



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Isolierung und Identifizierung charakteristischer
Stemona Stilbenoide aus *S. involuta* und *S. lucida*“

Verfasserin

Andrea Zraunig

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 444

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Biologie

Betreuer:

Ao. Prof. Dr. Harald Greger

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG.....	1
2. SYSTEMATIK UND MORPHOLOGIE.....	3
2.1. Die Familie Stemonaceae.....	3
2.1.1. Systematik.....	3
2.1.2. Morphologie.....	6
2.1.3. Geographische Verbreitung und Habitat.....	7
2.2. Die Gattung Stemona LOUR.....	8
2.2.1. Morphologie.....	8
2.2.2. Beschreibung und geographische Verbreitung.....	10
3. STILBENOIDE.....	15
3.1. Biosynthese und Verbreitung im Pflanzenreich.....	16
3.2. Stilbenoide der Gattung Stemona	19
3.3. Biologische Aktivität.....	23
4. MATERIAL UND METHODE.....	28
4.1. Pflanzenmaterial.....	28
4.2. Phytochemische Untersuchungen.....	31
4.2.1. Extraktion.....	31
4.2.2. Präparative Trennmethoden.....	32
4.2.2.1. Trockensäule (TS).....	32
4.2.2.2. Mitteldruckflüssigkeitschromatographie (MPLC).....	33
4.2.2.3. Säulenchromatographie mit Sephadex.....	34
4.2.2.4. präparative Dünnschichtchromatographie.....	34
4.2.3. Analytische Trennmethoden.....	35
4.2.3.1. Dünnschichtchromatographie (DC).....	35
4.2.3.2. High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC).....	36
4.2.4. Spektroskopische Methoden.....	37
4.2.4.1. UV-VIS-Spektroskopie.....	37
4.2.4.2. NMR-Spektroskopie.....	38
4.2.4.3. Massenspektroskopie.....	38

5. ERGEBNISSE.....	39
5.1. <i>Stemona involuta</i>	40
5.2. <i>Stemona sessilifolia</i>	46
5.3. <i>Stemona lucida</i>	47
5.4. Artspezifische Akkumulations-Trends.....	49
5.5. Isolierung der Reinstoffe.....	50
6. ÜBERSICHT SÄMTLICHER STEMONA-STILBENOIDE.....	52
7. DISKUSSION.....	57
8. ZUSAMMENFASSUNG.....	61
9. ABSTRACT.....	62
10. ANHANG.....	63
10.1. Spektraldatenkatalog.....	63
10.2. Abbildungen der Herbarbelege.....	83
10.3. Literaturverzeichnis.....	88

1. EINLEITUNG

Die Stemonaceae repräsentieren eine kleine monocotyle Familie mit vier Gattungen (RUDALL et al., 2005): *Croomia* Torr., *Stemona* LOUR., *Stichoneuron* Hook. f. und *Pentastemona* Steenis. Die namensgebende Gattung *Stemona* ist mit ca. 32 Arten die artenreichste Gattung innerhalb dieser Familie. Die meisten Vertreter sind kriechende, windende oder aufrecht krautige Pflanzen mit ausdauernden Speicherorganen (DUYFJES, 1993). Bei der Gattung *Stemona* übernehmen vor allem verdickte Wurzeln die Speicherfunktion, ihre Rhizome sind hingegen verkürzt. Die geographische Verbreitung erstreckt sich von Südostasien über Japan bis Nordaustralien. Die Gattung *Stemona* wächst bevorzugt in Gebieten mit jahreszeitlich ausgeprägter Trockenzeit und ist durch ihre unterirdischen Organe stark an jahreszeitliche Schwankungen angepasst. Ihre Speicherwurzeln enthalten biologisch hoch aktive Stoffe, die einen besonderen Schutz gegenüber Herbivoren und Pathogenen haben.

Phytochemisch ist die Gattung *Stemona* durch das Vorkommen von Alkaloiden und Stilbenoiden charakterisiert. Die strukturelle Vielfalt dieser Stoffe ist ein wichtiges chemisches Merkmal innerhalb dieser Gattung. Doch diese Stoffe sind nicht nur von chemotaxonomischen Interesse, sondern zeigen auch ein breites biologisches Wirkungsspektrum. Die enthaltenen Alkaloide weisen stark insektizide Eigenschaften auf (PILLI & FERREIRA DE OLIVERA, 2000; BREM et al., 2002; KALTENEGGER, 2003). Stilbenoide zeigen starke antifungale (ZHAO et al., 1994; PACHER et al., 2002; HARTL, 2003; ZHANG et al., 2008) und antibakterielle Eigenschaften (YANG et al., 2006; LIN et al., 2007). Stilbenoide haben aber nicht nur eine konstitutive Schutzfunktion, sondern auch eine induzierte Abwehr auf Infektion oder mikrobiellen Angriff (ZHAO et al., 1994; GORHAM, 1995; HARBORNE, 1999; PACHER, 2002). Diese induzierten Stoffe werden unter dem Begriff „Phytoalexine“ zusammengefasst (MÜLLER & BÖRGER, 1940).

In den Ursprungsländern hat die Gattung *Stemona* eine große Bedeutung. Ihre Speicherwurzeln finden in der traditionellen Medizin eine breite Anwendung bei Atemwegserkrankungen bis hin zur Behandlung von Endo- und Ektoparasiten bei Mensch und Tier. *Stemona* ist nicht nur als Arzneidroge durch ihre antimikrobiellen Eigenschaften von großer Bedeutung, sondern durch ihre stark insektizide und antiparasitäre Wirkung auch für die Landwirtschaft interessant. Die unterirdischen Organe werden auf lokalen Märkten unter volksmedizinischen Namen wie „Non-Tai-Yak“ oder „Pong-Mot-Ngam“ in Thailand, „Bach-Bo“ in Vietnam und „Bai bu“ in China verkauft. Dies birgt die Gefahr von nicht eindeutig bestimmten Pflanzenmaterial und führt immer wieder zu Verwechslungen wie beispielsweise mit den Speicherwurzeln *Clitoria macrophylla* Wall (TAGUCHI et al., 1977) oder *Asparagus racemosus* Willd. (SEKINE et al., 1997).

In der vorliegenden Arbeit wurden drei *Stemona*-Arten im Hinblick auf Akkumulations-Trends und struktureller Vielfalt von Stilbenoiden vergleichend, phytochemisch untersucht: *Stemona involuta* Inthachub, *Stemona sessilifolia* Miquel und *Stemona lucida* (R. Br.) DUYFJES. Dabei wurde das Hauptaugenmerk auf die Isolierung und Identifizierung von Stilbenoiden gerichtet. Weiters konnten artspezifische, organspezifische und interindividuelle Variationen der Stoffausstattung festgestellt werden.

2. SYSTEMATIK UND MORPHOLOGIE

2.1. Die Familie Stemonaceae

2.1.1. Systematik

Die Stemonaceae repräsentieren eine kleine Familie innerhalb der Monocotyledonen mit vier Gattungen (RUDALL et al., 2005) und etwa 39 Arten. Die artenreichste Gattung *Stemona* ist für die Benennung dieser Familie, früher auch bekannt unter dem Namen Roxburghiaceae (WALL, 1832), ausschlaggebend.

Tab.2.1. Gattungen der Stemonaceae (nach RUDALL et al., 2005)

Gattungen der Stemonaceae	Artenanzahl	Verbreitung
<i>Croomia</i> Torr. (1840)	3	O-China, S-Japan und SO-USA
<i>Pentastemona</i> Steenis (1982)	2	Sumatra
<i>Stemona</i> LOUR. (1790)	32	SO-Asien, Japan und N-Australien
<i>Stichoneuron</i> Hook.f. (1883)	2	SO-Asien

Die systematische Zuordnung dieser Familie blieb für lange Zeit unklar. KRAUSE (1930) sah die Stemonaceae als eigene Familie an und behandelte sie als nahe Verwandte der Liliaceae. HUTCHINSON (1934) stellte die Stemonaceae in die Ordnung der Dioscoreales. BURKILL (1960) und AYENSU (1968) sahen eine Verwandtschaft der Familie zu den „proto-Liliales“ nahe der Dioscoreaceae. Auch DAHLGREN et al. (1985) stellten die Stemonaceae in die Ordnung Dioscoreales, welche durch spätere phylogenetische Untersuchungen (CADDICK et al., 2002), basierend auf morphologischen Daten und DNA-Vergleiche, als monophyletische Gruppe innerhalb dieser Ordnung angesehen wurde. Berücksichtigt wurde unter anderem die Struktur der Pollenexine bei der Mikrosporogenese (CADDICK et al., 1998), die Blütenmorphologie (CADDICK et al., 2000b) und die Anatomie der Samenschale (BOUMAN, 1995). HUBER stellte 1991 die Stemonaceae aufgrund der unterschiedlichen Testa (ohne definierte Endotesta in *Stemona*), der hochbeweglichen

Belastbarkeit der Blüte und der nicht für die Dioscoreales typischen Stammanatomie zu den Asparagales. Taxonomisch gesehen stellen die Stemonaceae aufgrund zahlreich abgeleiteter Blütenmerkmale eine weitgehend isolierte Familie dar (DUYFJES, 1993). Doch wurde diese Familie laut DUYFJES (1993) in die Ordnung der Liliales s.l. zugeteilt. CHASE et al. (1995a) stellten sie angesichts von rbcL-Sequenzanalysen zu den Pandanales (Abb.2.1.). Durch sukzessive oder intermediäre Mikrosporogenese der Stemonaceae bestätigten FURNESS und RUDALL (1999) die Eingliederung in die Pandanales. Die Stemonaceae werden aufgrund jüngster Ergebnisse aus DNA-Vergleichen folgender 3 Gene (plastid rbcL, atpB und nuklear 18S rDNA) & Morphologie in die Ordnung der Pandanales, zusammen mit den Pandanaceae, Cyclanthaceae, Triuridaceae und Velloziaceae, eingegliedert (RUDALL et al., 2005).

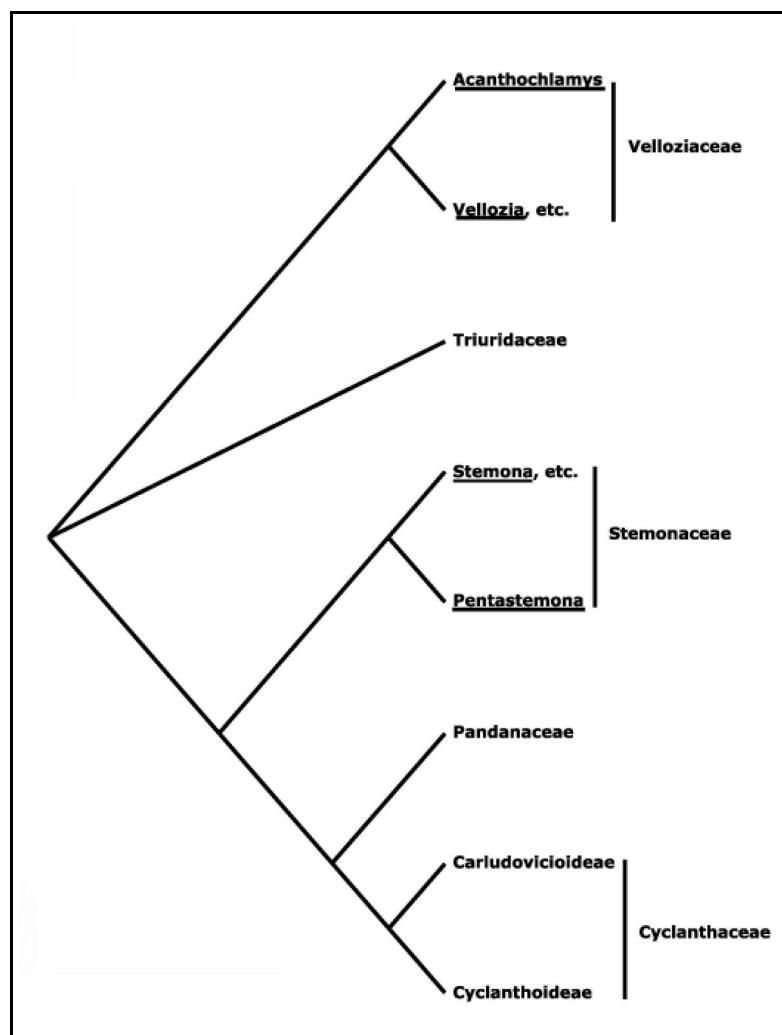


Abb.2.1. Cladogramm der Ordnung Pandanales (verändert nach CHASE et al., 1995b)

Früher wurden die Gattungen *Croomia* und *Stichoneuron* in eine eigene Familie, die Croomiaceae gestellt (NAKAI, 1973; AIRY SHAW, 1973). Aus heutiger Sicht haben diese beiden Gattungen eine nähere Beziehung zur monotypischen Familie der Stemonaceae (DUYFJES, 1991). Die Gattung *Pentastemona* (VAN STEENIS, 1982) wurde aufgrund folgender Aspekte vorübergehend in eine eigene Familie Pentastemonaceae ausgegliedert (DUYFJES, 1991, 1992): fünfzählige unterständige Blüten (DAHLGREN, 1985), inaperturater Pollen (VAN DER HAM, 1991, 1994), Blütenontogenese (VAN HEEL, 1992) und der Samen Anatomie (BOUMAN & DEVENTE, 1992). Inzwischen ist die Gattung *Pentastemona* wieder wie ursprünglich in die Familie der Stemonaceae eingegliedert (VAN STEENIS, 1982; APG II, 2003). Ansporn waren multigene molekulare Untersuchungen nach CADDICK et al. (2002) (Abb.2.2.).

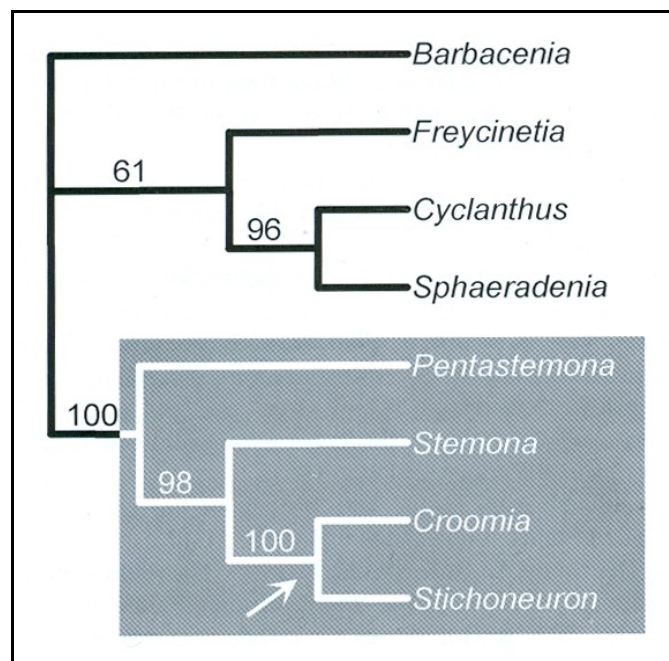


Abb.2.2. Cladogramm der Ordnung der Pandanales (verändert nach CADDICK et al., 2002)

2.1.2. Morphologie

Bei den Stemonaceae handelt es sich um kriechende, windende oder aufrecht krautige Pflanzen mit ausdauernden Speicherorganen. Bei der Gattung *Stemona* LOUR. übernehmen vor allem verdickte Wurzeln die Speicherfunktion, hingegen sind ihre Rhizome stark verkürzt. Während bei den Gattungen *Stichoneuron* Hook.f. und *Croomia* Torr. ausdauernde Rhizome die Speicherfunktion übernehmen, sind ihre sprossbürtigen Wurzeln nur sehr zart ausgebildet. Dagegen besitzt die Gattung *Pentastemona* Steenis ein kurzes, unverzweigtes, hauptsächlich oberirdisches Rhizom mit Pfahlwurzeln. Alle 4 Gattungen haben eine trabekuläre tertiäre Venation, einen charakteristischen Arillus (BOUMAN & DEVENTE, 1992) und ein einfächriges Ovar mit anatropen Samen (DUYFJES, 1991) gemein.

Bestimmungsschlüssel der Gattungen nach STEENIS (1982)/ DUYFJES (1993)/ KUBITZKI (1998):

1a Sprossachse nicht regelmäßig beblättert; Blätter an kurzer, aufrechter rhizomartiger Sprossachse gedrängt; Blätter: lang gestielt; Blüte: 5 zählig; FK: unterständig; Frucht: geflügelte Beere; Ovar mit vielen Samen, Gynoeceum: 3 karpellig.

.....*Pentastemona*

1b Sprossachse regelmäßig beblättert; Blüte: 2 - 4 zählig; FK: halbunterständig bis oberständig; Frucht: nicht geflügelt, Kapsel.

.....**2**

2a Üblicherweise kletternd, manche aufrecht und selten kriechend; Wurzeln: spindelförmig verdickt; Antheren mit Anhängsel; Ovar (zahlreich) mit am Grunde stehenden Samenanlagen; Blätter: nur mit basaler Nervatur.

.....*Stemona*

2b Klein aufrecht krautig, mit beblätterter Sprossachse; Wurzeln: nicht spindelförmig verdickt; Antheren ohne Anhängsel, auf kurzen dicken Filamenten; Ovar (wenige) mit vom Scheitel herabhängenden Samenanlagen.

.....3

3a Blätter: nur mit basaler Nervatur; Partialinfloreszenz: 1-2 Blüten: nickend, nicht steif; Antherenhälften: parallel, nicht durch Konnektiv getrennt; Tepalen: frei, schuppenförmig.

.....*Croomia*

3b Blätter: mit lateraler Nervatur, Blüten: gedrängt, aufrecht und starr, Traube; Antherenhälften divergierend, durch Konnektiv getrennt; Tepalen: mit Ovar verwachsen.

.....*Stichoneuron*

2.1.3. Geographische Verbreitung und Habitat

Die geographische Verbreitung der Stemonaceae erstreckt sich von Südostasien über Japan bis Nordaustralien (*Stemona*) mit einer einzigen Ausnahme: *Croomia pauciflora* Nutt. kommt im Südosten der Vereinigten Staaten von Amerika (Florida, Georgia) (ROGERS, 1982; WHETSTONE, 1984) vor (Abb.2.3.). Die Gattung *Pentastemona* mit ihren zwei Arten ist lokal endemisch nur in Nord- und West-Zentral-Sumatra zu finden. Grundsätzlich bevorzugt die Gattung *Stemona* Gebiete mit jahreszeitlich ausgeprägter Trockenzeit, v.a. saisonale Regenwälder bzw. landwirtschaftlich genutzte Flächen, küstennahe Gebiete oder Ufergebiete von Flussläufen unter 500 m Seehöhe mit einer Ausnahme: *Stemona tuberosa* LOUR. (DUYFJES, 1993). Die Gattung *Stemona* ist am stärksten an jahreszeitliche Schwankungen angepasst. *Croomia* und *Stichoneuron* sind in feuchteren Gebieten zu finden. Beide Gattungen sind kleine, zarte Unterwuchspflanzen in tiefer gelegenen, immergrünen tropischen Regenwäldern. Die Gattung *Pentastemona* bevorzugt Standorte mit mittlerer Feuchte vom Tieflandregenwald bis hin zu 600 m Seehöhe. Nicht selten lebt diese Gattung krennophytisch (DUYFJES, 1993).

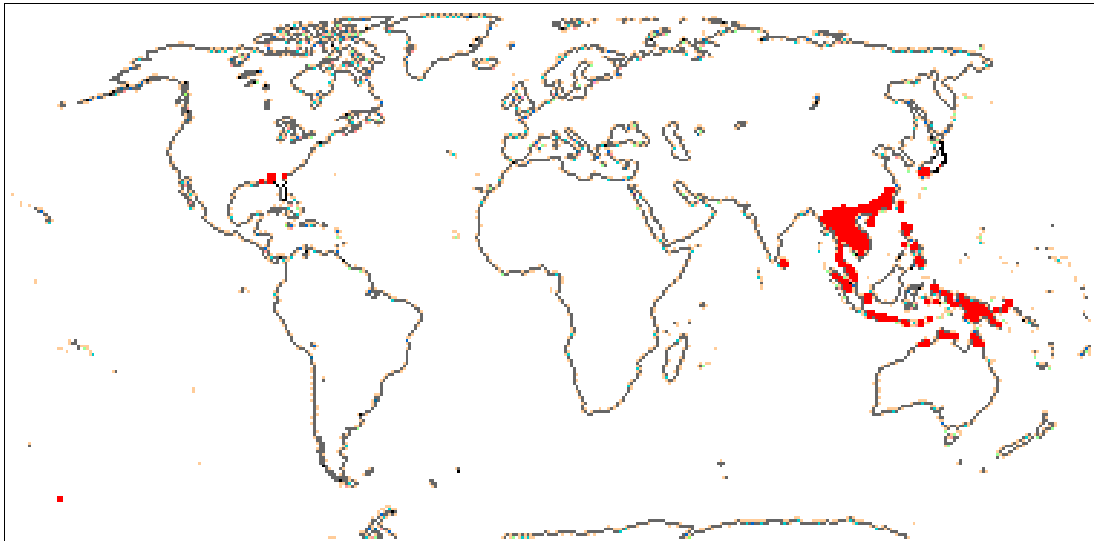


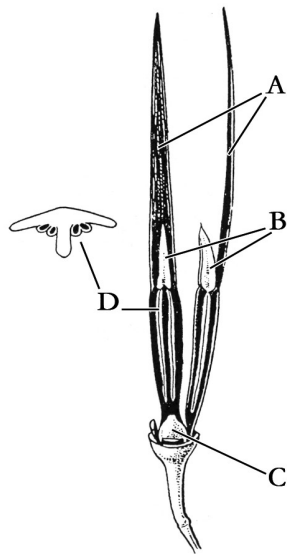
Abb.2.3. Verbreitungsgebiet der Stemonaceae (nach DUYFJES, 1993)

2.2. Die Gattung *Stemona* LOUR.

2.2.1. Morphologie

Die Gattung *Stemona* stellt mit ihren 32 Arten die artenreichste Gattung innerhalb dieser Familie dar (DUYFJES, 1993). Die meisten Vertreter sind krautige Kletterpflanzen mit ausdauernden Speicherorganen. Im Gegensatz zu den anderen Gattungen besitzt *Stemona* ein stark verkürztes bis kriechendes Rhizom. Während der Trockenzeit überdauert sie in Form ihrer stark ausgeprägten Speicherwurzeln. Bei den verschiedenen Arten sind die Wurzeln unterschiedlich stark ausgebildet. *S. tuberosa* ist durch ihre fleischig dicken Wurzeln leicht zu erkennen, während *S. curtisii* Hook.f. nur lange, dünne Speicherwurzeln ausbildet. Die meisten Arten sind monopodial mit einer schwach verzweigten bis unverzweigten Sprossachse aufgebaut. Die ganzrandigen, einfachen, gestielten und stipellosen Laubblätter sind gegenständig oder wechselständig bis wirtelig angeordnet. Ihre Spreite ist lanzettlich bis breit eiförmig oder herzförmig mit einfacher Mittelrippe und paralleler Hauptnervatur. Im Vergleich zur wie früher angenommenen verwandten Gattung *Dioscorea* (Dioscoreaceae) ist die querverlaufende Sekundäraderung gut ausgebildet. Bei Trockenheit rollen sich die Blätter der Breite nach ein, während sich die Blätter von *Dioscorea* der Länge nach einrollen.

Grundsätzlich sind die Laubblätter unbehaart, nur *S. kerrii* Craib besitzt eine kurze Behaarung (JI & DUYFJES, 2000). Die Stomata sind anomocytisch. Kristalle kommen in den Laubblättern von *S. tuberosa* als Styloide und Raphide vor (GULLIVER, 1865; BOKORNY, 1882). Während sich die Raphidzellen nur am Blattrand befinden, verteilen sich die Styloide über das ganze Blatt. LOBSTEIN und GRUMBACH (1932) fanden Schleimzellen und Calciumoxalatkristalle in den Knollen von *S. tuberosa*. Die Achseln der Laubblätter tragen eine bis wenige sitzende oder kurzgestielte Blüten, ohne Brakteen. Die Infloreszenzen sind monopodial – racemös oder in Zymen angeordnet. Die meisten Arten sind zwittrig mit einer komplizierten Blütenarchitektur. Die radiärsymmetrische Blüte ist ein einfaches Perigon aus 2 Kreisen mit je 2 Tepalen [$\star T_{(2+2)}$]. Die Tepalen sind aufrecht zugespitzt, frei, vielnervig und selten an der Basis verwachsen. Während der Anthese biegen sich diese stark zurück, wobei das Perigon auch nach dem Abblühen erhalten bleibt. Der Verlauf der Blütenbildung und Anthese ist bei den einzelnen Arten unterschiedlich reguliert. Manche Arten treiben vor der Ausbildung der Laubblätter aus, wie z.B. *S. collinsiae* Craib oder *S. involuta* Inthachub, andere hingegen erst nach dem Laubaustrieb (*S. burkillii* Prain). Die Blütenfarbe variiert von grünlich bis dunkel purpurn. Die Stamina sind mit kurzen am Grunde vereinigten Filamenten verbunden. Die Antheren sind linealisch mit darüber hinausragenden, langen petaloiden Anhängseln gekennzeichnet, welche anatomisch als Konnektivfortsatz gelten (Abb.2.4). Bei manchen Arten setzen sich die Theken in sterilen Appendices fort, die im Falle von *S. kerrii* fleischig ausgebildet sind und eine auffallende Färbung aufweisen. Während die Spitzen bei *S. tuberosa* verbunden sind, fehlen diese Fortsätze bei *S. cochinchinensis* Gagnep komplett (DUYFJES, 2010). Die Funktion dieser Anhängsel ist bis heute nicht ganz geklärt. Vermutlich tragen sie zur Schauwirkung der Blüte bei oder fungieren auch als Osmophore, wie beispielsweise die Blüten von *S. tuberosa* und *S. phyllantha* Gagnep, die einen aasähnlichen Geruch verströmen (DUYFJES, 2010).



Bei der Pollenabgabe biegen sich die Theken basal auseinander und geben den Pollen in Richtung Blütenboden ab. Das einfächrige Ovar ist oberständig bis halbunterständig und besitzt mehrere aufrechte basale Samenanlagen. Die Narbe ist sitzend und unscheinbar. Die Frucht ist eine eiförmige bis längliche zweiklappige Kapsel mit zahlreichen Samen. Die Samen besitzen auffällige Elaiosomen, welche auf Myrmekochorie hinweisen. Bis heute sind keine detaillierten Angaben zur Samen- und v.a. Fruchtverbreitung vorhanden.

Abb.2.4. Staubblätter von *S. tuberosa* Lour. (nach Kubitzki, 1998): A) petaloide Fortsätze der Konnektive. B) fleischige und auffällig gefärbte Auswüchse der Theken. C) Fruchtknoten. D) Theken.

2.2.2. Beschreibung und geographische Verbreitung der untersuchten Arten

Stemona involuta Inthachub

Beschreibung nach INTHACHUB (2010):

Windend oder mit Ausläufern, bis zu 1 m hoch, kahl, fallweise verzweigt; Wurzeln: tuberös, 10-30 cm lang, ca. 1 cm dick; Blätter: herzförmig bis dreieckig-eiförmig, alternierend, 5-11 x 4-7 cm groß, Blattstiel 3,5-6,5 cm; 7-9 Nerven; Infloreszenzen: einblütig, sessil, entspringen den Achseln der Laubblätter, Brakteen ca. 7 mm lang; Blüte: Blütenstiel 5-17 mm lang, Tepalen 15-19 x 3-5 mm lang, Stamen 13-15 x 2 mm, Filamente ca. 1 mm lang, Antheren ca. 5 mm lang; Theken durch

wulstartige Bildungen voneinander getrennt; petaloider Konnektivfortsatz ca. 12 mm lang, mit einrollendem Seitenrand, daher auch das Artepitheton *involuta*; Tepalen pink bis dunkelrot, Außenseite grün geadert; Frucht: 13 x 10 mm groß, 3-6 hellbraune 7-8 x 3-4 mm große Samen, Arillus fingerförmig gelappt; Blütezeit: Februar bis März und Oktober; Grundsätzlich besteht eine starke Ähnlichkeit zwischen *S. involuta* und *S. aphylla*. *S. involuta* zeichnet sich jedoch durch kleinere Blüten und einen flachen petaloiden Fortsatz, der sich der Länge nach einrollt, aus.

Verbreitung: Diese Art ist vermutlich in Thailand endemisch. Das Verbreitungsgebiet bezieht sich hauptsächlich auf den Nordosten Thailands. (Norden: Sukhothai; Nord/Ost: Khon Kaen; Osten: Nakhon Ratchasima, Buri Ram;).

