

UNIVERSITÄT  
BAYREUTH

# Naturstoffe aus Färbe- und Heilpflanzen

DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES

DER FAKULTÄT FÜR

BIOLOGIE, CHEMIE UND GEOWISSENSCHAFTEN

DER UNIVERSITÄT BAYREUTH

VORGELEGT VON

KATJA DOCKENDORFF

GEBOREN IN MÜLHEIM A.D. RUHR

BAYREUTH 2003

Die experimentelle Arbeit der vorliegenden Dissertation wurde in der Zeit von September 1999 bis Februar 2003 am Lehrstuhl für Organische Chemie der Universität Bayreuth unter Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Seifert angefertigt.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b>	<b>6</b>
<b>2 Allgemeiner Teil</b>	<b>9</b>
2.1 Untersuchte Naturstoffe . . . . .	9
2.1.1 Farbstoffe . . . . .	9
2.1.2 Flavonoide . . . . .	11
2.1.3 Iridoide . . . . .	15
2.1.4 Triterpensaponine . . . . .	16
2.1.5 Harzglycoside . . . . .	19
2.2 Methoden der Strukturbestimmung . . . . .	21
2.2.1 Kernspinresonanz (NMR) . . . . .	22
2.2.2 Massenspektrometrie . . . . .	24
2.2.3 UV-Spektroskopie und Circular dichroismus . . . . .	25
<b>3 Isolierung und Strukturermittlung</b>	<b>28</b>
3.1 Färbepflanzen . . . . .	28
3.1.1 Fraktionierung . . . . .	28
3.1.2 <i>Impatiens balsamina</i> . . . . .	29

3.1.3	<i>Filipendula ulmaria</i>	33
3.1.4	<i>Alkanna tinctoria</i>	36
3.1.5	<i>Tagetes erecta</i>	42
3.2	Heilpflanzen	49
3.2.1	<i>Fagerlindia depauperata</i>	49
3.2.2	<i>Atriplex semibaccata</i>	57
3.2.3	<i>Ononis vaginalis</i>	65
3.2.4	<i>Ipomoea operculata</i>	77
<b>4</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>86</b>
4.1	Allgemeines	86
4.1.1	Spektroskopische Methoden	86
4.1.2	Chromatographie	87
4.2	Extraktion des Pflanzenmaterials und Isolierung der Verbindungen	
	<b>1-24</b>	91
4.2.1	<i>Impatiens balsamina</i>	91
4.2.2	<i>Filipendula ulmaria</i>	91
4.2.3	<i>Alkanna tinctoria</i>	92
4.2.4	<i>Tagetes erecta</i>	92
4.2.5	<i>Fagerlindia depauperata</i>	93
4.2.6	<i>Atriplex semibaccata</i>	93
4.2.7	<i>Ononis vaginalis</i>	94
4.2.8	<i>Ipomoea operculata</i>	94
4.3	Spektroskopische Daten der isolierten Verbindungen	95

<b>5 Zusammenfassung</b>	<b>98</b>
<b>6 Summary</b>	<b>102</b>
<b>7 Anhang</b>	<b>106</b>
7.1 Abbildungsverzeichnis . . . . .	108
7.2 Tabellenverzeichnis . . . . .	110
<b>8 Literaturverzeichnis</b>	<b>111</b>
<b>9 Dank</b>	<b>119</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Ac	Acetyl-
AcOH	Essigsäure
Ara	Arabinose/-syl
ax	axial
BuOH	Butanol
CD	Circular Dichroismus
cm	Zentimeter
COSY	Correlation Spectroscopy
DB	Doppelbindung
DC	Dünnschichtchromatographie
$\delta$	chemische Verschiebung
<i>d</i>	Dublett
<i>dd</i>	dupliziertes Dublett
EE	Essigsäureethylester
ED <sub>50</sub>	Effektive Dosis, die bei der Hälfte der Versuchspopulation eine definierte Wirkung zeigt
EI	Electron Impact, Elektronenstoß(-MS)
ESI	Electrospray Ionisation
eq	äquatorial
FAB	Fast Atom Bombardment
GC	Gaschromatographie
Gal	Galactose/-syl
Glc	Glucose/-syl
H	Hexan
Hex	Hexose
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
Hz	Hertz

---

J	Kopplungskonstante (in Hz)
<i>m</i>	Multiplett
mdeg	Millidegree
MHz	Megahertz
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
LC	Liquid Chromatography
MeOH	Methanol
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography
MS	Mass Spectroscopy
MSTFA	N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid
m/z	Verhältnis Masse/Elementarladung
nm	Nanometer
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
pDC	präparative DC
ppm	parts per million
PrOH	Propanol
<i>pt</i>	Pseudotriplett
$R_f$	Retentionsfaktor
Rha	Rhamnose/-syl
ROESY	Rotating Frame NOESY
RP	Reversed Phase
$R_t$	Retentionszeit
<i>s</i>	Singulett
SC	Säulenchromatographie
Si60	Kieselgel (Korngröße 60 $\mu\text{m}$ )
SPE	Solid Phase Extraction
<i>t</i>	Triplett
$\Theta$	Elliptizität
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
UV	Ultraviolett/-es Licht
Xyl	Xylose/-syl

# 1 Einleitung

Pflanzen waren von Anfang an nicht nur das wichtigste Nahrungsmittel der Menschen; schon früh bemerkte der Mensch, dass sich manche Pflanzen in ihren Inhaltsstoffen unterscheiden. Verschiedene, von Pflanzen produzierte Stoffe führten nicht nur dazu, dass bestimmte Arten als Lebensmittel besonders geeignet erschienen, während andere als giftig oder ungenießbar erkannt wurden. Schnell entdeckte der Mensch auch, dass einige Pflanzen Heilkräfte besaßen und Krankheiten lindern oder Heilungsprozesse positiv beeinflussen konnten. Der Beleg für den Einsatz von Pflanzen bereits zu Urzeiten findet sich in einer 60000 Jahre alten Grabstätte im Irak, in der die Überreste von acht verschiedenen Heilkräutern entdeckt wurden [1].

Aus den gesammelten Erfahrungen entstand im Laufe der Zeit die Volksmedizin. Aus den alten Hochkulturen, z. B. in Ägypten oder Indien, sind schriftliche Belege über den Einsatz von medizinischen Pflanzen bereits um 1500 v. Chr. entstanden. Nach und nach wurden die Heilpflanzen entmystifiziert und bestimmten therapeutischen Eigenschaften und Wirkungen zugeordnet. Der griechische Arzt Dioskerides verfasste bereits im 1. Jahrhundert a. D. die *Materia Medica*, das erste europäische Heilpflanzenbuch, das bis ins 17. Jahrhundert hinein als Standardwerk der Medizin galt. Auch heute noch gelten in der westlichen Welt über 1000 heimische Arten als Arzneipflanzen, während in der chinesischen *Pharmacopöe* über 5700 traditionelle Arzneien, davon der Großteil pflanzlichen Ursprungs, aufgelistet werden [2]. Auf diesem Wissen beruht auch das in den letzten Jahren wieder stark auflebende Interesse an der Kräutermedizin und Naturheilkunde. Die traditionelle Medizin ging allerdings dazu über, nicht die gesamte Droge, sondern den isolierten Wirkstoff zu betrachten [3]. Die Suche nach bioaktiven

---

Pflanzeninhaltsstoffen dient dabei nicht nur zur Erklärung und Standardisierung der Wirksamkeit, sondern auch als Lieferant von sogenannten Leitstrukturen und als Anregung zur Synthese von neuen Wirkstoffen.

Alle in dieser Arbeit untersuchten Heilpflanzen werden in der Volksmedizin eingesetzt. *Atriplex semibaccata* und *Ononis vaginalis* spielen eine große Rolle in der traditionellen Medizin Ägyptens [4], während *Fagerlindia depauperata* eine bisher nicht untersuchte Heilpflanze aus Vietnam ist. Bei *Ipomoea operculata* dagegen handelt es sich um eine Pflanze aus der Familie der Convolvulaceae (Windengewächse), die weltweit Verwendung findet als starkes Laxativum sowie als Mittel zur Blut- und Wundreinigung [5, 6].

Eine weitere frühzeitig angewandte Verwendung für Pflanzen, die mit der Entwicklung von Textilien einherging, ist das Färben von Kleidung und Kosmetika. Obwohl seit Jahrtausenden vom Menschen genutzt, sind die Naturfarbstoffe mit dem Aufkommen der synthetischen Farbstoffe fast gänzlich vom Markt verdrängt worden. Erst seit ca. 30 Jahren, mit dem beginnenden ökologischen Gedankengut und der Suche nach umweltverträglichen Rohstoffen, steigt das Interesse an natürlichen Farbstoffen im Textil- und Nahrungsmittelbereich wieder stark an [7]. Aufgrund des oft schwankenden Farbstoffgehaltes in den Pflanzen wird aber auch in diesem Bereich vermehrt versucht, die färbenden Verbindungen zu isolieren, um einen industriegerechten Standard für die einzelnen Naturfarben aufstellen zu können. Die Farbstoffe aller Pflanzen stammen im wesentlichen aus 5 Substanzklassen, welche ausführlich untersucht und charakterisiert worden sind. Viele farbige Naturstoffe sind daher in der Literatur beschrieben worden. Doch bei vielen bekannten Färbepflanzen sind die färbenden Inhaltsstoffe nur unzulänglich identifiziert und die Verteilung des Farbstoffes in der Pflanze wenig untersucht worden. Die in dieser Arbeit untersuchten Färbepflanzen *Alkanna tinctoria* und *Tagetes erecta* werden seit langem als solche genutzt. Garten-Springkraut (*Impatiens balsamina*) sowie Mädesüß (*Filipendula ulmaria*) sind dagegen bekannte Zierpflanzen, als Färbepflanzen aber weitgehend unbekannt. Sie wurden wegen ihres besonderen Farbtons auf Woll- und Seidenfasern ausgewählt. Im Rahmen des interdisziplinären Forschungs- und Entwicklungsprojektes "Färbepflanzen", an dem die Universität Bayreuth und die Fachhochschule Hof beteiligt waren, sollten

die Hauptkomponenten der oben genannten Färbepflanzen identifiziert und im Fall von *Tagetes erecta* bei verschiedenen Varietäten quantifiziert werden.

Außerdem bestand die Aufgabe dieser Arbeit darin, aus den oben beschriebenen Heilpflanzen bioaktive Naturstoffe zu isolieren und diese sowie die von Dr. K. H. Shaker aus *Atriplex semibaccata* und *Ononis vaginalis* erhaltenen Verbindungen mittels spektroskopischer Methoden zu charakterisieren.

## 2 Allgemeiner Teil

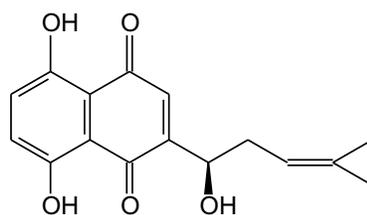
### 2.1 Untersuchte Naturstoffe

#### 2.1.1 Farbstoffe

Eine Verbindung erscheint farbig, wenn sie einen bestimmten Wellenlängenbereich aus dem sichtbaren Teil des Spektrums (im Bereich von 400 bis 800 nm) absorbiert. Dies ist bei organischen Strukturen mit konjugierten  $\pi$ -Bindungssystemen der Fall. Dabei gilt, dass das absorbierte Licht um so langwelliger ist, je stärker die  $\pi$ -Elektronen delokalisiert sind [37]. Einen Farbstoff nennt man eine farbige Verbindung aber erst dann, wenn er die Fähigkeit besitzt, andere Stoffe, wie z.B. Naturfasern, möglichst licht- und waschecht zu färben. Dies erfolgt meist, wenn in dem Molekül neben dem konjugierten Doppelbindungssystem Auxochrome (*auxesis*= Zunahme, *chroma*= Farbe) vorhanden sind, wie z.B. Amino-, Hydroxy- oder Methoxygruppen.

Zu den 5 Substanzklassen, aus denen die natürlich vorkommenden Pflanzenfarbstoffe stammen, zählen die Anthrachinone, Carotinoide, Flavonoide, 1,4-Naphthochinone und Verbindungen des Indigo-Typs. Dabei vertritt jede Klasse einen bestimmten Farbbereich. Selten ist nur eine Klasse in einer Pflanze vertreten, oft treten die Farbstoffe miteinander auf. Am wenigsten weit verbreitet sind dabei die Indigo-Verbindungen. Diese meist gelblichen Stoffe werden erst durch Oxidation zu den bekannten blauen Farbstoffen ("jeansblau"). Anthrachinone, eine ebenfalls eher seltene Klasse, weisen aufgrund ihres großen konjugierten  $\pi$ -Elektronensystems Rottöne auf und eignen sich wie die Indigofarbstoffe gut zum

Färben, da die Farben oft intensiv und stabil sind. Deutlich häufiger sind Farbstoffe der Naphthochinonklasse zu finden. Orangetöne von orangebraun bis hin zum gelblichen werden von Naphthochinonen geprägt. Ein bekannter Vertreter dieser Klasse ist das orange-gelbe Juglon, das nicht nur als Blütenfarbstoff auftritt, sondern auch z.B. in Walnussschalen enthalten ist. Auch Naphthochinone sind für Naturstoffe relativ stabil und eignen sich gut für die Färbung, da sie im allgemeinen gut an den Fasern haften bleiben. Ein besonderes Beispiel ist das Shikonin. Dieses Naphthochinon besitzt einen intensiven Rotton. Shikonin ist in Japan ein traditioneller Farbstoff und wird auch heute noch zur Färbung der japanischen Flagge verwendet. Ebenso findet es noch Einsatz in der Kosmetik als Lippenstiftfarbe. Dieses Naphthochinon und seine Derivate werden zudem in der Medizin bei Hauterkrankungen eingesetzt [38].

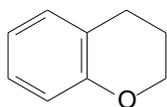


Shikonin

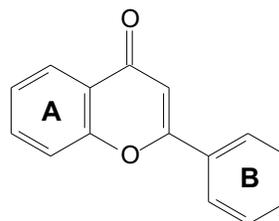
Die biologische Wirksamkeit von Carotinoiden, wie etwa die des  $\beta$ -Carotins als Provitamin, ist allgemein bekannt. Als orange Farbstoffe spielen sie aber trotz ihrer starken Farbigekeit nur in bestimmten Bereichen der Lebensmittelchemie eine Rolle. Carotine sind oxidationsempfindlich und verlieren daher auf der Faser schnell an Intensität. Die letzte verbleibende Substanzklasse, die der Flavonoide, zeigt deutliche Unterschiede in der Farbigekeit, abhängig von der vorhandenen Grundstruktur. So färben Flavone und Flavonole gelb, die Anthocyane jedoch sind die weitest verbreiteten Grundstoffe roter und blauer Blüten und Früchte. Die Farbe der Anthocyanidine ist von mehreren Faktoren, wie Selbstaggregation, Co-Pigmentierung oder pH-Wert abhängig. So enthalten die Blüten roter Rosen und blauer Kornblumen das gleiche Anthocyan, Cyanin.

## 2.1.2 Flavonoide

Flavonoide nennt man die weit gefächerte und sehr verbreitete Klasse von Verbindungen, die sich vom Flavon (2-Phenylchromon) ableiten. Chromon seinerseits, lässt sich als Abkömmling des Chromans beschreiben.

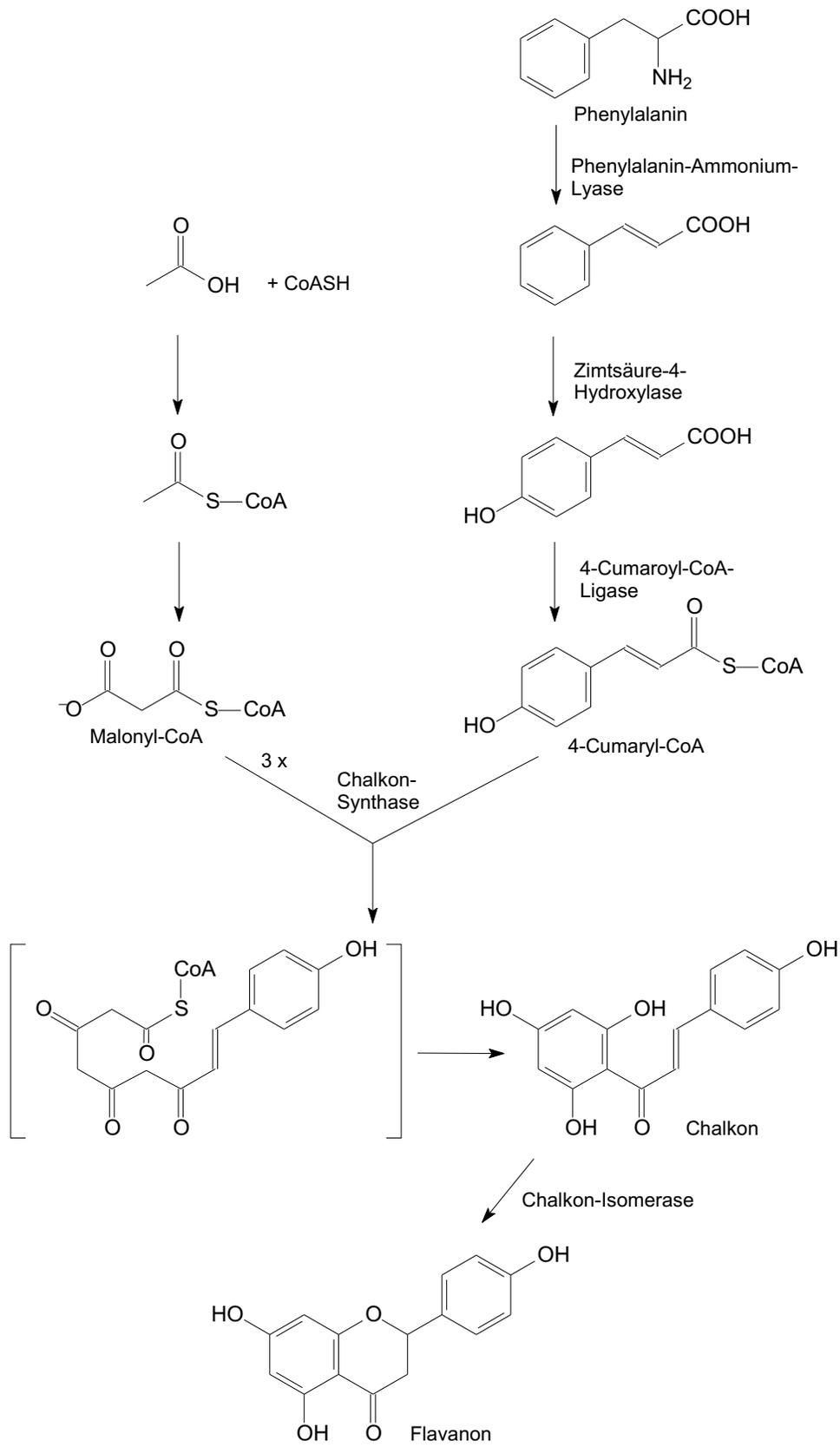


Chroman

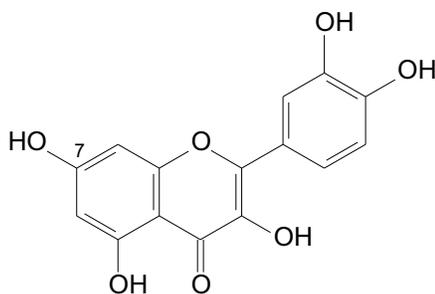


Flavon

Synthetisch werden Chromonderivate aus Phenolen und  $\beta$ -Ketosäureestern durch Erhitzen mit Phosphor-(V)-oxid dargestellt. So erhält man Flavon aus Phenol und Benzoylessigester [12]. Biosynthetisch werden bei den Flavonoiden, die zu den wichtigsten Sekundärmetaboliten des Pflanzenreiches zählen, die beiden aromatischen Ringe auf getrennten Wegen hergestellt. Ring A entsteht über Malonyl-CoA durch eine Kopf-Schwanz-Kondensation von drei Acetat-Molekülen, die drei Brücken-Kohlenstoffatome und der Ring B dagegen stammen aus dem allgemeinen Phenylpropanstoffwechsel vom Phenylalanin ab [13]. Das auf diesem Weg entstandene Flavanon ist das zentrale Zwischenprodukt, von dem ausgehend alle weiteren Flavonoide synthetisiert werden können. Die meisten dieser Flavonoide werden anschließend mit einem oder mehreren Monosacchariden verknüpft. Durch die unterschiedlichen Modifikationen des Aglycons und der glycosidischen Formen entsteht eine Vielzahl unterschiedlicher Strukturen. Allein bis 1996 wurden 3147 Flavone und Flavonole sowie weitere 3320 Anthocyane und übrige Flavonoide gezählt [15].



Trotz dieser großen Anzahl treten einige Vertreter besonders häufig auf. Der am weitesten verbreitete Pflanzenfarbstoff aus dieser Klasse, Quercetin, kommt sowohl in der Rinde der Eichenart *Quercus velutina* (über die Hydroxygruppe in Position 3 an L-Rhamnose gebunden) als auch als eine Komponente des Blütenfarbstoffes von z.B. Stiefmütterchen und Rosen sowie als Bestandteil von Hopfen (meist auch hier glycosidisch verknüpft, oft in Position 7 mit D-Glucose) vor [12].

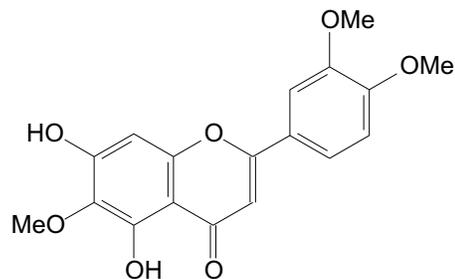


Quercetin

Flavonoide spielen jedoch nicht nur als Pflanzenfarbstoffe eine wichtige Rolle. Viele sind biologisch stark aktiv. Dabei zeigt sich ein breit gefächertes Wirkspektrum. Flavone in Nahrungsmitteln sind wirksame Antioxidantien und sind oft wichtiger Bestandteil sogenannter “functional foods“ [14], also von Lebensmitteln, die aus gesundheitlichen oder nahrungsmitteltechnischen Gründen modifiziert werden. In der Medizin werden Flavone zudem wegen ihres antiallergischen [16], antiinflammatorischen, antihämorrhagischen, spasmolytischen, koronardilatierenden, antiviralen und diuretischen Effektes eingesetzt. Flavonoide weckten in den letzten Jahren vermehrt Interesse als Mittel zur Krebsvorsorge. Neben einem antiproliferativen Effekt [17] spielt vor allem die starke Antimutagenität der Flavone eine große Rolle. Quercetin inhibiert die Mutagenität von Benzo[*a*]pyren und heterocyclischen Aminen [18]. Dieses und andere Flavone sind Ursache der antimutagenen Wirkung vieler Gewürzpflanzen, wie etwa des Oreganos [19] oder des Rosmarins [20].

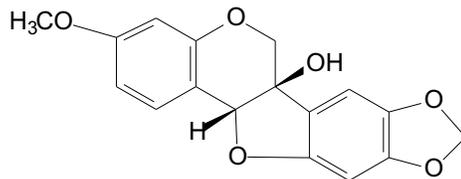
Auch ein anderes Flavon, das Eupatilin aus *Artemisia argyi* Levl. et Vant., einer Heilpflanze der chinesischen Volksmedizin, ist ein Antimutagen [21]. Dieses in Asteraceen oft vorkommende Flavon besitzt wie das bekanntere Apigenin vielfältige Wirkungen. Es wirkt als Tumor-Inhibitor, gegen Psoriasis und als Antialler-

gikum. Eupatilin verhindert die Freisetzung von Leukotrien D4 aus Neutrophilen und Magenschleimhautzellen [22] und kann daher die durch *Helicobacter pylori*-Befall initiierten Entzündungen und Geschwüre im Gastrointestinaltrakt verhindern. Auch bei weiteren gastroinflammatorischen Erkrankungen wird Eupatilin verwendet [23].



Eupatilin

Manche Flavonoide dienen Pflanzen als Abwehrstoffe gegen Bakterien, Viren, Insekten und vor allem Pilze. Einige Flavone sind in ihrer glycosidischen Form in den Pflanzenzellen gespeichert und werden nach Pathogenbefall verstärkt akkumuliert, andere werden erst nach der Infektion *de novo* synthetisiert. Diese speziellen Flavonoide gehören zu den Phytoalexinen. Der bekannteste Vertreter dieser Art ist das Pisatin mit der Grundstruktur eines Pterocarpans aus der Erbse *Pisum sativum* L.. Es war das erste Phytoalexin, das chemisch charakterisiert und dessen Struktur mittels NMR-Spektroskopie aufgeklärt werden konnte [24, 25].



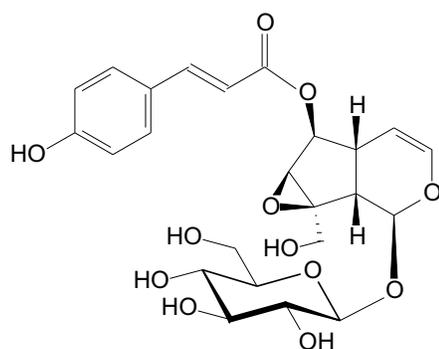
(+) - Pisatin

Pterocarpane kommen häufig in Fabaceen vor und stellen aufgrund ihrer fungiziden Wirkung einen natürlichen Schutz gegen Pilzinfektionen dar.

### 2.1.3 Iridoide

Die Bezeichnung Iridoid ist ein abgeleiteter Begriff, weil diese Verbindungen aus den Sekreten einiger Ameisenarten der Gattung *Iridomyrmex* isoliert wurden und dort zur Feindabwehr dienen [8]. Die Iridoide repräsentieren eine große Gruppe von Cyclopentano(c)pyran- Monoterpenoiden, die als Naturstoffe in vielen Pflanzenfamilien vorkommen und häufig als Glucosid vorliegen. Des öfteren sind Zimt- oder Kaffeesäure mit dem Iridoid- Grundkörper verknüpft. Eine weitere Einordnung erfolgt anhand der vorhandenen Kohlenstoffatome im Gerüst. So sind die Hauptgruppen eingeteilt in Grundkörper aus 8, 9 oder 10 Kohlenstoffen oder deren Dimere. Zu den Iridoiden gehören auch die Secoiridoide, deren Stammverbindung Secologanin ist.

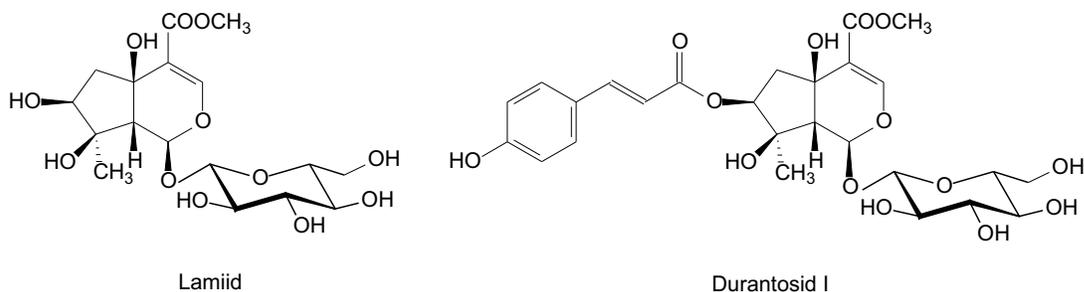
Ein früherer Name für Iridoide war Pseudoindicane, da die meisten Vertreter dieser Klasse nach der Hydrolyse Blaufärbung aufweisen. Aufgrund der weiten Verbreitung und leichten Nachweisbarkeit dienen sie seit langem in der Chemotaxonomie zur botanischen Klassifizierung [9]. Iridoide besitzen eine Vielzahl biologischer Aktivitäten, die in den meisten Fällen jedoch verhältnismäßig schwach ausgeprägt sind. So ist das aus *Catalpa speciosa* isolierte Speciosid allein nur leicht wirksam; der Teilextrakt dieser Pflanze, der Speciosid und andere Iridoidglucoside enthält, bewirkt jedoch eine deutliche Fraßhemmung bei der Mottenart *Lymantria dispar* L. [10].



Speciosid

Auch die biologisch stärker aktiven Iridoidglucoside aus *Citharexylum quadrangular* zeigen die größte Wirkung, wenn sie zusammen angewendet werden. So besitzt

der alkoholische Extrakt dieser Pflanze, der Phlomiol, Durantosid I, Lamiid und weitere Iridoide enthält, einen signifikanten antihypertensiven, hepatoprotektiven und gegen Geschwüre wirkenden Effekt.



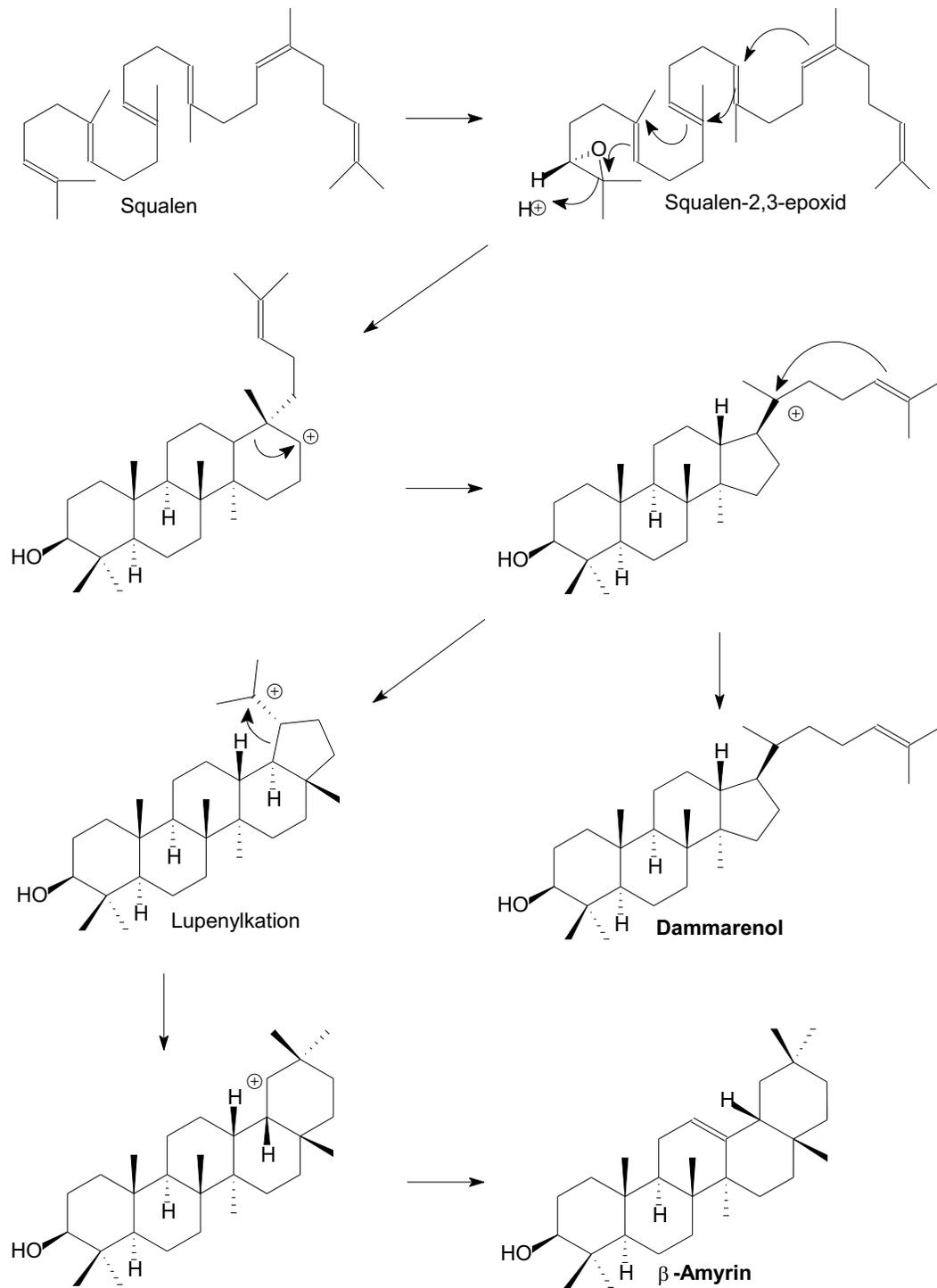
Dies stimmt gut mit der Anwendung der Pflanze in der traditionellen ägyptischen Medizin überein. Dort wird die weit verbreitete *Citharexylum quadrangular* als Diuretikum, Antipyretikum und als Mittel zur Behandlung von Lebererkrankungen eingesetzt [11].

### 2.1.4 Triterpensaponine

Triterpensaponine bestehen aus dem lipophilen Sapogenin und hydrophilen Saccharidteil. Dies bewirkt eine Amphiphilie, die sich in einer Herabsetzung der Oberflächenspannung wässriger Lösungen zeigt. Sie wirken daher als Emulgatoren und Schaumbildner, woher sich auch der Name "Saponin" (aus dem Lateinischen von *sapo*=Seife) ableitet [26]. Das Aglycon weist ein pentacyclisches ( $\alpha$ -, $\beta$ -Amyrin) oder seltener tetracyclisches (Dammaran) Triterpengerüst auf, das sich biogenetisch vom Squalen ableitet [27].

Triterpensaponine kommen in zahlreichen Pflanzenfamilien vor, und Saponindrogen sind in allen Volksmedizinen weit verbreitet. Sie werden seit altersher gegen so unterschiedliche Krankheiten wie Husten, Gicht, Rheuma und Syphilis eingesetzt [28, 29]. Zudem kommen Tees saponinhaltiger Pflanzen als harntreibende Mittel und bei Blasen-, Nieren- und Stoffwechselerkrankungen zum Einsatz [30].

