaugen des restlichen Lösungsmittels sorgte für ein vollständig lösungsmittelfreies Futter. Anschließend wurden die Proben mit 45 µL Vitaminlösung und der Antibiotikumlösung vermengt. Pro Probe wurde 78,6 mg Agar in 2,2 mL Wasser aufgekocht, unter ständigem Rühren leicht abgekühlt, sowie auf das Futter pipettiert. Mit dem Glasstab wurde anschließend das Futter mit dem Agar vermischt. Nach 15 Minuten im Kühlschrank verfestigte sich das Futterstück und wurde in die Mitte einer Petrischale platziert. Zehn frisch geschlüpfte Raupen wurden danach mit einem Pinsel auf das Futterstück gesetzt, die Petrischale verschlossen und in den dunklen Brutschrank bei 26°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von ca. 90 % gestellt. Die Auswertung erfolgte nach vier und nach sechs Tagen. Die Anzahl der Raupen wurden hierbei bestimmt und ihr Gewicht mit einer Analysenwaage ermittelt.

Tab. 6: Auflistung der gesamten Chloroform-Phasen, sowie der Lösungsmittel, in denen die Substanzen gelöst waren. Angaben zum Sammelort nach Gilli (in Vorb.). **1:** Für Biotests verwendet; **2:** Zusätzlich für die Isolierung von Substanzen verwendet.

Chloroform-Phase	Organ	Gelöst in	Herkunft	Herbar-Nr.	
<i>Alpinia blepharocalyx</i> K.SCHUM.	Rhizom	Chloroform	Chiang Mai, nahe Doi Ang Khang (>1000m); Thailand	ZIN 070010	1
<i>A. caerulea</i> BENTH.	Wurzel	Aceton	Queensland, Wallaman Falls Girringun National Park; Australien	ZIN 070022	1
<i>A. conchigera</i> GRIFF.	Blatt	Chloroform	Peninsular Botanic Garden nahe Trang; Thailand	ZIN 080001	1
<i>A. conchigera</i>	Rhizom	Aceton	Peninsular Botanic Garden nahe Trang; Thailand	ZIN 080001	1
<i>A. conchigera</i>	Wurzel	Chloroform	Peninsular Botanic Garden nahe Trang; Thailand	ZIN 080001	1
<i>A. galanga</i>	Rhizom	Chloroform	Pak Thong Chai Market, Nakhon Si Thammarat; Thailand	ZIN 060026	2
<i>A. katsumadai</i>	Rhizom	Aceton	Botanical Garden Delft; Niederlande	2004GR02318	1
<i>A. malaccensis</i> ROSCOE	Blatt	Aceton	Botanical Garden Delft; Niederlande	864600656	1
<i>A. malaccensis</i>	Rhizom	Aceton	Botanical Garden Delft; Niederlande	864600656	1
<i>A. malaccensis</i>	Wurzel	Aceton	Botanical Garden Delft; Niederlande	864600656	1
<i>A. mutica</i> ROXB.	Blatt	Aceton	Peninsular Botanic Garden nahe Trang; Thailand	ZIN 080002	1
<i>A. mutica</i>	Rhizom	Aceton	Peninsular Botanic Garden nahe Trang; Thailand	ZIN 080002	1
<i>A. mutica</i>	Wurzel	Aceton	Peninsular Botanic Garden nahe Trang; Thailand	ZIN 080002	1
<i>A. nutans</i>	Rhizom	Aceton	Botanical Garden Delft; Location KAS 4; Niederlande	714600039	2
<i>A. purpurata</i>	Blatt	Aceton	Kultiviert im Botanischer Garten der Universität Wien	ZIN 40037/3	1
<i>A. purpurata</i>	Rhizom	Chloroform	Kultiviert im Botanischer Garten der Universität Wien	ZIN 40037/3	1
<i>A. purpurata</i>	Wurzel	Chloroform	Kultiviert im Botanischer Garten der Universität Wien	ZIN 40037/3	2
<i>A. sanderae</i>	Blatt	Chloroform	Kultiviert im Botanischer Garten der Universität Wien	ZIN 000004	1
<i>A. sanderae</i>	Rhizom	Chloroform	Kultiviert im Botanischer Garten der Universität Wien	ZIN 000004	1
<i>A. sanderae</i>	Wurzel	Methanol	Kultiviert im Botanischen Garten der Universität Wien	ZIN 84/81	1
<i>Alpinia</i> sp.	Blatt	Chloroform	Sekayu, Malaysia; Kultiviert im Botanischen Garten der Universität Wien	ZIN000003/1	1
<i>Alpinia</i> sp.	Rhizom	Chloroform	Sekayu, Malaysia; Kultiviert im Botanischen Garten der Universität Wien	ZIN000003/1	1
<i>Alpinia</i> sp.	Wurzel	Methanol	Sekayu, Malaysia; Kultiviert im Botanischen Garten der Universität Wien	ZIN 000003/2	1

5.7. Auflistung der verwendeten Geräte und Chemikalien

Tab. 7: Materialien für die Kultivierung von *Cladosporium sphaerospermum*

Agar	Merck KGaA
D-Glucose Monohydrat p.a.	Loba Feinchemie AG
Malzextrakt für Mikroben	AppliChem GmbH
Natriumchlorid	Merck KGaA
Pepton aus Sojamehl	Merck KGaA
Saccharose	Merck KGaA

Tab. 8: Liste der verwendeten Lösungsmittel

Aceton p.a.	Carl Roth GmbH & Co. KG
Anisaldehyd	Carl Roth GmbH & Co. KG
Diethylether p.a.	Carl Roth GmbH & Co. KG
Essigsäure	Fisher Scientific AG
Ethylacetat p.a.	Carl Roth GmbH & Co. KG
Methanol p.a.	Fisher Scientific AG
Petrolether p.a.	Carl Roth GmbH & Co. KG
Schwefelsäure	Carl Roth GmbH & Co. KG

Tab. 9: Bestandteile des Kunstfutters für *Spodoptera littoralis*

Ascorbinsäure	Merck KGaA
Biotin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Folsäure	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Gentamycin	Serva GmbH
Hefe	Lebensmittelgeschäft
i-Inosidol	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Nicotinsäure	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
p-Hydroxy-Benzoesäureethylester	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Pyridoxin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Riboflavin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Thiamin Hydrochlorid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Weißer Bohnen	Lebensmittelgeschäft

6. Ergebnisse

In der Arbeit wurde die Stoffausstattung von *Alpinia nutans*, *A. purpurata* und *A. galanga* analysiert und mit anderen Arten der gleichen Gattung verglichen. Es konnten aus dem Rhizom von *A. nutans* mittels Sephadex®-Säule und präparativer Dünnschichtchromatographie vier Verbindungen isoliert werden: Ein Flavonoid, Indol, ein Zimtsäurederivat und ein Curcuminoid. Aus den Wurzeln von *A. purpurata* konnte durch Auftrennung mit Sephadex® nur ein Gemisch mehrerer Terpene isoliert werden, höchstwahrscheinlich mit γ -Sitosterol als Hauptkomponente. Aus dem Rhizom von *A. galanga* wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie ein Phenolderivat isoliert. Außerdem wurden Chloroform-Extrakte von elf *Alpinia*-Arten dünnschichtchromatographisch verglichen und auf ihre antifungalen Aktivitäten untersucht. Dabei wurden die Extrakte von verschiedenen Organbereichen getrennt analysiert. Das Besprühen der DC-Platten mit Konidiosporen von *Cladosporium sphaerospermum* ergab deutliche Hemmhöfe bei allen Organproben. Ein Bioassay mit *Spodoptera littoralis* wurde mit den gleichen Chloroform-Extrakten durchgeführt. Der Test wurde dreimal wiederholt und die Ergebnisse gemittelt, um ein aussagekräftigeres Ergebnis zu erhalten. Vor allem die Inhaltsstoffe der Organe von *A. nutans* und *Alpinia* sp. zeigten starke toxische Wirkungen. Anschließend wurde auch ein Test mit den Trockensäulen-Fractionen der Rhizome dieser beiden Arten durchgeführt. Auch hier konnte eine starke insektizide Wirkung nachgewiesen werden, speziell in den lipophilen Fractionen. Die HPLC-UV-Analyse erfolgte bei den Chloroform-Extrakten und den isolierten Stoffen bei einer Wellenlänge von 230 nm. Eine genaue Auflistung aller isolierten Stoffe befindet sich im Spektraldatenkatalog (Anhang 9.2.). Die Ergebnisse werden nachstehend im Detail diskutiert.

6.1. Phytochemische Ergebnisse

6.1.1. Isolierung von Reinstoffen aus *Alpinia nutans*

Aus dem Rhizom des analysierten jungen Individuums (Herkunft: Botanischer Garten Delft; Tab. 6) konnten vier Verbindungen isoliert werden: 2,4-Dimethoxy-6-Hydroxychalkon (**FL**), 3-H-Indol (**IN**), 1,7-Diphenyl-5(E)-hepten-3-on-4-ol (**CU**) und ein Zimtsäuremethylester (**ZI**). Im Chloroform-Extrakt waren 1,7-Diphenyl-5(E)-hepten-3-on-4-ol (**CU**) und Zimtsäuremethylester (**ZI**) die dominierenden Komponenten, während 3-H-Indol (**IN**) und 2,4-Dimethoxy-6-Hydroxychalkon (**FL**) in deutlich geringeren Mengen

nachgewiesen werden konnten (Abb. 15). Außerdem wurden die Stoffprofile eines jungen und adulten Rhizoms von *A. nutans* miteinander verglichen. Beide zeigten eine nahezu identische Stoffausstattung, jedoch waren die Mengen an 1,7-Diphenyl-5(E)-hepten-3-on-4-ol (**CU**) im adulten Rhizom etwas höher.

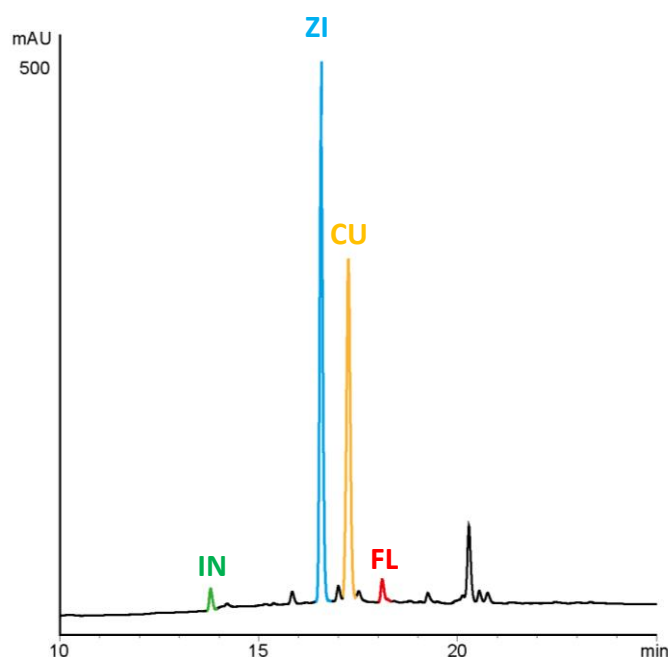


Abb. 15: HPLC-Profil des CHCl_3 -Extraktes des jungen Rhizoms von *A. nutans*. 3-H-Indol (**IN**), Zimtsäuremethylester (**ZI**), 1,7-Diphenyl-5(E)-hepten-3-on-4-ol (**CU**), 2,4-Dimethoxy-6-Hydroxychalkon (**FL**).

6.1.2. Nachweis von isolierten Stoffen in anderen *Alpinia*-Arten

In den Chloroform-Extrakten von *A. nieuwenhuizii* VALETON und *Alpinia* sp. wurden ebenfalls die Verbindungen 3-H-Indol (**IN**) und Zimtsäuremethylester (**ZI**) detektiert (Abb. 16). Dabei erwies sich der Gehalt von Zimtsäuremethylester (**ZI**) in den Rhizomen als deutlich höher, verglichen mit den Blättern. 3-H-Indol (**IN**) konnte bei *A. nieuwenhuizii* in geringer Menge ausschließlich im Rhizom nachgewiesen werden. In den Wurzeln von *A. nieuwenhuizii* konnten keine dieser beiden Verbindungen gefunden werden. Auch in den Blättern und im Rhizom von *Alpinia* sp. wurde 3-H-Indol (**IN**) identifiziert, wobei der Gehalt an 3-H-Indol (**IN**) in den Blättern deutlich höher war. In den Wurzelextrakten von *Alpinia* sp. konnte diese Verbindung jedoch nicht detektiert werden. Damit scheint die Akkumulation der hier nachgewiesenen Verbindungen teilweise organspezifisch zu sein. Aufgrund dieses Vergleiches ist das Vorkommen von freiem 3-H-Indol (**IN**) nicht nur auf eine Sippe beschränkt. Es kann jedoch ausgeschlossen werden, dass die gewählte Methode für die Bildung dieses Stoffes verantwortlich sein

könnte, da er auch nicht bei anderen im Zuge dieser Arbeit extrahierten Proben in den HPLC-Profilen nachgewiesen werden konnte.

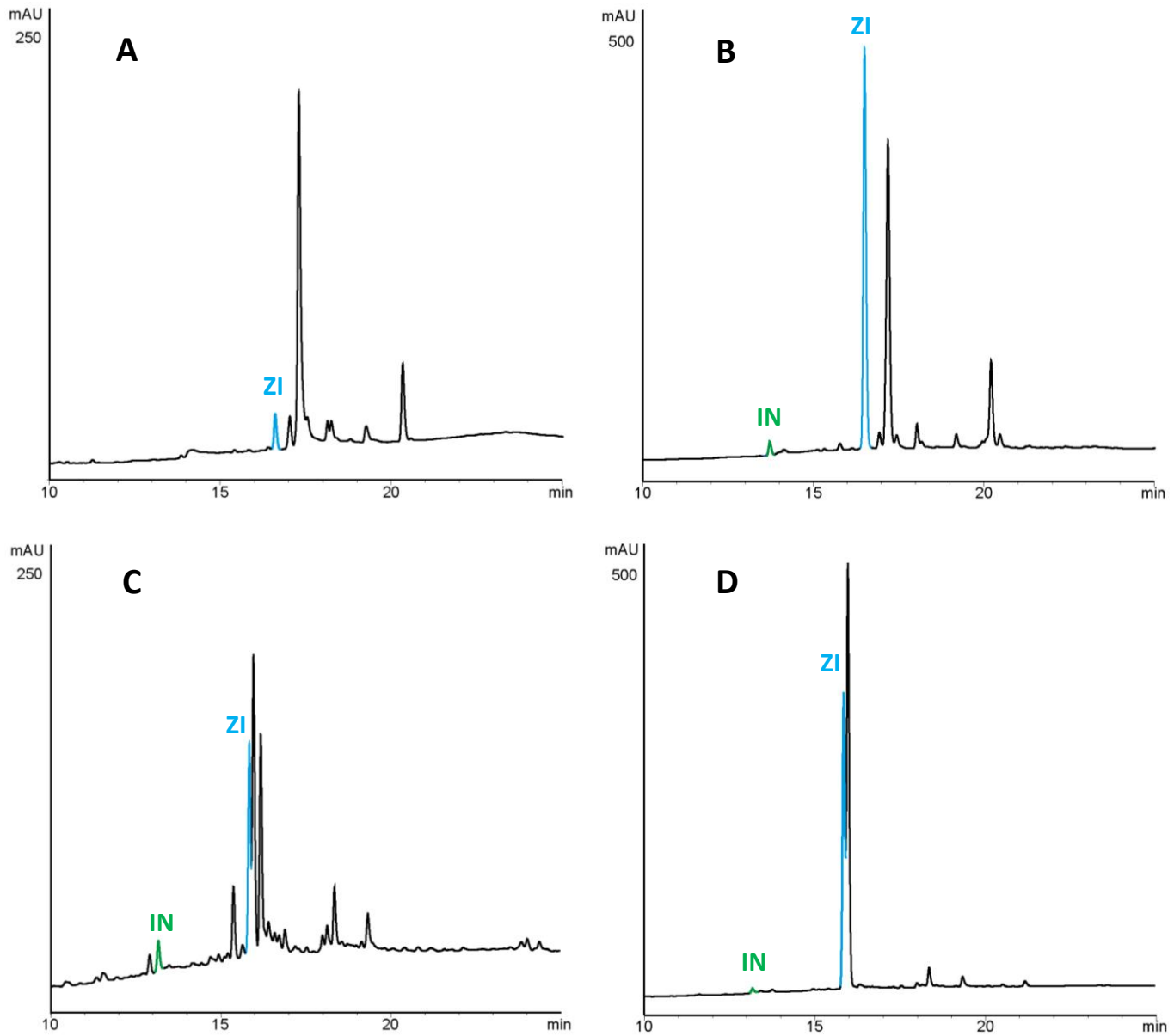


Abb. 16: HPLC-Profil der CHCl_3 -Extrakte von *A. nieuwenhuizii* (A:Blatt B: Rhizom) und *Alpinia* sp. (C:Blatt D:Rhizom). In den Blättern und im Rhizom wurde Zimtsäuremethylester (ZI) identifiziert. 3-H-Indol (IN) konnte in geringen Mengen in den Rhizomen und in den Blättern von *Alpinia* sp. nachgewiesen werden. Die HPLC-Messungen von *A. nieuwenhuizii* wurden von Christian Gilli mit einer anderen Methode durchgeführt.