Habitat: saisonale Wälder auf felsigem Grund, am Saum von Brachfeldern, auf 100-300 m Seehöhe;

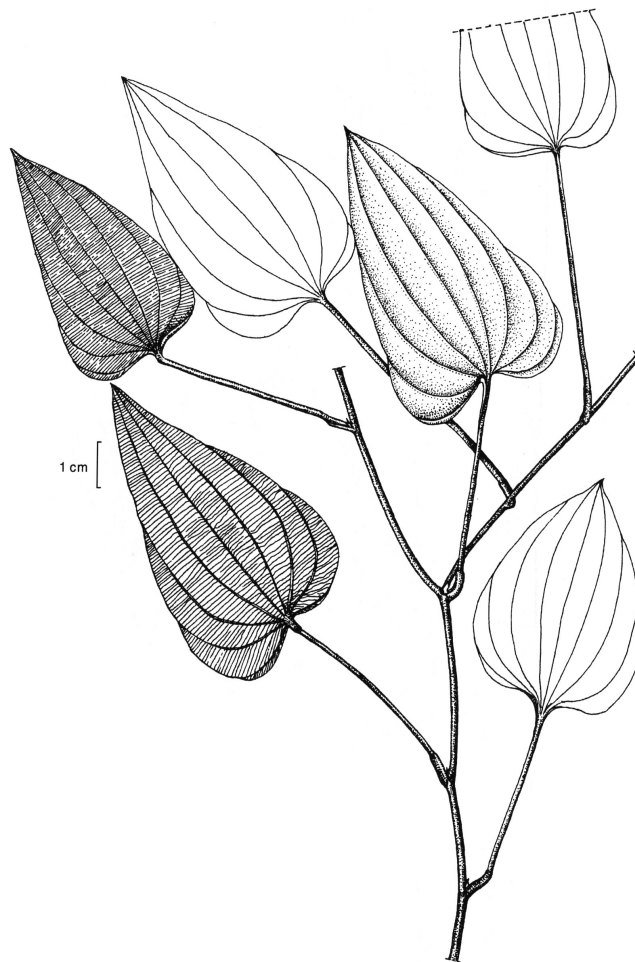


Abb.2.5. Habitus von *S. involuta* (nach INTACHUB, 2010)

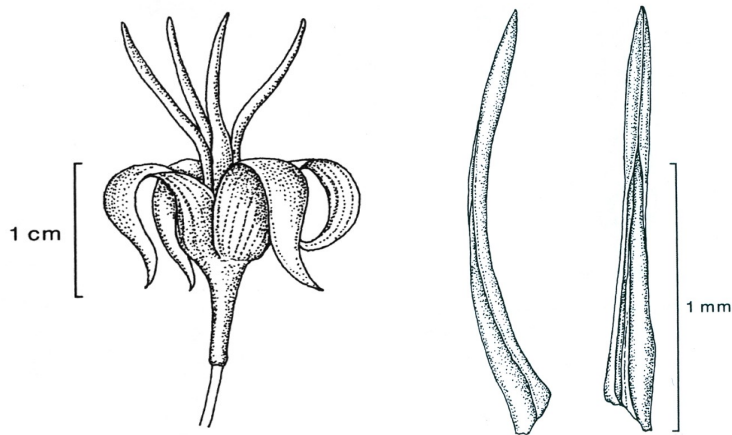


Abb.2.6. Blüte und Staubblätter von *S. involuta* (nach INTACHUB, 2010)

***Stemona lucida* (R. Br.) DUYFJES**

Beschreibung nach DUYFJES (1993):

Kahl, windend; bis zu 7 m hoch; tuberös ausgebildete Speicherwurzeln; Blattstellung alternierend; Blätter speerförmig bis linealisch, 4-14 x 0,5-9 cm, an der Basis herzförmig, 3-11 Nerven, Blattstiel 1-3 cm lang; Infloreszenzen: 1-3 blütig, gestielt, Brakteen 2-5 mm lang; Blüte: Tepalen dunkelviolett 8-14 x 2-3,5 mm groß, Stamen 8-12 mm lang, Theken mit Appendices (1,5 x 4 mm lang), sind an den Spitzen verbunden; Frucht: 8-20 x 7-12 mm, geschnabelt mit 2-9 Samen, langgestreckt und an der Spitze abgerundet, ca. 4 mm lang;

Verbreitung: Australien (N-Queensland, Cook), Philippinen (Masbate Ficao), Papua Neuguinea (Normanby Island, Milne Bay Prov., Central Prov.);

Habitat: eher an trockenen Standorten in Monsungebieten, nicht weit ins Landesinnere, im Unterwuchs, offene Wälder, trockenes Grasland, Meeresniveau bis 200 m Seehöhe;

Stemona sessilifolia Miquel

Beschreibung nach JI & DUYFJES (2010):

Halbstrauch; Wurzeln: ca. 1 cm dick; einfache Sprossachse, 30-70 cm hoch, kahl; Blätter: 2-5 wirtelig, kurz gestielt, Blattspreite eiförmig-elliptisch bis eiförmig-lanzettlich, 3,5-6 x 1,5-4 cm, keilförmiger Blattgrund, Apex kurz zugespitzt; Infloreszenzen: 1 blütig, Blütenstiel 1-1,5 cm, schuppenartige Brakteen, ca. 8 mm lang, Perianth blassgrün, eiförmig-lanzettlich, 10-15 x 2-4 mm, Stamen purpurn, kürzer als Perianth, Filamente 2-4 mm, fleischig, Antheren 3,5 mm lang, Appendices verbunden, flach und breit, 5-7 mm; Frucht: eiförmig 7-9 x 4-6 mm, 1-2 Samen; Blütezeit: März-Mai, fruchtend im Juni und Juli;

Verbreitung: China (Anhui, Fujian, Henan, Hubei, Jiangsu, Jiangxi, Shandong, Zhejiang), Japan?;

Habitat: vermutlich auf Berghängen;



Abb.2.7. Bild 1-4 von links nach rechts: *S. involuta*, Bild 5: *S. lucida* (Fotos, Greger H.); Bild 6: *S. sessilifolia* (Foto aus www.ts9.nibio.go.jp/zukan/photo0279.html)

3. STILBENOIDE

Der Grundkörper sämtlicher Stilbenoidderivate wird von zwei aromatischen Ringen gebildet, die durch eine Ethylen-Brücke verbunden sind (Abb.3.1.). Da diese Doppelbindung keine freie Rotation erlaubt, sind bei diesem 1,2-Diphenylethen nur zwei Konfigurationsformen (*cis/trans*) möglich, wobei das *trans*-Isomer die thermodynamisch stabilere Konfiguration ist. Dieser Grundkörper kann mit zahlreichen funktionellen Gruppen wie Methyl-, Hydroxy-, Methoxy oder Zuckern substituiert sein. Zu dieser Stoffklasse werden heute über 1000 Derivate gezählt (XIAO et al., 2008).

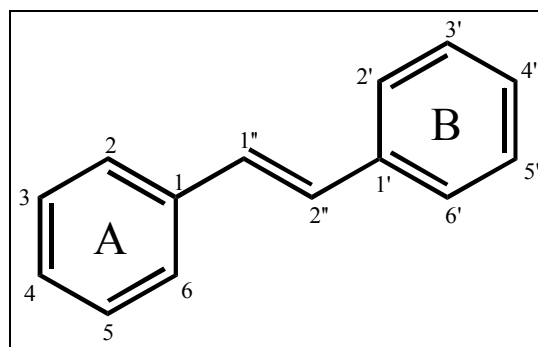


Abb.3.1. Stilben-Grundkörper

3.1. Biosynthese und Verbreitung im Pflanzenreich

Die Grundbausteine der Stilbenoide werden über den Polyketid- und Shikimatstoffwechsel gebildet. Wie radioaktiv markierte *tracer*-Studien bewiesen haben ist die Birch-Donovan-Hypothese (1953) bis heute allgemein gültig (Abb.3.2.). Der A-Ring sowie die Atome C-1" und C-2" stammen von der Zimtsäure oder deren Derivate, die als "Starter" fungieren und über Phenylalanin über den Shikimatstoffwechsel gebildet werden. Der B-Ring des Grundgerüsts leitet sich vom Orsellinsäure-Typ ab, welcher aus drei Extender Einheiten aufgebaut wird. Die Orsellinsäure wird im Polyketidweg durch Aldol-Kondensation von 3 Acetat-Einheiten aus Malonyl Coenzym A und Zyklisierung durch Stilbensynthasen gebildet. Aus der entstandene Stilben-2-Carboxylsäure wird durch Dehydratisierung und Decarboxylierung das Stilbenderivat mit dem C6-C2-C6 Grundkörper gebildet. Den ersten Teil dieses Biosyntheseweges nutzen Flavonoide und Stilbenoide gemeinsam. Beide Wege trennen sich bei der Zyklisierung einer Styryl-3,5,7-triketoheptanoid Säure (GORHAM, 1995).

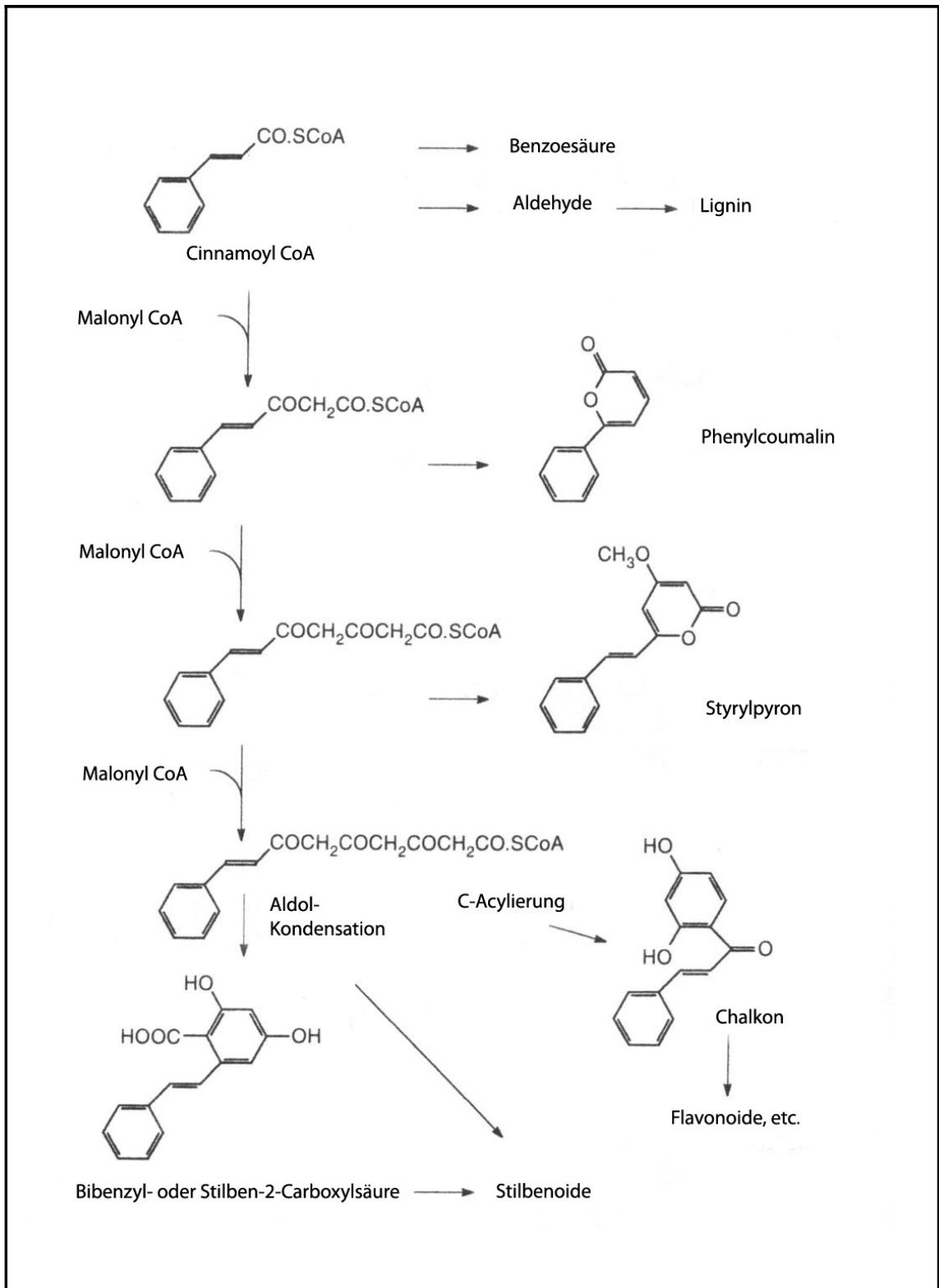


Abb.3.2. Biogeneseschema der Stilbenoide (verändert nach BIRCH-DONOVAN, 1957)

Stilbenoide kommen sowohl in Bryophyta, Pteridophyta, Gymnospermen, in vielen dicotylen Angiospermen und in einigen Monocotylen vor. In manchen höheren Pflanzen können Stilbenoide in hoher Konzentration im Holz (*Pinus*, *Eucalyptus*) oder im Speichergewebe (*Dioscorea*, *Tamus*, *Rheum* und Pseudobulben der Orchideen) eingelagert sein (GORHAM, 1995). Der erste Nachweis von Substanzen, die sich nachträglich als Stilbenoide herausgestellt haben, wurde aus *Rheum palmatum* L. geliefert (HESSE, 1899). Inzwischen sind zahlreiche Stilbenoidglucoside und freie Stilbenoide aus unterirdischen Organen vieler *Rheum*-Arten bekannt (HEGNAUER, 1969). Bei den Gymnospermen beinhalten vor allem *Pinus*- und *Picea*- Arten zahlreiche Stilbenoide und deren Glycoside. LINDSTEDT und MISIORNY (1952) isolierten Pinosylvin (**1**), Dihydropinosylvin (**3**) und deren Mono- & Dimethylether aus dem Kernholz verschiedener *Pinus*-Arten (HEGNAUER, 1969). MAHESH und SESHADRI konnten 1954 noch zwei weitere Stilbene, das 4'-Hydroxystilben und 4'-Methoxystilben, in *Pinus* nachweisen. Die frische Borke verschiedener *Picea*-Arten liefert ebenfalls Resveratrol und Stilbenoidglucoside (MANSON, 1960). Die Akkumulation dieser Stoffe inhibieren Pilze, und werden zum Teil durch Pilzbefall oder Insektenangriff stimuliert (siehe Kapitel 3.1.3.). Auch Oligomere Stilbene sogenannte "Hopeaphenole" sind aus Holz und Rinde von verschiedenen Dipterocarpaceae (*Dipterocarpus*, *Hopea*, *Shorea*, *Stemonoporus*, *Vateria* und *Vatica*) bekannt. Diese erinnern an die Phytoalexine (Viniferine) der Vitaceen. Ob diese ebenfalls als Antwort auf Wund- und Infektionsreize gebildet werden ist bis heute unbekannt (HEGNAUER, 1989). Die in der Gattung *Vitis* vorkommenden Viniferine sind auf Resveratrol basierende Stilbendi- und -oligomere (siehe Kapitel 3.1.3.). Aus der Familie der Orchidaceae sind zahlreiche Dihydrostilbene und Dihydrophenanthrene, wie Hircinol oder Orchinol bekannt (GÄUMANN, 1964). Aus der Gattung *Dioscorea* wurde ebenfalls Hircinol aus der Knolle isoliert, welches eine fungistatische Wirkung besitzt, aber keine Phytoalexinwirkung haben soll (COXON, 1982). Auch aus Gräsern wie in den Rhizomen von *Scirpus fluviatilis* (Cyperaceae) wurden Resveratrol, Hydroxyresveratrol und die Stilbendimere Scirpusin-A & B isoliert (HEGNAUER, 1986).

Tab.3.1. Verbreitung von Stilbenoid-produzierenden Taxa

SPERMATOPHYTA				
Angiospermae				
Dicotyledons			Monocotyledons	
Magnoliales	Polygonales	Fabales	Liliales	Poales
Ranunculales	Ericales	Myrtales	Orchidales	Arecales
Papaverales	Malvales	Rutales	Juncales	Pandanales
Fagales	Euphorbiales	Rhamnales	Cyperales	Dioscoreales
Betulales	Saxifragales	Lamiales	Gymnospermae	
Fagales	Rosales	Apiales		
Caryophyllales	Vitales	Asterales	Coniferales	Gnetales
PTERIDOPHYTA			BRYOPHYTA	
Filicales			Hepatica	

Verändert nach GORHAM (1995)

3.2. Stilbenoide der Gattung *Stemona*

Aus der Gattung *Stemona* wurden bisher mehr als 60 verschiedene Stilbenoide isoliert, die sich in vier verschiedene Strukturtypen einteilen lassen: Stilbene, Dihydrostilbene, Phenylbenzofurane und Dihydrophenanthrene (Abb.3.3.):

Der A-Ring zeigt meist noch das Substitutionsmuster der Phenylpropanoid-Vorstufe und ist im Falle der Zimtsäure unsubstituiert oder bei p-Cumarsäure 4'-substituiert (GORHAM, 1995). Bei den *Stemona* Stilbenoiden kommt es im A-Ring zu einer bevorzugten Sauerstoff-Substitution an der Position 2. Darüber hinaus können zusätzlich auch noch Oxygenierungen an C-3, C-4 und seltener auch an C-5 auftreten. Im Gegensatz zum A-Ring ist der B-Ring meistens stark bis durchgehend substituiert. Besonders charakteristisch sind hier aber C-Methylierungen am aromatischen Ring, die meistens auf den B-Ring beschränkt sind, v.a. an C-4' Position seltener an C-2', C-3' und C-6' (Abb.3.4.). Hydroxylgruppen in *meta*-Position auf C-3' und C-5' des B-Ringes geben Hinweise auf die Entstehung aus 3 Malonyl-CoA-Einheiten (GORHAM, 1995). Alle phenolischen OH-Gruppen können mehr oder weniger methyliert vorliegen, was zu einer großen Derivatenvielfalt beiträgt. Bei den Stilbenen sind die beiden aromatischen

Ringe A und B mit einer Ethylen-Brücke verbunden. Bei den *Stemona* Stilbenoiden sind bisher nur die zwei Stilben-Derivate Pinosylvin (**1**) und 4'-Methylpinosylvin (**2**) bekannt (Abb.3.5). Sie wurden erstmals aus *S. collinsiae* isoliert (PACHER et al., 2002). Durch Reduktion von Stilbenen oder durch katalytische Aktivität von speziellen Dihydrostilben-Synthasen können aus Dihydrozimtsäuren Dihydrostilbene gebildet werden (GEHLERT & KINDL, 1991).

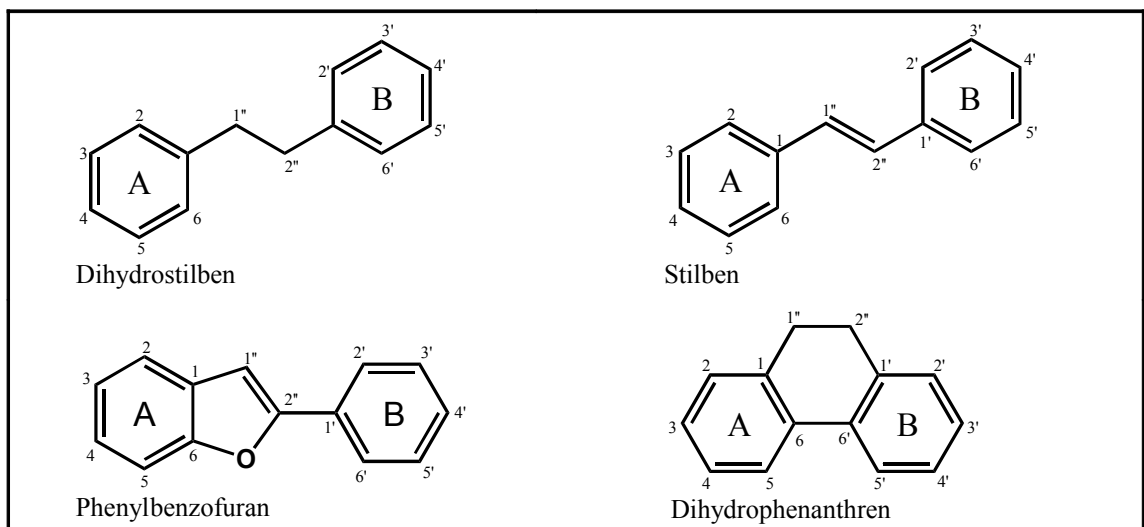


Abb.3.3. Strukturtypen der *Stemona* Stilbenoide

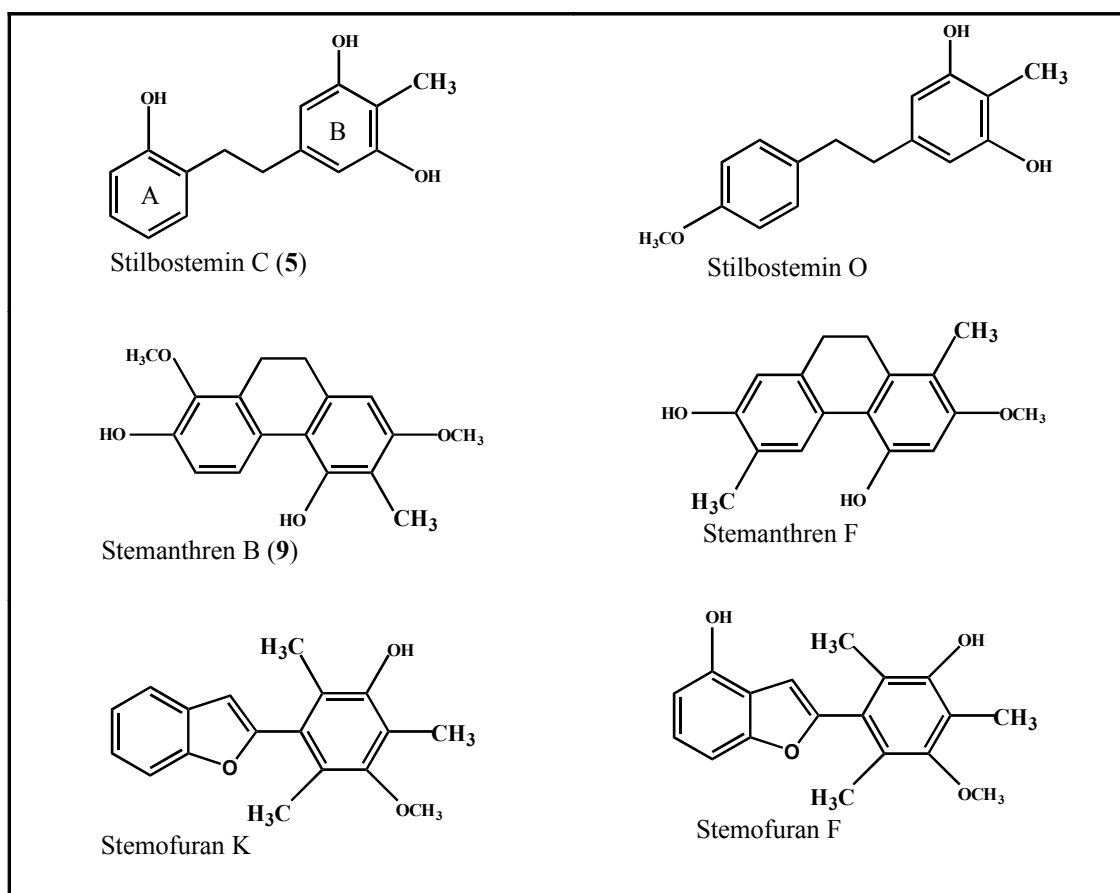


Abb.3.4. Charakteristische C-Methylierung

Dihydrophenanthrene werden vermutlich aus den Dihydrostilbenen gebildet. Dafür sprechen gleiche Substitutionsmuster der Ringe A und B (Abb.3.5.). Bei den Dioscoreaceae (FRITZEMEIER et al., 1984) und Orchidaceae (FRITZEMEIER & KINDL, 1983; GEHLERT & KINDL, 1991) konnte diese Umlagerung bereits bestätigt werden. Die Stemanthrene A-D (**8-11**) unterscheiden sich durch unterschiedliche Positionen der C-Methylierungen am B-Ring. Das aus *S. collinsiae* isolierte Stemanthren D (**11**) (PACHER et al., 2002) wurde früher als Racemosol (SEKINE et al., 1997) bezeichnet, da es zuerst aus *Asparagus racemosus* Willd. isoliert wurde. Da die Wurzeln von *Stemona* vermutlich mit *Asparagus* verwechselt wurden, konnte der Trivialname Racemosol nicht länger für diese Verbindung verwendet werden (KOSTECKI et al., 2003). Später wurde das Stemanthren D (**11**) auch in anderen *Stemona*-Arten nachgewiesen (HARTL, 2003). Die Stemanthrene A (**8**), B (**9**) und C

(10) kommen in großen Mengen in *S. pierrei* Gagnep. (KOSTECKI et al., 2003) und in kleineren Mengen in *S. cochinchinensis* vor (KALTENEGGER, 2003). Weitere gefundene Stilbene aus *S. japonica* und *S. sessilifolia* sind 3'- und 4'-substituiert (YANG et al., 2006, 2007) oder das aus *S. tuberosa* isolierte Stemanthrachinon (LIN et al., 2008).

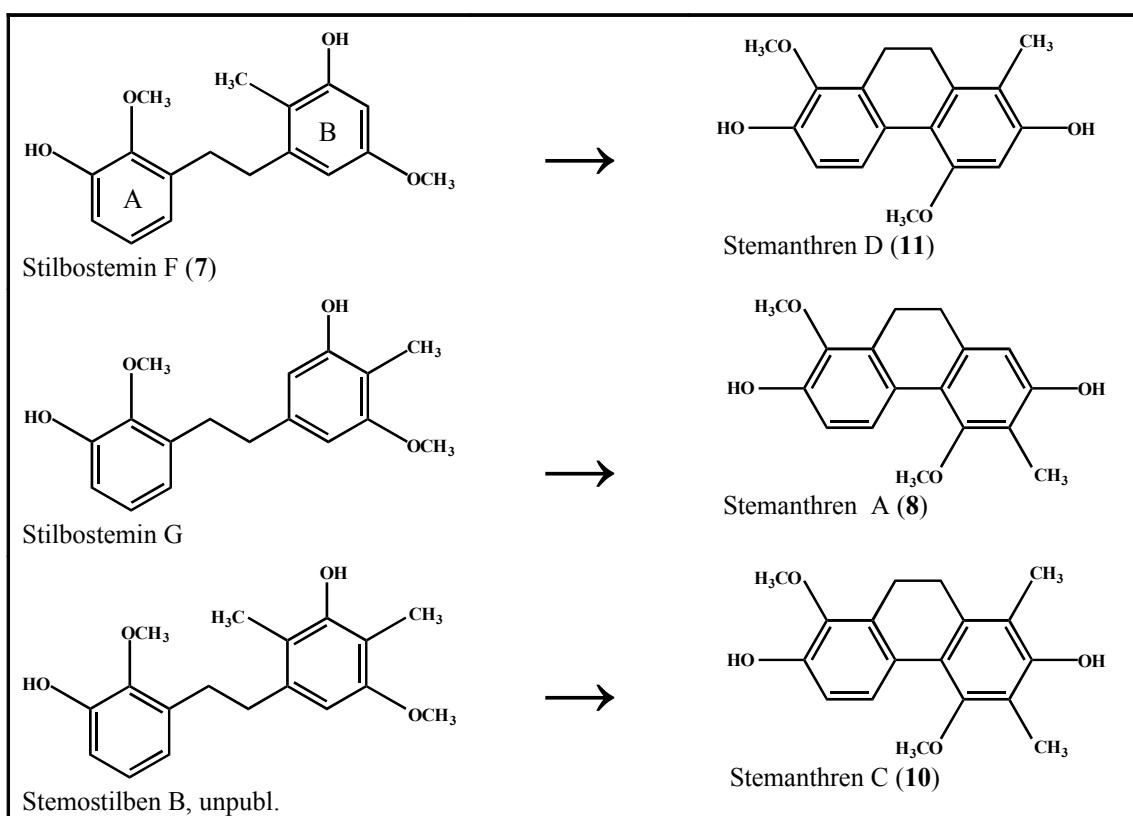


Abb.3.5. Mögliche Umlagerungen von Dihydrostilbenen zu Dihydrophenanthrenen

Neben der bereits genannten C-Methylierung ist vor allem auch die Ausbildung von Phenylbenzofuranen ein charakteristisches chemisches Merkmal der *Stemona* Stilbenoide. In anderen Pflanzen wurden sie bisher nur selten beschrieben. Ähnlich wie Moracin in *Morus* lassen sie sich vermutlich aus Stilbenen ableiten. Entscheidend für die Bildung der Phenylbenzofurane dürfte die *ortho*-Hydroxylierung am A-Ring sein und somit als Vorstufe für den Furanringschluss angesehen werden (PACHER et al., 2002). Durch Oxidation der C-2 Position des A-Ringes könnte es letztendlich zum

Ringschluss mit C-2" kommen (Abb.3.6.). Phenylbenzofurane sind typisch für *S. involuta*, *S. collinsiae* und *S. curtisii* (PACHER et al., 2002) sowie für *S. aphylla* (SASTRARUJI et al., 2011).

