

**Chemische Untersuchungen**  
**an den mongolischen Medizinalpflanzen**  
*Zygophyllum potaninii,*  
*Zygophyllum pterocarpum*  
**und**  
*Thermopsis hirsutissima*

Vom Fachbereich Chemie der Universität Hannover  
zur Erlangung des Grades Doktor der Naturwissenschaften  
- Dr. rer. nat.-

genehmigte Dissertation  
von Dipl.-Chem. Enkhmaa Dagvadorj  
geboren am 9. Januar 1965 in Dundgobi – Mongolei

1999

„ Gedruckt mit Unterstützung des Deutschen Akademischen Austauschdienstes“

Referent: Prof. Dr. Hans Christoph Krebs  
Korreferent: Prof. Dr. Gerhard Habermehl  
Tag der Promotion: 12. Dezember 1999

**Für  
meine Kinder Battuschig, Enkhjin  
und meine Eltern**

## Kurzzusammenfassung

In dieser Arbeit wurden drei mongolischen Medizinalpflanzen *Zygophyllum potaninii*, *Zygophyllum pterocarpum* und *Thermopsis hirsutissima* nach ihren sekundären Inhaltsstoffen hin untersucht. Die Isolierung der Naturstoffe erfolgte mit Hilfe chromatographischer Methoden und Strukturaufklärungen mittels spektroskopischer Methoden, vor allem ein- und zweidimensionaler NMR Methoden.

Aus *Z. potaninii* gelang es, 14 Verbindungen in reiner Form zu isolieren und zu identifizieren. Als Hauptkomponenten wurden Triterpensaponine mit dem Grundgerüst Chinovasäure und Flavonoide isoliert und deren Toxikologie charakterisiert. Davon wurden zwei Saponine erstmalig im Pflanzenreich gefunden. Für Kaempferol-3-O-neohesperidosid wurde erstmalig das  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum aufgenommen und durch  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  COSY Spektrum wurden die Zuckersignale zugeordnet.

Aus *Z. pterocarpum* wurden 5 Verbindungen, davon zwei Polyphenole und drei cyclische Carbonsäuren isoliert. Die cyclischen Carbonsäuren wurden erstmalig innerhalb der Familie Zygophyllaceae gefunden und aus diesem Bereich konnte eine neue Verbindung identifiziert werden.

Aus *Th. hirsutissima* wurden 6 Alkaloide aus der Reihe von Chinolizidin in reiner Form isoliert und deren Toxikologie charakterisiert. Dabei wurde festgestellt, daß die Pflanze überwiegend viel Cytisin, Spartein und Anagyrin enthält, was in therapeutischen Anwendungen dieser Pflanze von großer Bedeutung sein könnte.

Der MeOH- bzw. BuOH- Extrakt von *Z. potaninii* wirken auf Hela Zellen zytotoxisch und auf einen isolierten Darm einer Ratte relaxierend. Der  $\text{CHCl}_3$ -Extrakt von *Z. pterocarpum* hat einen wachstumshemmende Effekt auf *Saccharomyces cerevisiae*.

**Schlagwörter:** *Zygophyllum*, *Thermopsis*, Triterpensaponine, Chinolizidin

## Abstract

In this research, three Mongolian medicinal plants; *Zygophyllum potaninii*, *Zygophyllum pterocarpum* and *Thermopsis hirsutissima* were investigated for their secondary metabolites contents. The isolation of the natural plant compounds were done principally with modern chromatographic methods and the structural studies of the compounds were done using spectroscopic techniques, mainly with the one and two dimensional Nuclear magnetic resonance (NMR) experiments.

Fourteen pure compounds were successfully isolated and characterised structurally from *Z. potaninii*. The main components were the triterpenoid saponins with Quinovic acid skeleton and flavonoids and their toxicological characterisation given. Amongst these were two saponins that are being reported for the first time. The  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum for kaempferol-3-O-neohesperidoside and the order of the sugar components in the glycoside using  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HETCOR NMR have been reported for the first time.

From *Z. pterocarpum* were five compounds isolated, consisting of two polyphenolics and three cyclic carboxylic acids. This is the first report of cyclic carboxylic acids in the family Zygophyllaceae, with one of these acids being characterised for the first time.

Lastly, from *T. hirsutissima* were six alkaloids with the Quinolizidine series isolated in pure form and their toxicological properties given. The presens of predominant quantities of cytisine, sparteine and anagryne isolated from this plants could account for its well known important therapeutic uses.

The methanol and butanol extracts of *Z. potaninii* is cytotoxic on Hela cells and relaxed isolated rat's intestinal, respectively. The chloroform extract of *Z. pterocarpum* had a growth inhibiting effect on *Saccharomyces cerevisiae*.

**Keywords:** *Zygophyllum*, *Thermopsis*, The triterpenoid saponins, Quinolizidine.

Die vorliegende Arbeit wurde von Oktober 1994 bis Oktober 1999 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Hans Christoph Krebs im Zentrum für Lebensmittelwissenschaften der Tierärztlichen Hochschule Hannover, Zentrumsabteilung für Chemische Analytik und Endokrinologie, fertiggestellt.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. H. Chr. Krebs für die Themenstellung und für die freundliche Betreuung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. G. G. Habermehl möchte ich herzlich für seine Hilfsbereitschaft und seine stets gewährte Unterstützung danken.

Herrn Dr. U. Ligaa und Dr. D. Magsar danke ich für die Anregung, *Z. potaninii*, *Z. pterocarpum* und *Th. hirsutissima* zu untersuchen und für die Hilfe bei der Anschaffung der Pflanzen.

Herrn H. Haarstrich, Frau I. Helms und Frau M. Baumgarten danke ich für die Aufnahme der NMR- und IR-Spektren.

Bei Frau A. Bütthe und Herrn Dr. G. Hamscher möchte ich mich herzlich für die Aufnahme der GG MS- und ESI MS-Spektren bedanken.

Frau Prof. Dr. B. Meyer (Vormals Chemisches Institut) möchte ich für die Unterstützung zur Durchführung toxikologischer Tests an Zellkulturen danken, ebenso Frau M. Enge für die labortechnische Hilfe.

Herrn Prof. Dr. W. Ternes danke ich für die Möglichkeit, die Isolierung einiger Substanzen mit Hilfe des HPLC-Gerätes durchzuführen.

Mein besonders Dank richtet an Herrn Q. Pham für seine geleistete labortechnische Unterstützung und sowie für die UV-Spektrenaufnahme.

Bei Herrn Prof. Dr. M. Kietzmann (Institut für Pharmakologie und Toxikologie) möchte ich mich für die Unterstützung zur Durchführung der biologischen Tests an isoliertem Organ und auch für seine wertvollen Ratschläge herzlich bedanken, ebenso danke ich Herrn H. H. Bohr und Herrn H. Bartmann für die geleistete labortechnische Hilfe.

Frau Dr. K. Jantzen danke ich sehr für ihre Freundschaft und sowie für die grammatikalischen Korrekturen meiner Arbeit.

Sehr herzlich bedanke ich mich bei den Mitarbeitern des Chemischen Instituts für die gute Zusammenarbeit und für das angenehme Arbeitsklima.

Frau Dr. E. O. Ajaiyeoba danke ich für die Übersetzung der Zusammenfassung in die englische Sprache.

Herrn K. Reumann und Frau A. Tessmer (RRZN) danke ich für ihre hilfreichen Ratschläge bei der EDV.

Mein herzlicher Dank gilt Familie Rausch, Familie Grätsch und meiner Freundin H. Kirchmeyer für die moralische Unterstützung und vor allem für die besondere Freundschaft.

Bei Herrn Dr. U. Hornberger und Frau R. Eberlein (DAAD) möchte ich mich herzlich dafür bedanken, daß sie stets ein offenes Ohr für meine Probleme hatten und mich unterstützten.

Ich danke meinen Eltern und Geschwistern und meiner Freundin Dr. Ts. Nazagdolgor, daß sie mir trotz der großen Entfernung immer zur Seite standen.

Mein größter Dank gilt meinem Mann Kh. Batsuren, ohne den diese Arbeit niemals zustanden gekommen wäre.

Die Anfertigung dieser Arbeit wurde durch ein Stipendium des Deutscher Akademischen Austauschdienstes gefördert.

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Einleitung</b> .....	1
1.1. Systematik, Vorkommen und botanische Beschreibung von <i>Zygophyllum potaninii</i> und <i>Zygophyllum pterocarpum</i> .....	1
1.2. Systematik, Vorkommen und botanische Beschreibungen von <i>Thermopsis hirsutissima</i> .....	4
<b>2. Allgemeines</b> .....	7
2.1. Bisher bekannte Inhaltsstoffe der Gattung <i>Zygophyllum</i> .....	7
2.1.1. Pharmazeutische Anwendungen der Pflanzen aus der Gattung <i>Zygophyllum</i> .....	9
2.2. Bisher bekannte Inhaltsstoffe der Gattung <i>Thermopsis</i> .....	10
2.2.1 Pharmazeutische Anwendung der Pflanzen aus der Gattung <i>Thermopsis</i> .....	10
<b>3. Chemische Untersuchungen</b> .....	11
3.1. Chemische Untersuchungen von <i>Zygophyllum potaninii</i> .....	11
3.1.1. Extrakterstellung und Aufarbeitung der Extrakte .....	11
3.1.1.1. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>1</b> .....	12
3.1.1.1.1. IR Spektrum .....	12
3.1.1.1.2. UV-Spektren .....	13
3.1.1.1.3. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	14
3.1.1.1.4. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum .....	16
3.1.1.1.5. MS .....	18
3.1.1.2. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>2</b> .....	19
3.1.1.2.1. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	19
3.1.1.2.2. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum .....	20
3.1.1.2.3. MS .....	22
3.1.1.3. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>3</b> .....	22
3.1.1.3.1. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	23
3.1.1.3.2. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum .....	23
3.1.1.3.3. MS .....	25
3.1.1.4. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>4</b> .....	25
3.1.1.4.1. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	25
3.1.1.4.2. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum .....	26
3.1.1.4.3. MS .....	29

3.1.1.5. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>5</b>	29
3.1.1.5.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum	29
3.1.1.5.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum	32
3.1.1.5.3. MS	32
3.1.1.6. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>6</b>	33
3.1.1.6.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum	33
3.1.1.6.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum	35
3.1.1.6.3. MS	36
3.1.1.7. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>7</b>	37
3.1.1.7.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum	37
3.1.1.7.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum	39
3.1.1.7.3. MS	40
3.1.1.8. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>8</b>	40
3.1.1.8.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum	41
3.1.1.8.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum	43
3.1.1.8.3. MS	44
3.1.1.9. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>9</b>	45
3.1.1.9.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum	45
3.1.1.9.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum	48
3.1.1.9.3. MS	48
3.1.1.10. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>10</b>	49
3.1.1.10.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum	50
3.1.1.10.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum	52
3.1.1.10.3. MS	53
3.1.1.11. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>11</b>	53
3.1.1.11.1. $^{13}\text{C}$ NMR Spektrum	54
3.1.1.11.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum	55
3.1.1.12. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>12</b>	55
3.1.1.12.1. IR-Spektrum	55
3.1.1.12.2. MS und Elementaranalyse	56
3.1.1.13. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>13</b>	56
3.1.1.13.1. $^{13}\text{C}$ - NMR Spektrum	56
3.1.1.13.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum	58
3.1.1.13.3. MS	59

3.1.1.14. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>14</b> .....	59
3.1.1.14.1. IR-Spektrum .....	60
3.1.1.14.2. <sup>13</sup> C- NMR Spektrum .....	60
3.1.1.14.3. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	62
3.2. Chemische Untersuchungen von <i>Zygodphyllum pterocarpum</i> . .....	63
3.2.1. Extrakterstellung und Aufarbeitung der Extrakte .....	63
3.2.1.1. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>15</b> und <b>16</b> .....	64
3.2.1.1.1. <sup>13</sup> C-NMR- Spektrum der Verbindung <b>15</b> .....	64
3.2.1.1.2. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	65
3.2.1.1.3. MS .....	66
3.2.1.2. Identifizierung der Verbindung <b>16</b> .....	66
3.2.1.2.1. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum .....	66
3.2.1.2.2. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	67
3.2.1.3. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>17</b> .....	68
3.2.1.3.1. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum .....	68
3.2.1.3.2. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	69
3.2.1.4. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>18</b> .....	70
3.2.1.4.1. IR-Spektrum .....	70
3.2.1.4.2. UV.Spektren .....	71
3.2.1.4.3. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	72
3.2.1.4.4. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum .....	73
3.2.1.4.5. MS .....	75
3.2.1.5. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>19</b> .....	75
3.2.1.5.1. IR-Spektrum .....	76
3.2.1.5.2. UV.Spektren .....	76
3.2.1.5.3. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum .....	77
3.2.1.5.4. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum .....	78
3.2.1.5.5. MS .....	80
3.3. Chemische Untersuchungen von <i>Thermopsis hirsutissima</i> .....	80
3.3.1. Extrakterstellung und Aufarbeitung des Extrakts .....	80
3.3.1.1. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>20</b> und <b>21</b> .....	81
3.3.1.1.1. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum .....	81
3.3.1.1.2. <sup>1</sup> H-NMR- Spektrum .....	82
3.3.1.1.3. MS .....	83

3.3.1.2. Identifizierung der Verbindung <b>21</b>	84
3.3.1.2.1. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum	84
3.3.1.2.2. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum	85
3.3.1.2.3. MS	85
3.3.1.3. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>22</b>	86
3.3.1.3.1. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum	86
3.3.1.3.2. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum	87
3.3.1.3.3. MS	88
3.3.1.4. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>23</b>	89
3.3.1.4.1. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum	89
3.3.1.4.2. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum	90
3.3.1.4.3. MS	90
3.3.1.5. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>24</b>	91
3.3.1.5.1. <sup>13</sup> C- und <sup>1</sup> H- NMR Spektrum	91
3.3.1.5.2. MS	92
3.3.1.6. Isolierung und Identifizierung der Verbindung <b>25</b>	93
3.3.1.6.1. <sup>13</sup> C-NMR Spektrum	93
3.3.1.6.2. <sup>1</sup> H-NMR Spektrum	94
3.3.1.6.3. MS	94
<b>4. Biologische Untersuchung</b>	94
4.1. Toxizitätstests an Zellkulturen	95
4.2. Wirkung auf Mikroorganismen	95
4.3. Wirkung am isolierten Organ	95
<b>5. Diskussion und Zusammenfassung</b>	96
<b>6. Experimenteller Teil</b>	101
6.1. Methoden und Material	101
6.1.1. Physikalische Methoden	101
6.1.1.1. NMR-Spektroskopie	101
6.1.1.2. Massenspektroskopie	101
6.1.1.3. IR-Spektren	102
6.1.1.4. UV-Spektren	102
6.1.1.5. Schmelzpunkte	102
6.1.2. Chromatographische Methoden	103
6.1.2.1. Dünnschichtchromatographie	103

6.1.2.2. Säulenchromatographie .....	103
6.1.3. Chemische Abbaureaktionen und Derivatisierung .....	104
6.1.4. Lösungsmittel und Reagenzien .....	105
6.2. Herstellung der Pflanzenextrakte und Isolierung der Substanzen .....	107
6.2.1. <i>Zygodphyllum potaninii</i> .....	107
6.2.1.1. Pflanzenmaterial .....	107
6.2.1.2. Extraktion .....	107
6.2.1.3. Aufarbeitung des BuOH- Extraktes .....	107
6.2.1.3.1. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen <b>5</b> und <b>6</b> .....	108
6.2.1.3.2. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen <b>3</b> und <b>7</b> .....	109
6.2.1.3.3. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen <b>8</b> und <b>9</b> .....	110
6.2.1.3.4. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen <b>1</b> und <b>2</b> und <b>10</b> ....	111
6.2.1.3.5. Isolierung und analytische Daten der Verbindung <b>4</b> .....	113
6.2.1.3.6. Isolierung und analytische Daten der Verbindung <b>11</b> .....	113
6.2.1.4. Aufarbeitung des CHCl <sub>3</sub> -Extrakts .....	114
6.2.1.4.1. Isolierung und analytische Daten der Verbindung <b>12</b> .....	114
6.2.1.4.2. Isolierung und analytische Daten der Verbindung <b>13</b> .....	115
6.2.1.4.3. Isolierung und analytische Daten der Verbindung <b>14</b> .....	115
6.2.2. <i>Zygodphyllum pterocarpum</i> .....	116
6.2.2.1. Pflanzenmaterial .....	116
6.2.2.2. Extraktion .....	116
6.2.2.3. Aufarbeitung des Butanol-Extraktes .....	116
6.2.2.3.1. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen <b>15</b> und <b>16</b> .....	117
6.2.2.3.2. Isolierung und analytische Daten der Verbindung <b>17</b> .....	118
6.2.2.3.3. Isolierung und analytische Daten der Verbindung <b>18</b> und <b>19</b> .....	118
6.2.3. <i>Thermopsis hirsutissima</i> .....	119
6.2.3.1. Pflanzenmaterial .....	119
6.2.3.2. Extraktion .....	120
6.2.3.3. Aufarbeitung des Alkaloid-Extrakts .....	120
6.2.3.3.1. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen <b>20</b> und <b>21</b> .....	120
6.2.3.3.2. Isolierung und analytische Daten der Verbindung <b>22</b> .....	121
6.2.3.3.3. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen <b>23</b> und <b>24</b> .....	122
6.2.3.3.4. Isolierung und analytische Daten der Verbindung <b>25</b> .....	123
6.3. Durchführung der biologischen Tests .....	123