6.2. Biologische Aktivität

6.2.1. Bioautographie auf DC-Platten mit *Cladosporium sphaerospermum*

Vorhandene Chloroform-Extrakte (23 Proben) wurden dünnschichtchromatographisch aufgetrennt und mit den Konidiosporen von *C. sphaerospermum* besprüht. Die weißen Spots auf der Platte (Hemmhöfe) wiesen auf jene Stoffe hin, welche antifungale Aktivität zeigten (Abb. 17, 18). Deutliche Hemmhöfe waren vor allem bei *Alpinia sanderae* (Blatt), *A. nutans* (Rhizom), *A. galanga* (Rhizom), *A. conchigera* (Rhizom, Wurzel) und *A. mutica* (Rhizom) erkennbar. Generell konnten bei allen Organen der elf *Alpinia*-Arten antifungal wirkende Stoffe nachgewiesen werden. Die Position dieser Stoffe auf der DC-Platte wies auf einen hohen lipophilen Anteil hin. Demgegenüber erwiesen sich hydrophile Verbindungen aus Blattextrakten von *A. purpurata*, *A. sanderae*, *Alpinia* sp., *A. malaccensis* und *A. mutica* aufgrund deutlicher Bildung von Hemmhöfen als antifungal wirksam. Auffallend waren jedoch die schwarzen Spots der Chloroform-Extrakte von *A. purpurata* (Rhizom, Wurzeln), *A. sanderae* (Wurzeln) und *Alpinia* sp. (Wurzeln), welche als Hinweis auf wachstumsfördernde Wirkung interpretiert werden konnten.

Aufgrund des Aktivitätsnachweises gegen *C. sphaerospermum* wurde versucht, aus dem Chloroform-Extrakt von *A. galanga* (Rhizom) den entsprechenden Reinstoff über präparative DC zu isolieren. Zur Lokalisierung der erwünschten Substanz diente die Laufhöhe jener Substanz, die den deutlichen Hemmhof auf der Bioautographie-Platte aufwies. Der isolierte antifungale Reinstoff konnte co-chromatographisch als 3-Methoxypropenyl-phenol (**PH**) identifiziert werden (Abb. 18).

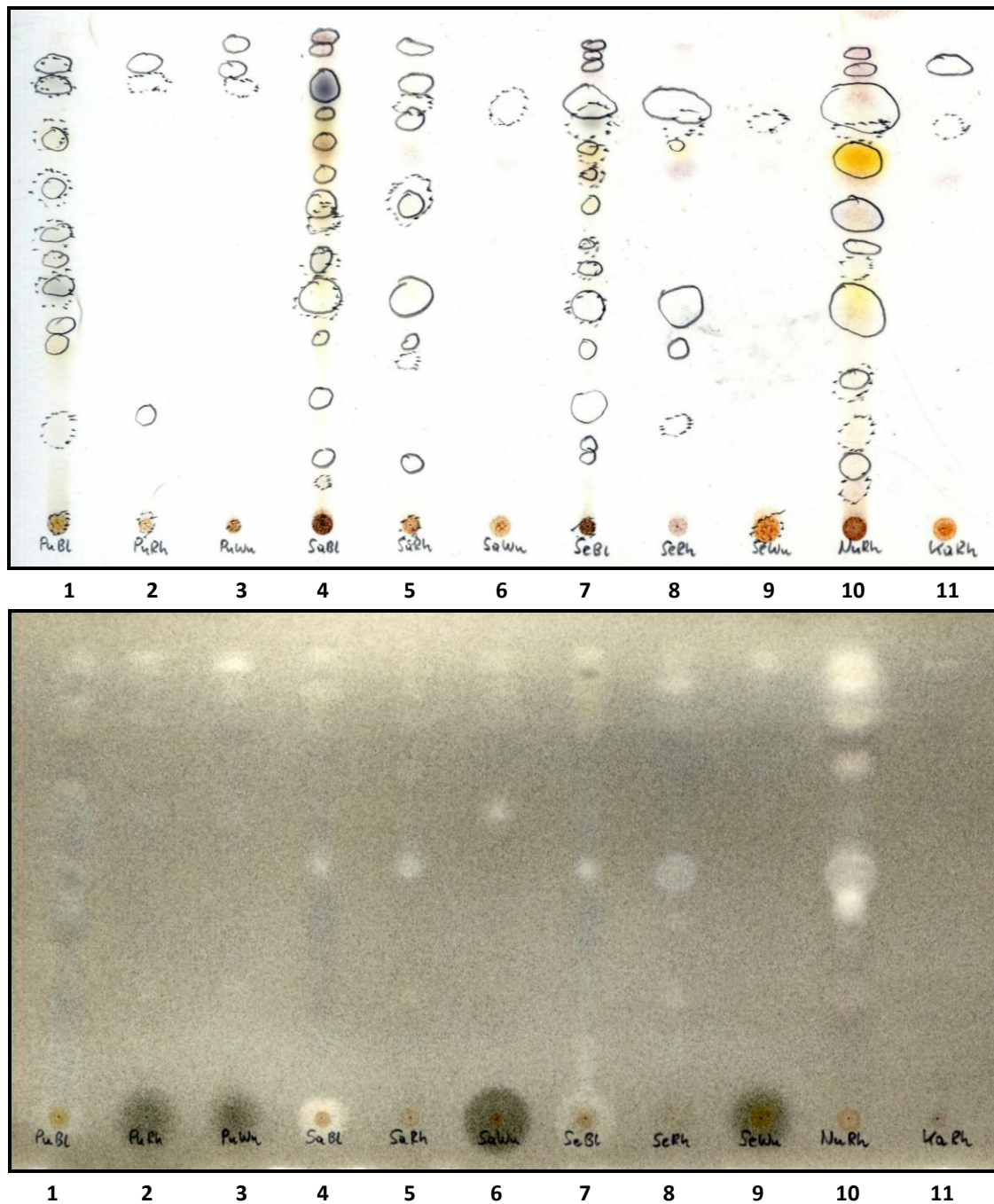


Abb. 17: Übersicht der CHCl_3 -Extrakte, besprüht mit Anisaldehyd (oben) und der Sporensuspension von *C. sphaerospermum* (unten). Laufmittel: Ethylacetat/Petrolether/Methanol 45:55:1. 1: *A. purpurata* (Blatt), 2: *A. purpurata* (Rhizom), 3: *A. purpurata* (Wurzeln), 4: *A. sanderæ* (Blatt), 5: *A. sanderæ* (Rhizom), 6: *A. sanderæ* (Wurzeln), 7: *Alpinia* sp. (Blatt), 8: *Alpinia* sp. (Rhizom), 9: *Alpinia* sp. (Wurzeln), 10: *A. nutans* (Rhizom), 11: *A. katsumadai* (Rhizom).

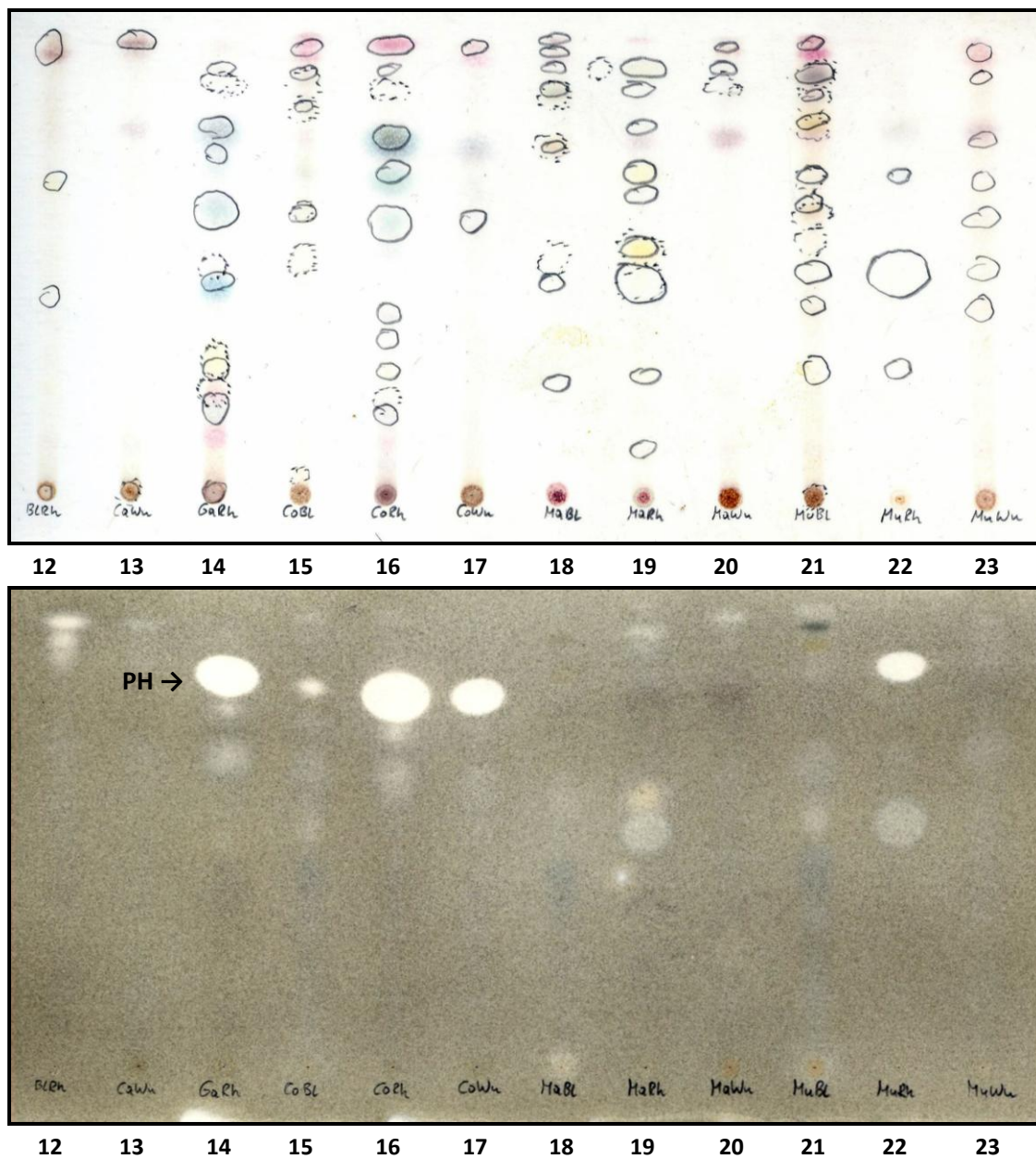


Abb. 18: Übersicht der CHCl_3 -Extrakte, besprüht mit Anisaldehyd (oben) und der Sporensuspension von *C. sphaerospermum* (unten). Laufmittel: Ethylacetat/Petrolether/Methanol 45:55:1. **12:** *A. blepharocalyx* (Rhizom), **13:** *A. caerulea* (Wurzeln), **14:** *A. galanga* (Rhizom), **15:** *A. conchigera* (Blatt), **16:** *A. conchigera* (Rhizom), **17:** *A. conchigera* (Wurzeln), **18:** *A. malaccensis* (Blatt), **19:** *A. malaccensis* (Rhizom), **20:** *A. malaccensis* (Wurzeln), **21:** *A. mutica* (Blatt), **22:** *A. mutica* (Rhizom), **23:** *A. mutica* (Wurzeln). **PH:** 3-Methoxy-propenyl-phenol

6.2.2. Bioassay mit *Spodoptera littoralis*

6.2.2.1. Test der Chloroform-Extrakte ausgewählter *Alpinia*-Arten

Der Test erfolgte mit zwei unterschiedlichen Konzentrationen, deren Ergebnisse parallel ausgewertet wurden. Dabei wurde die Wachstumsveränderung und die Letalität der Raupen im Vergleich zur Kontrolle (= 100%) erfasst. Die Gewichtsbestimmung und die Zählung der lebenden Raupen wurden nach vier und sechs Tagen durchgeführt. Die Rohdaten dieses Biotests befinden sich im Anhang (9.1.).

Im Biotest, welcher mit einer Konzentration von 1 mg Trockensubstanz des Chloroform-Extraktes pro 1 g Futterstück durchgeführt wurde, konnte bei allen getesteten *Alpinia*-Arten, wachstumshemmende Wirkungen nachgewiesen werden, mit Ausnahme von *A. mutica* (Blatt, Wurzeln) und *A. sanderæ* (Rhizom; Abb. 19). Jedoch wurden auch wachstumsfördernde Wirkungen beobachtet. Die stärkste wachstumsfördernde Wirkung hatte der Chloroform-Extrakt von *A. mutica* (Wurzel) mit einem Wert von 120% der Kontrolle. Starke Beeinträchtigungen im Insektenwachstum ergaben sich vor allem nach Verzehr von jenen Futterstücken, welche Chloroform-Extrakte von *Alpinia* sp. (Blatt, Rhizom) und *A. nutans* (Rhizom) enthielten. So erreichte das Raupengewicht nur 50% der Kontrolle im Falle des Blattextraktes von *Alpinia* sp., während die Rhizomextrakte von *Alpinia* sp. und *A. nutans* zu einer Reduktion auf lediglich 30% führten. Der Vergleich der nach vier und sechs Tagen erhobenen Wachstumsdaten ließ bei allen Chloroform-Extrakten keine starke Abweichung erkennen. Die Letalitätswerte der Raupen gingen bei allen getesteten Chloroform-Extrakten nicht über 50% hinaus. Ein leichter Anstieg der Letalität war bei den anderen untersuchten Chloroform-Extrakten zu beobachten, wie beispielsweise *A. blepharocalyx* (Rhizom), *A. caerulea* (Wurzel), *A. conchigera* (Blatt und Wurzel), *A. galanga* (Rhizom), *A. purpurata* (Rhizom), *A. sanderæ* (Wurzel), *Alpinia* sp. (Blatt, Rhizom, Wurzel) und *A. nutans* (Rhizom). Im Gegensatz zu den anderen untersuchten Chloroform-Extrakten führten Rhizomextrakte von *Alpinia* sp. und *A. nutans* zu einer gestiegenen Letalität am sechsten Tag.

