



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Vergleichend phytochemische Analysen der Exsudate ausgewählter
Ericaceae mit besonderer Berücksichtigung von
Rhododendron ferrugineum L.

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag^a. rer.nat.)

Verfasserin	Birgit Gschweidl
Studienrichtung	A 438 Botanik
Betreuerin	Ao. Univ.-Prof. Dr. Karin Valant-Vetschera

Wien, Dezember 2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Systematik & Morphologie	3
2.1	Systematik	3
2.2	Morphologie	4
2.3	Phytochemie und Verwendung der Ericaceae	9
3	Verbindungsklassen.....	11
3.1	Flavonoide	11
3.1.1	Biosynthese.....	12
3.1.2	Exkretflavonoide.....	14
3.1.3	Funktion	17
3.1.4	UV-B-Schutz.....	18
3.1.5	Flavonoide der Ericaceae.....	21
3.2	Terpenoide	22
3.2.1	Biosynthese.....	25
3.2.2	Funktion	25
3.2.3	Terpenoide der Ericaceae	26
4	Material und Methoden	29
4.1	Pflanzenmaterial	29
4.2	Methoden.....	29
4.2.1	Exsudate	29
4.2.2	Gesamtextrakte der Blätter	30
4.2.3	Analytische Methoden	32
4.2.4	Präparative Methoden	35
5	Ergebnisse und Diskussion.....	38

5.1	Flavonoide	39
5.2	Triterpene	45
5.3	Unbekannte Verbindungen	47
5.4	Vergleich der Exsudatprofile untersuchter Ericaceae	47
5.5	<i>R. ferrugineum</i> : organspezifische Akkumulation	51
6	Literaturverzeichnis.....	53
7	Zusammenfassung	62
8	Anhang	63
8.1	Weitere Abbildungen und Tabellen	63
8.2	Abbildungsverzeichnis	74
8.3	Tabellenverzeichnis	75
8.4	Danksagung	76
8.5	Curriculum Vitae	77

1 Einleitung

Die Familie der Ericaceae ist monophyletisch und wird in acht Unterfamilien gegliedert (Simpson, 2006; <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APWeb>). Ericaceae sind eine weltweit verbreitete Pflanzenfamilie, deren Arten meist als (Zwerg-)Sträucher (Hess, 2005), unter Bodenbedingungen mit niedrigem pH-Wert, geringem Stickstoffgehalt sowie Frostrocknis in Symbiose mit Ectendomycorrhiza anzutreffen sind (Körner, 2003; Ozenda, 1988). Ericaceae zeichnen sich des Weiteren durch xeromorphe, sogenannte „ericoide“ Laubblätter, mit dicker Cuticula sowie dem Vorhandensein unterschiedlicher Trichomtypen aus (Cullen, 1980; Hess, 2005).

Flavonoide treten in Angiospermen meist in Form wasserlöslicher und somit in Zellsaftvakuolen gespeicherter Glycoside auf (Onyilagha & Grotewold, 2004). Es handelt sich um funktionell bedeutende polyphenolische Sekundärmetabolite, welche bisher in allen höheren Pflanzen detektiert wurden (Williams & Grayer, 2004). Flavonoidaglyca sind als lipophile Stoffe hingegen häufig Bestandteile der Laubblattexkrete von Pflanzen mit (semi-)arider Verbreitung (Valant-Vetschera & Brem, 2006; Wollenweber & Valant-Vetschera, 1996). Das Vorkommen von Drüsenhaaren sowie die Produktion von ätherischem Öl werden als Hinweis auf eine mögliche Produktion von Exkret-Flavonoiden gesehen (Valant-Vetschera & Wollenweber, 2001; Wollenweber & Valant-Vetschera, 1996). Die meisten Literaturdaten zur Familie der Ericaceae beziehen sich auf die Zusammensetzung von Extrakten, ohne unterschiedliche Stoffprofile in den Pflanzenorganen näher auszuführen oder die Bildung von möglichen Exkretverbindungen zu berücksichtigen. Aus Laubblattextrakten sind bisher Flavonole wie Herbacetin, Gossypetin, 5-Methylether von Kämpferol, Quercetin, Myricetin und Caryatin sowie auch Taxifolin-Derivate, Dihydroflavonolglycoside, bekannt (Chosson et al., 1998; Hegnauer, 1989). Louis et al. (2010) identifizierten im ätherischen Öl von *Rhododendron ferrugineum* L. die Flavonoidaglyca Quercetin, Myricetin und Ferrerol sowie in

Blüten von *Rhododendron*. sp. Gossypetin und Quercetagetin, beides Derivate des Flavonols Quercetin (Lattanzio et al., 2006).

2 Systematik & Morphologie

2.1 Systematik

Die Familie der Ericaceae (Ordnung Ericales) wird derzeit in acht Unterfamilien gegliedert: Enkianthoideae, Monotropeoideae (mit einigen semi- sowie holoparasitischen Vertretern), Arbutoideae (Gattungen *Arbutus* und *Arctostaphylos*), Cassiopoideae, Ericoideae (*Erica*, *Rhododendron* sowie Gattungen der ehemaligen Empetraceae), Harrimanelloideae, Styphelioideae (inklusive der früheren Epacridaceae) und die Vaccinioideae mit der Gattung *Vaccinium* (Simpson, 2006; <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APWeb>). Aufgrund molekularsystematischer Analysen sind die Ericaceae eindeutig als monophyletisch aufzufassen (Anderberg et al., 2002). Über ihre geographische Verbreitung informiert **Abb. 1**.

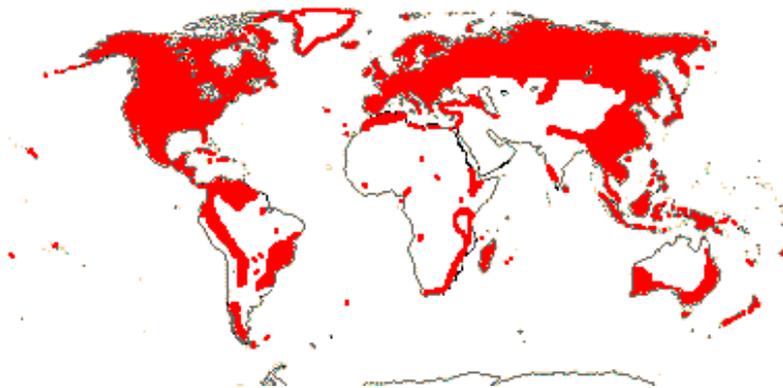


Abb. 1 Verbreitung der Ericaceae (<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APWeb>).

Im Gegensatz zur Familie der Ericaceae erweist sich die große Gattung *Rhododendron*, welche im Mittelpunkt dieser Arbeit steht, bezüglich ihrer infragenerischen Gliederung als problematisch. Systematische Bearbeitungen, welche alle Untergattungen und Sektionen umfassen, wurden erstmals von Sleumer (1949) durchgeführt, woraus eine Klassifikation mit Bestimmungsschlüssel für Untergattungen und Sektionen resultierte. Chamberlain et al. (1996) schlugen, basierend auf weitere enger fokussierten

Arbeiten, eine alternative Klassifikation in acht Untergattungen vor, welche breite Akzeptanz fand (Goetsch et al., 2005) und daher als Referenz für diese Arbeit gewählt wurde. Wesentliche morphologische Merkmale zur Differenzierung der Untergattungen und Sektionen sind vor allem die Stellung der Blütenknospen (terminal/lateral), das Fehlen oder Vorhandensein von Blattschuppen (Schülferschuppen) sowie die Unterscheidung zwischen laubwerfenden und immergrünen Arten. In **Tab. 1** sind die Untergattungen von *Rhododendron* und ihre wesentlichsten Merkmalsdifferenzierungen angeführt (Goetsch et al., 2005).

Auf Grund molekularsystematischer Ergebnisse wurde der Umfang der Gattung *Rhododendron* (Kron, 1997; Kurashige et al., 2001) revidiert. Demnach muss die frühere Gattung *Menziesia* inkludiert werden, um *Rhododendron* zu einem monophyletischen Taxon zu machen. Innerhalb der Untergattung *Rhododendron* wurde die sect. *Rhododendron* subsect. *Ledum* ausgeschlossen, weil diese Untergattung sonst nicht mehr monophyletisch wäre (Kurashige et al., 2001). Die Arbeiten von Goetsch et al. (2005) ergaben ein Phylogramm mit gut definierten Clades A, B und C (**Abb. 2**), wobei sich die sect. *Rhododendron* jedoch als paraphyletisch erwies. Zwar wurden aufgrund dieser Daten einige Revisionen vorgenommen, die sect. *Rhododendron* hingegen in ihrem jetzigen Umfang belassen (Goetsch et al., 2005). Damit decken sich die blattmorphologischen Gemeinsamkeiten der Arten in dieser Sektion nicht mit der aktuellen molekularen Phylogenie.

2.2 Morphologie

Ericaceae stellen weltweit ein wichtiges Element alpiner Strauchvegetation dar. Sie sind in offenen Habitaten mit kaltem bis warm-temperatem Klima anzutreffen. Eine besondere Diversität findet sich in mediterranen Gebieten und Gebirgen Südostasiens sowie im tropischen Amerika, siehe **Abb. 1** (Körner, 2003; Ozenda, 1988). Häufige Wuchsformen dieser Holzgewächse sind (Zwerg-) Sträucher mit wechselständigen, nebenblattlosen und oft wintergrünen

Laubblättern (Hess, 2005). Höchstwahrscheinlich spielt ihre Ectendomykorrhiza eine wichtige Rolle für den Erfolg der Familie, denn viele Vertreter wachsen auf relativ saurem und stickstoffarmem Boden (Körner, 2003). Um zusätzlich mit der teilweise frostbedingten Trockenheit ihres Lebensraums zu Rande zu kommen besitzen Ericaceae häufig xeromorphe Laubblätter. Diese weisen eine reduzierte ledrige Oberfläche auf und sind oft nadelförmig oder als Rollblatt ausgebildet sowie mit tief versenkten Stomata versehen (Hess, 2005). Häufig findet man eine dicke Cuticula sowie Trichome, wobei hier Deck- und Drüsenhaare unterschieden werden. Erstere können einzellig, einzellreihig, schildförmig oder dendritisch verzweigt sein. Drüsenhaare sind hingegen gestielt und mit einem mehrzelligen runden bis ovalen Kopf ausgestattet (Cullen, 1980).

Tab. 1 Untergattungen (Subgen.) und Sektionen (Sect.) der Gattung *Rhododendron* nach Sleumer (1949) und Chamberlain et al. (1996).

Eigenschaft	Sleumer (1949)	Chamberlain et al. (1996)
I. Infloreszenzknospen terminal		
a Blattschuppen vorhanden	Subgen. <i>Lepidorrhodium</i> Koehne Sect. <i>Pogonanthum</i> G. Don Sect. <i>Lepipherum</i> G. Don Sect. <i>Vireya</i> Copel.f.	Subgen. <i>Rhododendron</i> L. Sect. <i>Pogonanthum</i> Aitch. & Hemsl. Sect. <i>Rhododendron</i> Sect. <i>Vireya</i> Copel.f.
b Fehlen von Blattschuppen		
1. Neue Blattanlage aus den Achseln der Knospen des Vorjahrs		
a Blätter immergrün	Subgen. <i>Eurhododendron</i> Maxim.	Subgen. <i>Hymenanthes</i> K.Koch Sect. <i>Ponticum</i> G.Don
b Blätter abwerfend	Subgen. <i>Pseudanthodendron</i> Sleumer Sect. <i>Pentanthera</i> G. Don Sect. <i>Rhodora</i> G. Don Sect. <i>Viscidula</i> Matsum. & Nakai	Subgen. <i>Pentanthera</i> Pojarkova Sect. <i>Pentanthera</i> G.Don Sect. <i>Rhodora</i> Torr. Sect. <i>Viscidula</i> Matsum. & Nakai
2. Neue Blattanlage aus Achseln der niedrigsten Schuppenblätter	Subgen. <i>Anthodendron</i> Rehder & Wilson Sect. <i>Brachycalyx</i> Sweet Sect. <i>Brachycayx</i> Sweet Sect. <i>Tsutsusi</i> Sweet	Sect. <i>Sciadorhodium</i> Subgen. <i>Tsutsusi</i> Pojarkova Sect. <i>Brachycalyx</i> Sweet Sect. <i>Tsutsusi</i> Sweet
II. Infloreszenzknospen lateral		
a Blätter immergrün	Subgen. <i>Azaleastrum</i> Planch. Sect. <i>Euazaleastrum</i> Sleumer Sect. <i>Choniastrum</i> Franch.	Subgen. <i>Azaleastrum</i> Planch. Sect. <i>Azaleastrum</i> Maxim. Sect. <i>Choniastrum</i> Franch.
b Blätter abwerfend	Sect. <i>Candidastrum</i> Sleumer Sect. <i>Mumeazalea</i> Sleumer (außerhalb <i>Rhododendron</i>)	Subgen. <i>Candidastrum</i> Franch. Subgen. <i>Mumeazalea</i> Sleumer Subgen. <i>Therorhodium</i> A.Gray



Abb. 2 Maximum parsimony strict consensus tree. Maximum parsimony strict consensus tree (RPB2-1-Gensequenzen). Taxon-Namen beziehen sich auf Sektionen (**Tab. 1**). Senkrechte Balken zeigen eindeutige synapomorphe Indels (nach Goetsch et al., 2005).

Die Gattung *Rhododendron* mit mehr als 1000 Arten hat ihre größte Artenvielfalt in Asien (Goetsch et al., 2005). Ihr weitestes zusammenhängendes Verbreitungsgebiet reicht von Alaska über die nordöstlichen und südöstlichen Teile Asiens bis in den Norden Australiens (Kruttsch 1991). Alle Arten sind mehrjährig und verholzt, ihr Habitus ist überwiegend von strauchigen oder zwergstrauchigen sowie halbstrauchigen Wuchsformen geprägt (Fischer et al., 2008). Blattmorphologisch ist die Differenzierung der Trichome und der sogenannten Schülferschuppen, welche sich von Trichomen ableiten, von Interesse. So charakterisiert beispielsweise ihre Ausbildung an sowohl der Blattunter- wie auch der –oberseite die Untergattung *Rhododendron*. Bekannte heimische Vertreter sind *R. ferrugineum* L., *R. hirsutum* L. sowie deren Hybrid *R. intermedium* Tausch. *R. ferrugineum* ist ein subalpiner, in den Pyrenäen und Alpen in Seehöhen zwischen 1700 und 2300 m weit verbreiteter, Strauch, welcher ausschließlich auf silikatischen Böden wächst (Louis et al., 2010; Ozenda, 1988), **Abb. 3**.



Abb. 3 Infloreszenz und Laubblätter von *R. ferrugineum*
(<http://flora.nhm-wien.ac.at/Seiten-Arten/Rhododendron-ferrugineum.htm>).

2.3 Phytochemie und Verwendung der Ericaceae

Phenolische Verbindungen sind typisch für die Ericaceae. Sie wurden in Form von phenolischen Heterosiden (wie Arbutin und verwandte Glycoside), Gerbstoffbausteinen (Gallussäure, Ellagsäure, Catechine und Leucoanthocyane), kondensierten Gerbstoffen und Flavonoiden nachgewiesen. Weiters sind innerhalb der Familie isoprenoide Sekundärstoffe zu finden: Mono- und Sesquiterpene in ätherischem Öl, Di- sowie Triterpene wie vor allem Ursolsäure als Komponente des Epicuticularwachses (Hegnauer, 1989). Außerdem besteht in einigen Arten eine Tendenz zur Produktion giftiger Grayanotoxine wie z.B. Grayanotoxin I (vgl. **Abb. 9**) aus der Verbindungsklasse der Diterpene (Hess, 2005). Diese toxische Verbindung ist schon lange aus dem Nektar von *R. thomsonii* Hook. f. bekannt (Carey et al., 1959) und wurde später auch in anderen Arten nachgewiesen (Constantine et al., 1967). Einer allfälligen Giftigkeit von *R. ferrugineum* widersprechen die Ergebnisse von Kürten (1971) und Louis et al. (2010). Weitere Details zu den Sekundärstoffen der Ericaceae werden in **Kapitel 3** eingehender diskutiert.

Verwendung finden Ericaceae als Wildfrüchte, Arzneipflanzen und Zierpflanzen (Frohne & Pfänder, 2004; Swiderski et al., 2004). Die wichtigste Rolle als Wildobst spielt *Vaccinium myrtillus* L., welche ebenso wie andere *Vaccinium*-Arten (*V. corymbosum* L., *V. vitis-idaea* L.) wegen ihrer Früchte kultiviert wird (Lieberei, 2007). Diese sind auf Grund ihres Gehalts an Flavonoiden interessant für die Nahrungsmittelindustrie (Häkkinen et al., 1999). Die Blätter von *R. ferrugineum* fanden traditionell Anwendung als Dekokt für Indikationen wie Rheumatismus, Blutdruck, Muskel- und Stoffwechselerkrankungen (Goez, 1994). Laubblätter von *R. cinnabarinum* Hook. F. sollen als Räucherwerk verwendet eine stark berauschende Wirkung haben, und ein verhaltensverändernder Einfluss konnte sogar bei Yaks beobachtet werden (Rätsch, 2009). Als Medizinalpflanze ist *Gaultheria procumbens* L. durch ihre bekannte Wirkung als Analgetikum und Anästhetikum

von Bedeutung (Halberstein, 2005). Zhang et al. (2006) berichten von entzündungshemmender Wirkung von *G. yunnanensis* (Franch.) Rehder.

3 Verbindungsklassen

Die Familie der Ericaceae zeichnet sich durch Inhaltsstoffe der Gruppe der Polyphenole aus: phenolische Heteroside, Tannine, deren Bausteine sowie Flavonoide. Des Weiteren sind isoprenoide Sekundärstoffe charakteristisch, darunter Monoterpene und Sesquiterpene, Pseudoindikane, Diterpene und Triterpene (Fan et al., 1999; Hegnauer, 1966; Hess, 2005). Im folgenden Kapitel soll auf die beiden Verbindungsklassen Flavonoide inklusive Exkretflavonoide sowie Terpenoide, mit speziellem Fokus auf Ericaceae, näher eingegangen werden.

3.1 Flavonoide

Flavonoide sind mit ca. 9000 bekannten Vertretern eine sehr umfangreiche Gruppe von polyphenolischen Verbindungen. Sie sind in Geweben höherer Pflanzen ubiquitär vertreten (Williams & Grayer, 2004). Flavonoide wurden in allen Pflanzengruppen einschließlich niederer Pflanzen wie *Tortula muralis* HEDW. (Bryophyta; Basile et al., 2002) oder dem Pilz *Colletotrichum dematium* f. sp. *epilobii* (Abou-Zaid et al., 1997) nachgewiesen. Eine Detektion verschiedener Flavone, Flavanone und Anthocyanidine erfolgte auch in den Chloroplasten von Gefäßpflanzen (Saunders & McClure, 1976) sowie im Nucleus verschiedener Zelltypen von *Arabidopsis* sp. (Saslowky et al., 2005). Die Grundstruktur flavonoider Verbindungen ist in **Abb. 4** dargestellt; mit Ausnahme der Chalcone ist der heterozyklische Ring C geschlossen. Modifizierungen dieser Grundstruktur erfolgen durch Hydroxylierungen, Methylierung oder Prenylierung sowie Glycosidierung. Weitere funktionelle Gruppen umfassen aromatische und aliphatische Säuren, welche vor allem bei den Anthocyanen eine wesentliche Rolle spielen (Iwashina, 2003).

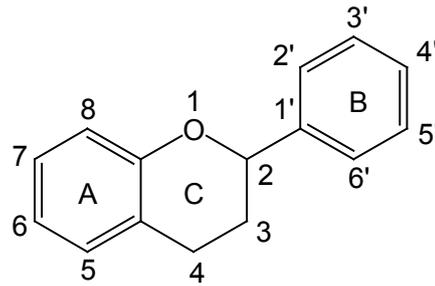


Abb. 4 Grundgerüst der Flavonoide mit Ausnahme der Chalcone (nach Taiz & Zeiger, 2010).

Meist treten Flavonoide natürlich in Verbindung mit Zucker in konjugierter Form auf. Durch die Konjugation mit unterschiedlichen Zuckerderivaten entsteht große Diversität innerhalb der Stoffklasse, wobei oft mehr als nur ein Zuckermolekül angelagert wird (Taiz & Zeiger, 2010).

3.1.1 Biosynthese

Die aromatische Aminosäure Phenylalanin, welche auch über den Shikimatsäure-Weg entsteht, ist bei der pflanzlichen Biosynthese der Vorläufer für Phenylpropanoide und Flavonoide. Durch Kondensation von *p*-Cumaroyl-CoA und 3 Molekülen Malonyl-CoA entsteht als erste flavonoide Struktur ein Chalcon (Bowsher et al., 2008). Sowohl der B-Ring als auch die 3-Carbon-Brücke wird aus *p*-Coumaroyl-CoA gebildet, woraus der C-Ring entsteht. Drei Moleküle Malonyl-CoA aus dem Acetat-Weg bilden über Kondensation den A-Ring. Modifizierungen der drei Ringe, insbesondere der Grad an Oxidation der C3-Brücke, sind die Grundlage der Klassifikation der Flavonoide (Taiz & Zeiger, 2010). Zur Darstellung der Hauptklassen siehe **Abb. 5**. Chalcone unterscheiden sich von anderen Flavonoiden durch ihren offenen C-Ring. Sie sind zudem Isomere der Flavanone, welche einen geschlossenen C-Ring aufweisen. Eine C=C Doppelbindung zwischen C2 und C3 charakterisiert Flavone, Flavonole und Isoflavone. Letztere entstehen aus Flavanonen durch Arylmigration des B-Rings von C2 auf C3. Flavonole unterscheiden sich von Flavonen auf Grund ihrer Hydroxyl-Gruppe am C3 des C-Rings (Bowsher et al., 2008).

