

ISOLIERUNG UND CHARAKTERISIERUNG VON  
SEKUNDÄREN NATURSTOFFEN AUS HALOPHYTEN

Vom Fachbereich Chemie  
der Universität Oldenburg  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
angenommene Dissertation

Thomas Franz Lellau

geb. am 12. 02. 1968 in Germersheim

Erstreferent	Priv.-Doz. Dr. G. Liebezeit
Koreferent	Prof. Dr. P. Janiesch
Datum der Disputation	20. 12. 2000

ISOLIERUNG UND CHARAKTERISIERUNG VON  
SEKUNDÄREN NATURSTOFFEN AUS HALOPHYTEN

Vom Fachbereich Chemie  
der Universität Oldenburg  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
angenommene Dissertation

Thomas Franz Lellau

geb. am 12. 02. 1968 in Germersheim

Erstreferent	Priv.-Doz. Dr. G. Liebezeit
Koreferent	Prof. Dr. P. Janiesch
Datum der Disputation	20. 12. 2000

*Diese Arbeit widme ich meinen Eltern,*

*die es mir ermöglicht haben*

*Biologie und Chemie zu studieren*

*sowie anschließend diese Arbeit zu verfassen*

## INHALTSVERZEICHNIS

I. Verzeichnisse der Abbildungen und Tabellen.....	IX
I.1. Abbildungen .....	IX
I.2. Tabellen.....	XII
II. Abkürzungen.....	XIII
1. Einleitung .....	1
1.1. Allgemeines.....	1
1.2. Die Fragestellung.....	3
2. Literaturübersicht.....	4
2.1. Apiaceae (= Umbelliferae), Doldengewächse .....	4
2.2. Asteraceae (= Compositae), Korbblütler, Köpfchenblütler.....	6
2.3. Brassicaceae (= Cruciferae), Kreuzblütler.....	10
2.4. Caryophyllaceae, Nelkengewächse.....	10
2.5. Chenopodiaceae, Gänsefußgewächse .....	11
2.6. Cyperaceae, Sauergräser, Riedgräser.....	15
2.7. Fabaceae (= Papilionaceae), Schmetterlingsblütengewächse.....	16
2.8. Gentianaceae, Enziangewächse .....	17
2.9. Juncaceae, Binsengewächse .....	19
2.10. Juncaginaceae, Dreizackgewächse .....	19
2.11. Plantaginaceae, Wegerichgewächse .....	20
2.12. Plumbaginaceae, Grasnelkengewächse .....	20
2.13. Poaceae (= Gramineae), Süßgräser.....	21
2.14. Primulaceae, Primelgewächse .....	22
2.15. Scrophulariaceae, Rachenblütlergewächse.....	23
3. Methodischer Teil.....	24
3.1. Vorbereiten des Untersuchungsmaterials .....	24
3.1.1. Sammeln und Vorbereiten der Proben.....	24
3.1.2. Extraktion der Drogen .....	24

3.2. Chemisches Screening .....	26
3.2.1. Allgemeines zum chemischen Screening .....	26
3.2.2. Alkaloide .....	26
3.2.2.1. Hintergrund.....	26
3.2.2.2. Testdurchführung.....	31
3.2.3. Cumarine .....	33
3.2.3.1. Hintergrund.....	33
3.2.3.2. Testdurchführung.....	34
3.2.4. Flavonoide .....	36
3.2.4.1. Hintergrund.....	36
3.2.4.2. Testdurchführung.....	37
3.2.5. Saponine .....	38
3.2.5.1. Hintergrund.....	38
3.2.5.2. Testdurchführung.....	40
3.2.6. Tannine und weitere phenolische Komponenten.....	41
3.2.6.1. Hintergrund.....	41
3.2.6.2. Testdurchführung.....	43
3.3. Biologisches Screening.....	44
3.3.1. Allgemeines zum biologischen Screening.....	44
3.3.2. Algizide Aktivität .....	45
3.3.2.1. Hintergrund.....	45
3.3.2.2. Kultivierung der Organismen .....	45
3.3.2.3. Testdurchführung.....	45
3.3.3. Fungizide Aktivität.....	47
3.3.3.1. Hintergrund.....	47
3.3.3.2. Kultivierung der Organismen .....	47
3.3.3.3. Testdurchführung.....	47
3.3.4. Cytotoxische und antineoplastische Aktivität .....	48
3.3.4.1. Hintergrund.....	48

3.3.4.2. Cytotoxizitätstest mit <i>Artemia salina</i> Leach .....	49
3.3.4.2.1. Anzucht der Salinenkrebse .....	50
3.3.4.2.2. Wirkung auf die Embryogenese und die Entwicklung der Eier .....	51
3.3.4.2.3. Akute Wirkung auf die Larven .....	51
3.3.4.2.4. Chronische Wirkung auf die Larven.....	51
3.3.4.2.5. Akute Wirkung auf die adulten Tiere .....	52
3.3.4.2.6. Chronische Wirkung auf die adulten Tiere.....	52
3.3.4.3. Cytotoxizitätstest mit <i>Daphnia magna</i> Straus .....	52
3.3.4.4. Test auf antineoplastische Aktivität (Potatoe-Disk-Assay).....	53
3.3.4.4.1. Hintergrund.....	53
3.3.4.4.2. Durchführung.....	53
3.3.5. Antibakterielle Aktivität .....	56
3.3.5.1. Hintergrund.....	56
3.3.5.2. Kultivierung der Organismen .....	56
3.3.5.3. Testdurchführung.....	56
3.3.6. Chitinaseinhibitorische Aktivität.....	57
3.3.6.1. Hintergrund.....	57
3.3.6.2. Kultivierung der Organismen .....	57
3.3.6.3. Testdurchführung.....	58
3.3.7. Gezielte Wirkstoffsuche .....	59
3.3.7.1. Allgemeines .....	59
3.3.7.2. <i>Triglochin maritimum</i> L. ....	59
3.3.7.2.1. Hintergrund.....	59
3.3.7.2.2. Durchführung.....	60
3.3.7.3. <i>Salicornia europaea</i> L. ....	61
3.3.7.3.1. Hintergrund.....	61
3.3.7.3.2. Durchführung.....	61
4. Ergebnisse und Diskussion.....	63
4.1. Ergebnisse und Diskussion des chemischen Screenings .....	63

4.1.1. Alkaloide .....	63
4.1.1.1. Ergebnisse.....	63
4.1.1.2. Diskussion .....	63
4.1.2. Cumarine .....	66
4.1.2.1. Ergebnisse.....	66
4.1.2.2. Diskussion .....	67
4.1.3. Flavonoide .....	68
4.1.3.1. Ergebnisse.....	68
4.1.3.2. Diskussion .....	69
4.1.4. Saponine .....	70
4.1.4.1. Ergebnisse.....	70
4.1.4.2. Diskussion .....	71
4.1.5. Tannine und weitere phenolische Komponenten.....	72
4.1.5.1. Ergebnisse.....	72
4.1.5.2. Diskussion .....	73
4.2. Ergebnisse und Diskussion des biologischen Screenings.....	74
4.2.1. Algizide Aktivität .....	74
4.2.1.1. Ergebnisse.....	74
4.2.1.2. Diskussion .....	75
4.2.2. Fungizide Aktivität .....	76
4.2.2.1. Ergebnisse.....	76
4.2.2.2. Diskussion .....	77
4.2.3. Cytotoxische und antineoplastische Aktivität .....	78
4.2.3.1. Ergebnisse der Tests mit <i>Artemia salina</i> .....	78
4.2.3.2. Diskussion der Ergebnisse der Tests mit <i>Artemia salina</i> .....	78
4.2.3.3. Ergebnisse des Tests mit <i>Daphnia magna</i> .....	80
4.2.3.4. Diskussion der Ergebnisse des Tests mit <i>Daphnia magna</i> .....	80
4.2.3.5. Ergebnisse des Potatoe-Disk-Assay .....	80
4.2.3.6. Diskussion der Ergebnisse des Potatoe-Disk-Assay.....	81

4.2.4. Antibakterielle Aktivität .....	83
4.2.4.1. Ergebnisse.....	83
4.2.4.2. Diskussion .....	84
4.2.5. Chitinaseinhibitorische Aktivität.....	85
4.2.5.1. Ergebnisse.....	85
4.2.5.2. Diskussion .....	86
4.2.6. Ergebnisse der gezielten Wirkstoffsuche .....	87
4.2.6.1. <i>Triglochin maritimum</i> L. ....	87
4.2.6.1.1. Ergebnisse.....	87
4.2.6.1.2. Diskussion .....	88
4.2.6.2. <i>Salicornia europaea</i> L. ....	89
4.2.6.2.1. Ergebnisse.....	89
4.2.6.2.2. Diskussion .....	91
5. Zusammenfassende Diskussion.....	94
6. Zusammenfassung .....	98
7. Literatur .....	100
8. Glossar.....	115
9. Anhang I: Die Charakterpflanzen der Salzwiesen.....	117
10. Anhang II: Probenort und Probendatum.....	119
11. Anhang III: Nährmedien.....	120
12. Anhang IV: Reagenzien.....	125
13. Anhang V: Chemikalien.....	126
14. Anhang VI: Auswertung der Untersuchungen mit <i>Artemia salina</i> und <i>Daphnia magna</i> .....	128
15. Anhang VII: Auswertung der Untersuchung mit dem Potatoe-Disk-Assay. ....	134
16. Anhang VIII: Übersicht der Ergebnisse des chemischen Screenings .....	135
17. Anhang IX: Übersicht der Ergebnisse des biologischen Screenings .....	137
18. Danksagung .....	139
19. Lebenslauf .....	140

# I. VERZEICHNISSE DER ABBILDUNGEN UND TABELLEN

## I.1. ABBILDUNGEN

1. Matricariaester, ein typisches Polyacetylen der Asteraceae .....	5
2. Beispiele für von <i>Apium graveolens</i> L. gebildete Substanzen .....	5
3. Die Santonine aus <i>Artemisia maritima</i> L. ....	7
4. Das Monoterpen Thujon.....	7
5. Qinghaosu.....	8
6. Artemisin .....	8
7. Zwei peroxidhaltige Inhaltsstoffe aus <i>Artemisia maritima</i> L. ....	8
8. Typische Sesquiterpenlactone von <i>Artemisia maritima</i> L. ....	9
9. Zwei Isoflavone (I und II) und ein Flavanon (III) von <i>Salicornia europaea</i> L.....	12
10. Quercetol aus <i>Salicornia europaea</i> L. ....	13
11. Das <i>Salicornia</i> -Pigment.....	13
12. Zwei Chromone aus <i>Salicornia europaea</i> L.....	14
13. Das Aglycon der Sojasaponine aus <i>Trifolium resupinatum</i> L. ....	17
14. Triterpenlactone von <i>Centaurium pulchellum</i> (Sw) DRUCE.....	18
15. Triglochinin .....	19
16. Aucubin .....	20
17. Plumbagin.....	21
18. Zwei Pyridin-Alkaloide: das basische Nicotin (I) und das nicht-basische Ricinin (II)	27
19. Die komplexeren Amine Serotonin (I) und Mescaline (II) .....	27
20. Das Piperidin-Alkaloid Coniin .....	27
21. Bufotenin, das Hautsekret der Aga-Kröte <i>Bufo marinus</i> .....	28
22. Die Senföle Sinigrin (I) und Sinalbin (II).....	28
23. Amygdalin aus der bitteren Mandel .....	29
24. Das Steroid-Alkaloid Conessin .....	29
25. Das Steroid-Alkaloid Solanin.....	30
26. Die Terpenalkaloide Gentianin (I) und Deoxynupharidin (II).....	30

27. Das Opium-Alkaloid Morphin .....	31
28. Biosynthese des Cumarins (VI).....	33
29. Schwerlösliches Bis-hydroxymercuri-cumarinsaures Natriumsalz .....	34
30. Untergruppen der Flavonoide (nur heterocyclischer Mittelring gezeigt), abgeleitet vom Flavan .....	36
31. Biosynthese von Flavan-Derivaten: Bildung des hypothetischen Enzym-Komplexes	37
32. Ursolsäure, ein häufiges Triterpensaponin-Aglycon .....	38
33. Steran, das Grundgerüst der Steroidsaponine.....	38
34. Diosgenin, das Aglycon des Steroidsaponins Dioscin .....	39
35. Die allelopathisch wirkenden Saponine aus <i>Duranta repens</i> L.....	39
36. Gallussäure .....	41
37. Ein Flavan-3-ol (Catechin, I) und ein Flavan-3,4-diol (Robidandiol, II) .....	41
38. Brutkultur in Flüssigmedium (hier mit dem Pilz <i>Acremonium</i> ).....	45
39. Kulturen für den Agardiffusionstest (links negativ, rechts positiv) .....	46
40. <i>Artemia salina</i> LEACH Larve .....	50
41. Testplatte für den Potatoe-Disk-Assay .....	53
42. Kartoffelscheibe mit Tumoren, angefärbt mit LUGOL´scher Lösung.....	54
43. Kartoffelscheibe mit Tumoren, ohne Anfärbung.....	54
44. Poly-(N-Acetyl-1,4-β-D-Glucosamin) oder Chitin .....	57
45. <i>Triglochin maritimum</i> L., aus KÜNNEMANN & GAD, 1997 .....	59
46. <i>Salicornia europaea</i> L., aus KÜNNEMANN & GAD, 1997 .....	61
47. Akute und chronische Toxizität der Pflanzenextrakte auf <i>Artemia salina</i> -Larven ...	79
48. Akute und chronische Toxizität der Pflanzenextrakte auf adulte <i>Artemia salina</i> .....	79
49. Toxizität der Pflanzenextrakte auf <i>Daphnia magna</i> .....	80
50. Antineoplastische Wirkung der Pflanzenextrakte .....	81
51. Massenspektrum der unbekannt fungiziden Substanz aus <i>Triglochin maritimum</i> L.	87
52. Phenol (I) und Hydrochinon (II).....	88
53. Massenspektrum von Ferulasäure .....	90
54. <sup>1</sup> H-NMR von Ferulasäure.....	90

55. $^{13}\text{C}$ -NMR von Ferulasäure.....	91
56. Ferulasäure (4-Hydroxy-3-methoxyzimtsäure) .....	91
57. Scopoletin .....	91
58. Bildung von Ferulasäure.....	92

I.2. TABELLEN

1. Gerbstoffe offizineller Drogen .....	42
2. Ergebnisse der Alkaloidtests .....	64
3. Ergebnisse des Tests auf Cumarine .....	66
4. Ergebnisse des Flavonoidtests .....	68
5. Ergebnisse des Saponintests .....	70
6. Ergebnisse der Nachweisreaktionen für Tannine und andere phenolische Komponenten .....	72
7. Ergebnisse der Untersuchung auf algizide Aktivität .....	74
8. Ergebnisse der Untersuchung auf fungizide Aktivität .....	76
9. Ergebnisse der Untersuchung auf antibakterielle Aktivität .....	83
10. Ergebnisse der Untersuchung auf Chitinasehemmung .....	85
11. Ergebnisse der DC-Untersuchung der Substanz aus <i>Salicornia europaea</i> L. ....	89
12. Ergebnisse der Untersuchung der akuten Toxizität auf <i>Artemia salina</i> Larven. ....	129
13. Ergebnisse der Untersuchung der chronischen Toxizität auf <i>Artemia salina</i> Larven. ....	130
14. Ergebnisse der Untersuchung der akuten Toxizität auf die adulten Salinenkrebse .....	131
15. Ergebnisse der Untersuchung der chronischen Toxizität auf die adulten Salinenkrebse .....	132
16. Ergebnisse der Untersuchung der chronischen Toxizität auf die adulten Salinenkrebse .....	133
17. Ergebnisse der Untersuchung der Tumorchemmung .....	134
18. Alle Ergebnisse des chemischen Screenings in der Übersicht .....	135
19. Alle Ergebnisse des biologischen Screenings in der Übersicht .....	137

## II. ABKÜRZUNGEN

A	Androeceum
C	Corolle oder Krone
DC	Dünnschichtchromatogramm
G	Gynoeceum
GC	Gaschromatograph
K	Kelch
MS	Massenspektrometer
NMR	Kernresonanzspektrum
P	Perigon
*	radiär
()	verwachsen

## 1. EINLEITUNG

„O, mickle is the powerful grace that lies  
In herbs, plants, stones, and their true qualities ...“  
„Within the infant rind of this small flower  
Poison hath residence, and medicine power ...“

W. SHAKESPEARE, *Romeo and Juliet* II, iii

### 1.1. ALLGEMEINES

Pflanzen sind faszinierend. Rein wissenschaftlich gesehen bilden sie aufgrund ihrer Funktion als Sauerstoffproduzenten die Grundlage allen Lebens auf unserem Planeten, so wie wir es heute vorfinden. Als Produzenten, die Sonnenlicht chemisch fixieren und mit dieser Energie anorganische Verbindungen in organische Moleküle aufbauen, sind sie die Wegbereiter allen höheren Lebens.

Doch darüber hinaus steht seit Anbeginn der Menschheit die Zauberei, Heilkunst und viele esoterische Künste mit den Pflanzen im Zusammenhang. Schamanen nehmen Pflanzen ein, um den Körper zu verlassen und um in andere Wirklichkeiten zu reisen (Hallozinogene, Psychedelika, Entheogene, Psychotomimetika, Psychodysleptika, Ekstatika). Heiler essen Pilze oder trinken Ayahuasca (= Yagé, „Trunk der wahren Wirklichkeit“, berauschendes Getränk der Indianer Amazoniens, unter anderem aus einer Liane des Genus *Banisteriopsis*), um die gewöhnlich nicht wahrnehmbaren Ursachen von Krankheiten zu finden und um ihre Heilkräfte zu entfalten. Wahrsager und Hellseher berauschen sich mit Stechapfel, Fliegenpilz oder Ololiuqui (frische oder getrocknete Samen, Blätter und Wurzeln von *Turbina corymbosa* (L.) RAFIN., enthält einen Cocktail verschiedener Alkaloide, u.a. Lysergsäureamid), um Verborgenes und Zukünftiges zu erschauen. Fakire schlucken enorme Mengen Opium, um schmerzunempfindlich zu werden und um die Körperkräfte zu potenzieren. Alchemisten brauen „Unsterblichkeitselexiere“ aus geheimen Wurzeln (u.a. Fliegenpilz, Ginseng, Lotus), Zauberer „verhexen“ ihre Opfer mit Paternostererbsen oder Bilsenkrautsamen. Priester verschiedener Konfessionen verbrennen Weihrauch, um mit den Göttern in Kontakt zu treten. Hexen begeben sich mit Hilfe der Flugsalben auf Astralreisen und Yogis vereinen sich mit Hilfe von Hanf mit dem Gott Shiva. Die Zauberpriester der Andenländer kauen soviel Coca, bis sie die Omen und Zeichen ihrer Umwelt deuten und verstehen können. All diese mystischen Fähigkeiten der Pflanzen werden durch pharmakologische Eigenschaften, also durch Pflanzenwirkstoffe, sogenannte

Phytochemikalien, unterstützt, gefördert oder direkt hervorgerufen (RÄTSCH, 1988, S. 9 ff). In unserer modernen Welt spielt der beschriebene Mystizismus keine bedeutende Rolle mehr. Nur in der Ethnobotanik oder Ethnopharmakologie beschäftigt man sich mit der naturwissenschaftlichen Grundlage dieser Erscheinungen. Tatsächlich werden heute große Anstrengungen unternommen, das bestehende Wissen verschiedenster Kulturvölker um heilwirksame Pflanzen zu sammeln und der westlichen Welt zugänglich zu machen (GOTTLIEB, 1982). In einem von der Weltbank veröffentlichten Artikel schrieben LAMBERT *et al.* (1997, S. 61), daß es sich bei dem Sammeln und Festhalten dieses ethnobotanischen Wissens um die Rettung eines Weltkulturerbes handle. Darüber hinaus ist diese Forschung durch den gegenwärtigen Zwang motiviert, neue Substanzen natürlichen Ursprungs zu finden, die in verschiedensten Anwendungen bereits ihre Wirksamkeit gezeigt haben (STROHL, 2000). Das ethnobotanische Wissen, gewachsen aus langen Traditionen, ist für die zukünftige Wirkstoffforschung von unschätzbarem Wert.

Viele höhere Pflanzen akkumulieren extrahierbare organische Substanzen in ausreichenden Mengen, die ökonomisch interessant sind, um als chemisches Ausgangsmaterial für verschiedene wissenschaftliche oder technologische Anwendungen dienen zu können. Naturstoffe werden entweder direkt oder indirekt in einer großen Anzahl von Industriezweigen eingesetzt und natürliche Pflanzenprodukte, die oben erwähnten Phytochemikalien, sind die verbreitetsten unter ihnen. Ökonomisch wichtige Pflanzen dienen der Industrie als Quellen für Öle, Tannine, Saponine, natürliches Gummi, Wachse, Pharmazeutika und viele weitere spezielle Produkte (BALANDRIN *et al.*, 1985). Insgesamt werden 119 aus Pflanzen gewonnene Substanzen in der westlichen Medizin verwendet. Unter den weltweit 25 meistverkauften pharmazeutischen Produkten sind 12 von Naturprodukten abgeleitet (BAKER *et al.*, 1995). Das bedeutet, daß die Hitrate unter Naturprodukten augenscheinlich sehr viel größer ist als bei Libraries, generiert aus Zufallssynthesen, in denen 10 000 Substanzen nötig sind, um nur einen neuen Wirkstoff zu entwickeln (YEVICH, 1991).

Natürliche Sekundärstoffe sind oft hoch komplexe Strukturen mit mehreren chiralen Zentren, die eine spezifische biologische Aktivität versprechen, aber wegen dieser Komplexität nur schwer oder gar nicht ökonomisch synthetisierbar sind (BALANDRIN *et al.*, 1985). Deshalb ist die Wichtigkeit des Screenings von bislang wenig beachteten Pflanzen auf potentiell medizinisch bedeutsame Substanzen weithin einsichtig. Dennoch sind in der Vergangenheit überraschend wenig Pflanzen untersucht worden, mit Ausnahme der Antitumorforschung, da hier relativ mehr unterstützende Fonds zur Verfügung stehen (AL-SHAMMA & MITSCHER, 1979). Es ist anzunehmen, daß nur 5 bis 15% der 250 000 bis 750 000 bekannten Arten der höheren Pflanzen auf biologisch aktive Substanzen untersucht worden sind. Dabei sind die Screeningmethoden oft so

angelegt, daß nur nach einer bestimmten biologischen Aktivität oder einer bestimmten Substanzgruppe gesucht wird (BALANDRIN *et al.*, 1985). Das beste Beispiel hierfür ist das intensive, aber sehr eng gefaßte Screeningprogramm des NATIONAL CANCER INSTITUTES (NIC) auf Antitumoraktivität höherer Pflanzen. Dort wurden in über 20 Jahren (1960 bis 1981) etwa 120 000 Extrakte von ungefähr 3 500 Spezies ausschließlich auf Cytotoxizität oder Antitumoraktivität getestet (SUFFNESS & DOUROS, 1982). Bei gegenwärtigen Schätzungen von etwa 250 000 verschiedenen Pflanzenarten (plus 30 Mio. Insekten, 1,5 Mio. Pilzen sowie etwa ebenso vielen Algen und weiteren Prokaryoten) eine sehr geringe Zahl (PIMM *et al.*, 1995).

Da viele Sekundärmetabolite genus- oder speziesspezifisch sind, stehen die Chancen gut bis exzellent, daß viele Pflanzeninhaltsstoffe mit potentiell nützlichen biologischen oder technologischen Eigenschaften bislang unentdeckt und damit ungenutzt sind (BALANDRIN *et al.*, 1985).

## 1.2. DIE FRAGESTELLUNG

Die vorliegende Arbeit soll die Frage beantworten, ob die Fauna der Salzwiesen der friesischen Nordsee, die sogenannte *Asteretea tripolii*, ein pharmazeutisches oder biotechnologisches Potential hat.

Bei LIEBEZEIT *et al.* (1999) wird bereits eine kleine Auswahl folkloristischen und traditionellen Wissens um die Nutzung der Salzwiesenpflanzen vorgestellt und es zeichnet sich somit ein erstes Indiz für eine positive Beantwortung der oben formulierten Frage ab. Dieses Indiz soll nun durch eine umfassende Untersuchung einer größeren Anzahl von Pflanzen untermauert werden. Hierfür wird zunächst in einem chemischen Screening untersucht, ob pharmakologisch interessante Stoffgruppen des pflanzlichen Sekundärmetabolismus nachweisbar sind. In einem anschließenden biologischen Screening werden dann Bereiche der möglichen biologischen Aktivität geprüft.

Botanische Grundlage für die Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit sind die Ergebnisse von BLINDOW (1987) und VON GLAHN *et al.* (1989). Die Arten die dort als typische und häufige Vertreter der höheren Pflanzen des *Asteretea tripolii* angeführt worden sind, werden in der vorliegenden Arbeit untersucht. Insgesamt sind es demnach 28 Spezies aus 15 Familien. Eine Liste der Pflanzen ist in Anhang I gegeben. Ein ausführliches Vorstellen erfolgt im Kapitel 2. Auf eine weitere Einteilung der Pflanzen nach der Herkunft innerhalb der Salzwiesen, d.h. der Zone (Queller-, Andel- und Rotschwingelzone; vgl. KÜNNEMANN & GAD, 1997) soll im weiteren verzichtet werden.

## 2. LITERATURÜBERSICHT

„In den Kräutern ist die Kraft der Welt.  
Derjenige, der ihre geheimen Fähigkeiten kennt,  
der ist allmächtig.“

*Indische Weisheit*

Die folgende Literaturübersicht gibt den aktuellen Kenntnisstand zum Thema Inhaltsstoffe und Nutzung der in der vorliegenden Arbeit behandelten Pflanzen wieder. Das Kapitel ist alphabetisch nach den Familien gegliedert. Dieser Umstand wird zur botanischen Beschreibung genutzt. Eine Übersicht der Pflanzen einschließlich Synonyme und der gängigen Trivialnamen ist auch im Anhang I zu finden.

### 2.1. APIACEAE (= UMBELLIFERAE), DOLDENGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Asteridae, Ordnung Araliales

Es handelt sich bei den Vertretern dieser Familie um fast immer krautige, hauptsächlich in gemäßigten Breiten beheimatete Pflanzen. Sie sind mit etwa 100 Arten in unserer Flora vertreten. Die Blätter sind wechselständig und meist mehrfach gefiedert mit auffällig vergrößerten Blattscheiden. Die Blüten mit der Blütenformel  $* K_5 C_5 A_5 G_{(\bar{2})}$  stehen in der Regel in Doppeldolden mit Tragblättern, die als „Hüllen“ bzw. „Hüllchen“ bezeichnet werden. Dem aus 2 Karpellen gebildeten Fruchtknoten sitzt ein Griffelpolster als Nektarium auf. Der Fruchtbau ist bezeichnend und gestattet eine weitere Unterteilung der Familie. In den 5 Rippen verlaufen die Leitbündel, in den dazwischenliegenden 4 Außenriefen und den beiden Seiten der Fugenflächen die 6 schizogenen Exkretgänge, deren Zahl, z.B. bei der Anisfrucht, stark erhöht sein kann. In der Mitte der Fugenfläche zwischen beiden Karpellen findet man in Fortsetzung der Achse einen Sklerenchymfaserstrang. Er ist nach oben hin gespalten und trägt als sogenannter Karpophor die beiden reifen Teilfrüchte, bei denen Perikarp und Samenschale verwachsen sind. Das mächtige Endosperm enthält einen sehr kleinen Embryo und ist reich an fettem Öl und Aleuronkörnern mit je einer kleinen Calciumoxalatdruse im Inneren, Stärke fehlt. Als Reservekohlenhydrat wird den Zellwänden des Endosperms Mannan angelagert (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 271 ff.)

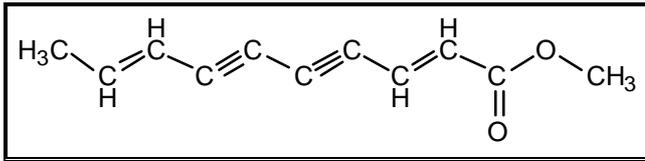


Abbildung 1: Matricariaester, ein typisches Polyacetylen der Asteraceae

Typisch für die Gattung ist das Vorkommen von Polyacetylenen im etherischen Öl der Pflanzen. Besonders oft findet man Matricariaester (Abbildung 1) (HOLME & SØRENSEN, 1954).

### *Apium graveolens* L., Echter Sellerie

Von *A. graveolens* L. wird angenommen, daß Polyacetylene enthalten sind (BOHLMANN, 1961), wie für diese Familie nicht anders zu erwarten. Desweiteren waren in den Blättern Flavonoide, aber keine anderen phenolischen Inhaltsstoffe nachweisbar (CROWDEN, 1969). Eine umfangreiche Dokumentation der Samenöle ist bei KARRER *et al.* (1976, 1977, 1981, 1985) zu finden. Dort wird auch unter anderem von der Isolierung von Ferulasäure (Abbildung 56), Chrysoeriol (I Abbildung 2), *p*-Cumarsäure (II Abbildung 2), Herniarin (III Abbildung 2, Aesculetin (IV Abbildung 2) und Scopoletin (Abbildung 57) berichtet. In den ethnobotanischen Studien von DUKE (1975) wird die Pflanze als Antitumormittel diskutiert. Als Phytoalexin bildet die Pflanze Furanocumarine nach einer Infektion mit *Sclerotinia sclerotiorum* (FROHNE & PFÄNDER, 1981).

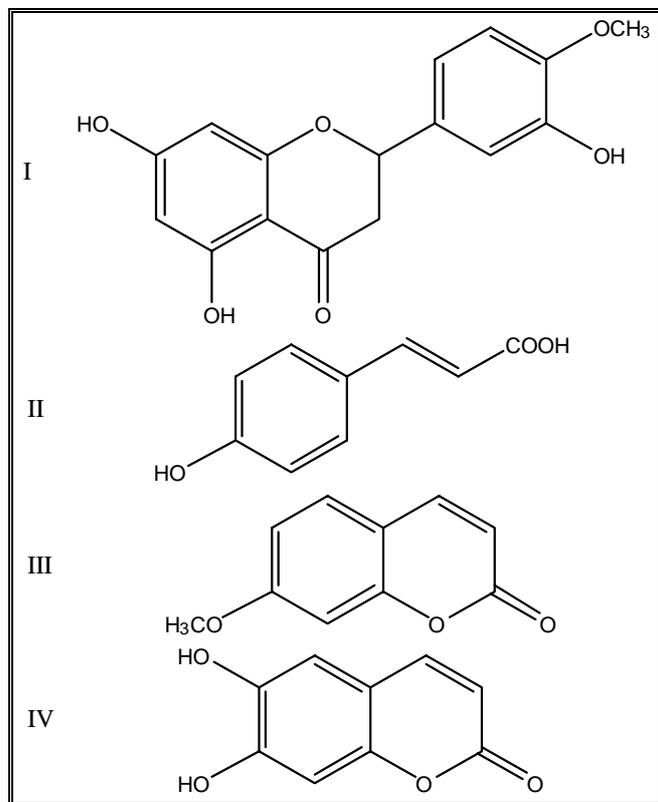


Abbildung 2: Beispiele für von *Apium graveolens* L. gebildete Substanzen

### *Oenanthe lachenalii* C. C. GMEL., Wiesen-Wasserfenchel

Zu *O. lachenalii* C. C. GMEL. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe oder Verwendung der Pflanze dokumentieren.

## 2.2. ASTERACEAE (= COMPOSITAE), KORBBLÜTLER, KÖPFCHENBLÜTLER

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Asteridae, Ordnung Asterales.

Die Korbblütler bilden eine weltweit in verschiedensten Habitaten verbreitete, sehr artenreiche Familie. Sie zeigen bemerkenswerte ökologische Plastizität. Sowohl Wasserpflanzen und Sukkulente, als auch kleine, höchstens 1 cm hohe einjährige Kräuter und bis zu 20 m hohe tropische Schopfbäume kommen vor. Die morphologisch relativ hoch entwickelte Familie ist „erst“ aus dem mittleren bis oberen Oligozän belegt und damit ca. 30 Mio. Jahre alt (oder älter). Manche holzigen Vertreter werden als ursprünglich angesehen, während sich auch krautige Sippen sekundär wieder zu holzigen umwandeln konnten.

Morphologisch ist ein Bündel von abgeleiteten Merkmalen für die Familie charakteristisch; unterständiger, 2-blättriger, einfächriger Fruchtknoten mit nur einer tenuinucellaten und unitegmischen Samenanlage; Nußfrüchte, deren Perikarp der Samenschale eng anliegt (sog. Achänen), endospermlose (eiweiß- und ölreiche) Samen, reduzierter Kelch (meist Pappus) und Pseudanthien. Die Zusammenfassung der Einzelblüten zu den auffälligen „Scheinblüten“ führte zu einer verbesserten Befruchtungsrate. Andererseits bietet das Compositenkörbchen nach der Blüte durch hohe Fruchtichte und einen zum Teil massig ausgebildeten Blütenstandsboden erhöhte Attraktivität für die Larvenstadien verschiedener Insekten.

Chemisch sind die Asteraceae vor allem durch die Akkumulation von Polyacetylenen, einem reichen Spektrum an Sesquiterpenlactonen und Diterpenen sowie durch die Bildung von Fructanen anstelle von Stärke charakterisiert. Demgegenüber wurden u.a. iridoide Verbindungen und echte Gerbstoffe in der Familie bisher nicht beobachtet (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 277 ff.).

### *Artemisia maritima* L., Strand-Beifuß

Die Gattung *Artemisia* ist seit jeher als Heil-, ja sogar als Kultpflanze im Gebrauch. Namensgebend ist vermutlich Arteme (Diana), die Göttin der Jagd, des Wachstums der Pflanzen und der Fruchtbarkeit. Die *Artemisia*-Arten sind in den unterschiedlichsten Kulturen dem weiblichen Prinzip zugeordnet, was nicht zuletzt am förderlichen Einfluß auf die Monatsblutung liegt (BRØNDEGAARD, 1972).

Neben ihrer Bedeutung als Heilpflanzen sind verschiedene *Artemisia*-Arten bis in die Gegenwart Bestandteil mystischer Rituale der nordamerikanischen Ureinwohner (ARNASON *et al.*, 1981; HART, 1981; KELLEY *et al.*, 1992), werden in Mittelamerika (MARTINEZ ALFARO, 1984; TROTTER, 1981) und Südamerika (ALDUNATE *et al.*, 1983; BASTIEN 1982) von Kräuterkundigen eingesetzt und sind fester Bestandteil der afrikanischen Volksmedizin (WATT, 1967). Auf der arabischen Halbinsel (AL-YAHYA *et*

*al.*, 1983) und im vorderen Orient (ZIRVI *et al.*, 1978) sind sie zum Teil noch heute wertvoller Bestandteil der Medizin. *Artemisia*-Arten gehören zum Heilkräuterschatz der Chinesen im Altertum (XIAO, 1981) und heute (XIAO, 1983). Auf Java schätzt man ihre antibiotische Aktivität (COLLIER & VAN DER PIJL, 1950) und sie waren den Ureinwohnern der japanischen Inseln (MITSUHASHI, 1976) und auf Hawaii (NAGATA, 1971) als Heilpflanzen bekannt.

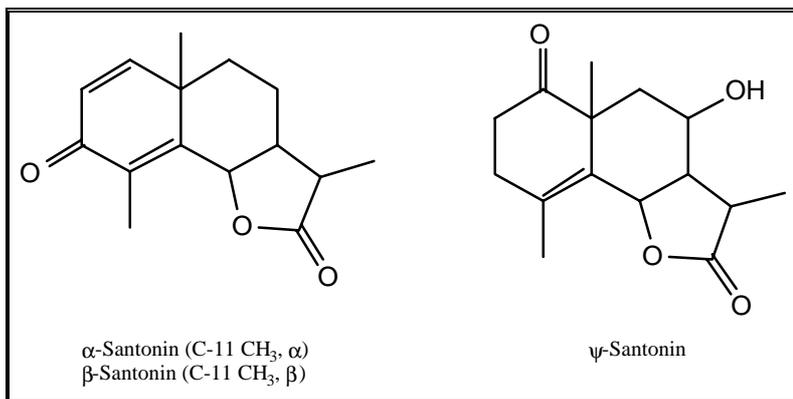


Abbildung 3: Die Santonine aus *Artemisia maritima* L.

Bei LIEBEZEIT *et al.* (1999) wird vom historischen Gebrauch von *A. maritima* L. als Anti-helminthicum berichtet, ebenso wie vom Einsatz der getrockneten Pflanze gegen Motten, Läuse und Flöhe. Die Wirkung auf

Endoparasiten ist auch in neuerer Zeit immer noch Gegenstand von Untersuchungen (IDRIS *et al.*, 1982) ebenso wie die insektizide Wirkung (SHERIF *et al.*, 1987). Auch vom Einsatz als Antitumormittel wird sowohl von *A. maritima* L. als auch von anderen Spezies des Genus *Artemisia* berichtet (HARTWELL, 1968).

Typische Inhaltsstoffe sind nach GEISSMAN & IRWIN (1970)  $\alpha$ -Santonin,  $\beta$ -Santonin,  $\psi$ -Santonin (Abbildung 3) und Artemisin (Abbildung 6). Insbesondere zur Gewinnung des

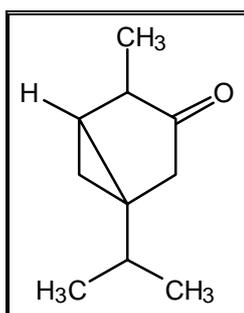


Abbildung 4: Das Monoterpen Thujon

Santonins wurde *A. maritima* L. in Mitteldeutschland angebaut (BORSUTZKI, 1955). Bereits 1832 von KAHLER und ALMS entdeckt, stellte Santonin auch in den fünfziger Jahren eines der wichtigsten Askaridenmittel dar (STEINEGGER & HAHN, 1953). Santonin ist giftig. Die Vergiftungserscheinungen äußern sich vor allem in einer Erkrankung der Sehnerven, wobei Violett-, später Gelbsehen auftritt. Bei der üblichen Dosis von 0,04 – 0,1 g als Wurmmittel kann es zu Krämpfen und Bewußtlosigkeit kommen, wobei in einem schweren Kollaps schließlich der Tod eintreten kann (ROTH *et al.*, 1994, S. 918).

Ein weiterer typischer Inhaltsstoff für *Artemisia*-Arten ist das zuerst aus *Thuja*-Arten (Lebensbaum) isolierte Thujon (auch Tanacetone, Absynthone, Thujol oder Salvon genannt) (Abbildung 4). Dieses Monoterpen gilt als starkes Nervengift (ROTH *et al.*, 1994, S. 941). So verwundert es nicht, daß *Artemisia*-Arten auch als Pfeilgiftzusatz Verwendung finden (BISSET, 1976). Als potentielles Halluzinogen ist Thujon sicherlich

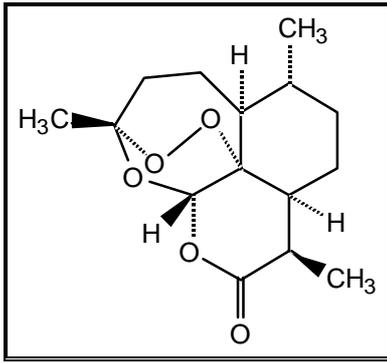


Abbildung 5: Qinghaosu

wurde von XU *et al.* (1986) durchgeführt. Der im Chinesischen Qinghaosu genannte Stoff wird im Westen Artemisinin genannt, fällt durch seine Peroxidbrücke auf und ist nicht mit Artemisin (Abbildung 6) zu verwechseln. In *A. maritima* L. ist Qinghaosu nicht nachweisbar (RÜCKER *et al.*, 1986).

Auf der Suche nach peroxidhaltigen Pflanzeninhaltsstoffen wurde man bei *A. maritima* L.

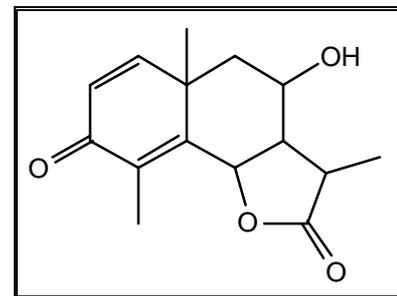


Abbildung 6: Artemisin

in Form des Sesquiterpenhydroperoxids Arteinculton (I Abbildung 7) und eines cyclischen fünfgliedrigen Sesquiterpen-Peroxyhalbketals (II Abbildung 7) fündig (RÜCKER *et al.*, 1987). Die für Asteraceae typische Vielfalt an Sesquiterpenlactonen der *Artemisia*-Arten (RODRIGUEZ *et al.*, 1976) ist vermutlich auch der Grund für den häufigen Einsatz als entzündungshemmende und antirheumatisch wirkende

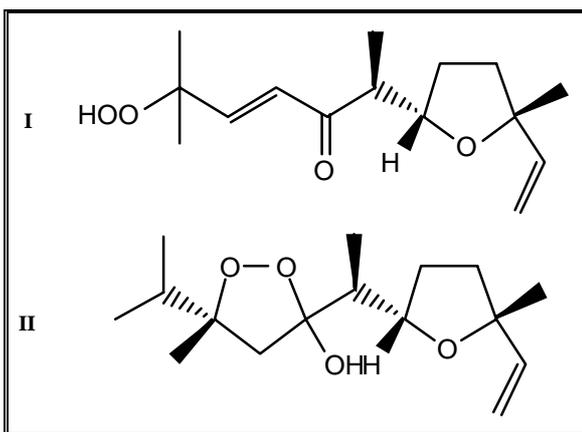
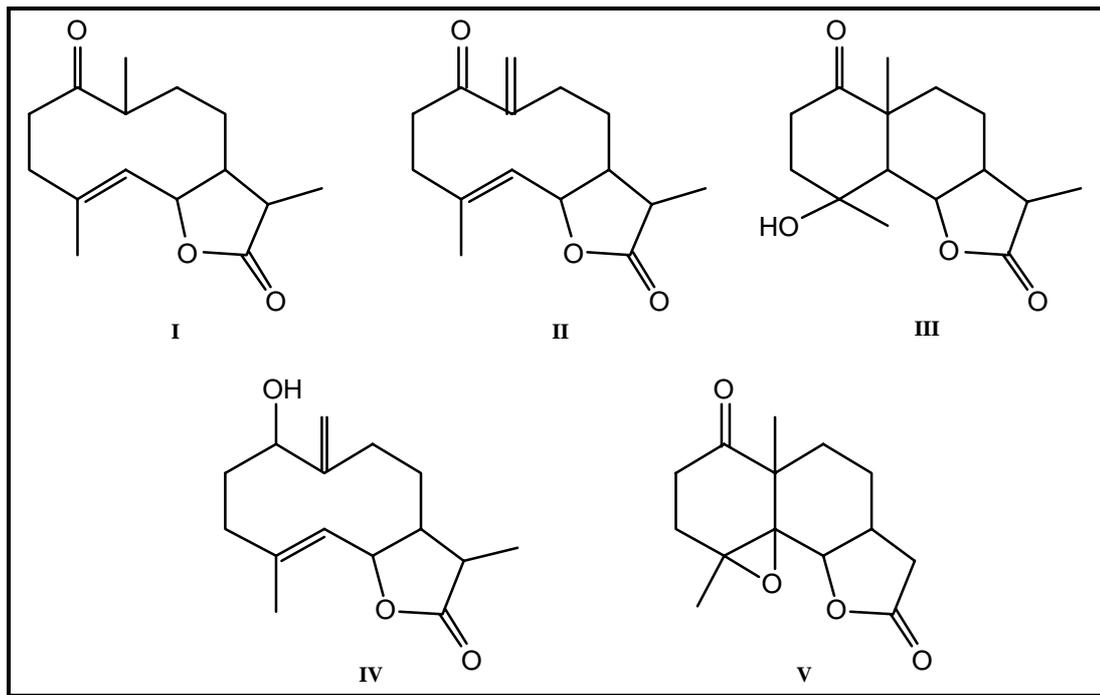


Abbildung 7: Zwei peroxidhaltige Inhaltsstoffe aus *Artemisia maritima* L.

Heilpflanzen (CAPPELLETTI *et al.*, 1982) in verschiedenen Kulturen, was auch heute noch Gegenstand phytochemischer (LEE & GEISSMAN, 1970) und pharmakologischer Untersuchungen ist (ROBLES *et al.*, 1995; BORK *et al.*, 1997). Neben den erwähnten Sesquiterpenlactonen Artemisin und Santonin wurden aus *A. maritima* L. Methylgermacrenolid (I Abbildung 8), Germacradienolid (II Abbildung 8), Vulgarin (III Abbildung 8), und Gallicin (IV Abbildung 8) isoliert (PATHAK & KHANNA, 1987). Weiter ist das Sesquiterpenlacton Maritim (V Abbildung 8) isoliert worden (GONZALES *et al.*, 1981).

mit für den Ruf der *Artemisia*-Arten als Kulptflanzen verantwortlich (ALBERT-PUELO, 1978). Besondere Bedeutung kommt unter den *Artemisia*-Arten heute *A. annua* L. zu (LI *et al.*, 1982). Diese, in der traditionellen chinesischen Medizin seit altersher bekannte Pflanze enthält ein Sesquiterpenlacton (Abbildung 5), das in der Malariatherapie große Hoffnung weckt (WOERDENBAG *et al.*, 1990). Die Totalsynthese

Heilpflanzen (CAPPELLETTI *et al.*, 1982) in verschiedenen Kulturen, was auch heute noch Gegenstand phytochemischer (LEE & GEISSMAN, 1970) und pharmakologischer Untersuchungen ist (ROBLES *et al.*, 1995; BORK *et al.*, 1997). Neben den erwähnten Sesquiterpenlactonen Artemisin und Santonin wurden aus *A. maritima* L. Methylgermacrenolid (I Abbildung 8), Germacradienolid (II Abbildung 8), Vulgarin

Abbildung 8: Typische Sesquiterpenlactone von *Artemisia maritima* L.

Im Tierversuch wurde gezeigt, daß der methanolische Extrakt von *Artemisia*-Arten vor Acetaminophen- (Paracetamol) und  $\text{CCl}_4$ -induzierten Leberschäden schützt (GILANI & JANBAZ, 1993) und unter Umständen auch kurativ wirkt (GILANI & JANBAZ, 1995).

#### *Aster tripolium* L., Salz-Aster

Die einzige dokumentierte Nutzung von *A. tripolium* L. ist die als Gemüse (LIEBEZEIT *et al.*, 1999). Es ist aber bekannt, daß andere *Aster*-Spezies auch als Heilpflanzen eingesetzt werden (CHANDLER & HOOPER, 1982), so z.B. verwenden die Iroquois *A. simplex* WILLD. und *A. novae-anglae* L. gegen Fieber sowie den Dekokt von *A. nemoralis* AIT. als Ohrentropfen (ARNASON *et al.*, 1981). Ebenfalls als „Ohrmedizin“ wird *A. foliaceus* LINDL. von den Cheyenne in Montana verwendet (HART, 1981). Weiter werden *A. novi-belgii* L., *A. acuminatus* MICHX. und *A. umbellatus* MILL. von den kanadischen Micmac- und Maleciteindianern als Heilpflanzen eingesetzt (HOOPER & CHANDLER, 1984).