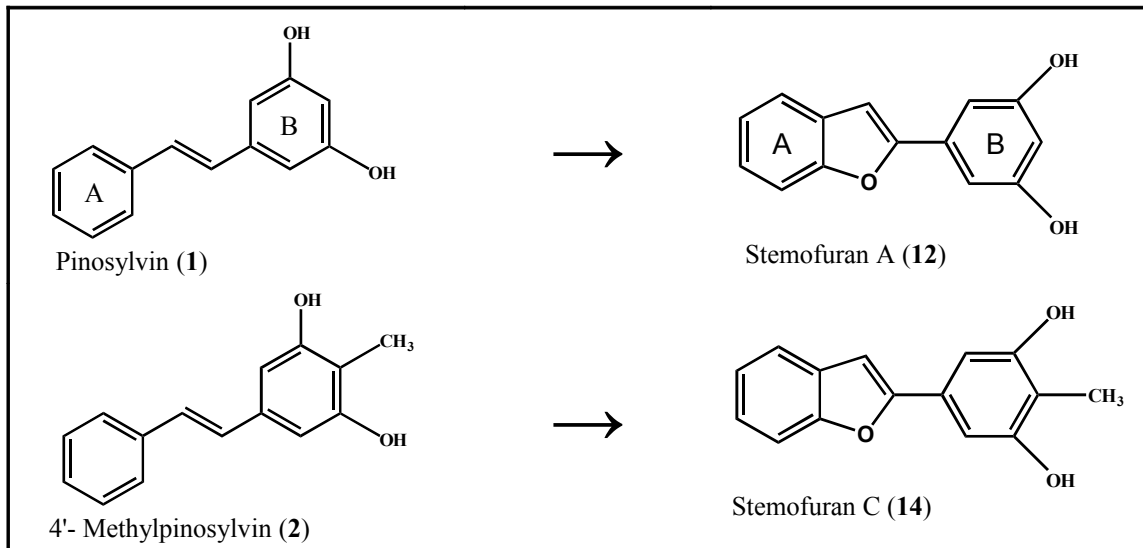


Abb.3.6. Hypothetische Umlagerungen von Stilbenen zu Phenylbenzofuranen

3.3. Biologische Aktivität

Stilbenoide wirken wachstumshemmend auf Pilze und zeigen auch antibakterielle Eigenschaften (HEGNAUER, 1986). Pinosylvin (1) inhibiert das Wachstum von *Salmonella typhimurium* LIGNIERES and *Staphylococcus aureus* ROSENBACH (FRYKHOLM, 1945). Die beiden Stilbene Stilbostemin L und Stemanthren F zeigen starke antibakterielle Eigenschaften gegen *Staphylococcus epidermidis* WINSLOW und *Staphylococcus aureus* (YANG et al., 2006). Die Stilbostemine N-Y hemmen grampositive Bakterien wie *Staphylococcus aureus*, *Bacillus pumilus* Meyer & Gottheil, *Bacillus subtilis* Ehrenberg, *Cryptococcus neoformans* VUILL und gramnegative Bakterien wie *Klebsiella pneumonia* TREVISAN (LIN et al., 2007). Zahlreiche Stilbene v.a. Phenylbenzofurane wie Stemofuran V (17), Stemofuran T (15) und Stemofuran O inhibieren das Pilzwachstum oder die Sporenkeimung. Stemofuran

A-F und Stemanthren D (**11**), ergeben klare Hemmhöfe nach Behandlung der DC-Platten mit *Cladosporium herbarum* LINK (PACHER et al., 2002). Die beiden Dihydrostilbene, Stilbostemin A und Stilbostemin E (Abb.3.7.) zeigen eine starke antifungale Wirkung gegen den Pilz *Candida albicans* R.P. ROBIN (ZHANG et al., 2008).

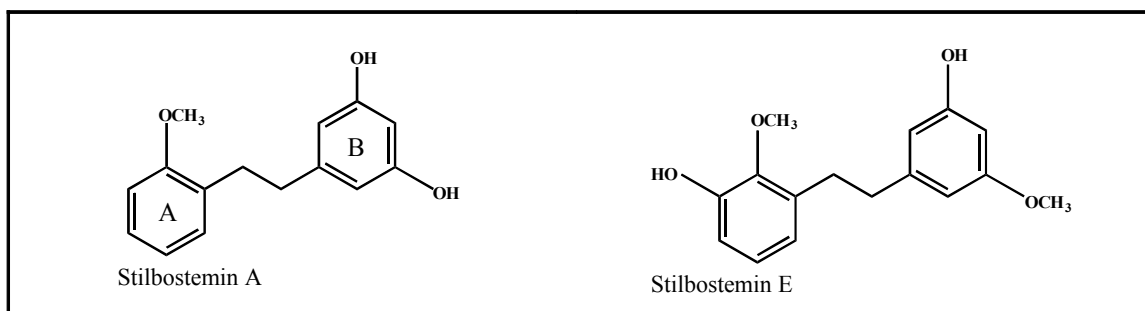


Abb.3.7. Dihydrostilbene mit starker antifungaler Wirkung gegen *Candida albicans*

Stilbenoide haben nicht nur eine konstitutive Schutzfunktion vor Pilzen, sondern auch eine induzierte Abwehr auf Infektion oder auf mikrobiellen Angriff (GORHAM, 1995; HARBORNE, 1999). Stoffe, welche durch Infektion induziert werden sind unter dem Begriff "Phytoalexine" zusammengefasst (MÜLLER & BÖRGER, 1940). Wobei diese Definition heute noch ausgeweitet werden muss, da Pflanzen ähnliche Reaktionen nach Behandlung mit UV-Licht oder Schwermetallionen zeigen (PURKAYASTHA, 1995). In früheren Versuchen wurden Weinblätter mit UV-Licht bestrahlt oder durch *Botrytis cinerea* PERS infiziert. In Folge dessen bildeten sich das Stilben Resveratrol und verschiedene davon abgeleitete Oligomere, die Viniferine- α , - δ und - ϵ (Abb.3.8.). Durch ihre starke fungitoxische Wirkung und das Fehlen in den gesunden Blättern wurden die Viniferine als Phytoalexine bezeichnet. Mittlerweile wurden auch in Leguminosen, Malvaceae und Moraceae Viniferine nachgewiesen. Bei der Gattung *Stemona* sind Phytoalexine im engeren Sinn nach MÜLLER und BÖRGER (1940) zu sehen. Pinosylvin (**1**) und seine Derivate Dihydropinosylvin (**3**), Stilbostemin B (**4**), 4'-Methylpinosylvin (**2**) und Stemofuran A (**12**) zeigen Phytoalexinwirkung (PACHER, 2005). Diese Verbindungen besitzen einen unsubstituierten aromatischen A-Ring (Abb.3.9.). Versuche mit dem Pilz *Cladosporium herbarum* LINK zeigten klare

Unterschiede zwischen den Isomeren Stemanthren A (**8**) und B (**9**). Während Stemanthren A (**8**) einen klaren Hemmhof aufwies, konnte bei Stemanthren B (**9**) keine Hemmwirkung auf der DC-Platte nachgewiesen werden (KALTENEGGER et al., 2004). Stilbenoide wirken auch entzündungshemmend in dem sie die Leukotrien-Biosynthese in den Leukozyten hemmen. Solche Leukotrien-Hemmer sind Resveratrol, Stemofuran G und die Stemanthrene A-D (**8-11**) (ADAMS et al., 2005). Die Substanzen Stemanthren B (**9**) und Stemanthren C (**10**), zeigen die höchste Hemmung, verlieren aber bei Lagerung ihre Wirkung (siehe Kapitel 5). Stemanthren C (**10**) reduziert die Nitridoxid(NO)-Produktion in lipopolysaccharid(LPS)-stimulierten Zellen und fungiert somit als Radikalfänger (HOSOYA et al., 2010).

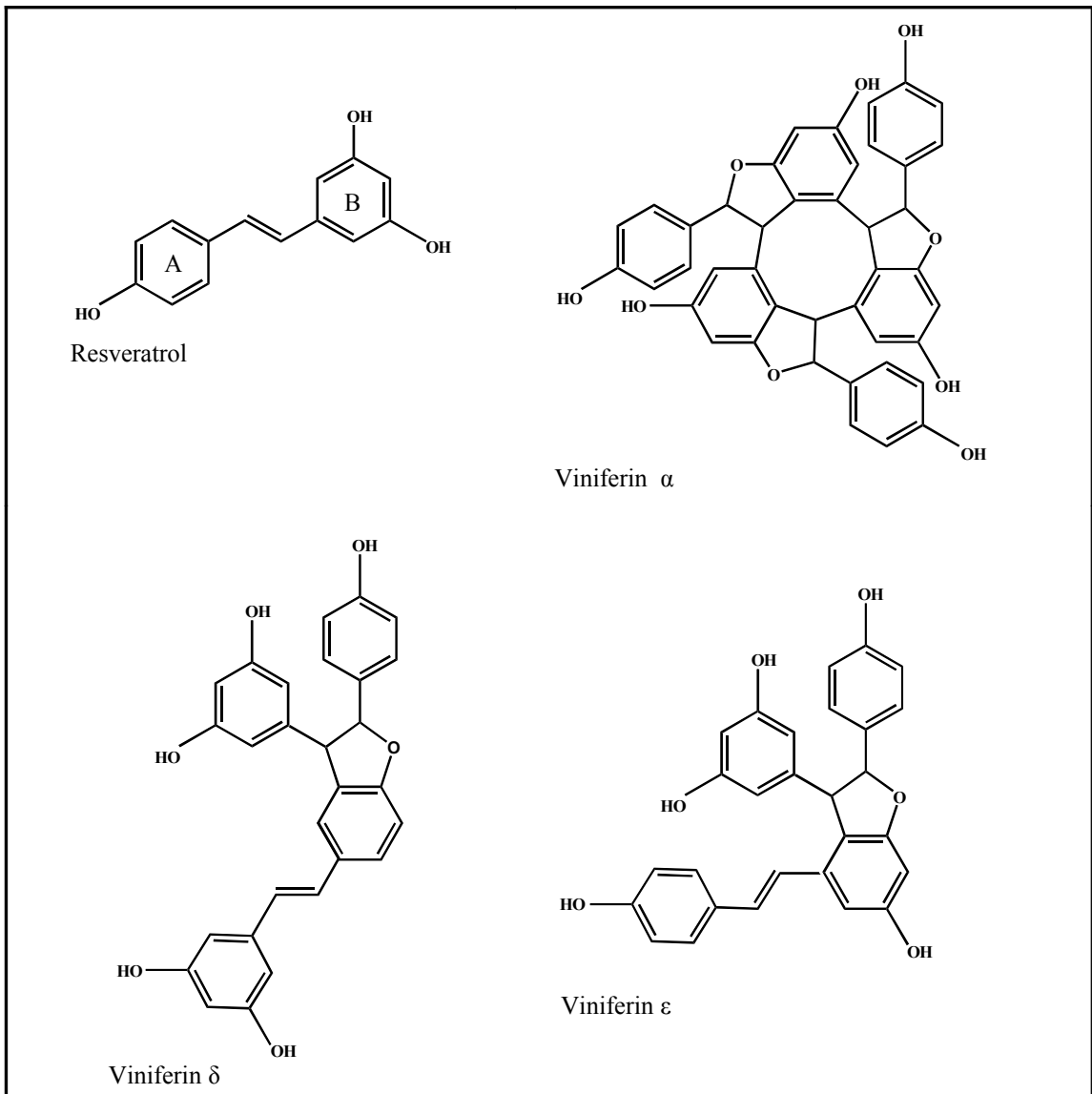


Abb.3.8. Resveratrol und seine abgeleiteten Oligomere: Viniferine

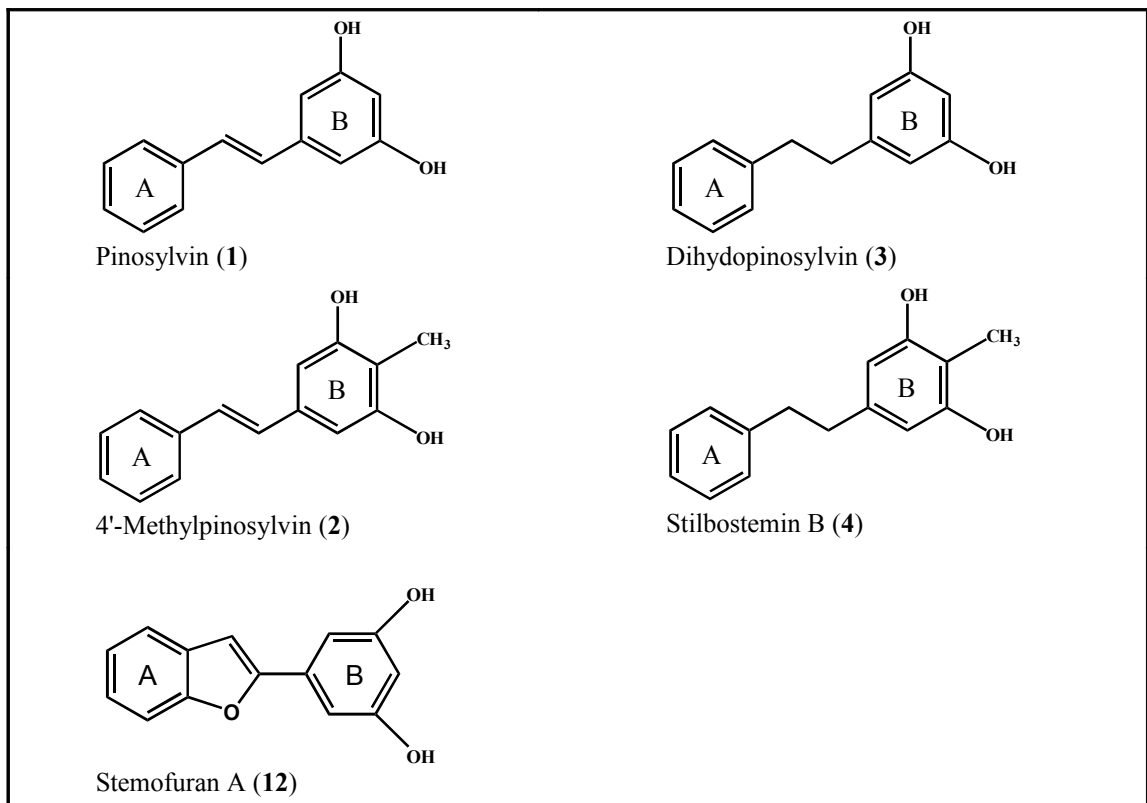


Abb.3.9. *Stemona* Stilbenoide als Phytoalexine

4. MATERIAL UND METHODE

4.1. Pflanzenmaterial

Das in dieser Arbeit verwendete Pflanzenmaterial wurde hauptsächlich von Prof. H. Greger, im Rahmen seiner botanischen Sammelreisen, aus Thailand mitgebracht. Die meisten Herkünfte sind Wildaufsammlungen von verschiedenen Standorten. Vereinzelt wurde auch Pflanzenmaterial auf Märkten gekauft. Zwei Individuen von *Stemona lucida* (HG 1057, HG 1056) wurden von Christian Gilli in Cape York, Nordaustralien, gesammelt. Zur Dokumentation wurden Herbarbelege angefertigt und im Herbarium des Instituts für Botanik der Universität Wien (WU) hinterlegt. Einige Aufsammlungen wurden im Glashaus des Botanischen Gartens der Universität Wien (HBV) kultiviert. Dies ermöglichte frisches Pflanzenmaterial für vergleichende phytochemische Untersuchungen heranzuziehen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ausschließlich unterirdische Organe (Wurzel und Rhizom) untersucht, da in den oberirdischen Organen keine bzw. nur geringe Mengen von Stilbenoiden nachgewiesen wurden. Verwendet wurde sowohl trockenes als auch frisch geerntetes Pflanzenmaterial aus dem Glashaus des Botanischen Gartens. Abbildungen der Herbarbelege befinden sich im Anhang (10.2.).

Tab.4.1. Übersicht des untersuchten Pflanzenmaterials

Spezies	Nummer	Herbar-code	Herkunft	Map	Sammel-datum	Organ
<i>S. involuta</i>	Stem 38	HG 949	Thailand, gekauft in Bangkok, Kaset Fair (genaue Herkunft unbekannt)	1	04.02.2002	Wurzel Rhizom
<i>S. involuta</i>	Stem 39	HG 921	Thailand, gekauft in Bangkok, Kaset Fair (genaue Herkunft unbekannt)	2	08.02.2002	Wurzel Rhizom
<i>S. involuta</i>	Stem 40/2	HG 896"	NO-Thailand, Prov. Nahkon Ratchasima, Ban Laem Tong, bei Nong Ki	3	16.02.2002	Wurzel
<i>S. involuta</i>	Stem 40/4*	HG 896"	NO-Thailand, Prov. Nahkon Ratchasima, Ban Laem Tong, bei Nong Ki	4	16.02.2002	Wurzel
<i>S. involuta</i>	Stem 40/5	HG 896"	NO-Thailand, Prov. Nahkon Ratchasima, Ban Laem Tong, bei Nong Ki	5	16.02.2002	Wurzel
<i>S. involuta</i>	Stem 40/11	HG 896	NO-Thailand, Prov. Nahkon Ratchasima, Ban Laem Tong, bei Nong Ki	6	16.02.2002	Wurzel
<i>S. involuta</i>	Stem 42	HG 944	NO-Thailand, Prov. Buriram, Ban Nong Bua zw. Lamplai Mat & Buri Ram	7	17.02.2002	Wurzel Rhizom
<i>S. involuta</i>	Stem 45/1	HG 913"	W-Thailand, Prov. Kanchanaburi, Sai Yok, Ban Pupong	8	16.02.2002	Wurzel
<i>S. involuta</i>	Stem 51*	HG 943"	NO-Thailand, Prov. Nakhon Ratchasima, Ban Laem Tong	9	10.06.2003	Wurzel Rhizom
<i>S. sessilifolia</i>	Stem 60*	HG 953	China, HongKong, Institute for Medical Development		30.10.2004	Wurzel
<i>S. lucida</i>	Stem 65*	HG 1057"	Australien, Queensland, Cape York, Quarantine Bay, am Fuße d. Mt. Cook		05.04.2007	Wurzel
<i>S. lucida</i>	Stem 66*	HG 1056"	Australien, Queensland, Cape York, Ayton		05.04.2007	Wurzel

* kultiviert im Glashaus des Botanischen Gartens der Universität Wien (HBV)

" WU Herbarbelege im Herbarium des Institutes für Botanik (Universität Wien) hinterlegt

§ Fundorte der einzelnen Individuen in der Thailand-Karte (Abb.4.1.)

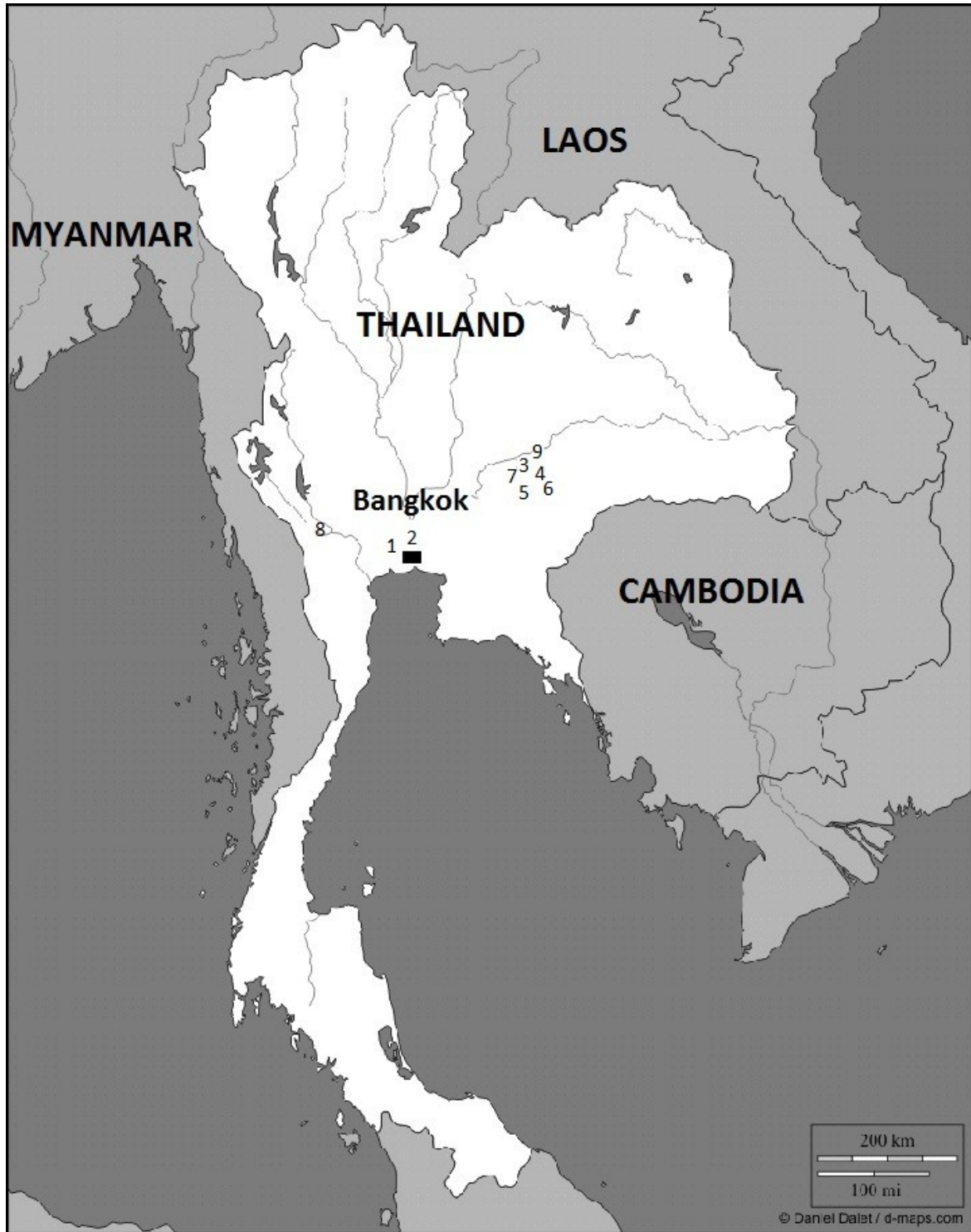


Abb.4.1. Fundorte der einzelnen Individuen: Thailand – verändert aus d-maps.com

4.2. Phytochemische Untersuchungen

4.2.1. Extraktion

Das getrocknete Pflanzenmaterial wurde nach Individuen und Pflanzenorganen (Rhizom und Wurzel) getrennt und mit Methanol (MeOH) zweimal fünf Tage unter Lichtschutz extrahiert. Die beiden Extrakte danach ca. 15 Minuten ins Ultraschallbad gestellt, anschließend abfiltriert und vereinigt. Die vereinigten Rohextrakte wurden bei ca. 30°C am Rotavapor eingeeengt und anschließend mit einem CHCl₃:H₂O (2:1) Gemisch ausgeschüttelt, wobei in der Chloroform (CHCl₃)-Phase die zu analysierenden Komponenten enthalten waren. Durch weiteres Ausschütteln der wässrigen Phase mit Ethylacetat (EtOAc) konnten die noch polareren Komponenten extrahiert werden. Alle drei Phasen CHCl₃, EtOAc und H₂O wurden am Rotavapor eingeeengt und das jeweilige Gewicht bestimmt. Anschließend wurden die Extrakte in MeOH aufgenommen, eine Konzentration von 10 mg ml⁻¹ eingestellt und bis zur weiteren Verwendung im Kühlschrank bei -20°C aufbewahrt. Ein kleiner Teil der methanolischen Lösung [10 mg ml⁻¹] wurde für vergleichende HPLC- und DC-Analysen gesondert aufbewahrt.

Tab.4.2. Frischgewichte und Substanzmengen der Rohextrakte

Spezies	Herbarcode (HG)	Frischgewicht [g]	Rohextrakt* [mg]
Stem 38	949	87	1354
Stem 39	921	65	1674
Stem 40/2	896	42	514
Stem 40/4	896	59	629
Stem 40/5	896	50	949
Stem 40/11	896	16	422
Stem 40/11 ⁺	896	25	917
Stem 42	944	113	1260
Stem 45/1	913	170	1061
Stem 51	943	73	1450
Stem 60	953	4	62
Stem 65	1057	62	753
Stem 66	1056	-	-

* Rohextrakte: CHCl₃ -Phase, + Wurzel: infiziert

4.2.2. Präparative Trennmethoden

4.2.2.1. Trockensäule (TS)

Eine erste grobe Vortrennung erfolgte durch Säulenchromatographie über eine Säule (Länge: 70 cm, Durchmesser: 20 mm), die mit 60 g Kieselgel 60 (Korngröße 0,2-0,5 mm, Fa. Merck) befüllt wurde. Eluiert wurde mit Lösungsmittelgemischen nach steigender Polarität (Tab.4.3.). Das Eluat wurde in 50 ml Fraktionen geschnitten, am Rotavapor bei ca. 30°C eingengt, abgewogen und eine Konzentration von 10 mg ml⁻¹ MeOH eingestellt.

Tab.4.3. Lösungsmittelgemische für die Trockensäule

Diethylether [Vol.%]	Ethylacetat [Vol.%]	Methanol [Vol.%]	Fraktionen (je 50ml)	
100	-	-	I ₁	I ₂
85	15	-	II ₁	II ₂
70	30	-	III ₁	III ₂
50	50	-	IV ₁	IV ₂
30	70	-	V ₁	V ₂
-	100	-	VI ₁	VI ₂
-	85	15	VII ₁	VII ₂
-	70	30	VIII ₁	VIII ₂
-	50	50	IX ₁	IX ₂
-	-	100	X ₁	X ₂

4.2.2.2. Mitteldruckflüssigkeitschromatographie (MPLC)

Zur weiteren Auftrennung von Trockensäulenfraktionen (ähnlicher Zusammensetzung) wurde eine präparative MPLC, mit wesentlich höherer Trennleistung, eingesetzt. Stoffe mit einem Chromophor werden durch UV/VIS detektiert und bei Bedarf weiter gereinigt. Bei schwierig zu trennenden Stoffen wurde eine zyklische MPLC verwendet. Hier wird das Laufmittel im Kreislauf öfter über die Säule geführt, bis sich die einzelnen Komponenten des Stoffgemisches trennen. Ähnlich wie bei der Trockensäulenchromatographie werden die Fraktionen quantitativ aufgefangen, am Rotavapor eingedunstet, die Mengen bestimmt und in einer Konzentration von 1 mg ml⁻¹ MeOH oder Et₂O eingestellt. Wiederum wurden die Fraktionen mittels HPLC und DC verglichen und auf ihre Reinheit überprüft.

Detektor: ISCO UA-6UV/VIS Detektor, Wellenlänge 280 nm

Pumpe: Taumelkolbenpumpe QD-1 SSY (1-10 bar), Fluid Metering, Inc.

Säule: Lobar® Glassäule 440 x 37 mm, befüllt mit Merck Kieselgel
LiChroprep™ SI 60 (Korngröße 40-63 µm)

Laufmittel: EtOAc/PE-Mischungen mit steigender Polarität:
von 3-100 % EtOAc

Fluss: ca. 20 ml/min bei einem Arbeitsdruck von ca. 2 bar

4.2.2.3. Säulenchromatographie mit Sephadex

Sephadex LH-20® ist ein hochmolekulares, stark verzweigtes Biopolysaccharid, welches mit Epichlorhydrin quervernetzt ist und durch Hydroxypropylierung sowohl hydrophile und als auch lipophile Eigenschaften besitzt. Dieses poröse Polymer ist in der Lage Moleküle mit kleiner Molmasse nach ihrer Größe auf zu trennen, demnach ein Molekularsieb nach abnehmender Molmasse. Eluiert werden Proben mit verschieden großen Molekülen. Moleküle mit großer Molmasse können nur das Zwischenkornvolumen passieren und eluieren somit schneller.