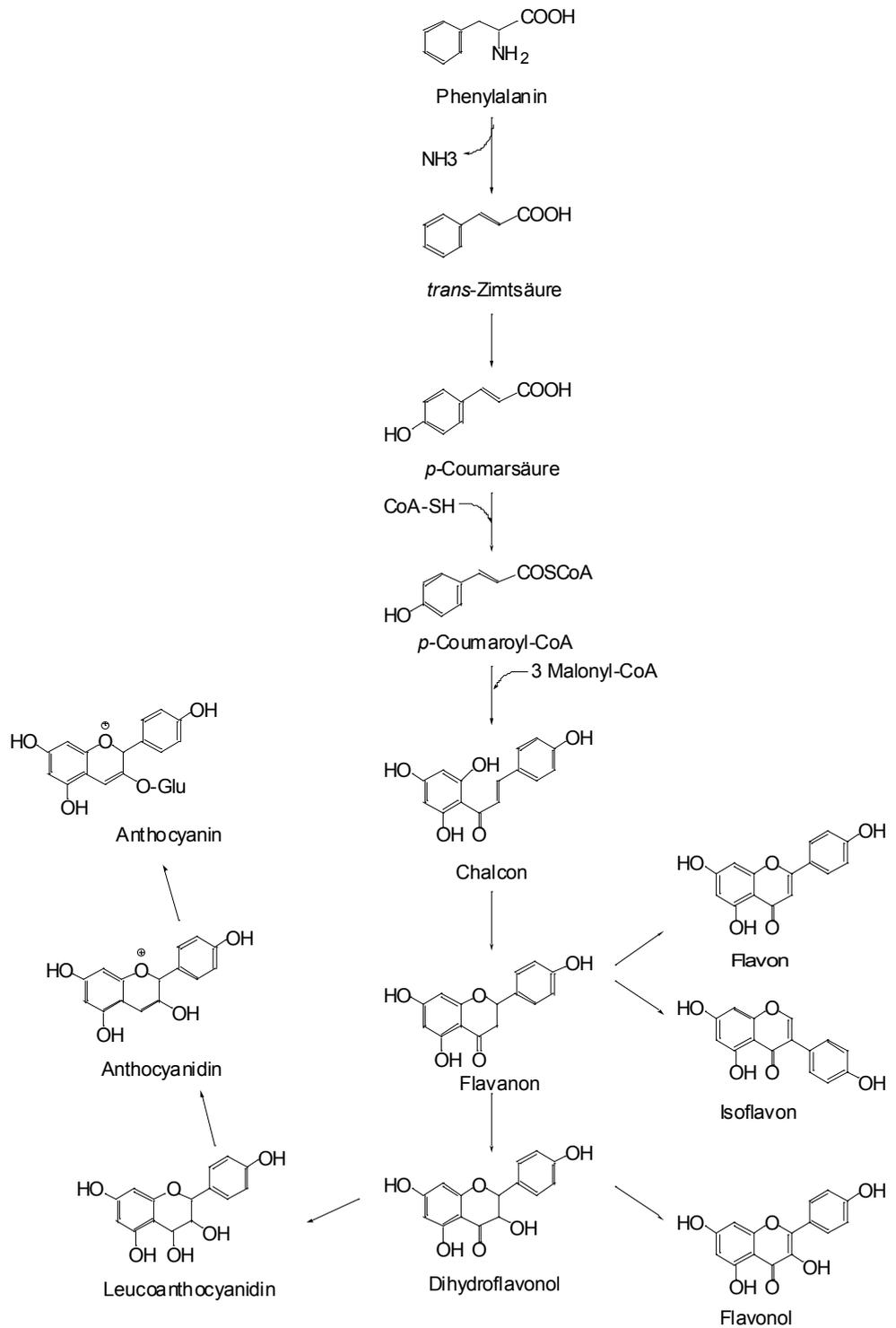


Abb. 5 Biosynthese der wichtigsten Flavonoidklassen ausgehend von Phenylalanin aus dem Shikimatsäure-Weg und drei Molekülen Malonyl-CoA (nach Taiz & Zeiger, 2010).

3.1.2 Exkretflavonoide

In Pflanzen kann eine Unterscheidung zwischen Sekretion und Exkretion nicht so eindeutig vorgenommen werden wie in tierischen Organismen (Romberger et al., 1993). Lipophile Flavonoide werden auch Exsudat- sowie Oberflächen-Flavonoide oder externe Flavonoide genannt (Onyilagha & Grotewold, 2004), wenn es sich um Exkretbestandteile handelt, welche auf Epidermisoberflächen akkumuliert werden (Valant-Vetschera & Brem, 2006).

Pflanzen, welche apolare Exkrete sezernieren, weisen meist Drüsenhaare epidermaler Herkunft auf, in denen ätherische Öle bzw. Terpenoide produziert werden. Trichome allgemein sind in ihrer Struktur variabel und können sich auf allen pflanzlichen Organen befinden. Grundsätzlich wird zwischen Drüsenhaaren und nicht-drüsigen Trichomen unterschieden (Werker, 1993). Beide Trichomarten sind in manchen Fällen auf dem gleichen Individuum oder Organ lokalisiert (Schillmiller et al., 2008). In frühen Arbeiten wurde die Struktur von Trichomen des Subgenus *Rhododendron* zur taxonomischen Einordnung genutzt (Cullen, 1980). In manchen Arbeiten wird eine funktionelle Unterscheidung von Drüsenhaaren vorgenommen: Peltate Trichome, welche ihr Drüsensekret erst bei Berührung abgeben und versenkt vorliegen können, sowie capitate Trichome, deren Inhaltsstoffe schon kurz nach Produktion sezerniert werden (Werker, 1993). So wurden auf der Cuticula von *Salvia blepharophylla* Brandegees ex Epling (Lamiaceae) neben nicht-sezernierenden Trichomen peltate sowie capitate Drüsenhaaren nachgewiesen (Bisio et al., 1999).

Untersuchungen der Gattungen *Nicotiana* und *Solanum* (Solanaceae) zeigten, dass hydrophile und lipophile Verbindungen jeweils von spezifischen Drüsenhaaren produziert werden. Es liegen ihnen verschiedene Transport- und Exkretionsmechanismen zu Grunde (Wollenweber et al., 2005). In Drüsenhaaren der Laubblätter von *Mentha x piperita* L., pro spec. & Hylander (Lamiaceae) konnte die Akkumulation von Flavonen nachgewiesen werden

(Voirin et al., 1993). Bosabalidis et al. (1998) fanden bei *Origanum x intercedens* (Lamiaceae) peltate Drüsenhaare, welche im subcuticulären Raum ausschließlich homogenes ätherisches Öl produzieren, und Drüsenhaare, welche im ätherischen Öl zahlreiche Tropfen mit freien Flavonaglyca aufweisen. Die Bildung von ätherischem Öl ist Ursache für den charakteristischen aromatischen Geruch z. B. von Asteraceae und Lamiaceae (Valant-Vetschera & Brem, 2006). Im Sekret capitater Drüsenhaare von *Helianthus* sp. (Asteraceae) konnten 5-Deoxy-Flavone nachgewiesen werden (Göpfert et al., 2006), welche innerhalb der Familie selten vertreten sind. Im autofluoreszenten Sekret wurden Phenylalanin-Ammoniumlyase (PAL) sowie Chalconsynthase (CHS) nachgewiesen. Diese Enzyme sind für die Synthese von Flavonoiden unumgänglich, womit in diesem Fall die direkte Produktion von Flavonoiden in Drüsenhaaren bestätigt wird.

Vorkommen und chemische Zusammensetzung

Der Gehalt an Exkretflavonoiden kann innerhalb einer Familie, wie beispielsweise den Asteraceae, deutlichen Schwankungen unterliegen. In der Unterfamilie Asteroideae ist mit *Flourensia resinosa* S. F. Blake (Asteraceae) die Spezies mit der bisher quantitativ höchsten bekannten Produktion von Exkretflavonoiden zu finden, mit einem Anteil von 27 % des Trockengewichts. Normalerweise liegen meist geringe Mengen lipophiler Flavonoidaglyca in einem mengenmäßig größeren Terpenoid-Anteil vor (Wollenweber & Valant-Vetschera, 1996). Fang et al. (1986) wiesen in den oberirdischen Pflanzenteilen von *Gutierrezia microcephala* A.Gray (Asteraceae) 51 Flavonoide nach, davon sind 43 Verbindungen Aglyca. In den Asteraceae treten Flavonoide teilweise deutlich gattungs- oder artspezifisch bzw. nur in bestimmten Varietäten auf (Wollenweber & Valant-Vetschera, 1996). In einigen Fällen tritt das Exsudat als mehlartiger Belag in Erscheinung, wie etwa bei farinosen Farnen (Wollenweber & Schneider, 2000) und der Gattung *Primula* (Valant-Vetschera et al., 2009). Exkretflavonoide wurden auch im Wachs der Laubblätter von *Eucalyptus* L'Hérit (Myrtaceae) oder im harzig-klebrigen Belag von in *F. resinosa* (Wollenweber,

1990) detektiert. Fernandez et al. (1999) wiesen mit Hilfe von konfokaler Laserrastermikroskopie Flavonoid-Ablagerungen auf den Cuticulae verschiedener Früchte von Nutzpflanzen nach.

Neben freien Flavonoidaglyca wurden gelegentlich auch Glycoside in den durch Abspülen gewonnenen Exsudaten festgestellt, wie etwa Quercetin-7-O-Glycosid in *Crysanthemum segetum* L. (Asteraceae; Onyilagha & Grotewold, 2004; Valant-Vetschera et al., 2003) oder Flavonolglycoside in einigen Vertretern der Solanaceae (Wollenweber et al., 2005). Umgekehrt wurden lipophile Flavonoide in Zellsaftvakuolen von *Vellozia streptophylla* S. B. Sm (Velloziaceae) detektiert (Williams et al., 1991).

Die Verbreitung von Exkretflavonoiden ist an das Vorhandensein von sezernierenden Strukturen gebunden, weshalb sie nicht in allen Pflanzenfamilien anzutreffen sind. Darüber hinaus wird oftmals kaum differenziert extrahiert. Es ist anzunehmen, dass sich Angaben zu freien Flavonoidaglyca in Extrakten überwiegend auf Exsudatkomponenten beziehen (Wollenweber & Valant-Vetschera, 1996). In **Tab. 2** sind einige wesentliche Familien und die Zusammensetzung der Exsudate angeführt. Weitere Beispiele umfassen die Exkretflavonoide der Pteridaceae *Pentagramma triangularis* (Kaulf.) Yatsk., Windham & E. Wollenw. und *Notholaena standleyi* Maxon (Wollenweber & Schneider, 2000) sowie *Ginkgo biloba* L. (Gymnospermae), welcher im Exsudat Biflavonoide enthält (Wollenweber et al., 1998). Im Gegensatz zu den dicotylen Vertretern konnten Exkretflavonoide bei Monocotyledonae seltener nachgewiesen werden, wie etwa bei der Gattung *Vellozia* (Velloziaceae; Williams et al., 1994).

In einigen Fällen wurden die Exkretflavonoid-Profile vergleichend untersucht und chemosystematisch interpretiert, wie etwa in den Gattungen *Achillea* oder *Artemisia* (Asteraceae; Valant-Vetschera et al., 2003; Wollenweber & Valant-Vetschera, 1996). Neben der Zusammensetzung von Exkretflavonoid-Gemischen wurden in der Gattung *Betula* (Betulaceae) auch die Struktur,

Dichte und Verteilung von Trichomen als weitere Merkmale zur taxonomischen Gliederung herangezogen (Göpfert et al., 2006).

Tab. 2 Exkretflavonoide ausgewählter Dicotyledonae.

Pflanzenfamilie	Pflanzenart	Inhaltsstoffe	Quelle
Asteraceae	<i>Achillea moschata</i> Jacq.	6-Hydrokaempferol-3,6-Dimethyl-Ether, 3-Methylbetuletol, 6-Hydroxykämpferol-3,6,7,4'-Tetramethylether, Chrysosplenol-D, Centaureidin	Valant-Vetschera & Wollenweber, 2001
Boraginaceae	<i>Nonea lutea</i> Bory & Chaub.	Apigenin, Apigenin-7-Methylether, Luteolin, Lut-7-Me, Lut-7,3-DiMe, Tricetin-4'-Me	Wollenweber et al., 2002
Fabaceae	<i>Ononis fruticosa</i> L.	Apigenin, Ap-7-Me, Ap-4'-Me, Ap-7,4'-DiMe, Scut-6-4'-DiMe, 5-Scut-6,7,4'-TriMe, Luteolin, Lut-7-Me, Quercetin, Qu-3-Glycosid	Wollenweber et al., 2003
Lamiaceae	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Salvigenin, Nevadensin, Cirsileol, Cirsilineol, Eupatorin, Apigenin, Acacetin, Genkwanin, Apigenin 7,4'-Dimethylether, Cirsimaritin, Ladanein, Gardenin B	Grayer et al., 1996
Solanaceae	<i>Physalis alkekengi</i> L.	Quercetin, Que-3-Me, Que-3,3'-DiMe, Que-3,7-DiMe, Que-3,7,3'-TriMe, Myricetin 3,7,3'-TriMe, Myr-7,3',4',5'-TetraMe	Wollenweber et al., 2005

3.1.3 Funktion

Flavonoide sind physiologisch und ökologisch bedeutsame sekundäre Metabolite, indem sie wesentliche Funktionen gegen abiotischen und biotischen Stress ausüben. Dazu zählt der Schutz der Pflanzen vor UV-B-Strahlung sowie ihre antioxidative Wirkung. Sie spielen auch eine wesentliche Rolle in Pflanzen-Tier-Interaktionen, sowohl in mutualistischen (Signalmoleküle) als auch antagonistischen Beziehungen (Herbivore, Pathogene; Iwashina, 2003; Lattanzio et al., 2006; Lien et al., 1999). Freie Flavonoidaglyca finden sich oftmals in den Exsudaten von Pflanzen trockener und/oder alpiner Standorte, weshalb sowohl eine Schutzfunktion gegenüber erhöhter UV-Strahlung als auch gegen Herbivore und Pathogene angenommen wird (Onyilagha & Grotewold, 2004; Valant-Vetschera & Brem, 2006). Die wichtigsten Funktionen werden nachstehend diskutiert.

3.1.4 UV-B-Schutz

Die meisten der polyphenolischen Verbindungen und besonders Flavonoide können auf Grund ihrer Absorption in bestimmten Wellenlängenbereichen Pflanzen vor UV-B-Strahlung schützen (Lattanzio et al., 2006; Körner, 2003). Meist werden Flavonoidglycoside in Vakuolen der epidermalen oder subepidermalen Schichten der vegetativen Organe (Yoshitama, 2000) oder als lipophile Aglyca im Exsudat akkumuliert. Die Wellenlängenbereiche, in welchen einzelne Gruppen von Flavonoiden absorbieren, sind unterschiedlich. Flavone und Flavonole in Blättern oder im Exsudat auf Blattoberflächen schützen Pflanzen z. B. vor möglichem Schaden, indem sie deren Sensibilität gegenüber UV-Strahlung bei 250 und 350 nm reduzieren (Lattanzio et al., 2006; Olsson et al., 1998). Photosynthetisch aktive Wellenlängen können hingegen ungehindert passieren (Taiz & Zeiger, 2010). *In vitro* Tests zeigten, dass Flavonoide wie z. B. Naringenin pflanzlichen Organismen durch ihre Absorptionsfähigkeit im genannten Bereich auch deshalb von Nutzen sind, da sie UV-B-induzierte DNA-Schäden verhindert können (Kootstra, 1994; Stapleton & Walbot, 1994).

Im Experiment an transgenen *Petunia* Pflanzen konnte ihre photoprotektive Wirkung in Laubblättern bestätigt werden. Wenn diese Blätter entsprechender UV-Strahlung ausgesetzt sind, steigt der Flavonoid-Gehalt im Vergleich zu Kontrollpflanzen signifikant an, wobei das Flavonol Kämpferol dominiert (Ryan et al., 2002). Ähnliche Ergebnisse wurden von *Phillyrea latifolia* L. (Oleaceae) berichtet, indem in Laubblättern und Drüsenhaaren bei intensiver Sonnenstrahlung eine verstärkte Akkumulation von Flavonoiden beobachtet wurde (Tattini et al., 2000). Die Zahl der Drüsenhaare auf Laubblättern stieg an, und im Gegensatz zu Schattenblättern akkumulierten Sonnenblätter Flavonoide in der oberen und unteren Epidermis sowie im Mesophyll. Zusätzlich fanden sich Flavonoidglycoside in Drüsenhaaren, wenn die Blätter starker Sonneneinstrahlung ausgesetzt wurden. Es wurden auch tages- und jahreszeitliche Schwankungen des Flavonoidgehalts in Geweben alpiner

und/oder in ariden Lebensräumen vorkommender Pflanzen beobachtet (Chaves et al., 1997; Jalal et al., 1982; Veit et al., 1996). Neben diesen Befunden zu Flavonoidglycosiden gibt es auch Hinweise zur Wirkung der Flavonoidaglyca (Harborne & Williams, 2000). Da Flavonoide im Exsudat von Pflanzen häufig O-Methylierung aufweisen, können sie UV-B-Strahlung speziell im Bereich von 250-320 nm absorbieren und schützen so Pflanzen vor UV-Schädigung.

Interaktionen mit der Umwelt

Flavonoide sind in mutualistischen und antagonistischen Interaktionen zwischen Pflanzen und ihrer Umwelt involviert. So spielen sie als Pigmente in Blüten und Früchten bei Bestäubung und Fruchtverbreitung eine wichtige Rolle. Isoflavone der Leguminosae sind als Signalmoleküle wesentlich am Zustandekommen der Symbiose mit den Stickstoff fixierenden Rhizobien (Knöllchenbakterien) beteiligt (Gage, 2004; Subramanian et al., 2007; Taylor & Grotewold, 2005). Flavonoide sind auch als Abwehrstoffe gegen Pilze, herbivore Insekten, Mollusken sowie Vertebraten bekannt (Dakora et al., 1996).

Auf Grund ihres Vorkommens in fragilen Drüsenhaaren und im Exsudat könnten sie eine Rolle bei der Abwehr herbivorer Insekten spielen (Wollenweber & Valant-Vetschera, 1996), oder mit Hilfe ihrer antimikrobiellen Wirkung einen Schutz vor Pathogenen bieten (Onyilagha & Grotewold, 2004). Nach dem Entfernen von Wachsen und Terpenoiden sowie anderer Kohlenwasserstoffe aus dem Exsudat von *Cistus ladanifer* L. (Cistaceae) wurden die enthaltenen Exkretflavonoide, vorwiegend Derivate des Flavons Apigenin sowie des Flavonols Kämpferol (Chaves et al., 1997), auf eine Hemmung der Ca^{2+} -ATPase-Aktivität des Sarcoplasmatischen Reticulums getestet. Daraus wurde geschlossen, dass schon ein Verzehr weniger mg der Laubblätter eine Entspannung der Mundskelettmuskeln von Herbivoren verhindern kann und damit ihr Fraßverhalten bei *C. ladanifer* einschränkt (Sosa et al., 2004).

Antioxidative Wirkung

Flavonoide können als Radikalfänger wirken, indem sie H-Atome aus ihren phenolischen Hydroxylgruppen abgeben. Dabei ist die Anzahl ihrer OH-Gruppen am B-Ring direkt proportional zur antioxidativen Wirkung (Cao et al., 1997; Lien et al., 1999). So können Flavonoide oxidiertes α -Tocopherol wieder in seine aktive Form umwandeln (Burda & Oleszek, 2001). Auch die Oxidation von Linolsäure durch Peroxylradikale (ROO^\bullet) wird von Flavonoiden gehemmt (Torel et al., 1985). Tests potentieller antioxidativer Verbindungen werden größtenteils *in vitro* durchgeführt (Bernsmann, 2002), weshalb auf die Wirkung *in vivo* nur bedingt geschlossen werden kann. Deshalb wird eine Anwendung mehrerer Testsysteme zur Abklärung der Wirkung empfohlen (Hernández et al., 2009), was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse aus verschiedenen Studien erhöhen sollte.

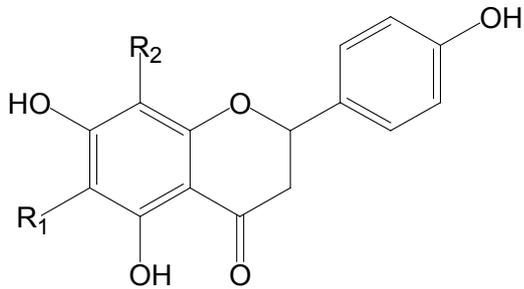
Die antioxidative Aktivität von Flavonoiden spielt auch in der menschlichen Ernährung eine wesentliche Rolle. Flavonoide sind in fast allen Gemüsesorten und Früchten enthalten, womit es bei entsprechender Diät zur Aufnahme größerer Mengen dieser Stoffe kommen kann (Brett et al., 2009; Narayana et al., 2001; Spencer et al., 2003). Flavonole liegen neben Anthocyanen beispielsweise in großer Menge in essbaren Früchten verschiedener Grossulariaceae, Ericaceae (inklusive ehemalige Empetraceae) und Rosaceae vor (Häkkinen et al., 1999; Li et al., 2008). Neben ihrer antioxidativen Wirkung konnten auch positive Effekte bei Herzerkrankungen und Krebs festgestellt werden (Kyle & Duthie (2006)). Weitere pharmakologische Aktivitäten umfassen entzündungshemmende Wirkungen sowie antikanzerogene, antithrombotische und kardioprotektive Effekte (Bravo, 1998; Chen & Dou, 2008; Harborne & Williams, 2000; Zern & Fernandez, 2005).