Die von kanadischen Indianern als Heilkraut geschätzte *A. novi-belgii* enthält Polyphenole (CHANDLER & HOOPER, 1979), genauso wie *A. umbellatus* MILL. (HOOPER & CHANDLER, 1981) und die argentinische Art *A. squamatus* (SPRENG.) HIERON. (HNATYSZYN, 1976). Bei Untersuchungen zur Verbreitung der Blausäure unter den Asteraceae wurden mehr als 20 *Aster*-Arten auf Cyanogenese geprüft, aber nur bei *A. ptarmicoides* wurden cyanogene Glycoside gefunden (FIKENSCHER *et al.*, 1980). Alkaloide wurden bei keiner untersuchten *Aster*-Art gefunden (HAMON & HINDMARSH, 1978).

*Leontodon autumnalis* L., Herbst-Löwenzahn

Als bekanntes Heilkraut der Indianer in Nordamerika wurde *L. autumnalis* L. untersucht, wobei man quarternäre Alkaloide nachgewiesen hat (CHANDLER & HOOPER, 1979). Als einzige Sesquiterpenlactone sind 8-Deoxylactucin und Jacquilenin bekannt (PYREK, 1985).

2.3. BRASSICACEAE (= CRUCIFERAE), KREUZBLÜTLER

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Rosidae, Ordnung Capparales.

Die Kreuzblütler stehen mit 3000 Arten (von denen mehr als 100 in Mitteleuropa wild vorkommen) im Mittelpunkt der Ordnung Capparales. Ihr Verbreitungsschwerpunkt liegt auf „offenen“ Böden, wo die z.T. autogamen, einjährigen Arten (Therophyten) als Ruderalpflanzen oder Ackerunkräuter optimale Bedingungen finden. Trotz der hohen Zahl an Arten und Gattungen sind die Brassicaceae von erstaunlich einheitlichem Bau. Die Blätter stehen wechselständig und haben keine Nebenblätter. Die Blüten lassen sich durch die Blütenformel  $K_4 C_4 A_2: 0 + 4 G (\underline{2})$  kennzeichnen. Neben den 2 kurzen und 4 langen Staubblättern fallen die charakteristischen Früchte auf, die als Schoten bzw. Schötchen oder einsamige Nüßchen entwickelt sind. Eine Reihe von Arten sind als Nutzpflanzen von Bedeutung (*Raphanus sativus* L. = Rettich, *Armoracia rusticana* GAERT. = Meerrettich, *Brassica nigra* (L.) KOCH = schwarzer Senf und *Sinapis alba* L. = weißer Senf). In manchen Fällen stellen die bei den meisten Brassicaceae nachgewiesenen Senfölglycoside erwünschte Inhaltsstoffe dar, die den scharfen Geschmack bedingen (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 207 ff.).

*Cochlearia anglica* L., Englisches Löffelkraut

Zunächst kommt *C. anglica* L. eine ökologische Bedeutung zu, da das Englische Löffelkraut zu den Pflanzen zählt, die mit ihrem Wurzelwerk in der Salzwiese den Boden stabilisieren. Sie verhindern damit eine zu große Erosion des Bodens bei der regelmäßigen Überschwemmung durch die Flut (ROZEMA *et al.*, 1986).

*Cochlearia* sp. fand in Europa in der Zahnheilkunde Verwendung (HARMS, 1956). Darüber hinaus ist der hohe Gehalt an Vitamin C aller *Cochlearia*-Spezies bekannt (TURNER, 1981), was diesen Pflanzen im englischen den Namen scurvygrass eintrug. Diese antiskorbutive Eigenschaft ist auch die einzige dokumentierte Verwendung von *C. anglica* L. im norddeutschen Raum (LIEBEZEIT *et al.*, 1999).

2.4. CARYOPHYLLACEAE, NELKENGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Caryophyllidae, Ordnung Caryophyllales (vgl. 2.5. Chenopodiaceae).

Die Nelkengewächse sind über die ganze Erde verbreitete Pflanzen mit gegenständigen Blättern und häufig dichasialen Blütenständen. Die drei Unterfamilien lassen sich leicht voneinander unterscheiden. Die Bruchkrautartigen (Paronychoideae) sind durch das Vorkommen von Nebenblättern charakterisiert, die Mierenartigen (Alsinoideae) durch freie Kelchblätter. Die Nelkenartigen (Silenoideae) schließlich erkennt man an den nur hier (meist zu einer Röhre) verwachsenen Kelchblättern.

Für die Caryophyllaceae sind Mono- und Di-C-Glycosylflavone und davon abgeleitete O-Glycoside charakteristisch. Daneben kommen auch Flavonole und Flavone vor. In den unterirdischen Organen der Silenoideae wird statt Stärke ein als „Lactosin“ bezeichnetes Saccharidgemisch, das überwiegend aus kurzkettigen Galactanen besteht, gespeichert. In ihrer Saponinführung scheint es im Unterschied zu den anderen Unterfamilien kaum eine Ausnahme zu geben.

Vertreter der Familie sind vor allem wegen ihrer Saponine als Arznei- und Giftpflanzen von Interesse: *Gypsophila*-Arten liefern das Saponium album (Saponin-Standard) des Handels, *Saponaria officinalis* enthält etwa 5 % Saponin. *Hernaria*, das Bruchkraut, mit unscheinbaren Blüten (Krone fehlt), ist eine als Diureticum gebräuchliche Droge, die außer Saponinen Flavonoide und die Cumarine Umbelliferon und dessen Methylether Herniarin (II Abbildung 2) enthält (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 138 ff.).

#### *Spergularia media* L., Flügelsärmiger Spärkling

Zu *S. media* L. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe oder Verwendung der Pflanze dokumentieren. Von der Gattung *Spergularia* ist bekannt, daß sie im Ökosystem Salzwiese von besonderer Bedeutung sind (ROZEMA *et al.*, 1986), da sie mit ihrem Wurzelsystem dem Boden Halt geben.

#### 2.5. CHENOPODIACEAE, GÄNSEFUßGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Caryophyllidae, Ordnung Caryophyllales (vgl. 2.4. Caryophyllaceae).

Unter den Chenopodiaceae finden sich viele Ruderalpflanzen mit auffälliger Nitratakkumulation. Zum Abfangen des damit in Zusammenhang stehenden Kationenüberschusses dient Oxalsäure, die in z.T. toxischen Mengen nachweisbar ist. Andere Vertreter dieser Familie sind ausgesprochen salzliebende Pflanzen. Die meisten dieser Halophyten besiedeln Spülsäume oder Wattränder des Meeres, wo vermodernde Tang- und Kleintierreste eine lebhafte Nitrifikation erzeugen.

Als Gemüsepflanzen werden trotz des hohen Oxalsäuregehalts der Spinat (*Spinacia oleracea* L.) und die verschiedenen Kulturformen der Runkelrübe (*Beta vulgaris* L.) geschätzt (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 140 ff.).

*Halimione portulacoides* (L.) ALLEN, Portulak Salzmelde

Zu *H. portulacoides* L. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe oder Verwendung der Pflanze dokumentieren.

*Salicornia europaea* L., Gemeiner Queller

Die schwierig zu unterscheidenden Unterarten des Quellers werden oft vereinfacht als *S. herbacea* (L.) L. oder *S. europaea* L. zusammengefaßt, was umstritten ist (VON GLAHN *et al.*, 1989), hier aber der Einfachheit wegen beibehalten werden soll. Es handelt sich hierbei um eine formenreiche Sammelart (SCHMEIL & FITSCHEN, 1988, S. 342) die im Folgenden als *S. europaea* L. angesprochen wird. Die Spezies *S. europaea* L. kommt nahezu weltweit vor. Aus Pflanzenmaterial, das aus der östlichen Region von Hokkaido, Japan, stammt, wurden in einer Serie von Studien verschiedene Inhaltsstoffe isoliert (ARAKAWA *et al.* 1982), unter anderem zwei Isoflavone (I und II Abbildung 9) und ein Flavanon (III Abbildung 9).

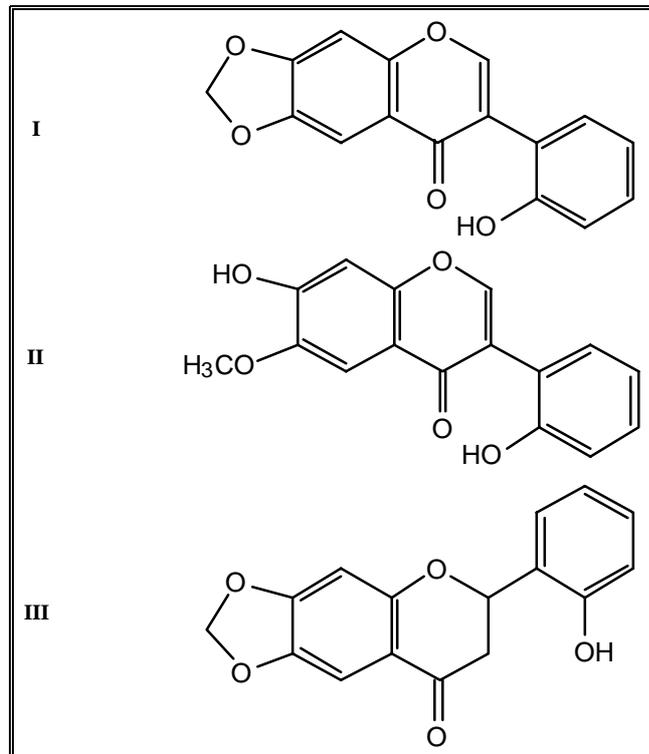


Abbildung 9: Zwei Isoflavone (I und II) und ein Flavanon (III) von *Salicornia europaea* L.

Ein weiteres Flavonoid wurde aus Proben, die aus Frankreich stammen, isoliert (GESLIN & VERBIST, 1985). Hierbei handelte es sich um ein glycosidisch an Zucker gebundenes Quercetol (Abbildung 10).

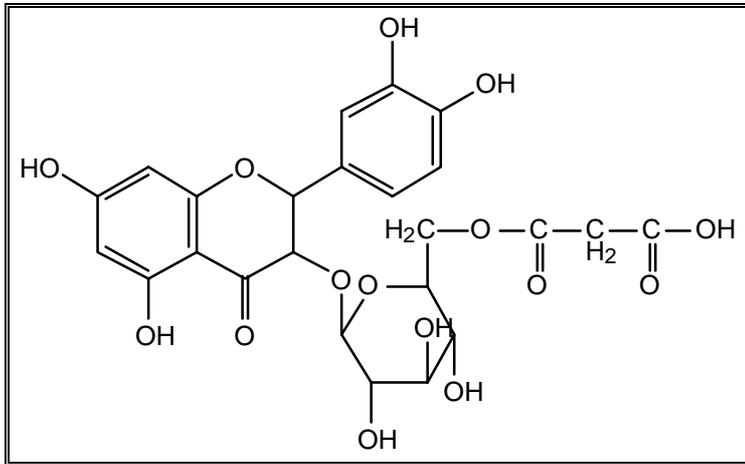


Abbildung 10: Quercetol aus *Salicornia europaea* L.

In Japan wiederum wurde die Struktur des roten Farbstoffes aufgeklärt, der für die typische Verfärbung der Pflanzen im Herbst verantwortlich ist und ihr auch den Namen Roter Queller eintrug (CHUJI, 1976). Es handelt sich bei dem *Salicornia*-Pigment um ein Betalain (auch

Betacyanin oder nitrogens Anthocyanin) (Abbildung 11), wie es schon zuvor aus *Beta vulgaris* L. (daher der Name) isoliert und für *Salicornia*-Spezies angenommen wurde (MARBY *et al.*, 1963). Von der gleichen Arbeitsgruppe wurden noch zwei Chromone (Abbildung 12) aus *S. europaea* L. isoliert (CHUJI *et al.*, 1978).

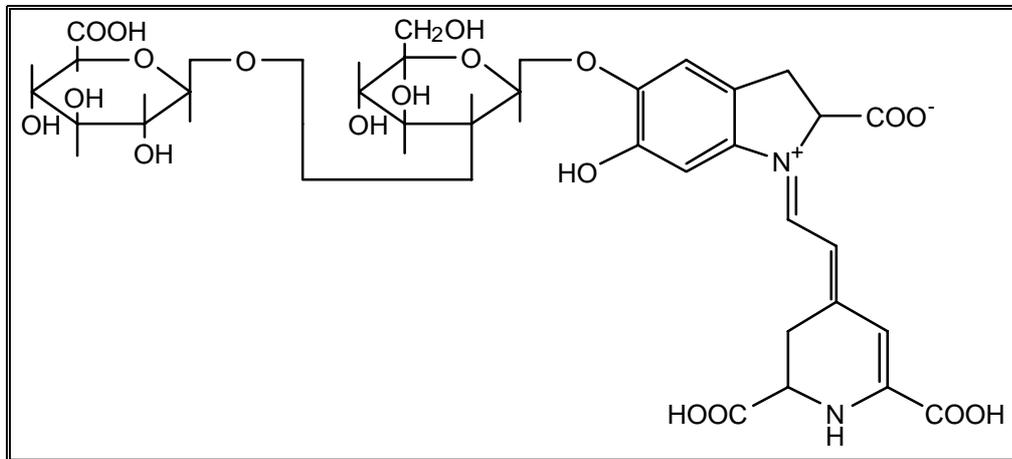
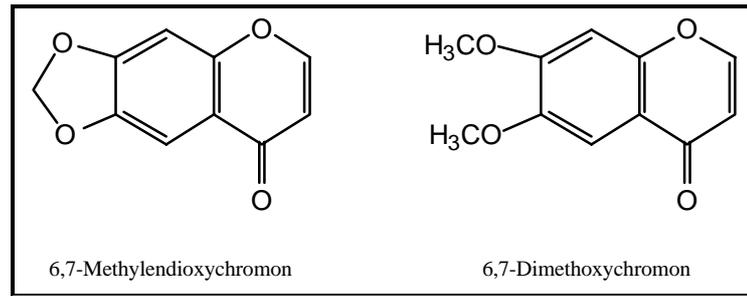


Abbildung 11: Das *Salicornia*-Pigment

In Polen wurden vier Alkaloide isoliert (BORKOWSKI & DROST, 1965) unter anderem Saliherbin ( $[C_5H_{12}N_2O]^+Cl^-$ ) und Salicornin ( $[C_9H_{22}N_5O_4]^+Cl^-$ ). Dagegen konnten bei Untersuchungen von *Salicornia*-Spezies aus Schweden keine (HULTIN & TORSSELL, 1965) und bei Proben aus Ägypten nur sehr geringe Mengen an Alkaloiden nachgewiesen werden (SANDBERG *et al.*, 1967).

Abbildung 12: Zwei Chromone aus *Salicornia europaea* L.

Keine Alkaloide waren bei kubanischen Spezies nachweisbar (FRÍAS *et al.*, 1972). Eine Arbeitsgruppe aus Frankreich berichtete wiederum von dem erfolgreichen qualitativen Nachweis eines Alkaloids (SUSPLUGAS *et al.*, 1970).

Von den Coast Salish Indianern auf Vancouver Island wird erzählt, das sie *Salicornia*-Spezies essen und der salzige Geschmack sehr angenehm sei (CHAPMAN TURNER & BELL, 1971). Diese Idee wurde von GLENN *et al.* (1991) trotz des Saponingehalts der Samen wieder aufgegriffen. Da *Salicornia*-Spezies einen hohen Öl und Proteingehalt haben (WEETE *et al.*, 1970), könnte es sich lohnen, diese Pflanzen gezielt anzubauen. Dies ist besonders interessant, wenn es sich um aride Gegenden mit Meeresküste handelt, da hier preiswert mit Salzwasser bewässert werden kann (GLENN *et al.*, 1998). Dieses Konzept wird gegenwärtig in den Seawater Farms Eritrea umgesetzt (Informationsmaterial Eritrean Pavilion, Expo 2000-Hannover)

Aus New England ist die Behandlung mit *S. europaea* L. bei Wassersucht bekannt ebenso wie die auf den Sodagehalt der Pflanze zurückzuführende Verwendung bei der Glas- und Seifenproduktion (HUSSEY, 1974). Von den beiden letzteren Anwendungen der Pflanze wird ebenfalls aus dem norddeutschen Raum berichtet (LIEBEZEIT *et al.*, 1999). Auf ihr beruht auch der englische Name glasswort. Bei HARTWELL (1968) wird von *S. europaea* L. der Einsatz als Mittel gegen Krebs erwähnt.

#### *Suaeda maritima* (L.) DUM., Strand-Sode

Untersuchungen in Schweden zeigten, daß *S. maritima* (L.) DUM. keine Alkaloide enthält (HULTIN & TORSSELL, 1965). Dieses Ergebnis wird durch indische Untersuchungen bestätigt, die Proben aus Chandipur untersuchten und weder Tannine, Saponine, Flavonoide noch Alkaloide nachweisen konnten (SAXENA, 1975). Dagegen sind für *S. monoica* aus Saudi Arabien Alkaloide, Cumarine und Tannine nachgewiesen worden (AL-MESHAL *et al.*, 1982). In der gleichen Studie wurde auch eine starke antimikrobiologische Aktivität gegen verschiedene Mikroorganismen festgestellt. Die irakische Spezies *S. vermiculata* enthält ebenfalls Alkaloide, zeigte aber überhaupt keine antimikrobielle Aktivität (AL-SHAMMA & MITSCHER, 1979). *S. pruinosa*, ebenfalls aus

Saudi Arabien wie *S. monoica*, enthält auch Alkaloide (MOSSA *et al.*, 1983a) genauso wie *S. fruticosa* aus Ägypten (SANDBERG *et al.*, 1967).

Ebenso wie *Salicornia*-Spezies (vgl. S. 27) enthalten auch *Suaeda*-Spezies ein Pigment aus der Stoffgruppe der Betalaine, das Suaedin genannt wurde (PIATTELLI & IMPERATO, 1971). Daneben enthält *S. maritima* (L.) DUM. verschiedene Lipide, Sterole und Triterpene, nicht aber Urolsäure (GHOSH *et al.*, 1985), die das häufigste Saponinaglycon darstellt (vgl. 3.2.5.1).

Ebenso wie für *Salicornia europaea* L. (vgl. S. 28) wird auch für *S. maritima* (L.) DUM. ein ökonomisch sinnvoller Anbau als Nahrungsquelle in trockenen Gegenden mit Meerwasseranbindung diskutiert (GLENN *et al.*, 1998).

## 2.6. CYPERACEAE, SAUERGRÄSER, RIEDGRÄSER

Familie aus der Klasse der Liliopsida (= Monocotyledoneae), Unterklasse Commelinidae, Ordnung Cyperales (vgl. 2.9. Juncaceae)

Die Cyperaceae dürften wahrscheinlich auf juncaceenartige Wurzeln zurückgehen, was sich durch außergewöhnliche Synapomorphien im karyologischen Bereich (z.B. diffuse Centromeren) dokumentiert. Der Stengel ist oft scharf-dreikantig und markhaltig. Die Blätter sind dreizeilig angeordnet mit fast immer geschlossener Scheide. Es kommen sowohl zwittrige als auch eingeschlechtige Blüten in reichblütigen Blütenständen vor (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 325 ff.).

### Carex distans L., Entferntährige Sumpf-Segge und Carex extensa GOOD., Strand-Segge

Eine der herausragenden Verwendungsmöglichkeiten der meisten Seggen ist die als Flechtwerk, z.B. sind die fasrigen Blätter einiger Arten zweifelsfrei von den Island Salish Indianern zum Flechten von Körben und zur Herstellung von Zwirn verwendet worden (CHAPMAN TURNER & BELL, 1971). Darüberhinaus haben Seggen bei den Cheyenne rituellen Charakter und werden in verschiedenen Zeremonien verwendet (HART, 1981).

Bei den Spezies *C. acuta* L., *C. echinata* MURR. (*C. stellulata* GOOD.) und *C. nigra* (L) REICH. (*C. goodenowii* GAY.) aus Schweden wurden keine Alkaloide nachgewiesen (HULTIN & TORSSELL, 1965). Gleiches gilt für *C. lacustris* WILLD. aus Minnesota (SU *et al.*, 1973b). In der selben Studie wurde auch festgestellt, daß *C. lacustris* WILLD. weder Flavonoide noch Saponine enthält, wohl aber Tannine. Die spanische Spezies *C. pendula* HUDSON dagegen enthält Alkaloide (VILADOMAT *et al.*, 1984).

Auf biologische Aktivitäten wurde nur *C. lacustris* WILLD. untersucht. Von dieser Spezies ist eine geringe antimikrobielle Aktivität bekannt (SU *et al.*, 1973a). Eine antineoplastische Aktivität konnte nicht festgestellt werden (SU & STABA, 1973).

## 2.7. FABACEAE (= PAPILIONACEAE), SCHMETTERLINGSBLÜTENGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Rosidae, Ordnung Fabales (= Leguminosae)

Die Blüte der Fabaceae ist ausgesprochen zygomorph und zeigt einen oft zweilippigen Kelch sowie eine aus „Fahne“, zwei „Flügeln“ und einem aus zwei weiteren Kronblättern verwachsenen „Schiffchen“ gebildete schmetterlingsartige Krone. Die Knospendeckung der Krone ist absteigend, d.h. das innerste Kronblatt befindet sich – in Normallage – unten. Das Androeceum besteht aus zehn Staubblättern, die bei einheimischen Arten (oft auch nur alle außer einem) mit ihren Filamenten weit hinauf zu einer den Fruchtknoten umschließenden Röhre verwachsen sind.

Alkaloide sind bei den Fabaceae häufig anzutreffen, ebenso sind Triterpensaponine weit verbreitet. Unter den flavonoiden Verbindungen sind besonders die Isoflavone von Interesse. Diese Verbindungen mit oestrogener Wirkung haben nur bei den Fabaceae eine weite Verbreitung in einer Fülle von strukturell ähnlichen Substanzen gefunden (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 177 ff.).

### *Ononis spinosa* L., Dornige Hauhechel

Zu *O. spinosa* L. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe dokumentieren. Die einzige bekannte Arbeit zum Genus *Ononis* ist die von MOSSA *et al.* (1983b). Dort wurde *O. serrata* aus Saudi Arabien untersucht, mit dem Ergebnis, daß Alkaloide, Flavonoide und Tannine qualitativ nachgewiesen wurden, aber keine Cumarine und Saponine. An biologischen Aktivitäten wurde unter anderem die Fähigkeit zur signifikanten Verringerung des Blutdrucks festgestellt.

Bei HARTWELL (1970a) wird *O. spinosa* L. als Kraut gegen cancerogene Geschwüre erwähnt.

### *Trifolium fragiferum* L., Erdbeer-Klee und *Trifolium repens* L., Weiß-Klee

Medizinisch wird Klee generell als krampflösendes Hustenmittel geschätzt sowie in Form von Salben gegen Geschwüre verwendet (HUSSEY, 1974). Die Algonquin Indianer trinken den Tee von *T. pratense* L. gegen Husten und die Iroquois verwenden *T. repens* L. bei Asthma (ARNASON *et al.*, 1981). Von anderen Indianerstämmen ist nur der Gebrauch als Nahrungsmittel bekannt (CHAPMAN TURNER & BELL, 1973), der teilweise sogar soweit geht, daß man von einer Art Anbau spricht (TURNER & KUHNLEIN, 1982). Die Heilwirkung von *Trifolium*-Arten ist auch bei den Qollahuaya in den bolivianischen Anden bekannt (BASTIEN, 1982). Die auch in Italien heimischen *T. pratense* und *T. repens* L. werden dort in der traditionellen Medizin gegen rheumatische Beschwerden

eingesetzt (CAPPELLETTI *et al.*, 1982). In der traditionellen Medizin finden sich Hinweise auf die Verwendung von *Trifolium*-Arten gegen Krebs, darunter auch *T. repens* L. (HARTWELL, 1970a).

Von *T. repens* L. wird das Phytoalexin Medicarpin gebildet. In Calluskulturen läßt sich die Bildung durch die Zugabe von verschiedenen Reizstoffen induzieren (GUSTINE, 1981).

In Tests auf hemmende Wirkung gegen verschiedene Mikroorganismen zeigten mehrere *Trifolium*-Spezies (u.a. auch *T. repens* L.) keine oder nur sehr schwache Aktivität (MITSCHER *et al.*, 1972). Die vier Spezies *T. campestre* SCHREB., *T. lappaceum* L., *T. purpureum* LOIS und *T. tomentosum* L. aus dem Irak enthalten keine Alkaloide und zeigen ebenfalls keinerlei Wirkung auf Mikroorganismen (AL-SHAMMA & MITSCHER, 1979).

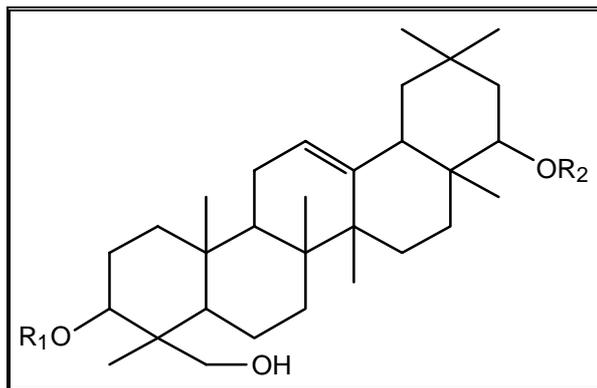


Abbildung 13: Das Aglycon der Sojasaponine aus *Trifolium resupinatum* L.

Bei Untersuchungen von *T. repens* L. aus Indien konnten keine Alkaloide, Flavonoide und Saponine nachgewiesen werden (KAPOOR *et al.*, 1971). Aus dem persischen Klee (*T. resupinatum* L.) dagegen wurden fünf verschiedene Saponine isoliert. Zwei bereits bekannte Soja-saponine und drei weitere, die alle das gleiche Aglycon (Abbildung 13) haben (SIMONET *et al.*, 1999).

Untersuchungen der Spezies *T. pratense* L., *T. angustifolium* L. und *T. rubens* L. aus Spanien ergaben ebenfalls nur negative Alkaloidnachweise (VILADOMAT *et al.*, 1984).

## 2.8. GENTIANACEAE, ENZIANGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Asteridae, Ordnung Gentianales

Eine Familie mit vorwiegend krautigen Pflanzen, deren Blätter gegenständig und ungeteilt sind, Nebenblätter fehlen. Die Leitbündel zeigen bikollateralen Bau. Gedrehte Knospenlage ist für die sympetale Krone bezeichnend. Die meist einfächrigen Fruchtknoten mit zahlreichen Samenanlagen entwickeln sich zu Kapsel Früchten. Bei uns kommen etwa 30 einheimische Arten vor.

Wegen ihres bitteren Geschmacks werden manche Enziangewächse noch heute als Bitterdrogen oder zur Bereitung von Kräuterschnäpsen gern verwendet, insbesondere Enzian-Arten wie *Gentiana lutea* L. oder das Tausendgüldenkraut *Centaureum erythraea* RAFN.. Die Struktur der in diesen Drogen enthaltenen Bitterstoffe ist nicht in

allen Fällen aufgeklärt, die Mehrzahl von ihnen gehört jedoch biogenetisch zu den Terpenoiden. Die einfacheren Vertreter wie das Gentiopikrosid oder das Swertiamarin sind in glycosidischer Bindung vorliegende Seco-Iridoide mit geringen Bitterwerten. Werden derartige Glycoside über eine OH-Gruppe des Zuckers mit Tri- (oder Di-)hydroxy-diphenylcarbonsäuren verestert, so wird die Bitterwirkung um ein Vielfaches potenziert. Derartige Acylglycoside vom Typ des Amarogentins sind, obwohl nur in geringen Konzentrationen vorkommend, ausschlaggebend für den intensiven Bittergeschmack der Gentianaceae und Gentianaceae-Drogen und gehören zu den bittersten Substanzen, die wir kennen. Gerbstoffe scheinen ganz zu fehlen (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 253 ff.).

*Centaurium pulchellum* (SW) DRUCE., Ästiges Tausendgüldenkraut

Zu *C. pulchellum* (SW) DRUCE. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe oder Verwendung der Pflanze dokumentieren. Die irakischen Arten *C. spicatum* (L.) FRISCH. und *C. tenuiflorum* (HOFFMGGGET LINK) FRISCH. zeigen keine antimikrobielle Aktivität (AL-SHAMMA & MITSCHER, 1979). Dagegen zeigt *C. ramosissimum* DRUCE. aus Pakistan gegen einige Mikroorganismen eine leichte Wirkung (IKRAM & INAMUL-HAQ, 1980).

Von mehreren *Centaurium*-Spezies ist bekannt, daß sie traditionell gegen Krebs eingesetzt werden (Hartwell, 1969a).

An Inhaltstoffen sind erst in jüngster Zeit die beiden Triterpenlactone Centuriol (I in Abbildung 14 und Centaurion (II in Abbildung 14) aus *C. pullchelum* (Sw) DRUCE isoliert worden (BIBI *et al.*, 2000).

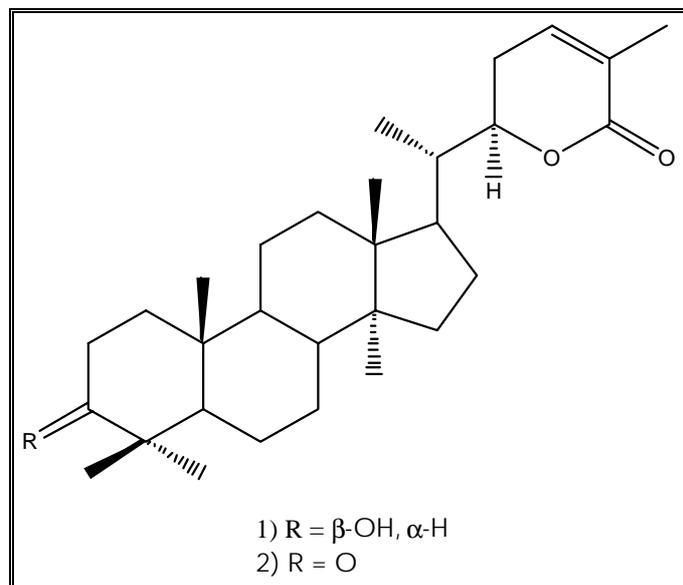


Abbildung 14: Triterpenlactone von *Centaurium pullchelum* (Sw) DRUCE

## 2.9. JUNCACEAE, BINSENGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Liliopsida (= Monocotyledoneae), Unterklasse Commelinidae, Ordnung Juncales (vgl. 2.6. Cyperaceae)

Die Blütenformel der Juncaceae ist  $*p_3 + 3 A_3 + 3 G(3)$ . Das Perigon ist aber unscheinbar und trockenhäutig. Die Blüten stehen oft in reichblütigen, kopfigen bis rispigen Blütenständen. Über Verkieselung ist nichts Sicheres bekannt. Von phenolischen Substanzen kommen vor allem Chlorogensäure, Luteolin und dessen 5-Methylether vor (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 325 ff.).

*Juncus gerardii* LOIS., Salz-Binse und *Juncus maritimus* LAM., Strand-Binse

Zu *J. gerardii* LOIS. und *J. maritimus* LAM. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe oder Verwendung der Pflanze dokumentieren. Verschiedene Arten der Gattung *Juncus* wurden auf Alkaloide negativ getestet (HULTIN & TORSSELL, 1965) und bei HARTWELL (1969b) werden einige Arten dieses Genus als Antitumormittel erwähnt.

## 2.10. JUNCAGINACEAE, DREIZACKGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Liliopsida (= Monocotyledoneae), Unterklasse Alismatidae (= Helobiae), Ordnung Najadales

Die Dreizackgewächse umfassen 18 Arten. Einheimisch sind nur *Triglochin maritimum* L. und *T. palustris* L.. Wie bei allen Arten der Alismatidae handelt es sich um krautartige Wasser- und Sumpfpflanzen mit z.T. polymeren Blüten. Typisch für die Najadales ist das oft ganz fehlende Perianth.

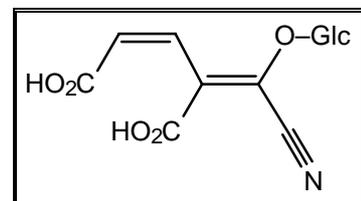


Abbildung 15: Triglochinin

Die Pflanzen sind durch das Vorkommen von Triglochinin (Abbildung 15) stark cyanogen (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 297 ff.).

*Triglochin maritimum* L., Strand-Dreizack

In Norddeutschland wurde *T. maritimum* L. vor der Blüte als Salat gegessen (LIEBEZEIT *et al.*, 1999). Zu diesem Zeitpunkt ist der Gehalt an cyanogenen Glycosiden noch gering (MAJAK *et al.*, 1980). Dem Salat wurde eine blutreinigende Wirkung zugeschrieben.

Im Gegensatz zu anderen Salzwiesenpflanzen bildet *T. maritimum* L. normalerweise keine vesiculär-arbuskuläre Mycorrhiza aus, eine Symbiose mit einem Pilze der Ordnung Endogonales am Wurzelsystem (ROZEMA *et al.*, 1986), was auf ein besonderes Abwehrsystem schließen läßt.

## 2.11. PLANTAGINACEAE, WEGERICHWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Asteridae, Ordnung Scrophulariales (vgl. 2.15. Scrophulariaceae)

Die Wegerichgewächse haben – sekundär – anemogame, unscheinbare, in dichten Ähren stehende Blüten. Die Blätter sind oft parallelnervig (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 256 ff.). Der Genus *Plantago* stellt mit etwa 265 die größte Gruppe dieser Familie (FEINBRUN-DOTHAN, 1978, S. 220 ff.).

*Plantago maritima* L., Strand-Wegerich

Von *P. maritima* L. ist nur bekannt, daß Alkaloide nachweisbar sind (HULTIN & TORSELL, 1965). Andere Spezies des Genus *Plantago* sind aber weltweit als Heilpflanzen bei ganz unterschiedlichen Indikationen geschätzt, z.B. bei den Indianern in Nordamerika (ARNASON *et al.*, 1981; CHAPMAN TURNER & BELL, 1973; HAMON *et al.*, 1981; HOOPER & CHANNDLER, 1981, 1984; Hussey, 1974), in Südamerika (BANDONI *et al.*, 1976, Wong, 1976), in Europa (CAPPELLETTI *et al.*, 1982), in Afrika (WATT, 1967), in China (HIRSCHHORN, 1982; Xiao, 1981) und Tibet (GUSSEVA-BADMAEVA *et al.*, 1972), in Indien (JAIN & TARAFDER, 1970; Rao, 1981, 1982), bei den japanischen Urvölkern (MITSUHASHI, 1976) und auf Hawaii (NAGATA, 1971).

So umfangreich wie der eben beschriebene Einsatz als Heilmittel bei unzähligen Indikationen sind auch die Berichte zur Verwendung von *Plantago*-Spezies als Krepstherapeutika (Hartwell, 1970b). Das Spitzwegerichkraut (*Plantaginis lanceolatae herba*) wird in Osteuropa und Holland aus *Plantago lanceolata* L. gewonnen und wegen seines Aucubingehalts (Abbildung 16) gehandelt (SCHNEIDER & HILLER, 1999).

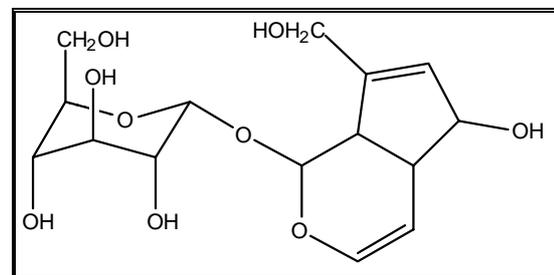


Abbildung 16: Aucubin

## 2.12. PLUMBAGINACEAE, GRASNELKENGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Caryophyllidae, Ordnung Plumbaginales.

Zu den 350 Arten der Plumbaginaceae, der einzigen Familie dieser Ordnung, gehören viele salzliebende Pflanzen. Ein wichtiges Familienmerkmal ist das acetogene 2-Methyl-5-hydroxy-naphthochinon Plumbagin (Abbildung 17), dem eine schwache antihämorrhagische Wirkung zugeschrieben wird (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 145 ff.).

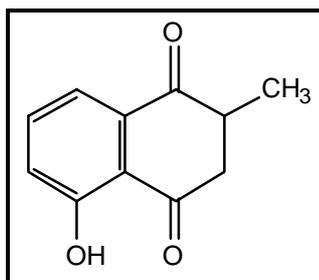


Abbildung 17: Plumbagin

*Armeria maritima* (MILL.) WILLD., Gemeine Grasnelke

Von *A. maritima* (MILL.) WILLD. ist nur bekannt, daß Alkaloide nachweisbar sind (HULTIN & TORSELL, 1965).

*Limonium vulgare* MILL., Widerstoß, Stransnelke

Im Gegensatz zu *A. maritima* (MILL.) WILLD. enthält *L. vulgare* MILL. keine Alkaloide (HULTIN & TORSELL, 1965). Die einzige berichtete Verwendung als Heilpflanze ist die von CHANDLER *et al.* (1979), wonach die Micmac Indianer diese Pflanze zum Stillen von Blutungen einsetzen. Eine solche Verwendung ist sicher auf das oben beschriebene Plumbagin (Abbildung 17) zurückzuführen. Die Verwendung in der Krebstherapie in Israel ist von SILVA & ABRAHAM (1981) dokumentiert worden.

2.13. POACEAE (= GRAMINEAE), SÜBGRÄSER

Familie aus der Klasse der Liliopsida (= Monocotyledoneae), Unterklasse Commelinidae, Ordnung Poales

Die Gräser bilden mit 8000 Arten den Grundstock der Steppen-, Savannen- und Grünlandvegetation und sind hier wichtige Futterpflanzen für Wild- und Haustiere. Dem Menschen dienen sie in weiten Teilen der Welt als kohlenhydrat- und eiweißreiches Nahrungsmittel (Reis, Mais, Weizen etc.).

Die Blüten sind in ein- bis mehrblütigen Ährchen vereinigt und sitzen in der Achsel oft begrannter Deckspelzen. Sie sind im Zusammenhang mit der Anemogamie stark reduziert: In der Regel drei Staubblätter mit langen Filamenten entlassen die monoporaten Pollenkörner. Meist zwei fedrige Narben des oberständigen Fruchtknotens fangen die windverbreiteten Pollenkörner auf. Die zwei kleinen Schwellkörper öffnen die Blüten durch Abspreizen der Vor- von der Deckspelze. Schwellkörper wie Vorspelze werden als umgebildete Perianthblätter gedeutet. An den einsamigen Früchten (Karyopsen) sind Samenschale und Perikarp verwachsen. Der Embryo liegt dem stärkereichen Endosperm seitlich an, dessen äußerste Schicht reich an Aleuronkörnern ist. Die Blätter sind zweizeilig angeordnet, ihr Blattgrund umfaßt den durchweg runden Stengel als enganliegende Scheide.

Unter den Polyphenolen sind häufig C-Glycosylflavone und Tricinglycoside anzutreffen. Alkaloide kommen vereinzelt vor, einige Verbindungen sind aber offensichtlich Stoffwechselprodukte endoparasitischer Pilze wie z.B. *Acremonium coenophalium* und *Claviceps purpurea* (Mutterkornpilz). Cyanogene Verbindungen kommen allgemein vor, wenn auch oft nur in geringer Menge. Ebenso treten Cumarinderivate in Spuren vermutlich in allen Gräsern auf. Deren Akkumulation ist aber selten und bislang nur von *Anthoxanthum odoratum* L., dem Ruchgras (ca. 1 % Cumarin im Sproß), und *Hierochloë odorata* (L.) P.B., dem Wohlriechenden Mariengras, bekannt (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 326 ff.).

#### *Agrostis maritima* LAM., Straußgras

Zu *A. maritima* LAM. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe oder Verwendung der Pflanze dokumentieren. Der einzige Bericht von der Verwendung einer *Agrostis*-Spezies ist von HUSSEY (1974). Dort wird vom Gebrauch des Grases als Web- und Flechtmaterial für Körbe berichtet.

#### *Festuca villosa* SCHWEIGG., Schwingel

Zu *F. villosa* SCHWEIGG. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe oder Verwendung der Pflanze dokumentieren. ALDUNATE *et al.* (1983) berichtet vom Gebrauch verschiedener *Festuca*-Spezies als Dachmaterial in Argentinien.

#### *Puccinellia maritima* (HUDS.) PARL., Strand-Salzschwaden

Zu *P. maritima* (HUDS.) PARL. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe oder Verwendung der Pflanze dokumentieren.

#### *Spartina maritima* (CURT.) FERN., Niederes Schlickgras

Zu *S. maritima* (CURT.) FERN. sind keine Vorarbeiten gefunden worden, die pharmakologisch interessante Inhaltsstoffe oder Verwendung der Pflanze dokumentieren. Nur HUSSEY (1974) berichtet von der Verwendung von *S. pectinata* als Flechtmaterial für Körbe.

### 2.14. PRIMULACEAE, PRIMELGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Asteridae, Ordnung Primulales

Mit 800 Arten bilden die Primelgewächse den Mittelpunkt der Ordnung. Es handelt sich hierbei um vorwiegend krautige Pflanzen temperierter Klimazonen. Charakteristisch sind die mehr oder weniger verwachsenen Kornblätter und der reduzierte äußere Staubblattkreis (staminodial). Die Fruchtblätter sind einschließlich der Griffel

verwachsen. Die tenuinucellaten Samenanlagen liegen mit zwei Integumenten an der zentralen Plazentasäule. Aufgrund der Plazentation wurden die Primulales früher bei den Centrospermen nahe den Plumbaginales eingeordnet (vgl. 2.11. Plumbaginaceae).

Ganz allgemein kommen in der Familie Triterpensaponine vor. Das Hauptaglycon ist oft Primulagenin, ein Sapogenin der Oleanan-Reihe. Als Expectorantien verwendet man die unterirdischen Organe oder Blüten von *Primula elatior* (L.) HILL. und *P. veris* L.. Giftige Saponine finden sich z.B. bei der Gattung *Cyclamen*, dem Alpenveilchen (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 225 ff.).

#### *Glaux maritima* L., Strand-Milchkraut

Die einzige bislang untersuchte Stoffgruppe von *G. maritima* L. sind die Alkaloide (Hultin, 1965). Sie sind nicht nachweisbar. Bekannt ist die Pflanze auch durch das Kwaiutel-Sedativum (CHAPMAN TURNER & BELL, 1971). Danach hat die Pflanze eine einschläfernde Wirkung, wenn man sie nach stundenlangem Kochen isst (CHAPMAN TURNER & BELL, 1973). Der Wirkstoff, der dafür verantwortlich ist, ist unbekannt.

### 2.15. SCROPHULARIACEAE, RACHENBLÜTLERGEWÄCHSE

Familie aus der Klasse der Rosopsida, Unterklasse Asteridae, Ordnung Scrophulariales (vgl. 2.10. Plantaginaceae)

Die Rachenblütler stellen mit 3000 Arten die wichtigste Familie der Scrophulariales. Augenscheinlich ist die ausgeprägte Tendenz zur zygomorphen Blüte. Hand in Hand damit reduziert sich auch in der Regel die Zahl der Staubblätter. Die Früchte sind durchweg vielsamige Kapseln. Die Blütenformel ist  $K(5) [C(5) A5 \quad 2] G(\underline{2})$ .

Für viele Scrophulariaceae sind Iridoide bezeichnend. Insbesondere kommen die C<sub>9</sub>-Iridoidglycoside Aucubin und Catalpol sowie Derivate dieser Grundkörper vor.

Nur eine einzige Gattung wird durch eine Inhaltsstoffgruppe geprägt, die für den Menschen von besonderer Bedeutung ist: die Gattung *Digitalis* (Fingerhut) mit etwa 26 Arten. Sie gehören wegen des Gehalts an Cardenoliden (*Digitalis*-Glycoside), die für die Behandlung der Herzinsuffizienz neben neueren Synthetika immer noch von Bedeutung sind, zu den bekanntesten Arznei- und Giftpflanzen überhaupt (FROHNE & JENSEN, 1998, S. 225 ff.).

#### *Odontites litoralis* FR., Salz-Zahntrost

Nach (HULTIN & TORSELL, 1965) enthält *O. litoralis* FR. keine Alkaloide. Der Dekokt der Pflanze in Wein soll bei Zahnschmerzen helfen (LIEBEZEIT *et al.*, 1999).

### 3. METHODISCHER TEIL

„Though this be madness yet  
There is method in 't“

W. SHAKESPEARE, *Hamlet* II, ii.

#### 3.1. VORBEREITEN DES UNTERSUCHUNGSMATERIALS

##### 3.1.1. SAMMELN UND VORBEREITEN DER PROBEN

Für die durchgeführten Untersuchungen wurden Proben von Pflanzen aus der Natur entnommen. Der jeweilige Ort und das Datum der Probennahme ist, wenn nicht anders angegeben, im Anhang II aufgelistet. Die Bestimmung der Spezies erfolgte nach SCHMEIL & FITSCHEN (1988). Wenn nicht anders vermerkt, wurden nur die überirdischen Pflanzenorgane (Stengel, Blätter, Blüten und Früchte / Samen) gesammelt. Alle Proben wurden am Vormittag genommen, um übermäßige Hitze und Sonneneinstrahlung auf die gesammelten Proben zu vermeiden. Für das Sammeln wurden Netztaschen verwendet, die etwa ein halbes Kilo Probenmaterial aufnehmen konnten.

Das Probenmaterial wurde in der jeweiligen Netztasche in einem Laborabzug aufgehängt und so im Schatten luftgetrocknet. Gegebenenfalls wurde der Inhalt der Netze aufgelockert.

Die so erhaltenen Rohdrogen wurden zunächst mit einer Schere, dann mit einem Mörser zerkleinert. Um eine ungefähre Vorstellung von der erhaltenen Korngröße zu bekommen, wurde das zerstoßene Material durch ein handelsübliches Mehlsieb gegeben, das eine Maschenweite von etwa 1 mm hat. Gröberes Material wurde entweder weiter zerkleinert oder verworfen.

Das so erhaltene Drogenmaterial mit einer maximalen Korngröße von etwa 1 mm wurde in abgedeckten PE-Behältern vorgehalten.

##### 3.1.2. EXTRAKTION DER DROGEN

Von der getrockneten und zerkleinerten Droge wurden 10 g in eine Soxhlethülse eingewogen und mit Watte verschlossen. Die Extraktion für die nachfolgend unter «Chemisches Screening» und «Biologisches Screening» beschriebenen Versuche (Ausnahme: Die Tests auf Cumarine, siehe dort) erfolgte dann mit ca. 250 mL Ethanol

(96%) im Soxhleth für etwa 48 h. Der so erhaltene Rohextrakt wurde am Rotationsverdampfer auf ca. 10 mL eingengt und in kleinen braunen Glasflaschen verschlossen vorgehalten. Die Lagerung erfolgte bei  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Für vertiefende Untersuchungen wurden die geeignet erscheinenden Spezies erneut gesammelt und einer Extraktion unterzogen. Diesmal erfolgte die Extraktion fraktionierend, zuerst mit Toluol und dann mit Ethanol (je ca. 250 mL), da mit diesen beiden Lösungsmitteln alle bioaktiven Komponenten isolierbar sind (VERPOORTE, 1998). Die so erhaltenen Rohextrakte wurden wie beschrieben eingengt und gelagert.