6.3.1. Toxizitätstest mit Zellen .....	123
6.3.1.1. Anzucht und Aufbewahrung des Zellmaterials .....	123
6.3.1.2. Verwendete Lösungen .....	124
6.3.1.3. Zusammensetzung des Zellkulturmediums .....	125
6.3.1.4. Durchführung der Toxizitätstests an Zellen .....	127
6.3.2. Durchführung der Toxizitätstests an <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	127
6.3.3. Test zur Wirkung auf ein isoliertes Organ .....	128
6.3.3.1. Präparation .....	128
6.3.3.2. Injektion der Testsubstanzen in das Organbad .....	128
7. <b>Abbildungen</b> .....	129
8. <b>Literaturverzeichnis</b> .....	174

## Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AlCl <sub>3</sub>	Aluminiumchlorid
AcN	Acetonitril
br	breit
BuOH	Butanol
Carb.	Carbachol
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Calciumnitrat
CDCl <sub>3</sub>	Deuteriochloroform
CD <sub>3</sub> OD	Deuteromethanol
CHCl <sub>3</sub>	Chloroform
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Dichlormethan
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
COSY	Correleated Spektroskopie
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatogramm
dd	Doppeldublett
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
dest.	Distilata
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylendiamintetra-acetat
EI	Elektron Impact
ESI	Electrospray Ionization
et al.	et altera
Exp.	Experimentelle
Ext.	Extrakt
FAB	Fast Atom Bombardment
FMS	Fließmittelsystem
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
Glc.	Glucosid
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Borsäure
HCl	Salzsäure

H <sub>2</sub> O	Wasser
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Hz	Hertz
IR	Infrarot
KCl	Kaliumchlorid
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumdihydrogenphosphat
KOH	Kalilauge
L	Liter
Lit.	Literatur
LMS.	Laufmittelsystem
m	Multiplett
MeOH	Methanol
μg	Mikrogramm
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
μl	Mikroliter
min.	Minute
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse/Ladung
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumhydrogencarbonat
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Dinatriumhydrogenphosphat
NaOAc	Natriumacetat
NaOMe	Natriummethylat
NH <sub>4</sub> OH	Ammoniumhydroxid
nm	Nanometer
NMR	Kernmagnetische Resonanz
OCH <sub>3</sub>	Methoxyl
OH	Hydroxyl
Qui.	Quinovosid
Reg.	Regenerierung
RP	Reversed Phase

PBS	Basische Puffer-Lösung
pH	negativer dekadischer Logarithmus der H <sup>+</sup> -Konzentration
ppm	parts per million
s	Singulett
s.	siehe
SC	Säulenchromatographie
Schmp.	Schmelzpunkt
Sp.	spülen
Std.	Stunde
syn.	Synonym
t	Triplett
Tab.	Tabelle
<i>Th.</i>	<i>Thermopsis</i>
UV	Ultraviolett
Verb.	Verbindung (en)
Xyl.	Xylosid
Z.	<i>Zygophyllum</i>

## 1. Einleitung

Wie in allen Völkern gibt es auch in der Mongolei eine alte Tradition der Anwendung von Pflanzen zur Heilung der verschiedensten Krankheiten.

In der mongolischen Volksmedizin werden etwa 600 Species als Heilpflanzen verwendet. Mehr als 200 Species finden in der Schulmedizin therapeutische Anwendung [1]. Die Pflanzen *Zygophyllum potaninii* und *Zygophyllum pterocarpum* sind endemisch in der Mongolei. Beide Pflanzen werden als gekochter, wäßriger Aufguß bei Leber- und Gallenkrankheiten verwendet und aufgrund ihrer Heilkräfte vom Volk sehr verehrt. Aber über diese Pflanzen liegen bisher weder phytochemische noch biologische Untersuchungen vor. Deswegen ergab sich das Interesse, die dafür verantwortlichen Inhaltsstoffe dieser Pflanzen zu untersuchen.

*Thermopsis hirsutissima*, die in der mongolischen Volksmedizin als Hustenmittel in Form eines Aufgusses angewendet wird, wurde schon nach ihrer Biologie, Ökologie und wirtschaftlichen Bedeutung hin untersucht [2]. Die einzigen phytochemischen Untersuchungsergebnisse zu dieser Pflanze liegen bisher in dieser Arbeit vor. Dabei wurden jedoch nur qualitative gesamt Alkaloidbestimmungen in einzelnen Organen durchgeführt. Weiterhin wurde auch mit Hilfe der Papierchromatographie die Anwesenheit einiger Alkaloide nachgewiesen. Einige *Thermopsis* Arten, sowie daraus isolierte Substanzen (z.B. *Thermopsis lanceolata*) werden als Phytopharmaka eingesetzt. Aufgrund der Toxizität der Alkaloide ist es notwendig, ausführliche chemische Untersuchungen nach Alkaloiden der *Thermopsis*-Arten, die in der Mongolei endemisch sind, durchzuführen und ihre therapeutischen Anwendungsmöglichkeiten zu bestimmen. Diesem Zweck soll die Isolierung und Strukturaufklärung sowie eine toxikologische Charakterisierung von Inhaltsstoffen aus der Pflanze *Thermopsis hirsutissima* dienen.

### 1.1. Systematik, Vorkommen und botanische Beschreibung von *Zygophyllum potaninii* und *Zygophyllum pterocarpum*.

*Zygophyllum potaninii* und *Zygophyllum pterocarpum* gehören zur Familie Zygophyllaceae. Die Familie Zygophyllaceae umfaßt etwa 250 Arten in 25-30 Gattungen und ist sehr weit verbreitet in den tropischen und subtropischen Zonen der Erde [3]. Die Gattung *Zygophyllum* ist die größte Gattung in der Familie Zygophyllaceae. Es sind zur Zeit ungefähr 100 Spezies bekannt [4], von denen sich 12 Spezies auf dem Territorium der Mongolei befinden [5].

Für die beiden Pflanzen können folgende Klassifikationen angegeben werden [6, 7]:

- Klasse: Dicotyledoneae  
 Familie: Zygophyllaceae  
 Unterfamilie: Zygophylloideae  
 Tribus: Zygophylleae  
 Subtribus: Zygophyllinae ( seeds endospermic )  
 Genus: *Zygophyllum*  
 Spezies: 1. *Potaninii*  
 2. *Pterocarpum*



Abb.1 *Zygophyllum potaninii*

Botanische Beschreibung.

*Zygophyllum potaninii* Maxim (Abb.1) ist eine ausdauernde, krautige, nackte Pflanze mit ausgestreckten Stengeln. Sie wird 10 bis 25 cm hoch. Die Blätter sind relativ groß (10-35 mm lang, 1-25 mm breit), dick, fleischig, flach, 1 bis 2- paarig gefiedert, und umgekehrteiförmig oder schräg- oval, auf dem flach flügeligen Blattstiel befestigt.

Die Früchte haben Kapseln, die rundförmig und 15-30 mm lang sind mit fünf fast gleich breiten papierartigen Flügeln. Reifezeit ist von Juli bis August. Die Blüten sind vierzählig, mit krautigen Blütendecken, axillarstipel, isoliert oder gepaart und von helloranger Farbe. Die Blütezeit ist von Mai bis Juni. Die Wurzel ist dick, verzweigt und meist verholzt.

Vorkommen.

*Zygophyllum potaninii*, die in der Mongolei “ Getränk von Argali “ (Ovis ammon) genannt wird, ist in der Wüste und Wüsten-Steppenzone (Hinter-Altai Gobi, Gobi-Altai, Alaschan-Gobi) der Mongolei beheimatet [5,7] (Verbreitungsorte Abb.4).

Botanische Beschreibung.

*Zygophyllum pterocarpum* Bunge (Abb.2) ist eine ausdauernde, krautige Pflanze mit zahlreichen gabelverzweigten, dünnen Stengeln. Sie wird 15 bis 20 cm hoch.

Die Blätter sind gegenständig, 2 bis 3- paarig gefiedert zusammengesetzt, fleischig angenähert und relativ klein, von linear-verlängert bis verlängerte-ovalförmig, auf dem flügellosen Blattstiel. Die Nebenblätter sind krautig und grün. Die Pflanze ist bloß und glatt.

Die Frucht hat fünfeckige Kapseln, deren Umriß oval oder verlängert-ovalförmig und 10-20 mm lang und 6-10 mm breit (engen Flügeln) ist. Fruchtzeit ist von Juli bis September.

Die Blüten sind mit krautigen Blütendecken, axillarstipel, isoliert oder gepaart, vierzählig, und haben eine hellgelbe (selten weiße) Farbe. Blütezeit: Juni-Juli

Die Wurzel ist dick, verzweigt und meist verholzt.

Vorkommen.

*Zygophyllum pterocarpum* , die im mongolischen Volksmund als “ Getränk von Antilope “ bezeichnet wird, ist in der Wüste und Wüsten- Steppe der Mongolei beheimatet.

Verbreitungsorte (Abb.4 ): Mongol-Altai (Osten), Becken der Großen Seen, Ostgobi, Gobi-Altai, Dzungar-Gobi, Hinteraltai-Gobi, Alaschan-Gobi [5,7].

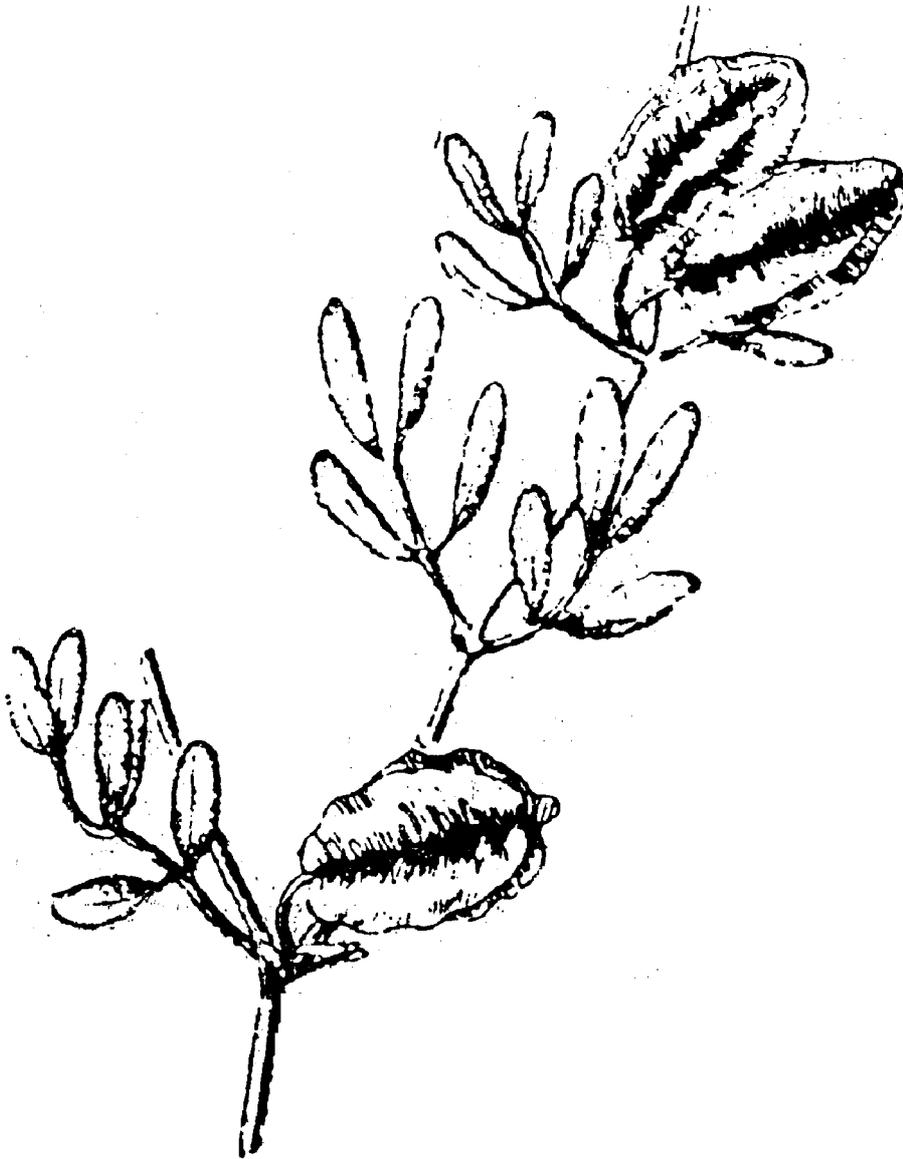


Abb.2 *Zygophyllum pterocarpum*

### 1.2. Systematik, Vorkommen und botanische Beschreibung von *Thermopsis hirsutissima*.

*Thermopsis hirsutissima* gehört zur Familie Leguminosae. Die Familie der Leguminosen gilt als drittgrößte Familie der Angiospermen mit ihren über 600 Gattungen und etwa 18 000 Arten [8]. Die Gattung *Thermopsis* wird zu Thermopsidaeae, die im nördlichen Halbrund verbreitete Gattungen mit insgesamt 50 Arten umfaßt, zugeordnet. Auf dem Territorium der

Mongolei befinden sich 9 Arten von *Thermopsis* [2]. Für die Pflanze *Thermopsis hirsutissima* können folgende Klassifikationen angegeben werden [8]:

Klasse:	Dicotyledoneae
Familie:	Leguminosae
Unterfamilie:	Papilionoideae
Tribus:	Thermopsidae
Genera:	<i>Thermopsis</i>
Spezies:	<i>Hirsutissima</i>

#### Botanische Beschreibungen.

*Thermopsis hirsutissima* Czefr (Abb.3) ist eine ausdauernde, krautige, 20-40 cm große Pflanze mit am Boden verzweigten, geraden Stengeln, die mit kurzen, schrägen, grauen Haaren dicht bedeckt sind. Die Blätter sind dreizählig, umgekehrt-eiförmig, 5-8,5 cm lang und 3,5-5 cm breit, an 0,5-0,9 cm langen Blattstielen und auf beiden Seiten mit schrägen Haaren dicht bedeckt. Die Form der Nebenblätter sind schmal von verlängerten eiförmig bis lanzett, 2-3 cm lang, 0,8-1,2 cm breit und behaart wie die Blätter. Der Blütenstand ist terminaler, lockerer, traubiger. Der Blütenstand des Hauptstengels besitzt meistens 3-6 etagische Blüten. Ein Sproß trägt meistens 1, selten 2-4 Blütenstände. Die Traube ist ca. 11-29 cm lang. Die Blütendecke ist von verlängert bis breit eiförmig, ca. 1,2 cm lang, 0,6-0,8 cm breit, auf beiden Seiten mit kurzen, grauen, schrägen Haaren bedeckt. Die Blüten sind gelb und zygomorphisch (schmetterlingsförmig). Das Blütenblatt ist 2,2-2,5 cm lang, 1,5-1,7 cm breit, oval, an den Spitzen und Rändern etwas schmal. Es geht nach und nach in einen 0,7-0,9 cm langen Stiel über. Der Flügel ist 2-2,3 cm lang und 0,4 cm breit. Die Fruchthöhle beinhaltet 13-17 Samen und ist mit seidigen, kurzen Haaren bedeckt. Die Hülsen sind mit kurzen, liegenden Haaren dünn bedeckt und die Form ist schmall-linear und flach, ca 5,6 cm lang, und 0,6 cm breit. Sie sind von der Hauptachse der Traube hinabhängt oder auf der Seite ausgestreckt liegen. Die Samen sind kugelig, dunkel (Fruchthof), und liegen in der Mittellinie der Hülse. Blütezeit: Juni

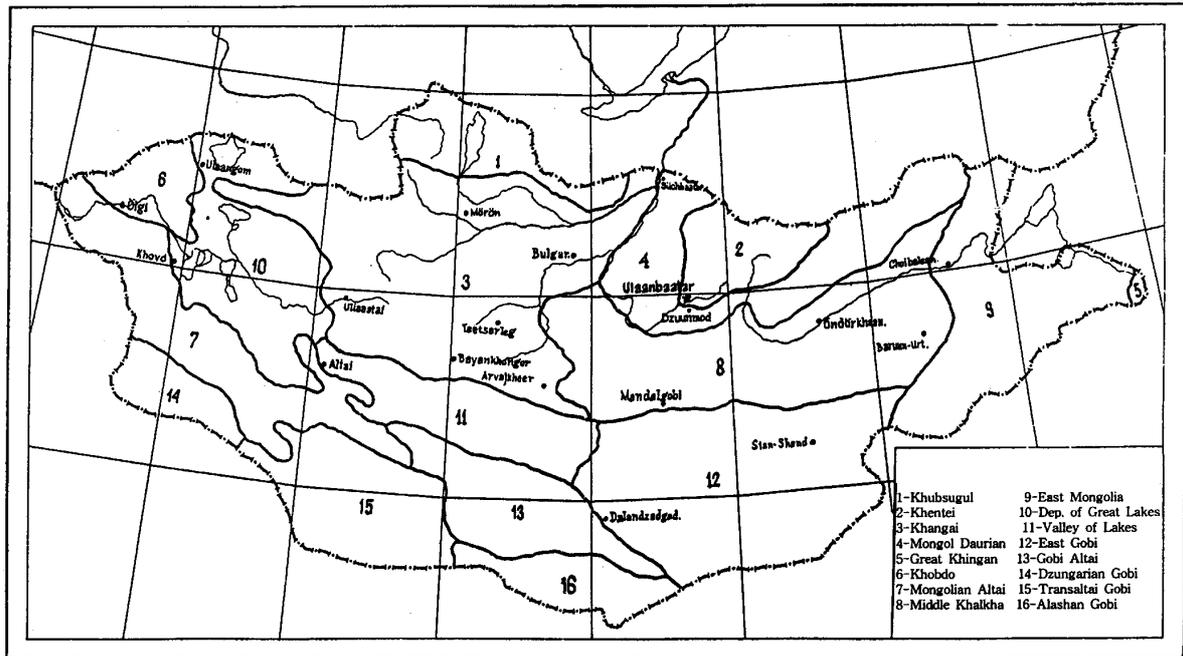
#### Vorkommen.