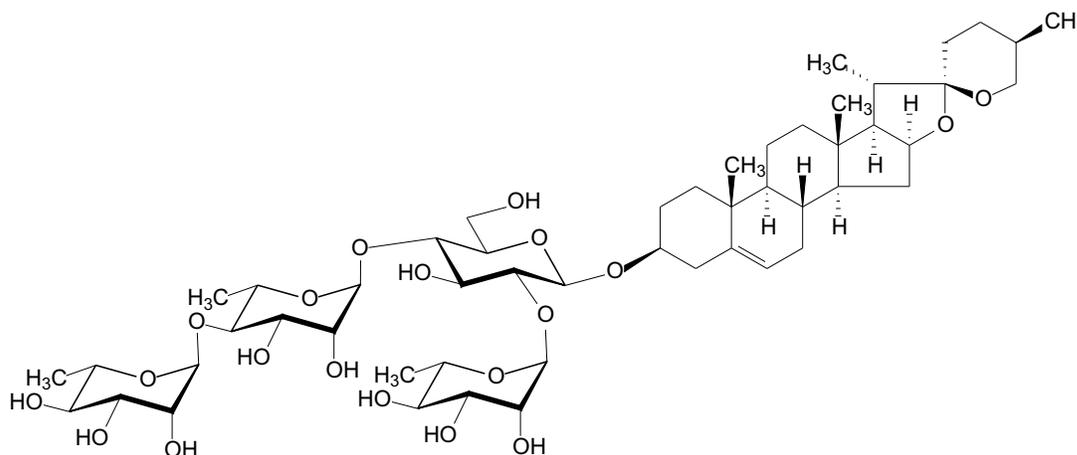
Das breitgefächerte Wirkspektrum weckte großes Interesse an dieser Substanzklasse, so dass eine Vielzahl von pharmakologischen Tests durchgeführt wurden.



Biosynthese der Triterpene [27]

Dabei ergaben sich hämolytische, fungizide, antivirale, aquaretische, expektorierende, resorptionsbeeinflussende und Cholesterin senkende Effekte [31,32]. Eine besondere Anwendung der Saponine erfolgt als Einsatz in sogenannten *immune-stimulating complexes* (ISCOM). In diesen Komplexen wird ein Triterpensaponin mit Cholesterin und Phospholipiden zusammen mit einem spezifischen Antigen, meist einem Virus, eingesetzt. Dabei wird durch die immunstimulierende Wirkung der Saponine eine verstärkte Reaktion des Immunsystems auf das Antigen erreicht [33,34]. Es sind vielversprechende Versuche mit ISCOM-Impfstoffen gegen Herpes-, HI- und Grippe-Viren in der Literatur berichtet worden. In der Veterinärmedizin wird seit Jahren ein Saponin aus *Quillaja saponaria* gegen die Maul- und Klauenseuche eingesetzt [28,31].

Der immunstimulatorische Effekt ist besonders beim Formosanin-C, einem in Liliaceen vorkommenden Diosgeninsaponin, zu beobachten.



Formosanin-C

Dieses Saponin, das in der chinesischen Pflanzendroge "Yunan Bai Yao", die *in vitro* eine starke Cytotoxizität gegen Krebszellen zeigt, entfaltet seine Antitumorwirkung durch Modulation des Immunsystems. Mäuse mit Lebercarcinom, denen Formosanin-C injiziert wurde, haben eine erhöhte Anzahl an Killerzellen sowie höhere Interferon-Werte im Blut. Das Wachstum der Hepatomzellen wurde inhibiert [35]. Ein weiteres asiatisches Therapeutikum, der Ginsengextrakt, zeigte *in*

*vivo* bei verschiedenen Krebsarten cancerostatische Wirkung. Die aus der Droge isolierten Ginsenoside hemmten besonders das Wachstum von Melanomzellen.

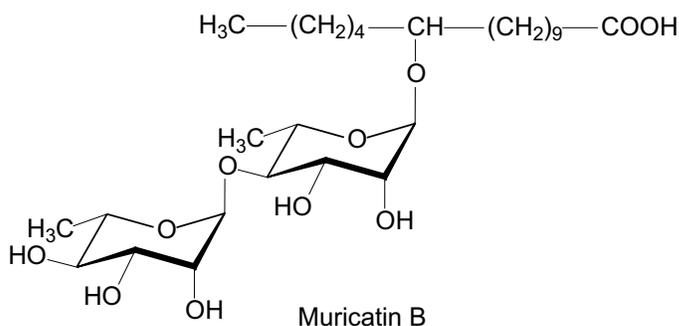
Saponine wirken auch indirekt cancerostatisch. So ist der Zusammenhang zwischen Darmkrebs und gesteigertem Gehalt an Gallensäuren im Stuhl seit längerem erwiesen. Saponine bilden mit den als Krebspromotoren geltenden Gallensäuren Mizellen, reduzieren so die Menge an freien Säuren im Darm und verhindern dadurch Wucherungen der Darmzellen. Dies wurde in Tierversuchen an der Maus bewiesen [35, 36].

### 2.1.5 Harzglycoside

Harzglycoside sind besondere Glycolipide, die nur in der Familie der Convolvulaceae und dort nur in der Subfamilie der Convolvuloideae vorkommen. Die Pflanzen dieser Familie besitzen Reihen sekretorischer Zellen, die einen milchigen, harzartigen Inhalt haben, der vorwiegend aus den für diese Arten charakteristischen Harzglycosiden besteht. Diese setzen sich aus langkettigen Hydroxyfettsäuren, Zuckern und oft zusätzlichen flüchtigen, kurzkettigen Säuren zusammen [39]. Es kommen nur wenige unterschiedliche Fettsäuren vor, es sind fast ausschließlich Mono- oder Dihydroxyfettsäurederivate der Tetra- oder Hexadekansäure. Auch bei den Zuckern ist die Auswahl an Monosacchariden begrenzt, D-Glucose und L-Rhamnose sind in fast allen Harzglycosiden enthalten und stellen den größten Anteil in den jeweiligen Zuckereinheiten dar. Allerdings ist die Vielfalt unterschiedlicher Saccharideinheiten in diesen Glycolipiden beachtlich, ihre Größe schwankt zwischen Di- und Hexasacchariden, und es gibt große Variationen in der Verzweigung und dem Einbau weniger häufiger Monosaccharide, wie etwa D-Fucose oder D-Chinovose. Trotz dieser Variabilität zeigen alle Harzglycoside eine Gemeinsamkeit. Bei jedem Harzglycosid ist eine Hydroxyfunktion der Fettsäure glycosyliert. Zudem sind grundsätzlich bei den nativ isolierten Harzglycosiden intramolekulare Ester der Fettsäure mit einer Hydroxygruppe aus dem Saccharid beschrieben.

Aufgrund der Komplexität der Harzglycoside ist ihre Charakterisierung schwierig. Nur dank moderner NMR-Spektroskopie ist es in den letzten Jahren gelungen, die

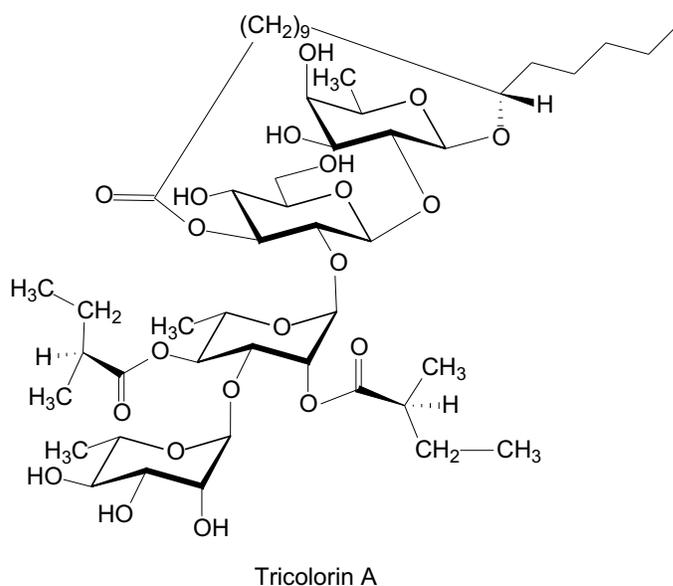
Struktur einer Reihe von Harzglycosiden im nativen Zustand zu ermitteln. Die früher angewandten Methoden der Strukturermittlung (Permethylierung, Acetylyse sowie Hydrolyse und Identifizierung der Einzelkomponenten) waren ungenau und führten zu einer Reihe falscher Strukturvorschläge. So ist eines der einfachsten Harzglycoside, Muricatin B, von Khanna und Gupta aus *Ipomoea muricata* isoliert und als  $\beta$ -Rhamnosid beschrieben worden [40]. Die Synthese durch Wagner et al. widerlegte diese Annahme jedoch und bestätigte die Struktur des Muricatin B als  $\alpha$ -L-di-Rhamnosid [39].



Trotz der Schwierigkeiten bei der Isolierung und Strukturbestimmung gibt es eine Reihe von Publikationen über Harzglycoside. Sie sind nicht nur von großer Bedeutung für die Chemotaxonomie der Convolvulaceen, sondern besitzen auch eine Vielzahl biologischer Aktivitäten. Allen Harzglycosiden ist ein laxativer und diuretischer Effekt zu eigen, weshalb viele von ihnen in der Volksmedizin als Abführmittel angewandt werden. Weiterhin werden antimikrobielle, cytotoxische und Pflanzenwachstum hemmende Eigenschaften beschrieben [41]. Jalapa-Harz (aus *Ipomoea purga* oder *Ipomoea operculata*), das in der südamerikanischen Volksmedizin eine große Rolle spielt und auch nach Europa exportiert wurde, besitzt neben dem besonders stark ausgeprägten laxativen Effekt auch wundreinigende Eigenschaften und wird auch als wirksames Entwurmungsmittel eingesetzt.

Ein herausragender Vertreter der Harzglycoside ist das Tricolorin A aus *Ipomoea tricolor*. Diese Pflanze wird in der traditionellen mexikanischen Landwirtschaft zur Kontrolle des Unkrautwachstums eingesetzt. Tricolorin A fungiert aber nicht nur als Inhibitor des Pflanzenwachstums. Es wirkt gegen *Staphylococcus aureus* (mit einem MIC-Wert von  $1.8\mu\text{g/ml}$ ), besitzt cytotoxische Aktivität gegen die murine Tumorzelllinie P-388 sowie gegen eine humane Brustkrebszelllinie ( $\text{ED}_{50}$

2.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) und hemmt die Phorbol-ester-induzierte Aktivierung der Protein Kinase C [42].



## 2.2 Methoden der Strukturbestimmung

Die wichtigsten Mittel zur Strukturbestimmung organischer Moleküle sind spektroskopische Methoden. Moleküle besitzen Ladungsverteilungen und Spinsysteme, die elektrische und magnetische Eigenschaften bedingen. Bei allen spektroskopischen Methoden werden Veränderungen dieser Eigenschaften, wie etwa die Anregung von Schwingungen oder Elektronen, welche durch Wechselwirkung mit elektromagnetischen Strahlen entstehen, registriert. Da diese Eigenschaften abhängig von der Struktur der Verbindung sind, lassen sich anhand der charakteristischen Absorptionsspektren Rückschlüsse auf diese Struktur ziehen.

### 2.2.1 Kernspinresonanz (NMR)

Mit der Methode der kernmagnetischen Resonanz oder nuclear magnetic resonance (NMR) wird die Wechselwirkung zwischen Atomkernen und elektromagnetischer Strahlung in einem äußeren homogenen Magnetfeld beobachtet. Die magnetischen Momente eines Atoms mit ungerader Ordnungs- oder Massenzahl nehmen in einem starken Magnetfeld die energetisch unterschiedlichen Orientierungen niedriger (parallel) oder höherer Energie (antiparallel) zum angelegten Feld ein. Diese Energiedifferenz, die im Bereich langwelliger elektromagnetischer Strahlung (Radiowellen) liegt, ist abhängig von der Größe des kernmagnetischen Moments und der Stärke des angelegten äußeren Magnetfelds. Wenn die Energie einer eingestrahelten Radiowelle der Energiedifferenz entspricht, wird diese Frequenz absorbiert und die magnetischen Momente der Kerne in Feldrichtung gehen in die energiereichere Ausrichtung über. Diesen Prozess nennt man magnetische Resonanz, den umgekehrten Vorgang der Abgabe potentieller Energie und der Wechsel in die energetisch niedrigere Orientierung bezeichnet man als Relaxation. Diese Freisetzung der Energie wird in einem NMR-Experiment beobachtet [43]. Dabei sind die auftretenden Energiedifferenzen keine Konstanten, denn das angelegte Magnetfeld kann am Atomkern aufgrund induzierter Sekundärfelder der Elektronen verstärkt oder geschwächt sein. So unterscheiden sich Kerne mit unterschiedlicher elektronischer Umgebung in ihrer Resonanzfrequenz. In der organischen Chemie sind Wasserstoff und Kohlenstoff die häufigsten Elemente, so dass die  $^1\text{H}$ -NMR- und die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie weit verbreitet sind und die Grundlage fast jeder Strukturbestimmung ist. Eindimensionale Experimente sind für die Strukturermittlung organischer Verbindungen jedoch nicht ausreichend, so dass eine Reihe von zweidimensionalen Experimenten hinzugezogen wird. Anwendung finden dabei die homonuklearen Protonenexperimente  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY ( $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -Correlated Spectroscopy), TOCSY (Total Correlation Spectroscopy), NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) und ROESY (Rotating frame NOESY), die heteronuklearen Experimente HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation) und HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation), sowie in einigen Fällen die kombinierten Experimente HMQC-COSY und HMQC-TOCSY.

Im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY sieht man die Kopplungen der Protonen eines Moleküls. In diesem Spektrum gibt es zwei Arten von Signalen: Auf der Diagonale erhält man das eigentliche Protonenspektrum, wie es auch im eindimensionalen Spektrum erhalten wird; zusätzlich sieht man auf der Fläche die Korrelationssignale, auch Kreuzsignale genannt. Zieht man von diesen Signalen eine waagerechte und eine senkrechte Linie zur Diagonalen, findet man dort die  $^1\text{H}$ -Verschiebungen der miteinander koppelnden Protonen [44]. Um eine erweiterte Form dieses Experimentes handelt es sich beim TOCSY-Experiment, bei dem das gesamte Spinsystem eines Protons dargestellt werden kann [45]. Dies ist vor allem bei der Strukturaufklärung von Sacchariden hilfreich, da ausgehend vom anomeren Proton die Korrelationen der Protonen des gesamten Ringsystems identifiziert werden können. ROESY- und NOESY-Experiment dagegen sind homonukleare Methoden, aus denen die räumliche Nähe von Protonen erkannt werden kann. Diese Experimente bedienen sich beide des Kern-Overhauser-Effektes, bei dem es sich um eine Übertragung der Magnetisierung von einem zu benachbarten Protonenkernen (dipolare Kopplung) handelt [45]. Anwendung finden diese Experimente beispielsweise bei Triterpenen, um zu bestimmen, ob Protonen axial oder äquatorial stehen.

Die beiden heteronuklearen Experimente HMQC und HMBC werden invers gemessen. Das bedeutet, dass nicht die unempfindlichen  $^{13}\text{C}$ -Kerne, sondern die 6000-mal empfindlicheren Protonen zur Signaldetektion verwendet werden. Im HMQC-Experiment sieht man direkte CH-Kopplungen ( $^1J_{CH}$ ). Ein Korrelationssignal befindet sich dort, wo die  $^{13}\text{C}$ -Verschiebung in der  $F_1$ -Dimension mit der  $^1\text{H}$ -Verschiebung der  $F_2$ -Dimension koppelt. Das HMBC-Experiment ist auf  $^3J_{CH}$ -Kopplungen optimiert. Dieses Spektrum liefert also CH-Fernbeziehungen, am deutlichsten über 3 Bindungen hinweg, oft aber auch über 2 oder 4 Bindungen. Mit Hilfe dieses Experimentes lassen sich Substrukturen, Verknüpfungen und die Lage quartärer Kohlenstoffatome bestimmen.

## 2.2.2 Massenspektrometrie

Bei der Massenspektrometrie wird die zu untersuchende Verbindung im Hochvakuum verdampft und durch Elektronenbeschuss ionisiert. Die resultierenden geladenen Ionen werden anschließend durch ein elektrisches Feld beschleunigt und im homogenen Magnetfeld proportional zu ihrer Masse aufgetrennt [47]. In der gebräuchlichen EI-MS (Elektronenstoß- Massenspektrometrie) wird zur Ionenerzeugung meist eine Potentialdifferenz zwischen Kathode und Anode von 70V (entspricht einer Energie der Elektronen von 70eV) verwendet, die nicht nur zur Bildung des Molekül-Radikal-Kations, sondern aufgrund der hohen Energie auch zur Bildung von Fragment-Ionen führt. Daher erhält man nicht nur die Molekülmasse der Verbindung, sondern kann aus charakteristischen Bruchstücken auch auf die Anwesenheit bestimmter funktioneller Gruppen oder Struktureinheiten schließen [43]. Bei größeren oder sehr polaren Verbindungen überwiegen die Fragmentierungsreaktionen oft derart, dass kein Molekül-Ionen-Signal erhalten wird. In diesen Fällen greift man auf andere Methoden der Ionisierung zurück. Ein Verfahren ist die FAB-MS (Fast Atom Bombardment; auch LSI-MS für liquid secondary ion mass spectrometry genannt), die zur Untersuchung von schwer flüchtigen Verbindungen eingesetzt wird. Dabei wird die gelöste Probe in einer Glycerinmatrix suspendiert, die mit Primärionen beschossen wird. Daraus werden aus den Molekülen die Sekundärionen  $((M-H)^-)$  freigesetzt; durch diese weiche Ionisierung entstehen nur wenige Fragmentionen.

Eine weitere häufige Methode ist die Elektrospray-Ionisation (ESI). Hierbei fließt die Substanzlösung durch eine zylindrische Elektrode, so dass geladene Tröpfchen entstehen, die unter Verdampfung des Lösungsmittels immer kleiner werden. Dieses Verfahren eignet sich ebenfalls zur Untersuchung von schwerflüchtigen Verbindungen und ist wegen ihres Versuchsaufbaus auch zur Kopplung von chromatographischen Methoden mit der Massenspektrometrie (besonders LC-MS) geeignet. Außerdem können auch Moleküle höherer Masse detektiert werden [47].

### 2.2.3 UV-Spektroskopie und Circular dichroismus

Absorbiert ein organisches Molekül Strahlung aus dem sichtbaren oder ultravioletten Spektralbereich, führt dies zu Elektronenübergängen aus besetzten in leere Orbitale, also zu Übergängen zwischen diskreten Energieniveaus. Die Wellenlänge der Absorption ist ein Maß für den Abstand der Energieniveaus, der zwischen den Molekülorbitalen herrscht. So wird für die Anregung von  $\sigma$ -Elektronen energiereichere Strahlung benötigt als für die Anregung einsamer Elektronenpaare oder von  $\pi$ -Elektronen. Dabei wird bei  $\pi$ -Orbitalen die Energiedifferenz geringer, je größer das konjugierte System ist, in dem sich die Elektronen befinden [43]. Daher können aus UV- und UV-Vis-Spektren Rückschlüsse auf die Struktur der organischen Verbindung gezogen werden. Nicht nur die Größe, sondern auch die Konfiguration eines konjugierten Systems spielt bei den Elektronenübergängen eine Rolle. So ist z. B. beim  $\beta$ -Carotin der Energieübergang, der zur Bande bei 340 nm führt, in der *all-(E)*-Konfiguration Symmetrie-verboden, durch den Einbau einer (*Z*)-Konfiguration aber Symmetrie-erlaubt [48], die Unterscheidung zwischen den Konfigurationen ist also einwandfrei möglich.

Viele Naturstoffe sind chiral und somit optisch aktiv. So wird ein Stoff bezeichnet, der in der Lage ist, die Ebene linear polarisierten Lichtes zu drehen. Dieser Effekt wurde erstmals von Biot an organischen Substanzen entdeckt [49]. Beim Durchgang linear polarisierten Lichtes durch eine optisch aktive, absorbierende Probe ist der elektrische Feldvektor des Lichtes nicht länger in einer Ebene ausgerichtet, sondern erscheint als Ellipse.

Der elektrische Feldvektor  $\mathbf{E}$  des linear polarisierten Lichtes kann als Produkt der links und rechts circular polarisierter Komponenten aufgefasst werden. Werden die beiden Komponenten von der Probe bei beliebigen Wellenlängen unterschiedlich absorbiert, so liegen unterschiedliche Brechungsindizes für die beiden circular polarisierten Anteile vor. Ist dies der Fall, gilt das für alle Wellenlängen. Die verschieden schnellen Ausbreitungsgeschwindigkeiten der polarisierten Lichtstrahlen im chiralen Medium führen zu einer Phasenverschiebung, die proportional zur Brechungsindexdifferenz ist. Nach Verlassen der Probe ergibt die Kombination der beiden Strahlen eine permanente Drehung des elektrischen Feldvektors. Die-

ser Effekt wird als optische Drehung  $\alpha$  bezeichnet.

$$\alpha = \frac{180l(n_L - n_R)}{\lambda_{vak}} \quad (2.1)$$

$\alpha$ : Drehwinkel in Grad

$n_L$ : Brechungsindex für linkscircular polarisiertes Licht

$n_R$ : Brechungsindex für rechtscircular polarisiertes Licht

$l$ : Schichtdicke

$\lambda_{vak}$ : Wellenlänge im Vakuum (selbe Längeneinheit wie  $l$ )

In der organischen Chemie wird die optische Drehung meist als spezifische Drehung  $[\alpha]_{\lambda}^T$  angegeben. Diese Stoffkonstante wird bei bestimmter Temperatur und Wellenlänge gemessen.

$$[\alpha]_{\lambda}^T = \frac{\alpha}{cl} \quad (2.2)$$

$[\alpha]_{\lambda}^T$ : spezifische Drehung

$\alpha$ : Drehwinkel in Grad

$c$ : Konzentration in  $\frac{g}{cm^3}$

$l$ : Schichtdicke des Mediums in dm

Blickt man gegen den Lichtstrahl und der Feldvektor ist im Uhrzeigersinn gedreht, erhält  $\alpha$  ein positives Vorzeichen und man spricht von einer rechtsdrehenden Verbindung. Ist die Ebene im Gegenuhrzeigersinn gedreht, spricht man von einer linksdrehenden Verbindung und setzt ein negatives Vorzeichen.

Betrachtet man links- und rechtscircular polarisierte Komponente bei jeder Wellenlänge getrennt voneinander, so erkennt man, dass sie vom optisch aktiven Medium unterschiedlich absorbiert werden. Beide sind immer noch circular polarisiert, doch unterscheiden sie sich im Radius des Kreises des elektrischen Vektors, d. h. ihre Amplituden differieren. Addiert ergibt sich so aus den Kreisen die elliptische Form. Diesen Effekt nennt man Circular dichroismus [51], die gemessene Einheit ist die Elliptizität  $\Theta$  in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Der Circular dichroismus ist daher die Differenz der molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten ( $\epsilon$ ) von links- und rechtscircular polarisiertem Licht.

$$\Delta\epsilon = \epsilon_L - \epsilon_R \quad (2.3)$$

Zwischen Circulardichroismus und molarer Elliptizität besteht ein einfacher Zusammenhang:

$$[\Theta]_M = 3300\Delta\epsilon \quad (2.4)$$

$$[\Theta]_M = \frac{\Theta M}{100cl} \quad (2.5)$$

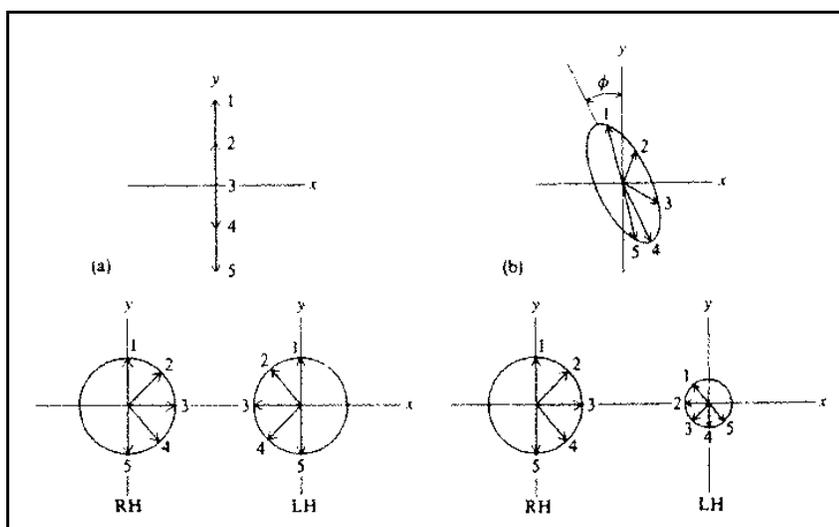
$[\Theta_M]$ : molare Elliptizität in  $\frac{l}{cm \text{ mol}}$

$\Delta\epsilon$ : Circulardichroismus in  $\frac{l}{cm \text{ mol}}$

M : Molmasse

c : Konzentration in  $\frac{mol}{l}$

l : Schichtdicke des Mediums in cm



**Effekt einer optisch aktiven, absorbierenden Probe auf linear polarisiertes Licht:**

(a) Elektrischer Feldvektor vor dem Probendurchgang; unten aufgelöst in die rechts (RH)-und linkszirkular (LH) polarisierten Komponenten

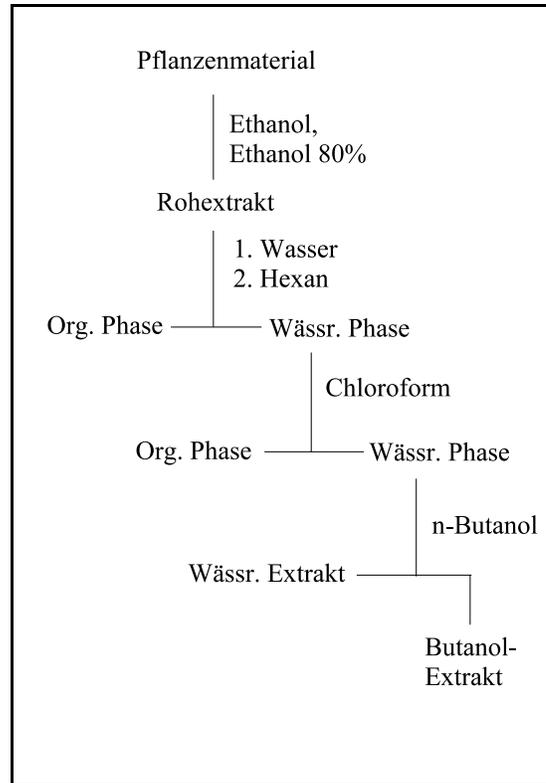
(b) Elektrischer Feldvektor nach dem Probendurchgang; die Summe der unten dargestellten Einzelkomponenten bewirkt die Ellipse

# 3 Isolierung und Strukturermittlung

## 3.1 Färbepflanzen

### 3.1.1 Fraktionierung

Die Vorfraktionen wurden bei allen untersuchten Färbepflanzen gleich hergestellt. Zunächst wurde das getrocknete oder gefrorene Pflanzenmaterial, welches aus dem Ökologisch-botanischen Garten der Universität Bayreuth erhalten wurde, zerkleinert. Anschließend wurde zweimal mit der 100fachen Menge an Ethanol 30 min bei Raumtemperatur extrahiert. Es wurde noch einmal 30 min mit 80%igem Ethanol extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden bis zur Trockne eingeeengt und der gewonnene Rohextrakt in Wasser aufgenommen. Zur Entfettung und Entfernung unpolarer Substanzen wurde Hexan zugegeben. Die abgetrennte wässrige Phase wurde mit Chloroform ausgeschüttelt. Anschließend extrahierte man die erhaltene wässrige Phase mit n-Butanol. Je nach Farbe der Extrakte wurden der Butanol- oder der wässrige Extrakt weiter untersucht.



### 3.1.2 *Impatiens balsamina*

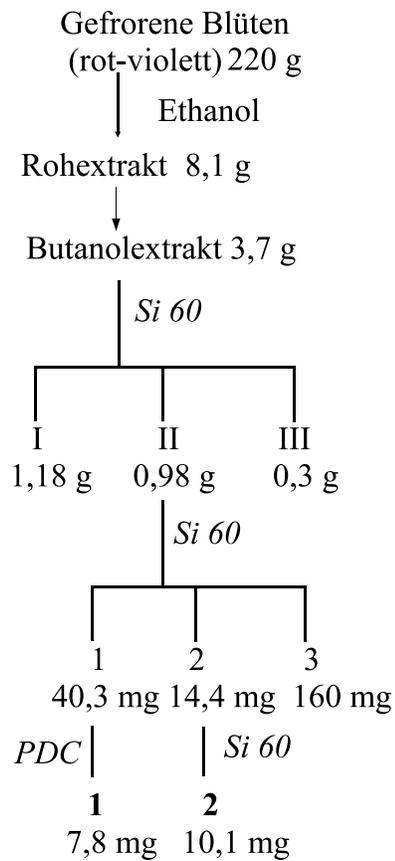
#### Beschreibung

*Impatiens balsamina* L. gehört zur Familie der Balsaminaceae. Diese Familie zeichnet sich durch saftige Stängel und große, auffällig gefärbte Blüten aus. Obwohl die meisten Arten in den tropischen Regionen Asiens und Afrikas heimisch sind, sind sie als beliebte Zierpflanzen auch in unseren gemäßigten Regionen weit verbreitet [52]. Den deutschen Namen Springkraut verdanken die *Impatiens*-Arten ihren Fruchtkapseln, die bei Berührung die reifen Samen ausschleudern. *Impatiens balsamina* (Garten-Springkraut) ist ein 20-50 cm hohes Gewächs mit einfachem Stängel, an dem wechselständig schmale Blätter sitzen. In der Blütezeit von Juli bis August stehen 1-3 rosa oder violette Blüten in den Achsen der oberen Blätter [53]. Als Farbstof-



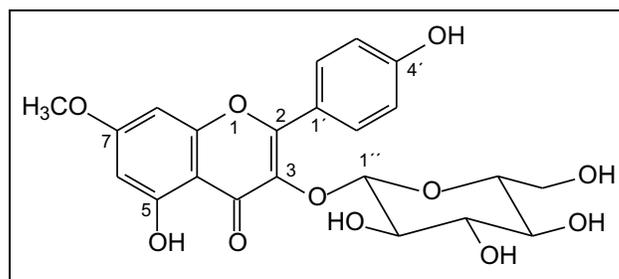
fe werden vor allem Anthocyane genannt, von denen einige neben den Flavonen Kämpferol und Quercetin aus hydrolysierten Blütenextrakten isoliert wurden. Erwähnenswert ist das Vorkommen von Naphthochinonderivaten in allen *Impatiens*-Arten. So konnte als erste Verbindung dieser Art 2-Methoxy-1,4-naphthochinon (Lawson-monomethylether), ein natürlicher Vitamin K-Antagonist, von Little et al. 1948 aus *Impatiens balsamina* isoliert werden [52].

Abb. 1: Aufarbeitungsschema von *Impatiens balsamina*



## Strukturermittlung

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **1** zeigt Signale, die für Flavonoide typisch sind. Im "Aromatenbereich" sind vier Signale erkennbar. Zwei davon sind jeweils ein Dublett mit einer Kopplungskonstante von 1,9 Hz und entsprechen den meta-ständigen Protonen an C-6 (6.16 ppm) bzw. C-8 (6.35 ppm). Die übrigen beiden Signale stellen die vier Protonen des Phenylringes an C-2 dar und bieten das typische Bild eines para-substituierten Aromaten. Die gut erkennbare Konstante der *ortho*-Kopplung zwischen H-2' und H-3' bzw. H-5' und H-6' beträgt 8.8 Hz. Dies und die Tieffeldverschiebung des C-4'-Signals (161.6 ppm) deuten auf eine Hydroxylgruppe in dieser Position hin. Das Monosaccharid ist in Position 3 an das Aglycon gebunden. Dies wird durch den Crosspeak des C-3-Signals (135.3 ppm) mit dem Dublett des anomeren Protons (5.21 ppm) der  $\beta$ -D-Glucopyranose im HMBC-Spektrum bewiesen. Die Protonen der Methoxygruppe zeigen im HMBC-Spektrum einen schwachen Crosspeak zum C-7. Zudem ist das C-7-Signal (167.7 ppm) deutlich tieffeldverschoben, was das Vorhandensein einer Methoxygruppe in dieser Position bestätigt.



**Abb. 2:** Rhamnocitrin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosid (**1**)

Es handelt sich daher um 3-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-3,4',5-trihydroxy-7-methoxyflavon (Rhamnocitrin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosid). Das Aglycon dieser selten vorkommenden Verbindung, die bisher nicht aus *Impatiens balsamina* bekannt war, ist vor allem in Tamaricaceen gefunden worden [55].