## 3.2. CHEMISCHES SCREENING

### 3.2.1. ALLGEMEINES ZUM CHEMISCHEN SCREENING

Das chemische Screening soll einen schnellen Hinweis auf das mögliche Vorkommen ausgewählter phytochemischer Komponenten geben. Diese sind:

- Alkaloide
- Cumarine
- Flavonoide
- Saponine
- Tannine und weitere phenolische Komponenten

Die ausgesuchten Methoden zur Bestimmung dieser Komponenten zielen, wenn nicht anders beschrieben, nur darauf ab, diese chemischen Gruppen anzuzeigen. Es sind deshalb ungeeignete Methoden zum Nachweis von Einzelsubstanzen.

Die Ergebnisse des chemischen Screenings sollen als Grundlage für weitere Untersuchungen dienen. Nur als solche können sie herangezogen werden und sind dann unverzichtbare Entscheidungshilfen bei der Auswahl der Proben.

Auch eine Beurteilung des pharmazeutischen oder biotechnologischen Potentials einer Probe ist an Hand dieser Ergebnisse möglich. Sie können Grundlage für weiterführende, d.h. zeit- und kostenintensivere Untersuchungen sein. Im Zusammenhang mit einem biologischen Screening erlauben sie desweiteren erste Aussagen über eventuelle Wirksubstanzen, denen gezielt nachgegangen werden kann.

Die im folgenden aufgeführten Reagenzien sind in ihrer Zusammensetzung im Anhang IV aufgeführt.

### 3.2.2. ALKALOIDE

#### 3.2.2.1. HINTERGRUND

Der Begriff Alkaloid geht auf das Jahre 1819 zurück, als MEISNER, ein Apotheker aus Halle, diese Bezeichnung für alkalisch reagierende Substanzen wählte, die er aus Pflanzen isolierte.

Seit damals haben sich die Alkaloide als eine sehr heterogene Gruppe von Chemikalien erwiesen. Es gibt keine allumfassende Definition für die Alkaloide als chemische Stoffgruppe.

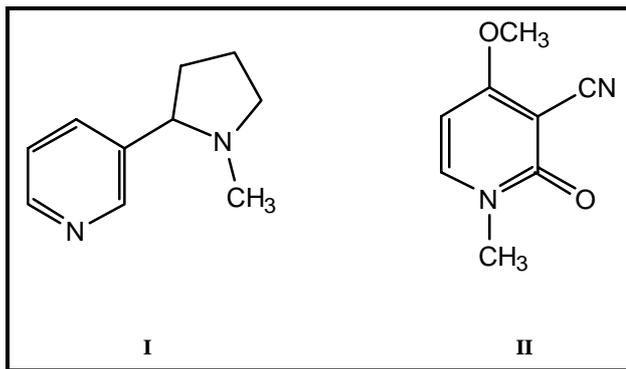


Abbildung 18: Zwei Pyridin-Alkaloide: das basische Nicotin (I) und das nicht-basische Ricinin (II)

Stickstoffatom in einem heterocyclischen Ring haben, aus Aminosäuren gebildet werden und von geringer taxonomischer Verbreitung sind, ii. Protoalkaloide (z.B. Mescaline,

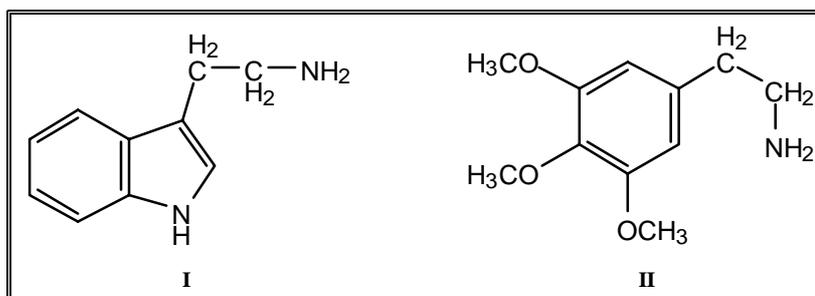


Abbildung 19: Die komplexeren Amine Serotonin (I) und Mescaline (II)

Abbildung 19), relativ einfache Amine, in denen der Aminosäure-Stickstoff nicht in einen Heterocyclus eingebunden ist und deren Biosynthese auf Aminosäuren zurückgeht, und iii. Pseudoalkaloide (z.B. Coniine, Abbildung 20), deren Biosynthese nicht auf Aminosäuren zurückzuführen ist (CORDELL, 1981, S. 5 ff.).

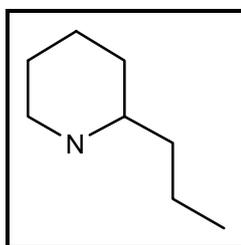


Abbildung 20: Das Piperidin-Alkaloid Coniine

Eine weitere moderne Definition gibt PELLETIER (1983). Danach sind Alkaloide cyclische, organische Stoffe mit einem Stickstoffatom in negativer Oxidationsstufe mit limitierter Verbreitung unter den lebenden Organismen. Die Schwierigkeit, eine passende Definition für Alkaloide zu finden, bestätigt sich in der Äußerung eines Kollegen von Pelletier bei der Diskussion zu diesem Thema, als dieser meinte: *An alkaloid is like my wife. I can recognise her when I see her, but I can't define her.* (PELLETIER, 1983).

Gegenwärtig sind die Strukturen einer Fülle verschiedener Alkaloide bekannt, von denen einige aufgrund ihrer hohen physiologischen Aktivität eine große Bedeutung in

der Pharmazie haben oder eher aus traditioneller Sicht als Drogen, wie z.B. Nicotin und Kokain. Über die ungefähre Anzahl gibt es verschiedene Angaben. Zu den reinen Alkaloiden gehören nach RICHTER (1988, S. 546) etwa 3 000 sekundäre Pflanzenstoffe. BREITMAIER (1997, S. 11) spricht von 6 000 stickstoffhaltigen Naturstoffen überwiegend pflanzlicher, seltener tierischer Herkunft. Bei SCHNEIDER & HILLER (1999, S. 28) ist dagegen von 7 000 bekannten Strukturen die Rede. Eine Gruppierung der Alkaloide nach ihrer biogenetischen Entstehung zum Zweck des taxonomischen Vergleichs ist bei HEGENAUER (1988) zu finden. Die molekularen Aspekte der Biogenese werden bei HASHIMOTO & YAMADA (1994) behandelt.

Typisch für diese Stoffgruppe ist die häufig alkalische Reaktion und die Wirkung auf warmblütige Organismen (z.B. beruhigend, anregend, gefäßverengend oder -erweiternd, krampflösend, schmerzbetäubend und psychoaktiv, d.h. euphorisierend bis halluzinogen). Dennoch reagieren keineswegs alle Alkaloide (von *arabisch kalaja* = brennen und *griechisch εἶδος* = aussehen) alkalisch. Das Hauptalkaloid Nicotin (Abbildung 18) der Tabakpflanze *Nicotiana tabacum* L. ist z.B. eine starke Base, während Ricinin (Abbildung 18) aus *Ricinus communis* L., das ebenfalls zu den Pyridin-Alkaloiden zählt, als Lactam nicht-basisch reagiert (BREITMAIER, 1997, S. 11).

Alkaloide gehören neben den Aminen, Senfö- und cyanogenen Glucosiden, Betacyanen und Betaxanthinen sowie den Pseudoalkaloiden zu den stickstoffhaltigen Naturstoffen (RICHTER, 1988, S. 540). Typische Vertreter für diese weiteren Gruppen stickstoffhaltiger Naturstoffe sind z.B. Serotonin und Mescaline (letzteres aus dem Peyotl-Kaktus *Lophophora williamsii* isoliert, bekannt durch die Rockgruppe THE DOORS) als Vertreter der komplexeren Amine (Abbildung 19). Als  $\beta$ -Phenylethylamin- und Tryptamin-Derivate pflanzlicher oder tierischer Herkunft (z.B. Bufotenin, das Hautsekret der Aga-Kröte *Bufo marinus*, Abbildung 21) werden diese Stoffe dennoch als Alkaloide eingestuft.

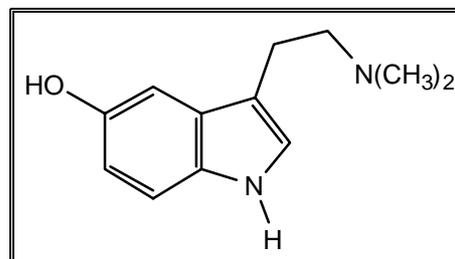


Abbildung 21: Bufotenin, das Hautsekret der Aga-Kröte *Bufo marinus*

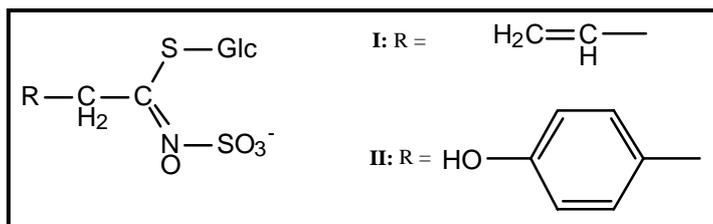


Abbildung 22: Die Senföle Sinigrin (I) und Sinalbin (II)

Bekannte Vertreter der Senföle (= Isothiocyanate) sind das Sinigrin aus *Brassica nigra* (L.) KOCH (Schwarzer Senf) und das Sinalbin aus *Sinapis alba* L. (Weißer Senf) (Abbildung 22) und das Amygdalin als Vertreter der

cyanogenen Glucoside (Abbildung 23), das in bitteren Mandeln vorkommt und dessen enzymatische Spaltung unter anderem zur Blausäure führt.

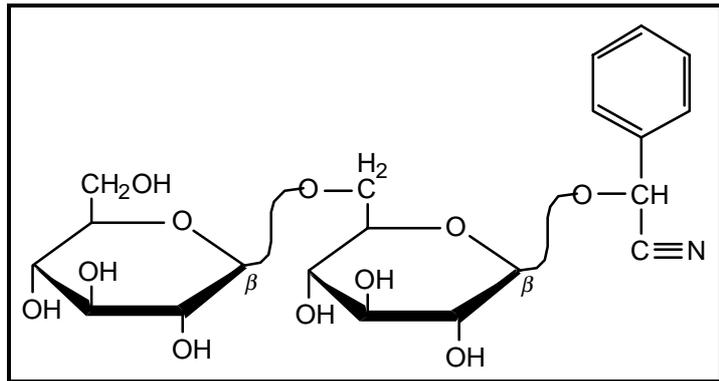


Abbildung 23: Amygdalin aus der bitteren Mandel

Die Namen der strukturell und biogenetisch eng verwandten rot oder violett gefärbten Betacyane und der gelben Betaxanthine geht auf die Rübe (*Beta*) zurück, in der sie vor etwa 100 Jahren entdeckt wurden.

Die Pseudoalkaloide schließlich sind keine Derivate von Aminosäuren und somit ist der Stickstoff an andersartige Kohlenstoffgerüste gebunden, oft an Isoprenoide. Entsprechend spricht man von Terpen-Alkaloiden. Man unterscheidet Steroid-Alkaloide, die in  $C_{21}$ - (z.B. Conessin aus *Holarrhena* sp., Abbildung 24) und  $C_{27}$ -Verbindungen (z.B. Solanin aus *Solanaceae* sp., Abbildung 25) unterteilt werden, von Monoterpen- (z.B. Gentianin, Abbildung 26), Sesquiterpen- (z.B. Deoxynupharidin, Abbildung 26), Diterpen- (z.B. Aconitin) und Triterpenalkaloide (z.B. Daphniphylin).

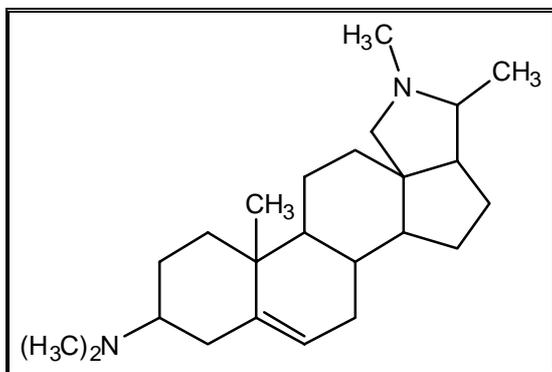


Abbildung 24: Das Steroid-Alkaloid Conessin

Auch das vorwiegend in den Früchten des Schierlings (*Conium maculatum* L.) vorkommende Coniin (Abbildung 20) ist ein Pseudoalkaloid: sein Grundgerüst wird von Piperidin gebildet. Die starke Giftwirkung beruht auf einer Lähmung der motorischen Nervenenden. Im Altertum diente diese Droge als Hinrichtungsmittel (Tod des Sokrates) (RICHTER, 1988, S. 545).

Der Stoffwechsel von Alkaloiden unterliegt einer Reihe von Gesetzmäßigkeiten, welche auch für den Sekundärstoffwechsel höherer Pflanzen allgemein verbindlich sind. Sie betreffen im wesentlichen das Vorkommen, den Ort und den Zeitpunkt der Synthese und Speicherung bzw. den Umsatz sowie die beteiligte Enzymgarnitur und ihre Kontrolle (RICHTER, 1988, S. 546).

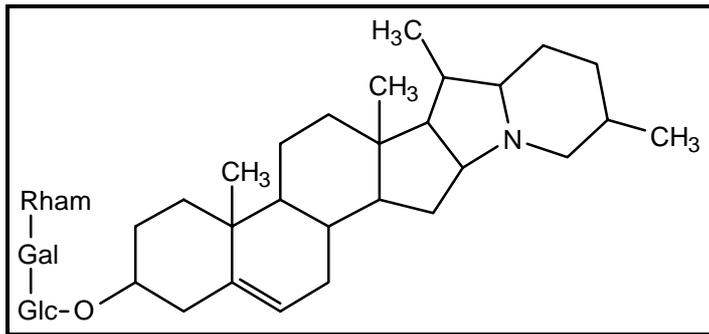


Abbildung 25: Das Steroid-Alkaloid Solanin

Etwa 10 – 20 % aller Gefäßpflanzen bilden Alkaloide (FARNSWORTH, 1966). Es gibt ausgesprochene „Alkaloid-Familien“, sowohl unter den monokotylen als auch den dikotylen Pflanzen. Oft ist ein Hauptalkaloid mit zahlreichen Nebenalkaloiden vergesell-

schaftet, wobei für beide in der Regel die Ausgangsverbindung sowie das Grundgerüst der Moleküle identisch sind. Diesem gehäuften Vorkommen bei einzelnen Familien oder Gattungen liegt ein weiteres Einteilungsprinzip zugrunde (z.B. Papaver-Alkaloide, Solanum-Alkaloide usw.).

Als Beispiel für die Variabilität der Bildung von Alkaloiden durch Pflanzen sei das Morphin (Abbildung 27) erwähnt, das nur von zwei Arten der Mohnpflanzen gebildet

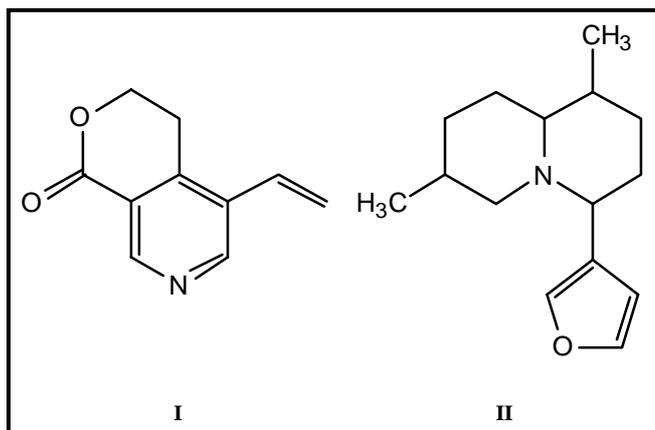


Abbildung 26: Die Terpenalkaloide Gentianin (I) und Deoxynupharidin (II)

wird. Die übrigen Vertreter der Mohnpflanzen können dies nicht, bewältigen aber sehr wohl Teilreaktionen der Morphin-Biosynthese. Lokal ist die Bildung von Morphin auf die hochspezialisierten Zellen des Milchröhrensystems begrenzt. Analog ist die Synthese anderer Alkaloide bei anderen Pflanzen auf die wachsende Wurzel (Nicotin beim Tabak, l-Hyoscyamin

der Tollkirsche) oder auf die Chloroplasten (Chinolizidin-Alkaloide der Lupine, Alkaloide des Schierlings) beschränkt. Bei den Tee- und Kaffeepflanzen entstehen die typischen Alkaloide meist nur in spezialisierten Parenchymzellen, den Idioblasten (RICHTER, 1988, S. 547).

Die Fähigkeit zur Alkaloidproduktion bei höheren Pflanzen geht notwendigerweise mit einer davon räumlich getrennten und effektiven Speicherung oder Akkumulation einher. Geringe Mengen eines Alkaloids würden sonst in den meisten Fällen wegen des basischen Charakters, selten wegen einer Antimetabolit-Wirkung, lebenswichtige

Prozesse im Cytosol stören. Bevorzugte Speicherräume sind Zellvakuolen, z.B. in Milchröhren.

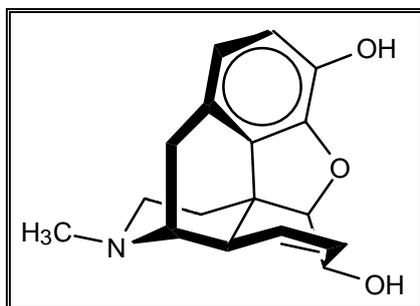


Abbildung 27: Das Opium-Alkaloid Morphin

Die Funktion der Alkaloide in der Pflanze ist unbekannt. In einigen Fällen scheinen sie als chemische Abwehr gegen Tierfraß zu fungieren, wobei sicherlich ihr bitterer Geschmack (charakteristisch für viele Alkaloide) sowie ihre Warmblütertoxizität eine Rolle spielen.

Der Begriff Alkaloid ist, wie gezeigt, nicht besonders präzise. Dementsprechend willkürlich werden Naturstoffe überwiegend pflanzlicher, aber auch tierischer Herkunft nach chemischen Kriterien als Alkaloide eingeordnet, wenn sie entweder Heterocyclen (wie Pyrrolidin, Piperidin, Pyridin, Indol, Isochinolin, Chinolin) oder Arylethylamine ( $\beta$ -Phenylethylamin, Tryptamin) oder beide Merkmale zusammen enthalten. Besonders häufig kommen heterocyclische Alkaloide in den Pflanzen vor, die man weiter nach ihren Stammheterocyclen (z.B. Indol- und Isochinolin-Alkaloide) unterscheidet. Zu den nicht heterocyclischen Alkaloiden gehören einige acyclische Amine, wie z.B. die  $\beta$ -Phenylethylamine und Tryptamine sowie Polyamin-Derivate und spezielle Cyclopeptide. Durch ihr besonderes Kohlenstoffgerüst ausgewiesen sind die Terpen- und Steroid-Alkaloide, die sich durch einen eingebauten Heterocyclen oder eine Seitenkette mit Amino- oder Amido-Funktion zum Alkaloid qualifizieren (BREITMAIER, 1997, S. 12).

#### 3.2.2.2. TESTDURCHFÜHRUNG

Im allgemeinen beruhen Nachweisreaktionen für Alkaloide auf der Tatsache, daß sie im sauren Milieu einen schwerlöslichen Niederschlag mit Schwermetallreagenzien wie z.B. DRAGENDORFFS Reagenz oder MAYERS REAGENZ ergeben (HOUGHTON & RAMAN, 1998, S. 115 ff.). Da es mit dem ersten bekanntermaßen zu falsch-positiven Reaktionen kommen kann (FARNSWORTH *et al.*, 1962), wurde nur MAYERS Reagenz verwendet. Ergänzt wird der Nachweis durch WAGNERS Reagenz, das aus Iod und Kaliumiodid besteht und ebenfalls einen Niederschlag mit Alkaloiden bildet. Die Kombination aus MAYERS Reagenz und WAGNERS Reagenz wird auch in neueren Testbeschreibungen verwendet (HAMON & HINTMARSH 1978). Sie ist eine Variation der WEBB-Methode, die bei EULER & FARNSWORTH (1962) als einfache Methode gelobt wird, die schnell zu reproduzierbaren und guten Ergebnissen führt.

Ein Aliquot (1 mL) des Rohextrakts wurde auf dem kochenden Wasserbad mit 5 mL 2N HCl für ca. fünf Minuten erhitzt. Der saure Extrakt wurde dann durch angefeuchtetes Filterpapier filtriert und das Filtrat in zwei Portionen geteilt. Die eine Portion wurde mit MAYERS Reagenz getestet, die andere mit WAGNERS Reagenz. Beide Reagenzien fällen Alkaloide aus. Das Vorhandensein von Substanzen dieser Klasse in der Probe wird somit durch Trübung oder Niederschlag angezeigt. Nur wenn beide Tests positive Alkaloidreaktionen anzeigten, wurde das Alkaloidscreening als positiv bewertet.

## 3.2.3. CUMARINE

## 3.2.3.1. HINTERGRUND

Der Name Cumarin stammt von der Tonkabohne (*Coumarouna odorata* AUBL., syn. *Dipteryx odorata* (AUBL.) WILLD., Fabaceae), deren in Cayenne (Südamerika) gebräuchlicher Name Coumarouna ist und aus der im Jahre 1820 VOGEL eine wohlriechende Substanz isolierte. Durch die Untersuchungen von STRECKER (1867) und FITTIG (1870) weiß man, daß es sich um Benzo- $\alpha$ -pyron bzw. das Lacton der *cis*-Form der *o*-Oxyzimtsäure, der Cumarinsäure, handelt (CASPARIS & MANELLA, 1943a).

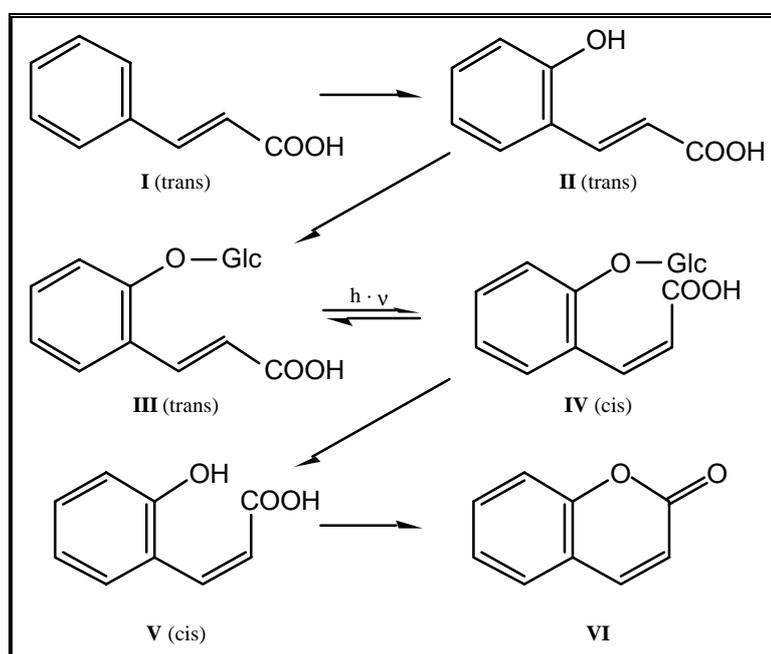


Abbildung 28: Biosynthese des Cumarins (VI)

Cumarin, als Mutter-substanz dieser Ver-bindungsklasse, bedingt den charakteristischen Geruch einiger Pflanzen-arten, wie z.B. von *Galium odoratum* (L.) SCOP. (Waldmeister) und *Melilotus albus* MED. (Steinklee). Ausgangsver-bindung der Biosynthese des Cumarins ist die *trans*-Zimtsäure (I Abbildung 28), die in *trans*-*o*-Cumarinsäure (II Abbildung 28) überführt

und intermediär zum  $\beta$ -Glucosid (III Abbildung 28, auch Melilotosid genannt) verestert wird. Diese Verbindung geht lichtabhängig in das „gebundene Cumarin“, das *o*-Cumarinsäure- $\beta$ -glucosid über (RICHTER, 1988, S. 413).

Das in der intakten Pflanze zunächst als *o*-Cumarinsäure- $\beta$ -glucosid (IV Abbildung 28) gebunden vorliegende Cumarin entsteht aber erst durch Trocknung oder Zerstörung des Gewebes. Die für die Freisetzung durch Hydrolyse zuständige  $\beta$ -Glycosidase erreicht offensichtlich ihr Substrat erst bei der Aufhebung der normalen Kompartimentierung. Die dann entstehende *o*-Cumarinsäure (V Abbildung 28) cyclisiert spontan zum Lacton des Cumarins (VI Abbildung 28).

Cumarin findet in Melilotus-Extrakten als Bestandteil von Venenmitteln Verwendung. Die Wirkung ist antiödematös, antiphlogistisch und zirkulationsfördernd. Nach der Aromenverordnung von 1993 dürfen alkoholhaltige Drogenzubereitungen (z.B.

Waldmeisterbowle) lediglich 10 mg Cumarin pro kg (entspricht etwa 5 – 6 g frisches Waldmeisterkraut) und nichtalkoholische höchstens 2 mg pro kg enthalten, da es Kopfschmerzen und Benommenheit auslösen kann. Andererseits haben klinische Studien einen positiven Effekt sowohl bei der Rezidivprophylaxe als auch bei der Verlängerung der Überlebenszeit bei Patienten mit inoperablen Tumoren ergeben (SCHNEIDER & HILLER, 1999).

### 3.2.3.2. TESTDURCHFÜHRUNG

Die Untersuchung auf Cumarine erfolgte nach CASPARIS & MANELLA (1943a, 1943b, 1944). Für den Nachweis von Cumarinen wird diese Substanzklasse zunächst durch Vakuumsublimation aus der Rohdroge isoliert und damit von anderen phenolischen Komponenten getrennt. Insbesondere Tannine könnten sonst den Nachweis von Cumarinen stören, zeichnen sich aber durch ein ganz anderes Sublimationsverhalten als diese aus .

Für die Vakuumsublimation wurde eine Vakuumsublimationsapparatur aus Glas verwendet, wie sie bei CASPARIS & MANELLA (1943b) beschrieben ist. Jeweils 3 g Rohdroge der zu testenden Pflanzenart wurden der Sublimation unterworfen. Der Druck wurde mittels einer Vakuumpumpe auf 100 mbar eingestellt. Dann wurde die Glasapparatur im Heizblock langsam auf 120 °C erwärmt. Das dann unter Umständen entstandene wässrige Kondensat wurde, nach Unterbrechen des Vakuums, vom Kühlfinger abgewischt. Anschließend wurde erneut bei konstantem Druck von 100 mbar auf 120 °C aufgeheizt. Gegebenenfalls wurde der Kühlfinger erneut von wässrigem Kondensat befreit, was solange wiederholt wurde, bis kein Kondensat von Feuchtigkeit mehr auftrat. Dann wurde langsam auf 165 °C bis 175 °C aufgeheizt und das eventuell vorhandene Cumarin heraussublimiert. Das so gewonnene Sublimat wurde zweckmäßig resublimiert, gegebenenfalls mehrmals und dann für den Nachweis auf Cumarine verwendet.

Der Nachweis von Cumarinen wurde mit Quecksilberacetat durchgeführt. Die Reaktion mit dem geöffneten Lactonring beruht auf der Bildung von schwerlöslichem Bis-

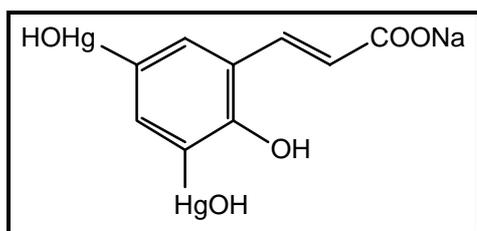


Abbildung 29: Schwerlösliches Bis-hydroxymercuri-cumarinsaures Natriumsalz

hydroxymercuri-cumarinsaurem Salz vom Typ des Natriumsalzes (Abbildung 29), das durch Trübung der Lösung oder Ausfällung eines Niederschlages Cumarine anzeigt. Für die Nachweisreaktion wurde das Sublimat in ca. 2 mL wässriger KOH-Lösung (10 %ig) unter Erwärmen gelöst. Die Lösung wurde dann mit Essigsäure (5 %ig) und essigsaurem Wasser

exakt neutralisiert. Diese genaue Neutralisation ist wichtig, weil das labile cumarinsäure Salz in saurer Lösung sofort den Lactonring rückbildet und als Cumarin ausfällt (CASPARIS & MANELLA, 1943a). Die so neutralisierte und erkaltete Lösung wurde dann mit ein bis zwei Tropfen wässriger Quecksilberacetat-Lösung (15 %ig) versetzt. Die sofort einsetzende Trübung oder Fällung zeigt Cumarine an.

## 3.2.4. FLAVONOIDE

## 3.2.4.1. HINTERGRUND

Die Flavan-Derivate bilden die wichtigste und umfangreichste Gruppe pflanzlicher Phenole.

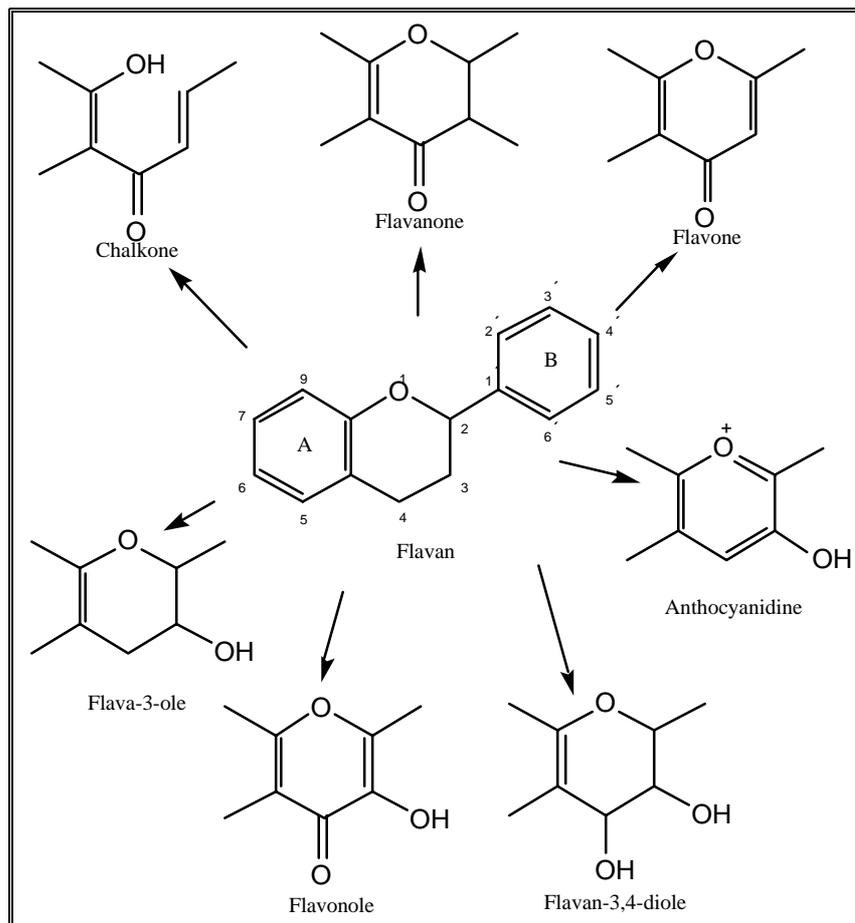


Abbildung 30: Untergruppen der Flavonoide (nur heterocyclischer Mittelring gezeigt), abgeleitet vom Flavan

Zu ihr gehören nicht nur Verbindungen mit gelber Färbung, wie der historische Name (von *flavus* = gelb abgeleitet) vermuten lässt, sondern auch solche mit anderer oder überhaupt keiner Färbung. Allen ist das Molekülgerüst des Flavans (Abbildung 30) gemeinsam. Unterschieden werden die einzelnen Gruppen der Flavonoide über das Substitutionsmuster des heterocyclischen Mittelrings.

Der aromatische Ring A des Flavan-Grundgerüsts wird über den Acetat-Malonat-Weg erstellt (RICHTER, 1988, S. 407). Hierbei wird von Malonyl-CoA über Decarboxylierung

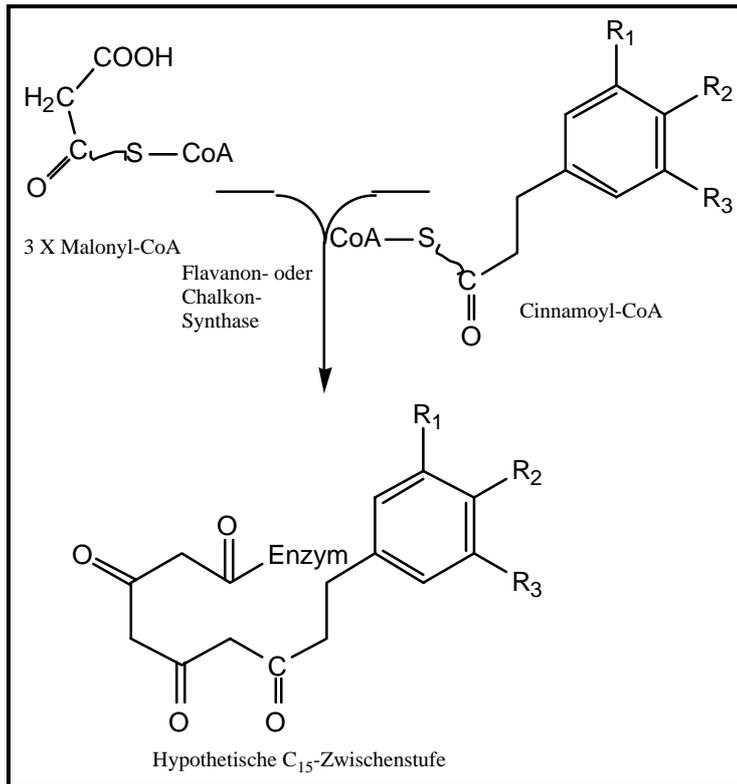


Abbildung 31: Biosynthese von Flavan-Derivaten: Bildung des hypothetischen Enzym-Komplexes

die  $C_2$ -Einheit zur Verlängerung einer Acyl-CoA-Verbindung geliefert, und zwar in drei aufeinanderfolgenden Schritten. Die entstehende Polyketosäure cyclisiert zum aromatischen Ring mit Seitenkette. Der so entstandene Ring A wird dann mit Hilfe von Zimtsäurederivaten um einen heterocyclischen Mittelring sowie einen zweiten aromatischen Ring B erweitert, was zunächst zu einem hypothetischen Enzym-Komplex als Zwischenprodukt führt (Abbildung 31).

In Bryophyten führte die Kondensation von aktiviertem Cinnamat (Cinnamoyl-CoA) mit Acetat zur Bildung von Flavonolen und Flavonen. Diese Verbindungen absorbieren UV-Licht und scheinen als UV-Schutz zu fungieren (MACCLURE, 1975).

Die meisten Flavonoide sind starke Antioxidantien und Fänger freier Radikale, die sonst in Mechanismen der Zellschädigung und Tumorausbildung ihre schädlichen Eigenschaften einbringen könnten (GHAZALI & WARING, 1999).

#### 3.2.4.2. TESTDURCHFÜHRUNG

Zu der alkoholischen Lösung des Rohextraktes (1 mL EtOH-Lösung) wurde ein kleines Stück Magnesium gegeben, gefolgt von der tropfenweise Zugabe von konzentrierter Salzsäure. Dieser als SHINODAS Reaktion bekannte Flavonoidnachweis (FARNSWORTH, 1966) zeigt Substanzen dieser Stoffklasse in ein bis zwei Minuten durch eine Farbe an, die zwischen Orange und Rot oder Magenta liegt.

## 3.2.5. SAPONINE

## 3.2.5.1. HINTERGRUND

Saponine sind eine weitverbreitete Gruppe sekundärer Pflanzenstoffe. Diese Verbindungen sind stark oberflächenaktiv. Sie lösen sich kolloidal und bilden einen seifenartigen Schaum (lat. *Sapo* = Seife). Ihrem Aufbau nach sind sie Glycoside. Durch saure oder enzymatische Hydrolyse spalten sie in Zucker und Sapogenine, den Aglyconen. Das „Genin“ kann entweder ein Triterpen oder ein Steroid sein. Man unterscheidet entsprechend in Triterpen-Saponine und Steroid-Saponine. Die Zuckerreste können an eine (meist an C-3) oder zwei Hydroxygruppen des Aglycons sowie an eine Hydroxygruppe und eine Carboxygruppe (meist an C-17) glycosidisch bzw. als Ester gebunden sein (RICHTER, 1988, S. 386).

Triterpensaponine bilden die Mehrzahl der pflanzlichen Saponine (ca. 120 Verbindungen) und kommen

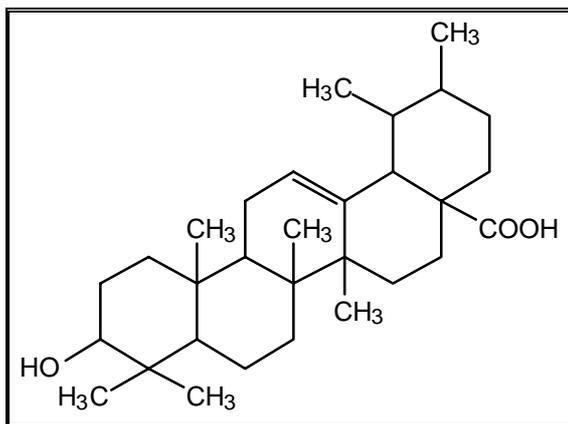


Abbildung 32: Ursolsäure, ein häufiges  
Triterpensaponin-Aglycon

überwiegend in Dicotylen vor. Die Aglycone weisen in den meisten Fällen ein pentacyclisches, seltener tetracyclisches Molekülskelett auf. Durch Anlagerung einer Carboxygruppe an das Aglycon, an den Zuckeranteil oder an beide Komponenten entstehen saure Saponine. Ein häufiges Triterpenaglycon ist die Ursolsäure (Abbildung 32).

Im Gegensatz zu den Triterpensaponinen sind die Steroidsaponine eine Domäne der Monokotylen. Die Struktur ihrer Aglycone leitet sich ausschließlich vom Sterangerüst (Abbildung 33) ab und umfaßt 27 Kohlenstoffatome. Entweder geht die am C-17 ansetzende Seitenkette voll in den Ringstrukturen E und F auf (Spirostanol-Typ, z.B. Diosgenin, Abbildung 34) oder nur teilweise, nämlich

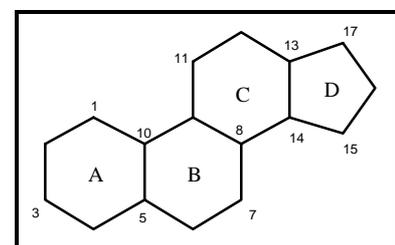


Abbildung 33: Steran, das  
Grundgerüst der Steroidsaponine

mit der Bildung von E (Furostanol-Typ). Im letzteren Fall trägt C-26 eine Hydroxygruppe, die mit D-Glucose unter Ausbildung einer Glycosidbindung reagiert (RICHTER, 1988, S. 387).

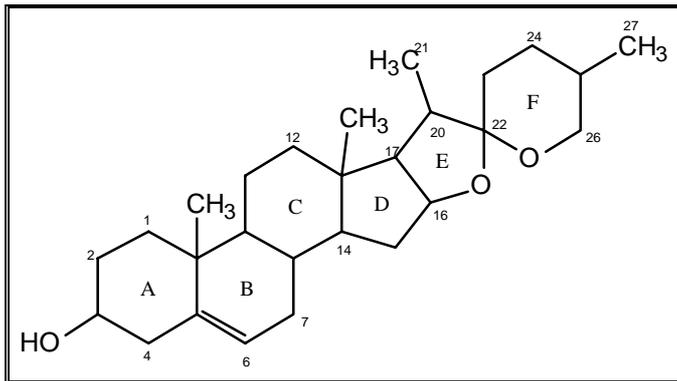


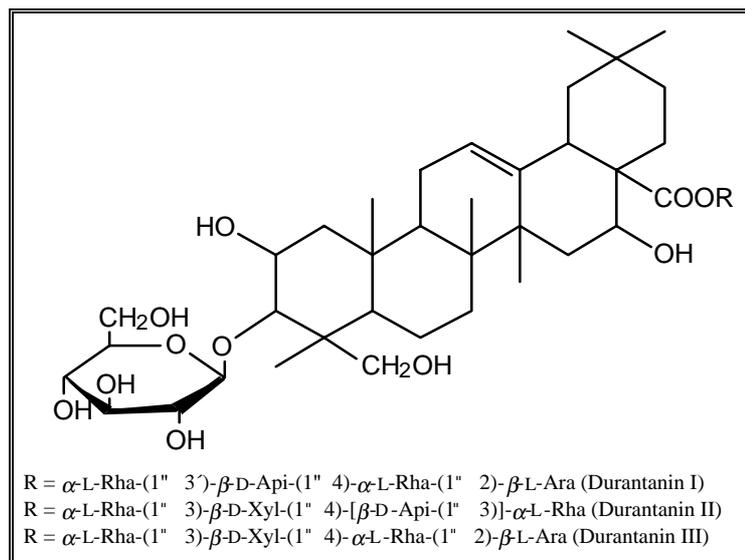
Abbildung 34: Diosgenin, das Aglycon des Steroidsaponins

Dioscin

Steroid-Saponine, vorwiegend vom Spirostanol-Typ, haben wirtschaftliche Bedeutung erlangt. Durch einfache Verfahren können die Seitenketten dieser Verbindungen bzw. ihrer Aglycone eliminiert werden. Damit kann man die Verbindungen für die Partialsynthese von Steroiden (männliche und weibliche

Sexualhormone, Corticoide) nutzen. Besondere Bedeutung hat vor allem das Diosgenin (Abbildung 34) als Aglykon des Dioscin aus mexikanischen *Discerea*-Arten für die Gewinnung von Pregnenolon oder die Partialsynthese von Ovulationshemmern gewonnen.

Die Funktion der Saponine in der Pflanze ist unklar. Bei *Duranta repens* L. konnte nachgewiesen werden, daß die aus den Blättern isolierten Saponine Durantanin I, II und III (Abbildung 35) eine allelopathische Wirkung zeigen (HIRADATE *et al.*, 1999). Im Versuch wurde der negative Einfluß auf das Wachstum von Wurzeln anderer Pflanzenarten gezeigt.

Abbildung 35: Die allelopathisch wirkenden Saponine aus *Duranta repens* L.

Die biologischen und pharmakologischen Aktivitäten von Saponinen reichen von cytotoxisch und antitumoral über antiphlogistisch und antiallergen, immunmodulierend, antihepatisch, antiviral, hypoglycämisch bis zu fungizid und molluskizid (LACAILLE-DUBOIS & WAGNER, 1996).

#### 3.2.5.2. TESTDURCHFÜHRUNG

Die Untersuchung der Rohextrakte auf Saponine beruht auf deren Eigenschaften als oberflächenaktive Substanzen und der daraus resultierenden Fähigkeit zur Schaumbildung.

Von dem jeweiligen Rohextrakt wurde 1 mL in einem Reagenzglas zu 10 mL Aqua dest. gegeben. Dann wurde das Reagenzglas mit einem Stopfen verschlossen und etwa 1 min lang kräftig geschüttelt. Nach einer Zeit von 30 min in Ruhe erfolgte die Auswertung. Der Schaum, soweit vorhanden, wurde in seiner Höhe ausgemessen.

Keine Schaumbildung oder Schaumbildung, die nicht nach 30 min noch beständig ist, deutet auf eine Abwesenheit von Saponinen hin.

## 3.2.6. TANNINE UND WEITERE PHENOLISCHE KOMPONENTEN

## 3.2.6.1. HINTERGRUND

Tannine sind anorganische und organische Substanzen, die man unter anderem zum Gerben von Leder verwendet (engl. *tanner* = Gerber). Die pflanzlichen Tannine gehören zu den Polyphenolen und eignen sich wegen ihrer eiweißfällenden Eigenschaften hervorragend zum Gerben (RICHTER, 1988, S. 415). Da sie sich hierin von allen anderen Polyphenolen unterscheiden, nutzt man diese Eigenschaft analytisch im nachfolgend beschriebenen Gelatine-Salz-Blocktest (SPENCER *et al.*, 1988).

Allgemein lassen sich die hydrolysierbaren Gerbstoffe als Ester, seltener auch als Glycoside von Monosacchariden oder auch Zuckeralkoholen mit Gallussäure oder von der Gallussäure abgeleiteten polymeren Phenolcarbonsäuren definieren. Man spricht auch von Gallotanninen. Die Gallussäure (Abbildung 33) wird in der Pflanze ausgehend von Shikimisäure gebildet (NUHN, 1990, S. 543).

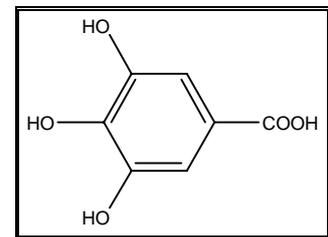


Abbildung 36: Gallussäure

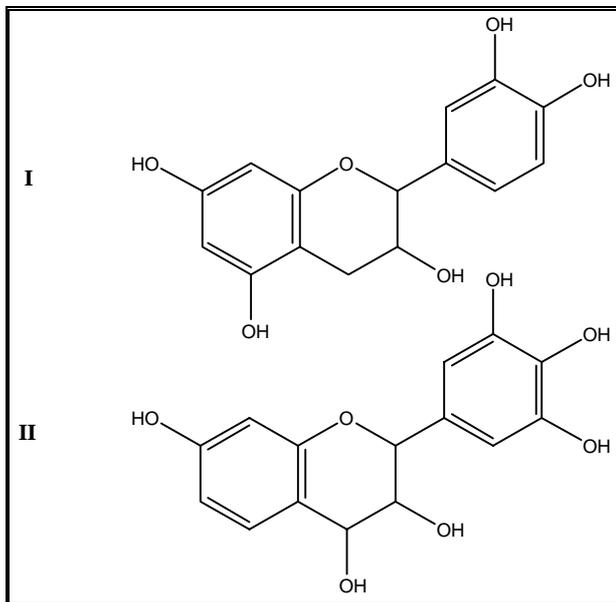


Abbildung 37: Ein Flavan-3-ol (Catechin, I) und ein Flavan-3,4-diol (Robidandiol, II)

Von diesen unterscheidet man die Catechingerbstoffe, die unter Säure- oder Laugeneinfluß zumeist eher zu größeren Molekülen polymerisieren als in Spaltprodukte zerfallen (SCHNEIDER & HILLER, 1999, S. 258). Man spricht von kondensierten Gerbstoffen, aufgebaut aus Catechin (I Abbildung 37) mit Flavan-3,4-diolen (II Abbildung 37) (RICHTER, 1988, S. 427).