*Thermopsis hirsutissima* Czefr., die in der Mongolei „ haariger Murmeltierfinger “ genannt wird, ist in der Zone von Mongol-Altai, Gobi-Altai, Becken der Großen Seen (Great Lakes) und Tal der Mehreren Seen ( Valley of Lakes) beheimatet [2] (Verbreitungsorte Abb.4).



Abb.3 *Thermopsis hirsutissima*

## Botanico-geographic regions of MONGOLIA

Abb.4 Vorbereitungsgebiete: *Z.potantinii* 13, 15, 16*Z.pterocarpum* 7, 10, 12, 13, 14, 15, 16*T.hirsutissima* 7, 10, 11, 13

## 2. Allgemeines

### 2.1. Bisher bekannte Inhaltsstoffe der Gattung *Zygophyllum*.

**Saponine:** Das Inhaltsstoffspektrum von *Zygophyllum* wird durch einen reichlichen Anteil der Saponine geprägt. Allgemein gilt wohl für die Familie, daß Sapogenine keiner einzigen Gattung gänzlich fehlen, und je nach Genus Steroidsapogenine der Diosgeningruppe oder andersartige Steroide oder Triterpensapogenine überwiegen [9]. In der Gattung *Zygophyllum* kommen reichlich Triterpensapogenine vor. Aber nach Angaben von Hegnauer [3] wurden bei der Gattung *Zygophyllum* einige Arten, z. B. *Melocarpum* und *Agrophyllum* (ausgesondert *Z. simplex*) als saponinfrei gefunden.

Erst im Jahr 1939 wurde von Soliman aus getrockneten Pflanzen von *Z. coccineum* ein Triterpen der Chinovasäure (Abb.5) isoliert [10]. Weitere Untersuchungen führten zu einem nicht glykosidischen Bitterstoff, dem Zygophyllin [11] und einer Anzahl von Saponinen, deren Sapogenine als Chinovasäure identifiziert wurden.

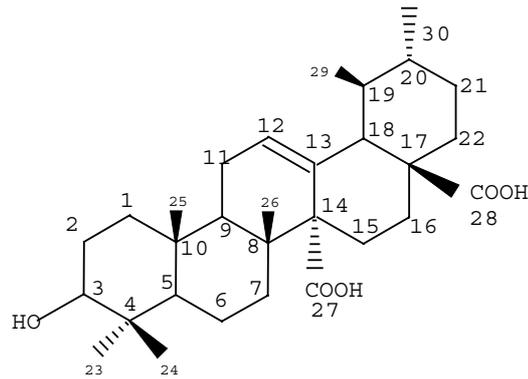


Abb.5 Strukturformel der Chinovasäure

Ausführliche Untersuchungen von Ahmad, V. U. [12-14] und Pöllman, K. [15-17] liegen für die Arten von *Z. decumbens*, *Z. album*, *Z. dumocum*, *Z. coccineum* (syn. *Z. propinquum*) vor. Dabei wurden hauptsächlich Triterpensaponine, zum Teil auch sulfatisiert, mit dem Grundgerüst Chinovasäure isoliert. Pöllmann et al. [17] haben aus *Z. decumbens* weitere Saponine isoliert, deren Sapogenine als Arjunolsäure, Norarjunolsäure und Hydroxyoleanolsäure identifiziert wurden. Ahmad et al. [13] haben von *Z. propinquum* neben dem Saponin Zygophylloside, Erythrodiol-3-caffeat isoliert. Aus *Z. album* wurden von Hassanean et al. [18,19] Triterpensaponine mit Chinovasäure und 14-decarboxylierter Chinovasäure als Grundgerüst isoliert. Triterpensaponine, deren Grundgerüst Oleanolsäure ist, sind von *Z. obliquum* [20] und *Z. fabago* [21-23] bekannt.

**Polyphenole:** Über die Phenole der Familie Zygophyllaceae -abgesehen von Lignan- ist noch sehr wenig bekannt. Saleh et al. [24] berichteten über flavonoidische Verbindungen dieser Familie. Nach seinen Angaben kommt in der Gattung *Zygophyllum* als Hauptkomponente Isorhamnetin-3-rutinosid in den Pflanzen *Z. album*, *Z. berenicense* und *Z. coccineum*, aber in *Z. simplex* und *Z. decumbens* Isorhamnetin-3-glucosid vor. In kleinen Mengen kommen Quercetin-3-rutinosid, Quercetin-3- glucosid, Isorhamnetin-3,7- und Quercetin-3,7-diglucoside vor. Es wurde nachgewiesen, daß die Gattung *Zygophyllum* aus der algerischen Sahara Quercetin, Isorhamnetin und Kaempferol je als Mono- und Diglycosid enthalten [25]. Aus der Frucht und den Blättern von *Z. simplex* aus der Region Rajasthan wurden als Haupt-Flavonoid Quercetin und Kaempferol isoliert [26].

Cong-Jin Li et al. [27] berichten über ein Flavonoidsulfat und zwar Isorhamnetin-3-O-(4''-sulfatyl) -rutinosid in *Z. dumosum*.

Außerdem wurde berichtet, daß aus *Z. fabago* p-Cumarsäure und mutmaßlich Scopoletin isoliert wurden [3].

**Alkaloide:** Die Zygophyllaceenalkaloide sind als  $\beta$ -Carbolinderivate oder Chinazolinderivate bekannt. Meist kommen sie in geringen Mengen vor. In der Gattung *Zygophyllum* wurden bis jetzt nur in *Z. fabago* Alkaloide (Harman, Harmin, Harmol) gefunden [28-31]. Zoloznizkaja hat berichtet, daß *Z. atriplicoides* alkaloidhaltig ist [32].

**Andere Inhaltsstoffe:** Es ist über die anderen Inhaltsstoffe aus der Gattung *Zygophyllum* fast gar nichts bekannt. Es wurde geschrieben, daß *Z. fabago* Pinit [33] und fettes Öl [34] enthielt. Nach Beobachtungen von Teodosiu an Samen von *Z. fabago* handelt es sich beim Öl um Amyloid [35].

### 2.1.1. Pharmazeutische Anwendungen der Pflanzen aus der Gattung *Zygophyllum*.

Der gekochte, wäßrige Extrakt von *Z. pterocarpum* und *Z. potaninii* wird in der Volksmedizin der Mongolei bei Leber- und Gallenkrankheiten verwendet. Es wurden keine Literaturangaben darüber gefunden, aber der Volksmund hat bis jetzt davon erzählt.

Über die pharmazeutische Anwendungen anderer Pflanzen aus der Gattung *Zygophyllum* wurde von verschiedenen Autoren berichtet.

Blätter, Stengel und Früchte von *Z. coccineum* L. wurden in der ägyptischen Volksmedizin als Droge "Kammun Quarâmâny" verwendet. Diese Droge wirkt gegen Rheumatismus, Gicht, Asthma, und Hypertonie und man benutzt sie auch als Diuretikum, Anthelmintikum und Antidiabetikum, Antipyretikum und Lokalanesthetikum [16, 36].

Von Saad et al. wurde festgestellt, daß die Pflanze *Z. propinquum* Decne. (syn. *Z. coccineum* L.) eine antihistaminische Aktivität besitzt und beim isolierten Darm eine Relaxation, an der Uterus Kontraktion und beim isolierten Herzen eine Amphibie Stimulation und deren Depression hervorruft [36]. Nach ihren Angaben hat der wäßrige Extrakt von *Z. decumbens* antipyretische, spasmolytische, diuretische, hypotonische und anästhetische Effekte auf die Tiere gezeigt [37].

Die methanolischen Extrakte von *Z. album*, *Z. coccineum*, *Z. dumosum* haben eine Antifungalwirkung gezeigt [38].

Das Extrakt von *Z. dumosum* Boiss wurde in Ägypten für die Behandlung von Rheumatismus, Gicht, Asthma und Hypertonie eingesetzt [39].

Rollov hat in seinem Buch über die anthelmintische und Antisyphiliticwirkungen von *Z. atriplicoides* geschrieben [40].

In Mittelasien wurden die Wurzeln von *Z. brachypterum* als feuchter Kühlverband bei Rheumatismus [41], und als Schmiercreme zusammen mit Schafs Fett zur Wundheilung [42] eingesetzt. Frische Blätter wurden als Zugpflaster verwendet [43].

*Z. fabago* wurde bei Harnwegserkrankungen, Rheumatismus und Hauterkrankungen eingesetzt, sowie auch als Anthelmintikum, Antipyretikum benutzt [44, 45]. Die gekochten Wurzeln wurde bei Karbunkeln verwendet [41].

## 2.2. Bisher bekannte Inhaltsstoffe der Gattung *Thermopsis*

Bei *Thermopsis* Arten kommen reichlich Chinolizidin-Alkaloide vor, von welchen heute viele Typen bekannt sind. Sie enthalten hauptsächlich Lupinin, Cytisin, Spartein, Anagyrin, Pachycarpin, Thermopsin, N-Methylcytisin, Lupanin, Isolupanin, 17-Oxospartein und 5,6-Dehydrolupanin [2, 46]. Nach Untersuchungen von Murakuschi et al. enthalten zusätzlich *Th. lupinoides* Lupanin-N-oxide [47] und die Wurzeln von *Th. chinensis* (-)- O-Acetylbaptifoline und (-)- Tetrahydrocytisin [48]. Die weiteren Untersuchungen ergaben andere Alkaloide, 13- $\beta$ - Hydroxythermopsin aus *Th. licentiana* und *Th. lanceolata* [49, 50] und 13-epi-Hydroxyspartein und Desoxyangustifoline aus *Th. mongolica* [51]. Ammodendrin wurden auch bei *Th. chinensis*, *Th. divacarpa*, *fabaceen*, *lanceolata* und *montana* beobachtet [8].

Yuldashev et al. haben aus *Th. alterniflora* Flavonoide bzw. Formononetin, Ononin, Cynarosid, Rotindin und acetylierte Flavonoide Crotonylthermopsosid und Crotonylcosmosiin [52] und von oberirdischen Teile der *Th. dolichocarpa* Liteolin, Cynarosid, Orobil, Orobil-7-O- $\beta$ -glucopyranosid und Genistin isoliert [53]. Es wurde berichtet, daß aus *Th. licentiana* Isoflavonoide bzw. Daidzein, Trifolirhizin, Daidzin, Genistin-4,7-diglycosid und Genistein-4,7-diglycosid isoliert wurden [49]. Nach Angaben von Melnizuck ist *Th. lanceolata* saponinhaltig und es wurde Thermopsilanzin isoliert [54].

### 2.2.1. Pharmazeutische Anwendung der Gattung *Thermopsis*

Es wurden viele *Thermopsis* Arten z.B. *Th. dolichocarpa*, *Th. lupinoides*, *Th. chinenses*, *Th. alpina*, *Th. przewalskii*, *Th. turkestanika* als Medizinpflanzen verwendet.

*Th. lanceolata* wurde in Mittelasien bei Katarrh des Atemwegs oder bei Pneumonie, bei Kopfschmerzen und Schwindel und auch bei Hauterkrankungen eingesetzt und als Anthelmintikum benutzt. In der mongolischen traditionellen Medizin wurde es hauptsächlich

gegen Pneumonie und auch als Expektorans verwendet. Das Pulver oder der Aufguss der Pflanze wurde in der Mongolei bei Entzündungen von Wunden und Geschwüren verwendet. In Tibet wurde *Th. tibetica* in Form eines Puders gegen Würmer auf Rinderücken geschmiert [2]. *Th. dahurica* wurde als Antitussivum und Expektorans und *Th. alpina* als Antispasmodikum, Antipyretikum und bei Dystonie, Asthenie, Neuroasthenie verwendet [1].

### 3. Chemische Untersuchungen

#### 3.1. Chemische Untersuchungen von *Zygophyllum potaninii*

##### 3.1.1. Extrakterstellung und Aufarbeitung der Extrakte

Die getrockneten und zerkleinerten oberirdischen Teile des Pflanzenmaterials wurden in 80%-igem Methanol mazeriert. Der Extrakt wurde am Rotationsverdampfer eingengt und schließlich lyophilisiert. Dieser Rohextrakt wurde in Wasser aufgenommen und nacheinander mit Chloroform und n-Butanol extrahiert. Die organischen Phasen wurden am Rotationsverdampfer eingengt und die wäßrige Phase lyophilisiert.

##### Aufarbeitung des BuOH- Extraktes

29 g BuOH-Extrakt wurden durch Dry-column-flash-Chromatographie aufgetrennt. Dabei wurden 8 Fraktionen (B1-B8) erhalten. Die Fraktionen wurden zur Trennung von einzelnen Substanzen weiter bearbeitet.

##### Aufarbeitung des CHCl<sub>3</sub>- Extrakts

Der CHCl<sub>3</sub>- Extrakt wurde mit einer Dry-column-flash-Chromatographie mit Lösungsmittelgradient weiter aufgetrennt. Ausgehend von Petrolether wurde der Gradient in 10%- Schritten durch Diethylether bis zu 60% Essigester entwickelt. Somit wurde der CHCl<sub>3</sub>- Extrakt in 3 Fraktionen nach niedriger, mittlerer und höherer Polarität aufgetrennt. Die 3 Fraktionen wurden anschließend weiterer Säulenchromatographie unterworfen.

### 3.1.1.1. Isolierung und Identifizierung der Verbindung 1

Die blaß grünlich-gelbe, pulverige Substanz konnte aus Fraktion B5 durch SC an Sephadex LH-20 und anschließend mit Hilfe einer RP-18 Säulenchromatographie isoliert werden. Unter dem UV-Licht bei 366 nm fluoreszierte sie auf dem Dünnschichtchromatogramm dunkelgelb. Nach Detektion mit Naturstoffreagenz zeigte sie eine gelbgrüne Fluoreszenz. Die Färbung mit Naturstoffreagenz ist als erster Hinweis auf ein Kaempferolderivat zu werten [55].

Die Verbindung 1 hat einen Rf-Wert auf dem RP-18 DC von 0,24 im FMS MeOH: H<sub>2</sub>O:AcN (55:37:8) und von 0.64 im FMS MeOH / H<sub>2</sub>O (7:3, v:v ). Nach saurer Hydrolyse der Verb.1 konnten Glucose und Rhamnose als Zuckerbausteine durch DC-Vergleich mit authentischen Vergleichssubstanzen identifiziert werden.

