





**Untersuchungen zum Inhaltsstoffspektrum der Blätter  
und Stängel von  
*Lycium anatomicum* (A. BAYTOP et R. MILL)**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

vorgelegt bei der Naturwissenschaftlichen Fakultät IV  
- Chemie und Pharmazie -  
der Universität Regensburg

von  
**Regina Schlegl**  
aus Furth i. W.

Regensburg 2009

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Januar 2005 bis Juli 2009 am Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie an der Universität Regensburg.

Die Arbeit wurde angeleitet von: Prof. Dr. J. Heilmann

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht am: 27. 7. 2009

Tag der mündlichen Prüfung: 24. 8. 2009

Prüfungsausschuss:	Vorsitzender	Prof. Dr. A. Buschauer
	1. Gutachter	Prof. Dr. J. Heilmann
	2. Gutachter	Prof. Dr. I. Calis
	Prüfer	Prof. Dr. S. Elz

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Für die Überlassung des Themas, die Unterstützung und die wertvollen Anregungen möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. J. Heilmann sehr herzlich bedanken.

Herrn Prof. I. Calis (Hacettepe Universität, Türkei) danke ich für das Sammeln des Pflanzenmaterials, seine Bereitschaft das Korreferat zu übernehmen sowie seine hilfreichen Diskussionsbeiträge zur Strukturaufklärung.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern am Institut für Pharmazeutische Biologie danke ich für die gute Zusammenarbeit und die schöne gemeinsame Zeit.

Außerdem bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der Zentralen Analytik für die Aufnahme der NMR- und MS- Spektren.



Für meine Kinder  
Johann und Leopold



# INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1.	EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG	1
1.1	Die Familie der Nachtschattengewächse	1
1.2	Die Gattung <i>Lycium</i>	14
1.3	<i>Lycium chinense</i> und seine medizinische Verwendung	20
1.4	<i>Lycium anatomicum</i>	22
1.5	Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit	22
2.	MATERIAL UND METHODEN	24
2.1	Lösungsmittel	24
2.2	Chemikalien	25
2.3	Dünnschichtchromatographie	25
2.4	Stationäre Phasen für offene Säulen	25
2.5	HPLC (semipräparativ): Anlage und Säulen	25
2.6	Waagen	26
2.7	Kernmagnetische Resonanzspektroskopie (NMR)	26
2.8	Massenspektrometrie (MS)	27
2.9	Herstellung und Handhabung der Sprühreagenzien	27
2.9.1	Anisaldehyd-Sprühreagenz (AA): Unspezifisches Reagenz für zahlreiche Naturstoffe	27
2.9.2	Liebermann Burchard-Sprühreagenz (LB): Spezifisches Reagenz für Steroide und Triterpenderivate	27
2.9.3	Naturstofffregenz (NP): Spezifisches Reagenz für Flavonoide	28
2.9.4	Dragendorff-Reagenz (DD): Spezifisches Reagenz für Alkaloide	28
2.10	Pflanzenmaterial	28
2.11	Herstellung der Extrakte	29
2.11.1	Stängel	29
2.11.2	Blätter	30

2.12	Aufreinigungsschema der Extrakte: Beschreibung und Übersicht	30
2.12.1	Stängel	30
2.12.1.1	Dichlormethan: Extrakt A	30
2.12.1.2	Ethylacetat: Extrakt B	33
2.12.1.3	Methanol: Extrakt C	35
2.12.2	Blätter	37
2.12.2.1	Dichlormethan: Extrakt D	37
2.12.2.2	Ethylacetat: Extrakt E	39
2.13	Offene Säulenchromatographie	41
2.13.1	Chromatographie an Sephadex LH-20	41
2.13.2	Chromatographie an Kieselgel	41
2.13.3	Chromatographie an RP Material	43
2.14	HPLC	44
3.	ERGEBNISSE	46
3.1	Zusammenstellung der isolierten Reinsubstanzen	46
3.2	Dünnschichtchromatographie	47
3.2.1	Laufverhalten der Reinsubstanzen	47
3.2.2	Detektion der Reinsubstanzen	48
3.3	Strukturaufklärung der Reinsubstanzen	50
3.3.1	Flavonoide	50
3.3.1.1	Quercetin ( <b>1</b> )	50
3.3.1.2	Quercetin-3-methylether ( <b>2</b> ) und Quercetin-3, 3'-dimethylether ( <b>3</b> )	53
3.3.1.3	Isoquercitrin ( <b>4</b> )	57
3.3.1.4	Rutin ( <b>5</b> ) und Baimasid ( <b>6</b> )	61
3.3.1.5	Nikotiflorin ( <b>7</b> ) und Biorobin ( <b>8</b> )	66
3.3.2	Cumarine: Scopoletin ( <b>9</b> ) und Scopolin ( <b>10</b> )	69
3.3.3	Isoprenoide	74
3.3.3.1	C11-Isoprenoide: Loliolid ( <b>11</b> ) und Isololiolid ( <b>12</b> )	74
3.3.3.2	C13-Norisoprenoid: Dehydrovomifoliol ( <b>13</b> )	79

3.3.4	Phenolische Säureamide	81
3.3.4.1	<i>trans</i> -Paprazin ( <b>14</b> )	81
3.3.4.2	<i>trans</i> -Moupinamid ( <b>15</b> ) und <i>cis</i> -Moupinamid ( <b>16</b> )	85
3.3.4.3	<i>trans</i> -N-Feruloyloctopamin ( <b>17</b> ) und <i>cis</i> -N-Feruloyloctopamin ( <b>18</b> )	89
3.3.5	Einfache Phenole: Tyrosol ( <b>19</b> )	91
4.	DISKUSSION	93
5.	ZUSAMMENFASSUNG	103
6.	ANHANG	106
6.1	Abbildungsverzeichnis	106
6.2	Abkürzungsverzeichnis	107
6.3	Tabellenverzeichnis	108
6.4	Literaturverzeichnis	109



# 1. EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG

## 1.1 Die Familie der Nachtschattengewächse

Die Solanaceen sind eine kosmopolitische Pflanzenfamilie mit Hauptverbreitung und größtem Artenreichtum auf dem (süd)amerikanischen Kontinent. Es gibt zwei kosmopolitische Gattungen, namentlich *Lycium* (Bocksdorn) und *Solanum* (Nachtschatten). Zu den endemischen Gattungen zählen zum Beispiel *Discopodium* in Afrika, *Tubocapsicum* in Asien und *Nothocestrum* auf Hawaii. Die gesamte Unterfamilie Anthocercioideae findet man nur in Australien ([1], S. 17 ff).

Eine vollständig anerkannte Systematik gestaltet sich wegen der Größe der Familie extrem schwierig. Die Systematik nach Hunziker baut größtenteils auf morphologischen Kriterien auf und unterteilt die Solanaceen in 6 Unterfamilien mit 92 Genera und 2300 Spezies. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die von Hunziker vorgeschlagene Einteilung in Unterfamilien ([1], S. 17 ff) mit ihren zugehörigen Triben und eine Auswahl an bekannten Gattungen. Die Klassifikation nach Olmstead stützt sich dagegen auf molekularbiologische Arbeiten. Die Entschlüsselung des Chloroplastengenoms dient als Grundlage für die Einteilung in ein System, wobei als Bezugspunkt innerhalb der Solanaceen das bereits vollständig sequenzierte plastidäre Genom von *Nicotiana tabacum* herangezogen wird [2].

Der botanische Garten von Nijmegen (Niederlande) verwaltet eine große Sammlung der Solanaceen. 478 Spezies werden hier dokumentiert und unter möglichst authentischen Bedingungen für die jeweilige Art gezüchtet und vermehrt [3].

Als typisches Merkmal der Solanaceen gelten die bikollateralen Leitbündel im Sprossquerschnitt. Kristalline Einschlüsse in Form von Calciumoxalatsand findet man vor allem in den Gattungen *Atropa* (Tollkirsche), *Nicotiana* (Tabak) und *Solanum* (Nachtschatten). Aus den zwei verwachsenen, schräg zur Medianebene gestellten Karpellen gehen vielsamige Kapseln (*Datura*, *Hyoscyamus*, *Nicotiana*, *Petunia*) oder Beeren (*Atropa*, *Capsicum*, *Lycopersicon*, *Lycium*, *Mandragora*, *Solanum*) hervor [4].

Für 61 Genera existiert wenigstens *ein* Bericht hinsichtlich phytochemischer Untersuchungen, während für weitere 34 Genera bisher noch nichts über das Inhaltsstoffspektrum bekannt wurde ([1], S.26).

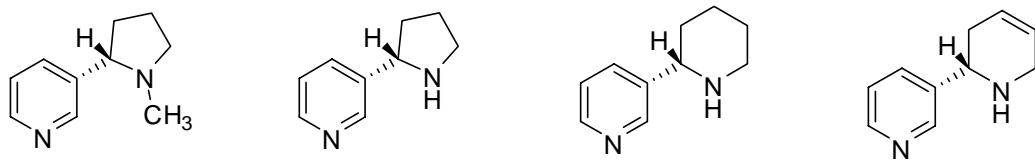
**Tab. 1:**

Übersicht über die Unterfamilien der Solanaceen mit zugehörigen Stämmen und einer repräsentativen Auswahl an bekannten Gattungen. Gliederung nach Hunziker [1]

Unterfamilie Cestroideae	
Stämme	Gattungen
Benthamielleae	<i>Benthamielleae</i>
Browalliaeae	<i>Browallia</i>
Cestreae	<i>Cestrum</i>
Francisceae	<i>Brunfelsia</i>
Latueae	<i>Latua</i>
Metternichieae	<i>Metternichia</i>
Nicotianae	<i>Nicotiana, Nierembergia</i>
Schwenckieae	<i>Schwenckia</i>
Unterfamilie Anthocercidoideae	
Anthocercideae	<i>Anthocercis, Duboisia</i>
Unterfamilie Juannuloideae	
Juannolloeae	<i>Dyssochroma</i>
Unterfamilie Salpiglossioideae	
Salpiglossideae	<i>Salpiglossis</i>
Unterfamilie Schizanthoideae	
Schizantheae	<i>Schizanthus</i>
Unterfamilie Solanoideae	
Atropeae	<i>Atropa</i>
Datureae	<i>Brugmansia, Datura</i>
Hyoscyameae	<i>Hyoscyamus, Scopolia</i>
Jaboroseae	<i>Jaborosa, Salpichroa</i>
Lycieae	<i>Lycium</i>
Mandragoreae	<i>Mandragora</i>
Nicandreae	<i>Nicandra</i>
Solaneae	<i>Capsicum, Iochroma, Lycopersicon, Nothocestrum, Physalis, Solanum</i>
Solandreae	<i>Solandra</i>

Nachtschattengewächse sind durch einen aussergewöhnlichen Reichtum an stickstoffhaltigen Verbindungen charakterisiert. Die mit Abstand meisten Alkaloide leiten sich von Ornithin ab, so z. B. die Tropanalkaloide, die Calystegine und die sogenannten Tabakalkaloide.

Das bekannteste Alkaloid ist das flüchtige Pyridinderivat (*S*)-Nikotin (Abb. 1.1)



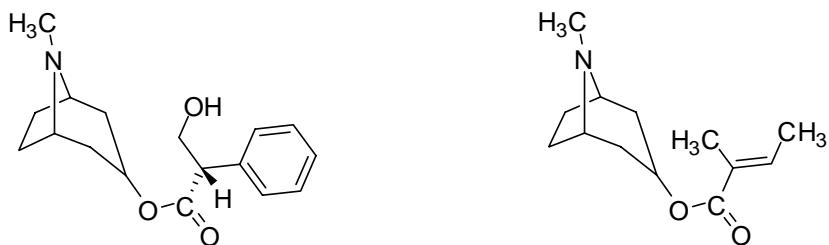
**Abb. 1.1:**

Strukturen von Nikotin, Nornikotin, Anabasin und Anatabin (von links nach rechts), dargestellt jeweils die (*S*)-Enantiomeren. Innerhalb der Nachtschattengewächse wurden hohe Konzentrationen an Nikotin und Nornikotin und gelegentlich auch Anabasin und Anatabin in den Blättern der Gattungen *Nicotiana* und *Duboisia* bekannt

Zusammen mit Nornikotin, Anabasin und Anatabin stellt es eines der vier Hauptpyridinalkaloide vieler Arten der Gattung *Nicotiana* (Tabak) [5] und kann bis zu 10% des Trockengewichts in den Blättern ausmachen [4]. Pyridinalkaloide mit Nikotin als Hauptalkaloid wurden auch aus dem australischen Pituri-Strauch, *Duboisia hopwoodii*, isoliert. Der Nikotingehalt der Blätter kann hier bis zu 5% des Trockengewichts betragen [6]. Auch Nahrungspflanzen enthalten variable Mengen Nikotin in Abhängigkeit vom Reifegrad der Frucht. Wirtschaftlich bedeutende Vertreter der Gattungen *Solanum* und *Capsicum* wurden hierfür am intensivsten untersucht. Nikotin besitzt keinen therapeutischen Nutzen. Cancerogene Effekte auf den Menschen sind beschrieben worden. Das wirtschaftliche Interesse von Nikotin und Derivaten gemäß seiner pflanzenphysiologischen Funktion als Insektizid ist längst nicht mehr relevant. Nikotin dient in der Pharmakologie als Modellsubstanz am Sympathikus, da mit Nikotin eine spezifische Beeinflussung von Ganglien möglich ist. In niederen Dosen wirkt es durch Depolarisation der postsynaptischen Membran Ganglien-erregend, in höheren Dosen infolge Rezeptordesensibilisierung Ganglien-blockierend ([7], S.337).

Die pharmazeutisch bedeutsamen Tropanalkaloide kommen in vielen verschiedenen Pflanzenfamilien vor. Unter ihnen gelten die Tropasäureester des Tropins, z. B. Hyoscyamin und Scopolamin (Abb. 1.2), bekannte kompetitive Antagonisten am muskarinischen Acetylcholinrezeptor, als klassische Tropanalkaloide und charakteristisch für die Solanaceen. Die Gattungen *Datura*, *Duboisia*, *Hyoscyamus* und *Scopolia* sind als besonders reiche Quelle von Hyoscyamin und / oder Scopolamin bekannt geworden [4]. Tropin kann auch mit anderen Säuren verestert sein. Ein Beispiel hierfür wäre das Tigloidin (Abb. 1.2), der Tiglinsäureester

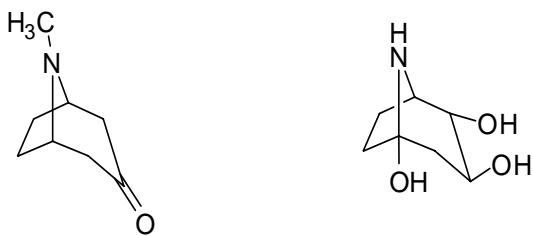
des Tropins. Diese Struktur scheint innerhalb der Solanaceen nur wenig verbreitet zu sein und konnte bisher vornehmlich aus den Gattungen *Duboisia*, *Datura* (Stechapfel), *Physalis* (Blasenkirschen) und *Anthocercis* isoliert werden [8]. Wegen seiner günstigen anticholinergen Wirkung wurde sie zur Behandlung von Parkinson und Huntington's Chorea diskutiert [9].



**Abb. 1.2:**

Strukturen von (S) (-) -Hyoscyamin (links) und Tigloidin (rechts). Die klassischen Tropanalkaloide sind Ester des Tropins mit Tropasäure und gelten als charakteristisch für Solanaceen. Andere Ester des Tropins, z.B. mit Tiglinsäure, kommen im Pflanzenreich ubiquitär vor und scheinen innerhalb der Solanaceen wenig verbreitet zu sein

Biosynthetisch über die gemeinsame Vorläufersubstanz Tropinon (Abb. 1.3) nah verwandt mit den Tropanalkaloiden ist die weniger bekannte Gruppe der Calystegine, die u. a. aus vielen Vertretern der Ordnung Solanales isoliert werden konnte, wohl aber besonders zahlreich und charakteristisch innerhalb der Solanaceen selbst auftritt [10], [11]. Die Calystegine besitzen in der Regel das Grundgerüst des Nortropans. Die Anzahl ihrer Hydroxylgruppen, drei, vier oder fünf, bestimmt die Einteilung in definierte Gruppen A, B und C (Abb. 1.3). Die Ausnahmen B<sub>2</sub> und C<sub>1</sub>, isoliert als Minorkomponenten u. a. aus *Lycium chinense*, tragen am Stickstoff die Methylgruppe und zählen somit nicht zu den Nortropanen. Eine weitere Ausnahme, N<sub>1</sub>, wird als Artefakt der Isolierung diskutiert: Hier ist die Aminoketalfunktion zerstört, und ein Amin nimmt den Platz der Hydroxylgruppe benachbart zum Brückenkopfstickstoff ein. Wegen ihrer Eigenschaft als starke und selektive Inhibitoren von Glukosidasen wird das Vorkommen der Calystegine intensiv im wichtigsten Nahrungsmittel der Nachtschattengewächse, der Kartoffelpflanze (*Solanum tuberosum*) untersucht.

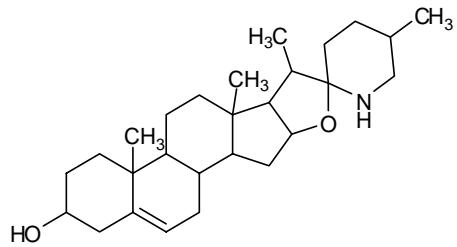


**Abb. 1.3:**

Strukturen von Tropinon (links) und Calystegin A<sub>5</sub> (rechts). Tropinon gilt als Verzweigungspunkt in der Calystegin- und Tropanalkaloidbiosynthese. Die Calystegine der A- Reihe tragen drei Hydroxygruppen

Gemäß Literatur synthetisieren Calystegine produzierende Pflanzen auch die klassischen Tropanalkaloide und umgekehrt [10]. Innerhalb der Solanaceen scheint es hierfür Ausnahmen zu geben: Die Gattung *Solanum* produziert nach bisherigem Kenntnisstand keine Tropanalkaloide, wohl aber Calystegine. In der Gattung *Lycium* dominiert die Synthese von Calystegenen, während die klassischen Tropanalkaloide wie Hyoscyamin und Scopolamin nur in Spuren nachgewiesen werden konnten.

Das Vorkommen von Steroidalkaloid(glykosiden) scheint im wesentlichen auf die Gattung *Solanum* beschränkt zu sein. Solasodin (Abb. 1.4), ein charakteristisches Steroidalkaloid, findet man am höchsten konzentriert in den unreifen Beerenfrüchten beinahe aller daraufhin untersuchten Vertreter der Gattung [12]. Die Toxizität von  $\alpha$ -Solanin und  $\alpha$ -Chaconin, den beiden bekannten Steroidalkaloidglykosiden der Kartoffel (*Solanum tuberosum*), beruht auf der Destabilisierung der Zellmembran, einer typischen Saponineigenschaft [13]. Isojuripidin, ein Steroidalkaloid aus den Blättern der südamerikanischen Art *Solanum asterophorum*, führte im Tiermodell zu einer Blockade spannungsabhängiger Calciumkanäle und verhinderte so den Calciumeinstrom in die Zellen [14].

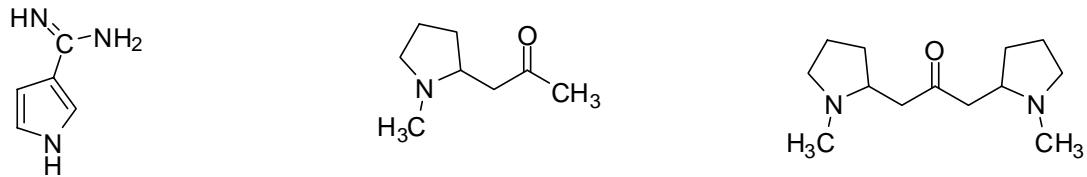


**Abb. 1.4:**

Struktur von Solasodin. Die unreifen Beeren der Gattung *Solanum* zeichnen sich durch einen besonders hohen Solasodingehalt aus

Pyrrolalkaloide scheinen innerhalb der Familie wenig verbreitet zu sein. Bekannt wurde Pyrrol-3-carbamidin (Abb. 1.5) aus *Nierembergia hippomanica*, das für die Vergiftung von Weidevieh in Argentinien verantwortlich war [15].

Die Pyrrolidinalkaloide Hygrin und Cuscohygrin (Abb. 1.5) gelten als Vorstufen sämtlicher Tropanalkaloide und sollten demnach auch innerhalb der Solanaceen, vor allem in Gattungen, die Tropanalkaloide synthetisieren, verbreitet sein. In einer Studie isolierte man Cuscohygrin aus Vertretern der Gattungen *Acnistus*, *Cyphomandra*, *Datura*, *Salpichroa*, *Scopolia* und *Solandra* [16].

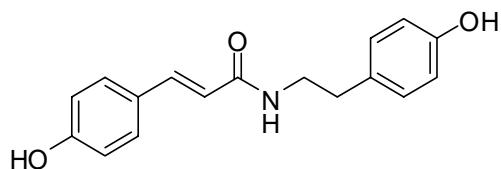


**Abb. 1.5:**

Strukturen von Pyrrol-3-carbamidin, Hygrin und Cuscohygrin (von links nach rechts). Das Pyrrolalkaloid (links) aus *Nierembergia hippomanica* verursachte zahlreiche Vergiftungsfälle bei argentinischem Weidevieh. Die Pyrrolidinalkaloide (Mitte und rechts) gelten als biosynthetische Vorstufen für die klassischen Tropanalkaloide. Cuscohygrin (rechts) wurde u. a. aus den Gattungen *Datura* und *Scopolia* isoliert

Ein Beispiel für die selten auftretenden offenkettigen Verbindungen mit tertiärem Stickstoff ist das aus *Nierembergia hippomanica* isolierte Hordenin [17]. Es ist bekannt als Inhaltsstoff der Braugerste, wirkt diuretisch, wird aber nicht medizinisch verwendet.

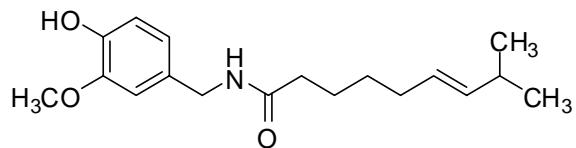
Phenolische Säureamide kommen in vielen Pflanzenfamilien vor und sind auch innerhalb der Solanaceen weit verbreitet. Bei vielen bisher isolierten Strukturen handelte es sich hierbei um das Kondensat einer (un)gesättigten phenolischen Carbonsäure mit einem biogenen Amin, wobei innerhalb der Solanaceen als Aminkomponenten bisher nur aromatische Amine gefunden worden sind. Das Paprazin (Abb. 1.6) erwies sich in vitro als Hemmstoff der Acetylcholinesterase [18].



**Abb. 1.6:**

Struktur von Paprazin, das Amid der para-Cumarsäure mit Tyramin. Derartige phenolische Säureamide kommen im Pflanzenreich ubiquitär vor

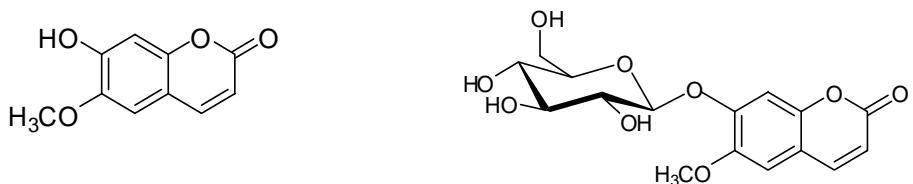
Eine andere Klasse von Verbindungen mit Amidstruktur sind die Capsaicinoide, die in der Gattung *Capsicum* (Paprika), meist *Capsicum annuum* (Spanischer Pfeffer) und *Capsicum frutescens* (Cayennepfeffer) gefunden worden sind. Wegen seiner hyperämisierenden Wirkung wird Capsaicin (Abb. 1.7), das in den Früchten dominierende Säureamid, arzneilich genutzt [4].



**Abb. 1.7:**

Struktur von Capsaicin. Capsaicin ist in den Früchten von *Capsicum annuum* und *Capsicum frutescens* das quantitativ dominierende Säureamid

Cumarine kommen in vielen verschiedenen Familien vor. Innerhalb der Solanaceen wurde häufig Scopoletin (Abb. 1.8), das bei Angiospermen vermutlich häufigste Cumarin [19] und dessen glykosylierte Derivate Scopolin (Abb. 1.8) und Fabiatrin isoliert [20].

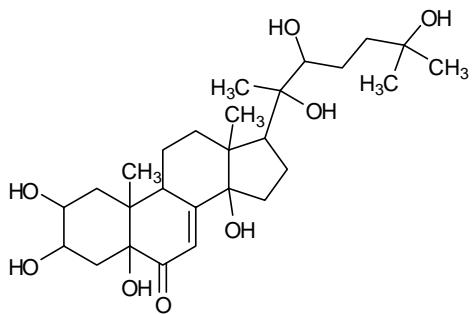


**Abb. 1.8:**

Strukturen von Scopoletin (links) und Scopolin (rechts). Scopoletin scheint das bei Angiospermen am weitesten verbreitete Cumarin zu sein. Scopoletin und sein Monoglykosid Scopolin wurden auch in Solanaceen vielfach gefunden

Für die Solanaceen typische, vermutlich sogar spezifische Substanzen findet man in der Klasse der Steroide.

Einer Studie zufolge soll das Sterol  $14\alpha$ -Methyl- $5\alpha$ -cholest-9(11)en- $3\beta$ -ol ein chemotaxonomischer Marker für die Familie sein [21]. Phytoecdysteroids kommen ubiquitär in vielen Pflanzenfamilien vor. Innerhalb der Solanaceen konnte man in einer Studie aus Vertretern der Gattungen *Browallia* (Blauglöckchen), *Nierembergia* und *Solanum* unter einer Vielzahl derartiger Strukturen Polypodin B (Abb. 1.9) als eine Hauptkomponente identifizieren [22].

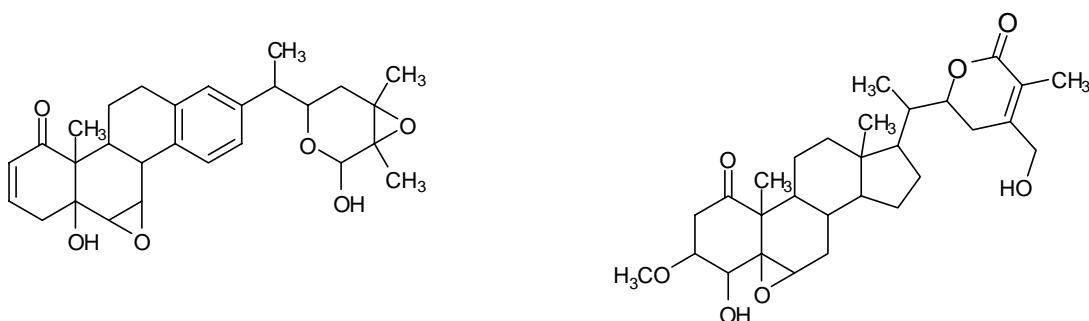


**Abb. 1.9:**

Struktur von Polypodin B. Polypodin B ist ein Agonist des Häutungshormons Ecdyson der Insekten. Innerhalb der Solanaceen wurde es aus den Gattungen *Browallia*, *Nierembergia* und *Solanum* isoliert

Parallel zu den Phytoecdysteroiden, Agonisten des Häutungshormons Ecdyson der Insekten, kommen in Solanaceen auch antagonistisch wirkende Substanzen [23], [24] vor. Es handelt sich dabei meistens um Withanolide mit aromatischem D-Ring, die ein großes insektizides Potential besitzen [25], [26], [27]. Nicandrenone (Abb. 1.10) aus *Nicandra physalodes* (Giftbeere) und Salpichrolide aus *Salpichroa origanifolia* wurden unter diesen Verbindungen am intensivsten untersucht.

Withanolide wurden bisher fast ausschließlich aus Vertretern verschiedener Gattungen der Unterfamilie Solanoideae isoliert und gelten als charakteristisch für Nachtschattengewächse. Ausnahmen stellen einzelne Withanolide aus den beiden Familien *Taccaceae* [28] und *Lamiaceae* [29], [30] dar. Die größte Gruppe der Withanolide besitzt als Hauptstrukturmerkmale ein Enon im A-Ring und als Seitenkette ein fünf- oder sechsgliedriges ungesättigtes Lacton. Bisweilen findet man Abweichungen vom Ergosterangerüst, weshalb die Withanolide auch unter dem Überbegriff Withasteroide klassifiziert werden. Innerhalb der Withanolide wurden auch pharmazeutisch interessante Strukturen bekannt. Zum Beispiel zeigte Bracteosin A (Abb. 1.10) aus *Ajuga bracteosa* in vitro eine Hemmung der Acetyl- und Butyrylcholinesterase [31].



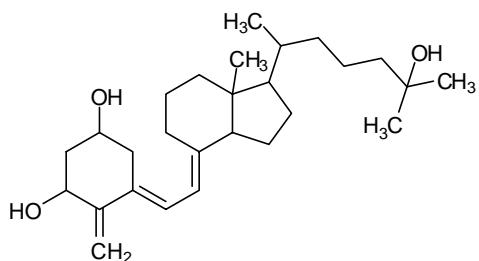
**Abb. 1.10:**

Strukturen von Nicandrenon-1 (links) und Bracteosin A (rechts). Viele Nicandrenone gehören unter den Withanoliden zur kleinen Gruppe der D-Ring Aromaten und wurden aus *Nicandra physalodes* isoliert. Sie sind schon lange für ihre insektizide Wirkung bekannt. Bracteosin A wurde aus *Ajuga bracteosa* isoliert und hemmte in vitro die Cholinesterasen. Die Methylierung an C-3 von Bracteosin A gilt als Artefakt der Aufreinigung

Völlig überraschend war das erstmalige (und bisher einzige) Auffinden von herzwirksamen Steroidglykosiden in den Solanaceen [32]. Aus *Nierembergia aristata* wurden drei

Cardenolide isoliert, die sich von den bisher bekannten Strukturen aus anderen Familien nur durch die Doppelbindung zwischen C-6 und C-7 im B-Ring des Steroids unterschieden. Diese strukturelle Besonderheit könnte eventuell als Charakteristikum für Cardenolide innerhalb der Nachtschattengewächse gelten. Die neuen Strukturen traten nur in extrem geringer Konzentration auf und wurden aktivitätsgeleitet (Zelllinie BC 1; Human Breast Cancer) isoliert. Möglicherweise enthalten noch weitere Solanaceen derartige im B- Ring ungesättigte Cardenolide als Minorkomponenten, konnten aber bisher noch nicht gefunden werden.

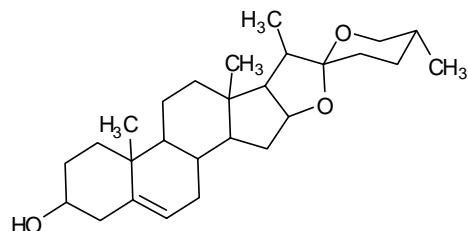
Als ungewöhnlich gilt auch das Vorkommen von Steroiden, die den Calciumstoffwechsel des tierischen Organismus beeinflussen und speziell bei Weidevieh Vergiftungsscheinungen in Form von Calcinose hervorrufen können. Pflanzen, die Vitamin D-Derivate synthetisieren, gelten als calcinogen. Als eine biologisch aktive Komponente wurde das Calcitriol (Abb. 1.11) identifiziert. Potente calcinogene Pflanzen kennt man bisher nur aus der Familie der Nachtschattengewächse; das calcinogene Potential einiger Vertreter der Graminaceen ist wesentlich geringer. Die höchste Syntheseleistung hinsichtlich Vitamin D-Derivaten zeigte *Solanum malycoxylon*, gefolgt von *Cestrum diurnum* (Tagjasmin) und *Nierembergia veitchii* [33], [34].



**Abb. 1.11:** Struktur von Calcitriol. *Solanum malycoxylon* gilt als potente calcinogene Pflanze und sorgte für Vergiftungsfälle bei südamerikanischem Weidevieh

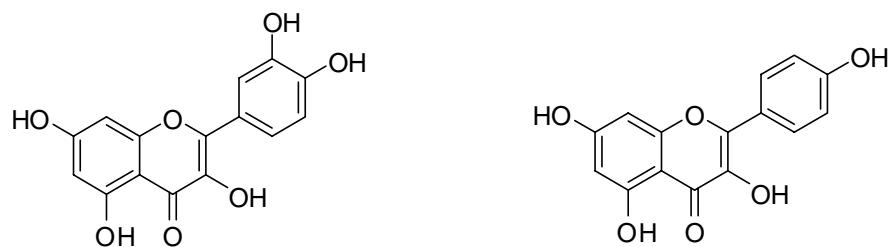
Recht häufig findet man bei *Solanum* glykosillierte Strukturen des Tigogenins oder Diosgenins (Abb. 1.12) [12]. In anderen Gattungen und Arten können andere Aglyka auftreten, z. B. Parquigenin aus *Cestrum parqui* (Chilenischer Hammerstrauch) [35] und Scopologenin aus *Scopolia japonica* (Japanische Tollkirsche) [36].

Die akute Toxizität der Steroidglykoside beruht in erster Linie auf ihren hämolysierenden Eigenschaften.



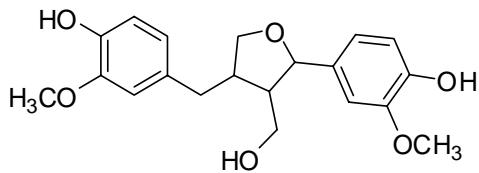
**Abb. 1.12:**  
Struktur von Diosgenin. Glykoside mit dem Aglykon des Diosgenins sind in der Gattung *Solanum* nachgewiesen worden

Aus der Klasse der Flavonoide wurden meistens Vertreter der Flavonole isoliert und unter diesen insbesondere Quercetin und Kämpferol (Abb. 1.13) sowie deren methylierte und glykosyierte Derivate [1].



**Abb. 1.13:**  
Strukturen von Quercetin (links) und Kämpferol (rechts). Diese beiden Flavonole und deren glykosyierte und methylierte Derivate treten bei Solanaceen häufig auf

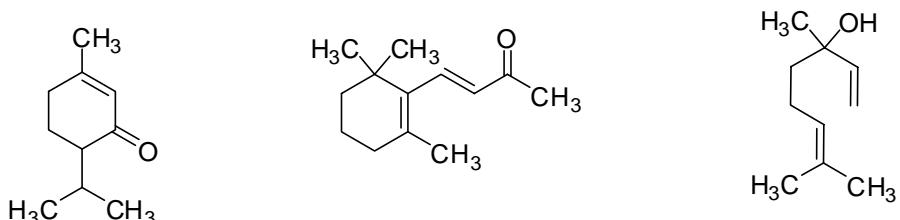
Eine interessante Struktur aus der Gruppe der polyhydroxylierten aromatischen Verbindungen stellt das Lignan Lariciresinol (Abb. 1.14) aus *Nierembergia aristata* (und Nahrungspflanzen aus anderen Familien) dar. In epidemiologischen Untersuchungen konnte Lariciresinol das Brustkrebsrisiko senken, indem es (wahrscheinlich) die Freisetzung des Wachstumsfaktors VEGF hemmt und somit die Bildung neuer Blutgefäße im Tumorgewebe verhindert [37].



**Abb. 1.14:**

Struktur von Lariciresinol. Das Lignan wurde innerhalb der Solanaceen aus *Nierembergia aristata* isoliert. Bedeutend ist das Vorkommen in Nahrungspflanzen verschiedener Familien

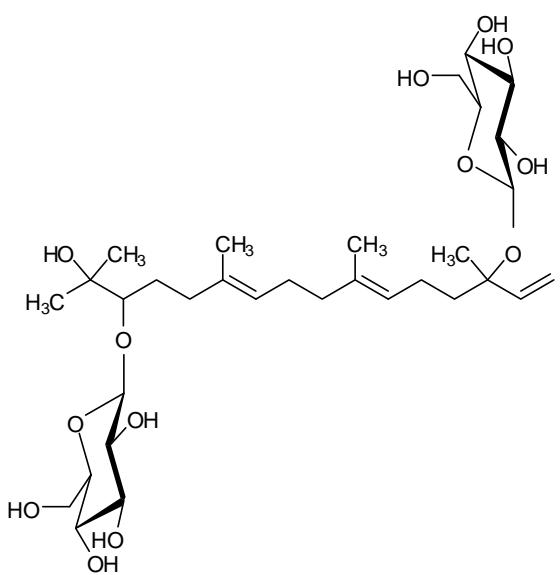
Solanaceen produzieren kaum nennenswerte Mengen ätherischen Öls. Selten konnten durch Wasserdampfdestillation flüchtige Verbindungen isoliert werden. Aus den Blattdrüsenhaaren von *Lycopersicon hirsutum* wurden 48 verschiedene Verbindungen mit dem Hauptinhaltsstoff Piperiton (Abb. 1.15) isoliert [38]. Sehr intensiv wurden die flüchtigen Aromastoffe der charakteristisch duftenden, halbgetrockneten Beeren des chinesischen Bocksdorns (*Lycium chinense*) untersucht [39] und hierbei 36 Verbindungen, u. a. viele terpenoide Moleküle, z. B.  $\beta$ -Ionon (Abb. 1.15), identifiziert. Die Blätter und Blüten von *Cestrum nocturnum* (Nachtjasmin) enthielten unter 140 Verbindungen als Hauptinhaltsstoffe Linalool (Abb. 1.15) und Phenylacetaldehyd [40].



**Abb.1.15:**

Strukturen von Piperiton,  $\beta$ -Ionon und Linalool (von links nach rechts). Diese (zyklischen) isoprenoiden Strukturen kommen im ätherischen Öl der Gattungen *Lycopersicon*, *Lycium* bzw. *Cestrum* vor

Selten treten Diterpene vom Kauren-Typ auf. Aus *Cestrum parqui* (Chilenischer Hammerstrauch) isolierte man Parquin und das lebertoxische Carboxyparquin [35]. Im Pflanzenreich seltene acyclische Diterpenglykoside isolierte man mit Capsianosiden und den Lyciumosiden (Abb. 1.16) aus den Gattungen *Capsicum* [41] bzw. *Lycium* [42].



**Abb. 1.16:**

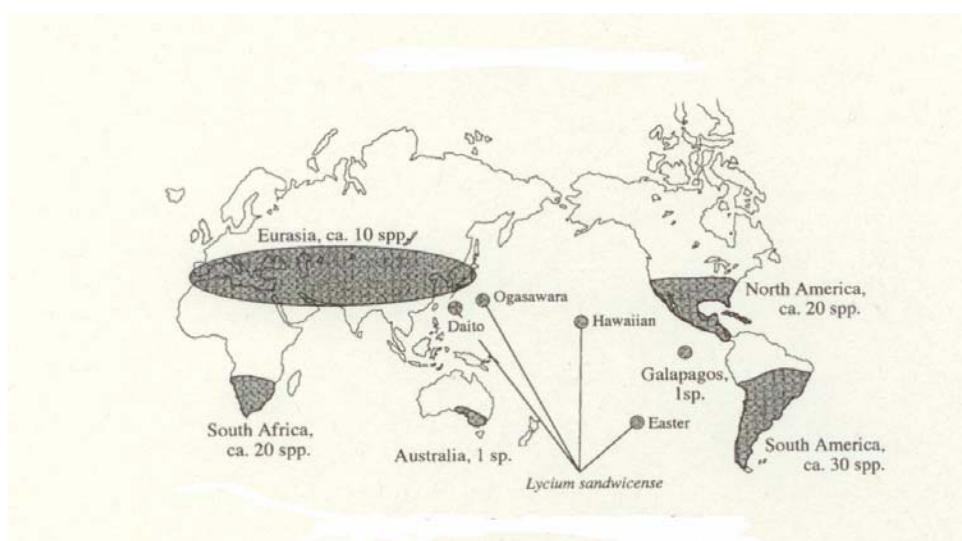
Struktur von Lyciumosid-3, ein seltenes acyklisches Diterpenglykosid aus *L. chinense*

## 1.2

## Die Gattung *Lycium*

Die etwa 70 Arten des Bocksdorns sind Kosmopoliten [43], wobei der größte Artenreichtum in Südamerika zu finden ist (Abb. 1.17 aus [44]).