4.2.2.4. präparative Dünnschichtchromatographie

Für die Aufreinigung einzelner Substanzgemische wurden präparative Dünnschichtplatten (TLC Silica gel 60 F254 Glassplates 20x20 cm, Fa. Merck) mit einer Schichtdicke von 0,5 mm verwendet. Die jeweilige Substanz (10-15 mg je Platte) wurde bandförmig aufgetragen und mit Hilfe eines geeigneten Lösungsmittelgemisches getrennt. Die entsprechenden Banden konnten nach UV-Detektion (bei 254 nm und 364 nm) ausgekratzt, mit geeignetem Lösungsmittel extrahiert und über eine Absaugnutsche abfiltriert werden.

4.2.3. Analytische Trennmethoden

4.2.3.1. Dünnschichtchromatographie (DC)

Vergleichende dünnschichtchromatographische Analysen ermöglichen einen raschen Überblick über die Stoffzusammensetzung und über Reinheit der isolierten Stoffe. Das Grundprinzip dieser Technik beruht auf einer Adsorptionschromatographie zwischen einer stationären Phase und einer mobilen Phase. Die zu untersuchenden Substanzen wurden punktförmig auf DC-Platten (stationäre Phase) aufgetragen und anhand einer geeigneten mobilen Phase aufgetrennt. Zur Detektion einzelner Stoffe mit chromophoren Gruppen wurde die DC-Platten unter UV-Licht bei 254 nm (Fluoreszenzlöschung) und bei 366 nm (Eigenfluoreszenz) analysiert. Durch Sprühreagentien und anschließendes Erhitzen konnten Stoffe ohne chromophore Gruppen sichtbar gemacht werden.

DC-Platten: ALUGRAM® SIL G/UV₂₅₄; 0,20 mm Kieselgel 60, Macherey-Nagel
GmbH & CO. KG; Kieselgel 60 F₂₅₄; 0,25 mm Schichtdicke, Fa. Merck;
Laufmittel: PE/ Et₂O (4:6)
Sprühreagentien: Anisaldehyd (85 ml Methanol, 10 ml Eisessig, 8 ml Schwefelsäure,
0,5 ml Anisaldehyd)

4.2.3.2. High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC)

HPLC ist ein flüssigkeitschromatographisches Verfahren mit einer hochauflösenden Trennleistung, gewährleistet durch hohen Druck und geringe Korngröße. Eingesetzt wurde eine *reversed phase* HPLC (Umkehrphase), bei der eine unpolare stationäre Phase verwendet wird. Die Elutionskraft sinkt mit steigender Polarität der mobilen Phase, deshalb werden lipophile Moleküle auf der Säule länger zurückgehalten. Durch geeigneten Laufmittelgradienten (Tab.4.4.) findet eine Trennung nach Polarität statt. Substanzen mit chromophoren Gruppen werden von einem UV-Diodenarraydetektor detektiert. UV-Spektren ermöglichen zusammen mit den Retentionszeiten Hinweise auf Substanzklassen. Vergleiche mit der Spektraldatenbank ermöglichen oftmals eine rasche Zuordnung einzelner Derivate.

Gerät:	Agilent 1100 Series mit UV-Diodenarraydetektor (Detektionssignal 230 nm und 254 nm)
Säule:	Agilent Hypersil® BDS-C18, 5 µm, 4,6 x 250 mm
Laufmittel:	Gemisch aus wässrigen Puffer (o-Phosphorsäure 0,015 mol und Tetrabutylammonium-hydroxid 0,0015 mol, pH=3; nach REISCH et al., 1990, verändert) und MeOH (Gradient-grade) entsprechend Tab.4.4. oder REISCH Puffer und Acetonitril (CH ₃ CN) entsprechend Tab.4.5.;
Flussrate:	0,8 ml/min; 1 ml/min
Probe:	über Merck Kieselgel RP-8 (Korngröße 25-40 µm) filtriert
Einspritzvolumen:	10 µl

Tab.4.4. Laufmittelgradient der HPLC-Methode Nr.1

Zeit [min]	REISCH [Vol.%]	MeOH [Vol.%]	Fluss [mL]
0.01	50	50	0.8
15.00	10	90	0.8
20.00	0	100	0.8
25.00	0	100	0.8

Tab.4.5. Laufmittelgradient der HPLC-Methode Nr.2

Zeit [min]	REISCH [Vol.%]	CH₃CN [Vol.%]	Fluss [mL]
0.01	80	20	1.0
20.00	40	60	1.0
21.00	0	100	1.0
28.00	0	100	1.0

4.2.4. Spektroskopische Methoden

4.2.4.1. UV-VIS-Spektroskopie

Die UV-VIS-Spektren wurden wie bereits erwähnt mit dem UV-Diodenarraydetektor der HPLC aufgenommen. Dieses Verfahren beruht auf einer stoffspezifischen Absorption von Lichtquanten bestimmter Energie. Besitzt eine Substanz ein konjugiertes Doppelbindungssystem, so tritt dieses in Wechselwirkung mit dem UV-Licht und ergibt eine charakteristische Absorption.

4.2.4.2. NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren und somit die eigentliche Strukturaufklärung der isolierten Stoffe wurden von Prof. Lothar Brecker am Institut für Organische Chemie der Universität Wien an einem AM-400 WB bzw. einem WM 250 FT-Spektrometer von Bruker aufgenommen. Die Signale wurden auf entsprechende Lösungsmittelsignale, meist deuteriertes Chloroform (CDCl_3) mit einer Verschiebung (in ppm) auf den internen Standard Tetramethylsilan (TMS) bezogen.

4.2.4.3. Massenspektroskopie

Die Massenspektren wurden an einem Varian MAT 311 A Spektrometer am Institut für Organische Chemie der Universität Wien aufgenommen.






5. ERGEBNISSE

In der vorliegenden Arbeit wurden die unterirdischen Organe (Rhizome und Wurzeln) von *S. involuta*, *S. lucida* und *S. sessilifolia* vergleichend untersucht. Zur Erfassung charakteristischer Akkumulationstendenzen wurden dabei die HPLC-UV Profile von 12 Individuen unterschiedlicher Herkunft verglichen. In einigen Fällen wurden darüber hinaus auch Stoffprofile von Wurzeln und Rhizomen getrennt untersucht. Genaue Angaben zu den einzelnen Herkünften sind dem Herkunftsverzeichnis (Tab.4.1.) zu entnehmen.

Die HPLC-Trennung der CHCl₃-Phasen erfolgte mit zwei Laufmittelgemischen (Methanol-Puffer- und Acetonitril-Puffer-Gradienten) gekoppelt mit einer UV-Photodiodenarray-Detektion bei 230 nm (siehe 4.3.3.2.). Insgesamt konnten 8 Stilbenoide und das Lignan (+) Sesamin (**20**) isoliert und identifiziert werden. Wovon die zwei Derivate Stemofuran T (**15**) und V (**17**) bereits in der Diplomarbeit von HARTL (2003) beschrieben, aber ihre genaue Strukturaufklärung noch nicht publiziert wurden. Weitere zwei Substanzen befinden sich zur NMR-Analyse am Institut für Organische Chemie und ein Derivat hat sich als bisher unbekannte Substanz erwiesen. Die Isolierung wichtiger Hauptkomponenten erfolgte durch präparative MPLC und DC. Einige Substanzen konnten co-chromatographisch nachgewiesen werden.

Die Strukturaufklärung erfolgte mit spektroskopischen Methoden (¹H-NMR, ¹³C-NMR und Massenspektroskopie) in enger Zusammenarbeit mit dem Institut für Organische Chemie, Universität Wien. Einige Verbindungen konnten bereits durch Vergleiche von UV-Spektren und Retentionszeiten mit bekannten Stoffen aus der Datenbank der Abteilung für vergleichende Phytochemie identifiziert werden. Die Strukturformeln und deren dazugehörige UV-Spektren befinden sich im Spektraldatenkatalog im Anhang (10.1.).

Zur besseren Sichtbarmachung wurden die Peaks der isolierten bzw. identifizierten Substanzen mit unterschiedlichen Farben gekennzeichnet. Zusätzlich ermöglicht die fortlaufende Nummerierung eine Zuordnung der Peaks in den HPLC-Profilen zu den Stoffen im Spektraldatenkatalog (10.1.).

 Stilbene	 Stemofurane
 Dihydrostilbene	 Lignan (+) Sesamin
 Stemanthrene	

5.1. *Stemona involuta*

Die hier analysierten Individuen von *S. involuta* stammen von neun verschiedenen Standorten in Thailand, wobei die genaue Herkunft von zwei Individuen (HG 949, HG 921) unbekannt ist, da sie auf der Landwirtschaftsmesse „Kaset Fair“ in Bangkok gekauft wurden. Generell zeichnet sich diese Art durch das dominierende Vorkommen von Phenylbenzofuranen aus. Besonders hervorzuheben sind hier die Stemofurane C (14) und V (17), die in allen Individuen vorherrschen, während Stemofuran A (12) und T (15) nur in geringen Mengen akkumuliert werden. Weitere Hauptkomponenten sind die Dihydrostilbene Stilbostemin B (4) und Stilbostemin D (6). Die beiden Stilbene Pinosylvin (1) und 4'-Methylpinosylvin (2) wurden hier nur in kleinen Mengen festgestellt. In einem Individuum (HG 896) wurden auch Spuren der beiden Stemanthrene B (9) und C (10) detektiert.

Wie Abb.5.1. zeigt, sind die HPLC-Profile von Wurzel und Rhizom der Individuen HG 949 und HG 921 nahezu ident, Konzentrationsunterschiede sind nur zwischen den unterirdischen Organen erkennbar. Die Hauptkomponenten bilden hier die Stemofurane B (13), C (14) und V (17) sowie Stilbostemin D (6). Letzteres wurde bei Trocknung stark akkumuliert und konnte hier aus der Aufsammlung HG 949 isoliert werden. Stilbostemin D (6) wurde erstmals von ZHAO et al. (1995) aus *S. tuberosa* und später aus *S. collinsiae* (PACHER et al., 2002) isoliert. In geringen Mengen kommen

hier auch Stenofurane A (**12**) und T (**15**) sowie die beiden Stilbene Pinosylvin (**1**) und 4'-Methylpinosylvin (**2**) vor. Im Gegensatz zu den anderen Individuen konnte hier die Verbindung XY (**16**) nicht nachgewiesen werden. Diese beiden Herkünfte weichen durch die Akkumulation von Stilbostemin F (**7**) von den anderen Individuen ab. Außerdem wurde aus HG 949 auch das Lignan (+) Sesamin (**20**) isoliert.

Vier weitere Individuen von *S. involuta* (HG 896 #2, #4, #5 und #11) stammen von einer Aufsammlung aus Ban Laem Tong bei Nong Ki, der Provinz Nakhon Ratchasima (Abb.5.2.). Hier dominieren auch die Stenofurane C (**14**) und V (**17**) und die Dihydrostilbene B (**4**) und D (**6**). Von den anderen Herkünften hebt sich die Aufsammlung HG 896 #4 durch die deutlich stärkere Akkumulation von Stilbostemin C (**5**) ab. Auch das Stilben 4'-Methylpinosylvin (**2**) konnte hier in größeren Mengen detektiert werden. Die Stenofurane A (**12**), B (**13**) und T (**15**) und die Verbindung XY (**16**), sowie Dihydropinosylvin (**3**) spielen nur eine untergeordnete Rolle. Bemerkenswert sind hier auch kleine Mengen der Dihydrophenanthrene Stemanthrene B (**9**) und C (**10**), welche in keinem anderen Individuum beobachtet wurden. Hervorzuheben ist der Unterschied zwischen trockener und infizierter Wurzel des Individuums HG 896 (Abb.5.2.). Dabei wird Stenofuran V (**17**) nach Infektion in größeren Mengen akkumuliert. Generell werden nach Pilzinfektion Stilbostemin B (**4**) und auch andere Komponenten mit unsubstituierten A-Ring stärker akkumuliert (siehe 3.1.3.). Aus dieser Aufsammlung wurde das Stilbostemin B (**4**), welches erstmals aus *S. tuberosa* (ZHAO et al., 1995) und *S. collinsiae* (PACHER et al., 2002) beschrieben wurde, isoliert. Das Phenylbenzofuran, Stenofuran C (**14**), welches erstmals von PACHER et al. (2002) aus *S. collinsiae* beschrieben wurde, konnte aus diesem Individuum zusammen mit dem Lignan (+) Sesamin (**20**) isoliert werden.

Die folgenden drei Individuen von *S. involuta* (HG 944) aus Ban Nong Bua zwischen Lamplai Mat und Buri Ram, HG 913 aus dem Sai Yok Nationalpark Ban Pupong in der Provinz Kanchanaburi und HG 943 aus Ban Laem Tong in der Provinz Nakhon Ratchasima weisen ebenfalls eine sehr ähnliche Stilbenoidausstattung auf (Abb.5.3.). Die Profile unterscheiden sich nur durch die unterschiedliche Akkumulation der beiden Stilbene Pinosylvin (**1**) und 4'-Methylpinosylvin (**2**). In HG 944 wurde dagegen nur 4'-Methylpinosylvin (**2**) detektiert. Während in HG 943 beide Stilbene

nachgewiesen werden konnten, wurde in HG 944 nur 4'-Methylpinosylvin (2) detektiert. In HG 913 wurden überhaupt keine Stilbene festgestellt. Aus HG 943 konnten drei Stemofurane isoliert werden. Während das Stemofuran V (17) (HARTL, 2003) in großen Mengen akkumuliert wird, kommt Stemofuran T (15) (HARTL, 2003) nur in geringen Mengen vor. Bei einer weiteren Verbindung XY (16) läßt das UV-Spektrum ebenfalls auf ein Phenylbenzofuran schließen. Eine genaue Strukturaufklärung ist hier noch ausständig. Die Hauptkomponenten der drei Individuen bilden wieder die Stemofurane C (14) und V (17), während die Stemofurane A (12), B (13), T (15) und die Verbindung XY (16) nur als Nebenmenge auftreten. Die beiden Dihydrostilbene Stilbostemin B (4) und D (6) werden im Vergleich zu Dihydropinosylvin (3) in größeren Mengen akkumuliert. Mit Ausnahme von HG 944 konnte Dihydropinosylvin (3) auch in Spuren nachgewiesen werden.

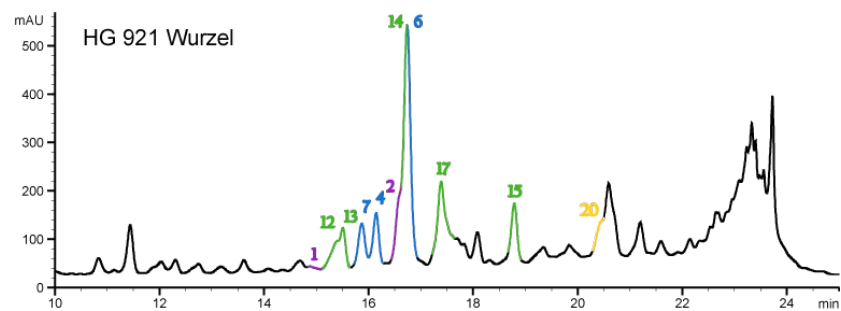
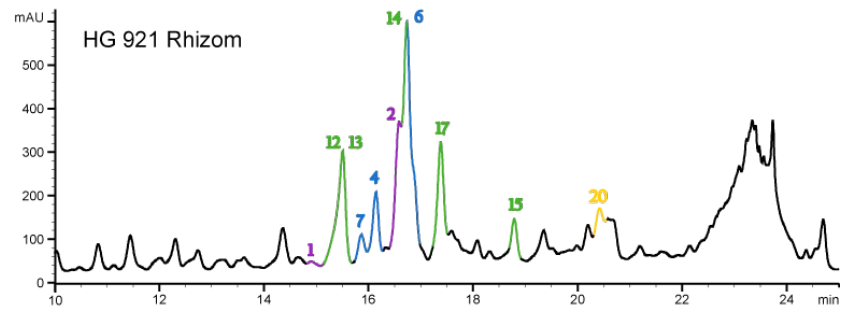
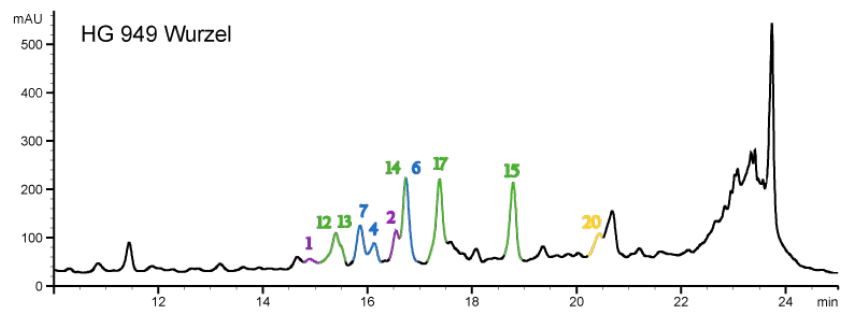
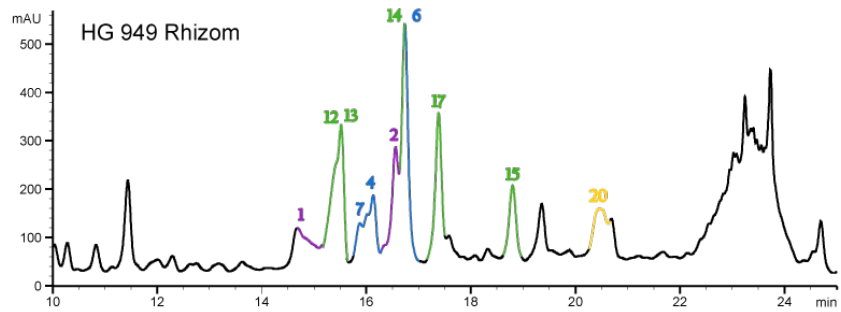


Abb.5.1. HPLC-Profil unterirdischer Organe von *S. involuta* (HG 949 und HG 921)

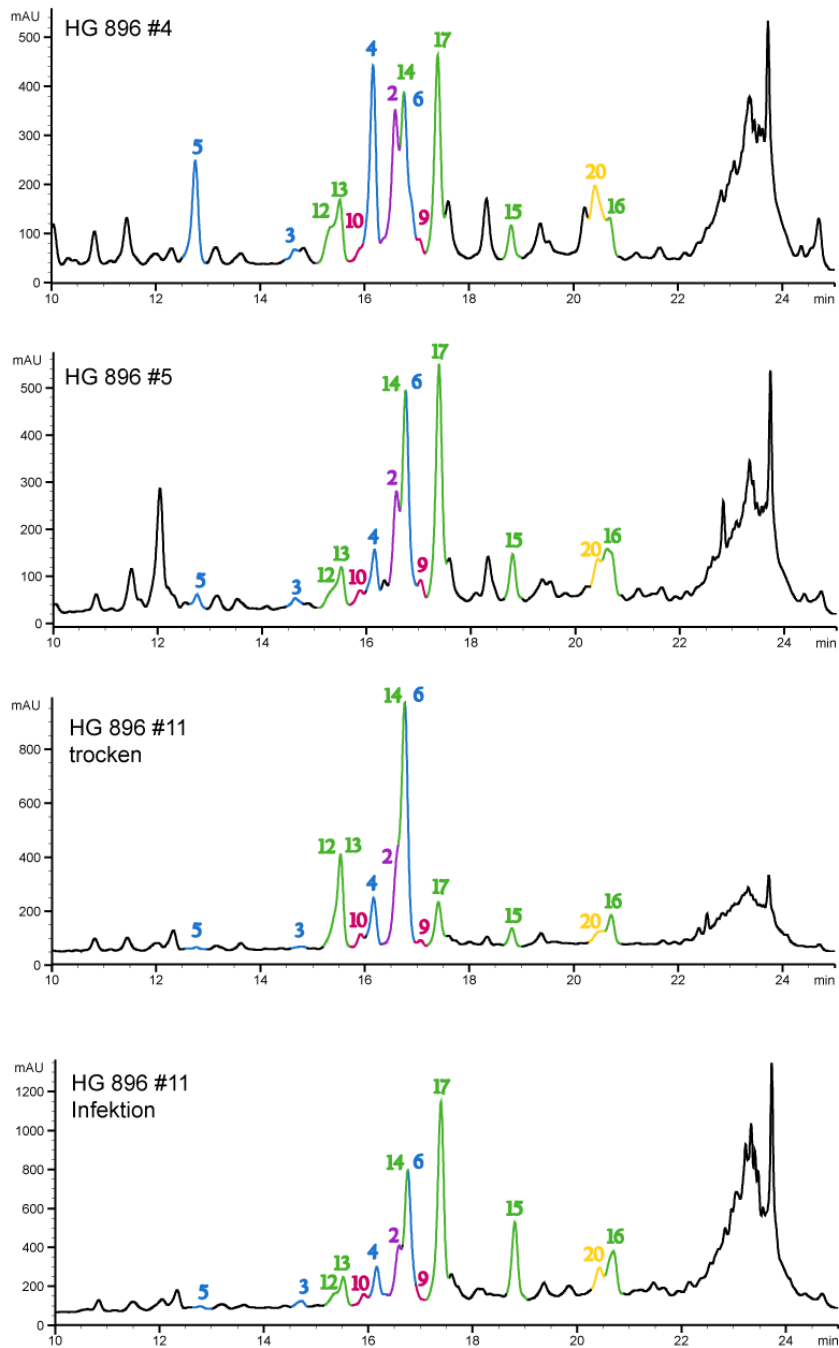


Abb.5.2. HPLC-Profile unterschiedlicher Aufsammlungen von *S. involuta* (HG 896)

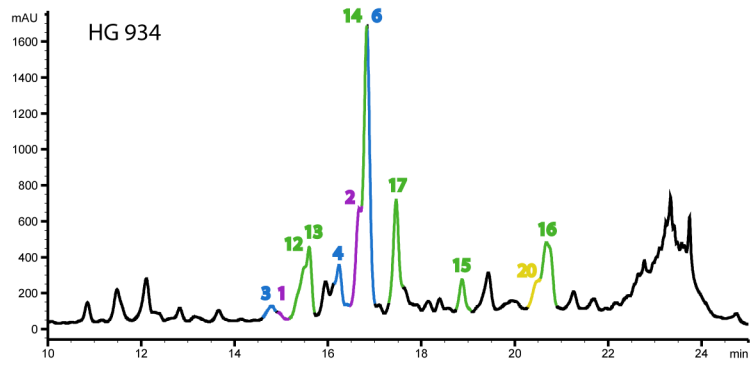
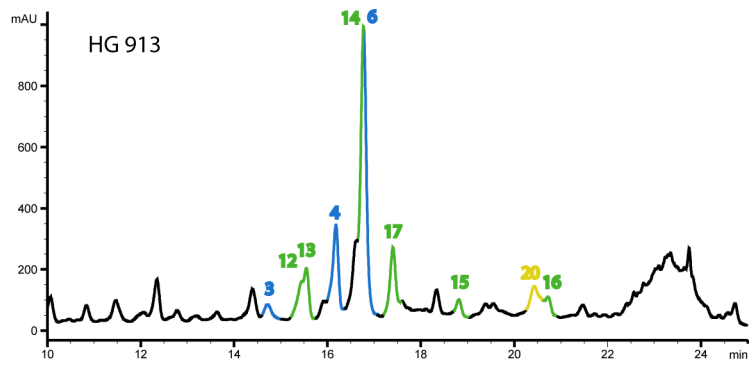
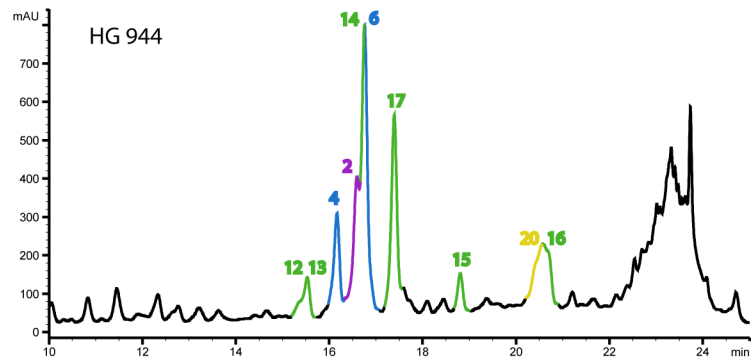


Abb.5.3. HPLC-Profil von *S. involuta* (HG 944, HG 913 und HG 943)

5.2. *Stemona sessilifolia*

Von *S. sessilifolia* wurde nur der Chloroform-Extrakt (4 g) von einem Individuum (HG 953) analysiert, das von der Chinesischen Universität in Hong Kong für einen Vergleich zur Verfügung gestellt wurde (Abb.5.4.). Demnach konnte hier nur ein orientierendes HPLC-Profil erhalten werden. Das Dihydrostilben Stilbostemin D (**6**) konnte in größeren Mengen und Stilbostemin B (**4**) in geringeren Mengen detektiert werden. Aufgrund co-chromatographischer Vergleiche ist hier auch mit dem Auftreten von den Stemofuranen A (**12**), B (**13**), V (**17**), der Verbindung XY (**16**) und den Stemanthrenen A (**8**) und C (**10**) zu rechnen. Wegen der geringen Ausgangsmenge ist hier ein Vergleich mit anderen HPLC-Profilen nur eingeschränkt möglich.

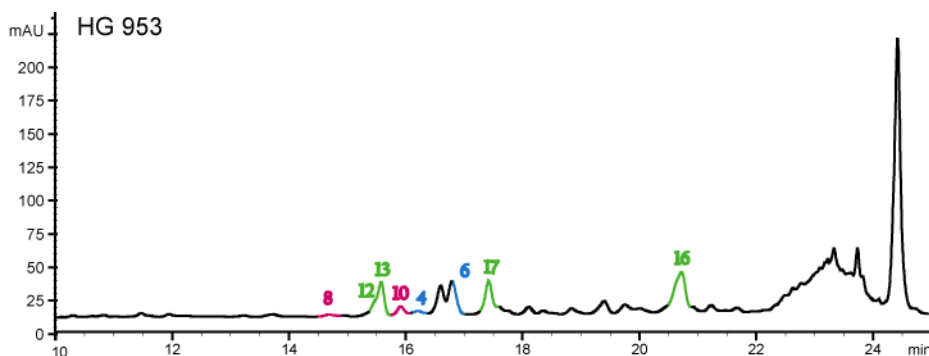


Abb.5.4. HPLC-Profil von *S. sessilifolia* (HG 953)

5.3. *Stemona lucida*

Zur Untersuchung standen 4 Individuen zur Verfügung, wobei drei Individuen (HG 1057 #1-3) von einer Aufsammlung aus Quarantine Bay am Fuße des Mt. Cook in Cape York, Queensland stammten. Ein Individuum (HG 1056) wurde in der Nähe von Ayton (Cape York) gesammelt, (Abb.5.5.). Alle vier Aufsammlungen haben ein nahezu identisches Stoffprofil. Sehr charakteristisch für *S. lucida* ist die Akkumulation von Dihydrophenanthrenen. Wegen den geringen Ausgangsmengen und der Labilität dieser Verbindungen konnten die Dihydrophenanthrene Stemanthrene A-D (**8-11**) nur co-chromatographisch mit authentischen Testsubstanzen nachgewiesen werden. Auch die Isolierung von Stemanthren B (**9**) und C (**10**) ist aufgrund ihrer Instabilität nicht gelungen. Erstmals wurden die Stemanthrene A-C (**8-10**) aus *S. cf. pierrei* Gagnep. (KOSTECKI et al., 2004) und Stemanthren D (**11**) aus *S. collinsiae* (PACHER et al., 2002) isoliert. Die Stemanthrene A-D (**8-11**) unterscheiden sich nur durch ihr Substitutionsmuster am B-Ring. Das Dihydrostilben Stilbostemin B (**4**), das aus *S. involuta* isoliert wurde (siehe 5.1.), konnte hier mit HPLC und DC co-chromatographisch identifiziert werden. Die Dihydrostilbene Stilbostemin D (**6**), F (**7**) und Dihydropinosylvin (**3**) konnten in geringen Mengen detektiert werden. Stilbostemin F (**7**) wurde erstmalig aus *S. collinsiae* (PACHER et al., 2002) isoliert und identifiziert. Zusätzlich konnten noch zwei Stemofurane isoliert und ihre Strukturen aufgeklärt werden, wovon eines hier erstmals beschrieben werden konnte. Das Stemofuran W (**18**) wurde in kristalliner Form isoliert. Die Struktur einer weiteren unbekanntes Verbindung AZ (**19**) wird derzeit am Institut für Organische Chemie aufgeklärt. Die oben genannten Derivate konnten auch bei dem Individuum HG 1056 nachgewiesen werden.