#### 3.1.1.1.1. IR Spektrum

Die im IR-Spektrum der Verbindung 1 (Abb.33) auftretenden Schwingungsarten belegen das Vorliegen einer flavonoiden Verbindung. Im IR Spektrum findet sich eine breite O-H-Valenzschwingungsbande bei 3424 cm<sup>-1</sup>, die als Hinweis auf eine glykosidische Verbindung gewertet werden kann. Die aromatische Struktur ist durch Banden bei 1610 und 1508 cm<sup>-1</sup> gekennzeichnet. Die Bande bei 1655 cm<sup>-1</sup> wurde durch eine Carbonylgruppierung hervorgerufen. Durch eine Ethergruppierung erscheinen die C-O-C- Streckschwingungen bei 1072 und 811cm<sup>-1</sup>.

**Tabelle 1** IR-Daten der Verbindung 1

Wellenzahl (cm <sup>-1</sup> )	Zuordnung	Schwingungsart
3424	O-H	Valenzschwingungen
2928	C-H	Streckschwingungen
1655	C=O	Valenzschwingungen
1610, 1508	C=C	Valenzschwingungen, Aromat
1072	C-O-C	asymmetrische Streckschwingung
811	C-O-C	symmetrische Streckschwingung

### 3.1.1.1.2. UV-Spektren

UV- Spektren wurde von Verb.1 nach dem in Kap.6.1.1.4 beschriebenen Verfahren in MeOH unter Zusatz verschiedener Reagenzien aufgenommen (Tab.2). In methanolischer Lösung zeigte die Verb.1 die typische Absorptionskurve eines 3-hydroxyl-substituierte Flavonols mit den Banden I bei 349 nm und II bei 266 nm. Im allgemeinen resultieren die Banden I und II aus der Absorption der Cinnamoyl- und Benzoylteile des Flavonoidgrundgerüsts (Abb.6).

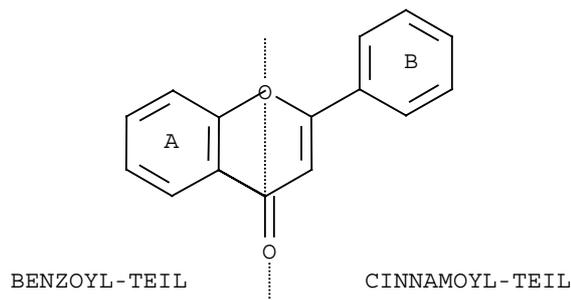


Abb.6 Flavonol-Struktur

Die Zugabe der starken Base Natriummethylat führt zur Ionisation aller Hydroxylgruppen der Flavonoidstruktur. Hierbei zeigt sich eine bathochrome Verschiebung der Bande I um 43 nm mit einer leichten Intensitätszunahme des Peaks und es findet keine Degeneration der Banden nach 5 min statt. Daraus kann auf eine freie 4'-OH- Gruppe und eine glykosidierte 3-OH- Gruppe geschlossen werden. Das Vorliegen einer 7-OH wurde durch neu auftretende Bande bei 326 nm bestätigt.

Bei Zugabe von  $\text{AlCl}_3$  bilden sich säurestabile Komplexe mit Flavonoiden, die eine 4-Ketogruppe und freie 3- oder 5-OH-Gruppe tragen, sowie säurelabile Komplexe mit vicinalen Hydroxygruppen. Nach Zugabe von  $\text{AlCl}_3$  zur methanolischen Lösung der Verb.1 verschieben sich alle Banden nach längeren Wellenlängen hin und zusätzlich sind zwei neue Bande aufgetreten. Dieses Spektrum mit den Banden Ia, Ib, IIa und IIb ist ganz typisch für ein 5-OH Flavonoid [2]. Eine bathochrome Verschiebung der Bande I um 47 nm weist auf eine freie 5-OH und substituierte 3-OH-Gruppe hin. Bei Säurezusatz verändert sich das Spektrum fast nicht, was gegen eine vicinale Dihydroxygruppierungen im Molekül spricht.

Die schwache Base NaOAc kann nur die stark aciden OH-Gruppen (3, 7- und 4'-OH) eines Flavonoids zur Ionisierung führen. Deshalb wurde diese schwache Base zur Detektion freier 7- und 4'-OH-Gruppe verwendet. Bei Zugabe von NaOAc zu einer methanolischen Lösung

der Verbindung **1** ergibt sich eine bathochrome Verschiebung der Bande II um 5 nm und dies deutet auf eine freie 7-Hydroxylgruppe hin. Da sich durch Zugabe von Borsäure keine nennenswerte Veränderungen der Bande I gegenüber dem in Methanol aufgenommenen Spektrum ergibt, kann das Vorliegen orthoständiger OH-Gruppen ausgeschlossen werden.

**Tabelle 2** UV-Daten der Verbindung **1** (in nm)

	Bande II	Schulter	Bande I
MeOH	266		349
MeOH + NaOMe	274	326	392
MeOH + AlCl <sub>3</sub>	273	305, 354	396
MeOH + AlCl <sub>3</sub> /HCl	274	305, 352	394
MeOH + NaOAc	271		356
MeOH + NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	266		348

### 3.1.1.1.3. <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum

Im <sup>1</sup>H-NMR Spektrum der Verb. **1** (Abb.34 in DMSO und Abb.36 in CD<sub>3</sub>OD) erscheint bei 12.62 ppm das charakteristische Singulettsignal für eine freie OH-Gruppe am C-5 einer flavonoiden Verbindung. Wasserstoffbrückenbildung des Hydroxylprotons mit der Carbonylgruppe an C-4 verursacht die starke Verschiebung des Protons der Hydroxylgruppe an C-5 in Richtung Tieffeld. Im Bereich von 6.0-8.0 ppm sind die für aromatische Systeme charakteristischen Protonensignale zu erkennen. Bei 6.42 und 6.18 ppm finden sich zwei Dubletts jeweils mit der Kopplungskonstante ca. 1.95 Hz. Die beiden Signale können den meta-koppelnden Protonen an C-8 und C-6 eines im A-Ring an C-5 und C-7 hydroxylierten Flavonoids zugeordnet werden. Bei 8.02 und 6.87 ppm erscheinen zwei Dubletts mit der Kopplungskonstante 8.8 Hz. Aus den Integralen ergibt sich, daß jedem Dublett jeweils 2 Protonen zugeordnet sind. Die beiden Dubletts zeigten eine symmetrische Aufspaltung eines AA`BB`-Systems, was auf einen para-substituierten Aromaten hinweist. Auch die Lage der beiden Dubletts ist typisch für die Protonen des B-Ringes, welcher eine OH-Gruppe an C-4` trägt. Das von den Protonen an C- 3` und C- 5` hervorgerufene Dublett wird durch den Substituenten an C-4` stärker abgeschirmt und erscheint bei 6.87 ppm. Das andere Dublett bei 8.02 ppm gehört zu den Protonen in 2` und 6`-Position. Sie sind aufgrund der stärkeren

Beeinflussung durch den C-Ring gegenüber den Protonen an C-3' und C-5' nach Tieffeld verschoben. Um die Struktur des Aglykons festzustellen, wurde eine Hydrolyse durchgeführt. Durch das  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum (Abb.40) des Hydrolyseprodukts **1a** wurde die Struktur des Aglykons als Kaempferol bestätigt [56-58].

Die Protonen des Zuckeranteils erscheinen im höheren Feld. Zwei anomere Protonen H-1'' und H-1''' befinden sich bei 5.65 ppm und 5.28 ppm. Mit einer Kopplungskonstante von 7.2 Hz deutet das Signal bei 5.65 ppm auf eine  $\beta$ -Verknüpfung des anomeren Protons der Glucose hin. Dem anomeren Proton der Rhamnose wurde das Signal bei 5.28 zugeordnet. Die chemische Verschiebungen der beiden anomeren Protonen liefert die Informationen über eine intermolekulare Bindung des Kohlenhydrateils, genauer gesagt eine rhamnosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-glucosidische Bindung. Die Werte sind in Einklang mit den Werten der Referenz [59]. Die restlichen Zuckersignale - außer H-6''' - der Rhamnose erscheinen zwischen 3.00-4.00 als nicht interpretierbares Multiplett. Das Signal der Methylgruppe der Rhamnose tritt bei 0.74 ppm (6.2 Hz) auf.

**Tabelle 3**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebungen der Verbindungen **1** und **1a** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Intensität	<b>1</b> in DMSO- $d_6$	<b>1</b> in CD $_3$ OD	<b>1a</b> in CD $_3$ OD
H-6	d 1H	6.18	6.16	6.23
H-8	d 1H	6.42	6.36	6.40
H-2'/6'	dd 2H	8.02	8.05	8.07
H-3'/5'	dd 2H	6.87	6.89	6.91
H-5	br 1H	12.62	----	
H-1''	d 1H	5.65	5.75	
H-1'''	d 1H	5.28	5.24	
H-6'''	d 3H	0.74	0.96	

Im  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY Spektrum (Abb.38) der Verb.1 werden entsprechende Spinsysteme des B-Ringes ( 8.05 ppm  $\leftarrow \rightarrow$  6.89 ppm ) und A-Ringes ( 6.16 ppm  $\leftarrow \rightarrow$  6.36 ppm ) sowie von  $\beta$ -D-Glucose und  $\alpha$ -L-Rhamnose bestätigt.

### 3.1.1.1.4. $^{13}\text{C}$ -NMR- Spektrum

Das  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum (Abb.35) zeigt ein Signalmuster mit 25 Peaks. Die Signale bei 130.82 ppm und 115.18 ppm deuten durch doppelt starke Intensität auf einen symmetrischen Aufbau eines Molekülteils hin und konnten C-2' / C-6' und C-3' / C-5' des B-Rings zugeordnet werden. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum findet man wie erwartet 12 Signale für den Zuckeranteil und 13 bzw. 15 Signale für Kaempferol als Aglykon. Die zwei Methingruppen C-6 und C-8 des A-Rings erscheinen bei 98.40 ppm und 93.75 ppm. Im tieferen Feld befinden sich die Signale der oxidierten Kohlenstoffatome. Bei 177.38 ppm erscheint ein typisches Signal für eine Carbonylgruppe an C-4. Die Signale für die hydroxylierten C-7, C-5 und C-4' befinden sich jeweils als Singulett bei 164.55, 161.32 und 159.98 ppm. Als Singulett tritt der Peak für C-3 bei 132.76 ppm auf. Ein schwaches Singulett bei 103.97 ppm gehört zu C-10. Dem oxidierten C-9 wurde das Signal bei 156.44 ppm zugeordnet. Das übrig gebliebene Signal bei 156.11 ppm wurde dem quartären C-2 zugeordnet. Die anomeren Zuckersignale erscheinen bei 100.69 und 98.88 ppm. Nach der sauren Hydrolyse wurde von dem Aglykon ein  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum (Abb.41) aufgenommen. Anhand der Unterschiede der chemischen Verschiebungen zwischen dem  $^{13}\text{C}$  -NMR Spektren der Verb.1 (Abb.37) und dem Aglykon **1a** (die Vergleichsdaten sind in  $\text{CD}_3\text{OD}$  aufgenommen) konnte die Verknüpfungsstelle des Kohlenhydratanteils mit dem Aglykon lokalisiert werden.

Die Daten beider Spektren stehen in guter Übereinstimmung zueinander bis auf die chemischen Verschiebungen von C-4, C-3 und C-2. Das Signal für C-3 der Verb.1 ist gegenüber dem C-3 für das hydrolysierte Produkt um 2.6 ppm nach Hochfeld verschoben, das Signal von C-2 in Verb.1 ist dagegen um 10.2 ppm nach Tieffeld verschoben. Bei dem ortho-ständigen C-2 ist der semi-olefinische Charakter stärker ausgeprägt als bei einem aromatischen System [60]. Deshalb führt die Glykosidierung an C-3 zu so einer starken Tieffeldverschiebung. Die Differenzen der chemischen Verschiebungen der Signale von C-2 und C-3 entsprechen den Werten in Referenz [57, 61] für eine Glykosidierung der Hydroxylgruppe an C-3. Das Signal für C-4 in Verb.1 ist gegenüber dem C-4 im Aglykon um 1.97 ppm in Richtung Tieffeld verschoben. Durch den ortho-Effekt der Glykosidierung am C-3 wurde diese Veränderung hervorgerufen. Durch die  $^{13}\text{C}$ -NMR- chemische Verschiebungen konnte die intermolekulare Bindung des Kohlenhydratanteils bestätigt werden. Die Zuordnung der Kohlenstoffatome der Glucose und Rhamnose war zutreffend für Rhamnosyl- (1  $\rightarrow$  2)-glucosid. Ein Methylen-Signal bei 62.59 ppm bestätigt eine freie  $\text{CH}_2\text{OH}$ -Funktion an C-6'' der Glucose. Dagegen wurde das Signal C-2'' um 3.31 ppm nach Tieffeld verschoben. Die

chemische Verschiebungen der Kohlenhydratanteile steht in guter Übereinstimmung mit den Literaturdaten von Naringenin-7-O-neohesperidosid [59]. Hier wurde mit Hilfe der zweidimensionalen heteronuklear korrelierten NMR-Experimente die Zuordnung von anomeren Kohlenstoffatome der Zuckereinheiten sowie C-5 der Glucose korrigiert. Laut des  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  COSY Spektrums (Abb.39) wurden die Signale bei 100.25 und 102.55 ppm den anomeren Kohlenstoffatomen der Glucose bzw. der Rhamnose neu zugeordnet. Das Signal bei 78.26 ppm läßt sich C-5 zuordnen.

**Tabelle 4**  $^{13}\text{C}$ - chemische Verschiebungen der Verbindung **1** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>1</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$	<b>1a</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$	<b>1</b> in $\text{DMSO-d}_6$
C-2	158.37	148.16	156.11
C-3	134.39	137.05	132.76
C-4	179.32	177.35	177.38
C-5	163.10	162.38	161.32
C-6	99.73	99.31	98.40
C-7	165.76	165.49	164.55
C-8	94.60	94.52	93.75
C-9	158.48	158.21	156.44
C-10	105.89	104.54	103.97
C-1'	123.11	123.71	120.99
C-2'	132.08	130.68	130.83
C-3'	116.07	116.33	115.18
C-4'	161.25	160.44	159.98
C-5'	116.07	116.33	115.81
C-6'	132.08	130.68	130.82
Zuckeranteile			
C-Atome	<b>1</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$	<b>1</b> in $\text{DMSO-d}_6$	Lit.[59] in $\text{DMSO-d}_6$
C-1''	100.25*	98.88*	100.4
C-2''	79.99**	77.56*	76.7

Fortsetzung der Tab.4

C-3''	78.88**	77.56*	77.2
C-4''	71.77	70.29	70.1
C-5''	78.26*	77.36*	77.0
C-6''	62.59	60.85	60.8
C-1'''	102.55*	100.69*	98.0
C-2'''	72.28	70.61	70.4
C-3'''	72.36	70.61	70.7
C-4'''	74.00	71.90	72.1
C-5'''	69.89	68.38	68.2
C-6'''	17.51	17.32	17.8

\*die Werten sind gegenüber [59] korrigiert. \*\* kann ausgetauscht werden.

### 3.1.1.1.5. MS

Zusätzliche Absicherung der Struktur der Verb.1 lieferte das Molekulargewicht nach der ESI-Massenspektrometrie (Abb.42). Aus dem Molekülpeak im negativen Full ms  $[M-H]^-$  593 resultiert die Summenformel  $C_{27}H_{30}O_{15}$ . Ein Fragment bei 447 zeigt die Rhamnose-Abspaltung  $[M-146]^-$ . Ein weiteres Fragment bei 284 resultiert aus der Glucose-Abspaltung mit einem Proton  $[M-146-162-H]^-$ . Das ESI-Massenspektrum (Abb.43) des Aklykons (Verb.1a) zeigt den Basispeak im positiven Full ms  $[M+H]^+$  287.3, was dem Molekulgewicht des Kaempferols entspricht.

Aufgrund der umfassend durchgeführten Analyse ( DC, Hydrolyse, UV, IR, ESI-MS,  $^1H$ - und  $^{13}C$ -NMR ) wurde die Verbindung 1 als Kaempferol-3-O-neohesperidosid (Abb.7) identifiziert.

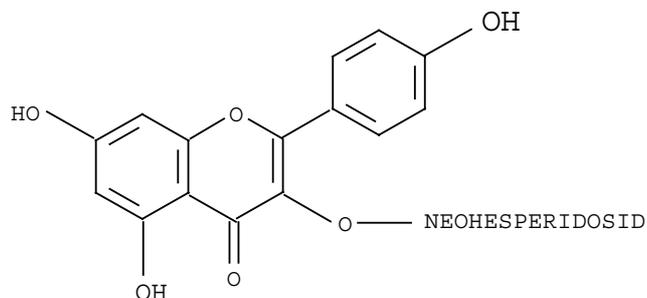


Abb.7 Strukturformel von Verbindung 1

### 3.1.1.2. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **2**

Die blaß-gelbe Substanz konnte aus Fraktion B5 nach Säulenchromatographie über Sephadex LH-20 und RP-18 isoliert werden. Die Detektion des Chromatogramms erfolgte unter dem UV-Licht mit Naturstoffreagenz und fluoreszierte dabei gelbgrün, welches auf eine Kaempferolderivat hindeutet.