3.1.5 Flavonoide der Ericaceae

In chemotaxonomischen Untersuchungen konnten in Vertretern der Ericaceae das Vorkommen von Flavonolen und Dihydroflavonolen in Blättern und Blüten nachgewiesen werden (Hegnauer, 1989; Chosson et al., 1998). In Gesamtextrakten (Infloreszenzen und Laubblätter) von *R. ferrugineum* wurden mehrere Quercetin-Glycoside sowie die beiden Dihydroflavonolglycoside, *trans*-Taxifolin-3-O- α -Arabinopyranosid und *cis*-Taxifolin-3-O- α -Arabinopyranosid nachgewiesen (Chosson et al., 1998). Häufige Flavonole in Laubblättern sind Herbacetin, Gossypetin sowie die 5-Methylether von Kämpferol, Quercetin, Myricetin und Caryatin (Hegnauer, 1989; vgl. **Abb. 6**). Im ätherischen Öl der Laubblätter von *R. ferrugineum* wurden weitere glycosidische Flavonidverbindungen sowie die Flavonoidaglyca Quercetin, Myricetin und Farrerol detektiert (Louis et al., 2010; **Abb. 6**). In capitaten Drüsenhaaren von *E. nigrum* (Ericaceae) wurden zwei dioxygenierte Chalcone sowie drei dioxygenierte Dihydrochalcone als Exkretflavonoide nachgewiesen (Wollenweber et al., 1992). Die Blütenfarbe von *Rhododendron* sp. ist abhängig vom Substitutionsmuster der Flavonole. So führt eine zusätzliche Hydroxylgruppe von Quercetin, an C6- (Quercetagenin) oder C8-Position (Gossypetin), zu einem Farbwechsel von gelber, wie im Fall von unsubstituiertem Quercetin, zu creme-farbener Blütenfarbe (Lattanzio et al., 2006; Formel siehe **Abb. 6**).

Nur wenige Arbeiten beschäftigen sich mit der Funktion von Flavonoiden in Ericaceae. In *V. myrtillus* wurde nach Infektion mit dem Pilzendophyten *Paraphaeosphaeria* sp. oder dem Pilzpathogen *Botrytis cinerea* eine erhöhte Flavonoidsynthese und Akkumulation festgestellt (Koskimäki et al., 2009). Das Exkret auf Laubblättern von *E. nigrum* ist vermutlich ebenfalls gegen Pathogene wirksam (Wollenweber et al., 1992).

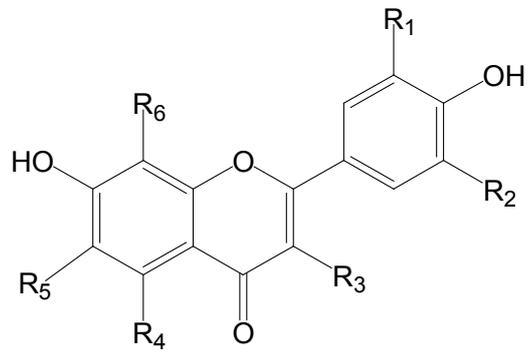
Flavanone



Naringenin $R_1=R_2=H$

Farrerol $R_1=R_2=CH_3$

Flavonole



Quercetin $R_1=R_5=R_6=H$; $R_2=R_3=R_4=OH$

Kämpferol $R_1=R_2=R_5=R_6=H$; $R_3=R_4=OH$

Myricetin $R_1=R_2=R_3=R_4=OH$; $R_5=R_6=H$

Herbacetin $R_1=R_2=R_5=H$; $R_3=R_4=R_6=OH$

Gossypetin $R_1=R_3=R_4=R_6=OH$; $R_2=R_5=H$

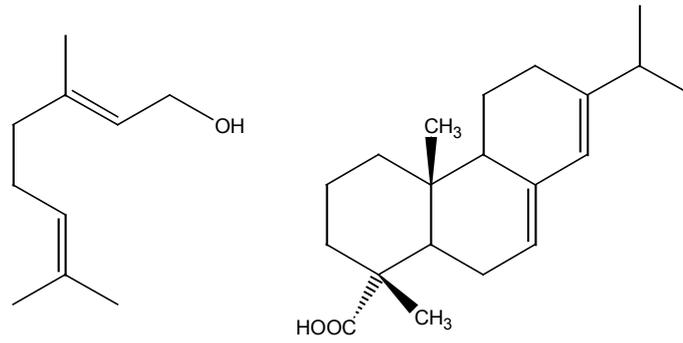
Caryatin $R_1=OH$; $R_2=R_5=R_6=H$; $R_3=R_4=OMe$

Quercetagetin $R_1=R_3=R_4=R_5=OH$; $R_2=R_6=H$

Abb. 6 Flavonoidaglyca aus *Rhododendron* spp.: Naringenin, Kämpferol und Quercetin wurden in der vorliegenden Arbeit im Exsudat von *R. ferrugineum* nachgewiesen.

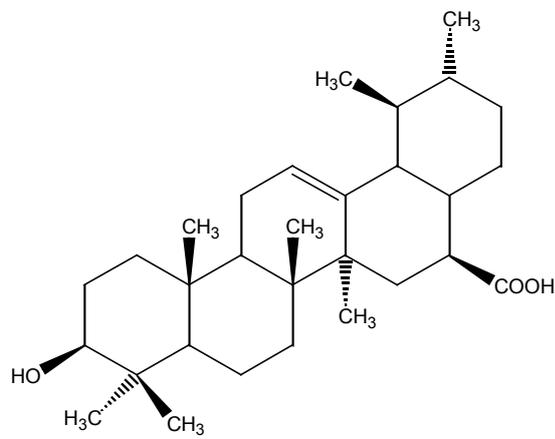
3.2 Terpenoide

Terpenoide stellen mit ca. 25 000 Verbindungen die größte sowie eine höchst diverse Gruppe von Sekundärstoffen dar. Sie werden häufig auch als Terpene oder Isoprenoide bezeichnet (Gershenzon & Dudareva, 2007). Terpenoide bestehen aus C5-Isopren-Einheiten, deren Anzahl die Basis für ihre Klassifizierung darstellt. Monoterpene enthalten zwei, Sesquiterpene drei, Diterpene vier, Triterpene sechs dieser Bausteine (Taiz & Zeiger, 2010), siehe **Abb. 7**.



Geraniol, Monoterpen

Abietinsäure, Diterpen



Ursolsäure, Triterpen

Abb. 7 Grundstruktur ausgewählter Mono-, Di- und Triterpene (nach Gershenzon & Dudareva, 2007; Harmannstein, 2008).

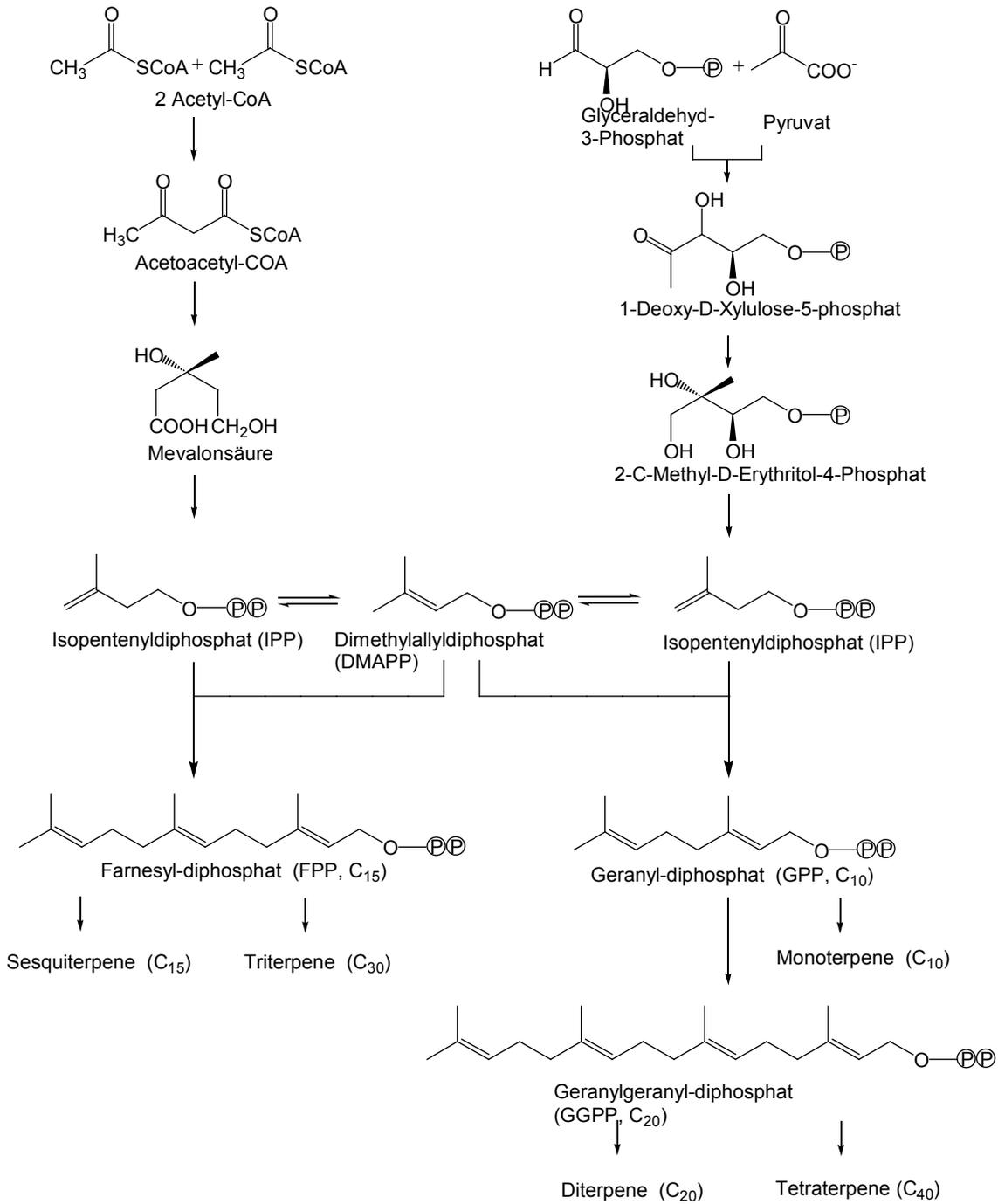


Abb. 8 Biosynthese der Terpenoide. Biosynthese der Terpenoide. Im Mevalonat- und Methylerythritol-phosphat-Stoffwechselweg werden die Isomere Isopentenyl-diphosphat (IPP) und Dimethylallyl-di-phosphat (DMAPP) gebildet, woraus Mono-, Sesqui-, Di-, Tri- und Tetraterpene entstehen (nach Taiz & Zeiger, 2010).

3.2.1 Biosynthese

Einen Überblick über die Biosynthese von Terpenoiden gibt **Abb. 8**. Ihren ersten Schritt stellt die Bildung von Isopentenylidiphosphat (IPP), einer Terpenoid-Vorstufe, dar. Diese kann in separierten subzellulären Kompartimenten über den cytosolischen Acetat-Mevalonat-Weg (MVA-Weg), welcher auch in tierischen Organismen zu finden ist, oder über den Deoxyxylulose-Phosphat-Stoffwechselweg (oder Methylerythritolphosphatweg) in Plastiden produziert werden. Anschließend werden IPP und sein Isomer Dimethylallyldiphosphat (DMAPP) durch Prenyltransferasen verbunden, um die Terpen-Vorläufer Geranyl-Diphosphat (GPP, 10 C), Farnesyldiphosphat (FPP, 15 C), Geranylgeranyldiphosphat (GGPP, 20 C) etc. zu bilden. Im dritten Schritt entstehen die unterschiedlichen Terpenoidklassen durch Terpensynthasen, welche zur strukturellen Vielfalt führen. Eine Reihe von Enzymen, darunter Hydroxylasen, Dehydrogenasen, Reduktasen, Glycosyltransferasen und Methyltransferasen katalysieren die Anlagerungen funktioneller Gruppen, woraus sich die hohe Zahl an bekannten Derivaten erklärt (Bowsher et al., 2008).

3.2.2 Funktion

Die biologische Funktion der Mehrzahl der Terpenoide ist nicht eindeutig geklärt (Gershenzon & Dudareva, 2007). Einige Terpenoide beeinflussen Tier-Pflanzen-Interaktionen als Duftstoffe, Gifte oder Fraßschutz. Andere dienen pflanzlichen Organismen als Photosynthese-Pigmente, Komponenten der Elektronen-Transport-Kette, pflanzliche Wachstumsregulatoren, Harze zur Wundheilung oder entsprechen antibakteriellen Verbindungen (Bowsher et al., 2008).

3.2.3 Terpenoide der Ericaceae

In gestielten Drüsenhaaren der Ericaceae wird häufig ätherisches Öl produziert, welches eine Vielzahl von Monoterpenen sowie Sesquiterpenen enthalten kann (Hegnauer, 1966; Cao et al., 2004; Zhao et al., 2006). Louis et al. (2010) wiesen kürzlich einen Gehalt von 0,7 % ätherischem Öl in *R. ferrugineum* nach, worin z. B. das Monoterpen Geraniol enthalten ist (Doss et al., 1986), vgl. **Abb. 7**. Des Weiteren sind die sogenannten Grayanotoxine hervorzuheben, toxische Vertreter der Diterpene, sowie eine große Diversität von Triterpenen (Hegnauer, 1966).

Diterpene der Ericaceae

Insbesondere in Vertretern der Gattungen *Andromeda*, *Kalmia*, *Pieris*, *Leucothoe* sowie *Rhododendron* besteht eine Tendenz zur Produktion giftiger Diterpene bzw. Grayanotoxine (Cao et al., 2004; Constantine et al., 1967; Frohne & Pfänder, 2004; Hess, 2005). Diese werden in Laubblättern, Nektar und Pollen angereichert (Hänsel & Sticher, 2007). Die quantitativ höchsten Werte von Grayanotoxin I wurden innerhalb der Unterfamilien Rhododendroideae und Vaccinioideae (Kron et al., 2002) nachgewiesen. In getrockneten Blättern von *R. catawbiense* Michx., *R. metternichii* Siebold & Zucc., *R. flavum* G. Don sowie *R. ponticum* L. wurde Grayanotoxin I identifiziert (Kürten, 1971, siehe **Abb. 9**). Diese toxische Verbindung wurde erstmals aus dem Nektar von *R. thomsonii* Hook. f. isoliert (Carey, 1959). Grayanotoxin I bindet an Natrium-Kanäle in Membranen, wodurch eine kontinuierliche Depolarisierung ausgelöst wird und somit Einfluss auf Zentralnervensystem und Skelettmuskeln hat (Bowsher et al., 2008).

Roth (2008) weist auf den hohen Grad an Giftigkeit von *R. ferrugineum* hin. Louis et al. (2010) testeten die toxischen Eigenschaften der Inhaltsstoffe seines ätherischen Öls aus Laubblättern unter Verwendung von MTT-Tests

(Mitochondrial dehydrogenase activity), BrdU-Inkorporation (ELISA) und LDH-Freisetzung (nekrotische Aktivität). Damit werden die früheren Ergebnisse (Kürten, 1971) im Wesentlichen bestätigt, wonach *R. ferrugineum* auf Grund seiner Inhaltsstoffe als nicht toxisch anzusehen ist.

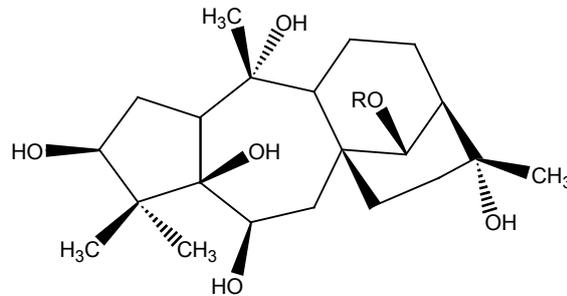


Abb. 9 Grundgerüst der Grayanotoxine Grayanotoxin I (R = COCH₃); Grayanotoxin III (R = H).

Triterpene der Ericaceae

Viele Ericaceae produzieren Cuticularwachs, welches zahlreiche Triterpene enthält (Hegnauer, 1966, 1989). Als wichtigstes Derivat ist Ursolsäure zu nennen, da sie innerhalb der gesamten Familie weit verbreitet ist und in Laubblättern und Früchten auch quantitativ die wichtigste Verbindung darstellt (Hegnauer, 1966), siehe **Abb. 7**. Balsdon et al. (1995) wiesen im epicuticulären Wachs von *Rhododendron* spp. einen Gehalt von 11-30 % Ursolsäure nach. Häufig vorkommende Triterpene umfassen α -, β -Amyrin und Dendropanoxid, welche in der vorliegenden Arbeit aus dem Exsudat von *R. ferrugineum* isoliert wurden (**Abb. 10**) sowie α - und β -Amyrin-Derivate, Taraxerol, Friedelinderivate, Lupeol und Oleanolsäure (Balsdon et al., 1995; Fokina et al., 1971; Hegnauer, 1966). Es wird vermutet, dass beide Amyrin-Derivate Fraßfeinde abwehren oder negativen Einfluss auf die Eiablage herbivorer Insekten ausüben. Aus *E. nigrum* sind die Triterpene Ursol- und Oleanolsäure, Uvaol, Erythrodiol sowie Nigrum-21-en-3-on bekannt (Toiron et al., 1995).

Die Triterpene 4,4-Dihydroxybenzoessäure und Methyl-3,4-Dihydroxybenzoat wurden aus *R. simsii* Planch isoliert und zeigten in drei unterschiedlichen *in vitro* Tests, antioxidative Wirkung (Takahashi et al., 2000). Mehrere Triterpen-

Komponenten von *R. formosanum* Hemsl., einem endemischen Vertreter der Gattung aus Taiwan, erwiesen sich ab einer Konzentration von 10^{-4} M hemmend auf das Radicula-Wachstum von *Brassica chinensis* L., darunter 5,6 β -Epoxy-5 β -Stigmastan-3 β -ol, 5,6 α -Epoxy-5 α -Stigmastan-3 β -ol, Lupeol und Ursolsäure (Chou et al., 2009).

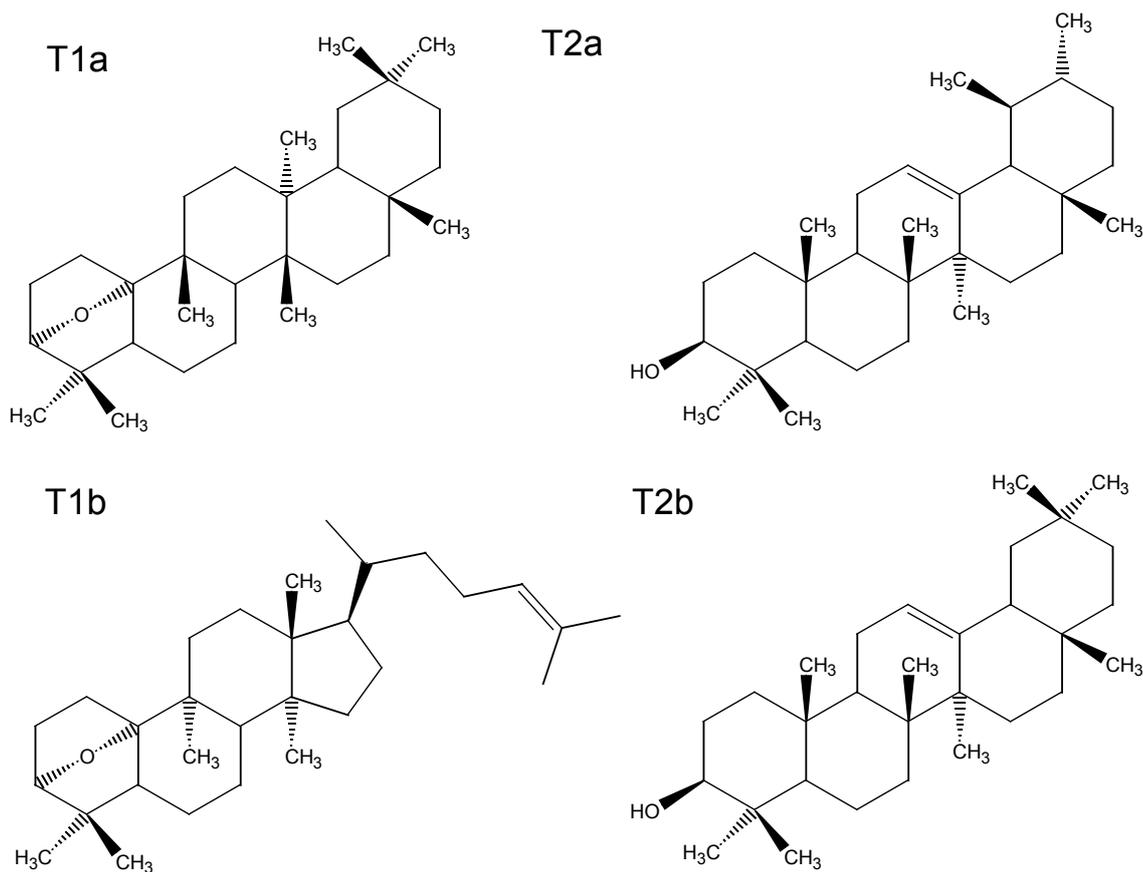


Abb. 10 Triterpene aus dem Exsudat von *R. ferrugineum*. Struktur der Verbindungen aufgeklärt unter Verwendung von NMR-Spektroskopie; **T1a** = Dendropanoxid; **T1b** = (20R)-3 α ,10 α -Epoxy-9-epi-cucurbita-24-en; **T2a** = α -Amyrin; **T2b** = β -Amyrin (nach Harborne & Baxter, 1993; Ruecker et al., 1999).