Typische Gerbstoffe von sieben ausgewählten offizinellen Drogen sind in Tabelle 1 aufgelistet.

**Tabelle 1: Gerbstoffe offizineller Drogen**

Spezies	Pflanzen- teil	Gerbstoff- gehalt	Gerbstoffe	Literatur
<i>Alchemilla xanthochlora</i> ROTHM.	Kraut	5 – 8 %	Ellagitannine: Agrimoniin 3,5 %, Pedunculagin 1,2 %, Laevigatin F 0,9 %	GEIGER <i>et al.</i> (1994)
<i>Hamamelis virginiana</i> L.	Blätter	mind. 5 %	Gallotannine: $\beta$ -Hamamelitannin Kondensierte Gerbstoffe: Dimere bis hexamere Proanthocyanidine	VENNAT <i>et al.</i> (1988), MAYER <i>et al.</i> (1965)
<i>Krameria lappaceae</i> (DOMB.) BURD. & SIMP.	Wurzel	mind. 10 %	Kondensierte Gerbstoffe: Dimere bis tetradecamere Proanthocyanidine	SCHOLZ & RIMPLER (1989)
<i>Potentilla erecta</i> (L.) RAEUSCHEL	Wurzel	mind. 15 %	Kondensierte Gerbstoffe: Dimere bis hexamere Proanthocyanidine Ellagitannine: Agrimoniin 3,5 %, Pedunculagin 1 %, Laevigatin F 0,12 %, Laevigatin F 0,02 %	KOLODZIEJ & SCHLEPP (1992), VENNAT <i>et al.</i> (1992), GEIGER <i>et al.</i> (1994), LUND & RIMPLER (1985)
<i>Quercus robur</i> L.	Rinde	mind. 10 %	Kondensierte Gerbstoffe: oligomere Proanthocyanidine Ellagitannine: Castelagin, Vescalagin	SCALBERT <i>et al.</i> (1988)
<i>Vaccinium myrtillus</i> L.	Früchte	mind. 1,5 %	Kondensierte Gerbstoffe: oligomere Proanthocyanidine	BRENNEISEN & STEINEGGER (1981)

Neben der technischen Verwendung sind Gerbstoffe insbesondere durch ihre adstringierende Wirkung von Bedeutung, wofür ebenfalls die eiweißfällenden Eigenschaften verantwortlich sind (FORTH *et al.*, 1996, S. 537). Daneben wurden verschiedene Tannine in medizinisch verwendeten Pflanzen als aktives Prinzip nachgewiesen (OKUDA *et al.*, 1989 und OKUDA *et al.*, 1993). Tannine können unter anderem die Replikation des Human Immunodeficiency Virus (HIV) unterbinden (NAKASHIMA *et al.*, 1992) und die Tumorbildung in verschiedenen Stadien hemmen (KASHIWADA *et al.*, 1992). In einem Übersichtsartikel über die antimikrobiellen Eigenschaften der Tannine wird der Einsatz als Holzschutzmittel ebenso diskutiert wie eine mögliche Verwendung in der Kariesprophylaxe (SCALBERT, 1991). Weiter werden den Tanninen teilweise blutdrucksenkende und Radikalfängereigenschaften zugeschrieben (SCHOLZ, 1994).

Eine einheitliche Bezeichnung der Tannine ist in der Literatur nicht gegeben. Im deutschen Sprachraum ist es durchaus üblich, Tannine (hier = Gallotannine) von andern Gerbstoffen (auch Catechingerbstoffen) getrennt zu betrachten. Im Gegensatz dazu soll hier die im anglikanischen Sprachgebrauch übliche Einteilung der Catechingerbstoffe und hydrolysierbaren Tannine als zwei Untergruppen der Stoffgruppe der Tannine beibehalten werden.

Tannine können falsch-positive Ergebnisse im Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Test produzieren (DUNCAN *et al.*, 1999) sowie unter Umständen den Saponinnachweis (s. S. 39) stören (SEGELMAN *et al.*, 1969).

#### 3.2.6.2. TESTDURCHFÜHRUNG

Phenole im Allgemeinen wurden mit einer Eisenchlorid-Lösung nachgewiesen (AL-MESHAL *et al.*, 1982). Die Tannine im speziellen wurden mit dem Gelatine-Salz-Blocktest (SPENCER *et al.*, 1988) nachgewiesen, der in seinen Grundzügen auf die Arbeiten von FONG *et al.* (1973a, b) zurückzuführen ist.

Für die Tests wurde die alkoholische Lösung eines Aliquots des Rohextraktes (ca. 5 mL) verwendet. Zunächst wurden durch die Zugabe von fünf Tropfen 10 %iger NaCl-Lösung die Stoffe ausgefällt, die sonst im eigentlichen Test zu einem falsch-positiven Ergebnis geführt hätten (ADESINA, 1982). Die dann resultierende Lösung wurde durch angefeuchtetes Filterpapier gefiltert, um ein klares und partikelfreies Filtrat zu erhalten. Von dieser Lösung werden jeweils 1 mL in vier Glasröhrchen gegeben.

Röhrchen 1 diene als Kontrolle und wurde nicht mit einem Reagenz versetzt. Wenn es im Laufe des weiteren Tests hier zu einem Niederschlag gekommen ist, wurde der ganze Versuch wiederholt. Röhrchen 2 enthielt als Reagenz fünf Tropfen Gelatine-Lösung (1%), Röhrchen 3 fünf Tropfen einer Lösung aus Gelatine (1 %) und NaCl (10 %) und das 4. Röhrchen vier Tropfen einer wässrigen Eisenchlorid-Lösung (FeCl<sub>3</sub>, 10 %ig).

Ein positives Testergebnis, das auf Phenole hinweist, wird durch eine intensive grüne, lila, blaue oder sogar schwarze Farbe mit der Eisenchlorid-Lösung in Röhrchen 4 angezeigt (AL-MESHAL *et al.*, 1982). Kommt es darüber hinaus zur Bildung eines Niederschlags oder einer Trübung mit den Reagenzien der Röhrchen 2 und 3, wird dies als positiver Hinweis auf Tannine gewertet (SPENCER *et al.*, 1988).

Die Farbe des Eisenchlorid-Tests kann Aufschluß auf die Natur der Tannine geben. Eine Farbe im blauschwarzen Bereich deutet auf Gallotannine hin, während eine eher ins grüne gehende Farbe auf Catechingerbstoffe hinweist (DUNCAN *et al.*, 1999).

### 3.3. BIOLOGISCHES SCREENING

#### 3.3.1. ALLGEMEINES ZUM BIOLOGISCHEN SCREENING

Das biologische Screening soll mit einfachen Tests eine Aussage über die mögliche biologische Aktivität der eingesetzten Rohextrakte zulassen. Die getesteten biologischen Aktivitäten sind:

- Algizide Aktivität
- Fungizide Aktivität (einschließlich Hefen)
- Cytotoxische und antineoplastische Aktivität
- Antibakterielle Aktivität
- Chitinaseinhibitorische Aktivität

Ein positiver Befund bei einem dieser Tests ist kein zwingender Indikator für einen möglichen erfolgreichen Einsatz der getesteten Probe. Weiterführende Untersuchungen sind in diesem Falle nötig, um sowohl die genaue Wirkungsweise als auch mögliche Nebenwirkungen aufzuklären.

Ebenso ist ein negativer Befund kein eindeutiges Zeichen für eine generelle Inaktivität der Probe gegenüber biologischen Systemen. Für diesen Fall müssen sowohl Datum und Ort der Probennahme, die Aufarbeitungsschritte der Probe als auch das Testsystem, mit dem auf biologische Aktivität untersucht wurde, gegebenenfalls überdacht werden.

### 3.3.2. ALGIZIDE AKTIVITÄT

#### 3.3.2.1. HINTERGRUND

Das Screening auf biologische Aktivität der Rohextrakte gegen Algen ist eine einfache Methode, um die Wirkung auf eukaryotische Organismen festzustellen (vgl. auch 3.3.3.). Darüber hinaus besteht die Möglichkeit einer biotechnologischen Anwendung von Substanzen, die gezielt gegen Algen einsetzbar sind.

Die für diese Versuche verwendeten Organismen waren:

- a) Süßwasseralgen
  - *Chlorogonium elongatum*
  - *Euglena gracilis*
  - *Protosiphon botryoides*
- b) Salzwasseralgen
  - *Cryptomonas sp.*
  - *Dunaliella tertiolecta*

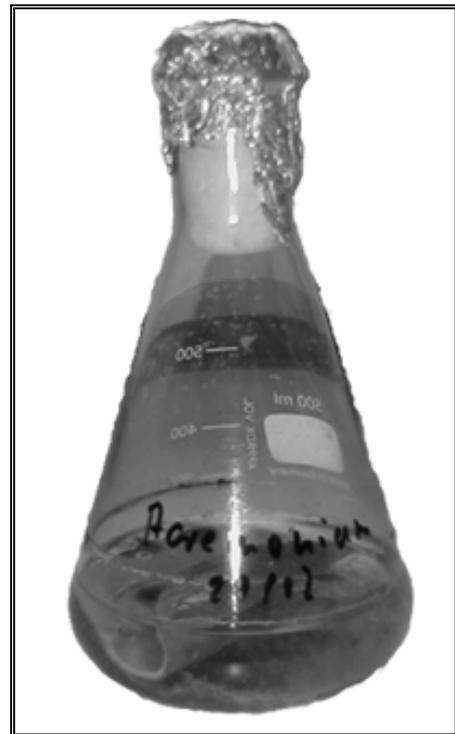


Abbildung 38: Brutkultur in Flüssigmedium (hier mit dem Pilz *Acremonium*)

#### 3.3.2.2. KULTIVIERUNG DER ORGANISMEN

Die für die jeweilige Art verwendeten Nährmedien sind in Anhang III aufgeführt. Alle Algen wurden zunächst in Flüssigkultur (Abbildung 38) angezogen. Diese Brutkulturen wurden im Labor und bei Raumtemperatur inkubiert, die Kulturen auf Festmedium wurden bei 24 h Kunstlicht und Raumtemperatur inkubiert.

#### 3.3.2.3. TESTDURCHFÜHRUNG

Von der Brutkultur wurde jeweils 1,0 mL auf die Agarmedien gebracht worden. Dann wurde aus der Mitte des Agars ein etwa 0,5 cm großes Loch mit einem oberflächensterilen Korkbohrer ausgestochen. In dieses Loch wurde je Platte 200 µL

eines der zu testenden Extrakte einpipettiert. Als Blindwert wurden EtOH als Negativprobe und eine Kaliumjodidlösung (10 %) als Positivprobe eingesetzt. Je Extrakt und Blindwert wurden drei Parallelen angesetzt.

Die Auswertung dieses Agardiffusionstests erfolgt durch das Ausmessen der mehr oder weniger großen Hemmhöfe, die sich um das zentrale Loch mit der Testsubstanz bilden (Abbildung 39).

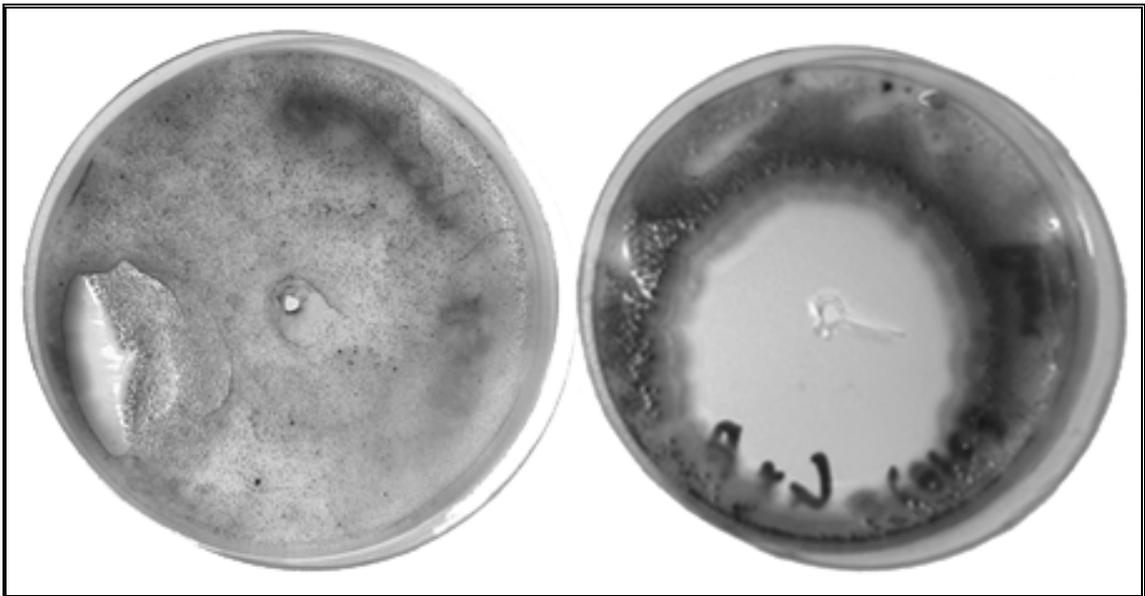


Abbildung 39: Kulturen für den Agardiffusionstest (links negativ, rechts positiv)

### 3.3.3. FUNGIZIDE AKTIVITÄT

#### 3.3.3.1. HINTERGRUND

Der Einfachheit wegen werden Pilze und Hefen hier zusammen betrachtet, auch wenn dies aus taxonomischer Sicht falsch ist. Ebenso wie die algizide Aktivität (vgl. 3.3.2.) stellt auch die Wirkung gegen Pilze und Hefen eine biologische Aktivität gegen Eukaryoten dar. Pilze, ebenso wie Hefen, sind als Krankheitserreger von großer Bedeutung. Insbesondere für den Personenkreis immunsupprimierter Patienten stellen opportunistische Parasiten eine große Gefahr dar. Die bekannten Medikamente gegen Pilzinfektionen (z.B. Azole) bleiben aufgrund resistenter Stämme immer häufiger wirkungslos. Somit ist die Suche nach neuen Wirkstoffen von großer Bedeutung (Fostel & Lartey, 2000).

Die für diese Versuche verwendeten Organismen waren:

#### Pilze

- *Coniosporium perjorans*
- *Exophiala sp.*
- *Acremonium sp.*
- *Cladosporium sp.*
- *Trichoderma sp.*
- *Penicillium sp.*
- *Phoma sp.*

#### Hefen

- *Candida albicans*
- *Rhodoturula mucolagenosa*
- *Saccharomyces carlsbergensis*

#### 3.3.3.2. KULTIVIERUNG DER ORGANISMEN

Für alle Organismen wurde Malzextrakt-Medium (Anhang III) verwendet. Die Pilze und Hefen wurden zunächst in einer Flüssigkultur im Labor bei Raumtemperatur angezogen (Brutkultur). Kulturen auf Festmedien wurden unter gleichen Bedingungen kultiviert.

#### 3.3.3.3. TESTDURCHFÜHRUNG

Die Testvorbereitung und –durchführung erfolgte wie schon unter 3.3.2.3. beschrieben, jedoch mit Actidion (10 %) statt Kaliumjodid-Lösung für die Positivprobe.

### 3.3.4. CYTOTOXISCHE UND ANTINEOPLASTISCHE AKTIVITÄT

#### 3.3.4.1. HINTERGRUND

Die Suche nach Antikrebsmitteln aus Pflanzen geht auf das Jahr 1947 zurück, als die cytotoxischen Eigenschaften von Podophyllotoxin aus *Podophyllum peltatum* (Berberidaceae) entdeckt wurden (KELLY & HARTWELL, 1954). Die Entdeckung der antileukämischen Eigenschaften von Vinblastin und Vincristin aus *Cataranthus roseus* (Apocynaceae) folgten bald (NOBLE *et al.*, 1958) und gaben den Impuls für weitere Untersuchungen von Pflanzenextrakten und deren Einzelkomponenten auf mögliche Antikrebsaktivitäten.

Neben den zwei bereits genannten Arten haben auch *Taxus brevifolia* (Taxaceae), *Ochrosia elliptica* (Apocynaceae) und *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae) klinisch nützliche Wirkstoffe geliefert. Die erste Art ist die Quelle für das Diterpen Taxol, die zweite liefert das Pyridocarbazolalkaloid Ellipticin und die dritte enthält das Pyrrolo[3,4- $\beta$ ]-quinolinalkaloid Camptothecin (HAMBURGER *et al.*, 1991, p.167). Weitere Wirksubstanzen aus Pflanzen oder anderen natürlichen Quellen gegen Krebs sind bei FREI *et al.* (1967), STRAUCH & HILLER (1974), CORDELL & FARNSWORTH (1976), SUFFNESS & DOUROS (1979) und KRAUS (1990) beschrieben.

Cytotoxizität ist eine Eigenschaft, die mit Antitumoraktivität einhergeht. Beinahe jedes natürliche Antitumoragens zeigt einen positiven Befund bei Cytotoxizitätstests. Andererseits muß beachtet werden, daß viele Isolate, auf die man durch einen Test ihrer Cytotoxizität aufmerksam wurde, ebenfalls toxisch auf Spezies der Mammalia wirken und deshalb nicht als Therapeutika in der Krebstherapie in Frage kommen. Cytotoxizität kann in cytostatische und cytocidiale Aktivität unterteilt werden. Um Cytotoxizität zu entdecken, wurden verschiedene Testverfahren entwickelt, um sowohl Einzelsubstanzen als auch Extrakte zu untersuchen (SUFFNESS, 1987, p.85).

Eine der einfachsten zu beobachtenden biologischen Reaktionen ist die Sterblichkeit, da es hier nur ein Kriterium gibt, nämlich tot oder lebendig. Ein Testorganismus für solch ein einfaches Verfahren ist der Salinenkrebs *Artemia salina* LEACH. (SAM, 1993). Er wird seit 1956 für solche Tests verwendet (MICHAEL *et al.*, 1956). Seit damals wird dieses Tier generell zur Untersuchung auf bioaktive Substanzen in Pflanzenextrakten eingesetzt (MEYER *et al.*, 1982). Es wurde sogar für Standardtestverfahren vorgeschlagen (VAN HAECKE & PERSOONE, 1982).

Ein weiterer Organismus zum Testen auf Toxizität ist der Wasserfloh *Daphnia magna* STRAUS. Zuerst erwähnt bei FLÜCKER & FLÜCK (1949) ist er noch immer in Toxizitätstests im Gebrauch (SANDBACKA *et al.*, 2000). *D. magna* STRAUS hat sich als

sensitives (ADEMA, 1978) und im Labor einfach zu handhabendes Modell für toxikologische Studien erwiesen (DE WAART, 1972). Ein Grund für die Beliebtheit von *D. magna* STRAUS als Testobjekt ist seine leichte Kultivierbarkeit (TEN BERGE, 1978) und die Tatsache, daß der Organismus in Kurzzeitmessungen gut reproduzierbare Ergebnisse liefert (CANTON & ADEMA, 1978).

Da es bei diesen Tests möglich ist, alle Mechanismen gleichzeitig zu beobachten, die potentiell die zelluläre Entwicklung betreffen, ist es sehr wahrscheinlich, daß ein bis dahin uncharakterisierter Pflanzenextrakt mit antitumoraler Wirkung einen positiven Befund zeigt (CORDELL *et al.*, 1993).

Ein anderer Test, der sich als nützlich erwiesen hat, beobachtet das Wachstum von Galltumoren auf Kartoffelscheiben (FERRIGNI *et al.*, 1982). Diese Kronengallen sind eine neoplastische Erkrankung von Pflanzen, die von bestimmten Stämmen des Gramnegativen Bakteriums *Agrobacterium tumefaciens* induziert werden (BRAUN & STONIER, 1958). Zuerst berichteten SMITH & TOWNSEND (1907) und JENSEN (1910, 1918) von diesem Phänomen. Ausgelöst wird diese Entartung, die meist nur dicotyle Pflanzen betrifft, durch die Infektion einer Wunde mit *A. tumefaciens*, der dann der Transfer eines großen Plasmids vom Bakterium in die Pflanze folgt (WATSON *et al.*, 1975). Die genetische Information (T-DNA) des großen Ti- (tumor-inducing) Plasmids transformiert normale Pflanzenzellen in autonome Tumorzellen (CHILTON *et al.*, 1980). Hat die Tumorinduktion erst einmal stattgefunden, ist die autonome Proliferation der Tumorzellen absolut unabhängig von den Bakterien (ZAENEN *et al.*, 1974).

GALSKY *et al.* (1980) konnte zeigen, daß das Verhindern der Induktion der Kronengalltumore auf Kartoffelscheiben durch Einzelsubstanzen und Pflanzenextrakte eine gute Übereinstimmung mit dem 3PS-Antitumortest (*in vivo*, Mäuseleukämie) hat. Weiter stimmt auch die Verhinderung des Tumorwachstums mit der 3PS-Aktivität überein (GALSKY *et al.*, 1981).

Die Kombination von *A. salina* LEACH und *D. magna* STRAUS als Testorganismen auf Cytotoxizität und der Kartoffelscheibentest zur Untersuchung auf antineoplastische Aktivität ist sehr vielversprechend. Es handelt sich um einfach durchzuführende Methoden zur Untersuchung von Pflanzenextrakten. Sie sind preiswert und erzielen schnell gute Resultate in einem ersten Test auf neue Wirksubstanzen für die Krebstherapie, dem selbstverständlich weitere folgen müssen, wenn ein Pflanzenextrakt durch seine Wirkung auffällt.

#### 3.3.4.2. CYTOTOXIZITÄTSTEST MIT *ARTEMIA SALINA* LEACH

Der Salinenkrebs *A. salina* LEACH gehört zu den Crustaceae. Weltweit kann man diesen Organismus in allen Ansammlungen von Wasser zwischen brackisch bis hypersalin

antreffen. Unter hypersalinen Bedingungen hat der Krebs in seiner natürlichen Umwelt wenig Konkurrenz und Feinde. Somit bilden sich dort schnell große Populationen aus. Um ein Überleben der Art beim Austrocknen der Wasserlöcher zu gewährleisten, sind die Eier in der Lage, lange Trockenperioden zu überdauern. Erst unter dem Einfluß von Salzwasser setzt die Embryogenese ein, die Larve schlüpft zwischen 16 und 36 h und eine neue Population wird aufgebaut.

Wegen dieser Eigenschaften wurde *A. salina* LEACH nach der ersten Publikation durch MICHAEL *et al.* (1956) zu einem beliebten Testobjekt. Salinenkrebse wurden als Testorganismen in Umweltuntersuchungen, Screenings auf natürliche Toxine und zur Untersuchung biologisch aktiver Substanzen in Pflanzenextrakten eingesetzt (SAM, 1993).

Die Eier sind lange lagerfähig und, da sie in der Aquaristik als Fischfutter verwendet werden, in jeder Zoohandlung erhältlich. Die Eier werden einfach in eine Salzlösung gegeben und binnen 16 bis 36 h schlüpfen die Larven. Dabei ist die Beschaffenheit der Salzlösung für das Gedeihen der Tiere von untergeordneter Bedeutung.

Das erste Stadium nach dem Schlüpfen ist durch die gelborange Färbung des Dottersackes geprägt. Es dauert etwa drei Tage an. In dieser Zeit brauchen die Larven keine Nahrung. Erst später wird die Versorgung der Tiere wichtig. Nach drei bis vier Wochen erreichen die adulten Tiere eine Größe von nicht ganz 1 cm.

#### 3.3.4.2.1. ANZUCHT DER SALINENKREBSE

Die Eier (vgl. Anhang V) wurden in künstlichem Seewasser bei Raumtemperatur im Labor angezogen. Ventilation wurde durch Lufteströmung mittels einer Aquariumpumpe erreicht. Organismen für die Tests mit den Larven (Abbildung 40) wurden etwa 12 h nach dem Schlüpfen entnommen. Die Tiere müssen somit für die Dauer des Tests nicht gefüttert werden. Um adulte Tiere anzuziehen, wurde zunächst mit Anzuchtfutter I (vgl. Anhang V), dann mit Anzuchtfutter II (vgl. Anhang V) gefüttert. Bei den Tests mit adulten Tieren wurde ebenfalls mit Anzuchtfutter II gefüttert.



Abbildung 40: *Artemia salina* LEACH Larve

#### 3.3.4.2.2. WIRKUNG AUF DIE EMBRYOGENESE UND DIE ENTWICKLUNG DER EIER

Um die Wirkung der Rohextrakte auf die Embryogenese und die Entwicklung der Eier von *A. salina* LEACH zu untersuchen, wurden 200 µL der zu testenden Lösung in ein Rollrandgläschen einpipettiert. Dann wurden 5 mL künstliches Seewasser zugegeben und 0,1 mg Eier eingewogen. Die neun Gläschen je Rohextrakt (drei Parallelen, drei Negativ-, drei Positivblindproben) wurden durch den Luftstrom einer Aquariumpumpe belüftet. Um die Auswertung zu erleichtern, wurden die Gläschen in dunkles Papier eingewickelt. So konnten die geschlüpften Larven aufgrund ihrer positiven Phototaxis mit einer kleinen Taschenlampe an einen bestimmten Punkt am oberen Glasrand gelockt werden, was das vollständige Abpipettieren der Organismen erleichterte.

Die Auswertung begann nach 16 h. Es wurden alle lebenden Tiere, soweit erkennbar, mit einer Pasteurpipette abgezogen und ausgezählt. Dieser Vorgang wurde noch siebenmal alle weitere 60 min wiederholt. Neben der Anzahl der geschlüpften Tiere wurde auch auf die Form und Mobilität der Larven geachtet.

#### 3.3.4.2.3. AKUTE WIRKUNG AUF DIE LARVEN

Der Test auf akute Toxizität mit den Larven von *A. salina* LEACH wurde in kleinen Rollrandgläschen durchgeführt. Je Rohextrakt wurden drei parallele Ansätze durchgeführt. Ebenfalls dreifach wurden die Positivblindprobe mit 200 µL Quecksilberchloridlösung (1%ig) und die Negativblindprobe mit 200 µL Ethanol angesetzt. Von dem jeweiligen Rohextrakt wurden 200 µL eingesetzt worden. Dann wurden 4,5 mL künstliches Seewasser und 500 µL Larvensuspension mit etwa 10 – 80 Organismen zupipettiert. Nach 6 h wurden die tot am Boden liegenden Larven ausgezählt und die Gesamtzahl festgestellt (nach LINCOLN *et al.*, 1996; modifiziert nach SAM, 1993).

Es wurden aus organisatorischen Gründen sieben Rohextrakte gleichzeitig angesetzt und untersucht. Für jede Charge wurden Positiv- und Negativblindwerte ermittelt. Zur Auswertung wurde der Inhalt der Rollrandgläschen vollständig in eine kleine Petrischale (Ø = 6 cm) überführt. Mit einem Tageslichtprojektor wurde diese auf eine Wand projiziert, was die Unterscheidung zwischen lebenden und toten Tieren sehr viel leichter machte.

#### 3.3.4.2.4. CHRONISCHE WIRKUNG AUF DIE LARVEN

Der Test auf chronische Toxizität mit den Larven von *A. salina* LEACH wurde ebenso wie der auf akute Toxizität (vgl. 3.3.4.2.3.) durchgeführt. Die Auswertung erfolgte aber erst nach 24 h.

#### 3.3.4.2.5. AKUTE WIRKUNG AUF DIE ADULTEN TIERE

Der Test auf akute Toxizität mit den etwa vier Wochen alten Salinenkrebsen wurde in kleinen Rollrandgläsern durchgeführt. Je Rohextrakt wurden drei parallele Ansätze durchgeführt. Ebenfalls dreifach wurden die Positivblindprobe mit 200 µL Quecksilberchloridlösung (1%ig) und die Negativblindprobe mit 200 µL Ethanol angesetzt. Von dem jeweiligen Rohextrakt wurden 200 µL eingesetzt. Dann wurden 5 mL künstliches Seewasser zupipettiert. Diesem Seewasser wurde zuvor etwa eine Spatelspitze Anzuchtfutter II pro 500 mL zugesetzt, um sicher zu gehen, daß die Tiere nicht im Verlauf des Tests verhungerten. Dann wurden 10 Salinenkrebse zugesetzt. Nach 6 h wurden die tot am Boden liegenden Tiere ausgezählt.

Es wurden aus organisatorischen Gründen sieben Rohextrakte gleichzeitig angesetzt und untersucht. Für eine solche Charge wurden je einmal der Positiv- und der Negativblindwert ermittelt.

#### 3.3.4.2.6. CHRONISCHE WIRKUNG AUF DIE ADULTEN TIERE

Der Test auf chronische Toxizität mit den Salinenkrebsen wurde ebenso wie der auf akute Toxizität (vgl. 3.3.4.2.5.) durchgeführt. Die Auswertung erfolgte erst nach 24 h.

#### 3.3.4.3. CYTOTOXIZITÄTSTEST MIT *DAPHNIA MAGNA* STRAUS

Der Wasserfloh *D. magna* STRAUS gehört zu den Crustaceae. Im Frühling und Sommer kann man Wasserflöhe in allen erdenklichen Wasseransammlungen finden. Als Fischfutter sind sie nur gelegentlich im Aquarienhandel erhältlich.

Toxizitätsuntersuchungen mit *D. magna* STRAUS sind recht häufig in der Literatur beschrieben worden. Die Arbeit von CROSBY & AHARONSON (1967) diente als Vorlage für den hier durchgeführten Test, der nach DE WAART *et al.* (1972) verändert wurde.

Der Test auf eine toxische Wirkung mit *D. magna* STRAUS wurde in kleinen Rollrandgläsern durchgeführt. Je Rohextrakt wurden drei parallele Ansätze durchgeführt. Ebenfalls dreifach wurden die Positivblindprobe mit 400 µL Quecksilberchloridlösung (1%ig) und die Negativblindprobe mit 400 µL Ethanol angesetzt. Von dem jeweiligen Rohextrakt sind 400 µL eingesetzt worden. Dann wurden 10 mL künstliches Seewasser zupipettiert. Diesem Seewasser wurde zuvor etwa eine Spatelspitze Anzuchtfutter II pro 500 mL zugesetzt, um sicher zu gehen, daß die Tiere nicht im Verlauf des Tests verhungerten. Dann wurden 10 Wasserflöhe zugesetzt. Nach 48 h wurden die tot am Boden liegenden Tiere ausgezählt.

Es wurden aus organisatorischen Gründen sieben Rohextrakte gleichzeitig angesetzt und untersucht. Für eine solche Charge wurden je einmal der Positiv- und der Negativblindwert ermittelt.

#### 3.3.4.4. TEST AUF ANTINEOPLASTISCHE AKTIVITÄT (POTATOE-DISK-ASSAY)

##### 3.3.4.4.1. HINTERGRUND

Kronengallen sind neoplastische Erkrankungen von Pflanzen, die durch das gramnegative Bakterium *Agrobacterium tumefaciens* ausgelöst werden (BRAUN & STOINER, 1958; LIPPINCOTT & LIPPINCOTT, 1975). Die Bakterien enthalten tumorinduzierende Plasmide (ZAENEN *et al.*, 1974), die die genetische Informationen tragen, die für die Transformation von normalen Pflanzenzellen in autonome Tumorzellen verantwortlich sind (WATSON *et al.*, 1975; CHILTON *et al.*, 1980). Einigen Tumorgenese-mechanismen, sowohl bei Pflanzen als auch bei Tieren, ist die intrazelluläre Einbau von Nucleinsäuren gemein (BRAUN, 1972). Es konnte mit Einzelsubstanzen und Pflanzenextrakten gezeigt werden, daß das Unterbinden der Initiierung von Krongalltumoren auf Kartoffelscheiben mit der Wirkung im 3PS-Antitumortest (*in vivo*, Mäuseleukämie) korreliert und daß die Wirkung nicht darin besteht, daß eine antibakterielle Wirkung zugrunde liegt (GALSKY *et al.*, 1980). Ebenso konnte eine Übereinstimmung in der Wachstumshemmung von Krongalltumoren und der Aktivität im 3PS-Modell gezeigt werden (GALSKY *et al.*, 1981).

##### 3.3.4.4.2. DURCHFÜHRUNG

Der Kartoffelscheiben-Test beruht auf der Beschreibung von FERRIGNI *et al.*, 1982. Für den Versuch wurden Kartoffelknollen (*Solanum tuberosum*) von moderater Größe benutzt. Die Knollen wurden für 20 min in einer Natriumhypochloritlösung (Chlorox) eingelegt, um sie oberflächensteril zu machen. Dann wurden die Enden abgeschnitten und die Knollen erneut für 10 min in Chlorox eingelegt. Den so behandelten

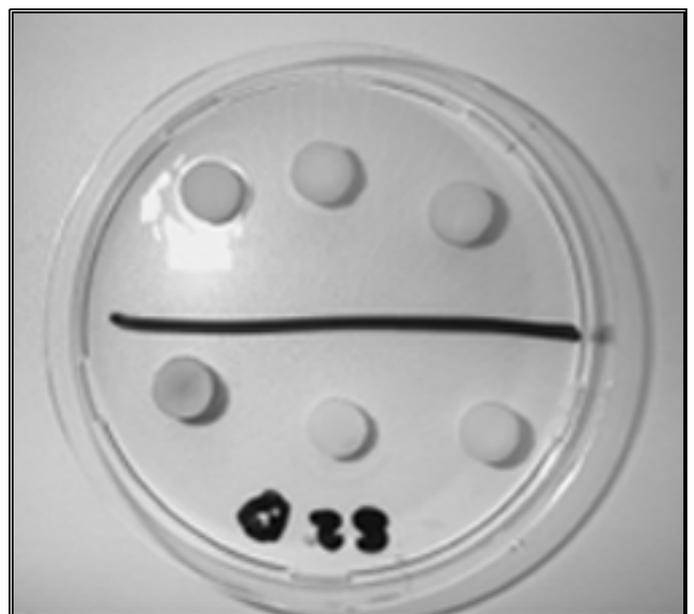


Abbildung 41: Testplatte für den Potatoe-Disk-Assay

Kartoffeln wurden mit einem oberflächensterilisierten Bohrer ein Kern von etwa 1 cm Durchmesser entnommen. Von diesem Zylinder wurden an jedem Ende 2 cm abgeschnitten und verworfen. Der übrige Kern wurde in Scheiben von je 0,5 cm geschnitten. Sechs dieser Scheiben wurden auf eine Petrischale mit PDA-Agar gebracht. Drei solcher Petrischalen (Abbildung 41) wurden für den Test je eines Rohextraktes verwendet.

*Agrobacterium tumefaciens* Stamm B6 (DSMZ30205) wurde von der DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig bezogen. Die Anzucht einer Brutkultur erfolgte im 500 mL-Kolben mit PDA-Medium bei Raumtemperatur im Labor. Die Zellzahl betrug zur Zeit der Testdurchführung  $5 \cdot 10^9$  Zellen  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>.

Von jedem einzelnen Rohextrakt wurde 1 mL steril filtriert. Von dieser Lösung wurden unter sterilen Bedingungen 0,5 mL zu 1,5 mL sterilem Aqua dest. und 2 mL einer etwa 48 h alten Brutkultur von *Agrobacterium tumefaciens* gegeben. Von dieser Suspension wurden steril 50  $\mu$ L auf je drei der sechs Kartoffelscheiben pro Agarplatte gebracht. Die anderen drei Kartoffelscheiben wurden mit einer Suspension angeimpft, die keinen Rohextrakt enthielt, sondern weitere 0,5 mL steriles Wasser. Die so präparierten Petrischalen wurden bei Raumtemperatur im Labor neun Tage inkubiert. Dann wurden die Kartoffelscheiben, die zu Beginn des Experiments ohne Rohextrakt angeimpft wurden, mit 50  $\mu$ L Rohextrakt behandelt.

Nach weiteren neun Tagen wurden die Tumore unter dem Binokular ausgezählt. Hierfür wurden die Kartoffelscheiben mit LUGOL'scher Lösung angefärbt (Abbildung 42), da die Tumore sonst nur schwer erkennbar sind (Abbildung 43). Die Tumorzellen enthalten keine Stärke und färben sich entsprechend nicht an. Ein Kontrollversuch wurde mit 1 mL Ethanol statt des Rohextraktes durchgeführt.

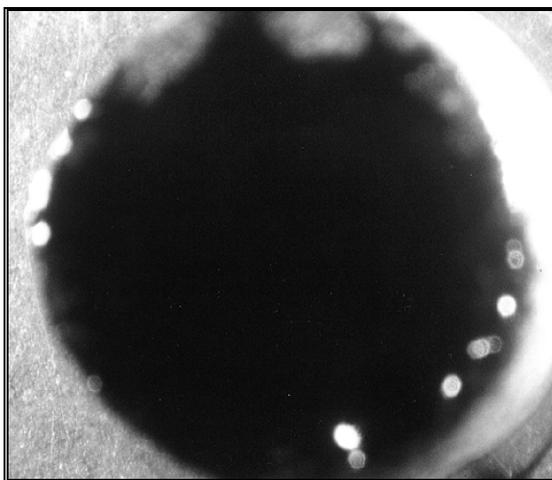


Abbildung 42: Kartoffelscheibe mit Tumoren, angefärbt mit LUGOL'scher Lösung

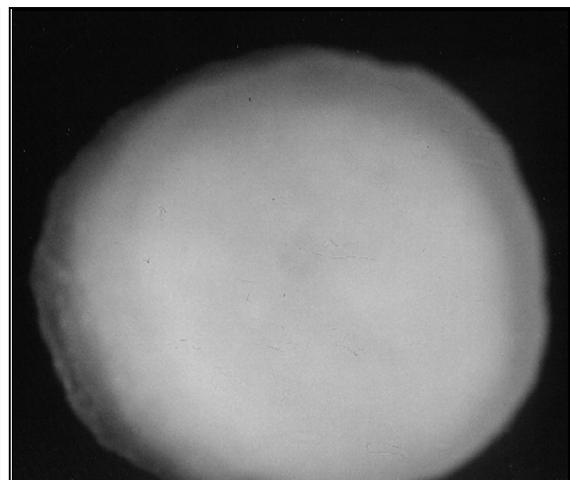


Abbildung 43: Kartoffelscheibe mit Tumoren, ohne Anfärbung

Die durchschnittliche Anzahl an Tumoren wurde nach MCLAUGHLIN *et al.* (1991) berechnet:

$$\text{Percentage of inhibition} = 100 - \frac{\text{Average number of tumours per sample disc}}{\text{Average number of tumours per control disc}} \cdot 100\%$$

### 3.3.5. ANTIBAKTERIELLE AKTIVITÄT

#### 3.3.5.1. HINTERGRUND

Wie schon bei den Tests der Wirkung der Extrakte auf eukaryotische Mikroorganismen beschrieben (3.3.2. und 3.3.3.), gilt auch hier das Interesse der Suche nach neuen Wirksubstanzen. In diesem Fall wurden verschiedene Bakterien als Testorganismen eingesetzt. Diese waren:

#### Gram-positive

- *Bacillus cereus*
- *Bacillus megaterium*
- *Bacillus subtilis*
- *Micrococcus luteus*

#### Gram-negative

- *Escherichia coli*
- *Enterobacter aerogenes*

#### 3.3.5.2. KULTIVIERUNG DER ORGANISMEN

Für alle Organismen wurde BR11-Medium verwendet. Die Bakterien wurden zunächst in einer Flüssigkultur im Labor bei Raumtemperatur angezogen (Brutkultur). Festmedien wurden im Brutschrank bei 37 °C kultiviert.

#### 3.3.5.3. TESTDURCHFÜHRUNG

Die Testvorbereitung und –durchführung erfolgte wie unter 3.3.2.3. beschrieben, jedoch mit Chloramphenicol-Lösung (10 %) statt Kaliumjodid-Lösung für die Positivprobe.

### 3.3.6. CHITINASEINHIBITORISCHE AKTIVITÄT

#### 3.3.6.1. HINTERGRUND

Poly-(N-Acetyl-1,4- $\beta$ -D-Glucosamin) oder Chitin (Abbildung 44) ist ein in der Natur weit verbreitetes Biopolymer. Entdeckt und zuerst bearbeitet wurde Chitin von BRACONNOT (1811).

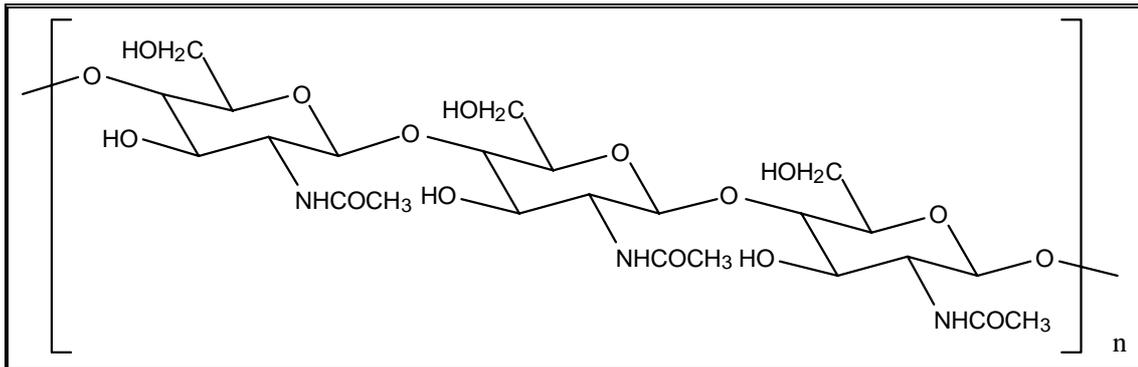


Abbildung 44: Poly-(N-Acetyl-1,4- $\beta$ -D-Glucosamin) oder Chitin

Es ist die Grundsubstanz für das Exoskelett von Insekten, Mollusken (neben Calciumcarbonat), Protozoen und der Zellwände höherer Pilze. Die geschätzte jährliche Produktion von  $10^8$  t zeigt die Bedeutung dieser Substanz in der Natur (MUZARELLI, 1977).

Arthropoden (und damit Insekten) häuten ihre Cuticula (das Exoskelett) periodisch. Im Verlauf der Häutung wird eine neue Epicuticula gebildet, durch die hindurch Enzyme sezerniert werden, welche die alte Endocuticula verdauen. Dann wird eine neue Procuticula synthetisiert, anschließend folgt der Schlüpfvorgang, die neue Cuticula streckt sich, wird dunkel und verhärtet (Sklerotisierung) (REMANE *et al.*, 1989, S. 47).

Die Inhibierung des Enzyms Chitinase, das vornehmlich am Abbau der alten Endocuticula beteiligt ist, führt zum Tod des Insekts bei der Häutung und hat sich als nützlicher Ansatzpunkt bei der Kontrolle von Insektenpopulationen erwiesen (KOGA *et al.*, 1987). Bei Pilzen kann der Zellwandabbau (wichtig in der Zellteilung) gestoppt werden, was letztlich zum Tod führt. Dieses Wirkprinzip findet man z.B. bei dem Fungizid Polyoxin (ISONO & SUZUKI, 1979).

#### 3.3.6.2. KULTIVIERUNG DER ORGANISMEN

Für den Test wurde das Bakterium *Cytophaga* sp. (DSM3657, bezogen von der DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig)

eingesetzt. Die Anzucht der Brutkulturen wurde in Cy-Medium im Labor bei Raumtemperatur durchgeführt.

#### 3.3.6.3. TESTDURCHFÜHRUNG

Die Testdurchführung beruht im wesentlichen auf den Ausführungen von IZUMIDA *et al.* (1995). Wie dort beschrieben, wurden Petrischalen mit B2-Medium verwendet. Zusätzlich wurde dem Medium  $1,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  Chitin beigemischt. Wie unter 3.3.2.3. wurde ein Loch für die Aufnahme der gelösten Testsubstanzen vorbereitet, dann der Organismus von einer Brutkultur auf den Agar inokuliert und schließlich der jeweilige Extrakt einpipettiert. Für den Negativblindwert wurde das gleiche Lösungsmittel wie für den Extrakt eingesetzt. Um den Positivblindwert zu bestimmen, wurde eine wässrige Kupfersulfat-Lösung (1,0 mmol) verwendet.

Nach fünf Tagen Inkubation bei 37 °C wurden die Ergebnisse ausgewertet. Der durch das kolloidale Chitin trübe Agar klart dort auf, wo das Bakterium mit seiner Chitinaseaktivität das Chitin verdaut. Ein eingesetzter Chitinasehemmer, wie z.B. die  $\text{CuSO}_4$ -Lösung, verhindert den Abbau, der Agar bleibt trüb. Es entsteht ein inverser Hemmhof.

Parallel zu dem beschriebenen Ansatz zum Test auf chitinaseinhibitorische Aktivität mußte der Testorganismus auf seine Verträglichkeit mit den Extrakten getestet werden. Es sollte so sichergestellt werden, daß die inversen Hemmhöfe auch wirklich auf die Verringerung der Chitinaseaktivität zurückzuführen sind und nicht auf eine antibakterielle Aktivität der Extrakte gegen den Testorganismus. Hierfür wurde der gleiche Ansatz wie in 3.3.5.3. gewählt. Als Nährlösung wurde Cy-Medium verwendet.

### 3.3.7. GEZIELTE WIRKSTOFFSUCHE

#### 3.3.7.1. ALLGEMEINES

Nachdem die vorstehend beschriebenen Screenings abgeschlossen waren, wurden zwei Pflanzen weitergehend untersucht. Hiermit soll gezeigt werden, daß die eingehend gestellte Aufgabe, Entscheidungskriterien für weiterführende Untersuchungen bereitzustellen, erfüllt wurde. Dementsprechend wurde die Auswahl an Hand der Ergebnisse der Screenings getroffen. Eine weitere Rolle spielte die Verfügbarkeit des Pflanzenmaterials.

Für die gezielte Wirkstoffsuche wurden zum einen *Triglochin maritimum* L. und zum anderen *Salicornia europaea* L. ausgewählt. Beide Spezies kommen in ausreichend großer Menge in den Salzwiesen vor, sind typische Vertreter dieser Flora und unterliegen keiner weiteren Schutzbestimmung.

#### 3.3.7.2. *TRIGLOCHIN MARITIMUM* L.

##### 3.3.7.2.1. HINTERGRUND

*T. maritimum* L. (Abbildung 45) wurde ausgewählt, weil die in der Literatur erwähnte fungizide Aktivität (2.10.) im biologischen Screening bestätigt werden konnte (4.2.2.1.) und fungizide Wirkstoffe von großem Interesse sind (3.3.3.1.). Das chemische Screening ergab jedoch nur das Vorhandensein phenolischer Komponenten, ohne daß diese näher bestimmbar waren (4.1.5.2.). Diese Kenntnisse waren ausschlaggebend für die Entscheidung zur Suche nach dem oder den fungiziden Wirkstoffen der Spezies.