Die Verbindung **2** hat einen R<sub>f</sub>-Wert von 0,15 im FMS MeOH/ H<sub>2</sub>O/ AcN (55:37:8) und von 0,53 im FMS MeOH/ H<sub>2</sub>O ( 7:3, v:v ).

#### 3.1.1.2.1. <sup>1</sup>H-NMR Spektrum

Das <sup>1</sup>H-NMR Spektrum (Abb.44) zeigt im aromatischen Bereich 4 Signale. Die beiden Signale bei 6.38 ppm und 6.18 ppm (je J=2 Hz) sind den meta-kopplenden Protonen an C-8 und C-6 zuzuordnen. Zwei Dubletts mit einer ortho-Kopplung, deren Integral jeweils 2 Protonen entspricht, bei 7.95 ppm (J=8.9 Hz) für H-2'/ H-6' und 6.87 ppm für H-3' / H-5' (J=8.9 Hz) zeigten die typische Aufspaltung eines para-substituierten Aromaten. Das Proton der Hydroxylgruppe am C-5 bildet eine Wasserstoffbrückenbindung zu der Carbonylgruppe am C-4 aus. Deshalb erschien das Resonanzsignal des Protons am C-5 als breit Singulett bei 12.52 ppm. Die chemischen Verschiebungen und Aufspaltungen entsprechen der Struktur des Kaempferols.

Im anomeren Zuckerbereich treten zwei deutlich auswertbare Signale auf. Das anomere H-1'' absorbiert als Dublett bei 5.29 ppm. Seine Kopplungskonstante von 8 Hz weist auf eine β-Verknüpfung des anomeren Protons der Glucose. Das H-1''' bei 4.38 ppm und eine Methylgruppe als Dublett bei 0.97 ppm gehören zu Rhamnose. Aus der chemischen Verschiebung des anomeren Protons konnte die intermolekulare Bindung des Kohlenhydratanteils als Rhamnosyl- ( 1 → 6 ) -glucosid bestätigt werden. [59, 62, 63]

Die übrigen Protonen des Zuckerteils befinden sich zwischen 3.30-4.68 ppm.

Die <sup>1</sup>H-NMR spektroskopischen Daten von Verb. **2** (Abb.46 in CD<sub>3</sub>OD und DMSO-d<sub>6</sub> ) im Vergleich zu Literaturdaten [57] von Kaempferol-3-O-rutinosid (CD<sub>3</sub>OD) werden in Tab.5 dargestellt.

**Tabelle 5** <sup>1</sup>H-chemische Verschiebung der Verbindung **2** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>2</b> in DMSO-d <sub>6</sub>	<b>2</b> in CD <sub>3</sub> OD	Lit.[57] in DMSO-d <sub>6</sub>
H-6	d 1H	6.18	6.21	6.20
H-8	d 1H	6.38	6.40	6.40
H-2'/ 6'	dd 2H	7.95	8.08	8.10
H-3'/ 5'	dd 2H	6.87	6.88	6-90
OH-5	br 1H	12.52	----	-----
H-1''	dd 1H	5.29	5.14	5.12
H-1'''	d 1H	4.38	4.50	4.50
H-6'''	d 3H	0.97	1.12	1.10

### 3.1.1.2.2. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Im <sup>13</sup>C-NMR Spektrum (Abb.45) befinden sich 25 Signale, die gewisse Ähnlichkeit mit dem Spektrum der Verb.1 haben. Die fast doppelt so grossen Signale bei 130.94 und 115.17 ppm wurden C-2'/ C-6' und C-3'/ C-5' des para-substituierten B Ringes zugeordnet.

In der erwarteten Lage erscheinen die Signale für C-6 und C-8 bei 98.95 und 93.90 ppm.

Im Tieffeld erscheinen die Signale für die oxidierten Kohlenstoffatome. Die chemischen Verschiebungen von C-2 und C-3 bei 133.27 ppm und 156.61 ppm bestätigen, daß das Aglykon durch die Hydroxylgruppe am C-3 mit dem Zucker verbunden ist. Nach der Zuordnung der Signale für das Aglykon bleiben 12 Signale für den Zuckeranteil übrig. Durch die chemischen Verschiebungen des Zuckerteils konnte die Verknüpfungsstelle zwischen den Zuckermolekülen festgestellt werden. Beim Vergleich der Spektren der Verb.1 und **2** ist die unterschiedliche Verschiebung für C-2'' und C-6'' der Glucose aufgefallen. Das Methylensignal bei 66.97 ppm bestätigt die Glykosidierung der Rhamnose am C-6'' der Glucose. Wenn das nicht der Fall wäre, müßte das entsprechende C-6'' bei freier CH<sub>2</sub>-OH ungefähr (wie bei der Verb.1) bei 61.00 ppm liegen (s. Tab.4). Dagegen erscheint das Signal von C-2'' der Glucose bei 74.25 ppm, was den Daten unsubstituierter C-2 OH-Gruppen von Glucose entspricht. Im Vergleich zum Spektrum der Verb.1 ist das Signal für C-2 bei der Verb.2 um 3.31 ppm nach Hochfeld verschoben. Damit ist die Verknüpfung über Rhamnose-(1→6)-glucose nochmals bewiesen.

Die chemische Verschiebung beweist, dass Glucose in normaler Konfiguration in  $\beta$ -glykosidischer Bindung vorliegt, während im Gegensatz dazu Rhamnose  $\alpha$ -glykosidisch verknüpft ist [63, 64]. Das C-1 von Glucose erscheint bei 101.48 ppm, welches einer Glucose in  $\beta$ -Konfiguration entspricht. In  $\text{CD}_3\text{OD}$  aufgenommenes  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum wurde in der Abb.47 dargestellt. Die Signale der Verb.2 zeigt mit den Literaturdaten von Nicotiflorin [65] gute Übereinstimmung.

**Tabelle 6**  $^{13}\text{C}$ - chemische Verschiebung der Verbindung **2** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>2</b> in $\text{DMSO-d}_6$	Lit.[65] in $\text{DMSO-d}_6$
C-2	156.61	156.6
C-3	133.27	133.5
C-4	177.36	177.5
C-5	161.21	161.3
C-6	98.95	98.8
C-7	164.79	164.2
C-8	93.90	93.8
C-9	156.81	156.9
C-10	103.84	104.2
C-1'	120.97	121.1
C-2'	130.94	130.9
C-3'	115.17	115.2
C-4'	159.98	159.9
C-5'	115.17	115.2
C-6'	130.94	130.9
Zuckerteil		
C-1''	101.48	101.5
C-2''	74.25	74.2
C-3''	76.44	76.5
C-4''	69.99	70.1
C-5''	75.81	75.8
C-6''	66.97	66.9

Fortsetzung der Tab.6

C-1'''	100.86	100.6
C-2'''	70.42	70.3
C-3'''	70.66	70.7
C-4'''	71.89	72.0
C-5'''	68.23	68.1
C-6'''	17.80	17.4

### 3.1.1.2.3. MS

Zusätzliche Informationen über die Struktur der Verbindung **2** lieferte das ESI-MS (Abb.48). Das ESI-Massenspektrum zeigte einen Molekülpeak im negativen Modus  $m/z$  [M-H]<sup>-</sup> (hochaufgelöst gemessen) mit der Massenzahl von 593.1, der mit der Summenformel C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub> übereinstimmt. Im negativen Full ms/ms erscheint ein Fragment mit der Massenzahl 447.1. Dies zeigte die Abspaltung der Rhamnose [M-146]<sup>-</sup>. Ein weiterer sehr intensiver Peak mit Massenzahl von 285.1 ist aus der Abspaltung der Glucose [M- 146- 162]<sup>-</sup> erklärbar. Dieses Fragment [M- 308]<sup>-</sup> entspricht der Aglykonmasse nach der Abspaltung des Kohlenhydratanteils sowie auch der Molekülmasse des Kaempferols.

Damit wurde zweifelsfrei bewiesen, daß es sich bei der Verbindung **2** um die Kaempferol-3-O-rutinosid ( Nicotiflorin ) (Abb.8) handelt.

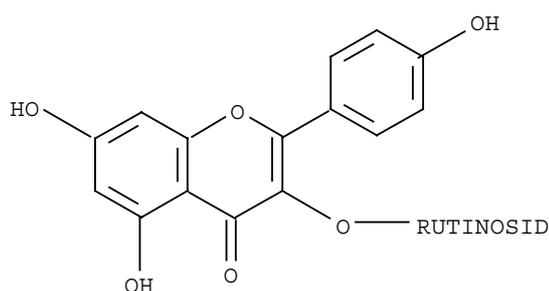


Abb.8 Struktur von Verbindung **2**

### 3.1.1.3. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **3**

Die Verbindung **3** fiel nach mehreren SC- Auftrennungen der Teilfraktion B3

an Kieselgel und Sephadex LH-20 als gelbe Substanz an. Sie hat einen Rf-Wert von 0.52 auf Kieselgel-DC mit Laufmittel MeOH/ CHCl<sub>3</sub> ( 2:8; v:v ). Nach Detektion mit Naturstoffreagenz fluoreszierte sie gelb und zeigte im UV-Licht (366 nm) eine grüngelbe Fluoreszenz. Damit gibt sich ein erster Hinweis auf ein Kaempferolderivat [55]. Sie hat einen Schmelzpunkt von 175-178 °C.

### 3.1.1.3.1. <sup>1</sup>H-NMR Spektrum

Das <sup>1</sup>H-NMR Spektrum (Abb.49) zeigt typische Signale für Kaempferol. Im aromatischen Bereich sind 4 Signale vorhanden. Es zeigten sich Dubletts für die meta-kopplenden Protonen H-6 und H-8 bei 6.22 und 6.42 ppm mit Kopplungskonstanten von je 1.5 Hz. Die Protonen des B-Ringes zeigten die typische Aufspaltung eines AA'BB' - Spinsystems, was dessen 1,4-Disubstitution belegt. Die Protonen H-2' und H-6' erscheinen als Dublett bei 8.05 ppm. Ein im höheren Feld bei 6.89 ppm erscheinendes Dublett wurde den Protonen H-3' und H-5' zugeordnet. Die beiden Dubletts haben eine Kopplungskonstante von 9 Hz, was deren ortho-Kopplungen bestätigt. Im anomeren Zuckerbereich findet sich ein Signal bei 5.22 ppm mit einer Kopplungskonstante von 6 Hz. Dies bestätigt die Anwesenheit von β- Glucose. Die restlichen Protonen des Zuckers erscheinen als Multiplett zwischen 3.20-4.00 ppm.

**Tabelle 7** <sup>1</sup>H-chemische Verschiebung der Verbindung **3** (δ-Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>3</b> in CD <sub>3</sub> OD
H-6	d 1H	6.22
H-8	d 1H	6.42
H-2'/ 6'	dd 2H	8.05
H-3'/ 5'	dd 2H	6.89
H-1''	d 1H	5.22

### 3.1.1.3.2. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Zusätzlich wurde die Struktur der Verb. **3** durch das <sup>13</sup>C-NMR Spektrum (Abb.50) abgesichert. Das <sup>13</sup>C-NMR Spektrum zeigt bis auf die Zuckersignale eine auffällige

Ähnlichkeiten mit den Spektren der Verbindungen **1** und **2**. Ordnet man dem Aglykon die entsprechenden Kohlenstoffsignale zu, so verbleiben 6 Signale für den Zuckerrest. Charakteristisch getrennt von den Signalen der anderen C-Atome des Zuckers erscheint das Signal für C-1'' im Tieffeld bei 104.16 ppm. Die anderen 5 Signale liegen im Bereich von 62.60 bis 78.35 ppm. Die chemischen Verschiebungen bestätigen, daß als Monosaccharideinheit eine Glucose vorhanden ist. Durch direkten Vergleich der Spektren der Verb.**3** mit Verb.**1** (s. Tab.4) wurden die Signale des Zuckers zugeordnet. Es gab gute Übereinstimmung der Spektren der Verb.**3** mit den Literaturdaten von Astragalin [59] unter Berücksichtigung des Lösungsmiteleinflusses (Tab.8).

**Tabelle 8** <sup>13</sup>C-chemische Verschiebungen der Verbindung **3** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>3</b> in CD <sub>3</sub> OD	Lit.[59] in DMSO-d <sub>6</sub>
C-2	158.64	156.3
C-3	135.00	133.0
C-4	179.50	177.4
C-5	163.09	161.1
C-6	99.99	98.7
C-7	166.08	164.1
C-8	94.77	93.6
C-9	158.53	156.3
C-10	105.90	104.1
C-1'	122.78	121.0
C-2'	132.27	130.7
C-3'	116.11	115.0
C-4'	161.56	159.8
C-5'	116.11	115.0
C-6'	132.27	130.7
Zuckerteil		
C-1''	104.16	101.4
C-2''	75.68	74.2
C-3''	78.35	77.2

Fortsetzung der Tab.8

C-4''	71.34	70.1
C-5''	78.00	76.5
C-6''	62.60	61.0

### 3.1.1.3.3. MS

Das ESI-Massenspektrum (Abb.51) lieferte einen Molekülpeak im negativen Full ms  $[M-H]^-$  mit der Massenzahl von 447.4, der die Summenformel  $C_{21}H_{20}O_{11}$  bestätigt. Ein Fragment bei 285.4 im negativen Full ms/ms entspricht der Masse des Aglykons  $[M-162]^-$ .

Für die Verbindung **3** ergibt sich somit die Struktur des Kaempferol-3-O-glucosids (Astragalin) (Abb.9).

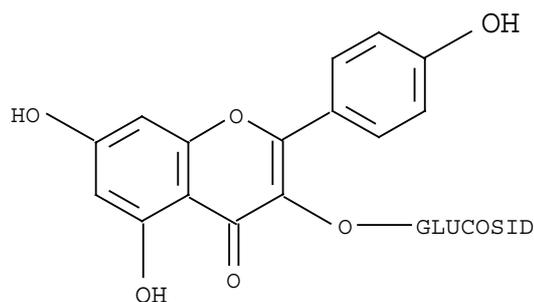


Abb.9 Strukturformel von Verbindung **3**

### 3.1.1.4. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **4**

Die Isolierung von Verbindung **4** erfolgte aus der Fraktion B6 durch SC an RP-18 und anschließende Reinigung an Sephadex LH-20. Mit Naturstoffreagenz erhält man auf der DC-Karte eine orange Verfärbung, die ein Quercetinderivat anzeigt.

#### 3.1.1.4.1. $^1H$ -NMR Spektrum

Die Flavonoidstruktur der Verbindung **4** wird mit Hilfe des  $^1H$ -NMR Spektrums (Abb.52) sichergestellt. Die Protonen des A-Rings H-6 und H-8 befinden sich als meta-kopplende Dubletts bei 6.19 und 6.39 ppm mit einer Kopplungskonstante von 1.95 Hz. Die Protonen des

B-Rings zeigen eine ABX- Aufspaltung mit Signalen bei 7.67 , 7.63 und 6.87 ppm. Das Dublett bei 7.67 ppm mit einer Kopplungskonstante von 1.95 Hz wurde dem Proton H-2' zugeordnet. Das Doppeldublett bei 7.63 ppm mit den Kopplungskonstanten 8.4 und 1.95 Hz konnte aufgrund seiner Aufspaltung dem Proton H-6' zuzuordnet werden. Das Dublett bei 6.87 ppm mit einer Kopplungskonstanten von 8.4 Hz ist dem H-5' Proton zuzuordnen, das zu dem H-6' Proton in ortho- Position steht. Aufgrund der Aufspaltung und Lage der Signale kann man das Aglykon als Quercetin identifizieren.

Im anomeren Zuckerbereich sind zwei Signale zu erkennen. Das anomere Proton H-1'' von Glucose wird als Dublett bei 5.11 ppm sichtbar. Seine Kopplungskonstante von 7.3 Hz deutet auf eine  $\beta$ -Verknüpfung hin. Das H-1''' Proton der Rhamnose zeigt sich bei 4.52 ppm mit einer Kopplungskonstanten von 0.6 Hz, welches Rhamnose in  $\alpha$  -Konfiguration entspricht [59]. Die Frequenzen beider Signale bestätigen die ( 1 $\rightarrow$  6 ) Verknüpfung der beiden Zucker miteinander. Weiterhin erscheint das Dublett für die C-6'''-Methylprotonen der Rhamnose bei 1.12 ppm (J=6.2 Hz). Die restlichen Zuckerprotonen geben zwischen 3.00-4.00 ppm Multipletts.