Position	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
2	-	158.9
3	-	135.3
4	-	179.3
5	-	163.0
6	6.16 <i>d</i> , 1.9Hz	100.4
7	-	167.7
8	6.35 <i>d</i> , 1.9Hz	95.1
9	-	158.6
10	-	105.3
1'	-	122.8
2'	6.87 , 8.8Hz	132.2
3'	8.04 , 8.8Hz	116.1
4'	-	161.6
5'	8.04 , 8.8Hz	116.1
6'	6.87 , 8.8Hz	132.2
OMe	3.34	49.8
1''	5.21 <i>d</i> 7.3 Hz	104.2
2''	3.42	75.7
3''	3.39	78.1
4''	3.29	71.3
5''	3.20	78.4
6''	3.53/3.68	62.6

**Tab. 1:**  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von **1** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

Das Protonenspektrum der Verbindung **2** zeigt außerhalb des "Monosaccharidbereichs" 5 Signale, von denen eines isoliert vorliegt, während die anderen Signale das komplexe Aufspaltungsmuster von vier miteinander koppelnden Protonen eines Aromaten aufweisen. Das Vorhandensein zweier  $^{13}\text{C}$ -Signale im Ketonbereich (178.3 und 183.3 ppm) bestätigt, dass es sich bei dieser Verbindung um ein Naph-

thochinon handelt, das im 2. Ring unsubstituiert ist. Das Singulett des Protons in Position 3 und die Tieffeldverschiebung des C2-Signals auf 152.7 ppm weisen auf eine Sauerstofffunktion in Position 2 hin. An dieser Stelle ist das Aglucon mit  $\beta$ -D-Glucopyranose verknüpft.

Position	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
1	-	178.3
2	-	152.7
3	5.41	105.3
4	-	183.3
5	7.81	126.6
6	7.53	132.4
7	7.62	135.2
8	7.72	125.6
9	-	132.5
10	-	132.3
1''	4.96 d 7.4 Hz	105.4
2''	3.23	75.8
3''	3.39	78.2
4''	3.21	71.4
5''	3.46	78.5
6''	3.58/3.73	62.4

Tab. 2:  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von **2** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

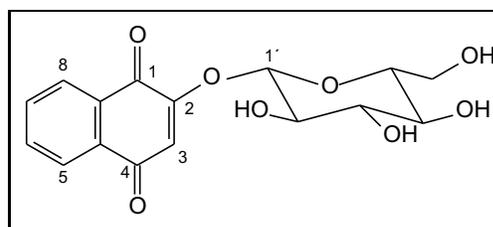


Abb. 3: 2-Hydroxy-1,4-naphthochinon-2-O- $\beta$ -D-glucopyranosid (**2**)

### 3.1.3 *Filipendula ulmaria*

#### Beschreibung

Das Große Mädesüß (*Filipendula ulmaria* L.) ist eine in Mittel- und Nordeuropa sowie Nordasien weit verbreitete Hochstaude der Familie der Rosaceae von 0.5-2m Größe. Der kahle Stängel ist im oberen Teil spärlich verästelt und trägt

große, unpaarig gefiederte Blätter. In der Blütezeit von Juni bis August treten zahlreiche weiße Blüten auf, die eine große Rispe bilden. Seinen deutschen Namen verdankt das Mädelsüß dem Einsatz als Aromastoff, da die Blüten früher dem Bier bzw. Met („Met-Süße“) zugesetzt wurden [54]. Das etherische Öl der Blüten, die auch als Tee zum Einsatz kommen, riecht leicht nach Mandeln und ist in geringen Spuren auch im Rest der Pflanze zu finden. Es enthält Salicylaldehyd und Methylsalicylat [58]. In *Filipendula ulmaria* werden seltene Quercetinglycoside, wie etwa Avicularin (Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosid) oder das nur in den Blüten vorkommende Spiraeosid, ein ungewöhnliches Quercetin-4'-O- $\beta$ -D-glucopyranosid [56, 59] gefunden.

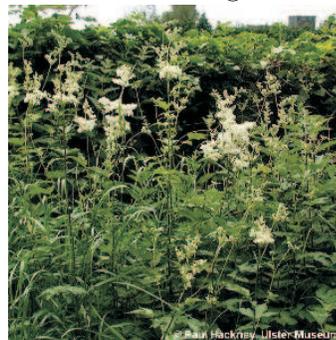
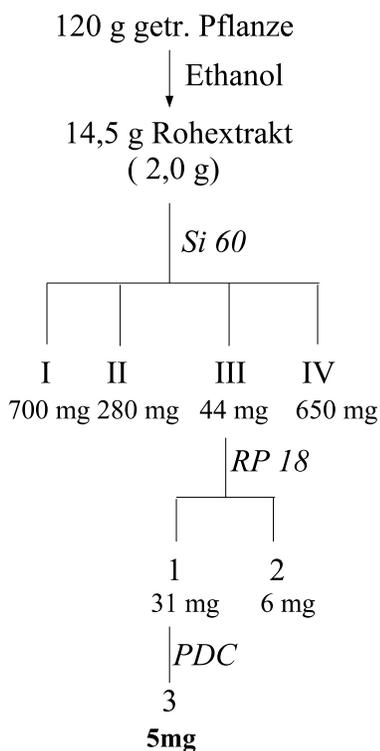


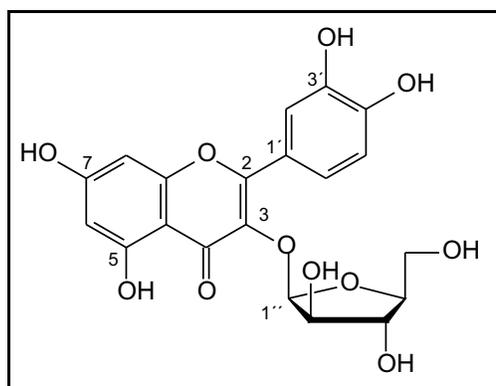
Abb. 4: Aufarbeitungsschema von *Filipendula ulmaria*



## Strukturermittlung

Das Protonenspektrum von **3** lässt sich in 2 Bereiche unterteilen. Zum einen sind Signale erkennbar, die einem Zucker zugeordnet werden können. Auf der anderen Seite sind Protonensignale im aromatischen Bereich zu finden. Diese lassen zwei voneinander unabhängige koppelnde Systeme erkennen. Zusammen mit den Informationen aus dem  $^{13}\text{C}$ -Spektrum ergibt sich daraus Quercetin als Aglycon. Bei dem vorhandenen Monosaccharid handelt es sich um eine  $\beta$ -O-glycosidisch gebundene Arabinofuranose, wie aus dem Protonen- und dem HMQC-Spektrum entnommen werden kann. Die Verknüpfung mit dem Aglycon erfolgt in Position 3, wie aus dem Crosspeak des anomeren Protons zum Kohlenstoffsignal bei 139.9 ppm im HMBC zu sehen ist.

Aus dem Vergleich der NMR-Daten ergibt sich, dass es sich bei dieser Verbindung nicht um das bereits aus *Impatiens*-Arten beschriebene Avicularin, sondern um das seltenere Polystachosid (Quercetin-3-O- $\beta$ -L-arabinofuranosid) handelt [57]. Diese Verbindung, die meist mit Avicularin gemeinsam isoliert wird, wurde erstmals von Hörhammer et al. 1955 beschrieben [59].



**Abb. 5:** Polystachosid (**3**)

Position	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
2	-	150.4
3	-	139.9
4	-	180.2
5	-	158.5
6	6.18	100.2
7	-	162.9
8	6.38	94.5
9	-	159.9
10	-	104.3
1'	-	123.2
2'	7.83	118.5
3'	-	145.8
4'	-	149.9
5'	6.86	117.5
6'	7.58	122.9
1''	5.14 <i>d</i> , 7.8 Hz	105.0
2''	3.81	73.0
3''	3.54	75.0
4''	3.47	78.0
5''	3.54/3.63	62.0

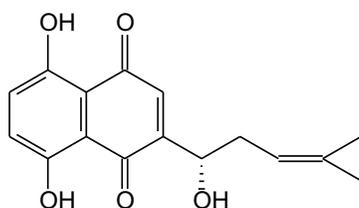
Tab. 3:  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von **3** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

### 3.1.4 *Alkanna tinctoria*

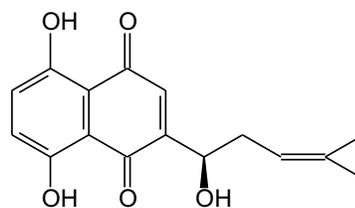
#### Beschreibung

*Alkanna tinctoria* L. Tausch (deutsche Bezeichnung Ochsenzunge) ist ein ca. 20 cm hohes Rosettengewächs aus der Familie der Boraginaceae (Rauhblattgewächse) mit zahlreichen, dicht behaarten Sprossen und ebenfalls behaarten, lanzettenartigen Blättern. Von April bis Juni sieht man in dichten Wickeln blaue Blüten mit geteiltem Kelch. In der stark ausgeprägten Pfahlwurzel dieser Pflanze sind

rote Farbstoffe vorhanden, die ein gängiges Prinzip vieler Boraginaceen sind. Die oft verwendete Bezeichnung *Anchusa tinctoria* leitet sich aus dem Altgriechischen (*anchousa* = Farbe) ab. *Alkanna tinctoria* ist im gesamten Mittelmeergebiet heimisch. Die Wurzel dieser Pflanze wurde schon in der Antike zum Färben von Wolle und zu medizinischen Zwecken eingesetzt. Dioskorides beschrieb in seiner *De Materia Medica* wundheilende Wirkungen und die Behandlung von Geschwüren [62]. Ebenso alt ist die Verwendung von *Lithospermum erythrorhizon*-Wurzeln im asiatischen Raum. Diese Boraginacee hat eine lange Tradition in der japanischen und chinesischen Volksmedizin und liefert auch den roten Farbstoff für die japanische Flagge. Als Hauptkomponente des Wurzelextraktes isolierten Majima und Kuroda 1922 das Shikonin, lieferten allerdings einen falschen Strukturvorschlag [63]. Erst Brockmann gelang es, die Struktur von Shikonin zu bestimmen [64]. Ihm gelang es auch, Alkannin als Hauptkomponente des *Alkanna tinc.*-Extraktes zu isolieren und als Enantiomer des Shikonins zu charakterisieren.



Alkannin

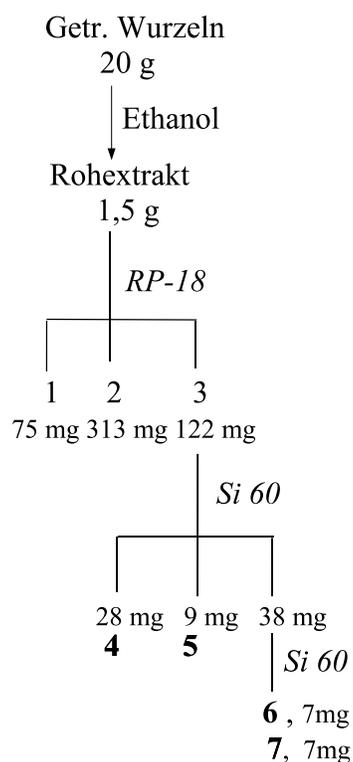


Shikonin

Bei weiteren Untersuchungen fand man heraus, dass der Betrag der spezifischen Drehwerte von isoliertem Shikonin und isoliertem Alkannin nicht identisch waren. Dies wurde auf das Vorhandensein von Spuren des Racemats zurückgeführt und man konnte feststellen, daß das Enantiomerenverhältnis von Pflanzenart zu Pflanzenart variiert [65]. Alkannin und Shikonin besitzen eine Vielzahl biologischer Wirkungen, sie sind z.B. wundheilend, entzündungshemmend, antibakteriell, inhibieren die Topoisomerase I und II und besitzen Antitumorwirkung [62]. Es stellte sich heraus, dass Alkannin nur zu einem geringen Teil frei vorkommt und stattdessen in einer Vielzahl unterschiedlicher Alkanninester vorliegt [66].

Diese sind jedoch labil und hydrolyseempfindlich im alkalischen Milieu. Auch bei einigen dieser Ester finden sich biologische Aktivitäten, wie etwa die Förderung der Wundheilung oder antimikrobielle Wirkungen. Die gesamte Pigmentfraktion aus *Alkanna tinctoria* zeigte sich im Tierversuch derart wirksam, dass daraus eine patentierte Salbe hergestellt wurde [67]. Diese Salbe wird bei indolenten Geschwüren im Beinbereich, bei Lepra- und Druckgeschwüren und bei Verbrennungen eingesetzt.

Abb. 6: Aufarbeitungsschema von *Alkanna tinctoria*

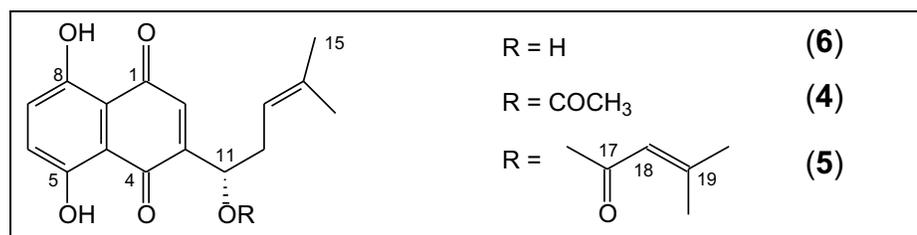


### Strukturermittlung

Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **6** sind 3 Protonen im aromatischen Bereich zu sehen, wobei das Proton mit der geringsten Verschiebung als Singulett

auftritt und sich an Position 2 des Chinon-Systems, befindet. Weiterhin werden zwei breite Singulets bei 12.4 ppm bzw. 12.6 ppm beobachtet, die den phenolischen Protonen zugeordnet werden können. Im Einklang mit den Daten aus dem  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum ergibt sich daraus die Struktur eines an Position 3 substituierten 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinons. Im HMBC-Spektrum ist eine Korrelation des C-Atoms von Position 4 (178.9 ppm) zum H-11-Proton mit einer Verschiebung von 5.94 ppm zu erkennen, die die Anknüpfung an Position 3 belegt. Das im HMQC identifizierbare zugehörige  $^{13}\text{C}$ -Signal hat eine Verschiebung von 69.5 ppm und liegt damit im Bereich eines sekundären Alkohols. Den Crosspeaks von  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY folgend kann die Seitenkette bis hin zu den Methylgruppen in Position 15 und 16 vervollständigt werden. Ausgehend von der in der Literatur verwendeten Definition [62] handelt es sich bei dieser Verbindung um das (-)(*S*)-Enantiomer Alkannin (**6**). Der Drehwert dieser Verbindung beträgt  $[\alpha]_D = -81^\circ$  ( $c=0.014$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Dies stimmt im Drehsinn mit dem publizierten Drehwert von  $[\alpha]_D = -135^\circ$  ( $c=0.1$ , Benzol) [69] überein.

Die Verbindungen **4** und **5** zeigen ähnliche Verschiebungen wie Alkannin. Zusätzlich treten Signale einer Estergruppierung auf. Bei Verbindung **4** handelt es sich dabei um ein Carbonylkohlenstoffatom mit einer Verschiebung von 171.7 ppm, das im HMBC einen Crosspeak zum Proton 11 aufweist. Weiterhin sichtbar ist das Kreuzsignal zu den Methylgruppenprotonen bei 2.20 ppm. Daher handelt es sich hierbei um Acetylalkannin, auch Arnebin-3 genannt. Bei Verbindung **5** lässt sich die Verknüpfung an Position 11 ebenfalls über die Korrelation H-11/C-17 aus dem HMBC-Spektrum entnehmen. In diesem Spektrum erkennt man ein Doppelbindungsproton mit einer Verschiebung von 5.80 ppm.



**Abb. 7:** Alkannin (**6**), Arnebin-1 (**5**) und 3 (**4**)

Position	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
	<b>4</b>		<b>5</b>		<b>6</b>	
1	-	177.2	-	177.4	-	177.4
2	7.00	132.2	7.00	132.2	7.00	132.2
3	-	148.2	-	149.0	-	150.0
4	-	178.7	-	178.8	-	178.9
5	-	168.6	-	168.6	-	168.6
6	7.14	133.9	7.14	133.9	7.14	133.9
7	7.17	134.1	7.17	134.1	7.17	134.1
8	-	169.2	-	169.2	-	169.2
9	-	113.2	-	113.2	-	113.2
10	-	112.9	-	112.9	-	112.9
11	6.00	70.8	6.00	70.8	5.94	69.5
12	2.70	33.9	2.69	33.9	2.70	34.9
13	5.20	119.3	5.20	119.3	5.20	119.3
14	-	137.0	-	137.0	-	137.0
15	1.77	25.9	1.77	25.9	1.77	25.9
16	1.68	18.0	1.68	18.0	1.68	18.0
17	-	171.7	-	165.2		
18	2.20	20.9	5.80	115.2		
19			-	158.9		
20			2.10	27.5		
21			1.95	20.3		

**Tab. 4:**  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten der Verbindungen **4-6** in  $\text{CDCl}_3$

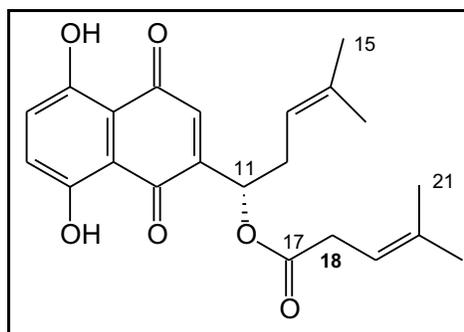
Dieses zeigt Crosspeaks zu einem quartären Kohlenstoffatom bei 158.9 ppm und zu zwei Methylgruppen (27.5 ppm und 20.3 ppm). Daraus ergibt sich die Struktur von 3-Methylcrotonoylalkannin (auch  $\beta, \beta$ -Dimethylacrylalkannin oder Arnebin-1 genannt). Für beide Alkanninester sind die NMR-Daten gut mit den Literaturwerten vergleichbar [68]. Sie besitzen Antitumoreigenschaften sowie antimikrobielle Wirkungen [62, 70].

Auch Alkanninester **7** zeigt ähnliche Verschiebungen. Das Signal des Carbonyl-Kohlenstoffatoms 17 mit einer Verschiebung von 171.8 ppm ist eindeutig identifizierbar und zeigt im HMBC-Spektrum mit Proton 11 (5.98 ppm) einen Crosspeak. Auf der anderen Seite sieht man die HMBC-Kreuzsignale zwischen C-17 und einem einzelnen Proton bei 5.75 ppm und den Protonen einer Methylengruppierung (2.25 ppm). Aus dem COSY-Spektrum kann man entnehmen, dass das einzelne Proton bei 5.75 ppm mit den Protonen zweier Methylgruppen (1.95 ppm und 2.12 ppm) koppelt. Zudem zeigen die beiden Protonen H-18 bei 2.25 ppm im HMBC Crosspeaks zu Kohlenstoffatom 20 (159.0 ppm) und zu den C-Atomen 21 (27.4 ppm) und 22 (20.3 ppm). Eine Verbindung mit dieser Struktur ist aus *Alkanna tinctoria* bisher noch nicht isoliert worden. Die Teracrylalkannin genannte Verbindung ist bisher nur ein einziges Mal in *Arnebia densiflora* gefunden worden [71].

Position	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C
1	-	177.5
2	7.02	131.7
3	-	149.0
4	-	179.0
5	-	166.7
6	7.15	132.8
7	7.17	132.9
8	-	167.4
9	-	111.8
10	-	111.5
11	5.98	69.3
12	2.58	32.9
13	5.10	117.9
14	-	135.9
15	1.66	25.7
16	1.55	17.9

Position	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C
17	-	171.8
18	2.25	43.3
19	5.75	116.3
20	-	159.0
21	2.12	27.4
22	1.95	20.3

**Tab. 5:** <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von **7** in CDCl<sub>3</sub>



**Abb. 8:** Teracrylalkannin (**7**)

## Bioaktivität

Das aus *Alkanna tinctoria* isolierte Alkannin wurde am Hans-Knöll-Institut in Jena einem biologischen Breitbandscreening unterworfen. Die Testungen ergaben leicht antimikrobielle Wirkungen gegen *Staphylococcus aureus* und *Candida albicans*. Weiterhin erwies sich Alkannin als stark cytotoxisch bei der murinen Fibroblasten-Zelllinie L-929 sowie den humanen Krebszelllinien K562 (Leukämie) und HeLa (Cervix-Carcinom). Auch eine moderate Makrophagenhemmung sowie eine schwache Hemmwirkung von Peroxidasen ist nachweisbar.

### 3.1.5 *Tagetes erecta*

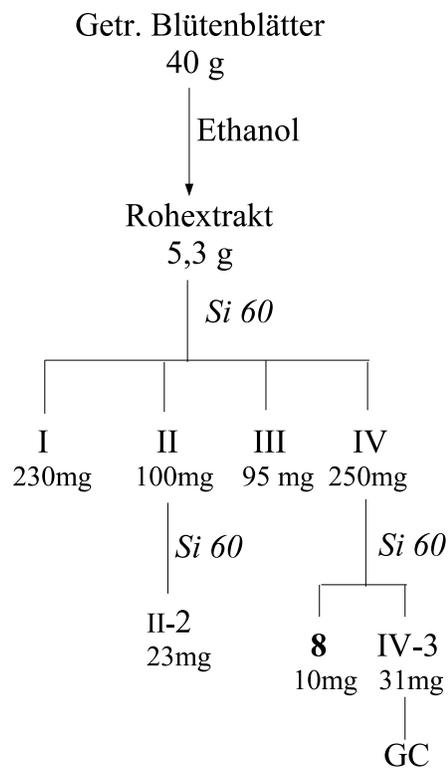
#### Beschreibung

Die ursprünglich aus Mexiko stammende Studentenblume (*Tagetes erecta* L.) aus der Familie der Asteraceen ist mittlerweile weltweit verbreitet, da sie großen Anklang als Zierpflanze findet. So sind ca. 50 verschiedene Gartensorten bekannt, die sich in der Körbchenfüllung und in der Farbe der Blüten unterscheiden. Auch Kreuzungen mit weiteren *Tagetes*-Arten sind häufig, wie etwa die ebenfalls beliebte Gartenpflanze *Tagetes patula*, die in fast ebenso vielen verschiedenen Sorten zu finden ist. Die Körbchen der spät blühenden *Tagetes* (August - Oktober) sind 3-6 cm groß und oft stark gefüllt, die vorherrschenden Farben sind gelb und orange [72]. Die Studentenblume, die 20 bis 60 cm hoch werden kann, besitzt gerade, dicht beläuterte Stängel. Die gegenständig wachsenden Blätter sind tief eingefiedert und sind mit Drüsen versehen. Aus diesen Drüsen verströmt ebenso wie aus den Blüten ein leicht unangenehmer Duft. Dieser entsteht durch das ätherische Öl der Pflanze, das eine Vielzahl an Terpenoiden enthält. Die Hauptkomponenten dieses Öls sind Limonen, (*E*)- $\beta$ -Ocimen, Caryophyllen sowie (*Z*)- und (*E*)-Ocimenon und Linalool [73]. Der Extrakt zeigt leichte antivirale Eigenschaften *in vitro* und inhibiert das Wachstum gram-negativer Bakterien wie *Salmonella typhi* und *Escherichia coli* [74].



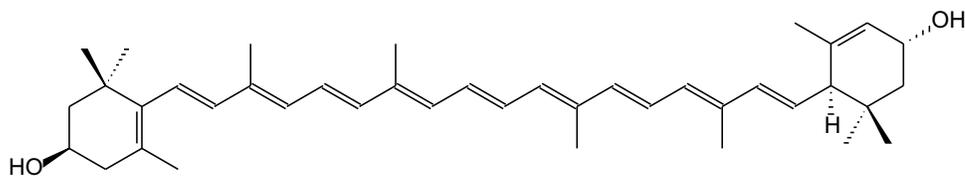
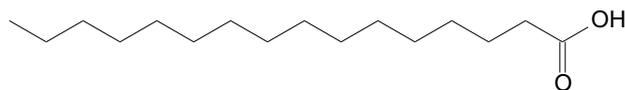
Ein weiteres Merkmal der *Tagetes*-Arten ist der hohe Gehalt an Carotenoiden, besonders Lutein und Lutein-Fettsäureester sind stark vertreten. Der Blütenextrakt besteht fast ausschließlich aus Carotenoiden und wird daher kommerziell gewonnen und als Zusatz in der Lebensmittelindustrie verwendet. Die fettlöslichen Farbstoffe werden in das Geflügelfutter gemischt und bewirken eine Gelbfärbung von Fett und Haut sowie dem Eigelb [73, 75]. Der carotinoide Extrakt wird auch zur Färbung menschlicher Nahrungsmittel verwendet. Aufgrund des vielfältigen Einsatzes des Extraktes existieren bereits Bemühungen, die Zusammensetzung der Extrakte unterschiedlicher *Tagetes*-Arten zu charakterisieren [75, 76].

Abb. 9: Aufarbeitungsschema von *Tagetes erecta*

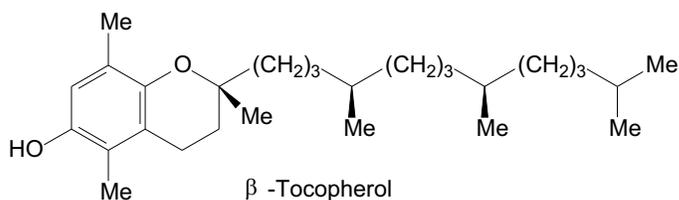
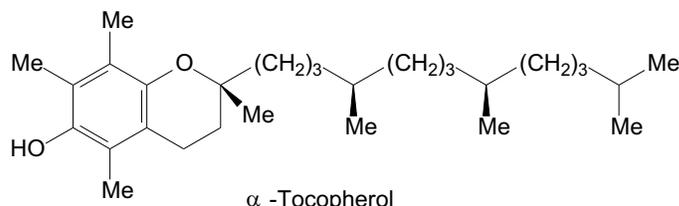
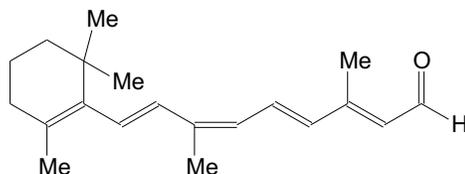


## Strukturermittlung

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **8** lässt sich in 3 Bereiche einteilen. Eine nicht genauer bestimmbare Anzahl von Methylgruppen dominiert den ersten Bereich, gefolgt von einigen weiteren Protonen, die Methylengruppierungen angehören dürften. Im dritten Bereich befinden sich nicht einzeln identifizierbare Doppelbindungsprotonen. Auch mit Hilfe des  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrums sowie der 2D-NMR-Daten lässt sich keine genauere Zuordnung erreichen. Das EI-Massenspektrum ergibt einen Molekülionenpeak bei  $m/z$  568. Daraus lässt sich in Übereinstimmung mit den NMR-Daten ableiten, daß es sich bei dieser oxidationsempfindlichen Verbindung **8** um Lutein handelt.

Lutein (**8**)

Palmitinsäure

 $\beta$  -Tocopherol $\alpha$  -Tocopherol

9-cis-Retinal

Die GC-MS-Analyse der Fraktion IV-3 ergab neben einigen unidentifizierbaren Carotinoiden Palmitinsäure ( $C_{16}H_{32}O_2$ , m/z 256),  $\beta$ -Tocopherol ( $C_{28}H_{48}O_2$ , m/z 416) und  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E $\alpha$ ,  $C_{29}H_{50}O_2$ , m/z 430) sowie 9-cis-Retinal ( $C_{20}H_{28}O$ , m/z 284), wie der Vergleich mit Referenzspektren dieser Verbindungen ergab.

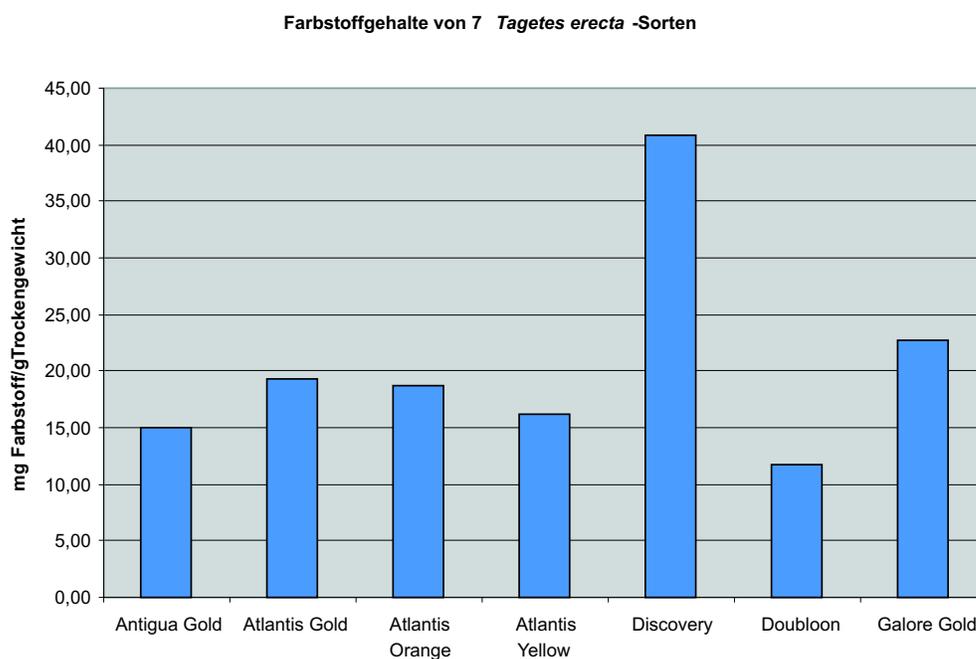
### Bestimmung des Farbstoffgehaltes

Aufgrund der in der Literatur beschriebenen Anwendung von *Tagetes*-Arten als Farbstofflieferant und der guten Färbeergebnisse wurde beschlossen, den Farbstoffgehalt verschiedener Sorten zu untersuchen. Da die vorhandenen Carotinoide recht unpolar sind und eine Extraktion des essentiellen Öls einer *Tagetes erecta*-Art mit superkritischem  $CO_2$  bereits beschrieben wurde [77], wurden verschiedene  $CO_2$ -Extraktionen einer Charge von *Tagetes erecta* II Gold durch die Firma Raps (Kulmbach) vorgenommen. Die resultierenden Extrakte wurden mittels DC auf den Farbstoffgehalt untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass die Extraktion der carotinoiden Stoffe nicht ganz vollständig gelungen war. Die Extraktion der polareren Farbstoffe dagegen, wie etwa der in *Tagetes erecta* enthaltenen Flavonoide, war gering. Daher überrascht es nicht, dass die  $CO_2$ -Extrakte beim wasserbasierten Färbeverfahren deutlich schlechtere Resultate erzielten als die bereits durchgeführten Färbungen mit Pflanzenmaterial. Die Färbeversuche zeigten, dass Carotinoide nicht maßgeblich zum färbenden Prinzip der *Tagetes erecta* beitragen, obwohl sie für die Farbgebung der Blüten ausschlaggebend sind.

Daher wurde nun eine Farbstoffquantifizierung und -charakterisierung bei einigen Sorten vorgenommen. Die Extraktion wurde analog den Färbeversuchen ausgeführt, d. h. bei der Extraktion wurden die Färbeschritte nachempfunden. Zunächst wurden 2,5 g getrocknete Blüten in 50 ml  $H_2O$  24 h eingeweicht. Dann wurde das Gemisch langsam auf  $90^\circ C$  erwärmt, 20 min bei dieser Temperatur gehalten und langsam auf  $50^\circ C$  abgekühlt. Die nun folgende Färbung wurde durch die Einhaltung der dabei benutzten Temperaturen simuliert: Das  $50^\circ C$  warme Gemisch wurde auf  $98^\circ C$  gebracht und eine Stunde bei dieser Temperatur gehalten, eventuelle Wasserverluste wurden ausgeglichen. Die abgekühlte Lösung

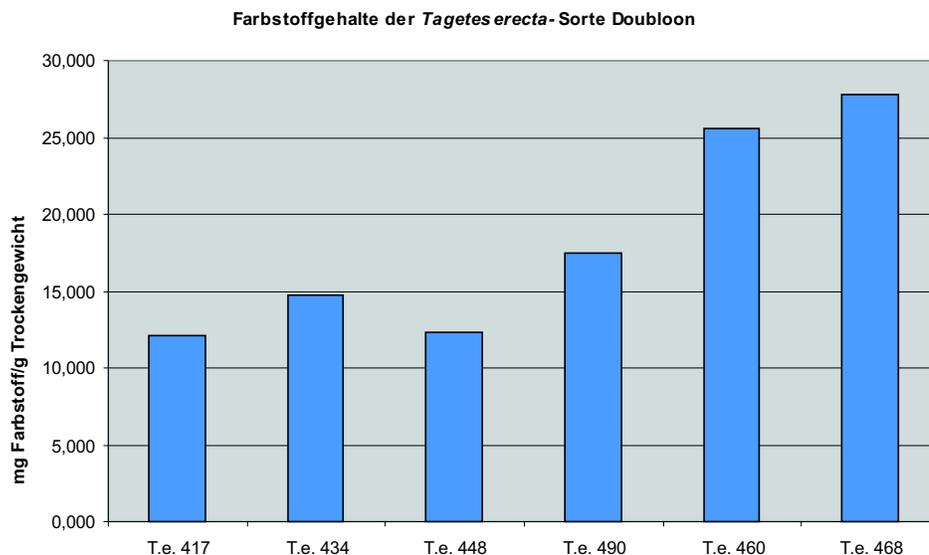
wurde noch handwarm filtriert. Anschließend erfolgte eine Filtration über C-18-SPE-Kartuschen zur Entfernung kleiner Schwebstoffe und des Chlorophylls. Eluiert wurde der Extrakt zunächst mit 1 ml MeOH/H<sub>2</sub>O (25:75), danach mit 1 ml MeOH. Ein Aliquot von 15  $\mu$ l wurde mit 5  $\mu$ l Standard (Plumbagin 0.5 mg/ml) mittels HPLC untersucht. Es wurde eine LiChrospher<sup>®</sup> C-18 -Säule verwendet, der Gradient lief von 8-90% MeOH. Die Farbstoffe wurden dabei anhand ihrer Absorptionsspektren identifiziert.