Parallel wurde auch ein Test mit einer Konzentration von 2,5 mg Trockensubstanz des Chloroform-Extrakts pro 1 g Futterstück durchgeführt (Abb. 20). Bei allen getesteten *Alpinia*-Arten, ausgenommen *A. conchigera* (Rhizom) und *A. purpurata* (Rhizom), konnte eine wachstumshemmende Wirkung nachgewiesen werden. Jedoch lagen die Wachstumswerte der Raupen bei *A. conchigera* (Rhizom) und *A. purpurata* (Rhizom) nur knapp über der Kontrolle. Eine starke Wachstumshemmung ergab sich bei Chloroform-Extrakten von *A. galanga* (Rhizom), *A. malaccensis* (Rhizom), *A. purpurata* (Blatt), *Alpinia* sp. (Blatt, Rhizom) und *A. nutans* (Rhizom), welche zu einem Insektenwachstum von maximal 40% der Kontrolle führten. Die Chloroform-Extrakte von *A. galanga* (Rhizom),

A. malaccensis (Blatt), *A. purpurata* (Blatt) und *Alpinia* sp. (Blatt, Rhizom) führten zu einer hohen Letalitätsrate. Bei *A. purpurata* (Blatt) zeigte der Vergleich der Daten nach vier und sechs Tagen eine deutlich gestiegene Letalität am sechsten Tag. Den höchsten Letalitätswert (100%) erzielte der Chloroform-Extrakt von *A. nutans* (Rhizom). Schon am vierten Auswertungstag waren alle Raupen gestorben.

Der Vergleich der erhobenen Daten von 1 mg (Abb. 19) und 2,5 mg (Abb. 20) Trockensubstanz pro 1 g Futterstück ließ die generelle Reduzierung des Raupenwachstums in der höheren Konzentration erkennen. Vor allem waren die Letalitätswerte bei *A. malaccensis* (Blatt) und *A. purpurata* (Blatt) in der höheren Konzentration stark gestiegen. Beim Chloroform-Extrakt von *Alpinia* sp. (Rhizom) und *A. nutans* (Rhizom) konnte die stärkste insektizide Wirkung nachgewiesen werden. Bereits die niedrige Konzentration erzielte eine deutliche Wachstumshemmung und hohe Letalitätsrate der Raupen.

6.2.2.2. Test der Trockensäulen-Fractionen von *A. nutans* und *Alpinia* sp.

Aufgrund der stark toxischen Wirkung der Chloroform-Extrakte von *A. nutans* (Rhizom) und *Alpinia* sp. (Rhizom) wurden die beiden Chloroform-Extrakte mittels Trockensäule aufgetrennt und die dabei erhaltenen Fraktionen erneut an *S. littoralis* getestet. Die lipophilen Fraktionen F 1_{I+II} und F 3_I von *A. nutans* (Rhizom) wiesen im Fraßversuch nach vier Tagen eine starke wachstumshemmende Wirkung auf (Abb. 21). Diese Wirkung war in Fraktion F 5_I mäßig und in F 3_{II} und F 5_{II} nur mehr gering vorhanden. Die Fraktionen F 4_I und F 6_I beeinträchtigten das Raupenwachstum nicht. Die Letalitätswerte korrelierten gut mit den Wachstumswerten: Beide Fraktionen F 1_{I+II} und F 3_I wirkten nicht nur wachstumshemmend, sondern führten auch zu einer hohen Letalitätsrate. Die Datenauswertung nach sechs Tagen lieferte vergleichbare Werte, wobei das Raupenwachstum in Fraktion F 3_{II} deutlich stärker gehemmt wurde. Auch in Fraktion F 3_I, F 3_{II}, F 5_I, F 5_{II} und F 6_I war eine erhöhte Wachstumshemmung bemerkbar. Die Letalitätskurve zeigte, mit Ausnahme eines leichten Anstiegs in F 3_I, keine Veränderungen. Anschließend wurden die Fraktionen mit HPLC analysiert. Dabei konnten die in dieser Arbeit isolierten Stoffe in den Fraktionen vorgefunden werden. Ein eindeutiger Bezug zwischen insektizider Wirkung und diesen Stoffen konnte nicht hergestellt werden.

Die in den Trockensäulen-Fractionen F 1_I, F 1_{II} und F 2_I von *Alpinia* sp. enthaltenen Verbindungen führten nach vier Tagen zu einer hohen Letalitätsrate von *S. littoralis*, womit diese Fraktionen eine gute insektizide Wirkung aufwiesen (Abb. 22). Die wachstumshemmende Wirkung verringerte sich in weiterer Folge ab Fraktion F 3_I, stieg jedoch ab F 6_{II} wieder deutliche an. Nach sechs Tagen war das Raupenwachstum in den

Fraktionen F 3_I, F 3_{II}, F 4_I und F 6_I weiter gesunken. Die Letalitätswerte blieben jedoch sowohl nach vier als auch nach sechs Tagen unverändert. Im Übrigen wurden in den Trockensäulen-Fraktionen von *Alpinia* sp. die in dieser Arbeit isolierten Stoffe identifiziert, allerdings lässt sich kein eindeutiger Bezug zwischen insektizider Wirkung und diesen Stoffen herstellen.

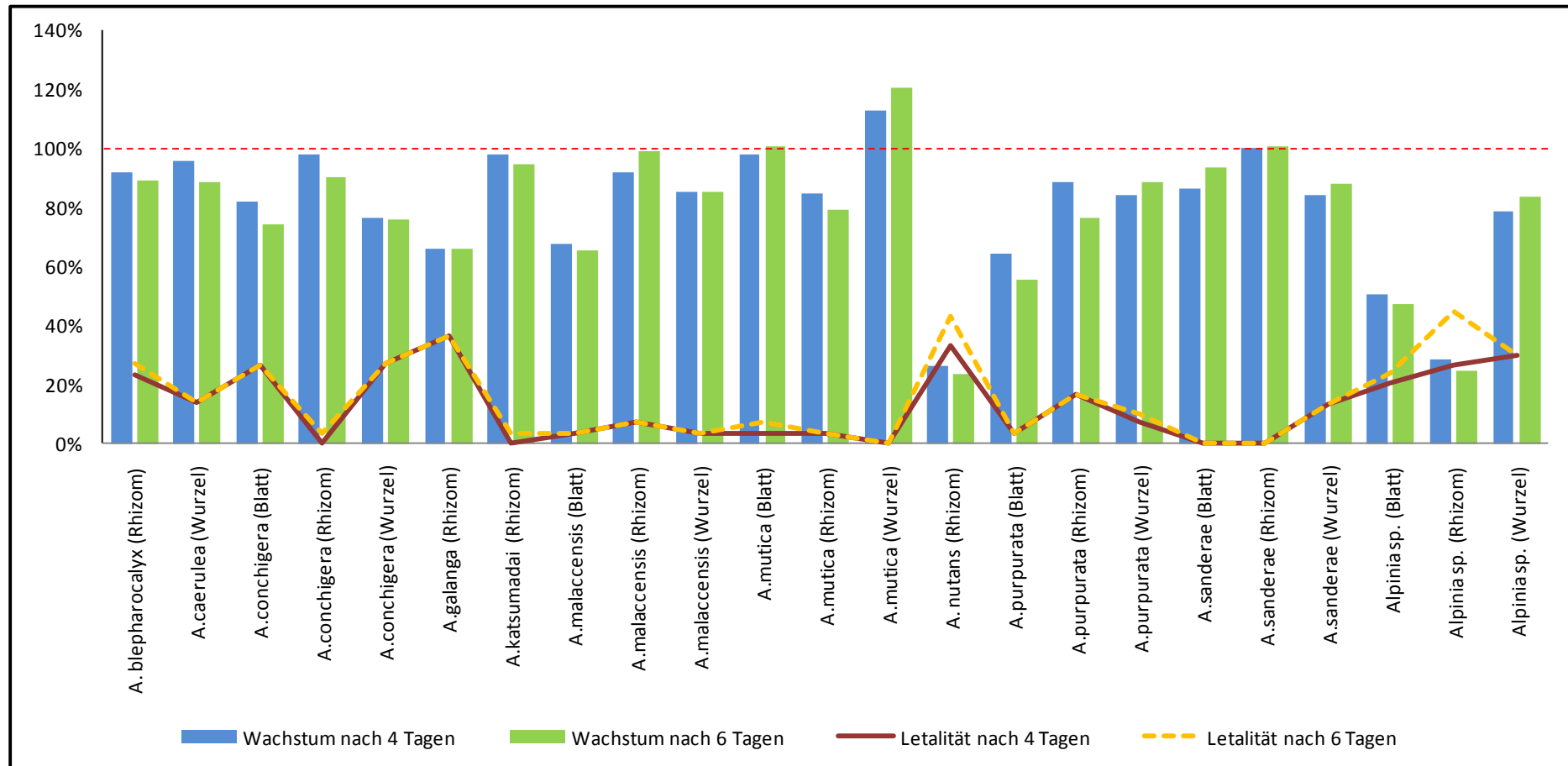


Abb. 19: Übersicht der getesteten CHCl_3 -Extrakte ausgewählter *Alpinia*-Arten mit einer Konzentration von **1 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück. Das prozentuelle Wachstum ist in Balken, die prozentuelle Letalität in Linien angegeben. Die Auswertung erfolgte nach 4 und 6 Tagen. Die Kontrolle (=100%) ist mit der rot gestrichelten Linie dargestellt.

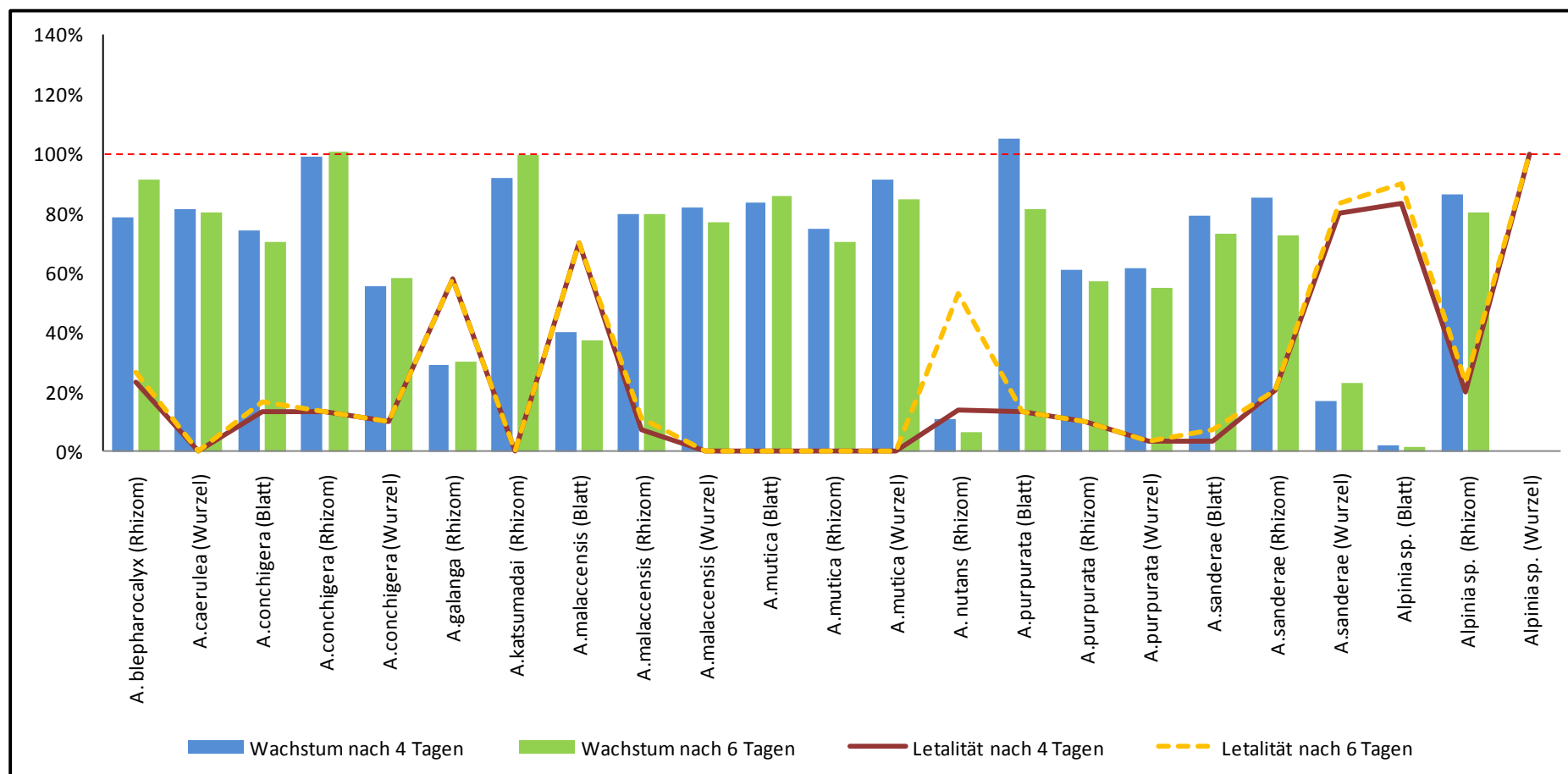


Abb. 20: Übersicht der getesteten CHCl_3 -Extrakte ausgewählter *Alpinia*-Arten mit einer Konzentration von **2,5 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück. Das prozentuelle Wachstum ist in Balken, die prozentuelle Letalität in Linien angegeben. Die Auswertung erfolgte nach 4 und 6 Tagen. Die Kontrolle (=100%) ist mit der rot gestrichelten Linie dargestellt.

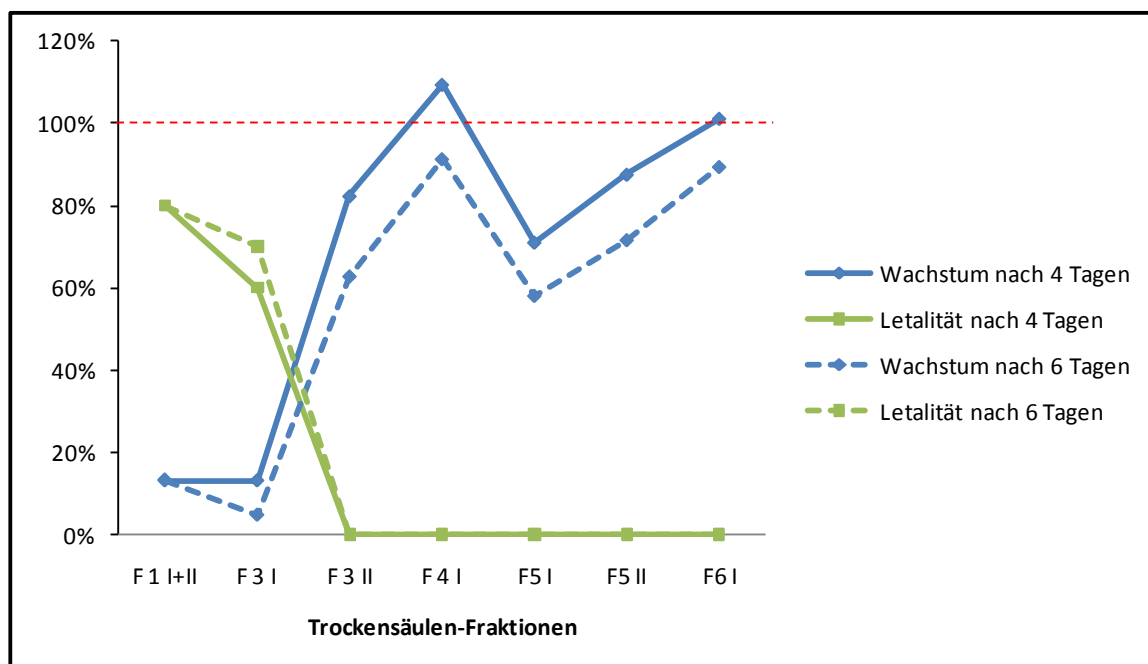


Abb. 21: Getestete Trockensäulen-Fractionen von *A. nutans* (Rhizom) mit einer Konzentration von **2,5 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück. Die Grafik veranschaulicht die wachstumshemmende und letale Wirkung bei *S. littoralis*. Die Kontrolle (=100%) ist mit der rot gestrichelten Linie dargestellt. Eluiert wurde mit den aus Tabelle 5 ersichtlichen Lösungsmitteln.