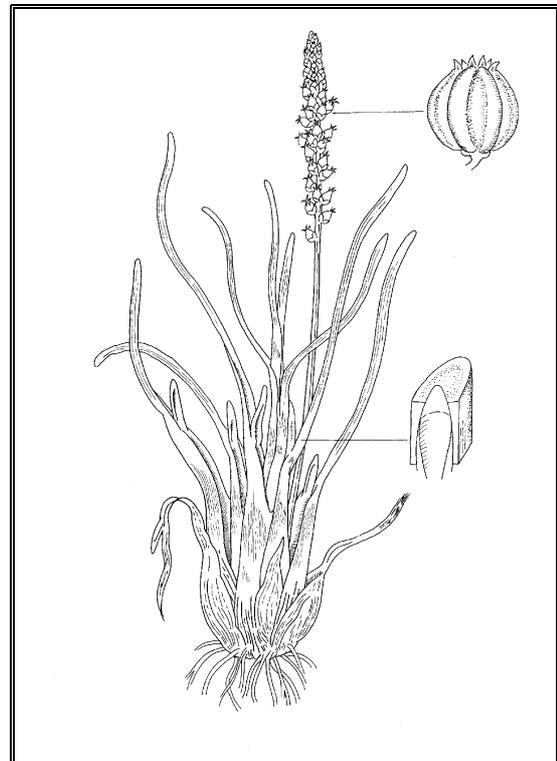


Abbildung 45: *Triglochin maritimum* L., aus

KÜNNEMANN & GAD, 1997

## 3.3.7.2.2. DURCHFÜHRUNG

Zunächst wurde für die gezielte Wirkstoffsuche neues Pflanzenmaterial am 03. 05. 2000 bei Cäciliengroden (Naturlehrpfad in der Salzwiese) gesammelt. Die Rohdroge wurde wie unter 3.1. bereitet und fraktionierend extrahiert. Prüfung auf Aktivität erfolgte wie unter 3.3.3. beschrieben. Nach jedem Aufarbeitungsschritt wurde die biologische Aktivität überprüft und die inaktive Fraktion verworfen.

Die Toluolfraktion wurde mit Ethanol ausgeschüttelt (dreimal, je gleiche Volumina wie Toluol). Die ethanolische Fraktionen wurden vereinigt, am Rotationsverdampfer eingengt, zweimal in Toluol umkristallisiert und erneut in Ethanol aufgenommen. Die ethanolische Lösung wurde am GC-MS geprüft. Die Spezifikationen der GC-MS-Parameter waren:

GC	: Carlo Erba Instruments HRGC 5160
MS	: Finnigan Mat ITD 700 (Ion Trap Detection)
Säule	: SGE; ID-BP1 0,25 µm 25 m x 0,22 mm (Dimethylpolysiloxan)
Temperatur	: 70 °C 3 min 10 °C · min <sup>-1</sup> bis 170 °C 5 °C · min <sup>-1</sup> bis 300 °C 300 °C 10 min
Injektor	: 200 °C
Interface	: 280 °C
GC-MS	: 280 °C
Gasfluß	: 0,7 mL · sec <sup>-1</sup> (Helium)
Detektionsmode	: Fullscan (30 – 385) Scantime 1 sec Scanrate 7 · sec <sup>-1</sup>

Um das so erhaltene Ergebnis zu verifizieren, wurde Pflanzenmaterial ein zweites Mal rein chemisch, d.h. ohne Kontrolle der biologischen Aktivität, untersucht. Hierfür wurden 50 g Rohdroge mit 2 M HCl ca. 30 min unter Rückfluß gekocht. Nach der sauren Hydrolyse wurde die erkaltete Lösung gefiltert und mit Ether ausgeschüttelt (dreimal, je gleiche Volumina wie wässrige HCl). Die etherischen Fraktionen wurden vereinigt und zweidimensional auf einer Silicagelplatte chromatographiert. Als erstes Lösungsmittelgemisch (LGI) wurde HOAc : CHCl<sub>3</sub> (1 : 9) eingesetzt, dann (LGII) EtOAc : Toluol (9 : 11). Zum Prüfen auf Identität wurden dünnschichtchromatographisch die Zucker D(+)-Glucose, D(-)-Lyxose, Trehalose, D(+)-Galactose, Raffinose, D(+)-Lactose, *meso*-Erythrit und D(-)-Sorbit getestet.

3.3.7.3. *SALICORNIA EUROPAEA* L.

## 3.3.7.3.1. HINTERGRUND

*S. europaea* L. (Abbildung 46) wurde ausgewählt, weil die Spezies eine große Bandbreite an biologischen Aktivitäten zeigte. Der ethanolische Extrakt war cytotoxisch (4.2.3.1. und 4.2.3.3.), wirkte antineoplastisch (4.2.3.5.) und zeigte gute Wirkung gegen eukaryotische Mikroorganismen (4.2.1.1. und 4.2.2.1). Das chemische Screening deutete auf das Vorhandensein von Cumarinen (4.1.2.1) und Flavonoiden (4.1.3.1) hin. Diese Kenntnisse waren ausschlaggebend für die Suche nach dem oder den Wirkstoffen der Spezies.

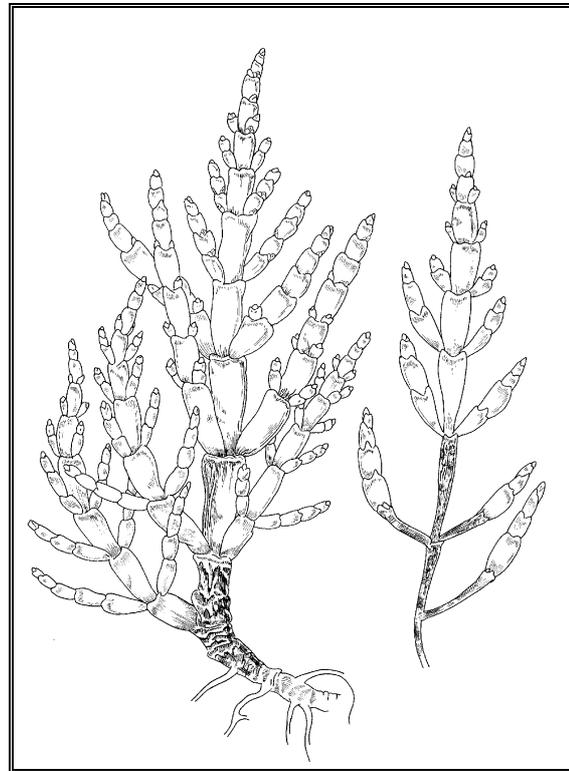


Abbildung 46: *Salicornia europaea* L., aus  
KÜNNEMANN & GAD, 1997

## 3.3.7.3.2. DURCHFÜHRUNG

Zunächst wurde für die gezielte Wirkstoffsuche neues Pflanzenmaterial am 02. 08. 2000 bei Cäciliengroden (Naturlehrpfad in der Salzwiese) gesammelt. Die Rohdroge wurde wie unter 3.1. bereitet und fraktionierend extrahiert. Prüfung auf Aktivität erfolgte wie unter 3.3.2. und 3.3.3. beschrieben. Nach jedem Aufarbeitungsschritt wurde die biologische Aktivität überprüft und die inaktive Fraktion verworfen.

Die Ethanolfraktion wurde säulenchromatographisch aufgetrennt. Die Säule (30 cm lang, Volumen = 20 mL) wurde mit Puderzucker als stationäre Phase beschickt. Als Laufmittel wurden Diethylether und Aceton eingesetzt (in dieser Reihenfolge). Je Laufmittel wurden fünf Fraktionen aufgenommen.

Prüfung der biologisch aktiven Fraktion erfolgte mittels UV-VIS-Spektroskopie und Dünnschichtchromatographie an Silicagel mit Aceton als Laufmittel. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht. Die geeignete Fraktion wurde auf Silicagel mit vier

verschiedenen Laufmitteln chromatographiert, die Reaktion auf UV-Licht geprüft und der jeweilige  $R_f$ -Wert festgestellt. Die verwendeten Laufmittel waren:

- I.  $n$ -BuOH : HOAc : H<sub>2</sub>O (4 : 1 : 5)
- II.  $n$ -BuOH : NH<sub>4</sub>OH (1 : 1)
- III.  $n$ -BuOH : EtOH : H<sub>2</sub>O (4 : 1 : 2,2)
- IV. H<sub>2</sub>O

Um das so erhaltene Ergebnis zu verifizieren, wurde erneut rein chemisch, ohne Kontrolle der biologischen Aktivität Pflanzenmaterial untersucht. Hierfür wurden 50 g Rohdroge mit 2 M HCl ca 30 min unter Rückfluß gekocht. Nach der sauren Hydrolyse wurde die erkaltete Lösung gefiltert und mit Ether ausgeschüttelt (dreimal, je gleiche Menge wie wässrige HCl). Die etherischen Fraktionen wurden vereinigt und säulenchromatographisch (wie oben) mit  $n$ -BuOH : HOAc : H<sub>2</sub>O (4 : 1 : 5) als Laufmittel gereinigt. Die erhaltenen Fraktionen (in 10 mL Schritten) wurden UV-VIS-spektroskopisch geprüft und auf Silicagelplatten mit Aceton als Laufmittel auf Reinheit geprüft (mit UV-Licht, wie oben).

Die so erhaltene reine Fraktion wurde in Toluol unter Erhitzen aufgenommen und zweimal umkristallisiert (Prüfen auf Reinheit wie oben). Nach dem dritten Lösen in Toluol wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig abgezogen. Der erhaltene Rückstand wurde durch Prof. Metzger spektroskopisch untersucht (<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, Massenspektrum) und das so erhaltene Ergebnis durch eine Schmelzpunktanalyse verifiziert.

## 4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

„Mein Herz trägt Blüten und Früchte inmitten der Nacht ...  
Ich, Cinteotel<sup>1</sup>, bin im Paradies geboren. Aus dem Blumenland komme ich...  
Ein neuer, siegreicher Gott. ...  
bunt wie ein Quetzal, eine neue liebliche Blume.“

*Aztekische Hymne*  
(NICHOLSON 1967, S. 115 ff.)

### 4.1. ERGEBNISSE UND DISKUSSION DES CHEMISCHEN SCREENINGS

#### 4.1.1. ALKALOIDE

##### 4.1.1.1. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Alkaloidtests mit den beiden Testreagenzien nach MAYER und WAGNER sind in Tabelle 2 dargestellt.

##### 4.1.1.2. DISKUSSION

Alkaloide waren in *Armeria maritima* (MILL.) WILLD., *Artemisia maritima* L., *Odontites litoralis* FR., *Ononis spinosa* L. und *Plantago maritima* L. nachzuweisen (5 von 28 Arten, etwa 18 %). Vier weitere Spezies produzierten nur einen positiven der geforderten zwei Nachweise, was wahrscheinlich auf falsch-positive Reaktionen zurückzuführen ist. Da nach FARNSWORTH (1966) etwa 10 bis 20 % aller terrestrischen Pflanzen Alkaloide führen, liegen die hier erzielten Ergebnisse in einem akzeptablen Bereich.

Bei *P. maritima* L. und *A. maritima* (MILL.) WILLD. decken sich die Befunde mit denen aus der Literatur (HULTIN & TORSELL, 1965). Über *O. spinosa* L. und *A. maritima* L. gibt es keine Literaturangaben zum Alkaloidgehalt. Die Literaturangaben zu *O. litoralis* FR. (HULTIN & TORSELL, 1965) widersprechen den hier erhaltenen Ergebnissen.

---

<sup>1</sup> Cinteotel ist der Blumenprinz (auch Xochipilli), der aztekische Gott der psychoaktiven Pflanzen, der Erotik, des Frühlings, der Inspiration und Musik

**Tabelle 2: Ergebnisse der Alkaloidtests**

Art	MAYER´s R.	WAGNERS´ R.	enthält Alkaloide
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-	-	-
<i>Apium graveolens</i> L.	-	-	-
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	+	+	+
<i>Artemisia maritima</i> L.	+	+	+
<i>Aster tripolium</i> L.	-	-	-
<i>Carex distans</i> L.	-	-	-
<i>Carex extensa</i> GOOD	-	-	-
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW)	-	-	-
<i>Cochlearia anglica</i> L.	-	+	-
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-	-	-
<i>Glaux maritima</i> L.	-	-	-
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	-	-	-
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	-	-	-
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	-	-	-
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	-	-	-
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	-	-	-
<i>Odontites litoralis</i> FR.	+	+	+
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	-	-	-
<i>Ononis spinosa</i> L.	+	+	+
<i>Plantago maritima</i> L.	+	+	+
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-	-	-
<i>Salicornia europaea</i> L.	-	-	-
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-	-	-
<i>Spergularia media</i> L.	+	-	-
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	+	-	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-	-	-
<i>Trifolium repens</i> L.	-	-	-
<i>Triglochin maritimum</i> L.	+	-	-

Ebenfalls andere Ergebnisse als in der vorliegenden Untersuchung gibt es für *Leontodon autumnalis* L., der von CHANDLER & HOOPER (1979) positiv getestet wurde. Weitere widersprüchliche Angaben gibt es zu *Salicornia europaea* L., die aus verschiedenen Regionen kommen. Von positiven Alkaloidreaktionen berichten BORKOWSKI & DROST (1965) mit Probenmaterial aus dem polnischen Ostseeraum und SANDBERG *et al.* (1967) mit Probenmaterial aus Ägypten. Schwedische Proben ergaben dagegen negative Resultate (HULTIN & TORSSELL, 1965).

Von den negativen Ergebnissen werden durch die Literatur die für *Suaeda maritima* (L.) DUM. (HULTIN & TORSSELL, 1965; SAXENA, 1975), *Trifolium repens* L. (KAPOOR *et al.*,

1971), *Triglochin maritima* L., *Limonium vulgare* MILL. und *Glaux maritima* L. (die letzten drei: HULTIN & TORSELL, 1965) bestätigt. Zu allen anderen Pflanzenarten gibt es keine Angaben über den Alkaloidgehalt.

Die erwähnten widersprüchlichen Ergebnisse können auf saisonale Effekte und auf den Einfluß unterschiedlicher Umweltbedingungen zurückzuführen sein, da insbesondere die Methabolite des Sekundärstoffwechsels nicht grundsätzlich gebildet werden müssen. Oft stellen sie eine Reaktion des Organismus dar, die durch Umweltreize ausgelöst werden. Beim Ausbleiben der entsprechenden Einflüsse von außen bleibt somit u.U. auch die Bildung der Sekundärmethabolite aus.

Von *Triglochin maritimum* L. ist beispielsweise bekannt, daß der Gehalt an cyanogenen Glycosiden mit der Blüte stark ansteigt (vgl. 2.10). Die Bildung von Phytoalexinen wird grundsätzlich nur durch einen entsprechenden Elicitor induziert (GROSS, 1977). Die Natur dieses Elicitors kann dabei sehr vielfältig sein. Es kann sich hierbei um Parasiten handeln, die durch Fraß die Pflanze schädigen, Pilzbefall oder auch unterschiedliche Strahlungsbedingungen (YOSHIKAWA, 1978). Die Gründe für sich widersprechende Ergebnisse bei Untersuchungen wie den hier durchgeführten sind damit sehr vielfältig.

## 4.1.2. CUMARINE

## 4.1.2.1. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Untersuchung auf Cumarine sind in Tabelle 3 dargestellt.

**Tabelle 3: Ergebnisse des Tests auf Cumarine**

Art	Sublimat (bei 100 mbar, 165-175 °C)	Fällung mit Quecksilberacetat	enthält Cumarine
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-	-	-
<i>Apium graveolens</i> L.	+	+	+
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	-	-	-
<i>Artemisia maritima</i> L.	-	-	-
<i>Aster tripolium</i> L.	+	+	+
<i>Carex distans</i> L.	-	-	-
<i>Carex extensa</i> GOOD	-	-	-
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW) DRUCE.	-	-	-
<i>Cochlearia anglica</i> L.	-	-	-
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	+	+	+
<i>Glaux maritima</i> L.	-	-	-
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	-	-	-
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	-	-	-
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	-	-	-
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	-	-	-
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	-	-	-
<i>Odontites litoralis</i> FR.	-	-	-
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	+	+	+
<i>Ononis spinosa</i> L.	-	-	-
<i>Plantago maritima</i> L.	-	-	-
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	+	+	+
<i>Salicornia europaea</i> L.	+	+	+
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-	-	-
<i>Spergularia media</i> L.	+	+	+
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-	-	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-	-	-
<i>Trifolium repens</i> L.	-	-	-
<i>Triglochin maritimum</i> L.	-	-	-

#### 4.1.2.2. DISKUSSION

Alle untersuchten Rohdrogen, die bei 100 mbar und 165-175 °C ein Sublimat absonderten, wurden auch positiv auf Cumarine durch Fällung mit Quecksilberacetat getestet.

Cumarine wurden in den Spezies *Apium graveolens* L., *Aster tripolium* L., *Festuca villosa* SCHWEIGG., *Oenanthe lachenalii* C.C.GMEL., *Puccinellia maritima* (HUDS.) PARL., *Salicornia europaea* L. und *Spergularia media* L. (7 von 28 Arten, 25 %) nachgewiesen.

In den phytochemischen und ethnobotanischen Berichten sind Aussagen zum Vorkommen von Cumarinen in Pflanzen selten. Dies liegt vermutlich darin begründet, daß der Nachweis von Cumarinen und Hydroxyzimtsäuren nicht einfach mittels eines Farb- oder Fällungsreagenz aus dem Extrakt geführt werden kann. Viele andere phenolische Komponenten beeinträchtigen zudem die Aussagefähigkeit solcher Nachweisreaktionen. Die zeit- und apparateintensivere Sublimation zum Abtrennen der Cumarine wird vielfach gescheut. Daher verwundert es nicht, daß es keine Angaben zu den hier untersuchten Pflanzenarten in der Literatur gibt, die eine Aussage zu deren Cumarinegehalt machen.

## 4.1.3. FLAVONOIDE

## 4.1.3.1. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse des Flavonoidtests nach SHINODA ist in Tabelle 4 dargestellt.

**Tabelle 4: Ergebnisse des Flavonoidtests**

Art	Farbreaktion nach Shinoda
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-
<i>Apium graveolens</i> L.	+
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	-
<i>Artemisia maritima</i> L.	+
<i>Aster tripolium</i> L.	-
<i>Carex distans</i> L.	+
<i>Carex extensa</i> GOOD.	+
<i>Centaureum pulchellum</i> (SW) DRUCE.	-
<i>Cochlearia anglica</i> L.	-
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-
<i>Glaux maritima</i> L.	-
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	-
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	+
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	+
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	+
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	-
<i>Odontites litoralis</i> FR.	-
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	+
<i>Ononis spinosa</i> L.	+
<i>Plantago maritima</i> L.	-
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-
<i>Salicornia europaea</i> L.	+
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-
<i>Spergularia media</i> L.	+
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	+
<i>Trifolium repens</i> L.	+
<i>Triglochin maritimum</i> L.	-

#### 4.1.3.2. DISKUSSION

Flavonoide waren in *Apium graveolens* L., *Artemisia maritima* L., *Carex distans* L., *Carex extensa* GOOD., *Juncus gerardii* LOIS., *Juncus maritimus* LAM., *Leontodon autumnalis* L., *Oenanthe lachenalii* C.C.GMEL., *Ononis spinosa* L., *Salicornia europaea* L., *Spergularia media* L., *Trifolium fragiferum* L. und *Trifolium repens* L. nachweisbar (13 von 28 Arten, etwa 46 %).

Bei *A. graveolens* L. (CROWDEN *et al.*, 1969), *L. autumnalis* L. (CHANDLER & HOOPER, 1979), und *S. europaea* L. (ARAKAWA *et al.*, 1982; GESLIN & VERBIST, 1985) decken sich die Befunde mit denen aus der Literatur. Ebenfalls wird der negative Befund bei *Suaeda maritima* (L.) DUM. in der Literatur bestätigt (SAXENA, 1975). Im Gegensatz zu den hier erzielten Ergebnissen wurden bei Untersuchungen von KAPOOR *et al.* (1971) an *T. repens* L. keine Flavonoide nachgewiesen.

Zu allen anderen Spezies wurden keine Literaturangaben gefunden, die eine Aussage über die Anwesenheit von Flavonoiden machen.

Die erwähnten widersprüchlichen Ergebnisse können auf saisonale Effekte und auf den Einfluß unterschiedlicher Umweltbedingungen zurückzuführen sein (das unter 4.1.1.2 Gesagte gilt entsprechend).

## 4.1.4. SAPONINE

## 4.1.4.1. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse des Schaumtests zum Nachweis von Saponinen sind in Tabelle 5 dargestellt. Unterschieden wurde keine Schaumbildung (-), Schaumbildung mit einer Höhe von wenigen Millimetern (+), > 5 mm (++) und ca. 1 cm (+++).

**Tabelle 5: Ergebnisse des Saponintests**

Art	Schaumbildung länger als 30 min.
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-
<i>Apium graveolens</i> L.	-
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	-
<i>Artemisia maritima</i> L.	-
<i>Aster tripolium</i> L.	-
<i>Carex distans</i> L.	+
<i>Carex extensa</i> GOOD	++
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW) DRUCE.	++
<i>Cochlearia anglica</i> L.	++
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-
<i>Glaux maritima</i> L.	-
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	+++
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	-
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	+
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	-
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	-
<i>Odontites litoralis</i> FR.	-
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	-
<i>Ononis spinosa</i> L.	-
<i>Plantago maritima</i> L.	-
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-
<i>Salicornia europaea</i> L.	-
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-
<i>Spergularia media</i> L.	+
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-
<i>Trifolium repens</i> L.	-
<i>Triglochin maritimum</i> L.	-

#### 4.1.4.2. DISKUSSION

Saponine waren in *Carex distans* L., *Carex extensa* GOOD., *Centaurium pulchellum* (SW) DRUCE., *Cochlearia anglica* L., *Halimione portulacoides* (L.) ALLEN., *Juncus maritimus* LAM. und *Spergularia media* L. nachweisbar (7 von 28 Arten, etwa 25 %).

In der Literatur wird über keine der hier positiv getesteten Spezies eine Aussage zum Saponingehalt gemacht. Nur die Spezies *Suaeda maritima* (L.) DUM. (SAXENA, 1975) und *Trifolium repens* L. (KAPOOR *et al.*, 1971) werden in der Literatur erwähnt. Beide Untersuchungsberichte bestätigen die Ergebnisse der hier diskutierten Untersuchung.

Bei GLENN *et al.* (1998) wird erwähnt, daß *Salicornia bigelovii* Saponine in den Samen enthält. Dies konnte hier für *Salicornia europaea* L. nicht bestätigt werden.

## 4.1.5. TANNINE UND WEITERE PHENOLISCHE KOMPONENTEN

## 4.1.5.1. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse des Gelatine-Salz-Block-Tests sind zusammen mit dem Ergebnis der Farbreaktion mit Eisenchlorid in Tabelle 6 dargestellt.

**Tabelle 6: Ergebnisse der Nachweisreaktionen für Tannine und andere phenolische Komponenten**

Art	Gelatine (1%)	Gelatine (1%) + NaCl (10%)	Enthält Tannine	FeCl <sub>3</sub>
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-	+	-	-
<i>Apium graveolens</i> L.	-	-	-	+ <sup>1</sup>
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	-	-	-	-
<i>Artemisia maritima</i> L.	+	+	+	+ <sup>1</sup>
<i>Aster tripolium</i> L.	+	+	+	+ <sup>2</sup>
<i>Carex distans</i> L.	+	+	+	+ <sup>3</sup>
<i>Carex extensa</i> GOOD	+	+	+	+ <sup>3</sup>
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW)	-	-	-	-
<i>Cochlearia anglica</i> L.	-	-	-	-
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-	-	-	+ <sup>3</sup>
<i>Glaux maritima</i> L.	-	-	-	-
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	-	+	-	-
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	+	+	+	+ <sup>3</sup>
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	+	+	+	+ <sup>3</sup>
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	+	+	+	+ <sup>3</sup>
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	-	-	-	-
<i>Odontites litoralis</i> FR.	-	-	-	-
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	-	-	-	+ <sup>1</sup>
<i>Ononis spinosa</i> L.	+	+	+	+ <sup>1</sup>
<i>Plantago maritima</i> L.	-	-	-	+ <sup>3</sup>
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-	+	+	+ <sup>1</sup>
<i>Salicornia europaea</i> L.	-	-	-	+ <sup>3</sup>
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-	+	-	+ <sup>1</sup>
<i>Spergularia media</i> L.	-	-	-	+ <sup>1</sup>
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-	-	-	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-	-	-	+ <sup>3</sup>
<i>Trifolium repens</i> L.	-	-	-	+ <sup>1</sup>
<i>Triglochin maritimum</i> L.	-	-	-	+ <sup>2</sup>

<sup>1</sup> grünschwarz, <sup>2</sup> blauschwarz, <sup>3</sup> Farbe unbestimmbar (schwarz oder anders)

#### 4.1.5.2. DISKUSSION

Phenolische Komponenten wurden in *Apium graveolens* L., *Artemisia maritima* L., *Aster tripolium* L., *Carex distans* L., *Carex extensa* GOOD., *Festuca villosa* SCHWEIGG., *Juncus gerardii* LOIS., *Juncus maritimus* LAM., *Leontodon autumnalis* L., *Oenanthe lachenalii* C.C.GMEL., *Ononis spinosa* L., *Plantago maritima* L., *Puccinellia maritima* (HUDS.) PARL., *Salicornia europaea* L., *Spartina maritima* (CURT.) FERN., *Spergularia media* L., *Trifolium fragiferum* L., *Trifolium repens* L. und *Triglochin maritimum* L. nachgewiesen (19 von 28 Arten, etwa 68 %).

Davon enthalten *A. maritima* L., *A. tripolium* L., *C. distans* L., *C. extensa* GOOD., *J. gerardii* LOIS., *J. maritimus* LAM., *L. autumnalis* L., *O. spinosa* L., *P. maritima* (HUDS.) PARL. Tannine (9 von 28 Arten, etwa 32 %) und *A. graveolens* L., *A. maritima* L., *C. distans* L., *C. extensa* GOOD., *J. gerardii* LOIS., *J. maritimus* LAM., *L. autumnalis* L., *O. lachenalii* C.C.GMEL., *O. spinosa* L., *S. europaea* L., *S. media* L., *T. fragiferum* L. und *T. repens* L. Flavonoide (vgl. 4.1.3.2.).

Damit enthalten *F. villosa* SCHWEIGG., *P. maritima* (HUDS.) PARL., und *T. maritimum* L. in dieser Untersuchung unbestimmte Phenole (also weder Flavonoide noch Tannine).

Die Ergebnisse der Tanninuntersuchung werden nur bei *L. autumnalis* L. (CHANDLER & HOOPER, 1979) und *Suaeda maritima* (L.) DUM. (SAXENA, 1975) in der Literatur bestätigt. Zu allen anderen Arten sind in der Literatur keine Angaben zum Tanningehalt zu finden.

Eine Trübung oder gar ein Niederschlag nach der Zugabe von FeCl<sub>3</sub> (vgl. 3.2.6.2.) wurde in keinem Fall beobachtet, was sicherlich auch konzentrationsabhängig ist. Auf eine Interpretation der Färbung nach FeCl<sub>3</sub>-Zugabe (vgl. 3.2.6.2.) soll hier verzichtet werden, da eine zweifelsfreie Zuordnung einer Farbe in den relevanten Fällen mehrheitlich nicht möglich war.

## 4.2. ERGEBNISSE UND DISKUSSION DES BIOLOGISCHEN SCREENINGS

## 4.2.1. ALGIZIDE AKTIVITÄT

## 4.2.1.1. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Untersuchung auf algizide Aktivität sind in Tabelle 7 dargestellt.

**Tabelle 7: Ergebnisse der Untersuchung auf algizide Aktivität**

Art	1	2	3	4	5
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-	-	-	-	-
<i>Apium graveolens</i> L.	+	-	-	+	+
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	-	-	-	-	-
<i>Artemisia maritima</i> L.	+++	++	+	+++	+++
<i>Aster tripolium</i> L.	++	+	+	++	+
<i>Carex distans</i> L.	-	-	-	-	-
<i>Carex extensa</i> GOOD	-	-	-	-	-
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW) DRUCE.	+	-	+	++	+
<i>Cochlearia anglica</i> L.	+	++	+	++	++
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-	-	-	-	-
<i>Glaux maritima</i> L.	-	-	-	-	-
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	+	-	-	+	+
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	-	-	-	-	-
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	-	-	-	-	-
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	-	-	-	-	-
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	++	+	++	++	+
<i>Odontites litoralis</i> FR.	++	-	+	+	++
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	-	-	-	-	-
<i>Ononis spinosa</i> L.	++	+	+	++	++
<i>Plantago maritima</i> L.	+	-	-	+	+
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-	-	-	-	-
<i>Salicornia europaea</i> L.	+++	++	+++	+++	+++
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-	-	-	-	-
<i>Spergularia media</i> L.	++	+	-	+	+
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-	-	-	-	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	+	-	-	+	-
<i>Trifolium repens</i> L.	+	-	-	-	+
<i>Triglochin maritimum</i> L.	-	+	+	-	-

1 = *Chlorogonium*, 2 = *Cryptomonas*, 3 = *Dunaliella*, 4 = *Euglena*, 5 = *Protosiphon*

- keine Hemmung, + Hemmung erkennbar, ++ Hemmung >1 cm Ø, +++ Hemmung >2 cm Ø

#### 4.2.1.2. DISKUSSION

Es wurden in der Auswertung Hemmhöfe mit einem Durchmesser von  $>2$  cm (+++) und  $>1$  cm (++) als biologisch aktiv gewertet. Die Hemmhöfe der Kategorien *erkennbar* (+) und *keine Hemmung* (-) wurden als inaktiv gewertet, weil der Negativblindwert mit Ethanol in einigen wenigen Fällen ebenfalls einen schwach erkennbaren Hemmhof zeigte.

Einen wachstumshemmenden Einfluß auf Algen zeigte der ethanolische Extrakt von *Artemisia maritima* L., *Aster tripolium* L., *Centaureum pulchellum* (SW) DRUCE., *Cochlearia anglica* L., *Limonium vulgare* MILL., *Odontites litoralis* FR., *Ononis spinosa* L., *Salicornia europaea* L. und *Spergularia media* L. (9 von 28 Spezies, 32 %).

Besonders deutlich ist die Wirkung von *A. maritima* L. und *S. europaea* L., was unter Umständen ein Hinweis auf eine Anpassung an den Standort darstellt. Insbesondere *S. europaea* L. als Bewohner der fast ständig feuchten Spülsäume der Salzwiesen verschafft sich vielleicht auf diese Wiese einen Vorteil, da Algenbewuchs auf der Pflanze durch einen Sekundärmethaboliten verhindert wird. Im Wettstreit um lebenswichtige Ressourcen mag das eine entscheidende Hilfe sein.

## 4.2.2. FUNGIZIDE AKTIVITÄT

## 4.2.2.1. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Untersuchungen auf fungizide Aktivität sind in Tabelle 8 dargestellt.

**Tabelle 8: Ergebnisse der Untersuchung auf fungizide Aktivität**

Art	Pilze							Hefen		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Apium graveolens</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Artemisia maritima</i> L.	+	+	++	+	-	-	-	-	+	+
<i>Aster tripolium</i> L.	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+
<i>Carex distans</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Carex extensa</i> GOOD	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW)	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Cochlearia anglica</i> L.	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Glaux maritima</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	-	++	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	+	-	++	-	++	+	+	-	+	++
<i>Odontites litoralis</i> FR.	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ononis spinosa</i> L.	++	-	+	-	-	+	+	-	-	-
<i>Plantago maritima</i> L.	-	+	++	-	-	-	-	-	+	-
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salicornia europaea</i> L.	+	-	++	-	+	++	+	+	+	++
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Spergularia media</i> L.	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trifolium repens</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Triglochin maritimum</i> L.	++	++	+	+	++	++	+++	++	+++	++

1 = *Coniosporium*, 2 = *Exophiala*, 3 = *Acremonium*, 4 = *Cladosporium*, 5 = *Trichoderma*, 6 = *Penicillium*, 7 = *Phoma*, 8 = *Candida*, 9 = *Rhodoturula*, 10 = *Saccharomyces*

- keine Hemmung (H), + H erkennbar, ++ H >1 cm Ø, +++ H >2 cm Ø

#### 4.2.2.2. DISKUSSION

Für die Auswertung der Hemmhöfe gilt das gleiche wie unter 4.2.1.2. beschrieben.

Als einzige Spezies zeigte *Triglochin maritimum* L. eine deutliche Aktivität gegen eine Mehrzahl der eingesetzten Testorganismen. Ebenfalls aktiv, wenn auch in sehr viel bescheidenerem Ausmaß, waren *Artemisia maritima* L., *Juncus gerardii* LOIS., *Limonium vulgare* MILL., *Ononis spinosa* L., *Plantago maritima* L. und *Salicornia europaea* L. (7 Spezies von 28, etwa 25 %).

Die hier erzielten Ergebnisse für *T. maritimum* L. decken sich mit den Angaben aus der Literatur. Wie schon eingangs (2.10.) erwähnt, bildet diese Spezies, im Gegensatz zu anderen Salzwiesenpflanzen, normalerweise keine Mycorrhiza aus, was auf ein besonderes Abwehrsystem schließen läßt (ROZEMA *et al.*, 1986).

### 4.2.3. CYTOTOXISCHE UND ANTINEOPLASTISCHE AKTIVITÄT

#### 4.2.3.1. ERGEBNISSE DER TESTS MIT *ARTEMIA SALINA*

Die graphische Darstellung der Ergebnisse der Untersuchung der akuten toxischen Aktivität sowie der chronischen toxischen Aktivität auf die Larven von *Artemia salina* sind in Abbildung 47 dargestellt. Die entsprechenden Ergebnisse für die Untersuchungen mit den adulten Salinenkrebsen sind in Abbildung 48 wiedergegeben. Die Ergebnisse der Auszählung und die Berechnungen für die Auswertung sind in Anhang VI zu finden.

Die Ergebnisse der Untersuchung der Wirkung auf die Eier und die Embryogenese sind nicht dargestellt.

#### 4.2.3.2. DISKUSSION DER ERGEBNISSE DER TESTS MIT *ARTEMIA SALINA*

Die in der graphischen Darstellung augenscheinlich größte relative Toxizität wurde in allen vier Tests mit den Extrakten von *Artemisia maritima* L., *Limonium vulgare* MILL., *Ononis spinosa* L. und *Salicornia europaea* L. erzielt. Deutlich weniger auffällig sind *Centaurium pulchellum* (Sw) DRUCE. und *Spergularia media* L., wobei letztere Spezies keine Wirkung bei den Tests mit adulten Salinenkrebsen zeigte. Wie zu erwarten, ist die chronische Wirkung in allen genannten Fällen stärker als die der akuten. Ein Rückgang der Toxizität bei den adulten Tieren gegenüber den Larven ist nur teilweise erkennbar, wäre aber aufgrund geringerer cytostatischer Wirkungsmöglichkeit im ausgewachsenen Organismus zu erwarten.

Bei allen anderen Spezies wird die Wirkung als vernachlässigbar gering angesehen, da die Ergebnisse in der chronischen Aktivität gegenüber der akuten abfallen. Dies kann daraufhin deuten, daß dieser Wertebereich statistisch nicht gut genug abgesichert ist, z.T. erkennbar an negativen Werten. Sie sind aber mit Sicherheit so gering, daß sie im Sinne der Fragestellung uninteressant sind. Denn selbst wenn sich hier eine Toxizität abzeichnet, beruht sie entweder auf einer schwach wirksamen Substanz oder aber auf einer niedrigeren Konzentration. Beides sind Gründe, die gegen eine pharmazeutische Verwendung sprechen, in deren Erarbeitung und Verwirklichung sowohl Geld als auch Zeit investiert werden müßten.

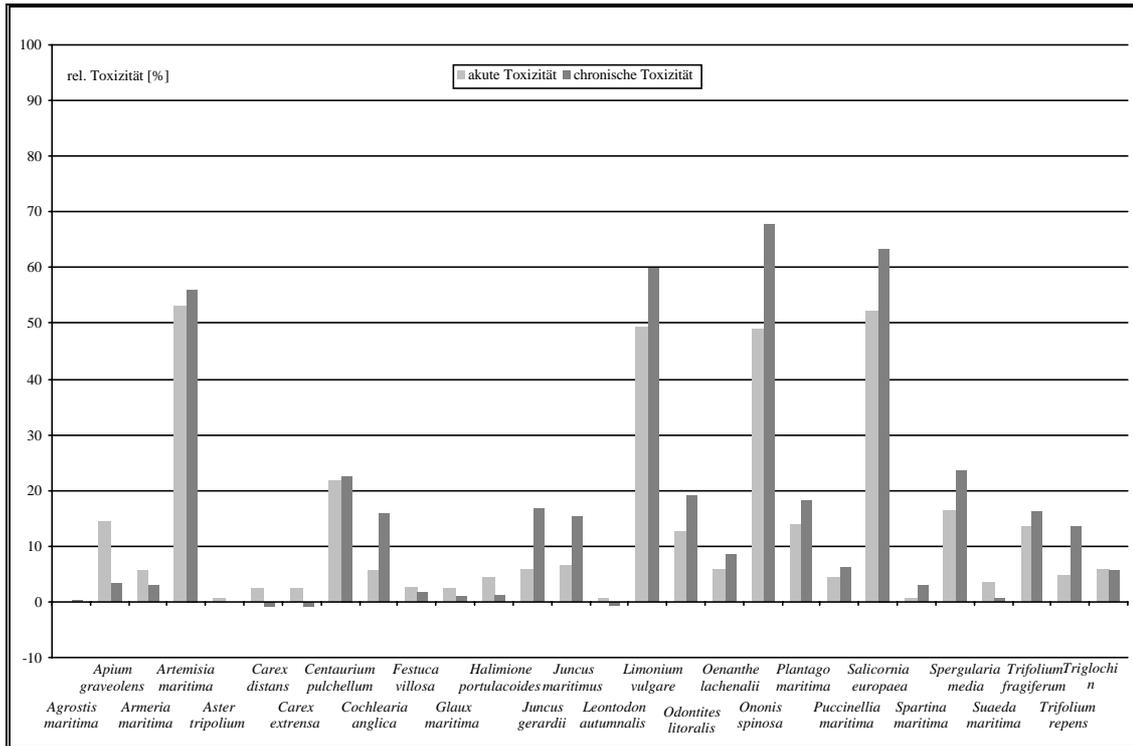


Abbildung 47: Akute und chronische Toxizität der Pflanzenextrakte auf *Artemia salina*-Larven

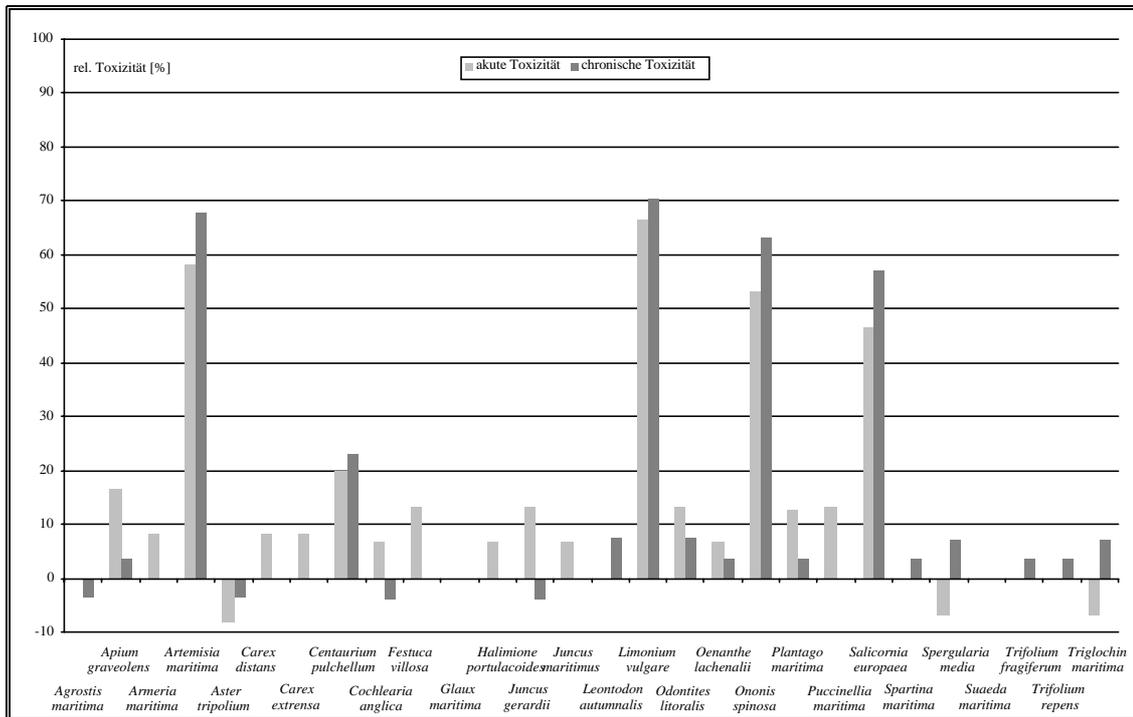


Abbildung 48: Akute und chronische Toxizität der Pflanzenextrakte auf adulte *Artemia salina*

4.2.3.3. ERGEBNISSE DES TESTS MIT *DAPHNIA MAGNA*

Die Ergebnisse der Untersuchung der Cytotoxizität mit *Daphnia magna* sind in Abbildung 49 dargestellt.

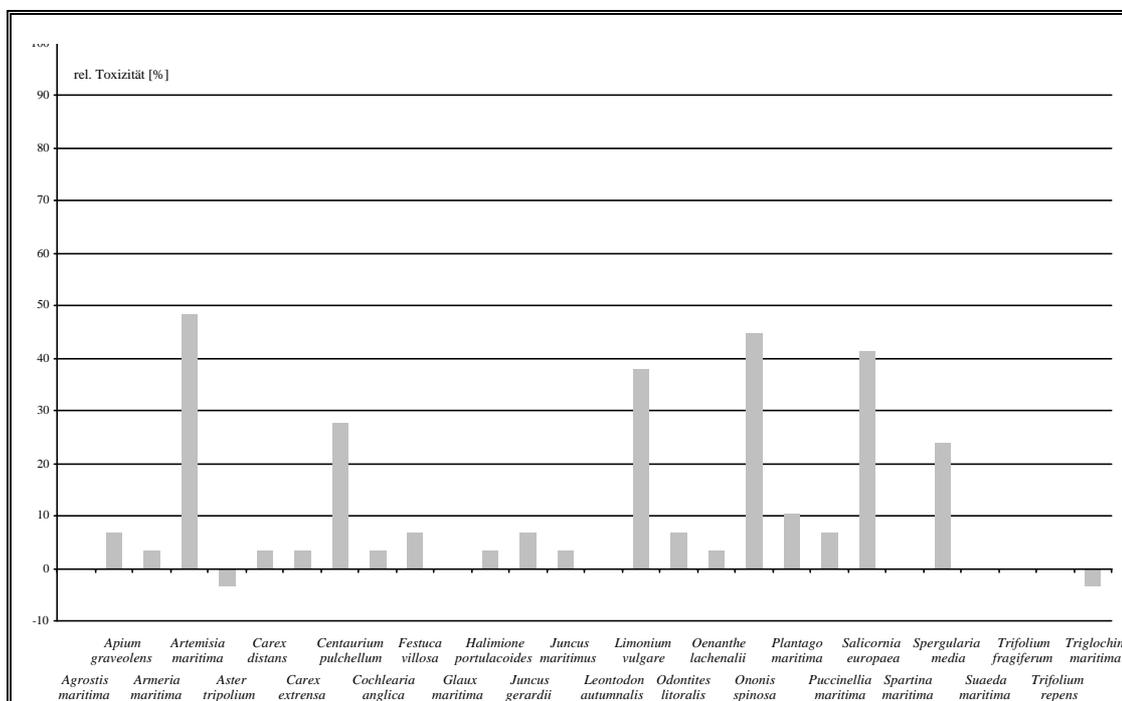


Abbildung 49: Toxizität der Pflanzenextrakte auf *Daphnia magna*

4.2.3.4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE DES TESTS MIT *DAPHNIA MAGNA*

Die in der graphischen Darstellung augenscheinlich größte relative Toxizität wurde mit den Extrakten von *Artemisia maritima* L., *Limonium vulgare* MILL., *Ononis spinosa* L. und *Salicornia europaea* L. erzielt. Deutlich weniger auffällig sind *Centaurium pulchellum* (Sw) DRUCE. und *Spergularia media* L. Daß die Werte in keinem Fall 50 % übersteigen, kann, neben einer geringen Wirksamkeit, daran liegen, daß die ausgewachsenen Wasserflöhe nur in geringem Umfang neue Zellen bilden. Das bedeutet, daß nur cytocidiale, aber keine cytostatische Aktivität ihren Einfluß auf die gesamte Toxizität ausübt.

Bei allen anderen Spezies wird die Wirkung als vernachlässigbar gering angesehen und das unter 4.2.3.2. Gesagte gilt entsprechend.

## 4.2.3.5. ERGEBNISSE DES POTATOE-DISK-ASSAY

Die Ergebnisse zur Untersuchung der antineoplastischen Aktivität gliedern sich in zwei Teile: zum einen in jene der Untersuchung der Hemmung der Tumorbildung (die Kartoffelscheiben, die eingangs mit Extrakt behandelt wurden) und zum anderen die aus

der Untersuchung der Hemmung des Tumorwachstums (die Kartoffelscheiben, die nach neun Tagen Inkubation mit Extrakt behandelt wurden).

Die Ergebnisse zur Untersuchung der Hemmung der Tumorbildung sind in Abbildung 50 graphisch dargestellt.

Eine Hemmung des Wachstums der Tumore war nur bei den drei Vertretern der Fabaceae *Ononis spinosa* L., *Trifolium fragiferum* L. und *T. repens* L. deutlich erkennbar. Bei *Artemisia maritima* L., *Centaurium pulchellum* (SW) DRUCE., *Salicornia europaea* L. und *Spergularia media* L. ist sie zu erahnen, aber zweifelhaft. Alle anderen Spezies zeigten keine Auffälligkeit.