Sieben verschiedene Sorten sind untersucht worden, wobei es sich bei den meisten Proben um reines Blütenmaterial handelte. Das Material der Discovery war leicht mit Sprossbeimengungen verunreinigt, das der Galore Gold war Mischmaterial aus Blüte und Spross. Zusätzlich wurde bei 2 *Tagetes erecta*-Sorten der Farbstoffgehalt in Abhängigkeit vom Erntetermin untersucht. Dabei wurden bei der Sorte Doubloon Blüten von 4 verschiedenen Erntedaten miteinander und mit Sprossmaterial verglichen. Bei der Sorte Discovery wurden Blütenproben von 3 Erntedaten miteinander und mit Sprossmaterial verglichen.



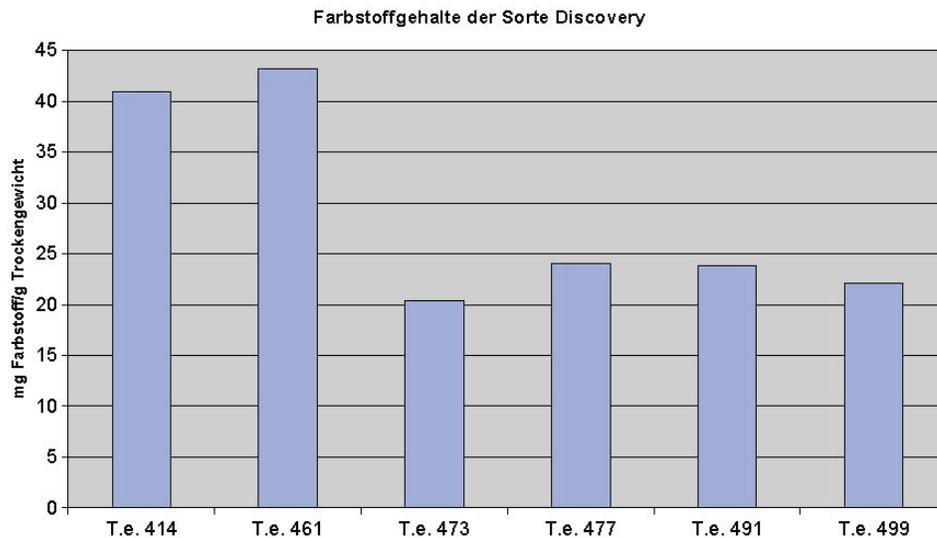
Der Farbstoffgehalt aller Sorten liegt im gleichen Bereich. Nur die Sorte Discovery zeichnet sich durch einen besonders hohen Farbstoffgehalt aus. Die gelben Blüten

der Antigua Gold, Atlantis Yellow und Doubloon enthalten weniger Farbstoff als die übrigen Sorten, die orange gefärbt sind. In den Proben der orange blühenden Sorten sind trotz der wässrigen Extraktion Spuren von Carotinoiden enthalten, die den Farbstoffgehalt beeinflussen.



Die Sorte Doubloon enthält geringere Farbstoffmengen als die übrigen Sorten. Der Gehalt schwankt mit dem Erntezeitpunkt kaum, der Unterschied zwischen Te 417 (7.8.00), Te 434 (16.8.00), Te 448 (22.8.00) und Te 490 (26.9.00) ist äußerst gering. Ein deutlicher Anstieg des Farbstoffgehaltes ist in den Proben Te 460 und Te 468 (beide 31.8.00) zu erkennen. Diese Sprossproben aus unterschiedlichen Saatreihen enthalten fast die doppelte Menge an Farbstoffen wie die vergleichbaren Blütenproben.

Ein ähnliches Bild wird bei der Untersuchung der Sorte Discovery beobachtet. Die Discovery, die im Sortenvergleich den höchsten Farbstoffgehalt aufwies, zeigt auch die größten Farbstoffschwankungen. Allerdings sind diese Abweichungen ebenso wie bei der Doubloon vom Erntezeitpunkt unabhängig.



Auch hier wurden 4 Blüten- und 2 Sprossproben miteinander verglichen. Die Blütenproben Te 473 (31.8.00), Te 491 (26.8.00) und Te 499 (26.9.00) unterscheiden sich kaum. Auch die Sprossprobe Te 477 (31.8.00) hat nur einen geringfügig höheren Farbstoffanteil. Dagegen sind die Farbstoffmengen in der Sprossprobe Te 461 (ebenfalls 31.8.00) und der Blütenprobe Te 414 (7.8.00) deutlich erhöht. Diese beiden Proben wurden Pflanzen einer anderen Saatreihe entnommen. Der Standort der Pflanze hat also erhebliche Auswirkungen auf die Farbstoffproduktion, selbst wenn man geringe Verunreinigungen durch Sprossbeimengung in der Probe Te 414 beachtet. Denn der Vergleich mit der reinen Sprossprobe Te 477 zeigt, dass der hohe Farbstoffgehalt der Nr. 414 nicht durch diese Beimengungen allein erklärt werden kann.

Aufbauend auf den Erkenntnissen dieser Farbstoffquantifizierung wurden weitere Anbauversuche im Ökologisch-Botanischen Garten der Universität Bayreuth unternommen.

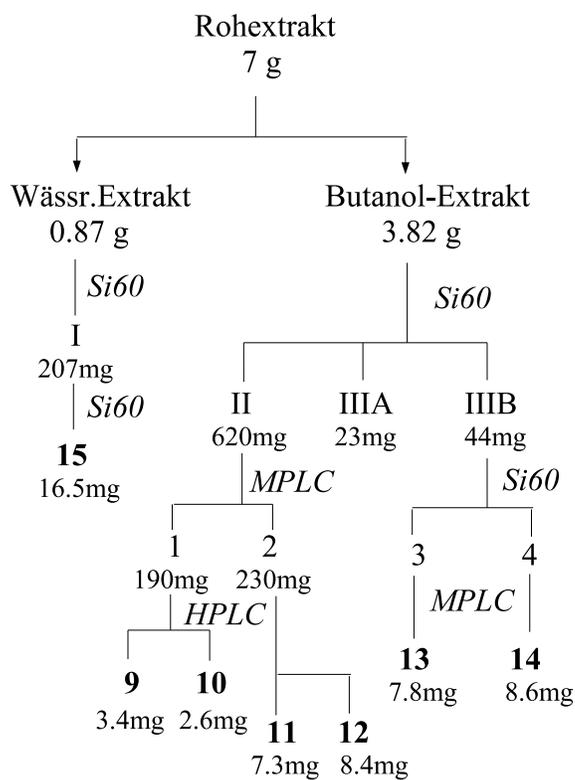
## 3.2 Heilpflanzen

### 3.2.1 *Fagerlindia depauperata*

#### Beschreibung

*Fagerlindia depauperata* (Drake) Tirv. ist eine seltene Pflanze aus der Familie der Rubiaceae. Diese weit verbreitete Familie, die aus ca. 600 Genera mit nahezu 6000 Spezies besteht, ist neben der häufigen Anwesenheit von Kämpferol oder Quercetin für ihren Iridoidgehalt bekannt [78]. Die Art *Fagerlindia* ist in den tropischen Gebieten Südostasiens und Malaysias heimisch [79], die vorliegende Spezies stammt aus den tropischen Wäldern Vietnams.

Abb. 10: Aufarbeitungsschema von *Fagerlindia depauperata*



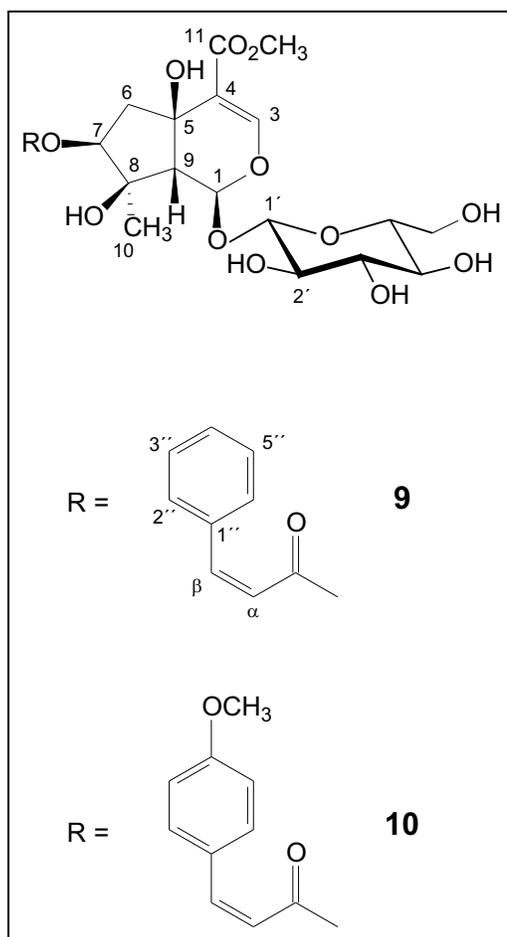
## Strukturermittlung

Aus dem ESI-MS ergibt sich für **9** eine Molekülmasse von 552 ( $m/z$  575  $[M+Na]^+$ ). Das  $^1H$ -NMR-Spektrum lässt sich in drei Bereiche aufteilen. Zunächst der Zuckerbereich, der belegt, dass das Iridoid glycosyliert vorliegt. Weiterhin existiert ein Aromaten-Bereich, der drei Protonenresonanzen eines einfach substituierten Aromaten enthält. Die übrigen beiden Signale sind die beiden Protonen einer cis-Doppelbindung (6.09 und 7.03 ppm,  $J=12.3$  Hz). Daher handelt es sich bei diesem Substituenten um cis-Zimtsäure. Die dritte Gruppe von acht Resonanzsignalen reicht nahezu über das gesamte Protonenspektrum und überschneidet sich mit den übrigen beiden Bereichen. Bei dem am stärksten tieffeldverschobenen Signal bei 7.43 ppm handelt es sich um das Doppelbindungsproton in Position 3. Das zugehörige Kohlenstoffatom zeigt im HMBC-Spektrum einen Crosspeak zu dem Signal von H-1 (5.81 ppm). Dieses Proton besitzt im  $^1H,^1H$ -COSY einen schwachen Crosspeak zu der Resonanz von H-9 bei 2.85 ppm. Sowohl H-1 als auch H-9 liegen als Singulett vor, was bedeutet, dass diese beiden Protonen nahezu senkrecht zueinander stehen müssen. Daher liegt hier ein cis-verknüpftes Iridoid vor. Bei den seltenen trans-Iridoiden liegt H-1 als Dublett mit einer Kopplungskonstante von 9-10 Hz vor, zudem ist das C-1-Signal 8-9 ppm tieffeldverschoben [80]. H-1 besitzt weiterhin einen HMBC-Crosspeak zu C-5 bei 69.0 ppm. Weitere HMBC-Crosspeaks von C-5 gehen zu H-3 bei 7.43 ppm sowie zu H-7 bei 4.78 ppm. Letzteres Proton zeigt im  $^1H,^1H$ -COSY Crosspeaks zu den beiden Methylenprotonen bei 2.35 bzw. 2.46 ppm von Position 6. Die verbliebenen beiden Singuletts gehören zu Methylgruppierungen. Das Signal bei 3.73 ppm stellt die Methoxygruppe der 11-Esterfunktion dar. Belegt wird dies durch HMBC-Crosspeaks des Carbonyl-Kohlenstoffatoms zu den Methoxyprotonen und zu H-3. Die zweite Methylgruppe ist an das quartäre C-8 (78.6 ppm) gebunden. Aus dem HMBC-Experiment ist dies durch die vorhandenen Crosspeaks der H-10-Methylprotonen zu C-7 und C-9 ersichtlich. An das Iridoid-Grundgerüst ist in Position 1  $\beta$ -glycosidisch Glucose (HMBC-CP von H-1' zu C-1) und in Position 7 Zimtsäure (HMBC-CP von H-7 zum Carbonylkohlenstoff bei 167.0 ppm) gebunden.

Iridoid **10** unterscheidet sich nur geringfügig von Iridoid **9**. Aus dem ESI-MS ergibt sich eine um 30 erhöhte Molekülmasse ( $m/z$  605  $[M+Na]^+$ ,  $m/z$  582  $[M]^+$ ),

und aus dem  $^1\text{H-NMR}$  ist die Anwesenheit einer zusätzlichen Methoxygruppe (3.82 ppm) ersichtlich, welche sich als para-ständiger Substituent am Aromaten befindet. Dies wird im Aromatenbereich durch die beiden Signale eines AA'BB'-Systems deutlich, das den para-substituierten Aromaten belegt.

Iridoide mit dem Lamiid-Grundgerüst und einer cis-Doppelbindung im Zimtsäureteil sind selten gefunden worden und treten hauptsächlich in Verbenaceen der Gattung *Duranta* auf. Verbindung **9** ist das seltene, erstmals 1995 aus *Duranta erecta* isolierte Duranterectosid B [81]. Bei **10** handelt es sich dagegen um das bisher nur einmal gefundene Boucheosid [82].



**Abb. 11:** Duranterectosid B (**9**)  
und Boucheosid (**10**)

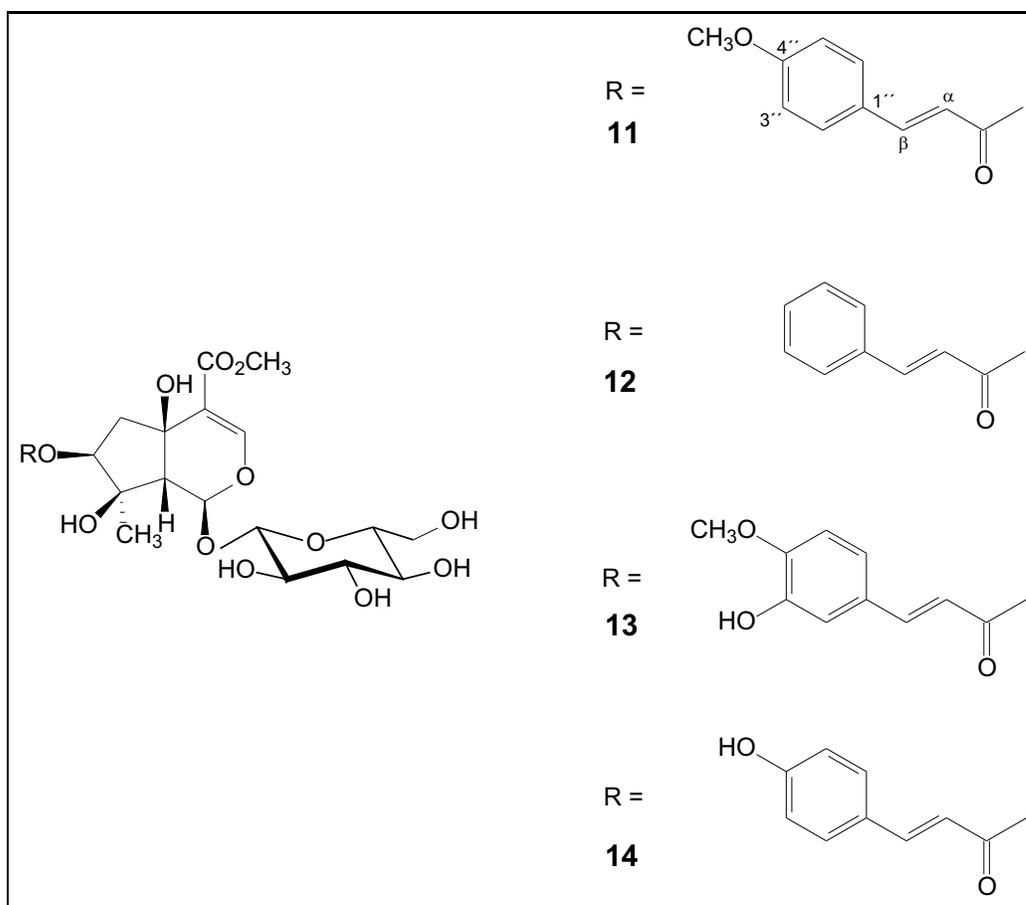
	<b>9</b>		<b>10</b>	
Position	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C
1	5.81	94.1	5.81	94.0
3	7.43	152.2	7.44	152.2
4	-	115.7	-	115.7
5	-	69.0	-	68.9
6	2.35/2.46	45.6	2.37/2.45	45.5
7	4.78	80.4	4.78	80.5
8	-	78.6	-	78.6
9	2.85	58.3	2.86	58.3
10	1.15	21.3	1.16	21.3
11	-	167.9	-	167.9
OMe	3.73	51.7	3.73	51.7
1'	4.60 <i>d</i> , 7.8Hz	99.6	4.60 <i>d</i> , 7.9Hz	99.6
2'	3.19	74.4	3.19	74.5
3'	3.36	77.5	3.36	77.5
4'	3.29	71.7	3.27	71.7
5'	3.34	78.6	3.32	78.6
6'	3.67/3.89	62.8	3.65/3.88	62.8
CO	-	167.0	-	167.0
$\alpha$	6.09 <i>d</i> , 12.3Hz	120.6	6.09 <i>d</i> , 12.5Hz	120.6
$\beta$	7.03 <i>d</i> , 12.3Hz	144.9	7.03 <i>d</i> , 12.5Hz	144.8
1''	-	134.6	-	131.6
2''	7.65	129.7	7.63	130.2
3''	7.33	131.1	7.13	114.5
4''	7.32	130.5	-	162.2
5''	7.33	131.1	7.13	114.5
6''	7.65	129.7	7.63	130.2
OMe			3.82	55.8

**Tab. 6:** <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten der Verbindungen **9** und **10** in CD<sub>3</sub>OD

Verbindung **11** besitzt dieselbe Molekülmasse wie **10** und zeigt kaum Veränderungen im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum. Zucker- und Iridoidbereich entsprechen sich, auch das AA'BB'-Spinsystem des Aromaten sowie die Methoxygruppe bei 3.82 ppm ist vorhanden. Deutlich unterscheiden sich jedoch die beiden Protonenresonanzen der Doppelbindung. Die Kopplungskonstante  $J_{\alpha,\beta}$  beträgt 16.0 Hz, und die Signale sind auf 6.47 ppm und 7.73 ppm tieffeldverschoben. Daher handelt es sich bei **11** um das trans-Isomer von **10**, Durantosid II.

Aus den NMR- und MS-Daten (ESI-MS:  $m/z$  575  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ) von **12** geht hervor, dass es sich bei dieser Verbindung um das Isomer von **9** handelt. An das Iridoid-Aglucon ist hier trans-Zimtsäure gebunden, diese Verbindung heißt Durantosid I.

Die  $^1\text{H}$ -Resonanzen der  $\alpha, \beta$ -Doppelbindungsprotonen (mit  $J_{\alpha,\beta} = 15.9\text{ Hz}$ ) von **13** und **14** zeigen deutlich, dass der Zimtsäureteil in diesen Verbindungen ebenfalls trans-konfiguriert vorliegt. Die drei aromatischen Protonensignale im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **13** weisen dabei auf einen dreifach substituierten Aromaten hin. Das HMBC-Spektrum legt das Vorhandensein der p-Methoxygruppe im Isoferulasäurerest nahe [83]. So existieren von C-4'' sowohl Crosspeaks zu H-6'' (7.07 ppm, d, 6.3 Hz) und H-2'' (7.09 ppm, bs) als auch zu den Protonen der Methoxygruppe. Dass es sich bei dem Substituenten an 3'' um eine Hydroxylfunktion handeln muss, wird durch den Molekülionenpeak bei  $m/z$  598 aus dem ESI-MS-Spektrum bestätigt. Daher handelt es sich bei **13** um Durantereosid A. Bei **14** dagegen ist wiederum ein AA'BB'-Spinsystem des Aromaten erkennbar. Wegen des fehlenden Methoxygruppensignals und der Molekülmasse von 568 liegt hier trans-*p*-Cumarsäure als Substituent vor, die Verbindung kann als Lamiidosid identifiziert werden. Während **11** und **12** in Verbenaceen häufig sind und bereits 1974 erstmals beschrieben wurden [84] und auch **14** vermehrt auftritt, ist **13** bisher nur in *Duranta erecta* gefunden worden [81].



**Abb. 12:** Durantosid II (**11**), Durantosid I (**12**), Duranterectosid A (**13**)  
und Lamiidosid (**14**)

	<b>11</b>		<b>12</b>		<b>13</b>		<b>14</b>	
Pos.	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C						
1	5.84	94.1	5.85	94.1	5.83	94.1	5.84	94.1
3	7.45	152.2	7.45	152.2	7.45	152.2	7.44	152.2
4	-	115.7	-	115.7	-	115.7	-	115.6
5	-	69.0	-	69.0	-	69.0	-	69.0
6	2.38/2.48	45.6	2.39/2.48	45.6	2.39/2.48	45.6	2.38/2.46	45.6
7	4.83	80.5	4.85	80.7	4.83	80.5	4.82	80.5
8	-	78.7	-	78.7	-	78.7	-	78.7
9	2.94	58.4	2.94	58.4	2.93	58.3	2.93	58.4

*Fortsetzung nächste Seite*

Tabellenfortsetzung

Pos.	<b>11</b>		<b>12</b>		<b>13</b>		<b>14</b>	
	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C						
10	1.17	21.3	1.17	21.3	1.16	21.3	1.16	21.3
11	-	167.9	-	167.9	-	167.9	-	167.9
OMe	3.73	51.7	3.74	51.8	3.73	51.7	3.73	51.7
1'	4.62 <i>d</i> , 7.8Hz	99.7	4.62 <i>d</i> , 7.9Hz	99.7	4.62 <i>d</i> , 8.1Hz	99.7	4.61 <i>d</i> , 7.3Hz	99.7
2'	3.19	74.5	3.19	74.5	3.20	74.5	3.19	74.5
3'	3.37	77.5	3.37	77.5	3.38	77.6	3.37	77.5
4'	3.28	71.7	3.27	71.7	3.26	71.8	3.25	71.7
5'	3.31	78.4	3.32	78.4	3.35	78.7	3.32	78.4
6'	3.65/3.88	62.8	3.65/3.89	62.8	3.68/3.89	62.8	3.64/3.88	62.8
CO	-	168.5	-	168.1	-	168.5	-	168.7
$\alpha$	6.47 <i>d</i> , 16.0Hz	116.5	6.62 <i>d</i> , 16.0Hz	119.3	6.41 <i>d</i> , 15.9Hz	116.5	6.42 <i>d</i> , 15.9Hz	115.8
$\beta$	7.73 <i>d</i> , 16.0Hz	146.3	7.78 <i>d</i> , 16.0Hz	146.4	7.66 <i>d</i> , 15.9Hz	146.7	7.72 <i>d</i> , 15.9Hz	146.2
1''	-	133.6	-	135.6	-	129.0	-	127.3
2''	7.57	131.0	7.62	129.3	7.09	115.7	7.47	131.2
3''	6.96	115.4	7.41	130.0	-	151.5	6.80	116.8
4''	-	163.2	7.40	131.5	-	148.0	-	161.3
5''	6.96	115.4	7.41	130.0	6.94	112.5	6.80	116.8
6''	7.57	131.0	7.62	129.3	7.07 <i>d</i> , 6.3Hz	122.8	7.47	131.2
OMe	3.82	55.9			3.87	56.3		

Tab. 7: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten der Verbindungen **11-14** in CD<sub>3</sub>OD

Das <sup>1</sup>H-NMR von **15** zeigt die Signale eines Iridoidglucosids. Es fehlen die Signale der bei den Iridoiden **9-14** gefundenen Zimtsäuren. Die Auswertung der NMR-Spektren und der Vergleich mit den bisher identifizierten Iridoiden zeigt, dass es sich bei diesem einfacheren Iridoidglucosid mit der Masse 422 um Lamiid

handelt. Damit enthält *Fagerlindia depauperata* eine Vielzahl von Iridoiden, die als biologisch aktiv gelten und als das Wirkprinzip vieler Heilpflanzen angesehen werden [?]itha, otsuka.

Pos.	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
1	5.81	94.4
3	7.43	152.5
4	-	115.4
5	-	69.2
6	2.24/2.35	46.7
7	3.51	77.5
8	-	79.1
9	2.78	58.3
10	1.08	21.3
11	-	168.0
OMe	3.73	51.8
1'	4.58 <i>d</i> , 7.9Hz	99.5
2'	3.17	74.7
3'	3.36	77.5
4'	3.27	71.8
5'	3.29 <i>m</i>	78.4
6'	3.64/3.89	62.8

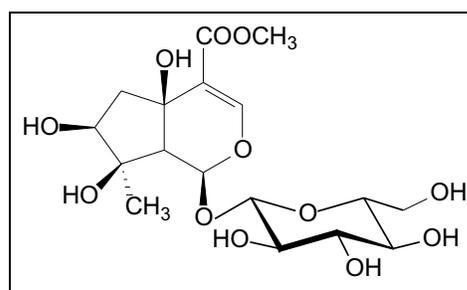


Abb. 13: Lamiid (15)

Tab. 8:  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von **15** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

### 3.2.2 *Atriplex semibaccata*

#### Beschreibung

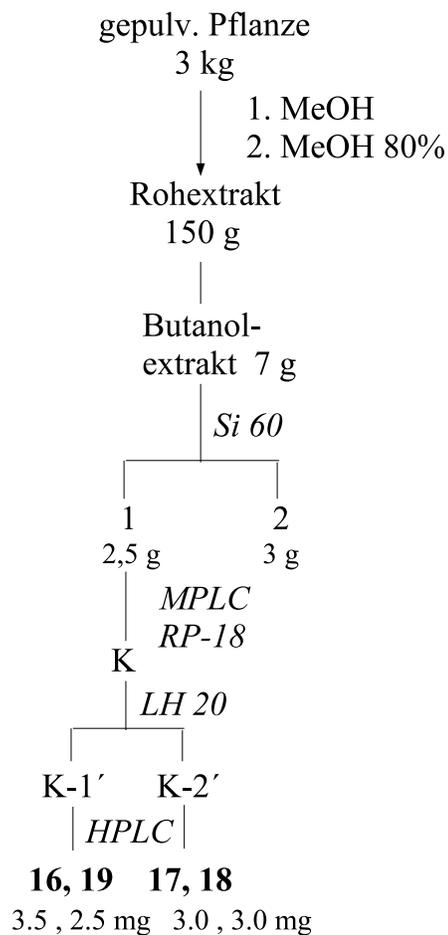
*Atriplex semibaccata* R. Br. ist ein einjähriges, bodendeckendes Kraut aus der Familie der Chenopodiaceen (Gänsefußgewächse). Sie wächst in kleinen, buschigen Hügeln, aus einer verholzten Pfahlwurzel entspringen 20-150 cm lange Sprosse, die stark verzweigt sind. An diesen 30-100 cm



langen Zweigen sitzen viele kleine silbrig-grüne Blätter, die Blüten befinden sich entweder an den Enden oder in kleinen Clustern an den Zweigen [85]. Daraus entstehen kleine, fleischige Früchte von leuchtend roter Farbe. Die Früchte können auch für Menschen als Nahrungsquelle dienen und werden von einigen Tieren, wie etwa Meerschweinchen, besonders gern gefressen.

*Atriplex semibaccata*, die auch australischer Salzbusch genannt wird, toleriert salzreiche, trockene Böden. In Australien dient die genügsame Pflanze wegen dieser Eigenschaften und ihrer Früchte zur Anlockung von Vögeln in verödete und von Tieren verlassene Gebiete. *Atriplex semibaccata* wird zudem als Erosionsschutz und zur Wiederbesiedelung von verödetem oder abgeweidetem Land eingesetzt und gilt als feuerhemmend [86]. Auch bei der Entgiftung verseuchter Gebiete wird diese Pflanze zur Entfernung toxischer Metalle wie etwa Selen [87] eingesetzt.

Trotz dieser bemerkenswerten Eigenschaften, der Einstufung als gesundheitsschädliche Pflanze und des allgemein hohen Saponingehalts der Chenopodiaceen ist *Atriplex semibaccata* bisher nicht auf Saponine untersucht worden.

Abb. 14: Aufarbeitungsschema von *Atriplex semibaccata*

### Strukturaufklärung

Die LSI-MS-Daten (negativer Ionenmodus) aller vier Verbindungen stimmen mit zweifach glycosylierten Triterpenen überein. Der Verlust einer Hexose-Einheit ist in jedem Massenspektrum eindeutig am Fragment-Ion  $[M-1-162]^-$  erkennbar. Aus den MS- sowie  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Daten lassen sich nun die Summenformeln bestimmen.

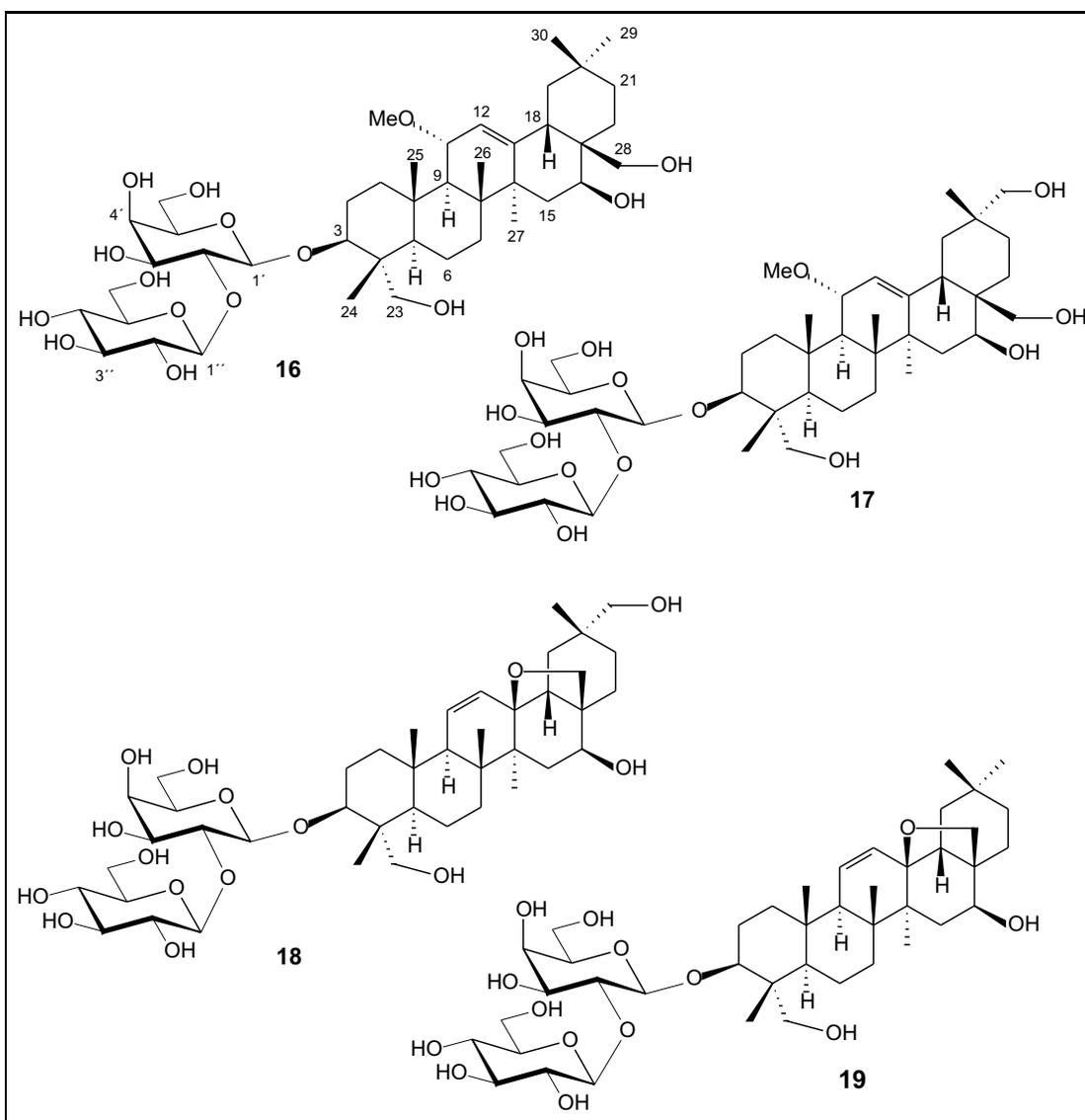


Abb. 15: *Atriplex semibaccata*- Saponine 16-19

Das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von **16** lässt sich in drei Bereiche einteilen. Die Hochfeldsignale sind dem Grundgerüst des Triterpens zuzuordnen. Er überschneidet sich geringfügig mit dem direkt anschließenden sogenannten Zuckerbereich von 62-105 ppm. Im Bereich 3 liegen die Signale der Doppelbindung. Ein charakteristisches Signal des Aglycons ist das von C-3 bei 83.7 ppm, da es abgesehen von den Doppelbindungssignalen das am höchsten verschobene des Triterpens ist. Die Position 3 ist somit ein idealer Ausgangspunkt zur weiteren Zuordnung, da so-

wohl mit Hilfe des HMBC- als auch des  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrums startend von H-3 die benachbarten Signale zugeordnet werden können. Nach und nach erhält man auf diese Weise die chemischen Verschiebungen des gesamten Ringsystems des Triterpens. Die Tieffeldverschiebung der Signale von C-11 (77.5 ppm) und C-16 (67.2 ppm) belegen das Vorhandensein einer Hydroxyfunktion in Position 16 und einer Methoxygruppe in Position 11, welche durch den HMBC-Crosspeak des C-11 zu den Protonen der Methoxygruppe (3.22 ppm) bestätigt wird. Bei dem Aglycon der Verbindung **16** handelt es sich demnach um 11 $\alpha$ -Methoxy-23-hydroxy-longispinogenin. Dieses Aglycon ist bereits in Saikosaponin b3 [90] und Saikosaponin t [91] enthalten. Die Zuordnung der axial und äquatorial ausgerichteten Protonen erfolgte mit Hilfe des ROESY-Spektrums. Der Crosspeak zwischen dem Proton H-16ax (4.26 ppm) und den Protonen der Methylgruppe 3H-27ax sowie die Kopplungskonstante von H-16 ( $J_{15ax,16ax}$ ) = 11.5 Hz bestätigen die  $\beta$ -Konfiguration der 16-OH-Funktion. Die ROESY-Crosspeaks zwischen H-11ax/3H-25ax und H-11ax/3H-26ax beweisen die  $\alpha$ -Konfiguration der 11-Methoxy-Gruppe.

Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum zeigen die beiden anomeren Protonensignale bei 4.46 ppm ( $J$  = 7.8 Hz) und 4.66 ( $J$  = 7.7 Hz) die Anwesenheit zweier  $\beta$ -glycosidisch verknüpfter Monosaccharideinheiten [88], die anhand der vorliegenden NMR-Spektren als Galacto- und Glucopyranose identifiziert wurden. Sowohl das ROESY- als auch das HMBC-Spektrum belegt die Verknüpfung der Galactose an das Aglycon in Position 3. Deutlich wird dies durch einen ROESY-Crosspeak zwischen H-1' (Galactose) und H-3 und einen HMBC-Crosspeak C-3/H-1' (Galactose). Die innerglycosidische Verknüpfung von der Glucose zur Galactose wird durch den Crosspeak im ROESY-Spektrum von H-2' (Galactose) zu H-1'' (Glucose) und den HMBC-CP C-2'/H-1'' bewiesen. Daher handelt es sich bei Verbindung **16** um das neue Triterpensaponin 3-O- $\{[\beta\text{-D-Glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)}]\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}\}$ -11 $\alpha$ -methoxy-23-hydroxy-longispinogenin.

Aus den  $^1\text{H}$ -NMR-,  $^{13}\text{C}$ -NMR- und MS-Spektren von **17** ergibt sich, dass diese Verbindung ein Sauerstoffatom mehr besitzt als **16**. Das Triterpensaponin gleicht in weiten Teilen der vorangegangenen Verbindung, es gibt nur geringe Abweichungen. Die Hydroxymethylgruppe in Position 29 verursacht eine Tieffeldver-

schiebung des C-20-Signals ( $\Delta\delta = + 5.2$ ) sowie Hochfeldverschiebungen der C-19- ( $\Delta\delta = - 5.7$ ), C-21- ( $\Delta\delta = - 5.7$ ) und C-30-Signale ( $\Delta\delta = - 4.5$ ). Die äquatoriale Stellung der 29-Hydroxymethylgruppe wird im ROESY-Spektrum anhand des Crosspeaks der axialen Methylgruppe 3H-30 zum axialen Proton H-18 belegt. An das Aglycon ist in Position 3 das gleiche Disaccharid wie in **16** gebunden. Somit lässt sich die Struktur des neuen Triterpensaponins **17** als 3-O- $\{[\beta\text{-D-Glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)}]\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}\}$ -11 $\alpha$ -methoxy-23,29-dihydroxy-longispinogenin angeben.

Die Saponine **16** und **17** haben vergleichbare Strukturen wie Saikosaponin b3 und Bupleurosid IX, die hepatoprotektive Eigenschaften aufweisen. Dabei sind das Vorhandensein eines Sauerstoffatoms in Position 11, die 16 $\beta$ -Hydroxygruppe und das 3-O-Diglycosid essentiell für die Aktivität [90].

Die spektralen Daten von **18** ergeben, dass es sich bei dem Aglycon um 29-Hydroxysaikogenin F und bei der Zuckereinheit um das gleiche Disaccharid wie in den vorigen beiden Verbindungen **16** und **17** handelt. Auch hier lässt sich aus dem HMBC-Crosspeak C-3/H-1' die Verknüpfung der Galactose in Position 3 des Aglycons ableiten. Bei dieser neuen Verbindung handelt es sich daher um 3-O- $\{[\beta\text{-D-Glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)}]\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}\}$ -29-hydroxysaikogenin F.

Bei Saponin **19** geht aus den  $^1\text{H-NMR}$ -,  $^{13}\text{C-NMR}$ - und MS-Daten hervor, dass diese Verbindung ein Sauerstoffatom weniger enthält als **18**. Die Auswertung der Spektren ergibt, dass die Methylgruppe in Position 29 nicht hydroxyliert ist und das Aglycon dieser Verbindung bereits im Clinoposaponin XII gefunden wurde [92]. Die Disaccharideinheit von **19** entspricht der der drei vorangegangenen Saponine. Die Struktur dieses ebenfalls neuen Triterpensaponins kann somit als 3-O- $\{[\beta\text{-D-Glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)}]\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}\}$ -saikogenin F angegeben werden. Das Aglycon dieser Verbindung ist auch im Songarosaponin C beschrieben, welches aus *Verbascum songaricum* isoliert wurde [93] und hohe immunsuppressive Wirkung besitzt [94].

Position	<b>16</b>		<b>17</b>	
	<sup>1</sup> H ax/äq	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H ax/äq	<sup>13</sup> C
1	1.21/1.83	40.8	1.22/1.84	40.8
2	1.76/1.93	26.7	1.77/1.94	26.7
3	3.64	83.7	3.64	83.7
4	-	44.6	-	44.5
5	1.26	48.3	1.25	48.4
6	1.42/1.56	18.9	1.41/1.57	18.9
7	1.67/1.28	33.8	1.67/1.28	33.8
8	-	44.4	-	44.4
9	1.73	52.8	1.73	52.9
10	-	38.8	-	38.8
11	3.87	77.5	3.86	77.2
12	5.42	123.1	5.43	123.2
13	-	149.1	-	149.1
14	-	44.6	-	44.7
15	1.76/1.40	36.6	1.76/1.40	36.6
16	4.26 <i>dd</i> , 11.5,5.0Hz	67.2	4.26 <i>dd</i> , 11.8,5.1Hz	67.3
17	-	41.6	-	41.8
18	2.28	44.4	2.28	43.7
19	1.72/1.13	47.6	1.81/1.08	41.9
20	-	31.7	-	36.9
21	1.45/1.21	34.7	1.52/1.16	29.0
22	1.45/2.12	25.7	1.50/2.13	24.9
23	3.29/3.77	64.8	3.29/3.76	64.8
24	0.74	13.3	0.75	12.4
25	1.11	18.0	1.10	18.0
26	1.05	18.7	1.06	18.7
27	1.31	26.6	1.33	26.6
28	3.27/3.81	68.3	3.27/3.81	68.3
29	0.91	33.6	3.19/3.23	74.5
30	0.95	24.2	0.94	19.7
OMe	3.22	54.4	3.22	54.4

**Tab. 9:** <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten der Aglyca von **16** und **17** in CD<sub>3</sub>OD

Position	18		19	
	<sup>1</sup> H ax/äq	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H ax/äq	<sup>13</sup> C
1	0.92/1.82	39.2	0.92/1.83	39.2
2	1.81/1.99	26.4	1.82/2.01	26.4
3	3.64	83.7	3.64	83.7
4	-	44.3	-	44.3
5	1.17	48.0	1.19	48.0
6	1.54	18.2	1.54	18.2
7	1.54/1.20	32.1	1.54/1.22	32.3
8	-	43.0	-	42.9
9	1.89	54.0	1.88	53.9
10	-	37.0	-	37.0
11	5.94 d, 10.3Hz	134.3	5.94 d, 10.3Hz	134.3
12	5.38 10.3,2.8Hz	130.5	5.37 10.3,2.6Hz	130.5
13	-	85.8	-	85.7
14	-	46.4	-	46.5
15	1.59/1.42	36.0	1.58/1.44	35.9
16	4.16 dd, 9.9,5.8Hz	65.4	4.16 dd, 9.8,5.7Hz	65.4
17	-	47.8	-	47.6
18	1.81	52.3	1.79	53.1
19	1.86/1.22	32.8	1.78/1.28	38.5
20	-	37.6	-	32.1
21	1.56/1.12	29.6	1.45/1.22	35.2
22	1.28/2.08	25.5	1.26/2.07	26.1
23	3.27/3.77	64.6	3.28/3.77	64.4
24	0.71	12.7	0.71	12.7
25	0.94	18.8	0.94	18.8
26	1.08	20.2	1.08	20.2

*Fortsetzung nächste Seite*

## Tabellenfortsetzung

	<b>18</b>		<b>19</b>	
	<sup>1</sup> H ax/eq	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H ax/eq	<sup>13</sup> C
27	1.05	21.2	1.03	21.2
28	3.05/3.88	73.3	3.04/3.88	73.4
29	3.23	74.6	0.97	33.9
30	0.89	19.7	0.91	24.1

Tab. 10: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten der Aglyca von **18** und **19** in CD<sub>3</sub>OD

Pos.	<b>16</b>		<b>17</b>		<b>18</b>		<b>19</b>	
	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C						
Gal								
1´	4.46 <i>d</i> , 7.8Hz	104.9	4.45 <i>d</i> , 7.8Hz	104.9	4.45 <i>d</i> , 7.8Hz	104.9	4.45 <i>d</i> , 7.8Hz	104.9
2´	3.83 <i>dd</i> , 7.8,9.4Hz	79.6	3.81 <i>dd</i> , 7.8,9.4Hz	79.6	3.81 <i>dd</i> , 7.8,9.7Hz	79.7	3.82 <i>dd</i> , 7.8,9.6Hz	79.6
3´	3.67 <i>dd</i> , 9.4,3.2Hz	75.5	3.67 <i>dd</i> , 9.4,3.2Hz	75.5	3.67 <i>dd</i> , 9.7,3.4Hz	75.5	3.67 <i>dd</i> , 9.6,3.2Hz	75.5
4´	3.84 <i>dd</i> , 3.2Hz	70.4	3.83 <i>dd</i> , 3.2Hz	70.7	3.82 <i>dd</i> , 3.4Hz	70.3	3.84 <i>dd</i> , 3.2Hz	70.3
5´	3.49, 6.1Hz	76.2	3.49, 6.1Hz	76.2	3.48, 6.1Hz	76.2	3.49, 6.0Hz	76.2
6´	3.71, 6.1,2.5Hz	62.3	3.72, 6.1,2.5Hz	62.3	3.71, 6.1,2.7Hz	62.3	3.71, 6.0,2.9Hz	62.3

Tab. 11: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten der Saccharidkomponenten von **16-19** in CD<sub>3</sub>OD (Teil 1)

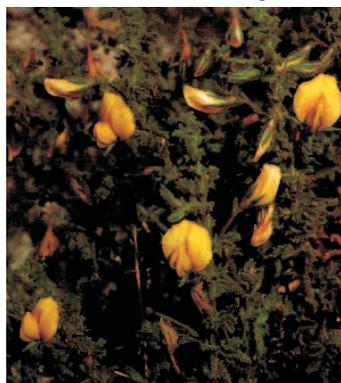
	16		17		18		19	
Pos.	<sup>1</sup> H	<sup>13</sup> C						
Glc								
1''	4.66 <i>d</i> , 7.7Hz	104.6						
2''	3.23 <i>dd</i> , 7.7,8.9Hz	76.2	3.23 <i>dd</i> , 7.7,8.8Hz	76.2	3.23 <i>dd</i> , 7.7,8.9Hz	76.2	3.23 <i>dd</i> , 7.7,8.8Hz	76.2
3''	3.37 <i>dd</i> , 8.9Hz	77.9	3.36 <i>dd</i> , 8.8Hz	77.5	3.35 <i>dd</i> , 8.9Hz	77.9	3.36 <i>dd</i> , 8.8Hz	77.9
4''	3.26 <i>dd</i> , 8.9Hz	71.8	3.26 <i>dd</i> , 8.8Hz	71.9	3.24 <i>dd</i> , 8.9Hz	71.8	3.26 <i>dd</i> , 8.8Hz	71.8
5''	3.26, <i>m</i>	78.3	3.26, <i>m</i>	78.6	3.25, <i>m</i>	78.3	3.26, <i>m</i>	78.3
6''	3.64/3.84, 11.9Hz	62.9	3.63/3.83, 11.9Hz	63.0	3.63/3.82, 11.9Hz	62.9	3.64/3.84, 11.9Hz	62.9

Tab. 11: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten der Saccharidkomponenten von **16-19** in CD<sub>3</sub>OD (Teil 2)

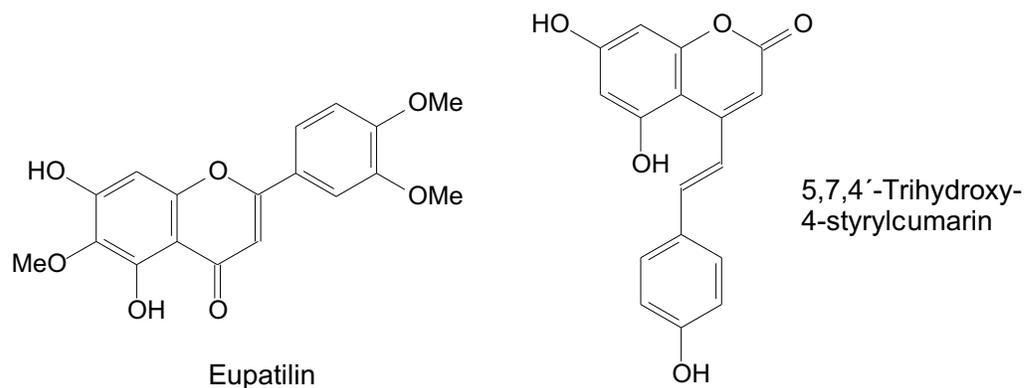
### 3.2.3 *Ononis vaginalis*

#### Beschreibung

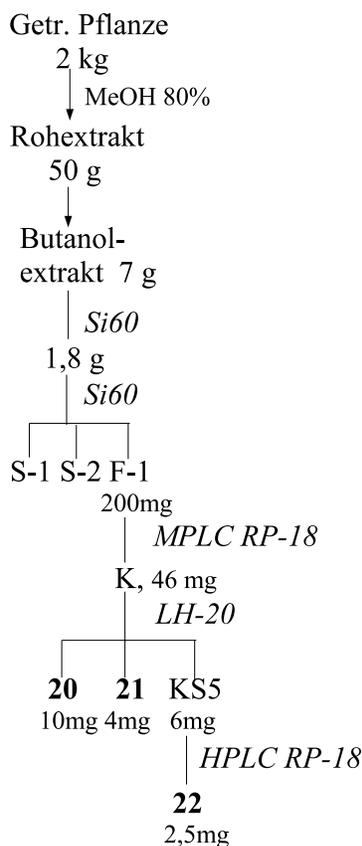
*Ononis vaginalis* Vahl. ist ein bis zu 50 cm hoher Strauch der Gattung *Ononis* (Hauhechel) aus der Familie der Fabaceen, der in Kleinasien und im nordafrikanischen Raum verbreitet ist. Die aufrechten Sprosse tragen aufsteigende Äste, die dicht mit grauhaarigen Blättern besetzt und mit gelben Blüten versehen sind. Die gesamte Pflanze ist klebrig und filzig [4]. *Ononis vaginalis* kommt ebenso wie 7 weitere Arten dieser Gattung in Ägypten vor. Nahezu alle werden in der Volksmedizin verwendet.



Sie werden vor allem bei Gelbsucht, Nierensteinen, Nierenentzündungen und bei einigen Hauterkrankungen eingesetzt [95]. Dennoch wurde *Ononis vaginalis*, welche zudem leichte antibiotische und antivirale Eigenschaften besitzt, bisher nur wenig untersucht. Aus den Blüten wurden einige bekannte Flavonoide wie Apigenin, Trifolin und Eupatilin isoliert [98]. Letzteres ist besonders interessant, da einige neuere Untersuchungen erwiesen haben, dass es stark antimutagen wirkt sowie hepatoprotektive und antiinflammatorische Eigenschaften aufweist [97,98].



In einer weiteren Veröffentlichung wurden die Wurzeln dieser Pflanze auf ihre Inhaltsstoffe hin untersucht. Neben einigen bekannten Pterocarpanen enthalten diese ungewöhnliche phenolische Verbindungen wie 5,7,4'-Trihydroxy-4-styrylcumarin [96], welches schwach cytotoxisch ist und stark antivirale Aktivität gegen *Herpes simplex* Typ 1 besitzt.

Abb. 16: Aufarbeitungsschema von *Ononis vaginalis*

### Strukturbestimmung

Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **20** sind neben den Signalen einer Hexose 8 Protonenresonanzen des Aglycons zu sehen. Die Kopplungskonstanten der aromatischen Protonensignale zeigen ein ABX- und ein AA'BB'-Spinsystem. Dies wird durch das  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY-Experiment bestätigt. Bei dem ABX-System mit den Resonanzen bei 7.36 ppm (d, 8.4 Hz), 6.57 ppm (dd, 8.4, 1.9 Hz) und 6.78 ppm (d, 1.9 Hz) handelt es sich um den A-Ring des Flavonoids, wie der HMBC-Crosspeak von H-5 (7.36 ppm) zu dem Kohlenstoff C-4 (176.5 ppm) belegt. Im HMBC-Spektrum erhält man über die Crosspeaks zu den Signalen C-4 und C-10 (112.6 ppm) die Resonanz von H-3 (6.11 ppm). Ein weiterer Crosspeak dieses Protons zu einer  $^{13}\text{C}$ -Resonanz bei 169.0 ppm ermöglicht die Zuordnung dieses Signals

zu C-2. Das zweite aromatische Spinsystem gehört den Protonen des B-Rings. Die Tieffeldverschiebung des C-4'-Signals (157.2 ppm) deutet auf eine Hydroxygruppe in dieser Position hin. Die Signale C-1'(128.0 ppm) und C-2'(131.9 ppm) zeigen HMBC-Crosspeaks zu den Protonen der Methylengruppe in Position 12. Diese beiden Protonen bei 2.77 ppm ( $J_{AM}$  14.6,  $J_{MX}$  6.6 Hz) und 3.20 ppm ( $J_{AM}$  14.6,  $J_{AX}$  3.0 Hz) gehören zu einem AMX-Spinsystem, dem noch H-11 (6.11 ppm) angehört. Diese Verknüpfung ist im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Experiment erkennbar. Die Anbindung der Phenylethanolinheit an den Pyranring lässt sich im HMBC-Experiment durch den Crosspeak zwischen den Signalen H-3 und C-11 (86.3 ppm) belegen. Das Vorhandensein einer Hexose wird durch die  $^1\text{H}$ -NMR-,  $^{13}\text{C}$ -NMR- und MS-Daten bewiesen. Das ESI-MS-Spektrum zeigt einen Molekülmassenpeak bei  $m/z$  460  $[\text{M}]^+$  und einen um eine Hexose-Einheit verringerten Massenpeak bei  $m/z$  298  $[\text{M-Glc}]^+$ . Aus den NMR-Experimenten geht hervor, dass in Position 7 des Aglycons  $\beta$ -D-Glucopyranose gebunden ist (H-1 bei 5.01 ppm, d, 7.1 Hz). Bei Verbindung **20** handelt es sich demnach um das bereits in unserer Arbeitsgruppe aus *Ononis vaginalis* isolierte Mirkoinglucosid [94]. Die (*R*)-Konfiguration in Position 11 wurde von M. Bernhardt über den Abbau zu (*R*)-*p*-Hydroxyphenylmilchsäure und GC an chiraler Phase bestimmt.

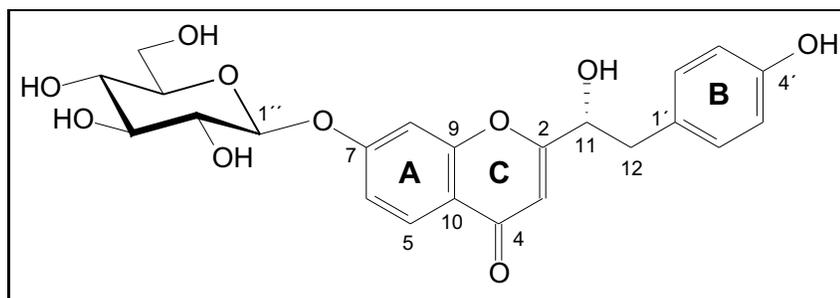


Abb. 17: Mirkoinglucosid (**20**)

Position	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	Position	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
2	-	169.0	1'	-	128.0
3	6.11	113.6	2'	6.91	131.9
4	-	176.5	3'	6.61	115.8
5	7.36 <i>d</i> , 8.4Hz	132.6	4'	-	157.2
6	6.57 <i>dd</i> , 8.4, 1.9Hz	111.5	5'	6.61	115.8
7	-	158.9	6'	6.91	131.9
8	6.78 <i>d</i> , 1.9Hz	103.7	1''	5.01 <i>d</i> , 7.1Hz	101.9
9	-	163.7	2''	3.41-3.47	74.7
10	-	112.6	3''	3.41-3.47	78.5
11	6.11	86.3	4''	3.41-3.47	71.2
12	2.77 (AMX, $J_{AM}=14.6$ , $J_{MX}=6.6\text{Hz}$ ) 3.20 (AMX, $J_{AM}=14.6$ , $J_{AX}=3.0\text{Hz}$ )	39.4	5''	3.50	78.3
			6''	3.74/3.95	62.5

**Tab. 12:**  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von **20** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **21** kann in zwei Bereiche aufgeteilt werden. Zunächst in den Zuckerbereich, in dem das Vorhandensein zweier anomerer Protonen (5.55 ppm und 4.96 ppm) die Gegenwart von zwei Monosaccharideinheiten belegt. Beginnend bei ca. 6 ppm folgt der zweite Bereich, in dem aromatische und Doppelbindungsprotonen zu finden sind. Von den 8 Protonensignalen in diesem Bereich gehören zwei zu einer Doppelbindung, von den übrigen 6 Resonanzen gehören je 2 in ein aromatisches Spinsystem. Im A-Ring befinden sich die meta-ständigen Protonen H-6 (6.40 ppm, *d*, 1.8 Hz) und H-8 bei 6.65 ppm (*d*, 1.8 Hz). Beide Signale zeigen einen HMBC-Crosspeak zu C-7 (164.6 ppm), das aufgrund seiner Tieffeldverschiebung hydroxyliert vorliegen muss. Gleiches gilt für C-5 (162.8 ppm). Die Protonen des B-Rings weisen das Muster eines AA'BB'-Spinsystems auf. Die Verknüpfung zum Pyranring wird im HMBC-Experiment durch den Crosspeak von H-2' (7.98 ppm) zu C-2 (158.9 ppm) belegt. Das zweite AA'BB'-Spinsystem



Position	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
2	-	158.9
3	-	135.3
4	-	179.5
5	-	162.8
6	6.40 <i>d</i> , 1.8Hz	100.7
7	-	164.6
8	6.65 <i>d</i> , 1.8Hz	95.7
9	-	157.9
10	-	107.6
1'	-	122.4
2'	7.98 <i>d</i> , 8.6Hz	132.4
3'	6.83 <i>d</i> , 8.6Hz	116.4
4'	-	161.8
5'	6.83 <i>d</i> , 8.6Hz	116.4
6'	7.98 <i>d</i> , 8.6Hz	132.4
CO	-	168.7
$\alpha$	6.27 <i>d</i> , 15.7Hz	115.2
$\beta$	7.57 <i>d</i> , 15.7Hz	146.9
1''	-	127.2
2''	7.37 <i>d</i> , 8.4Hz	131.3
3''	6.76 <i>d</i> , 8.4Hz	116.9
4''	-	161.3
5''	7.37 <i>d</i> , 8.4Hz	116.9
6''	6.76 <i>d</i> , 8.4Hz	131.3

Position	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
Gal		
1''''	5.55 <i>d</i> , 8.4Hz	100.9
2''''	5.29	74.3
3''''	3.71 <i>dd</i> , 10.0,3.0 Hz	73.3
4''''	3.85	70.5
5''''	3.49	77.8
6''''	3.65	62.1
Glc		
1'''''	4.96 <i>d</i> , 6.9Hz	101.1
2'''''	3.45	74.7
3'''''	3.52	77.5
4'''''	3.42	71.2
5'''''	3.48	78.4
6'''''	3.64/3.85	62.4

Tab. 13:  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von **21** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

Aus den eindimensionalen  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ - NMR-Spektren und dem Massenspektrum lässt sich die Summenformel von Verbindung **22** ( $M_r$  610,  $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$ ) berechnen. Weiterhin erhält man aus dem LSI-MS-Experiment (neg. Modus) die Fragmentationenpeaks  $m/z$  609  $[\text{M-H}]^-$ ,  $m/z$  447  $[\text{M-H-Hex}]^-$  und  $m/z$  255  $[\text{M-H-Hex-Hex-OCH}_2]^-$ . Diese Spektrensätze weisen auf eine zweifach glycosylierte flavonoide Verbindung hin.

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **22** zeigt neben den Resonanzen zweier Hexosen 5 Signale im aromatischen Bereich, die zwei verschiedenen Spinsystemen angehören. Das stärker tieffeldverschobene Spinsystem besteht aus 2 Protonenresonanzen bei 7.25 ppm und 7.04 ppm, die aufgrund ihrer Kopplungskonstanten ( $J = 8.8$  Hz) in ortho-Position zueinander stehen müssen. Die übrigen drei Protonenresonanzen stellen das Spinsystem eines dreifach substituierten Aromaten dar. Dabei ist das Signal bei 7.19 ppm (d, 8.2 Hz) ortho-ständig zu dem Signal bei 6.46 ppm (dd, 8.2, 2.2 Hz), während dieses zusätzlich eine meta-Kopplung zu dem Protonensignal bei 6.37 ppm (d, 2.2 Hz) aufweist. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum sind noch 4 weitere Protonensignale zu beobachten, die nicht den beiden Hexosen und nicht den Aromaten angehören. Im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Experiment ist zu erkennen, dass sie sich an drei benachbarten Kohlenstoffatomen befinden müssen, da das Proton bei 5.55 ppm (H-11a, d, 6.8 Hz) einen Crosspeak zu 3.61 ppm (H-6a) und dieses Crosspeaks zu den beiden Protonenresonanzen der Methylengruppe (H-6 $\alpha$ ,  $\beta$ ) bei 3.62 ppm und 4.34 ppm zeigt. Die nach dem HMQC-Experiment zugehörigen Kohlenstoffe C-6 (68.0 ppm) und C-11a (79.7 ppm) weisen eine Verschiebung ins tiefe Feld auf, die einen Sauerstoff-Substituenten nahe legt. Im HMBC-Experiment sieht man Crosspeaks des C-11a zu H-6 und zu dem Protonensignal bei 7.25 ppm, womit dieses als H-1 festgelegt werden kann. Bestätigt wird dies durch einen weiteren HMBC-Crosspeak des H-1 zu einem Signal bei 147.4 ppm, zu dem auch ein HMBC-Crosspeak vom H-6 führt. Daher muss es sich hierbei um C-4a handeln. Somit ist die Verknüpfung des A-Rings mit dem B-Ring erwiesen. Da der A-Ring nur 2 Protonen trägt, müssen die Positionen 3 und 4 substituiert vorliegen. Die Kohlenstoffresonanz bei 148.8 ppm zeigt einen HMBC-Crosspeak zum H-2 bei 7.04 ppm und ist dem C-3 zuzuordnen. C-4 hat somit das Kohlenstoffsignal bei 132.7 ppm. Die weitere Verknüpfung der Ringe wird zunächst durch

den HMBC-Crosspeak des 6a-Protons zu der C-7-Resonanz bei 126.0 ppm bestätigt, die entsprechend einem HMQC-Crosspeak dem H-7-Proton bei 7.19 ppm zuzuordnen ist. Mit der Identifizierung des H-7-Signals sind auch H-8 und H-10 festgelegt. Die H-10-Resonanz mit der meta-Kopplung zu H-8 (6.37 ppm, d, 2.2 Hz) weist einen  $^4J$ -HMBC-Crosspeak zum C-11a auf, womit das Pterocarpan-Grundgerüst bestätigt ist. Die Tieffeldverschiebung des C-9-Signals (161.9 ppm) und der Crosspeak desselben im HMBC-Experiment zu den Methoxygruppenprotonen bei 3.73 ppm belegen die Substitution an dieser Stelle. Daher müssen die beiden vorhandenen Hexosen, bei denen es sich nach den  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren in beiden Fällen um Glucose handelt, an den Positionen 3 und 4 gebunden sein. Dabei beweist der HMBC-Crosspeak H-1' (4.87 ppm)/ C-3 (148.8 ppm) die Verknüpfung von Glucose' mit dem C-3-Atom des Aglucons.

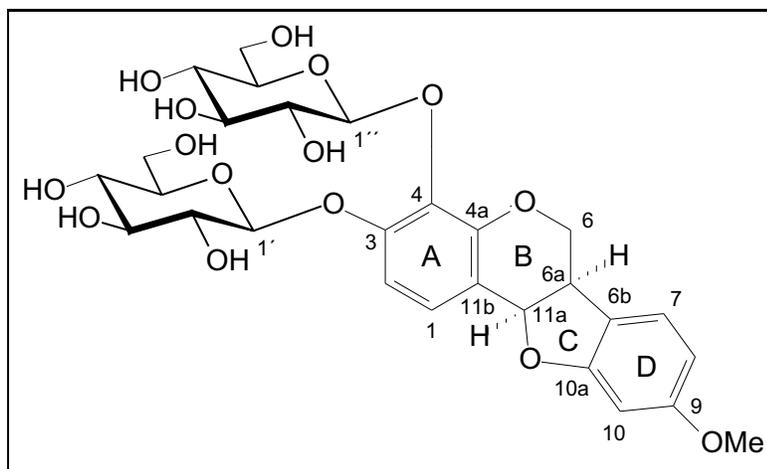
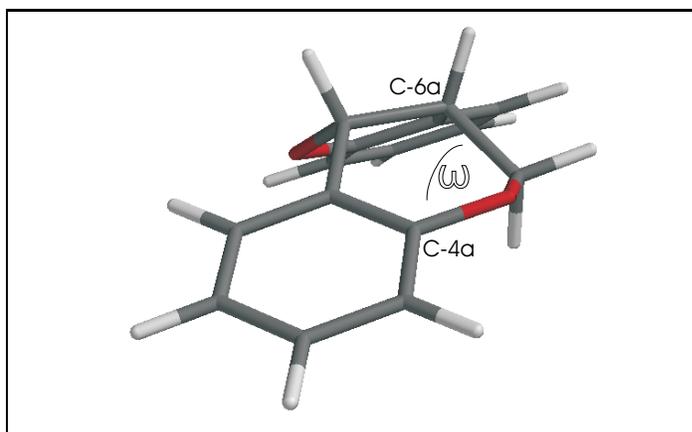


Abb. 19: Pterocarpanglucosid **22**

Pos.	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
1	7.25 <i>d</i> , 8.8Hz	127.9
2	7.04 <i>d</i> , 8.8Hz	112.2
3	-	148.8
4	-	132.7
4a	-	147.4
6	3.62/4.34	68.0
6a	3.61	40.9
6b	-	117.5
7	7.19 <i>d</i> , 8.2Hz	126.0
8	6.46 <i>dd</i> , 8.2, 2.2Hz	107.4
9	-	161.9
10	6.37 <i>d</i> , 2.2Hz	97.6
10a	-	161.8
11a	5.55 <i>d</i> , 6.8Hz	79.7
11b	-	114.8
OMe	3.73	55.9
	Glc	
1'	4.87 <i>d</i> , 7.2Hz	103.7
2'	3.52	75.0
3'	3.47	77.5
4'	3.39	71.3
5'	3.42	78.4
6'	3.72/3.91	62.5
	Glc	
1''	4.95 <i>d</i> , 7.7Hz	105.2
2''	3.49	75.8
3''	3.47	77.9
4''	3.41	71.2
5''	3.19	78.4
6''	3.66/3.76	62.3

Tab. 14:  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von **22** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

Alle bisher gefundenen natürlichen Pterocarpane sind *cis*-verknüpft. Auch das Pterocapanglucosid **22** liegt in dieser Form vor, wie die Kopplungskonstante von  $J = 6.8$  Hz für H-11a belegt. Sie ist vergleichbar mit  $J_{H_{11a,6a}} = 7$  Hz des (-)-Maackiains [101], dessen absolute Konfiguration  $6aR,11aR$  ist, wie mittels Röntgenkristallstrukturanalyse gezeigt werden konnte [102]. Die Frage der absoluten Konfiguration des neuen Pterocarpanes kann über CD-Messungen gelöst werden. Zur Bestimmung der Anordnung wird die  ${}^1L_b$ -Bande bei ca. 280 nm verwendet, da sie im Gegensatz zu der bei kürzeren Wellenlängen liegenden  ${}^1L_a$ -Bande weniger von Überlagerungen beeinflusst wird. Im Falle der Pterocarpane bedeutet ein positiver Cottoneneffekt innerhalb der  ${}^1L_b$ -Bande *P*-Helizität des 3,4-Dihydro-2H-pyran-Ringes, ein negativer *M*-Helizität [103]. *P*-Helizität bezieht sich auf die Chiralität dieses in Halbsesselkonformation vorliegenden Ringes und liegt bei einem positiven Torsionswinkel  $\omega$  zwischen C-4a und C-6a vor.