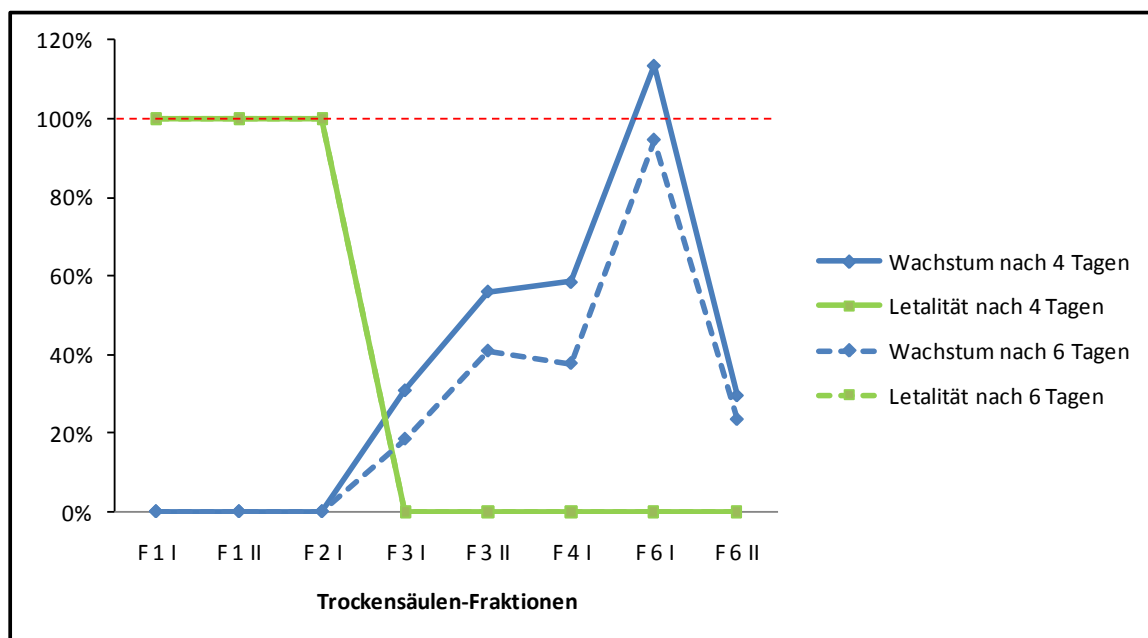


Abb. 22: Getestete Trockensäulen-Fractionen von *Alpinia* sp. (Rhizom) mit einer Konzentration von **2,5 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück. Die Grafik zeigt die wachstumshemmende und letale Wirkung bei *S. littoralis*. Die Kontrolle (=100%) ist mit der rot gestrichelten Linie dargestellt. Eluiert wurde mit den aus Tabelle 5 ersichtlichen Lösungsmitteln.

7. Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Stoffe aus drei Arten der Gattung *Alpinia* isoliert. Außerdem konnten durch Bioassays mit den Testorganismen *Spodoptera littoralis* und *Cladosporium sphaerospermum* Aussagen über insektizide und antifungale Wirkungen von Extrakten unterschiedlicher *Alpinia*-Arten getroffen werden.

7.1. Freies Indol in der Gattung *Alpinia*

In den Chloroform-Extrakten von *A. nutans* (Rhizom), *A. nieuwenhuizii* (Rhizom) und *Alpinia* sp. (Rhizom, Blatt) konnte freies Indol in unterschiedlichen Mengen identifiziert werden. Ein Vorkommen von freiem Indol in Zingiberaceae ist in der Literatur bisher nicht beschrieben. Nur Indol-hältige Verbindungen, wie zum Beispiel Monoterpen-Indol-Alkaloide, konnten aus *Aframomum melegueta* K.SCHUM. isoliert werden (Okwu, 2010). Das Pflanzenmaterial, bei dem freies Indol vorgefunden wurde, stammt von unterschiedlichen Standorten – aus dem Botanischen Garten in Delft (Niederlande) und von der Insel Sekayu (Malaysia). Somit kann das Auftreten von freiem Indol aufgrund gleicher Standortverhältnisse ausgeschlossen werden. Die Akkumulation von freiem Indol ist bei Bakterien und Pilzen zu beobachten (Sasaki-Imamura et al., 2010; Lee et al., 2010; Arevalo-Villena et al., 2010), ist jedoch auch von höheren Pflanzen bekannt (Frey et al., 2000). Bei *Zea mays* wird beispielsweise die Bildung von freiem Indol durch das spezielle Enzym IGL (Indol-3-glycerol Phosphat-Lyase) katalysiert. Dieses der Tryptophanase homologe Enzym wird ausschließlich von Volicitin aktiviert. Volicitin besteht aus einer Linolsäure, die mit einem Glutamin verbunden ist. Das Enzym ist im oralen Sekret von Larven der Gattung *Spodoptera* enthalten. Aufgrund des Befalls der Pflanze durch Insekten tritt diese Verbindung mit IGL in Kontakt, das die Bildung von freiem Indol katalysiert. Diese flüchtige Verbindung lockt parasitische Wespen an, die die Larven attackieren. Das Vorkommen des Enzyms IGL in Zingiberaceae wurde bisher nicht nachgewiesen. Außerdem deutet die starke bioaktive Stoffausstattung der Ingwergewächse eher auf konstitutive als auf induzierte Abwehrmechanismen hin.

Eine weitere Möglichkeit, die das Vorkommen von freiem Indol erklären könnte, wäre das Vorkommen von endophytischen Organismen, die freies Indol produzieren können, wie zum Beispiel Bakterien. In diesen dient freies Indol vor allem als interzelluläres Signalmolekül. Es regelt außerdem diverse Vorgänge der bakteriellen Physiologie, wie zum Beispiel die Plasmidstabilität, die Sporenbildung, die Arzneiresistenz, und die Biofilmbildung. Fast alle von Lee et al. (2010) getesteten Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien konnten freies Indol produzieren. Actinomyceten und

Streptomyceten wurden bereits von der Gattung *Alpinia* isoliert und können Indol-Derivate, wie zum Beispiel Indol-3-Essigsäure, Indol-3-Carbonsäure oder Indol-3-Brenztraubensäure, produzieren (Taechowisan et al., 2003; Taechowisan et al., 2008). Die Synthese von freiem Indol wurde jedoch nicht nachgewiesen. Außerdem deuten die Literaturangaben auf ein Vorkommen von endophytischen Bakterien ausschließlich in den Wurzeln hin. Das in der vorliegenden Arbeit identifizierte Indol konnte jedoch nur in den Blättern und im Rhizom identifiziert werden. Aufgrund der starken bioaktiven Stoffe im Rhizom wäre zudem ein Vorkommen von Actinomyceten unwahrscheinlich. Bussaban et al. (2003) konnte endophytische Pilze aus der Gattung *Alpinia* isolieren, und erst kürzlich wurden aus *A. malaccensis* mehrere Pilzendophyten isoliert und kultiviert (Zahradnik, 2010). *Pyricularia costina* SARBAJNA und drei weitere unbekannte *Pyricularia*-Arten wurden hingegen auf den Blättern von *A. malaccensis* nachgewiesen. Anzumerken ist jedoch, dass es derzeit keine Angaben zur Akkumulation von freiem Indol durch *Pyricularia* oder endophytische Pilze gibt. Eine Indol-Akkumulation von epiphytischen Pilzen kann auch deshalb ausgeschlossen werden, da an den Blättern der in dieser Arbeit untersuchten Pflanzen kein Pilzbefall erkennbar war.

Der Literatur ist auch zu entnehmen, dass Auxine, die aus einem Indolgerüst bestehen und in allen Pflanzen vorkommen, durch Oxidase-Enzyme oder UV-Strahlung abgebaut werden können (Chaoui et al., 2004). Ob eine Degradation zu freiem Indol möglich ist, ist bisher jedoch ungeklärt.

7.2. Bioaktivität

Es konnten in allen Organen der getesteten *Alpinia*-Arten antifungale Substanzen nachgewiesen werden, wobei die Inhaltsstoffe der Rhizome die größte Wirksamkeit zeigten. (Abb. 17, 18). In den Wurzeln ist die antifungale Aktivität deutlich geringer. Dies liegt vermutlich an der geringeren Konzentration von wirksamen Substanzen in den Wurzeln. Die Daten in der Literatur bestätigen die antifungalen Aktivitäten in der Gattung *Alpinia* (Haraguchi et al., 1996; Ray et al., 1976; Halijah et al., 2009; Pancharoen et al., 2000). Interessanterweise konnten auch Stoffe detektiert werden, die wachstumsfördernde Eigenschaften gegenüber *C. sphaerospermum* aufweisen. Bei diesen eher hydrophilen Stoffen dürfte es sich vermutlich um Glykoside handeln, die das Wachstum von Pilzen positiv beeinflussen. Anzumerken ist auch, dass diese wachstumsfördernden Stoffe vor allem in den Wurzeln der Testpflanzen enthalten sind. Möglicherweise sind die im Wurzelschleim enthaltenen niedermolekularen organischen Verbindungen für die Wachstumssteigerung verantwortlich (Pinton et al., 2007). Abschließend ist zu sagen, dass die Bioautographie auf Dünnschichtplatten eine leichte und schnelle Anwendung ist, die sie zum idealen Testsystem für Routine-Analysen macht. Für ein tieferes Verständnis von antifungalen Naturstoffen sollten jedoch

mehrere Pilzarten getestet werden. Zudem sollten mehrere Bioassay-Techniken zum Einsatz kommen, um beobachtete Hemmeffekte abzusichern.

Der Biotest mit *Spodoptera littoralis* zeigt, dass die insektizide Wirkung von Pflanzenextrakten der Gattung *Alpinia* sehr divers und offenbar organspezifisch ist (Abb. 19, 20). Der Blattextrakt von *A. malaccensis* zeigt starke wachstumshemmende und letale Wirkungen, die im Rhizom- und Wurzelextrakt nicht nachweisbar sind. Von den elf getesteten *Alpinia*-Arten zeigen *A. galanga*, *A. malaccensis*, *A. purpurata*, *A. nutans* und *Alpinia* sp. deutliche toxische Wirkungen. Die insektiziden Aktivitäten von *A. galanga* sind bereits bekannt (Riyanto et al., 1998), zu den anderen Arten existieren bisher keine Literaturangaben. Nach Riyanto et al. (1998) dürfte im Rhizom von *A. galanga* 1-Acetoxy-chavicol-acetat, ein Phenylpropan, für die insektizide Wirkung verantwortlich sein. Jedoch zeigen andere Pflanzenextrakte, in denen das Phenylpropan identifiziert wurde (z.B. von *A. conchigera*; Gilli, in Vorb.), keine starke insektizide Aktivität. Möglicherweise könnte dies an einer zu geringen Stoffkonzentration liegen. Die an sich stark toxischen Extrakte führen außerdem zu einer unterschiedlichen Letalitätsrate der Raupen. Extrakte von *A. galanga* und *A. malaccensis* führen bei einer Konzentration von 2,5mg pro 1 g Futterstück bereits ab dem vierten Tag zum Letalitätsmaximum bei den Raupen. Dies lässt vermuten, dass jene Raupen, die das Toxin von Beginn an verarbeiten können, in gewisser Weise resistent werden. Bei den Extrakten von *A. purpurata* steigt die Letalität der Raupen erst nach dem vierten Tag deutlich an. Dies könnte an einer verzögerten toxischen Wirkung liegen. Möglicherweise ist auch eine größere Menge des Toxins, bzw. eine längere Einnahmezeit ausschlaggebend.

Die stark insektizid wirkenden Extrakte von *A. nutans* (Rhizom) und *Alpinia* sp. (Rhizom) wurden mit einer Trockensäule aufgetrennt und anschließend auf ihre insektiziden Wirkungen untersucht. Die stark wachstumshemmenden Fraktionen F 1_{I+II} und F 3_I von *A. nutans* beinhalten einige in dieser Arbeit isolierten Stoffe, die möglicherweise für die Wirkung verantwortlich sind. 3-H-Indol (**IN**), Zimtsäuremethylester (**ZI**) und 2,4-Dimethoxy-6-Hydroxychalkon (**FL**) sind in Fraktion F 1_{I+II} vorhanden. In Fraktion F 3_I fehlt 3-H-Indol und wird durch 1,7-Diphenyl-5(E)-hepten-3-on-4-ol (**CU**) ersetzt. Die Fraktionen F 1_I, F 1_{II} und F 2_I von *Alpinia* sp. beinhalten Zimtsäuremethylester (**ZI**). In Fraktion F 1_{II} und F 2_I ist auch 3-H-Indol (**IN**) in kleinsten Mengen vorhanden. Der Literaturvergleich bestätigt die insektizide Wirkung von Zimtsäuremethylester (**ZI**) (Kiuchi et al., 1988). Zu den anderen Substanzen ist diesbezüglich jedoch noch nichts bekannt.

Obwohl der Ablauf der Tests schon gut standardisiert wurde, können trotzdem aufgrund seiner Komplexität einige Fehlerquellen auftreten. Zum einen reagieren die Raupen sehr sensibel auf unterschiedliche Lösungsmittel, die für die Futterkuchenzubereitung verwendet werden, zum anderen können Fehler beim Auszählen und Wiegen der

Raupen auftreten. Bei Tests mit lebenden Organismen müssen immer unterschiedliche Parameter berücksichtigt werden. Daher wurde in diesem Bereich mit standardisierten Methoden gearbeitet, um mögliche Fehlerquellen weitgehend auszuschließen. Jedenfalls ergeben die hier vorliegenden Befunde weitere Ansatzpunkte für gezieltere Untersuchungen der verschiedenen Stoffklassen und ihrer insektiziden Aktivitäten. Die statistische Signifikanz der Ergebnisse könnte bei noch größerer Probenzahl verbessert und somit die Aussagekraft deutlich erhöht werden.

8. Literaturverzeichnis

Adel, A. E., Abdou Naida, A., El-Taher, Z.S., Hosny, A.E., 1993. Synthesis and biological activity of functionalized indole-2-carboxyates, triazino and pyridazino indoles. Alexandria Journal of Pharmaceutical Science 7, 99-103.

Agrawal, A. A., Gorski, P. M., Tallamy, D. W., 1999. Polymorphism in Plant Defense Against Herbivory: Constitutive and Induced Resistance in *Cucumis sativus*. Journal of Chemical Ecology, 25, 2285-2304.

Alakurtti, S., Koskimies, S., Yli-Kauhaluoma, J., 2006. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin. European Journal of Pharmaceutical Science, 29, 1–13.

Arevalo-Villena, M., Bartowsky, E.J., Capone, D., Sefton, M.A., 2010. Production of indole by wine-associated microorganisms under oenological conditions. Food Microbiology, 27, 685-690.

Atsatt, P. R., O'Dowd, D. J., 1976. Plant defense guilds. Science, 193, 24-29.

Barmejo, P., Abad, M.J., Diaz, A.M., Fernandez, L., Santos, J.D., Sanchez, S., Villaescusa, L., Carrasco, L., Irurzun, A., 2002. Antiviral activity of seven iridoids, three saikosaponins and one phenylpropanoid glycoside extracted from *Bupleurum rigidum* and *Scrophularia scorodonia*. Planta Medica, 68, 106-110.

Batovska, D., Parushev, St., Slavova, A., Bankova, V., Tsvetkova, I., Ninova, M., Najdenski, H., 2007. Study on the substituents' effects of a series of synthetic chalcones against the yeast *Candida albicans*. European Journal of Medicine Chemistry, 42, 87–92.

Bishop, R., 1960. High resolution hydrogen resonance spectra of some substituted ethylenes. Molecular Physics, 3, 114-116.

Bouvier, F., Rahier, A. and Camara, B., 2005. Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids. Lipid Research Clinics Program, 44, 357–429.