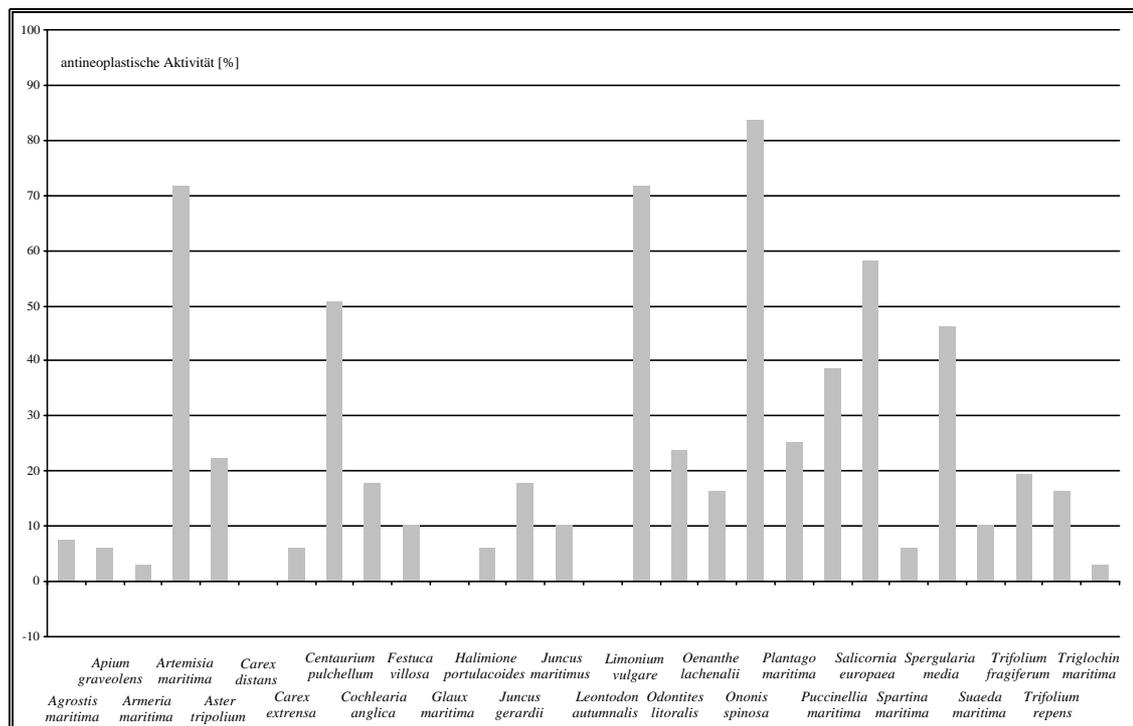


Abbildung 50: Antineoplastische Wirkung der Pflanzenextrakte

#### 4.2.3.6. DISKUSSION DER ERGEBNISSE DES POTATOE-DISK-ASSAY

Mit den 28 getesteten Pflanzenarten wurden für die Aktivität bei der Hemmung der Tumorbildung Werte zwischen 0 und 84 % ermittelt.

Die größte Aktivität bei der Hemmung der Tumorbildung mit über 70 % wurde unter Einwirken der Extrakte von *Ononis spinosa* L., *Limonium vulgare* MILL. und *Artemisia maritima* L. beobachtet. Einen moderaten Effekt von 50 bis 70 % Hemmung wurde bei *Salicornia europaea* L. und *Centaurium pulchellum* (SW) DRUCE gefunden. Wie in der Literatur (ORAN, 1999) werden Werte unter 50 % als vernachlässigbar betrachtet.

Die Verwendung von *A. maritima* L. als Antitumormittel wurde bereits von HARTWELL (1967) dokumentiert. Auch der Einsatz anderer *Artemisia*-Arten ist bekannt (HARTWELL, 1968), was auf einen genusspezifischen Wirkstoff oder Wirkstoffkombination schließen läßt.

Die Wirkung von *L. vulgare* MILL. als Medizinalpflanze im Einsatz gegen Krebs ist ebenfalls schon bekannt. Bei einem Screening der israelischen Flora war das Potential für einen möglichen Einsatz in der Krebstherapie bereits aufgefallen (SILVA & ABRAHAM, 1981).

Auch der Einsatz der Fabaceae *O. spinosa* L. gegen krebsartige Geschwüre ist bereits dokumentiert (HARTWELL, 1970a). Von der Spezies *O. natrix* L. aus Amman, Jordanien, wurde über eine ähnliche Tumorchemmung berichtet, die mit dem gleichen Versuchsansatz wie hier erzielt wurde (ORAN, 1999). Dies läßt auf einen genusspezifischen Wirkstoff oder Wirkstoffkombination schließen.

## 4.2.4. ANTIBAKTERIELLE AKTIVITÄT

## 4.2.4.1. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Untersuchungen auf antibakterielle Aktivität ist in Tabelle 9 dargestellt.

**Tabelle 9: Ergebnisse der Untersuchung auf antibakterielle Aktivität**

Art	Gram-positiv				Gram-negativ	
	1	2	3	4	5	6
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-	-	-	-	-	-
<i>Apium graveolens</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	-	-	-	-	-	-
<i>Artemisia maritima</i> L.	-	+	-	-	-	-
<i>Aster tripolium</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Carex distans</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Carex extensa</i> GOOD	-	-	-	-	-	-
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW)	-	-	-	-	-	-
<i>Cochlearia anglica</i> L.	+	+	+	+	-	-
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-	-	-	-	-	-
<i>Glaux maritima</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	-	-	-	-	-	-
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	-	-	-	-	-	-
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	-	-	-	-	-	-
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	+	++	+	-	-	+
<i>Odontites litoralis</i> FR.	-	-	-	-	-	-
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	-	-	-	-	-	-
<i>Ononis spinosa</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Plantago maritima</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-	-	-	-	-	-
<i>Salicornia europaea</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-	-	-	-	-	-
<i>Spergularia media</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-	-	-	-	-	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Trifolium repens</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Triglochin maritimum</i> L.	-	-	-	-	-	-

1 = *B. cerlus*, 2 = *B. megaterium*, 3 = *B. subtilis*, 4 = *M. luteus*, 5 = *E. coli*, 6 = *E. aerogenes*

- keine Hemmung, + Hemmung erkennbar, ++ Hemmung >1 cm Ø, +++ Hemmung >2 cm Ø

#### 4.2.4.2. DISKUSSION

Für die Auswertung der Hemmhöfe gilt das gleiche wie unter 4.2.1.2. beschrieben.

Eine antibakterielle Aktivität ist im großen und ganzen nicht nachzuweisen. Eine minimale Hemmung des Bakterienwachstums ist zwar bei *Artemisia maritima* L. bei einem Testorganismus erkennbar, sie ist aber viel zu gering, als daß ihr Bedeutung beigemessen werden könnte (4.2.1.2). Gleiches gilt für *Cochlearia anglica* L., auch wenn hier die Hemmung bei allen vier Gram-positiven Testorganismen erkennbar ist.

Allein *Limonium vulgare* MILL. zeigt zumindest gegen einen einzigen Testorganismus eine deutliche Hemmung, muß aber dennoch mit Hinblick auf die Wirkung auf die anderen Testorganismen als inaktiv bewertet werden.

## 4.2.5. CHITINASEINHIBITORISCHE AKTIVITÄT

## 4.2.5.1. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur Hemmung der Chitinase sowie die Untersuchung der antibakteriellen Wirkung gegen das Testbakterium *Cytophaga* sp. sind in Tabelle 10 dargestellt.

**Tabelle 10: Ergebnisse der Untersuchung auf Chitinasehemmung**

Art	antibakterielle Wirkung	Chitinasehemmung
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-	-
<i>Apium graveolens</i> L.	-	-
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	-	-
<i>Artemisia maritima</i> L.	-	-
<i>Aster tripolium</i> L.	-	-
<i>Carex distans</i> L.	-	-
<i>Carex extensa</i> GOOD	-	-
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW) DRUCE.	-	-
<i>Cochlearia anglica</i> L.	+	?
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-	-
<i>Glaux maritima</i> L.	-	-
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	-	-
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	-	-
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	-	-
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	-	-
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	+	?
<i>Odontites litoralis</i> FR.	-	-
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	-	-
<i>Ononis spinosa</i> L.	-	-
<i>Plantago maritima</i> L.	-	-
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-	-
<i>Salicornia europaea</i> L.	-	++
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-	-
<i>Spergularia media</i> L.	-	-
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-	-
<i>Trifolium repens</i> L.	-	-
<i>Triglochin maritimum</i> L.	-	-

- keine Hemmung, + Hemmung erkennbar, ++ Hemmung >1 cm Ø, +++ Hemmung >2 cm Ø, ? = fraglich

#### 4.2.5.2. DISKUSSION

Von den 28 getesteten Spezies zeigte nur eine (4 %), nämlich *Salicornia europaea* L. eine Hemmung der Chitinaseaktivität.

Bei *Cochlearia anglica* L. und *Limonium vulgare* MILL. ist hierzu keine Aussage möglich, da beide Spezies das Wachstum des Testorganismus *Cytophaga* sp. beeinträchtigten und somit keine Unterscheidung zwischen der Hemmung des Wachstums von *Cytophaga* sp. und der Hemmung der Chitinaseaktivität möglich war.

Alle anderen getesteten Spezies zeigten weder auf das Wachstum des Testorganismus noch auf die Chitinaseaktivität Wirkung.

Da die hier getestete Probe von *S. europaea* L. einen Chitinasehemmer enthält, sollte diese Art genauer untersucht werden. In der Literatur ist diese Aktivität für diese Art bislang nicht beschrieben und, soweit bekannt, auch noch nie getestet worden. Über den ökologischen Grund und evolutionären Vorteil eines Chitinasehemmers bei einer Pflanze aus der unteren Salzwiese kann nur spekuliert werden. Vielleicht beugt *Salicornia* so einem Pilzbefall vor oder schützt sich gegen Fraß durch Organismen, die Chitin im Exoskelett enthalten (3.3.6.1).

## 4.2.6. ERGEBNISSE DER GEZIELTEN WIRKSTOFFSUCHE

4.2.6.1. *TRIGLOCHIN MARITIMUM* L.

## 4.2.6.1.1. ERGEBNISSE

Die Prüfung auf biologische Aktivität der drei Fraktionen mit den Lösungsmitteln Toluol (I), Ethanol (II) und Wasser (III) zeigte, daß die fungizide Wirkung ausschließlich auf die Fraktion I beschränkt war. Aus dieser Toluolfraktion (I) wurde mit Ethanol (IV) ausgeschüttelt. Diese Fraktion IV zeigte ebenfalls die gewünschte biologische Aktivität. Fraktion I zeigte danach keine Aktivität mehr. Der Wirkstoff war in Fraktion IV enthalten.

Beim Um-kristallisieren aus Toluol ergab sich ein weißes Pulver. Die ethanolische Lösung dieses Pulvers wurde am GC-MS geprüft und ergab das Massenspektrum von Abbildung 51. Es entspricht dem Spektrum von Phenol.

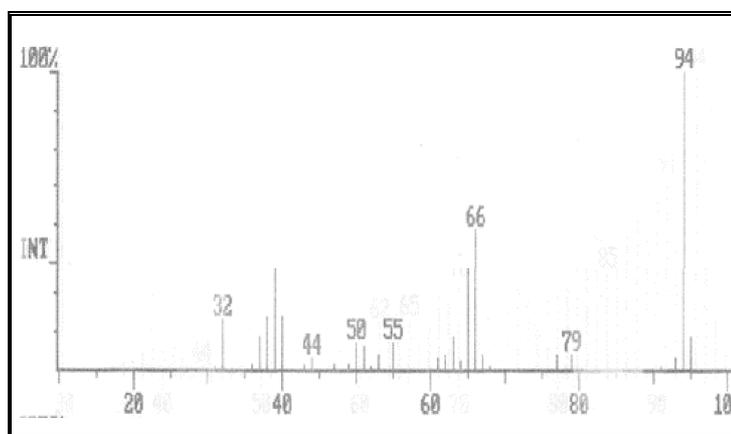


Abbildung 51: Massenspektrum der unbekannten fungiziden Substanz aus *Triglochin maritimum* L.

Das Ergebnis der Untersuchung bis hierher ist, daß *T. maritima* L. als fungiziden Wirkstoff Phenol bildet. Die zur Verifizierung dieses Ergebnisses anschließend durchgeführte Isolierung und Untersuchung mittels Dünnschichtchromatographie ergab Identität der getesteten Substanz mit Phenol. Daneben wurde eine polarere Substanz gefunden. Da in Pflanzen Phenole oft glycosidisch gebunden vorkommen, wurden verschiedene Zucker zum Vergleich eingesetzt. Identität konnte nicht festgestellt werden. Als  $R_f$ -Werte ergaben sich mit LGI 18 und mit LGII 58. Diese Werte entsprechen denen von Hydrochinon (HARBORNE, 1973, S. 37).

Ein Vergleich der Substanz mit authentischem Hydrochinon zeigte gleiches Verhalten bei der Dünnschichtchromatographie und bei der UV-VIS-Spektroskopie.

Aus *T. maritimum* L. wurden Phenol und Hydrochinon isoliert und nachgewiesen.

## 4.2.6.1.2. DISKUSSION

Die Ergebnisse sprechen dafür, daß *T. maritimum* L. als fungizide Wirkstoffe einfache Phenole bildet, zum einen Phenol selbst (I Abbildung 52) und des weiteren Hydrochinon (II Abbildung 52).

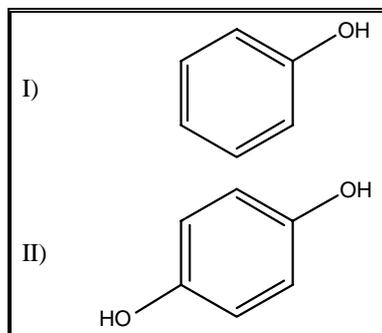


Abbildung 52: Phenol (I) und Hydrochinon (II)

Beide Substanzen sind für ihre Verbreitung im Pflanzenreich bekannt und auch die hier beschriebene fungizide Wirkung läßt sich ihnen zuordnen (RICHTER 1988, S. 415; HARBORN 1973; DUKE 1992). Phenol und seine Derivate gehören zu den ältesten antimikrobiell (bakterizid, fungizid) vom Menschen eingesetzten Substanzen (VOIGT, 1982, S. 527 ff.). Allerdings konnte im biologischen Screening nur eine fungizide (4.2.2.1.) aber keine bakterizide Wirkung (4.2.4.1.) festgestellt werden.

Diese Befunde stellen zunächst die Ergebnisse insgesamt in Frage, lassen sich aber mit der Wirkungsweise von Phenolen erklären. Der antimikrobielle Effekt ist an die freie phenolische Gruppe gebunden. Deshalb ist die Wirkung auch stark vom pH-Wert abhängig. Die undissoziierte Verbindung (neutraler und saurer Bereich) ist wirksam, das Phenolat anion aber nicht (VOIGT, 1982, S. 527). Das Malz-Medium für die Pilze wurde auf pH 7 eingestellt, das BR-II-Medium für die Bakterien aber auf pH 8,6. Damit läßt sich erklären, warum der gleiche Extrakt von *T. maritimum* L. zwar fungizid, aber nicht bakterizid wirkt. Ein Vergleich (durchgeführt wie in 3.3.3.3. und in 3.3.5.3. beschrieben) mit 0,01 molarer wässriger Phenollösung bestätigte genau diesen Effekt.

Für die Pflanze bedeutet die Anwesenheit von Phenol oder Hydrochinon in der Wurzel eine Möglichkeit zur Abwehr der zu Vesikeln oder bäumchenartig (Arbuskeln) anschwellenden Hyphen der Pilze, die die vesiculär-arbuskuläre Mykorrhiza verursachen. Der pH-Wert der Zellvakuolen von Wurzeln liegt typischerweise zwischen pH 4,6 und 6,0 (KURKDJIAN & GUERN, 1989). Die Arbuskeln befinden sich also in sauren Kompartimenten der Wurzel (GUTTENBERGER, 2000), wo sich die fungizide Wirkung der Phenolderivate voll entfalten kann.

Fraglich bleibt indes, warum *T. maritimum* L. die Mykorrhiza verursachenden Pilze abwehrt. Die Pilzsymbionten gehören der Ordnung Endogonales an, sind obligat symbiotisch und finden in fast allen Familien der Angiospermen Partner. Der Pilz liefert mineralische Nährstoffe und zwar wesentlich effektiver als die durch ihn ersetzten Wurzelhaare. Die Pflanze gibt vor allem Kohlenhydrate ab. Neben der verbesserten Nährstoffversorgung wird eine erhöhte Resistenz gegen pathogene Pilze und gegen

Nematoden diskutiert (STRASBURGER, 1991, S. 378). Welchen Vorteil *T. maritimum* L. daraus zieht, auf diese Symbiose zu verzichten, ist unbekannt.

#### 4.2.6.2. *SALICORNIA EUROPAEA* L.

##### 4.2.6.2.1. ERGEBNISSE

Die Überprüfung auf biologische Aktivität der drei Fraktionen mit den Lösungsmitteln Toluol (I), Ethanol (II) und Wasser (III) ergab den größten Effekt bei II. Fraktion III war inaktiv und Fraktion I zeigte nur sehr schwache Aktivität. Deshalb wurde nur mit Fraktion II weiter gearbeitet.

Nach der säulenchromatographischen Reinigung zeigte die erste Acetonfraktion die stärkste biologische Aktivität. Das UV-VIS-Spektrum zeigte ein Maximum bei 330 nm (nicht abgebildet). Nach Eindampfen des Lösungsmittels wurde ein weißes Pulver erhalten.

Die Untersuchung dieses weißen Pulvers mittels Dünnschichtchromatographie ergab die in Tabelle 11 dargestellten  $R_f$ -Werte, die denen der Ferulasäure nahezu entsprechen. Die Substanz reagiert im UV-Licht mit blauer Fluoreszenz, was auch für Ferulasäure beschrieben ist (HARBORNE, 1973, S. 45).

**Tabelle 11: Ergebnisse der DC-Untersuchung der Substanz aus *Salicornia europaea* L.**

	Solvents I	Solvents II	Solvents III	Solvents IV
gefunden	85	12	84	34
Ferulasäure (HARBORNE, 1973)	88	12	82	33,75

In der sich dann anschließenden Untersuchung zur Verifizierung des vorstehend genannten Ergebnisses wurde ebenfalls eine unter UV-Licht blau fluoreszierende Substanz isoliert, deren Absorptionsmaximum bei 330 nm lag. Es wurde ein weißes, Pulver erhalten, das sich nur sehr schlecht in Toluol löste. Nach dem Umkristallisieren aus Toluol wurde wieder ein weißes Pulver erhalten. Die spektroskopischen Messungen ergaben, daß es sich bei der Substanz um Ferulasäure handelt.

Das Massenspektrum (Abbildung 53) zeigt die entsprechende Masse von 194. Auch die Fragmente mit den Massen 51 ( $C_4H_3^+$  aus Aromaten) und 77 ( $C_6H_5^+$  aus Phenylderivaten) bestätigen dies (HESSE *et al.*, 1991). Der Peak mit der Masse 133,1 geht auf die Spaltung der Vinylbindung zurück, so daß der aromatische Kern mit der Methoxy- und Hydroxylgruppe zurückbleibt.

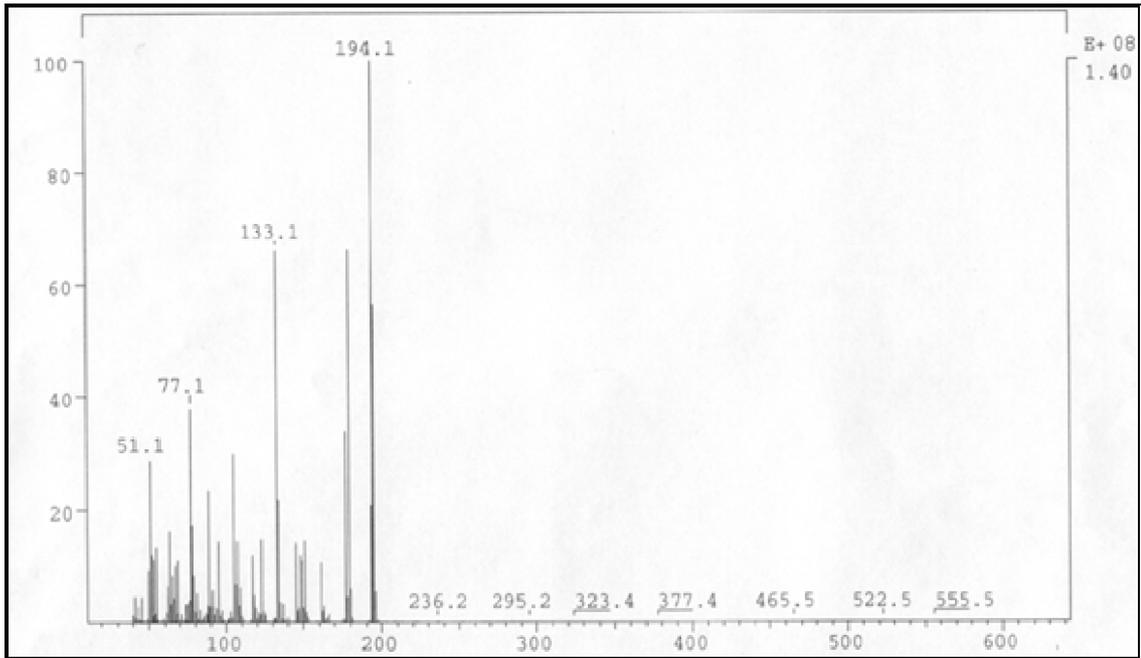
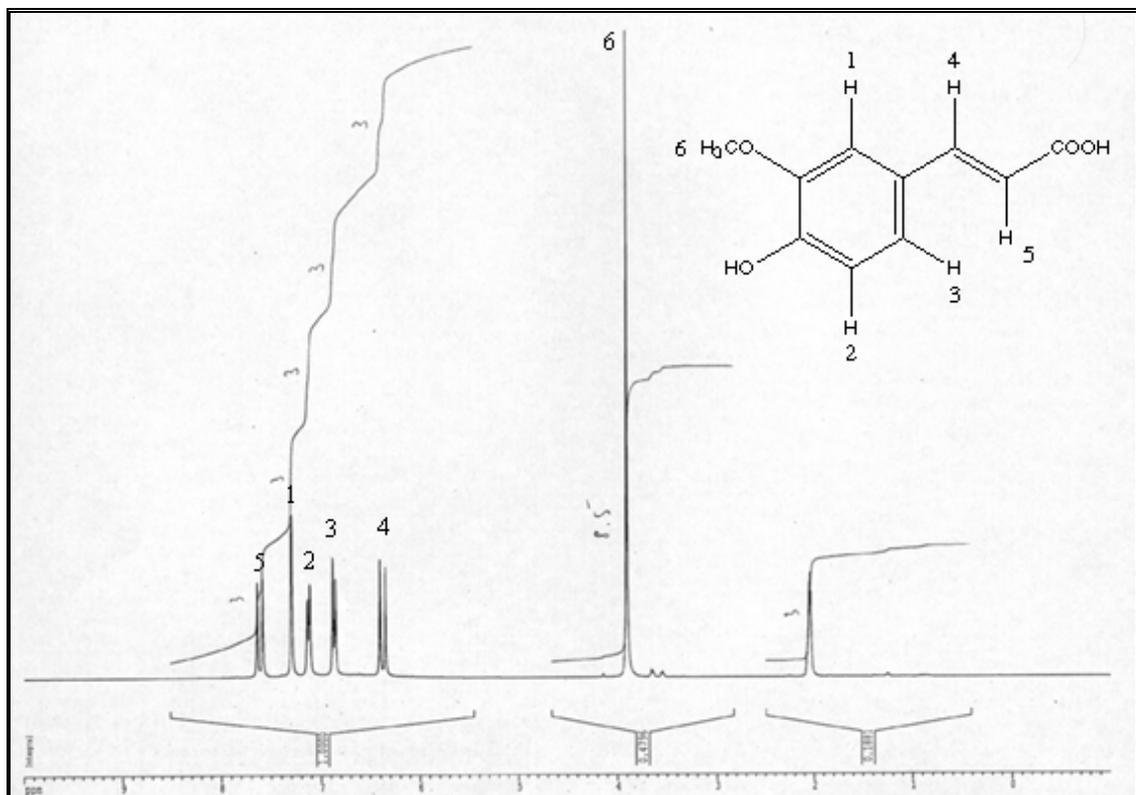
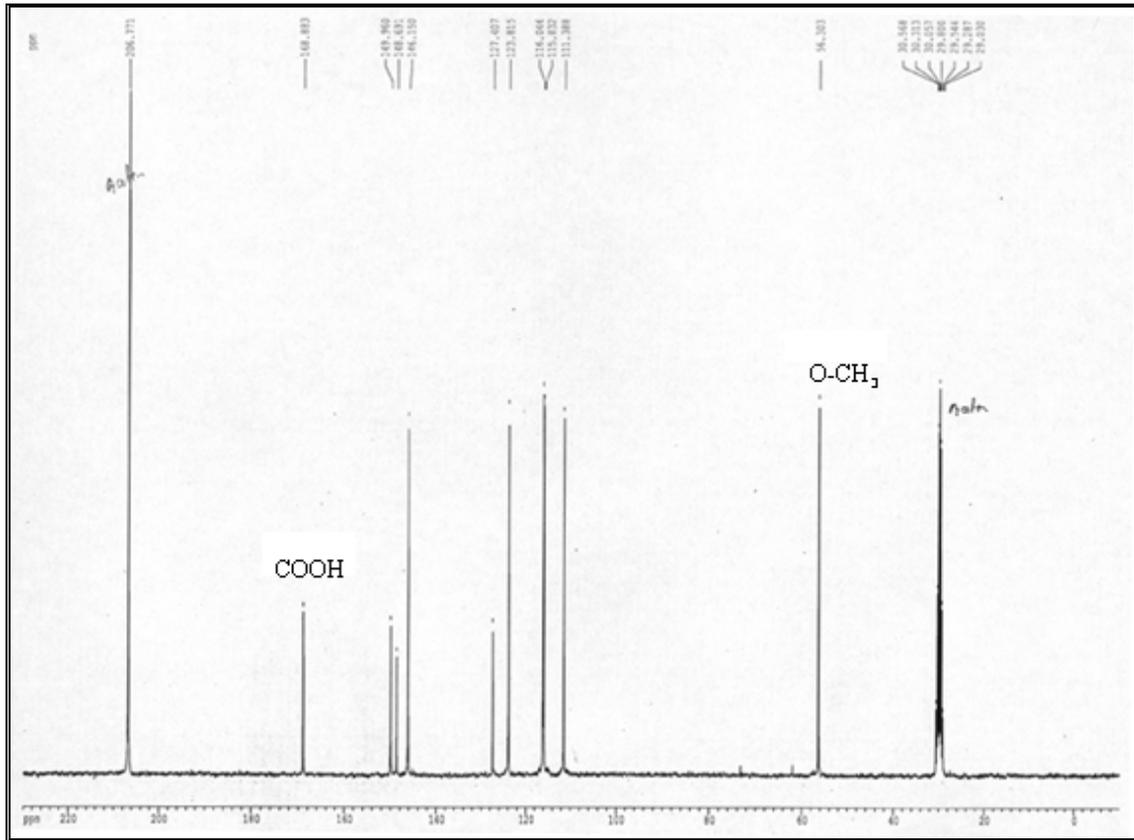


Abbildung 53: Massenspektrum von Ferulasäure

Die Schmelzpunktbestimmung der Einzelsubstanz als auch eines Gemisches (1 : 1) mit authentischer Ferulasäure (~ 170 °C) und die Kernresonanzspektren (Abbildung 54, Abbildung 55) bestätigen ebenfalls Ferulasäure.

Abbildung 54:  $^1\text{H-NMR}$  von Ferulasäure

Abbildung 55:  $^{13}\text{C}$ -NMR von Ferulasäure

## 4.2.6.2.2. DISKUSSION

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß *S. europaea* L. Ferulasäure (4-Hydroxy-3-methoxyzimtsäure, Abbildung 56) bildet. Ferulasäure gehört zu den Hydroxyzimtsäuren, die in Pflanzen ubiquitär verbreitet sind, bei denen interessante

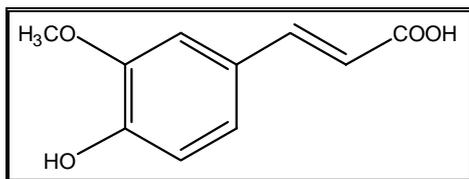


Abbildung 56: Ferulasäure (4-Hydroxy-3-methoxyzimtsäure)

pharmakologische Wirkungen sowie chemisch-ökologische und physiologische Aktivitäten nachgewiesen wurden (VEIT & GUMBINGER, 1993). Untersuchungen an 467 Dicotylen-Spezies ergab, daß etwa 33 % davon Ferulasäure enthielten, bei 94 Monocotylen-Spezies sogar 67 % (BATE-SMITH, 1956; 1962).

Das im Pflanzenreich ebenfalls weit verbreitete Cumarin Scopoletin (Abbildung 57) wird von Ferulasäure abgeleitet. Möglicherweise bildet *S. europaea* L. dieses Cumarin, was noch zu bestätigen wäre, aber mit dem Ergebnis von 4.1.2.1. übereinstimmen würde.

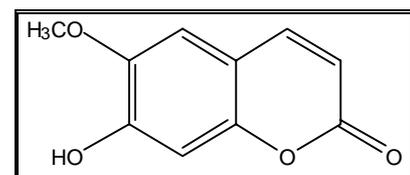


Abbildung 57: Scopoletin

Mit Sicherheit ist Ferulasäure aufgrund der freien OH-Gruppe am aromatischen Ring für den positiven Phenolttest mit  $\text{FeCl}_3$  (4.1.5.1.) verantwortlich.

Zu den beschriebenen biologischen Aktivitäten der Hydroxyzimtsäuren gehört die Fähigkeit zur Infektionsabwehr in der Pflanze (MARTIN-TANGUY, 1978). Daß die Substanzen tatsächlich inhibitorische Effekte gegenüber verschiedenen Pilzen und Bakterien zeigen, ist bekannt (RAVN, 1987). Insbesondere sekundärstoffarme Spezies reagieren in entsprechenden Situationen mit dem Einbau von Hydroxyzimtsäuren in ihre Zellwände, was als Wandverstärkung gedeutet werden kann (MATERN, 1991). Insbesondere der Einfluß pilzlicher Elicitoren kann eine vermehrte Synthese verschiedener Hydroxyzimtsäurederivate auslösen (HARBORN, 1988; LYONS *et al.*, 1990).

Eine weitere wichtige Funktion von Hydroxyzimtsäuren ist der Schutz gegen UV-Strahlung (CALDWELL *et al.*, 1983). Ihr Absorptionsmaximum liegt bei  $\approx 330$  nm und damit in einem Bereich, in dem die meisten Flavonoide geringere Absorptionen zeigen, so daß hier komplementäre Effekte zwischen diesen beiden Stoffgruppen denkbar sind. In diesem Zusammenhang scheint es erwähnenswert, daß Methoxylimtsäuren als Lichtschutzfilter in verschiedenen Lichtschutzpräparaten pharmazeutisch verwendet werden (VEIT & GUMBINGER, 1993).

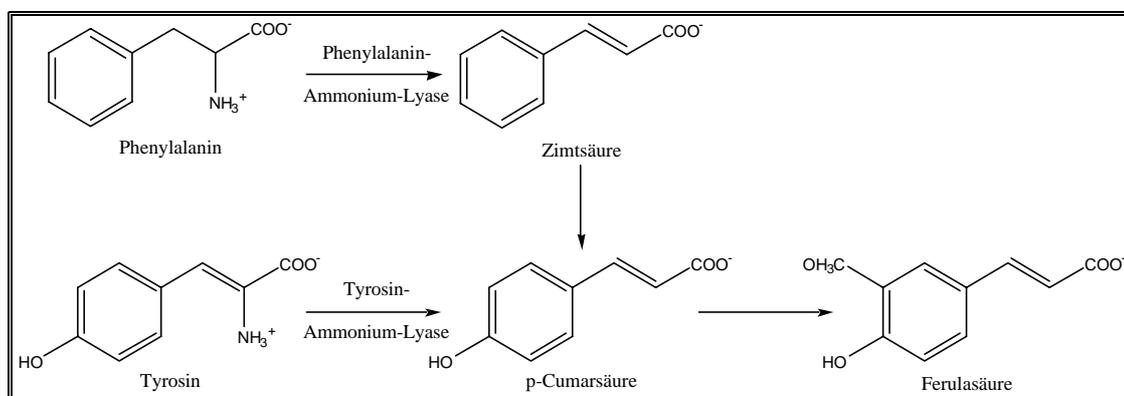


Abbildung 58: Bildung von Ferulasäure

Neben der biologischen Aktivität der Ferulasäure und dem daraus resultierenden Schutz vor pflanzenpathogenen Mikroorganismen scheint die Bildung dieser Hydroxyzimtsäure durch *S. europaea* L. insbesondere eine Anpassung an den stark der Sonne ausgesetzten Standort zu sein. Diese Vermutung ist zum einen durch die bereits erwähnten Lichtschutzeigenschaften gestützt und wird durch den Bildungsweg (Abbildung 58) untermauert. Das Schlüsselenzym bei der Biosynthese von Hydroxyzimtsäuren ist die Phenylalanin-Ammoniak-Lyase bzw. die Tyrosin-Ammonium-Lyase (vor allem bei Gräsern verbreitet). Die Aktivität dieses Enzyms bestimmt, in welchen Mengen die aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin zu Hydroxyzimtsäuren umgesetzt

werden. Es läßt sich durch UV-Licht induzieren (HALBROCK, 1976). Desweiteren wird die Aktivität des Enzyms durch die *E*-Isomere der Hydroxycimtsäuren inhibiert. Die unter UV-Lichteinwirkung durch Photoisomerisierung entstehenden *Z*-Isomere sind in dieser Hinsicht inaktiv (TOWERS & YAMAMOTO, 1985).

## 5. ZUSAMMENFASSENDER DISKUSSION

„Das wahre Geheimnis ist das Sichtbare,  
nicht das Unsichtbare.“

OSCAR WILDE

Um die eingangs gestellte Frage nach dem pharmazeutischen und biotechnologischen Potential der Pflanzenarten der Salzwiesen zu bearbeiten, wurde zunächst die bekannte ethnobotanische und phytochemische Literatur herangezogen. Es wurden viele Beispiele für die sinnvolle Verwendung einzelner Arten und noch mehr für nahe verwandte Spezies gefunden. Ebenso sind phytochemische Eigenschaften bekannt und im vorstehenden Literaturteil aufgelistet. Mehrheitlich sind aber die Wirkprinzipien der ethnopharmakologischen Verwendung nicht erforscht. Hier tut sich ein großes Betätigungsfeld auf.

Neben der Sammlung bekannten Wissens aus der Literatur wurden ein chemisches und ein biologisches Screening durchgeführt. Eine Auswahl typischer Phytochemikalien wurde getroffen und ein Screening durchgeführt, das einen groben Hinweis auf das Vorhandensein oder die Abwesenheit von Alkaloiden, Cumarinen, Flavonoiden, Saponinen und Tanninen gibt. Hierbei ergaben sich keine nennenswerten Überraschungen. Das gefundene Muster an Pflanzeninhaltsstoffen entspricht den Erwartungen, die man für terrestrische Pflanzen hat. Somit ergibt sich, daß der semiterrestrische Einfluß der Salzwiesenbedingungen auf die Stoffwechselphysiologie der dort lebenden, meist fakultativen Halophyten keine Auswirkung hat.

Es wurden aber in einzelnen Fällen Unterschiede zwischen den hier erzielten Ergebnissen und den Ergebnissen, die in der Literatur veröffentlicht sind, beobachtet. Diese natürliche Varianz des Sekundärstoffwechsels kann auf saisonale Effekte und unterschiedliche Umwelteinflüsse zurückgeführt werden, wie sie mehrfach beschrieben wurden (GROSS, 1977; PEDRAS *et al.*, 2000; YOSHIKAWA, 1978). Solange nicht die physiologische Bedeutung der Sekundärmetaboliten aufgeklärt ist, ist eine Prognose über ihr Vorhandensein sehr schwer (RHODES, 1994). In vielen Fällen fehlen aber bis jetzt Vergleichsdaten, da aufgrund der Vielfalt des Pflanzenreichs einfach zu wenig Untersuchungen dieser Art gemacht worden sind. Idealerweise werden die hier erzielten Ergebnisse durch weiterführende Untersuchungen verifiziert, indem jede Spezies in einer festen zeitlichen Frequenz von zwei bis vier Wochen am selben Ort, am besten von der selben Pflanze, beprobt und untersucht werden. Dieser Aufwand war im Rahmen der hier bearbeiteten Fragestellung nicht möglich, aber auch nicht nötig. In

zukünftigen Arbeiten zu diesem Thema sollte nur eine, vielleicht maximal fünf Pflanzen untersucht werden. Dann ist auch die gezielte Isolierung und Identifizierung der einzelnen Inhaltsstoffe der Spezies zu leisten sowie deren saisonale Konzentrationsschwankungen in der Pflanze nachweisbar. In der hier vorgelegten Arbeit ist nur die Aussage über die mögliche Anwesenheit der geprüften Inhaltsstoffe zum Zeitpunkt der Probennahme möglich.

Bei 18 der 28 untersuchten Spezies waren Phenole im allgemeinen nachweisbar. Da Phenole im Pflanzenreich weit verbreitet sind, ist es nicht verwunderlich, bei 64 % der untersuchten Arten diese Stoffgruppe vorzufinden. Im speziellen waren davon bei 13 Spezies Flavonoide (*Apium graveolens* L., *Artemisia maritima* L., *Carex distans* L., *Carex extensa* GOOD., *Juncus gerardii* LOIS., *Juncus maritimus* LAM., *Leontodon autumnalis* L., *Oenanthe lachenalii* C.C.GMEL., *Ononis spinosa* L., *Salicornia europaea* L., *Spergularia media* L., *Trifolium fragiferum* L., *Trifolium repens* L.; 46 %) und bei 9 Tannine (*Artemisia maritima* L., *Aster tripolium* L., *Carex distans* L., *Carex extensa* GOOD., *Juncus gerardii* LOIS., *Juncus maritimus* LAM., *Leontodon autumnalis* L., *Ononis spinosa* L., *Puccinellia maritima* (HUDS.) PARL. 32 %) nachweisbar. Bei 7 Spezies (25 %) wurden sowohl Tannine als auch Flavonoide gefunden, was u.a. daran liegen kann, daß es sich bei den Tanninen um Catechingerbstoffe handelt.

Auf Alkaloide wurden 5 Spezies (*Armeria maritima* (MILL.) WILLD., *Artemisia maritima* L., *Odontites litoralis* FR., *Ononis spinosa* L., *Plantago maritima* L. 18 %) positiv getestet, was im Rahmen des zu Erwartenden liegt. Bei je sieben Spezies (25 %) wurden Saponine (*Carex distans* L., *Carex extensa* GOOD., *Centaurium pulchellum* (SW) DRUCE., *Cochlearia anglica* L., *Halimione portulacoides* (L.) ALLEN., *Juncus maritimus* LAM., *Spergularia media* L.) und Cumarine (*Apium graveolens* L., *Aster tripolium* L., *Festuca villosa* SCHWEIGG., *Oenanthe lachenalii* C.C.GMEL., *Puccinellia maritima* (HUDS.) PARL., *Salicornia europaea* L., *Spergularia media* L.) angezeigt.

Bei vier Spezies (*Suaeda maritima* (L.) DUM., *Limonium vulgare* MILL., *Agrostis maritima* LAM., *Spartina maritima* (CURT.) FERN.; 14 %) wurde keine der getesteten Phytochemikalien gefunden.

Die gleichen Einschränkungen wie für die Ergebnisse des chemischen Screenings sind für die Ergebnisse des biologischen Screenings zu machen. Hier wurde die Aktivität der ethanolischen Extrakte gegen Algen, Pilze und Hefen sowie Bakterien untersucht. Die für die Chemotherapie in der Krebsbehandlung wichtige Cytotoxizität wurde ermittelt ebenso wie die antineoplastischen Eigenschaften und die potentielle Tumorwachstumshemmung.

Keine oder nur geringe biologische Aktivität in den durchgeführten Tests zeigten 12 der 28 getesteten Spezies (43 %). Von den verbleibenden 16 Spezies zeigten fünf (*Ononis*

*spinosa* L., *Limonium vulgare* MILL., *Artemisia maritima* L., *Salicornia europaea* L., *Centaurium pulchellum* (Sw) DRUCE; 18 %) antineoplastische Aktivität. Dieselben Spezies waren auch cytotoxisch im Test mit Artemien und Daphnien oder nur mit Daphnien. Ein deutlich erkennbares Potential, das Tumorwachstum zu hemmen, hatten nur drei Spezies (*Ononis spinosa* L., *Trifolium fragiferum* L., *T. repens* L.; 11 %).

Eine Aktivität gegen eukaryotische Organismen zeigten insgesamt 12 Spezies. Diese teilen sich auf in fünf (*Aster tripolium* L., *Centaurium pulchellum* (SW) DRUCE., *Cochlearia anglica* L., *Odontites litoralis* FR., *Spergularia media* L.; 18 %), die nur gegen Algen aktiv waren, drei (*Juncus gerardii* LOIS., *Plantago maritima* L., *Triglochin maritimum* L.; 11 %), die nur auf Pilze/Hefen wirkten und vier (*Artemisia maritima* L., *Limonium vulgare* MILL., *Ononis spinosa* L., *Salicornia europaea* L.; 14 %), die gegen beide Mikroorganismenarten einen wachstumshemmenden Einfluß hatten.

Eine Wirkung auf prokaryotische Organismen ist fast nicht nachweisbar. Eine geringe Aktivität zeigen drei Spezies (*Artemisia maritima* L., *Cochlearia anglica* L., *Limonium vulgare* MILL.; 11 %). Jedoch nur *Limonium vulgare* MILL. zeigt eine deutliche Hemmung gegenüber einem Testorganismus. Die Wirkung von *Cochlearia anglica* L. beschränkt sich ausschließlich auf Gram-positive Testorganismen.

Die Wirkung auf Chitinase wurde nur bei einer Spezies (*Salicornia europaea* L.; 4 %) gefunden. Bei zwei Spezies (*Cochlearia anglica* L., *Limonium vulgare* MILL.) ist eine Aussage zur chitinaseinhibitorischen Aktivität nicht möglich, da gegen den Testorganismus eine überlagernde bakterizide Wirkung auftritt. Dieses Verhalten bestätigt die antibakterielle Wirkung dieser Spezies, wie sie vorstehend diskutiert wurde.

Zusammengenommen zeigen die Ergebnisse der chemischen und biologischen Eigenschaften der untersuchten Spezies der *Asteretea tripolii*, daß es sich durchaus lohnen kann, sich eingehender mit einzelnen Vertretern dieser Flora zu beschäftigen. Bestätigt wird dieser Eindruck durch die eingangs zitierten Literaturstellen, die zum Teil sehr altes ethnobotanisches Wissen vermitteln, ohne daß bis heute davon Gebrauch gemacht wird.

Hervorzuheben sind demnach die Spezies *Limonium vulgare* MILL., *Ononis spinosa* L. und *Salicornia europaea* L., die ein breites Wirkungsspektrum bei den biologischen Untersuchungen bewiesen haben und insbesondere für die Suche nach neuen Krebstherapeutika von Interesse sein können. Darüber hinaus sind alle drei Spezies mehrfach in der Literatur erwähnt und bei verschiedenen ethnischen Volksgruppen als historisch überlieferte Medizinalpflanzen in Gebrauch oder in modernen Untersuchungen auffällig geworden. Eine eingehende Untersuchung dieser Pflanzen scheint erfolgsversprechend. Weiter ist auch bislang der Wirkstoff von *Glaux maritima*

L. unbekannt, der für die einschläfernde Wirkung der auch als Kwaiutel-Sedativum bekannten Pflanze verantwortlich ist.

Die einleitend gestellte Frage nach dem pharmazeutischen und biotechnologischen Potential der *Asteretea tripolii* ist in der vorliegenden Arbeit vielschichtig untersucht worden. Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß es mehrere sehr interessante Kandidaten mit ausgezeichnetem Potential gibt. Für weitere Untersuchungen erscheinen die Spezies *Glaux maritima* L., *Limonium vulgare* MILL., *Ononis spinosa* L. und *Salicornia europaea* L. als die am erfolgversprechendsten.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

„Aber die Natur versteht gar keinen Spaß,  
sie ist immer wahr, immer ernst, immer strenge,  
sie hat immer recht, und die Fehler  
und Irrtümer sind immer des Menschen.“

JOHANN WOLFGANG GOETHE

Es wurden 28 Spezies, die typisch für die *Asteretea tripolii* sind, auf pharmazeutisches oder biotechnologisches Potential untersucht. Um das Potential abzuschätzen, wurden drei Wege beschritten: a) es wurde die phytochemische und ethnobotanische Literatur auf Hinweise zu den entsprechenden Pflanzen durchsucht, es wurden alle 28 Spezies b) einem Screening auf Alkaloide, Cumarine, Flavonoide, Saponine, Tannine und weitere phenolische Komponenten unterworfen, sowie c) auf antimikrobielle (pro- und eukaryotisch), cytotoxische und antineoplastische Aktivität untersucht.

Zur Bestätigung der Relevanz der Untersuchung wurden schließlich zwei Spezies ausgewählt, die aufgrund der Ergebnisse als vielversprechend einzustufen sind. Hier wurde gezielt nach den Wirkstoffen gesucht, die für die Auffälligkeit in den vorstehenden Untersuchungen verantwortlich waren.

Zusammenfassend läßt sich für alle untersuchten Spezies feststellen, daß bei den allermeisten beschriebenen ethnobotanischen Verwendungen keine Wirkprinzipien bekannt sind. Hier gibt es noch ein großes Betätigungsfeld für pharmazeutische Biologen und Chemiker. Besonders unverständlich scheint dieser Befund bei nahezu allen Spezies, die in den Arbeiten von HARTWELL (1968 – 1970, Liste unvollständig) erwähnt sind, angesichts der streckenweise nicht mal unzureichenden Möglichkeiten in der Krebstherapie, bestätigen doch Erfolge in der phytomedizinischen Behandlung dieser Krankheiten oder Therapien basierend auf Phytochemikalien seit 1947 (3.3.4.1.) mehrfach deren Potential. Niemand kann wirklich abschätzen, welche ungenutzten Ressourcen hier brachliegen.

Die Untersuchung der chemischen Inhaltsstoffe der Spezies hat teilweise zu neuen Erkenntnissen geführt. Dort, wo es bereits Angaben zu den entsprechenden Substanzgruppen gab, konnten diese mehrheitlich bestätigt werden. Es ist aber auch zu Ergebnissen gekommen, die anderen Angaben widersprechen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen der biologischen Aktivität der Spezies ist am wenigsten durch Literaturangaben überprüfbar. Es gibt nur wenige Untersuchungen, die mit den gleichen Spezies wie hier ähnliche Tests durchgeführt haben. Am ehesten waren

die Ergebnisse der Cytotoxizitätstests und der antineoplastischen Eigenschaften überprüfbar, gibt es zu diesem Thema doch die umfangreichsten Untersuchungen oder zumindest ethnobotanische Hinweise.

Die gewonnenen Erkenntnisse wurden dazu genutzt, um zwei Spezies mit interessanten Eigenschaften (chemisch oder biologisch) genauer zu untersuchen. Es konnte die in der Literatur erwähnte fungizide Eigenschaft von *Triglochin maritimum* L. in den vorstehenden Tests bestätigt werden. Die Suche nach den Wirkstoffen, ergab, daß *T. maritimum* L. Phenol und Hydrochinon bildet. Die biologische Aktivität von *Salicornia europaea* L. geht, zumindest teilweise, auf Ferulasäure zurück.