Bisher sind drei endemische Arten, *Lycium sandwichense* (A. GRAY) in der Inselwelt des Pazifischen Ozeans [44], *Lycium australe* (MUELL.) in Australien [44] und *Lycium anatolicum* (A. BAYTOP et R. MILL) in Inneranatolien [45] bekannt geworden.



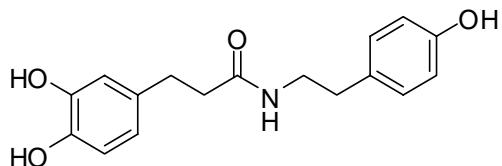
**Abb. 1.17:**

Kosmopolitische Verbreitung der Gattung *Lycium*. Die endemische Art *Lycium sandwichense* besiedelt die Inselwelt des Pazifischen Ozeans. *Lycium australe* ist nur in Südaustralien zu finden

Bei der Gattung *Lycium* handelt sich meist um sommergrüne Sträucher mit Wuchshöhen bis zu vier Metern. Die ganzrandigen, je nach Art lanzettlich bis rhombisch eiförmig gestalteten Blätter sitzen sowohl in Büscheln als auch einzeln wechselständig an mehr oder weniger dornigen, herabhängenden Ästen oder dünnen Zweigen. Die meist violettfarbenen zwittrigen Blüten gehorchen der Formel \* K (5) [C (5) A 5] G(2) oberständig. Der Bocksdorn blüht von Juni bis August und trägt bis in den Spätsommer hinein je nach Art leuchtend rote bis orangegoldene oder dunkle eiförmige Beeren. Je Fruchtknoten findet man ein Paar von Samenanlagen. Die Frucht enthält im Mesokarp Samen, die der Ausbreitung durch Endozoochorie dienen.

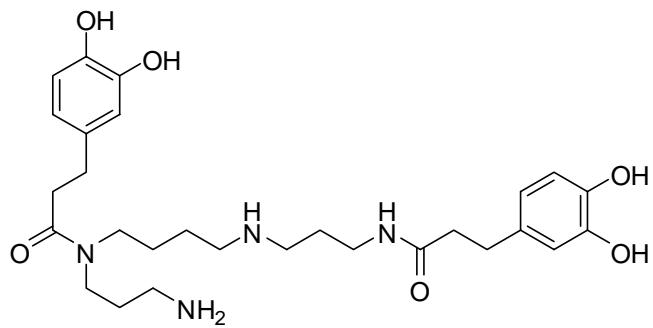
Die Gattung *Lycium* wurde bisher hinsichtlich ihrer sekundären Inhaltsstoffe erst wenig erforscht. Erkenntnisse stützen sich zum überwiegenden Teil auf Untersuchungen der in der traditionellen chinesischen Medizin (TCM) genutzten Art *Lycium chinense* (MILLER).

Viele der bisher isolierten Inhaltsstoffe stellen stickstoffhaltige Verbindungen vor allem in Form von Amiden. Hierbei fallen die phenolischen Säureamide auf, die mit Tyramin, Octopamin, Dopamin und Histamin immer ein aromatisches biogenes Amin enthalten. Als Säurekomponenten sind bisher Dihydrokaffeesäure, p-methoxy-*cis*-Cumarsäure, *trans*-Ferulasäure sowie *cis* / *trans*-Kaffeesäure gefunden worden. Im speziellen wurden folgende Verbindungen isoliert: Dihydro-N-Caffeoyltyramin (Abb. 1.18) [46], *trans*-N-Feruloyloctopamin und die beiden geometrischen Isomere von N-Caffeoyltyramin aus der Wurzelrinde (cortex) von *L. chinense* [47], aus den Früchten von *L. barbarum* p-methoxy-*cis*-Cinnamoyldopamin (Lyciumid A) [48], [49] und aus den Blättern der in Südamerika heimischen Art *L. cestroides* jeweils beide *cis*- und *trans*-Formen von N-Cinnamoylhistamin und N-Cinnamoyl-N<sub>1</sub>-methylhistamin [50].



**Abb. 1.18:**  
Struktur von Dihydrocaffeoyltyramin. Dieses phenolische Säureamid wurde aus *L. chinense* häufig isoliert

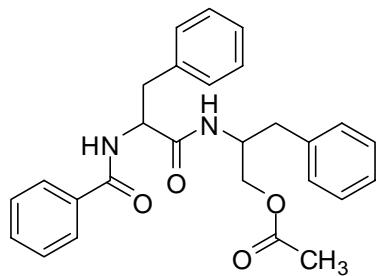
Weiterhin wurden aus den Wurzeln von *L. chinense* neben dem Polyamin Spermin zwei weitere Sperminalkaloide, Kukoamin A [51] und B (Abb. 1.19) [52], [53], isoliert, die je einen Dihydrocaffeoylrest an N-1 und N-14 bzw. N-1 und N-10 in einer Amidbindung tragen.



**Abb. 1.19:**

Struktur von Kukoamin B, ein Sperminalkaloid aus der Wurzelrinde von *L. chinense*. Die Positionen N-1 und N-10 sind mit Dihydrokaffeesäure in ein Amid integriert

Andere Polyamide wurden aus *L. chinense* in Form von zyklischen Peptiden isoliert: Die Wurzelrinde enthielt Lyciumin A, B, C und D, die Stängeldroge lediglich Lyciumin A und B. Bei diesen Strukturen handelt es sich um Oktapeptide mit einer ungewöhnlichen Bindung zwischen C- $\alpha$  des Glycins und N-1 des Indolrings von Tryptophan. Die Aminosäuren in den Positionen 3, 6, 7 und 8 können in den vier verschiedenen Strukturen A, B, C und D durch meist gleichartige Aminosäuren ausgetauscht sein, wohingegen die Plätze 1, 2, 4, 5, mit Glutamat, Prolin, Glycin und Valin „fest“ besetzt sind [42]. Ein weiteres Peptid, Lyciumamid (= Aurantiamid-Acetat), das als N-Benzoyl-L-phenylalanin-L-phenylalanin-O-acetat (Abb. 1.20) identifiziert wurde, wurde in der Wurzel von *L. chinense* gefunden [54].



**Abb. 1.20:**

Struktur von Lyciumamid A. Das Peptid besteht aus zwei modifizierten Phenylalaninresten

Die Früchte derselben Art enthielten zwei Cerebroside, in denen ein Sphingosin mit Palmitat verknüpft vorliegt [55].

Unter den Derivaten von Aminosäuren wurden häufig (abgesehen von den Aminokomponenten der phenolischen Säureamide) das quartäre Ammoniumsalz Betain, sein Abbauprodukt Cholin und die Aminosulfonsäure Taurin isoliert. Sowohl Betain als auch Cholin waren in der Wurzelrinde [52] und Frucht von *L. chinense* [56] sowie in den Wurzeln der südamerikanischen Arten *L. chilense* und *L. tenuispinosum* [57] zu finden. Die Blätter und Wurzeln von *L. halimifolium* enthalten Cholin und die Früchte Taurin. Ein mit Tryptophan verknüpftes Primverosid wurde aus der Wurzelrinde von *L. chinense* isoliert [42].

Die aus der Wurzelrinde von *L. chinense* isolierten polyhydroxylierten Alkaloide können in zwei Gruppen unterteilt werden: Piperidinalkaloide mit den Vertretern Fagomin und 6-Deoxyfagomin sowie Calystegine mit dem Grundgerüst des (Nor)tropans sowie 1-Amino-3,4,5-trihydroxycycloheptan, eine postulierte Vorstufe in der Calysteginbiosynthese. Insgesamt wurden elf klassische Calystegine aus den Gruppen A, B und C isoliert sowie die zwei seltenen Strukturen B2 und C1 als Minorkomponenten [58]. Die klassischen Tropanalkaloide, Ester des Tropans mit Säuren, scheinen, wenn überhaupt, nur in Spuren vorzukommen. Folgende Untersuchungen beziehen sich auf *L. barbarum*: Einem Bericht zufolge sollten die Wurzeln und Früchte Hyoscyamin enthalten [59]. Fruchtproben aus China und Thailand wurden daraufhin intensiv untersucht, wobei mittels HPLC-MS in sämtlichen Proben lediglich Spuren von Atropin nachgewiesen werden konnte und somit die Verwendung der Früchte als Lebensmittel weiterhin nicht bedenklich erschien [60]. Andere Studien konnten das Vorkommen von Atropin und Scopolamin in Blättern oder Wurzeln ausschließen [61], [62].

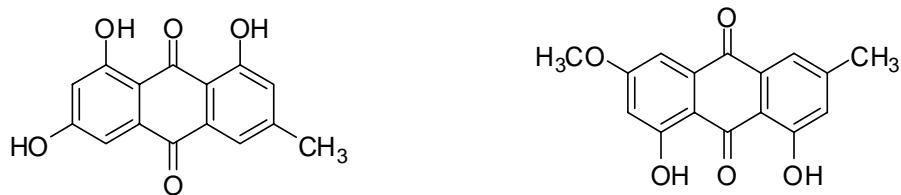
Als flüchtige Alkaloide sind 2-Acetylpyrrol und Pyridyl-2-carbinol (Abb. 1.21) aus den charakteristisch riechenden halbgetrockneten Beeren von *L. chinense* bekannt [39].



**Abb. 1.21:**

Strukturen von 2-Acetylpyrrol (links) und Pyrridyl-2-carbinol (rechts). Die flüchtigen Alkaloide wurden aus den Beeren von *L. chinense* bekannt

An Cumarinen wurden neben Scopoletin in den Blättern und der Wurzelrinde von *L. chinense* die glykosylierten Derivate Scopolin und Fabiatrin [63] gefunden. Die Früchte von *L. barbarum* enthielten Scopoletin und Scopolin [64] und dessen Wurzelrinde die Anthrachinone Emodin und Physcion (Abb. 1.22) [63].

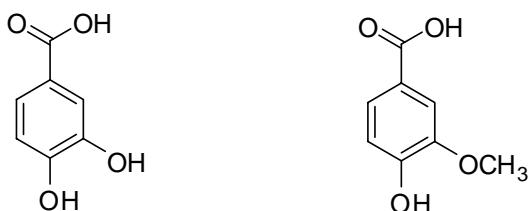


**Abb. 1.22:**

Strukturen von Emodin (links) und Physcion (rechts), zwei Anthrachinone aus der Wurzelrinde von *L. barbarum*

Flavonoide wurden aus den oberirdischen Pflanzenteilen isoliert. Die Blätter von *L. chinense* enthielten das Flavonol Rutin und die Flavone Luteolin, Acacetin, 5,7,3'-Trihydroxy-6,4',5'-trimethoxyflavon und Acacetin-7-*O*-rutinosid. In den Blättern von *L. barbarum* wurden durchwegs Flavonole gefunden mit den Substanzen Quercetin, Kämpferol, Myricetin, Nikotiflorin, Isoquercitrin, Isorhamnetin, Rutin sowie Quercetin-3-*O*-rutinosid-7-*O*-glucosid und Kämpferol-3-*O*-rutinosid-7-*O*-glucosid [65], [66], [67], [68], [69].

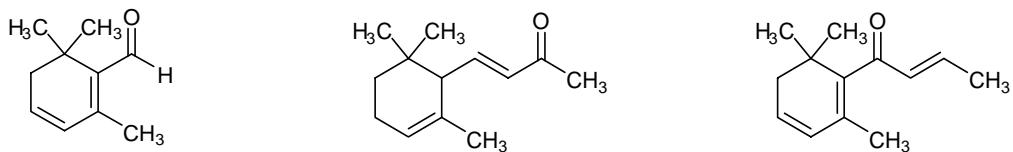
Als aromatische Säuren wurden die Benzoesäurederivate Protocatechusäure [69] und Vanillinsäure (Abb. 1.23) [70] in den Früchten bzw. Blättern von *L. chinense* und Chlorogensäure aus den Blättern und Früchten [65], [69] nachgewiesen.



**Abb. 1.23:**

Strukturen von Protocatechusäure (links) und Vanillinsäure (rechts), zwei aromatische Säuren in Blättern und Früchten von *L. chinense*

Aus Wasserdampfdestillation der charakteristisch riechenden, halbgetrockneten Beeren von *L. chinense* konnte man 36 verschiedene mehr oder weniger flüchtige Verbindungen verschiedenster Stoffklassen mit der Hauptkomponente Methyllinoleat gewinnen. Fast die Hälfte der Strukturen wurden als niedermolekulare Zerfallsprodukte der polyterpenoiden Carotenoide klassifiziert, da sie ein Trimethylcyclohexan besitzen, so z. B. Safranal (Abb. 1.24) und viele Derivate von  $\alpha$ -Ionon (Abb. 1.24) und  $\beta$ -Ionon [39]. Der Hauptinhaltsstoff des ätherischen Öls aus den Blättern ist Damascenon (Abb. 1.24), ein C13-Norisoprenoid[71].



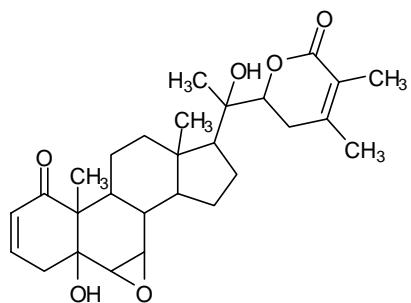
**Abb. 1.24:**

Strukturen von Safranal,  $\alpha$ -Ionon und Damascenon (von links nach rechts). Die isoprenoiden Verbindungen sind als flüchtige Aromastoffe in den Beeren von *L. chinense* bzw. den Blättern enthalten

Aus dem ätherischen Öl der Früchte von *L. barbarum* und *L. ruthenicum* wurden 21 bzw. 18 Verbindungen hauptsächlich aus der Klasse der Fettsäuren und deren Ester bekannt [45]. Nichtflüchtige isoprenoide Verbindungen wurden auch aus der Wurzelrinde von *L. chinense* isoliert. Im speziellen handelte es sich dabei um das Glykosid des Monoterpenes 1,10-Dihydroxypinan, drei acyclische Diterpenglykoside und ein Saponin mit Tigogenin als Aglykon. Die acyclischen Diterpenglykoside, Lyciumosid 1, 2 und 3 stellen interessante und vor allem seltene Strukturen dar. Sie tragen ein Molekül Glucose durchwegs an C-3 und

unterscheiden sich untereinander in der Glykosylierung an den beiden Kohlenstoffen C-14 und C-17 [42].

Weitere steroidale Strukturen, die von Ergosteran abgeleiteten Withanolide, wurden in der Blattdroge gefunden: Aus *L. barbarum* wurde Lyciumwithanolid A (Abb. 1.25) [72] und aus *L. chinense* sowohl Lyciumwithanolid A als auch B [73] isoliert.



**Abb. 1.25:**

Struktur von Lyciumwithanolid A, isoliert aus den Blättern von *L. chinense* und *L. barbarum*

Die Früchte von *L. chinense* stellen die reichste Quelle an Carotinoiden aller bekannten Lebensmittel. Als vorherrschendes Derivat der Carotenoide wurde Zeaxanthindipalmitat isoliert [74], [75].

### 1.3 *Lycium chinense* und seine medizinische Verwendung

Die Gattung *Lycium* beinhaltet mit *Lycium chinense* eine einzige Art, für die eine intensive und wichtige (volks)medizinische Nutzung beschrieben ist. Im orientalischen Kulturkreis verwendet man die Wurzelrinde (*Lycii radicis cortex*), „jikoppi“ (Abb. 1.26) genannt, als Tonikum und gegen Bluthochdruck [51]. In der traditionellen chinesischen Medizin (TCM) gehören die halbgetrockneten Beeren (*Lycii fructus*), „kukoshi“ (Abb. 1.26) genannt, zu den wichtigsten Arzneimitteln, die seit über 2000 Jahren neben ihrer Verwendung als Tonikum gezielt zur Behandlung der männlichen Zeugungsunfähigkeit und bei Augenproblemen eingesetzt werden [56]. Gelegentlich finden die getrockneten Blätter (*Lycii folium*) Verwendung als antiphlogistisch wirksamer Tee [71]. Auch Mischungen der Blätter oder

Früchte in Kombination mit anderen Heilpflanzen sind bekannt. Nahezu alle pflanzlichen Arzneimittel der chinesischen Medizin gegen Augenprobleme enthalten als Hauptbestandteil Lyciumfrüchte [75].

Die oberirdischen Teile der Pflanze gelten auch als Grundnahrungsmittel. Die frischen Blätter werden als Salat verarbeitet und die Früchte zu Saft gepresst (Goji-Saft) oder einfach roh gegessen. Die chinesische Provinz Ningxia gilt seit jeher als typische Wolfsbeerenregion. Hier wird *L. chinense* auch kommerziell gemäß den Richtlinien der Good Agricultural Practice (GAP) kultiviert [56].



**Abb. 1.26:**

*Lycii radicis cortex* (links) und *Lycii fructus* (rechts), die zwei wichtigsten dokumentierten Drogenzubereitungen der Gattung *Lycium* im Orient bzw. der Traditionellen Chinesischen Medizin. Stammpflanze(n): *L. chinense* bzw. *L. barbarum*

Es gibt in China mindestens neun heimische Arten inkl. Unterarten des Bocksdorns [75]. Unter diesen wird in der Literatur auch *L. barbarum* L. syn. *L. halimifolium* MILLER als die chinesische Wolfsbeere bezeichnet. Möglicherweise werden die beiden Arten bei Wildsammlungen leicht miteinander verwechselt oder es existieren zwei Stammpflanzen für die Drogenzubereitungen. Der Bestimmungsschlüssel nach Schmeil-Fitschen [76] unterscheidet deutlich, z. B. hinsichtlich der Blattform, folgendermaßen:

*L. barbarum* L. (= *L. halimifolium* MILL., Gewöhnlicher Bocksdorn): Blätter lanzettlich, am breitesten in der Mitte, allmählich in den Stiel verschmälert.

*L. chinense* MILL. (= *L. rhombifolium* DIPP, Chinesischer Bocksdorn): Blätter eilanzettlich, eiförmig oder rhombisch eiförmig, am breitesten unterhalb der Mitte, plötzlich in den Stiel verschmälert.

## 1.4 *Lycium anatolicum*

*Lycium anatolicum* (A. BAYTOP et R. MILL) ist in der Türkei endemisch (Abb. 1.27).

Der buschig wachsende Strauch erreicht eine Höhe von ein bis maximal zwei Metern und wächst wild auf Parkflächen und an Wegrändern.

Bisher sind weder eine (volks)medizinische Verwendung noch pharmakologische Untersuchungen bekannt [45].

Die Klassifikation von *L. anatolicum* folgt nachstehendem System:

Klasse: Rosopsida

Unterklasse: Asteridae

Ordnung: Solanales

Familie: Solanaceae

Unterfamilie: Solanoideae

Gattung: *Lycium*

Stamm: *Lycieae*

Art: *Lycium anatolicum*

## 1.5 Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit

In der Türkei sind 36 Arten der Nachtschattengewächse verbreitet, die zu 12 Gattungen [77] gehören. Innerhalb der Gattung *Lycium* sind acht Arten gefunden worden: *L. barbarum* L., *L. europaeum* L., *L. ruthenicum* MURRAY, *L. depressum* STOCKS, *L. schweinfurthii* DAMMER, *L. anatolicum* A. BAYTOP et R. MILL, *L. shawii* ROEMER et SCHULTHES und *L. chinense* MILLER. Phytochemische Untersuchungen existieren lediglich zu *L. barbarum* und *L. ruthenicum*, die sich in erster Linie auf die Analyse flüchtiger Komponenten des ätherischen Öls der Früchte beziehen [45]. Ziel der Arbeit war es nun, mit *L. anatolicum* eine in der Türkei heimische Art des Bocksdorns phytochemisch zu untersuchen und den bisherigen Kenntnisstand zum Inhaltsstoffspektrum der Gattung *Lycium* im Vergleich zu anderen untersuchten Arten des Bocksdorns zu bestätigen und gegebenenfalls zu erweitern.



**Abb. 1.27:**

*Lycium anatolicum*. Deutlich zu sehen die violettfarbene, nach innen ins weiß übergehende fünfzählige Blütenkrone und die ganzrandigen lanzettlich geformten Blätter, die sowohl freistehend als auch in Büscheln an herabhängenden Zweigen sitzen

Photographie von Prof. Dr. Ihsan Calis, Hacettepe Universität, Ankara, Türkei

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Lösungsmittel

Aceton (MERCK)

Acetonitril

Ameisensäure 98-100% (MERCK)

Dichlormethan (ACROS Organics)

Eisessig (MERCK)

Essigsäureanhydrid (J.T. Baker)

Ethanol absolut (J.T. Baker)

Ethylacetat (ACROS Organics)

Ethylmethylketon (MERCK)

Hexan (ACROS Organics)

Isopropanol (MERCK)

Methanol (MERCK)

Methanol LiChroSolv (MERCK)

Konzentrierte Schwefelsäure 95-97% (MERCK)

Lösungsmittel für die Kernmagnetische Resonanzspektroskopie (NMR)

Lieferant: Deutero GMBH

Aceton-d<sub>6</sub>, 99.8 %

Chloroform-d<sub>1</sub>, 99.8 %

Deuteriumoxid, 99.9 %

Dimethylsulfoxid-d<sub>6</sub>, 99.8 %

Methanol-d<sub>4</sub>, 99.8 %

## 2.2 Chemikalien

Anisaldehyd = 4-Methoxybenzaldehyd, zur Synthese (MERCK)

Bismutnitrat basisch, zur Analyse (MERCK)

Diphenylborsäure-2-aminoethylether, zur Analyse, purum, 97 % (Fluka)

Kaliumjodid (MERCK)

Polyethylenglykol (PEG) 400 (MERCK)

## 2.3 Dünnschichtchromatographie

Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (MERCK)

Alufolien Reversed Phase RP-18 F<sub>254</sub> (MERCK)

## 2.4 Stationäre Phasen für offene Säulen

Sephadex LH-20 (Sigma Aldrich)

Kieselgel 60, Partikelgröße 0.063-0.200 mm (MERCK)

Reversed Phase 18, LiChroPrep, Partikelgröße 0.040-0.063 mm (MERCK)

## 2.5 HPLC (semipräparativ): Anlage und Säulen

Anlage mit Autosampler, Pumpen, Detektor und Fraktionskollektor: ProStar, VARIAN

Autosampler: Modell 410

Pumpsystem A und B; A: Modell 210, Ser. No.05250; B: Modell 210, Ser. No. 05251

Detektor: UV-Dioden-Array-Detektor (DAD)

Die Fraktionen wurden manuell eingesammelt.

Säulen:

KNAUER: Stationäre Phase: Eurospher-100 C18, Partikelgröße: 7 µm, Länge: 25 cm, innerer

Durchmesser: 16 mm, Seriennummer: SA 69

VARIAN: kombiniertes System aus Vorsäule und Trennsäule;

Vorsäule: Stationäre Phase: Pursuit XRs C18, Partikelgröße: 5 µm, Länge: 50 mm, innerer Durchmesser: 10.0 mm, Seriennummer: 323901

Trennsäule: Stationäre Phase: Pursuit XRs C18, Partikelgröße 5 µm, Länge: 250 mm, innerer Durchmesser: 10.0 cm, Seriennummer: 292765

## 2.6 Waagen

Analysenwaage: Sartorius research R160P, Albert Hagl Wägeotechnik, Deggendorf

Elektrische Feinwaage: Sartorius MC1, 6200S, Albert Hagl Wägeotechnik, Deggendorf

Die Masse der Extrakte und Fraktionen wurden nach Gefriertrocknung an der elektrischen Feinwaage über Rückwiegen des zuvor austarierten Kolbens bestimmt. Reinsubstanzen wurden direkt im Wägegläschen an der Analysenwaage abgewogen.

## 2.7 Kernmagnetische Resonanzspektroskopie (NMR)

$^1\text{H}$ -Spektren wurden am Avance 300 (Bruker), zweidimensionale Spektren an einem Avance 400, Avance 600 oder Avance 600 Kryo (Bruker) aufgenommen und mit Hilfe des Restes an nicht deuteriertem Lösungsmittels referenziert.

Homonukleare Messungen wurden aufgenommen als  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (Correlation Spectroscopy)  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy),  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -ROESY (Rotatory Frame Spectroscopy) und  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -TOCSY (Total Correlation Spectroscopy) Experimente.

Heteronukleare Experimente beziehen sich auf die Kopplungen der Kerne  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (Hetero Single Quantum Correlation) und  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (Hetero Multiple Bond Correlation).

## 2.8 Massenspektrometrie (MS)

Für die Aufnahme von MS-Spektren standen folgende Geräte zur Verfügung:

Finnigan MAT 95

Thermo Quest Finnigan TSQ 7000

Finnigan MAT SSQ 710 A

## 2.9 Herstellung und Handhabung der Sprühreagenzien

### 2.9.1 Anisaldehyd-Sprühreagenz (AA): Unspezifisches Reagenz für zahlreiche Naturstoffe

Auf Eis rühren!

Zu 85 ml Methanol werden nacheinander 8 ml Eisessig, 5 ml Schwefelsäure und 1 ml Anisaldehyd zugetropft.

Das Reagenz wurde im Kühlschrank vorrätig gehalten, solange es farblos bleibt. Leichte Gelbfärbung beeinflusst die Qualität nicht. Bei beginnender Violettfärbung wurde das Reagenz verworfen. Das mit Fön getrocknete Chromatogramm wurde gleichmäßig besprüht und im Trockenschrank bei 110° C 1 bis 10 min lang belassen. Die Auswertung erfolgt im sichtbaren Licht.

### 2.9.2 Liebermann Burchard-Sprühreagenz (LB): Spezifisches Reagenz für Steroide und Triterpenderivate

Auf Eis rühren!

Zu 50 ml Ethanol (absolut) werden langsam zuerst 5 ml Essigsäureanhydrid und dann 5 ml konzentrierte Schwefelsäure getropft.

Das Reagenz sollte unmittelbar vor Gebrauch frisch hergestellt werden.

Das mit Fön getrocknete Chromatogramm wird gleichmäßig besprüht und bei 100° C 5 bis 10 min lang erhitzt. Die Auswertung erfolgt im langwelligen UV- Licht (366 nm) mit der UV-Lampe.

### 2.9.3 Naturstoffreagenz (NP): Spezifisches Reagenz für Flavonoide

Lösung A: 1% ige Lösung von Diphenylborsäure-2-aminoethylester in Methanol

Lösung B: 5% ige Lösung von Polyethylenglycol (PEG) 4000 in Ethanol.

Beide Lösungen sind im Kühlschrank lange haltbar.

Das mit Fön getrocknete Chromatogramm wird gleichmäßig mit Lösung A besprüht, 1 min bei 80° C belassen und zur Intensivierung der Fluoreszenz mit Lösung B besprüht. Die Auswertung erfolgt im langwelligen UV-Licht (366 nm) mit einer UV-Lampe.

### 2.9.4 Dragendorff- Reagenz (DD): Spezifisches Reagenz für Alkaloide

Zu 40 ml Wasser und 10 ml Eisessig wird (bei Bedarf unter Erhitzen) 0.85 g basisches Bismutnitrat gegeben (Lösung A). In 30 ml Wasser werden 8 g Kaliumjodid gelöst (Lösung B). Die Stammlösung wird durch Vermischen gleicher Volumenanteile der Lösungen A und B hergestellt.

Die Stammlösung soll im Dunkeln aufbewahrt werden! Unmittelbar vor Gebrauch werden 1 ml Stammlösung mit 10 ml Wasser und 2 ml Eisessig versetzt.

Das getrocknete Chromatogramm wird besprüht und dann bei Raumtemperatur belassen. Die Auswertung erfolgt im sichtbaren Licht.

## 2.10 Pflanzenmaterial

Die Pflanze wurde am 4. Juni 2005 im Dorf Sarıhacılı in der Nähe der Stadt Yozgat von Prof. Dr. I. Calis (Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, Hacettepe University, Ankara) an Wegrändern und Parkflächen gesammelt und die Identifikation von Prof. Dr. A.

A. Dönmez (Faculty of Science, Department of Biology, Hacettepe University, Ankara) bestätigt.

Das Herbarexemplar ist im botanischen Institut der Hacettepe Universität in Ankara unter der Kennzeichnung HUEF 05010 hinterlegt.

Die Pflanze wurde in Blätter und Stängel (ohne Blüten) getrennt, luftgetrocknet und fein pulverisiert (Mühle: Retsch SK 100, Siebgröße 2.0; Universität Ankara).

Bis zur Verwendung lagerten die Pflanzenteile (Folium-Droge und Stipes-Droge) vakuumverpackt im Kühlraum.

## 2.11 Herstellung der Extrakte

### 2.11.1 Stängel

290 g getrocknetes und zerkleinertes Pflanzenmaterial wurden mit 10% Seesand vermischt und mit frisch destilliertem Methanol 10 Tage lang erschöpfend perkoliert, wobei alle zwei bzw. drei Tage das Lösungsmittel erneuert wurde. Die Ausbeute an Rohextrakt betrug 35 g (nicht lyophilisiert).

Der Extrakt wurde in 200 ml Methanol suspendiert und mit 100 ml Wasser verdünnt. Dann wurde 3 Mal mit je 100 ml Dichlormethan ausgeschüttelt (Fraktion A) und 5 Mal mit je 70 ml Ethylacetat (Fraktion B). Zurück blieb die in Wasser suspendierte Fraktion C. Die Lösungsmittel wurden abgedampft und die Extrakte lyophilisiert (außer Fraktion A). Fraktion C wurde nach Gefriertrocknung in 100 ml Methanol gelöst, wobei eine weiße Masse nicht in Lösung gebracht werden konnte. Diese wurde über Absaugen mit Büchnertrichter vom methanollöslichen Teil (Fraktion C) getrennt. Der feinkristalline weiße Rückstand ( $m = 5.8 \text{ g}$ ) ließ sich ausschließlich mit Wasser in Lösung bringen und wurde nicht weiter aufgearbeitet (Vermutung: Zucker und Peptide).

Fraktion A: 3.3 g

Fraktion B: 1.2 g

Fraktion C: 11.5 g

## 2.11.2 Blätter

480 g getrocknetes und zerkleinertes Pflanzenmaterial wurden mit 10% Seesand vermischt und nacheinander mit jeweils frisch destilliertem Dichlormethan (Extrakt D) Ethylacetat (Extrakt E) und Methanol (Extrakt F) extrahiert. Die Extraktion wurde durchgeführt über das Prinzip der beschleunigten Lösungsmittelextraktion (ASE: Accelerated Solvent Extraction; ASE 100, Fa. Dionex) bei einer Temperatur von 50° C in drei Zyklen mit je 10 min Extraktionsdauer.

Extrakt F wurde nicht weiter aufgearbeitet.

Die Lösungsmittel wurden abgedampft und die Extrakte lyophilisiert (ausser Extrakt D).

Extrakt D: 19 g

Extrakt E: 1.6 g

Extrakt F: 41 g

## 2.12 Aufreinigungsschema der Extrakte: Beschreibung und Übersicht

### 2.12.1 Stängel

#### 2.12.1.1 Dichlormethan: Extrakt A

##### Beschreibung der Aufreinigung:

Der Rohextrakt wurde nach System A1 auf Kieselgel aufgetrennt. Die Fraktionen F1 (eluiert mit Dichlormethan; m = 280 mg), F2 (eluiert mit Dichlormethan-Aceton 1/1; m = 1.35 g) und F3 (eluiert mit Aceton; m = 630 mg) wurden nacheinander an Sephadex-LH 20 nach System S1 weiter gereinigt.

Aus F1 wurde eine Fraktion F1F1 (150-270 ml; m = 20 mg) erhalten, die weiter über die HPLC nach System H1 aufgetrennt wurde und nach Retentionszeiten von 18' und 23' eluierten zwei Steroide, deren Strukturaufklärung noch nicht abgeschlossen ist.

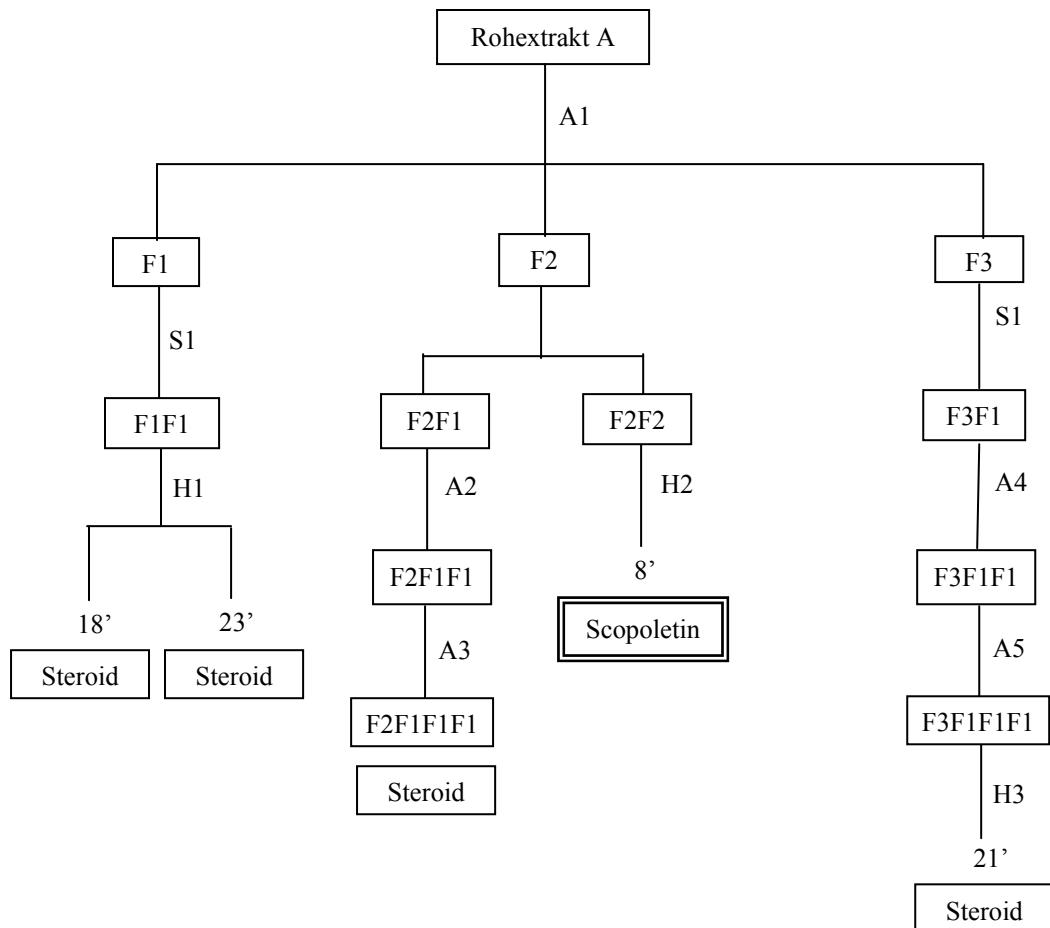
Aus F2 wurden zwei Fraktionen F2F1 (200-260 ml; m = 360 mg) und F2F2 (260-460 ml; m = 110 mg) weiter aufgearbeitet.

F2F1 wurde an Kieselgel über System A2 weiter aufgearbeitet und die Fraktion F2F1F1 (144-162 ml; m = 160 mg) erhalten, die nach weiterer Trennung über System A3 an Kieselgel eine Fraktion F2F1F1F1 (182-468 ml; m = 8.3 mg) ergab, die ein Steroid beinhaltet, dessen Strukturaufklärung noch nicht abgeschlossen ist.

Aus F2F2 wurde über die HPLC nach System H2 nach einer Retentionszeit von 8' das Cumarin **Scopoletin** erhalten (Absorptionsmaxima: 208, 227, 297, 344 nm).

Die Aufreinigung von F3 über System S1 ergab eine Fraktion F3F1 (150-316 ml; m = 400 mg), die weiter über System A4 auf Kieselgel aufgetrennt wurde und die Fraktion F3F1F1 (720-1930 ml; m = 190 mg) ergab. Diese Fraktion wurde nach System A5 auf Kieselgel weiter aufgereinigt und ergab Fraktion F3F1F1F1 (36-134 ml; m = 90 mg), die über die HPLC nach System H3 bei einer Retentionszeit von 21' ein Steroid beinhaltete, dessen Strukturaufklärung zum Zeitpunkt der Anfertigung dieser Arbeit noch nicht abgeschlossen ist.

Aufreinigungsschema:



**Abb. 2.1:**

Aufreinigungsschema des Dichlormethan-Extraktes der Stängeldroge (Extrakt A).

A: Trennung über Kieselgel, siehe 2.13.2

S: Trennung über Sephadex, siehe 2.13.1

H: Trennung über die HPLC, siehe 2.14

Einfach umrandet sind die weiterverarbeiteten Fraktionen; doppelt umrandet die erhaltenen Reinsubstanzen und unmittelbar darüber die Retentionszeit in Minuten nach Aufreinigung über die HPLC.

Die Strukturaufklärung der vier Steroide ist noch nicht abgeschlossen

## 2.12.1.2 Ethylacetat: Extrakt B

### Beschreibung der Aufreinigung:

Der Rohextrakt wurde nach System S2 auf Sephadex LH-20 getrennt, wovon drei Fraktionen F1 (280-400 ml; m = 720 mg), F2 (410-650 ml; m = 170 mg) und F3 (655-945 ml; m = 40 mg) weiter verarbeitet wurden.

F1 wurde über das System V1 auf RP 18 aufgetrennt und zwei Fraktionen verarbeitet: F1F1 (eluiert mit Wasser-Methanol 8/2; 500 mg) und F1F2 (eluiert mit Wasser-Methanol 7/3; m = 210 mg).