**Tabelle 9**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebung der Verbindung 4 ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Intensität	4 in CD <sub>3</sub> OD
H-6	d 1H	6.19
H-8	d 1H	6.39
H-2'	d 1H	7.67
H-5'	d 1H	6.87
H-6'	dd 1H	7.63
H-1''	d 1H	5.11
H-1'''	d 1H	4.52
H-6'''	d 3H	1.12

#### 1.1.4.2. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum

Im  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum (Abb.53) erscheinen 27 Signale (Tab.10). Die Zuordnung der Signale wurde zunächst über das DEPT-Spektrum getroffen. Im Bereich zwischen 94 -124 ppm

finden sich 7 Methingruppe. Zwei von diesen Signalen bei 104.73 und 102.40 ppm können den anomeren C-Atome des Zuckers zugeordnet werden. Die verbleibenden fünf Signale können dem Aglykon zugeordnet werden. Die Signale bei 94.70 und 99.95 ppm können C-8 und C-6 zugeordnet werden. Aufgrund des Effekts von Hydroxylierung an C-7 und C-5 sind sie zu höherem Feld verschoben.

Die Signale bei 123.56, 117.70 und 116.05 ppm gehören zu den Methingruppen des C-3', 4' hydroxylierten B-Rings und zwar jeweils zu C-6', C-5' und C-2'. Der C-Ringeffekt führte die chemische Verschiebung von C-6' bei 123.56 ppm nach tieferem Feld im Vergleich zu C-5'. Bei C-2' ist der ortho-Hydroxylierungseffekt noch stärker ausgeprägt als der C-Ringeffekt, deswegen ist die chemische Verschiebung bei 116.05 ppm.

Die Signale für OH- disubstituierte C-3' und C-4' erscheinen erwartungsgemäß bei 145.83 und 149.80 ppm. Im tiefsten Feld bei 179.41 ppm erscheint ein Signal, das einer Carbonylgruppe entspricht.

Die Signale bei 166.01 und 162.96 ppm konnten C-7 und C-5 des A-Rings zugeordnet werden, die OH-Substituenten tragen. Die Signale für C-2 und C-9 befinden sich bei 159.33 und 158.50 ppm.

Das typische Signal für C-3 eines in dieser Position glykosidierten Flavonols erscheint bei 135.65 ppm. Aufgrund der Glykosidierung ist das Signal von C-3 gegenüber dem freien Aglykon um 2 ppm nach Hochfeld verschoben. Aber der Glykosidierungseffekt bei C-2 ist stärker ausgeprägt und verschiebt das Signal für C-2 nach Tieffeld um 9.5 ppm im Vergleich zum Aglykon. Diese große Verschiebung zum Tieffeld zeigt den größeren olefinischen Charakter der Bindung zwischen C-2 und C-3 als in einem aromatischen System. In diesem Fall besteht ein semi-olefinischer Charakter zwischen C-2 und C-3 des Flavonols [61].

Im Bereich zwischen 79-70 ppm erscheinen 8 Methingruppen als Dubletts. Sie gehören zu den Zuckereinheiten der Verbindung. Bei 68.55 ppm erscheint ein Signal für eine Methylengruppe und bei 17.89 ppm tritt ein Signal für eine Methylgruppe auf. Aufgrund der chemischen Verschiebungen und Aufspaltung konnte man die Zuckerbausteine als  $\beta$ -Glucose und  $\alpha$ -Rhamnose definieren. Die chemische Verschiebung von C-6'' bei 68.55 ppm bestätigt, daß das C-1''' der Rhamnose an C-6'' der Glucose verknüpft ist.

Um die Struktur abzusichern wurde letztendlich mit den Literaturdaten für Rutin [66] verglichen. Die Literaturdaten sind in guter Übereinstimmung unter Berücksichtigung des Lösungsmiteleinflusses.

**Tabelle 10**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **4** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>4</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$	Lit.[66] in $\text{DMSO-d}_6$
C-2	159.33	156.6
C-3	135.65	133.6
C-4	179.41	177.4
C-5	162.96	161.2
C-6	99.95	98.6
C-7	166.01	163.9
C-8	94.87	93.4
C-9	158.50	156.4
C-10	105.83	104.2
C-1'	132.12	121.6
C-2'	116.05	115.3
C-3'	145.83	144.6
C-4'	149.80	148.3
C-5'	117.70	116.5
C-6'	123.56	121.8
Zuckereinheit		
C-1''	104.73	101.5
C-2''	75.73	74.2
C-3''	78.12	76.8
C-4''	71.39	70.4
C-5''	77.23	76.1
C-6''	68.55	67.1
C-1'''	102.40	100.7
C-2'''	72.09	70.4
C-3'''	72.24	70.8
C-4'''	73.94	72.2
C-5'''	69.70	68.2
C-6'''	17.89	17.5

### 3.1.1.4.3. MS

Das EI-Massenspektrum (Abb.54) liefert einen Molekülpeak  $[M+H]^+$  mit der Massenzahl von 303, der der Molekülmasse des Aglykons (Quercetin) entspricht.

Für Verbindung **4** ergibt sich somit der Struktur des Quercetin-3-O-rutinosids (Rutin) (Abb.10).

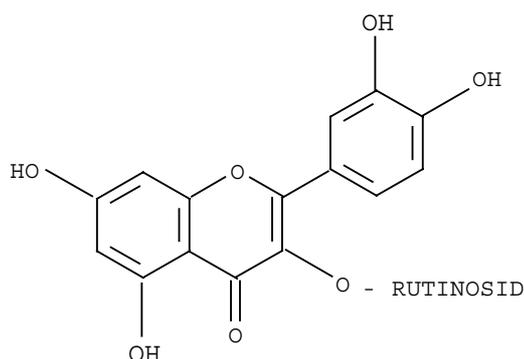


Abb.10 Strukturformel von Verbindung **4**

### 3.1.1.5. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **5**

Die Fraktion B2 wurde über Sephadex LH-20 und danach an einer Kieselgelsäule weiter aufgetrennt. Dabei wurde die Verbindung **6** als weißes Pulver erhalten. Sie hat einen R<sub>f</sub>-Wert von 0.41 in Isopropanol/ Essigester (1:9, v:v), und 0.48 in Methanol/ Chloroform (2:8, v:v). Nach der Detektion mit Schwefelsäurereagenz ergab sich eine rote Farbe. Sie hat einen Schmelzpunkt von 218°-220° unter Zersetzung.

#### 3.1.1.5.1. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Im <sup>13</sup>C-NMR Spektrum (Abb.56) zeigen sich 36 Signale. Die Zuordnung der Signale erfolgt mit Hilfe des DEPT- <sup>13</sup>C-NMR Spektrums. Durch ein anomeres Signal bei 106.53 ppm wurde das Vorliegen nur einer Monosaccharideinheit bestätigt. Die Resonanzen von vier Methingruppen und einer Methylgruppe des Zuckers treten bei 75.88, 77.01, 77.93, 72.95 und 18.21 ppm auf, die entsprechend C-2', C-3', C-4', C-5' und C-6' der β-D-quinovopyranosideinheiten zugeordnet werden können [67].

Abzüglich der Signale des Zuckers verbleiben 30 Signale für das Aglykon. Ein Aglykon mit 30 Kohlenstoffatom im Grundgerüst weist auf eine Triterpenstruktur hin.

Olefinische Signale bei 130.49 ppm als Dublett und ein Singulett bei 133.87 ppm weisen auf eine Doppelbindung im Triterpengrundgerüst hin. Bei 56.90 und 55.12 ppm erscheinen zwei typische Signale für eine Oleanen- oder Ursen- Grundstruktur, wo sie durch Methingruppen an C-5 und C-18 hervorgerufen werden. Durch die Substituenteneffekte in Nachbarschaft zur Doppelbindung konnten die beiden Strukturtypen von einander unterschieden werden. Die chemischen Verschiebungen beider olefinischen Signale weisen auf die Ursengrundstruktur hin, sowie auf eine Carboxylgruppe an C-14 [68]. Die Anwesenheit einer  $\beta$ -ständigen Methylgruppe an C-19 übt einen sterischen Effekt auf die Doppelbindung aus und führt zu einer Hochfeldverschiebung der Signale von C-13 und C-12. Bei einer Oleanenstruktur würde das Signal für C-13 um 5 ppm und das für C-12 um 2 ppm nach Tieffeld verschoben vorliegen. Dazu kommt auch der Substituenteneffekt der Carboxylgruppe an C-14 auf C-12 und C-13 [68, 69]. Im Bereich der Carbonylbanden erscheinen zwei Singulettensignale bei 181.63 und 179.04 ppm. Nach Angaben von Mello und Al Hazimi [68, 70] wurde bestätigt, daß die beide Carboxylgruppen unsubstituiert vorliegen.

Bei 90.68 ppm erscheint ein Methinsignal. Das bestätigt, daß die Monosaccharideinheit an C-3 des Aglykons gebunden ist. Ansonsten wäre ein Signal für hydroxyliertes C-3 bei ca. 77 ppm zu erwarten [68]. Im Hochfeld erscheinen 6 Signale für die isolierten Methylgruppen des Aglykons, die sehr typisch für Triterpene sind. Die Zuordnung dieser Signale erfolgte durch Vergleich mit Literaturdaten [71]. Ein Literaturvergleich mit Chinovasäure [72] zeigt gute Übereinstimmung. Lediglich die Zuordnungen von vier Methylgruppen wurde korrigiert. Somit wurde das Aglykon der Verbindung **5** als Chinovasäure (Abb.5) identifiziert (Tab.11).

**Tabelle 11**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebungen der Verbindung **5** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>5</b> in CD <sub>3</sub> OD	Lit.[72] in CD <sub>3</sub> OD
C-1	40.09	39.93
C-2	27.09	27.13
C-3	90.68	90.69
C-4	39.90	40.13
C-5	56.90	56.92

## Fortsetzung der Tab.11

C-6	19.27	19.33
C-7	37.81	37.81
C-8	40.66	40.70
C-9	47.99	48.03
C-10	37.83	37.88
C-11	23.83	23.88
C-12	130.49	130.13
C-13	133.87	134.20
C-14	57.27	57.50
C-15	25.72	25.86
C-16	26.45	26.63
C-17	49.50	**
C-18	55.51	55.69
C-19	40.37	40.46
C-20	38.30	38.40
C-21	31.21	31.36
C-22	38.01	38.28
C-23	28.48*	19.18
C-24	17.04*	28.53
C-25	16.85	16.90
C-26	19.09*	18.17
C-27	179.04	179.13
C-28	181.63	181.50
C-29	18.16*	17.08
C-30	21.51	21.55
C-1'	106.53	106.52
C-2'	75.88	75.93
C-3'	77.93	78.01
C-4'	77.01	77.05
C-5'	72.95	72.99
C-6'	18.21	18.23

\*nach Referenz [71]

\*\* durch CD<sub>3</sub>OD-Signal überlagert

### 3.1.1.5.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum

Den sicheren Strukturbeweis für die Verbindung **5** lieferte das  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum (Abb.55). Im Tieffeld sind im Bereich der anomeren und olefinischen Protonen zwei Signale vorhanden. Ein Multiplettsignal bei 5.61ppm wurde dem olefinischen Proton an C-12 des Aglykons zugeordnet.

Das anomere Proton des Zuckers erscheint als Dublett bei 4.26 ppm mit einer Kopplungskonstanten von 7.4 Hz. Die Lage und Aufspaltung bestätigt eine 1,2-diaxiale Kopplung vom Pyranosid-Zucker. Bei 1.26 ppm ( $J=6$  Hz) tritt ein Dublett auf, das durch eine Methylgruppe des Zuckers verursacht ist. Die restlichen Protonen des Zuckers befinden sich als Multipletts zwischen 2.98-3.3 ppm.

Im  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum sind die 4 tertiären Methylsignale von C-23, C-24, C-25 und C-26 entsprechend bei 0.82, 1.03, 0.98 und 0.90 ppm zu erkennen. Das Dublett bei 0.92 ppm mit einer Kopplungskonstante von ca. 6 Hz wird durch die zwei sekundären Methylgruppen von C-29 und C-30 verursacht.

**Tabelle 12**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebungen der Verbindung **5** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Intensität	<b>5</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$
H-12	m 1H	5.61
H-23	s 3H	0.82
H-24	s 3H	1.03
H-25	s 3H	0.98
H-26	s 3H	0.90
H-29/30	d 6H	0.92
H-1'	d 1H	4.26
H-6'	d 3H	1.26

### 3.1.1.5.3. MS

Das ESI- Massenspektrum (Abb.57) liefert im negativen Ionenmodus einen Peak von  $m/z$  631  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , der folgerichtig der Summenformel  $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_9$  entspricht.

Ein anderer Peak bei  $m/z$  485  $[M-144]^-$  zeigt die Aglykonmasse nach der Abspaltung des Zuckerteils.

Anhand der spektroskopischen Daten wurde die Verbindung **5** als 3-O- $\{\beta$ -D-Quinovopyranosyl}- chinovasäure (Abb.11) identifiziert.

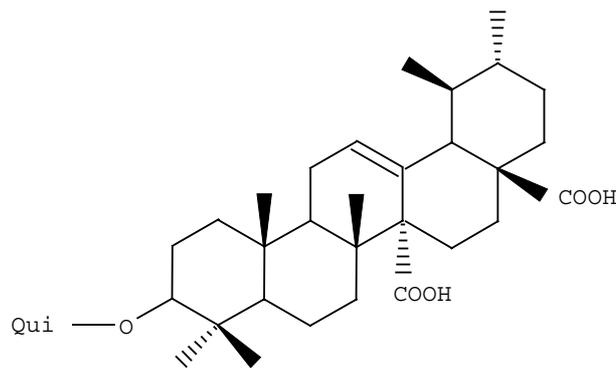


Abb.11 Strukturformel der Verbindung **5**

#### 3.1.1.6. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **6**

Die Verbindung **6** wurde aus der Fraktion B2 durch Säulenchromatographie über Sephadex LH-20 und Kieselgel aufgetrennt und anschließend mit Hilfe der PTLC in einem LMS von Acetonitril/ Essigsäure/ Wasser (60:10:35; v:v:v) gereinigt.

Sie hat einen  $R_f$ -Wert von 0.26 auf dem RP-18 DC in MeOH:H<sub>2</sub>O (7:3, v:v) und einen Schmelzpunkt von 198°-200° C unter Zersetzung.

Nach Detektion mit Schwefelsäurereagenz zeigt sie eine graurötliche Farbe.

##### 3.1.1.6.1. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Das <sup>13</sup>C-NMR Spektrum (Abb.58) zeigt deutliche Parallelen zum Spektrum der Verbindung **5**. Die beiden Spektren unterscheiden sich nur durch die chemischen Verschiebungen der Kohlenhydratanteile. Die Signallage, die zum Aglykon gehören, weisen auf die Chinovasäure hin. Das Signal bei 90.61 ppm entspricht dem C-3-Atom, das glykosidiert ist. Im olefinischen Bereich bei 134.02 und 130.31 ppm absorbieren die C-13 und C-12-Atome des Aglykons. Die Methingruppen von C-5 und C-18 befinden sich wie erwartet bei 56.87 und 55.60 ppm. Bei tiefstem Feld, bei 179.16 ppm, erscheint ein Signal, das einem

Carboxylkohlenstoff entspricht. Eigentlich sollten hier zwei Carboxylsignale für Chinovasäure erwartet werden, aber nach Referenz [73] kann das Signal der freien Carboxylgruppe so stark verbreitert sein, daß es im Grundrauschen des Spektrums verschwindet. Die Anwesenheit von zwei Carboxylgruppen wurde durch das Massenspektrum nachgewiesen. Eine eindeutige Zuordnung der restlichen  $^{13}\text{C}$ -Signale des Aglykons konnte durch direkten Vergleich mit dem  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.5 getroffen werden. Nach Zuordnung der Signale für das Aglykon verblieben 5 Signale für den Kohlenhydratanteil. Das anomere C-Atom des Zuckers erscheint bei 107.37 ppm. Die Lage bestätigt die glykosidische Bindung mit dem Aglykon. Im Zuckerbereich erscheinen drei Methinsignale bei 77.97, 75.44 und 71.25 ppm und ein Methylensignal bei 66.68 ppm. Die Resonanzlage und das Aufspaltungsmuster der 5 Signale des Zuckers bestätigen, daß es sich hierbei um  $\beta$ -D-Xylose handelt, die in der Pyranoseform vorliegt [67]. Nach der Säurehydrolyse wurde der Zuckerteil auf dem DC als Xylose mit Hilfe einer Vergleichssubstanz identifiziert.