Bussaban, B., Lumyong, P., Hyde, K.D., McKenzie, E.H.C., 2003. Three new species of *Pyricularia* are isolated as zingiberaceous endophytes from Thailand. Mycologia, 95, 519-524.

Carroll, M., Hanlon, A., Hanlon, T., Zangerl, A. R., Berenbaum, M. R., 1997. Behavioral Effects of Carotenoid Sequestration by the Parsnip Webworm *Depressaria pastinacella*. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 2707-2719.

Chaoui, A., El Ferjani, E., 2005. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *Comptes Rendus Biologies*, 328, 23-31.

Chen, J.J., Wei, Y., Drach, J.C., Townsend, L.B., 2000. Synthesis and Antiviral Evaluation of Trisubstituted Indole *N*-Nucleosides as Analogues of 2,5,6-Trichloro-1-(β -D-ribofuranosyl)benzimidazole (TCRB). *Medical Chemistry*, 43, 2449-2456.

Chong, J., Poutaraud, A., Hugueney, P., 2009. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*, 177, 143-155.

Chopra, I.C., Khajuria, B.N., Chopra, C.L., 1957. Antibacterial properties of volatile principles from *Alpinia galanga* and *Acorus calamus*. *Antibiotics and Chemotherapy*, 7, 378-383.

Chowdhury, H., Walia, S., Saxena, V.S., 2000. Isolation, characterization and insect growth inhibitory activity of major turmeric constituents and their derivatives against *Schistocerca gregaria* (Forsk) and *Dysdercus koenigii* (Walk). *Pest Management Science*, 56, 1086-1092.

Cohen, L.A., Daly, J.W., Kny, H., Witkop, B., 1960. Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Indoles. *Journal of the American Chemistry Society*, 82, 2184-2187.

Corson, T.W., Crews, C.M., 2007. Molecular understanding and modern application of traditional medicines: triumphs and trials. *Cell* 130, 769–774.

Cumar, M.A.S., Oommen, O.V., Aggarwal, B.B., 2006. Isodeoxyelephantopin, a novel sesquiterpene lactone, potentiates apoptosis, inhibits invasion, and abolishes osteoclasto-genesis through suppression of nuclear factor- κ B(NF- κ B) activation and NF- κ B-regulated gene expression. *Clinical Cancer Research*, 12, 5910–5918.

Dandia, A., Sehgal, V., Singh, P., 1993. *Indian Journal of Chemistry*, 32B, 1288-1291.

Després, L., David, J.-P., Gallet, C., 2007. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in Ecology and Evolution*, 22, 298-307.

Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F., 1999. Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Science*, 65, 337-353.

Dimmock, J.R., Elias, D.W., Beazely, M.A., Kandepu, N.M., 1999. Bioactivities of Chalcones. *Current Medicinal Chemistry*, 6, 1125-1149.

Dugan, F. M., Schubert, K., Braun, U., 2004. Check-list of *Cladosporium* names. *Schlechtendalia*, 11, 1-103.

Duke, S.O., Rex, R.P., Lee, S.M., 1988. Terpenoids from the Genus *Artemisia* as Potential Pesticides. *Biologically Active Natural Products*, 21, 318-334.

Eisentraeger, A., Brinkmann, C., Hollert, H., Sagner, A., Tiehm, A., Neuwoehner, J., 2008. Heterocyclic compounds: Toxic effects using algae, daphnids, and the Salmonella/Microsome test taking methodical quantitative aspects into account. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, 1590–1596.

Efferth, T., 2007. Antiplas-modial and antitumor activity of Artemisinin – from bench to bedside. *Planta Medica*, 73, 299–309.

Elger, A., Lemoine, D. G., Fenner, M., Hanley, M. E., 2009. Plant ontogeny and chemical defence: older seedlings are better defended. *Oikos*, 118, 767-773.

El-Ghorab, A. H., Nauman, M., Anjum, F. M., Hussain, S., Nadeem, M., 2010. A Comparative Study on Chemical Composition and Antioxidant Activity of Ginger (*Zingiber officinale*) and Cumin (*Cuminum cyminum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8231-8237.

Engelmeier, D., 1997. Antifungale Isocumarine aus der *Artemisia Dracunculus*-Gruppe (Asteraceae): Verbreitung und Bioaktivität. Diplomarbeit, Universität Wien.

Ferro, S., Barreca, M. L., De Luca, L., Rao, A., Monforte, A.M., Debyser, Z., Witvrouw, M., Chimirri, A.A., 2007. New 4-[(1-Benzyl-1H-indol-3-yl) carbonyl]-3-hydroxyfuran-2 (5H)-ones, β -Diketo Acid Analogs as HIV-1 Integrase Inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 340, 292-298.

Fibiger, M., Hacker, H., 2007. *Noctuidae Europaea*, 9. Bd., Entomological Press, Sorø.

Fiorillo, C., Becatti, M., Pensalfini, A., Cecchi, C., Lanzilao, L., Donzelli, G., Nassi, N., Giannini, L., Borch, E., Nassi, P., 2008. Curcumin protects cardiac cells against ischemia-reperfusion injury: Effects on oxidative stress, NF-kappaB, and JNK pathways. *Free Radical Biology Medicine*, 45, 839–846.

Francis, K.D., Mary, G.L., Raymond, M.K., 1996. PCT Int. Appl. WO, 9427987. *Chem. Abstr.*, 122, 187597.

Frey, M., Stettner, C., Paré, P.W., Schmelz, E.A., Tumlinson, J.H., Gierl, A., 2000. An herbivore elicitor activates the gene for indole emission in maize. *Plant Biology*, 97, 14801-14806.

Germann, P., 2009. Zur Stärkung von Herz und Leber: Pflanzenheilkunde nach Hildegard von Bingen. *Deutsche Heilpraktiker-Zeitschrift*, 4, 26-28.

Gilli, C., in Vorb.. Phytochemische Untersuchungen in der Gattung *Alpinia* (Zingiberaceae) zur Erfassung chemosystematisch relevanter Inhaltsstoffe. Diplomarbeit, Universität Wien.

Goodger, J. Q. D., Gleadow, R. M., Woodrow, I. E., 2006. Growth cost and ontogenetic expression patterns of defence in cyanogenic *Eucalyptus* spp. *Trees*, 20, 757-765.

Gowda, J. H., Palo., R. T., 2003. Age-related changes in defensive traits of *Acacia tortilis* Hayne. *African Journal of Ecology*, 41, 218-223.

Gueidan, C., Ruibal Villaseñor, C., Hoog, de, G. S., Gorbushina, A. A., Untereiner, W. A., Lutzoni, F., 2008. A rock-inhabiting ancestor for mutualistic and pathogen-rich fungal lineages. *Studies in Mycology*, 61, 111-119.

Halijah, I., Aziz, A.N., Syamsir, D.S., Ali, N.A.M., Mohtar, M., Ali R.M., Awang K., 2009. Essential oils of *Alpinia conchigera* Griff. and their antimicrobial activities. *Food Chemistry*, 113, 575-577.

Haraguchi, H., Kuwata, Y., Inada, K., Shingu, K., Miyahara, K., Nagao, M., Yagi, A., 1996. Antifungal Activity from *Alpinia galanga* and the Competition for Incorporation of Unsaturated Fatty Acids in Cell Growth. *Planta Medica*, 62, 308-313.

Harborne, J. B., 1988. *Introduction to Ecological Biochemistry*. 3. Ed., Academic Press, London.

Hatcher, H., Planalp, R., Cho, J., Torti, F.M., Torti, S.V., 2008. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. *Cell Molecular Life Science*, 65, 1631–1652.

Hegnauer R., 1963. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. 2. Bd., Birkhäuser Verlag, Holland.

Hoehle, S.I., Pfeiffer, E., Solyom, A.M., Metzler, M., 2006. Metabolism of curcuminoids in tissue slices and subcellular fractions from rat liver. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 756-764.

Holzinger, F., Wink, M., 1996. Mediation of cardiac glycoside insensitivity in the Monarch butterfly (*Danaus plexippus*): Role of an amino acid substitution in the ouabain binding site of Na⁺,K⁺-ATPase. *Journal of Chemical Ecology*, 22, 1921-1937.

Hoog, de, G. S., Guarro, J., Gené, J., Figueras, M. J., 2000. *Atlas of clinical fungi*. 2. Ed., Fungal Biodiversity Centre, Utrecht.

Hussein, G., Sankawa, U., Goto, H., Matsumoto, K., Watanabe, H., 2006. Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition. *Journal of Natural Products*, 69, 443–449.

Izumi-Nagai, K., Nagai, N., Ohgami, K., Satofuka, S., Ozawa, Y., Tsubota, K., Umezawa, K., Ohno, S., Oike, Y., Ishida, S., 2007. Macular pigment lutein is antiinflammatory in preventing choroidal neovascularization. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27, 2555–2562.

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

Jeong, H. J., Koo, H.N., Na, H. J., Kim, M.S., Hong, S.H., Eom, J.W., Kim, K.S., Shin, T.Y., Kim, H. M., 2002. Inhibition of TNF- α and IL-6 production by aucubin through blockade of NF- κ B activation in RBL-2H3 mast cells. *Cytokine*, 18, 252–259.

Jurgens, T.M., Frazier, E.G., Schaeffer, J.M., Jones, T.E., Zink, D.L., Borris, R.P., 1994. Novel Nematocidal Agents from *Curcuma comosa*. *Journal of Natural Products*, 57, 230-235.

Kanehisa Laboratories, 2010. Kyoto Encyclopedia at genes and genomes. Bioinformatics Center, Institute for Chemical Research, Kyoto University. Zugriff: 16.11.2010. http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map00940

Kearsley, M. J. C., Whitham, T. G., 1989. Developmental changes in resistance to herbivory: implications for individuals and populations. *Ecology*, 70, 422-434.

Kim, Y.H., Kim, J., Park, H., Kim, H.P., 2007. Anti-inflammatory Activity of the Synthetic Chalcone Derivatives: Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase-Catalyzed Nitric Oxide Production from Lipopolysaccharide-Treated RAW 264.7 Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30, 1450–1455.

Kimura, Y., Baba, K., 2003. Antitumor and antimetastatic activities of *Angelica keiskei* roots, part 1: Isolation of an active substance, xanthoangelol. *International Journal of Cancer*, 106, 429–437.

Kita, T., Imai, S., Sawada, H., Kumagai, H., Seto, H., 2008. The Biosynthetic Pathway of Curcuminoid in Turmeric (*Curcuma longa*) as Revealed by ¹³C-Labeled Precursors. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 72, 1789–1798.

Kiuchi, F., Nakamura, N., Tsuda, Y., Kondo, K., Yoshimura, H., 1988. Larvicidal against 20 second stage larvae of *Toxocara canis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36, 412-415.

Korkina, L.G., 2007. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: From plant defense to human health. *Cellular and Molecular Biology*, 53, 15-25.

Kravchenko, V. D., Fibiger, M., Mooser, J., Junnila, A., Müller, G. C., 2008. The tribes Prodeniini and Caradrinini of Israel (Lepidoptera: Noctuidae, Xyleninae). *Sociedad Hispano-Luso-Americana de Lepidopterología Revista de Lepidopterología*, 36, 133-143.

Kress, W. J., Liu A., Newman, M., Li, Q., 2005. The molecular phylogeny of *Alpinia* (Zingiberaceae): A complex and polyphyletic genus of gingers. *American Journal of Botany*, 92, 167-178.

Kress, W. J., Newman, M. F., Poulsen, A. D., Specht, C., 2007. An analysis of generic circumscriptions in tribe Alpinieae (Alpiniodeae: Zingiberaceae). *Garden's Bulletin Singapore*, 59, 113-128.

Kress, W. J., Prince, L. M., Williams, K. J., 2002. The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): Evidence from molecular data. *American Journal of Botany*, 89, 1682-1696.

Krishna, B.M., Chaganty, R.B., 1973. Cardamonin and alpinetin from the seeds of *Alpinia speciosa*. *Phytochemistry*, 12, 238.

Kunnumakkara, A.B., Anand, P., Aggarwal, B.B., 2008. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Letter*, 269, 199–225.

Lafontaine, J. D., Fibiger, M., 2006. Revised higher classification of the Noctuoidea (Lepidoptera). *Canadian Entomologist*, 138, 610-635.

Lee, J.H., Lee, J., 2010. Indole as an intercellular signal in microbial communities. *FEMS Microbiological Review*, 34, 426–444.

Lee, S.E., Shin, H.-T., Hwang, H.J., Kim, J.H., 2003. Antioxidant activity of extracts from *Alpinia katsumadai* seed. *Phytotherapy Research*, 17, 1041-1047.

Li, H.L., Liu, C., de Couto, G., Ouzounian, M., Sun, M., Wang, A.B., Huang, Y., He, C.W., Shi, Y., Chen, X., Nghiem, M.P., Liu, Y., Chen, M., Dawood, F., Fukuoka, M., Maekawa, Y., Zhang, L., Leask, A., Ghosh, A.K., Kirshenbaum, L.A., Liu, P.P., 2008. Curcumin prevents and reverses murine cardiac hypertrophy. *Journal of Clinical Investigation*, 118, 879–893.

Linneus, C., 1753. *Species plantarum*. 1. Ed., 1. Bd., Lars Salvius, Stockholm.

Lü, J., Yuan, L., Wu, S., Zhang, Z., 2009. Contact Toxicity of Plant Powder Formulation of *Alpinia officinarum* Hance Rhizome against *Lasioderma serricorne* (Fabricius). *Chinese Tobacco Science*, 176, 65-71.

Ly, T.N., Shimoyamada, M., Koto, K., Yamauchi, R., 2003. Isolation and Characterization of some Antioxidative Compounds from the Rhizomes of Smaller Galanga (*Alpinia officinarum* Hance). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4924-4929.

Mallet, J., 2007. The Lepidoptera Taxome Project. Draft Proposals and Information. Centre for Ecology and Evolution, University College London. Zugriff: 01.10.2010. <http://www.ucl.ac.uk/taxome/>.

Manchester, S. R., 1993. Fossil bananas (Musaceae) – *Ensete-oregonense* sp. nov. from the Eocene of western North-America and its phytogeographic. *American Journal of Botany*, 80, 1264 -1272.

Miyazawa, M., Nakamura, Y., Ishikawa, Y., 2000. Insecticidal Sesquiterpene from *Alpinia oxyphylla* against *Drosophila melanogaster*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3639-3641.

Mohamad, Y.E., Sayed, M.L., Sobhy, M.E., Mansour, E.A., Zagazig, J., 1994. *Journal of Pharmaceutical Science*, 3, 40-48.

Ness, J. H., W. F. Morris, W. F., Bronstein, J. L., 2009. For ant-protected plants, the best defense is a hungry offense. *Ecology*, 90, 2823-2831.

Ngo, K.S., Brown, G.D., 1998. Stilbenes, monoterpenes, diarylheptanoids, labdanes and chalcones from *Alpinia katsumadai*. *Phytochemistry*, 47, 1117-1123.

Nishida, R., 2002. Sequestration of defensive substances from plants by Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 47, 57-92.

Nowakowska, Z., 2007. A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42, 125-137.

O'Hara, M.A., Kiefer, D., Farrell, K., Kemper, K., 1998. A review of 12 commonly used medicinal herbs. *Archives of Family Medicine* 7, 523–536.

Ode, P. J., 2006. Plant chemistry and natural enemy fitness: effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annual Review of Entomology*, 51, 163-185.

Okwu, D.E., 2010. Monoterpene indole alkaloid from *Aframomum melegueta*. *International Journal of Pharm Tech Research*, 2, 910 -913.

Painter, R. H., Weibel, D. E., 1951. European Corn Borer Damage to Grain Sorghums. *Journal of Economic Entomology*, 44, 796-798.

Pais, G.C.G., Zhang, X., Marchand, C., Neamati, N., Cowansage, K., Svarovskaia, E.S., Pathak, V.K., Tang, Y., Nicklaus, M., Pommier, Y., Burke, T.R., 2002. Structure Activity of 3-Aryl-1, 3-diketo-Containing Compounds as HIV-1 Integrase Inhibitors¹. *Journal of Medical Chemistry*, 45, 3184-3194.