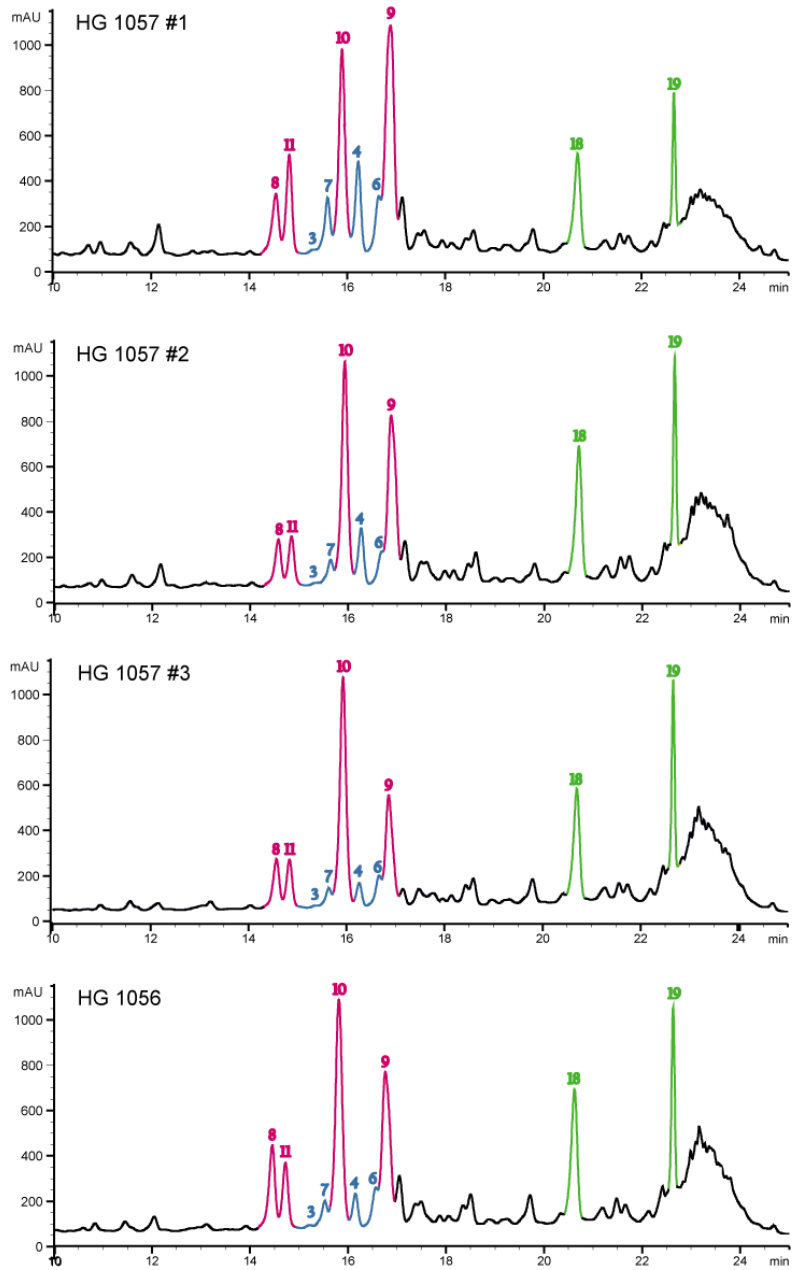


Abb.5.5. HPLC-Profile unterschiedlicher Aufsammlungen von *S. lucida* (HG 1057 und HG 1056)

5.4. Artspezifische Akkumulations-Trends

Nachfolgende Tabelle (Tab.5.1.) gibt einen zusammenfassenden Überblick der detektierten Stilbenoiden in den untersuchten *Stemona*-Arten und Herkünften. Verglichen wurden Methanolextrakte, Trockensäulen- und MPLC-Fractionen mit HPLC/ UV und authentischen Testsubstanzen. Die beiden unbekannt Verbindungen XY (16) und AZ (19) (mit * gekennzeichnet) befinden sich derzeit zur genauen Strukturaufklärung am Institut für Organische Chemie. Aufgrund phytochemischer Untersuchungen der drei Arten zeigen sich typische Akkumulations-Trends. Dabei kommt vor allem der unterschiedlichen Akkumulation von Phenylbenzofuranen und Dihydrophenanthrenen eine chemotaxonomische Bedeutung zu.

Tab. 5.1. Verbreitung von Stilbenoiden in den unterirdischen Organen verschiedener *Stemona* Arten

STILBENOIDE																				
Art	Code	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>Stemona involuta</i>	HG 949	○	○		○		●	○					○	●	●	○		●		
	HG 921	○	○		○		●	○					○	●	●	○		●		
	HG 896		●	○	●	○	●			○	○		○	○	●	○	○	●		
	HG 944		○		○		●						○	○	●	○	○	●		
	HG 913			○	○		●						○	○	●	○	○	○		
	HG 943	○	●	○	○		●						○	○	●	○	○	●		
<i>Stemona sessilifolia</i>	HG 953				○		●		○		○		○	●			●	●		
<i>Stemona lucida</i>	HG 1057			○	○		○	○	○	●	●	○							●	●
	HG 1056			○	○		○	○	○	●	●	○							●	●

● = Hauptmenge, ○ = Nebenmenge

■ Stilbene

□ Dihydrostilbene

■ Stemanthrene

□ Stemofurane

1 Pinosylvin

2 4'-Methylpinosylvin

3 Dihydropinosylvin

4 Stilbostemin B

5 Stilbostemin C

6 Stilbostemin D

7 Stilbostemin F

8. Stemanthren A

9 Stemanthren B

10 Stemanthren C

11 Stemanthren D

12 Stemofuran A

13 Stemofuran B

14 Stemofuran C

15 Stemofuran T unpubl.

16 Verbindung XY unbekannt*

17 Stemofuran V unpubl.

18 Stemofuran W unpubl.

19 Verbindung AZ unbekannt*

5.5. Isolierung der Reinstoffe

Folgende Reinstoffe wurden aus den unterirdischen Organen der vorhergehend beschriebenen Arten (5.1., 5.3.) isoliert:

- Stilbostemin B (**4**): Wurzeln von *S. involuta* (HG 896) mit einem Frischgewicht von 41 g, Rohextrakt 1339 mg CHCl₃ Phase, TS-Fractionen IV/1, IV/2, V1 und V/2 (40% EtOAc in PE) vereinigt, mit anschließender MPLC (10% EtOAc in PE), Fraktion 27 mit 3,5 mg;
- Stilbostemin D (**6**): unterirdische Organe von *S. involuta* (HG 949) mit einem Frischgewicht von 87 g, Rohextrakte Wurzel und Rhizom vereinigt, 1354 mg CHCl₃ Phase, TS-Fraktion III/1 (30% EtOAc in PE) mit anschließender MPLC (20% EtOAc in PE) weiter getrennt, Fraktion 17 mit MeOH über Sephadex aufgereinigt, Fraktion 4 mit 2,9 mg;
- Stemofuran C (**14**): Wurzeln von *S. involuta* (HG 896) mit einem Frischgewicht von 41 g, Rohextrakt 1339 mg CHCl₃ Phase, TS-Fractionen IV/1, IV/2, V1 und V/2 (40% EtOAc in PE) vereinigt, mit anschließender MPLC (10% EtOAc in PE), Fraktion 27, 28 und 29 vereinigt mit MeOH über Sephadex aufgereinigt, Fraktion 7 mit 2,3 mg;
- Stemofuran T (**15**): unterirdische Organe von *S. involuta* (HG 943) mit einem Frischgewicht von 73 mg, Rohextrakte Wurzel und Rhizom vereinigt, 1450 mg CHCl₃ Phase, TS-Fraktion III/1 (30% EtOAc in PE) mit anschließender MPLC (10% EtOAc in PE), Fraktion 16 mit 4 mg;
- Verbindung XY (**16**): Wurzeln von *S. involuta* (HG 943) mit einem Frischgewicht von 73 mg, Rohextrakte Wurzel und Rhizom vereinigt, 1450 mg CHCl₃ Phase, TS-Fraktion III/2 (30% EtOAc in PE) mit anschließender MPLC (10% EtOAc in PE), Fraktion 2+3 mit Aceton über Sephadex aufgereinigt, Fraktion 10 mit 2,1 mg;
- Stemofuran V (**17**): unterirdische Organe von *S. involuta* (HG 943) mit einem Frischgewicht von 73 mg, Rohextrakte Wurzel und Rhizom vereinigt, 1450 mg CHCl₃ Phase, TS-Fraktion III/2 (30% EtOAc in PE) mit anschließender MPLC (100% EtOAc), Fraktion 30 mit 5,8 mg;

➤ Stemofuran W (**18**): Wurzeln von *S. lucida* (HG 1057) mit einem Frischgewicht von 62 g, Rohextrakte der drei Individuen #1, #2 und #3 vereinigt, 753 mg CHCl₃ Phase, TS-Fraktionen III/1 und III/2 (30% EtOAc in PE) vereinigt, durch MPLC (20% EtOAc in PE) weiter aufgereinigt, MPLC Fraktionen 6+8+10+11+15 vereinigt und eine weitere MPLC nachgeschaltet (10% EtOAc in PE) → MPLC Fraktion 5 mit anschließender Kristallisation (3 mg);

➤ Verbindung AZ (**19**): Wurzeln von *S. lucida* (HG 1057) mit einem Frischgewicht von 62 g, Rohextrakte der drei Individuen #1, #2 und #3 vereinigt, 753 mg CHCl₃ Phase, TS-Fraktionen III/1 und III/2 (30% EtOAc in PE) vereinigt, durch MPLC (30% EtOAc in PE) weiter aufgereinigt, MPLC Fraktion 25 mit 1,8 mg;

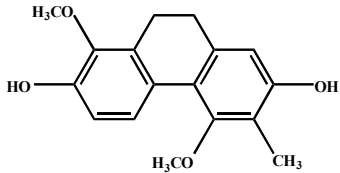
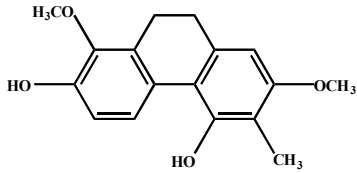
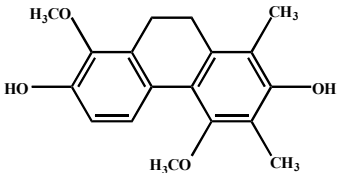
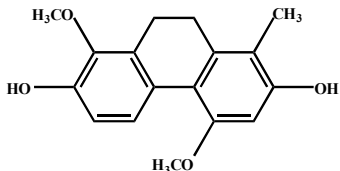
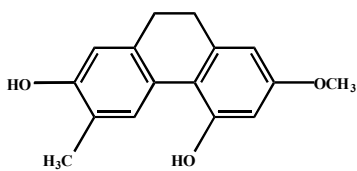
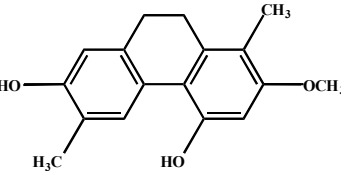
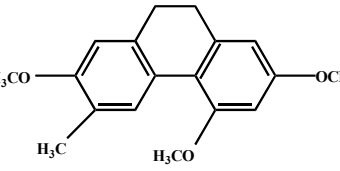
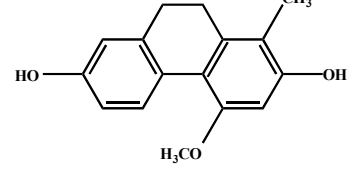
➤ (+) Sesamin (**20**): Wurzeln von *S. involuta* (HG 896) mit einem Frischgewicht von 41 g, Rohextrakt 1339 mg CHCl₃ Phase, TS-Fraktionen IV/1, IV/2, V1 und V/2 (40% EtOAc in PE) vereinigt, mit anschließender MPLC (3% EtOAc in PE), Fraktion 10 mit 2,3 mg;

Unterirdische Organe von *S. involuta* (HG 949) mit einem Frischgewicht von 87 g, Rohextrakte Wurzel und Rhizom vereinigt, 1354 mg CHCl₃ Phase, TS-Fraktion III/1 (30% EtOAc in PE) mit anschließender MPLC (5% EtOAc in PE) weiter getrennt, Fraktion 7+8+9 vereinigt und eine zweite MPLC nachgeschaltet (50% EtOAc in PE), Fraktion 16 mit 2,9 mg;

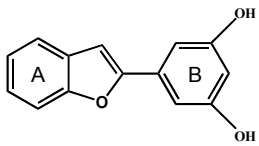
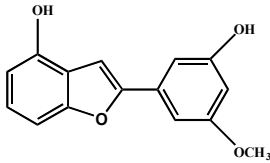
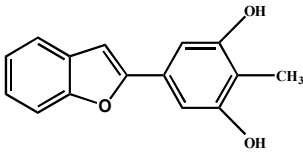
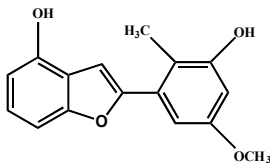
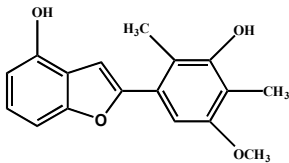
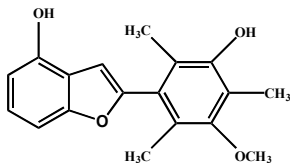
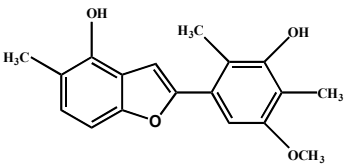
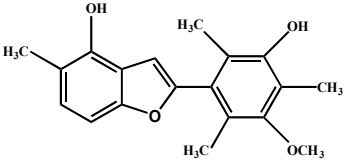
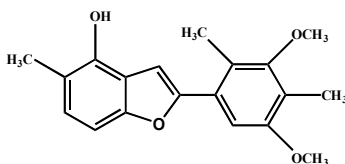
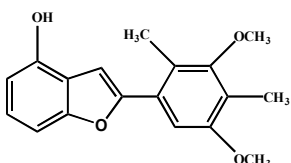
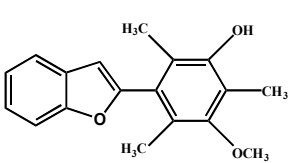
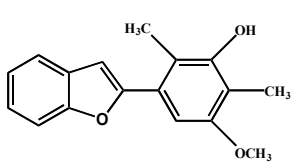
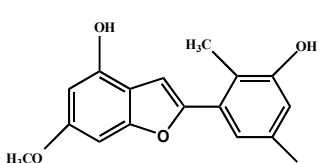
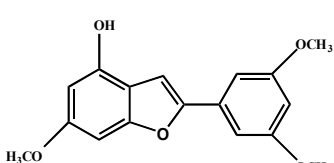
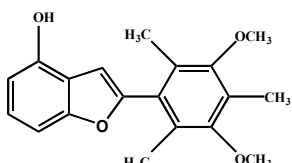
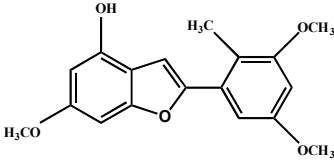
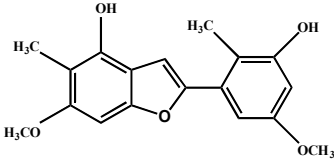
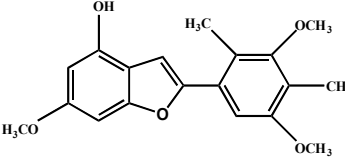
6. ÜBERSICHT SÄMTLICHER *STEMONA*-STILBENOIDE

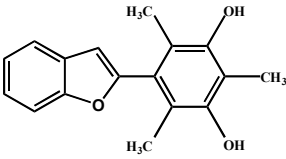
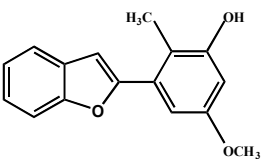
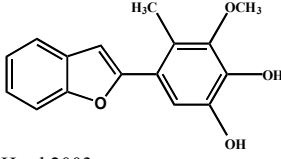
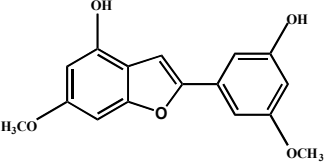
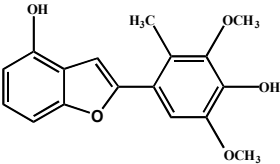
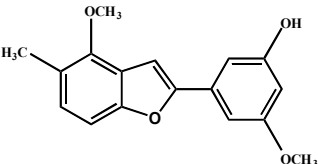
Dieses Kapitel soll einen zusammenfassenden Überblick aller bisher isolierten Stilbenoide aus der Gattung *Stemona* geben. Einige der folgenden Substanzen wurden schon in Kapitel 3 und 5 vorgestellt, dennoch ist ein umfassender Überblick der strukturellen Vielfalt und Verbreitung dieser Stoffklasse in der Gattung *Stemona* als sinnvoll zu erachten. Die einzelnen Derivate werden nach ihren biosynthetischen Strukturelementen eingeteilt.

Tab.6.1. Stemanthrene der Gattung *Stemona*

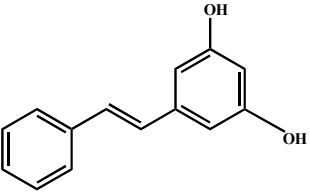
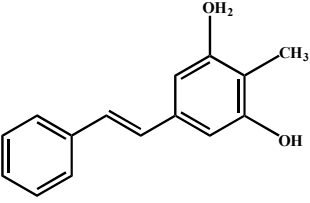
Stemanthrene		
 <p>Stemanthren A (8) Kostecki et al. 2004, Phytochem. 65:99 <i>S. cf. pierrei</i></p>	 <p>Stemanthren B (9) Kostecki et al. 2004, Phytochem. 65:99 <i>S. cf. pierrei</i></p>	 <p>Stemanthren C (10) Kostecki et al. 2004, Phytochem. 65:99 <i>S. cf. pierrei</i></p>
 <p>Stemanthren D (11) Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stemanthren E Yang et al. 2007, JNAPR 9/3:261 <i>S. sessilifolia</i></p>	 <p>Stemanthren F Yang et al. 2006, JNAPR 8/1-2:47 <i>S. japonica</i></p>
 <p>Stemanthren G Zhang et al. 2008, JNAPR 10/7:634 <i>S. japonica</i></p>	 <p>Stemanthren H unpubl. Pacher 2005 <i>S. tuberosa</i></p>	

Tab.6.2. Stemofurane der Gattung *Stemona*

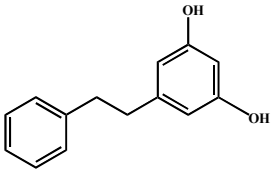
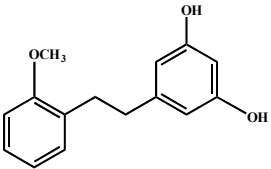
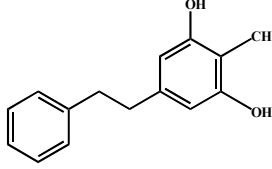
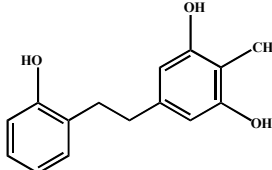
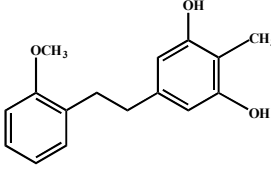
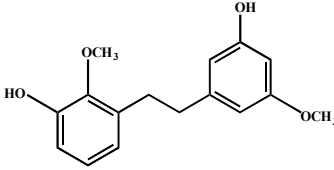
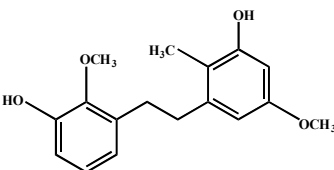
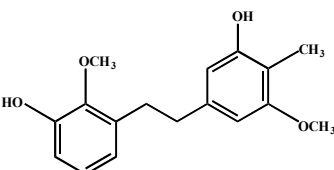
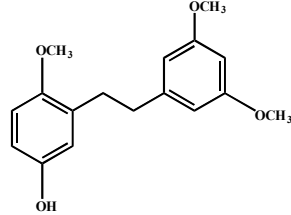
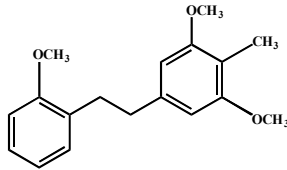
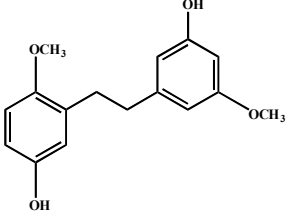
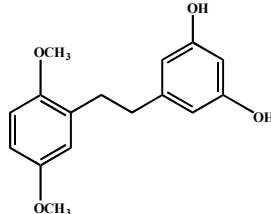
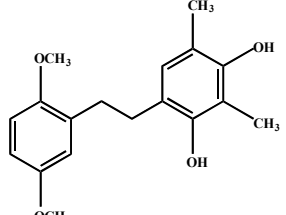
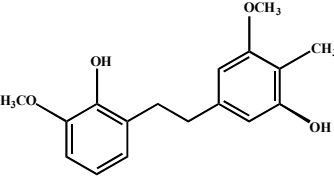
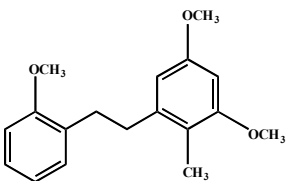
Stemofurane		
 <p>Stemofuran A (12) Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stemofuran B (13) Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stemofuran C (14) Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>
 <p>Stemofuran D Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stemofuran E Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stemofuran F Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>
 <p>Stemofuran G Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stemofuran H Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stemofuran I Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>
 <p>Stemofuran J Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stemofuran K Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stemofuran L Chaiyong et al. 2010, JNP 73:1833 <i>S. curtisii</i></p>
 <p>Stemofuran M Sastraruji et al. 2011, JNP 74:60 <i>S. aphylla</i></p>	 <p>Stemofuran N Sastraruji et al. 2011, JNP 74:60 <i>S. aphylla</i></p>	 <p>Stemofuran O Sastraruji et al. 2011, JNP 74:60 <i>S. aphylla</i></p>
 <p>Stemofuran P Sastraruji et al. 2011, JNP 74:60 <i>S. aphylla</i></p>	 <p>Stemofuran Q Sastraruji et al. 2011, JNP 74:60 <i>S. aphylla</i></p>	 <p>Stemofuran R Sastraruji et al. 2011, JNP 74:60 <i>S. aphylla</i></p>

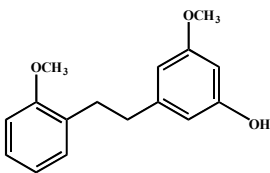
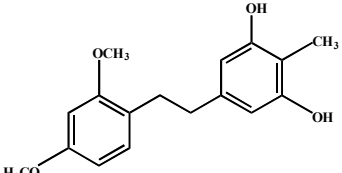
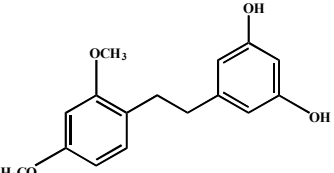
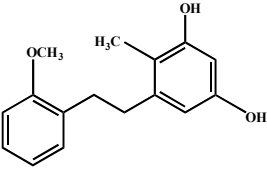
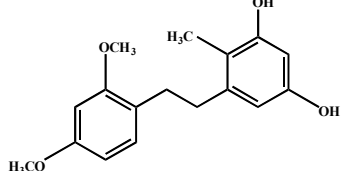
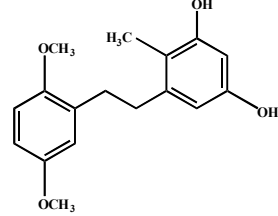
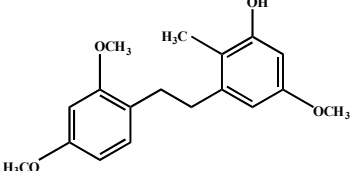
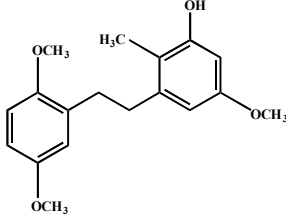
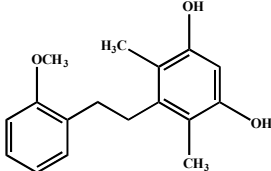
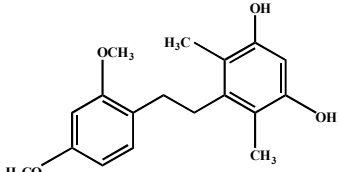
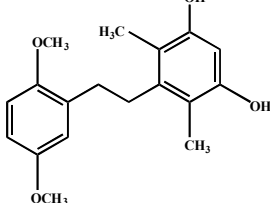
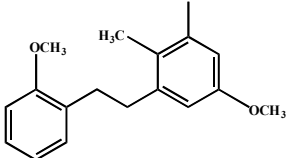
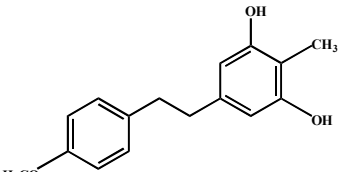
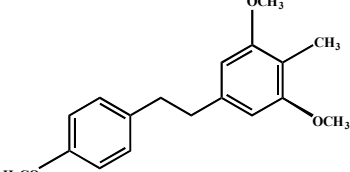
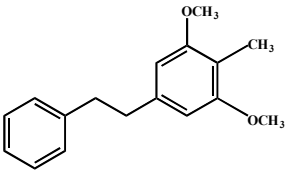
 <p>Hartl 2003 <i>S. burkillii</i></p>	 <p>Hartl 2003 <i>S. burkillii</i></p>	 <p>Hartl 2003 <i>S. burkillii</i></p>
 <p>Stemofuran X unpub. Hartl 2003 <i>S. burkillii</i></p>	 <p>Stemofuran S unpub. Pacher 2005</p>	 <p>Stemofuran W (18) unpub. Zraunig 2012 <i>S. lucida</i></p>

Tab.6.3. Stilbene der Gattung *Stemona*

Stilbene	
 <p>Pinosylvin (1)</p>	 <p>4'-Methylpinosylvin (2)</p>

Tab.6.4. Dihydrostilbene der Gattung *Stemona*

Dihydrostilbene		
 <p>Dihydropinosylvin (3) Kostecki et al. 2004, Phytochem 65:99 <i>S. cf pierrei</i></p>	 <p>Stilbostemin A Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae, S. sessilifolia, S. japonica</i></p>	 <p>Stilbostemin B (4) Zhao et al. 1995, Phytochem 38:711 <i>S. tuberosa, S. collinsiae</i></p>
 <p>Stilbostemin C (5) Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae, S. japonica</i></p>	 <p>Stilbostemin D (6) Zhao et al. 1995, Phytochem 38:711 <i>S. tuberosa, S. collinsiae</i></p>	 <p>Stilbostemin E Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae, S. japonica</i></p>
 <p>Stilbostemin F (7) Pacher et al. 2002, JNP 65:820 <i>S. collinsiae</i></p>	 <p>Stilbostemin G Kostecki et al. 2004, Phytochem 65:99 <i>S. pierrei</i></p>	 <p>Stilbostemin H Yang et al. 2007, JAsNPR 9:261 <i>S. sessilifolia</i></p>
 <p>Stilbostemin I Yang et al. 2007, JAsNPR 9:261 <i>S. sessilifolia</i></p>	 <p>Stilbostemin J Yang et al. 2006, JAsNPR 8:47 <i>S. japonica, S. tuberosa</i></p>	 <p>Stilbostemin K Yang et al. 2006, JAsNPR 8:47 <i>S. japonica</i></p>
 <p>Stilbostemin L Yang et al. 2006, JAsNPR 8:47 <i>S. japonica, S. tuberosa</i></p>	 <p>Stilbostemin M Zhang et al. 2007, JAsNPR 9:479 <i>S. sessilifolia, S. tuberosa</i></p>	 <p>Stilbostemin N Zhang et al. 2007, JAsNPR 9:479 <i>S. sessilifolia, S. tuberosa</i></p>

 <p>Stilbostemin O Zhang et al. 2007, JAsNPR 9:479 <i>S. sessilifolia</i>, <i>S. tuberosa</i></p>	 <p>Stilbostemin P Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i>, <i>S. japonica</i></p>	 <p>Stilbostemin Q Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i></p>
 <p>Stilbostemin R Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i>, <i>S. japonica</i></p>	 <p>Stilbostemin S Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i></p>	 <p>Stilbostemin T Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i></p>
 <p>Stilbostemin U Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i></p>	 <p>Stilbostemin V Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i></p>	 <p>Stilbostemin W Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i></p>
 <p>Stilbostemin X Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i></p>	 <p>Stilbostemin Y Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i></p>	 <p>Stilbostemin Z Zhao et al. 1995, Phytochem 38:711 <i>S. tuberosa</i>, <i>S. collinsiae</i></p>
 <p>Stemostilben A Lin et al. 2008, Phytochem 69:457 <i>S. tuberosa</i></p>	 <p>Stemostilben B Zhang et al. 2007, JAsNPR 9:479 <i>S. sessilifolia</i>, <i>S. tuberosa</i></p>	 <p>Stemostilben C Yang et al. 2007, HelvChAct 90:318 <i>S. japonica</i>, <i>S. sessilifolia</i> Zhang et al. 2007, JAsNPR 9:479</p>

7. DISKUSSION

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die chemische Stoffzusammensetzung von *S. involuta*, *S. sessilifolia* und *S. lucida* vergleichend untersucht. Insgesamt wurden 12 Individuen im Bezug auf ihre Stilbenoidausstattung der unterirdischen Organe analysiert. Aufgrund vorliegender Ergebnisse konnten artspezifische Akkumulations-Tendenzen festgestellt werden. Während *S. involuta* hauptsächlich durch die Akkumulation von Phenylbenzofuranen charakterisiert wird, heben sich die Profile von *Stemona lucida* durch die Dominanz von Dihydrophenanthrenen ab (Tab.5.1.). Die beiden Stilbene Pinosylvin (**1**) und 4'-Methylpinosylvin (**2**) konnten nur in *Stemona involuta* detektiert werden. In *S. sessilifolia* konnten im Gegensatz zur Literatur (YANG et al., 2007; ZHANG et al., 2007) auch Phenylbenzofurane co-chromatographisch nachgewiesen werden.