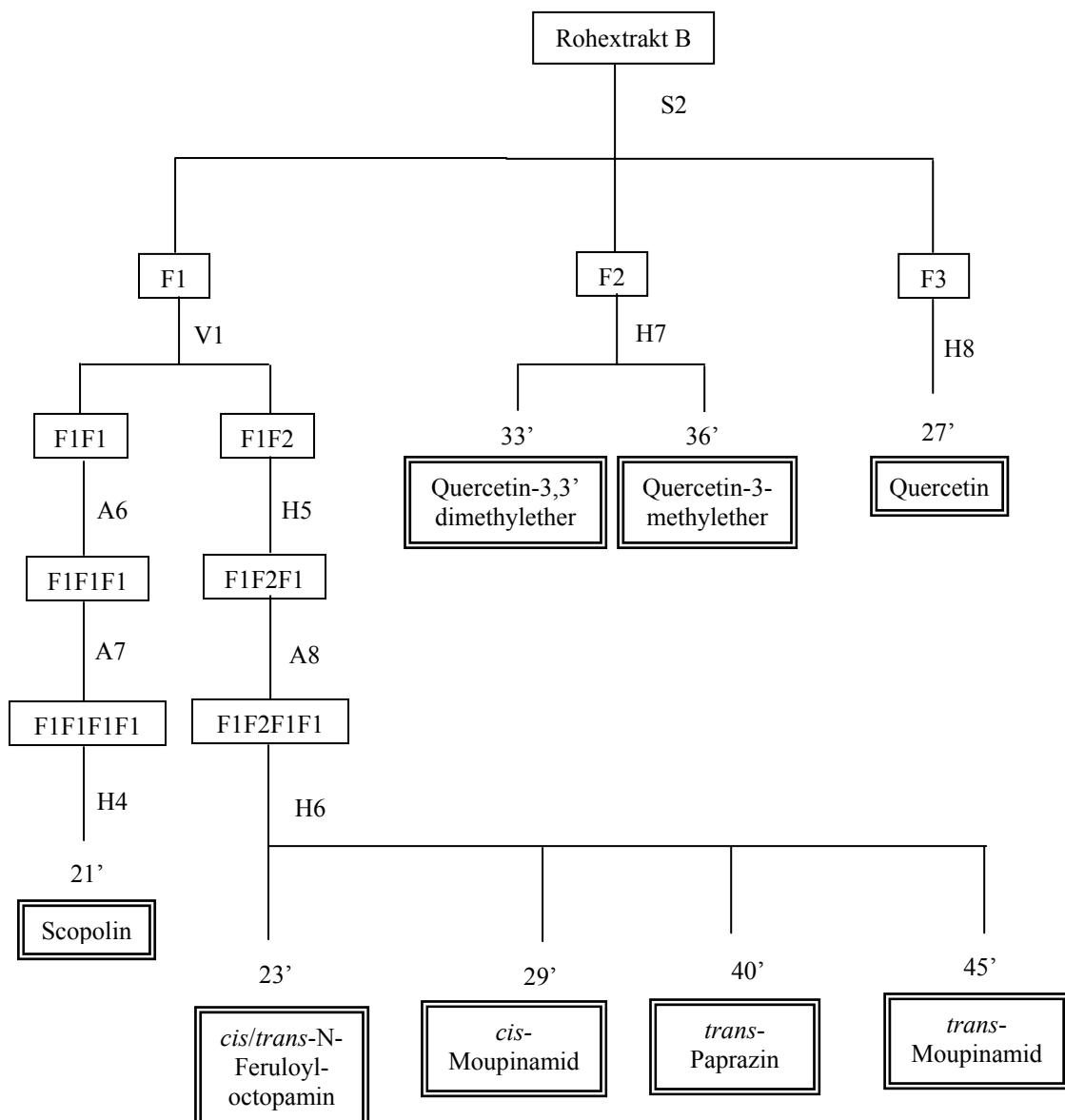
F1F1 wurde über das System A6 an Kieselgel getrennt und die Fraktion F1F1F1 (eluiert mit Dichlormethan-Methanol 7/3; m = 400 mg) an Kieselgel nach System A7 weiter gereinigt. Die Fraktion F1F1F1F1 (500-820 ml; m = 50 mg) wurde an der HPLC über das System H4 aufgereinigt und nach einer Retentionszeit von 21' eluierte das Cumaringlukosid **Scopolin** (Absorptionsmaxima: 228, 291, 340 nm).

F1F2 wurde über die HPLC nach System H5 vorgereinigt und die Fraktion F1F2F1 (Elution von 8-22'; m = 100 mg) auf Kieselgel nach System A8 gereinigt. Die erhaltene Fraktion F1F2F1F1 (36-150 ml; m = 70 mg) wurde an der HPLC nach System H6 aufgearbeitet und nach Retentionszeiten von 23', 29', 40' und 45' eluierten die phenolischen Säureamide **cis/trans-N-Feruloyloctopamin** (Absorptionsmaxima: 226, 320 nm), **cis-Moupinamid** syn. **cis-N-Feruloyltyramin** (Absorptionsmaxima: 226, 277 nm), **trans-Paprazin** syn. **trans-N-Cumaroyltyramin** (Absorptionsmaxima: 232, 310 nm) und **trans-Moupinamid** syn. **trans-N-Feruloyltyramin** (Absorptionsmaxima: 240, 317 nm).

F2 wurde über die HPLC gereinigt nach System H7 und nach Retentionzeiten von 33' und 36' eluierten die Flavonoide **Quercetin-3-methylether** (Absorptionsmaxima: 257, 358 nm) und **Quercetin-3,3'-dimethylether** (Absorptionsmaxima: 257, 358 nm).

F3 wurde über die HPLC gereinigt nach System H8 und nach einer Retentionszeit von 27' eluierte das Flavonoid **Quercetin** (Absorptionsmaxima: 255, 371 nm).

Aufreinigungsschema:



**Abb. 2.2:**

Aufreinigungsschema des Ethylacetat-Extraktes der Stängeldroge (Extrakt B).

A: Trennung über Kieselgel, siehe 2.13.2

S: Trennung über Sephadex, siehe 2.13.1

V: Trennung über Reversed Phase, siehe 2.13.3

H: Trennung über HPLC, siehe 2.14

Einfach umrandet sind die weiterverarbeiteten Fraktionen; doppelt umrandet die erhaltenen Reinsubstanzen und unmittelbar darüber die Retentionszeit in Minuten nach Aufreinigung über die HPLC

### 2.12.1.3 Methanol : Extrakt C

#### Beschreibung der Aufreinigung :

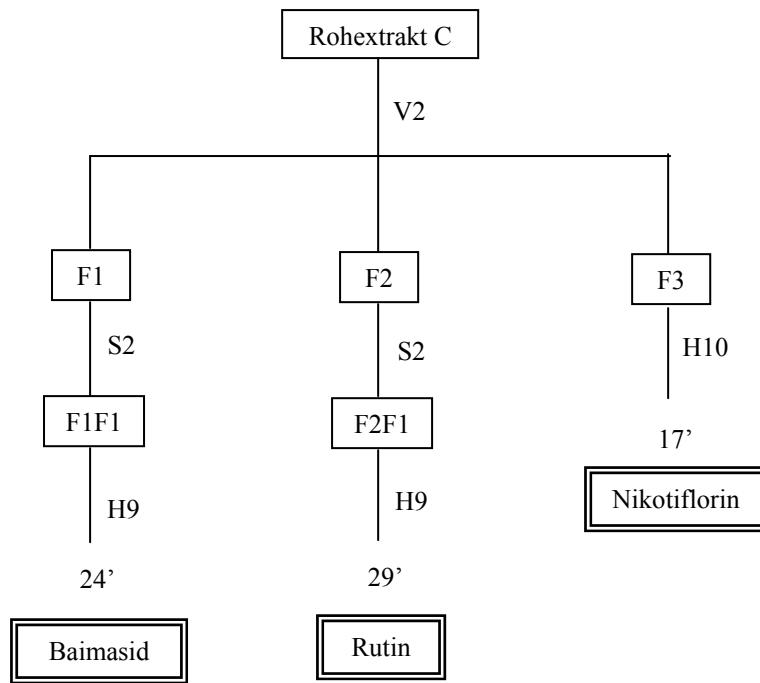
Der Rohextrakt wurde unter Verwendung von System V2 auf RP 18 aufgetrennt und die Fraktionen F1 (eluiert mit Wasser-Methanol 8/2 bis 6/4; m = 660 mg) und F2 (eluiert mit Wasser-Methanol 5/5, 1. und 2. Mal; m = 500 mg) wurden nach System S2 auf Sephadex LH-20 weiter gereinigt.

F1 ergab die Fraktion F1F1 (290-520 ml; m = 180 mg), die über das System H9 auf HPLC gereinigt wurde und nach einer Retentionszeit von 24' eluierte das Flavonoidglykosid **Baimasid** syn. Quercetin-3-*O*-sophorosid (Absorptionsmaxima: 263, 356 nm).

F2 ergab die Fraktion F2F1 (325-490 ml; m = 380 mg), die über das System H9 auf HPLC gereinigt wurde und nach einer Retentionszeit von 29' eluierte das Flavonoidglykosid **Rutin** syn. Quercetin-3-*O*-rutinosid (Absorptionsmaxima: 260, 356 nm).

F3 (eluiert mit Wasser-Methanol 5/5, 3. Mal; m = 50 mg) wurde auf HPLC über System H10 gereinigt und nach einer Retentionszeit von 17' eluierte das Flavonoidglykosid **Nikotiflorin** syn. Kämpferol-3-*O*-rutinosid (Absorptionsmaxima: 264, 349 nm).

Aufreinigungsschema:



**Abb. 2.3:**

Aufreinigungsschema des Methanol-Extraktes der Stängeldroge (Extrakt C).

A: Trennung über Kieselgel, siehe 2.13.2

S: Trennung über Sephadex, siehe 2.13.1

V: Trennung über Reversed Phase, siehe 2.13.3

H: Trennung über HPLC, siehe 2.14

Einfach umrandet sind die weiterverarbeiteten Fraktionen; doppelt umrandet die erhaltenen Reinsubstanzen und unmittelbar darüber die Retentionszeit in Minuten nach Aufreinigung über die HPLC

## 2.12.2 Blätter

### 2.12.2.1 Dichlormethan: Extrakt D

#### Beschreibung der Aufreinigung:

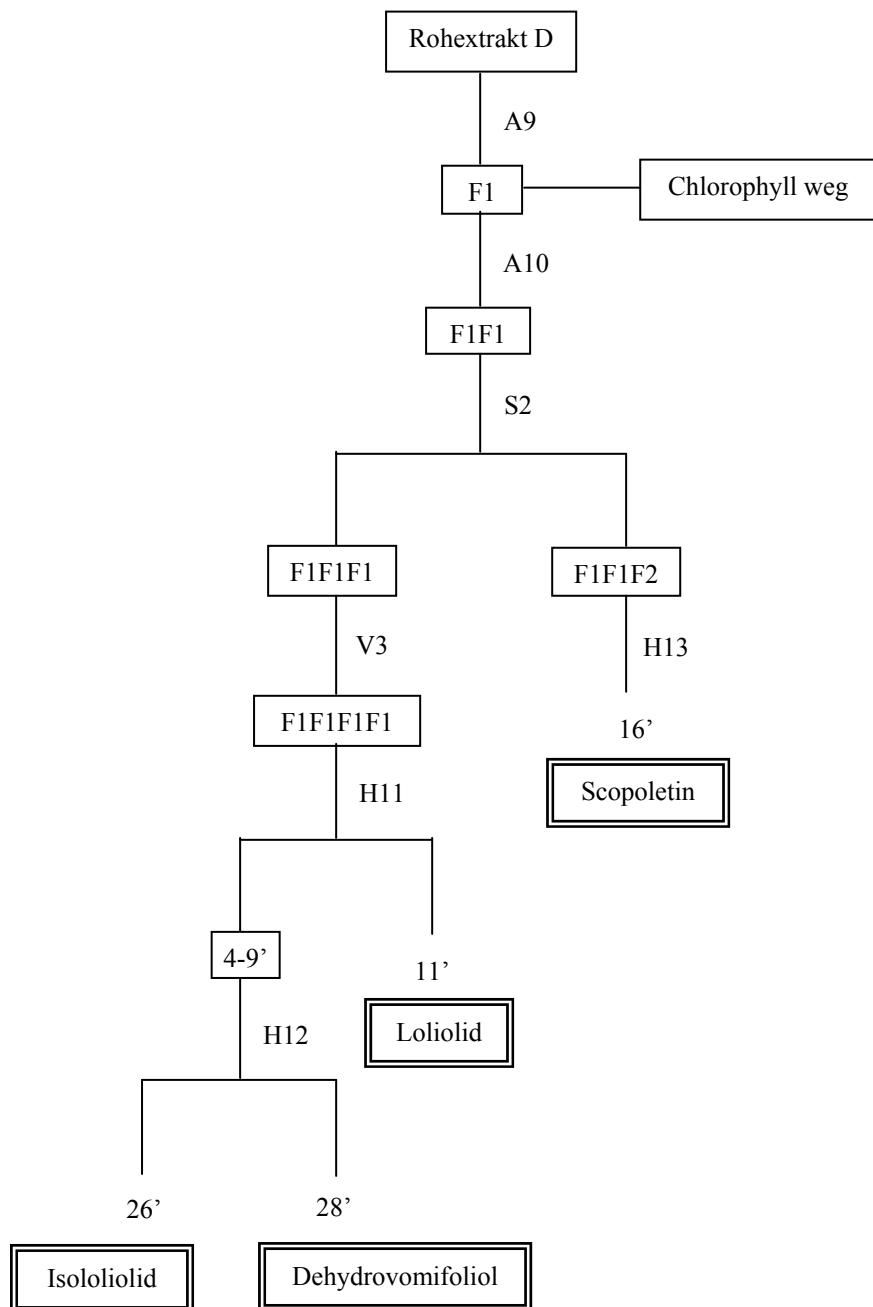
Der Rohextrakt wurde nach System A9 auf Kieselgel grob unterteilt und aus einer Fraktion F1 (eluiert mit Dichlormethan-Isopropanol 9/1; m = 4.9 g, nicht lyophilisiert) wie folgt Chlorophyll gefällt: F1 wurde in 150 ml Methanol (minimales Volumen) gelöst und über Nacht im Eisschrank bei - 20° C aufbewahrt. Über einen Büchnertrichter wurde ausgefallenes Chlorophyll abgesaugt (m = 2 g) und mit eiskaltem Methanol nachgewaschen. Nach Abtrennen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in 100 ml Methanol (minimales Volumen) aufgenommen und übers Wochenende bei - 20° C aufbewahrt. So konnte nochmals Chlorophyll (m = 200 mg) ausgefällt werden. Die Fraktion wurde lyophilisiert (m = 1.8 g).

F1 wurde über Kieselgel nach System A10 aufgereinigt und ergab eine Fraktion F1F1 (1700-2700 ml; m = 710 mg), die unter Verwendung von System S2 über Sephadex LH-20 aufgetrennt wurde.

F1F1F1 (220-300 ml; m = 600 mg) wurde über RP 18 nach System V3 gereinigt und ergab die Fraktion F1F1F1F1 (eluiert mit Wasser-Methanol 1/1; m = 360 mg), die über die HPLC nach System H11 gereinigt wurde. Bei einer Retentionszeit von 11' eluierte das C11-Isoprenoid **Loliolid** syn. Calendin (Absorptionsmaximum: 223 nm). Der Vorlauf von 4-9' wurde über das System H12 an der HPLC aufgetrennt. Nach einer Retentionszeit von 26' und 28' eluierten das C11- Isoprenoid **Isololiolid** (Absorptionsmaximum: 216 nm) und das C13-Norisoprenoid **Dehydrovomifoliol** (Absorptionsmaximum: 240 nm).

F1F1F2 (300-440 ml; m = 60 mg) wurde unter Verwendung von System H13 an der HPLC aufgearbeitet. Nach einer Retentionszeit von 16' eluierte das Cumarin **Scopoletin** (Absorptionsmaxima: 231, 301, 347 nm).

Aufreinigungsschema:



**Abb. 2.4:**

Aufreinigungsschema des Dichlormethan-Extraktes der Blattdroge (Extrakt D).

A: Trennung über Kieselgel, siehe 2.13.2

S: Trennung über Sephadex, siehe 2.13.1

H: Trennung über die HPLC, siehe 2.14

V: Trennung über RP, siehe 2.13.3

Einfach umrandet sind die weiterverarbeiteten Fraktionen, doppelt umrandet die erhaltenen Reinsubstanzen und unmittelbar darüber die Retentionszeit in Minuten nach Aufreinigung über die HPLC.

## 2.12.2.2 Ethylacetat: Extrakt E

### Beschreibung der Aufreinigung:

Der Rohextrakt wurde nach System S2 an Sephadex LH-20 getrennt. Die Fraktionen F1 (160-320 ml; m = 470 mg), F2 (330-440 ml; m = 480 mg) und F3 (460-980 ml; m = 70 mg) wurden weiterverarbeitet.

F1 wurde über das System H14 auf HPLC grob aufgetrennt und die Fraktionen F1F1 (eluiert von 8.0 bis 9.7 Minuten; m = 220 mg) und F1F2 (eluiert von 10.0 bis 11.3 Minuten; m = 130 mg) weiter aufgearbeitet.

F1F1 wurde über das System A11 auf Kieselgel weiter gereinigt und zwei Fraktionen F1F1F1 (150-250 ml; m = 40 mg) und F1F1F2 (990-1950 ml; m = 190 mg) weiter gereinigt.

F1F1F1 wurde unter Verwendung von System H15 durch HPLC getrennt und nach 22' und 24' eluierten die phenolischen Säureamide **cis-Moupinamid** und **trans-Paprazin**.

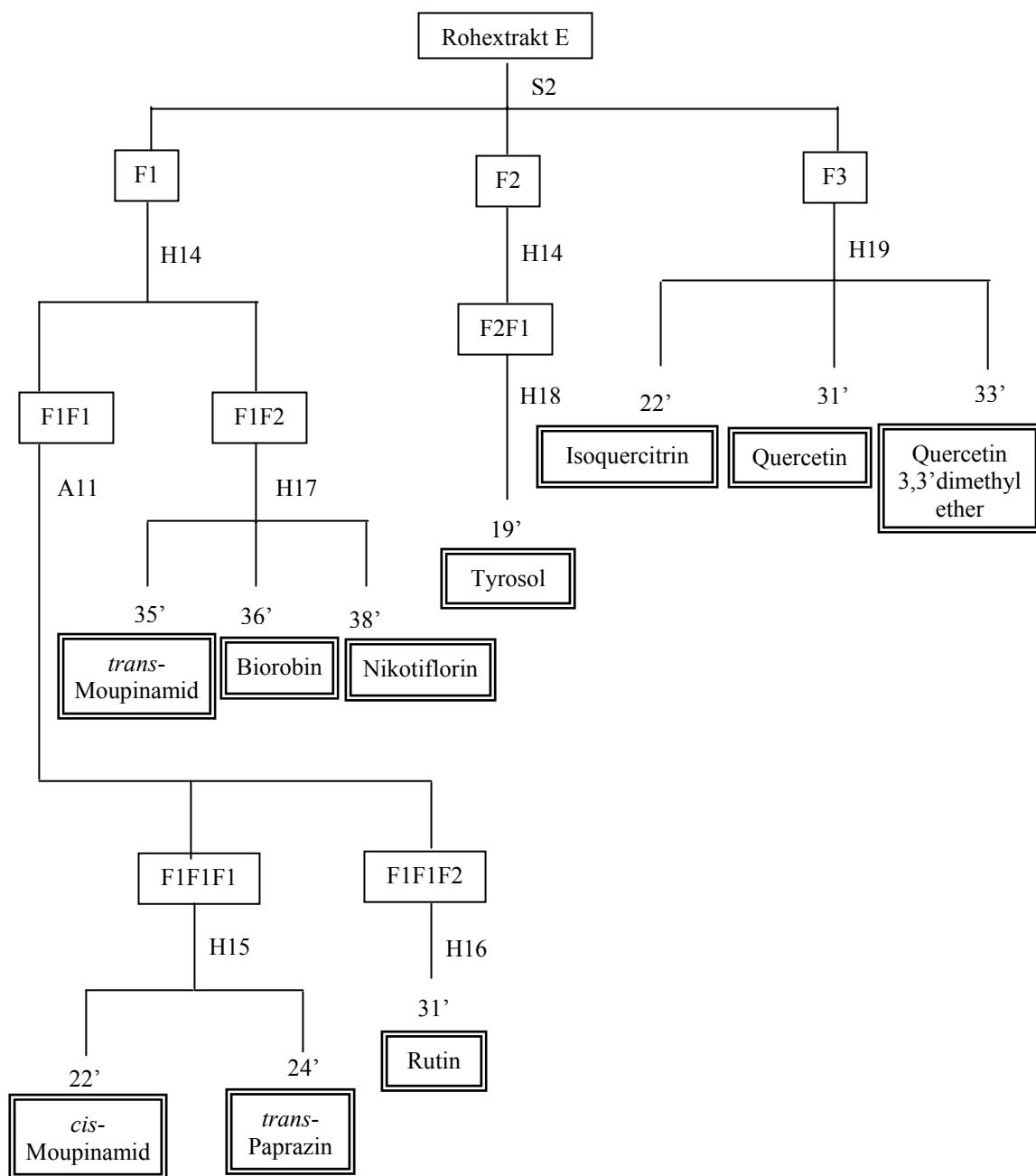
F1F1F2 wurde über System H16 auf HPLC gereinigt und nach einer Retentionszeit von 31' eluierte das Flavonoidglykosid **Rutin**.

F1F2 wurde über das System H17 auf HPLC getrennt und nach 35', 36' und 38' eluierten das phenolische Säureamid **trans-Moupinamid** und die Flavonoidglykoside **Biorobin** syn. Kämpferol-3-*O*-robinobiosid (Absorptionsmaxima: 264, 347 nm) und **Nikotiflorin**.

F2 wurde über System H14 mittels HPLC aufgetrennt und eine Fraktion F2F1 (eluiert von 9-11'; m = 30 mg) unter Verwendung von System H18 an der HPLC weiter aufgearbeitet. Nach einer Retentionszeit von 19' eluierte das Benzolderivat **Tyrosol** (Absorptionsmaxima: 224, 278 nm).

F3 wurde über die HPLC mit Hilfe von System H19 aufgetrennt. Nach Retentionszeiten von 22', 31' und 33' eluierten das Flavonoidglykosid **Isoquercitrin** syn. Quercetin-3-*O*-glukosid (Absorptionsmaxima: 257, 355 nm) und die Flavonoid-Aglyka **Quercetin** und **Quercetin-3-methylether**.

Aufreinigungsschema:



**Abb. 2.5:**

Aufreinigungsschema des Ethylacetat-Extraktes der Blattdroge (Extrakt E).

A: Trennung über Kieselgel, siehe 2.13.2

S: Trennung über Sephadex, siehe 2.13.1

H: Trennung über die HPLC, siehe 2.14

Einfach umrandet sind die weiterverarbeiteten Fraktionen; doppelt umrandet die erhaltenen Reinsubstanzen und unmittelbar darüber die Retentionszeit in Minuten nach Aufreinigung über die HPLC.

## 2.13 Offene Säulenchromatographie

### 2.13.1 Chromatographie an Sephadex LH-20

Lösungsmittel(gemische) wurden zunächst im Ultraschallbad entgast. Das Säulenmaterial wurde unter gelegentlichen vorsichtigen Schwenken der verschlossenen Flasche 12 Stunden bei Raumtemperatur in überschüssigen Lösungsmittel(gemisch) gequollen. Nach dem Gießen der stationären Phase wurde diese noch einen halben Tag stehengelassen, so dass sich das Gel vollständig absetzen konnte. Die Auftrennung der Fraktionen erfolgte isokratisch, wobei die stationäre Phase mit maximal 1 g Probe pro Durchlauf beladen wurde.

Nachfolgend werden die Trennungen an Sephadex LH-20 aufgelistet (**S**). Zahlen in Klammern beziehen sich stets auf die Volumenanteile der Lösungsmittel.

**S1:** m (Sephadex LH-20) = 100 g; Länge (Gelbett) = 47 cm

Laufmittel: Hexan-Dichlormethan-Aceton-Methanol (3/2/1/4)

Fraktionen zu je 6.5 ml gesammelt

**S2:** m (Sephadex LH-20) = 80 g; Länge (Gelbett) = 55 cm

Laufmittel: Methanol (100%)

Fraktionen zu je 6.5 ml gesammelt

### 2.13.2 Chromatographie an Kieselgel

Zunächst wurden die Lösungsmittelgemische im Ultraschallbad entgast. Die Säulen-chromatographie wurde in zwei Varianten durchgeführt als Flash-Chromatographie (Wasserstrahlpumpe) und offene (infolge Schwerkraft) Chromatographie.

Zur Trennung über Flash-Chromatographie wurde das trockene Kieselgel ( $\text{SiO}_2$ ) in die Vakumsäule gefüllt und mehrmals das zuerst zu verwendende Lösungsmittel(gemisch) durchgesaugt, bis ein homogener gleichmäßiger Lauf sichtbar erkenntlich ist. Die aufzutrennende Fraktion wurde in wenig Volumen eines optimalen, zweckmäßigerweise leicht flüchtigen Lösungsmittel(gemisch) gelöst, mit der doppelten Menge (in Bezug auf Trockengewicht der Fraktion) Kieselgel versetzt und über kontinuierliches Abdampfen des

Lösungsmittels am Rotationverdampfer das Substanzgemisch an das Kieselgel adsorbiert. Die adsorbierte Probe wurde gleichmäßig auf die Trennsäule aufgetragen und mit Laborwatte überschichtet.

Für die offene Säulenchromatographie wurde die 200-250 fache Menge Kieselgel im entsprechenden Lösungsmittel(gemisch) aufgeschlämmt und die Säule in möglichst *einem* Zug gegossen. Nach etwa einer Stunde hat sich das Gel vollständig abgesetzt und die Probe wurde in einem minimalen Volumen an Lösungsmittel aufgetragen. Nachfolgend sind die Trennungen an Kieselgel aufgelistet (A). Zahlen in Klammern beziehen sich auf die Volumenanteile der Lösungsmittel.

**A1:** Flash- Chromatographie, m ( $\text{SiO}_2$ ) = 70 g; Länge (Gelbett) = 21 cm;

Probe an 7 g  $\text{SiO}_2$  adsorbiert; Fraktionen zu je 200 ml eluiert;

Gradient: Hexan (100%) → Hexan- Dichlormethan (7/3) → (5/5) → (3/7) → Dichlormethan (100%) → Dichlormethan-Aceton (5/5) → Aceton (100%)

**A2:** m ( $\text{SiO}_2$ ) = 70 g; Länge (Gelbett) = 47 cm; Fraktionen zu je 6.5 ml gesammelt;

Gradient: Dichlormethan-Ethylacetat-Methanol (9/0.5/0.5; 400 ml) → (7/2/1; 220 ml)

**A3:** m ( $\text{SiO}_2$ ) = 30 g; Länge (Gelbett) = 26 cm; Fraktionen zu je 6.5 ml gesammelt;

Gradient: Dichlormethan-Ethylacetat (9/1; 530 ml) isokratisch

**A4:** m ( $\text{SiO}_2$ ) = 80 g; Länge (Gelbett) = 49 cm; Fraktionen zu je 6.5 ml gesammelt;

Gradient: Dichlormethan-Ethylacetat-Aceton (8/1/1; 1000 ml) → (4/5/1; 500 ml)

→ Ethylacetat-Aceton (9/1; 500 ml)

**A5:** m ( $\text{SiO}_2$ ) = 30 g; Länge (Gelbett) = 26 cm, Fraktionen zu je 3.6 ml gesammelt;

Gradient: Dichlormethan-Methanol (9/1; 300 ml) → (7/3; 200 ml)

**A6:** Flash-Chromatographie; m ( $\text{SiO}_2$ ) = 30 g; Länge (Gelbett) = 13 cm;

Probe in minimal Lösungsmittel aufgetragen; Fraktionen zu je 30 ml eluiert;

Gradient: Dichlormethan-Methanol (7/3) → (3/7)

**A7:** m ( $\text{SiO}_2$ ) = 80 g; Länge (Gelbett) = 50 cm; Fraktionen zu je 6.5 ml gesammelt;

Gradient: Dichlormethan-Methanol (9/1; 230 ml) → (8.5/1.5; 700 ml) → (7/3; 120 ml)

→ (5/5; 220 ml)

**A8:** m ( $\text{SiO}_2$ ) = 30 g; Länge (Gelbett) = 21 cm; Fraktionen zu je 3.6 ml gesammelt;

Gradient: Dichlormethan-Methanol (9/1; 220 ml) → (8/2; 140 ml) → Methanol (100 %; 180 ml)

**A9:** Flash-Chromatographie; m ( $\text{SiO}_2$ ) = 200 g; Länge (Gelbett) = 28 cm;

Probe an 40 g SiO<sub>2</sub> adsorbiert; Fraktionen zu je 300 ml eluiert;

Gradient: Dichlormethan (100 %) → Dichlormethan-Isopropanol (9/1) → (8/2) → (7/3)

→ (6/4) → (5/5) → (1/9)

**A10:** m (SiO<sub>2</sub>) = 150 g; Länge (Gelbett) = 100 cm; Fraktionen zu je 12 ml gesammelt;

Gradient: Dichlormethan-Ethylacetat (9,5/0.5; 1300 ml) → Dichlormethan-Ethylacetat-Methanol (9/0.5/0.5; 1200 ml) → (8.5/0.5/1; 480 ml) → (7/1/2; 240 ml) → (4/2/4; 170 ml)

→ Ethylacetat-Methanol (2/8; 260 ml)

**A11:** m (SiO<sub>2</sub>) = 60 g; Länge (Gelbett) = 40 cm; Fraktionen zu je 6.5 ml gesammelt;

Gradient: Dichlormethan-Methanol (9/1; 520 ml) → (8/2; 420 ml)

→ Dichlormethan-Methanol-Wasser (7/0.27/0.3; 700 ml)

### 2.13.3 Chromatographie an RP Material

Lösungsmittel(gemische) wurden im Ultraschallbad entgast. Die Säulenchromatographie wurde ausschließlich als Flash-Chromatographie (Wasserstrahlpumpe) durchgeführt. Säulenfüllmaterial (RP 18) wurde zuerst im zuerst zu verwendenden Lösungsmittel(gemisch) aufgeschlämmt und in *einem* Zug in eine Säule gegossen, deren grobe (!) Fritte mit Laborwatte abgedichtet wurde. Dasselbe Lösungsmittel(gemisch) wurde noch mehrmals durchgesaugt, um eine gleichmäßige homogene Säulenpackung zu gewährleisten. Das feinpulvrig Säulenmaterial eignet sich nicht zur Adsorption von Probengemisch (im Vergleich zu Kieselgel), daher wurde die jeweilige Fraktion im minimalen Volumen des ersten Laufmittels gelöst und mithilfe einer Glaspipette tropfenweise auf die Säule aufgetragen. Gering angelegtes Vakuum ließ die Probe an eine dünne Schicht Trennmaterial einziehen. Dann wurde die Säule mit Laborwatte abgedichtet.

Nachfolgend werden die Trennungen an RP 18 aufgelistet (**V**). Zahlen in Klammern beziehen sich auf die Volumenanteile der Lösungsmittel.

**V1:** m (RP 18) = 60 g; Länge (Gelbett) = 16 cm; Fraktionen zu je 50 ml eluiert;

Gradient: Wasser-Methanol (8/2) → (7/3) → (6/4) → (5/5) → (4/6) → (3/7) → (2/8) → (1/9)  
→ Methanol (100%) → Methanol-Acetonitril (8/2)

**V2:** m (RP 18) = 100 g; Länge (Gelbett) = 24 cm; Fraktionen zu je 100 ml eluiert;

Gradient: Wasser (100%) → Wasser- Methanol (9/1) → (8/2) → (7/3) → (6/4) → (5/5)

→ Methanol (100%) → Isopropanol (100%)

**V3:** m (RP 18) = 60 g; Länge (Gelbett) = 16 cm; Fraktionen zu je 60 ml eluiert;

Gradient: Wasser-Methanol (5/5) → (4/6) → (3/7) → (2/8) → (1/9) → Methanol (100 %)

## 2.14 HPLC

HPLC (High Performance Liquid Chromatographie) wurde mit Wasser als Komponente A und Methanol als Komponente B der mobilen Phase durchgeführt. Methanol wurde in HPLC-Qualität verwendet und Wasser über die Reinstwasseranlage (Millipore) filtriert. Vor Gebrauch wurden die Lösungsmittel entgast. Nachfolgend werden die Trennungen über HPLC aufgelistet (**H**). Angegeben sind jeweils die Volumenanteile der Lösungsmittelkomponente A (Wasser) und B (Methanol). Die Zahl in Klammern bezeichnet die Zeit (in Minuten), innerhalb der die neue Laufmittelzusammensetzung erreicht wird bzw. wie lange die mobile Phase isokratisch läuft. Die präparative Säule der Firma Knauer wurde mit einer Flussrate von 8 ml/min betrieben, die semipräparative Säule der Firma VARIAN mit 3 oder 4 ml/min. Nach jedem Lauf wurde die Säule mit Methanol gespült und dann wieder auf die Anfangsbedingungen äquilibriert.

**H1:** 80 B (30') → 100 B bei 8 ml/min

**H2:** 50 B (45') → 70 B bei 3 ml/min

**H3:** 85 B (30') → 95 B bei 8 ml/min

**H4:** 20 B (30') → 30 B bei 8 ml/min

**H5:** 50 B (20') → 50 B (15') → 100 B bei 8 ml/min

**H6:** 30 B (15') → 40 B (15') → 40 B (20') → 45 B bei 8 ml/min

**H7:** 30 B (45') → 100 B bei 3 ml/min

**H8:** 5 B (12') → 5 B (10') → 80 B bei 3 ml/min

**H9:** 20 B (35') → 65 B bei 8 ml/min

**H10:** 50 B isokratisch bei 8 ml/min

**H11:** 50 B (10') → 55 B (10') → 100 B bei 8 ml/min

**H12:** 30 B isokratisch bei 8 ml/min

**H13:** 40 B isokratisch bei 8 ml/min

**H14:** 50 B (30') → 100 B bei 8 ml/min

**H15:** 40 B (30') → 55 B bei 8 ml/min

**H16:** 35 B (45') → 60 B bei 8 ml/min

**H17:** 30 B (50') → 60 B bei 8 ml/min

**H18:** 20 B (40') → 30 B bei 8 ml/min

**H19:** 30 B (50') → 90 B bei 4 ml/min

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Zusammenstellung der isolierten Reinsubstanzen

Nachfolgend werden die gewonnenen Reinsubstanzen aus Stängeln und Blättern aufgelistet (Tab. 3.1). Die Massen der Substanzen wurden an der Analysenwaage bestimmt. Bis 10 mg wurde auf die erste Nachkommastelle gerundet und ab 10 mg auf eine ganze Zahl.

**Tab. 3.1:**

Zusammenstellung der isolierten Reinsubstanzen aus Stängeln und Blättern. Pulvrige Substanzen wurden direkt an der Analysenwaage abgewogen, die Masse öiger Substanzen (Isololiolid und Dehydrovomifoliol) wurden über Rückwiegen eines zuvor austarierten Gläschens bestimmt. Ab einer Masse von 10 mg wurde auf eine ganze Zahl gerundet

Substanz	Ausbeute	
	Stängel	Blätter
Quercetin ( <b>1</b> )	1.6 mg	2.2 mg
Quercetin-3-methylether ( <b>2</b> )	4.3 mg	3.0 mg
Quercetin-3,3'-dimethylether ( <b>3</b> )	2.2 mg	-
Isoquercitrin ( <b>4</b> )	-	1.2 mg
Rutin ( <b>5</b> )	363 mg	107 mg
Baimasid ( <b>6</b> )	8.9 mg	-
Nikotiflorin ( <b>7</b> )	7.0 mg	14 mg
Biorobin ( <b>8</b> )	-	11 mg
Scopoletin ( <b>9</b> )	1.3 mg	3.5 mg
Scopolin ( <b>10</b> )	2.0 mg	-
Loliolid ( <b>11</b> )	-	20 mg
Isololiolid ( <b>12</b> )	-	2.3 mg
Dehydrovomifoliol ( <b>13</b> )	-	1.4 mg
<i>trans</i> -Paprazin ( <b>14</b> )	8.7 mg	1.5 mg
<i>trans</i> -Moupinamid ( <b>15</b> )	15 mg	8.9 mg
<i>cis</i> -Moupinamid ( <b>16</b> )	2.2 mg	3.1 mg
<i>cis/trans</i> -N-Feruloyloctopamin ( <b>17/18</b> )	2.0 mg	-
Tyrosol ( <b>19</b> )	-	2.1 mg

## 3.2 Dünnschichtchromatographie

### 3.2.1 Laufverhalten

Die Chromatographie zur Bestimmung der  $R_f$ -Werte wurde in Doppeltrogkammern durchgeführt bei Kammersättigung (mit Laufmittel durchtränktes Filterpapier an einer Wandseite der Kammer anlegen). Die Trennstrecke betrug stets 7 cm. Die Lösungsmittel wurden ausschließlich in p.A.-Qualität verwendet.

Tabelle 3.2 beinhaltet die  $R_f$ -Werte der isolierten Reinsubstanzen bei zwei verschiedenen Laufmittelgemischen.

Nachfolgend werden die Laufmittel aufgelistet (**L**). Zahlen in Klammern beziehen sich auf die Volumenanteile der Lösungsmittel.

**L1:** Hexan-Ethylacetat (4/6)

**L2:** Hexan-Aceton (5/5)

**L3:** Hexan-Aceton (4/6)

**L4:** Hexan-Aceton (3/7)

**L5:** Dichlormethan-Methanol (9.5/0.5)

**L6:** Dichlormethan-Methanol (9/1)

**L7:** Dichlormethan-Methanol (8.5/1.5)

**L8:** Dichlormethan-Methanol (8/2)

**L9:** Dichlormethan-Methanol-Wasser (7.0/2.7/0.3)

**L10:** Ethylacetat-Methanol (8/2)

**L11:** Ethylacetat-Ethylmethylketon-Ameisensäure-Wasser (5/3/1/1)

**L12:** Ethylacetat-Ameisensäure-Wasser (6.5/1.5/2.0)

**L13:** Ethylacetat-Ameisensäure-Wasser (9.8/0.1/0.1)

**Tab.3.2:**

$R_f$ - Werte der isolierten Reinsubstanzen bei zwei verschiedenen Laufmittelgemischen (LM)

Substanz	LM und $R_f$	LM und $R_f$	Substanz	LM und $R_f$	LM und $R_f$
<b>1</b>	L8: 0.35	L13: 0.62	<b>11</b>	L6: 0.33	L2: 0.53
<b>2</b>	L6: 0.24	L13: 0.65	<b>12</b>	L6: 0.31	L2: 0.57
<b>3</b>	L6: 0.53	L13: 0.80	<b>13</b>	L6: 0.44	L2: 0.67
<b>4</b>	L11: 0.68	L12: 0.77	<b>14</b>	L4: 0.67	L7: 0.67
<b>5</b>	L11: 0.35	L12: 0.49	<b>15</b>	L4: 0.62	L7: 0.68
<b>6</b>	L11: 0.29	L12: 0.32	<b>16</b>	L4: 0.68	L7: 0.71
<b>7</b>	L9: 0.43	L11: 0.50	<b>17/18</b>	L4: 0.50	L7: 0.68
<b>8</b>	L9: 0.43	L11: 0.45	<b>19</b>	L8: 0.44	L10: 0.48
<b>9</b>	L5: 0.57	L1: 0.39			
<b>10</b>	L9: 0.74	L12: 0.44			

### 3.2.2 Detektion

Nach Abdunsten der Laufmittel und Fönen der Chromatogramme im Warmluftstrom wurden sowohl physikalische (UV-Licht; Analysenquarzlampe) als auch chemische Methoden (Derivatisierungsreagenzien) benutzt, um Substanzen zu detektieren bzw. Aussagen zu Strukturmerkmalen einer Stoffklasse zu treffen.

Tabelle 3.3 listet das Detektionsverhalten der gewonnenen Reinsubstanzen auf (siehe auch Kapitel 2.9: Herstellung und Handhabung der Sprühreagenzien).