Pancharoen, O., Prawat, U., P., 2000. Phytochemistry of the Zingiberaceae. *Studies in Natural Products Chemistry*, 23, 797-865.

Penzig, A.J.O., 1882. *Fungi Agromiculi*. *Michelia*, 2, 385–503.

Pinton, R., Varanini, Z., Nannipieri, P., 2007. The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. CRC Press, USA.

Raninger, A., 2009. Antifungale Inhaltstoffe der Gattungen Zingiber und Curcuma (Zingiberaceae) und ihre chemosystematische Bedeutung. Diplomarbeit, Universität Wien.

Ray, P.G., Majumdar, S.K., 1976. Antifungal flavonoid from *Alpinia officinarum* Hance. *Indian Journal of Experimental Biology*, 14, 712-714.

Reichling, J., Merkel, B., Hofmeister, P., 1991. Studies on the Biological Activities of Rare Phenylpropanoids of the Genus *Pimpinella*. *Journal of Natural Products*, 54, 1416–1418.

Reisch, J., Probst, W., Gröger, D., 1990. Die Anwendung der Hochdruckflüssigkeitschromatographie zur Trennung und Bestimmung von Acridonalkaloiden. *Pharmazie*, 45, 500-502.

Riyanto, D.S., Ohsawa, K., 1998. Lethal and Antifeedant Substance from Rhizome of *Alpinia galanga* SW. (Zingiberaceae). *Pesticide Science Society of Japan*, 23, 304-307.

Salminen, A., Lehtonen, M., Suuronen, T., Kaarniranta, K., Huuskonen, J., 2008. Terpenoids: Natural inhibitors of NF- κ B signaling with anti-inflammatory and anticancer potential. *Cellular and Molecular Life Science*, 65, 2979-2999.

Sasaki-Imamura, T., Yano, A., Yoshida, Y., 2010. Production of Indole from L-Tryptophan and Effects of these Compounds on Biofilm Formation by *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 4260–4268.

Schumann, K., 1904. Zingiberaceae, in: Engler, A., 1906. *Das Pflanzenreich*, 4. Bd., Wilhelm Engelmann Verlag, Leipzig, pp. 1-458.

Schwarz, M.K., 1994. Terpen-Bioynthese in *Ginkgo biloba*: Eine überraschende Geschichte. Thesis Nr. 10951, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich.

Sethi, G., Ahn, K.S., Pandey, M.K., Aggarwal, B.B., 2007. Celastrol, a novel triterpene, potentiates TNF-induced apoptosis and suppresses invasion of tumor cells by inhibiting NF- κ B-regulated gene products and TAK1-mediated NF- κ B activation. *Blood*, 109, 2727–2735.

Spotswood, E., Bradley, K. L., Knops, J., 2002. Effects of herbivory on the reproductive effort of 4 prairie perennials. *BMC Ecology*, 2, 1-8.

Stevens, P. F., 2008. Angiosperm Phylogeny Website. Zugriff: 29.09.2010. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>

Sundberg, R.J., 1996. *Indoles*. Academic Press, San Diego.

Tabata, K., Motani, K., Takayanagi, N., Nishimura, R., Asami, S., Kimura, Y., Ukiya, M., Hasegawa, D., Akihisa, T., Suzuki, T., 2005. Xanthoangelol, a major chalcone constituent of *Angelica keiskei*, induces apoptosis in neuroblastoma and leukemia cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28, 1404–1407.

Taechowisan, T., Chuaychot, N., Chanaphat, S., Wanbanjob, A., Shen, Y., 2008. Biological Activity of Chemical Constituents Isolated from *Streptomyces* sp. Tc052, an Endophyte in *Alpinia galanga*. *International Journal of Pharmacology*, 4, 95-101.

Taechowisan, T., Lumyong, P., 2003. Activity of endophytic actinomycetes from roots of *Zingiber officinale* and *Alpinia galanga* against phytopathogenic fungi. *Annals of Microbiology*, 53, 291-298.

Tanimoto, S., Tominaga, H., Okada, Y., Nomura, M., 2006. Synthesis and cosmetic whitening effect of glycosides derived from several phenylpropanoids. *Yakugaku Zasshi*, 126, 173-177.

Traw, M. B., Feeny, P., 2008. Glucosinolates and trichomes track tissue value in two sympatric mustards. *Ecology*, 89, 763-772.

Trivedi, J.C., Bariwal, J.B., Upadhyay, K.D., Naliapara, Y.T., Soshi, S.K., Pannecouque, C.C., De Clercq, E., Shah, A.K., 2007. Improved and rapid synthesis of new coumarinyl chalcone derivatives and their antiviral activity. *Tetrahedron Letter*, 48, 8472-8474.

Tseng, Y.-H., Liou, C.-Y., Ku, S.-M., Wang, C.-C., 2010. The Identity of *Alpinia koshunensis* Hayata (Zingiberaceae). *Taiwania*, 55, 67-71.

Wagner, D. L., 2001. Moths, in: Levin, S. A., 2001. *Encyclopedia of Biodiversity*, 4. Bd., Academic Press, San Diego, pp. 249-270.

Wernicke, W., Milkovits, L., 1987. Rates of uptake and metabolism of indole-3-acetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by cultured leaf segments at different stages of development in wheat. *Physiologia Plantarum*, 69, 23-28.

Woodhead, S., Chapman, R. F., 1986, in: Juniper, B., Southwood, R., 1986. *Insects and the plant surface*. Edward Arnold, Baltimore, pp. 123-136.

Wu, T. L., Larsen, K., 2000. Family Zingiberaceae, in: Wu, Z. G., Raven, P. H., 2004. *Flora of China*, 24. Bd., Science Press, Beijing, Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, pp. 322-377.

Yang, Y., Jiang, J., Qimei, L., Yan, X., Zhao, J., Yuan, H., Qin, Z., Wang, M., 2010. The Fungicidal Terpenoids and Essential Oil from *Litsea cubeba* in Tibet. *Molecules*, 15, 7075-7082.

Zacchino, S.A., López, S.N., Pezzenati, G.D., Furlán, R.L., Santecchia, C.B., Muñoz, L., Giannini, F.A., Rodríguez, A.M., Enriz, R.D., 1999. In Vitro Evaluation of Antifungal Properties of Phenylpropanoids and Related Compounds Acting Against Dermatophytes. *Journal of Natural Products*, 62, 1353-1357.

Zahradnik, C., 2010. Pilzendophyten aus *Alpinia malaccensis* und *Curcuma* sp.: Kultur, Sekundärstoffprofil und Bioaktivität. Diplomarbeit, Universität Wien.

Zalar, P., Hoog, de, G. S., Schroers, H. J., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., Gunde-Cimerman, N., 2007. Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with descriptions of seven new species from hypersaline environments. *Studies in Mycology*, 58, 157–183.

9. Anhang

9.1. Rohdaten des Bioassays mit *Spodoptera littoralis*

Tab. 10: Ermittelt am **19. und 25. Juni 2010**. Testkonzentration: **1 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück.

Pflanzenmaterial	Organ	Konzentration	Lösungsmittel	Rau- pen gesamt	AUSWERTUNG NACH 4 TAGEN						AUSWERTUNG NACH 6 TAGEN					
					Rau- pen lebend	Rau- pen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität	Rau- pen lebend	Rau- pen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität
<i>Alpinia blepharocalyx</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	10	3	7	5,8	1,9	52%	70%	3	7	27,3	9,1	40%	70%
<i>A. caerulea</i>	Wurzel	1mg/g	Aceton	10	10	0	29,9	3,0	81%	0%	10	0	201,3	20,1	88%	0%
<i>A. conchigera</i>	Blatt	1mg/g	Chloroform	10	5	5	9,7	1,9	52%	50%	5	5	51,2	10,2	45%	50%
<i>A. conchigera</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	11	11	0	43,8	4,0	108%	0%	11	0	240	21,8	95%	0%
<i>A. conchigera</i>	Wurzel	1mg/g	Chloroform	10	5	5	14,8	3,0	80%	50%	5	5	88,6	17,7	77%	50%
<i>A. galanga</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	10	2	8	4,5	2,3	61%	80%	2	8	30,8	15,4	67%	80%
<i>A. katsumadai</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	9	9	0	33,9	3,8	102%	0%	9	0	207,3	23,0	100%	0%
<i>A. malaccensis</i>	Blatt	1mg/g	Aceton	10	10	0	19,4	1,9	52%	0%	10	0	116,6	11,7	51%	0%
<i>A. malaccensis</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	10	10	0	21,1	2,1	57%	0%	10	0	160,3	16,0	70%	0%
<i>A. malaccensis</i>	Wurzel	1mg/g	Aceton	9	8	1	16,4	2,1	55%	11%	8	1	99,4	12,4	54%	11%
<i>A. mutica</i>	Blatt	1mg/g	Aceton	9	8	1	25,5	3,2	86%	11%	8	1	157,6	19,7	86%	11%
<i>A. mutica</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	10	10	0	20	2,0	54%	0%	10	0	155,6	15,6	68%	0%
<i>A. mutica</i>	Wurzel	1mg/g	Aceton	9	9	0	33,9	3,8	102%	0%	9	0	259,3	28,8	125%	0%
<i>A. nutans</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	10	4	6	2,6	0,7	19%	60%	3	7	9,4	3,1	19%	70%
<i>A. purpurata</i>	Blatt	1mg/g	Aceton	10	10	0	22,2	2,2	60%	0%	10	0	118,6	11,9	52%	0%
<i>A. purpurata</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	10	10	0	32,8	3,3	96%	0%	10	0	125	12,5	75%	0%
<i>A. purpurata</i>	Wurzel	1mg/g	Chloroform	11	11	0	28,4	2,6	76%	0%	10	1	133,8	13,4	80%	9%
<i>A. sanderae</i>	Blatt	1mg/g	Chloroform	11	11	0	39,2	3,6	96%	0%	11	0	292,9	26,6	116%	0%
<i>A. sanderae</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	9	9	0	26,6	3,0	80%	0%	9	0	175,2	19,5	85%	0%
<i>A. sanderae</i>	Wurzel	1mg/g	Methanol	9	9	0	36,7	4,1	120%	0%	9	0	213	23,7	142%	0%
<i>Alpinia</i> sp.	Blatt	1mg/g	Chloroform	10	5	5	9,5	1,9	51%	50%	5	5	50,7	10,1	44%	50%
<i>Alpinia</i> sp.	Rhizom	1mg/g	Chloroform	10	10	0	11	1,1	30%	0%	9	1	51,6	5,7	25%	10%
<i>Alpinia</i> sp.	Wurzel	1mg/g	Methanol	10	10	0	33,2	3,3	98%	0%	10	0	177,8	17,8	106%	0%
Nikotin		1µl/g	Aceton	10	10	0	17,7	1,8	48%	0%	10	0	124,5	12,5	54%	0%
Kontrolle 1			Chloroform	10	10	0	20,6	2,1	56%	0%	10	0	117,7	11,8	51%	0%
Kontrolle 2			Chloroform	9	9	0	34,2	3,8	103%	0%	9	0	219,5	24,4	106%	0%
Kontrolle 3			Aceton	10	10	0	37,8	3,8	102%	0%	10	0	242,2	24,2	105%	0%
Kontrolle 4			Aceton	9	9	0	30,6	3,4	92%	0%	9	0	183,1	20,3	89%	0%
Kontrolle Durchschnitt								3,7						23,0		

Tab. 11: Ermittelt am **19. und 25. Juni 2010**. Testkonzentration: **2,5 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück.

Pflanzenmaterial	Organ	Konzentration	Lösungsmittel	Raupen gesamt	AUSWERTUNG NACH 4 TAGEN						AUSWERTUNG NACH 6 TAGEN					
					Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität	Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität
<i>Alpinia blepharocalyx</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	6	4	18,3	3,1	82%	40%	5	5	98,2	19,6	85%	50%
<i>A. caerulea</i>	Wurzel	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	20,6	2,1	56%	0%	10	0	114,2	11,4	50%	0%
<i>A. conchigera</i>	Blatt	2,5mg/g	Chloroform	10	7	3	12,3	1,8	47%	30%	7	3	69,7	10,0	43%	30%
<i>A. conchigera</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	44,2	4,4	119%	0%	10	0	261,4	26,1	114%	0%
<i>A. conchigera</i>	Wurzel	2,5mg/g	Chloroform	9	9	0	19,8	2,2	59%	0%	9	0	132,8	14,8	64%	0%
<i>A. galanga</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	4	6	4,4	1,1	30%	60%	4	6	38,6	9,7	42%	60%
<i>A. katsumadai</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	28,3	3,1	85%	0%	9	0	221,0	24,6	107%	0%
<i>A. malaccensis</i>	Blatt	2,5mg/g	Aceton	10	1	9	1,2	1,2	32%	90%	1	9	7,3	7,3	32%	90%
<i>A. malaccensis</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	27,1	2,7	73%	0%	10	0	178,3	17,8	78%	0%
<i>A. malaccensis</i>	Wurzel	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	20,6	2,1	56%	0%	10	0	110,4	11,0	48%	0%
<i>A. mutica</i>	Blatt	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	32,1	3,2	87%	0%	10	0	212,9	21,3	93%	0%
<i>A. mutica</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	17,2	1,7	46%	0%	10	0	81,5	8,2	35%	0%
<i>A. mutica</i>	Wurzel	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	24,0	2,7	72%	0%	9	0	156,4	17,4	76%	0%
<i>A. nutans</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	0	10	0,0	0,0	0%	100%	0	10	0,0	0,0	0%	100%
<i>A. purpurata</i>	Blatt	2,5mg/g	Aceton	10	7	3	1,8	0,3	7%	30%	3	7	1,2	0,4	2%	70%
<i>A. purpurata</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	9	9	0	30,4	3,4	99%	0%	9	0	121,5	13,5	81%	0%
<i>A. purpurata</i>	Wurzel	2,5mg/g	Chloroform	10	7	3	13,4	1,9	56%	30%	7	3	65,4	9,3	56%	30%
<i>A. sanderae</i>	Blatt	2,5mg/g	Chloroform	11	11	0	28,1	2,6	69%	0%	11	0	146,5	13,3	58%	0%
<i>A. sanderae</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	10	0	17,4	1,7	47%	0%	9	1	101,5	11,3	49%	10%
<i>A. sanderae</i>	Wurzel	2,5mg/g	Methanol	10	10	0	34,0	3,4	92%	0%	10	0	171,0	17,1	74%	0%
<i>Alpinia</i> sp.	Blatt	2,5mg/g	Chloroform	10	0	10	0,0	0,0	0%	100%	0	10	0,0	0,0	0%	100%
<i>Alpinia</i> sp.	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	5	5	1,2	0,2	6%	50%	3	7	2,6	0,9	4%	70%
<i>Alpinia</i> sp.	Wurzel	2,5mg/g	Methanol	10	10	0	33,8	3,4	99%	0%	10	0	164,2	16,4	98%	0%
Nikotin		1µl/g	Aceton	10	10	0	17,7	1,8	48%	0%	10	0	124,5	12,5	54%	0%
Kontrolle 1			Chloroform	10	10	0	20,6	2,1	56%	0%	10	0	117,7	11,8	51%	0%
Kontrolle 2			Chloroform	9	9	0	34,2	3,8	103%	0%	9	0	219,5	24,4	106%	0%
Kontrolle 3			Aceton	10	10	0	37,8	3,8	102%	0%	10	0	242,2	24,2	105%	0%
Kontrolle 4			Aceton	9	9	0	30,6	3,4	92%	0%	9	0	183,1	20,3	89%	0%
Kontrolle Durchschnitt								3,7						23,0		

Tab. 12: Ermittelt am **05. und 11. August 2010**. Testkonzentration: **1 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück.