4 Material und Methoden

4.1 Pflanzenmaterial

In der vorliegenden Arbeit wurden Arten verschiedener Gattungen aus der Familie der Ericaceae untersucht. Das Pflanzenmaterial wurde im Botanischen Garten der Universität Wien (HBV) bzw. im Belvederegarten (BG) kultiviert. Zusätzliche Aufsammlungen wurden im Rahmen mehrerer Sammelreisen in unterschiedliche Gebiete Österreichs gesammelt. Die Herkunft des verwendeten Pflanzenmaterials von *R. ferrugineum* ist in **Abb. 11** zu sehen. Um die Untersuchungen abzurunden, erfolgte eine Analyse von Belegen aus dem Herbarium des Fakultätszentrums für Biodiversität der Universität Wien (WU). Eine alphabetisch geordnete Liste der untersuchten Arten ist in **Tab. 3** angeführt, Herbarbelege siehe **Abb. 15-20**.

4.2 Methoden

4.2.1 Exsudate

Das oberirdische Pflanzenmaterial wurde zunächst 3 - 5 Tage im Trockenschrank bei ca. 30°C getrocknet, anschließend wurden die Laubblätter und Sprosse mit Aceton p.a. abgespült. Die erhaltenen Lösungen wurden am Rotavapor bei Raumtemperatur eingeeengt. Für weitere Arbeitsschritte wurde eine Konzentration von 10 mg/mL bzw. 5 mg/mL eingestellt. Die Lagerung der Proben erfolgte bei -20°C im Gefrierschrank. Eine Auflistung des prozentuellen Anteils der Exsudate am Pflanzenmaterial siehe **Kapitel 8, Tab. 10**.

4.2.2 Gesamtextrakte der Blätter

Nach Abspülen der oberirdischen Teile für die Untersuchung der Exsudate wurden ca. 5 g Blätter in einem Mörser mit Aceton und feinem Seesand zerrieben. Für die HPLC- und DC-Vergleiche wurde eine Konzentration von 20 mg/mL bzw. 10 mg/mL eingestellt, eine Liste der Menge aller Gesamtextrakte siehe **Kapitel 8, Tab. 10**.

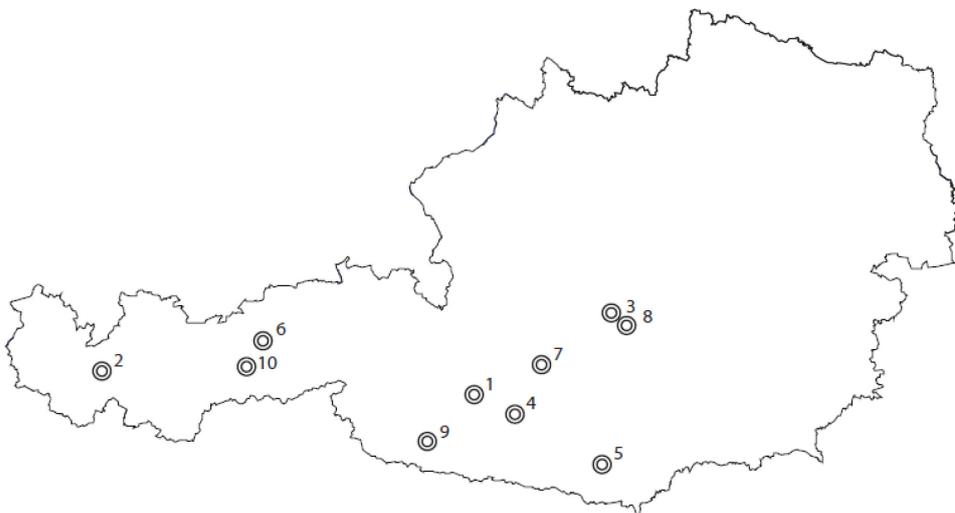


Abb. 11 Untersuchte Individuen von *R. ferrugineum*. Zahlen entsprechen den Sammelpunkten untersuchter Individuen von *R. ferrugineum* innerhalb Österreichs; 1 WU 045152; 2 WU 045163; 3 WU 045149; 4 WU GÖ 571A; 5 WU 12633; 6 WU S. N. **¹; 7 WU 10804; 8 WU S. N. **²; 9 WU S. N. **³; 10 WU S. N. **⁴ (siehe **Tab. 3**).

Tab. 3 Herkunft des untersuchten Pflanzenmaterials.

Nr.	Artname	Herkunft	Datum	Code
1	<i>Arctostaphylos uva-ursi</i> Spreng.	Gorfenspitze, Galtür, T	24.08.2008	WU 045159
2	<i>Calluna vulgaris</i> Salisb.	Fragant, K	12.07.2008	WU 045153
3	<i>C. vulgaris</i>	Arlberg-Gebiet, V	30.08.2008	WU 045162
4	<i>Empetrum hermaphroditum</i> Hagerup	Fragant, K	12.07.2008	WU 045150
5	<i>Erica carnea</i> L.	Uschova, K	27.07.2008	WU 045156
6	<i>E. carnea</i>	HBV	03.09.2008	HBV 07039 °
7	<i>Loiseleuria procumbens</i> (L.) Loisel.	Fragant, K	12.07.2008	WU 045151
8	<i>Rhododendron augustinii</i> Hemsl.	BG	13.10.2008	WU 045169
9	<i>R. ferrugineum</i> L. (1)	Fragant, K	12.07.2008	WU 045152
10	<i>R. ferrugineum</i> (2)	Arlberg-Gebiet, V	30.08.2008	WU 045163
11	<i>R. ferrugineum</i> (3)	Triebener Tauern, Stmk	25.08.09	WU 045149
12	<i>R. ferrugineum</i> (4)	Nockberge K	16.10.1988	WU GÖ 571A
13	<i>R. ferrugineum</i> (5)	Sattnitzzug, Süd-K	27.04.1993	WU 12633
14	<i>R. ferrugineum</i> (6)	Zunderkopf bei Hall, T	19.11.1902	WU S. N. ** ¹
15	<i>R. ferrugineum</i> (7)	Radstädter Tauern, S	23.06.2005	WU 10804
16	<i>R. ferrugineum</i> (8)	Bösenstein, Stmk	S. D. +	WU S. N. ** ²
17	<i>R. ferrugineum</i> (9)	Lienzer Dolomiten, T	13.08.1911	WU S. N. ** ³
18	<i>R. ferrugineum</i> (10)	Truna-Tal bei Trins, T	S. D. +	WU S. N. ** ⁴
19	<i>R. fortunei</i> Lindl.	HBV	27.06.2008	HBV 07049 °
20	<i>R. hirsutum</i> L.	Uschova, K	27.07.2008	WU 045158
21	<i>R. hirsutum</i>	Arlberg-Gebiet, V	30.08.2008	WU 045164
22	<i>R. x intermedium</i> Tausch	Arlberg-Gebiet, V	30.08.2008	WU 045165
23	<i>R. luteum</i> C. K. Schneid	HBV	27.06.2008	HBV 45001 °
24	<i>R. oreotrephes</i> W. W. Sm.	BG	13.10.2008	WU 045170
25	<i>R. russatum</i> Balf. f. & Forrest	BG	13.10.2008	WU 045173
26	<i>R. smirnowi</i> Trautv. Ex Regel	BG	13.10.2008	WU 045172
27	<i>R. yunnanense</i> Franch.	BG	13.10.2008	WU 045171
28	<i>Rhodothamnus chamaecistus</i> (L.) Rchb.	Uschova, K	27.07.2008	WU 045157
29	<i>Vaccinium gaultherioides</i> Boiss.	Fragant, K	12.07.2008	WU 045154
30	<i>V. gaultherioides</i>	Medrigkopf, See, T	26.08.2008	WU 045161
31	<i>V. gaultherioides</i>	Arlberg-Gebiet, V	30.08.2008	WU 045166
32	<i>V. myrtillus</i> L.	Arlberg-Gebiet, V	30.08.2008	WU 045167
33	<i>V. uliginosum</i> J.J.Sm.	Medrigalm, See, Tirol	26.08.2008	WU 045160
34	<i>V. vitis-idaea</i> L.	Arlberg-Gebiet, Vorarlberg	30.08.08	WU 045168

BG = Belvederegarten; # Pflanzenmaterial aus dem BG; HBV = Botanischer Garten der Universität Wien; ° Gartenbezeichnung des HBV; K = Kärnten; S = Salzburg; Stmk = Steiermark; T = Tirol; WU = Herbarium des Fakultätszentrums für Biodiversität der Universität Wien; V = Vorarlberg; + S. D. = sine die (Belege ohne Datum); ** S. N. = sine numero (Belege ohne Herbarnummer): **¹ Handel-Mazetti, Herm.; **² Wettstein, R.; **³ Watzl, B.; **⁴ Wettstein, R. und F., in: Fl. Exsicc. Austro-Hung. 3689;

4.2.3 Analytische Methoden

Dünnschicht-Chromatographie (DC)

Die vergleichende Analyse von Exsudaten und Gesamtextrakten erfolgte auf Kieselgel-Dünnschichtplatten mit Fluoreszenz-Indikator UV₂₅₄ aus Glas (Schichtdicke 0,25 mm; Fa. Merck, Artikelnummer 116835) und Alufolie (Schichtdicke 0,20 mm; Merck, Artikelnummer 5555). Folgende Laufmittelgemische erwiesen sich als geeignet: Für Flavonoide Toluol/Dioxan/Essigsäure (90/25/5) (Valant-Vetschera & Wollenweber, 1996) und für Triterpene Petrolether/Aceton (23/2) (Brozek, 2002). Komponenten mit chromophorer Gruppe können mit Hilfe von UV-Licht bei zwei verschiedenen Wellenlängen detektiert werden. Bei 254 nm kommt die Fluoreszenz löschende Wirkung von Verbindungen zum Tragen. In diesem Fall ist ein dunkler Spot zu sehen. Die Eigenfluoreszenz einer Komponente ist bei 366 nm sichtbar. Alle detektierbaren Spots wurden bei beiden Wellenlängen mit Bleistift gekennzeichnet. Verbindungen ohne chromophore Gruppe konnten durch Besprühen mit einer Anisaldehyd-Schwefelsäure Lösung und anschließendem Erhitzen der entwickelten DC-Platte sichtbar gemacht werden. Dieses Reagens besteht aus 85 mL Methanol, 10 mL Eisessig, 8 mL konzentrierter Schwefelsäure und 0,5 mL Anisaldehyd (Krebs et al., 1967). Zur Detektion der Flavonoide wurde Naturstoffreagenz A (Fa. Roth) eingesetzt. Diese Stoffklasse zeigt in Abhängigkeit ihres Substitutionsmusters sehr charakteristische Farbreaktionen mit Diphenylborsäure- β -aminoethylester. Verwendet wurde eine 0,2%ige Lösung in Methanol.

High Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)

Diese Anwendung ist ein sehr leistungsfähiges dünnschichtchromatographisches Trennverfahren. Die Korngröße der stationären Phase ist kleiner als bei herkömmlichen DC-Platten, wodurch eine

bessere Auftrennung erzielt wird. Weitere Vorteile gegenüber der herkömmlichen DC sind eine kürzere Laufzeit sowie die Verwendung geringerer Substanzmengen. Die Entwicklung der HPTLC-Platte (Schichtdicke 150 µm; Analtech, Artikelnummer Z265292) erfolgte planar in einer speziell dafür ausgelegten Trennkammer, R_f -Werte siehe **Kapitel 8, Abb. 22 & 23**.

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Diese Methode ermöglicht eine genaue und rasche Analyse von Stoffgemischen. Als stationäre Phase wird sehr feines (5 µm Korngröße) und chemisch modifiziertes Kieselgel mit lipophilen Seitenketten (reversed phase) verwendet. Dies bewirkt eine hohe Trennleistung, erfordert jedoch auch einen hohen Druck. Ein Dioden Array Detektor im Anschluss detektiert Verbindungen mit chromophoren Gruppen, die im Chromatogramm als Peak dargestellt werden. Die für eine bestimmte Methode charakteristischen Retentionszeiten von Substanzen in Kombination mit deren UV-Spektren ermöglichen einen Vergleich mit Reinsubstanzen aus der Spektrenbibliothek, oder geben zumindest erste Hinweise auf deren chemische Struktur.

Gerät: Agilent 1100 Series mit UV-Diodenarraydetektor, Detektion bei 230 nm

Säule: Agilent Hypersil® BDS-C18, 5 µm, 4,6 x 250 mm

Laufmittel: Gemische von wässrigem Puffer (o-Phosphorsäure 0,015 mol und Tetrabutylammoniumhydroxid 0,0015 mol, pH 3; verändert nach Reisch et al., 1990) und Methanol (gradient grade), siehe **Tab. 4**.

Fluss: 1 mL/min., Einspritzvolumen 10 µL.

Tab. 4 Laufmittelgradient für HPLC-Messungen.

Zeit [min.]	MeOH [Vol.%]
0	55
17	90
20	100
28	100

HPLC-MS

Eine Detektion von Molekülmassen in kleinsten Mengen wird unmittelbar nach der chromatographische Auftrennung der Probe ermöglicht. Das Eluat der Säule wird in ein Massenspektrometer geleitet, wo die aufgetrennten Stoffe ionisiert werden. Ihre Detektion erfolgt auf Grund der jeweiligen Masse (Lottspeich, 1998).

Säule: Agilent Hypersil® BDS-C18, 5 µm, 4,6 x 250 mm

Laufmittel: siehe **4.2.3.3** und **Tab. 4**.

Fluss: 1 mL/min., Einspritzvolumen 2-10 µL.

Tab. 5 Laufmittelgradient für HPLC-MS-Messungen.

Zeit [min.]	MeOH [Vol.%]
0	55
17	90
20	100
28	95

UV-Spektralphotometrie

Diese Methode liefert wertvolle Hinweise zu Substitutionsmustern von isolierten Flavonoiden. Ein großer Vorteil ist die Möglichkeit der Verwendung sehr kleiner Mengen an Reinsubstanz. Die Messungen erfolgten an einem Specord 205 UV-Photometer (Analytik Jena) und die erhaltenen Verschiebungsspektren wurden mit Mabry et al. (1970) verglichen. Für die durchgeführten Messungen wurden Konzentrationen von 0,1 mg/ mL eingestellt.

NMR-Spektroskopie

¹H- und ¹³C-Kernresonanz-Spektren der isolierten Substanzen wurden am Institut für Organische Chemie der Universität Wien auf einem Bruker AM-400 WB und einem WM 250 FT-Spektrometer in deuteriertem Chloroform

gemessen. Die Identifizierung der isolierten Verbindungen erfolgte mit Hilfe der von Prof. Robien erstellten NMR-Datenbank (CSEARCH-NMR data base) am genannten Institut.

4.2.4 Präparative Methoden

Säulen Chromatographie

Kieselgelsäule: Gesamtextrakte wurden einer groben Vortrennung über eine Säule (Länge ca. 60 cm, Durchmesser 20 mm) unterzogen, welche mit Kieselgel 60, Korngröße 0,2 – 0,5 mm (Firma Merck) befüllt war. Die Elution erfolgte durch mobile Phasen mit steigender Polarität (**Tab. 6**). Das Eluat wurde für spätere HPLC-, HPTLC- und DC-Vergleiche in 50 mL Fraktionen geschnitten und am Rotavapor aufkonzentriert.

Sephadexsäule: Zur abschließenden Reinigung von erhaltenen Trockensäulen- und MPLC-Fraktionen erfolgte eine Trennung über Sephadex LH20 (GE Healthcare). Diese stationäre Phase ist ein Polysaccharid mit Isopropyl Seitenketten und ermöglicht eine Auftrennung nach Molekülgrößen. Die Elution wurde isokratisch mit Methanol durchgeführt. Alle aufkonzentrierten Fraktionen wurden mittels DC und HPLC analytisch verglichen.

Tab. 6 Laufmittelgemische für Trockensäulen-Chromatographie.

Fraktionen	Petrolether [Vol.%]	Ethylacetat [Vol.%]	Methanol [Vol.%]
I	90	10	
II	80	20	
III	70	30	
IV	60	40	
V	50	50	
VI	30	70	
VII	10	90	
VIII		100	
IX		80	20
X		50	50
XI			100

Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC)

Eine weitere Aufreinigung der über eine Trockensäule erhaltenen Fraktionen gelang über eine Kieselgelsäule der MPLC. Die geringe Korngröße von 40-63 µm der stationären Phase bedingt einen Druck von etwa 2 - 4 bar. Die dabei gesammelten und aufkonzentrierten Fraktionen wurden mit DC bzw. HPLC verglichen und aufgrund dieser Resultate dann weiter bearbeitet. Verwendete Laufmittelgemische siehe **Tab. 7**.

Pumpe: Büchi Pump Module C-601

Säule: Lobar[®] Glassäule 440 x 37 mm, nass gepackt mit Merck Kieselgel

LiChroprep[™] SI 60 (Korngröße 40-63 µm)

Detektor: UV-Detektor UA-6 ISCO bei 254 nm.

Tab. 7 Laufmittelgemische für MPLC-Messungen.

Fraktionen	Petrolether [Vol.%]	Ethylacetat [Vol.%]	Methanol [Vol.%]
I	100		
II	95	5	
III	90	10	
IV	85	15	
V	80	20	
VI	60	40	
VII	45	55	
VIII	30	70	
IX	15	85	
X		70	30
XI			100

5 Ergebnisse und Diskussion

Auf der oberen und unteren Epidermis eingerollter hypostomatärer Laubblätter von *E. nigrum* sind Drüsenzellen lokalisiert, welche Flavonoide synthetisieren und auf die Blattoberfläche sezernieren (Wollenweber et al., 1992). Daher war es naheliegend, weitere Arten der Ericaceae auf die Bildung von Exkretflavonoiden zu untersuchen. Aus der großen Gattung *Rhododendron* wurden vor allem heimische Arten zum ersten Mal vergleichend analysiert und mit kultivierten Arten aus anderen Verwandtschaftskreisen verglichen. *R. ferrugineum* ist durch auffällige namensgebende Schülfernhaare auf der Unterseite seiner Laubblätter gekennzeichnet sowie Köpfchenhaare (vgl. **Abb. 13**), was das Vorkommen von Exkretflavonoiden vermuten ließ. Daher wurde diese Art umfassend bearbeitet, wobei sowohl mögliche infraspezifische Schwankungen als auch Organspezifität erfasst wurden. Obwohl die Inhaltsstoffe von *R. ferrugineum* weitgehend bekannt sind (Louis et al., 2010), standen zur chemischen Zusammensetzung des Exsudats bisher keine Informationen zur Verfügung. Aus den Exkreten konnten einige Stoffe rein gewonnen und so das Vorkommen von sowohl flavonoiden Verbindungen als auch Triterpenen bestätigt werden. Im Folgenden werden die Daten bezogen auf die Stoffklassen eingehender diskutiert. Ebenso wird auf die Unterschiede zwischen Extrakten und Exsudaten bei *R. ferrugineum* sowie auf die organspezifische Verteilung näher eingegangen. Zu analytischen Details wird auf **Kapitel 4** verwiesen.

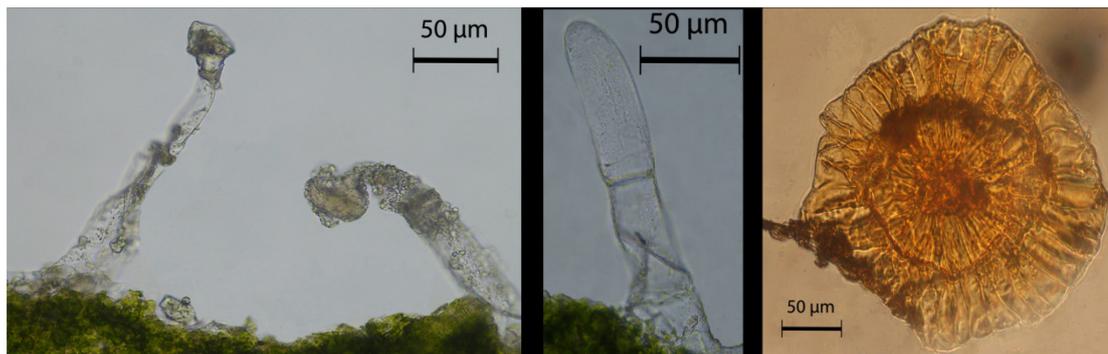


Abb. 12 Laubblattunterseite von *R. ferrugineum* mit Drüsenhaaren einfachem Trichom und Schülfersuppe (Fotos erstellt unter Verwendung von Microphot-SA, Fa. Nikon und Canon EOS 40 D).

5.1 Flavonoide

In der vorliegenden Arbeit wurden dieselben Flavonoide sowohl in Exsudaten als auch in den Geweben der untersuchten Arten nachgewiesen (*Rhododendron*: **Abb. 13**, **Abb. 14**; übrige Gattungen siehe **Tab. 8**). Da die Gesamtextrakte erst nach Abspülen mit Aceton p.a. hergestellt wurden, sollten normalerweise keine Exkretflavonoide in Extrakten enthalten sein. Diese Beobachtung ist in Widerspruch zu den meisten Literaturbefunden (Valant-Vetschera et al., 2009; Valant-Vetschera & Brem, 2006). Im Gegensatz dazu ist von den Velloziaceae bekannt, dass neben Glycosiden Flavonoidaglyca wie Luteolin, Quercetin-3-Methylether, Luteolin-5-Methylether, Tricin sowie 5-Deoxykämpferol in Geweben vorkommen (Williams et al., 1991). Die Befunde von Wollenweber et al. (1992) sprechen allerdings gegen einen ähnlichen Fall bei den Ericaceae. Es ist weiters fraglich, ob die Vorgangsweise des Abspülens mit Aceton im Fall dieser Pflanzenfamilie optimal ist, obwohl sich bislang dieses Lösungsmittel auf Grund seiner Polarität als Methode der Wahl bestens bewährt hat. Möglicherweise konnte das Exsudat erst im Zuge der Gesamtextraktion vollständig gelöst werden.