Eine gesamte chemotaxonomische Interpretation der *Stemona* Stilbenoide erweist sich noch als problematisch, da es offensichtlich wiederholt zu Fehlbestimmungen des untersuchten Pflanzenmaterials gekommen ist (GREGER, 2006). So hat bekanntlich die Verwechslung von *Asparagus racemosus* mit *S. collinsiae* zur Erstbeschreibung des Dihydrophenanthrens Stemanthren D (**11**) als Racemosol geführt (SEKINE et al., 1997). Darüber hinaus können Stoffausstattungen der Stilbenoide oder bestimmte Akkumulationstendenzen von verschiedenen Faktoren abhängig sein und lassen daher nicht immer sofort artspezifische Profile erkennen. Auch wurde beim Eintrocknen die Akkumulation von zusätzlichen Derivaten, z.B. Stilbostemin D (**6**) beobachtet (HARTL, 2003; PACHER, 2005). Hier könnte den Stilbenoiden auch eine Steuerung der Ruheperioden in der Trockenzeit zukommen (Abb.5.1). In Hinblick auf die Speicherfunktion der verdickten Wurzeln bilden Stilbenoide offensichtlich einen wichtigen Schutz gegenüber Infektionen von Mikroorganismen (Abb.5.2.). Wie in Abb.5.3 gezeigt, kommt es auch zu interindividuellen Unterschieden in der Stoffausstattung, die auch mit der ontogenetischen Entwicklung oder ökologischen Einflüssen zusammenhängen könnten. Wie in Kapitel 3.1.3. beschrieben, haben Stilbenoide nicht nur eine konstitutive Schutzfunktion sondern können auch eine

induzierte Abwehr auf Infektionen darstellen. Diese sogenannten Phytoalexine wurden von PACHER et al. bereits 2002 ausführlich beschrieben.

Insgesamt konnten 8 Stilbenoide (2 Dihydrostilbene, 6 Phenylbenzofurane) und das Lignan (+) Sesamin isoliert und identifiziert werden. 11 weitere Substanzen konnten mit der Reinstoffdatenbank sowie UV-Spektrenbibliothek co-chromatographisch nachgewiesen werden. Die Strukturaufklärung erfolgte durch NMR- und Massenspektroskopie in enger Zusammenarbeit mit dem Institut für Organische Chemie der Universität Wien.

Die kürzlich neu beschriebene *S. involuta* (INTHACHUB et al., 2010) kommt hauptsächlich in trockenen und offenen Habitaten im NO-Thailand vor. Fünf Individuen (HG 896 #2, #4, #5, #11 und HG 943) wurden in der Provinz Nakhon Ratchasima und ein Individuum (HG 944) in der Provinz Buriram gesammelt. Ein weiteres Individuum (HG 913) stammt aus W-Thailand der Provinz Kanchanaburi. Ganz allgemein zeigt diese Art eine starke Akkumulationstendenz von Phenylbenzofuranen. Diese Phenylbenzofurane wurden ebenfalls in *S. collinsiae*, *S. aphylla*, *S. curtisii*, *S. burkilli* und *S. cochinchinensis* nachgewiesen (PACHER et al., 2002; HARTL, 2003). Aufgrund morphologischer Merkmale (siehe 2.2.2.) könnte eine nahe Verwandtschaftsbeziehung zwischen *S. involuta* und *S. aphylla* angenommen werden (INTHACHUB et al., 2010). Dies wurde nun durch phytochemische Untersuchungen unterstützt. Beide Arten zeichnen sich auch durch ein ähnliches Alkaloid-Profil aus (KONGKIATPAIBOON et al., 2011). Im Vergleich zu der von PACHER et al. (2002) untersuchten *S. aphylla* zeigt auch die Stilbenoidausstattung von *S. involuta* Ähnlichkeiten und unterstreicht somit die vermutete nahe Verwandtschaft zwischen den beiden Arten. Generell dominieren hier vor allem die Phenylbenzofurane Stemofuran C (**14**) und V (**17**), die von den Dihydrostilbenen Stilbostemin B (**4**) und D (**6**) begleitet werden. Bei einigen Individuen konnte auch das Stilben 4'-Methylpinosylvin (**2**) und das Stemofuran B (**13**) in größeren Mengen detektiert werden. Im Vergleich zu anderen Individuen von *S. involuta* (PACHER et al., 2002) konnte im Individuum HG 943 kein Stilbostemin H, Stemofuran F, Stemofuran P und das Dihydrophenanthren Stemanthren D (**11**) festgestellt werden. Hingegen wurden im Individuum HG 896 die Stemanthrene B (**9**) und C (**10**) in Spuren nachgewiesen. Im

Gegensatz zu PACHER et al. (2002) wurden auch die Dihydrostilbene Dihydropinosylvin (**3**) und Stilbostemin C (**5**) detektiert. Die beiden Individuen (HG 949, HG 921) unterscheiden sich nicht von einander, heben sich aber von den anderen Individuen durch das Fehlen von Dihydropinosylvin (**3**) und der unbekanntem Verbindung XY (**16**) ab. Eine detaillierte NMR-Analyse ist hier noch ausständig. Aus dem analysierten Individuum (HG 921) konnten Stilbostemin F (**7**), Stemofuran A (**12**) und C (**14**) co-chromatographisch nachgewiesen werden. Die hier untersuchten Individuen von *S. involuta* unterscheiden sich hauptsächlich durch quantitative Veränderung der Nebenkomponenten.

S. sessilifolia (HG 953) stammt von der Chinesischen Universität in Hong Kong und zeigt durch das Auftreten von Stemofuranen deutliche Unterschiede zu den bisher publizierten Stoffmustern. Weiters fällt auf, dass die vielen von ZHANG et al. (2007) und YANG et al. (2007) beschriebenen Dihydrostilbene hier nicht nachgewiesen werden konnten. Da es sich hier aber nur um eine orientierende Voruntersuchung von nur einem Individuum mit sehr kleiner Extraktmenge gehandelt hat, sind chemotaxonomische Schlußfolgerungen noch verfrüht.

Von *S. lucida* (HG 1057, HG 1056) wurden 4 Individuen analysiert. Alle Aufsammlungen stammen aus einem periodisch trockenen, küstennahen Monsungebiet N-Australiens (DUYFJES, 1993). Typisch für diese Art ist die starke Akkumulation von Stemanthrenen. Als Hauptkomponenten konnten hier die Stemanthrene A-D (**8-11**) nachgewiesen werden. Dies ist bemerkenswert, da bei *Stemona* dominierende Stemanthrene bisher nur aus *S. pierrei* bekannt waren. Dort wurden erstmals die Stemanthrene A-C (**8-10**) von KOSTECKI et al. (2004) beschrieben. Aus *S. collinsiae* wurde von PACHER et al. (2002) Stemanthren D (**11**) isoliert, das früher irrtümlich als Racemosol für *Asparagus racemosus* beschrieben wurde (SEKINE et al, 1997). Stemanthrene wurden früher bereits aus *S. japonica*, *S. tuberosa*, *S. cochinchinensis* und *S. curtisii* sowie in *S. involuta* in Spuren nachgewiesen (PACHER et al., 2002). In keiner Aufsammlung von *S. lucida* konnten die beiden Stilbene Pinosylvin (**1**) und 4'-Methylpinosylvin (**2**) detektiert werden. Im Gegensatz zu der in O-Thailand beheimateten *S. pierrei* konnten hier auch Phenylbenzofurane festgestellt werden. Zusätzlich wurde noch ein neues Stemofuran W (**18**) in kristalliner Form isoliert und

seine Struktur in Zusammenarbeit mit dem Institut für Organische Chemie aufgeklärt. Die NMR-Untersuchungen eines weiteren unbekanntes Derivates AZ (**19**) konnten bisher noch nicht abgeschlossen werden. Im Gegensatz zu den Orchideen (FRITZMEIER & KINDL, 1983) zeigten die Dihydrophenanthrene der *Stemona* Arten nur eine schwache antifungale Wirkung (KOSTECKI et al., 2004).

8. ZUSAMMENFASSUNG

Basierend auf vergleichenden, phytochemischen Untersuchungen lipophiler Extrakte gibt die vorliegende Arbeit einen Überblick über Akkumulations-Trends und struktureller Vielfalt von Stilbenoiden in verschiedenen *Stemona*-Arten. Alle Komponenten wurden mittels präparativer Methoden (TS, MPLC und DC) aus unterirdischen Organen isoliert und deren Struktur durch spektroskopische Methoden (¹H-NMR, ¹³C-NMR und Massenspektroskopie) aufgeklärt oder durch co-Chromatographie mit authentischen Testsubstanzen nachgewiesen. Insgesamt wurden 8 Stilbenoide (2 Dihydrostilbene, 6 Phenylbenzofurane) und das Lignan (+) Sesamin isoliert. Wovon ein Phenylbenzofuran im Rahmen dieser Arbeit neu beschrieben werden konnte. Zusätzlich konnten 11 weitere Stilbenoide co-chromatographisch nachgewiesen werden.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse konnten artspezifische Akkumulations-Tendenzen festgestellt werden. So zeichnet sich die Stilbenoidausstattung von *S. involuta* durch das dominierende Vorkommen von Phenylbenzofuranen aus. Dihydrophenanthrene konnten nur in einem Individuum in Spuren nachgewiesen werden. Im Vergleich zu den anderen beiden Arten konnten hier Stilbene detektiert werden. Bei *S. lucida* dominieren vor allem Dihydrophenanthrene, aber auch Phenylbenzofurane werden vermehrt angereichert, während Dihydrostilbene eher eine untergeordnete Rolle spielen. Hingegen konnten in *S. sessilifolia* sowohl Phenylbenzofurane als auch Dihydrophenanthrene sowie Dihydrostilbene detektiert werden. Die Ergebnisse stammen hier allerdings nur aus einer orientierenden Voruntersuchung mit einer kleinen Extraktmenge. Interindividuelle Variationen sind gering und unterscheiden sich hauptsächlich durch quantitative Veränderung der Nebenkompenten. Im Bezug auf organspezifische Akkumulation konnte eine deutlich stärkere Akkumulation von Stilbenoiden in den stark verdickten Wurzeln festgestellt werden. Da es hier zur Ansammlung von energiereichen Reservestoffen kommt, übernehmen offenbar die Stilbenoide eine wichtige Schutzfunktion gegenüber Pathogenen und Herbivoren.

9. ABSTRACT

Comparative HPLC-UV analyses of methanolic crude extracts of various *Stemona* species and provenances were carried out to investigate the stilbenoid patterns with respect to structural diversity and different accumulation trends. From 12 samples belonging to *S. involuta*, *S. lucida* and *S. sessilifolia* eight stilbenoids, including two dihydrostilbenes and six phenylbenzofurans, were isolated by preparative MPLC and TLC together with the lignan (+)-sesamin. Their structures were identified by NMR- and MS analyses and the unknown phenylbenzofuran stemofuran W was described for the first time. In addition, 11 further stilbenoids were identified by co-chromatography with authentic samples. The stilbenoid profiles of *S. involuta* and *S. lucida* could be clearly distinguished by different accumulation trends towards phenylbenzofurans in the former and dihydrophenanthrenes in the latter, but showed only quantitative differences between the individuals of the same species. In contrast to previous findings phenylbenzofurans were also detected in one collection of *S. sessilifolia* by co-chromatography with authentic samples. According with previous reports the genus specific chemical trend towards the rare C-methylation of stilbenoids could now also be confirmed for *S. involuta* and *S. lucida*, which were investigated here for the first time.

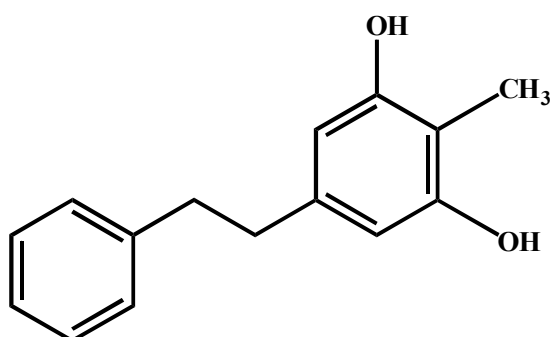
10. ANHANG

10.1. Spektraldatenkatalog

Hier werden die Daten jener Substanzen zusammengefasst, die im Rahmen dieser Arbeit isoliert oder co-chromatographisch nachgewiesen wurden. Neben den Trivial- und IUPAC-Namen werden sowohl Strukturformeln, Summenformeln und die entsprechenden UV-Spektren mit den dazugehörigen Retentionszeiten und UV-Maxima, sowie auch Pflanze und Organ, CAS-Nummer und das molekulare Gewicht angeführt. Die ^{13}C -NMR und ^1H -NMR Daten werden nur bei Erstbeschreibungen (mit * gekennzeichnet) angegeben. Bei bereits bekannten Verbindungen wurde anstelle der NMR-Daten ein Literaturverweis angegeben. Jene Substanzen, die lediglich co-chromatographisch mit den entsprechenden Vergleichssubstanzen nachgewiesen wurden, sind entsprechend gekennzeichnet.

(4) Stilbostemin B

1-(3,5-dihydroxy-4-methylphenyl)-2-phenylethyl



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 16.093 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

204, 230 sh, 270

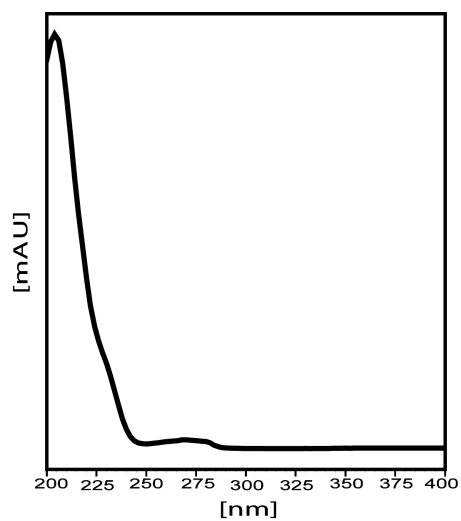
MF: C₁₅H₁₆O₂

CAS Nummer: 162411-67-8

mol.w.: 228,29

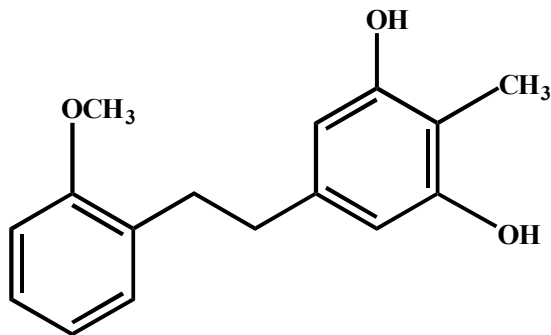
melt.p.: 153-154 °C

NMR-Daten: ZHAO et al., 1995



(6) Stilbostemin D

1-(3,5-dihydroxy-4-methylphenyl)-2-(2-methoxyphenyl)- ethyl



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 16.705 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

224 sh, 272, 278

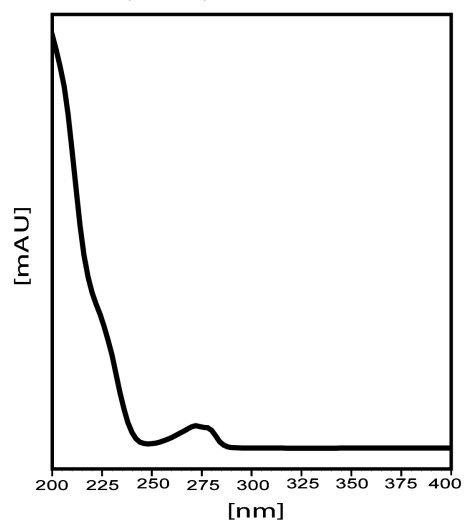
MF: C₁₅H₁₆O₂

CAS Nummer: 162411-67-8

mol.w.: 228,29

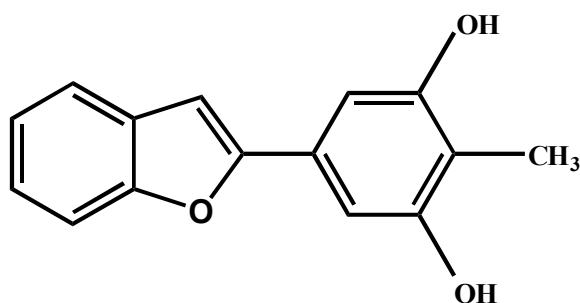
melt.p.: 153-154 °C

NMR-Daten: ZHAO et al., 1995



(14) Stemofuran C

2-(3,5-dihydroxy-4-methylphenyl)benzofuran



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 16.599 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

214, 222 sh, 286 sh, 306, 320

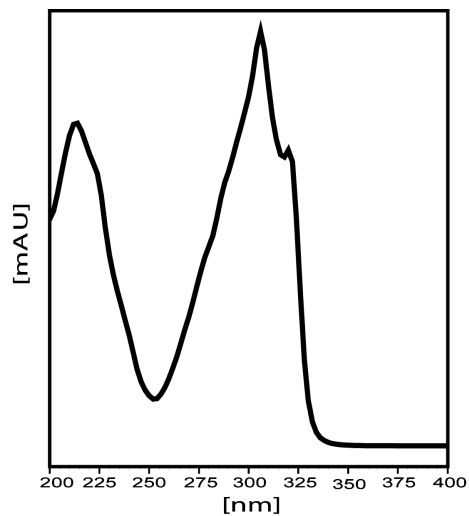
MF: C₁₅H₁₂O₃

CAS Nummer: 439900-85-3

mol.w.: 240.25

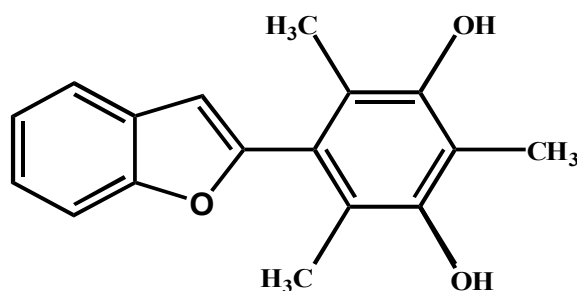
melt.p.: 195-196 °C

NMR-Daten: PACHER et al., 2002



(15) Stemofuran **T** unpubl.

2-(3,5-dihydroxy-2,4,6-trimethylphenyl)benzofuran



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt _{HPLC}: 21.861 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

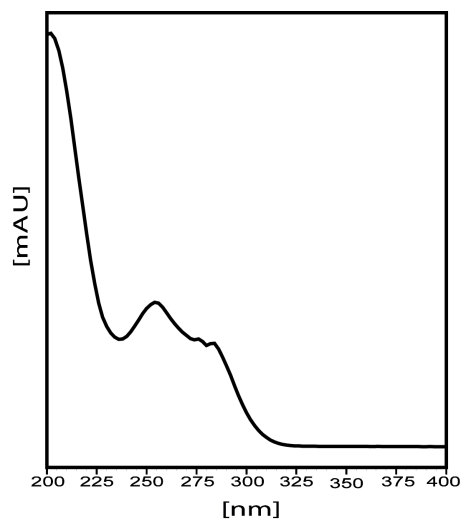
204, 254, 276, 284

MF: C₁₇H₁₆O₃

mol.w.: 268

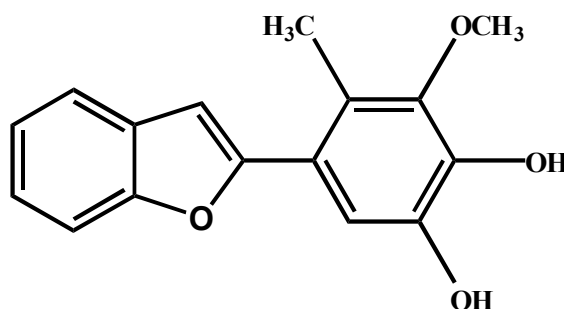
melt.p.: 190-192 °C

NMR-Daten: HARTL et al., 2003



(17) Stemofuran V unpubl.

2-(4,5-dihydroxy-3-methoxy-2-methylphenyl)benzofuran



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 17.172 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

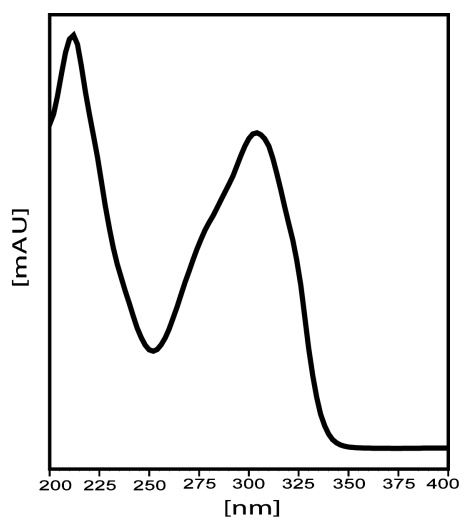
212, 278 sh, 304

MF: C₁₆H₁₄O₄

mol.w.: 270

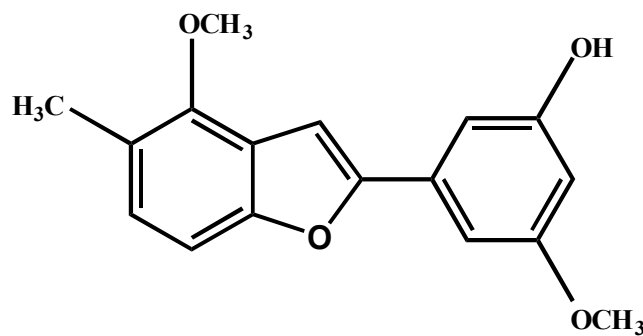
melt.p.: 144-146 °C

NMR-Daten: HARTL, 2003



(18) Stemofuran W*_{unpubl.}

2-(3-hydroxy-5-methoxyphenyl)-2-methoxy-3-methylbenzofuran



IPN: *Stemona lucida*, Wurzel

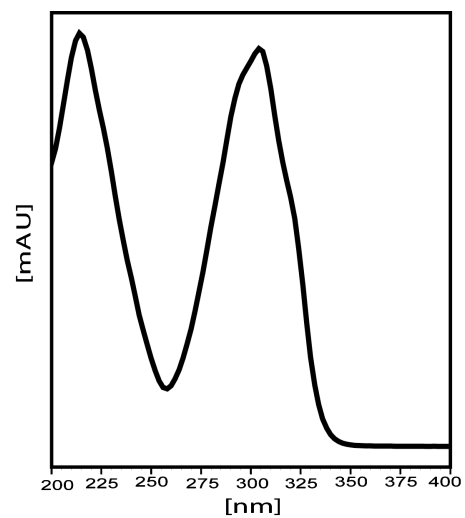
Rt_{HPLC}: 20,674 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

214, 296 sh, 304

MF: C₁₇H₁₆O₄

mol.w.: 284.31



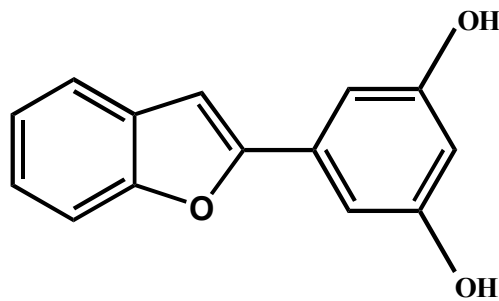
(18) Stemofuran W*_{unpubl.}

2-(3-hydroxy-5-methoxyphenyl)-2-methoxy-3-methylbenzofuran

Position	Typ	¹ H-NMR (CDCl ₃)	¹³ C-NMR (CDCl ₃)
1	C	-	120,3
2	C	-	150,8
3	C	-	122,2
4	CH	7,07	127,4
5	CH	7,14	105,8
6	C	-	154,8
1"	CH	7,09	99,8
2"	C	-	156,9
1'	C	-	?
2'	CH	6,91	104,5
3'	C	-	155,1
4'	CH	6,39	101,9
5'	C	-	161,8
6'	CH	6,97	15.8103,04
3-Me	CH	2,33	15,8
2-OMe	CH	4,05	60,2
5'-OME	CH	3,86	56

(12) Stemofuran A

2-(3,5-dihydroxyphenyl)benzofuran



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 15.467 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

212, 286 sh, 304, 318 sh

MF: C₁₄H₁₀O₃

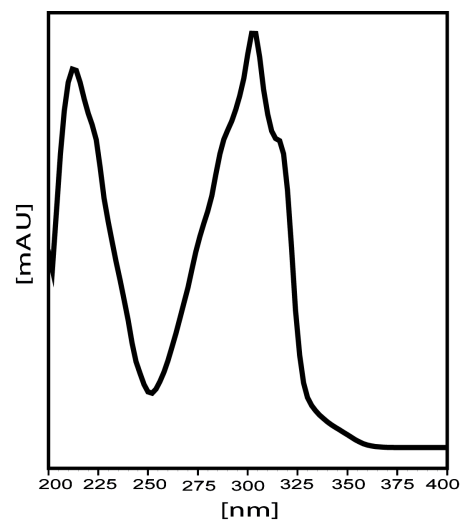
CAS Nummer: 439900-83-1

mol.w.: 226,23

melt.p.: 182-183 °C

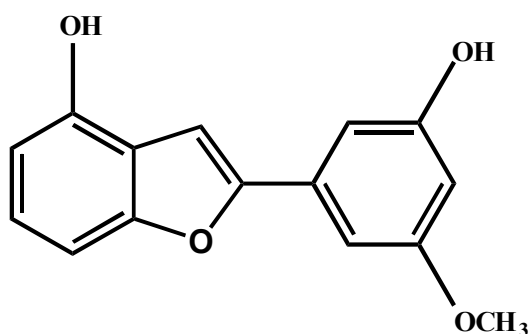
NMR-Daten: PACHER et al., 2002

co-chromatographisch



(13) Stemofuran B

2-(3-hydroxy-5-methoxyphenyl)-2-hydroxybenzofuran



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 15.563 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