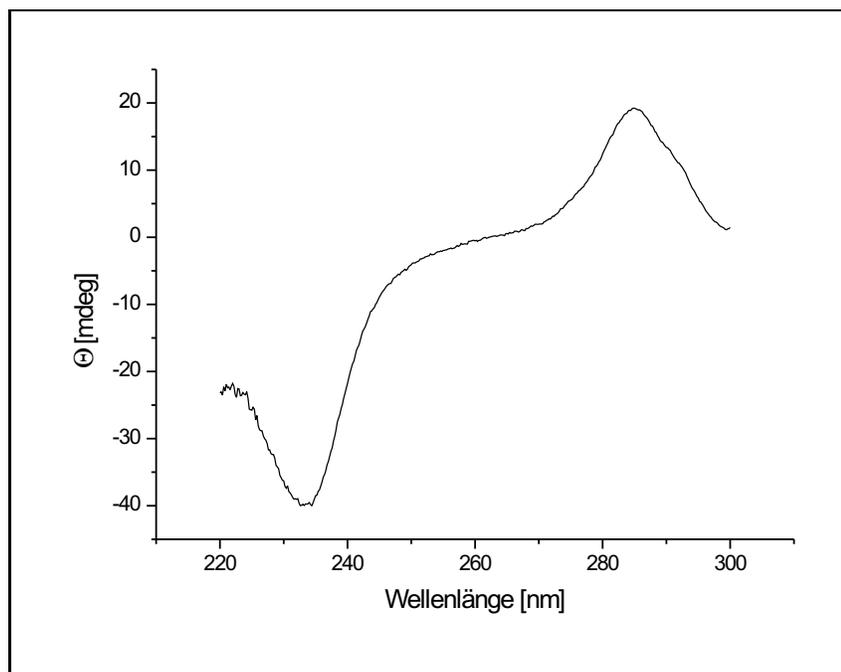


**Abb. 20:** Räumliche Darstellung der *P*-Helizität bei Pterocarpanen

Dies wird durch zahlreiche CD-Messungen von verschiedenen (-)-(6*aR*,11*aR*)-Pterocarpanen bestätigt, die alle eine positiv-negativ-Kurve für die  ${}^1L_b$ - und  ${}^1L_a$ -Bande aufweisen [103, 104]. Dabei zeigte sich, dass Substituenten an einem oder beiden aromatischen Ringen nur die Intensität und Lage der Banden leicht beeinflussen. Das gemessene CD-Spektrum der Verbindung **22** weist ebenfalls dieses positiv-negativ-Muster auf.

Der Messwert des Spektropolarimeters ist die Elliptizität  $\Theta$  [51]:

$$\Theta = \frac{2.303(\Delta A)180}{4\pi} [\text{grad}]. \quad (3.6)$$



**Abb. 21:** CD-Spektrum des Pterocarpanglycosids **22**

Bande	$^1L_b$ (284 nm)	$^1L_a$ (233 nm)
$\Theta$ [mdeg]	+ 18.798	- 39.771

**Tab. 15:** CD-Daten von **22** in CH<sub>3</sub>OH

Damit ist die *P*-Helizität belegt, das Pterocarpan **22** besitzt (*6aR,11aR*)-Konfiguration.

### 3.2.4 *Ipomoea operculata*

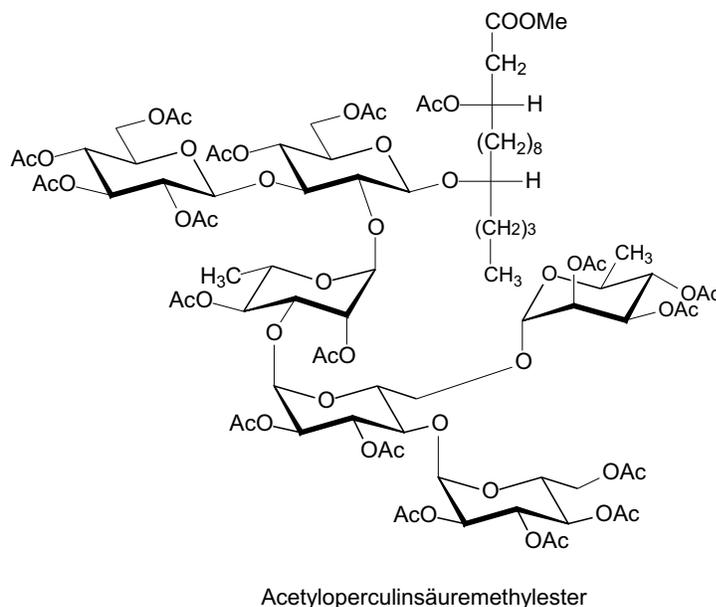
#### Beschreibung

Ipomoeen gehören zur Gattung der Convolvulaceae (Windengewächse) und haben ihren Namen aufgrund der knollenartig verdickten, holzartigen Wurzeln erhalten. Anhand dieses Merkmals ist die Zuordnung zu dieser Art trotz der oft widersprüchlichen und verwirrenden Synonymie der Convolvulaceen erleichtert. Dennoch ist auch *Ipomoea operculata* Mart. unter einigen anderen Namen bekannt, wie *Operculina macrocarpa*, *Convolvulus macrocarpus* oder nach der aus ihren Wurzeln hergestellten Droge Brasilianische Jalape. Bei *Ipomoea operculata* handelt es sich um ein sich hochwindendes Kraut mit tief eingeschnittenen, dunkelgrünen Blättern, das im tropischen Hochland Brasiliens beheimatet ist. Die Blüten sind, wie bei den Windenartigen üblich, groß und auffällig gefärbt. Daher findet sie auch in unseren Breiten als Zierpflanze Verwendung. Ein anatomisches Merkmal der Convolvulaceen ist das Vorhandensein von sekretorischen Zellen mit milchigem, harzartigem Inhalt, bei welchem es sich hauptsächlich um Harzglycoside handelt. In den Ipomoea-Arten treten diese verstärkt in den Wurzeln auf. Die Harzglycoside weisen eine Reihe biologischer Aktivitäten auf, daher wird die getrocknete Wurzel von *Ipomoea operculata* in der traditionellen Medizin häufig verwendet. Die Droge zeigt starke laxative und diuretische Wirkungen und wird äußerlich zur Wundreinigung und schnelleren Wundheilung eingesetzt [106].



Sie setzt sich aus einem etherlöslichen (Jalapin) und einem etherunlöslichen (Convolvulin) Teil zusammen. Während ersterer bereits mehrfach untersucht und daraus eine Reihe von Harzglycosiden isoliert wurde [107], haben den wirksameren Convolvulin-Anteil nur Wagner und Kazmaier charakterisiert [108]. Als Hauptbestandteil bestimmten sie mit Hilfe von Abbaumethoden Operculinsäure, ein Glucorhamnohexasaccharid der 3,12-Dihydroxypalmitinsäure. Bei den Harzglycosiden aus dem Jalapin handelt es sich dagegen ausschließlich um Tri- bis Pen-

tasaccharide, die mit einer oder mehreren Hydroxyfettsäuren verknüpft sind und oft auch flüchtige Säuren enthalten.



### Strukturaufklärung

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **23** lässt sich in zwei Bereiche aufteilen. Der aliphatische Bereich enthält die Signale der Dihydroxypalmitinsäure und der Acetylgruppen. Bei dem zweiten Bereich handelt es sich um die Signale des Saccharidteils. Da sich die Protonenresonanzen in diesem Bereich sehr stark überlagern, wurde der komplette NMR-Spektrensatz ( $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -,  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY-, HMQC-, HMBC-, NOESY-, TOCSY-Experimente) sowohl in  $\text{CDCl}_3$  als auch in  $\text{CD}_3\text{OD}$  vermessen. Im HMQC-Spektrum sind die Crosspeaks von 6 anomeren Protonen zu erkennen. Die sechs Monosaccharide wurden mit Hilfe der  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY-, HMQC-COSY und TOCSY-Spektren identifiziert. Nachdem somit die einzelnen Einheiten bekannt waren, wurde anhand der NOESY- und HMBC-Spektren die Verknüpfung der Saccharide untereinander sowie die Verbindung zur Fettsäure bestimmt.

Viele Kopplungskonstanten waren nur sehr schwer, einige gar nicht zu bestimmen. Die wichtigsten Kopplungskonstanten zur Ermittlung der Strukturen der Saccharide sind in Tabelle 17 angegeben. Die drei enthaltenen Glucose-Bausteine

und Rhamnose 2 konnten gut identifiziert werden. Gleiches gilt für die Xylose, die aus zwei Gründen Interesse weckte. Zum einen ist bisher keine Pentose in Harzglycosiden beschrieben worden. Zum anderen ist die Position 4 dieser Xylose eindeutig nicht acetyliert, was durch den fehlenden HMBC-Crosspeak zu den Acetylgruppen belegt wird. Die Zuordnung der Signale der Rhamnose 5 warf einige Probleme auf. Zunächst war aus der Kopplungskonstante des anomeren Protons nur ersichtlich, dass es sich um einen  $\alpha$ -glycosidisch verknüpften Zucker handelte. Aus den 1D-Spuren vom  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY und TOCSY-Spektrum waren nur große Kopplungskonstanten erkennbar, die auf axial/axial-Stellung der weiteren Protonen schließen ließ. Dies hätte bedeutet, dass eine  $\alpha$ -glycosidisch gebundene Chinovose vorliegt. Um dies zu überprüfen, wurden die 1D-Spuren der in Methanol gemessenen Spektren als Vergleich herangezogen. In diesen war erkennbar, dass das H-3-Signal von Rhamnose 5 durch das H-2-Signal von Glucose 6 überlagert worden war. Durch die leichte Entzerrung im Methanol-Spektrum wurde deutlich, dass das duplizierte Dublett von H-2 Glucose 6 (8.0, 9.0 Hz) das duplizierte Dublett (3.6, 9.1 Hz) von H-3 Rhamnose 5 überlagerte. Damit war diese 6-Desoxyhexose als Rhamnose identifiziert. Die interglycosidische Verknüpfung wurde anhand der HMBC-Spektren ermittelt. Belegt wird diese durch die HMBC-Crosspeaks 4.72/66.7 ppm (H-1 Rhamnose 2/ C-6 Glucose 1), 4.41/75.0 ppm (H-1 Glucose 3/ C-2 Glucose 1), 4.75/80.8 ppm (H-1 Xylose 4/ C-3 Glucose 3), 5.18/74.7 ppm (H-1 Rhamnose 5/ C-2 Glucose 3) und 4.78/66.1 ppm (H-1 Glucose 6/ C-4 Rhamnose 5). Ebenfalls durch einen HMBC-Crosspeak 4.25/ 80.6 ppm (H-1 Glucose 1/ C-12 Fettsäure) wird die Verknüpfung des Saccharidteils an Position 12 der 3,12-Dihydroxypalmitinsäure belegt.

Die Konfiguration der Dihydroxypalmitinsäure wurde in der Dissertation von Barbara Jakob durch Totalsynthese geklärt [109]. Diese ergibt sich als (3*S*, 12*S*)-Dihydroxypalmitinsäure. Damit wurde nicht nur der Strukturvorschlag der Operculinsäure von Wagner und Kazmaier durch die Konfigurationsbestimmung des Fettsäureanteils vervollständigt, sondern auch der Saccharidanteil der Operculinsäure anhand neuer NMR-Messtechniken bestimmt und in seiner Zusammensetzung korrigiert.

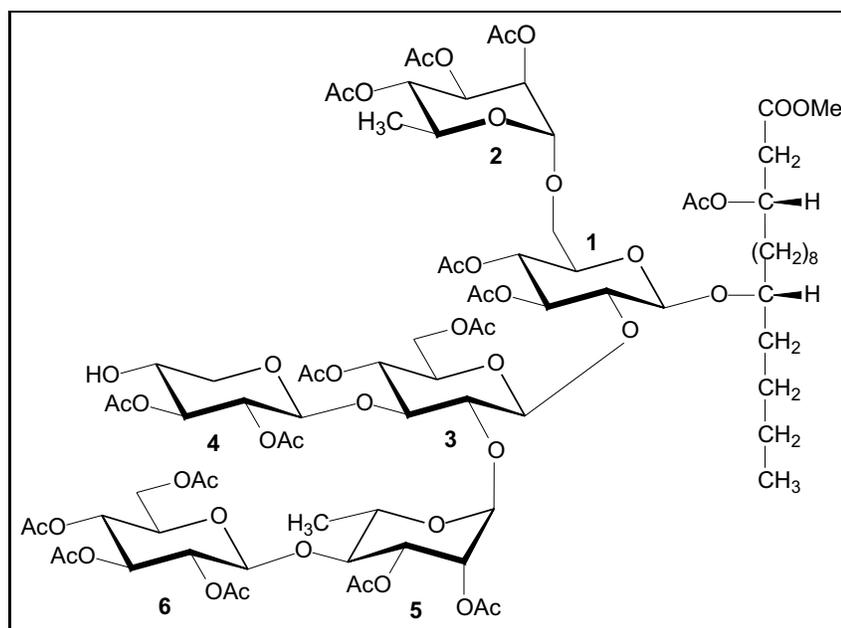


Abb. 22: Methylester von Acetyloperculinsäure H (**23**)

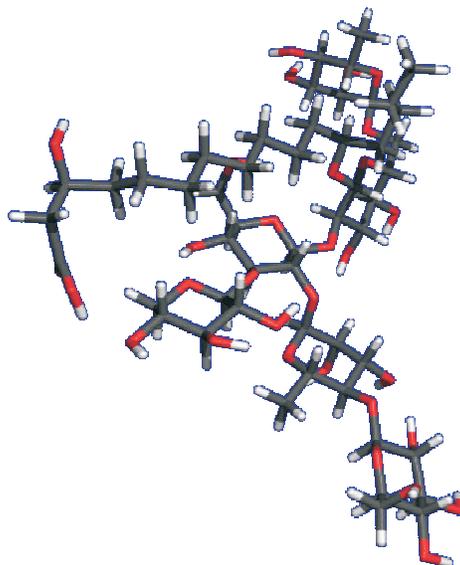
	OMe	1	2	3	12	16
$^1\text{H}$	3.61	-	2.50/2.53	5.14	3.46	0.81
$^{13}\text{C}$	51.5	167.2	38.8	70.4	80.6	13.8

Tab. 16: Ausgewählte  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten des Fettsäureteils von **23** in  $\text{CDCl}_3$

Sac.		1	2	3	4	5	6
1 Glc	$^1\text{H}$	4.25 <i>d</i> , 7.6 Hz	3.82	5.15	4.82	3.62	3.55/3.63
	$^{13}\text{C}$	100.3	75.0	75.7	69.6	72.2	66.7
2 Rha	$^1\text{H}$	4.72 <i>d</i> , 1.7 Hz	5.20 <i>dd</i> , 1.7,3.5 Hz	5.23 <i>dd</i> , 3.5,10.0 Hz	5.04	3.82	1.17
	$^{13}\text{C}$	97.8	69.2	68.7	70.6	66.3	17.2
3 Glc	$^1\text{H}$	4.41 <i>d</i> , 7.8 Hz	3.62	3.89	4.78	3.53	4.05/4.18
	$^{13}\text{C}$	99.9	74.7	80.8	72.1	71.1	62.2
4 Xyl	$^1\text{H}$	4.75 <i>d</i> , 8.0 Hz	5.35 <i>dd</i> , 8.0,9.1 Hz	5.11	3.96	4.02/4.48	
	$^{13}\text{C}$	98.7	72.5	67.8	71.0	61.3	
5 Rha	$^1\text{H}$	5.18 <i>d</i> , 1.8 Hz	4.05	4.92 <i>dd</i> , 3.6,9.1 Hz	4.08	4.10	1.14
	$^{13}\text{C}$	96.8	73.9	72.0	66.1	66.1	16.9
6 Glc	$^1\text{H}$	4.78 <i>d</i> , 8.0 Hz	4.93 <i>dd</i> , 8.0,9.0 Hz	5.18	5.11	3.58	3.65/3.68
	$^{13}\text{C}$	100.5	70.6	72.9	68.7	71.1	60.5

**Tab. 17:**  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten des Methylesters von Acetyloperculinsäure H (**23**) in  $\text{CDCl}_3$

Bemerkenswert ist, dass die Xylose in Position 4 nicht acetyliert wurde. Die Vermutung einer sterischen Hinderung liegt nahe und führt zu der Frage nach der Konformation der Operculinsäure im nativen Zustand. Die durchgeführte Konformationsanalyse (Monte Carlo, mechanistisches Modell) resultiert in einer räumlichen Struktur, bei der die Hydroxyfunktion 4 der Xylose durch die Carbonylfunktion der Fettsäure abgeschirmt wird. Dies lässt den Schluss zu, dass das Molekül im nativen Zustand vor der Hydrolyse als intramolekularer Ester vorliegt, wie dies von vielen Harzglycosiden des Jalapins bereits bekannt ist [107].



**Abb. 23:** Räumliche Struktur von Operculinsäure H

Auch die NMR-Spektren der Verbindung **24** weisen aufgrund der komplexen Molekülstruktur starke Überlagerungen der Signale auf. Daher wurde der gesamte Spektrensatz sowohl in DMSO- $D_6$  als auch in  $CD_3OD$  vermessen und die Ergebnisse miteinander verglichen. Aus dem  $^1H$ -NMR-Spektrum wird deutlich, dass die Verbindung ebenfalls einen Saccharid- und einen Fettsäureteil enthält. Im HMQC-COSY-Spektrum sind die Crosspeaks von sieben anomeren Protonen zu erkennen. Weiterhin wird aus den HMQC-Signalen deutlich, dass es sich bei drei dieser Monosaccharide um 6-Desoxyzucker handelt. Alle Monosaccharide wurden zunächst mit Hilfe der  $^1H,^1H$ -COSY- und HMQC-COSY-Spektren identifiziert. Die Zuordnungen wurden mittels HMQC-TOCSY und TOCSY überprüft und die Kopplungskonstanten, soweit möglich, aus den 1D-Spuren des TOCSY- und des  $^1H,^1H$ -COSY-Spektrums ermittelt. Daraus ergab sich, dass es sich bei den drei 6-Desoxyzuckern, die alle  $\alpha$ -O-glycosidisch verknüpft sind, um Rhamnosin handelt, während die vier übrigen  $\beta$ -O-glycosidisch verknüpften Monosacchari-

de Glucosen sind. Ausgewählte Kopplungskonstanten, die für die Zuordnung von entscheidender Bedeutung waren, sind in Tabelle 19 angegeben.

Nachdem somit die einzelnen Einheiten bekannt waren, wurde anhand der NOESY- und HMBC-Spektren die Verknüpfung der Saccharide untereinander sowie die Verbindung zur Fettsäure bestimmt. Auch die Positionen der Acetylgruppen wurden anhand der HMBC-Crosspeaks bestimmt. Es zeigte sich, dass die Anordnung der Monosaccharide 1,2,3 und 6 mit derjenigen von **23** übereinstimmt. Dies beweisen die HMBC-Crosspeaks 4.81/66.2 ppm (H-1 Rhamnose 2/ C-6 Glucose 1), 4.61/75.5 ppm (H-1 Glucose 3/ C-2 Glucose 1), 4.72/79.9 ppm (H-1 Glucose 4/ C-3 Glucose 3) und 5.08/79.7 ppm (H-1 Rhamnose 6/ C-2 Glucose 3). An Rhamnose 6 ist jedoch eine weitere Rhamnose geknüpft (NOESY-CP 4.80 ppm H-1 Rha 7/ 3.82 H-4 Rha 6), und Glucose 5 ist 1→2-glycosidisch an Glucose 4 gebunden (HMBC-CP 4.91/ 71.6 ppm). Ein HMBC-Crosspeak 4.37/74.2 ppm (H-1 Glucose 1/ C-12 Fettsäure) belegt die Verknüpfung des Saccharidteils in Position 12 der 3,12-Dihydroxypalmitinsäure.

Hydrolyse eines Aliquots von **24** lieferte 3,12-Dihydroxypalmitinsäuremethylester, der nach Trimethylsilylierung durch GC-MS identifiziert wurde. Der aus **24** erhaltene trimethylsilylierte 3,12-Dihydroxypalmitinsäuremethylester zeigte an chiraler Cyclodex B-Säule die gleiche Retentionszeit wie der durch Hydrolyse aus **23** erhaltene trimethylsilylierte (3*S*, 12*S*)-Dihydroxypalmitinsäuremethylester. Gleichzeitige Injektion des trimethylsilylierten Hydrolysats von **23** und **24** resultierte in einem einzigen trimethylsilylierten 3,12-Dihydroxypalmitinsäuremethylester-Peak ( $R_t$  19.43 min). An der chiralen Cyclodex B-Säule wurden die Enantiomeren von trimethylsilyliertem 3-Hydroxybuttersäuremethylester vollständig getrennt [110]. Damit sollte es sich bei der Säurekomponente von **24** auch um (3*S*, 12*S*)-Dihydroxypalmitinsäure handeln.

Harzglycosid **24** aus *Ipomoea operculata* ist die erste charakterisierte Verbindung von den pharmakologisch relevanten Harzen der Convolvulaceen, bei der der Saccharidanteil aus einem Heptasaccharid besteht.

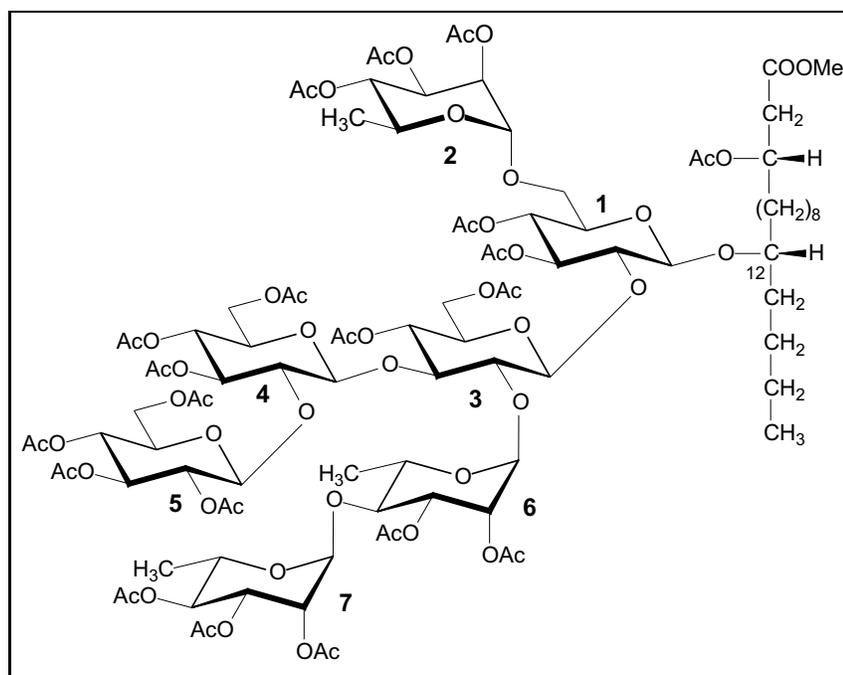


Abb. 24: Methyl ester von Acetyloperculinsäure I (**24**)

	OMe	1	3	12	15	16
$^1\text{H}$	4.02	-	5.03	3.46	1.22	0.82
$^{13}\text{C}$	58.3	167.4	68.9	74.2	21.8	13.6

Tab. 18: Ausgewählte  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten des Fettsäureteils von **24** in  $\text{DMSO-D}_6$

Sac.		1	2	3	4	5	6
1 Glc	<sup>1</sup> H	4.37 <i>d</i> , 7.0 Hz	3.71	5.12	4.78	3.84	3.56/3.69
	<sup>13</sup> C	100.0	75.5	74.9	68.8	70.7	66.2
2 Rha	<sup>1</sup> H	4.81 <i>d</i> , 1.8 Hz	5.22 <i>dd</i> , 1.8,4.2 Hz	4.75 <i>dd</i> , 4.2,8.6 Hz	4.11	4.12	1.07
	<sup>13</sup> C	96.9	70.1	71.0	73.5	65.5	16.6
3 Glc	<sup>1</sup> H	4.61 <i>d</i> , 7.6 Hz	3.45 <i>dd</i> , 7.6,8.9 Hz	3.99	4.60	3.91	3.70/4.13
	<sup>13</sup> C	98.9	79.7	79.9	67.7	69.7	65.5
4 Glc	<sup>1</sup> H	4.72 <i>d</i> , 8.2 Hz	4.57 <i>dd</i> , 8.2,8.8 Hz	5.25	4.94	3.88	3.97/4.37
	<sup>13</sup> C	97.7	71.6	71.6	67.6	70.9	61.0
5 Glc	<sup>1</sup> H	4.91 <i>d</i> , 8.6 Hz	4.73	5.29 <i>dd</i> , 8.9,9.4 Hz	4.90	3.99	4.04/4.14
	<sup>13</sup> C	99.2	70.5	71.7	67.7	70.3	61.1
6 Rha	<sup>1</sup> H	5.08 <i>d</i> , 1.4 Hz	5.04	4.87	3.82	3.79	1.09
	<sup>13</sup> C	96.6	68.4	69.7	71.1	65.5	16.6
7 Rha	<sup>1</sup> H	4.80 <i>d</i> , 1.8 Hz	5.24	4.74	4.17	3.98	1.13
	<sup>13</sup> C	96.9	70.0	71.1	73.3	65.5	16.9

Tab. 19: <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup> C-NMR-Daten des Methylresters von Acetyloperculinsäure I (**24**) in DMSO-D<sub>6</sub>

# 4 Experimenteller Teil

## 4.1 Allgemeines

### 4.1.1 Spektroskopische Methoden

#### NMR-Spektroskopie

Messgeräte:

- Bruker AC 300 Spektrometer ( $^1\text{H}$ : 300 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 75 MHz)  
Triple Probenkopf ( $^1\text{H}, ^{13}\text{C}, ^{19}\text{F}$ )
- Bruker Avance 360 Spektrometer ( $^1\text{H}$ : 360 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 90 MHz)  
Dualer Breitbandprobenkopf invers, mit z-Gradienteneinheit
- Bruker DRX 500 Spektrometer ( $^1\text{H}$ : 500.13 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 125.13 MHz)  
Dualer Breitbandprobenkopf invers

Lösungsmittel:  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CDCl}_3$  oder  $\text{DMSO-D}_6$ , Cambridge Isotope Laboratories

Eichung: Probeninterne Eichung anhand des entsprechenden Lösungsmittelsignals

LM	$^1\text{H}$ -NMR	$^{13}\text{C}$ -NMR
DMSO- <i>d</i> 6	2.49 ppm	39.5 ppm
$\text{CD}_3\text{OD}$	3.30 ppm	49.0 ppm
$\text{CDCl}_3$	7.24 ppm	77.0 ppm

## Massenspektroskopie

- ESI: Micromass LCT ; Direkteinspritzung oder LC-Kopplung,  
LM: Methanol, Acetonitril
- Finnigan MAT 8500 mit Cs-Kanone; Direkteinspritzung oder  
FAB-MS (Glycerinmatrix), LM: Methanol, Ethylacetat
- GC-MS: Varian 3700; J+W Scientific DB-1, Länge 30 m, ID 0.32 mm,  
Filmdicke 0.1  $\mu$ m  
80-280°C, 15 min isotherm, Heizrate 3 K/min  
MS: Finnigan MAT 312, 70 eV

## Optische Aktivität

- Polarimeter:  
Jasco P-1020, Messzelle 10 cm  
LM: MeOH, CHCl<sub>3</sub> ; Messtemperatur 21°C
- CD-Spektroskopie:  
Jasco J-600 Spektropolarimeter, Messküvette 1cm  
LM: Methanol ; Meßtemperatur 20°C ; Bereich 205-300 nm mit 20 nm/min

### 4.1.2 Chromatographie

- Verwendete Lösungsmittel:
  - Dichormethan, Ethanol, Ethylacetat, Methanol, Hexan:  
technisch, 1-fach destilliert
  - Wasser: 1-fach oder doppelt (HPLC) destilliert
  - Aceton, n-Butanol, Ethanol, Ethylacetat(GC), n-Propanol: Merck, p.A.
  - Acetonitril, Methanol (HPLC): Acros Organics, HPLC Gradient Grade

- Dünnschichtchromatographie:
  - Merck, Analytische DC-Alufolien Kieselgel Si60 F<sub>254</sub>S
  - Merck, Analytische DC-Alufolien RP C-18 F<sub>254</sub>S
  - Merck, Präparative DC-Fertigplatten Si60 F<sub>254</sub>S  
Schichtdicke 0,25 mm
  
- Nachweisreagenzien (DC):
  - Molybdätophosphorsäure:  
Molybdätophosphorsäure 20 Gew.-% in Ethanol (Aldrich),  
zum Anfärben aller oxidierbarer Substanzen.
  - Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:  
0,5 ml p-Anisaldehyd (Acros Organics),  
10 ml Eisessig,  
85 ml MeOH,  
5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  
in der angegebenen Reihenfolge vermischt,  
zur Identifizierung von Steroiden, Terpenen, Iridoiden und Zuckern.
  - Resorcinmonomethylether:  
200 ml Ethanol p.A.,  
5,28 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc.,  
0,25 ml Resorcinmonomethylether (Aldrich),  
in der angegebenen Reihenfolge vermischt,  
zum Nachweis von Sacchariden und Glycosiden.
  - Schwefelsäure:  
10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. in Methanol,  
zur Identifizierung von Saponinen.
  - Nachweis nach Carr-Price:  
Antimon-(III)-chlorid 10%ig in Chloroform,  
zur Sichtbarmachung von Carotinoiden, Steroidsapogeninen und -glycosiden,  
Terpenderivaten.

- Säulenchromatographie:

- Merck, Kieselgel Si60, 40 - 60 $\mu$ m (230 - 400 mesh ASTM)  
Schwerkraftsäulen oder Flash-Chromatographie verschiedener Größe  
(Verhältnis Substanz: Trennmittel 1:80)
- Merck, LiChroprep<sup>®</sup> RP-18, 40-63 $\mu$ m  
(Verhältnis Substanz: Trennmittel 1:150)
- Amersham Biosciences, Sephadex LH-20  
Säulenlänge 1m

- Mitteldruckflüssigkeitschromatographie(MPLC):

Labomatic, Laboprep mit Pumpeneinheit MD 50/80/100

Injektion über 6-Wege-Ventil, Probensammler Foxy 200,

Druck 3 bar (Lobar<sup>®</sup>) oder 12 bar (Büchi)

Eluenten bei jeweiliger Isolierung angegeben, Säulen:

- Fertigsäule der Firma E. Merck, Darmstadt, Typ Lobar<sup>®</sup>, Größe B  
(310-25), Art. Nr.: 10401; Kieselgel: LiChroprep<sup>®</sup> Si 60 (Korngröße:  
40-63  $\mu$ m)
- Borosilicatsäule der Firma Büchi, Nr.: 28147 mit integrierter Vorsäule;  
Kieselgel: LiChrospher<sup>®</sup> C-18 (Korngröße: 20  $\mu$ m)

- Hochdruckflüssigkeitschromatographie(HPLC):

Knauer GmbH, HPLC-Pumpen K 501 mit analytischen Pumpenköpfen,

für analytischen und semipräparativen Einsatz (bis zu 10ml/min)

6-Wege-Injektionsventil, Diodenarraydetektor DAD3000, Eurochrom 2000

Säulen:

- Agilent Technologies, Zorbax<sup>®</sup> RP C-18,  
250x8 mm und 250x4 mm, 7  $\mu$ m bzw. 3  $\mu$ m Gel

- 
- Merck, LiChrospher® 100 RP C-18,  
250x4 mm, 5  $\mu\text{m}$  Gel
  - Merck, LiChrospher® 100 Si, 250x8 mm
  - Gaschromatographie (GC):
    - Thermoquest Trace GC, Split/Splitless 1/30, Trägergas Wasserstoff,  
Chrom Card Software  
J+W Scientific DB-1, Länge 30 m, ID 0.32 mm, Filmdicke 0.1  $\mu\text{m}$   
80-280°C, 15 min isotherm, Heizrate 3 K/min
    - Carlo Erba Instruments HRGC 5060, Split/Splitless 1/30, Trägergas  
Wasserstoff,  
K. Johnson C-DEX B, Länge 30 m, ID 0.32 mm, Filmdicke 0.25  $\mu\text{m}$   
80-280°C, 15 min isotherm, Heizrate 3 K/min

## 4.2 Extraktion des Pflanzenmaterials und Isolierung der Verbindungen 1-24

### 4.2.1 *Impatiens balsamina*

Aus 220 g gefrorenen rot-violetten Blüten resultierten 8.1 g braunoranger Rohextrakt. Die Vorfraktionierung des Butanolextraktes (3.7 g) durch SC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  7:1  $\rightarrow$  1:1) ergab die farbstoffhaltige Fraktion II (0.98 g). Erneute SC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  4:1:0  $\rightarrow$  1:1:0.1) resultierte in den Farbstoffgemischen 1 (orangebraun, 40.3 mg) und 2 (orange, 14.4 mg). Aus Fraktion 1 konnten durch präparative DC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  2:1:0.1) 7.8 mg Rhamnocitrin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosid (**1**), aus Fraktion 2 nach erneuter SC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  1.5:1:0.1) 10.1 mg 2-Hydroxy-1,4-naphthochinon-2-O- $\beta$ -D-glucopyranosid (**2**) isoliert werden.

Bei einem Vergleich des Blütenextraktes mit einem Extrakt aus den Stängeln dieser Pflanze stellt sich heraus, dass das orange Naphthochinon **2** auch hier in großen Mengen vorhanden ist, wogegen die gelbe Verbindung **1** nur als Blütenfarbstoff fungiert und in den Stängeln nicht nachweisbar ist.

### 4.2.2 *Filipendula ulmaria*

Aus 120 g getrocknetem, zerkleinertem Pflanzenmaterial erhielt man 14.5 g Rohextrakt (siehe S.28). Aufgrund des hohen Zuckergehaltes des Extraktes und der resultierenden Schaumbildung wurde die Vorfraktionierung mittels SC an Kieselgel vorgenommen. 2 g Rohextrakt wurden zunächst mit Chloroform, anschließend mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  4:1:0.1 eluiert. Die erhaltene Hauptfarbstoff-Fraktion III (44 mg, gelb) wurde dann mittels SC an RP C-18 ( $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  85:15) weiter aufgetrennt, die Flavonoidfraktion 1 betrug nun 31 mg. Zur weiteren Trennung wurde präparative DC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  2:1:0.1) verwendet. Die stärkste Bande wurde isoliert und ergab Flavon **3** (Polystachosid, 5 mg, gelb).