Insgesamt stammen 20 analysierte Arten aus der Gattung *Rhododendron*, wobei mehrere Herkünfte von *R. ferrugineum* zur Verfügung standen (**9-18**, vgl. **Tab.3** , **Kapitel 4**). Eine genaue Auflistung der verwendeten Mengen an

Pflanzenmaterial findet sich in **Kapitel 8, Tab.10**. Die größte Ausbeute an Exsudat lieferte *R. ferrugineum* (**9**), was eine präparative Auftrennung über Trocken- und Sephadexsäulen-Chromatographie ermöglichte. Die HPLC-Profile der Ausammlungen von *R. ferrugineum* (**9-11**) sind unter Hinweis auf identifizierte Substanzen in **Abb. 13** vergleichend dargestellt. Die analysierten Proben zeigen eine variable chemische Zusammensetzung. Obwohl die Trennung optimiert wurde, traten überlappende Peaks in den Chromatogrammen von Gesamtextrakten bzw. Von Exsudaten auf. Durch Fraktionierung über Säulenchromatographie konnte in Folge eine klarere Darstellung der Peaks erreicht werden, womit die Zuordnung und Identifizierung der Einzelsubstanzen wesentlich erleichtert wurde. Alle identifizierten flavonoiden Verbindungen stammen aus dem Exsudat von *R. ferrugineum* (**9**), darunter die Flavonole Quercetin (**F1**) und Kämpferol (**F3**) sowie das Flavanon Naringenin (**F2**). Des Weiteren wurden die Verbindungen (**UF1-UF3**) detektiert, welche auf Grund ihres UV-Spektrums auf das Vorliegen einer Flavanon-Struktur schließen lassen. Möglicherweise handelt es sich bei einer dieser Substanzen um Farrerol, ein Flavanon, welches Louis et al. (2010) im Gesamtextrakt der Laubblätter von *R. ferrugineum* nachwies (vgl. **Abb. 6**). Zur Position der Verbindungen im HPLC-Profil siehe **Abb. 13**. Die Strukturen von drei unbekannte Verbindungen, (**X1-X3**) (UV-Spektren vgl. **Abb. 24**), konnten auf Grund ihrer UV-Spektren nicht eindeutig zugeordnet werden. Alle Individuen von *R. ferrugineum* aus Frischmaterial (**9-11**) zeigen ein Vorkommen dieser Verbindungen im Exsudat sowie im Gesamtextrakt. Bedingt durch niedrige Konzentrationen der nachgewiesenen Verbindungen aus dem Exsudat untersuchter Individuen der Ericaceae war eine semi-quantitative Erfassung nicht durchführbar. Die Ergebnisse der HPTLC-Analyse decken sich gut mit jenen der HPLC (siehe **Abb. 14**).

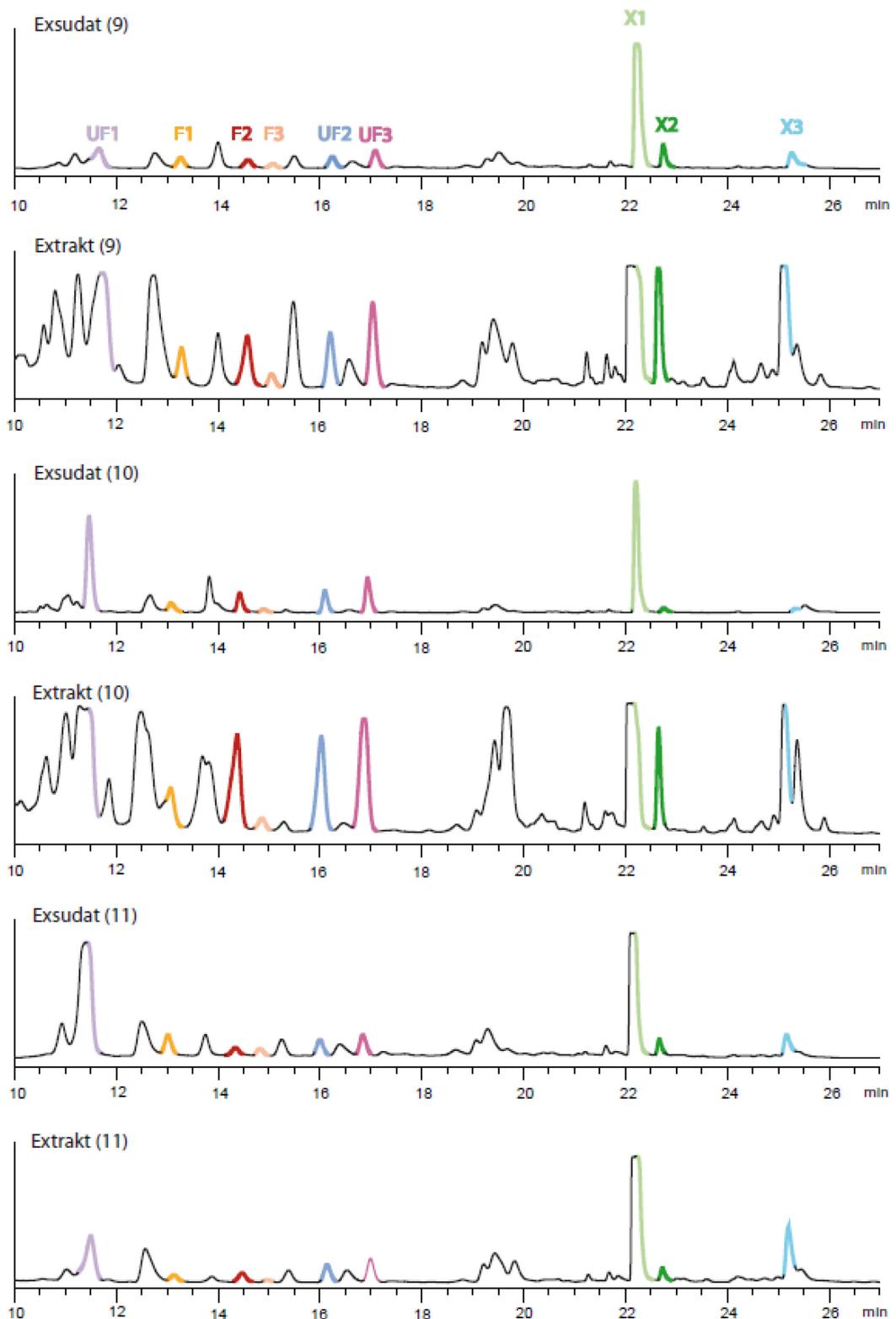


Abb. 13 Vergleichende HPLC-Chromatogramme der Exsudate und Gesamtextrakte von *R. ferrugineum* verschiedener Aufsammlungen (vgl. **Tab. 1**). Detektion bei 230 nm; Flavonoide: (**F1**) = Quercetin, (**F2**) = Naringenin und (**F3**) = Kämpferol. Zusätzlich ergaben sich Hinweise auf drei weitere Flavanon-Derivate (**UF1**), (**UF2**), (**UF3**) sowie drei unbekannte Verbindungen (**X1**), (**X2**), (**X3**); Formelbilder finden sich in **Abb. 22 & 23**, UV-Spektren **Abb. 24**.

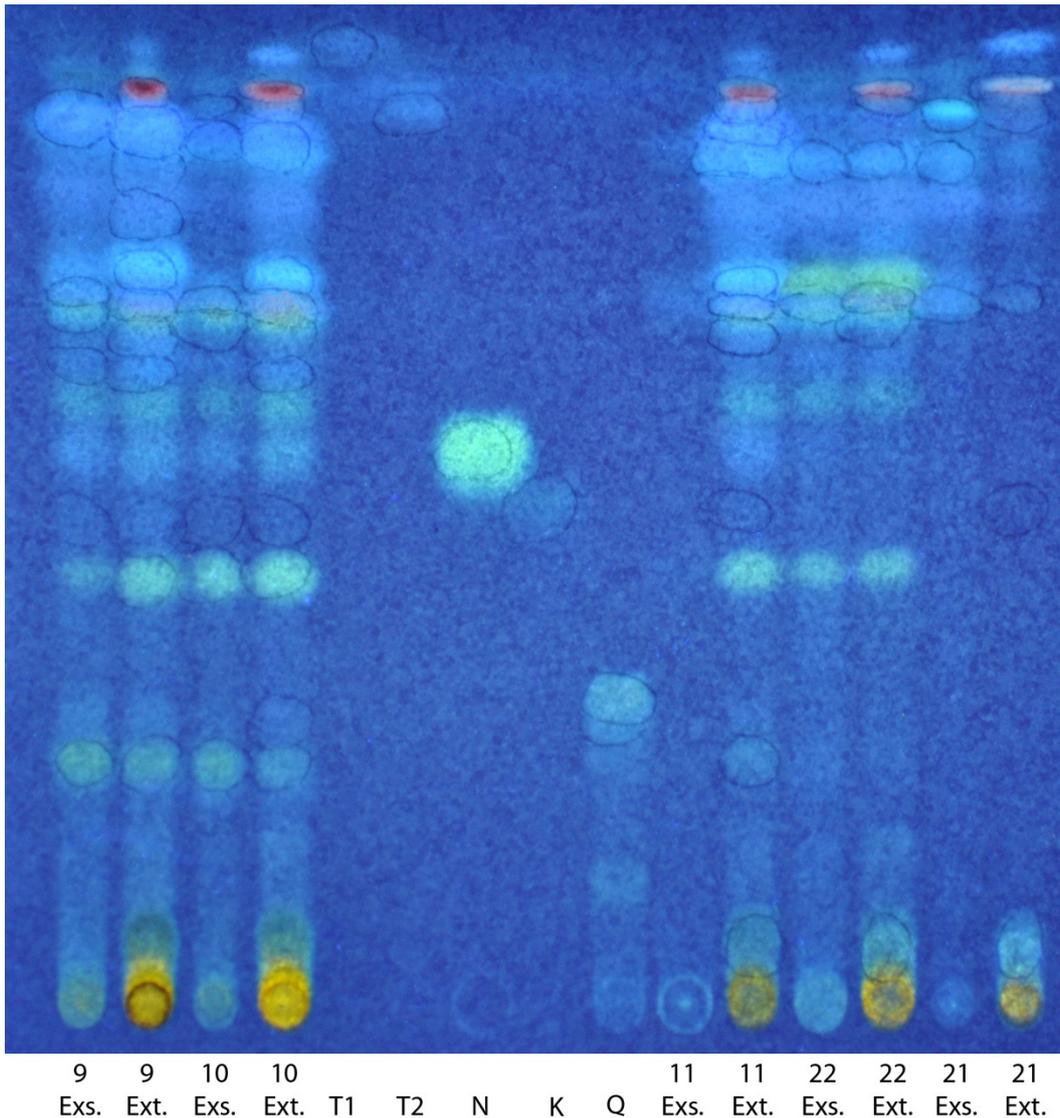


Abb. 14 HPTLC-Vergleich von Exsudaten und Gesamtextrakten verschiedener Aufsammlungen der Gattung *Rhododendron* bei 366 nm nach der Detektion mit Naturstoffreagenz A. Laufmittel Toluol/Dioxan/Essigsäure 90/25/5. Stationäre Phase: Kieselgel 60 F254 nm. (T1) (20R)-3a-10a-Epoxy-9-epi-cucurbita-24-en & Dendropanoxid, (T2) α -Amyrin & β -Amyrin; K Kämpferol; N Naringenin; Q Quercetin (9-11) *R. ferrugineum*; (22) *R. intermedium*, (21) *R. hirsutum*. Angaben zu R_f -Werten siehe **Abb. 22 & 23**.

Quercetin zählt zu den häufigsten Flavonoiden in pflanzlichen Organismen. Es tritt auch in Ericaceae universell, jedoch in glycosidischer Form auf und konnte in 206 Vertretern der Gattung *Rhododendron* nachgewiesen werden, darunter *R. augustinii*, *R. oreotrephe*s, *R. russatum* und *R. yunnanense* (Harborne & Williams, 1971). Chosson et al. (1998) wiesen in Gesamtextrakten der Laubblätter von *R. ferrugineum* mehrere Glycoside nach, darunter Quercetin-3-O-(6''-O-Acetyl)-Glycosid, Quercetin-3-O-(6''-O-Acetyl)-Galactosid sowie Quercetin-3-O-(3'',6''-O-Diacetyl)-Galactosid. Naringenin wurde als

Hydrolyseprodukt beispielsweise in *R. brachycarpum* D. Don, *R. aureum* Georgii nachgewiesen, wo es an der Schutzfunktion vor Frost beteiligt ist (Swiderski et al., 2004). Kämpferol ist glycosidisch gebunden sehr häufig und aus *R. ferrugineum* in Form von Kämpferol-3-O-(6"-O-Acetyl)-Glycosid beschrieben worden (Chosson et al., 1998). Harborne & Williams (1973) wiesen es als Glycosid in einer umfangreichen chemotaxonomischen Studie in den Laubblättern von 25% der 344 untersuchten Ericaceae, darunter *R. chamaecistus*, *E. carnea* und *C. vulgaris* nach. Das entsprechende 3-Arabinofuranosid, Juglanin, und 3-Rhamnofuranosid treten in den Blättern und Blüten von *Aesculus hippocastanum* (Hippocastanaceae) auf. Im ätherischen Öl der Laubblätter (Gehalt 0,7 %) von *R. ferrugineum*, wurden neben Quercetin auch die Aglyca Ferrerol und Myricetin detektiert (Louis et al., 2010; siehe **Abb. 6**). Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit wurden die beiden Flavonoide Naringenin und Kämpferol von Louis et al. (2010) jedoch nicht nachgewiesen. Auf Grund der weiten Verbreitung in höheren Pflanzen sind Quercetin, Naringenin und Kämpferol als chemische Merkmale zur Charakterisierung der Ericaceae nicht geeignet.

Von *R. ferrugineum* wurden mehrere Individuen in Hinblick auf infraspezifische Variabilität von Flavonoid-Profilen vergleichend analysiert (**Abb. 13, Abb. 14**). Alle Individuen zeigen das gleiche Muster an identifizierten Flavonoiden im Exsudat bzw. Gesamtextrakt, unabhängig von geographischer Verbreitung innerhalb Österreichs, Sammelzeitpunkt sowie Seehöhe (**Abb. 13, Abb. 14**). Es bestehen geringfügige quantitative Unterschiede der unbekannteren Verbindungen in den Aufsammlungen (**9-11**). So ist (**UF1**) offenbar in geringeren Mengen in (**11**), verglichen mit (**9**) und (**10**) vertreten. Ähnlich verhält es sich mit (**X2, Abb. 13**)

Ein weiterer interessanter Aspekt sind Akkumulationsunterschiede im Jahresverlauf. Untersuchungen der Variation phenolischer Inhaltsstoffe in Gesamtextrakten von *C. vulgaris* (Jalal et al., 1982) ergaben starke Schwankungen in Anzahl und Quantität nachgewiesener Verbindungen. Das 8-

O-Flavanon-Glycosid Callunin erreichte seinen Höchstwert im Mai und August, Quercetin (Hydrolysat) in den Monaten September und November, Quercetin 3-O-Glucosid im Jänner, Juni, August und September. Pflanzenmaterial von *R. ferrugineum* (9), (10) und (11) wurde in den Sommermonaten Juli und August gesammelt. Im Gegensatz dazu konnte keine Variation bei den unterschiedlichen Herkünften von *R. ferrugineum* festgestellt werden. Es wäre daher aufschlussreich, ein quantitatives Screening der Exkretflavonoide desselben Individuums von *R. ferrugineum* am selben Standort im Jahresverlauf durchzuführen, um eventuelle jahreszeitliche Schwankungen feststellen zu können.

Monschein et al. (2010) untersuchten in ihrer Studie Schwankungen der Konzentrationen an Phenolen in Gesamtextrakten von *C. vulgaris* über vier Wachstumsperioden. Pflanzenmaterial aus Seehöhen von 800, 1000 sowie 1500 m wurde unter Berücksichtigung von Umweltfaktoren wie starken Temperaturunterschieden, Wind und Sonneneinstrahlung analysiert. Es zeigte sich, dass in höheren Zonen speziell Flavonol 3-O-Glycoside angereichert werden. So nahm der Gehalt der Quercetin-Glycoside Callunin, Hyperosid, Isoquercitrin, Guajaverin bei steigender Höhe deutlich zu. Auch der prozentuelle Anteil der Flavonoid-Glycoside Kämpferol 3-O-Galactosid und Kämpferol 3-O-Triacetylarabinohexosid stieg an. Ein Vergleich der Flavonoidprofile der Aufsammlung (9) aus 1990 m, (10) aus 1790 m und (11) aus 1820 m ließ keine qualitativen Unterschiede erkennen. Ebenso konnte kein Zusammenhang zwischen Flavonoid-Profil und Seehöhe festgestellt werden (Abb. 13). Allerdings wurden in der vorliegenden Arbeit Flavonoidglyca untersucht. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass auch bei der alpinen Art *R. ferrugineum* ein Unterschied in den Flavonoidglycosid-Profilen möglich wäre.

Der Anteil von Flavonoiden kann in alpinen Pflanzen sehr hoch sein, im Farn *Cryptogramma crista* (Pteridaceae) können sie bis zu 9,5 % des Trockengewichts entsprechen. Des Weiteren wurde festgestellt, dass der Flavonoid-Gehalt in Farnwedeln je nach einfallender UV-Strahlung variiert (Veit

et al., 1996). Flavonoide allgemein sowie Flavonoidglyca im Speziellen dienen der Pflanze zum Schutz gegen Absorption von UV-B-Strahlung, weil sie mit einer Wellenlänge zwischen 280 und 320 nm absorbieren. UV-B-Strahlung hat ökologisch gesehen hohes Schädigungspotential (Harborne & Williams, 2000). Der Anteil von UV-B-Strahlung an der gesamten Sonneneinstrahlung nimmt mit zunehmender Seehöhe zu (Körner, 2003). Dieser Zusammenhang ist besonders für alpine Spezies wie *R. ferrugineum* und andere Ericaceae von Relevanz. Es ist bekannt, dass die Produktion von Exkret-Flavonoiden häufig mit alpinen und ariden Habitaten und der Produktion von ätherischem Öl korreliert ist (Valant-Vetschera & Brem, 2006; Wollenweber, 1985; Wollenweber & Valant-Vetschera, 1996), was die ökologische Bedeutung dieser Sekundärmetabolite unterstreicht. Von besonderem Interesse wäre jedenfalls eine quantitative Analyse von Exkretflavonoiden unter Berücksichtigung saisonaler und tageszeitlicher Differenzierung (Jalal et al., 1982; Monschein et al., 2010) sowie eine Studie zu ihrer ökologischen Bedeutung.

5.2 Triterpene

Vier Triterpene, welche in kristalliner Form ausfielen, wurden als Triterpengemische (**T1**) und (**T2**) durch Trockensäulen-Chromatographie in Kombination mit MPLC isoliert. Die Trockensäulenfraktionen I bis II (**Tab. 6**) des Exsudats von *R. ferrugineum* (**9**) konnten über MPLC weiter aufgetrennt werden, wodurch zwei Triterpen-Gemische (**T1**, **T2**) in kristalliner Form isoliert wurden. (**T1**) besteht aus Dendropanoxid und (20R)-3 α ,10 α -Epoxy-9-epi-cucurbita-24-en, (**T2**) aus α - sowie β -Amyrin sowie anderen Verbindungen, deren Struktur nicht aufgeklärt werden konnte (vgl. **Abb. 10**). Die Struktur der Triterpene konnte mit Hilfe von von NMR-Spektroskopie identifiziert werden. Beide Gemische wurden im getrockneten Frischmaterial von *R. ferrugineum* (**9**), (**10**), (**11**) detektiert (**Tab. 8**). Es handelt sich um lipophile Verbindungen, welche im HPLC-Chromatogramm nicht und auf HPTLC-Platten erst nach Besprühen

mit Anisaldehyd-Schwefelsäure-Sprühreagenz und anschließendem Erhitzen detektierbar werden. Sie sind danach als rosa-rote Spots sichtbar und fluoreszieren unter UV-Licht, R_f -Werte finden sich in, **Abb. 22 & 23**.

Von *E. nigrum* ist bekannt, dass durch Abspülen mit Aceton aus Exsudat und anderem epicuticulärem Material auch Triterpene ab gespült werden (Toiron et al., 1995). Takahashi et al. (2000) berichten von 19,24-Dihydroxy-12-en-3-on-28-Ursolsäure aus *R. simsii* Planch. Neben Ursolsäure selbst, dem häufigsten Triterpen in Ericaceae, zählen α - und β -Amyrin sowie Dendropanoxyd (Tori et al., 1977) zu den in Ericaceae häufig vorkommenden Substanzen dieser Verbindungsklasse. So wurden α - und β -Amyrin in *R. metternichii* Siebold & Zucc. und *R. westlandii* Hemsl. nachgewiesen, β -Amyrin ebenfalls in *V. myrtillus* (Hegnauer, 1966). Die Struktur von (20R)-3a-10a-Epoxy-9-epi-cucurbita-24-en wurde im Detail von Ruecker et al. (1999) geklärt.