210, 228, 298, 308 sh

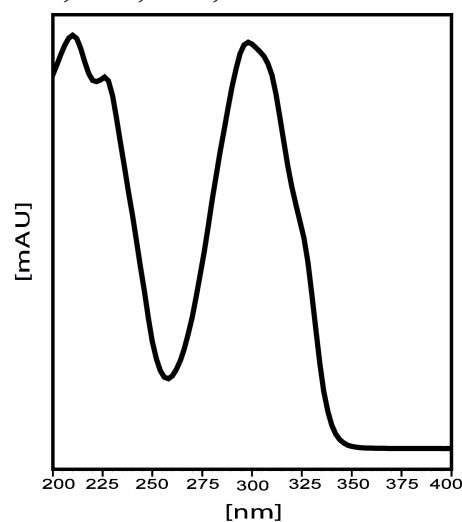
MF: C₁₅H₁₂O₄

CAS Nummer: 439900-84-2

mol.w.: 256.25

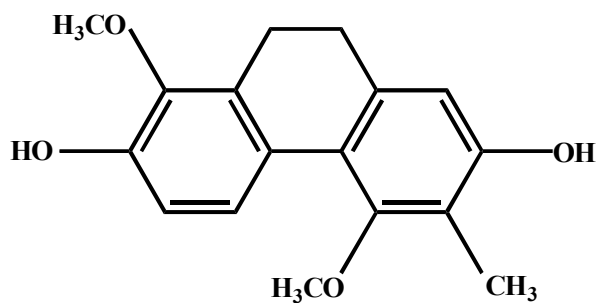
NMR-Daten: PACHER et al., 2002

co-chromatographisch



(8) Stemanthren A

2,7-dihydroxy-1,5-dimethoxy-6-methyl-9,10-dihydrophenanthren



IPN: *Stemona lucida*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 14.893 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

215, 282, 296 sh

MF: C₁₇H₁₈O₄

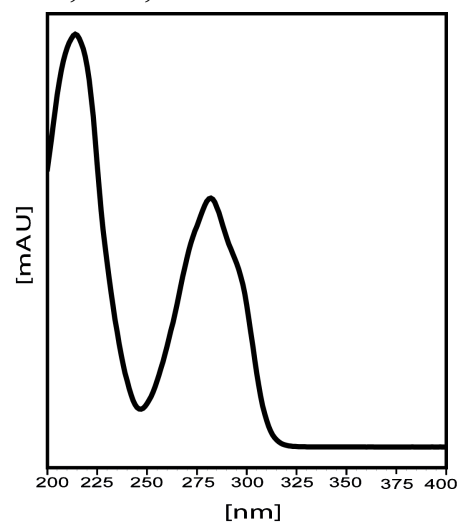
CAS Nummer: 674774-82-4

mol.w.: 286.32

melt.p.: 130-132 °C

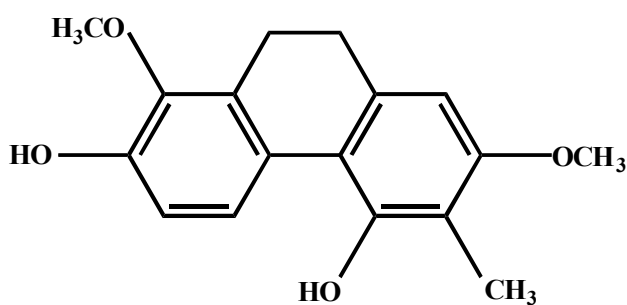
NMR-Daten: KOSTECKI et al., 2004

co-chromatographisch



(9) Stemanthren B

2,5-dihydroxy-1,7-dimethoxy-6-methyl-9,10-dihydrophenanthren



IPN: *Stemona lucida*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 16.689 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

216, 272 sh, 282

MF: C₁₇H₁₈O₄

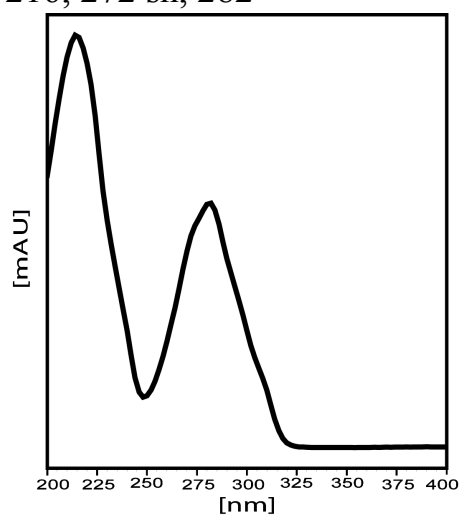
CAS Nummer: 674774-83-5

mol.w.: 286.32

melt.p.: 198-200 °C

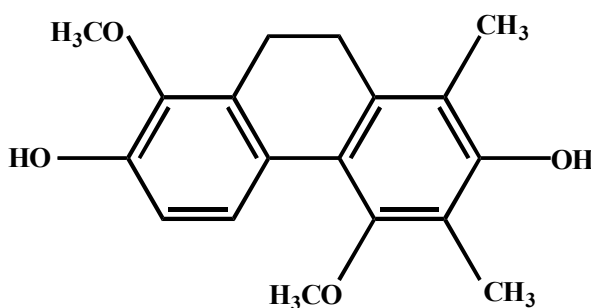
NMR-Daten: KOSTECKI et al., 2004

co-chromatographisch



(10) Stemanthren C

2,7-dihydroxy-4,8-dimethoxy-1,3-dimethyl-9,10-dihydrophenanthren



IPN: *Stemona lucida*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 15.760 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

214, 282, 294 sh

MF: C₁₈H₂₀O₄

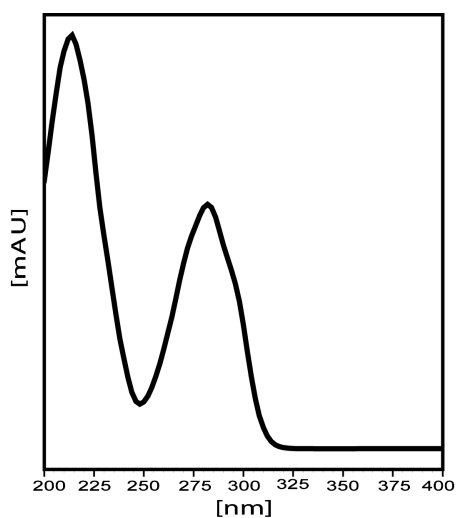
CAS Nummer: 674774-84-6

mol.w.: 300.35

melt.p.: 169-171 °C

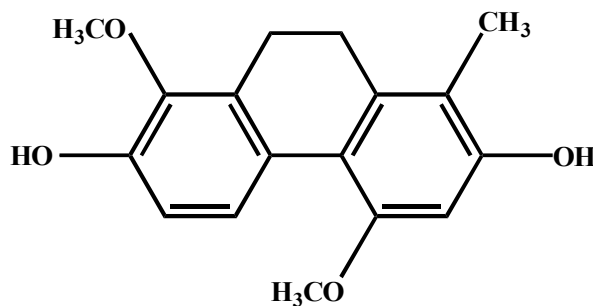
NMR-Daten: KOSTECKI et al., 2004

co-chromatographisch



(11) Stemanthren D

2,7-dihydroxy-4,8-dimethoxy-1-methyl-9,10-dihydrophenanthren



IPN: *Stemona lucida*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 14.663 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

212, 272 sh, 280, 298, 312

MF: C₁₇H₁₈O₄

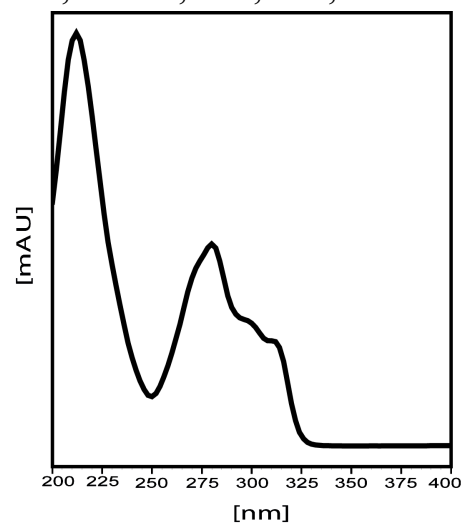
CAS Nummer: 188543-66-0

mol.w.: 286.32

melt.p.: 182-183 °C

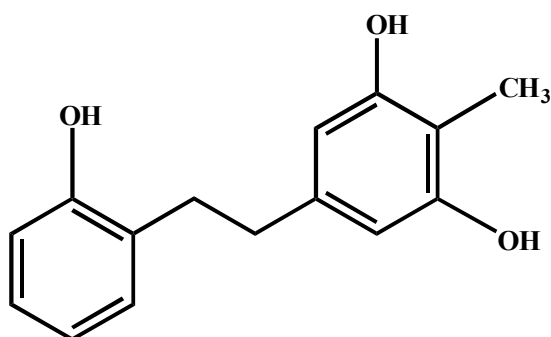
NMR-Daten: PACHER et al., 2002

co-chromatographisch



(5) Stilbostemin C

1-(3,5-dihydroxy-4-methylphenyl)-2-(2-hydroxyphenyl)-ethyl



IPN: *Stemona lucida*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 12.791 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

274, 280 sh

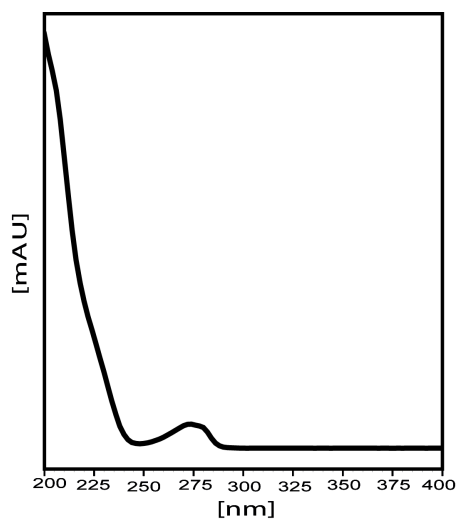
MF: C₁₅H₁₆O₃

CAS Nummer: 439900-94-4

mol.w.: 244.29

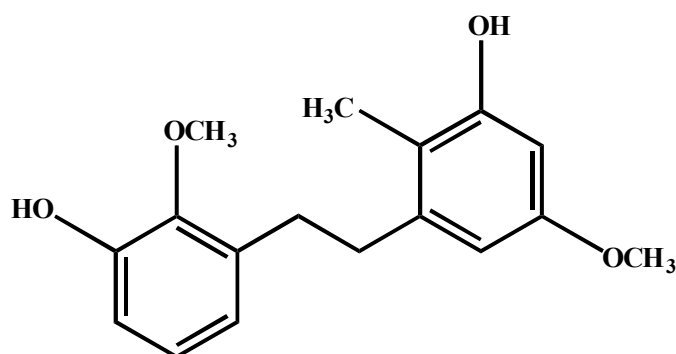
NMR-Daten: PACHER et al., 2002

co-chromatographisch



(7) Stilbostemin F

1-(3-hydroxy-5-methoxy-2-methylphenyl)-2-(3-hydroxy-2-methoxyphenyl)-ethyl



IPN: *Stemona lucida*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 15.672 min

UV λ_{max} (CH₃CN/H₂O) nm:

202, 224 sh, 277

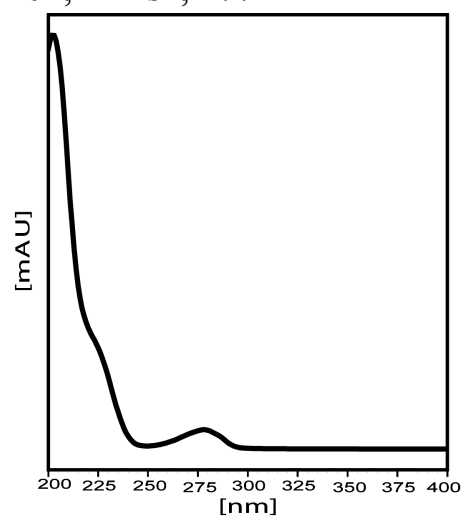
MF: C₁₇H₂₀O₄

CAS Nummer: 439900-96-6

mol.w.: 288.34

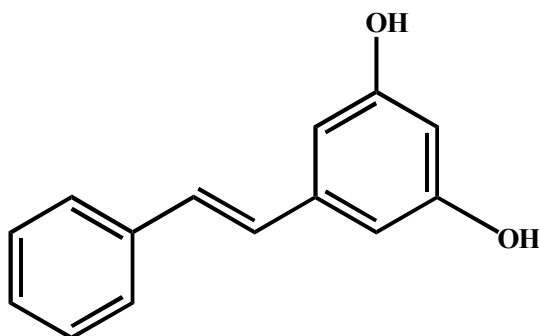
NMR-Daten: PACHER et al., 2002

co-chromatographisch



(1) Pinosylvin

1,3-Benzenediol, 5-[(1E)-2-phenylethenyl]



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt _{HPLC}: 15.274 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

212, 228, 236 sh, 300, 308

MF: C₁₄H₁₂O₂

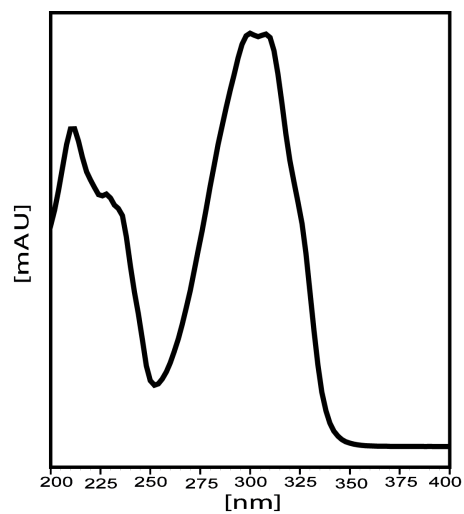
CAS Nummer: 22139-77-1

mol.w.: 212.24

melt.p.: 156-157 °C

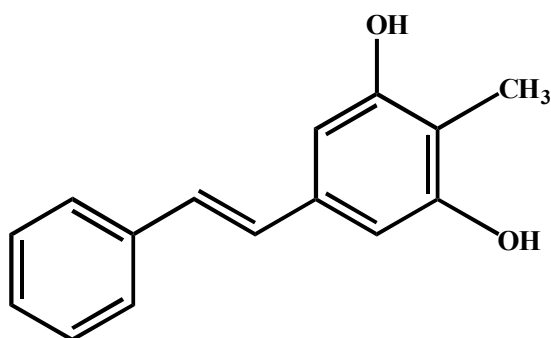
NMR-Daten: Inc. ACD/Labs

co-chromatographisch



(2) 4'-Methylpinosylvin

1,3-Benzenediol, 2-methyl-5-[(1E)-2-phenylethenyl]



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 16.384 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

210, 238 sh, 314

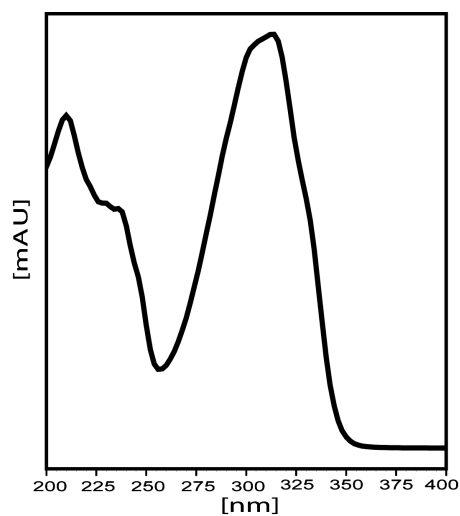
MF: C₁₅H₁₄O₂

CAS Nummer: 439697-22-0

mol.w.: 226.27

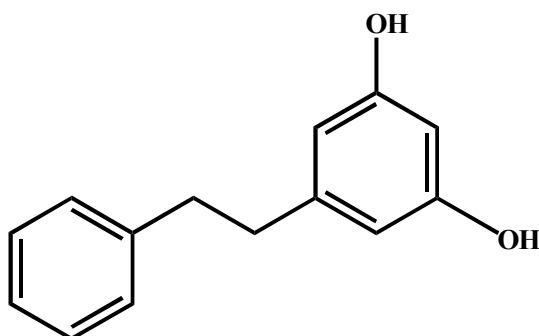
NMR-Daten: Inc. ACD/Labs

co-chromatographisch



(3) Dihydropinosylvin

1-(3,5-Dihydroxyphenyl)-2-phenylethyl



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt_{HPLC}: 14.874 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

214, 274, 280

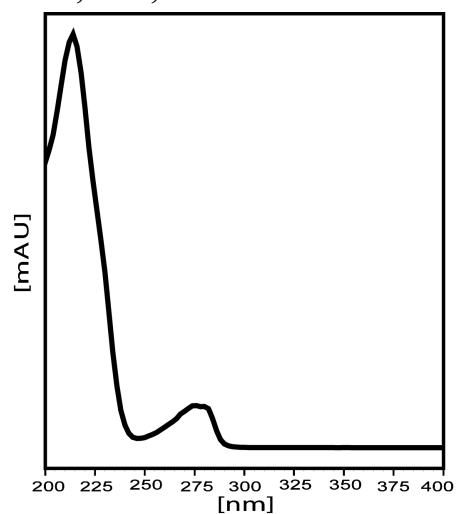
MF: C₁₄H₁₄O₂

CAS Nummer: 14531-52-3

mol.w.: 214.26

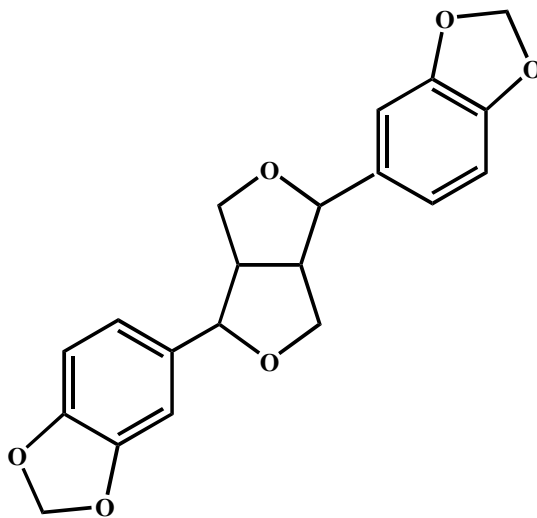
NMR-Daten: ASAKAWA et al.

co-chromatographisch



(20) (+) - Sesamin

1,3-Benzodioxole, 5,5'-(tetrahydro-1H,3H-furo[3,4-c]furan-1,4-diyl)bis-, (1S,3aR,4S,6aR)



IPN: *Stemona involuta*, Wurzel

Rt _{HPLC}: 20.498 min

UV λ_{\max} (CH₃CN/H₂O) nm:

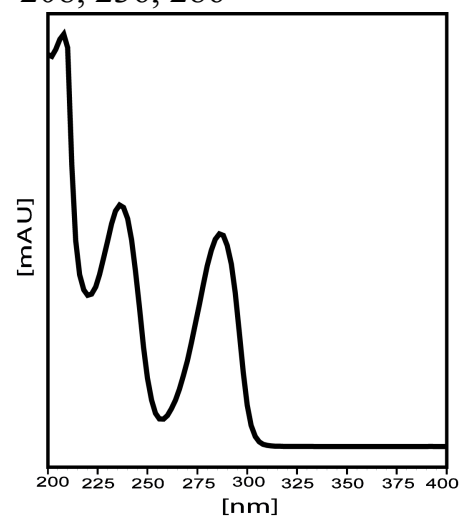
208, 236, 286

MF: C₂₀H₁₈O₆

CAS Nummer: 607-80-7

mol.w.: 354.35

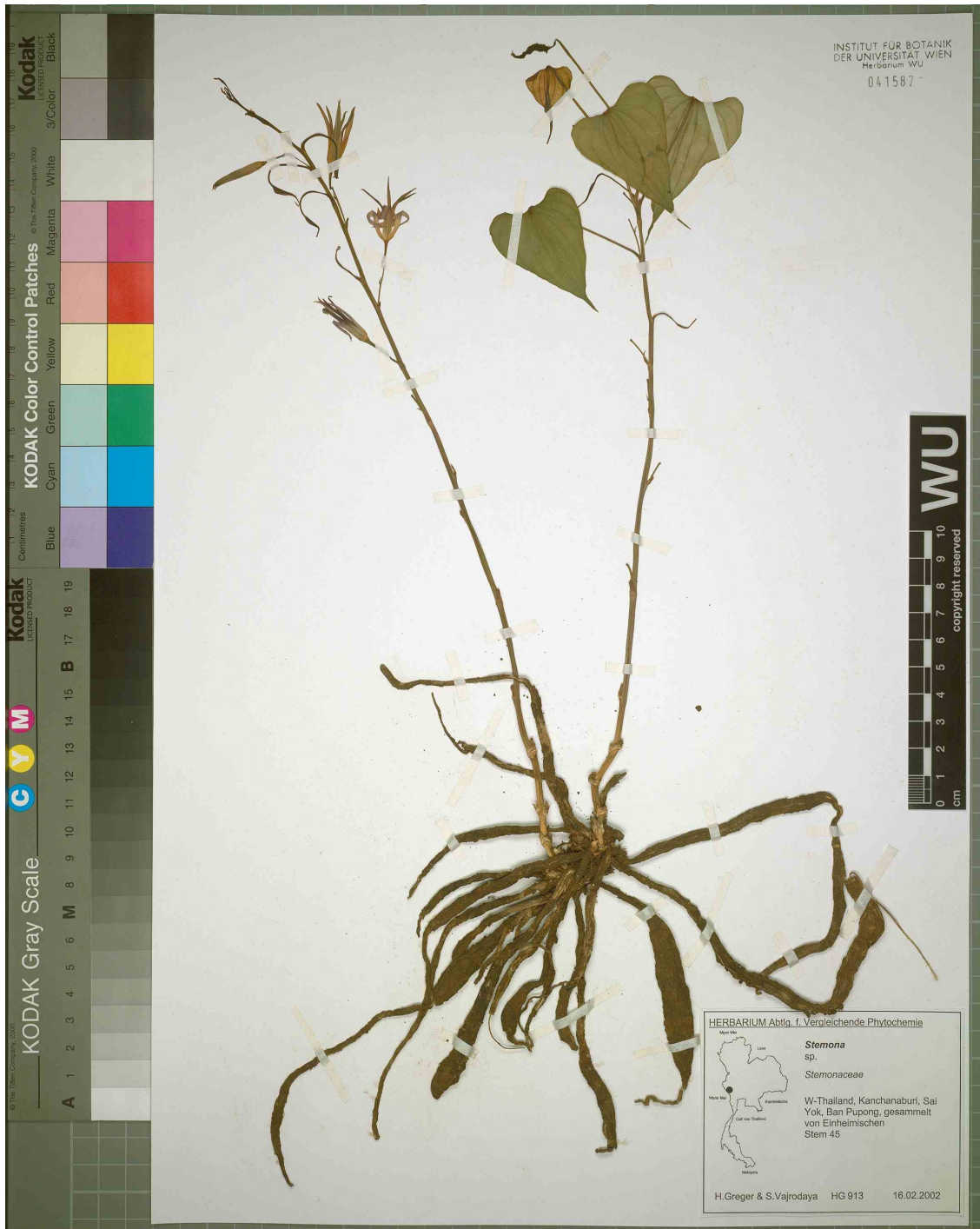
NMR-Daten: PACHER et al., 2002



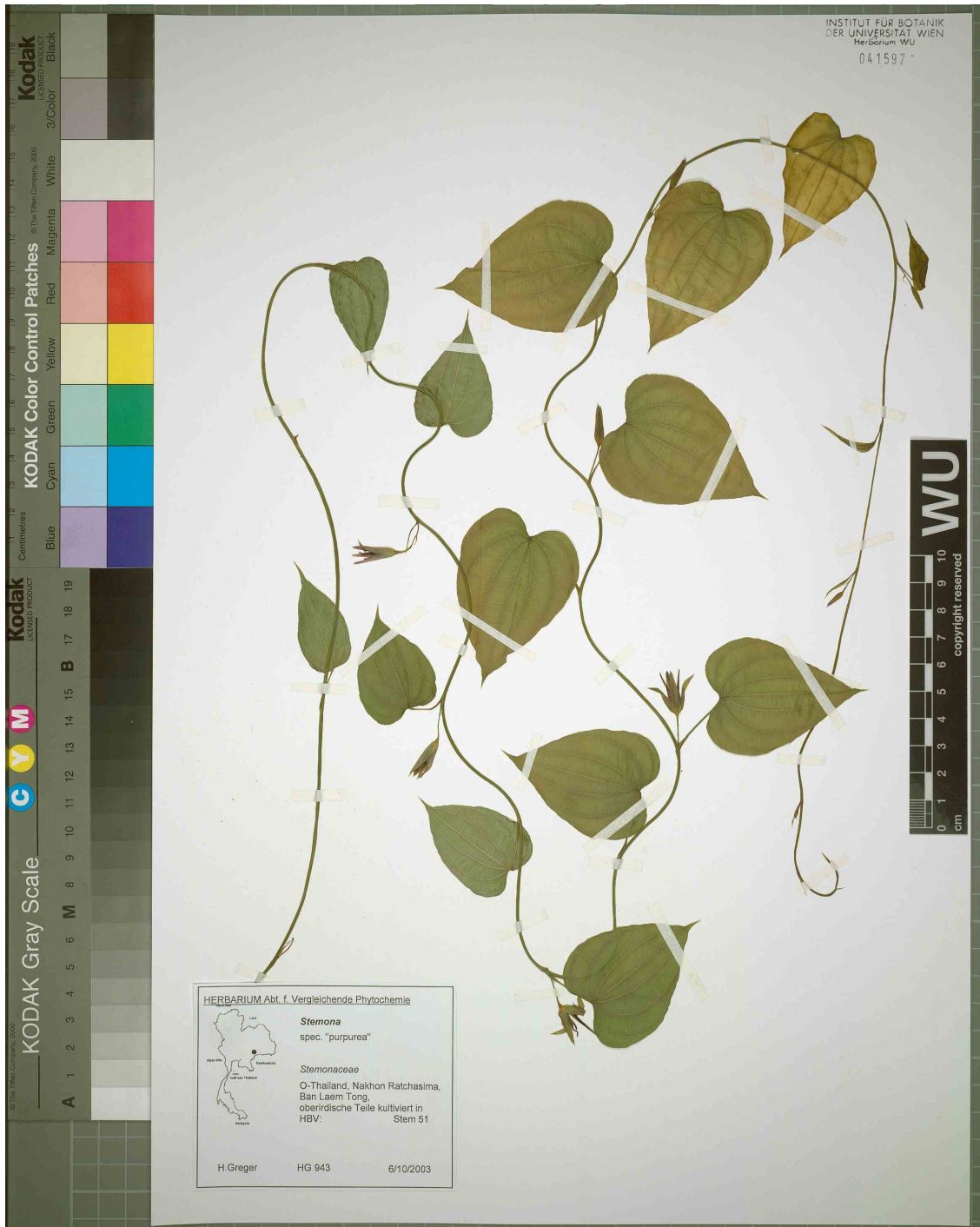
10.2. Abbildungen der Herbarbelege



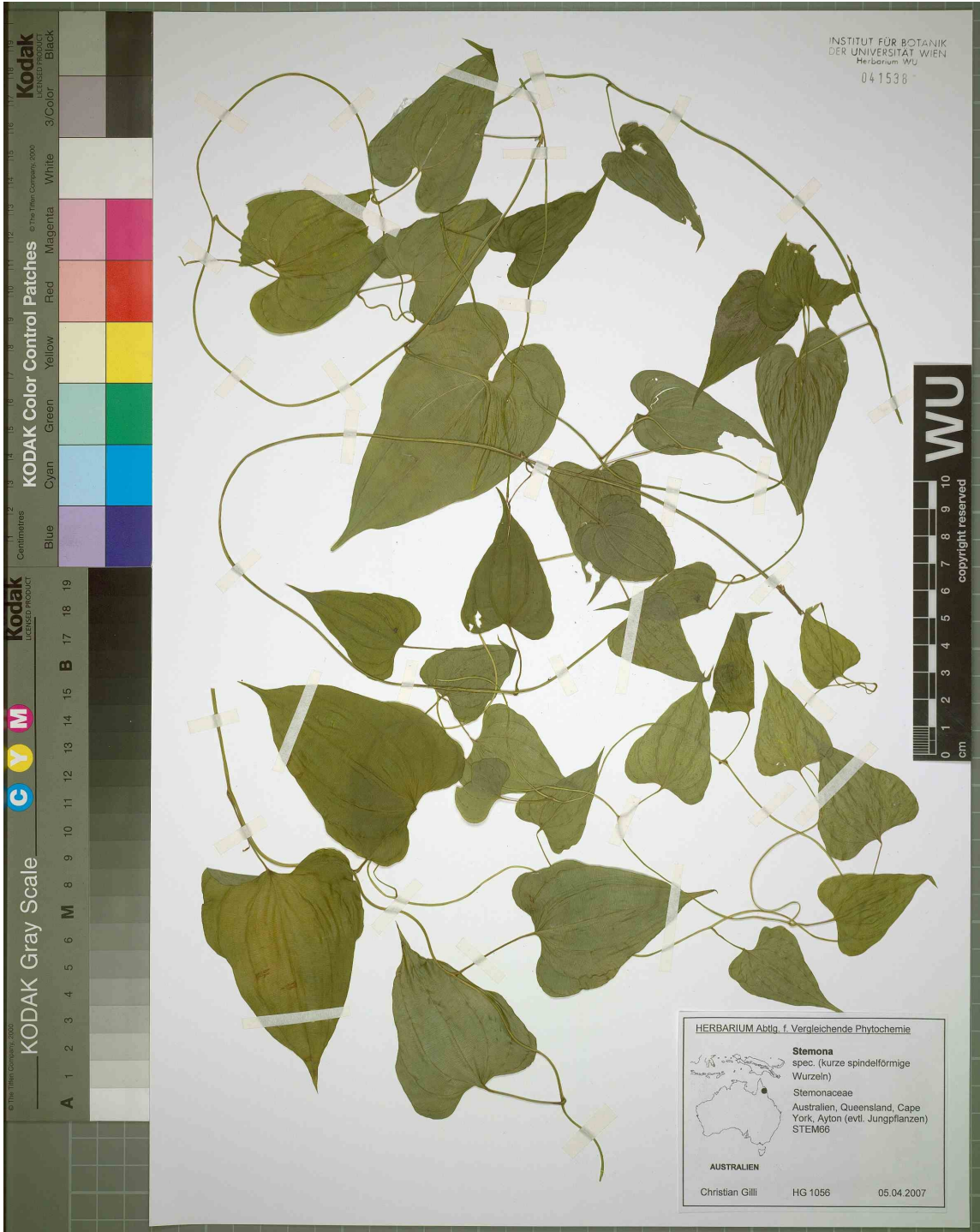
Stemona involuta (HG 896)