## 7. LITERATUR

- ADEMA D.M.M. (1978) *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests. *Hydrobiologia* **59** 125 – 134.
- ADESINA S.K. (1982) Studies on some plants used as anticonvulsants in Amerindian and African traditional medicine. *Fitoterapia* **53** 147 – 162.
- AL-MESHAL I.A., MOSSA J.S., AL-YAYA M.A., KHATIBI A. & HAMMOUDA Y. (1982) Phytochemical and biological screening of Saudi medicinal plants. Part I. *Fitoterapia* **53** 79 – 85.
- AL-SHAMMA A. & MITSCHER L.A. (1979) Comparative survey of indigenous Iraqi plants for potential economic value. I. Screening results of 327 species for alkaloids and antimicrobial agents. *J. Nat. Prod.* **42** 663 – 642.
- AL-YAHYA M.A., AL-MESHAL I.A., MOSSA J.S., KHATIBI A. & HAMMOUDA Y. (1983) Phytochemical and biological screening of Saudi medicinal plants. Part II. *Fitoterapia* **54** 21 – 24.
- ALBERT-PUELO M. (1978) Mythobotany, pharmacology and chemistry of thujone-Containing plants and derivatives. *Econ. Bot.* **32** 65 – 74.
- ALDUNATE C., ARMESTO J.J., CASTRO V. & VILLAGRÁN C. (1983) Ethnobotany of pre-altiplanic community in the Andes of North Chile. *Econ. Bot.* **37** 120 – 135.
- ARAKAWA Y., ASADA Y., ISHIDA H., CHIJII H. & IZAWA M. (1982) Structures of new two isoflavones and one flavone from glasswort (*Salicornia europaea* L.). *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.* **61** 1 – 12.
- ARNASON T., HEBDA R.J. & JOHNS T. (1981) Use of plants for food and medicine by native peoples of Eastern Canada. *Canad. J. Bot.* **59** 2189 – 2325.
- BAKER J.T. Borris R.P., Carté B., Cordell G.A., Soejarto D.D., Cragg G.M., Gupta M.P., Iwu M.M., Madulid D.R. & Tyler V.E. (1995) Natural product drug discovery and development: New perspectives on international collaboration. *J. Nat. Prod.* **58** 1325 – 1357.
- BALANDRIN M.F., KLOCKE J.A., WURTELE E.S. & BOLLINGER W.H. (1985) Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science* **228** 1157 – 1160.
- BANDONI A.L., MENDIONDO M.E., RONDINA R.V.D. & COUSSIO J.D. (1976) Survey of Argentine medicinal plants - Folklore and phytochemical screening. II. *Econ. Bot.* **30** 161 – 185.
- BASTIEN J.W. (1982) Herbal curing by Quollahuaya Andeans. *J. Ethnopharmacol.* **6** 13 – 28.
- BATE-SMITH E.C. (1956) The commoner phenolic constituents of plants and their systematic distribution. *Sci. Proc. Royal Dublin Soc.* **27** 165 – 176.

- BATE-SMITH E.C. (1962) The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. *J. Linnean Soc. (Bot.)* **58** 95 – 173.
- TEN BERGE W.F. (1978) Breeding *Daphnia magna*. *Hydrobiologia* **59** 121 – 123.
- BIBI H. ANWER S., MIANA G.A., AHMAD S. & RAHMAN A. (2000) Two new triterpene lactones from *Centaurium pulchellum*. *Fitoterapia* **71** 130 – 133.
- BILLARD J.P. & BOUCAUD J. (1982) Effect of sodium chloride on the nitrate reductase of *Suaeda maritima* var. *macrocarpa*. *Phytochemistry* **21** 1225 – 1228.
- BISSET N.G. (1976) Hunting poisons of the North Pacific Region. *Lloydia* **39** 87 – 124.
- BLINDOW H. (1987) *Frieslands Salzwiesen, Bedeutung und Schutz*. Jever.
- BOHLMANN F., ARNDT C., BORNOWSKI H. & KLEINE K.-M. (1961) Über Polyine aus der Familie der Umbelliferen. *Chem. Ber.* **94** 958 – 967.
- BORK P.M., SCHMITZ M.L., KUHN M., ESCHER C. & HEINRICH M. (1997) Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor NF- $\kappa$ B. *FEBS Lett.* **402** 85 – 90.
- BORKOWSKI B. & DROST K. (1965) Alkaloide aus *Salicornia herbacea* L.. *Pharmazie* **20** 390 – 393.
- BORSUTZKI H. (1955) Beitrag zur chemischen Kenntnis der *Artemisia maritima* L. *Arch. Pharm.* **288** 336 – 340.
- BRACONNOT D. (1811) Sur la nature champignons. *Ann. Chi. Phys.* **79**, 265 – 304.
- BRAUN A.C. (1972) The relevance of plant tumor systems to an understanding of the basic cellular mechanisms underlying tumorigenesis. *Prog. Exp. Tumor Res.* **15** 165 – 187.
- BRAUN A.C. & STONIER T. (1958) Morphology and physiology of plant tumors. *Protoplasmatologia* **10** 1 – 93.
- BRENNEISEN R. & STEINEGGER E. (1981) Zur Analytik der Polyphenole der Früchte von *Vaccinium myrtillus* L. (Ericaceae). *Pharm. Acta Helv.* **67** 11 – 14.
- BREITMAIER E. (1997) Alkaloide: Betäubungsmittel, Halluzinogene und andere Wirkstoffe, Leitstrukturen aus der Natur. Teubner Studienbücher Chemie, Stuttgart.
- BRØNDEGAARD V.J. (1972) Artemisia in der gynäkologischen Volksmedizin. *Ethnomedizin* **2** (1/2) 3 – 16.
- CALDWELL M.M., ROBBERECHT S.D. & FLINT S.D. (1983) Internal filters: Prospects of UV-accumulation in higher plants. *Physiol. Plant.* **81** 79 – 82.
- CANTON J.H. & ADEMA A.M.M. (1978) Reproducibility of short-term and reproduction toxicity experiments with *Daphnia magna* and comparison of the sensitivity of *Daphnia magna* with *Daphnia pulex* and *Daphnia cucullata* in short-term experiments. *Hydrobiologia* **59** 135 – 140.

- CAPPELLETTI E.M., TREVISAN R. & CANIATO R. (1982) External antirheumatic and antineuralgic herbal remedies in the traditional medicine of North-Eastern Italy. *J. Ethnopharmacol.* **6** 161 – 190.
- CASPARIS P. & MANELLA E. (1943a) Detection of coumarins in drugs I. *Pharm. Acta Helv.* **18** 347 360.
- CASPARIS P. & MANELLA E. (1943b) Detection of coumarins in drugs II. *Pharm. Acta Helv.* **18** 714 – 719.
- CASPARIS P. & MANELLA E. (1944) Detection of coumarins in drugs III. *Pharm. Acta Helv.* **19** 158 – 160.
- CHAPMAN TURNER N. & BELL M.A.M. (1971) The ethnobotany of the Coast Salish Indians of Vancouver island. *Econ. Bot.* **25** 63 – 104.
- CHAPMAN TURNER N. & BELL M.A.M. (1973) The ethnobotany of the Southern Kwakwaka'wakw Indians of British Columbia. *Econ. Bot.* **27** 257 – 310.
- CHANDLER R.F. & HOOPER S.N. (1979) Herbal remedies of the maritime Indians: A preliminary screening. Part I. *Canad. J. Pharm. Sci.* **14** 103 – 106.
- CHANDLER R.F. & HOOPER S.N. (1982) Herbal remedies of the maritime Indians: A preliminary screening. Part III. *J. Ethnopharmacol.* **6** 275 – 285.
- CHANDLER R.F., FREEMAN L. & HOOPER S.N. (1979) Herbal remedies of the maritime Indians. *J. Ethnopharmacol.* **1** 49 – 68.
- CHIIJI H. (1976) Studies on betalain pigments of centrospermae plants. With special reference to a violet red pigment in *Salicornia europaea* L.. *Mem. Fac. Agric., Hokkaido Univ.* **9(4)** 303 – 372.
- CHIIJI H., AIBA T. & IZAWA M. (1978) Isolation and identification of two 2,3-unsubstituted chromones from glasswort (*Salicornia europaea* L.). *Agric. Biol. Chem.* **42** 159 – 165.
- CHILTON M.D., SAIKI R.K., YADAV N., GORDON M.P. & QUETIER F. (1980) T DNA from *Agrobacterium* Ti plasmid is in the nuclear DNA fraction of crown gall tumor cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **77** 4060 – 4064.
- COLLIER W.A. & VAN DER PIJL L. (1950) Investigations on the antibiotic activity of the leaves of plants on Java. *Chron. Natura (Djakarta)* **106** 73 – 80.
- CORDELL G.A. (1981): Introduction to alkaloids. A biogenetic approach. Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto.
- CORDELL G.A. & FARNSWORTH N.R. (1976) A review of selected potential anticancer plant principles. *Heterocycles* **4** 393 – 427.
- CORDELL G.A., KINGHORN A.D. & PEZZUTO (1993) Separation, structure elucidation, and bioassay of cytotoxic natural products. In: *Bioactive Natural Products* (Colegate S.M. & Molyneux R.J. [Hrsg.]), CRC Press, Inc.
- CROSBY D.G. & AHARONSON N. (1967) The structure of carotatoxin, a natural toxicant from carrot. *Tetrahedron* **23** 465 – 472.

- CROWDEN R.K., HARBORNE J.B. & HEYWOOD V.H. (1969) Chemosystematics of the Umbelliferae - a general survey. *Phytochemistry* **8** 1963 – 1984.
- DUKE J.A. (1992) *Handbook of Phytochemical Constituents of Gras Herbs and Other Economic Plants*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- DUKE J.A. (1975) Chemistry and folk medicine. *Recent Adv. Phytochem.* **9** 83 – 117.
- DUNCAN A.C., JÄGER A.K. & VAN STADEN J. (1999) Screening of Zulu medicinal plants for angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors. *J. Ethnopharmacol.* **68** 63 - 70.
- EULER H. (1908) Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie. Teil 1. In: *Das chemische Material der Pflanzen*. Friedrich Vieweg, Braunschweig.
- EULER K.L. & FARNSWORTH N.R. (1962): A comparison of certain alkaloid screening procedures. *Lloydia* **25**: 296 – 311.
- FARNSWORTH N.R. (1966) Biological and phytochemical screening of plants. *J. Pharm. Sci.* **55** 225 - 276.
- FARNSWORTH N.R., PILEWSKI N.A. & DRAUS F.J. (1962) Studies on false-positive alkaloid reaction with Dragendorff's reagent. *Lloydia* **25** 312 – 319.
- FEINBRUN-DOTHAN N. (1978) *Flora Palaestina, Vol. III*. Israel Academy of Science and Humanitis, Jerusalem.
- FERRIGNI N.R., PUTMAN J.E., ANDERSON B., JACOBSEN L.B., MOORE D.S., MCLAUGHLIN J.L., POWELL R.G. & SMITH C.R.JR. (1982) Modification and evaluation of the potato disc assay and antitumor screening of Euphorbiaceae seeds. *J. Nat. Prod.* **45** 679 – 686.
- FIKENSCHER L.H., HEGENAUER R. & RUIJGROK H.W.L. (1980) Die Verbreitung der Blausäure bei den Cormophyten. 14. Mitteilung. Neue Beobachtungen zur Cyanogenese bei den Compositen. *Planta Medica* **40** 202 – 211.
- FLÜCKER E. & FLÜCK H. (1949) Ein künstliches Milieu für das Züchten von Daphnien im Laboratorium. *Experientia* **5** 486 - .
- FONG H.H.S., TIN-WA M. & FARNSWORTH N.R. (1973a) *Phytochemical Screening*. Collage of Pharmacy, University of Illinois, Chicago, Illinois.
- FONG H.H.S., MALONE M.H. & MCLAUGHLIN J.L. (1973b) *Experiments in the Pharmaceutical Biological Sciences*, University of the Pacific Duplicating Services, Stockton, California.
- FORTH W., HENSCHLER D., RUMMEL W. & STARKE K. (1996) *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 7. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag GmbH. Heidelberg, Berlin, Oxford.
- FOSTEL J.M. & LARTEY P.A. (2000) Emerging novel antifungal agents. *Drug Discovery Today* **5** 25 – 32.
- FREI E., SUTOW W.W. & LUCE, J.K. (1967) Plant products and the treatment of cancer in man. *Lloydia* **30** 324 – 331.

- FRÍAS E.A., AURICH O., FERRERER L.E., VÁSQUES M.G., HORSTMANN C., RENDUELES J.L., GRAQUITENA E.R., CASABELLA E.R. & SCHREIBER K. (1972) Phytochemische Untersuchungen der Pflanzen der kubanischen Flora. *Kulturpflanze* **19** 359 – 425.
- FROHNE D. & JENSEN U. (1998) *Systematik des Pflanzenreichs. Unter besonderer Berücksichtigung chemischer Merkmale und pflanzlicher Drogen*. 5. Aufl., Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart.
- FROHNE D. & PFÄNDER H.J. (1981) Doldengewächse als Giftpflanzen. *Dtsch. Apotheker Ztg.* **121** 2269 – 2275.
- GALSKY A.G., WILSEY J.P. & POWELL R.G. (1980) Crown gall tumor disc bioassay. *Plant Physiol.* **65** 184 – 185.
- GALSKY A.G., KOZIMOR R., PIOTROWSKI D. & POWELL R.G. (1981) The crown-gall potato disk bioassay as a primary screen for compounds with antitumor activity. *J. Natl. Cancer Inst.* **67** 689 – 692.
- GEIGER C., SCHOLZ E. & RIMPLER H. (1994) Ellagitannins from *Alchemilla xanthochlora* and *Potentilla erecta*. *Planta Medica* **60**
- GEISSMAN T.A. & IRWIN M.A. (1970) Chemical contributions to taxonomy and phylogeny in the genus *Artemisia*. *Pure appl. Chem.* **21** 167 – 180.
- GESLIN M. & VERBIST J.-F. (1985) Flavonoides de *Salicornia europaea*. *J. Nat. Prod.* **48** 111 – 113.
- GHAZALI R. & WARING R.H. (1999) The effects of flavonoids on human phenolsulphotransferases: Potential in drug metabolism and chemoprevention. *Life Sciences* **65** 1625 – 1632.
- GHOSH A., MISRA S., DUTTA A.K. & CHOUDHURY A. (1985) Pentacyclic triterpenoids and sterols from seven species of mangrove. *Phytochemistry* **24** 1725 – 1727.
- GILANI A.H. & JANBAZ K.H. (1993) Protective effect of *Artemisia scoparia* extract against acetaminophen- induced hepatotoxicity. *Gen. Pharmacol.* **24** 1455 – 1458.
- GILANI A.H. & JANBAZ K.H. (1995) Preventive and curative effects of *Artemisia absinthium* on acetaminophen and CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity. *Gen. Pharmacol.* **26** 309 – 315.
- VON GLAHN H., DAHMEN R., VON LEMM R. & WOLFF D. (1989) Vegetationssystematische Untersuchungen und großmaßstäbliche Vegetationskartierungen in den Außengroden der niedersächsischen Nordseeküste *Drossera* **89** 145 – 168.
- GLENN E.P., BROWN J.J. & O'LEARY J.W. (1998) Irrigation crops with seawater. *Sci. Am.* **279** (8) 56 – 61.
- GLENN E.P., O'LEARY J.W., WATSON C., THOMPSON T.L. & KUEHL R.O. (1991) *Salicornia bigelovii* Torr.: An oilseed halophyte for seawater irrigation. *Science* **251** 1065 – 1067.

- GONZALEZ A.G., GALINDO A., MANSILLA H. & GUTIERREZ A. (1981) Structure of maritim, a sesquiterpene lactone from *Artemisia maritima gallica*. *Phytochemistry* **20** 2367 – 2370.
- GOTTLIEB O.R. (1982) Ethnopharmacology versus chemosystematics in the search for biologically active principles in plants. *J. Ethnopharmacol.* **6** 227 – 238.
- GROSS D. (1977) Phytoalexine und verwandte Pflanzenstoffe. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **34** 187 – 247.
- GUSTINE D.L. (1981) Evidence for sulfhydryl involvement in regulation of phytoalexin accumulation in *Trifolium repens* callus tissue cultures. *Plant Physiol.* **68** 1323 – 1326.
- GUSSEVA-BADMAEVA A.P., HAMMERMANN A.F. & SOKOLOV W.S. (1972) Heilmittel der tibetischen Medizin. *Planta Medica* **21** 161 – 172.
- GUTTENBERGER M. (2000) Arbuscules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi inhabit an acidic compartment within plant roots. *Planta* **211** 299 – 304.
- VAN HAEKE P. & PERSONNE G. (1982) Report on an intercalibration exercise on a short term standard toxicity test with *Artemia nauplii* (ARC Test). *Colloq. Inst. Natl. Saute. Rec. Med.* **106** 359 – 376
- HALBROCK K. (1976) Coordinated induction and subsequent activity changes of two groups of metabolically interrelated enzymes. *Eur. J. Biochem.* **61** 199 – 210.
- HAMBURGER M., MARSTON A. & HASTETTMANN K. (1991) Search for new drugs of plant origin. In: *Advances in Drug Research* Vol. 20, TESTA B. [Ed.], Academic Press, London.
- HAMON N.W. & HINDMARSH K.W. (1978) Phytochemical screening of indigenous Saskatchewan plants: Alkaloids - Part I. *Canad. J. Pharm. Sci.* **13** 39 – 42.
- HAMON N.W., BASSENDOWSKI D.L. & STONKUS A. (1981) Phytochemical screening of indigenous Saskatchewan plants: Alkaloids - Part III. *Canad. J. Pharm. Sci.* **16** 13 – 15.
- HARMS H. (1956) Arzneipflanzen im Spiegel des zahnärztlichen Schrifttums. *Planta Medica* **4** 111 – 125.
- HARBORN J.G. (1973) *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall, London
- HARBORN J.G. (1988) Phenolics in the environment: an overview of recent progress. *Bull. Liasion Groupe Polyphenols* **14** 3 – 11.
- HART J.A. (1981) The ethnobotany of the Northern Cheyenne Indians of Montana. *J. Ethnopharmacol.* **4** 1 – 55.
- HARTWELL J.L. (1968) Plants used against cancer. A survey. *Lloydia* **31** 71 – 170.
- HARTWELL J.L. (1969a) Plants used against cancer. A Survey. *Lloydia* **32** 153 – 205.
- HARTWELL J.L. (1969b) Plants used against cancer. A Survey. *Lloydia* **32** 247 – 296.
- HARTWELL J.L. (1970a) Plants used against cancer. A Survey. *Lloydia* **33** 97 – 194.
- HARTWELL J.L. (1970b) Plants used against cancer. A Survey. *Lloydia* **33** 288 – 392.

- HASHIMOTO T. & YAMADA Y. (1994) Alkaloid biogenesis: molecular aspects. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **45** 257 – 285.
- HEGNAUER R. (1988) Biochemistry, distribution and taxonomic relevance of higher plant alkaloids. *Phytochemistry* **27** 2423 – 2427.
- HESSE M., MEIER H. & ZEEH B. (1991) *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. 4. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- HIRADATE S., YADA H., ISHII T., NAKAJIMA N., OHNISHI-KAMEYAMA M., SUGIE H., ZUNGSONTIPORN S. & FUJII Y. (1999) Three plant growth inhibiting saponins from *Duranta repens*. *Phytochemistry* **52** 1223 – 1228.
- HIRSCHHORN H.H. (1982) Natural substances in currently available Chinese herbal and patent medicines. *J. Ethnopharmacol.* **6** 109 – 119.
- HNATYSZYN O., RONDINA R.V.D. & COUSSIO J.D. (1976) Phytochemical screening of Argentine plants with potential pharmacological activity. VI. *Planta Medica* **29** 234 – 240.
- HOLME D. & SØRENSEN N.A. (1954) Studies related to naturally occurring acetylene compounds. XIV. The occurrence of 2-trans : 8-trans deca-2 : 8-diene-4 . 6-diyne-1ol=trans : trans-matricarinol in nature. *Acta Chem. Scand.* **8** 34 – 41.
- HOOPER S.N. & CHANNDLER R.F. (1981) Herbal remedies of the maritime Indians: A preliminary screening. Part II. *Canad. J. Pharm. Sci.* **16** 56 – 59.
- HOOPER S.N. & CHANNDLER R.F. (1984) Herbal remedies of the maritime Indians: Phytosterols and triterpens of 67 plants. *J. Ethnopharmacol.* **10** 181 – 194.
- HOUGHTON P.J. & RAMAN A. (1998): *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. 1<sup>st</sup>. edition. Chapman & Hall, London.
- HULTIN E. & TORSSELL K. (1965) Alkaloid screening of swedish plants. *Phytochemistry* **4** 425 – 433.
- HUSSEY J.S. (1974) Some useful plants of early New England. *Econ. Bot.* **28** 311 – 337.
- IDRIS U.E., ADAM S.E.I. & TARTOUR G. (1982) The anthelmintic efficacy of *Artemisia herba-alba* against *Haemonchus contortus* infection in goats. *Natl. Inst. Anim. Health Q.* **22** 138 – 143.
- IKRAM M. & INAM-UL-HAQ (1980) Screening of medicinal plants for antimicrobial activity. Part II. *Fitoterapia* **51** 281 – 284.
- ISONO K & SUZUKI S. (1979) *Heterocycles* **13**, 333 – 351.
- IZUMIDA H. MIKI W., SANO H. & ENDO E. (1995) Agar plate method, new assay for chitinase inhibitors using a chitin degrading bacterium. *J. Mar. Biotechnology* **2** 163 – 166.
- JAIN S.K. & TARAFDER C.R. (1970) Medicinal plant-lore of the Santals (A revival of P.O. Boddings' work). *Econ. Bot.* **24** 241 – 278.

- JANBAZ K.H. & GILANI A.H. (1995) Evaluation of the protective potential of *Artemisia maritima* extract on acetaminophen- and CCl<sub>4</sub>-induced liver damage. *J. Ethnopharmacol.* **47** 43 – 47
- JENSEN C.O. (1910) Von echten Geschwülsten bei Pflanzen. 2ième Conf. Internat. l'Étude Cancer. Apport. Paris, in: *Kgl. Veterinaer- Landbohøjskoles Serumlab.* **VII.** 243 – 254.
- JENSEN C.O. (1918) Undersøgelser vedrørende nogle svulstlignende dannelser hos planter. *Kgl. Veterinaer- Landbohøjskoles Aarsskrift* 91 - 143.
- KAPOOR L.D., KAPOOR S.L., SRIVASTAVA S.N., SINGH A. & SHARMA P.C. (1971) Survey of Indian plants for saponins, alkaloids and flavonoids. Part II. *Lloydia* **34** 94 – 102.
- KARRER W. & CHERBULIEZ E. (1976) *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe (exkl. Alkaloide)*, Hauptbd., 2. Aufl., Birkhäuser Verlag.
- KARRER W., CHERBULIEZ E. & EUGSTER C.H. (1977) *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe (exkl. Alkaloide)*, Erg.-Bd. 1, Birkhäuser Verlag.
- KARRER W., HÜRLIMAN H & CHERBULIEZ E. (1981) *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe (exkl. Alkaloide)*, Erg.-Bd. 2, Teil 1, Birkhäuser Verlag.
- KARRER W., HÜRLIMAN H & CHERBULIEZ E. (1985) *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe (exkl. Alkaloide)*, Erg.-Bd. 2, Teil 2, Birkhäuser Verlag.
- KASHIWADA Y., NONAKA G.I., NISHIOKA I., CHANG J.J. & LEE K.H. (1992) Antitumor agents. 129. Tannins and related compounds as selective cytotoxic agents. *J. Nat. Prod.* **55** 103 – 143.
- KELLEY B.D., APPELT J.M. & APPELT G.D. (1992) *Artemisia tridentata* (basin sagebrush) in the Southwestern United States of America: medicinal uses and pharmacologic implications. *Int. J. Addict.* **27** 347 – 366.
- KELLY M.G. & HARTWELL J.L. (1954) The biological effects and chemical composition of podophyllin. I. The biological effects of podophyllin. *J. Natl. Cancer Inst.* **14** 967 – 1010.
- KOGA D., ISOGAI A., SAKUDA A. & MATSUMOTO S. (1987) Specific inhibition of *Bombyx mori* chitinase by Allosamidin. *Agric. Biol. Chem.* **51**, 471 – 476.
- KOŁODZIEJ H. & SCHLEPP S. (1992) Phenolic metabolites from *Potentilla erecta*. *Phytochemistry (Life Sci. Adv.)* **11** 87 – 95.
- KRAUS J. (1990) Biopolymere mit antitumorale und immunmodulierender Wirkung. *Pharm. unserer Zeit* **19** 157 – 164.
- KURKDJIAN A. & GUERN J. (1989) Intercellular pH; measurement and importance in cell activity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **40** 271 – 03.

- KÜNNEMANN T.-D. & GAD G. (1997) *Salzwiesen – Überleben zwischen Land und Meer*. Isensee Verlag, Oldenburg.
- LACAILLE-DUBOIS M.A. & WAGNER H. (1996) A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine* **2** 363 – 386.
- LAMBERT J., SRIVASTAVA J. & VIETMEYER N. (1997) *Medicinal Plants. Rescuing a Global Heritage*. THE WORLD BANK, Washington, DC.
- LEE K.H. & GEISSMAN T.A. (1970) Sesquiterpene lactones of *Artemisia* - Constituents of *A. ludoviciana* ssp. *mexicana*. *Phytochemistry* **9** 403 – 408.
- LI G., GUO X., JIN R., WANG Z., JIAN H. & LI Z. (1982) Clinical studies on treatment of cerebral malaria with qinghaosu and its derivatives. *J. Trad. Chin. Med.* **2** 125 – 130.
- LIEBEZEIT G., KÜNNEMANN T.D. & GAD G. (1999) Biotechnological potential of North Sea salt marsh plants - a review of traditional knowledge. *J. Biotechnol.* **70** 77 – 84.
- LINCOLN R.A., STRUPINSKI K. & WALKER J.M. (1996) The use of *Artemia nauplii* (brine shrimp larvae) to detect toxic compounds from microalgal cultures. *Int. J. Pharm.* **34** 384 – 389.
- LIPPINCOTT J.A. & LIPPINCOTT B.B. (1975) The genus *Agrobacterium* and plant tumorigenesis. *Ann. Rev. Microbiol.* **29** 377 – 405.
- LUND K. & RIMPLER H. (1985) Tormentillwurzel, Isolierung eines Ellagitannins und pharmakologisches Screening. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **125** 105 – 108.
- LYONS P.C., WOOD K.V. & NICHOLSON R.L. (1990) Caffeoyl ester accumulation in corn leaves inoculated with fungal pathogens. *Phytochemistry* **29** 97 – 101.
- MABRY T.J., TAYLOR A. AND TURNER B.L. (1963) The betacyanins and their distribution. *Phytochemistry* **2** 61 – 64.
- MACCLURE J.W. (1975) Physiology and function of flavonoids. In: HARBORN J.B., MABRY T.J. & MABRY H. [Hrsg.], *The Flavonoids*. London, 970 – 1055.
- MAJAK W., MCDIARMID R.E., HALL J.W. & VAN RYSWYK A.L. (1980) Seasonal variation in the cyanide potential of arrowgrass (*Triglochin maritima*). *Canad. J. Plant. Sci.* **60** 1235 – 1241.
- MARTIN-TANGUY J. (1978) The distribution of hydroxycinnamic acids in higher plants. *Phytochemistry* **17** 1927 – 1928.
- MARTINEZ ALFARO M.A. (1982) Medicinal plants used in the Totonac community of the Sierra Norte de Puebla: Tuzamapan de Galeana, Puebla, Mexico. *J. Ethnopharmacol.* **11** 203 – 221.
- MATERN U. (1991) Coumarins and other phenylpropanoic compounds in the defense or response of plant cells. *Planta Medica* **57** (Sub. 1) 15.
- MAYER W., KUNZ W. & LOEBICH F. (1965) Die Struktur des Hamamelitannins. *Liebigs Ann. Chem.* **688** 232 – 238.
-

- MCLAUGHLIN J, CHANG C, SMITH D (1991): Bench-top bioassay for the discovery of bioactive natural products: an update. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **9** 383 – 409.
- MEYER B.N., FERRIGNI N.R., PUTNAM J.E., JACOBSE J.B., NICKOLS D.E. & MCLAUGHLIN J.L. (1982) Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* **45** 31 – 34.
- MICHAEL A.S., THOMPSON C.G. & ABRAMOVITZ M. (1956) *Artemia salina* as a test organism for bioassay. *Science* **123** 464
- MITSCHER L.A., LEU R.-P., BATHALA M.S., WU W.-N., BEAL J.L. & WHITE R. (1972) Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale, and methodology. *Lloydia* **35** 157 – 166.
- MITSUHASHI H. (1976) Medicinal plants of the Ainu. *Econ. Bot.* **30** 209 – 218.
- MOSSA J.S., AL-YAHYA M.A., AL-MESHAL I.A. & TARIQ M. (1983a) Phytochemical and biochemical screening of Saudi medicinal plants - Part 4. *Fitoterapia* **54** 75 – 80.
- MOSSA J.S., AL-YAHYA M.A., AL-MESHAL I.A. & TARIQ M. (1983b) Phytochemical and biochemical screening of Saudi medicinal plants - Part 5. *Fitoterapia* **54** 147 – 152.
- MUZARELLI R.A.A. (1977) *Chitin*. Pergamon Press, Oxford.
- NAGATA K.M. (1971) Hawaiian medicinal plants. *Econ. Bot.* **25** 245 – 254.
- NAKASHIMA H., MURAKAMI T., YAMAMOTO N., SAKAGAMI H., TANUMA S.I., HATANO T., YOSHIDA T. & OKUDA T. (1992) Inhibition of human immunodeficiency viral replication by tannins and related compounds. *Antiviral Res.* **18** 91 – 103.
- NICHOLSON I. (1967) *Mexikanische Mythologie*. Emil Vollmer Verlag, Wiesbaden.
- NOBLE R.L., BEER C.T. & CUTTS J.A. (1958) Role of chance observations in chemotherapy: *Vinca rosea*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **76** 893 - 894.
- NUHN P. (1990) *Naturstoffchemie. Mikrobielle, pflanzliche und tierische Naturstoffe*. 2. Aufl. Akademie-Verlag, Berlin.
- OKUDA T., YOSHIDA T. & HATANO T. (1989) Ellagitannins as active constituents of medicinal plants. *Planta Medica* **55** 117 – 122.
- OKUDA T., YOSHIDA T. & HATANO T. (1993) Classification of oligomeric hydrolysable tannins and specificity of their occurrence in plants. *Phytochemistry* **32** 507 – 521.
- ORAN S. (1999) Potato disk assay for some Jordanien medicinal plants. *Pharm. Biol.* **37** 296 – 299.
- PATHAK V.P. & KHANNA R.N. (1987) Sesquiterpene lactones from *Artemisia maritima*. *Phytochemistry* **26** 2103 – 2104.
- PEDRAS M.S.C. OKANGA F.I., ZAHARIA I.L. & KHAN A.Q. (2000) Phytoalexins from crucifers: Synthesis, biosynthesis and biotransformation. *Phytochemistry* **53** 161 – 176.

- PELLETIER S.W. (1983): The nature and definition of an alkaloid. In: *Alkaloids. Chemical and Biological Perspectives* Vol. I. PELLETIER S.W. [Ed.]. Wiley, New York.
- PIATELLI M. & IMPERATO F. (1971) Pigments of Centrospermae. XIV. Betacyanins of some Chenopodiaceae. *Phytochemistry* **10** 3133 – 3134.
- PIMM S.L., RUSSEL G.J., GITTLEMAN J.L. & BROOKS T.M. (1995) The future of biodiversity *Science* **269** 347 – 350.
- PYREK S.J. (1985) Sesquiterpene lactones of *Cichorium intybus* and *Leontodon autumnalis*. *Phytochemistry* **24** 186 – 188.
- RÄTSCH C. (1988) *Lexikon der Zauberpflanzen*. Akademische Druck- und Verlagsanstalt Graz/Austria.
- RAVN H. (1987) Caffeic ester as *in vitro* inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. *Biochem. Sys. Ecol.* **17** 175 – 184.
- RAO R.R. (1981) Ethnobotany of the Meghalaya: Medicinal plants used by Khasi and Garo tribes. *Econ. Bot.* **35** 4 – 9.
- RAO R.R. & JAMIR N.S. (1982) Ethnobotanical studies in Nagaland. I. Medicinal plants. *Econ. Bot.* **36** 176 – 181.
- REMANE A., STORCH V. & WELSCH U. (1989) *Kurzes Lehrbuch der Zoologie*. 6. Aufl., Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York.
- RHODES M.J.C. (1994) Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. *Plant Mol. Biol.* **24** 1 – 20.
- RICHTER G. (1988) Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. Physiologie und Biochemie des Primär- und Sekundärstoffwechsels. 5. Aufl. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York.
- ROBLES M., ARREGULIN M., WEST J. & RODRIGUEZ E. (1995) Recent studies on the zoopharmacognosy, pharmacology and neurotoxicology of sesquiterpene lactones. *Planta Medica* **61** 199 – 203.
- RODRIGUEZ E., TOWERS G.H.N. & MITCHELL J.C. (1976) Biological activities of sesquiterpene lactones. *Phytochemistry* **15** 1573 – 1580.
- ROTH L., DAUNDERER M. & KORMANN K. (1994) Giftpflanzen – Pflanzengifte. Vorkommen, Wirkung, Therapie, Allergische und phototoxische Reaktionen. 4. Aufl. Landsberg/Lech: ecomed.
- ROZEMA J., ARP W., VAN DIGGELEN J., VAN ESBROEK M., BROEKMAN R. & PUNTE H. (1986) Occurrence and ecological significance of vesicular arbuscular mycorrhiza in the salt marsh environment. *Acta Bot. Neerl.* **35** 457 – 467.
- RÜCKER G., MAYER R. & MANNS D. (1986) Isolierung von Quinghaosu aus *Artemisia annua* europäischer Herkunft. *Planta Medica* **52** 245.

- RÜCKER G., BREITMAIER E., MAYER R. & MANNS D. (1987) Peroxides as plant constituents, IV: A new cyclic five-membered sesquiterpene peroxysemiketal from *Artemisia maritima*. *Arch. Pharm.* **320** 437 – 441.
- SAM T.W. (1993) Toxicity testing using the brine shrimp *Artemisia salina*. in: *Bioactive Natural Products, Detection, Isolation and Structural Determination*. COLEGATE S.M. & MOLYNEUX R.J. [Hrsg.], CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 442 – 456.
- SANDBACKA M., CHRISTIANSON I. & ISOMAA B. (2000) The acute toxicity of surfactants on fish cells, *Daphnia magna* and fish - a comparative study. *Toxicology in Vitro* **14** 61 – 68.
- SANDBERG F., MICHEL K.-H., STAF B. & TJERNBERG-NELSON M. (1967) Screening of plants of the family Chenopodiaceae for alkaloids. *Acta Pharm. Suecica* **4** 51 – 57.
- SAXENA H.O. (1975) Survey of plants of Orissa (India) for tannins, saponins, flavonoids and alkaloids. *Lloydia* **38** 346 – 351.
- SCALBERT A., MONTIES B. & FAVRE J.M. (1988) Polyphenols of *Quercus robur*: Adult tree and *in-vitro* grown calli and shoots. *Phytochemistry* **27** 3483 – 3488.
- SCALBERT A. (1991) Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* **30** 3875 – 3883.
- SCHLÖSSER U.G. (1994) SAG-Sammlung von Algenkulturen at the University of Göttingen Catalogue of Strains 1994. *Bot. Acta* **107** 113-186.
- SCHMEIL O. & FITSCHEN J. (1988) Flora von Deutschland und seinen angrenzenden Gebieten. 88. Aufl. Quelle & Meyer Verlag, Heidelberg, Wiesbaden.
- SCHNEIDER G. & HILLER K. (1999) Arzneidrogen. 4. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidleberg, Berlin.
- SCHOLZ E. & RIMPLER H. (1989) Proanthocyanidins from *Krameria triandra* root. *Planta Medica* **55** 379 – 384.
- SCHOLZ E. (1994) Pflanzliche Gerbstoffe, Pharmakologie und Toxikologie. *Dtsch. Apotheker Ztg.* **134** 3167 – 3179.
- SEGELMAN A.B., FARNSWORTH N.R. & QUIMBY M.W. (1969) Biological and phytochemical evaluation of plants. III. False-negative saponin test results induced by the presence of tannins. *Lloydia* **52** 32 – 58.
- SHERIF A., HALL R.G. & EL-AMAMY M. (1987) Drugs, insecticides and other agents from *Artemisia*. *Med. Hypotheses* **23** 187 – 193.
- SILVA F. & ABRAHAM A. (1981) The potentiality of the Israeli flora for medicinal purposes. *Fitoterapia* **52** 195 – 200.
- SIMONET A.M., STOCHMAL A., OLESZEK W. & MACIAS F.A. (1999) Saponins and polar compounds from *Trifolium resupinatum*. *Phytochemistry* **51** 1065 – 1067.
- SMITH E.F. & TOWNSEND C.O. (1907) A plant-tumor of bacterial origin. *Science* **25** 671 – 673.

- SPENCER C.M., CAI Y., MARTIN R., GAFFNEY S.H., GOULDING P.N., MAGNOLATO D., LILLEY T.H. & HASLAM E. (1988) Polyphenol complexation - some thoughts and observations. *Phytochemistry* **27** 2397 - 2409.
- STEINEGGER E. & HAHN O. (1953) Santoninbestimmung in kleinen Drogenmengen. *Pharm. Acta Helv.* **28** 206 – 224.
- STRASBURGER E., NOLL F., SCHENCK H. & SCHIMPF A.F.W. (1991) *Lehrbuch der Botanik*. 33. Aufl. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York.
- STRAUCH R. & HILLER K. (1974) Cancerostatisch wirksame Naturstoffe. *Pharmazie* **29** 656 – 670.
- STROHL W.E. (2000) The role of natural products in a modern drug discovery program. *Drug Discovery Today* **5** 39 – 41.
- SU K.L. & STABA E.J (1973) Toxicity, anti-neoplastic, and coagulation effects of aquatic plants from Minnesota. *Lloydia* **36** 99 – 102.
- SU K.L., ABUL-HAJJ Y. & STABA E.J. (1973a) Antimicrobial effects of aquatic plants from Minnesota. *Lloydia* **36** 80 – 87.
- SU K.L., STABA E.J. & ABUL-HAJJ Y. (1973b) Preliminary chemical studies of aquatic plants from Minnesota. *Lloydia* **36** 72 – 79.
- SUFFNESS M. (1987) New approaches to the discovery of antitumor agents, in: *Proc. Phytochemical Society of Europe*, Vol. 27, Biologically Active Natural Products, HOSTETTMAN K. & LEA P.J. [Hrsg.] Clarendon Press, Oxford.
- SUFFNESS M. (1993) Taxol: From discovery to therapeutic Use. *Ann. Rep. Med. Chem.* **28** 304 – 315.
- SUFFNESS M. & DOUROS J.D. (1979) Drugs of plant origin. *Methods in Cancer Res.* **16** 73 – 126.
- SUFFNESS M. & DOUROS J. (1982) Current status of NCI (National Cancer Institute) plant and animal product program. *J. Nat. Prod.* **45** 1 –14.
- SUSPLUGAS J., PRIVAT G., GAL F. & PELLECUER J. (1970) Constituents of *Salicornia fruticosa*. *Chem. Abstr.* **72** 63644.
- TOWERS G. H.N. & YAMAMOTO E. (1985) Interactions of cinnamic acid and its derivatives with light. in: VAN SUMERE C.F. & LEA P.J. [Hrsg.] *The Biochemistry of Plant Phenolics. Annual Proceedings of the Phytochemical Society of Europe.* **25** 271 – 287.
- TROTTER II, R.T. (1981) Folk remedies as indicators of common illness: Examples from the United States-Mexico border. *J. Ethnopharmacol.* **4** 207 – 221.
- TURNER N.J. (1981) A gift for the taking: The untapped potential of some food plants of Northamerican native peoples. *Canad. J. Bot.* **59** 2331 – 2357.
- TURNER N.J. & KUHNLEIN H.V. (1982) Two important "root" food plants of the Northwest coast Indians: Spring bank clover (*Trifolium wormskjoldii*) and Pacific silver weed (*Potentilla anserina* subsp. *pacifica*). *Econ. Bot.* **36** 411 – 432.

- VEIT M. & GUMBINGER H.G. (1993) Hydroxyzimtsäuren und Derivate. *Dtsch. Apotheker Ztg.* **133** 911 – 931.
- VENNAT B., POURRAT H., POUGET M.P., GROSS D. & POURAT A. (1988) Tannins from *Hamamelis virginiana*: identification of proanthocyanidins and hamamelitannin quantification in leaf, bark and stem extracts. *Planta Medica* **54** 454 – 457.
- VENNAT B., POUGET M.P., POURAT A. & POURAT H. (1992) Proanthocyanidines: Composition qualitative et quantitative d'un extrait de rhizomes de *Potentilla tormentilla* (Rosacées). *J. Pharm. Belg.* **47** 485 – 493.
- VERPOORTE R. (1998) Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. *Drug Discovery Today* **3** 232 – 238.
- VILADOMAT F., CODINA C., BASTIDA J., GALOBARDES M. & SERRANO M. (1984) Alkaloid screening of Catalonia (Spain) plants, I. *J. Nat. Prod.* **47** 64 – 69.
- VOGEL (1820) Darstellung von Benzoesäure aus der Tonka-Bohne und aus den Melioliten- oder Steinklee-Blumen. *Gilberts Ann. D. Physik* **64** 161 - 166.
- VOIGT R. (1982) *Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie*. 4. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim, New York.
- DE WAART J., VAN AKEN F. & POW H. (1972) Detection of orally toxic microbial metabolites in foods with bioassay systems. *Zbl. Bakt. Hyg. 1. Abt. Orig.* **B222** 96 – 114.
- WATSON B., CURRIER T.C., GORDON M.P. CHILTON M.D. & NESTER E.W. (1975) Plasmid required for virulence of *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Bacteriol.* **123** 255 – 264.
- WATT J.M. (1967) African plants potentially useful in mental health. *Lloydia* **30** 1 – 22.
- WEETE J.D., RIVERS W.G. & WEBER D.J. (1970) Hydrocarbon and fatty acid distribution in the halophyte *Salicornia bigelovii*. *Phytochemistry* **9** 2041 – 2045.
- WOERDENBAG H.J., LUGT C.B. & PRAS N. (1990) *Artemisia annua* L.: a source of novel antimalarial drugs. *Pharm. Weekbl. [Sci]* **12** 169 – 181.
- WONG W. (1976) Some folk medicinal plants from Trinidad. *Econ. Bot.* **30** 103 – 142.
- XIAO P. (1981) Some experience on the utilization of medicinal plants in China. *Fitoterapia* **52** 65 – 73.
- XIAO P. (1983) Recent developments on medicinal plants in China. *J. Ethnopharmacol.* **7** 95 – 109.
- XU X.-X., ZHU J., HUANG D.-Z. & ZHOU W.-S. (1986) Total synthesis of arteannuin and deoxyarteannuin. *Tetrahedron* **42** 819 – 828.
- YEVICH J.P. (1991) *A Textbook of Drug Design and Development*. Krogsgaard-Larsen P. & Bundgaard H. [Hrsg.]. Harwood Academic Publishers, 606 – 630.
- YOSHIKAWA M. (1978) Diverse modes of action of biotic and abiotic phytoalexin elicitors. *Nature* **275** 546 – 547.

- ZAENEN I., VAN LAREKEHE N., TEUCHY H., VAN MONTAGU M. & SCHELL J. (1974) Supercoiled circular DNA in crown-gall inducing *Agrobacterium* strains. *J. Mol. Biol.* **86** 109 – 127.
- ZIRVI K.A., IKRAM M., DAR M.S., FAKOUHI T. & ERKER E.F. (1978) Chemical and pharmacological screening of some Iranian plants. *Fitoterapia* **49** 213 – 220.

## 8. GLOSSAR

Abortivum	Mittel zur Einleitung eines Abortus (Fehlgeburt)
Androeceum	Gesamtheit der Staubblätter
autogam	sich selbst befruchtend
dichasial	gabelig verzweigt
Dichasium	zymöser Blütenstand, der unter der Endblüte (die häufig verkümmert ist) eine gabelige Verzweigung bildet
Diuretikum	Mittel zur Steigerung des Harndrangs bzw. der Nierentätigkeit
einjährig	Pflanzen, die nur einmal blühen und fruchten → sommerannuell, → winterannuell.
Expectorans	schleimlösendes Mittel, Hustenmittel
Fiederblätter	die Blätter besitzen keine einheitliche, sondern eine in einzelne Abschnitte geteilte Spreite
Filament	Staubfaden des Staubblattes
Fruchtknoten	(= Ovar) fertiler Abschnitt des Stempels, der die Samenanlagen umschließt, meist bauchig verdickter Basalabschnitt des Stempels
Griffel	verlängerter Abschnitt des Ovars
Gynoeceum	Gesamtheit der Fruchtblätter (→ Karpelle)
Halluzinogen	Mittel, das das Bewusstsein des Menschen für Visionen empfänglich macht
Karpell	Fruchtblatt; bildet zusammen mit den daransitzenden Samenanlagen das (→) Gynoeceum
monopodial	(= racemös) Verzweigungsart, bei der Seitenäste einer Hauptachse entspringen (→ sympodial)
Narbe	Endabschnitte des Griffels oder des (→) Ovars, die der Aufnahme der Pollenkörner dienen
Nebenblätter	(= Stipel) seitliche Auswüchse des Blattgrundes
Nektarien	zuckerhaltige Säfte abscheidende Honigdrüsen
Ovar	→ Fruchtknoten
Pappus	Haarkelch der Asteraceae und Valerianaceae
Perianth	Blütenhülle (doppelt: aus Kelch- und Blütenblättern) vgl. Perigon
Perigon	Blütenhülle (einfach: nur ein Kreis entweder von Kelch- oder von Blütenblättern) vgl. Perianth
Perikarp	Wand des Fruchtknotens zur Zeit der Fruchtreife
Plazenta	Samenleiste; Gewebe, an dem die Samen angeheftet sind
Pseudanthium	Scheinblüte; Blütenstand, der wie eine Einzelblüte wirkt

psychodelisch	das Bewußtsein erweiternd, Visionen erzeugend
psychoaktiv	die Psyche oder das Bewusstsein aktivierend, gewöhnlich unbewußte psychische Inhalte in das Bewußtsein hebend
psychotrop	die Psyche oder das Bewußtsein verändernd (z.B. → psychodelisch, → psychoaktiv, sedativ, betäubend, verwirrend ...)
racemös	→ monopodial
Sedativum	Beruhigungsmittel
sommerannuell	der Lebenszyklus wird in einem Jahr durchlaufen, vgl. winterannuell
Staminodien	unfruchtbare Staubblätter
Stempel	ein aus mehreren, verwachsenen Fruchtblättern bestehendes Gynoeceum
Stipel	→ Nebenblatt
sympodial	Verzweigungsart, bei der im Gegensatz zur razemösen Verzweigung keine durchgehende Hauptachse vorhanden ist.
Tragblatt	Blätter der Infloreszenzachse, in deren Achsen die Blätter stehen
winterannuell	die Pflanze keimt im Herbst, blüht, fruchtet und stirbt im darauffolgenden Jahr, vgl. sommerannuell
zygomorph	(= dorsiventral) Blüte läßt sich nur durch eine Schnittebene in zwei annähernd spiegelbildliche Hälften zerlegen
zymös	→ sympodial

## 9. ANHANG I: DIE CHARAKTERPFLANZEN DER SALZWIESEN

Nach BLINDOW (1987) und VON GLAHN *et al.* (1989), verändert nach SCHMEIL & FITSCHEN (1988) alphabetisch nach den Familien sortiert.