Unter kurzwelligem UV-Licht löschen (quenschen) nicht nur fast alle aromatischen Substanzen, sondern auch solche die Carbonylstrukturen mit konjugierten Doppelbindungen enthalten die Fluoreszenz des in die Kieselgelschicht eingearbeiteten Fluoreszenzindikators. Aromatische Systeme zeigen im langwelligen UV-Licht eine blaue Fluoreszenz. Auffallend intensiv fluoreszierten die Cumarine Scopoletin und Scopolin, während die Fluoreszenz bei den Flavonolen vergleichsweise schwach ausgeprägt ist.

Anisaldehyd färbt viele Naturstoffe und erlaubt Farbdifferenzierungen nach Stoffklassen bzw. speziellen Strukturmerkmalen. Steroide, so z. B. auch Phytosterole (z. B. Sitosterole) ergeben unter Verwendung des oben genannten Sprühreagenzes eine königsblaue Färbung. Flavonoide werden nicht angefärbt. Ansonsten gibt die Literatur lediglich spezielle Färbeergebnisse einzelner Substanzen an.

Für die Detektion der Flavonoide steht das Naturstoffreagenz zur Verfügung, das bereits Hinweise auf Strukturmerkmale geben kann. Die Flavonole mit freien ortho-ständigen Hydroxygruppen im B-Ring (hier: Quercetin und Quercetin-3-methylether) fluoreszieren orange und solche mit nur einer Hydroxygruppe (hier: Kämpferolderivate) gelb. Behandlung mit Polyethylenglykol steigert die Intensität der Fluoreszenz sowie die Nachweisgrenze ohne Einfluß auf die Farbe zu haben.

Das Dragendorff-Reagenz färbt Alkaloide und stickstoffhaltige heterozyklische Verbindungen braunrot an. Die phenolischen Säureamide konnten mit Dragendorff nicht detektiert werden. Möglicherweise ist dies darin begründet, dass die Säureamide eher neutrale Verbindungen sind und somit eine klassische Alkaloideigenschaft (die Basizität) nicht aufweisen. Darüber hinaus liegt der Stickstoff nicht heterozyklisch gebunden vor.

**Tab. 3.3:**

Detektion der isolierten Reinsubstanzen nach Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel unter UV-Licht und nachfolgender Derivatisierung mit den Sprühreagenzien Anisaldehyd (AA), Naturstoffreagenz (NP/PEG) und Dragendorff (DD).

pos.: positives Ergebnis der Detektion

neg.: kein Ergebnis

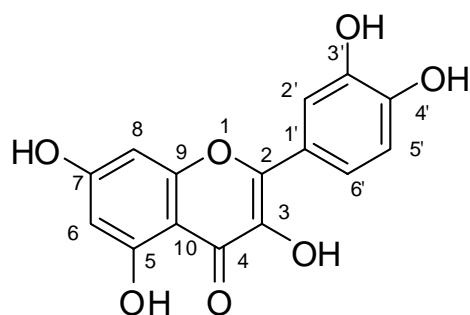
n.d.: Färbung nicht durchgeführt

Substanz	UV <sub>254</sub>	UV <sub>366</sub>	AA	NP/PEG	DD
<b>1</b>	pos.	blau	neg.	orange	n.d.
<b>2</b>	pos.	blau	gelb	orange	n.d.
<b>3</b>	pos.	blau	gelb	gelb	n.d.
<b>4</b>	pos.	dunkel	neg.	orange	n.d.
<b>5</b>	pos.	dunkel	neg.	orange	n.d.
<b>6</b>	pos.	dunkel	neg.	orange	n.d.
<b>7</b>	pos.	dunkel	neg.	gelb	n.d.
<b>8</b>	pos.	dunkel	neg.	gelb	n.d.
<b>9</b>	neg.	blau	neg.	neg.	neg.
<b>10</b>	neg.	blau	neg.	neg.	neg.
<b>11</b>	pos.	neg.	pink	neg.	n.d.
<b>12</b>	pos.	neg.	pink	neg.	n.d.
<b>13</b>	pos.	neg.	pink	neg.	n.d.
<b>14</b>	pos.	blau	neg.	neg.	neg.
<b>15</b>	pos.	blau	neg.	neg.	neg.
<b>16</b>	pos.	blau	neg.	neg.	neg.
<b>17/18</b>	pos.	blau	neg.	neg.	neg.
<b>19</b>	neg.	blau	neg.	neg.	n.d.

### 3.3 Strukturaufklärung der Reinsubstanzen

#### 3.3.1 Flavonoide

##### 3.3.1.1 Quercetin (**1**)



Summenformel:  $C_{15} H_{10} O_7$

Molare Masse: 302 g/mol

Beschaffenheit: gelbes Pulver

EI-MS,  $m/z$  (relative Intensität %), 70 eV:  $302 [M]^+$  (100), 285 (4), 273 (10), 257 (6), 245 (8), 228 (12), 200 (6), 169 (9), 153 (12), 137 (15), 128 (10), 109 (8), 83 (8), 73 (11), 69 (18), 55 (13), 44 (32)

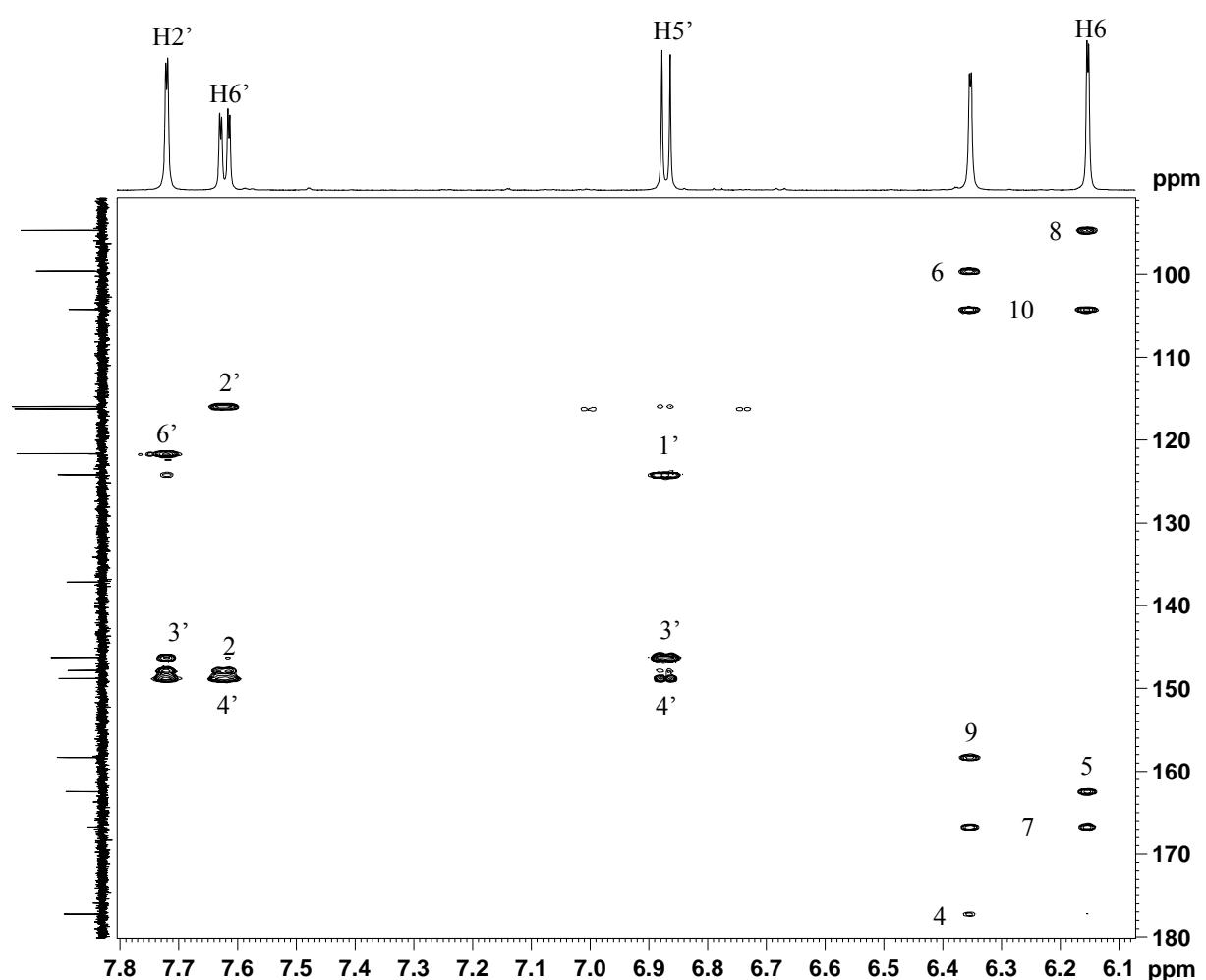
Die chemischen Verschiebungen für die Kerne  $^1H$  und  $^{13}C$  zeigt Tabelle 3.4. Die C-H-Einfachbindungen wurden über das HSQC-Spektrum zugeordnet. Die chemischen Verschiebungen für die quartären Kohlenstoffe mit Ausnahme von C-3 wurden indirekt aus dem HMBC-Spektrum ermittelt (Abb. 3.1). Die ermittelten Daten sind mit den in der Literatur für Quercetin publizierten Werten identisch [79].

**Tab. 3.4:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von Quercetin in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K.  
Vergleichsdaten bei [79]

<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	$J$ (Hz)	M	<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	$J$ (Hz)	M
6	6.14	2.0	d	2'	7.71	2.1	d
8	6.34	2.0	d	5'	6.87	8.5	d
				6'	7.62	2.1; 8.5	dd

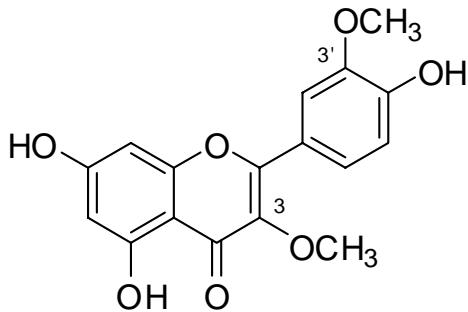
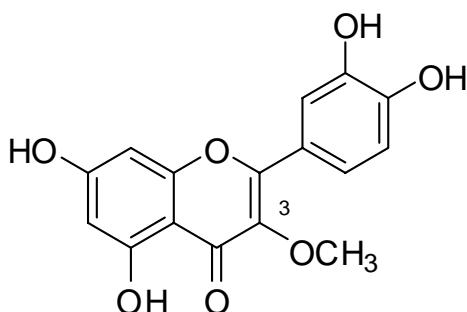
<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
2	147.81	7	166.70	1'	124.17
3	137.15	8	94.66	2'	115.93
4	177.22	9	158.33	3'	146.25
5	162.45	10	104.20	4'	148.80
6	99.62			5'	116.24
				6'	121.63



**Abb. 3.1:**

HMBC-Spektrum von Quercetin (**1**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Gesamtansicht. Die Zahlen entsprechen den Positionen des Kohlenstoffs im Molekül

### 3.3.1.2 Quercetin-3-methylether (**2**) und Quercetin-3,3'-dimethylether (**3**)



**Substanz 2:**

Summenformel: C<sub>15</sub> H<sub>12</sub> O<sub>7</sub>  
Molare Masse: 316 g/mol  
Beschaffenheit: gelbes Pulver

**Substanz 3:**

Summenformel: C<sub>16</sub> H<sub>14</sub> O<sub>7</sub>  
Molare Masse: 330 g/mol  
Beschaffenheit: gelbes Pulver

Substanz **2**: ESI-MS (MeOH + 10 mM NH<sub>4</sub>OAc), *m/z* (relative Intensität %): 315 (M - H<sup>+</sup>)<sup>-</sup> (100)

Substanz **3**: EI-MS, *m/z* (relative Intensität %), 70 eV: 330 [M]<sup>+</sup> (100); 315 (39); 287 (46), 269 (6), 244 (13), 217 (6), 187 (4), 161 (7), 151 (28), 135 (13), 108 (13), 92 (6), 77 (10), 69 (20)

Massendifferenzen von 15 amu (330→315) bzw. 28 (315→287) zeigen die Abspaltung einer Methylgruppe (CH<sub>3</sub>) bzw. Kohlenmonoxid (CO) an.

Die chemischen Verschiebungen für die Kerne <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C zeigt Tabelle 3.5.

Die eindimensionalen <sup>1</sup>H-Spektren zeigen neben den typischen Signalen für Quercetin ein bzw. zwei scharfe Singulets bei 3.77 ppm (**2**) bzw. 3.78 und 3.93 ppm (**3**), die für je drei Protonen integrieren. Die chemische Verschiebung der zugehörigen Kohlenstoffe, ermittelt über das HSQC, lagen bei 60.52 ppm (**2**) bzw. 55.03 und 59.11 ppm (**3**) und lieferten eindeutig den Hinweis auf eine bzw. zwei inäquivalente Methoxygruppen im C-Ring bzw. in beiden Ringen C und B [80]. Die vorliegenden NMR Daten für die beiden Flavonoide **2** und **3** sind mit denen aus der Literatur identisch [80].

Die Zuordnung der Methoxygruppen erfolgte über NOESY- und HMBC-Experimente (Abbildungen 3.2 und 3.3). Substanz **2** wurde eindeutig als Quercetin-3-methylether identifiziert über die Korrelation der Methoxygruppe mit C-3 des Quercetins. Des Weiteren ist

im NOESY die räumliche Nähe zu H-2' und H-6' erkennbar, die aus der freien Rotation des B-Rings um die Achse C-2/C-1' resultiert. Die dipolare Kopplung zwischen H-5' und H-6' ist offensichtlich (ohne Abbildung).

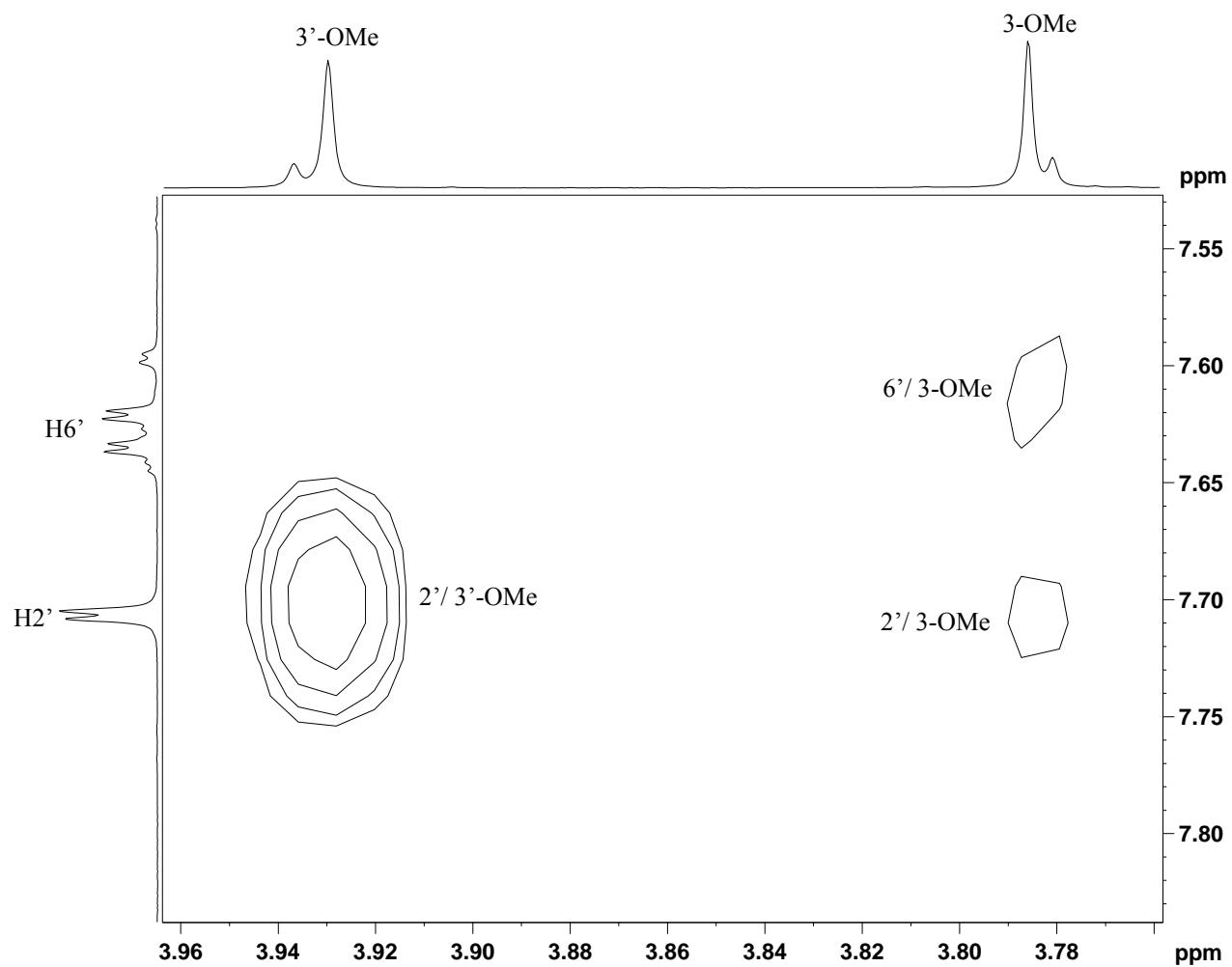
Für Substanz **3** ergab sich analog die Struktur Quercetin-3,3'-dimethylether. Über das HMBC-Experiment ließ sich die zusätzliche Methoxylierung an C-3' festlegen. Belegt wird die Position der zusätzlichen Methoxygruppe durch einen NOE, welcher die räumliche Nähe zu H-2' bestätigt.

**Tab. 3.5:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von Quercetin-3-methylether (**2**) und Quercetin-3,3'-dimethylether (**3**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 300 K. Vergleichsdaten bei [80]

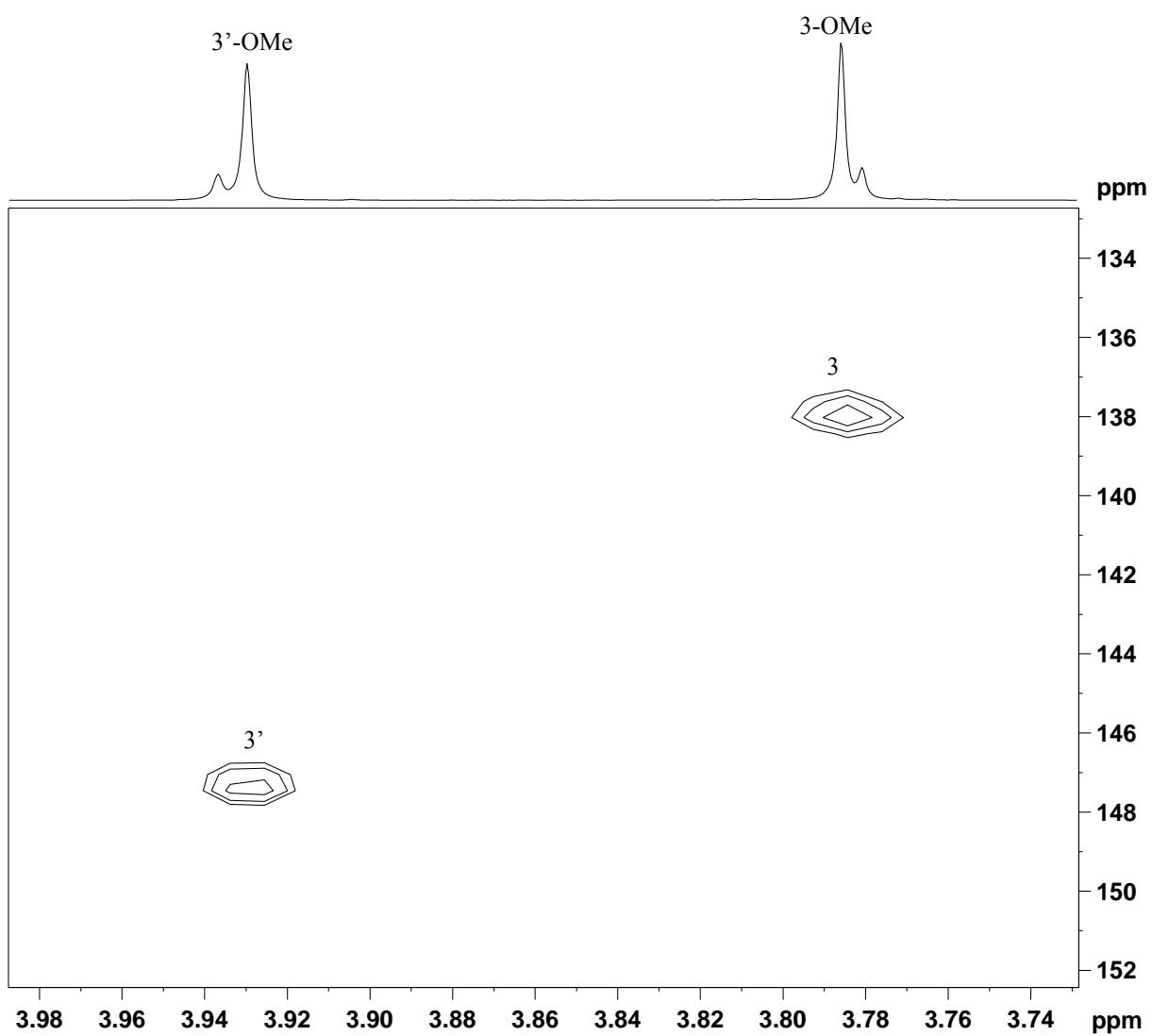
Substanz <b>2</b>				Substanz <b>3</b>			
<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M	<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M
6	6.19	2.1	d	6	6.18	2.0	d
8	6.39	2.1	d	8	6.38	2.0	d
2'	7.61	2.2	d	2'	7.71	2.2	d
5'	6.89	8.5	d	5'	6.93	8.6	d
6'	7.52	8.5; 2.2	dd	6'	7.63	2.2; 8.6	dd
3-OMe	3.77	-	s	3-OMe	3.78	-	s
				3'-OMe	3.93	-	s

Substanz <b>2</b>				Substanz <b>3</b>			
<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
2	158.45	1'	122.92	2	156.09	1'	121.33
3	139.55	2'	116.47	3	138.01	2'	111.25
4	180.02	3'	146.49	4	178.20	3'	147.40
5	163.10	4'	149.98	5	161.43	4'	149.50
6	99.77	5'	116.43	6	98.52	5'	115.89
7	166.00	6'	122.31	7	165.33	6'	122.18
8	94.72	3-OMe	60.52	8	93.50	3-OMe	59.11
9	158.02			9	157.98	3'-OMe	55.03
10	105.82			10	104.00		



**Abb. 3.2:**

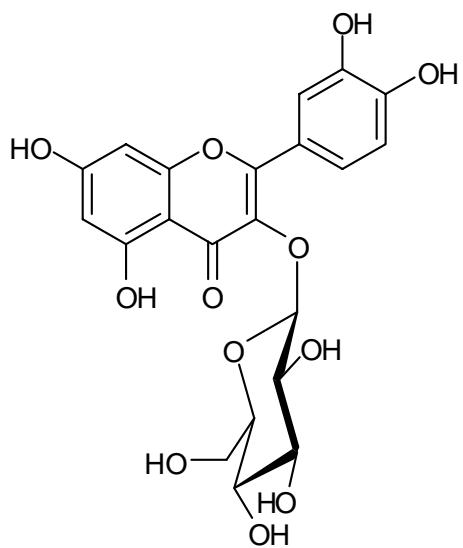
NOESY-Spektrum von Quercetin-3,3'-dimethylether (**3**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 300 K. Vergrößerte Darstellung. Räumliche Nähe von 3'-OMe zu H-2' und 3-OMe zu H-2' und H-6' aufgrund freier Rotation um die Achse C-2/C-1'



**Abb. 3.3:**

HMBC-Spektrum von Quercetin-3,3'-dimethylether (**3**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 300 K. Vergrößerte Darstellung. Position der Methoxygruppen an C-3 und C-3' des Aglykons

### 3.3.1.3 Isoquercitrin (4)



Summenformel:  $C_{21} H_{20} O_{12}$

Molare Masse: 464 g/mol

Beschaffenheit: hellgelbes Pulver

Die chemischen Verschiebungen für die Kerne  $^1H$  und  $^{13}C$  zeigt Tabelle 3.6.

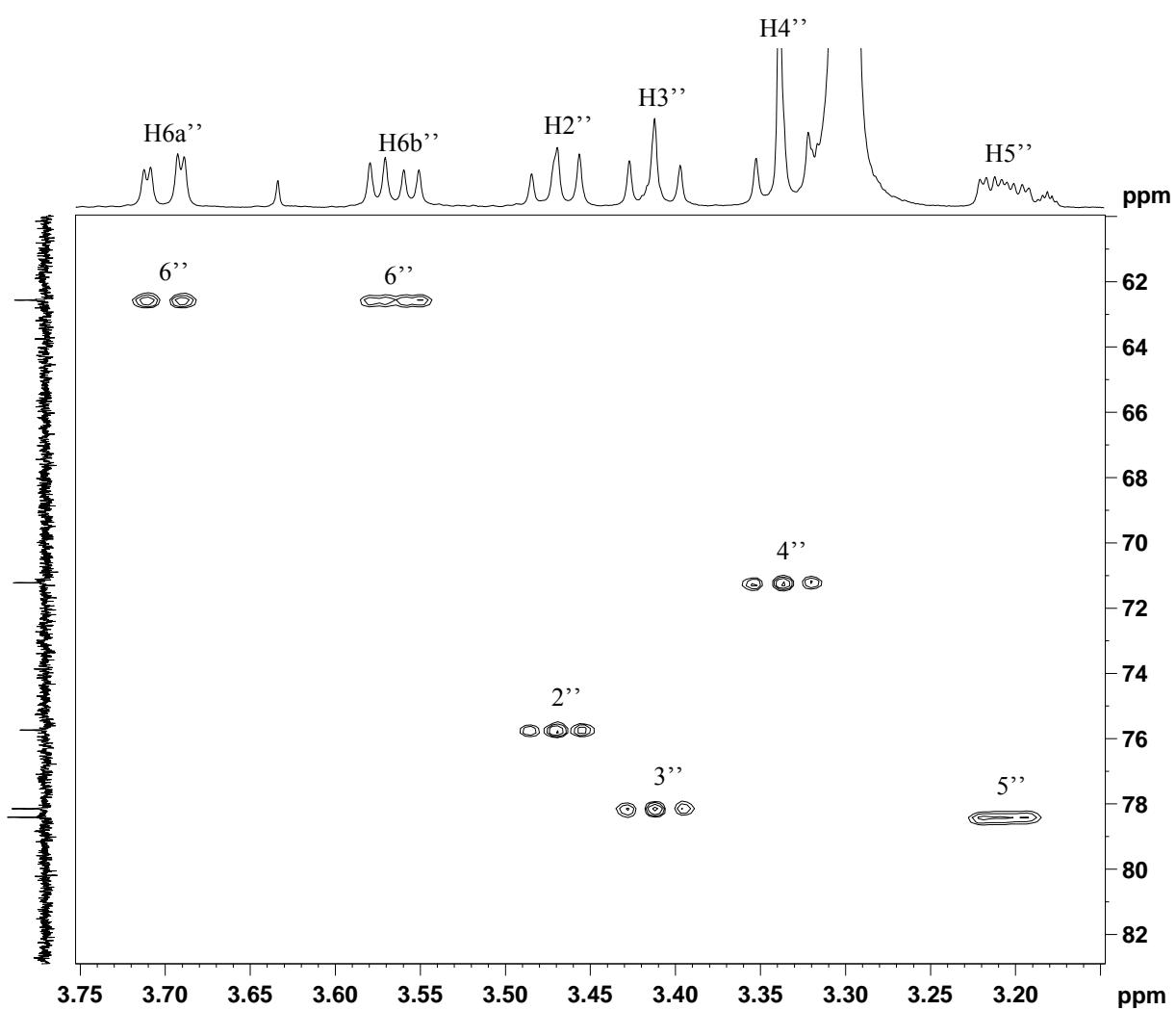
Das eindimensionale  $^1H$ -Spektrum belegt das Vorliegen eines Monoglykosids des Quercetin. Die Protonen des Zuckers liegen typischer weise im Bereich zwischen 3.3 und 3.9 ppm.  $H-1''$  des anomereren Kohlenstoffs  $C-1''$  liegt zu tiefem Feld verschoben bei etwa 5.2 ppm und wird von  $H2''$  zum Dublett aufgespalten. Die Protonen der Hexose konnten über das HSQC-Spektrum dem jeweils entsprechenden Kohlenstoff zugeordnet werden (Abbildung 3.4). Mithilfe des COSY-Experiments (Abbildung 3.5) sowie den berechneten Kopplungskonstanten (Tabelle 3.6) konnte die Zuordnung belegt werden. Anhand der großen Kopplungskonstanten konnten die axialen Plätze der Protonen bestimmt und der Zucker als Glucose identifiziert werden. Die Position der Glucose an  $C-3$  des Quercetins wurde über das HMBC ermittelt (analog Substanz **2** und **3**). Die ermittelten Daten stimmen mit den Werten der Literatur überein [79].

**Tab. 3.6:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von Isoquercitrin (**4**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K.  
Vergleichsdaten bei [79]

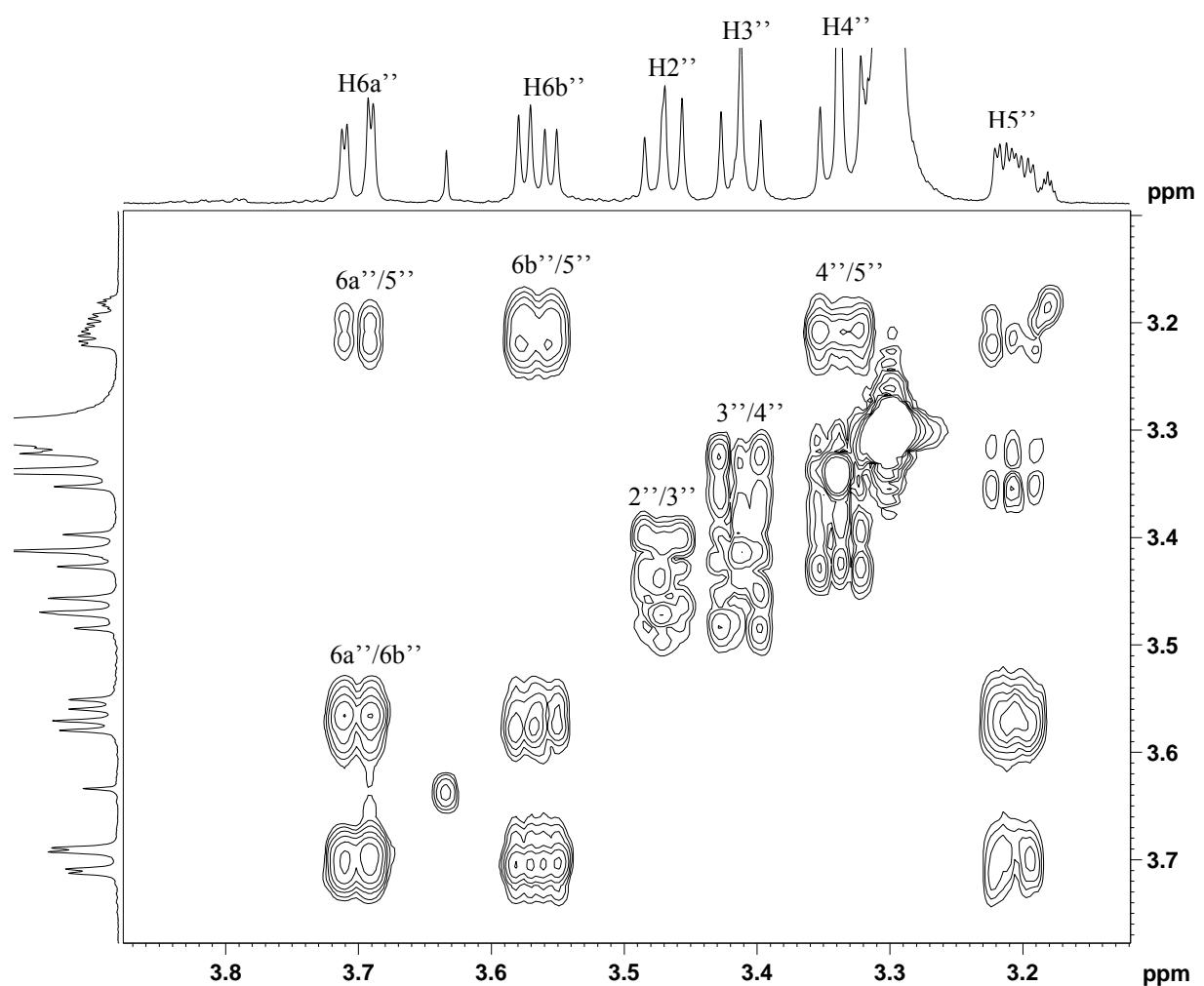
<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	$J$ (Hz)	M	<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	$J$ (Hz)	M
6	6.18	1.9	d	1''	5.22	7.7	d
8	6.36	1.9	d	2''	3.47	7.8; 8.9	dd
2'	7.69	2.1	d	3''	3.41	9.0	t
5'	6.85	8.5	d	4''	3.33	9.0	t
6'	7.57	2.1; 8.5	dd	5''	3.21	2.4; 5.3; 9.0	ddd
				6a''	3.70	2.4; 11.9	dd
				6b''	3.56	5.3; 11.9	dd

<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
2	158.85	1'	123.16	1''	104.41
3	135.62	2'	117.50	2''	75.73
4	179.30	3'	149.59	3''	78.14
5	163.05	4'	145.95	4''	71.22
6	100.30	5'	116.00	5''	78.40
7	167.25	6'	123.18	6''	62.55
8	94.98				
9	158.59				
10	105.35				



**Abb. 3.4:**

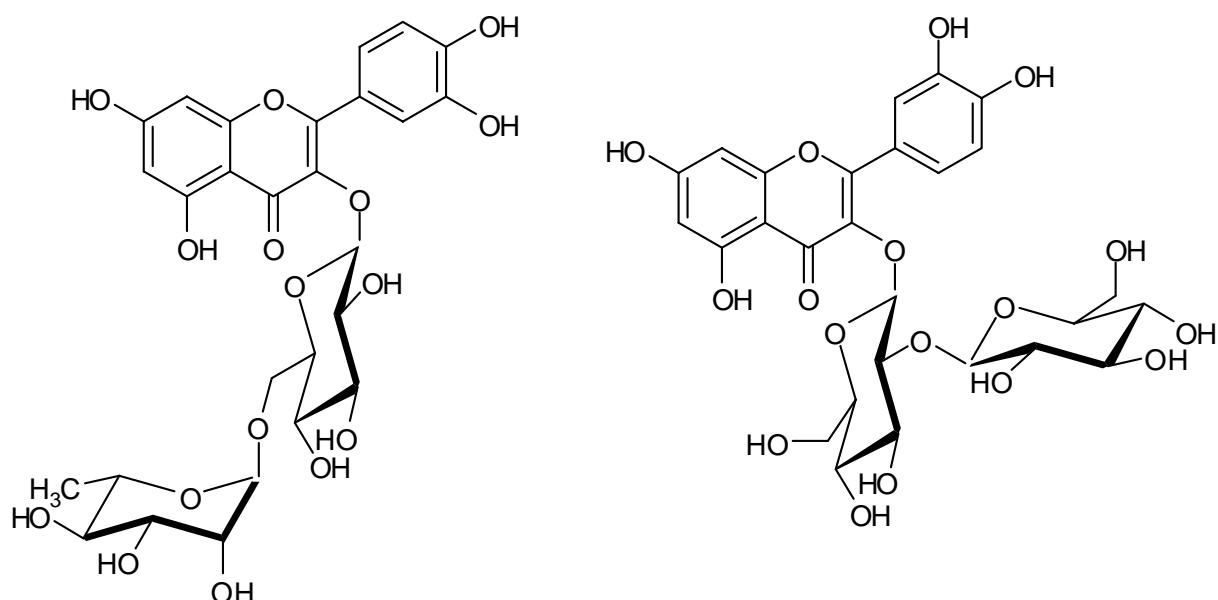
HSQC-Spektrum von Isoquercitrin (**4**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Zuordnung der C-H-Einfachbindungen im Bereich des Zuckers (ohne C-1''/H-1''). Die Zahlen entsprechen der Bezeichnung des Kohlenstoffs im Molekül



**Abb. 3.5:**

COSY-Spektrum von Isoquercitrin (**4**) in Methanol- $d_4$  bei 600 MHz (Kryo) und  $T = 298 \text{ K}$ . Vergrößerte Darstellung. Festlegung der Positionen im Molekül, ausgehend von H-6''. Die Zahlen bezeichnen die skalaren Kopplungen zwischen Protonen im Molekül

### 3.3.1.4 Rutin (**5**) und Baimasid (**6**)



**Substanz 5:** Rutin

Summenformel:  $C_{27} H_{30} O_{16}$

Molare Masse: 610 g/mol

Beschaffenheit: hellgelbes Pulver

**Substanz 6:** Baimasid

Summenformel:  $C_{27} H_{30} O_{17}$

Molare Masse: 626 g/mol

Beschaffenheit: dunkelgelbe Nadeln

**Substanz 5:** ESI-MS, Dichlormethan/Methanol + 10mM NH<sub>4</sub>OAc, *m/z* (relative Intensität %): 609 [M-H<sup>+</sup>]<sup>-</sup> (100), 463 (5)

Die Massendifferenz von 146 amu zeigt die Abspaltung einer Desoxyhexose an.

**Substanz 6:** ESI-MS, *m/z* (relative Intensität): 625 [M-H<sup>+</sup>]<sup>-</sup> (100), 300 (4)

Die chemischen Verschiebungen für die Kerne <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C zeigen Tabelle 3.7.

Beide Strukturen tragen das Grundgerüst des Quercetin und zwei Zucker, insbesondere erkenntlich an den Signalen der anomeren Protonen H-1'' und H-1''' und deren Aufspaltung in ein Dublett durch H-2'' bzw. H-2''' sowie über das <sup>13</sup>C-Spektrum. Die Zuordnung der Protonen zu ihren Kohlenstoffen wurde über das HSQC-Spektrum durchgeführt (Abb. 3.6, Substanz **5**) und über das HMBC bestätigt.

Für Substanz **5** wurde das Disaccharid als Rutinose identifiziert: Diagnostisch für Glucose sind die großen Kopplungskonstanten der Protonen in Kombination mit den <sup>13</sup>C-Shifts, während die Rhamnose aufgrund der Methylgruppe bei 1.11 ppm, die von H-5'' zum Dublett

aufgespalten wird, gut identifiziert werden kann. Die axialen bzw. äquatorialen Positionen der Protonen in der Rhamnose wurden anhand der Kopplungskonstanten bestätigt.

Für H-4''' und H-5''' sind überlagerte Signale zu erkennen, so dass die Kopplungskonstanten nicht explizit berechnet werden konnten. Die axiale Orientierung von H-4''' ergibt sich aus der zweiten großen Kopplungskonstanten ( $J = 9.5$  Hz) von H-3'''. Über ein ROESY Experiment wurde zusätzlich die räumliche Nähe der Protonen H-2''', H-3''' und H-5''' zu H-1''' bestätigt. Mithilfe des HMBC wurde die Verknüpfung von C-1'' über C-3 bestimmt und die 1→6-Verknüpfung der beiden Zucker über die Korrelation von H-1''' zu C-6''.

