

SCHLUSSBERICHT

zum Forschungsvorhaben

Schaffung von Ausgangsmaterial für die Erweiterung der
Arzneimittelpflanzenproduktion in Sachsen- Anhalt

Teilprojekt 1:

Schaffung und Untersuchung von Ausgangsmaterial für
die Selektion von Rhaponticinrhabarber und Erarbeitung
landwirtschaftlicher Anbauverfahren

Förderkennzeichen: 03i0613A

Bearbeitungszeitraum: 01.10.2001 – 30.09.2004

Projektverantwortlicher: Prof. Dr. Ingo Schellenberg

Wissenschaftlicher Bearbeiter: Dr. Gerhard Schnüber

Professor Hellriegel Institut
Bernburg
Strenzfelder Allee 28
06406 Bernburg

Bernburg, den 29.04.05

Registrier- Nr.:

Inhaltsverzeichnis

1. Zielstellung des Vorhaben
2. Voraussetzungen unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde
3. Planung und Ablauf der Arbeiten
4. Wissenschaftlicher Stand, an den angeknüpft wurde
5. Verfahren und Schutzrechte, an die angeknüpft wurde
6. Versuchsdurchführung
 - 6.1 Anlage der Feldversuche
 - 6.2 Inhaltstoffliche und technologische Untersuchungen
7. Ergebnisse
 - 7.1 Wissenschaftliche Grundlagen
 - 7.1.1 Rhaponticinhaltige Arten in der Gattung Rheum
 - 7.1.2 Rheum rhaponticum
 - 7.1.3 Inhaltsstoffe von Rheum rhaponticum
 - 7.1.4 Stilbenderivate in Rheum rhaponticum
 - 7.1.5 Aufbau der Stilbenderivate
 - 7.1.6 Rhaponticin
 - 7.1.7 Desoxyrhaponticin
 - 7.1.8 Rhapontigenin und Desoxyrhapontigenin
 - 7.1.9 Dioxyrhaponticin
 - 7.1.10 Rhaponticin als Phytotherapeutikum insbesondere zur Behandlung klimakterischer Beschwerden
 - 7.2. Anbau von Rhabarber
 - 7.2.1 Pflanzgutgewinnung
 - 7.2.1.1 Wurzelstücke
 - 7.2.1.2 Herstellung von Pflanzgut durch Mikrovermehrung
 - 7.2.2 Pflanzung von Rhabarber
 - 7.2.2.1 Wurzelpflanzung
 - 7.2.2.2 Pflanzung von mikrovermehrten Pflanzen
 - 7.2.3 Landwirtschaftliche Bearbeitung der Rhabarberbestände
 - 7.2.3.1 Mechanische Bearbeitung
 - 7.2.3.2 Pflanzenschutz
 - 7.2.3.3 Pflanzenkrankheiten und Schädlinge
 - 7.2.3.4 Wurzelernte und Weiterverarbeitung
 - 7.3 Arbeiten zur Mikrovermehrung von Rhabarberpflanzen
 - 7.4 Entwicklung von Methoden zur Raponticinbestimmung
 - 7.4.1 Zugrunde gelegte Kenntnisse zur Extraktion von Rhaponticin
 - 7.4.2 Ausgangsmethoden
 - 7.4.3 Optimierung der verschiedenen Parameter bei der Ultraschallextraktion
 - 7.4.3.1 Untersuchungen zur Eignung verschiedener Lösungsmittel
 - 7.4.3.2 Methodenpräzision der optimierten Extraktionsmethode unter Wiederholbedingungen
 - 7.5 Erarbeitung einer CE - Methode zur Trennung und quantitativen Bestimmung von Rhaponticin
 - 7.5.1 Trennung von Stilbenderivaten durch CE
 - 7.5.2 Optimierung der Einflussfaktoren mit der Kapillarelektrophorese
 - 7.5.3 Ermittlung eines geeigneten pH - Wertes

- 7.5.4 Ermittlung einer geeigneten Pufferkonzentration
- 7.5.5 Präzision der Kapillarelektrophorese
- 7.5.6 Einfluss der Injektion
- 7.5.7 Zusammenfassung der einzelnen Methodenparameter