Apiaceae (Umbelliferae) (Doldengewächse)

*Apium graveolens* L. (Echter Sellerie)

*Oenanthe lachenalii* C.C.GMEL. (Wiesen-Wasserfenchel)

Asteraceae (Compositae) (Korbblütler, Köpfchenblütler)

*Artemisia maritima* L. (*A. brevifolia* WALL., *A. herba-alba* ASSO., *A. kurramensis* QAZALBASH) (Strand-Beifuß)

*Aster tripolium* L. (Salz-Aster)

*Leontodon autumnalis* L. (Herbst-Löwenzahn)

Brassicaceae (Cruciferae) (Kreuzblütler)

*Cochlearia anglica* L. (Englisches Löffelkraut)

Caryophyllaceae (Nelkengewächse)

*Spergularia media* L. (Flügelsärmiger Spärkling)

Chenopodiaceae (Gänsefußgewächse)

*Halimione portulacoides* (L.) ALLEN (Portulak-Salzmelde)

*Salicornia europaea* L. (Gemeiner Queller)

*Suaeda maritima* (L.) DUM. (Strand-Sode)

Cyperaceae (Sauergräser, Riedgräser)

*Carex distans* L. (Entferntährige Sumpf-Segge)

*Carex extensa* GOOD. (Strand-Segge)

Fabaceae (Papilionaceae) (Schmetterlingsblütengewächse)

*Ononis spinosa* L. (Dornige Hauhechel)

*Trifolium fragiferum* L. (Erdbeer-Klee)

*Trifolium repens* L. (Weiß-Klee)

Gentianaceae (Enziangewächse)

*Centaureum pulchellum* (SW) DRUCE. (Ästiges Tausendgüldenkraut)

Juncaceae (Binsengewächse)

*Juncus gerardii* LOIS. (Salz-Binse)

*Juncus maritimus* LAM. (Strand-Binse)

Juncaginaceae (Dreizackgewächse)

*Triglochin maritimum* L. (Strand-Dreizack)

Plantaginaceae (Wegerichgewächse)

*Plantago maritima* L. (Strand-Wegerich)

Plumbaginaceae (Grasnelkengewächse)

*Armeria maritima* (MILL.) WILLD. (*Statice ameria* L) (Gemeine Grasnelke)

*Limonium vulgare* MILL. (*Statice limonium* L) (Widerstoß, Strandnelke)

Poaceae (Gramineae) (Süßgräser)

*Agrostis maritima* LAM. (Straußgras)

*Festuca villosa* SCHWEIGG. (Schwingel, Unterart des Roten Schwingels)

*Puccinellia maritima* (HUDS.) PARL. (Strand-Salzschwaden)

*Spartina maritima* (CURT.) FERN. (*S. stricta* (AIT.) ROTH.) (Niederes Schlickgras)

Primulaceae (Primelgewächse)

*Glaux maritima* L. (Strand-Milchkraut)

Scrophulariaceae (Rachenblütlergewächse)

*Odontites litoralis* FR. (Salz-Zahntrost)

## 10. ANHANG II: PROBENORT UND PROBENDATUM

Nr.	Name der Species	Ort und	Datum der Probenname
1.	<i>Agrostis maritima</i> LAM.	Cäciliengroden	21. 07. 1999
2.	<i>Apium graveolens</i> L.	Cäciliengroden	26. 04. 1999
3.	<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	Crildumersiel	16. 07. 1999
4.	<i>Artemisia maritima</i> L.	Cäciliengroden	14. 07. 1999
5.	<i>Aster tripolium</i> L.	Cäciliengroden	30. 06. 1999
6.	<i>Carex distans</i> L.	Cäciliengroden	30. 06. 1999
7.	<i>Carex extensa</i> GOOD.	Cäciliengroden	02. 07. 1999
8.	<i>Centaurium pulchellum</i> (Sw) DRUCE.	Cäciliengroden	26. 04. 1999
9.	<i>Cochlearia anglica</i> L.	Cäciliengroden	26. 04. 1999
10.	<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	Cäciliengroden	02. 08. 1999
11.	<i>Glaux maritima</i> L.	Harlesiel	19. 07. 1999
12.	<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	Cäciliengroden	23. 06. 1999
13.	<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	Cäciliengroden	06. 08. 1999
14.	<i>Juncus maritimus</i> LAM.	Cäciliengroden	09. 08. 1999
15.	<i>Leontodon autumnalis</i> L.	Cäciliengroden	23. 06. 1999
16.	<i>Limonium vulgare</i> MILL.	Crildumersiel	16. 07. 1999
17.	<i>Odontites litoralis</i> FR.	Cäciliengroden	26. 07. 1999
18.	<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	Cäciliengroden	26. 04. 1999
19.	<i>Ononis spinosa</i> L.	Cäciliengroden	12. 08. 1999
20.	<i>Plantago maritima</i> L.	Cäciliengroden	26. 04. 1999
21.	<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	Cäciliengroden	23. 07. 1999
22.	<i>Salicornia europeae</i> L.	Cäciliengroden	13. 10. 1998
23.	<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	Cäciliengroden	30. 07. 1999
24.	<i>Spergularia media</i> L.	Cäciliengroden	02. 07. 1999
25.	<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	Cäciliengroden	28. 06. 1999
26.	<i>Trifolium fragiferum</i> L.	Cäciliengroden	05. 07. 1999
27.	<i>Trifolium repens</i> L.	Cäciliengroden	09. 07. 1999
28.	<i>Triglochin maritima</i> L.	Cäciliengroden	26. 04. 1999

## 11. ANHANG III: NÄHRMEDIEN

### Agarmedium:

jeweiliges Nährmedium und 1,5 % Agar ( $15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ )

### Autoklavieren:

wenn nicht anders vermerkt 20 min bei  $121 \text{ }^\circ\text{C}$

pH-Wert immer vorher eingestellt

### Algenmedien (nach Schlösser, 1994):

Für *Euglena gracilis*:

Na-Acetat .....	10,0	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	20 mL
Beefextrakt .....	10,0	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	20 mL
Bacto-Trypton .....	10,0	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	20 mL
Hefeextrakt .....	10,0	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	20 mL
Erdextrakt .....				30 mL
Aqua dest. ....				910 mL

Für *Chlorogonium elongatum* wie für *Euglena* mit folgenden Zusätzen pro Liter:

$\text{KNO}_3$ .....	1,0	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	20 mL
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ .....	0,2	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	10 mL
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ .....	0,1	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	10 mL
$\text{CaSO}_4$ .....		gesättigte Lsg.	.....	20 mL

Für *Cryptomonas sp.*:

$\text{KNO}_3$ .....	1,0	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	20 mL
$\text{K}_2\text{HPO}_4$ .....	0,1	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	20 mL
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ .....	0,1	$\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$	.....	10 mL
Erdextrakt .....				30 mL
Mineralstofflösung für Algen .....				5 mL
Aqua dest. ....				450 mL
Filtriertes Seewasser .....				455 mL

Für *Dunaliella*

KNO <sub>3</sub> .....	1,0	g · 100 mL <sup>-1</sup>	..... 20 mL
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,1	g · 100 mL <sup>-1</sup>	..... 20 mL
Erdextrakt.....			30 mL
Künstliches Seewasser.....			930 mL

Für *Protosiphon*

KNO <sub>3</sub> .....	1,0	g · 100 mL <sup>-1</sup>	..... 20 mL
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,1	g · 100 mL <sup>-1</sup>	..... 20 mL
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O.....	0,1	g · 100 mL <sup>-1</sup>	..... 20 mL
Erdextrakt.....			30 mL
Mineralstofflösung für Algen.....			5 mL
Pepton.....			1 g · l <sup>-1</sup>
Aqua dest.....			905 mL

**B2-Medium**

Pepton.....	5,0	g
Hefeextrakt.....	1,0	g
FePO <sub>4</sub> .....	1,0	g · l <sup>-1</sup> ..... 10,0 ml
Aqua dest.....	740,0	ml
künstliches Seewasser ad.....	1000,0	ml
pH.....	7,7	

**BR II (Bunt & Rovaria, 1955; modifiziert)**

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3 H <sub>2</sub> O.....	0,40	g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,50	g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O.....	0,05	g
MgCl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O.....	0,10	g
FeCl <sub>3</sub> · 6 H <sub>2</sub> O.....	0,01	g
CaCl <sub>2</sub> .....	0,10	g
Pepton.....	1,00	g
Hefeextrakt.....	1,00	g
Glucose.....	5,00	g
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> .....	0,50	g
Agar.....	15,00	g
Aqua dest.....	965,0	ml
Gesteinsextrakt-Stocklösung.....	25,0	ml

Actidion-Stocklösung.....	10,0 ml	( nach Autoklavieren, unter 50°C)
pH.....	8,6	(mit steriler 1N NaOH oder 1N HCl)

**Cy-Medium (nach DSMZ, Braunschweig)**

Casein.....	3,00 g
CaCl <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O.....	1,36 g
Hefeextrakt.....	1,00 g
pH.....	7,2

**Erdextrakt:**

Erde .....	10,0 g	(bei 100°C 1 h in trockener Hitze sterilisieren)
Aqua dest. ....	40,0 ml	(bei 100 °C 1/2 h digerieren, dann filtrieren)
Aqua dest. ad.....	2000,0 ml	

**Eisen-EDTA (Fe-EDTA):**

FeSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O.....	0,7 g	
EDTA (Titriplex III).....	0,93 g	
Aqua dest. ....	80,0 ml	(unter Erwärmen lösen)
Aqua dest. ad.....	100,0 ml	

**Künstliches Seewasser für *Artemia salina* (nach Sam, 1993):**

NaCl .....	24,0 g
CaCl <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O.....	1,5 g
KBr.....	0,1
KCl.....	0,7 g
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	4,0
NaHCO <sub>3</sub> .....	0,2
MgCl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O.....	11,0 g
Aqua dest. ad.....	1000,0 ml

**Künstliches Seewasser für Algennährlösungen (nach Schlösser, 1994)**

NaCl .....	60,0 g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O.....	10,0 g
KCl.....	1,5 g
CaSO <sub>4</sub> .....	2,0 g
Aqua dest.....	100,0 mL

**Malz (Malzextrakt-Medium)**

Malzextrakt .....	10,0 g
pH.....	7,0
Aqua dest.....	1000,0 ml

**Mineralstofflösung für Algen (nach Schlösser, 1994)**

## Lösung I

ZnSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O.....	0,1 g · 100 mL <sup>-1</sup> .....	1,0 mL
MnSO <sub>4</sub> · 4 H <sub>2</sub> O .....	0,1 g · 100 mL <sup>-1</sup> .....	2,0 mL
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	0,2 g · 100 mL <sup>-1</sup> .....	5,0 mL
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O.....	0,02 g · 100 mL <sup>-1</sup> .....	5,0 mL
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O.....	0,02 g · 100 mL <sup>-1</sup> .....	5,0 mL
CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O .....	0,0005 g · 100 mL <sup>-1</sup> .....	5,0 mL
Aqua dest.....		881,0 mL

## Lösung II

FeSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O .....	0,7 g
Aqua dest.....	100,0 mL

Lösungen I und II getrennt autoklavieren und nach dem Abkühlen zusammengeben.

**PDA-Medium**

Pepton.....	5,0 g
Fleischextrakt .....	3,0 g
pH.....	7,0
Aqua dest.....	1000,0 ml

**Spurenelementlösung:**

a) $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	169,0	mg
Aqua dest.....	100,0	ml
b) $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ .....	130,0	mg
Aqua dest.....	100,0	ml
c) $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ .....	100,0	mg
Aqua dest.....	100,0	ml
d) $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .....	50,0	mg
$\text{H}_3\text{BO}_3$ .....	100,0	mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	100,0	mg
Aqua dest.....	100,0	ml

je 10 mL von den Stammlösungen a), b), c) und d) mit Aqua dest. auf 100 mL auffüllen und als Gebrauchslösung vorhalten

**Stammlösungen:**

Actidion	: .....	500,0	mg / 100 mL	Aqua dest.
Chloramphenicol	: .....	1,0	g / 100 mL	abs. Ethanol
Gesteinsextrakt	: NaCl .....	41,50	mg	
	$\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ .....	12,60	mg	
	$\text{KNO}_3$ .....	5,05	mg	
	$\text{K}_2\text{SO}_4$ .....	80,04	mg	
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	54,06	mg	
	Tracemetallmix.....	1,0	ml	
	Aqua dest.....	1000,0	ml	
Tracemetallmix	: $\text{H}_3\text{BO}_4$ .....	2,86	g	
	$\text{ZnSO}_4$ .....	0,22	g	
	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ .....	0,05	g	
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ .....	1,81	g	
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .....	0,08	g	
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ .....	0,39	g	
	Aqua dest.....	1000,0	ml	

## 12. ANHANG IV: REAGENZIEN

### **FeCl<sub>3</sub>**

Eisen-III-chlorid, 20%ige wäßrige Lösung. Im Tageslicht werden dunkle Flecken auf gelbem Grund sichtbar. Geeignet als Nachweis phenolischer Gruppen und für Catechine. (Roth *et al.*, 1994, S. 959)

### **LUGOL'sche Lösung**

In 100 mL Aqua dest. werden 10 g Kaliumjodid p.A., 5 g Jod p.A. und 5 g Natriumacetat p.A. gelöst.

### **MAYERS Reagenz**

1,358 g HgCl<sub>2</sub> werden in 60 mL Wasser gelöst (Lösung A). 5,0 g KI werden in 10 mL Wasser gelöst (Lösung B). Die Lösungen A und B werden gemischt und auf 100 mL aufgefüllt (HAMON & HINDMARSH, 1978).

### **WAGNERS Reagenz**

In 75 mL H<sub>2</sub>O werden 2,0 g KI und 1,27 g I<sub>2</sub> gelöst und auf 100 mL aufgefüllt (HAMON & HINDMARSH, 1978).

## 13. ANHANG V: CHEMIKALIEN

### Chemikalien

Actidion .....	unbekannt *
Agar .....	Riedel de Haën
<i>Artemia salina</i> Eier.....	Novotemia Salinenkrebs-Eier von JBL GmbH
Anzuchtfutter I.....	Liquizell von Dohse Aquarisitik
Anzuchtfutter II .....	Mikrozell von Dohse Aquarisitik
Aqua dest. ....	hausinterne Anlage
CaCl <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O .....	Flucka
CaSO <sub>4</sub> .....	Flucka
CHCl <sub>3</sub> .....	Scharlau
Chitin .....	unbekannt *
Chloramphenicol .....	unbekannt *
Chlorox .....	unbekannt *
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O .....	Riedel de Haën
CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O.....	Merck
DMSO.....	Riedel de Haën
EDTA (Titriplex III) .....	Merck
Erde.....	Riedel de Haën
Essigsäure .....	Merck
EtOH.....	Scharlau
FeCl <sub>3</sub> .....	Merck
FeSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O.....	Merck
Gelatine.....	Bella-Back
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50 %ig.....	Merck
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	Riedel de Haën
HCl <sub>konz.</sub> .....	Merck
Hg(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> .....	Merck
HgCl .....	Merck
KBr .....	Grüssing
KCl .....	Acros
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	Merck
KI.....	Merck
KNO <sub>3</sub> .....	Flucka
KOH .....	Merck
Magnesium .....	Merck
MeOH.....	Scharlau

MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O .....	Riedel de Haën
NaCl.....	Riedel de Haën
NaHCO <sub>3</sub> .....	Merck
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O .....	Grüssing
NaNO <sub>3</sub> .....	Flucka
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	Grüssing
Toluol .....	Scharlau
Tween 80 .....	Grüssing
ZnSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O .....	Merck

\* Bei den als «unbekannt» bezeichneten Chemikalien handelte es sich um Handabfüllungen, die im Chemikalienlager des Hause vorrätig waren, deren Hersteller aber nicht vermerkt war.

## 14. ANHANG VI: AUSWERTUNG DER UNTERSUCHUNGEN MIT *ARTEMIA SALINA* UND *DAPHNIA MAGNA*

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Untersuchungen der Wirkung der Rohextrakte auf *Artemia salina* für die einzelnen Pflanzen aufgeführt. Es gibt jeweils eine Tabelle für die Versuche zur akuten und chronischen Toxizität mit den Larven und den adulten Tieren. Die Spalten A, B und C der Tabellen kennzeichnen die drei parallel durchgeführten Versuche.

Die Ergebnisse für die Blindwerte der vier Chargen mit je sieben Pflanzen sind jeweils vorangestellt. Die Spalten geben die Anzahl der toten (Tot) und der lebenden Organismen (Leben), die prozentuale Todesrate (% Tot) sowie die erfolgte Auswertung wieder. Dies sind der gemittelte Wert der prozentualen Todesrate ( $\bar{\emptyset}$  [%]), die Differenz aus dem gemittelten Wert der prozentualen Todesrate und dem Negativblindwert der entsprechenden Charge ( $\bar{\emptyset}$  [%] - B<sup>-</sup>) und schließlich der relativen Toxizität (rel. Tox. [%]) normiert auf den Positivblindwert der jeweiligen Charge.

Die Ergebnisse der Untersuchungen mit *Daphnia magna* sind ebenso wie die mit *Artemia salina* tabellarisch dargestellt.

**Tabelle 12: Ergebnisse der Untersuchung der akuten Toxizität auf *Artemia salina* Larven.**

	A			B			C			Ø [%]	Ø [%] - B	rel. Tox. [%]
	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot			
Blindwert positiv	11	22	33,3	7	15	31,82	16	25	39	34,73	25,23	100
Blindwert negativ	3	35	7,89	3	26	10,34	4	35	10,3	9,499	0	0
<i>Agrostis maritima</i>	6	52	10,3	5	49	9,259	3	31	8,82	9,476	-0,02	-0,1
<i>Apium graveolens</i>	5	30	14,3	4	29	12,12	7	47	13	13,12	3,625	14,4
<i>Armeria maritima</i>	3	24	11,1	2	21	8,696	4	27	12,9	10,9	1,405	5,57
<i>Artemisia maritima</i>	15	49	23,4	9	31	22,5	17	58	22,7	22,87	13,37	53
<i>Aster tripolium</i>	4	43	8,51	3	29	9,375	4	32	11,1	9,666	0,167	0,66
<i>Carex distans</i>	1	10	9,09	4	42	8,696	3	21	12,5	10,1	0,597	2,37
<i>Carex extensa</i>	2	18	10	6	53	10,17	4	36	10	10,06	0,558	2,21
Blindwert positiv	15	32	31,9	20	25	44,44	37	45	45,1	40,49	30,56	100
Blindwert negativ	2	20	9,09	5	56	8,197	4	28	12,5	9,929	0	0
<i>Centaurium pulchellum</i>	6	28	17,6	5	27	15,63	9	46	16,4	16,55	6,616	21,6
<i>Cochlearia anglica</i>	2	15	11,8	4	31	11,43	4	30	11,8	11,65	1,723	5,64
<i>Festuca villosa</i>	4	36	10	3	26	10,34	5	37	11,9	10,75	0,821	2,68
<i>Glaux maritima</i>	3	21	12,5	5	49	9,259	4	35	10,3	10,67	0,743	2,43
<i>Halimione portulacoides</i>	3	19	13,6	4	31	11,43	2	21	8,7	11,25	1,324	4,33
<i>Juncus gerardii</i>	5	31	13,9	6	43	12,24	4	41	8,89	11,67	1,745	5,71
<i>Juncus maritimus</i>	9	61	12,9	5	38	11,63	6	48	11,1	11,87	1,936	6,33
Blindwert positiv	28	61	31,5	23	33	41,07	27	42	39,1	37,22	26,98	100
Blindwert negativ	3	24	11,1	2	18	10	5	47	9,62	10,24	0	0
<i>Leontodon autumnalis</i>	4	24	14,3	6	58	9,375	3	37	7,5	10,39	0,145	0,54
<i>Limonium vulgare</i>	8	26	23,5	17	59	22,37	19	58	24,7	23,52	13,28	49,2
<i>Odontites litoralis</i>	6	31	16,2	8	45	15,09	3	28	9,68	13,66	3,42	12,7
<i>Oenanthe lachenalii</i>	2	15	11,8	2	16	11,11	5	35	12,5	11,79	1,55	5,74
<i>Ononis spinosa</i>	17	61	21,8	13	42	23,64	3	9	25	23,48	13,23	49,1
<i>Plantago maritima</i>	6	31	16,2	5	28	15,15	6	51	10,5	13,96	3,723	13,8
<i>Puccinellia maritima</i>	6	51	10,5	2	18	10	4	25	13,8	11,44	1,198	4,44
Blindwert positiv	17	34	33,3	18	26	40,91	32	39	45,1	39,77	29,96	100
Blindwert negativ	4	39	9,3	2	23	8	4	29	12,1	9,808	0	0
<i>Salicornia europaea</i>	16	48	25	5	15	25	16	45	26,2	25,41	15,6	52,1
<i>Spartina maritima</i>	3	36	7,69	7	51	12,07	8	71	10,1	9,963	0,155	0,52
<i>Spergularia media</i>	3	15	16,7	6	35	14,63	7	47	13	14,75	4,947	16,5
<i>Suaeda maritima</i>	3	16	15,8	6	57	9,524	3	38	7,32	10,88	1,069	3,57
<i>Trifolium fragiferum</i>	8	57	12,3	3	15	16,67	6	42	12,5	13,82	4,017	13,4
<i>Trifolium repens</i>	4	28	12,5	2	16	11,11	3	27	10	11,2	1,396	4,66
<i>Triglochin maritima</i>	2	10	16,7	3	31	8,824	2	20	9,09	11,53	1,719	5,74

**Tabelle 13 Ergebnisse der Untersuchung der chronischen Toxizität auf *Artemia salina* Larven.**

	A			B			C			Ø [%]	Ø [%] - B	rel. Tox. [%]
	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot			
Blindwert positiv	26	0	100	34	0	100	33	0	100	100	87,92	100
Blindwert negativ	5	36	12,2	4	28	12,5	3	23	11,5	12,08	0	0
<i>Agrostis maritima</i>	7	48	12,7	7	49	12,5	3	23	11,5	12,26	0,177	0,2
<i>Apium graveolens</i>	6	30	16,7	8	43	15,69	4	28	12,5	14,95	2,873	3,27
<i>Armeria maritima</i>	5	28	15,2	3	19	13,64	5	28	15,2	14,65	2,569	2,92
<i>Artemisia maritima</i>	29	18	61,7	25	15	62,5	21	14	60	61,4	49,32	56,1
<i>Aster tripolium</i>	3	18	14,3	2	17	10,53	4	32	11,1	11,97	-0,1	-0,1
<i>Carex distans</i>	2	16	11,1	3	21	12,5	5	42	10,6	11,42	-0,66	-0,8
<i>Carex extensa</i>	6	47	11,3	3	25	10,71	3	22	12	11,35	-0,73	-0,8
Blindwert positiv	46	0	100	39	0	100	37	0	100	100	87,31	100
Blindwert negativ	3	19	13,6	2	16	11,11	6	39	13,3	12,69	0	0
<i>Centaurium pulchellum</i>	10	18	35,7	12	25	32,43	21	51	29,2	32,44	19,74	22,6
<i>Cochlearia anglica</i>	9	21	30	8	25	24,24	14	41	25,5	26,57	13,87	15,9
<i>Festuca villosa</i>	5	49	9,26	5	19	20,83	4	29	12,1	14,07	1,378	1,58
<i>Glaux maritima</i>	11	72	13,3	7	51	12,07	3	17	15	13,44	0,747	0,86
<i>Halimione portulacoides</i>	5	23	17,9	4	42	8,696	5	37	11,9	12,82	0,126	0,14
<i>Juncus gerardii</i>	12	24	33,3	8	25	24,24	14	43	24,6	27,38	14,69	16,8
<i>Juncus maritimus</i>	6	15	28,6	7	22	24,14	9	27	25	25,9	13,21	15,1
Blindwert positiv	58	0	100	47	0	100	67	0	100	100	87,03	100
Blindwert negativ	12	69	14,8	8	56	12,5	8	61	11,6	12,97	0	0
<i>Leontodon autumnalis</i>	2	15	11,8	3	23	11,54	5	31	13,9	12,4	-0,57	-0,7
<i>Limonium vulgare</i>	15	8	65,2	18	9	66,67	17	10	63	64,95	51,98	59,7
<i>Odontites litoralis</i>	6	15	28,6	4	9	30,77	7	17	29,2	29,5	16,53	19
<i>Oenanthe lachenalii</i>	7	29	19,4	3	11	21,43	7	28	20	20,29	7,321	8,41
<i>Ononis spinosa</i>	8	3	72,7	14	5	73,68	16	7	69,6	71,99	59,02	67,8
<i>Plantago maritima</i>	11	25	30,6	9	23	28,13	8	21	27,6	28,76	15,79	18,1
<i>Puccinellia maritima</i>	3	12	20	7	35	16,67	5	22	18,5	18,4	5,425	6,23
Blindwert positiv	38	0	100	29	0	100	48	0	100	100	88,12	100
Blindwert negativ	4	32	11,1	3	29	9,375	5	28	15,2	11,88	0	0
<i>Salicornia europaea</i>	47	24	66,2	17	8	68	33	15	68,8	67,65	55,77	63,3
<i>Spartina maritima</i>	3	17	15	6	31	16,22	4	29	12,1	14,45	2,567	2,91
<i>Spergularia media</i>	15	27	35,7	11	23	32,35	13	31	29,5	32,54	20,66	23,4
<i>Suaeda maritima</i>	5	36	12,2	6	45	11,76	3	20	13	12,33	0,455	0,52
<i>Trifolium fragiferum</i>	4	10	28,6	6	17	26,09	9	29	23,7	26,11	14,23	16,2
<i>Trifolium repens</i>	4	12	25	3	11	21,43	6	18	25	23,81	11,93	13,5
<i>Triglochin maritima</i>	5	23	17,9	4	21	16	7	36	16,3	16,71	4,833	5,48

**Tabelle 14: Ergebnisse der Untersuchung der akuten Toxizität auf die adulten Salinenkrebse**

	A			B			C			Ø [%]	Ø [%] - B	rel. Tox. [%]
	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot			
Blindwert positiv	4	6	40	6	4	60	3	7	30	43,33	40	100
Blindwert negativ	1	9	10	0	10	0	0	10	0	3,33	0	0
<i>Agrostis maritima</i>	1	9	10	0	10	0	0	10	0	3,33	0	0
<i>Apium graveolens</i>	0	10	0	2	8	20	1	9	10	10	6,67	17
<i>Armeria maritima</i>	1	9	10	0	10	0	1	9	10	6,67	3,33	8,3
<i>Artemisia maritima</i>	3	7	30	3	7	30	2	8	20	26,66	23,3	58
<i>Aster tripolium</i>	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	-3,33	-8,3
<i>Carex distans</i>	1	9	10	0	10	0	1	9	10	6,66	3,33	8,3
<i>Carex extensa</i>	2	8	20	0	10	0	0	10	0	6,67	3,33	8,3
Blindwert positiv	6	4	60	5	5	50	5	5	50	53,33	50	100
Blindwert negativ	0	10	0	0	10	0	1	9	10	3,333	0	0
<i>Centaureum pulchellum</i>	1	9	10	2	8	20	1	9	10	13,33	10	20
<i>Cochlearia anglica</i>	0	10	0	1	9	10	1	9	10	6,666	3,33	6,7
<i>Festuca villosa</i>	2	8	20	0	10	0	1	9	10	10	6,67	13
<i>Glaux maritima</i>	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,333	0	0
<i>Halimione portulacoides</i>	1	9	10	1	9	10	0	10	0	6,666	3,33	6,7
<i>Juncus gerardii</i>	0	10	0	2	8	20	1	9	10	10	6,67	13
<i>Juncus maritimus</i>	1	9	10	0	10	0	1	9	10	6,666	3,33	6,7
Blindwert positiv	5	5	50	5	5	50	6	4	60	53,33	50	100
Blindwert negativ	1	9	10	0	10	0	0	10	0	3,333	0	0
<i>Leontodon autumnalis</i>	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,333	0	0
<i>Limonium vulgare</i>	3	7	30	4	6	40	4	6	40	36,66	33,3	67
<i>Odontites litoralis</i>	2	8	20	0	10	0	1	9	10	10	6,67	13
<i>Oenanthe lachenalii</i>	1	9	10	1	9	10	0	10	0	6,666	3,33	6,7
<i>Ononis spinosa</i>	4	6	40	3	7	30	2	8	20	30	26,7	53
<i>Plantago maritima</i>	1	9	10	1	10	9,09	1	9	10	9,696	6,36	13
<i>Puccinellia maritima</i>	0	10	0	2	8	20	1	9	10	10	6,67	13
Blindwert positiv	5	5	50	6	4	60	5	5	50	53,33	50	100
Blindwert negativ	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,333	0	0
<i>Salicornia europaea</i>	3	7	30	2	8	20	3	7	30	26,66	23,3	47
<i>Spartina maritima</i>	1	9	10	0	10	0	0	10	0	3,333	0	0
<i>Spergularia media</i>	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	-3,33	-6,7
<i>Suaeda maritima</i>	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,333	0	0
<i>Trifolium fragiferum</i>	0	10	0	0	10	0	1	9	10	3,333	0	0
<i>Trifolium repens</i>	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,333	0	0
<i>Triglochin maritima</i>	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	-3,33	-6,7

**Tabelle 15: Ergebnisse der Untersuchung der chronischen Toxizität auf die adulten Salinenkrebse**

	A			B			C			Ø [%]	Ø [%] - B	rel. Tox. [%]
	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot			
Blindwert positiv	10	0	100	10	0	100	10	0	100	100	93,3	100
Blindwert negativ	1	9	10	0	10	0	1	9	10	6,666	0	0
<i>Agrostis maritima</i>	1	9	10	0	10	0	0	10	0	3,333	-3,33	-3,6
<i>Apium graveolens</i>	0	10	0	2	8	20	1	9	10	10	3,33	3,6
<i>Armeria maritima</i>	1	9	10	0	10	0	1	9	10	6,666	0	0
<i>Artemisia maritima</i>	7	3	70	6	4	60	8	2	80	70	63,3	68
<i>Aster tripolium</i>	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,333	-3,33	-3,6
<i>Carex distans</i>	1	9	10	0	10	0	1	9	10	6,666	0	0
<i>Carex extensa</i>	2	8	20	0	10	0	0	10	0	6,666	0	0
Blindwert positiv	10	0	100	10	0	100	10	0	100	100	86,7	100
Blindwert negativ	1	9	10	2	8	20	1	9	10	13,33	0	0
<i>Centaureum pulchellum</i>	3	7	30	4	6	40	3	7	30	33,33	20	23
<i>Cochlearia anglica</i>	1	9	10	1	9	10	1	9	10	10	-3,33	-3,8
<i>Festuca villosa</i>	1	9	10	1	9	10	2	8	20	13,33	0	0
<i>Glaux maritima</i>	2	8	20	1	9	10	1	9	10	13,33	0	0
<i>Halimione portulacoides</i>	1	9	10	1	9	10	2	8	20	13,33	0	0
<i>Juncus gerardii</i>	1	9	10	1	9	10	1	9	10	10	-3,33	-3,8
<i>Juncus maritimus</i>	2	8	20	1	9	10	1	9	10	13,33	0	0
Blindwert positiv	10	0	100	10	0	100	10	0	100	100	90	100
Blindwert negativ	0	10	0	1	9	10	2	8	20	10	0	0
<i>Leontodon autumnalis</i>	1	9	10	2	8	20	2	8	20	16,66	6,67	7,4
<i>Limonium vulgare</i>	8	2	80	6	4	60	7	3	70	70	60	67
<i>Odontites litoralis</i>	2	8	20	1	9	10	2	8	20	16,66	6,67	7,4
<i>Oenanthe lachenalii</i>	1	9	10	2	8	20	1	9	10	13,33	3,33	3,7
<i>Ononis spinosa</i>	7	3	70	6	4	60	7	3	70	66,67	56,7	63
<i>Plantago maritima</i>	1	9	10	2	8	20	1	9	10	13,33	3,33	3,7
<i>Puccinellia maritima</i>	1	9	10	0	10	0	2	8	20	10	0	0
Blindwert positiv	10	0	100	10	0	100	10	0	100	100	93,3	100
Blindwert negativ	1	9	10	1	9	10	0	10	0	6,666	0	0
<i>Salicornia europaea</i>	7	3	70	5	5	50	6	4	60	60	53,3	57
<i>Spartina maritima</i>	1	9	10	1	9	10	1	9	10	10	3,33	3,6
<i>Spergularia media</i>	2	8	20	1	9	10	1	9	10	13,33	6,67	7,1
<i>Suaeda maritima</i>	0	10	0	1	9	10	1	9	10	6,667	0	0
<i>Trifolium fragiferum</i>	2	8	20	0	10	0	1	9	10	10	3,33	3,6
<i>Trifolium repens</i>	1	9	10	1	9	10	1	9	10	10	3,33	3,6
<i>Triglochin maritima</i>	1	9	10	2	8	20	1	9	10	13,33	6,67	7,1

**Tabelle 16: Ergebnisse der Untersuchung der chronischen Toxizität auf die adulten Salinenkrebse**

	A			B			C			Ø [%]	Ø [%] - B	rel. Tox. [%]
	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot	Tot	Leben	% Tot			
Blindwert positiv	10	0	100	10	0	100	10	0	100	100	96,7	100
Blindwert negativ	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,3	0	0
<i>Agrostis maritima</i>	1	9	10	0	10	0	0	10	0	3,3	0	0
<i>Apium graveolens</i>	0	10	0	2	8	20	1	9	10	10	6,67	6,9
<i>Armeria maritima</i>	1	9	10	0	10	0	1	9	10	6,7	3,33	3,4
<i>Artemisia maritima</i>	4	6	40	6	4	60	5	5	50	50	46,7	48
<i>Aster tripolium</i>	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	-3,3	-3
<i>Carex distans</i>	1	9	10	0	10	0	1	9	10	6,7	3,33	3,4
<i>Carex extensa</i>	2	8	20	0	10	0	0	10	0	6,7	3,33	3,4
Blindwert positiv	10	0	100	10	0	100	10	0	100	100	96,7	100
Blindwert negativ	1	9	10	0	10	0	0	10	0	3,3	0	0
<i>Centaurium pulchellum</i>	4	6	40	2	8	20	3	7	30	30	26,7	28
<i>Cochlearia anglica</i>	0	10	0	1	9	10	1	9	10	6,7	3,33	3,4
<i>Festuca villosa</i>	2	8	20	0	10	0	1	9	10	10	6,67	6,9
<i>Glaux maritima</i>	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,3	0	0
<i>Halimione portulacoides</i>	1	9	10	1	9	10	0	10	0	6,7	3,33	3,4
<i>Juncus gerardii</i>	0	10	0	2	8	20	1	9	10	10	6,67	6,9
<i>Juncus maritimus</i>	1	9	10	0	10	0	1	9	10	6,7	3,33	3,4
Blindwert positiv	10	0	100	10	0	100	10	0	100	100	96,7	100
Blindwert negativ	0	10	0	0	10	0	1	9	10	3,3	0	0
<i>Leontodon autumnalis</i>	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,3	0	0
<i>Limonium vulgare</i>	4	6	40	3	7	30	5	5	50	40	36,7	38
<i>Odontites litoralis</i>	2	8	20	0	10	0	1	9	10	10	6,67	6,9
<i>Oenanthe lachenalii</i>	1	9	10	1	9	10	0	10	0	6,7	3,33	3,4
<i>Ononis spinosa</i>	5	5	50	4	6	40	5	5	50	47	43,3	45
<i>Plantago maritima</i>	2	8	20	1	9	10	1	9	10	13	10	10
<i>Puccinellia maritima</i>	0	10	0	2	8	20	1	9	10	10	6,67	6,9
Blindwert positiv	10	0	100	10	0	100	10	0	100	100	96,7	100
Blindwert negativ	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,3	0	0
<i>Salicornia europaea</i>	4	6	40	5	5	50	4	6	40	43	40	41
<i>Spartina maritima</i>	1	9	10	0	10	0	0	10	0	3,3	0	0
<i>Spergularia media</i>	3	7	30	3	7	30	2	8	20	27	23,3	24
<i>Suaeda maritima</i>	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,3	0	0
<i>Trifolium fragiferum</i>	0	10	0	0	10	0	1	9	10	3,3	0	0
<i>Trifolium repens</i>	0	10	0	1	9	10	0	10	0	3,3	0	0
<i>Triglochin maritima</i>	0	10	0	0	10	0	0	10	0	0	-3,3	-3

## 15. ANHANG VII: AUSWERTUNG DER UNTERSUCHUNG MIT DEM POTATOE-DISK-ASSAY.

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Auswertung der Untersuchung der Hemmung der Tumorbildung mit dem Potatoe-Disk-Assay tabellarisch aufgelistet. Die Tabelle gibt zu jeder getesteten Art die Anzahl der Tumore am Ende der Untersuchung in den drei Ansätzen (1, 2, 3), den Durchschnitt ( $\emptyset$ ) dieser Werte und die prozentuale Hemmung (%) gegenüber dem Blindwert wieder.

**Tabelle 17: Ergebnisse der Untersuchung der Tumorphemmung**

Art	Anzahl Tumore			$\emptyset$	%
	1	2	3		
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	18	21	23	20,67	8
<i>Apium graveolens</i> L.	20	19	24	21	6
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	21	23	21	21,67	3
<i>Artemisia maritima</i> L.	5	7	7	6,333	72
<i>Aster tripolium</i> L.	18	17	17	17,33	22
<i>Carex distans</i> L.	20	24	23	22,33	0
<i>Carex extensa</i> GOOD	21	19	23	21	6
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW) DRUCE.	10	10	13	11	51
<i>Cochlearia anglica</i> L.	16	20	19	18,33	18
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	17	25	18	20	11
<i>Glaux maritima</i> L.	27	20	20	22,33	0
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN.	20	22	21	21	6
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	18	16	21	18,33	18
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	22	15	23	20	11
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	22	24	21	22,33	0
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	6	7	6	6,333	72
<i>Odontites litoralis</i> FR.	16	18	17	17	24
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	18	18	20	18,67	16
<i>Ononis spinosa</i> L.	4	3	4	3,667	84
<i>Plantago maritima</i> L.	17	18	15	16,67	25
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	15	14	12	13,67	39
<i>Salicornia europaea</i> L.	9	8	11	9,333	58
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	22	20	21	21	6
<i>Spergularia media</i> L.	12	10	14	12	46
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	18	19	23	20	11
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	18	19	17	18	19
<i>Trifolium repens</i> L.	20	17	19	18,67	16
<i>Triglochin maritimum</i> L.	25	17	23	21,67	3
Blindwert	22	24	21	22,33	0

Tabelle 18: Alle Ergebnisse des chemischen Screenings in der Übersicht

Art	Alkaloide	Cumarine	Flavonoide	Saponine	Tannine	andere Phenole
Apiaceae						
<i>Apium graveolens</i> L.	-	+	+	-	-	Ø
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	-	+	+	-	-	Ø
Asteraceae						
<i>Artemisia maritima</i> L.	+	-	+	-	+	Ø
<i>Aster tripolium</i> L.	-	+	-	-	+	Ø
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	-	-	+	-	+	Ø
Brassicaceae						
<i>Cochlearia anglica</i> L.	-	-	-	+	-	-
Caryophyllaceae						
<i>Spergularia media</i> L.	-	+	+	+	-	Ø
Chenopodiaceae						
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN	-	-	-	+	-	-
<i>Salicornia europaea</i> L.	-	+	+	-	-	Ø
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-	-	-	-	-	-
Cyperaceae						
<i>Carex distans</i> L.	-	-	+	+	+	Ø
<i>Carex extensa</i> GOOD.	-	-	+	+	+	Ø
Fabaceae						
<i>Ononis spinosa</i> L.	+	-	+	-	+	Ø
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-	-	+	-	-	Ø
<i>Trifolium repens</i> L.	-	-	+	-	-	Ø

**Fortsetzung von Tabelle 18**

Art	Alkaloide	Cumarine	Flavonoide	Saponine	Tannine	andere Phenole
Gentianaceae						
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW) DRUCE.	-	-	-	+	-	-
Juncaceae						
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	-	-	+	-	+	Ø
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	-	-	+	+	+	Ø
Juncaginaceae						
<i>Triglochin maritimum</i> L.	-	-	-	-	-	+
Plantaginaceae						
<i>Plantago maritima</i> L.	+	-	-	-	-	+
Plumbaginaceae						
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	+	-	-	-	-	-
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	-	-	-	-	-	-
Poaceae						
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-	-	-	-	-	-
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-	+	-	-	-	+
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-	+	-	-	+	Ø
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-	-	-	-	-	-
Primulaceae						
<i>Glaux maritima</i> L.	-	-	-	-	-	-
Scrophulariaceae						
<i>Odontites litoralis</i> FR.	+	-	-	-	-	-

**Tabelle 19: Alle Ergebnisse des biologischen Screenings in der Übersicht**

Art	algizid	fungizid	bakterizid	cytotox.	antineopl.	Chitinase- inhibitor
Apiaceae						
<i>Apium graveolens</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Oenanthe lachenalii</i> C.C.GMEL.	-	-	-	-	-	-
Asteraceae						
<i>Artemisia maritima</i> L.	+	+	+	+	+	-
<i>Aster tripolium</i> L.	+	-	-	-	-	-
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	-	-	-	-	-	-
Brassicaceae						
<i>Cochlearia anglica</i> L.	+	-	+	-	-	?
Caryophyllaceae						
<i>Spergularia media</i> L.	+	-	-	-	-	-
Chenopodiaceae						
<i>Halimione portulacoides</i> (L.) ALLEN	-	-	-	-	-	-
<i>Salicornia europaea</i> L.	+	+	-	+	+	+
<i>Suaeda maritima</i> (L.) DUM.	-	-	-	-	-	-
Cyperaceae						
<i>Carex distans</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Carex extensa</i> GOOD.	-	-	-	-	-	-
Fabaceae						
<i>Ononis spinosa</i> L.	+	+	-	+	+	-
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Trifolium repens</i> L.	-	-	-	-	-	-

**Fortsetzung von Tabelle 19**

Art	algizid	fungizid	bakterizid	cytotox.	antineopl.	Chitinase- inhibitor
Gentianaceae						
<i>Centaurium pulchellum</i> (SW) DRUCE.	+	-	-	+	+	-
Juncaceae						
<i>Juncus gerardii</i> LOIS.	-	-	-	-	-	-
<i>Juncus maritimus</i> LAM.	-	-	-	-	-	-
Juncaginaceae						
<i>Triglochin maritimum</i> L.	-	+	-	-	-	-
Plantaginaceae						
<i>Plantago maritima</i> L.	-	+	-	-	-	-
Plumbaginaceae						
<i>Armeria maritima</i> (MILL.) WILLD.	-	-	-	-	-	-
<i>Limonium vulgare</i> MILL.	+	+	+	+	+	?
Poaceae						
<i>Agrostis maritima</i> LAM.	-	-	-	-	-	-
<i>Festuca villosa</i> SCHWEIGG.	-	-	-	-	-	-
<i>Puccinellia maritima</i> (HUDS.) PARL.	-	-	-	-	-	-
<i>Spartina maritima</i> (CURT.) FERN.	-	-	-	-	-	-
Primulaceae						
<i>Glaux maritima</i> L.	-	-	-	-	-	-
Scrophulariaceae						
<i>Odontites litoralis</i> FR.	+	-	-	-	-	-

## 18. DANKSAGUNG

Bedanken möchte ich mich bei:

**Herrn Priv. Doz. Dr. G. Liebezeit** für das Überlassen des Themas, die Betreuung und die ständige Bereitschaft, mir durch Rat und Tat zur Seite zu stehen

**Herrn Prof. Dr. P. Janiesch** für die Bereitschaft als Koreferent zur Verfügung zu stehen und Hilfe in botanischen Belangen

**Frau Dr. B. Behrends** für die Hilfe bei den Messungen am GC-MS

**Herrn Prof. Dr. J. Metzger** für die Durchführung der massenspektroskopischen Messung, der NMR-Messungen und der Schmelzpunktbestimmung

Für das Überlassen von Testorganismen und Rat bei deren Kultivierung bin ich zu Dank verpflichtet:

**Frau Dr. habil. K. Sterflinger und Herrn M. Hein** für die Pilze *Acremonium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Coniosporium perjorans*, *Exophiala sp.*, *Penicillium sp.*, *Phoma sp.* und *Trichoderma sp.*

**Herrn Dr. U. Winkler und Herrn W. Säftel** für die Algen *Chlorogonium elongatum*, *Euglena gracilis* und *Protosiphon botryoides*

**Herrn Prof. Dr. W.E. Krumbein** für die Bakterien *Bacillus cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* und *Micrococcus luteus*.

Des weiteren bedanke ich mich bei:

**den Mitarbeitern des Forschungszentrums Terramare** für Zusammenarbeit, Hilfe und ein angenehmes Arbeitsklima

**insbesondere Frau Dr. G. Gerdes** für die freundliche Aufnahme im Haus und die Einweisung in die Arbeitsabläufe

## 19. LEBENS LAUF

### **Allgemeines**

Name            Thomas Franz Lellau  
Geboren am    12. 02. 1968  
in                Germersheim  
Nationalität    deutsch

### **Schulausbildung**

Einschulung    1974 in die Grundschule in Neustadt an der Weinstraße  
Abschluß       1988 erreichen der allgemeinen Hochschulreife am Jade gymnasium in  
                    Jaderberg

### **Wehrdienst**

vom 01. 07. 1988 bis zum 30. 09. 1989

### **Hochschulausbildung**

01. 10. 1989    Immatrikulation an der Universität Oldenburg im Fach  
                    Wirtschaftswissenschaften und Exmatrikulation im folgenden Semester  
01. 10. 1990    Immatrikulation an der Universität Oldenburg im Fach Chemie  
01. 04. 1992    Immatrikulation an der Universität Oldenburg im Fach Biologie  
21. 01. 1997    Erreichen des akademischen Hochschulgrades des Diplomchemikers  
23. 10. 1998    Erreichen des akademischen Hochschulgrades des Diplombiologen  
02. 11. 1998    Beginn der Doktorarbeit am Forschungszentrum Terramare in  
                    Wilhelmshaven (im Fachbereich Chemie der Universität Oldenburg)

**Erklärung:**

Ich versichere, daß ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfaßt und nur die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Passagen, die zum überwiegenden Teil der Literatur entnommen sind, sind durch entsprechende Quellenverweise gekennzeichnet. Diese Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegen.

Oldenburg, den

---

(Thomas Franz Lellau)