### 4.2.3 *Alkanna tinctoria*

Abweichend vom üblichen Schema wurde die Extraktion des Pflanzenmaterials mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  vorgenommen. 20 g getrocknete, zerkleinerte Wurzel gaben 1,5 g Rohextrakt. Aufgrund der Beschaffenheit des Extraktes, der fast ausschliesslich aus Farbstoffen bestand, wurde auf die übliche Fraktionierung verzichtet und der gesamte Rohextrakt aufgearbeitet. Die erste Trennung erfolgte in zwei Schritten mittels SC an RP-18-Material (Lobar<sup>®</sup>, Größe B). Weitere SC an Kieselgel (Hexan/tBME 6:1) mit der intensiv roten Fraktion 3 (122 mg) resultierte in den Proben 3-1 (**4**, kirschrot, 28 mg), 3-2 (**5**, hellrot, 9 mg) und der Fraktion 3-3 (violett, 38 mg). Diese ist ein Gemisch aus Farbstoffen und Zersetzungsprodukten. Nach erneuter SC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  9:1:0.1) erhielt man neben einer Vielzahl von blauen und violetten Verbindungen (im Submilligramm-Bereich) Alkannin (**6**, rot, 7 mg) und einen weiteren Alkanninester (**7**, hellrot, 7 mg).

### 4.2.4 *Tagetes erecta*

Zur Farbstoffisolierung wurden getrocknete Blütenblätter einer intensiv orangen *Tagetes erecta*-Sorte verwendet. Aus den vorhandenen 40 g konnten 5,3 g Rohextrakt gewonnen werden. Da sich dieser Extrakt nur zum geringen Teil in Wasser löste, wurde die Hauptmenge in Chloroform aufgenommen. Die Fraktionierung mittels SC an Kieselgel (Chloroform  $\rightarrow$   $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  2:1:0.1) ergab die stark farbstoffhaltigen Komponenten II (100 mg, gelb) und IV (250 mg, orangebraun). Fraktion II wurde mittels SC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  1:4:0.1) weiter aufgetrennt und ergab die Verbindung II-2 (gelb, 23 mg). Aus Fraktion IV wurden durch SC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  2:1) Probe **8** (10 mg, gelborange) und Fraktion IV-3 (31 mg, orange) gewonnen. Die reine Verbindung **8** zeigte im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum die typischen Signale eines Carotinoids. Daraufhin wurde das schwer trennbare Gemisch IV-3 mittels GC getrennt und mit Hilfe von GC-MS charakterisiert.

### 4.2.5 *Fagerlindia depauperata*

Aus 7 g Rohextrakt wurden durch Fraktionierung 3.82 g Butanol- und 0.87 g wässriger Extrakt erhalten. Der Butanolextrakt wurde mittels SC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  4:1  $\rightarrow$  1:1) in die iridoidhaltigen Fraktionen II (620 mg) und IIIB (44 mg) aufgetrennt. Fraktion II wurde abschließend durch MPLC mit Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  10:1) in zwei Verbindungsgemische getrennt. Aliquots von 10 bzw. 20 mg dieser Fraktionen wurden durch HPLC an einer Zorbax-C18-Säule ( $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  45:55 isokratisch) in je zwei Hauptkomponenten getrennt. Bei den vier erhaltenen Verbindungen dieser Trennung handelt es sich um **9** (3.4 mg) und **10** (2.6 mg) sowie **11** (7.3 mg) und **12** (8.4 mg). Die 44 mg von IIIB erbrachten nach SC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  5:1) die Fraktionen 3 und 4, welche beide mit MPLC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  7:1) als die entsprechenden Reinverbindungen **13** (7.8 mg) und **14** (8.6 mg) isoliert werden konnten. Aus dem wässrigen Extrakt wurde durch SC an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  3:1:0.1) die leicht iridoidhaltige Fraktion I (207 mg) erhalten, die nach erneuter Chromatographie an einer Kieselgelsäule ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  1:1:0.1) die Verbindung **15** (16.5 mg) erbrachte. Alle Iridoidglucoside sind farblose, amorphe Feststoffe.

### 4.2.6 *Atriplex semibaccata*

Das vorliegende Pflanzenmaterial wurde von Dr. Kamel H. Shaker 1999 in der Nähe von Burg El-Arab, Ägypten, gesammelt und untersucht. 3 kg Pulver aus getrockneter *Atriplex semibaccata* wurden mit Methanol extrahiert und ergaben 150 g methanolischen Rohextrakt. Die folgende Fraktionierung (wie bereits bei den Färbepflanzen beschrieben) erbrachte 7 g Butanolextrakt. Die Chromatographie über eine Kieselgelsäule ( $\text{CHCl}_3 \rightarrow \text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  2:1:0.1) resultierte in 2 Hauptfraktionen 1 und 2, wobei erstere über die MPLC mit RP-18-Material ( $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  80:20) weiter aufgetrennt wurde. Die saponinhaltige Fraktion K wurde über Sephadex LH-20 ( $\text{MeOH}$ ) gereinigt. Die resultierenden beiden Saponingemische K-1 und K-2 wurden mittels semipräparativer HPLC (LiChrospher® C-18, isokratisch  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  67:33) in die Verbindungen **16** und **17** sowie **18** und **19** getrennt.

Nachweis von Saponinen nach Liebermann-Buchard:

5 mg des Extraktes/der Fraktion werden in 1.5 ml Eisessig aufgenommen und mit 2 ml Chloroform sowie 0.2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. versetzt. Bei Anwesenheit von Saponinen tritt an der Phasengrenze Pinkfärbung auf [89].

#### 4.2.7 *Ononis vaginalis*

Das vorliegende Pflanzenmaterial wurde von Dr. Kamel Shaker 1999 in der Nähe von Burg-el-Arab gesammelt und weitgehend untersucht. 2 kg der getrockneten Ganzpflanze wurden mit 80%igem Methanol erschöpfend extrahiert. Aus den resultierenden 50 g Rohextrakt erhielt man nach der Fraktionierung 7 g Butanolextrakt, welcher anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel getrennt wurde (CHCl<sub>3</sub> → CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 1:1:0.1). Eine weitere Kieselgelsäule ergab die Flavonglycosid-haltige Fraktion F<sub>1</sub> (200 mg), welche mit Hilfe der MPLC (RP-18, MeOH/H<sub>2</sub>O 40:60) das Flavonoidgemisch K (46 mg) lieferte. Anschließend Trennung über Sephadex LH-20 mit Methanol führte zu den Verbindungen **20** (hellgelb, 10 mg), **21** (gelb, 4 mg) und KS-5 (schwach gelb, 6 mg). Da das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von KS-5 zeigte, dass diese Fraktion ein Gemisch zweier Substanzen war, wurde aus KS-5 durch HPLC (Zorbax C-18, MeOH/H<sub>2</sub>O 50:50) die Verbindung **22** (schwach gelb, 2.5 mg) erhalten.

#### 4.2.8 *Ipomoea operculata*

Brasilianisches Jalapa-Harz (ethanolischer, zur Trockne gebrachter Wurzelextrakt von *Ipomoea operculata*) wurde analog der Aufarbeitung von Mannich und Schumann [106] verwendet. 2 g der Droge wurden mit 2.03 g BaOH und 10 ml Wasser versetzt, geschüttelt und 30 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Entfernung ungelöster Harzrückstände wurde über einen Faltenfilter filtriert und das Filtrat 2 mal mit je 20 ml Diethylether gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit 2,3 ml 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzt, über Celite filtriert und erneut 2 mal mit Diethylether gewaschen. Die Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer i. Vak. ergab 1.3 g Saccharid-Rohextrakt als Rückstand. Zur besseren Lösbarkeit der

Harzglycoside wurde das Gemisch acetyliert. Es wurde mit 10 ml Essigsäureanhydrid, 20 ml Pyridin und einer Spatelspitze DMAP versetzt und 3 Tage bei Raumtemperatur, dann 1 h unter Rückfluß gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Toluol versetzt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer i. Vak. entfernt. Das Gemisch wurde durch SC an Kieselgel (Toluol/Aceton 2:1) getrennt, es resultierte eine Hauptfraktion von 468 mg. Erneute SC an Kieselgel (Cyclohexan/Ethylacetat/Ethanol 1:1.5:0.1) ergab 40 mg saubere Acetyloperculinsäure H und 12 mg Acetyloperculinsäure I. Durch Umsatz mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$  wurden daraus die Methylester **23** und **24** erhalten.

Ein Aliquot von 0.4 mg **23** und **24** wurden in wenig MeOH aufgenommen und mit 2M wässriger Salzsäure versetzt und 2 h bei 80°C gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer i. Vak. entfernt und die Proben anschließend an der HV getrocknet. Dann wurden die Hydrolysate in 400  $\mu\text{l}$  MSTFA aufgenommen und über Nacht stehen gelassen und anschliessend für die GC- und GC-MS-Messungen verwendet.

### 4.3 Spektroskopische Daten der isolierten Verbindungen

Verbindung **1**: Rhamnocitrin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosid.  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ,  $M_r$  462. LSI-MS (neg. Ionenmodus)  $m/z$ : 461  $[\text{M-H}]^-$  (60), 299  $[\text{M-H-Glc}]^-$  (57), 269  $[\text{M-H-Glc-OCH}_2]^-$  (100).  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten Tabelle **1**.

Verbindung **2**: 2-Hydroxy-1,4-naphthochinon-2-O- $\beta$ -D-glucopyranosid.  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_8$ ,  $M_r$  336. EI-MS  $m/z$ : 336  $[\text{M}]^+$  (17), 174  $[\text{M-Glc}]^+$  (100).  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten Tabelle **2**.

Verbindung **3**: Polystachosid.  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$ ,  $M_r$  434. LSI-MS (neg. Ionenmodus)  $m/z$ : 433  $[\text{M-H}]^-$  (25), 271  $[\text{M-H-Ara}]^-$  (50).  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten Tabelle **3**.

Verbindung **4**: Acetylalkannin.  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6$ ,  $M_r$  330. LSI-MS  $m/z$ : 330  $[\text{M}]^+$  (15), 270  $[\text{M-CH}_3\text{-COOH}]^+$  (100).  $[\alpha]_D^{27} -29^\circ$  ( $c=0.01$ ,  $\text{CHCl}_3$ )  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten Tabelle **4**.

Verbindung **5**: 3-Methylcrotonoylalkannin.  $C_{21}H_{22}O_6$ ,  $M_r$  370. EI-MS  $m/z$ : 370  $[M]^+$  (24), 270  $[M-(CH_3)_2-C=CH-COOH]^+$  (100).  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 4.

Verbindung **6**: Alkannin.  $C_{16}H_{16}O_5$ ,  $M_r$  288. EI-MS  $m/z$ : 288  $[M]^+$  (21), 270  $[M-H_2O]^+$  (100).  $[\alpha]_D^{27} -81^\circ$  ( $c=0.005$ ,  $CHCl_3$ )  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 4.

Verbindung **7**: Teracrylalkannin.  $C_{22}H_{24}O_6$ ,  $M_r$  384. EI-MS  $m/z$ : 384  $[M]^+$  (24), 270  $[M-(CH_3)_2-C=CH-CH_2-COOH]^+$  (100).  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 5.

Verbindung **8**: Lutein.  $C_{40}H_{56}O_2$ ,  $M_r$  568. EI-MS  $m/z$ : 568  $[M]^+$  (100).

GC-MS: Palmitinsäure ( $C_{16}H_{32}O_2$ ,  $M_r$  256,  $m/z$  256  $[M]^+$  (52)),  $\beta$ -Tocopherol ( $C_{28}H_{48}O_2$ ,  $M_r$  416,  $m/z$  416  $[M]^+$  (36)),  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E $\alpha$ ,  $C_{29}H_{50}O_2$ ,  $M_r$  430,  $m/z$  430  $[M]^+$  (28)), 9-cis-Retinal ( $C_{20}H_{28}O$ ,  $M_r$  284,  $m/z$  284  $[M]^+$  (43)).

Verbindung **9**: Duranterectosid B.  $C_{26}H_{32}O_{13}$ ,  $M_r$  552. ESI-MS  $m/z$ : 575  $[M+Na]^+$ , 552  $[M]^+$ .  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 6.

Verbindung **10**: Boucheosid.  $C_{27}H_{34}O_{14}$ ,  $M_r$  582. ESI-MS  $m/z$ : 605  $[M+Na]^+$ , 582  $[M]^+$ .  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 6.

Verbindung **11**: Durantosid II.  $C_{27}H_{34}O_{14}$ ,  $M_r$  582. ESI-MS  $m/z$ : 605  $[M+Na]^+$ , 582  $[M]^+$ .  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 7.

Verbindung **12**: Durantosid I.  $C_{26}H_{32}O_{13}$ ,  $M_r$  552. ESI-MS  $m/z$ : 575  $[M+Na]^+$ , 552  $[M]^+$ .  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 7.

Verbindung **13**: Duranterectosid A.  $C_{27}H_{34}O_{15}$ ,  $M_r$  598. ESI-MS  $m/z$ : 621  $[M+Na]^+$ , 598  $[M]^+$ .  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 7.

Verbindung **14**: Lamiidosid.  $C_{26}H_{32}O_{14}$ ,  $M_r$  568. ESI-MS  $m/z$ : 591  $[M+Na]^+$ , 568  $[M]^+$ .  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 7.

Verbindung **15**: Lamiid.  $C_{17}H_{26}O_{12}$ ,  $M_r$  422. ESI-MS  $m/z$ : 445  $[M+Na]^+$ , 422  $[M]^+$ .  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR-Daten Tabelle 8.

Verbindung **16**: 3-O- $\{[\beta$ -D-Glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-11 $\alpha$ -methoxy-23-hydroxy-longispinogenin.  $C_{43}H_{72}O_{15}$ ,  $M_r$  828. LSI-MS (neg. Ionen-

modus)  $m/z$ : 827 [M-H]<sup>-</sup> (100), 665 [M-H-Glc]<sup>-</sup> (20). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten Tabellen **9** und **11**.

Verbindung **17**: 3-O- $\{[\beta\text{-D-Glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)}]\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}\}$ -11 $\alpha$ -methoxy-23,29-dihydroxylongispinogenin. C<sub>43</sub>H<sub>72</sub>O<sub>16</sub>, M<sub>r</sub> 844. LSI-MS (neg. Ionenmodus)  $m/z$ : 843 [M-H]<sup>-</sup> (100), 681 [M-H-Glc]<sup>-</sup> (21). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten Tabellen **9** und **11**.

Verbindung **18**: 3-O- $\{[\beta\text{-D-Glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)}]\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}\}$ -29-hydroxysaikogenin F. C<sub>42</sub>H<sub>68</sub>O<sub>15</sub>, M<sub>r</sub> 812. LSI-MS (neg. Ionenmodus)  $m/z$ : 811 [M-H]<sup>-</sup> (100), 649 [M-H-Glc]<sup>-</sup> (20). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten Tabellen **10** und **11**.

Verbindung **19**: 3-O- $\{[\beta\text{-D-Glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)}]\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}\}$ -saikogenin F. C<sub>42</sub>H<sub>68</sub>O<sub>14</sub>, M<sub>r</sub> 796. LSI-MS (neg. Ionenmodus)  $m/z$ : 795 [M-H]<sup>-</sup> (100), 633 [M-H-Glc]<sup>-</sup> (37). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten Tabellen **10** und **11**.

Verbindung **20**: Mirkoinglucosid. C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>, M<sub>r</sub> 460. ESI-MS  $m/z$ : 460 [M]<sup>+</sup> (45), 298 [M-Glc]<sup>+</sup> (68). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten Tabelle **12**.

Verbindung **21**: Kämpferol-3-O-(2-O-(*E*)-*p*-cumaroyl- $\beta$ -D-galactopyranosid)-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosid. C<sub>36</sub>H<sub>36</sub>O<sub>18</sub>, M<sub>r</sub> 756. ESI-MS  $m/z$ : 779 [M+Na]<sup>+</sup> (100). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten Tabelle **13**.

Verbindung **22**: 3,4-Di-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-4-hydroxymedicarpin. C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>O<sub>15</sub>, M<sub>r</sub> 610. LSI-MS (neg. Ionenmodus)  $m/z$ : 609 [M-H]<sup>-</sup> (19), 447 [M-H-Glc]<sup>-</sup> (48), 255 [M-H-Glc-Glc-OCH<sub>2</sub>]<sup>-</sup> (100). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten Tabelle **14**. CD-Daten Tabelle **15**.

Verbindung **23**: Methylester von Acetyloperculinsäure H. C<sub>84</sub>H<sub>124</sub>O<sub>47</sub>, M<sub>r</sub> 1884. <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten Tabellen **16** und **17**. Methylester von Operculinsäure H. C<sub>52</sub>H<sub>92</sub>O<sub>31</sub>, M<sub>r</sub> 1212. EI-MS  $m/z$ : 1212 [M]<sup>+</sup> (10).

Verbindung **24**: Methylester von Acetyloperculinsäure I. C<sub>99</sub>H<sub>144</sub>O<sub>56</sub>, M<sub>r</sub> 2228. ESI-MS  $m/z$ : 2228 [M]<sup>+</sup> (43). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten Tabellen **18** und **19**.

Trimethylsilylierter (3*S*,12*S*)-Dihydroxypalmitinsäuremethylester (GC-MS, R<sub>t</sub> 15.55 min):  $m/z$  341 [M-Me-(Me)<sub>3</sub>SiOH]<sup>+</sup> (2), 175 [M-CHOSi(Me)<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-COOMe]<sup>+</sup> (32), 159 [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>-CHOSi(Me)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (48), 59 [COOMe]<sup>+</sup> (32).

## 5 Zusammenfassung

Die im Rahmen des interdisziplinären Forschungs- und Entwicklungsprojektes Färbepflanzen untersuchten Pflanzen *Impatiens balsamina*, *Filipendula ulmaria*, *Alkanna tinctoria* und *Tagetes erecta* werden wegen ihrer Farbgebungen auf Naturfasern geschätzt. Extrakte von *Alkanna tinctoria* besitzen auch medizinische Bedeutung bei der Behandlung von Hautkrankheiten. Da die meisten natürlichen Farbstoffe aus den biologisch aktiven Naturstoffklassen der Flavonoide oder Naphthochinone stammen, sollten diese aus den Färbepflanzen isoliert und identifiziert werden. Dabei stellte sich heraus, dass in diesen bereits häufig untersuchten Pflanzen seltene, in diesen Arten bisher nicht beschriebene Naturstoffe zu finden sind, wie z. B. Rhamnocitrin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosid (**1**) in *Impatiens balsamina* oder Teracrylalkannin (**7**) in *Alkanna tinctoria*.

Die untersuchten Pflanzen *Fagerlindia depauperata*, *Atriplex semibaccata*, *Ononis vaginalis* und *Ipomoea operculata* werden teilweise bis heute in der traditionellen Medizin genutzt. Obwohl Extrakte von *Fagerlindia depauperata* in der vietnamesischen Volksmedizin eingesetzt werden, ist sie noch nie auf ihre Inhaltsstoffe untersucht worden. Es zeigte sich, daß diese Pflanze einen ungewöhnlich hohen Anteil von Iridoiden enthält, ca. 10 % des Rohextraktes. Zudem handelt es sich dabei größtenteils um seltene, pharmakologisch relevante Vertreter dieser Naturstoffklasse.

*Atriplex semibaccata* und *Ononis vaginalis* sind in Ägypten heimische Pflanzen. Ihr pharmakologisches Potenzial wird hauptsächlich auf Triterpensaponine und Flavonglycoside zurückgeführt. Daher sollten aus diesen zwei Pflanzen Vertreter dieser Stoffklassen isoliert und deren Struktur bestimmt werden. Bei den Wirk-

prinzipien der auch heute noch weltweit in der Naturheilkunde eingesetzten *Ipomoea*-Arten handelt es sich um eine ungewöhnliche Form von Glycolipiden. Da die Strukturaufklärung dieser komplexen Moleküle schwierig ist, sind nur wenige dieser Harzglycoside, meist von geringerer Größe, beschrieben worden. Wegen der Komplexität der Substanzgemische und des unterschiedlichen Verhaltens jeder Stoffklasse mussten individuelle Lösungen der Trennprobleme gefunden werden. Daher wurden jeweils spezielle Aufarbeitungsschemata entwickelt. Zur Isolierung fanden Säulenchromatographie an Kieselgel und Sephadex LH-20, MPLC und HPLC an Umkehr- und Normalphase Anwendung.

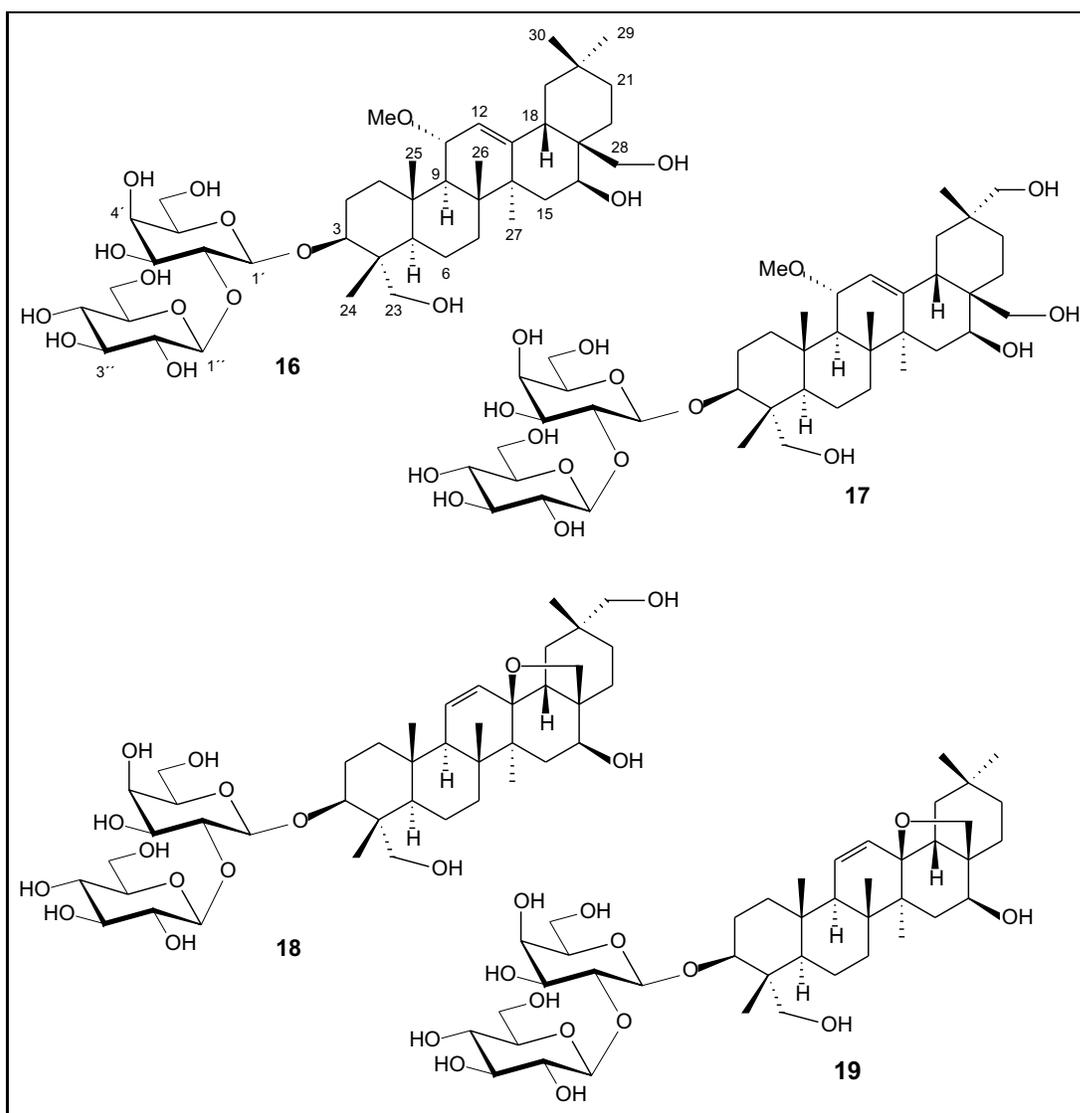
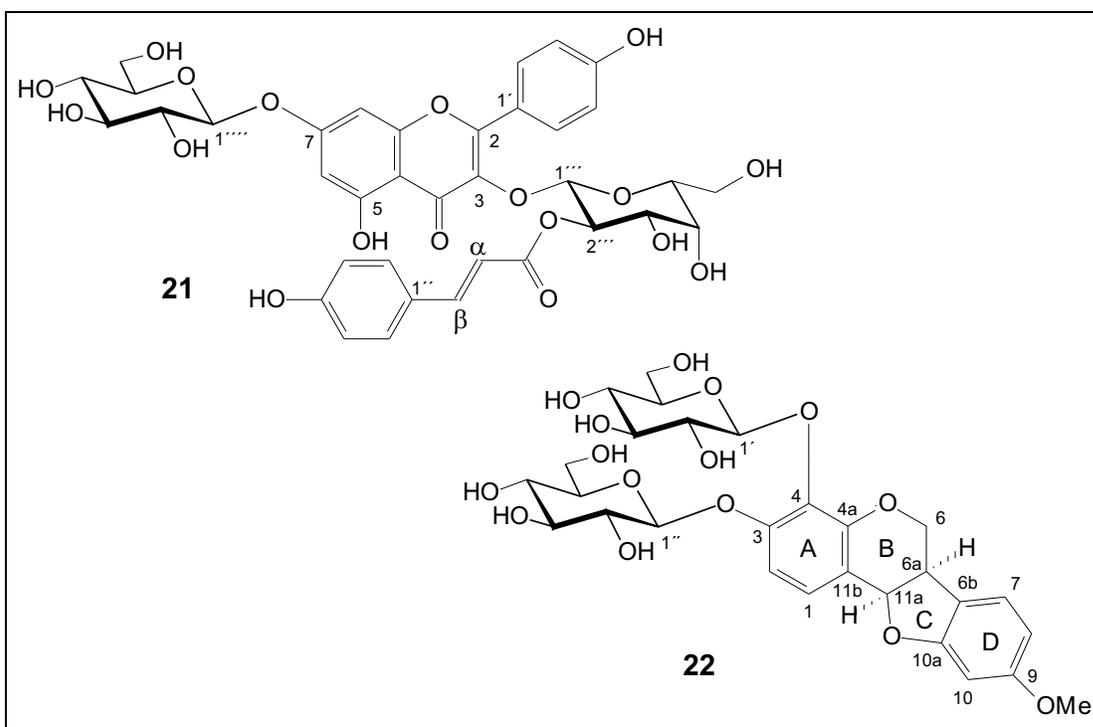


Abb. 25: Neue *Atriplex semibaccata*- Triterpensaponine 16-19

Die Strukturaufklärung der isolierten Verbindungen erfolgte weitgehend mittels Kernspinresonanzspektroskopie. Die Zuordnung der Signale wurde mit Hilfe der zweidimensionalen homonuklearen NMR-Techniken  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY und TOCSY, den heteronuklearen Experimenten HMQC und HMBC sowie den kombinierten NMR-Experimenten HMQC-COSY und HMQC-TOCSY vorgenommen. Die Anordnung der axial- und äquatorialständigen Protonen der Aglyca wurde mittels ROESY- oder NOESY-Messungen ermittelt. Auch die interglycosidischen Verknüpfungen konnten sowohl aus den HMBC- als auch aus den NOESY-Spektren ermittelt werden.

Aus *Atriplex semibaccata* konnten die 4 neuen Triterpensaponine **16-19** isoliert werden. Aus *Ononis vaginalis* wurden das Flavonoidglycosid **21** und das Pterocarpanglycosid **22** erhalten, die bisher unbekannt waren.



**Abb. 26:** Flavonoidglycosid **21** und Pterocarpanglycosid **22** aus *Ononis vaginalis*

Aus *Ipomoea operculata* konnten die beiden Harzglycoside Operculinsäure H und I isoliert werden, deren Strukturen nach Derivatisierung (**23**, **24**) aufgeklärt wur-

den. Bei der Hauptkomponente Operculinsäure H konnte der bisherige Strukturvorschlag korrigiert werden. Operculinsäure I ist das erste Harzglycosid, das als Heptasaccharid vorliegt.

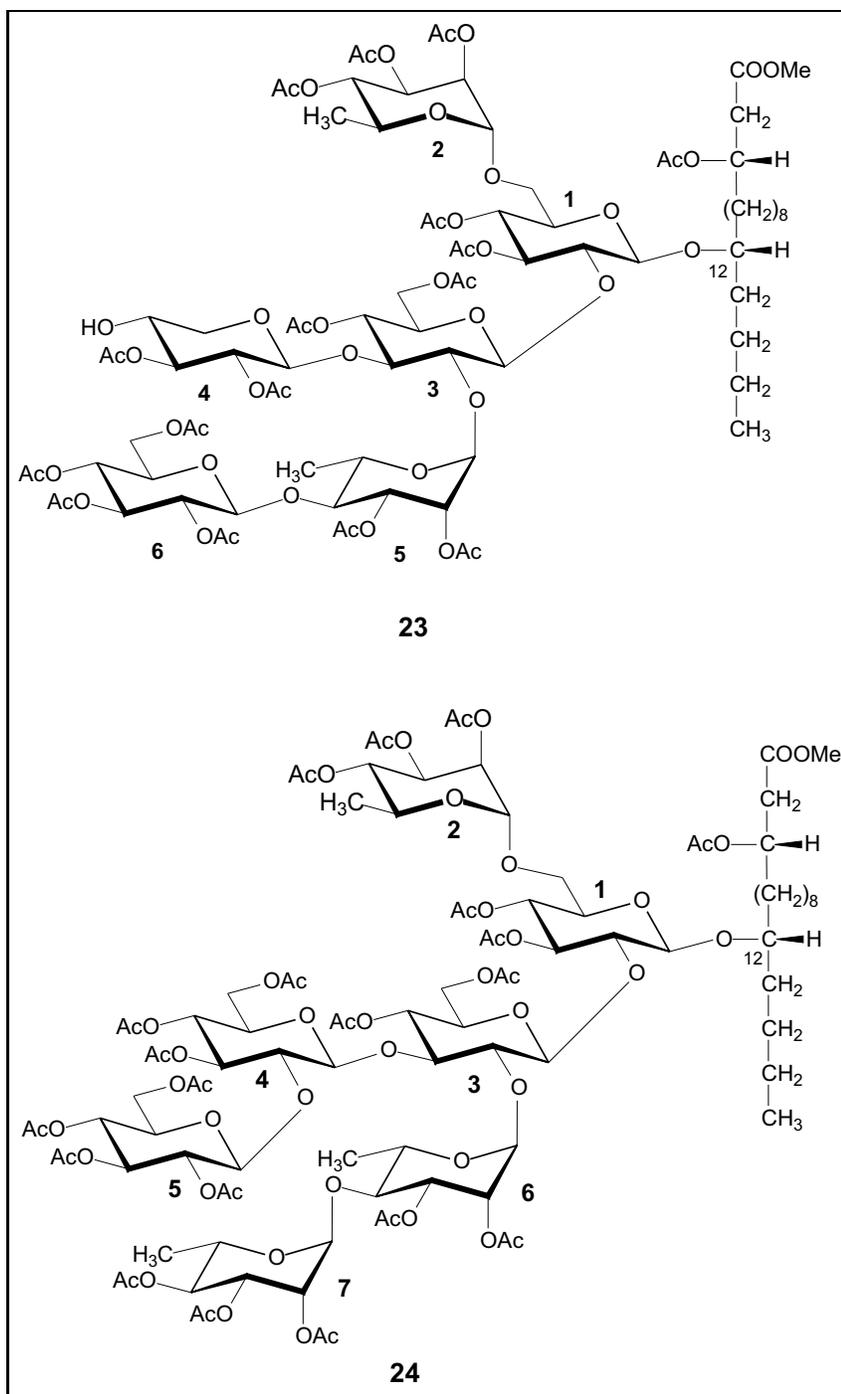


Abb. 27: Methyl ester von Acetyloperculinsäure H (23) und I (24)

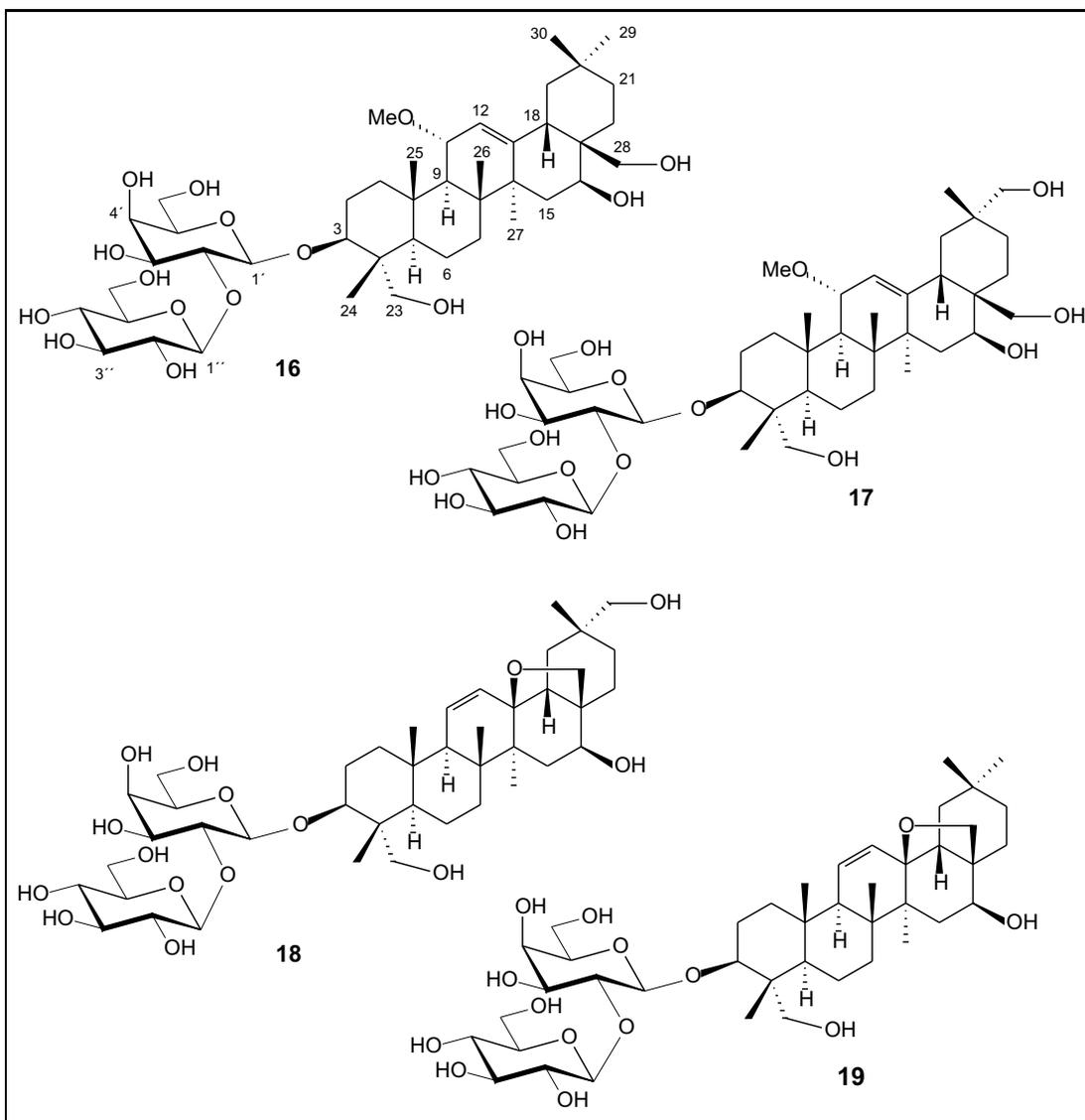
## 6 Summary

Within the scope of the interdisciplinary research project “dyeing plants“ the investigated plants *Impatiens balsamina*, *Filipendula ulmaria*, *Alkanna tinctoria* and *Tagetes erecta* are appreciated due to their colouring on natural fibres. Additionally, extracts of *Alkanna tinctoria* are of medicinal relevance in the treatment of skin diseases. Because most natural dyestuffs are part of the biological active classes of flavonoids or naphthoquinones, those members should be isolated from the dyeing plants. It turned out that even in these frequently investigated plants rare and in these species unknown natural products were found, like e. g. rhamnocitrin-3-O- $\beta$ -glucopyranoside (**1**) in *Impatiens balsamina* or teracrylalkannin (**7**) in *Alkanna tinctoria*.