α -Amyrin ist ebenso wie β -Amyrin und Dendropanoxid von heimischen Ericaceae wie etwa *R. ferrugineum* (Fokina et al., 1971) und *C. vulgaris* bekannt (Olechonwicz-Stepien et al., 1982), womit sich die Ergebnisse dieser Arbeit gut mit den Literaturdaten decken. α -Amyrin wurde weiters in *R. cinnabarinum* Hook. f. sowie *R. simiarum* Hance detektiert. Des Weiteren wurde es oft im Milchsaft von Pflanzen nachgewiesen, manchmal als Acetat, z. B. in *Ficus variegata* Blume (Moraceae), in *Erythroxylum coca* Lam. (Erythroxylaceae) und *Balanophora elongata* Schott & Endl. Balanophoraceae). Oft tritt es gleichzeitig mit β -Amyrin auf (Fokina et al., 1971; Harborne & Baxter, 1993). Chou et al. (2009) untersuchten die allelopathische Wirkung verschiedener Triterpene aus *R. formosanum* Hemsl. (Ericaceae), die auch in *R. ferrugineum* nachgewiesen wurden. So führte α -Amyrin-Acetat zu stimulierenden Effekten des Radicula-Wachstums von *Brassica chinensis* L., α -Amyrin zeigte einen stimulierenden oder inhibierenden Effekt im gleichen Bioassay. Fokina et al. (1971) wiesen β -Amyrin in *R. ferrugineum* nach.

5.3 Unbekannte Verbindungen

Es war nicht möglich, die Struktur von (**X1-X3**) durch Auftrennung über MPLC sowie Säulenchromatographie zu isolieren, da es sich vermutlich um instabile Verbindungen handelt. Auf Grund der UV-Spektren aus der HPLC konnten sie jedenfalls nicht identifiziert werden. Diese unbekanntes Verbindungen konnten in den HPLC-Profilen aller Aufsammlungen von *R. ferrugineum* nachgewiesen werden. Interessanterweise zeigen die Verbindungen jedoch gewisse Stabilität beim Trocknen, da sie auch in geringen Mengen in Pflanzenmaterial aus Herbarbelegen nachgewiesen werden konnten. Dabei wurden die unbekanntes Verbindungen (**X1**) und (**X3**) in Proben aller Herbarbelege (**12-18**) festgestellt, während (**X2**) nur in Probe (**15**, Herbarbeleg) gefunden wurde.

5.4 Vergleich der Exsudatprofile untersuchter Ericaceae

Sämtliche untersuchte Gattungen und Arten sowie deren Herkünfte sind vergleichend in **Tab. 8** zusammengefasst. Die Ergebnisse beruhen auf der HPLC- bzw. HPTLC-Analyse (vgl. **Abb. 13** und **Abb. 14**). Aus der Literatur sind mit Ausnahme von *E. nigrum* keine Informationen zu Exkretbestandteilen vorhanden. Wollenweber et al. (1992) isolierten daraus komplexe Exsudatverbindungen, darunter zwei dioxygenierte Chalone, drei dioxygenierte Dihydrochalone sowie zwei Dihydrophenanthren-Derivate. Derartige Verbindungen konnten jedenfalls in den untersuchten Proben nicht festgestellt werden.

Die Ergebnisse der ab gespülten Herbarbelege (**12-18**) unterscheiden sich bezüglich der Exkret-Flavonoide Quercetin (**F1**), Naringenin (**F2**), Kämpferol (**F3**), sowie der unbekanntes Verbindungen (**UF1**), (**UF2**) und (**UF3**) deutlich von den Aceton-Abspülungen des getrockneten Frischmaterials. In vier von sieben analysierten Proben konnten zwar Flavonoide nachgewiesen werden,

obwohl kleinste Mengen an Pflanzenmaterial verwendet wurden. Trotzdem lag das HPLC-Signal bei **(15)** und **(16)** vermutlich unter dem Detektionslevel. So ergaben die entsprechenden Messungen keinen Nachweis von Flavonoiden im Exsudat. Neben **(UF1)** konnte in **(17)** nur Naringenin nachgewiesen werden. Grund dafür ist vermutlich ebenfalls, dass wegen der geringen Menge an Pflanzenmaterial keine weiteren Signale in der HPLC-Messung detektiert wurden.

Von *R. hirsutum* ist das Auftreten einfacher Trichome und Köpfchenhaare auf Laubblättern bekannt (Westerkamp & Demmelmeyer, 1997). Trotzdem konnten im Exsudat und Gesamtextrakt der Spezies **(20)** und **(21)**, welche im Sommer des gleichen Jahres gesammelt wurden, in beiden Proben Flavonoide nicht eindeutig nachgewiesen werden. *R. hirsutum* **(21)** zeigt auf der HPTLC in der Höhe von Kämpferol schwache Spots, der HPLC-Vergleich weist jedoch auf **(UF3)** sowie **(X1-X3)** hin.

Im Zuge dieser Arbeit wurde auch die hybridogene Art *R. intermedium*, entstanden aus den vikarianten Arten *R. ferrugineum* und *R. hirsutum*, auf Exkretflavonoide untersucht. Diese Art wächst auf Böden mit intermediärem pH der Verbreitungsgebiete seiner Elternarten. Hybridisierung ist ein häufiges Phänomen innerhalb der großen Gattung *Rhododendron* und beeinflusst Blattfarben sowie die Vererbung von Plastiden-DNA (Milne et al., 1999; Ureshino & Miyajima, 2002; Zhang et al., 2007). Auf den abaxialen Seiten der lanzettlichen Laubblätter des bis zu einem Meter hohen Strauchs *R. ferrugineum*, befinden sich vielzählige rostrote Schülfernschuppen. Er ist ausschließlich in silikatischen Regionen in Höhen zwischen 1600 und 2000 m aufzufinden. Hingegen weisen die bewimperten, umgekehrt eiförmigen Laubblätter von *R. hirsutum* wenige Schülfernschuppen auf und sind auf Kalkstein anzutreffen (Mayr et al., 2010; Milne & Abbott, 2008). In der Literatur wird darauf hingewiesen, dass *R. x intermedium* einer physiologischen und morphologischen Kreuzung der elterlichen Eigenschaften entspricht (Fischer et al., 2008). Salasoo (1987) berichtete, dass innerhalb der heimischen Arten *R.*

ferrugineum, *R. hirsutum* und *R. intermedium* ähnliche Verteilungsmuster von Alkanen bestehen. **Tab. 8** zeigt, dass vier der sechs Flavonoid-Verbindungen aus *R. ferrugineum* im Gegensatz zu *R. hirsutum* detektiert werden konnten. Auch in Hinblick auf die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Inhaltsstoffe liegt die hybride Art zwischen den chemischen Profilen seiner Elternspezies.

Tab. 8 Nachgewiesene Verbindungen ausgewählter Ericaceae.

Nr.	Art	Flavonoide					Triterpene			X1	X2	X3
		F1	F2	F3	FU1	FU2	FU3	T1	T2			
9	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
10	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
11	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
12	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)		o		o					o	o	o
13	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)	o	o		o					o		o
14	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)	o		o	o					o		o
15	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)									o	o	o
16	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)									o		o
17	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)				o					o		o
18	<i>R. ferrugineum</i> (Exs.)									o		o
22	<i>R. intermedium</i> (Exs.)		o	o	o	o		o	o	o	o	o
20	<i>R. hirsutum</i> (Exs.)									o	o	o
21	<i>R. hirsutum</i> (Exs.)						o	o	o	o	o	o
19	<i>R. fortunei</i> (Exs.)		o									
27	<i>R. oreotrephes</i> (Exs.)				o	o						
27	<i>R. yunnanense</i> (Exs.)	o									o	o
25	<i>R. russatum</i> (Exs.)							o	o	o		
23	<i>R. luteum</i> (Exs.)											
2	<i>C. vulgaris</i> (Exs.)	o	o	o								
3	<i>C. vulgaris</i> (Exs.)	o	o	o								
9	<i>R. ferrugineum</i> (Ext.)	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
10	<i>R. ferrugineum</i> (Ext.)	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
11	<i>R. ferrugineum</i> (Ext.)	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
22	<i>R. intermedium</i> (Ext.)		o	o	o	o		o	o	o	o	o
21	<i>R. hirsutum</i> (Ext.)						o	o	o	o	o	o

Exs. = Exsudat in Aceton p.a., Ext. = Gesamtextrakt in MeOH, R = *Rhododendron*, X = unbekannte Verbindung. Tabelle basiert auf Aussage von HPTLC-Profilen und HPLC-Chromatogrammen.

Die monotypische Art der Gattung, *C. vulgaris*, ein kleiner immergrüner Strauch, zeigte im Vergleich zu den anderen untersuchten Ericaceae (**Tab. 8**) in beiden Aufsammlungen ausschließlich das Vorkommen der Exkret-Flavonoide Quercetin, Naringenin und Kämpferol. Aus Methanolextrakten sind die

Flavonoide Quercetin, Kämpferol, Myricetin und Isoscutellarein bekannt, jedoch als Hydrolyseprodukte der entsprechenden Glycoside (Harborne & Williams, 1973; Jalal et al., 1982; Monschein et al., 2010). Weiters wurden in *C. vulgaris* die Triterpene α -Amyrin, β -Sitosterol und Ursolsäure nachgewiesen (Olechnowicz-Stepien, 1982). Das Vorkommen des Flavanons Naringenin ist aus der Literatur nicht bekannt. Möglicherweise wurde bei herkömmlichen Untersuchungen der Nachweis von Nebenkomponenten vernachlässigt. In früheren Arbeiten wurden Ericaceae in Bezug auf die Verbindungsklasse der Flavonoide vorwiegend auf den Gehalt von Glycosiden untersucht (Chosson et al., 1998); Angaben auf Aglyca beziehen sich nur auf Hydrolyseprodukte (Harborne & Williams, 1973). Da in der vorliegenden Arbeit mit sehr genauen Trennverfahren gearbeitet und in Vergleichen speziell Polarität und Retentionszeiten von Flavonoidaglyca beachtet wurde, konnten diese trotz relativ geringer Konzentration eindeutig nachgewiesen werden. Auf Grund der HPLC-Profile der hier untersuchten Ericaceae ist das Vorkommen der komplexen Verbindungen aus dem Exkret von *E. nigrum* (Wollenweber, 1992) unwahrscheinlich. Die relativ großen Unterschiede der jeweiligen Exsudat-Zusammensetzung sind vermutlich auch durch entfernte Verwandtschaftsverhältnisse (Kron et al., 2002) begründet.

Ergänzend wurde auch eine Analyse der Laubblatt-Exsudate von Vertretern der Gattung *Vaccinium* durchgeführt. Dabei konnte das Vorliegen von Naringenin und Quercetin in *V. uliginosum* (**33**) bestätigt werden. Diese Verbindungen wurden jedoch nicht in *V. gaultheroides* (**30**) und (**31**), *V. myrtillus* (**32**) sowie *V. vitis-idea* (**34**) nicht gefunden. Auf Grund von Literaturhinweisen auf das Vorkommen von Exkretflavonoiden auf Früchten (Wollenweber & Doerr, 2008) wurden reife Früchte von *V. uliginosum* diesbezüglich untersucht. Die Flavonoid-Zusammensetzung des Exsudats reifer Früchte entsprach jenem der Laubblätter. Aus *Juglans cinerea* L. (Juglandaceae) sowie anderen Vertretern dieser Pflanzenfamilie ist bekannt, dass Exkretflavonoide auf Laubblättern und jungen Früchten variieren können (Wollenweber & Doerr, 2008). So wurden von Blattexsudaten Apigenin, Acacetin, Isokaempferid, Ermanin, Santin sowie

Quercetin-3-4'-Dimethylether identifiziert. Unreife Früchte akkumulierten zusätzlich Quercetin, Quercetin-3-Methylether sowie Kämpferol (Wollenweber & Doerr, 2008). Allerdings ist das Exsudat-Profil reifer Früchte hier nicht bekannt.

In Hinblick auf Flavonoide in Früchten sind die Ericaceae relativ gut untersucht. So ist von *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) bekannt, dass der Flavonoidgehalt in Blättern deutlich höher ist als in Früchten (Malei et al., 2006). Häkkinen et al. (1999) wiesen eine Konzentration von 158 mg/kg Quercetin in den Früchten von *V. uliginosum* nach. Kämpferol wurde bislang in den Beeren von *V. uliginosum* nicht detektiert, was sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit deckt. Das Vorkommen geringer Mengen von Myricetin in den Früchten konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden. Quercetin und Kämpferol kommen in den Beeren von *V. myrtillus* vor, während in Beeren von *V. vitis-idaea* nur Quercetin nachgewiesen wurde (Häkkinen et al., 1999). In beiden Fällen wurden jedoch keine Exsudate analysiert. Von *V. myrtillus* sowie *V. vitis-idaea* konnten keine weiteren Vergleiche durchgeführt werden, da leider nicht ausreichend Material zur Analyse von Laubblattexkreten bzw. Beeren zur Verfügung stand.

5.5 *R. ferrugineum*: organspezifische Akkumulation

Tab. 9 Organspezifität nachgewiesener Sekundärstoffe in *R. ferrugineum* (11).

	Flavonoide						Triterpene				
	F1	F2	F3	FU1	FU2	FU3	T1	T2	X1	X2	X3
Gesamtextrakt	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Exsudat der Laubblätter	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Exsudat der Infloreszenz ohne Stamina	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Exsudat der Stamina		o			o				o	o	o

Weitere Untersuchungen betreffen die organspezifischen Unterschiede der Herkunft von *R. ferrugineum* (11). Analysiert wurden erstmalig die Exsudate der Infloreszenzen inklusive Stamina im Vergleich zu jenen der Laubblätter sowie zum Gesamtextrakt der Laubblätter (siehe **Tab. 10**). Auffallend ist das alleinige Vorkommen der Flavonoide (**F2**) und (**FU2**) in den Stamina, im Gegensatz zu Gesamtextrakt, Exsudat der Laubblätter und Exsudat der Infloreszenzen (ohne Staubblätter). Die Stamina von (11) wurden unabhängig vom restlichen Material untersucht, da sie auffällig klebrig waren, was generell einen Hinweis auf Exsudat-Verbindungen darstellt (Valant-Vetschera & Brem, 2006). „Mehlige“ Exkretflavonoide akkumulierende Infloreszenzen sind auch aus der Gattung *Primula* (Primulaceae) bekannt (Valant-Vetschera et al., 2009). Die Triterpengemische (**T1**) und (**T2**) kommen in den Staubblättern nicht vor, hingegen wurden alle drei unbekanntes Verbindungen (**X1-X3**) nachgewiesen. Jedenfalls ist dies ein neuer Befund für *R. ferrugineum* und die Ergebnisse unterstreichen die Wichtigkeit, Pflanzenorgane separat zu analysieren.

6 Literaturverzeichnis

- Abou-Zaid, M., Dumas, M., Chauret, D., Watson, A., Thompson, D., 1997. C-methyl flavonols from the fungus *Colletotrichum dematium* f.sp. *epilobii*. *Phytochemistry* 45, 957-961.
- Anderberg, A., Rydin, C., Källersjö, M., 2002. Phylogenetic relationships in the order Ericales s.l.: Analyses of molecular data from five genes from the plastid and mitochondrial genomes. *American Journal of Botany* 89, 677-687.
- Balsdon, J.A., Espelie, K.E., Braman, S.K., 1995. Epicuticular Lipids from *Azalea* (*Rhododendron* spp.) and Their Potential Role in Host Plant Acceptance by *Azalea* Lace Bug, *Stephanitis pyrioides* (Heteroptera: Tingidae). *Biochemical Systematics and Ecology* 23, 477-485.
- Basile, A., Sorbo, S., Lopez-Saez, J.A., Cobianchi, R.C., 2002. Effects of seven pure flavonoids from mosses on germination and growth of *Tortula muralis* Hedw. (Bryophyta) and *Raphanus sativus* L. (Magnoliophyta). *Phytochemistry* 62, 1145-1151.
- Bernsmann, T., 2002. Struktur, Stabilität und antioxidative Wirkung von Polyhydroxyphenolen aus Spinat. *Dissertationsarbeit*. Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 6.
- Bisio, A., Corallo, A., Gastaldo, P., Romussi, G., Ciarallo, G., Fontana, N., De Tommasi, N., Profumo, P., 1999. Glandular Hairs and Secreted Material in *Salvia blepharophylla* Brandegees ex Epling Grown in Italy. *Annals of Botany* 83, 441-452.
- Bosabalidis, A., Gabrieli, C., Niopas, I., 1998. Flavone aglycones in glandular hairs of *Origanum x intercedens*. *Phytochemistry* 49, 1549-1553.
- Bowsher, C., Steer, M., Tobin, A., 2008. *Plant Biochemistry*. 1. Auflage. Garland Science. Taylor & Francis Group, New York & Abingdon, 371-428.
- Bravo, I., 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews* 56, 317-333.
- Brett, G.M., Hollands, W., Needs, P.W., Teucher, B., Dainty, J.R., Davis, B.D., Brodbelt, J.S., Kroon, P.A., 2009. Absorption, metabolism and excretion of flavanones from single portions of orange fruit and juice and effects of anthropometric variables and contraceptive pill use of flavanone excretion. *British Journal of Nutrition* 101, 664-675.
- Brozek, W., 2002. Secondary metabolite profiling of the genus *Aglaia* (Meliaceae). *Diplomarbeit*. Universität Wien, 6-8.
- Burda, S., Oleszek, W., 2001. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 49, 2774-2779.
- Cao, Y., Chu, Q., Ye, J., 2004. Chromatographic and electrophoretic methods for pharmaceutically active compounds in *Rhododendron dauricum*. *Journal of Chromatography B* 812, 231-240.
- Carey, F.M., Lewis, J.J., MacGregor, J.L., Martin-Smith, M., 1959. Pharmacological and chemical observations on some toxic nectars. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 11, 268T-274T.
- Carlsen, S.C.K., Mortensen, A.G., Oleszek, W., Piacente, S., Stochmal, A., Fomsgaard, I.S., 2008. Variation in flavonoids in leaves, stems and flowers of white clover cultivars. *Natural*

Product Communications 3, 1299-1306.

Chamberlain, D.F., Hyam, R., Argent, G., Fairweather, G., Walter, K.S., 1996. The Genus *Rhododendron*. Its classification & synonymy. Royal Botanic Garden Edinburgh, Edinburgh, 1-181.

Chaves, N., Escudero, J.C., Gutierrez-Merino, C., 1997. Role of ecological variables in the seasonal variation of flavonoid content of *Cistus ladanifer* exudate. *Journal of Chemical Ecology* 23, 578-603.

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

Chosson, E., Chaboud, A., Chulia, A.J., Raynaud, J., 1998. Dihydroflavonol glycosides from *rhododendron ferrugineum*. *Phytochemistry* 49, 1431-1433.

Chou, S.-C., Krishna, V., Chou, C.-H., 2009. Hydrophobic metabolites from *Rhododendron formosanum* and their allelopathic activities. *Natural Product Communications* 4, 1189-1192.

Constantine, G.H., Sheth, K., Catalfomo, P., 1967. Grayanotoxin I. Occurrence in additional Ericaceae species. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 56, 1518-1519.

Cullen, J., 1980. A revision of *Rhododendron* - 1. Subgenus *Rhododendron* Sections *Rhododendron* and *Pogonanthum*. *Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh* 39, 1-207.

Dakora, F.D., Phillips, D.A., 1996. Diverse functions of isoflavonoids in legumes transcend anti-microbial definitions of phytoalexins. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 49, 1-20.

Doss, R.P., Hatheway, W.H., Hrutfiord, B.F., 1986. Composition of essential oils of some lipidote *Rhododendrons*. *Phytochemistry* 25, 1637-1640.

Fan, C.Q., Yang, G.J., Zhao, W.M., Ding, B.Y., Qin, G.W., 1999. Phenolic Components from *Rhododendron latoucheae*. *Chinese Chemical Letters* 10, 567-570.

Fang, N., Leidig, M., Mabry, T.J., 1986. Fifty-one flavonoids from *Gutierrezia microcephala*. *Phytochemistry* 25, 927-934.

Fernandez, S., Osorio, S., Heredia, A., 1999. Monitoring and visualising plant cuticles by confocal laser scanning microscopy. *Plant Physiology and Biochemistry* 37, 789-794.

Fischer, M.A., Oswald, K., Adler, W., 2008. Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol. 3. Auflage. Biologiezentrum der Oberösterreichischen Landesmuseen, Linz: Land Oberösterreich, 668-677.

Fokina, G.A., Belova, N.V., Gorovoi, P.G., 1971. Triterpenoids from *Rhododendron kamtschaticum* and *Rhododendron ferrugineum*. *Chemistry of Natural Compounds* 7, 356.

Frohne, D., Pfänder, H.J., 2004. Giftpflanzen: ein Handbuch für Apotheker, Ärzte, Toxikologen und Biologen. 5. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 172-180.

Gage, D.J., 2004. Infection and Invasion of Roots by Symbiotic, Nitrogen-Fixing Rhizobia during Nodulation of Temperate Legumes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68, 280-300.

Gershenzon, J., Dudareva, N., 2007. The function of terpene natural products in the natural world. *Nature chemical biology* 3, 408-414.

Göpfert, J., Conrad, J., Spring, O., 2006. 5-Deoxynevadensin, a Novel Flavone in Sunflower and Aspects of Biosynthesis during Trichome Development. *Natural Product Communications* 1,

935-940.

Goetsch L., Eckert, A.J., Hall, B.D., 2005. The Molecular Systematics of *Rhododendron* (Ericaceae): A Phylogeny Based Upon *RPB2* Gene Sequences. *Systematic Botany* 30, 616-626.

Goez, C., 1994. *Rhododendron ferrugineum* L. In: Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Hänsel, R., Keller, K., Rimpler, H., Schneider, S., (Hrsg.). 5. Auflage. Springer-Verlag, Berlin & Heidelberg, 444-449.