Das Disaccharid in Substanz **6** wurde als Sophorose identifiziert. Die C-H-Einfachbindungen wurden analog über das HSQC bestimmt (Abb. 3.7). Ausgehend von H-1'' konnten über eine Kombination von COSY und HMBC alle Kohlenstoffe und Protonen im ersten Zucker bestimmt und zugeordnet werden. Dies ermöglichte in Kombination mit den großen Kopplungskonstanten die Identifizierung dieses Zuckers als Glucose, die an C-3 des Quercetin gebunden vorliegt. Für die Aufklärung des zweiten Zuckers ergaben sich Schwierigkeiten in der Strukturaufklärung, da hier im HSQC das Signal für die C-H-Korrelation in Position 4''' fehlte und die Signale für H-2''', H-3''' und H-5''' zu sehr überlappten, so dass keine Kopplungskonstanten berechnet werden konnten. Allgemein ist die Auflösung des gesamten Spektrums schlechter, wie bereits an der Aufspaltung der Signale im Aglykon erkennbar ist: Die Signale für H-6 und H-8, die in ein Dublett mit kleiner Kopplungskonstante aufgespalten sein sollten, fallen als Singulets zusammen. Analoges gilt für die aromatischen Protonen im B-Ring. Vermutlich ist Verbindung **6** auch nicht stabil, da sie sich auch in gefriergetrockneten Zustand und bei kühler dunkler Lagerung von gelb nach hellgrün bis dunkelgrün verfärbte und die Auflösung der Signale im  $^1\text{H}$ -Spektrum bei wiederholter Messung schlechter ausfiel. An Hand der Shiftwerte aus den  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Spektren kann jedoch für den zweiten Zucker Glucose anhand von Vergleichsdaten aus der Literatur postuliert werden, so dass es sich um Baimasid handeln muß [81].

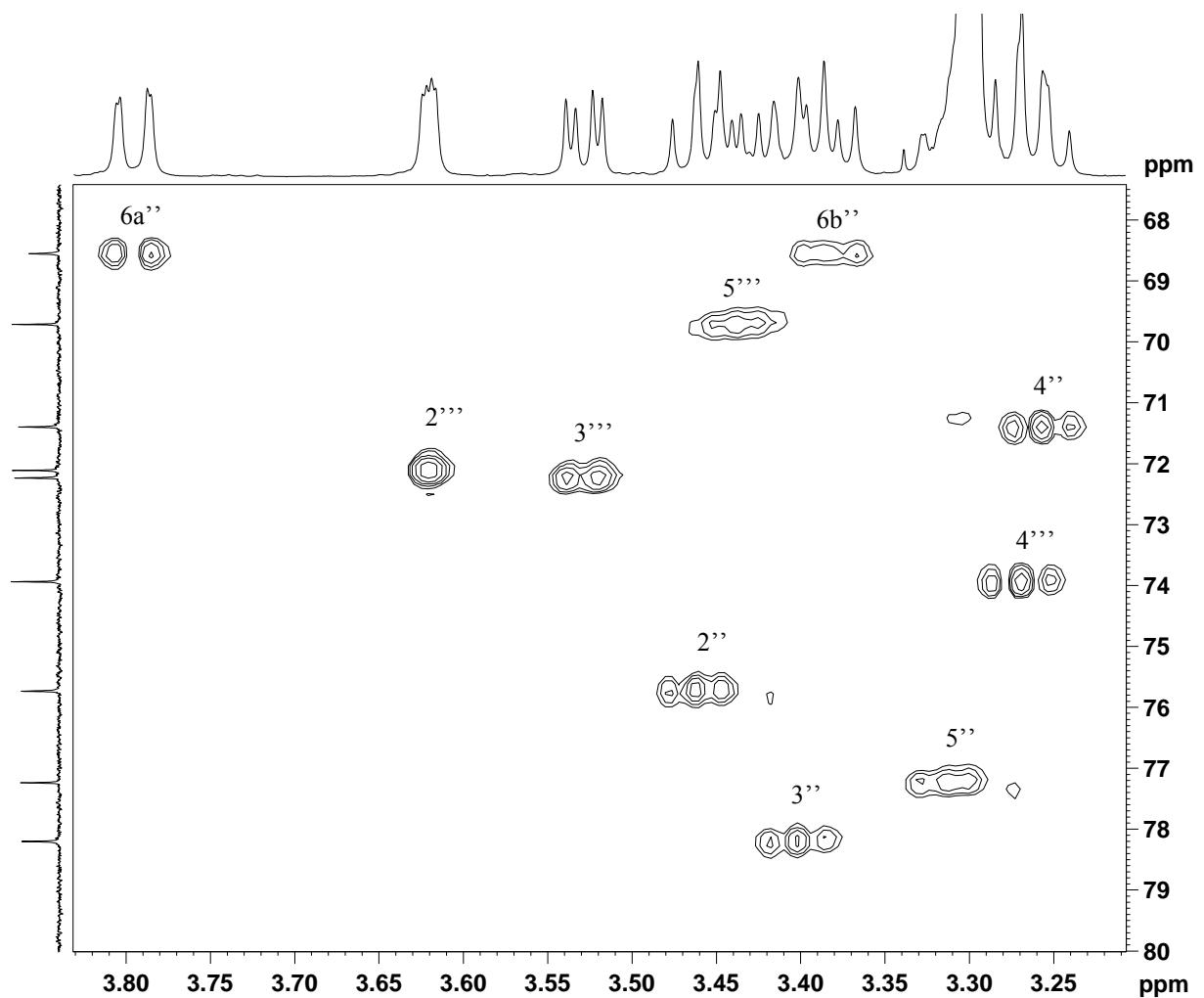
Sicher ist bei **6** die 1→2-Verknüpfung der beiden Zucker aufgrund der Korrelation von H-1''' mit C-2'' im HMBC-Spektrum. Dies belegen auch die chemischen Verschiebungen des Kohlenstoffs an entsprechenden Stellen: C-2'' ist durch die Verknüpfung mit der zweiten Glucose zu deutlich tieferem Feld (82.92 ppm) verschoben und aufgrund der freien Hydroxygruppe an C-6'' (und C-6''') kommt C-6'' (und C-6''') nicht verschoben (62.33 ppm) zur Resonanz.

**Tab. 3.7:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von Rutin (**5**) und Baimasid (**6**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K. n.b.: Daten nicht bestimmt wegen Signalüberlappung, m\* = Multiplet, überlappt. Vergleichsdaten bei [79], [81]

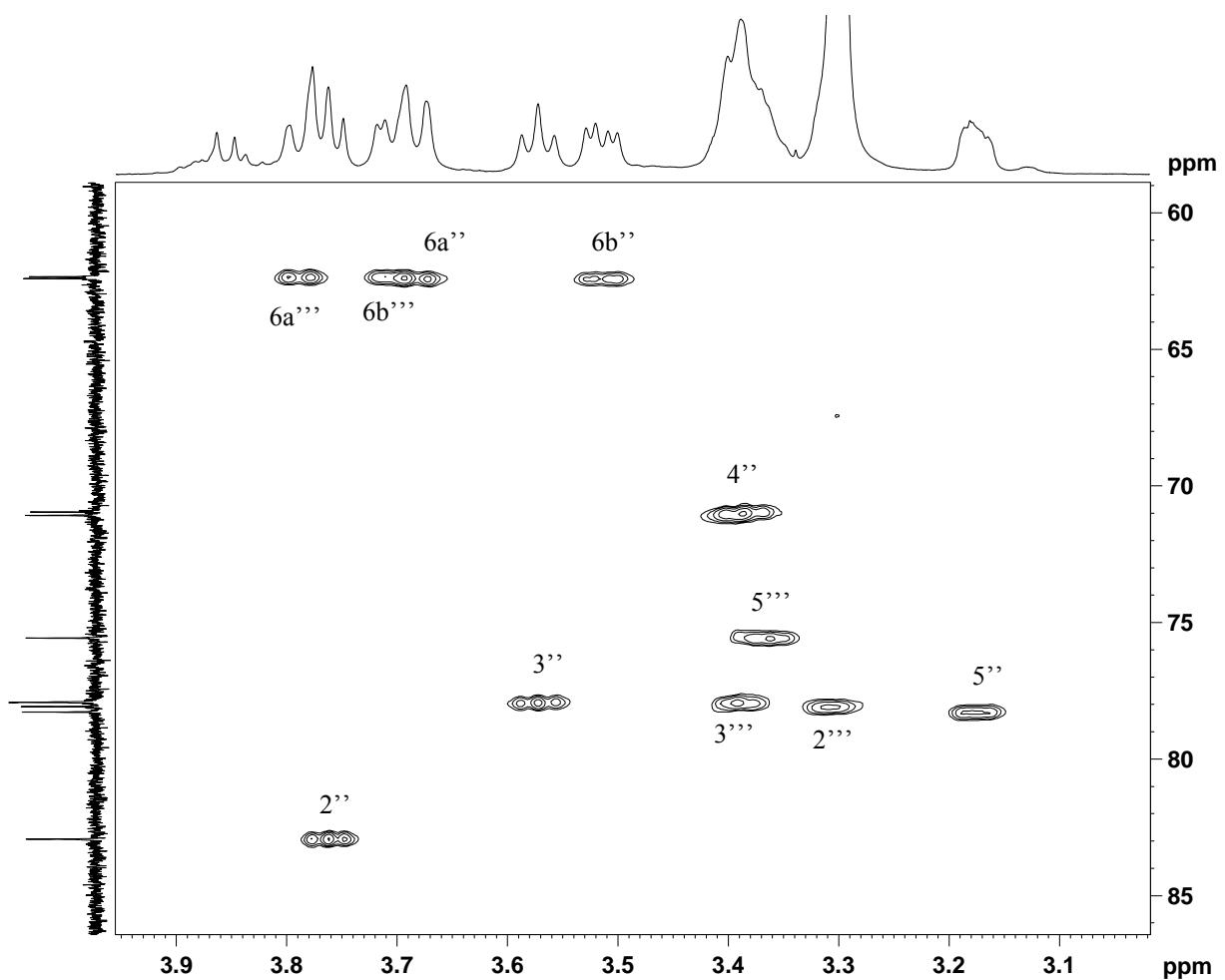
	Substanz <b>5</b>			Substanz <b>6</b>		
<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M
6	6.19	1.8	d	6.18	-	s
8	6.38	1.8	d	6.36	-	s
2'	7.65	2.0	d	7.66	-	s
5'	6.86	8.4	d	6.87	7.0	d
6'	7.62	2.0; 8.4	dd	7.52	7.7	d
1''	5.09	7.7	d	5.33	7.5	d
2''	3.45	7.8; 9.0	dd	3.76	7.9	t
3''	3.40	8.9	t	3.57	8.9	t
4''	3.26	9.0	t	3.39	9.0	t
5''	3.31	n.b.	m*	3.18	n.b.	m*
6a''	3.78	1.3; 11.0	dd	3.69	n.b.	m*
6b''	3.38	6.2; 11.1	dd	3.51	5.1; 11.9	dd
1'''	4.51	1.3	d	4.74	7.3	d
2'''	3.62	1.4; 3.2	dd	3.31	n.b.	m*
3'''	3.53	3.2; 9.5	dd	3.39	n.b.	m*
4'''	3.27	n.b.	m*	n.b.	n.b.	m*
5'''	3.44	n.b.	m*	n.b.	n.b.	m*
6'''(6a''')	1.11	6.2	d	3.79	12.3	d
6b'''	-	-	-	3.71	n.b.	m*

Substanz <b>5</b>				Substanz <b>6</b>			
<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
2	158.56	1''	104.76	2	158.53	1''	101.19
3	135.60	2''	75.73	3	135.08	2''	82.92
4	179.38	3''	78.20	4	179.73	3''	77.92
5	162.99	4''	71.39	5	163.13	4''	70.95
6	100.07	5''	77.23	6	99.99	5''	78.27
7	166.45	6''	68.55	7	166.42	6''	62.40
8	94.94	1'''	102.42	8	94.76	1'''	105.00
9	159.28	2'''	72.11	9	158.78	2'''	78.07
10	105.52	3'''	72.23	10	105.64	3'''	77.92
1'	123.12	4'''	73.93	1'	123.03	4'''	n.b.
2'	117.65	5'''	69.71	2'	117.72	5'''	n.b.
3'	145.86	6'''	17.88	3'	145.99	6'''	62.33
4'	149.81			4'	149.83		
5'	116.05			5'	116.15		
6'	123.53			6'	123.03		



**Abb. 3.6:**

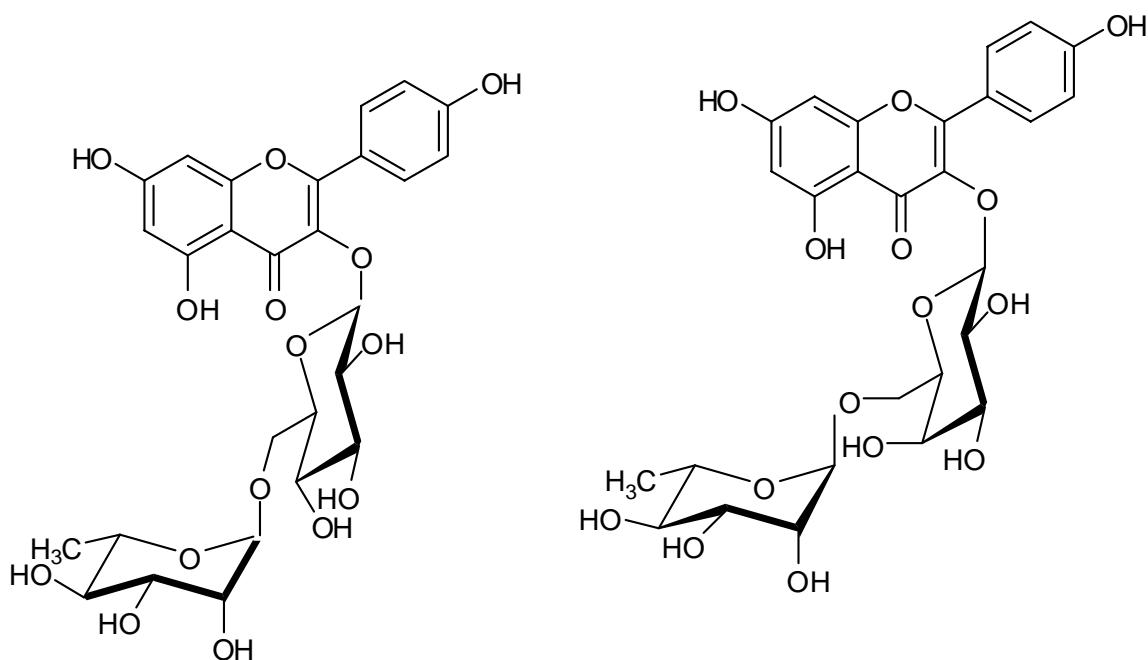
HSQC-Spektrum von Rutin (**5**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Zuordnung der Protonen im Zucker zum Kohlenstoff (ohne H-1'', H-1''', H-6''). Die Zahlen bezeichnen die Positionen im Molekül



**Abb. 3.7:**

HSQC-Spektrum von Baimasid (**6**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Die Zahlen bezeichnen die Bezifferung im Molekül

### 3.3.1.5 Nikotiflorin (**7**) und Biorobin (**8**)



Substanz **7**: links;

Summenformel:  $C_{27} H_{30} O_7$

Molare Masse: 594 g/mol

Beschaffenheit: hellgelbe Pulver

Substanz **8**: rechts

Die chemischen Verschiebungen für die Kerne  $^1H$  und  $^{13}C$  zeigt Tabelle 3.8.

Die Strukturaufklärung beider Substanzen erfolgte analog Rutin (**5**). Für die Verbindungen **7** und **8** wurde Kämpferol als Aglykon identifiziert und über das HMBC-Spektrum wieder die Verknüpfung der Zuckerkette an C-3 des Aglykons sowie die Linearität des Disaccharids über die Kopplung von H-1''' mit C-6'' belegt (Abb. 3.8).

Das Disaccharid in Substanz **7** wurde als Rutinose (analog Rutin) und in Substanz **8** als Robinobiose identifiziert. Der erste Zucker in Substanz **8** wurde an Hand der Shiftwerte in den 1D-Spektren als Galaktose identifiziert. Ein weiterer Beleg ist das Vorliegen einer kleinen Kopplungskonstante ( $J = 3.3$  Hz) bei der Signalaufspaltung von H-3'' (neben einer zweiten mit  $J = 9.7$  Hz). Die Kopplungskonstante von H-4'' konnte indes wegen zu starker Signalüberlagerung nicht bestimmt werden. Die äquatoriale Stellung von H-4'' wurde über das ROESY bestätigt aufgrund von NOEs mit H-3'' und H-5''.

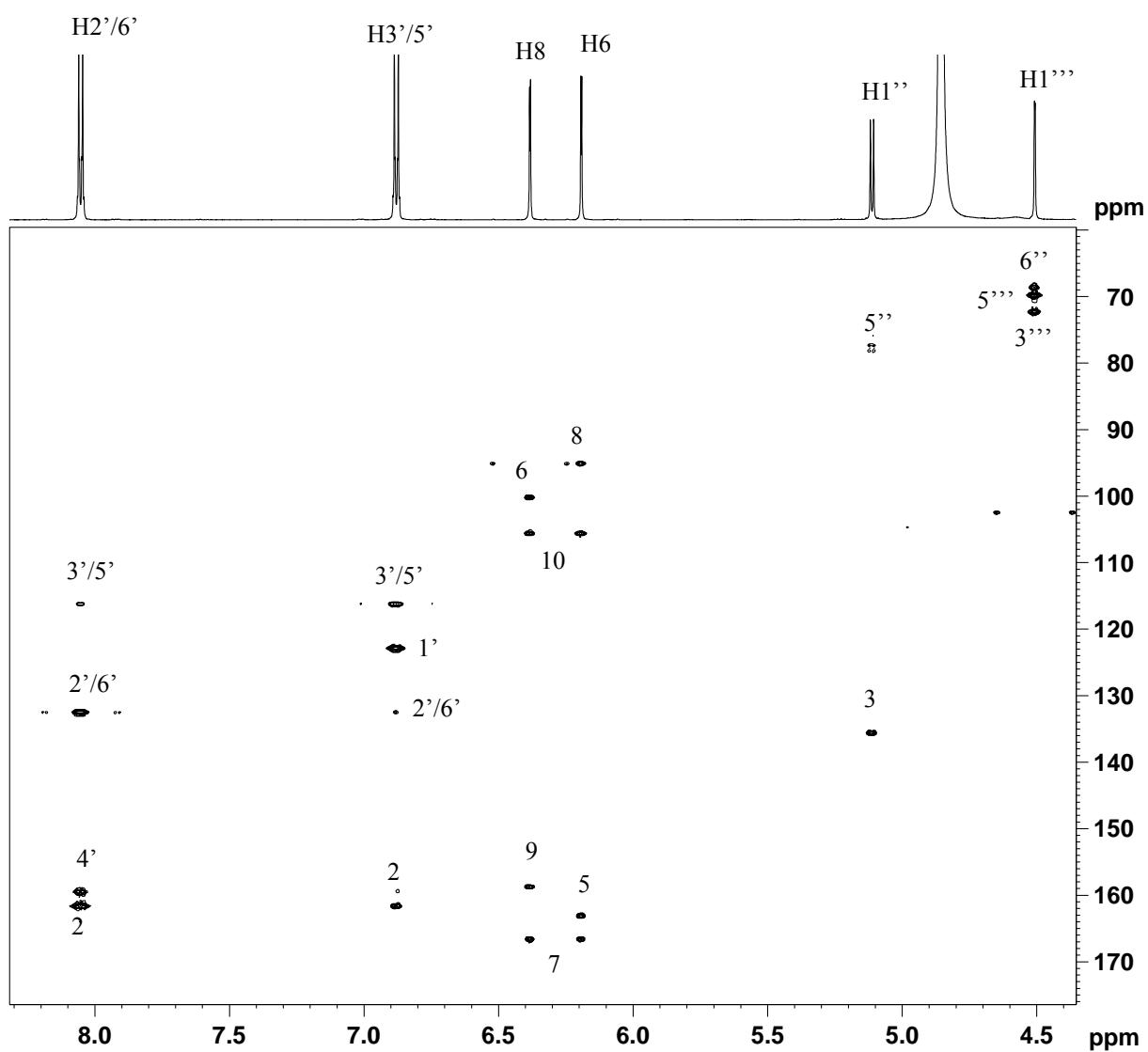
Die ermittelten Daten stimmen für beide Verbindungen mit der Literatur überein [79], [82].

**Tab. 3.8:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von Nikotiflorin (**7**) und Biorobin (**8**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K. n.b.: Daten nicht bestimmt wegen zu großer Signalüberlappung, m\* = Multiplet, überlappt.  
Vergleichsdaten bei [79], [82]

	Substanz <b>7</b>			Substanz <b>8</b>		
<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M
6	6.19	2.0	d	6.19	2.0	d
8	6.37	2.0	d	6.37	2.0	d
2'/6'	8.05	8.8	d	8.05	8.8	d
3'/5'	6.88	8.8	d	6.88	8.8	d
1''	5.11	7.5	d	5.02	7.9	d
2''	3.43	7.5; 8.8	dd	3.78	7.8; 9.8	dd
3''	3.41	n.b.	m*	3.53	3.3; 9.7	dd
4''	3.25	9.0	t	3.75	n.b.	m*
5''	3.32	n.b.	m*	3.61	n.b.	m*
6a''	3.80	1.1; 12.0	dd	3.71	5.7; 10.3	dd
6b''	3.37	6.4; 12.7	dd	3.38	6.8; 10.1	dd
1'''	4.51	1.5	d	4.50	1.5	d
2'''	3.63	1.6; 3.4	dd	3.58	1.5; 3.3	dd
3'''	3.52	3.4; 9.5	dd	3.49	3.4; 9.6	dd
4'''	3.27	9.4	t	3.28	9.5	t
5'''	3.44	n.b.	m*	3.52	n.b.	m*
6'''	1.12	6.2	d	1.17	6.2	d

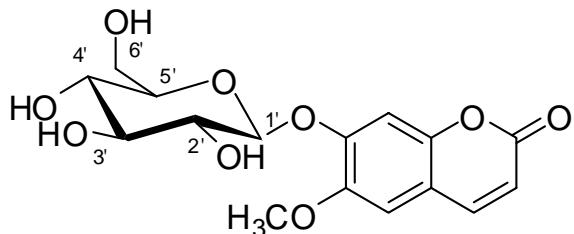
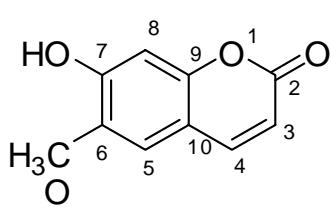
Substanz <b>7</b>				Substanz <b>8</b>			
<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
2	161.50	1''	104.64	2	161.62	1''	105.46
3	135.50	2''	75.76	3	135.69	2''	72.97
4	179.35	3''	78.14	4	179.56	3''	75.06
5	162.97	4''	71.43	5	162.98	4''	70.12
6	100.15	5''	77.20	6	100.16	5''	75.37
7	166.46	6''	68.56	7	166.63	6''	67.40
8	95.01	1'''	102.42	8	94.99	1'''	101.91
9	158.57	2'''	72.08	9	158.59	2'''	72.07
10	105.53	3'''	72.28	10	105.57	3'''	72.29
1'	122.75	4'''	73.89	1'	122.65	4'''	73.87
2'/6'	132.36	5'''	69.72	2'/6'	132.45	5'''	69.72
3'/5'	116.13	6'''	17.91	3'/5'	116.13	6'''	17.96
4'	159.34			4'	159.29		



**Abb. 3.8**

HMBC-Spektrum von Nikotiflorin (**7**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Zuordnung der aromatischen Protonen im Aglykon. Verknüpfung der Glucose über C-3 des Kämpferols sowie der Rhamnose an C-6 der Glucose. Die Zahlen entsprechen der Bezifferung im Molekül

### 3.3.2 Cumarine: Scopoletin (**9**) und Scopolin (**10**)



Substanz **9**: Scopoletin

Summenformel: C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>

Molare Masse: 192 g/mol

Beschaffenheit: weißes Pulver

Substanz **10**: Scopolin

Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>

Molare Masse: 354 g/mol

Beschaffenheit: weißes Pulver

Scopoletin: EI-MS, m/z (relative Intensität %), 70 eV: 192 [M]<sup>+</sup> (100), 177 (60), 164 (29), 149 (51), 135 (3), 121 (17), 92 (4), 79 (18), 69 (40), 51 (18)

Scopolin: ESI-MS m/z (relative Intensität %): 353 [M-H<sup>+</sup>]<sup>-</sup> (2), 191 (19). Die Massendifferenz von 162 amu zeigt die Abspaltung einer Hexose an.

Die chemischen Verschiebungen für die Kerne <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C zeigt Tabelle 3.9.

Über das HSQC wurden die vier Methinkohlenstoffe ihren Protonen zugeordnet und über das HMBC das Gerüst des Scopoletins identifiziert (Abb. 3.9).

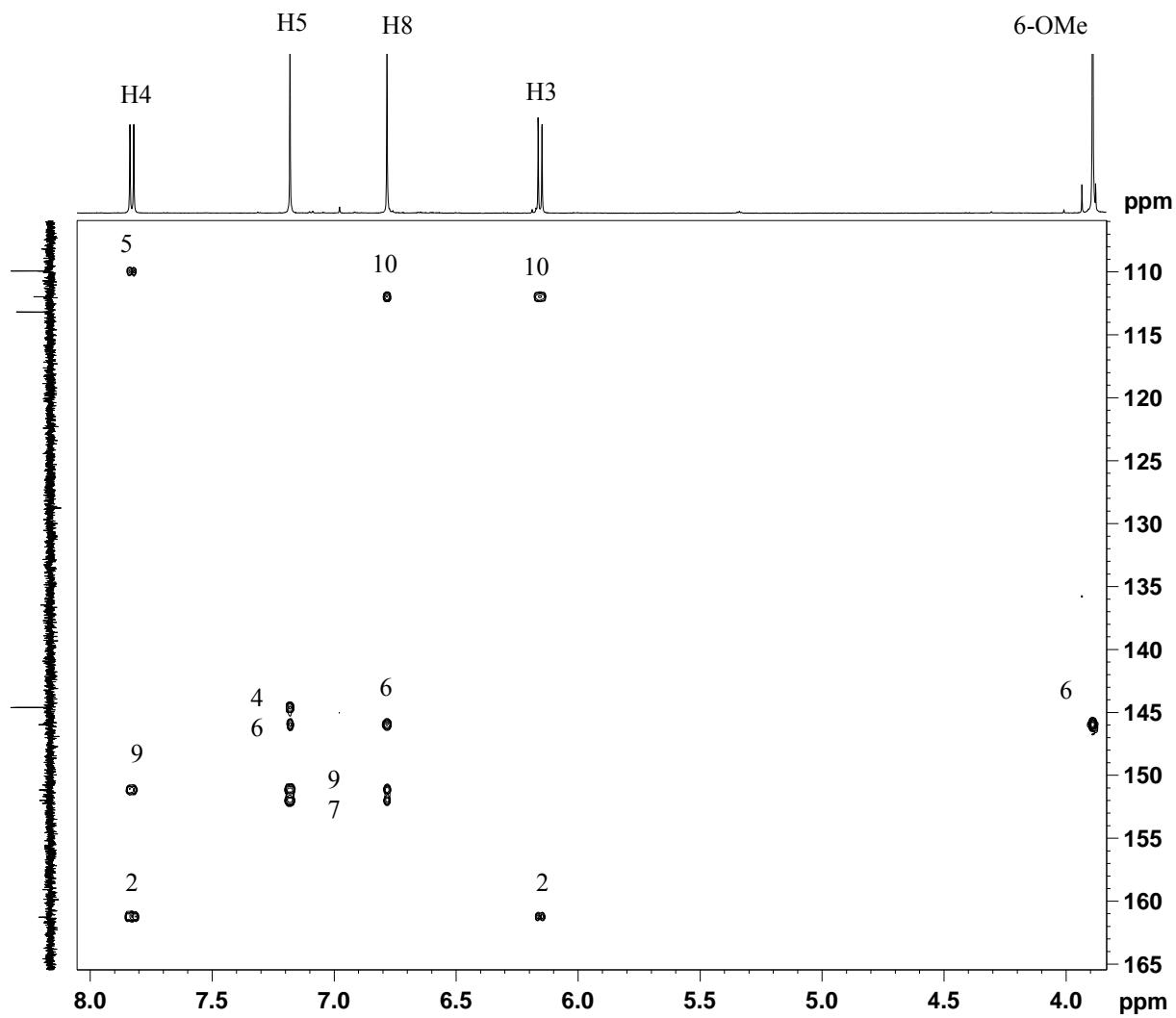
Die Position des Zuckers in Substanz **10** an C-7 des Aglykons wurde über das HMBC-Experiment ermittelt und der Zucker auf Grund der charakteristischen <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-Shifts sowie der großen Kopplungskonstanten als Glucose identifiziert. Die Positionen der Protonen im Zucker wurden mit Hilfe eines COSY-Spektrums zugeordnet (Abb. 3.10), (Abb. 3.11). Die NMR und MS Daten stimmen mit der Literatur überein [83].

**Tab. 3.9:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von Scopoletin (**9**) und Scopolin (**10**) in Aceton-d<sub>6</sub> (Scopoletin) bzw. Methanol-d<sub>4</sub> (Scopolin) bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K; m\* = Multiplet, überlappt. Vergleichsdaten bei [83]

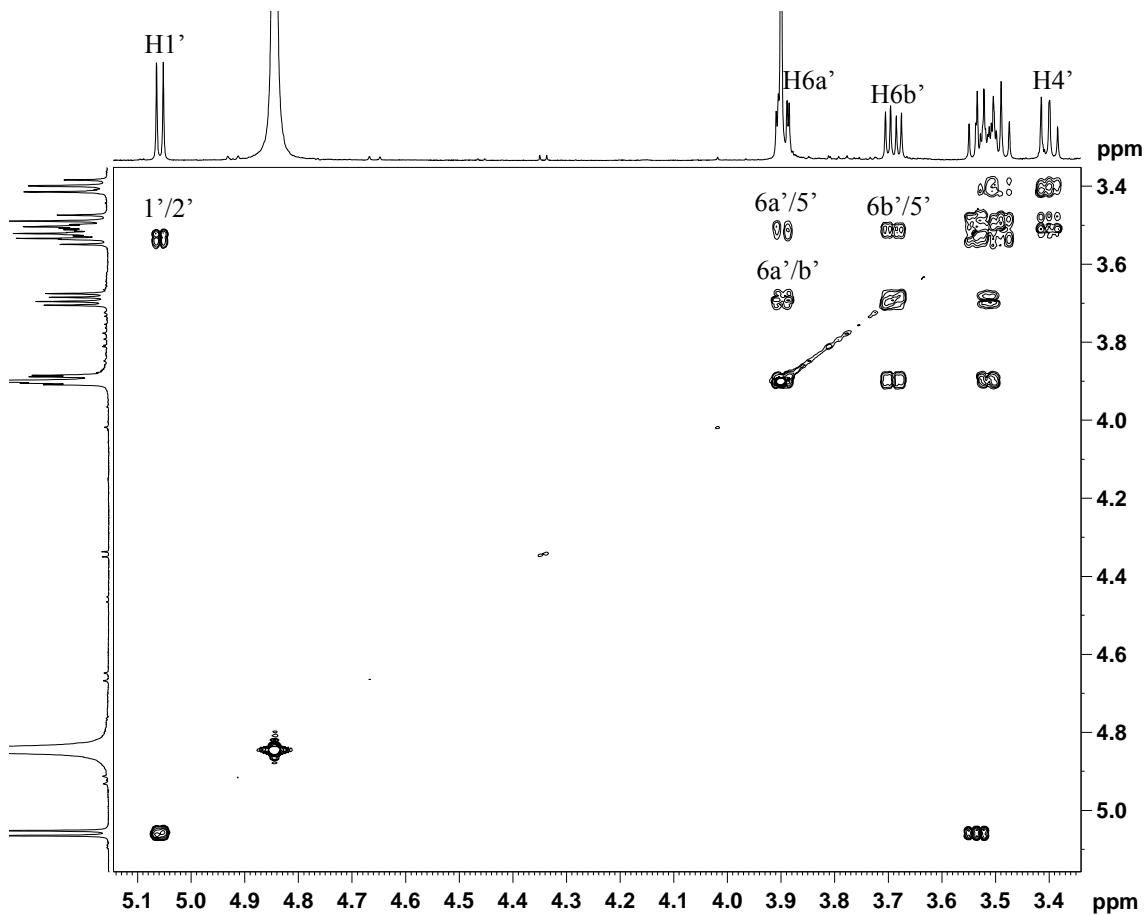
	Substanz <b>9</b>			Substanz <b>10</b>					
<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M
3	6.15	9.4	d	6.31	9.5	1'	5.05	7.7	d
4	7.82	9.4	d	7.97	9.5	2'	3.53	8.4	t
5	7.18	-	s	7.28	-	3'	3.48	8.9	t
8	6.78	-	s	7.14	-	4'	3.39	9.0	t
OMe	3.89	-	s	3.81	-	5'	3.51	n.b.	m*
						6a'	3.89	2.4; 12.1	dd
						6b'	3.69	5.7; 12.1	dd

Substanz <b>9</b>		Substanz <b>10</b>			
<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
2	161.25	2	160.53	1'	99.57
3	113.17	3	113.29	2'	73.03
4	144.60	4	144.20	3'	76.72
5	109.92	5	109.65	4'	69.57
6	145.97	6	145.96	5'	77.09
7	151.98	7	149.88	6'	60.61
8	103.68	8	102.98		
9	151.16	9	148.90		
10	111.95	10	112.23		
11 (OMe)	56.79	11 (OMe)	56.72		



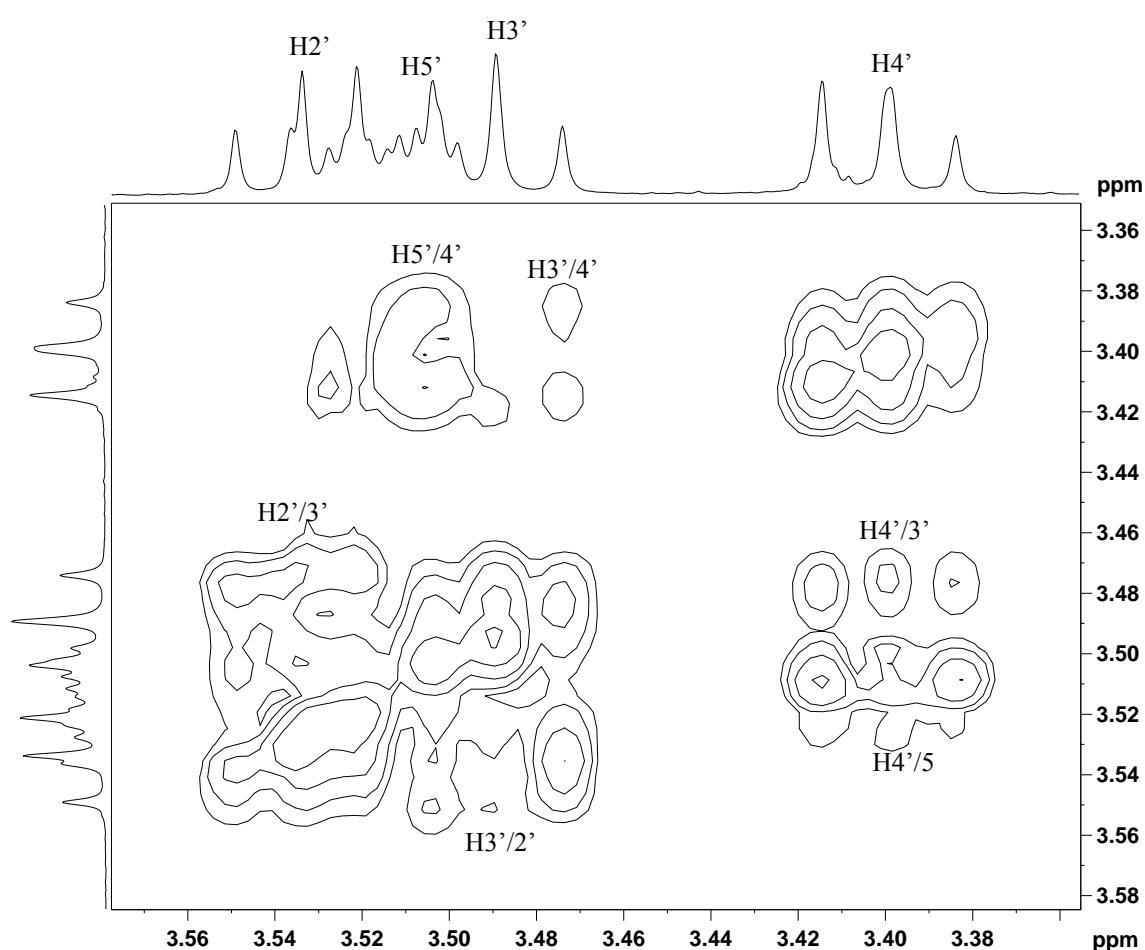
**Abb. 3.9:**

HMBC-Spektrum von Scopoletin (**9**) in Aceton-d<sub>6</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Gesamtansicht. Die Zahlen entsprechen den Bezifferungen des Kohlenstoffs im Molekül. Die chemische Verschiebung von C-3, C-8 und C-11 wurden über das HSQC ermittelt



**Abb.: 3.10:**

COSY-Spektrum von Scopolin (**10**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Korrelationen der Protonen H-1' mit H-2' und H-5' mit H-6'

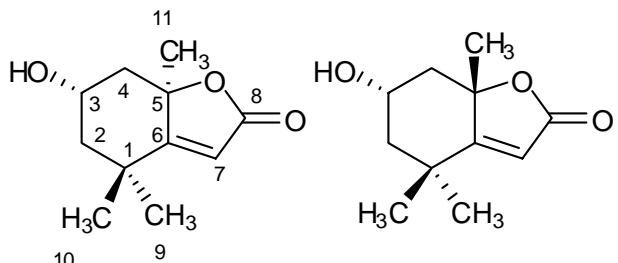


**Abb. 3.11:**

COSY-Spektrum von Scopolin (**10**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Korrelationen der Protonen H-2', -3', -4' und -5'

### 3.3.3 Isoprenoide

#### 3.3.3.1 C11-Isoprenoide: Loliolid (**11**) und Isololiolid (**12**)



(3S, 5R)-Loliolid

Summenformel:  $C_{11} H_{16} O_3$

Molare Masse: 196 g/mol

Beschaffenheit: weißes Pulver (Loliolid) bzw. farbloses Öl (Isololiolid)

(3S, 5S)-Isololiolid

Substanz **11**: EI-MS,  $m/z$  (relative Intensität), 70 eV: 196 [ $M]^+$  (32), 178 (90), 163 (37), 153 (23), 140 (51), 135 (41), 125 (17), 111 (100), 95 (30), 85 (24), 67 (27), 57 (28), 43 (86)

Substanz **12**: EI-MS,  $m/z$  (relative Intensität), 70 eV: 178 [ $M-H_2O]^+$  (100), 163 (52), 153 (15), 140 (23), 135(26), 125 (10), 111 (65), 95 (23), 81 (17), 67 (20), 57 (23), 43 (72)

Die chemischen Verschiebungen für die Kerne  $^1H$  und  $^{13}C$  zeigt Tabelle 3.10.