Pflanzenmaterial	Organ	Konzentration	Lösungsmittel	Raupen gesamt	AUSWERTUNG NACH 4 TAGEN						AUSWERTUNG NACH 6 TAGEN					
					Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität	Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität
<i>Alpinia blepharocalyx</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	9	9	0	35,6	4,0	128%	0%	8	1	176,0	22,0	141%	11%
<i>A. caerulea</i>	Wurzel	1mg/g	Aceton	9	8	1	26,7	3,3	108%	11%	8	1	116,0	14,5	93%	11%
<i>A. conchigera</i>	Blatt	1mg/g	Chloroform	10	7	3	23,2	3,3	107%	30%	7	3	108,3	15,5	99%	30%
<i>A. conchigera</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	10	10	0	29,1	2,9	94%	0%	9	1	127,6	14,2	91%	10%
<i>A. conchigera</i>	Wurzel	1mg/g	Chloroform	10	8	2	16,0	2,0	65%	20%	8	2	83,0	10,4	67%	20%
<i>A. galanga</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	10	7	0	15,4	2,2	71%	0%	7	0	77,2	11,0	71%	0%
<i>A. katsumadai</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	9	9	0	27,1	3,0	97%	0%	8	1	124,6	15,6	100%	11%
<i>A. malaccensis</i>	Blatt	1mg/g	Aceton	9	9	0	24,3	2,7	87%	0%	9	0	119,2	13,2	85%	0%
<i>A. malaccensis</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	9	8	1	29,9	3,7	121%	11%	8	1	175,7	22,0	141%	11%
<i>A. malaccensis</i>	Wurzel	1mg/g	Aceton	10	10	0	31,0	3,1	100%	0%	10	0	138,4	13,8	89%	0%
<i>A. mutica</i>	Blatt	1mg/g	Aceton	10	10	0	27,4	2,7	89%	0%	9	1	121,7	13,5	87%	10%
<i>A. mutica</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	10	9	1	27,0	3,0	97%	10%	9	1	110,4	12,3	79%	10%
<i>A. mutica</i>	Wurzel	1mg/g	Aceton	10	10	0	41,3	4,1	133%	0%	10	0	190,9	19,1	123%	0%
<i>A. nutans</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	9	9	0	12,1	1,3	43%	0%	9	0	51,1	5,7	36%	0%
<i>A. purpurata</i>	Blatt	1mg/g	Aceton	10	10	0	27,6	2,8	89%	0%	10	0	113,2	11,3	73%	0%
<i>A. purpurata</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	10	5	5	12,6	2,5	81%	50%	5	5	58,8	11,8	76%	50%
<i>A. purpurata</i>	Wurzel	1mg/g	Chloroform	10	9	1	30,1	3,3	108%	10%	9	1	162,5	18,1	116%	10%
<i>A. sanderae</i>	Blatt	1mg/g	Chloroform	9	9	0	29,6	3,3	106%	0%	9	0	154,8	17,2	111%	0%
<i>A. sanderae</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	10	10	0	35,7	3,6	115%	0%	10	0	168,7	16,9	108%	0%
<i>A. sanderae</i>	Wurzel	1mg/g	Methanol	10	6	4	7,1	1,2	38%	40%	6	4	39,4	6,6	42%	40%
<i>Alpinia</i> sp.	Blatt	1mg/g	Chloroform	10	10	0	25,2	2,5	81%	0%	10	0	120,5	12,1	77%	0%
<i>Alpinia</i> sp.	Rhizom	1mg/g	Chloroform	9	9	0	5,3	0,6	19%	0%	5	4	14,9	3,0	19%	44%
<i>Alpinia</i> sp.	Wurzel	1mg/g	Methanol	10	6	4	13,7	2,3	74%	40%	6	4	78,3	13,1	84%	40%
Nikotin		1µl/g	Aceton	10	8	2	6,1	0,8	25%	20%	6	4	18,0	3,0	19%	40%
Kontrolle 1			Methanol	10	7	0	14,7	2,1	68%	0%	7	3	77,4	11,1	71%	30%
Kontrolle 2			Chloroform	10	10	0	36,3	3,6	117%	0%	10	0	169,6	17,0	109%	0%
Kontrolle 3			Aceton	9	9	0	32,0	3,6	115%	0%	9	0	168,1	18,7	120%	0%
Kontrolle Durchschnitt								3,1						15,6		

Tab. 13: Ermittelt am **05. und 11. August 2010**. Testkonzentration: **2,5 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück.

Pflanzenmaterial	Organ	Konzentration	Lösungsmittel	Raupen gesamt	AUSWERTUNG NACH 4 TAGEN						AUSWERTUNG NACH 6 TAGEN					
					Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität	Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität
<i>Alpinia blepharocalyx</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	10	0	34,9	3,5	113%	0%	10	0	222,4	22,2	143%	0%
<i>A. caerulea</i>	Wurzel	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	25,8	2,9	93%	0%	9	0	128,1	14,2	91%	0%
<i>A. conchigera</i>	Blatt	2,5mg/g	Chloroform	10	9	1	28,8	3,2	103%	10%	8	2	115,2	14,4	93%	20%
<i>A. conchigera</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	6	4	15,6	2,6	84%	40%	6	4	86,4	14,4	93%	40%
<i>A. conchigera</i>	Wurzel	2,5mg/g	Chloroform	10	7	3	12,3	1,8	57%	30%	7	3	70,1	10,0	64%	30%
<i>A. galanga</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	9	9	3	12,0	1,3	43%	33%	9	3	54,6	6,1	39%	33%
<i>A. katsumadai</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	36,8	3,7	119%	0%	10	0	191,5	19,2	123%	0%
<i>A. malaccensis</i>	Blatt	2,5mg/g	Aceton	10	1	9	1,8	1,8	58%	90%	1	9	8,3	8,3	53%	90%
<i>A. malaccensis</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	9	8	1	25,6	3,2	103%	11%	8	1	118,7	14,8	95%	11%
<i>A. malaccensis</i>	Wurzel	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	24,9	2,8	89%	0%	9	0	108,9	12,1	78%	0%
<i>A. mutica</i>	Blatt	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	27,1	2,7	88%	0%	10	0	131,7	13,2	85%	0%
<i>A. mutica</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	19,3	2,1	69%	0%	9	0	84,7	9,4	60%	0%
<i>A. mutica</i>	Wurzel	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	27,5	3,1	99%	0%	9	0	122,5	13,6	87%	0%
<i>A. nutans</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	0	10	0,0	0,0	0%	100%	0	10	0,0	0,0	0%	100%
<i>A. purpurata</i>	Blatt	2,5mg/g	Aceton	9	8	1	4,3	0,5	17%	11%	6	3	11,1	1,9	12%	33%
<i>A. purpurata</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	6	4	20,0	3,3	108%	40%	6	4	76,3	12,7	82%	40%
<i>A. purpurata</i>	Wurzel	2,5mg/g	Chloroform	9	9	0	29,3	3,3	105%	0%	9	0	129,3	14,4	92%	0%
<i>A. sanderae</i>	Blatt	2,5mg/g	Chloroform	10	10	0	24,3	2,4	79%	0%	10	0	113,3	11,3	73%	0%
<i>A. sanderae</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	9	8	1	24,5	3,1	99%	11%	8	1	118,7	14,8	95%	11%
<i>A. sanderae</i>	Wurzel	2,5mg/g	Methanol	10	5	5	12,9	2,6	83%	50%	5	5	56,0	11,2	72%	50%
<i>Alpinia</i> sp.	Blatt	2,5mg/g	Chloroform	10	1	9	1,3	0,0	0%	90%	1	9	4,8	4,8	31%	90%
<i>Alpinia</i> sp.	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	0	10	0,0	0,0	0%	100%	0	10	0,0	0,0	0%	100%
<i>Alpinia</i> sp.	Wurzel	2,5mg/g	Methanol	10	8	2	18,1	2,3	73%	20%	8	2	80,0	10,0	64%	20%
Nikotin		1µl/g	Aceton	10	8	2	6,1	0,8	25%	20%	6	4	18,0	3,0	19%	40%
Kontrolle 1			Methanol	10	7	0	14,7	2,1	68%	0%	7	3	77,4	11,1	71%	30%
Kontrolle 2			Chloroform	10	10	0	36,3	3,6	117%	0%	10	0	169,6	17,0	109%	0%
Kontrolle 3			Aceton	9	9	0	32,0	3,6	115%	0%	9	0	168,1	18,7	120%	0%
Kontrolle Durchschnitt								3,1						15,6		

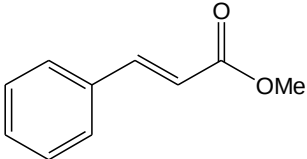
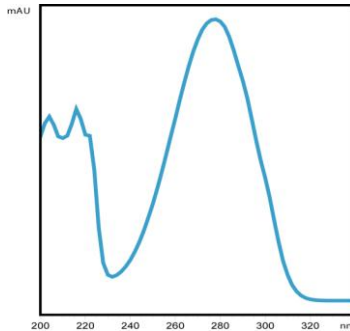
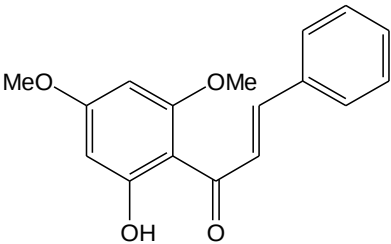
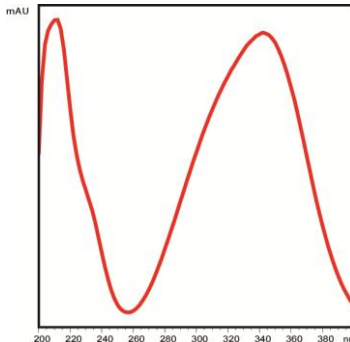
Tab. 14: Ermittelt am **08. und 14. September 2010**. Testkonzentration: **1 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück.

Pflanzenmaterial	Organ	Konzentration	Lösungsmittel	Raupen gesamt	AUSWERTUNG NACH 4 TAGEN						AUSWERTUNG NACH 6 TAGEN					
					Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität	Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität
<i>Alpinia blepharocalyx</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	9	9	0	29,4	3,3	95%	0%	9	0	129,4	14,4	86%	0%
<i>A. caerulea</i>	Wurzel	1mg/g	Aceton	10	7	3	23,5	3,4	98%	30%	7	3	99,8	14,3	85%	30%
<i>A. conchigera</i>	Blatt	1mg/g	Chloroform	9	9	0	26,5	2,9	86%	0%	9	0	117,8	13,1	78%	0%
<i>A. conchigera</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	10	10	0	31,8	3,2	93%	0%	10	0	141,5	14,2	85%	0%
<i>A. conchigera</i>	Wurzel	1mg/g	Chloroform	9	8	1	23,4	2,9	85%	11%	8	1	113,2	14,2	85%	11%
<i>A. galanga</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	10	7	3	15,9	2,3	66%	30%	7	3	70,4	10,1	60%	30%
<i>A. katsumadai</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	10	10	0	32,5	3,3	95%	0%	10	0	140,6	14,1	84%	0%
<i>A. malaccensis</i>	Blatt	1mg/g	Aceton	9	8	1	17,4	2,2	64%	11%	8	1	81,4	10,2	61%	11%
<i>A. malaccensis</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	9	8	1	26,9	3,4	98%	11%	8	1	116,4	14,6	87%	11%
<i>A. malaccensis</i>	Wurzel	1mg/g	Aceton	9	9	0	30,9	3,4	100%	0%	9	0	168,7	18,7	112%	0%
<i>A. mutica</i>	Blatt	1mg/g	Aceton	10	10	0	40,6	4,1	119%	0%	10	0	217,0	21,7	130%	0%
<i>A. mutica</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	10	10	0	35,4	3,5	103%	0%	10	0	152,9	15,3	92%	0%
<i>A. mutica</i>	Wurzel	1mg/g	Aceton	10	10	0	35,2	3,5	103%	0%	10	0	190,8	19,1	114%	0%
<i>A. nutans</i>	Rhizom	1mg/g	Aceton	10	6	4	3,4	0,6	17%	40%	4	6	10,3	2,6	15%	60%
<i>A. purpurata</i>	Blatt	1mg/g	Aceton	9	8	1	11,9	1,5	43%	11%	8	1	56,8	7,1	43%	11%
<i>A. purpurata</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	11	11	0	32,9	3,0	87%	0%	11	0	144,6	13,1	79%	0%
<i>A. purpurata</i>	Wurzel	1mg/g	Chloroform	9	8	1	18,6	2,3	68%	11%	8	1	93,1	11,6	70%	11%
<i>A. sanderae</i>	Blatt	1mg/g	Chloroform	9	9	0	17,4	1,9	56%	0%	9	0	81,7	9,1	54%	0%
<i>A. sanderae</i>	Rhizom	1mg/g	Chloroform	9	9	0	32,6	3,6	106%	0%	9	0	163,5	18,2	109%	0%
<i>A. sanderae</i>	Wurzel	1mg/g	Methanol	9	9	0	29,2	3,2	95%	0%	9	0	120,1	13,3	80%	0%
<i>Alpinia</i> sp.	Blatt	1mg/g	Chloroform	9	8	1	5,0	0,6	18%	11%	7	2	24,2	3,5	21%	22%
<i>Alpinia</i> sp.	Rhizom	1mg/g	Chloroform	10	2	8	2,5	1,3	37%	80%	2	8	9,9	5,0	30%	80%
<i>Alpinia</i> sp.	Wurzel	1mg/g	Methanol	10	5	5	11,2	2,2	65%	50%	5	5	50,1	10,0	60%	50%
Kontrolle 1			Methanol	9	8	1	24,6	3,1	90%	11%	8	1	111,2	13,9	83%	11%
Kontrolle 2			Chloroform	11	11	0	43,3	3,9	115%	0%	11	0	215,1	19,6	117%	0%
Kontrolle 3			Aceton	10	10	0	32,6	3,3	95%	0%	10	0	166,5	16,7	100%	0%
Kontrolle Durchschnitt								3,4						16,7		

Tab. 15: Ermittelt am **08. und 14. September 2010**. Testkonzentration: **2,5 mg** Trockensubstanz pro 1 g Futterstück.