Grayer, R.J., Bryan, S.E., Veitch, N.C., Goldstone, F.J., Paton, A., Wollenweber, E., 1996. External Flavones in sweet basil, *Ocimum basilicum*, and related taxa. *Phytochemistry* 43, 1041-1047.

Häkkinen, S.H., Kärenlampi, S.O., Heinonen, I.M., Mykkänen, H.M., Riitta Törrönen, A.R., 1999. Content of the Flavonols Quercetin, Myricetin, and Kaempferol in 25 Edible Berries. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 47, 2274–2279.

Halberstein, R.A., 2005. Medicinal Plants: Historical and Cross-Cultural Usage Patterns. *Annals of Epidemiology* 15, 686-699.

Hänsel, R., Sticher, O., 2007. Isoprenoide als Inhaltsstoffe. In: *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. 8. Auflage. Springer-Medizin-Verlag, Heidelberg, 888-889.

Harborne, J.B., Baxter, H., (Hrsg.), 1993. *Phytochemical Dictionary - A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Taylor & Francis, London, Washington D.C., 381-687.

Harborne, J.B., Williams, C.A., 1971. Leaf Survey of Flavonoids and Simple Phenols in the Genus *Rhododendron*. *Phytochemistry* 10, 2727-2744.

Harborne, J.B., Williams, C.A., 1973. A chemotaxonomic survey of flavonoids and simple phenols in leaves of the Ericaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 66, 37-54.

Harborne, J.B., Williams, C.A., 2000. Review - Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55, 481-504.

Harmannstein, D., 2008. *Phytochemical and Toxicological Research of Rhododendron ferrugineum* L. Diplomarbeit. Universität Wien, 12-13.

Hegnauer, R., 1966. *Chemotaxonomie der Pflanzen IV. Eine Übersicht über die Verbreitung und die systematische Bedeutung der Pflanzenstoffe*. Birkhäuser Verlag, Basel, 65-94.

Hegnauer, R., 1989. *Chemotaxonomie der Pflanzen VIII. Eine Übersicht über die Verbreitung und die systematische Bedeutung der Pflanzenstoffe*. Birkhäuser Verlag, Basel, 418-421.

Hernández, I., Alegre, L., Van Breusegem, F., Munné-Bosch, S., 2009. How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends in Plant Science* 14, 125-132.

Hess, D., 2005. *Systematische Botanik*. Eugen Ulmer KG, Stuttgart, 174-176.

Iwashina, T., 2003. *Flavonoid Function and Activity to Plants and Other Organisms*. Japanese Society for Biological Sciences in Space 17, 24-44.

Jalal, M.A.F., Read, D.J., Haslam, E., 1982. Phenolic composition and its seasonal variation in *Calluna vulgaris*. *Phytochemistry* 21, 1397-1401.

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

- Körner, C., 2003. Alpine Plant Life – Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems. 2. Auflage. Springer-Verlag, Berlin & Heidelberg, 161-164.
- Koskimäki, J.J., Hokkanen, J., Jaakola, L., Suorso, M., Tolonen, A., Mattila, S., Pirttilä, A.M., Hohtola, A., 2009. Flavonoid biosynthesis and degradation play a role in early defence responses of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) against biotic stress.
- Krebs, K.G., Heusser, D., Wimmer, H., 1967. Sprühreagentien. In: Dünnschicht-Chromatographie – Ein Laboratoriumshandbuch. Stahl, E. (Hrsg.), Springer-Verlag, Berlin, 813-859.
- Kron, K.A., 1997. Phylogenetic relationships of Rhododendroideae (Ericaceae). American Journal of Botany 84, 973-980.
- Kron, K.A., Judd, W.S., Stevens, P.F., Crayn, D.M., Anderberg, A.A., Gadek, P.A., Quinn, C.J., Luteyn, J.L., 2002. Phylogenetic Classification of Ericaceae: Molecular and Morphological Evidence. The Botanical Review 68, 335-423.
- Kurashige, Y., Etoh, J.-I., Handa, T., Takayanagi, K., Yukawa, T., 2001. Sectional relationships in the genus *Rhododendron* (Ericaceae): evidence from *matK* and *trnK* intron sequences. Plant Systematics and Evolution 228, 1-14.
- Kürten, S., 1971. Über die chemischen und pharmakologischen Eigenschaften von Grayanotoxinen verschiedener Rhododendronarten. Dissertationsarbeit. Universität Bonn, 6-11.
- Lattanzio, V., Lattanzio, V.M.T., Cardinali, A., 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. In: Phytochemistry: Advances in Research. Imperato, F. (Hrsg.). Research Signpost, Kerala, 23-67.
- Lieberei, R., 2007. Nutzpflanzenkunde. 7. Auflage. Thieme, Stuttgart, 184-186.
- Li, W., Hydamaka, A.W., Lowry, L., Beta, T., 2008. Comparison of antioxidant capacity and phenolic compounds of berries, chokecherry and seabuckthorn. Central European Journal of Biology 4, 499-506.
- Lien, E.J., Ren, S., Bui, H.-H., Wang, R., 1999. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. Free Radical Biology & Medicine 26, 285-294.
- Lottspeich, F., 1998. Bioanalytik. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 207-208.
- Louis, A., Petereit, F., Lechtenberg, M., Deters, A., Hensel, A., 2010. Phytochemical Characterization of *Rhododendron ferrugineum* and *In Vitro* Assessment of an Aqueous Extract on Cell Toxicity. Planta Medica 76, 1550-1557.
- Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B., 1970. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag, New York, 35-49.
- Mayr, S., 2010. Hydraulic plasticity and limitations of alpine *Rhododendron* species. Oecologia 164, 321-330.
- Milne, R.I., Abbott, R.J., 2008. Reproductive isolation among two interfertile *Rhododendron* species: low frequency of post-F1 hybrid genotypes in alpine hybrid zones. Molecular Ecology 17, 1108-1121.
- Milne, R.I., Abbott, R.J., Wolff, K., Chamberlain, D.F., 1999. Hybridization among sympatric species of *Rhododendron* (Ericaceae) in Turkey: morphological and molecular evidence. American Journal of Botany 86, 1776-1785.

- Monschein, M., Iglesias Neira, J., Kunert, O., Bucar, F., 2010. Phytochemistry of heather (*Calluna vulgaris* (L.) Hull) and its altitudinal alteration. *Phytochemistry Reviews* 9, 205-215.
- Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R., Krishna, D.R., 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology* 33, 2-16.
- Olsson, L.C., Veit, M., Weissenböck, G., Bornman, J.F., 1998. Differential flavonoid response to enhanced UV-B radiation in *Brassica napus*. *Phytochemistry* 49, 1021-1028.
- Olechnowicz-Stepien, W., Rzadkowska-Dodalska, H., Grimshaw, J., 1982. Investigation on lipid fraction compounds of heather flowers (*Calluna vulgaris* L.). *Polish Journal of Chemistry* 56, 153-157.
- Onyilagha, J.C., Grotewold, E., 2004. The biology and structural distribution of surface flavonoids. *Recent Research Development in Plant Science* 2, 1-19.
- Ozenda, P., 1988. Die Vegetation der Alpen im europäischen Gebirgsraum. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart & New York, 36-320.
- Rätsch, C., 2009. Enzyklopädie der psychoaktiven Pflanzen. 9. Auflage. AT Verlag, Aarau, 579-580.
- Reisch, J., Probst, W., Gröger, D., 1990. Die Anwendung der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie zur Trennung und Bestimmung von Acridonalkaloiden. *Die Pharmazie* 45, 500-502.
- Romberger, J.A., Hejnowicz, Z., Hill, J.F., 1993. *Plant Structure: Function and Development. A Treatise on Anatomy and Vegetative Development, with Special Reference to Woody Plants.* Springer-Verlag, Berlin (u. a.), 123.
- Roth, L., 2008. Giftpflanzen - Pflanzengifte. 5. Auflage. Nikol, Hamburg, 613-14.
- Ruecker, G., Manns, D., Schenkel, E.P., Hartmann, R., Heinzmann, B.M., 1999. Triterpenes with a new 9-epi-cucurbitan skeleton from *Senecio selloi*. *Phytochemistry* 52, 1587-1591.
- Ryan, K.G., Swinny, E.E., Markham, K.R., Winefield, C., 2002. Flavonoid gene expression and UV photoprotection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry* 59, 23-32.
- Salasoo, I., 1978. Epicuticular wax alkanes of *Ericaceae* and *Empetrum* from alpine and sub-alpine heaths in Austria. *Plant Systematics and Evolution* 163, 71-79.
- Saslowsky, D.E., Warek, U., Winkel, B.S.J., 2005. Nuclear Localization of Flavonoid Enzymes in *Arabidopsis*. *The Journal of Biological Chemistry* 280, 23735-23740.
- Saunders, J.A., McClure, W.J., 1976. The distribution of flavonoids in chloroplasts of twenty five species of vascular plants. *Phytochemistry* 15, 809-810.
- Schillmiller, A.L., Last, R.L., Pichersky, E., 2008. Harnessing plant trichome biochemistry for the production of useful compounds. *The Plant Journal* 54, 702-711.
- Simpson, M.G., 2006. *Plant systematics.* Elsevier, Academic Press, Amsterdam, 292-295.
- Sleumer, H., 1949. Ein System der Gattung *Rhododendron* L. *Botanische Jahrbuch Systematik* 74, 511-553.
- Sosa, T., Chaves, N., Alias, J.C., Escudero, J.C., Henao, F., Gutiérrez-Merino, C., 2004.

- Inhibition of mouth skeletal muscle relaxation by flavonoids of *Cistus ladanifer* L.: A plant defense mechanism against herbivores. *Journal of Chemical Ecology* 30, 1087-1101.
- Stapleton, A.E., Walbot, V., 1994. Flavonoids Can Protect Maize DNA from the Induction of Ultraviolet Radiation Damage. *Plant Physiology* 105, 881-889.
- Spencer, J.P.E., Kuhnle, G.G.C., Williams, R.J., Rice-Evans, C., 2003. *Biochemical Journal* 372, 173-181.
- Subramanian, S., Stacea, G., Yu, O., 2007. Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends in Plant Science* 12, 282-285.
- Swiderski, A., Muras, P., Koloczek, H., 2004. Flavonoid composition in frost-resistant *Rhododendron* cultivars grown in Poland. *Scientia Horticulturae* 100, 139-151.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2010. *Plant physiology*, 5. Auflage. Sunderland, Mass, Sinauer Associates, Basingstoke, 370-380.
- Takahashi, H., Hirata, S., Minami, H., Fukuyama, Y., 2000. Triterpene and flavanone glycoside from *Rhododendron simsii*. *Phytochemistry* 56, 875-879.
- Tattini, M., Gravano, E., Pinelli, P., Mulinacci, N., Romani, A., 2000. Flavonoids accumulate in leaves and glandular trichomes of *Phillyrea latifolia* exposed to excess solar radiation. *New Phytologist* 148, 69-77.
- Taylor, L.P., Grotewold, E., 2005. Flavonoids as developmental regulators. *Current Opinion in Plant Biology* 8, 317-323.
- Toiron, C., Rumbero, A., Wollenweber, E., Arriaga, F.J., Bruix, M., 1995. A new skeletal triterpenoid isolated from *Empetrum nigrum*. *Tetrahedron Letters* 36, 6559-6562.
- Torel, J., Cillard, J., Cillard, P., 1985. Antioxidant Activity of Flavonoids and Reactivity with Peroxy Radical. *Phytochemistry* 25, 383-385.
- Tori, M., Torii, T., Tachibana, K., Yamada, S., Tsuyuki, T., Takahashi, T., 1977. The Backbone Rearrangement of 3 β ,4 β -Epoxyfriedelane and the Synthesis of Dendropanoxide. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 50, 469-472.
- Ureshino, K., Miyajima, I., 2002. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 71, 214-219.
- Valant-Vetschera, K.M., Bhutia, T.D., Wollenweber, E., 2009. Exudate Flavonoids of *Primula* spp: Structural and Biogenetic Chemodiversity. *Natural Product Communications* 4, 365-370.
- Valant-Vetschera, K.M., Brem, B., 2006. Chemodiversity of Exudate Flavonoids, as Highlighted by Selected Publications of Eckhard Wollenweber. *Natural Product Communications* 1, 921-926.
- Valant-Vetschera, K.M., Fischer, R., Wollenweber, E., 2003. Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (Asteraceae – Anthemideae): new results and chemosystematic interpretation. *Biochemical Systematics and Ecology* 31, 487-498.
- Valant-Vetschera, K.M., Wollenweber, E., 1996. Comparative Analysis of Leaf Exudate Flavonoids in *Achillea* subsect. *Filipendulinae*. *Biochemical Systematics and Ecology* 24, 435-446.
- Valant-Vetschera, K.M., Wollenweber, E., 2001. Exudate flavonoid aglycones in the alpine species of *Achillea* sect. *Ptarmica*: Chemosystematics of *A. moschata* and related species (Compositae – Anthemideae). *Biochemical Systematics and Ecology* 29, 149-159.

- Valant-Vetschera, K.M., Wollenweber, E., 2006. Flavones and flavonols. In: Anderson, O.M., Markham, K.R. (Hrsg.), *Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications*. Taylor & Francis, 617-748.
- Veit, M., Bilger, W., Mühlbauer, T., Brummert, W., Winter, K., 1996. Diurnal changes in flavonoids. *Journal of Plant Physiology* 148, 478-482.
- Voirin, B., Bayet, C., Colson, M., 1993. Demonstration that flavone aglycones accumulate in the peltate glands of *Mentha × piperita* leaves. *Phytochemistry* 34, 85-87.
- Westerkamp, C., Demmelmeier, H., 1997. Blattoberflächen mitteleuropäischer Laubgehölze: Atlas und Bestimmungsschlüssel - Leaf surfaces of Central European woody plants. Borntraeger, Berlin (u.a.), 332-335.
- Williams, C.A., Grayer, R.J., 2004. Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Product Reports* 21, 539-573.
- Williams, C.A., Harborne, J.B., Greenham, J., Eagles, J., 1994. Differences in flavonoid patterns between genera within the Velloziaceae. *Phytochemistry* 36, 931-940.
- Williams, C.A., Harborne, J.B., De Menezes, N.L., 1991. The utility of leaf flavonoids as Taxonomic Markers in the subfamily and generic classification of the Velloziaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* 19, 483-495.
- Wollenweber, E., 1985. Exkretflavonoide bei Höheren Pflanzen arider Gebiete. *Plant Systematics and Evolution* 150, 83-88.
- Wollenweber, E., Asakawa, Y., Schillo, D., Lehmann, U., Weigel, H., 1987. A novel caffeic acid derivative and other constituents of *Populus* bud excretion and propolis (bee-glue). *Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences* 42, 1030-1034.
- Wollenweber, E., Doerr, M., Stelzer, R., Arriaga-Giner, F.J., 1992. Lipophilic Phenolics from the Leaves of *Empetrum nigrum* - Chemical Structures and Exudate Localization. *Botanica Acta* 105, 300-305.
- Wollenweber, E., Doerr, M., 2008. Exudate Flavonoids of some Juglandaceae. *Natural Product Communications* 3, 1-2.
- Wollenweber, E., Doerr, M., Rivera, D., Roitman, J.N., 2003. Externally accumulated flavonoids in three Mediterranean *Ononis* species. *Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences* 58, 771-775.
- Wollenweber, E., Doersam, M., Doerr, M., Roitman, J.N., Valant-Vetschera, K.M., 2005. Chemodiversity of surface flavonoids in Solanaceae. *Naturforschung, C: Journal of Biosciences* 60, 661-670.
- Wollenweber, E., Kraut, L., Mues, R., 1998. External accumulation of biflavonoids on gymnosperm leaves. *Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences* 53, 946-950.
- Wollenweber, E., Schneider, 2000. Lipophilic exudates of Pteridaceae – chemistry and chemotaxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 751-777.
- Wollenweber, E., Valant-Vetschera, K.M., 1996. New results with exudate flavonoids in Compositae. In: *Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference*. Kew, 1994, Hind, D.J.N., Beentje, H.J., (Hrsg.). 1. Auflage. Royal Botanic Gardens, Kew, 169-185.

Wollenweber, E., Wehde, R., Doerr, M., Stevens, J.F., 2002. On the occurrence of exudates flavonoids in the borage family (Boraginaceae). *Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences* 57, 445-448.

Wollenweber, E. Yatskievych, G., 1985. Flavonoides en la resina foliar de *Flourensia resinosa*, compuesta endemic de Hidalgo, México. *Revista Latinoamericana de Química* 16, 45-46.

Zhang, B., He, Z.L., Ding, Y., Du, G.H., 2006. Gaultherin, a natural salicylate derivative from *Gaultheria yunnanensis*. Towards a better non-steroidal anti-inflammatory drug. *European Journal of Pharmacology* 530, 166-171.

Internet-Quellen

<http://flora.nhm-wien.ac.at/Seiten-Arten/Rhododendron-ferrugineum.htm> (10.12.10)

<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APWeb/> (10.12.2010)

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden unter Verwendung analytischer und präparativer phytochemischer Methoden die Inhaltsstoffe des Exsudats ausgewählter heimischer Vertreter der Familie der Ericaceae untersucht und mit Gesamtextrakten verglichen. Mit Ausnahme von *Empetrum nigrum* L. wurde bisher noch keine andere Ericaceae auf das Vorkommen von Exsudaten und deren Zusammensetzung publiziert. Die meisten phytochemischen Arbeiten beschränken sich auf die Analyse von Gesamtextrakten. Da die Produktion von Exsudaten häufig mit der Präsenz von Drüsenhaaren korreliert ist, wurden diesbezügliche mikroskopische Analysen an der heimischen Art *Rhododendron ferrugineum* L. mit Erfolg durchgeführt, weshalb diese Art anschließend auch bevorzugt phytochemisch bearbeitet wurde. Aus dem Exsudat konnten mit Hilfe von UV-Spektroskopie und HPLC-MS die beiden Flavonolaglyca Quercetin und Kämpferol sowie das Flavanonaglycon Naringenin identifiziert werden. Vergleichende HPLC-Analysen von Exsudaten und Gesamtextrakten zeigten, dass alle im Exkret identifizierten Flavonoide ebenfalls im Extrakt vorhanden waren. Es wird vermutet, dass sich das Exsudat offenbar erst im Zuge der Gewebsextraktion vollständig gelöst hat, da normalerweise nach Auflösung des Exsudates keine Exkretverbindungen in den Geweben festzustellen sind. Des Weiteren gelang unter Verwendung von MPLC die Isolation der vier Triterpene α - und β -Amyrin, Epoxy-9-epi-cucurbita-24-en sowie Dendropanoxid. Die unterschiedliche Verbreitung in den untersuchten Ericaceae-Arten, sowie die infraspezifische organspezifische Verteilung der isolierten Verbindungen bei *R. ferrugineum* wurden vergleichend analysiert. Die Ergebnisse werden in Relation zu den Literaturdaten diskutiert. Ergänzend werden wesentliche Informationen zu den Verbindungsklassen Flavonoide und Terpenoide, zu ihrer Verbreitung innerhalb der Familie sowie zu funktionellen Aspekten gegeben.

8 Anhang

8.1 Weitere Abbildungen und Tabellen



Abb. 15 Herbarbelege WU 045149 - 045152 (vgl. Tab. 3).

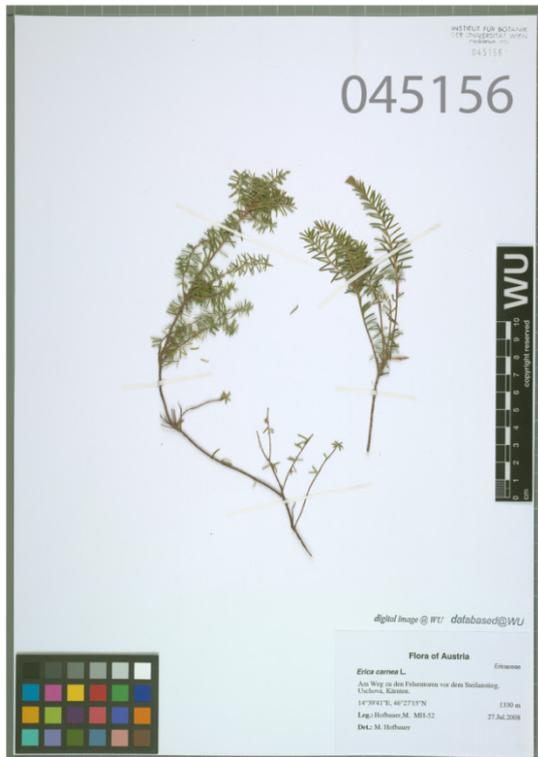
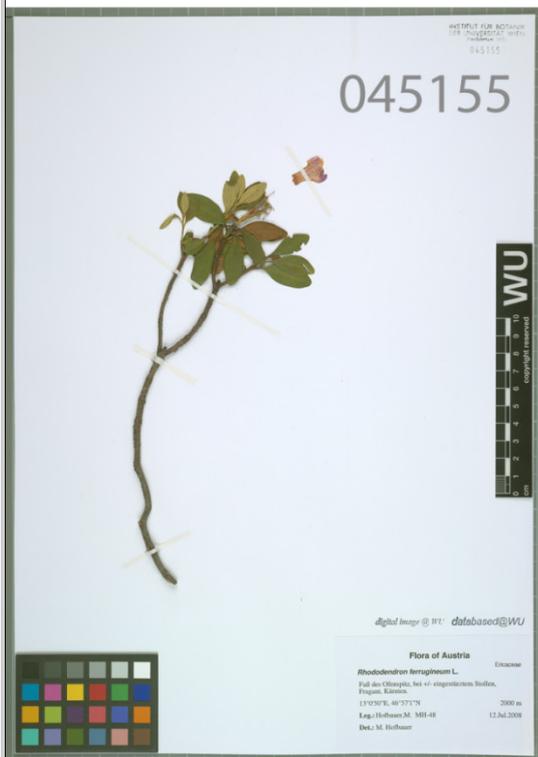


Abb. 16 Herbarbelege WU 045153 – 045156 (vgl. Tab. 3).