The investigated plants *Fagerlindia depauperata*, *Atriplex semibaccata*, *Ononis vaginalis* and *Ipomoea operculata* are partially still used in traditional medicine. Though extracts of *Fagerlindia depauperata* are used in Vietnamese folk medicine, its ingredients have never been investigated. This plant contains an unusually high amount of iridoids, 10 % of the crude extract. Additionally, the found representatives of this class of natural products are mainly rare and pharmacologically relevant compounds.

*Atriplex semibaccata* and *Ononis vaginalis* occur in Egypt. Their pharmacological potential is caused by triterpene saponins and flavonoids. Therefore representatives of these two classes should be isolated from those medicinal plants. The active principles of the *Ipomoea*-species, which are used worldwide in natural medicine, belong to an unusual form of glycolipids. The structure elucidation of those complex molecules is difficult, and only few resin glycosides, mainly of smaller sizes,

are already characterized. An individual working scheme had to be established for each class of substances, because every crude extract contained a complex mixture of substances and all classes behaved different. Column chromatography on silica gel and Sephadex LH-20, MPLC and HPLC on reversed and normal phase have been used for the isolation of the compounds.

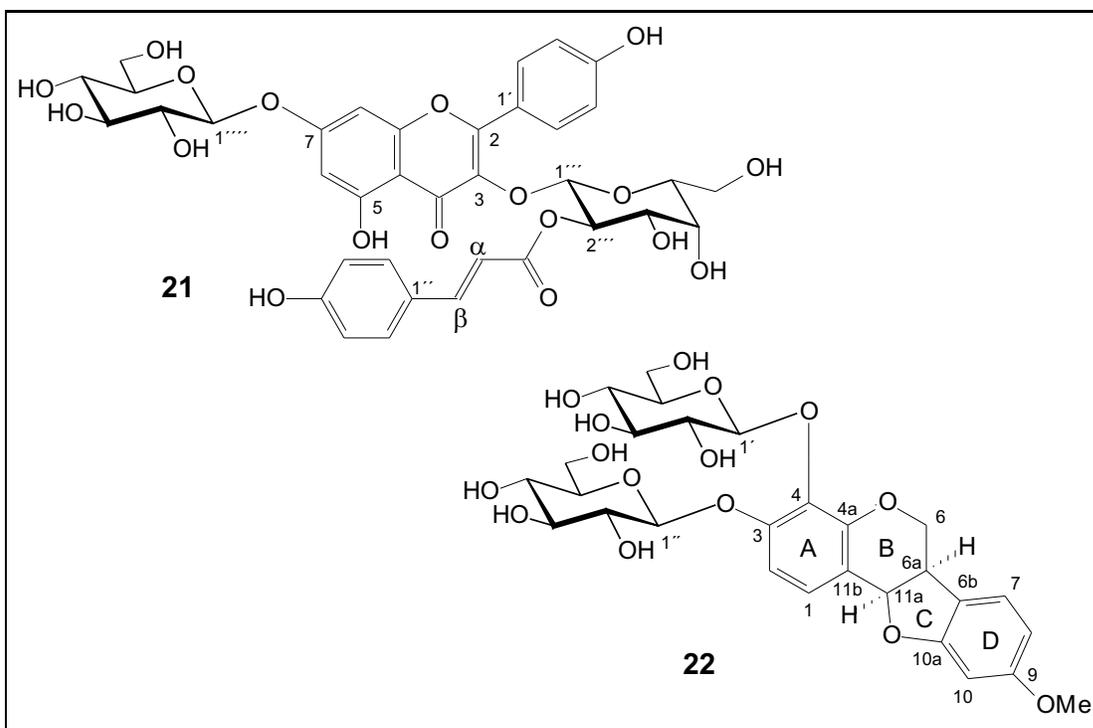


**Abb. 28:** New *Atriplex semibaccata*- triterpene saponins **16-19**

The structures of the isolated compounds were primarily determined by NMR

spectroscopy. The assignment of the signals was performed by means of the two-dimensional homonuclear NMR techniques  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY and TOCSY, the heteronuclear experiments HMQC and HMBC and the combined NMR experiments HMQC-COSY and HMQC-TOCSY. The assignment of axial and equatorial oriented protons of the aglycones was made with ROESY or NOESY experiments. The interglycosidic linkage resulted from HMBC as well as from NOESY spectra.

Four new triterpenoid saponines (**16-19**) could be isolated from *Atriplex semibaccata*. Unknown flavonoidglycoside **21** and pterocarpanglucoside **22** have been obtained from *Ononis vaginalis*.



**Abb. 29:** Flavonoidglycoside **21** and pterocarpanglucoside **22** from *Ononis vaginalis*

The resin glycosides operculinic acid H and I have been isolated from *Ipomoea operculata*. Their structures were established after derivatisation (**23**, **24**). The structure of the main component operculinic acid H was corrected. Operculinic acid I is the first resin glycoside which consists as heptasaccharide.

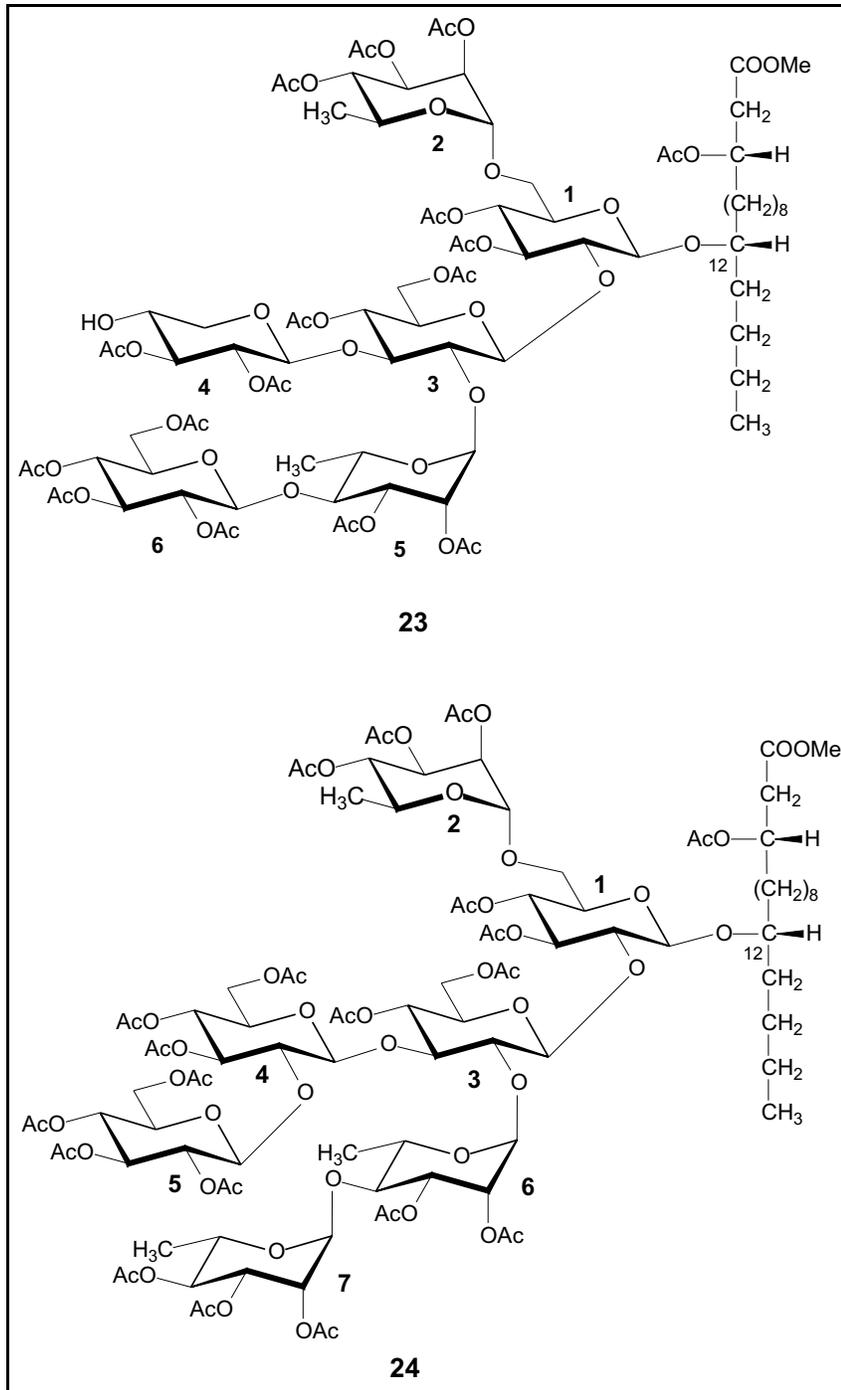


Abb. 30: Methyl ester of acetyloperculinic acid H (23) and I (24)

# 7 Anhang

# Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b> Aufarbeitungsschema von <i>Impatiens balsamina</i> . . . . .	30
<b>Abb. 2:</b> Rhamnocitrin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosid ( <b>1</b> ) . . . . .	31
<b>Abb. 3:</b> 2-Hydroxy-1,4-naphthochinon-2-O- $\beta$ -D-glucopyranosid ( <b>2</b> ) . . . . .	33
<b>Abb. 4:</b> Aufarbeitungsschema von <i>Filipendula ulmaria</i> . . . . .	34
<b>Abb. 5:</b> Polystachosid ( <b>3</b> ) . . . . .	35
<b>Abb. 6:</b> Aufarbeitungsschema von <i>Alkanna tinctoria</i> . . . . .	38
<b>Abb. 7:</b> Alkannin ( <b>6</b> ), Arnebin-1 ( <b>5</b> ) und <b>3</b> ( <b>4</b> ) . . . . .	39
<b>Abb. 8:</b> Teracrylalkannin ( <b>7</b> ) . . . . .	41
<b>Abb. 9:</b> Aufarbeitungsschema von <i>Tagetes erecta</i> . . . . .	43
<b>Abb. 10:</b> Aufarbeitungsschema von <i>Fagerlindia depauperata</i> . . . . .	49
<b>Abb. 11:</b> Duranterectosid B ( <b>9</b> ) und Boucheosid ( <b>10</b> ) . . . . .	51
<b>Abb. 12:</b> Durantosid II ( <b>11</b> ), Durantosid I ( <b>12</b> ), Duranterectosid A ( <b>13</b> ) und Lamiidosid ( <b>14</b> ) . . . . .	54
<b>Abb. 13:</b> Lamiid ( <b>15</b> ) . . . . .	56
<b>Abb. 14:</b> Aufarbeitungsschema von <i>Atriplex semibaccata</i> . . . . .	58
<b>Abb. 15:</b> <i>Atriplex semibaccata</i> - Saponine <b>16-19</b> . . . . .	59
<b>Abb. 16:</b> Aufarbeitungsschema von <i>Ononis vaginalis</i> . . . . .	67
<b>Abb. 17:</b> Mirkoinglucosid ( <b>20</b> ) . . . . .	68

---

Abb. 18: Flavonoidglycosid <b>21</b> . . . . .	70
Abb. 19: Pterocarpanglucosid <b>22</b> . . . . .	73
Abb. 20: Räumliche Darstellung der <i>P</i> -Helizität bei Pterocarpanen .	75
Abb. 21: CD-Spektrum des Pterocarpanglucosids <b>22</b> . . . . .	76
Abb. 22: Methylester von Acetyloperculinsäure H ( <b>23</b> ) . . . . .	80
Abb. 23: Räumliche Struktur von Operculinsäure H . . . . .	82
Abb. 24: Methylester von Acetyloperculinsäure I ( <b>24</b> ) . . . . .	84
Abb. 25: Neue <i>Atriplex semibaccata</i> - Triterpensaponine <b>16-19</b> . . . .	99
Abb. 26: Flavonoidglycosid <b>21</b> und Pterocarpanglucosid <b>22</b> aus <i>Ononis vaginalis</i> . . . . .	100
Abb. 27: Methylester von Acetyloperculinsäure H ( <b>23</b> ) und I ( <b>24</b> ) . .	101
Abb. 28: New <i>Atriplex semibaccata</i> - triterpene saponins <b>16-19</b> . . . .	103
Abb. 29: Flavonoidglycoside <b>21</b> and pterocarpanglucoside <b>22</b> from <i>Ononis vaginalis</i> . . . . .	104
Abb. 30: Methylester of acetyloperculinic acid H ( <b>23</b> ) and I ( <b>24</b> ) . .	105

# Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von <b>1</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . . . . .	32
<b>Tab. 2:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von <b>2</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . . . . .	33
<b>Tab. 3:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von <b>3</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . . . . .	36
<b>Tab. 4:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten der Verbindungen <b>4-6</b> in $\text{CDCl}_3$ . . .	40
<b>Tab. 5:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von <b>7</b> in $\text{CDCl}_3$ . . . . .	41
<b>Tab. 6:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von Verbindungen <b>9</b> und <b>10</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$	52
<b>Tab. 7:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten der Verbindungen <b>11-14</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$	55
<b>Tab. 8:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von <b>15</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . . . . .	56
<b>Tab. 9:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten der Aglyca <b>16</b> und <b>17</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . .	62
<b>Tab. 10:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten der Aglyca <b>18</b> und <b>19</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ .	64
<b>Tab. 11:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten der Saccharidkomponenten von <b>16-</b> <b>19</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . . . . .	64
<b>Tab. 11:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten der Saccharidkomponenten von <b>16-</b> <b>19</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . . . . .	65
<b>Tab. 12:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von <b>20</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . . . . .	69
<b>Tab. 13:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von <b>21</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . . . . .	71
<b>Tab. 14:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von <b>22</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$ . . . . .	74
<b>Tab. 15:</b> CD-Daten von <b>22</b> in $\text{CH}_3\text{OH}$ . . . . .	76

---

<b>Tab. 16:</b> Ausgewählte $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten des Fettsäureteils von <b>23</b> in $\text{CDCl}_3$ . . . . .	80
<b>Tab. 17:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten des Methylesters von Acetyloperculinsäure H ( <b>23</b> ) in $\text{CDCl}_3$ . . . . .	81
<b>Tab. 18:</b> Ausgewählte $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten des Fettsäureteils von <b>24</b> in $\text{DMSO-D}_6$ . . . . .	84
<b>Tab. 19:</b> $^1\text{H}$ - und $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten des Methylesters von Acetyloperculinsäure I ( <b>24</b> ) in $\text{DMSO-D}_6$ . . . . .	85

# Literaturverzeichnis

- [1] Andrew Chevallier, *Die BLV-Enzyklopädie der Heilpflanzen*, BLV Verlagsgesellschaft mbH, , **2000**, 16-18.
- [2] Andrew Chevallier, *Die BLV-Enzyklopädie der Heilpflanzen*, BLV Verlagsgesellschaft mbH, , **2000**, 6.
- [3] E. Stahl, W. Schild, *Pharmazeutische Biologie Band 4*, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, **1981**, I .
- [4] L. Boulos, *Flora of Egypt*, Al Hadara Publishing Cairo, **1999**, 1, 260.
- [5] [www.liberherbarum.com/pn1200.htm](http://www.liberherbarum.com/pn1200.htm) .
- [6] [www.ciagri.usp.br/planmedi/pm0109.htm](http://www.ciagri.usp.br/planmedi/pm0109.htm) .
- [7] M.-L. Rottmann-Meyer, *Tagungsband Innovation in Farbe*, LIVOS Pflanzenchemie Wieren, **1999**, 11.
- [8] L.M. Roth, T. Eisner, *Ann. Rev. Entomol.*, **1962**, 7, 107.
- [9] L.J. El-Naggar, J.L. Beal, *J. Nat. Prod.*, **1980**, 43, 649-707.
- [10] S.F. El-Naggar, R.W. Doskotch, *J. Nat. Prod.*, **1980**, 43, 524-526.
- [11] T.I. Khalifa, O.D. El-Gindi, H.A. Ammar, D.M. El-Naggar, *Asian J. Chem.*, **2002**, 14, 197-202.
- [12] H. Beyer, W. Walter, *Lehrbuch der organischen Chemie*, S. Hirzel Verlag Stuttgart, **1991**, 779-780.

- [13] H.R. Schütte, *Biosynthese niedermolekularer Naturstoffe*, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, **1982**, 100-105.
- [14] A. Asai, *Kagaku to Seibutsu*, **2002**, *40*, 246-248.
- [15] J.B. Harborne, C.A. Williams, *Nat. Prod. Rep.*, **2001**, *18*, 310-333.
- [16] V. Cody, *Plant Flavonoids in Biology and Medicine*, Alan R. Liss Inc. New York, **1986**, 471-80.
- [17] N. Tsuneatsu, A. Fumiko, K. Junei, O. Hikaru, *Biol. Pharm. Bull.*, **2002**, *25*, 875-879.
- [18] T. Tanaka, *Foods Food Ingred. J. Jpn.*, **1994**, 4650.
- [19] K. Kanazawa, H. Kawasaki, K. Samejima, H. Ashida, G. Danno, *J. Agric. Food Chem.*, **1995**, *43*, 404-409.
- [20] T. Nakasugi, K. Komai, *Natural Medicines*, **1996**, *50*, 354-357.
- [21] T. Nakasugi, M. Nakashima, K. Komai, *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, *48*, 3256-66.
- [22] J.J. Lee, B.G. Bok, M.N. Kim, M.H. Chung, *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, **1997**, *1*, 573-580.
- [23] M. Yoo, M.W. Son, I.Y. Kim, W.B. Kim, H. Soon, S.D. Lee, G.J. Lim, J.I. Lim, et al., *PCT Int. Appl.*, **1998**, CODEN: PIXXD2 WO 9804541 A1 19980205, 82pp.
- [24] D.R. Perrin, W. Bottomley, *Nature*, **1962**, *86*, 1919-1922.
- [25] D.D. Perrin, D.R. Perrin, *Nature*, **1962**, *86*, 1922-1925.
- [26] S. Ebel, H.J. Roth, *Lexikon der Pharmazie*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1987**, 581.
- [27] K. Hostettmann, A. Marston, *Chemistry and Pharmacology Natural Products - Saponins*, Cambridge University Press Cambridge, **1995**, 1-77.

- [28] G. Reznicek, J. Jurenitsch, *Pharm. in unserer Zeit* **1991**, *20*, 278-281.
- [29] G. Wulff, *Dtsch. Apothekerzeitung* **1968**, *108*, 797-808.
- [30] H. Diener, *Drogen in Übersichten*, VEB Fachbuchverlag Leipzig, **1990**, 28-30.
- [31] G. Bader, *Pharmazie*, **1994**, *49*, 391-400.
- [32] T. Schöpke, *Pharmazie*, **1990**, *45*, 313-342.
- [33] J. Campbell, *Res. Immunol.*, **1992**, *143*, 526-530.
- [34] I. Claasen, *Res. Immunol.*, **1992**, *143*, 531-541.
- [35] A.V. Rao, M.K. Sung, *Americ. Inst. of Nutr.*, **1995**, 717.
- [36] M. Sung, C. Kendall, A.V. Rao, *Fd. Chem. Toxic.*, **1995**, *33*, 357.
- [37] H. Beyer, W. Walter, *Lehrbuch der organischen Chemie*, S. Hirzel Verlag Stuttgart, **1991**, 591-593.
- [38] V.P. Papageorgiu, A.N. Assimopoulou, E.A. Couladouros, D. Hepworth, K.C. Nicolaou, *Angew. Chem.*, **1999**, *111*, 280-311.
- [39] H. Wagner, *Nobel Symposium: Chemistry in botanical classification*, **1974**, *25*, 235-240.
- [40] S.N. Khanna, P.C. Gupta, *Phytochemistry*, **1967**, *6*, 735.
- [41] F. Jun-ichi, S. Nobuo, *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, **2001**, *13*, 1-10.
- [42] R. Pereda-Miranda, R. Mata, A.L. Anaya, D.B.M. Wickramaratne, J.M. Pezzuto, A.D. Kinghorn, *Journal of Natural Products*, **1993**, *56*, 571-582.
- [43] H. Beyer, W. Walter, *Lehrbuch der organischen Chemie*, S. Hirzel Verlag Stuttgart, **1991**, 31-47.
- [44] H. Duddeck, W. Dietrich, *Strukturaufklärung mit moderner NMR-Spektroskopie*, Steinkopff Verlag Darmstadt, **1988**, 17-36.

- [45] H. Günther, *NMR-Spektroskopie*, 3. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1992**, 374-378.
- [46] M.H. Werner, *Avance User's Guide*, Spectrospin AG Fällanden, **1994**, Vers. 10.0, 1-146.
- [47] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 4. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1991**, 201-246.
- [48] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 4. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1991**, 10-2.
- [49] J.B. Biot, *Bull. Soc. Philomath. Paris*, **1815**, 190.
- [50] A. Fresnel, *Ann. Chim. Phys.*, **1825**, 28, 961.
- [51] C.R. Cantor, P.R. Schimmel, *Biophysical Chemistry*, W.H. Freeman and Company San Francisco, **1980**, 409-416.
- [52] R. Hegnauer, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Birkhäuser Verlag Stuttgart, **1964**, III, 229-232.
- [53] D. Aichele, H.-W. Schwegler, *Die Blütenpflanzen Mitteleuropas*, Franckh-Kosmos Verlag Stuttgart, **1994**, 2, 126.
- [54] D. Aichele, H.-W. Schwegler, *Die Blütenpflanzen Mitteleuropas*, Franckh-Kosmos Verlag Stuttgart, **1995**, 3, 413.
- [55] N.A. Sultanova, Zh.A. Abilov, V.B. Omurkamzinova, I.M. Chaudri, *Chemistry of Natural Compounds*, **2002**, 38, 98-99.
- [56] R. Hegnauer, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Birkhäuser Verlag Stuttgart, **1989**, VI, 104-105.
- [57] M.H. Lee, Y.K. Son, Y.N. Han, *Arch. Pharm. Res.*, **2002**, 6, 842-850.
- [58] M. Grazia Valle, G.M. Nana, S. Tira, *Planta Medica*, **1988**, 54, 181-182.
- [59] L. Hörhammer, R. Hansel, G. Kriesmair, W. Endres, *Arch. Pharm.*, **1955**, 288, 419-425.

- [60] R. Hegnauer, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Birkhäuser Verlag Stuttgart, **1964**, III, 524-532.
- [61] D. Aichele, H.-W. Schwegler, *Die Blütenpflanzen Mitteleuropas*, Franckh-Kosmos Verlag Stuttgart, **1995**,4, 34.
- [62] V.P. Papageorgiou, A.N. Assimopoulou, E.A. Couladouros, D. Hepworth, K.C. Nicolaou, *Angew. Chem.*, **1999**, 111, 280-311.
- [63] R. Majima, C. Kuroda, *Acta Phytochim. (Tokyo)*, **1922**, 1, 43-65.
- [64] H. Brockmann, *Justus Liebigs Ann.*, **1936**, 521, 1-47.
- [65] H. Fukui, M. Tsukada, H. Mizukami, M. Tabata, *Phytochemistry*, **1983**, 22, 453-456
- [66] V.P. Papageorgiou, *Experientia*, **1978**, 34, 1499-1501.
- [67] V.P. Papageorgiou, *Chem. Abstr.*, **1978**, 89, 152707m; US-A 4282250, **1981**.
- [68] S. Fu, P. Xiao, *Zhongcaoyao*, **1986**, 17, 434-437
- [69] U. Sankawa, H. Otsuka, K. Kataoka, Y. Iitaka, A. Itoshi, K. Kuretani, *Chem. Pharm. Bull.*, **1981**, 29, 116-122.
- [70] M. Liu, T. Ohuchi, T. Ieiri, M. Ohe, S. Matsuzaki, *Dokkyo J. Med. Sci.*, **1996**, 23, 63-69.
- [71] N. Kirimer, B. Bozan, K.H.C. Baser, *Fitoterapia*, **1995**, 66, 499-500.
- [72] D.Aichele, H.-W. Schwegler, *Die Blütenpflanzen Mitteleuropas*, Franckh-Kosmos Verlag Stuttgart, **1995**,4, 344.
- [73] P. Vasudevan, S. Kashyap, S. Sharma, *Bioresource Technology*, **1997**, 62, 29-35.
- [74] M.E. El-Tantawy, M.S.M. Hamauda, A.S. Azzam, *Bull.Fac.Pharm. Cairo Univ.*, **1994**, 32, 113-117.

- [75] W.L. Hadden, R.H. Watkins, L.W. Levy, E. Regalado, D.M. Rivadeneira, R.B. van Bremen, S.J. Schwartz, *J.Agric.Food Chem.*, **1999**, *47*, 4189-4194.
- [76] R. Piccaglia, M. Marotti, S. Grandi, *Industrial Crops and Products*, **1998**, *8*, 45-51.
- [77] C. Bicchi, A. Binello, P. Rubiolo, *Phytochem. Anal.*, **1999**, *10*, 17-21.
- [78] L. Watson, M.J. Dallwitz, *The Families of Flowering Plants*, Version: 14th December **2000**, <http://biodiversity.uno.edu/delta/>
- [79] C.E. Ridsdale, *Blumea*, **1996**, *41*, 135-179.
- [80] R.E. Krull, F.R. Stermitz, H. Franzyk, S.R. Jensen, *Phytochemistry*, **1998**, *49*, 1605-1608.
- [81] Y. Takeda, Y. Morimoto, T. Matsumoto, C. Ogimi, E. Hirata, A. Takushi, H. Otsuka, *Phytochemistry*, **1995**, *39*, 829-833.
- [82] I.T. Albrecht Schuquel, A. Malheiros, M.H. Sarragiotto, G.J. Vidotti, *Phytochemistry*, **1998**, *49*, 2409-2411.
- [83] T. Vesper, K. Seifert, *Pytochemistry*, **1994**, *37*, 1087-1089.
- [84] H. Rimpler, H. Timm, *Z. Naturforsch. Teil C*, **1974**, *29*, 111-115.
- [85] P. Wilson, *Chenodpodiaceae*, **1998**, 81-330; in A. George (Ed.), *Flora of Australia*, Australian Government Publishing Service Canberra, *Vol.4*, 354 ff.
- [86] [www.plantadviser.com](http://www.plantadviser.com) .
- [87] G. Banuelos, *J. Environmental Sci. Health*, **1996**, *A 31*, 1179-1196.
- [88] K.H. Shaker, M. Bernhardt, M.H.A. Elgamal, K. Seifert, *Z. Naturforsch., C.*, **2001**, *56*, 699-702.
- [89] E. Abisch, T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta*, **1960**, *43*, 1844-1861.
- [90] H. Matsuda, T. Murakami, K. Ninomiya, M. Inadzuki, M. Yoshikawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1997**, *7*, 2193-2198.

- [91] H. Liang, Y. Zhao, H. Qiu, J. Huang, R. Zhang, *Yaoxue Xuebao*, **1998**, *33*, 37-41.
- [92] T. Miyase, Y. Matsushima, *Chem. Pharm. Bull.*, **1997**, *45*, 1493-1497.
- [93] K. Seifert, A. Preiss, S. Johne, J. Schmidt, N.T. Lien, C. Lavaud, G. Massiot, *Phytochemistry*, **1991**, *30*, 3395-3400.
- [94] M. Bernhardt, C. Sturm, K.H. Shaker, D.H. Paper, G. Franz, K. Seifert, *Pharmazie*, **2001**, *56*, 741-743.
- [95] L. Boulos, *Medicinal Plants in North Afrika*, Reference Publications Inc., **1983**, 126
- [96] M.S. Abdel-Kader, *Planta Med.*, **2001**, *67*, 388-390.
- [97] T. Nakasugi, M. Nakashima, K. Komai, *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, *48*, 3256-3266.
- [98] M.E. Amer, N.A. Salam, S.M. Mabry, *Rev. Latinoamer. Quim.*, **1989**, *20*, 152-163.
- [99] M. Bernhardt, K.H. Shaker, M.H.A. Elgamal, K. Seifert, *Z. Naturforsch., C:*, **2000**, *55*, 516-519.
- [100] K.H. Shaker, K. Dockendorff, K. Seifert, *Z. Naturforsch., C:*, **2003**, *58*, 485-489.
- [101] P. Baruah, N.C. Barua, R.P. Sharma, J.N. Baruah, P. Kulanthaivel, W. Herz, *Phytochemistry*, **1984**, *23*, 443-447.
- [102] J.C. Breytenbach, J.G. Leipoldt, G.J.H. Rall, D.G. Roux, D.C. Levendin, *S. Afr. J. Chem.*, **1983**, *36*, 4.
- [103] S. Antus, T. Kurtan, L. Juhasz, L. Kiss, M. Hollosi, Zs. Majer, *Chirality*, **2001**, *13*, 493-506.
- [104] S.Z. Szarvas, G.Y. Szokan, M. Hollosi, L. Kiss, S. Antus, *Enantiomer*, **2000**, *5*, 535-543.

- 
- [105] G. Wedler, *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim, **1987**, 532-534.
- [106] C. Mannich, P. Schumann, *Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges.*, **1938**, *276*, 211-226.
- [107] M. Ono, K. Fujimoto, M. Kawata, T. Fukunaga, T. Kawasaki, K. Miyahara, *Chem. Pharm. Bull.*, **1992**, *40*, 1400-1403.
- [108] H. Wagner, P. Kazmaier, *Phytochemistry*, **1977**, *16*, 711-714.
- [109] B. Jakob, H. Gerlach, *Liebigs Ann.*, **1996**, *12*, 2123-2129.
- [110] U. Roth, M. König, K. Seifert, *Phytochemistry*, **1995**, *4*, 941-942.

# 9 Dank

Mein aufrichtiger Dank gilt

## **Herrn Prof. Dr. Karlheinz Seifert**

für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, die Stellung des vielseitigen Themas und die stete Diskussionsbereitschaft bei den Problemen der Strukturaufklärung.

Herrn Dr. Kamel H. Shaker danke ich für die Zusammenarbeit, seine Hilfsbereitschaft und sein freundliches Entgegenkommen.

Herrn Mirko Bernhardt, Frau Gislinde Gundel und Frau Christine Magg danke ich für die anfängliche Hilfestellung bei der Messung der NMR-Spektren.

Herrn Stefan Maderner und Frau Petra Gros danke ich für die freundliche Unterstützung bei GC- und GC-MS-Problemen.

Weiterhin danke ich den Laborkollegen Frau Daniela Grote, Frau Christine Magg, Frau Petra Gros und den Herren Andreas Bernet, Thorsten Laube, Burkhard Matthes, Stefan Maderner, Jörg Schröder und Rüdiger Ulbrich für das angenehme Arbeitsumfeld und die schönen Grillabende.

Für die Aufnahme der LSI- und EI-Massenspektren danke ich Herrn Michael Glaeßner.

Mein Dank gilt Herrn Xaver Schratt für die Einweisung in das ESI-MS.

Herrn Burkhard Matthes danke ich für seine Geduld und seine Hilfe bei allen Computerproblemen.

## Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Ferner erkläre ich, dass ich weder an der Universität Bayreuth noch an einer anderen Hochschule versucht habe, eine Dissertation einzureichen oder mich der Doktorprüfung zu unterziehen.

Bayreuth, den 11. Januar 2004