**Tabelle 13**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **6** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>6</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$
C-1	40.12
C-2	27.14
C-3	90.61
C-4	39.89
C-5	56.87
C-6	19.27
C-7	37.86
C-8	40.67
C-9	48.01
C-10	37.68
C-11	23.85
C-12	130.31
C-13	134.01
C-14	57.36

Fortsetzung der Tab.13

C-15	25.78
C-16	26.53
C-17	*
C-18	55.60
C-19	40.40
C-20	38.34
C-21	31.27
C-22	38.03
C-23	28.48
C-24	17.03
C-25	16.87
C-26	19.10
C-27	179.16
C-28	**
C-29	18.18
C-30	21.52
C-1'	107.37
C-2'	75.44
C-3'	77.97
C-4'	70.25
C-5'	66.68

\*durch CD<sub>3</sub>OD-Signal überlagert

\*\* im Grundrauschen verschwunden

### 3.1.1.6.2. <sup>1</sup>H-NMR Spektrum

Das <sup>1</sup>H-NMR Spektrum der Verb.6 (Abb.59) konnte die Interpretationen des <sup>13</sup>C-NMR Spektrums bestätigen.

Im olefinischen Bereich befindet sich ein Multiplett bei 5.47 ppm, dessen Lage und Aufspaltung dem Proton H-12 des Aglykons entspricht. Ein Dublett bei 4.12 ppm wurde dem anomeren Proton H-1'' der Monosaccharideinheit zugeordnet. Seine Resonanzlage weist auf eine glykosidische Kopplung mit dem Aglykon hin. Mit einer Kopplungskonstante von 7.5 Hz wurde die β-Konfiguration der Xylose festgestellt. Die übrigen Protonen liegen als

uninterpretierbaren Multipletts zwischen 2.96-3.79 ppm. Im Hochfeld erscheinen die Methylsignale des Aglykons. Als Singulets absorbieren die Methylprotonen H-23, H-26, H-25 und H-24 entsprechend bei 0.70, 0.76, 0.84 und 0.88 ppm. Als Dublett bei 0.78 ppm erscheinen die Signale von H-29 und H-30. Die chemischen Verschiebungen der Verb.6 stimmt gut mit dem  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.5 überein. Die Methylen- und Methinsignale befinden sich von 1.09 ppm bis 2.14 ppm.

**Tabelle 14**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebungen der Verbindung **6** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>6</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$
H-12	m 1H	5.47
H-23	s 3H	0.70
H-24	s 3H	0.88
H-25	s 3H	0.84
H-26	s 3H	0.76
H-29/30	d 6H	0.78
H-1'	d 1H	4.12

### 3.1.1.6.3. MS

Das ESI-Massenspektrum (Abb.60) im negativen Ionenmodus zeigt einen Basispeak bei  $m/z$  617  $[\text{M-H}]^-$ , der die aus den  $^{13}\text{C}$ - und  $^1\text{H}$ -NMR Spektren erwartete Summenformel  $\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{O}_9$  bestätigt.

Aus den Daten der  $^{13}\text{C}$ - ,  $^1\text{H}$ -NMR- und MS- Spektren sowie den Ergebnissen der Hydrolyse wurde die Verbindung **6** als 3-O- $\{\beta\text{-D-Xylopyranosyl}\}$ -chinovasäure (Abb.12) identifiziert. Damit handelte es sich bei der Verbindung **6** um ein neues Triterpensaponin.

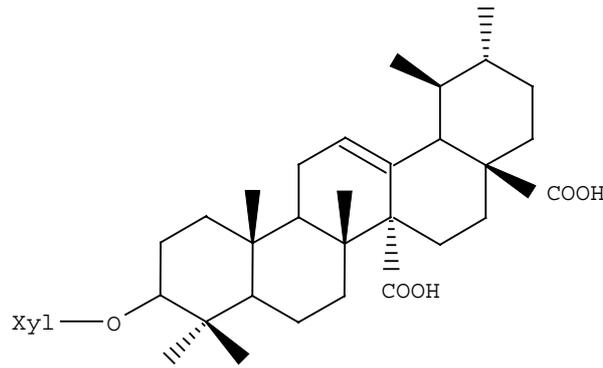


Abb.12 Strukturformel der Verbindung 6

### 3.1.1.7. Isolierung und Identifizierung der Verbindung 7

Die Isolierung der Verbindung 7 gelang aus der Fraktion B3 durch mehrmalige Säulenchromatographie an Kieselgel und Sephadex LH-20. Als Laufmittel wurde Chloroform / Methanol (8:2, v:v) verwendet. Hierbei fiel ein weißes Pulver mit einem Schmelzpunkt von 208°-210° an. Die Verb.7 hat einen R<sub>f</sub>-Wert von 0.33 in MeOH/ CHCl<sub>3</sub> (2:8, v:v) und R<sub>f</sub>= 0.27 in Isopropanol/ Essigester ( 1:9, v:v ). Im DC zeigte sich nach Entwicklung mit Schwefelsäurereagenz eine rotviolette Farbe.

#### 3.1.1.7.1. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Das <sup>13</sup>C- NMR Spektrum (Abb.61) zeigte 36 Peaks und war mit der Verbindung 6 bis auf die Monosaccharideinheit sehr ähnlich.

Im Doppelbindungsbereich befinden sich charakteristische Signale von C-12 und C-13 der Ursenstruktur bei 133.88 und 130.44 ppm. Die chemischen Verschiebungen weisen auf die Carboxylfunktion an C-14 hin. Im Tieffeld bei 181.61 und 179.03 ppm erscheinen zwei Signale für unsubstituierte Carboxylgruppen. Die typischen zwei Methinsignale von C-5 und C-18 der Ursenstruktur erscheinen erwartungsgemäß bei 56.92 und 55.53 ppm. Das Signal bei 90.68 ppm bestätigt die glykosidische Bindung des C-1' des Zuckers an C-3 des Aglykons. Im Hochfeld liegen 6 Methylsignale. Somit kann man das Aglykon wie bei den Verbindungen 5 und 6 als Chinovasäure bestätigen. Die Signale wurden durch Vergleich mit der <sup>13</sup>C-NMR Spektrum der Verbindung 5 zugeordnet.

Das anomere C-1' des Monosaccharideinheits erscheint bei 106.69 ppm. Die chemische Verschiebung des anomeren Kohlenstoffs weist auf eine β-D-Pyranosylform der Glucose hin

[67, 74]. Bei 62.80 ppm findet sich das Signal von C-6' der Glucose. Die restlichen Zuckersignale erscheinen bei 78.26, 77.67, 75.67 und 71.66 ppm und wurden C-3', C-5', C-2' und C-4' zugeordnet.

Die  $^{13}\text{C}$ -NMR -Daten der Verbindung **7** stimmen mit den Literaturdaten [70] von an 3-glykosidierter Chinovasäure gut überein.

**Tabelle 15**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebungen der Verbindung **7** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>7</b> in CD <sub>3</sub> OD	Lit.[70] in CD <sub>3</sub> OD
C-1	40.10	40.0
C-2	27.07	27.1
C-3	90.68	90.9
C-4	39.93	40.1
C-5	56.92	56.8
C-6	19.28	19.4
C-7	38.04	37.9
C-8	40.66	40.8
C-9	48.03	47.9**
C-10	37.62	37.9
C-11	23.84	23.9
C-12	130.44	130.0
C-13	133.88	134.5
C-14	57.29	59.3
C-15	25.74	26.1
C-16	26.46	26.9
C-17	48.4*	48.3**
C-18	55.52	55.1
C-19	40.38	40.3
C-20	38.31	38.5
C-21	31.22	31.4
C-22	37.84	37.9
C-23	28.50*	19.2

Fortsetzung der Tab.15

C-24	17.06*	28.6
C-25	16.90	16.9
C-26	19.07*	18.2
C-27	179.03	179.5
C-28	181.61	182.0
C-29	18.15*	17.1
C-30	21.52	21.5
C-1'	106.69	106.5
C-2'	75.67	75.4
C-3'	78.26	78.4
C-4'	71.66	71.9
C-5'	77.67	77.6
C-6'	62.8	63.1

\*nach Referenz [71] korrigiert

\*\* durch CD<sub>3</sub>OD-Signal überlagert

### 3.1.1.7.2. <sup>1</sup>H-MNR Spektrum

Das <sup>1</sup>H-MNR Spektrum (Abb.62) beweist die Anwesenheit der β-D-Glucose und ihre glykosidische Bindung mit dem Aglykon durch die chemische Verschiebung des anomeren Protons bei 4.30 ppm und der Kopplungskonstante von 7.7 Hz [74]. Damit bestätigt sich die Interpretation des <sup>13</sup>C-NMR Spektrums. Im olefinischen Bereich bei 5.61 ppm erscheint das Multiplettsignal von H-12 des Aglykons. Die Methylprotonen geben typische Signale im Hochfeld. Die übrigen Zuckerprotonen befinden sich im Bereich von 3.1 bis 3.85 ppm.

Tabelle 16 <sup>1</sup>H-chemische Verschiebung der Verbindung 7 (δ-Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	7 in CD <sub>3</sub> OD
H-12	m 1H	5.61
H-23	s 3H	0.84
H-26	s 3H	0.90

Fortsetzung der Tab.16

H-29/30	d 6H	0.92
H-25	s 3H	0.98
H-24	s 3H	1.02
H-1'	d 1H	4.30

### 3.1.1.7.3. MS

Das ESI-MS (Abb.63) liefert im negativen Ionenmodus einen Peak mit der Massenzahl  $m/z$  647  $[M-H]^-$ . Dieses quasi- Molekulargewicht bestätigt die Summenformel  $C_{36}H_{56}O_{10}$ . Das nächste Fragment  $[(M-H)-44]^-$  von 603 zeigt eine  $CO_2$  - Abspaltung.

Aufgrund der Analysedaten wurde bestätigt, daß es sich bei der isolierten Verbindung **7** um 3-O- $\{\beta$ -D-Glucopyranosyl}-chinovasäure (Abb.13) handelt.

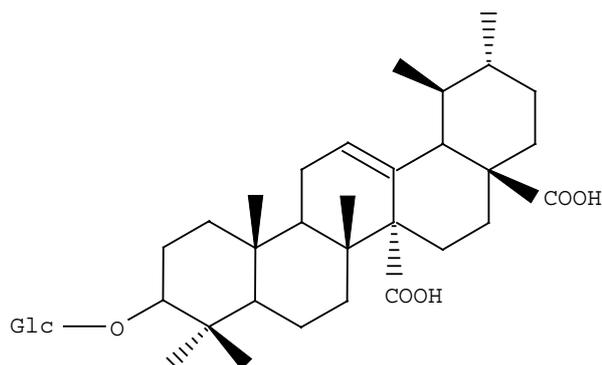


Abb.13 Strukturformel der Verbindung **7**

### 3.1.1.8. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **8**

Die Isolierung der Verbindung **8** erfolgte aus der Fraktion B4 über Säulenchromatographie an Kieselgel, Sephadex LH-20 und an RP-18. Um die Reinsubstanz zu erhalten, wurde an einer MPLC-Säule getrennt. Sie hat einen  $R_f$ - Wert von 0.17 auf dem Kieselgel DC in MeOH:  $CHCl_3$  (2:8, v:v ) und  $R_f = 0.52$  auf dem RP-18 DC in MeOH:  $H_2O$  (7:3, v:v ) und besitzt einen Schmelzpunkt von  $196^\circ$ - $202^\circ$  C unter Zersetzung.

### 3.1.1.8.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum

Das  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum (Abb.64) weist 42 Signale auf. Im Zuckerbereich sind 9 Signale zu erkennen, die bei 71.2-78.6 ppm auftreten. Charakteristisch getrennt erscheinen zwei anomere Kohlenstoffe bei 106.53 und 95.59 ppm und bestätigen damit das Vorliegen von zwei Zuckereinheiten. Die chemischen Verschiebungen der anomeren Kohlenstoffe liefern Informationen über Bindungen der Zuckers mit dem Aglykon. Während ein Signal bei 106.53 ppm eine glykosidische Bindung mit einem Alkohol zeigt, bestätigt der Peak bei 95.59 ppm eine Ester-Kopplung mit dem Aglykon. Um die Positionen beider Zucker festzustellen, wurde eine alkalische Hydrolyse gemacht. Die alkalische Hydrolyse ergab Prosaponin **8a**.

Das  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum des Prosaponins (Abb.66) zeigt nur ein Signal für ein anomeres Kohlenstoffatom bei 106.46 ppm, d.h. es ist nur ein Zucker vorhanden, der mit dem Aglykon glykosidisch verbunden ist. Der abgespaltete Zucker wurde als Glucose durch DC-Vergleich mit authentischer Substanz nachgewiesen.

Die Lage des anomeren C-1' bei 106.46 ppm und ein Methylsignal bei 18.38 ppm des übrig gebliebenen Zuckers deutet auf ein  $\beta$ -Quinovopyranosid hin [67].

Ordnet man den Zuckerteilen die entsprechenden Signale zu, so verbleiben 30 Peaks, deren Lage denen der Chinovasäure entspricht. Die Zuordnung der Signale des Prosaponins erfolgte durch direkten Vergleich mit dem  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.5. Somit wurde die Struktur des Prosaponins als 3-O- $\{\beta$ -D-Quinovopyranosyl $\}$ - chinovasäure identifiziert.

Die 6 Signale bei 95.59, 78.59, 78.24, 73.90, 71.20 und 62.54 ppm im  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.8 beweisen eine  $\beta$ -D-Glucopyranosid-Struktur. Aus der Lage des anomeren Kohlenstoffs der Glucose geht eindeutig hervor, daß das C-1'' der Glucose mit dem Aglykon verestert war.

Im  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verbindung **8** befinden sich im Bereich der Carbonylbanden 2 Signale bei 179.13 und 177.93 ppm. Die Kohlenstoffatome C-12, C-13 und C-14 treten in Resonanz bei 133.24, 130.93 und 57.27 ppm. Auf der Basis der Resonanz von C-12, C-13, C-14 und der Carboxylgruppe C-27 und C-28 konnte man schließen, daß die Glykosylester-Bindung am C-28 des Aglykons liegt [71, 75].

Die Glykosidierung führt dazu, daß das Signal von C-28 (bei 177.93 ppm) um ca. 3.0 ppm im Vergleich zum unsubstituierten C-28 in Richtung Hochfeld verschoben ist.

Das  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum von Verbindung **8** steht in guter Übereinstimmung mit den Literaturdaten [71, 75, 76].

**Tabelle 17**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebung der Verbindungen **8** und **8a** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>8</b> in CD <sub>3</sub> OD	<b>8a</b> in CD <sub>3</sub> OD	<b>8</b> Pyridin-d <sub>5</sub>	Lit.[75] Pyridin-d <sub>5</sub>
C-1	39.94	39.82	39.52	39.4
C-2	27.10	27.10	26.88	26.8
C-3	90.70	90.82	88.55	88.5
C-4	40.10	40.08	40.23	40.2
C-5	56.92	56.77	55.87	55.8
C-6	19.24	19.96	18.62	18.5
C-7	36.99	35.71	36.46	36.4
C-8	40.84	40.56	40.23	40.2
C-9	48.05	47.72	47.29	47.2
C-10	37.83	37.82	37.06	37.0
C-11	23.88	23.85	23.47	23.2
C-12	130.93	129.33	129.52	129.5
C-13	133.24	134.95	133.41	133.2
C-14	57.27	57.85	56.87	56.7
C-15	25.80	26.09	26.23	26.1
C-16	26.43	26.93	25.60	25.5
C-17	*	*	49.01	48.9
C-18	55.32	56.02	54.76	54.7
C-19	40.23	40.51	37.55	37.5
C-20	38.24	38.48	39.13	39.0
C-21	31.14	31.56	30.32	30.6
C-22	38.02	38.05	37.55	37.5
C-23	28.49	28.48	28.04	28.0
C-24	17.06	17.06	17.09	17.0
C-25	16.95	16.87	16.67	16.6
C-26	19.24	18.10	19.27	19.2
C-27	179.13	179.97	178.19	178.0
C-28	177.93	**	176.56	176.5
C-29	18.13	19.30	18.17	18.1

Fortsetzung der Tab.17

C-30	21.49	21.62	21.23	21.2
Quinovose				
C-1'	106.53	106.49	106.72	106.6
C-2'	75.87	75.87	75.94	75.9
C-3'	77.93	77.90	78.41	78.3
C-4'	77.01	77.00	76.94	76.9
C-5'	72.95	72.95	72.71	72.6
C-6'	18.23	18.38	18.83	18.8
Glucose				
C-1''	95.59		95.73	95.6
C-2''	73.90		74.19	74.1
C-3''	78.59		78.95	78.7
C-4''	71.20		71.29	71.2
C-5''	78.24		79.30	79.2
C-6''	62.54		62.41	62.3

\*durch CD<sub>3</sub>OD-Signal überlagert

\*\* in Grundrauschen verschwunden

3.1.1.8.2. <sup>1</sup>H-NMR Spektrum

Mit Hilfe des <sup>1</sup>H-NMR Spektrums (Abb.65) wurde die Strukturinterpretation des <sup>13</sup>C-NMR Spektrums unterstützt. Im olefinischen Bereich des Spektrums findet sich ein Multiplett bei 5.60 ppm, das zum Proton H-12 des Aglykons gehört.