Die Zuordnung der Kohlenstoffe zu den entsprechenden Protonen von Loliolid (**11**) erfolgte über das HSQC-Spektrum (Abb. 3.12). Das Kohlenstoffskelett wurde wesentlich über das HMBC-Spektrum ermittelt. Analog erfolgte die Strukturaufklärung von Isololiolid (**12**), wobei hier das Signal für H-2b wegen der Überlappung mit H-9 nicht explizit betrachtet werden kann (Abb. 3.13).

Die Konfiguration ist für **11** und **12** mit großer Wahrscheinlichkeit 3(S), da beide Substanzen niedermolekulare Zerfallsprodukte von Carotenoiden sind, die eine analoge Konfiguration an C-3 aufweisen (siehe Diskussion).

Für Isololiolid wurde die 5(S)-Konfiguration über die räumliche Nähe des Protons H-3 zu H-2a, H-2b, H-10 und H-11 belegt, die im NOESY-Spektrum entsprechende Kreuzsignale zeigen (Abb. 3.14).

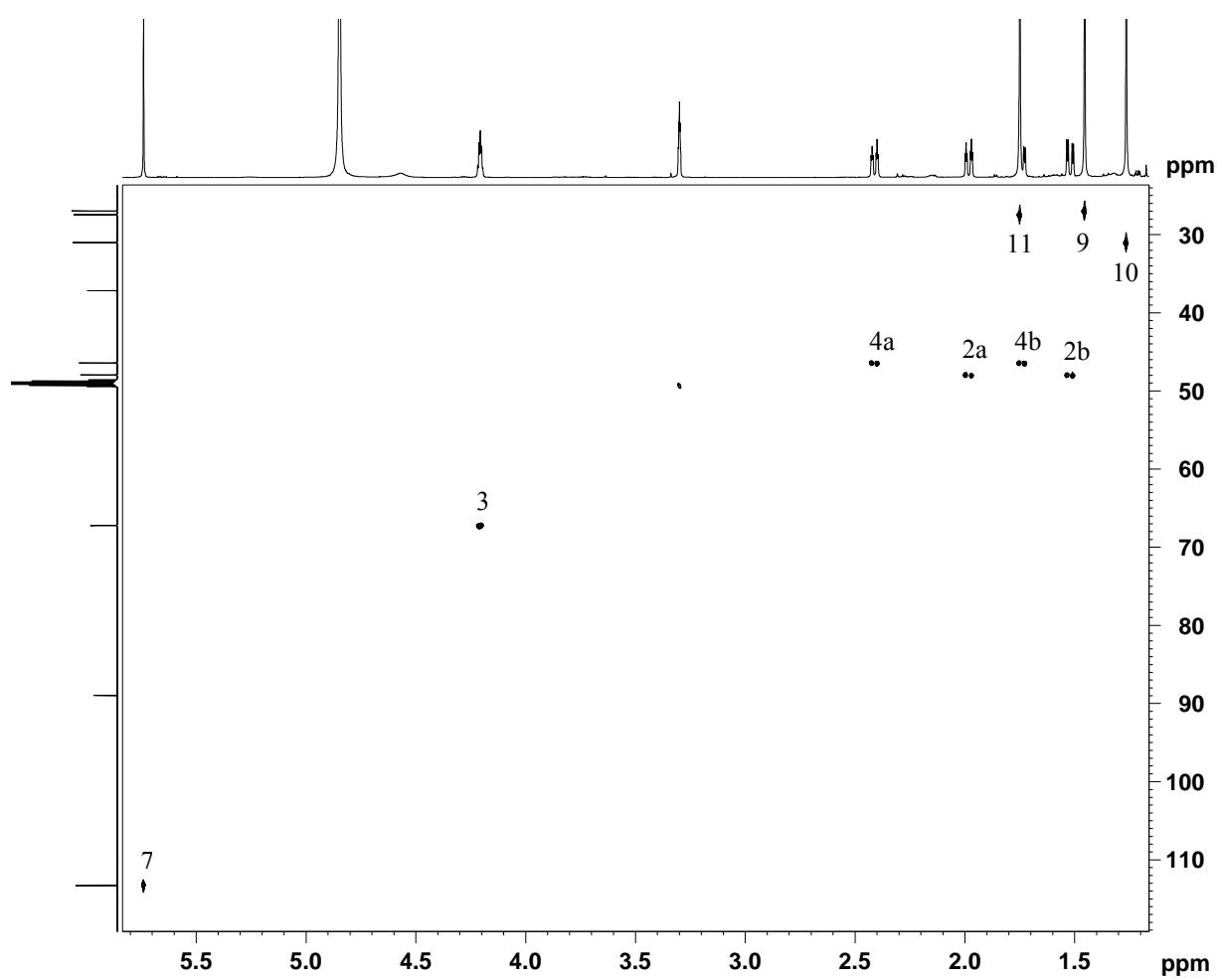
Die ermittelten Daten stimmen mit den Werten aus der Literatur überein [41], [84].

**Tab. 3.10:**

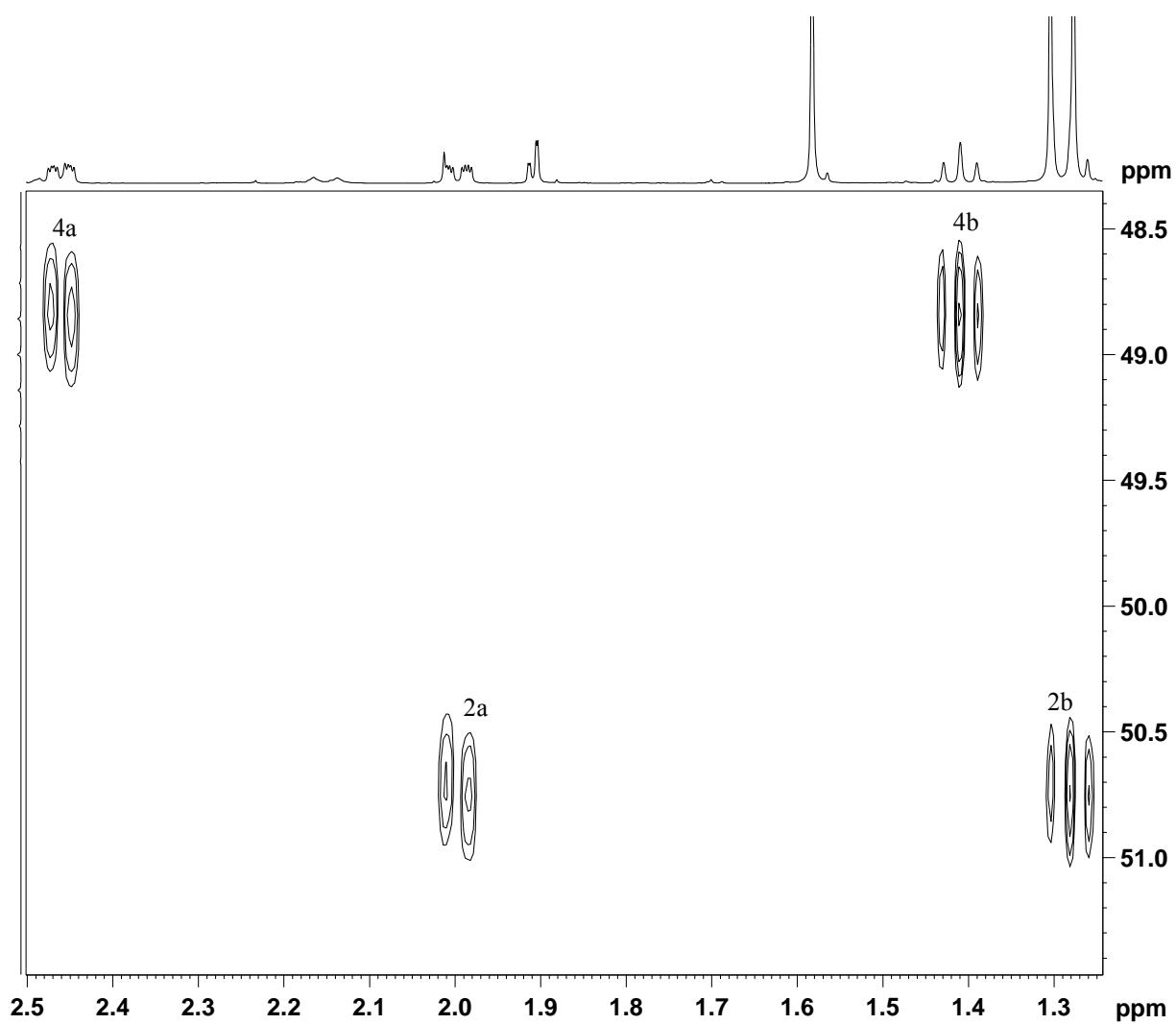
<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von Loliololid (**11**) und Isololiolid (**12**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergleichsdaten bei [41], [84]; n.b. Daten nicht bestimmt; m\* = Multiplet, überlappt

Substanz <b>11</b>				Substanz <b>12</b>			
<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M	<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M
2a	1.98	2.6; 14.4	dt	2a	2.00	2.2; 4.4; 12.9	ddd
2b	1.52	3.6; 14.4	dd	2b	1.28	n. b.	m*
3	4.20	3.5	quintett	3	4.09	4.2; 11.6	tt
4a	2.41	2.5; 13.6	dt	4a	2.46	2.4; 4.0; 11.7	ddd
4b	1.72	4.2; 13.7	dd	4b	1.41	11.7	t
7	5.73	-	s	7	5.77	-	s
9	1.45	-	s	9	1.30	-	s
10	1.26	-	s	10	1.27	-	s
11	1.74	-	s	11	1.58	-	s

Substanz <b>11</b>				Substanz <b>12</b>			
<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
1	37.16	7	113.30	1	36.17	7	113.70
2	47.93	8	174.44	2	50.75	8	174.00
3	67.22	9	26.95	3	65.22	9	30.31
4	46.40	10	31.00	4	48.84	10	25.33
5	88.96	11	27.42	5	88.61	11	25.80
6	185.69			6	183.92		

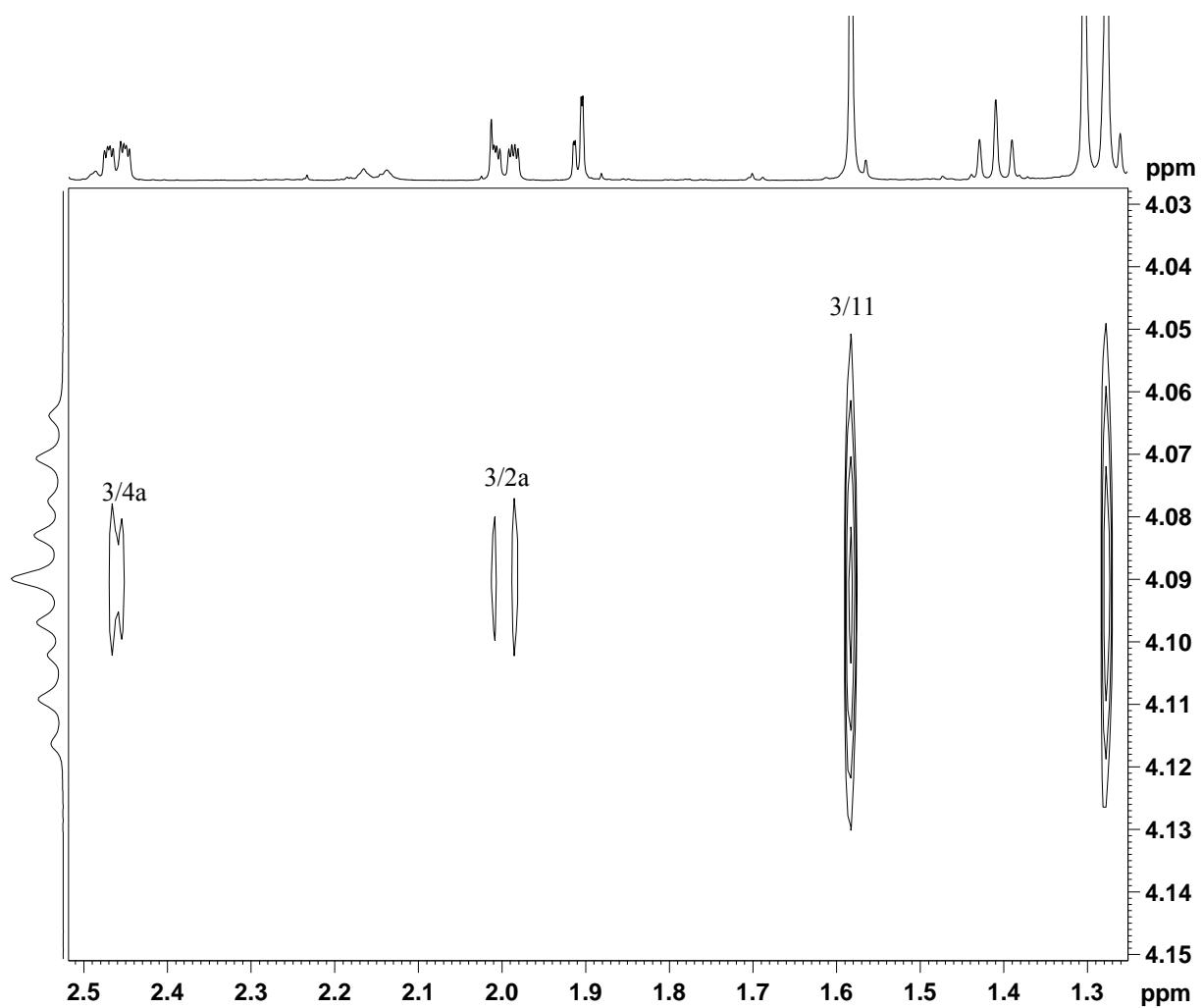


**Abb. 3.12:**  
HSQC-Spektrum von Loliolid (**11**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Gesamtansicht. Die Zahlen entsprechen der Bezifferung im Molekül. Deutlich zu sehen die beiden Paare der diastereotopen H-Atome an den Positionen 2 und 4



**Abb. 3.13:**

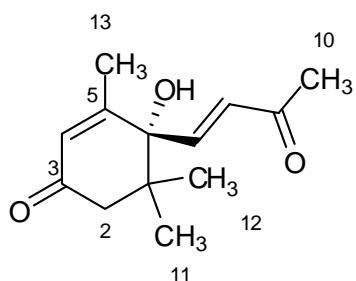
HSQC-Spektrum von Isololiolid (**12**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Deutlich zu sehen die beiden Paare der diastereotopen H- Atome. Das Signal für H-2b kann nicht explizit betrachtet werden, da es im Signal der Methylgruppe (Position 9) liegt. Die chemische Verschiebung kann indirekt aus der Korrelation zu C-2 abgelesen werden. Die Zahlen entsprechen der Bezifferung im Molekül



**Abb. 3.14:**

NOESY-Spektrum von Isololiolid (**12**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. H-3 zeigt Korrelationen zu H-2a, H4-a und den beiden Methylgruppen H<sub>3</sub>-10 und H<sub>3</sub>-11. Die Korrelation mit H<sub>3</sub>-11 belegt die Stereochemie an C-3 und C-5

### 3.3.3.2 C13- Norisoprenoid: Dehydrovomifoliol (13)



Summenformel: C<sub>13</sub> H<sub>18</sub> O<sub>3</sub>

Molare Masse: 222 g/mol

Beschaffenheit: farbloses Öl

Die chemischen Verschiebungen für die Kerne <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C zeigt Tabelle 3.11.

Die Zuordnung der Kohlenstoffe zu den entsprechenden Protonen wurde über das HSQC-Spektrum vorgenommen. Die chemischen Verschiebungen für C-3 und C-9 wurden über das HMBC mit Hilfe der Korrelationen zu H-2b bzw. H-7/H-8 berechnet. Die chemischen Verschiebungen für C-1, C-5 und C-6 wurden ebenfalls indirekt über das HMBC ermittelt. Die Protonen der Methylgruppen der Positionen 11 und 12 zeigen Korrelationen mit C-1, C-2 und C-6, während die Methylgruppe in Position 13 Korrelationen zu C-4, C-5 und C-6 zeigt. Die große Kopplungskonstante zwischen H-7 und H-8 ( $J = 15.8$  Hz) weist auf eine *trans*-orientierte olefinischen Doppelbindung hin. Die Stereochemie an C-6 wurde wegen der geringen Ausbeute an Substanz nicht experimentell bestimmt. In der Literatur wurde bisher nur das 6(S)(+)-Enantiomer beschrieben.

Die NMR spektroskopischen Daten stimmen mit denen in der Literatur überein [85].

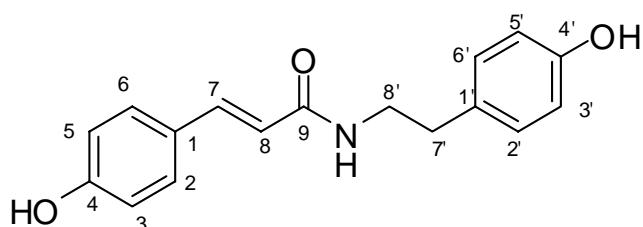
**Tab. 3.11:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von Dehydrovomifoliol (**13**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K.  
Vergleichsdaten bei [85]

<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
2a	2.26	17.1	d	1	41.28
2b	2.59	17.1	d	2	49.20
4	5.92	-	s	3	199.20
7	6.98	15.8	d	4	126.54
8	6.98	15.8	d	5	163.33
10	2.29	-	s	6	78.60
11	1.01	-	s	7	146.95
12	1.05	-	s	8	130.34
13	1.88	-	s	9	199.31
				10	26.31
				11	23.41
				12	22.20
				13	17.83

### 3.3.4 Phenolische Säureamide

#### 3.3.4.1 *trans*-Paprazin (**14**)



Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N O<sub>3</sub>

Molare Masse: 283 g/mol

Beschaffenheit: weißes Pulver

EI-MS, *m/z* (relative Intensität), 70 eV: 283 [M]<sup>+</sup> (20), 165 (8), 164 (84), 147 (100), 120 (56), 91 (20), 65 (10)

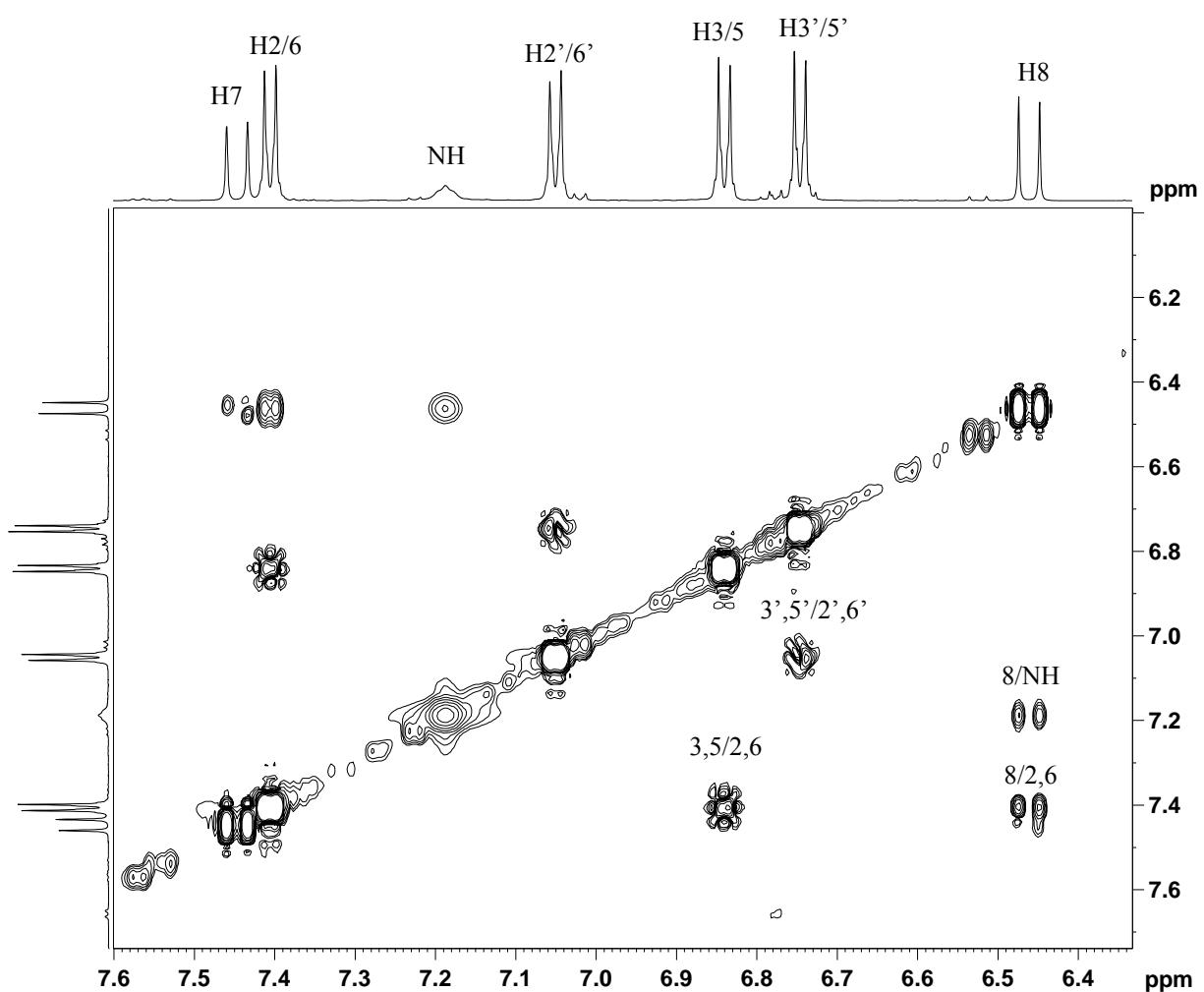
Die chemischen Verschiebungen für die Kerne <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C zeigt Tabelle 3.12.

Die Strukturaufklärung und die Zuordnung sämtlicher Protonen- und Kohlenstoffsignale aus den 1D Spektren erfolgte über die Aufnahme von HSQC-, HMBC- und NOESY-Spektren (Abb. 3.15 NOESY, Abb. 3.16, HMBC). Die große Kopplungskonstante (*J* = 15.6 Hz) der olefinischen Doppelbindung weist auf die *trans*-Orientierung hin. Die Daten entsprechen den in der Literatur zu findenden Ergebnissen [86].

**Tab. 3.12:**

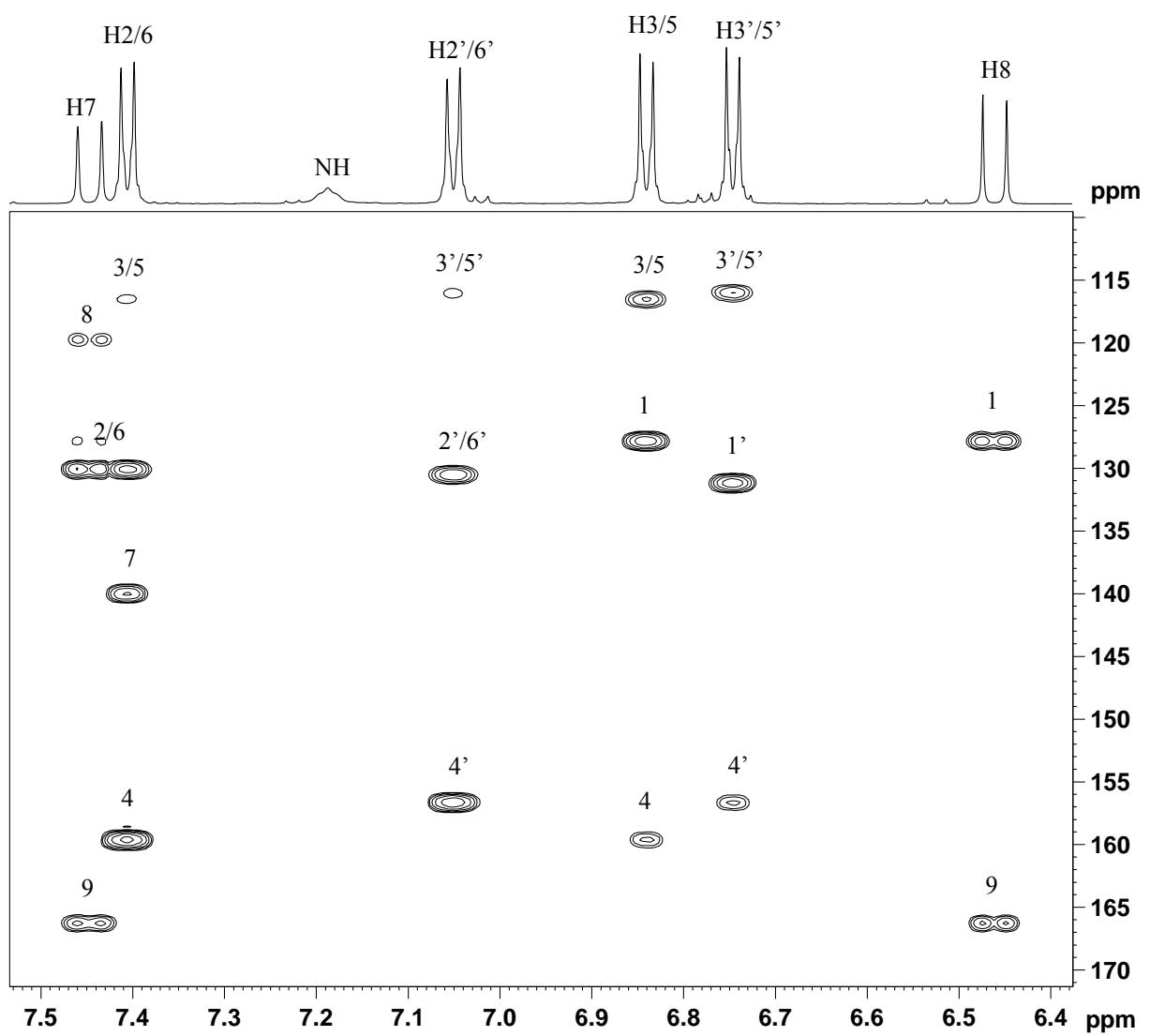
<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von *trans*-Paprazin (**14**) in Aceton-d<sub>6</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K.  
Vergleichsdaten bei [86]

<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
2/6	7.40	8.6	d	1	127.79
3/5	6.84	8.6	d	2/6	130.06
7	7.44	15.6	d	3/5	115.99
8	6.46	15.6	d	4	159.62
2'/6'	7.05	8.4	d	7	139.97
3'/5'	6.74	8.4	d	8	119.71
7'	2.73	7.4	t	9	166.23
8'	3.46	7.3	(d) t	1'	131.16
NH	7.18	-	br s (t)	2'/6'	130.44
				3'/5'	115.57
				4'	156.62
				7'	35.73
				8'	41.89



**Abb. 3.15:**

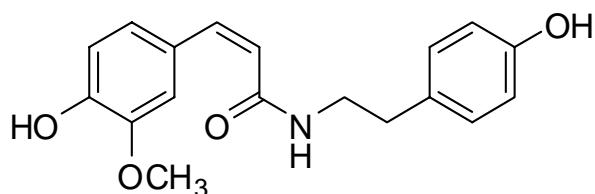
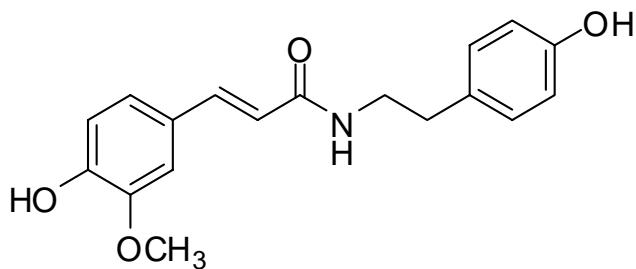
NOESY-Spektrum von *trans*-Paprazin (**14**) in Aceton-d<sub>6</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Die NH-Gruppe liegt in räumlicher Nähe zu H-8. H-7 und H-8 sind in eine *trans*-orientierte olefinische Doppelbindung integriert. Die Zahlen bezeichnen die dipolaren Korrelationen



**Abb. 3.16:**

HMBC-Spektrum von *trans*-Paprazin (**14**) in Aceton- $d_6$  bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Die Zahlen entsprechen der Bezifferung der Kohlenstoffe im Molekül

### 3.3.4.2 *trans*-Moupinamid (**15**) und *cis*-Moupinamid (**16**)



Summenformel: C<sub>18</sub> H<sub>19</sub> N O<sub>4</sub>

Molare Masse: 313 g/mol

Beschaffenheit: weiße Pulver

Substanz **15**: EI-MS, *m/z* (relative Intensität %), 70 eV: 313 [M]<sup>+</sup> (28), 192 (65), 177 (100), 149 (10), 145 (38), 134 (10), 89 (20), 77 (20), 51 (10)

Substanz **16**: EI-MS, *m/z* (relative Häufigkeit %), 70 eV: 313 [M]<sup>+</sup> (29), 242 (10), 192 (73), 177 (100), 145 (34), 120 (30), 91 (24), 69 (27), 57 (38)

Die chemischen Verschiebungen für die Kerne <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C zeigt Tabelle 3.13.

Im <sup>1</sup>H-Spektrum beider Verbindungen ist eine Methoxygruppe erkennbar, deren Position an C-3 über räumliche Nähe zu H-2 bestimmt werden konnte (Abb. 3.17). Die Position wurde über das HMBC bestätigt. Der neue Substituent (im Vergleich zu Paprazin) ergibt für H-2, H-5 und H-6 ein typisches ABX-System. Die Zuordnung der Kohlenstoffe zu den Protonen erfolgte über das HSQC-Spektrum (Abb. 3.18). Die Kopplungskonstanten der olefinischen Doppelbindung beweisen, dass es sich bei Substanz **15** um das *trans*-Isomer und bei Substanz **16** um das *cis*-Isomer derselben Verbindung handelt.

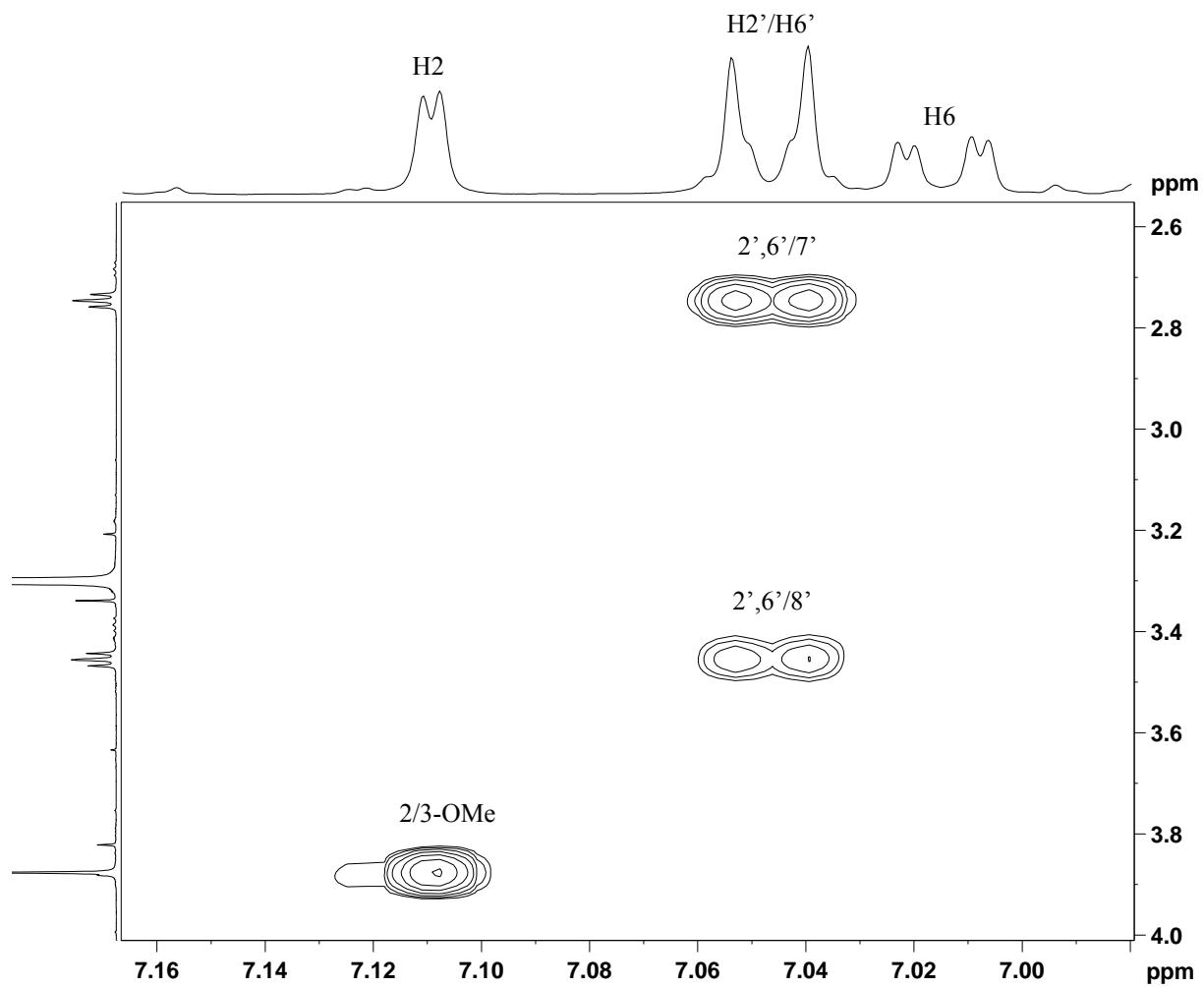
Die spektroskopischen Daten der Verbindungen **15** und **16** stimmen mit den in der Literatur publizierten Ergebnissen überein [86], [87].

**Tab. 3.13:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von *trans*-Moupinamid (**15**) und *cis*-Moupinamid (**16**) in Methanol-d<sub>4</sub> (**15**) und Aceton-d<sub>6</sub> (**16**) bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergleichsdaten bei [86], [87]

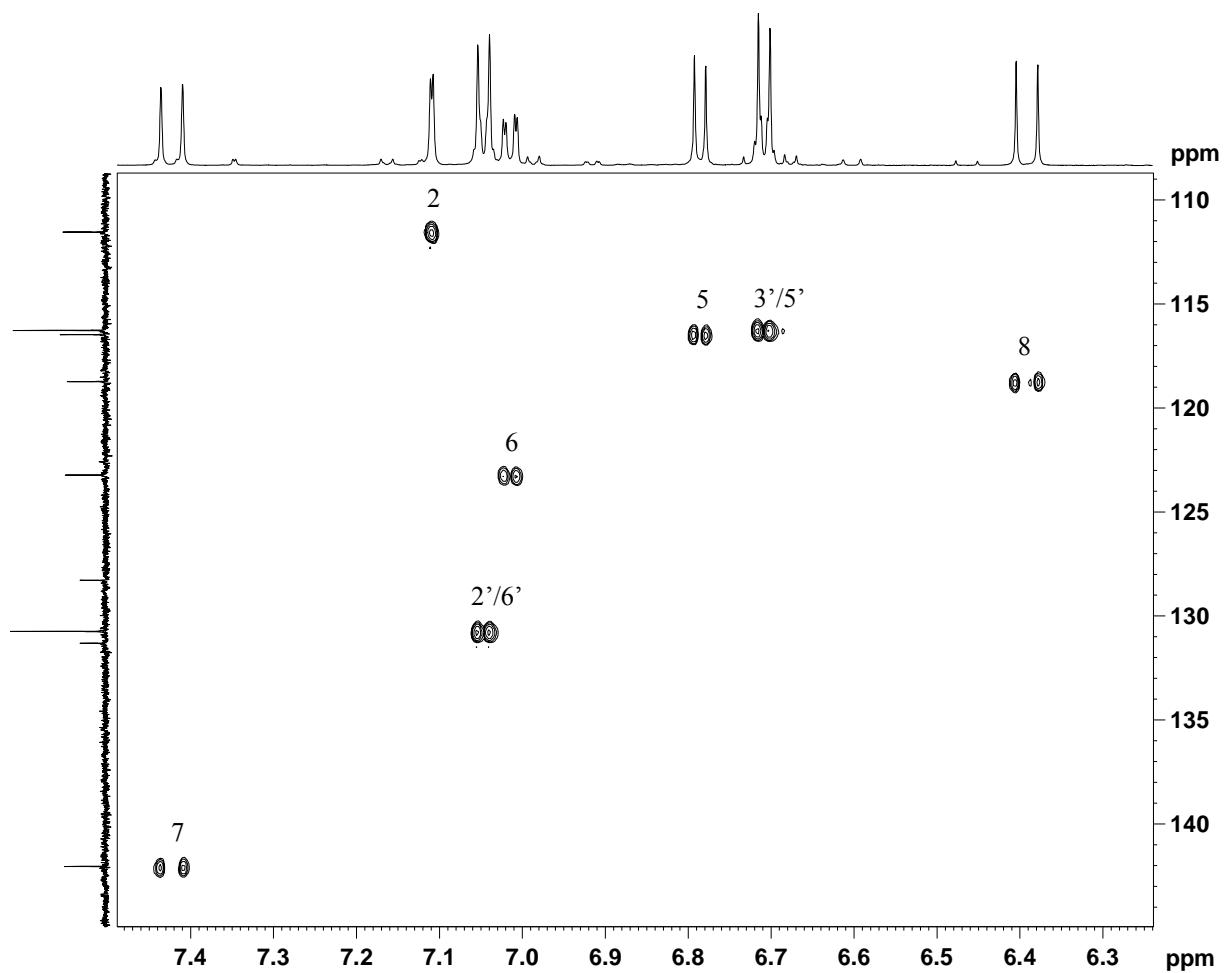
	Substanz <b>15</b>			Substanz <b>16</b>		
<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M
2	7.12	2.0	d	7.14	1.8	d
5	6.79	8.2	d	6.76	8.1	d
6	6.99	2.0 ; 8.2	dd	7.09	1.9 ; 8.3	dd
7	7.42	15.6	d	6.52	13.0	d
8	6.40	15.6	d	5.81	13.0	d
OMe	3.88	-	s	3.83	-	s
2'/6'	7.05	8.5	d	7.01	8.4	d
3'/5'	6.73	8.4	d	6.72	8.4	d
7'	2.74	7.4	t	2.70	7.4	t
8'	3.45	7.4	t	3.42	7.4	t
NH	-	-	-	7.18	br s	-

Substanz <b>15</b>				Substanz <b>16</b>			
<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
1	128.28	1'	131.30	1	128.48	1'	131.08
2	111.53	2'/6'	130.74	2	114.51	2'/6'	130.49
3	149.30	3'/5'	116.26	3	147.63	3'/5'	115.99
4	149.86	4'	156.95	4	148.19	4'	156.63
5	116.46	7'	35.81	5	115.16	7'	35.53
6	123.22	8'	42.54	6	125.41	8'	41.76
7	142.03	OMe	56.38	7	137.93	OMe	56.15
8	118.72			8	122.12		
9	167.23			9	169.22		



**Abb. 3.17:**

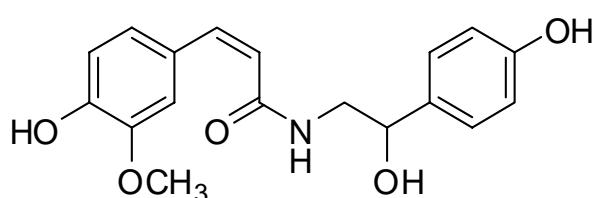
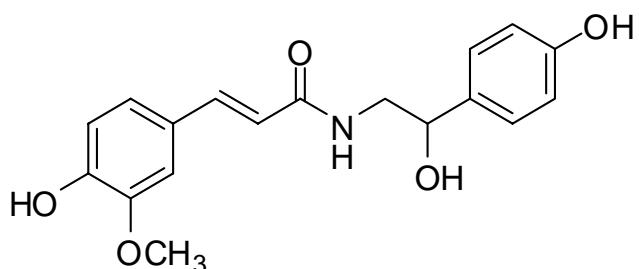
NOESY-Spektrum von *trans*-Moupinamid in Methanol- $d_4$  bei 600 MHz (Kryo) und  $T = 298 \text{ K}$ . Vergrößerte Darstellung. Räumliche Nähe der Methoxygruppe zu H-2 und dipolare Kopplung der aliphatischen Protonen H-7' und H-8' mit H-2'/H-6'



**Abb. 3.18:**

HSQC-Spektrum von *trans*-Moupinamid in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo). und T = 298 K. Vergrößerte Darstellung. Zuordnung der aromatischen Kohlenstoffe zu ihren Protonen. Die Ziffern entsprechen der Bezeichnung im Molekül

### 3.3.4.3 *trans*-N-Feruloyloctopamin (**17**) und *cis*-N-Feruloyloctopamin (**18**)



Summenformel: C<sub>18</sub> H<sub>19</sub> N O<sub>5</sub>

Molare Masse: 329 g/mol

Beschaffenheit: weißes Pulver

ESI-MS, *m/z* (relative Intensität %): 328 [M-H]<sup>-</sup> (100), 310 (23)

Massendifferenz von 18 amu zeigt die Abspaltung von Wasser an.