- 7.6 Erarbeitung einer HPLC - Methode zur Trennung und quantitativen Bestimmung von Rhaponticin
- 7.6.1 Zugrunde gelegte Kenntnisse zur Trennung von Stilbenderivaten durch HPLC
- 7.6.2 Chromatographische Bedingungen
- 7.6.3 Parameter der Kalibrierung
- 7.6.4 Untersuchungen zur Probennahme
- 7.6.5 Rhaponticingehalte der untersuchten Wurzelteile
- 7.6.6 Kostenkalkulation für den Anbau von Rhabarber

- 7.7 Untersuchungen der Rhaponticingehalte
- 7.7.1 Rhaponticingehalte bei unterschiedlicher N- Düngung
- 7.7.2 Selektion der Rhaponticingehalte zum Auffinden von Pflanzen mit hohen Konzentrationen an Rhaponticin
- 7.7.3 Rhaponticingehalte im Laufe der Vegetationsperiode
- 7.7.4 Einfluss der Lagerung auf die Rhaponticingehalte
- 7.7.5 Untersuchungen zur vereinfachten Auslese auf rhaponticinhaltige Pflanzen

- 8. Zusammenfassung

- 9. Anbauverfahren Rhabarber, Rheum sp.

- 10. Literaturverzeichnis

Abkürzungen und Begriffserklärungen

A	Aceton
AG	Arbeitsgruppe
CE	capillary electrophoresis (Kapillarelektrophorese)
CZE	capillary zone electrophoresis (Kapillarzonenelektrophorese)
DAD	Dioden - Array - Detektor
DC	Dünnschichtchromatographie
EOF	Elektroosmotischer Fluss
EtOH	Ethanol
FSH	follikelstimulierendes Hormon
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
HS Anhalt	Hochschule Anhalt (FH)
HW	Hauptwurzel
KAS	Düngemittel (Kalk-Ammon-Salpeter)
LH	luteinisierendes Hormon
MeOH	Methanol
MEKC	Micellare Elektrokinetische Chromatographie
MS	Massenspektrometrie
MW	Mittelwert
N	Stickstoff
n	Anzahl
NW	Nebenwurzel
P	Phosphor

p. a.	pro analysi (= für analytische Zwecke)
RP	Reversed Phase (Umkehrphase)
RP-18	Umkehrphase mit C-18 - Kohlenwasserstoffkette
RT	Retentionszeit
SIOH	Silanolgruppen
SIO ⁻	negativ geladene Silanolgruppen
STABW	Standardabweichung
TS	Trockensubstanz
UV-Bereich	Ultraviolette Strahlung als Teil des elektromagnetischen Spektrums
VIS-Bereich	der für das menschliche Auge sichtbare Bereich des elektromagnetischen Spektrums
V _K	Variationskoeffizient
WFR	Wiederfindungsrate
SF	Selektionsfeld
G	Genotyp

1. Zielstellung

Ziel des Forschungsvorhabens war es, aus dem Genfond des Professor Hellriegel Institutes Bernburg Rhabarberpflanzen mit hohen Rhaponticingehalten zu selektieren und für deren Produktion Mikrovermehrungsverfahren zu entwickeln. Dazu war es notwendig, für die Selektion von rhaponticinreichen Pflanzen aus den Rhabarberarten *Rheum rhaponticum* L. und *Rheum undulatum* Samen zu gewinnen, auszusäen und nach 2 Jahren Wachstum dieser ausgesäten Pflanzen die Wurzeln auf die Rhaponticingehalte zu untersuchen.

Die Gewinnung von Rhaponticin dient der Herstellung eines pharmazeutischen Präparates. Die Produktion der Rohstoffe dafür soll in der Region Nordharz- Börde erfolgen.

Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurde die Grundlage für die landwirtschaftliche und industrielle Produktion und die Herstellung von ausreichend rhaponticinreichen Pflanzen erarbeitet. Dafür mussten folgende Teilaufgaben bearbeitet werden:

- Erzeugung von Sämlingen, um die genetische Variabilität des Rhabarbers bei der Aussaat zur Auslese neuer rhaponticinreicher Herkünfte auszunutzen.
- Untersuchung neuer Genotypen, deren Rhaponticingehalte noch nicht bekannt sind.
- Entwicklung von Möglichkeiten für eine schnelle Einführung neuer rhaponticinreicher Rhabarbergenotypen durch genotypspezifische Mikrovermehrungsmethoden.
- Versuche zur Entwicklung von Methoden zur Identifizierung und Quantifizierung von Rhaponticin, die schon im Jungpflanzenstadium eine Einschätzung der Gehalte ermöglichen.
- Anbau rhaponticinreicher Genotypen aus dem verfügbaren Rhabarbersortiment der HS- Anhalt und Untersuchung ihrer ackerbaulichen Eignung.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Mit dem Zuwendungsbescheid vom 25.09.2001 konnte das Verbundvorhaben

„Schaffung von Ausgangsmaterial für die Erweiterung der Arzneimittelpflanzenproduktion in Sachsen-Anhalt“

Teilthema: „Schaffung und Untersuchung von Ausgangsmaterial für die Selektion von Rhaponticinrhabarber und Erarbeitung landwirtschaftlicher Anbauverfahren“

mit dem Förderkennzeichen 03i0613A am 01.10.2001 begonnen werden.

Die Höhe der Zuwendung für das Professor- Hellriegel- Institut Bernburg e.V. betrug 854.527,00 DM (nach Ergänzung vom 19.12.2003 436.912,72 Euro) für den Bewilligungszeitraum: 01.10.2001 bis 30.09.2004

Mit dem Verbundpartner TINPLANT- Pflanzenvermehrungs GmbH Klein Wanzleben wurde für den Bearbeitungszeitraum ein Kooperationsvertrag geschlossen.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Professor- Hellriegel- Institut war Koordinator des Vorhabens

„Schaffung von Ausgangsmaterial für die Erweiterung der Arzneimittelpflanzenproduktion in Sachsen- Anhalt“

und bearbeitete das Teilvorhaben

„Schaffung und Untersuchung von Ausgangsmaterial für die Selektion von Rhaponticinrhabarber und Erarbeitung landwirtschaftlicher Anbauverfahren“.

Die TINPLANT- GmbH bearbeitete Fragen der Erarbeitung genotypspezifischer Mikrovermehrungen mit dem Forschungsthema

„Entwicklung von Verfahren zur Mikrovermehrung rhaponticinhaltiger Genotypen von Rheum rhaponticum“

Vierteljährlich und bei Bedarf erfolgten wechselseitig Beratungen der Kooperationspartner zum Informationsaustausch über den Stand der Erkenntnisse.

4. Wissenschaftlicher Stand, an den angeknüpft wurde

Die in den Wurzeln einiger Rhabarberarten enthaltene Stilbenverbindung Rhaponticin ist östrogen wirksam. Sie kann im Gegensatz zu synthetischen Östrogenen in Kläranlagen abgebaut werden. Damit kann es nicht, wie von den synthetischen Hormonen bekannt, zu einer Belastung des Grundwassers mit Östrogenen kommen.

Das Interesse an abbaubaren Hormonpräparaten nimmt in der letzten Zeit zu. Neben dem Nachweis synthetischer Hormone im Grundwasser einiger Regionen wurden in den letzten Jahren auch gravierende Einflüsse auf die Umwelt beschrieben (z. B. Verweiblichung männlicher Fische), die auf eine Anwesenheit von Hormonen in den Gewässern zurückgeführt werden. Ebenso sind die Wirkungen synthetischer Oestrogene in den letzten Jahren in die Kritik geraten.

Bekanntlich sind die biologischen Wirkungen der pflanzlichen Stilbene denen des natürlichen Follikelhormons sehr ähnlich [CASSIDY, 2000; SIEGFRIED, 1943].

Es werden folgende Indikationsgebiete angegeben:

- Klimakterische Beschwerden
- Dysmenorrhoe und hypoplastischer Uterus
- Amenorrhoe