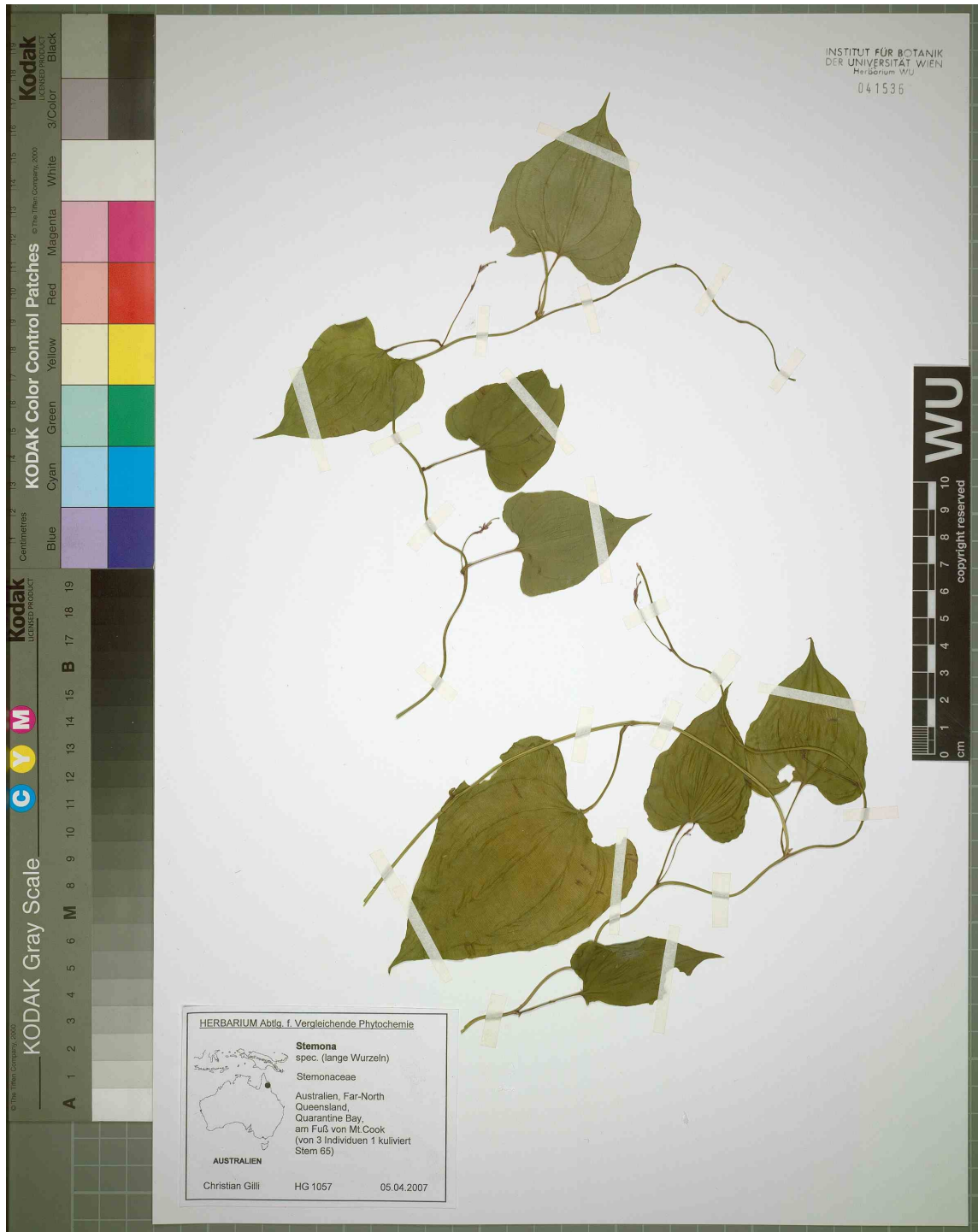
Stemona involuta (HG 913)



Stemona involuta (HG 943)



Stemona lucida (HG 1056)



Stemona lucida (HG 1057)

10.3. Literaturverzeichnis

ADAMS, M., PACHER, T., GREGER, H., BAUER, R., **2005**: Inhibition of Leukotriene Biosynthesis by Stilbenoids from *Stemona* Species, *J. Nat. Prod.* 68, 83-85.

AIRY SHAW, H.K., **1973**: A dictionary of the flowering plants and ferns, 8th Ed., Cambridge University Press, Stemonaceae, 1099, Crooniaceae, 306.

ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP (APG), **1998**: An ordinal classification for the families of flowering plants, *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85, 531-553.

AYENSU, E.S., **1968**: Comparative Vegetative Anatomy of the Stemonaceae (Roxburghiaceae), *Bot. Gaz.* 129, 160-165.

BAAS, P., **1982**: The Plant Diversity of Malesia, Proceedings of the Flora Malesiana Symposium Commemorating Prof Dr C. G. G. J. Van Steenis, *Blumea* 28, 159.

BOKORNY, TH., **1882**: Über die durchsichtigen Punkte in den Blättern, *Flora Germ.* 65, 346-349.

BOUMAN, F., DEVENTE, N., **1992**: A comparison of the structure of ovules and seeds in *Stemona* (Stemonaceae) and *Pentastemona* (Pentastemonaceae), *Blumea* 36, 501-514.

BREM, B., **2002**: Verbreitung und insektizide Wirkung charakteristischer Inhaltsstoffe aus tropischen *Aglaia* und *Stemona* Arten, Dissertation, Universität Wien.

BREM, B., SEGER, C., PACHER, T., HARTL, M., HADACEK F., HOFER O., VAJRODAYA, S., GREGER, H., **2004**: Antioxidant Dehydrotocopherols as a new chemical character of *Stemona* species, *Phytochemistry* 65, 2719-2729.

BREM, B., SEGER, C., PACHER, T., HOFER, O., VAJRODAYA, S., GREGER, H., **2002**: Feeding deterrence and contact toxicity of *Stemona* alkaloids – A source of potent natural insecticides, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 6383-6388.

BURKILL, I.H., **1969**: The ornography and evolution of Dioscoreaceae, the family of yams, *Bot. J. Linn. Soc.* 56, 501-514.

CADDICK, L.R., RUDALL, P.J., WILKIN, P., **2000**: Floral morphology and development in Dioscoreales, *Feddes Repertorium - Journal of Botanical Taxonomy & Geobotany* 111, 189-230.

CADDICK, L.R., RUDALL, P.J., WILKIN, P., HEDDERSON, T.A.J., CHASE, M.W., **2002**: Phylogenetics of Dioscoreales based on combined analyses of morphological and molecular data, *Bot. J. Linn. Soc.* 138, 123-144.

CHAIYONG, S., JATISATIENR, A., MUNGKORNASAWAKUL, P., SASTRARUJI, T., PYNE, S.G., UNG, A.T., URATHAMAKUL, T., LIE, W., **2010**: Phytochemical Investigations of *Stemona curtisii* and Synthetic Studies on stemocurtisine Alkaloids, *J. Nat. Prod.* 73, 1833-1838.

CHASE, M.W., **2004**: Monocot Relationships: An Overview, *Am. J. Bot.* 91, 1645-1655.

CHASE, M.W., STEVENSON, D.W., WILKIN, P., RUDALL, P.J., **1995**: Monocot systematics: a combined analysis, In: RUDALL, P.J., CRIBB, P.J. CUTLER, D.F., HUMPHRIES C.J.: *Monocotyledons: Systematics and Evolution*, Royal Botanic Gardens, Kew, London, 685-730.

CHUNG, H.S., HON, P.M., LIN, G., BUT, P.P.H., DONG, H., **2003**: Antitussive activity of *Stemona* alkaloids, *Planta med.* 69, 914-920.

COXON, D. T., **1982**: Phytoalexins from other families, In: BAILEY, J.A., MANSFIELD, J.W.: Phytoalexins, John Wiley, New York, 106-132.

DAHLGREN, R.M.T., CLIFFORD, H.T., YEO, P.F., **1985**: The Families of the Monocotyledons, Springer Verlag, Berlin, pp. 45-77, 81-93, 110-123.

DUYFJES, B.E.E., **1991**: Stemonaceae and Pentastemonaceae; with miscellaneous notes on members of both families, *Blumea* 36, 239-252.

DUYFJES, B.E.E., **1993**: Stemonaceae, Flora malesiana, Ser. I, 11, 399-409.

ENGLER, A., PRANTL, K., **1930**: Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigsten Arten, insbesondere den Nutzpflanzen, 2. Auflage, Band 15A, Verlag von Wilhelm Engelmann Verlag, Leipzig, 224-227.

FAN, G., CHANGQIANG, K., WEI, T., XINZHOU, Y., CHUNPING, T., GUOWEI, Q., RENSHENG, X., TIANXIAN, L., XINWEN, C., JIANPING, Z., YANG, Y., **2007**: Isolation of chlorogenic Acids and their Derivatives from *Stemona japonica* by Preparative HPLC and Evaluation of their Anti-AIV (H5N1) Activity *in vitro*, *Pytochem. Anal.* 18, 213-218.

FRITZEMEIER, H.K., KINDL, H. **1983**: 9,10-Dihydrophenanthrenes as phytoalexins of Orchidaceae, *European Journal of Biochemistry* 133, 545-550.

FRITZEMEIER, H.K., KINDL, H., SCHLÖSSER, E. **1984**: Two different pathways leading to phenanthrenes and 9,10-dihydrophenanthrenes of the genus *Dioscorea*, *Zeitschrift für Naturforschung* 39c, 217-221.

FRYKHOLM, K.O., **1945**: Bacteriological Studies of Pinosylvine, its Monomethyl and Dimethyl Ethers, and Toxicologic Studies of Pinosylvine, *Nature* 155, 454-455.

FURNESS, C.A., RUDALL, P.J., **1999**: Microsporogenesis in monocotyledons, *Ann. Bot.* 84, 475-499.

GÄUMANN, E., **1964**: Induction of antibody-like agents in orchids, *Phytopathologische Zeitschrift* 49, 211-32.

GEHLERT, R., SCHÖPPNER, A., KINDL, H., **1990**: Stilbene synthase from seedlings of *Pinus sylvestris*: purification and induction in response to fungal infection, *Molecular Plant-Microbe Interactions* 3, 444-449.

GEHLERT, R., KINDL, H., **1991**: Induced formation of dihydrophenanthrenes and bibenzyl synthase upon destruction of orchid mycorrhiza, *Phytochemistry* 30, 457-460.

GÖTZ, M., BOEGRI, T., GRAY, A. H., STRUNZ, G.M., **1968**: Structure of tuberostemonine, *Tetrahedron Lett.* 24, 2631-2643.

GORHAM, J., **1995**: The Biochemistry of the Stilbenoids, The Biochemistry of Natural products Series I, Chapman & Hall, London.

GOVINDARAJALU, E., RAJASEKARAN, K., **1972**: Further Contribution to the Anatomy of the Stemonaceae (Roxburghiaceae) *Stemona tuberosa* LOUR., Proceedings: Plant Science 75, 215-220.

GRAHAM, S.W., BARRETT, S.C.H., **1995**: Phylogenetic Systematics of Pontederiales: Implications for Breeding-System Evolution, In: RUDALL, P.J., CRIBB, P.J., CUTLER, D.F., HUMPHRIES, C.J.: Monocotyledons: Systematics and Evolution, Royal Botanic Gardens, Kew, London, 415-441.

GREGER, H., **2005**: Structural Relationship, Distribution and Biological Activities of *Stemona* Alkaloids, Review, *Planta Med.* 72, 99-13.

GREGER, H., SCHINNERL, J., VAJRODAYA, S., BRECKER, L., HOFER, O., **2009**: Pandanus alkaloids in Stemonaceae: Finding of a plausible biogenetic origin of *Stemona* alkaloids, *J. Nat. Prod.* 72, 1708-1711.

GRÜTTER, C., **2006**: Diastereoselektive Synthese von α -Tocopherolen durch eine neue enzym-ähnliche Chromanol-Zyklisierung, Dissertation, Universität Basel.

GULLIVER, G., **1865**: Observations on Raphides and other Crystals in Plants, *The Annals and Magazine of Natural History* 3, 456.

HAM, R.W.J.M., **1991**: Pollen morphology of the Stemonaceae, *Blumea* 36, 127-159.

HÄNSEL, R., STICHER, O., **2007**: Pharmakognosie und Phytopharmazie, 8. Auflage, Springer Verlag, 1318-1322.

HARADA, H., IRIE, H., MASAKI, N., OSAKI, K., UYEO, S., **1967**: Stereochemistry and absolute configuration of stenine and tuberostemine, *J. Chem. Soc. D, Chemical communications*, 460-462.

HARBORNE, J.B., **2003**: Introduction to Ecological Biochemistry, 4th Ed., Elsevier Academic Press, London, 275-285.

HARTL, M., **2002**: Antifungale Stilbenoide der Gattung *Stemona*, unter besonderer Berücksichtigung der stressinduzierten Derivate, Diplomarbeit, Universität Wien.

HEGNAUER, R., **1962-1990**: Chemotaxonomie der Pflanzen, Band I – IX, Chemische Reihe, Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin.

HEGNAUER, R., **1992-1996**: Chemotaxonomie der Pflanzen, Band X, XIa und XIb, Chemische Reihe, Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin.

HESSE, O., **1899**: Über Rhabarberstoffe und damit Verwandte Körper, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 309, 32-75.

HOSOYA, T., YAMASAKI, F., NAKATA, A., RAHMAN, A., KUSUMAWATI, I., ZAINI, N.C., MORITA, H., **2011**: Inhibitors of Nitric Oxide Production from *Stemona javanica*, *Planta Med.* 77, 256-258.

HUTCHINSON, J., **1934**: The families of flowering plants, Vol.2, Monocotyledons, 2nd Ed., London: Macmillan, 792.

INTHACHUB, P., VAJRODAYA, S., DUYFJES B.E.E., **2008**: Taxonomic revision on the family Stemonaceae in Thailand, Thesis, Kasetsart University Bangkok.

INTHACHUB, P., VAJRODAYA, S., DUYFJES B.E.E., **2010**: Census of *Stemona* LOUR. (Stemonaceae) in Thailand, *Blumea* 55, 143-152.

IRIE, H., HARADA, H., OHNO, K., MIZUTANI, T., UYEO, S., **1970**: Structure of the alkaloid protostemonine, *J. Chem. Soc. D, Chemical Communications*, 268-269.

JI, Z.-H., DUYFJES, B.E.E., **2002**: Stemonaceae, In: Wu Cheng-yi, Raven PH, Flora of China 24, Missouri Botanical Garden Press, St.Louis, 70-72.

JIANG, R.-W., HON, P.-M., ZHOU, Y., CHAN, Y.-M., XU, Y.-T., XU, H.-X., GREGER, H., SHAW, P.-C., BUT, P.P.-H., **2006**: Alkaloids and Chemical Diversity of *Stemona tuberosa*, *J. Nat. Prod.* 69, 749-754.

KALTENEGGER, E., **2003**: Phytochemische Vergleiche charakteristischer *Stemona* Alkaloide und ihre insektizide Wirkung gegenüber *Spodoptera littoralis*, Diplomarbeit, Universität Wien.

KALTENEGGER, E., BREM, B., MEREITER, K., KALCHHAUSER, H., KÄHLIG, H., HOFER, O., VAJRODAYA, S., GREGER, H., **2003**: Insecticidal pyrido[1,2-a]azepine alkaloids and related derivatives from *Stemona* species, *Phytochemistry* 63, 803-816.

KONGKIATPAIBOON, S., SCHINNERL, J., FELSINGER, S., KEERATINIJAKAL, V., VAJRODAYA, S., GRITSANAPAN, W., BRECKER, L., GREGER, H., **2011**: Structural Relationships of *Stemona* Alkaloids: Assessment of Species-Specific Accumulation Trends for Exploiting Their Biological Activities, *J. Nat. Prod.* 74, 1931-1938.

KOSTECKI, K., ENGELMEIER, D., PACHER, T., HOFER, O., VAJRODAYA, S., GREGER, H., **2004**: Dihydrophenanthrenes and other antifungal stilbenoids from *Stemona* cf. *pierrei*, *Phytochemistry* 65, 99-106.

KRAUSE, K., **1930**: Stemonaceae. In: ENGLER, A., Die natürlichen Pflanzenfamilien, 2nd Ed., Vol. 15a, Leipzig, 224-227.

KROMP, K., **1944**: Über Natürliche Stilbene, Dissertation, Universität Wien.

KUBITZKI, K., **1998**: Stemonaceae: The families and Genera of Vascular Plants, Vol. III Flowering Plants, Monocotyledons, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 422-425.

LACHNER-SANDOVAL, V., **1892**: Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Roxburghia*, *Bot. Centralbl.* 50, 65-70, 97-104, 129-135.

LIN, L.-G., YANG, X.-Z., TANG, C.-P., KE, C.-Q., ZHANG, J.-B., YE, Y., **2007**: Antibacterial stilbenoids from the roots of *Stemona tuberosa*, *Phytochemistry* 69, 457-463.

LINDSTEDT, G., MISIORNY, A., **1952**: Constituents of pine heartwood. XXX. A method for the estimation of pinosylvin phenols in pine heartwood, *Svensk Papperstidning* 55, 602-604.

LOBSTEIN, J.F., GRUMBACH, I., **1932**: Etude Botanique chimique et pharmacodynamique de la racine de *Stemona tuberosa* drogue vermifuge sino-anamite, *Bull. sci. pharmacol.* 39, 26.

MAHESH, V.B., SESHADRI, T.R., **1954**: Chemical components of commercial woods and related plant materials: Part 2 – The heartwood of *Pinus excelsior* Wall, *Journal of Scientific and Industrial Research* 13, 835.

MANSON, D.W., **1969**: The leucoanthocyanidin from Black Spruce inner bark, *TAPPI* 43, 59-64.

MONTRY, N., **2005**: Biotechnological approaches to the biologically active compounds of the Thai medicinal plants *Stemona tuberosa* Lour. and *Stemona curtisii* Hook f. (Stemonaceae), Dissertation, Universität Wien.

MUNNÉ-BOSCH, S., ALEGRE, L., **2002**: The function of tocopherols and tocotrienols in plants, *Critical Reviews in Plant Science* 21, 31-57.

MUNNÉ-BOSCH, S., FALK, J., **2004**: New insights into the function of tocopherols in plants, *Planta* 218, 323-326.

MÜLLER, K.O., BÖRGER, H., **1940**: Experimentelle Untersuchungen über die Phytophthora-Resistenz der Kartoffel, *Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem* 23, 189-231.

NAKAI, T., **1973**: *Croomia kiusiuna* Makino. *Iconographica Plantarum Asiae Orientalis* 2, 159-160.

PACHER, T., SEGER, C., ENGELMEIER, D., VAJRODAYA, S., HOFER, O., GREGER, H., **2002**: Antifungal stilbenoids from *Stemona collinsae*, *J. Nat. Prod.* 65, 820-827.

PACHER, T., **2005**: Phytochemical analysis within two tropical plant genera, Dissertation, Universität Wien.

PILLI, R.A., FERREIRA DE OLIVEIRA, M.C., **2000**: Recent progress in the chemistry of the *Stemona* alkaloids, *Nat. Prod. Rep.* 17, 117-127.

PURKAYASTHA, R.P., **1995**: Progress in Phytoalexin research during the past 50 years. In: Handbook of Phytoalexin metabolism and action, 2nd Ed., Dekker, New York, 1-39.

QUI, Y.L., LEE, J., BERNASCONI-QUADRONI, F., SOLTIS, D.E., SOLTIS P.S., ZANIS, M., ZIMMER E.A., CHEN Z., SAVOLEINEN V., CHASE, M., **1999**: The earliest angiosperms, evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes, *Nature* 402, 404-407.

ROGERS, G.K., **1982**: The Stemonaceae in the southeastern United States, *J. Arnold Arbor.* 63, 327-336.

RUDALL, P.J., BATEMAN R.M., **2006**: Morphological Phylogenetic Analysis of Pandanales: Testing Contrasting Hypothesis of Floral Evolution, *Systematic Botany* 31, 223-238.

RUDALL, P.J., CUNNIFF, J., WILKIN, P., CADDICK, L.R., **2005**: Evolution of dimery, pentamery and the monocarpellary condition in the monocot family Stemonaceae (Pandanales), *Taxon* 45, 701-711.

SAKATA, K., AOKI, K., CHANG, C.F., SAKURAI, A., TAMURA, S., MURAKOSHI, S., **1978**: Stemospironine, a new insecticidal alkaloid of *Stemona japonica* Miq., isolation structural determination and activity, *Agricultural and Biological Chemistry* 42, 457-463.

SASTRARUJI, T., CHAIYONG, S., JATISATIENR, A., PYNE, S.G., UNG, A.T., LIE, W., **2011**: Phytochemical studies on *Stemona aphylla*: Isolation of a new Stemofoline Alkaloid and six new Stemofurans, *J. Nat. Prod.* 74, 60-64.

SCHILD, H., **1936**: Über ein Alkaloid der *Stemona sessilifolia*, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 69, 74-80.

SCHIMPL, A., **1965**: Zur Biosynthese der Pflanzlichen Stilbene, Dissertation, Universität Wien.

SCHINNERL, J., KALTENEGGER, E., PACHER, T., VAJRODAYA, S., HOFER, O., GREGER, H., **2005**: New pyrrolo[1,2- α]azepine type alkaloids from *Stemona* and *Stichoneuron* (Stemonaceae), *Monatshefte für Chemie* 136, 1671-1680.

SCHINNERL, J., **2006**: Verbreitung und Variation charakteristischer Alkaloidprofile in der Gattung *Stemona* und ihre chemosystematische Bedeutung, Diplomarbeit, Universität Wien.

SCHINNERL, J., BREM, B., BUT, P.P.-H., VAJRODAYA, S., HOFER, O., GREGER, H., **2007**: Pyrrolo- and pyridoazepine alkaloids as chemical markers in *Stemona* species, *Phytochemistry* 68, 1417-1427.

SEGER, C., MEREITER, K., KALTENEGGER, E., PACHER, T., GREGER, H., HOFER, O., **2004**: Two pyrrolo[1,2- α]azepine type alkaloids from *Stemona collinsae* Craib, structure elucidation, relationship to asparagamine A, and a new biogenetic concept of their formation, *Chemistry and Biodiversity* 1, 265-279.

SEKINE, T., FUKASAWA, N., MURAKOSHI, I., RUANGRUNGSI, N., **1997**: A 9,10-dihydrophenanthrene from *Asparagus racemosus*, *Phytochemistry* 44, 763-764.

STEVENSON, D.W., DAVIS, J.I., FREUDENSTEIN, J.V., HARDY, C.R., SIMMONS, M.P., SPECHT, C.D., **2000**: A Phylogenetic Analysis of the Monocotyledons based on morphological and molecular Character sets, with comments on the placement of Acorus and Hydatellaceae, *Monocots II*, pp. 17-23, 91, 161, 202-205.

SWAMY, B.G.L., **1964**: Observations on the floral morphology and embryology of *Stemona tuberosa* Lour., *Phytomorphology*, 14, 458-468.

TELFORD, I.R.H., **1986**: Stemonaceae, *Flora of Australia* 46, 177-180.

VAN DER HAM, R.W.J.M., **1991**: Pollen Morphology of the Stemonaceae, *Blumea* 36, 127-159.

VAN HEEL, W. A., **1992**: Floral morphology of Stemonaceae and Pentastemonaceae, *Blumea* 36, 481-499.

VAN STEENIS, C.G.G.J., **1982**: Pentastemona, a new 5- merous genus of monocotyledons from North – Sumatra (Stemonaceae), *Blumea* 28, 151-163.

WATSON, L., DALLWITZ, M.J., **1992**: The families of angiosperms: Automated descriptions, with interactive identification and information retrieval, *Australian Systematic Botany* 4, 681-695.

WHETSTONE, R.D., **2002**: Stemonaceae Engler, *Flora of North America* 26, 466-467.

XIAO, K., ZHANG, H.-J., XUAN, L.-J., ZHANG, J., XU, Y.-M., BAI D.L., **2008**: Stilbenoids: Chemistry and Bioactivity, *Studies in Natural Products Chemistry* 34, 453-646.

YANG, X.-Z., TANG, C.-P., YE, Y., **2006**: Stilbenoids from *Stemona japonica*, *Journal of Asian Natural Products Research* 8, 47-53.

YANG, X.-Z., TANG, C.-P., KE, C.-Q., YE, Y., **2007**: Stilbenoids from *Stemona sessilifolia*, *Journal of Asian Natural Products Research* 9, 261-266.

YANG, X.-Z., ZHU, J.-Y., TANG, C.-P., KE, C.-Q., LIN, G., CHENG, T.-Y., RUDD, J.A., Ye, Y., **2008**: Alkaloids from Roots of *Stemona sessilifolia* and their Antitussive Activities, *Journal of Natural Products Chemistry* 75, 174-177.

ZHANG, T., ZHANG, Y.-Z., TAO, J.-S., **2007**: Antibacterial constitutions from *Stemona sessilifolia*, *Journal of Asian Natural Products Research* 9, 479-485.

ZHANG, Y.-Z., XU, G.-B., ZHANG, T., **2008**: Antifungal stilbenoids from *Stemona japonica*, *Journal of Asian Natural Products Research* 10, 643-639.

ZHAO, W., QIN, G., YE, Y., XU, R., LE, X., **1994**: Bibenzyls from *Stemona tuberosa*, *Phytochemistry* 38, 711-713.

LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE DATEN

Name	Andrea Zraunig
Geburtsdatum	12.08.82
Geburtsort	Feldkirch
Familienstand	ledig
email	andreazraunig@hotmail.com

AUSBILDUNG

10.2008 - dato	Diplomarbeit Abt. für Vergleichende Phytochemie Isolierung und Identifizierung charakteristischer <i>Stemona</i> Stilbenoide aus <i>S. involuta</i> und <i>S. lucida</i>
10.2001 - 09.2008	Universität Wien, Diplomstudium Biologie, Studienzweig: Ökologie, Wahlfach: Physiologie & Biochemische Ökologie
09.1996 - 06.2001	Bundesoberstufenrealgymnasium Feldkirch
09.1992 - 07.1996	Hauptschule Tisis
09.1988 - 07.1992	Volksschule Tosters

PRAKTISCHE ERFAHRUNGEN

Jänner/ Februar 2011	Forschungsreise nach Äthiopien in Kooperation mit Dr. Ensermo Kelbessa der <i>Addis Ababa University</i>
01.2010 – 12.2010	Projektmitarbeiter Universität Wien, <i>Chemodiversity Research Group</i> : FFG – Projekt „Wirkprofil pflanzlicher Naturstoffe bei pathogenen Protozoen und Pilzen“
Februar/ März 2009	Teilnahme an einem Forschungspraktikum auf der Tropenstation <i>La Gamba</i> in Costa Rica
Februar/ März 2006	Exkursion und Phytochemisches Praktikum in Thailand in Zusammenarbeit mit Dr. Srunya Vajrodaya der <i>Kasetsart University Bangkok</i>