Die chemischen Verschiebungen für die Kerne <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C zeigen Tabelle 3.14.

Das Verhältnis von *cis*- und *trans*-Isomer veränderte sich während der Messung. Die beiden Isomere wurden laufend ineinander umgewandelt, so dass weder die eine noch die andere Konformation bevorzugt erhalten wurde.

Durch das Einführen einer Hydroxygruppe an C-7' entsteht ein Chiralitätszentrum und C-8' trägt jetzt ein Paar diastereotoper Protonen, die ihre Signale wechselseitig und das von H-8' in Dubletts aufspalten. Auf Grund der Isomerisierung des Moleküls während der NMR Messung, die zu einem nebeneinander Vorliegen der *cis*- und *trans*-Form führte, wurde jedes Signal doppelt erhalten. Über das HMBC- und das HSQC-Spektrum konnten, ausgehend von den Signalen der olefinischen Doppelbindungen, die Signalsätze der entsprechenden Substanz zugeordnet werden. Die ermittelten Daten stimmen mit den in der Literatur publizierten Werten überein [47], [86], [87].

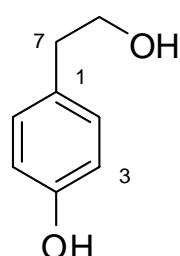
**Tab. 3.14:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von *trans* (**17**) und *cis* (**18**) N-Feruloyloctopamin in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K. n.b.: Daten nicht bestimmt wegen zu großer Signalüberlappung m\* = Multiplet, überlappt. Vergleichsdaten bei [47], [86], [87]

	Substanz <b>17</b>			Substanz <b>18</b>		
<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M	$\delta$ (ppm)	J(Hz)	M
2	7.11	1.7	d	7.39	1.7	d
5	6.78	8.2	d	6.76	8.6	d
6	7.01	2.0; 8.3	dd	6.93	1.9; 8.3	dd
7	7.43	15.6	d	6.61	12.7	d
8	6.45	15.6	d	5.82	12.7	d
2'/5'	7.21	8.3	d	7.16	8.4	d
3'/6'	6.72	8.2	d	6.73	8.6	d
7'	4.71	5.0; 8.0	dd	4.66	5.0; 7.7	dd
8a'	3.51	5.0; 13.6	dd	3.44	n.b.	m*
8b'	3.43	n.b.	m*	3.38	5.5; 13.4	dd
OMe	3.89	-	s	3.83	-	s

Substanz <b>17</b>				Substanz <b>18</b>			
<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
1	128.27	1'	134.74	1	128.53	1'	134.75
2	111.53	2'/6'	128.45	2	114.00	2'/6'	128.45
3	149.30	3'/5'	116.11	3	148.52	3'/5'	116.11
4	150.78	4'	158.11	4	148.63	4'	158.10
5	116.52	7'	73.42	5	116.52	7'	73.33
6	123.30	8'	48.30	6	125.05	8'	48.11
7	142.25	OMe	56.38	7	138.93	OMe	56.38
8	118.63			8	121.35		
9	169.19			9	170.05		

### 3.3.5 Einfache Phenole: Tyrosol (**19**)



Summenformel: C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>

Molare Masse: 138 g/mol

Beschaffenheit: weißes Pulver

EI-MS, *m/z* (relative Intensität %) 70 eV: 138 [M]<sup>+</sup> (30), 107 (100), 77 (15)

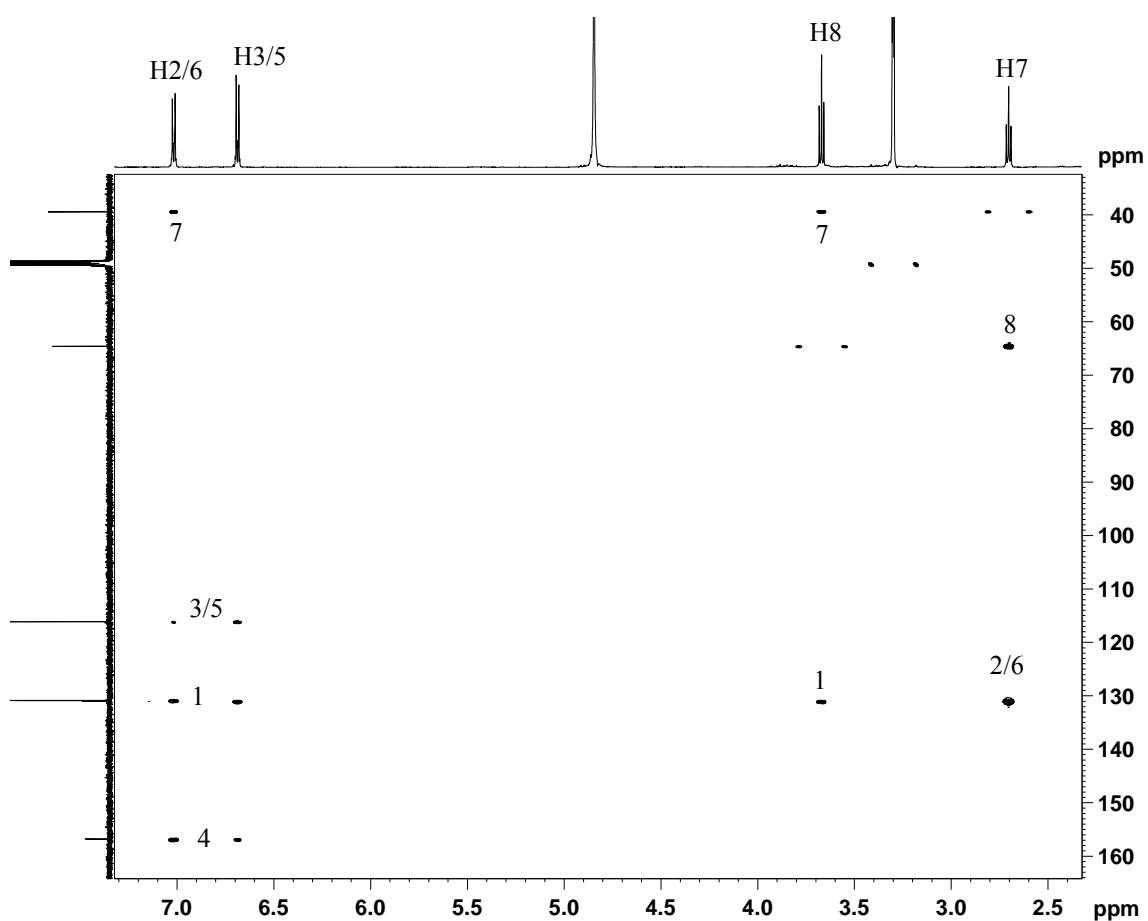
Die chemischen Verschiebungen für die Kerne <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C zeigen Tabelle 3. 15. Die ermittelten Werte stimmen mit den Angaben aus der Literatur überein [88].

Über das HMBC-Spektrum (Abb. 3.19) konnte die chemische Verschiebung aller Kohlenstoffe bestimmt werden.

**Tab. 3.15:**

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten von Tyrosol (**19**) in Methanol-d<sub>4</sub> bei 600/150 MHz (Kryo) und T = 298 K. Vergleichsdaten bei [88]

<sup>1</sup> H	$\delta$ (ppm)	<i>J</i> (Hz)	M	<sup>13</sup> C	$\delta$ (ppm)
2/6	7.01	9.2	d	1	130.86
3/5	6.68	9.2	d	2/6	131.01
7	2.70	7.3	t	3/5	116.11
8	3.68	7.3	t	4	156.77
				7	39.42
				8	64.59



**Abb. 3.19:**

HMBC-Spektrum von Tyrosol (**19**) in Methanol -d<sub>4</sub> bei 600 MHz (Kryo) und T = 298 K. Gesamtdarstellung. Die Zahlen entsprechen der Bezifferung des Kohlenstoffs im Molekül

## 4. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurde das Inhaltsstoffspektrum der Spezies *Lycium anatomicum* aus der Familie der Nachtschattengewächse untersucht und dabei aus Blättern und Stängeln 19 Verbindungen isoliert und deren Struktur aufgeklärt. Darüber hinaus wurden vier weitere Verbindungen, die vermutlich zur Klasse der Steroide gehören isoliert, jedoch ist die Strukturaufklärung zum Zeitpunkt der Fertigstellung der vorliegenden Dissertation noch nicht abgeschlossen.

Flavonoide stellen mengenmäßig die am häufigsten vorkommenden sekundären Inhaltsstoffe in Pflanzen dar [89]. Innerhalb der Solanaceen herrschen Flavonole vor und hierbei dominieren Quercetine und Kämpferole, wie bereits unabhängig voneinander in der Literatur mehrfach berichtet wurde [1], [65], [67], [81], [90]. Dieser Befund wird in der vorliegenden Arbeit bestätigt. Die von uns isolierten Flavonoidglykoside sind in der Gattung *Lycium* bereits bekannt, ebenso das innerhalb der Solanaceen seltene Baimasid (Quercetin-3-*O*-sophorosid) [81]. Die Zuckerreste sind ausschließlich an der Position 3 mit dem Aglykons verbunden. Strukturen mit zusätzlicher Glykosylierung an C-7, die zum Beispiel aus den Blättern von *L. halimifolium* isoliert wurden, konnten nicht gefunden werden [67]. Die Flavonoidglykoside der Stängel konnten schon in der Reihenfolge Baimasid, Rutin und Nikotiflorin über eine RP18-Vakumsäule unter Verwendung von Wasser-Methanol Mischungen voneinander getrennt werden. Quercetinglykoside eluieren hier erwartungsgemäß eher als ihre Kämpferolanaloga und Desoxyzucker später als ihre Analoga mit zusätzlicher Hydroxygruppe [90]. Über Gelchromatographie an Sephadex LH-20 wurden alle drei Strukturen mit etwa demselben Elutionsvolumen gewonnen. Die Trennung der Flavonoidglykoside in den Blättern wurde in erster Linie über RP18 auf HPLC erreicht, nachdem sie nach Chromatographie mit Sephadex LH-20 in einer einzigen Fraktion konzentriert vorlagen. Im ersten Schritt wurde Rutin von Kämpferolglykosiden getrennt und diese dann voneinander mithilfe eines flacheren Gradienten, wobei gemäß Literatur [90] das galaktosehaltige Biorobin früher eluierte als sein Glukosidanalogon Nikotiflorin. Der methanolische Extrakt der Blätter wurde nicht mehr aufgearbeitet. Hier wird noch eine große Menge an Flavonolglykosiden vermutet, da bereits im Ethylacetatextrakt vor allem mit Rutin gute Ausbeuten erreicht werden konnten. Isoquercitrin, Quercetin-3-methylether und

Quercetin konnten über Chromatographie an Sephadex LH-20 im Ethylacetatextrakt der Blätter in der letzten Fraktion angereichert werden und analog in den Stängeln Quercetin-3,3'-dimethylether und Quercetin-3-methylether in der vorletzten Fraktion. Quercetin konnte in den Stängeln über Chromatographie an Sephadex LH-20 von den beiden Methylethern abgetrennt werden. Im letzten Reinigungsschritt über RP 18 auf der HPLC eluierten die Substanzen in der erwarteten Reihenfolge Isoquercitrin, Quercetin und Quercetin-3-methylether bzw. Quercetin-3-methylether und Quercetin-3,3'-dimethylether. Speziell die Methylether fielen bereits bei der dünnenschichtchromatographischen Überprüfung von Subfraktionen auf. Sie ergaben zusätzlich zur Detektion mit Naturstoffreagenz mit Anisaldehyd eine gelbliche Farbvertiefung auf der Kieselgelschicht. Der Flavonoidgehalt von Pflanzen unterliegt oft jahreszeitlichen Schwankungen. In einer Studie in China wurde die Flavonoidakkumulation der Blätter von *L. barbarum* in Abhängigkeit von der Jahreszeit untersucht, wobei die Blätter stets vom selben Standort zu verschiedenen Zeiten gesammelt wurden. Es wurde festgestellt, dass der Flavonoidgehalt im Frühsommer ein Maximum von 2% erreichte, im August bei 1.36% lag, um dann im Spätsommer bis Oktober weiter stark abzufallen (auf 0.36%). Weiterhin wurden die Konzentrationen der Aglykone Quercetin, Kämpferol und Isorhamnetin miteinander verglichen und festgestellt, dass Quercetin jederzeit über Kämpferol und Isorhamnetin dominierte [68]. Des Weiteren spielen auch Umweltbedingungen eine Rolle für die Akkumulation von Flavonoiden. Intensive UV-Bestrahlung durch das Sonnenlicht führt zu einer lichtinduzierten Synthese von Flavonoiden [89]. Eine Untersuchung des Flavonoidspektrums von *L. anatomicum* von verschiedenen Standorten sowie eine Untersuchung des Flavonoidgehaltes in Abhängigkeit von der Jahreszeit bzw. von den ökologischen Bedingungen könnten interessante Nachfolgeprojekte zur vorliegenden Arbeit sein.

Speziell für Tabak konnte überdies gezeigt werden, dass Infektion mit Tabakmosaikvirus zu einer gesteigerten Produktion von Rutin führt, welches in der Gattung *Nicotiana* das dominierende Flavonoidglykosid zu sein scheint. Eine Studie untersuchte in Blüten den Flavonoidgehalt von 63 Arten der Gattung *Nicotiana* und konnte Rutin als einziges Flavonoidglykosid aus allen Spezies isolieren, während das Vorkommen anderer Flavonoidglykoside variabel war [90].

Methylether von Quercetin und Kämpferol sind innerhalb der Familie der Solanaceae bereits bekannt. Die ersten derartigen Strukturen wurden mit Quercetin-3-methylether und Quercetin-

3,3'-dimethylether als Exkretflavonoide aus den Blüten von *N. tabacum* isoliert [91]. Es wurde postuliert, dass Methylether von Flavonoiden ausschließlich im Blütenkelch (Calyx) und sekretorischen Strukturen oberirdischer Organe vorkommen. Für die Familie der Nachtschattengewächse kennt man Blattdrüsenhaare [71]. Einzig bei *S. sarrachoides*, einer von insgesamt elf willkürlich untersuchten Spezies der Gattung *Solanum*, wurden Quercetin-3-methylether und Kämpferol-3-methylether gefunden, indem man die intakten Blätter für 30 Sekunden in Chloroform tauchte [91]. *S. sarrachoides* besitzt als einzige von den elf untersuchten Spezies Blattdrüsenhaare. Die Literatur beschreibt die Lokalisation der Methylether in den Zellwänden und wichtige physiologische Bedeutungen z. B. (extrazelluläre) Adsorption von UV-Strahlung und Abwehr von Fraßfeinden [92]. Methylether von Flavonoiden wurden in der Gattung *Lycium* mit Isorhamnetin (Quercetin-3'-methylether) aus den Blättern von *L. barbarum* bereits isoliert [68]. *Lycium* besitzt Drüsenhaare [73], womit das Vorkommen von Quercetin-3-methylether in den Blättern und das von Quercetin-3-methylether und Quercetin-3,3'-dimethylether in der Stängeldroge erklärt werden kann. Die von uns isolierten Exkretflavonoide wurden in der Gattung *Lycium* bisher noch nicht gefunden.

Das Vorherrschen von Scopoletin über sein Glykosid Scopolin und andere Cumarine ist für viele Gattungen und Arten innerhalb der Solanaceen bekannt [19]. Da bisher noch kein cumarinfreies Nachtschattengewächs beschrieben wurde und Cumarine in sämtlichen Organen zu akkumulieren scheinen, wurde das Vorkommen in Stängeln und Blättern von wenigstens Scopoletin bei der Aufarbeitung von *L. anatomicum* erwartet und auch bestätigt. Aus den beiden Spezies *L. barbarum* und *L. chinense* wurde das Vorkommen von Scopoletin (und nebenher Scopolin, selten Fabiatrin) in Wurzelrinde, Blättern und Früchten unabhängig voneinander mehrmals berichtet [56], [62], [63], [64]. Eine Studie untersuchte die Verteilung von Scopoletin in sämtlichen pflanzlichen Organen innerhalb der Nachtschattengewächse und fand speziell für *L. barbarum* Scopoletin in Wurzeln und Sprossachsen angereichert. Bezogen auf jeweils 100 g Frischgewicht enthielt die Sprossachse 1.9 mg und die Wurzeln 0.9 mg Scopoletin. Spuren von Umbelliferon, die ausnahmslos in den Wurzeln gefunden wurden, sollen laut Literatur biosynthetische Vorstufen für Scopoletin sein, dessen Synthese in der Wurzel stattfindet. Weiterhin wurde die Akkumulation von Scopoletin in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand (in Wurzeln von *N. tabacum*) der Pflanze untersucht und festgestellt, dass der Scopoletingehalt während des Wachstums eine auffallende Depression zeigte, um

dann zu Beginn der Blüte sprunghaft anzusteigen [19]. Die beiden Cumarine Scopoletin und Scopolin fielen im Verlauf der Isolierung bei der dünnenschichtchromatographischen Überprüfung von Subfraktionen der Extrakte Dichlormethan bzw. Ethylacetat durch ihre intensive blaue Fluoreszenz unter langwelligen UV-Licht (Analysenquarzlampe) auf, die in der Literatur für Scopoletin bekannt ist [78]. Eine methanolische Lösung von Scopoletin erschien bereits im Tageslicht auffallend blau schimmernd (im Gegensatz zu methanolischen Lösungen anderer Substanzen, die unter UV-Licht fluoreszierten).

Mit (3S, 5R)-Loliolid und (3S, 5S)-Isololiolid wurden zwei C11-Isoprenoide und mit Dehydrovomifoliol ein C13-Norisoprenoid ausschließlich aus dem Dichlormethanextrakt der Blätter isoliert. Die drei terpenoiden Strukturen fielen bereits in entsprechenden Subfraktionen bei der dünnenschichtchromatographischen Überprüfung durch die pinkfarbenen Zonen auf Kieselgelplatte nach Derivatisierung mit Anisaldehyd auf, die in keinem anderen Extrakt bzw. Subfraktion detektiert wurden. Mit Anisaldehyd färben sich niedermolekulare Terpene sehr oft blau, grün, braun, rot oder rotviolett und zeigen keine charakteristische Fluoreszenz [78]. Zudem ging ausschließlich von den isoprenoidangereicherten Fraktionen ein herber an Tabak erinnernder Geruch aus. Die große Ähnlichkeit ihrer Strukturen bedingte, dass sie selbst nach mehreren unterschiedlichen Trennmethoden über offene Säulen, die zweimalige Adsorptionschromatographie an Kieselgel, Chromatographie an Sephadex LH-20 und Verteilungschromatographie an RP18 (Vakumsäule) beinhaltete, unter den jeweiligen Bedingungen nicht voneinander getrennt werden konnten. Erst nach wiederholter Aufarbeitung der letzten nach offener Säulenchromatographie erhaltenen Subfraktion konnten größere Ausbeuten an Loliolid und erheblich geringere Mengen an Isololiolid und Dehydrovomifoliol gewonnen werden. Loliolid ist die einzige in vorliegender Arbeit isolierte Verbindung, die auch im Tierreich vorkommt im speziellen bei Meeresschnecken der Gattung *Dolabella* [93]. Darüberhinaus wurde Loliolid in vielen marin Algen [84] und neuerdings seit Anfang dieses Jahres auch in Grünalgen des Mittelmeerraumes gefunden [94]. Seine Biosynthese in Meeressedimenten aus polyterpenoiden Carotenoiden wurde bereits untersucht, nachdem man hier als organische Verbindungen die drei Hauptkomponenten Loliolid, Isololiolid und daneben Dihydroactinidiolid nachweisen konnte [93], [95]. Das mit Abstand vorherrschende Pigment mariner Sedimente wurde als Fucoxanthin identifiziert und dessen spontaner photooxidativer, mit hoher Rate stattfindender Zerfall lieferte beinahe ausschließlich (3S, 5R)-Loliolid; dessen Stereochemie ist bereits in der Ausgangsverbindung

Fucoxanthin festgelegt ist. Der Abbau der in geringeren Mengen vorkommenden Carotenoide, z.B. Zeaxanthin, geht langsamer vonstatten und liefert als Hauptprodukte sowohl (3S, 5R)-Loliolid und (3S, 5S)-Isololiolid als auch geringe Mengen racemisches Dihydroactinidiolid. Gemäß der Stereochemie der Substrate ist die 3(S)-Konfiguration in den Produkten festgelegt und es entstehen beide Isomere des Loliolids in etwa derselben Ausbeute. Als Zwischenstufen des Carotenoidabbaus wurden bizyklische instabile Furanoxide postuliert, die zu den eben genannten Terpenlactonen führen [95]. Lactone kommen als Bitterstoffe im Pflanzenreich vor. Für Loliolid wurde zudem eine physiologische Funktion bei der Abwehr von Fraßfeinden beschrieben [27]. Auffallend ist, dass Isololiolid nur selten und wenn dann nur in Kombination mit Loliolid isoliert wurde und bei gleichzeitiger Isolierung beider Loliolide die Ausbeute an Loliolid meistens beachtlich dominierte. Dies war es auch in vorliegender Arbeit der Fall; die Reinigung von Isololiolid durch eine zusätzliche Säulenchromatographie an der HPLC dürfte wohl kaum zu solch signifikanten Unterschieden in der Ausbeute beigetragen haben.

Das Vorkommen von Loliolid und seltener Isololiolid in Nachtschattengewächsen wurde gelegentlich beschrieben. So konnte z.B. aus den Blättern (2.2 kg Trockengewicht) von *Acnistus arborescens* 11.7 mg Loliolid gewonnen werden [96]. Die frischen Früchte (260 g Frischgewicht) von *Capsicum annuum* enthielten 0.7 mg Loliolid [41]. Aus Blättern (15 kg Frischgewicht) von *Nicandra physalodes* wurden 30 mg Loliolid (hier als Nicandrenon 15 bezeichnet) isoliert [27]. Blätter von *Nicotiana tabacum* (295 kg Frischgewicht) enthielten 3.1 mg Loliolid und 4.2 mg Isololiolid. Blätter (1.8 kg Trockengewicht) von *Viburnum dilatum* (Caprifoliaceae) ergaben 25 mg Loliolid und 10 mg Isololiolid [98]. Die genannten Beispiele beziehen sich auf Isolation aus Extrakten, die nicht durch Wasserdampfdestillation des Pflanzenmaterials gewonnen wurden. Aus der Gattung *Lycium* wurde bisher weder Loliolid noch Isololiolid isoliert, wohl aber (durch Wasserdampfdestillation der Beeren) das strukturell innerhalb der C11-Isoprenoide am nächsten verwandte Dihydroactinidiolid [39]. Die Biosynthese der beiden Loliolide in der intakten Pflanze wird in der Literatur generell einem Abbau der hochmolekularen Carotenoide zugeschrieben ohne Angabe des Mechanismus. Wenn spontaner Zerfall gleich den Pigmenten im marinen Plankton überwiegend oder ausschließlich vorläge, dann würde man zunächst beide Isomere in annähernd gleichen Ausbeuten erhalten. Für die offensichtliche Ungleichverteilung spricht ein enzymatischer Abbau von Carotenoiden, wobei üblicherweise stereoselektiv nur ein Produkt, in dem Fall

Loliolid, gebildet wird. Das Auftreten von Isololiolid als Minorprodukt kann daher kommen, dass neben enzymatischer Aktivität auch Photooxidation in erheblich geringeren Umfang in der intakten Pflanze oder erst nach der Ernte des Pflanzenmaterials stattfindet. Aromastoffe werden zunächst als glykosidische nichtflüchtige Verbindungen gespeichert und dann während der Fruchtreife bzw. Aufbereitung des Pflanzenmaterials nach der Ernte (Weintrauben, Tabakblätter) aus ihren Glykosiden als flüchtige Verbindungen freigesetzt [99]. Ein Glukokonjugat von Loliolid, nicht aber Isololiolid, wurden schon isoliert, beispielsweise aus Tabakblättern [100]. Das spricht einmal mehr für den Umstand, dass Loliolid und nicht Isololiolid das „richtige“ Isomer aus enzymkatalysierten Abbauprozessen von Carotenoiden darstellt, das dann wiederum enzymatisch durch Glykosylierung „weiterverarbeitet“ werden kann.

Dehydrovomifoliol wird in die Klasse der C13-Norisoprenoide eingeordnet für deren Biosynthese ebenfalls der Carotenoidabbau und speziell bei Tabak zusätzlich die Biogenese aus dem Abbau der diterpenoiden Thunberganoide postuliert wird [100]. Die C13-norisoprenoiden Geschmacksstoffe sind aus vielen Familien bekannt und tragen als flüchtige aglykosidische Verbindungen beispielsweise zum Weinaroma bei [99]. Speziell für Vomifoliol wurde darüber hinaus eine Funktion bei der Regulation für das Öffnen und Schließen der Stomata beschrieben [101]. Glykosidische und dann nichtflüchtige Verbindungen wurden seltener isoliert, z. B. Citrosid A aus *Solanum quitoense* (Lulo) [102]. Aus *Lycium* wurden bereits nicht glykosidische Norisoprenoide durch Wasserdampfdestillation der halbgetrockneten Beeren von *L. chinense* [39], der luftgetrockneten Beeren von *L. ruthenicum* und *L. barbarum* [45] oder den Blättern von *L. halimifolium* isoliert [71] und mittels GC-MS identifiziert. Der flüchtige Hauptinhaltsstoff der Blätter war Damascenon (C13) unter einer großen Anzahl weiterer Norisoprenoide. Innerhalb der Carotenoidabkommlinge wurde die quantitativ deutlich dominierende Hauptkomponente der Beeren von *L. chinense* als Dihydroactinidiolid identifiziert und aus der Unterkategorie der C13-Norisoprenoide stellte  $\beta$ -Ionon den Hauptinhaltsstoff. Die Früchte von *L. barbarum* enthielten als Hauptbestandteil innerhalb der Norisoprenoide  $\beta$ -Ionon. Aus den Früchten von *L. ruthenicum* konnte man kein einziges unmittelbar von Carotenoiden abgeleitetes Molekül mit der Grundstruktur des Trimethylcyclohexans finden. Die Speicherung der flüchtigen Verbindungen erfolgt in den Drüsenhaaren. Innerhalb von Geweben liegende Speicherorte für Exkrete, z. B. Ölbehälter oder Ölzellen, wurden bei Solanaceen noch nicht bekannt [71]. Das

in vorliegender Arbeit isolierte Dehydrovomifoliol konnte in *Lycium* und möglicherweise auch innerhalb der Solanaceen noch nicht gefunden werden. Die Stereochemie an C-6 wurde wegen der sehr geringen Ausbeute nicht bestimmt.

Solanaceen und wenige andere Familien, darunter Apocynaceae, Berberidaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae und Rubiaceae sind für die Synthese von Alkaloiden besonders bekannt [103], wobei sich speziell die Solanaceen durch das Vorkommen der klassischen Tropanalkaloide auszeichnen. Die Gattung *Lycium* gehört nach bisherigem Erkenntnisstand nicht zu den Nachtschattengewächsen, die Alkalioide vom Hyoscyamintyp synthetisieren. In Früchten von *L. barbarum* wurde Atropin nur in Spuren nachgewiesen [60]. Für die Giftigkeit von *L. halmifolium* wurden landläufig Tropanalkaloide vermutet, woraufhin die Blätter von in der Schweiz und Griechenland gesammelten Exemplaren wiederholt und gezielt daraufhin untersucht wurden und das Vorkommen der klassischen Tropanalkaloide ausgeschlossen werden konnte. Nach Meinung der Autoren ist die Giftigkeit wenigstens zum Teil auf Scopoletin zurückzuführen [62]. Mit demselben negativen Ergebnis für die Untersuchung auf Tropanalkaloide in vorliegender Arbeit kann mit *L. anatolicum* ein weiteres Beispiel dafür erbracht werden, dass die Gattung *Lycium* wahrscheinlich keine Tropanalkaloide führt.

Interessante stickstoffhaltige Verbindungen wurden mit Strukturen aus der Klasse der phenolischen Säureamide isoliert, die sich aus einer ungesättigten phenolischen Carbonsäure und einem aromatischen Amin zusammensetzen und in vielen Familien verbreitet sind; in Einzelfällen konnte man auch Konjugate mit aliphatischen Aminen, z.B. Caffeoylputrescin und Feruloylputrescin aus *S. tuberosum* isolieren [104]. Ihre Synthese scheint konstitutiv in allen Organen stattzufinden mit Präferenz in reproduktiven Organen [105], [106]. Die höheren Ausbeuten an Säureamiden wurden in vorliegender Arbeit aus der Stängeldroge isoliert. Die Hydroxycinnamoyl-CoA:Tyramin N-(hydroxycinnamoyl)transferase (THT) katalysiert die Verknüpfung der Substratmoleküle unter Freisetzung von Coenzym A und - innerhalb der Solanaceen betrachtet- wurde die Substratspezifität dieses Enzyms untersucht. Die THT aus *Capsicum annuum*, *Solanum tuberosum*, *Lycopersicon esculentum* und *Nicotiana tabaccum* hat die höchste Affinität für Feruloyl-CoA, gefolgt von Sinapoyl-CoA, 4-Coumaroyl-CoA und zuletzt Caffeoyl-CoA, während das Enzym aus Tabak Caffeoyl-CoA als Substrat nicht mehr akzeptierte. Mit Feruloyl-CoA verknüpfte das Enzym bevorzugt Tyramin und erst dann Octopamin und mit niedriger Affinität Dopamin. Die THT aus Kartoffel akzeptierte noch zusätzlich Noradrenalin als Substrat [107]. Demzufolge kann N-

Feruloyltyramin (Moupinamid) zunächst in hoher Ausbeute in Nachtschattengewächsen vorkommen. Bei *Capsicum annuum* tritt der quantitative Unterschied deutlich hervor. Aus Wurzeln (21 kg Trockengewicht) wurden 260 mg *trans*-N-Feruloyltyramin isoliert. An zweiter Stelle lag N-para-Cumaroyltyramin (Paprazin) mit nur 50 mg Ausbeute [86]. Aus *Deprea subtriflora* wurde nur Feruloyltyramin sowohl als *cis*- als auch *trans*-Isomer isoliert [109]. In vorliegender Arbeit konnte ähnliches beobachtet werden. *Trans*-Moupinamid war sowohl in Stängeln als auch Blättern das vorherrschende Säureamid gefolgt von *trans*-Paprazin.

Arttypisch können jedoch große Unterschiede in der Verteilung von möglichen Kombinationen oder auch ungewöhnliche Strukturen auftreten. Für *Lycium* werden hierzu in der Literatur einige Beispiele genannt: Die Wurzelrinde von *L. chinense* enthielt Dihydro-N-caffeoyleltyramin in etwa fünffach höherer Ausbeute als *trans*-N-Feruloyloctopamin, *trans*-N-Caffeoyltyramin und *cis*-N-Caffeoyltyramin [47]. Aus den Früchten von *L. barbarum* wurde para-methoxy-*cis*-N-Cinnamoyldopamin isoliert [48], [49]. Die Blätter von *L. cestroides* enthielten jeweils beide Isomere von N- $\alpha$ -Cinnamoylhistamin und N- $\alpha$ -Cinnamoyl-N<sub>1</sub>-methylhistamin [50]. Arttypisch scheint es Isoenzyme der THT mit unterschiedlicher Substratspezifität zu geben. In der Gattung *Lycium* sind die von uns isolierten Strukturen *cis*-N-Feruloyloctopamin, *cis*-Moupinamid, *trans*-Moupinamid und *trans*-Paprazin bisher noch nicht beschrieben worden.

Die *cis*-Isomere stellen wahrscheinlich Artefakte der Aufreinigung dar. Bekanntermaßen kann eine *trans*-olefinische Doppelbindung in die *cis*-Konfiguration unter dem Einfluß ultravioletter Strahlung isomerisieren [110]. Eine Studie konnte eindrucksvoll belegen, dass die nativen Säureamide in der stabileren *trans*-Konfiguration vorliegen, indem sie *in vitro* Zellen von *Solanum tuberosum* mit einem Elizitor behandelten und so die Konfiguration der daraufhin verstärkt synthetisierten Säureamide untersuchten. Aus Kulturen, die im Dunkeln gehalten wurden, konnten beinahe ausnahmslos *trans*-konfigurierte Produkte erhalten werden, während eine beachtliche Menge der isolierten Säureamide auch in der *cis*-Konfiguration vorlag [106], wenn die Durchführung des gesamten Versuches unter Einfluß von Licht (und damit UV-Strahlung) stattfand. Die von uns beobachtete permanente Umwandlung der *cis*-Form von ausschließlich N-Feruloyloctopamin in sein *trans*-Isomer und umgekehrt wurde noch nicht beschrieben. Die Literatur berichtet über die Isolierung von N-*trans*-Feruloyloctopamin und N-*cis*-Feruloyloctopamin als voneinander getrennte Strukturen bei

*Solanum tuberosum* [87] und stellt die Stabilität von N-trans-Feruloyloctopamin und N-trans-Coumaroyloctopamin aus *Capsicum annuum* [86] nicht in Frage. Möglicherweise liegt der Grund der beobachteten Dynamik in dem vorhandenen chiralen Stereozentrum des Moleküls, denn alle anderen von uns isolierten achiralen Säureamide waren stabil. Feruloyloctopamin besitzt ein Stereozentrum an C-7', dessen Konfiguration in der vorliegenden Arbeit wegen der geringen Ausbeute experimentell nicht bestimmt wurde.

Es gibt noch eine zweite Klasse von Transferasen, die Hydroxycinnamoyl-CoA:Serotonin N-(Hydroxycinnamoyl) transferase (SHT), die z. B. in *Capsicum annuum* zusätzlich zu THT konstitutiv in allen Geweben exprimiert wird und die Synthese von Feruloylserotonin und para-Cumaroylserotonin katalysiert [107]. Aufgrund konservierter Aminosäurereste besitzt das Enzym eine Spezifität für Serotonin. Umgekehrt akzeptiert die THT Serotonin nicht als Substrat [108]. Die serotonininhaltigen phenolischen Säureamide wurden in Pflanzen bisher nur selten gefunden. Ihnen wird eine Funktion als Antioxidans zugeschrieben. Die physiologische Bedeutung der phenolischen über das Enzym THT gebildeten Säureamide wird im Schutz gegen phytopathogene Pilze und Bodenbakterien vermutet [87], [106]. *Trans*-Moupinamid soll direkt das Hyphenwachstum von Pilzen hemmen [106]. Die drei *trans*-konfigurierten phenolischen Säureamide aus der Wurzelrinde von *L. chinense* erwiesen sich -unabhängig ihrer Zusammensetzung- in einer Studie als etwa gleich aktiv gegen die humanpathogenen Hefepilze *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichosporon beigelii* und *Candida albicans*. Das nicht natürlich vorkommende *cis*-N-Caffeoyltyramin war erst in vier bis achtfacher Konzentration wirksam [47]. In mehreren Studien konnte unabhängig voneinander gezeigt werden, dass Elizitorbehandlung in vitro und direkte Einschleusung eines Pathogens in vivo zu einer Akkumulation von phenolischen Säureamiden führte. Eine Zellkultur von *S. tuberosum* wurde mit einem Elizitor aus *Phytophthora infestans*, dem Erreger der wirtschaftlich bedeutenden Kraut- und Knollenfäule, infiziert und ein verstärkter Einbau phenolischer Säureamide in die Zellwand sowie deren Sekretion ins Medium (gleichbedeutend mit apoplasmatischer Raum in der intakten Pflanze) konnte beobachtet werden, zusammen mit einer signifikanten Hochregulation der Enzymaktivitäten für Phenylalaninammoniumlyase und Tyrosin-decarboxylase, die an der Synthese von Tyramin beteiligt sind [111]. Dasselbe Ergebnis wurde erhalten, wenn der Kartoffelpflanze in vivo direkt *P. infestans* injiziert wurde [112]. Im sog. „Kartoffelschorf“ (common scab lesion), der ein Resultat der Infektion mit dem Bodenbakterium *Streptomyces scabies* darstellt, konnte eine signifikante Anreicherung

phenolischer Säureamide festgestellt werden als frühe Antwort auf Pathogenbefall und dessen Abwehr [87]. In transgenen Tabakpflanzen, die mit dem Gen für Tyrosin-decarboxylase aus *Petroselinum crispum* (Petersilie) ausgestattet wurden, konnte eine erhöhte Enzymaktivität und Anreicherung von zellwandgebundenem Tyrosin festgestellt werden. Tryptamin-decarboxylase überexprimierende Tabakpflanzen waren signifikant resistenter gegenüber Befall durch die Tabakmottenschildlaus („weiße Fliege“, *Bemisia tabaci*). In transgenen Kartoffelpflanzen, die Tyrosin-decarboxylase überexprimierten, konnte überraschenderweise keine vermehrte Produktion von freien oder zellwandgebundenen Säureamiden festgestellt werden. Stattdessen wurde eine für *S. tuberosum* bis dahin unbekannte Struktur in hoher Konzentration gefunden, die als Salidrosid (Tyrosolglykosid) identifiziert wurde. Die Literatur vermutet die Entstehung von Tyrosol aus Tyramin über 4-Hydroxyphenylacetaldehyd, nachdem auch hohe Enzymaktivitäten für Monoaminoxidase und Tyrosolglykosyltransferase nachgewiesen werden konnten und postuliert, dass hohe Konzentrationen an Tyramin arttypisch über Metabolisierung zu Tyrosol und Speicherung in Form seines Glykosids abgefangen werden [112]. In vorliegender Arbeit wurde Tyrosol aus den Blättern isoliert. In der Gattung *Lycium* konnte es bisher noch nicht gefunden werden. Innerhalb der Solanaceen wurde Tyrosol nach bisherigen Erkenntnissen nur aus *S. validinervium* bekannt [113]. Tyrosol wirkt gegen Schimmelpilze, z. B. *Gibberella pulicaris*, dem Verursacher der Trockenfäule (dry rot disease) gelagerter Kartoffeln [114]. Olivenöl enthält Tyrosol als ein Hauptphenol und sein antifungizides Potential gegen Vertreter der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* ist bekannt [115]. Erst 2005 wurde aus Olivenöl ein interessantes von Tyrosol abgeleitetes Derivat, Oleocanthal, isoliert, das zur antiinflammatorischen Wirkung der mediterranen Nahrung beitragen soll [116].