Abb. 17 Herbarbelege WU 045157 - 045160 (vgl. Tab. 3).

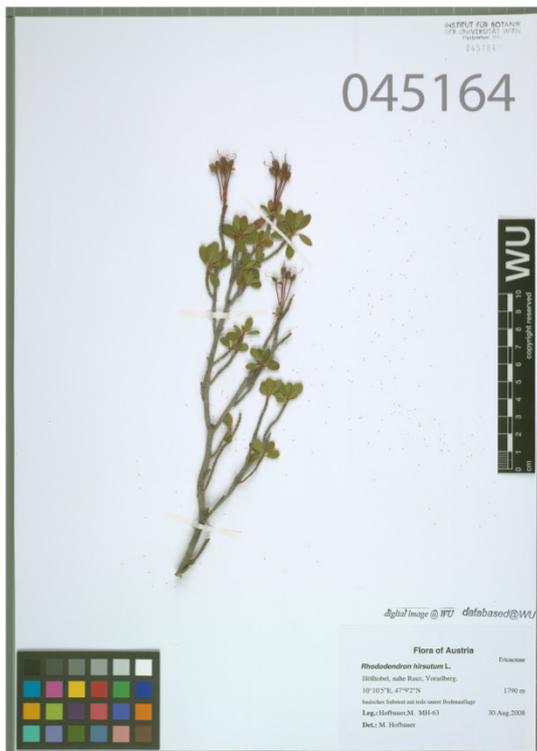
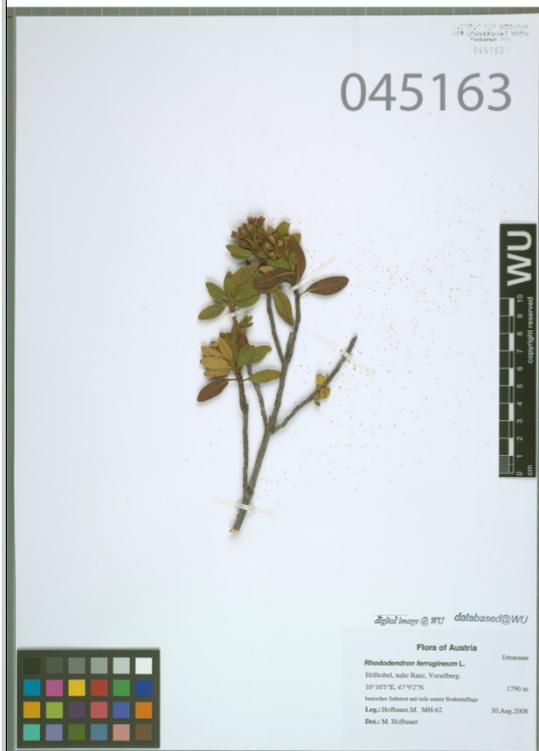
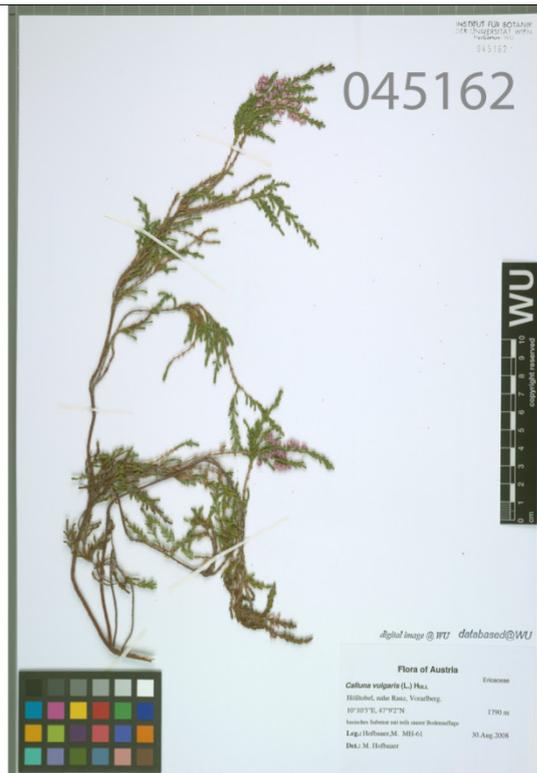


Abb. 18 Herbarbelege WU 045161 - 045164 (vgl. Tab. 3).



Abb. 19 Herbarbelege WU 045165 – 045168 (vgl. Tab. 3).



Abb. 20 Herbarbelege WU 045169 - 045172 (vgl. Tab. 3).

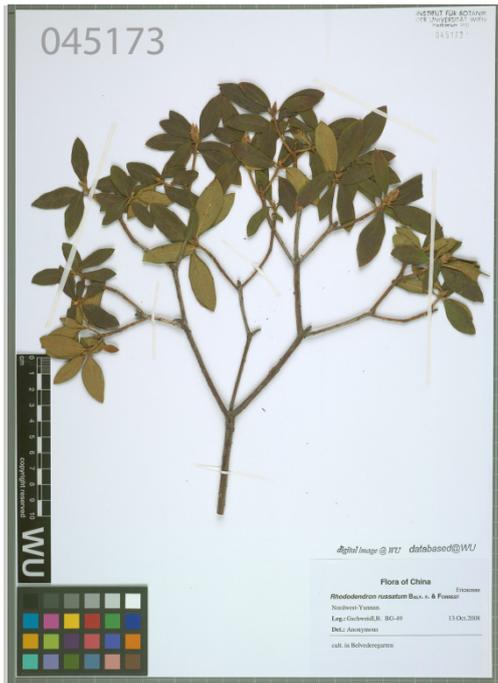


Abb. 21 Herbarbeleg WU 045173 (vgl. Tab. 3).

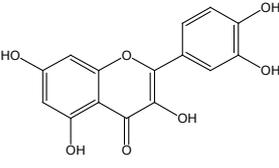
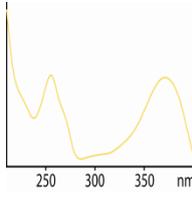
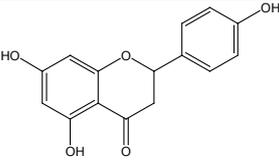
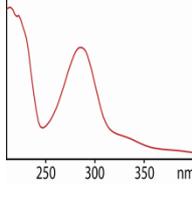
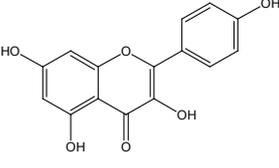
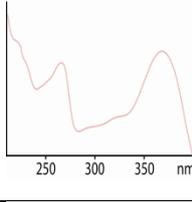
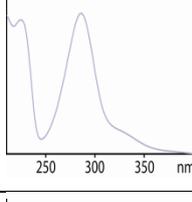
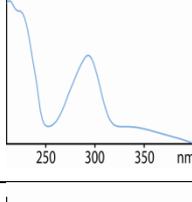
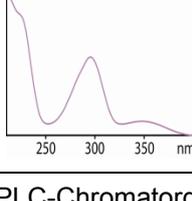
Verbindung	R _f -Wert	Farbreaktion	Rt [min.]	UV-Spektrum
Flavonoide				
 <p>Quercetin (F1)</p>	0,35	hellblau	13,3	
 <p>Naringenin (F2)</p>	0,58	türkis	14,6	
 <p>Kämpferol (F3)</p>	0,53	dunkelblau	15,1	
(UF1)			11,7	
(UF2)			16,2	
(UF3)			17,1	

Abb. 22 Übersicht detektierter Flavonoide. Rt = Retentionszeit im HPLC-Chromatogramm.

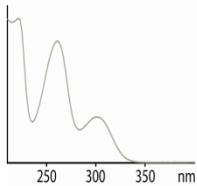
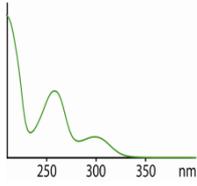
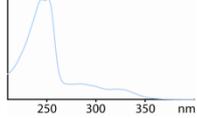
Verbindungen	R _f -Wert	Farbreaktion	Rt [min.]	UV-Spektrum
Triterpene				
(T1)	0,45	rosa-rot		
(T2)	0,20	rosa-rot		
Unbekannte Verbindungen				
(X1)			22,3	
(X2)			22,7	
(X3)			25,3	

Abb. 23 Übersicht detektierter Triterpene sowie unbekannter Verbindungen. Rt = Retentionszeit im HPLC-Chromatogramm.

Tab. 10 Übersicht der Erträge an Exsudat des untersuchten Pflanzenmaterials.

Nr.	Art	Pflanzen- teil	Trockenmasse [g]	Exsudat [mg]	%o-Exsudat/ Trockenmasse
1	<i>A. uva-ursi</i>	Blatt	29	32	1,10
2	<i>C. vulgaris</i>	Blatt	70	56	0,8
3	<i>C. vulgaris</i>	Blatt	43	104	2,42
5	<i>E. carnea</i>	Blatt	43	87	2,02
9	<i>R. ferrugineum</i> (1)	Blatt	245	694	2,83
10	<i>R. ferrugineum</i> (2)	Blatt	57	111	1,95
11	<i>R. ferrugineum</i> (3)	Blatt	55	90	1,64
	<i>R. ferrugineum</i> (3)	Blüte	1	6	6
	<i>R. ferrugineum</i> (3)	Stamina	< 1	2	-
12	<i>R. ferrugineum</i> (4)	Blatt	-	2	-
13	<i>R. ferrugineum</i> (5)	Blatt	-	0,2	-
14	<i>R. ferrugineum</i> (6)	Blatt	-	< 1	-
15	<i>R. ferrugineum</i> (7)	Blatt	-	2	-
16	<i>R. ferrugineum</i> (8)	Blatt	-	11	-
17	<i>R. ferrugineum</i> (9)	Blatt	-	7	-
18	<i>R. ferrugineum</i> (10)	Blatt	-	16	-
19	<i>R. fortunei</i>	Blatt	45	52	1,16
20	<i>R. hirsutum</i>	Blatt	93	84	0,90
21	<i>R. hirsutum</i>	Blatt	6	20	3,33
22	<i>R. x intermedium</i>	Blatt	53	130	2,6
23	<i>R. luteum</i>	Blatt	249	79	0,31
24	<i>R. oreotrephe</i> s	Blatt	42	24	0,57
25	<i>R. russatum</i>	Blatt	23	4	0,17
26	<i>R. smirnowi</i>	Blatt	24	47	1,96
27	<i>R. yunnanense</i>	Blatt	47	256	5,44
28	<i>R. chamaecistus</i>	Blatt	50	54	1,08
29	<i>V. gaultheroides</i>	Blatt	12	8	0,67
30	<i>V. gaultheroides</i>	Blatt	29	14	0,48
32	<i>V. myrtillus</i>	Blatt	24	8	0,33
33	<i>V. uliginosum</i>	Blatt	117	27	0,23
	<i>V. uliginosum</i>	Frucht	4	41	10,25
34	<i>V. vitis-idaea</i>	Blatt	4	2	0,5

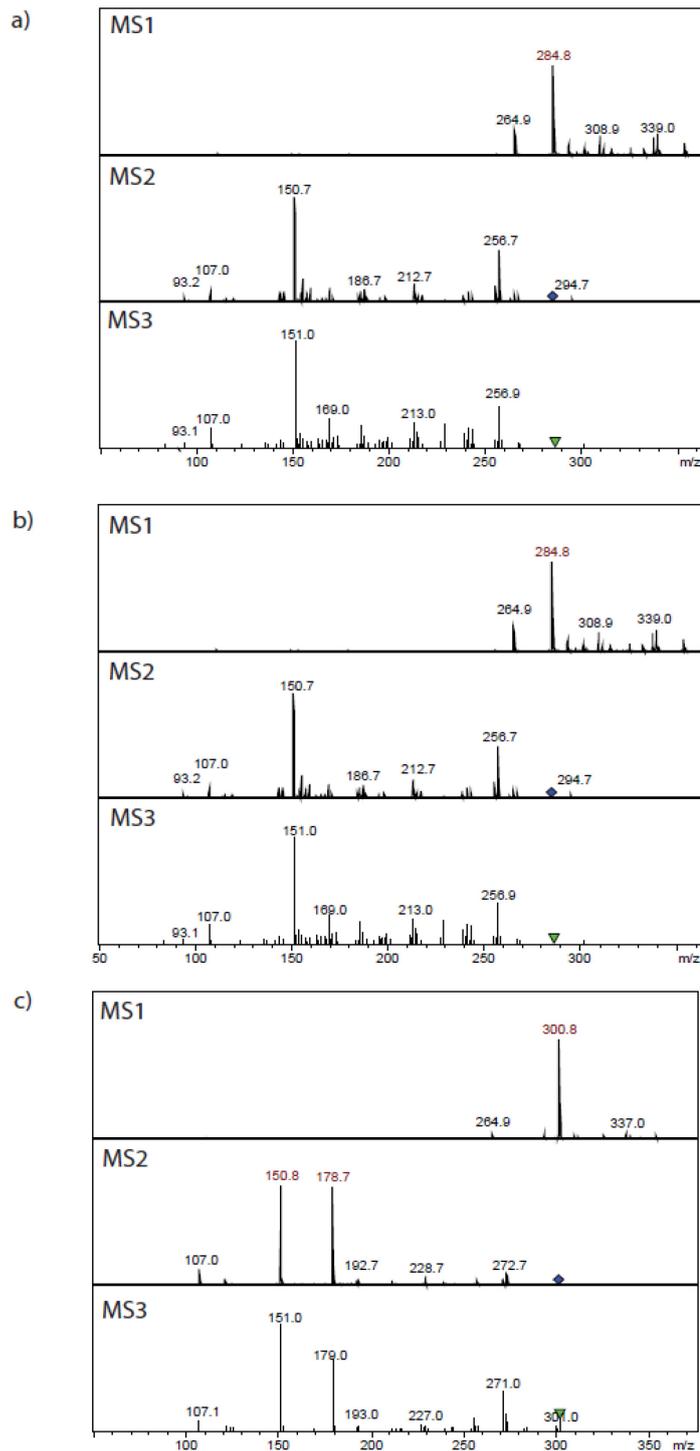


Abb. 24 Ergebnisse der HPLC-MS zur Strukturaufklärung von Flavonoiden aus dem Exsudat von *R. ferrugineum*. **a)** Naringenin **b)** Kämpferol **c)** Quercetin. Für jede Verbindung sind drei Massenspektren (MS) dargestellt. MS1 zeigt das intakte [M-H]-Ion, MS2 das Fragmentationsspektrum dieses [M-H]-Ions. MS3 ist entweder ein MS2 Vergleichsspektrum aus der Datenbank des Departments für Pharmakognosie der Universität Wien oder ein MS3-Spektrum des intensivsten Fragmentions in MS2.

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Verbreitung der Ericaceae	3
Abb. 2 Maximum parsimony strict consensus tree	7
Abb. 3 Infloreszenz und Laubblätter von <i>R. ferrugineum</i>	8
Abb. 4 Grundgerüst der Flavonoide	12
Abb. 5 Biosynthese der wichtigsten Flavonoidklassen	13
Abb. 6 Flavonoidaglyca aus <i>Rhododendron</i> spp.	22
Abb. 7 Grundstruktur ausgewählter Mono-, Di- und Triterpene	23
Abb. 8 Biosynthese der Terpenoide. Biosynthese der Terpenoide	24
Abb. 9 Grundgerüst der Grayanotoxine	27
Abb. 10 Triterpene aus dem Exsudat von <i>R. ferrugineum</i>	28
Abb. 11 Untersuchte Individuen von <i>R. ferrugineum</i>	30
Abb. 12 Laubblattunterseite von <i>R. ferrugineum</i>	39
Abb. 13 Vergleichende HPLC-Chromatogramme der Exsudate und Gesamtextrakte von <i>R. ferrugineum</i>	41
Abb. 14 HPTLC-Vergleich	42
Abb. 15 Herbarbelege WU 045149 - 045152	63
Abb. 16 Herbarbelege WU 045153 – 045156	64
Abb. 17 Herbarbelege WU 045157 - 045160	65
Abb. 18 Herbarbelege WU 045161 - 045164	66
Abb. 19 Herbarbelege WU 045165 – 045168	67
Abb. 20 Herbarbelege WU 045169 – 045172	68
Abb. 21 Herbarbeleg WU 045173	69
Abb. 22 Übersicht detektierter Flavonoide	70
Abb. 23 Übersicht detektierter Triterpene sowie unbekannter Verbindungen ...	71
Abb. 24 Ergebnisse der HPLC-MS	73

8.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Untergattungen (Subgen.) und Sektionen (Sect.) der Gattung <i>Rhododendron</i>	6
Tab. 2 Exkretflavonoide ausgewählter Dicotyledonae.	17
Tab. 3 Herkunft des untersuchten Pflanzenmaterials.	31
Tab. 4 Laufmittelgradient für HPLC-Messungen.	33
Tab. 5 Laufmittelgradient für HPLC-MS-Messungen.	34
Tab. 6 Laufmittelgemische für Trockensäulen-Chromatographie.....	36
Tab. 7 Laufmittelgemische für MPLC-Messungen.	37
Tab. 8 Nachgewiesene Verbindungen ausgewählter Ericaceae.	49
Tab. 9 Organspezifität nachgewiesener Sekundärstoffe.....	51
Tab. 10 Übersicht der Erträge an Exsudat.....	72

8.4 Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle Ao. Univ.-Prof. Dr. Karin Valant-Vetschera für die konstruktive und ermutigende Kritik während der Betreuung meiner Diplomarbeit.

Prof. Dr. Wollenweber für zusätzliche Motivation zur Umsetzung des Diplomarbeitsthemas.

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

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

Ao. Univ.-Prof. i.R. Dr. Harald Greger für die lehrreiche und wunderschöne Exkursion nach Thailand.

Mag. Johann Schinnerl für methodische Hilfestellung und die Versorgung mit Äpfeln.

Mag.^a Tshering Doma Bhutia für fachliche Zuversicht und Unterstützung.

Markus Hofbauer für das Sammeln von Pflanzenmaterial, hilfreiches Computerwissen sowie Begeisterung die Familie der Ericaceae betreffend.

Christian Gilli und Mag. David Lyon für die freundliche Bereitstellung ihrer Kamera.

Mag.^a Mette Hanak für die geduldige Beratung beim Erstellen der Fotos.

Mag.^a Sonja Leißer für unzählige Motivationstees, wir haben uns perfekt ergänzt, um Stolpersteinen des phytochemischen Diplomarbeitens aus dem Weg zu gehen.

Mag.^a Celine Zahradnik für alle hilfreichen Ratschläge und die Umsetzung unseres Diplomarbeiterspruchs. Mag.^a Eveline und Fritz Zahradnik für die Ermöglichung des legendären Diplomarbeiters-Camps.

Sigrid Steins, Andrea Zraunig und Andreas Berger für Beistand und Beratung.

Mag.^a Elisabeth Kastlunger für Coaching in jeder Situation. Matthias Gassner für die Sammelreise, Mag.^a Barbara Tiefenböck, Mag.^a Gisela Pröll und Elisabeth Kogler für den Optimismus, Viktoria Igel und Mag.^a Irma Pelikan für die allerersten Schritte in Richtung Diplomarbeit.

Meinen Yoga-LehrerInnen und allen, die in den unzähligen Laborstunden an mich gedacht haben.

Meinem Freund Clemens Hlauschek für Ratschläge und die Gespräche zum Thema Wissenschaft.

Meiner Familie für finanzielle Unterstützung und dafür, dass sie trotz meiner physischer Abwesenheit immer an mich geglaubt hat.

8.5 Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name	Birgit Gschweidl
Geburtsdatum und -ort	28.10.1984, Hollabrunn
Email	gschweidlbirgit@yahoo.de
Nationalität	Österreich

Schulbildung

September 2008	Diplomarbeit „Vergleichend phytochemische Analysen der Exsudate ausgewählter Ericaceae mit besonderer Berücksichtigung von <i>Rhododendron ferrugineum</i> L.“, Chemodiversity Research Group, Universität Wien, Ao. Univ.-Prof. Dr. Karin Valant-Vetschera
Oktober 2006	Lehramtsstudium Biologie und Umweltkunde & Spanisch
Oktober 2002	Diplomstudium Botanik - Biologie, Universität Wien
1994- 2002	Bundesgymnasium, Hollabrunn - Matura am 07.06.2002
1990-1994	Volksschule, Hollabrunn

Arbeitserfahrung

09.2006 - 06.2009	Tutorin an der Universität Wien (Pflanzenanatomie)
2007 – 2010	Sommerjob als Reisebegleiterin mit Jugendlichen aus den USA zwischen Rom und Madrid (PDM Travel AG)
03.2008 – 03.2010	Studienassistenz einer körperlich behinderten Biologie-Studentin in Zusammenarbeit mit Ao. Univ.-Prof. i.R. Dr. Roland Albert
10. 2002 – 06.2004	Nachhilfestunden (Lerninstitut Bunter Schirm)

Sprachkenntnisse

Deutsch	Muttersprache
Spanisch und Englisch	Fließend
Französisch und Latein	Maturaniveau

Auslandsaufenthalte

Februar 2006	Ethnobotanisch-Phytochemische Exkursion nach Thailand, Universität Wien, Ao. Univ.-Prof. i.R. Dr. Harald Greger
02. - 09. 2004	Europäischer Freiwilligendienst in Tarragona (Spanien); Mitarbeit in der Organisation DEPANA, Arbeit mit Schulklassen im Naturschutzgebiet „Punta de la Mora“.
10.1987 – 07.1988	Aufenthalt in Ecuador