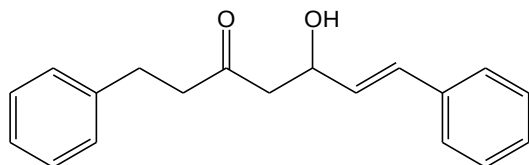
Pflanzenmaterial	Organ	Konzentration	Lösungsmittel	Raupen gesamt	AUSWERTUNG NACH 4 TAGEN						AUSWERTUNG NACH 6 TAGEN					
					Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität	Raupen lebend	Raupen tot	Gesamt- gewicht	Einzel- gewicht	Wachstum	Letalität
<i>Alpinia blepharocalyx</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	7	3	9,8	1,4	41%	30%	7	3	54,1	7,7	46%	30%
<i>A. caerulea</i>	Wurzel	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	29,4	3,3	95%	0%	9	0	150,5	16,7	100%	0%
<i>A. conchigera</i>	Blatt	2,5mg/g	Chloroform	10	10	0	24,7	2,5	72%	0%	10	0	125,0	12,5	75%	0%
<i>A. conchigera</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	32,0	3,2	93%	0%	10	0	159,1	15,9	95%	0%
<i>A. conchigera</i>	Wurzel	2,5mg/g	Chloroform	9	9	0	15,6	1,7	51%	0%	9	0	70,9	7,9	47%	0%
<i>A. galanga</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	2	8	1,0	0,5	15%	80%	2	8	3,2	1,6	10%	80%
<i>A. katsumadai</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	24,7	2,5	72%	0%	10	0	114,5	11,5	69%	0%
<i>A. malaccensis</i>	Blatt	2,5mg/g	Aceton	10	7	3	7,1	1,0	30%	30%	7	3	31,0	4,4	27%	30%
<i>A. malaccensis</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	9	8	1	17,4	2,2	64%	11%	7	2	77,3	11,0	66%	22%
<i>A. malaccensis</i>	Wurzel	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	34,8	3,5	102%	0%	10	0	176,5	17,7	106%	0%
<i>A. mutica</i>	Blatt	2,5mg/g	Aceton	11	11	0	28,9	2,6	77%	0%	11	0	147,4	13,4	80%	0%
<i>A. mutica</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	33,6	3,7	109%	0%	9	0	174,1	19,3	116%	0%
<i>A. mutica</i>	Wurzel	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	31,9	3,5	104%	0%	9	0	137,5	15,3	91%	0%
<i>A. nutans</i>	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	0	10	0,0	0,0	0%	100%	0	10	0,0	0,0	0%	100%
<i>A. purpurata</i>	Blatt	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	2,5	0,3	8%	0%	4	5	3,7	0,9	6%	56%
<i>A. purpurata</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	10	0	37,1	3,7	108%	0%	10	0	136,5	13,7	82%	0%
<i>A. purpurata</i>	Wurzel	2,5mg/g	Chloroform	9	9	0	6,7	0,7	22%	0%	9	0	35,0	3,9	23%	0%
<i>A. sanderae</i>	Blatt	2,5mg/g	Chloroform	9	8	1	10,0	1,3	37%	11%	8	1	46,1	5,8	35%	11%
<i>A. sanderae</i>	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	10	0	31,2	3,1	91%	0%	10	0	125,7	12,6	75%	0%
<i>A. sanderae</i>	Wurzel	2,5mg/g	Methanol	9	8	1	21,9	2,7	80%	11%	8	1	95,2	11,9	71%	11%
<i>Alpinia</i> sp.	Blatt	2,5mg/g	Chloroform	10	5	5	8,6	1,7	50%	50%	4	6	25,4	6,4	38%	60%
<i>Alpinia</i> sp.	Rhizom	2,5mg/g	Chloroform	10	0	10	0,0	0,0	0%	100%	0	10	0,0	0,0	0%	100%
<i>Alpinia</i> sp.	Wurzel	2,5mg/g	Methanol	10	6	4	17,8	3,0	87%	40%	5	5	66,2	13,2	79%	50%
<i>A. nutans</i> F 1 I+II	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	2	8	0,9	0,5	13%	80%	2	8	4,4	2,2	13%	80%
<i>A. nutans</i> F 3 I	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	4	6	1,8	0,5	13%	60%	3	7	2,3	0,8	5%	70%
<i>A. nutans</i> F 3 II	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	28,2	2,8	82%	0%	10	0	104,8	10,5	63%	0%
<i>A. nutans</i> F 4 I	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	37,5	3,8	110%	0%	10	0	152,6	15,3	91%	0%
<i>A. nutans</i> F 5 I	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	21,9	2,4	71%	0%	9	0	87,2	9,7	58%	0%
<i>A. nutans</i> F 5 II	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	30,0	3,0	88%	0%	10	0	119,6	12,0	72%	0%
<i>A. nutans</i> F 6 I	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	31,2	3,5	101%	0%	9	0	134,5	14,9	89%	0%
<i>Alpinia</i> sp. F 1 I	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	0	10	0,0	0,0	0%	100%	0	10	0,0	0,0	0%	100%
<i>Alpinia</i> sp. F 1 II	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	0	10	0,0	0,0	0%	100%	0	10	0,0	0,0	0%	100%
<i>Alpinia</i> sp. F 2 I	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	11	0	11	0,0	0,0	0%	100%	0	11	0,0	0,0	0%	100%
<i>Alpinia</i> sp. F 3 I	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	9,5	1,1	31%	0%	9	0	27,7	3,1	18%	0%
<i>Alpinia</i> sp. F 3 II	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	11	11	0	21,1	1,9	56%	0%	11	0	75,0	6,8	41%	0%
<i>Alpinia</i> sp. F 4 I	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	20,0	2,0	58%	0%	10	0	62,9	6,3	38%	0%
<i>Alpinia</i> sp. F 6 I	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	10	10	0	38,9	3,9	114%	0%	10	0	157,8	15,8	94%	0%
<i>Alpinia</i> sp. F 6 II	Rhizom	2,5mg/g	Aceton	9	9	0	9,1	1,0	30%	0%	9	0	35,2	3,9	23%	0%
Kontrolle 1			Methanol	9	8	1	24,6	3,1	90%	11%	8	1	111,2	13,9	83%	11%
Kontrolle 2			Chloroform	11	11	0	43,3	3,9	115%	0%	11	0	215,1	19,6	117%	0%
Kontrolle 3			Aceton	10	10	0	32,6	3,3	95%	0%	10	0	166,5	16,7	100%	0%
Kontrolle Durchschnitt								3,4						16,7		

9.2. Spektraldatenkatalog

Zimtsäuremethylester (Methyl-3-phenylprop-2-enoat)			ZI
	CAS: 103-26-4 1754-62-7 19713-73-6 Summenformel: C₁₀H₁₀O₂ Mol.-Gewicht: 162.188 Schmelzpunkt: 35°C Literatur: Bishop (1960)	UV-VIS λ_{MeOH/H₂O} nm: 204 (max.), 216 (max.), 232 (sh.), 278 (max.)	
2, 4-Dimethoxy-6-Hydroxychalkon			FL
	CAS: 7655-24-0 1779-97-9 Summenformel: C₁₇H₁₆O₄ Mol.-Gewicht: 284.312 Schmelzpunkt: 90°C Literatur: Krishna et al. (1973)	UV-VIS λ_{MeOH/H₂O} nm: 212 (max.), 226 (sh.), 344 (max.)	

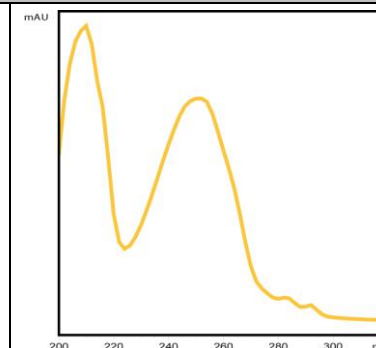
1, 7-Diphenyl-5(E)-hepten-3-on-4-ol

CU



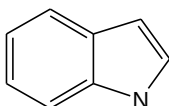
CAS: 87095-74-7
93712-74-4
Summenformel: $C_{18}H_{18}O_2$
Mol.-Gewicht: 266.130
Schmelzpunkt: 60°C
Literatur: Jurgens et al. (1994)

UV-VIS λ_{MeOH/H_2O} nm:
206 (max.), 210 (sh.),
252 (max.), 282 (max.),
292 (max.)



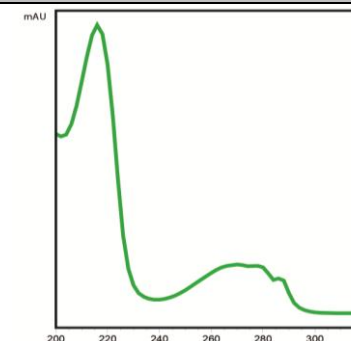
3-H-Indol

IN



CAS: 120-72-9
Summenformel: C_8H_7N
Mol.-Gewicht: 117.15
Schmelzpunkt: 52°C
Literatur: Cohen et al. (1960)

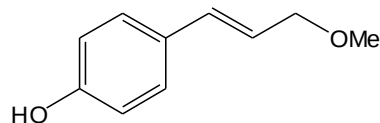
UV-VIS λ_{MeOH/H_2O} nm:
216 (max.), 270 (max.),
276 (sh.), 286 (max.)



3-Methoxy-propenyl-phenol

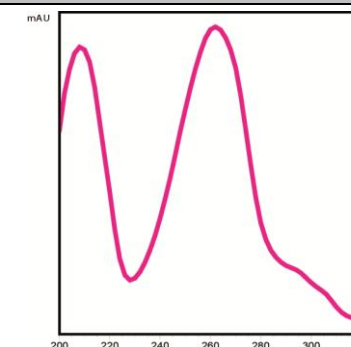
Co-chromatographisch identifiziert

PH



CAS: 63644-72-4
Summenformel: $C_{10}H_{12}O_2$
Mol.-Gewicht: 164.204
Literatur: Ly et al. (2003)

UV-VIS λ_{MeOH/H_2O} nm:
210 (max.), 265 (max.)



9.3. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich ganz besonders bei Prof. Dr. Valant-Vetschera für die Aufnahme als Diplomanten bedanken. Vor allem schulde ich ihr großen Dank für ihr Interesse, ihre Anregungen und ihre volle Unterstützung bei meiner Arbeit, selbst unter größtem Zeitdruck. Sie hat mich gelehrt, exakt und kritisch zu arbeiten und ließ mir dennoch genügend Freiraum meine Vorstellungen zu verwirklichen. Ich möchte ihr außerdem danken, dass sie mich für die Sekundärstoffe von Pflanzen begeistert hat, was mir den Weg zu dieser Diplomarbeit geebnet hat.

Ein herzliches Dankeschön auch an Mag. Johann Schinnerl, der mir durch seine geduldige und kompetente Art die Methoden der Chemodiversitätsforschung vermittelt hat. Seine Diskussionsfreude, Hilfsbereitschaft und Ideen waren sehr förderlich für die Entstehung dieser Arbeit. Weiters danke ich ihm für die Durchsicht einiger Kapitel.

Vielen Dank auch an Univ. Doz. Dr. Brecker und sein Team für die Strukturaufklärung der isolierten Reinstoffe.

Allen meinen Kolleginnen und Kollegen der Phytochemie-Abteilung sei hier für ihre Hilfsbereitschaft ein herzliches Dankeschön gesagt. Vor allem Christian Gilli, der mir so manches Pflanzenmaterial zu Verfügung gestellt hat und mich auch gut bei meiner Arbeit beraten hat. Besonders danke ich auch Mag. Tshering Doma Bhutia. Sie hat mir durch ihre Zuversicht und Fröhlichkeit den Spaß an der Arbeit vermittelt.

Danken möchte ich auch meinen Studienkollegen Birgit Weis, Christine Grasl und Ralph Steingruber. Es ist wundervoll, wenn man im Studium, neben dem Erwerb von Wissen, auch Freunde wie sie finden kann. Vielen Dank für die schönen Stunden bei den Botanischen Exkursionen oder anderen Lehrveranstaltungen. Ein großes Dankeschön geht auch an Nicola Sykora und Susanne Sykora für den kompetenten Ratschlag in letzter Sekunde.

Abschließend möchte ich meiner Familie danken. Vor allem Erich Gabler, der immer zuversichtlich war. Ein besonderes Dankeschön möchte ich auch meinen Eltern sagen, die mir durch ihr Verständnis, ihr Ermutigung und Unterstützung dieses Studium erst möglich gemacht haben.

9.4. Zusammenfassung

Im Rahmen der Diplomarbeit wurde die Stoffausstattung von *Alpinia nutans* und *A. purpurata* phytochemisch untersucht und mit anderen Arten dieser Gattung verglichen. Aus dem Rhizom von *A. nutans* konnten, durch Auftrennung mit Sephadex® und präparativer Dünnschichtchromatographie, vier Verbindungen isoliert werden: Ein Flavonoid (2,4-Dimethoxy-6-Hydroxychalkon), freies Indol (3-H-Indol), ein Curcuminoid (1,7-Diphenyl-5(E)-hepten-3-on-4-ol) und ein Zimtsäurederivat (Methyl-3-phenylprop-2-enoat). Freies Indol ist als Inhaltsstoff der Zingiberaceae bisher noch nicht bekannt. Eine Artefaktbildung kann ausgeschlossen werden, da diese Verbindung in mehreren Herkunftsfeststellungen festgestellt werden konnte und auch bei Anwendung unterschiedlicher Extraktionsmethoden nachweisbar war. Bemerkenswert ist das Vorkommen von Curcuminoiden in der Gattung *Alpinia*, was ebenfalls ein neuer Befund für diese Gattung ist. Aus den Wurzeln von *A. purpurata* konnte durch Auftrennung mit Sephadex® nur ein Gemisch aus Triterpenen isoliert werden. Bei der Hauptkomponente handelt es sich höchstwahrscheinlich um γ -Sitosterol.

Weiters wurden Biotests mit *Cladosporium sphaerospermum* und *Spodoptera littoralis* durchgeführt. Die Chloroform-Extrakte von elf *Alpinia*-Arten wurden dünnschichtchromatographisch aufgetrennt und auf ihre antifungale Wirkung untersucht. Dabei wurden die Extrakte von verschiedenen Organbereichen getrennt analysiert. Das Besprühen der DC-Platten mit den Konidiosporen von *C. sphaerospermum* ergab deutliche Hemmhöfe bei allen Organproben. Bei vier Proben konnte außerdem eine wachstumsfördernde Wirkung beobachtet werden. Eine antifungal wirkende Substanz konnte zudem aus dem Rhizom von *A. galanga* isoliert und co-chromatographisch als 3-Methoxy-propenyl-phenol identifiziert werden. Der Biotest mit *S. littoralis* wurde mit den gleichen Chloroform-Extrakten durchgeführt. Speziell die Extrakte der Organe von *A. nutans* und *Alpinia* sp. zeigen starke insektizide Wirkungen. Anschließend wurde ein weiterer Test mit den Trockensäulen-Fractionen der Rhizomextrakte dieser beiden Arten durchgeführt, wobei speziell die lipophilen Fraktionen insektizid wirksam waren. Die Ergebnisse werden vergleichend zu den bekannten Literaturdaten diskutiert.

9.5. Abstract

In the course of this thesis the composition of compounds of *Alpinia nutans* and *A. purpurata* was investigated phytochemically and compared to other types of this species. Four compounds could be isolated from the rhizome of *A. nutans* through separation using Sephadex® and preparative thin-layer chromatography: a flavonoid (2,4-dimethoxy-6-hydroxychalcone), free indole (3-H-indole), a curcuminoid (1,7-diphenyl-5(E)-heptene-3-one-4-ol), and a cinnamic acid derivative (methyl-3-phenylprop-2-enoate). Free indole has not been known yet as component of zingiberaceae. A formation of artefacts can be excluded, as this compound was detected in different sources and it was verified using different extraction methods. The presence of curcuminoids in the species *Alpinia* is remarkable, which is also a new feature of this species. Only a mixture of triterpenes could be isolated from the roots of *A. purpurata* via separation with Sephadex®. The main component is most probably γ -sitosterol.

Furthermore, biotests with *Cladosporium sphaerospermum* and *Spodoptera littoralis* were performed. The chloroform extracts of eleven *Alpinia* species were separated with thin-layer chromatography and examined concerning their antifungal effect. Thereby extracts of different organ regions were analysed separately. Spraying the thin-layer plates with conidiospores of *C. sphaerospermum* resulted in clear zones of inhibition in all organ samples. Additionally, four samples showed a growth-promoting effect. Moreover, a substance with antifungal effect could be isolated from the rhizome of *A. galangal* and identified co-chromatographically as 3-methoxy-propenyl-phenol. The biotest with *S. littoralis* was performed with the same chloroform extracts. Especially the organ extracts of *A. nutans* and *Alpinia* sp. show strong insecticide effects. Subsequently, a further test with dry-column fractions of the rhizome extracts of these two species was performed, whereat especially the lipophilic fractions were effective as insecticides. The results are discussed and compared to known data from literature.

9.6. Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Staatsbürgerschaft: Österreich
Familienstand: ledig
Geburtsdatum: 13.07.1985

Werdegang

März 2010	Beginn der Diplomarbeit, Department für Systematik und Evolutionsbiologie
März 2007	Inskription Diplomstudium Biologie – Botanik, Ökologie, Universität Wien
2003 – 2007	Angestellter im Controlling des Krankenhauses der Barmherzigen Schwestern, Wien Gumpendorf
1999 – 2003	Bundesoberstufenrealgymnasium 3, Wien Reifeprüfung am 3. Juni 2003
1995 – 1999	Bundesrealgymnasium Singrienergasse, Wien
1991 – 1995	Öffentliche Volksschule Bischoffgasse, Wien