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Gattung *Lycium* aus der Familie der Nachtschattengewächse wurde bisher phytochemisch sehr wenig untersucht.

Nur für eine einzige Art; *Lycium chinense* (Chinesische Wolfsbeere), ist eine bedeutende medizinische Nutzung bekannt. Die traditionelle chinesische Medizin (TCM) zählt *L. chinense* seit über 2000 Jahren zu den wichtigsten Arzneipflanzen und verwendet die halbgetrockneten Beeren (*Lycii fructus*) allgemein als Tonikum und speziell gegen Unfruchtbarkeit und bei Augenproblemen. Zubereitungen aus den Blättern (*Lycii folium*) werden als antiphlogistisch wirksamer Tee eingenommen. In der Volksmedizin des vorderen Orients werden wässrige Auszüge aus der Wurzelrinde (*Lycii radicis cortex*) als Tonikum und gegen Bluthochdruck eingesetzt. Der Saft der frischen Früchte (Goji-Saft) gewinnt gerade in westlichen Ländern zunehmende Bedeutung als Lebensmittel und scheint von hohem ernährungsphysiologischem Wert zu sein.

Zahlreiche Publikationen hinsichtlich des Inhaltsstoffspektrums der Gattung *Lycium* beziehen sich daher auf Untersuchungen der Wurzeln, Blätter und Früchte von *L. chinense* und *L. barbarum* (Gewöhnlicher Bocksdorn), die vermutlich als zweite Stammpflanze für die Drogenzubereitungen verwendet wird.

In der vorliegenden Arbeit sollten nun mit *L. anatolicum*, einer in der Türkei endemischen Art, bisherige Erkenntnisse zum Inhaltsstoffspektrum der Gattung bestätigt und erweitert werden. Hierzu wurden Extrakte aus getrockneten Stängeln und Blättern hergestellt und umfassend phytochemisch aufgearbeitet.

Die Aufreinigung erfolgte über verschiedene Formen der Säulenchromatographie (SC). Bei der offenen SC kamen die Trennprinzipien der Adsorptionschromatographie an Kieselgel, Verteilungschromatographie an RP18 und Chromatographie an Sephadex LH-20 zum Einsatz. Die jeweiligen gesammelten Fraktionen wurden grundsätzlich dünnenschichtchromatographisch an Kieselgel überprüft und nach Detektion mit UV-Licht (Quarzlampe; Anregungswellenlängen 254, 366 nm) und Anisaldehyd-Sprühreagenz zu Subfraktionen vereinigt. In manchen Fällen wurden Fraktionen auf RP18-Platten untersucht und gelegentlich

erfolgte die Detektion mit spezifischen Sprühreagenzien, um vorab Informationen über die Stoffklasse und / oder besondere Strukturmerkmale zu erhalten.

Die abschließende Auftrennung von Subfraktionen bzw. Reinigung von Einzelsubstanzen wurde über die HPLC an RP18 Material mit Wasser-Methanol-Gemischen durchgeführt, wobei hier über den gesamten Wellenlängenbereich von 200 bis 400 nm detektiert wurde.

Strukturaufklärung erfolgte über ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie. Die chemischen Verschiebungen des Kohlenstoffs wurden bei geringen Substanzmengen invers über heteronukleare Korrelationsexperimente ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  - HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  - HMBC) ermittelt. Die Bestimmung der Stereochemie und die Ermittlung von Spinsystemen erfolgte über Kopplungskonstanten bzw. homonukleare dipolare Kopplungen zwischen Protonen ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  - NOESY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  - ROESY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  – TOCSY).

Massenspektrometrische Untersuchungen (EI-MS, ESI-MS) wurden in erster Linie zur Ermittlung der molaren Masse herangezogen.

Insgesamt wurden Flavonole, Alkaloide (genauer: phenolische Säureamide), Cumarine, Isoprenoide, niedermolekulare phenolische Verbindungen und Steroide aus den Extrakten Dichlormethan, Ethylacetat und Methanol der Stängeldroge bzw. Dichlormethan und Ethylacetat der Blattdroge isoliert, wobei der methanolische Extrakt der Blattdroge in der vorliegenden Arbeit nicht mehr aufgearbeitet wurde.

Aus dem methanolischen Extrakt der Stängel dominierte Rutin über Baimasid und Nikotiflorin, zwei weitere Flavonoidglykoside. Im Ethylacetat-Extrakt lagen die phenolischen Säureamide *cis/trans*-N-Feruloyloctopamin, *cis*-Moupinamid, *trans*-Paprazin und *trans*-Moupinamid angereichert vor, das Cumaringlukosid Scopolin sowie die Flavonolaglyka Quercetin und dessen methylierte Derivate Quercetin-3-methylether und Quercetin-3,3'-dimethylether konnten hier ebenfalls isoliert werden.

Der Dichlormethan-Extrakt enthielt vier Steroide, deren Strukturaufklärung noch nicht abgeschlossen ist sowie das Cumarin Scopoletin.

Aus dem Ethylacetat-Extrakt der Blätter wurden die phenolischen Säureamide *cis*-Moupinamid, *trans*-Moupinamid und *trans*-Paprazin isoliert, ebenso die Flavonoidglykoside Rutin, Nikotiflorin und Biorobin, das Phenol Tyrosol, das Flavonoidglykosid Isoquercitrin sowie die Aglyka Quercetin und Quercetin-3-methylether. Der Dichlormethan-Extrakt

beinhaltete die C11-Isoprenoide Loliolid, Isololiolid, das C13-Norisoprenoid Dehydrovomifoliol sowie das Cumarin Scopoletin.

Das gefundene Flavonoidspektrum deckt sich mit Angaben aus der Literatur, wonach Vertreter der Gattung *Lycium* mit Derivaten von Quercetin und Kämpferol in erster Linie Flavonole synthetisieren. Sämtliche Glykoside des Quercetins und Kämpferols sowie Quercetin per se wurden aus *Lycium* bereits isoliert. Neu ist das Auftreten der beiden Methylether von Quercetin in der Gattung *Lycium*, die Exkretflavonoide darstellen.

Innerhalb der Cumarine wurden gerade Scopolin und Scopoletin in *Lycium* bereits vielfach gefunden.

Terpene mit vielen Derivaten des Ionons als flüchtige Komponenten des ätherischen Öls sind bereits bekannt, jedoch konnten die Verbindungen Loliolid, Isololiolid und Dehydrovomifoliol bisher in *Lycium* noch nicht gefunden werden.

Eine weitere Ergänzung des Inhaltsstoffspektrums stellen die phenolischen Säureamide dar. Aus *Lycium* wurden bisher viele verschiedene Kondensate (un)gesättigter phenolischer Carbonsäuren mit aromatischen Aminen, u. a. auch die von uns isolierte Verbindung trans-N-Feruloyloctopamin (ohne die von uns berichtete permanente Umlagerung der beiden geometrischen Isomeren) isoliert. Das Vorkommen von *cis*-N-Feruloyloctopamin, *cis*-Moupinamid, *trans*-Moupinamid und *trans*-Paprazin in *Lycium* wurde bisher noch nicht berichtet. Das Phenol Tyrosol ist für die Gattung ebenfalls neu.

Die isolierten Verbindungen sind im Pflanzenreich alle bekannt und auch innerhalb der Solanaceen mehr oder weniger weit verbreitet. Nach unserer Literaturrecherche wurden bereits alle mit Ausnahme von Dehydrovomifoliol aus der Familie Solanaceae isoliert. Für die Gattung *Lycium* konnte das Inhaltsstoffspektrum um zehn von 19 gefundenen Substanzen erweitert werden.

## 6. Anhang

### 6.1 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1: Strukturen von Nikotin, Nornikotin, Anabasin und Anatabin

Abb. 1.2: Strukturen von (*S*)-Hyoscyamin und Tigloidin

Abb. 1.3: Strukturen von Tropinon und Calystegin A<sub>5</sub>

Abb. 1.4: Struktur von 25(*R*)-Solasodin

Abb. 1.5: Strukturen von Pyrrol-3-carbamidin, Hygrin und Cuscohygrin

Abb. 1.6: Struktur von Paprazin

Abb. 1.7: Struktur von Capsaicin

Abb. 1.8: Strukturen von Scopoletin und Scopolin

Abb. 1.9: Struktur von Polypodin B

Abb. 1.10: Struktur von Nicandrenon-1 und Bracteosin A

Abb. 1.11: Struktur von Calcitriol

Abb. 1.12: Struktur von Diosgenin

Abb. 1.13: Strukturen von Quercetin und Kämpferol

Abb. 1.14: Struktur von Lariciresinol

Abb. 1.15: Strukturen von Piperiton,  $\beta$ -Ionon und Linalool

Abb. 1.16: Struktur von Lyciumosid-3

Abb. 1.17: Kosmopolitische Verbreitung der Gattung *Lycium*

Abb. 1.18: Struktur von Dihydro-N-caffeoyletyramin

Abb. 1.19: Struktur von Kukoamin B

Abb. 1.20: Struktur von Lyciumamid A

Abb. 1.21: Strukturen von 2-Acetylpyrrol und Pyrridyl-2-carbinol

Abb. 1.22: Strukturen von Emodin und Physcion

Abb. 1.23: Strukturen von Protocatechusäure und Vanillinsäure

Abb. 1.24: Strukturen von Safranal,  $\alpha$ -Ionon und Damascenon

Abb. 1.25: Struktur von Lyciumwithanolid

Abb. 1.26: Lycii radicis cortex und Lycii fructus

Abb. 1.27: *Lycium anatolicum*

Abb. 2.1: Aufreinigungsschema des Dichlormethan-Extraktes der Stängeldroge (Extrakt A)

Abb. 2.2: Aufreinigungsschema des Ethylacetat-Extraktes der Stängeldroge (Extrakt B)

Abb. 2.3: Aufreinigungsschema des Methanol-Extraktes der Stängeldroge (Extrakt C)

Abb. 2.4: Aufreinigungsschema des Dichlormethan-Extraktes der Blattdroge (Extrakt D)

Abb. 2.5: Aufreinigungsschema des Ethylacetat-Extraktes der Blattdroge (Extrakt E)

Abb. 3.1: HMBC-Spektrum von Quercetin (**1**)

Abb. 3.2: NOESY-Spektrum von Quercetin-3,3'-dimethylether (**3**)

Abb. 3.3: HMBC-Spektrum von Quercetin-3,3'-dimethylether (**3**)

Abb. 3.4: HSQC-Spektrum von Isoquercitrin (**4**)

Abb. 3.5: COSY-Spektrum von Isoquercitrin (**4**)

Abb. 3.6: HSQC-Spektrum von Rutin (**5**)

Abb. 3.7: HSQC-Spektrum von Baimasid (**6**)

Abb. 3.8: HMBC-Spektrum von Nikotiflorin (**7**)

Abb. 3.9: HMBC-Spektrum von Scopoletin (**9**)

Abb. 3.10. COSY-Spektrum von Scopolin (**10**)

Abb. 3.11: COSY-Spektrum von Scopolin (**10**)

Abb. 3.12: HSQC-Spektrum von Loliolid (**11**)

Abb. 3.13: HSQC-Spektrum von Isololiolid (**12**)

Abb. 3.14: NOESY-Spektrum von Isololiolid (**12**)

Abb. 3.15: NOESY-Spektrum von *trans*-Paprazin (**14**)

Abb. 3.16: HMBC-Spektrum von *trans*-Paprazin (**14**)

Abb. 3.17: NOESY-Spektrum von *trans*-Moupinamid (**15**)

Abb. 3.18: HSQC-Spektrum von *trans*-Moupinamid (**15**)

Abb. 3.19: HMBC-Spektrum von Tyrosol (**19**)

## 6.2 Abkürzungsverzeichnis

amu: atomare Masseneinheiten

br s: broad singulett

COSY: Correlation Spectroscopy (NMR-Methode)

$\delta$ : chemische Verschiebung

d: doublet

EI: Elektronenstoßionisation (MS-Methode)

ESI: Elektrosprayionisation (MS-Methode)

eV: Elektronenvolt

HMBC: Hetero Multiple Bond Correlation (NMR-Methode)

HSQC: Hetero Single Quantum Correlation (NMR-Methode)

Hz: Hertz (Einheit der Kopplungskonstanten)

$J$ : Kopplungskonstante

M: Multiplizität

MHz: Megahertz (Einheit der Arbeitsfrequenz der NMR- Geräte)

NOESY: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NMR-Methode)

ppm: parts per million (Einheit der chemischen Verschiebung)

ROESY: Rotatory Frame Spectroscopy (NMR-Methode)

s: singulett

t: triplet

TOCSY: Total Correlation Spectroscopy (NMR-Methode)

### 6.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht über die Unterfamilien der Solanaceen mit zugehörigen Stämmen und einer repräsentativen Auswahl an bekannten Gattungen, Gliederung nach Hunziker

Tab. 3.1: Zusammenstellung der isolierten Reinsubstanzen aus Stängeln und Blättern

Tab. 3.2:  $R_f$  – Werte der isolierten Reinsubstanzen bei zwei verschiedenen Laufmittelgemischen

Tab. 3.3: Detektion der isolierten Reinsubstanzen nach Dünnschichtchromatographie

Tab. 3.4: NMR-Daten von Quercetin (**1**)

Tab. 3.5: NMR-Daten von Quercetin-3-methylether (**2**) und Quercetin-3,3'-dimethylether (**3**)

Tab. 3.6: NMR-Daten von Isoquercitrin (**4**)

Tab. 3.7: NMR-Daten von Rutin (**5**) und Baimasid (**6**)

- Tab. 3.8: NMR-Daten von Nikotiflorin (**7**) und Biorobin (**8**)  
 Tab. 3.9: NMR-Daten von Scopoletin (**9**) und Scopolin (**10**)  
 Tab. 3.10: NMR-Daten von Loliolid (**11**) und Isololiolid (**12**)  
 Tab. 3.11: NMR-Daten von Dehydrovomifoliol (**13**)  
 Tab. 3.12: NMR-Daten von *trans*-Paprazin (**14**)  
 Tab. 3.13: NMR-Daten von *trans*-Moupinamid (**15**) und *cis*-Moupinamid (**16**)  
 Tab. 3.14: NMR-Daten von *cis* und *trans*-N-Feruloyloctopamin (**17/18**)  
 Tab. 3.15: NMR-Daten von Tyrosol (**19**)

## 6.4 Literaturverzeichnis

- 1** Eich E (2008) *Solanaceae and convolvulaceae-secondary metabolites: biosynthesis, chemotaxonomy, biological and economic significance*. Springer Verlag ISBN: 3540745408
- 2** Mione T, Olmstead R, Jansen R, Anderson G (1994) Systematic Implications of Chloroplast DNA Variation in Jaltomata and selected Physaloid Genera (Solanaceae). *American Journal of Botany* 81: 912-918
- 3** Barendse G and van der Weerden G: The Conservation of Genetic Resources of the Solanaceae. File:///G: Nijmegen%20Sammlung%der%20Solanaceen.htm
- 4** Frohne D und Jensen U (1998) *Systematik des Pflanzenreichs*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 5. Auflage ISBN: 3804715842
- 5** DeBoer KD, Lye JC, Aitken CD, Su AKK, Hamill JD (2009) The A622 gene in Nicotiana glauca (tree tobacco): evidence for a functional role in pyridine alkaloid synthesis. *Plant Mol Biol* 69: 299-312
- 6** Bottomly W, Nottle RA, White DE (1945) The Alkaloids of *Duboisia hopwoodii*. *Australian Journal of Science* 8: 18-19
- 7** Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer H, Ruth P, Schäfer-Korting M (2008) *Arzneimittelwirkungen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 9. Auflage ISBN: 9783804719521
- 8** Beresford PJ and Woolley JG (1974) Biosynthesis of Tigloidine in *Physalis peruviana*. *Phytochemistry* 13: 2143-2144

- 9** Sanghvi I, Bindler E, Gershon S (1968) Pharmacology of a potential Anti- Parkinson Agent: Tigloidine. *European Journal of Pharmacology* 4: 246-253
- 10** Asano N, Yokoyama K, Sakurai M, Ikeda K, Kizu H, Kato A, Arisawa M, Höke D, Dräger B, Watson AA, Nash RJ (2001) Dihydroxynortropane alkaloids from calystegine- producing plants. *Phytochemistry* 57: 721-726
- 11** Bekkouche K, Daali J, Cherkaoui S, Veuthey JL, Christen P (2001) Calystegine distribution in some Solanaceous Species. *Phytochemistry* 58: 455-462
- 12** Carle R: Investigation on the Content of steroid Alkaloids and Sapogenins within Solanum (1981) *Plant Systematics and Evolution* 138: 61-71
- 13** Toyoda M, Rausch WD, Inoue K, Ohno Y, Fujiyama Y, Takagi K, Saito Y (1991) *Toxicology in vitro* 5: 347-351
- 14** Oliveira RdCM, Lima JT, Ribeiro LAA, Silva JLV, Monteiro FS, Assis TS, Agra MdF, Silva TMS, Almeida FRC, Silva BA (2006) Smasmolytic action of the methanol extract and isojuripidine from *Solanum asterophorum* leaves in guinea pig ileum. *Zeitschrift für Naturforschung C: Journal of Biosciences* 61: 799-805
- 15** Buschi CA and Pomilio AB (1987) Pyrrole-3-carbamidine: A lethal principle from *Nierembergia hippomanica*. *Phytochemistry* 26: 863-865
- 16** Ghani A (1985) Cuscohygrin from some solanaceous plants. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 47: 127-129
- 17** Gonzalez MD, Pomilio AB, Gros EG (1981) Terpenoids and alkaloids from *Nierembergia hippomanica*. *Anales de la Asociacion Quimica Argentina* 69: 297-299
- 18** Kim DK and Lee K (2003) Inhibitory Effect of Trans-N-p- CoumaroylTyramine from the Twigs of *Celtis chinensis* on the Acetylcholinesterase. *Arch Pharm Res* 26: 735-738
- 19** Kala H (1958) Metabolism of coumarins in Solanaceae. *Planta Medica* 6: 186-202
- 20** Plouvier V (1987) Study and distribution of syringoside, skimming and similar coumarinic glycosides and loganoside in several botanical groups. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, serie 3: Sciences de la Vie* 305: 183-186
- 21** Cocallemen S, Chahboun J, Farines M, Soulier J (1992) Sterols of some Solanaceae seeds. A specific sterol? *Lab. Chim. Org. Subst. Nat. Univ. Perpignan, Fr. Oleagineux* 47: 477-480
- 22** Savchenko T, Whiting P, Germade A, Dinan L (2000) Ecdysteroid agonist and antagonist activities in species of the Solanaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* 28: 403-419

- 23** Dinan L, Whiting P, Alfonso D, Kapetanidis I (1996) Certain withanolides from *Iochroma gesnerioides* antagonize ecdysteroid action in *Drosophila melanogaster* cell line. *Entomologu Experimentalis et Application* 80: 415-420
- 24** Ascher K, Nemny N, Eliyahu M, Kirson I, Abraham A, Glotter E (1980) Insect antifeedant properties of withanolides and related steroids from Solanaceae. *Cellular and Molecular Life Science* 36: 998-991
- 25** Mareggiani G, Picollo M, Zenba E, Burta G, Tettamanzi M, Benedetti-Doctorovich M, Veleiro A (2000) Antifeedant activities of withanolides from *Salpichroa origanifolia* on *Musca domestica*. *Journal of Natural Products* 63: 1113-1116
- 26** Tettamanzi M, Veleiro A, Oberti J, Burton G (1996) Ring-D Aromatic ergostane derivatives from *Salpichroa origanifolia*. *Phytochemistry* 43: 461-463
- 27** Begley M, Crombie L, Ham P, Whiting D (1976) Structures of three oxygenated 24-methylsteroids (Nic-3, -7 and -11) from the insect repellent plant *Nicandra physaloides* (Solanaceae). *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bioorganic Chemistry* 3: 296-304
- 28** Yokosuka A, Mimaki Y, Yutaka S (2003) Chantriolides A and B, Two new withanolide glucosides from the rhizomes of *Tacca chantrieri*. *Journal of Natural Products* 66: 876-878
- 29** Khan P, Ahmed S, Rubnawaz H, Malik A (1999) The first report of a withanolide from the family Labiateae. *Phytochemistry* 51: 669-671
- 30** Nawaz H, Malik A (1999) Ajugin E and F two withanolides from *Ajuga parviflora*. *Phytochemistry* 52: 1357-1360
- 31** Riaz N, Malik A, Rehman A, Nawaz S, Muhammad P, Choudhary I (2004) Cholinesterase inhibiting withanolides from *Ajuga bracteosa*. *Chemistry and Biodiversity* 1: 1289-1295
- 32** Gil RR, Lin LZ, Chai HB, Pezzuto JM, Cordell GA (1995) Cardenolides from *Nierembergia aristata*. *Journal of Natural Products* 58: 848-856
- 33** Mello JR and Habermehl GG (1998) Effects of calcinogenic plants-qualitative and quantitative evaluation. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 105: 25-29
- 34** Hughes MR, Mc Cain TA, Chang SY, Haussler MR, Villareale M, Wassermann RH (1977) Presence of 1, 25-dihydroxyvitamin in the calcinogenic plant *Cestrum diurnum*. *Nature* 268: 347-349
- 35** Fehmida TB, Akbar A, Viqar UA (2001) Two new spirostanol glycosides from *Cestrum parqui*. *Helvetica Chimica Acta* 84: 3350-3356

- 36** Okamura S, Shinghu K, Yahara S, Kohoda H, Nohara T (1992) Two new steroidal glycosides from *Scopolia japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 40: 2981-2983
- 37** Saarinen NM, Warri A, Dings RPM, Airio M, Smeeds AI, Makela S (2008) Dietary lariciresinol attenuates mammary tumor growth and reduces blood vessel density in human MCF-7 breast cancer xenografts and carcinogen-induced mammary tumors in rats. *International Journal of Cancer* 123: 1196-1204
- 38** El-Moghazy SA, Kamel MS, Mohamed MH, Koskinen A (1995) Preliminary investigation on the leaf oil of *Lycopersicon hirsutum*. *Journal of Essential Oil Research* 7: 453-455
- 39** Sannai A, Fujimori T, Kato K (1983) Neutral Volatile Components of “Kukoshi”. *Agricultural Biology and Chemistry* 47: 2397-2399
- 40** Buchbauer G, Jirovetz L, Kaul VK (1995) Volatiles of the absolute of *Cestrum nocturnum*. *Journal of Essential Oil Research* 7: 5-9
- 41** De Marino S, Borbone N, Gala F, Zollo F, Fico G, Pagiotti R, Iorizzi M (2006) New constituents of sweet *Capsicum annuum* L. Fruits and evaluation of their biological activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 7508-7516
- 42** Yahara S, Shigeyama C, Ura T, Wakamatsu K, Yasuhara T, Nohara T (1993) Cyclic peptides, acyclic diterpene glycosides and other compounds from *Lycium chinense*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 41: 703-709
- 43** Fukuda T, Yokoyama J, Ohashi H (2001) Phylogeny and biography of the Genus *Lycium* (Solanaceae) Inferences from chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19: 246-258
- 44** Levin RA, Shak JR, Miller JS, Venter AM (2007) Bernardello G: Evolutionary relationship in tribe Lycieae (Solanaceae). *Acta Horticulturae* 745 (Solanaceae) 225-239
- 45** Altintas A, Kosar N, Kirimer N, Baser KHC, Demirci B (2006) Composition of the Essential Oils of *Lycium barbarum* and *L. ruthenicum* fruits. *Chemistry of Natural Compounds* 42: 24-26
- 46** Han SH, Lee HH, Lee IS, Moon YH, Woo ER (2002) A new phenolic amide from *Lycium chinense* Miller. *Archives of Pharmacal Research* 25: 433-437
- 47** Lee DG, Park Y, Kim MR, Jung HJ, Seu YB, Hahm KS, Woo ER (2004) Anti-fungal effects of phenolic amides isolated from the root bark of *Lycium chinense*. *Biotechnology Letters* 26: 1125-1130

- 48** Zou C, Zhao Q, Chen C (1999) Structure of lyciumide A. *Yunnan Zhiwu Yanjiu* 21: 378-380
- 49** Zou C, Zhao Q, Chen CX, He YN (1999) New dopamine derivative from *Lycium barbarum*. *Chinese Chemical Letters* 10: 131-132
- 50** Chiale CA, Cabrera JL, Juliani HR (1990) N-Cinnamoylhistamine derivatives from *Lycium cestroides*. *Phytochemistry* 29: 688-689
- 51** Chantrapromma K and Ganem B (1981) Total synthesis of kukoamin A, an antihypertensive constituent of *Lycium chinense*. *Tetrahedron Letters* 22: 23-24
- 52** Funayama S, Yoshida K, Konno C, Hikino H (1980) Structure of kukoamine A, a hypotensive principle of *Lycium chinense* root barks. *Tetrahedron Letters* 21: 1355-1356
- 53** Funayama S, Zhang GR, Nozoe S (1995) Kukoamine B, a spermine alkaloid from *Lycium chinense*. *Phytochemistry* 38: 1529-1531
- 54** Noguchi M, Mochida K, Shingu T, Kozuka M, Fujitani K (1984) Über die Bestandteile der chinesischen Droge "Ti-ku-pi": Isolierung und Konstitution von Lyciumamid, einem neuen Dipeptid. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 32: 3584-3587
- 55** Kim SY, Choi YH, Huh H, Kim YC, Lee HS (1997) New antihepatotoxic cerebroside from *Lycium chinense* fruits. *Journal of Natural Products* 60: 274-276
- 56** Sze SCW, Zhang KY, Song J, Wong RNS, Chang RCC, Tong Y (2008) Research Advances on the anti-aging profile of Fructus Lycii: an ancient chinese herbal medicine. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 5: 1-17
- 57** Maldoni BE (1984) Alkaloids in two *Lycium* species. *Revista Latinoamericana de Química* 15: 83
- 58** Asano N, Kato A, Miyauchi M, Kizu H, Tomimori T, Matsui K, Nash RJ, Molyneux RJ (1997) Specific alpha-galactosidase inhibitors, N-methylcalystegines-structure-activity relationships of calystegines from *Lycium chinense*. *European Journal of Biochemistry* 248: 296-303
- 59** Harsh ML (1989) Tropane alkaloids from *Lycium barbarum* Linn. In vivo and in vitro. *Current Science* 58: 817-818
- 60** Adams M, Wiedenmann M, Tittel G, Bauer R (2006) HPLC-MS trace analysis of atropine in *Lycium barbarum* berries. *Phytochemical Analysis* 17: 279-283
- 61** Drost-Karbowska KK, Hajdrich-Szafer M, Kowalewski Z (1984) Search for alkaloid-type bases in *Lycium halimifolium*. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 41: 127-129

- 62** Christen P, Kapetanidis I (1987) Phytochemical study on the leaves of *Lycium halimifolium* Miller (Solanaceae). Part 1. Studies on alkaloids. *Pharmaceutica Acta Helveticae* 62: 154-157
- 63** Wei X, Liang J (2002) Chemical study on the root barks of *Lycium chinense* Mill. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao* 33: 271-273
- 64** Liu X, Sun J, Li H, Zhang L, Qian B (2000) Extraction and isolation of active component in fruit of *Lycium barbarum* for inhibiting PC3 cell proliferation in vitro. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*.25: 481-483
- 65** Terauchi M, Kanamori H, Nobuse M, Yahara S, Nohara T (1997) Detection and Determination of antioxidative components in *Lycium chinense*. *Natural Medicines* 51: 387-391
- 66** Zou Y (2002) Flavones in leaves of *Lycium chinense*. *Fenxi Ceshi Xuebao* 21: 76-78
- 67** Christen P, Kapetanidis I (1987) Constituents from the leaves of *Lycium halimifolium*. Part 3. Flavonoids from *Lycium halimifolium*. *Planta Medica* 53: 571-572
- 68** Wen H, Shao Y, Jiang F, Zhao X, Tao Y (2006) Comparison of total flavonoid content in leaves of *Lycium barbarum* at different picking times. *Zhiwu Ziyuan Yu Xuebao* 15: 75-76
- 69** Qian J, Ge Q, Liu S, Weng L (2005) Free radical quenching capability of *Lycium chinense* mill fruit extracts. *Shipin Kexue (Beijing, China)* 26: 102-105
- 70** Hänsel R and Huang JT (1977) Isolierung von Scopoletin und Vanillinsäure. *Archiv der Pharmacy* 310: 38-40
- 71** Christen P, Kapetanidis I (1987) Phytochemical study on the leaves of *Lycium halimifolium* Miller (Solanaceae). Part 2. Identification of constituents extracted by steam distillation. *Pharmaceutica Acta Helveticae* 62: 158-162
- 72** Christen P, Kapetanidis I (1988) Isolation and characterisation of a withanolide from the leaves of *L. halimifolium* Miller (Solanaceae). *Pharmaceutica Acta Helvetica* 63: 263-265
- 73** Haensel R, Huang JT, Rosenberg D (1977) Two withanolides of *Lycium chinense*. *Archiv der Pharmazie* 310: 35-38
- 74** Kim HP, Lee EJ, Kim YC, Kim J, Kim HK, Park JH, Kim SY, Kim YC (2002) Zeaxanthin dipalmitate from *Lycium chinense* fruit reduces experimentally induced hepatic fibrosis in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 25: 390-392

- 75** Peng Y, Ma C, Li Y, Leung KSY, Jiang ZH, Zhao Z (2005) Quantification of zeaxanthin dipalmitate and total carotenoides in *Lycium* fruits (Fructus lycii). *Plant Foods for Human Nutrition* 60: 161-164
- 76** Seybolds: Schmeil-Fitschen- *Flora von Deutschland und angrenzender Länder*. Quelle u. Meyer Verlag Wiebelsheim, 93. Auflage. ISBN: 3494014132
- 77** Kurschner H, Rans T, Venter J: *Pflanzen der Türkei*. Quelle u. Meyer Verlag, Wiesbaden, 1. Auflage 1995, ISBN: 3494012229
- 78** Wagner H, Bladt S: *Plant Drug Analysis- A Thin Layer Chromatographie Atlas*. Springer Verlag, 2. Auflage, 1996, ISBN: 3540586768
- 79** Kazuma K, Noda N, Suzuki M (2003) Malonytated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry* 62: 229-237
- 80** Moon BH, Lee Y, Ahn JH, Lim Y (2005) Spectral assignments and reference data. *Magnetic Resonance in Chemistry* 43: 858-860
- 81** Alfonso D, Kapetanidis I (1994) Flavonoids from *Iochroma gesnerioides*. *Pharmaceutica Acta Helveticae* 68: 211-214
- 82** Hou WC, Lin RD, Lee TH, Huang YH, Hsu FL, Lee MH (2005) The phenolic constituents and free radical scavenging activities of *Gynura formosana* Kiamnra. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85: 615-621
- 83** Liu R, Sun Q, Sun A, Cui J (2005) Isolation and purification of coumarin compounds from Cortex fraxinus by high-speed counter-current chromatographie. *Journal of Chromatography A*, 1072: 195-199
- 84** Kimura J and Maki N (2002) New loliolide derivatives from the brown alga *Undaria pinnatifida*. *J. Nat. Prod.* 65: 57-58
- 85** Kim I, Chin YW, Lim SW, Kim YC , Kim J (2004) Norisoprenoids and hepatoprotective Flavone glycosides from the aerial parts of *Beta vulgaris* var.*cicla*. *Archives of Pharmacal Research* 27: 600-603
- 86** Yoshihara T, Yamaguchi K, Takamatsu S, Sakamura S (1981) A new lignan amide, grossamide, from Bell Pepper. *Agricultural Biology and Chemistry* 45: 2593-2598
- 87** King RR and Calhoun LA (2005) Characterization of cross-linked hydroxycinnamic acid amides isolated from potato common scab lesions. *Phytochemistry* 66:2468-2473
- 88** Falah S, Katayama T, Suzuki T (2008) Chemical constituents from *Gmelina arborea* bark and their antioxidant activity. *Journal of Wood Science* 54: 483-489

- 89** Laab Samira (2006) Ex-vivo Studien zum intestinalen Metabolismus von Flavonoiden. Dissertation Universität Würzburg
- 90** Snook ME, Chortyk OT, Sisson VA, Costello CE (1992) The flower flavonols of *Nicotiana* species. *Phytochemistry* 31:1639-1647
- 91** Wollenweber R and Dörr M (1995) Exudate flavonoids in some Solanaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* 23: 457-458
- 92** Wollenweber E (1989) Exkretflavonoide bei Blütenpflanzen und Farnen. *Naturwissenschaften* 76: 458-463
- 93** Klok J, Baas M, Cox HC, de Leeuw JW, Schenck PA (1984) Loliolides and Dihydroactinidiolide in a recent marine sediment probably indicate a major transformation pathway of carotenoids. *Tetrahedron Letters* 25: 5577-5580
- 94** Percot A, Yalin A, Aysel V, Erdugan H, Dural B, Güven KC (2009) Loliolide in marine algae. *Natural Product Research* 23: 460-465
- 95** Repeta DJ (1988) Carotenoid diagenesis in recent marine sediments: Degradation of fucoxanthin to loliolide. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53: 699-707
- 96** Kupchan SM, Anderson WK, Bollinger P, Doskotch RW, Smith RM, Saenz-Renauld JA, Schnoes HK, Burlingame AL, Smith DH (1969) Tumor inhibitors. Active principles of *Acnistus arborescens*. Isolation and structural and spectral studies of withaferin A and with acnistin. *Journal of Organic Chemistry* 34: 3858-66
- 97** Behr D, Wahlberg I, Nishida T, Enzell CR (1979) Tobacco chemistry. Two new norcarotenoids of Greek tobacco. *Acta Chemica Scandinavica, Series B: Organic Chemistry and Biochemistry* B33: 701-704
- 98** Machida K, Kikuchi M (1996) Norisoprenoids from *Viburnum dilatum*. *Phytochemistry* 41: 1333-1336
- 99** Wirth J, Guo W, Baumes R, Günata Z (2001) Volatile compounds released by enzymatic hydrolysis of glycoconjugates of leaves and grape berries from *Vitis vinifera* Muscat of Alexandria and Shiraz cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2917-2923
- 100** Kodoma H, Fujimori T, Kato K (1982) Isolation of a new terpene glucoside, loliolide- $\beta$ -D-glucopyranoside from Flue-cured Tobacco. *Agricultural and Biological Chemistry* 46: 1409-1411
- 101** Stuart K, Coke L (1975) The effect of vomifoliol on stomatal aperture. *Planta* 22: 307-310

- 102** Osario C, Duque C, Fujimoto Y (1999) C (13)-Norisoprenoid glucocconjugates from Lulo (*Solanum quitoense* L.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 1641-1645
- 103** Capasso A, Aquino R, De Tommasi N, Piacente S, Rastrelli L, Pizza C (2002) Neuropharmacology activity of alkaloids from South American medicinal plants. *Current Medicinal Chemistry: Central Nervous System Agents* 2: 1-15
- 104** Matsuda F, Morino K, Ano R, Kuzawa M, Wakasa K, Miyagawa H (2005) Metabolic flux analysis of the phenylpropanoid pathway in elicitor-treated potato tuber tissue. *Plant and Cell Physiology* 46: 454-466
- 105** Kang S and Back K (2006) Enriched production of N-hydroxycinnamic acid amides and biogenic amines in pepper (*Capsicum annuum*) flowers. *Scientia Horticulturae* 108: 337-341
- 106** Muehlenbeck U, Kortenbusch A, Barz W (1996) Formation of hydroxycinnamoylamides and  $\alpha$ -hydroxyacetovanillone in cell cultures of *Solanum khasianum*. *Phytochemistry* 42: 1573-1579
- 107** Jang SM, Ishihara A, Back K (2004) Production of cumarylserotonin and feruloylserotonin in transgenic rice expressing pepper hydroxycinnamoyl-coenzyme A: Serotonin N-(hydroxycinnamoyl)transferase. *Plant Physiology* 135: 346-353
- 108** Kang S, Kang K, Chung GC, Choi D, Ishihara A, Lee DS, Back K (2006) Functional Analysis of the amine substrate specificity domain of pepper tyramine and serotonin N-hydroxycinnamoyltransferase. *Plant Physiology* 140: 704-715
- 109** Su BN, Park EJ, Nikolic D, Vigo JS, Graham JG, Cabieses F, Van Bremen RB, Fong HHS, Farnsworth NR, Pezzuto JM, Kinghorn AD (2003) Isolation and characterization of miscellaneous secondary metabolites of *Deprea subtriflora*. *Journal of Natural Products* 66: 1089-1093
- 110** Matsunaga T, Ano M, Watanabe K, Yamamoto I, Yoshimura H (1997) Analysis of nitrogen containing compounds, p-coumaroyltyramine and trans-feruloyltyramine, for discrimination of cannabis seeds by HPLC. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health* 43: 215-220
- 111** Schmidt A, Scheel D, Strack D (1998) Elicitor-stimulated biosynthesis of hydroxycinnamoyltyramines in cell suspension cultures of *Solanum tuberosum*. *Planta* 205: 51-55

- 112** Landtag J, Baumert A, Degenkolb T, Schmidt J, Wray V, Scheel D, Strack D, Rosahl S (2002) Accumulation of tyrosol glucoside in transgenic potato plants expressing a parsley tyrosine decarboxylase. *Phytochemistry* 60: 683-689
- 113** Munoz-Cendales DR, Cuca-Suarez LE, Orozco P, Clara I (2005) Isolation and structure of some secondary metabolites from *Solanum validinervium* (Solanaceae) section geminate. *Actualidades Biologicas (Medellin Colombia)* 27 (Supl.1): 49-52
- 114** Slininger PJ, Burkhead KD, Schisler DA (2004) Antifungal and sprout regulatory bioactivities of phenylacetic acid, indole-3-acetic acid, and tyrosol isolated from the potato dry rot suppressive bacterium *Enterobacter cloacae* S11:T:07. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 31: 517-524
- 115** Giovannini C, Straface E, Modesti D, Coni E, Cantafora A, De Vincenzi M, Malorni W, Masella R (1999) Tyrosol, the major olive oil biophenol, protects against oxidized-LDL-induced injury in Caco-2 cells. *The Journal of Nutrition* 129: 1269-1277
- 116** Napolitano A, Morales F, Sacchi R, Fogliano V (2008) Relationship between virgin olive oil phenolic compounds and acrylamide formation in fried crisps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 2034-2040