Im anomeren Zuckerbereich erscheinen zwei Dubletts. Das Signal bei 5.37 ppm mit seiner Kopplungskonstante von 8.2 Hz beweist die Anwesenheit einer β-D-Glucose sowie die Veresterung mit der Carboxylgruppe des Aglykons [77].

Das andere anomere Proton bei 4.26 ppm resultiert aus der glykosidischen Bindung und seine Kopplungskonstante von 7.4 Hz beweist die β-Konfiguration der D-Quinovose [74].

**Tabelle 18** <sup>1</sup>H-chemische Verschiebung der Verbindung **8** (δ-Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>8</b> in CD <sub>3</sub> OD
----------	---------------------	-----------------------------------

Fortsetzung der Tab.18

H-12	m 1H	5.60
H-23	s 3H	0.82
H-26	s 3H	0.88
H-29/30	d 6H	0.93
H-25	s 3H	0.97
H-24	s 3H	1.01
H-1'	d 1H	4.26
H-6'	d 3H	1.25
H-1''	d 1H	5.37

### 3.1.1.8.3. MS

Das ESI-Massenspektrum (Abb.67) im negativen Ionenmodus liefert ein  $[M-H]^-$  Ionenpeak von  $m/z$  792.9, der der Summenformel  $C_{42}H_{66}O_{14}$  entspricht. Nach Referenz [78] müßte sich die durch die Ester-Bindung an das Aglykon gekoppelte Zuckereinheit zuerst abspalten.

Ein Fragment  $[M-H-162]^-$  von  $m/z$  631 bestätigt die erste Abspaltung der Glucose am C-28 aus dem  $[M-H]^-$  Ion.

Die Bruchstücke  $[M-H-44]^-$  bei  $m/z$  748.8 könnte durch Abspaltung von  $CO_2$  erklärt werden.

Entsprechend der spektroskopischen Daten konnte die Struktur der Verbindung **8** als 3-O- $\{\beta$ -D-Quinovopyranosyl $\}$ - chinovasäure- 28-O-  $\{\beta$ -D-glucopyranosyl $\}$ - ester (Abb.14) identifiziert werden.

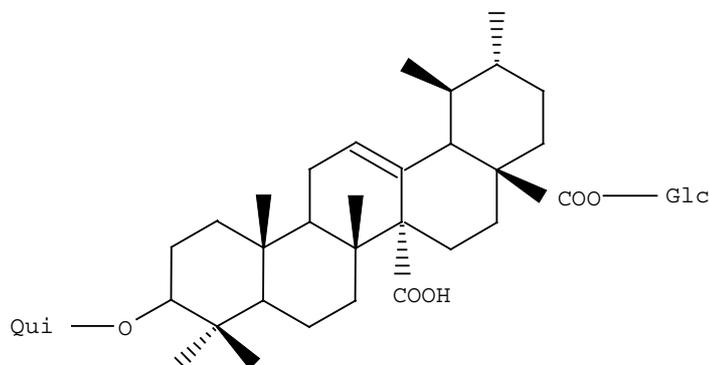


Abb.14 Strukturformel der Verbindung **8**

### 3.1.1.9. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **9**

Die Isolierung der Verbindung **9** erfolgte wie bei der Verb.**8** aus der Fraktion B4. Sie wurde aus der RP-18 Säule durch HPLC vor der Verb.**8** eluiert. Die Verb.**9** hat einen Rf-Wert von 0.54 auf dem RP-18 DC in LMS MeOH: H<sub>2</sub>O (7:3, v:v) und einen Schmelzpunkt von 198°-202°C unter Zersetzung. Mit Schwefelsäurereagenz gibt sie eine violette Verfärbung.

Das methylierte Produkt hat einen Rf- Wert von 0.39 in LM MeOH:H<sub>2</sub>O (7:3 v:v) und das Produkt nach alkalischer Hydrolyse ergibt einen Rf= 0.26.

#### 3.1.1.9.1. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Laut <sup>13</sup>C-NMR Spektrum besitzt die Substanz (Abb.68) 41 Kohlenstoffatome. Aus der Auswertung der DEPT-Signale wurden eine gewisse Ähnlichkeiten mit den vorherigen Saponinen (bis auf die Kohlenhydratanteile) festgestellt. Das <sup>13</sup>C-NMR Spektrum beweist die Chinovasäure als Aglykon. Die charakteristischen olefinischen Signale der Ursenstruktur erscheinen erwartungsgemäß bei 130.88 und 133.26 ppm. Dazu kommen noch die zwei typischen Methingruppe von C-5 und C-18 bei 56.87 und 55.32 ppm. Das Signal bei 57.31 ppm entspricht der Lage eines carboxylierten C-14-Atoms. Im Tieffeld bei 179.24 und 177.97 ppm befinden sich zwei Carboxylgruppen. Das Signal bei 179.24 ppm weist auf das Vorliegen einer unsubstituierten Carboxylgruppe (C-27) hin. Das andere Signal bei 177.97 ppm wurde dem C-28 zugeordnet. Aufgrund der Glykosidierung wurde das Signal um ca. 3.6 ppm in Richtung Hochfeld verschoben. Um die Glykosidierung an C-28 abzusichern, wurde die Verb.**9** methyliert. Aus dem Spektrum des methylierten Produkts **9a** (Abb.72) ergibt sich, daß das Signal von C-27 um ca. 2 ppm nach Hochfeld verschoben ist. Dadurch wurde bestätigt, daß die Glykosidierung am C-28 erfolgt ist.

Das Signal bei 90.59 ppm beweist eine Glykosidierung an C-3. Die restlichen C-Atome des Aglykons der Verb.**9** wurden durch Vergleich mit den Aglykonsspektren der Verbindungen **5-8** zugeordnet.

Im anomeren Zuckerbereich erscheinen zwei Signale, die auf das Vorliegen von zwei Monosaccharideinheiten hinweisen. Außerdem befinden sich im normalen Zuckerbereich 7 Methin- und 2 Methylensignale. Aufgrund der sehr intensiven Peaks wurde das Signal bei 71.21ppm als 2 Signale angenommen. Dies wurde durch das MS bestätigt.

Das bei 107.35 ppm auftretende, anomere Signal bestätigt die obengenannte glykosidische Bindung eines Zuckers mit dem Aglykon an C-3. Das andere anomere Signal erscheint bei 95.78 ppm, welches auf seine Ester- Kopplung mit dem Aglykon hindeutet.

Um die Positionen beider Zucker festzustellen wurde eine alkalische Hydrolyse durchgeführt. Nach der Hydrolyse wurde von dem Produkt **9b** ein  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum aufgenommen. Dieses Spektrum (Abb.70) läßt auf das Vorliegen von 35 C-Atomen schließen. Es wurde festgestellt, daß die estergebundene Zuckereinheit abgespaltet ist. Es fehlen 6 Signale bei 95.56, 73.88, 78.52, 71.21, 78.23 und 62.57 ppm. Die Resonanzlage und Aufspaltung der fehlenden 5 Methin- und ein Methylen-Signale wiesen auf eine Glucose in  $\beta$ -Pyranosidform hin. Ein DC- Vergleich mit authentischer Vergleichssubstanz bestätigte Glucose als abgespaltenen Zuckerteil. Das  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.**9b** liefert ein mit der früher beschriebenen Verb.6 identisches Spektrum. Dadurch konnte bestätigt werden, daß es sich bei der Verb.**9** um eine Chinovasäure handelt, die als Zuckerbausteine Glucose und Xylose trägt.

**Tabelle 19**  $^{13}\text{C}$ - chemische Verschiebung der Verbindungen **9**, **9a**, **9b** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atom	<b>9</b> in CD <sub>3</sub> OD	<b>9a</b> in CD <sub>3</sub> OD	<b>9b</b> in CD <sub>3</sub> OD	<b>9</b> Pyridin-d <sub>5</sub>
C-1	39.92	*	39.92	38.92
C-2	27.14	27.14	27.15	26.70
C-3	90.59	90.34	90.59	88.36
C-4	40.11	*	40.14	39.33
C-5	56.87	57.18	56.91	55.64
C-6	19.23	19.19	19.29	18.42
C-7	37.83	37.83	37.64	37.36
C-8	40.82	41.08	40.71	40.04
C-9	48.03	48.14	48.04	47.09
C-10	38.00	38.24	38.02	36.87
C-11	23.87	24.69	23.86	23.26
C-12	130.88	131.25	130.48	129.32
C-13	133.27	133.00	133.90	133.19
C-14	57.31	57.55	57.32	56.66
C-15	25.80	25.81	25.73	26.01

## Fortsetzung der Tab.19

C-16	26.43	26.55	26.48	25.39
C-17	**	**	**	48.81
C-18	55.32	54.99	55.55	54.56
C-19	40.22	*	40.39	37.36
C-20	38.22	38.34	38.33	38.92
C-21	31.13	31.01	31.24	30.13
C-22	37.99	36.81	38.02	36.23
C-23	28.48	28.47	28.50	27.83
C-24	17.03	17.09	17.02	16.47
C-25	16.85	17.05	16.86	16.88
C-26	19.23	19.19	19.07	19.06
C-27	179.24	177.09	179.00	177.99
C-28	177.97	177.65	181.56	176.37
C-29	18.13	17.81	18.13	18.00
C-30	21.47	21.51	21.50	21.03
OCH <sub>3</sub>		51.32		
C-1'	107.35	107.32	107.37	107.41
C-2'	75.39	75.36	75.45	75.32
C-3'	77.94	77.91	77.98	78.43
C-4'	71.21	71.21	71.27	71.07
C-5'	66.70	66.66	66.70	66.90
C-1''	95.58	95.56		95.53
C-2''	73.89	73.88		74.00
C-3''	78.57	78.52		78.75
C-4''	71.21	71.21		71.07
C-5	78.22	78.23		79.12
C-6''	62.55	62.57		62.21

\* von Signalen des Verunreinigungsprodukts verdeckt.

\*\* durch CD<sub>3</sub>OD-Signal überlagert.

### 3.1.1.9.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum

Zusätzlich wurden die Befunde des  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrums durch die  $^1\text{H}$ -NMR und MS-Spektren abgesichert.

Im  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum (Abb.69) erscheinen zwei Signale im anomeren Zuckerbereich. Das anomere Proton der estergebundenen Glucose erscheint bei 5.38 ppm. Seine Kopplungskonstante von 8.1 Hz bestätigt eine  $\beta$ -Konfiguration der Glucose. Das zweite anomere Proton zeigt ein Signal bei 4.24 ppm, was auf eine alkoholische Glykosidierung hinweist. Mit seiner Kopplungskonstanten von 7.5 Hz beweist es das Vorliegen der  $\beta$ -Xylose. Ein Multiplett bei 5.62 ppm wurde dem olefinischen Proton des Aglykons zugeordnet. Im Hochfeld erscheinen die 6 Methylsignale bei 0.82, 0.88, 0.93, 0.99 und 1.01 ppm und wurden entsprechend den Protonen H-23, H-26, H-29/30, H-25 und H-24 zugeordnet. Die übrigen Protonen liegen zwischen 1.25-1.95 und 3.14-3.83 ppm als komplexes Multiplett. Deshalb konnten sie nicht genau zugeordnet werden. Das Spektrum des hydrolysierten Produkts (Abb.71) bestätigt die Glucose-Veresterung.

**Tabelle 20**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **9** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Intensität	<b>9</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$	<b>9b</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$
H-12	m 1H	5.62	5.59
H-23	s 3H	0.82	0.82
H-24	s 3H	1.01	1.01
H-25	s 3H	0.99	0.97
H-26	s 3H	0.88	0.89
H-29/30	d 6H	0.93	0.91
H-1'	d 1H	4.24	4.24
H-1''	d 1H	5.62	

### 3.1.1.9.3. MS

Das ESI-Massenspektrum (Abb.73) zeigt im negativen Ionenmodus ein  $[\text{M}-\text{H}]^-$  Ionenpeak bei  $m/z$  779. Das bestätigt die Molekülmasse 780, die der sich durch  $^{13}\text{C}$ - und  $^1\text{H}$ -NMR Spektren

ergebenen Summenformel  $C_{41}H_{64}O_{14}$  entspricht. Die Fragment-Ionen von  $m/z$  735  $[M-H-44]^-$ , 615  $[M-H-162-2]^-$  und 573  $[M-H-162-44]^-$  entstehen durch die Abspaltung von  $CO_2$ , Hexoseeinheit mit 2 Wasserstoffen und Hexoseeinheit mit  $CO_2$ . Das Fragment von  $m/z$  483  $[M-H-162-2-132]^-$  resultiert vom Fragment 615  $[M-1-162-2]^-$  durch die Abspaltung der Xylose.

Das FAB MS (Abb.74) der Verb. **9** zeigt im positiven Ionenmodus einen Molekülpeak  $[M+H+Na]^+$  von 804, was zu einer Molekülmasse der Verbindung von 780 führt. Es gibt keine weiteren interpretierbaren Signale.

Aus den spektroskopischen Daten sowie der Identifizierung des Hydrolyse- und des methylierten Produktes wurde die Verbindung **9** als ein neues Triterpensaponin, 3-O- $\{\beta$ -D-Xylopyranosyl $\}$ -chinovasäure-28-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl $\}$ -ester [Abb.15] charakterisiert.

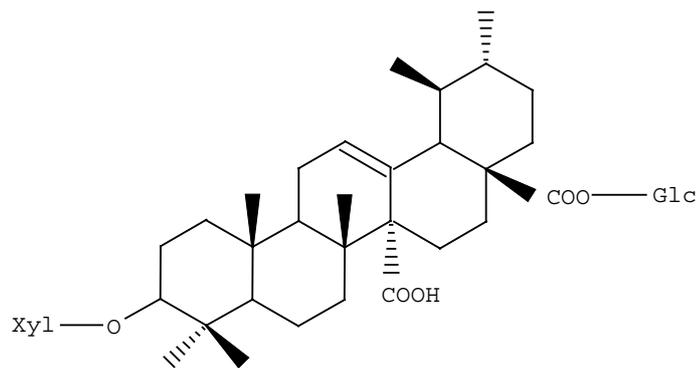


Abb.15 Strukturformel der Verbindung **9**

#### 3.1.1.10. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **10**

Die Isolierung der nachfolgend beschriebenen Verbindung **10** gelang aus der Fraktion B5 durch SC-Auftrennungen an Kieselgel, Sephadex LH-20, RP-18 und letztendlich mit Hilfe MPLC an RP-18. Sie zeigt einen  $R_f$ -Wert von 0.61 auf dem RP-18 DC in LMS MeOH:  $H_2O$  (7:3, v:v) und einen Schmelzpunkt von  $200^\circ$ - $204^\circ$  C unter Zersetzung. Nach Detektion mit Schwefelsäurereagenz zeigte violette Farbe.

### 3.1.1.10.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum

Im  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum (Abb.75) von Verbindung **10** erkennt man das charakteristische Signalmuster eines Triterpens, der schon beschriebenen Chinovasäure. Die olefinischen C-Atome erscheinen bei 133.44 ppm als Singulett und bei 130.87 ppm als Dublett. Das Signal für C-14 befindet sich bei 57.2 ppm. Die Lage dieser drei Signale deutet auf eine freie C-27-Carboxylgruppe. Bei 56.93 und 55.40 ppm befinden sich erwartungsgemäß die zwei Methinsignale von C-5 und C-18. Das Methinsignal bei 90.80 ppm bestätigt eine Glykosidierung an C-3 des Aglykons. Zusätzlich konnte man die Glykosidierung an C-3 durch die chemische Verschiebungen der benachbarten C-2 bei 27.13 ppm und C-4 bei 40.03 ppm beweisen. Bei tiefem Feld findet sich nur ein Carbonylsignal bei 178.12 ppm, dessen chemische Verschiebung auf eine substituierte C-28-Carboxylgruppe hinweist. Das erwartete Signal für die zweite Carboxylgruppe erscheint nicht. Die Anwesenheit von zwei Carboxylgruppe wurde mit den unten angegebenen MS-Daten nachgewiesen. Wie vorher erwähnt wurde, kann das Signal der freien Carboxylgruppe im Grundrauschen des Spektrums verschwinden. Im Hochfeld zeigen die 6 Methylgruppe die typische Resonanzen bei 28.54, 17.10, 17.00, 19.30, 18.19 und 21.51 ppm. Damit wurde das Aglykon der Verbindung **10** als Chinovasäure erkannt.

Im anomeren Bereich des Zuckers sind zwei Signale zu erkennen. Das weist die Anwesenheit von zwei Monosaccharideinheiten hin. Durch das Signal bei 106.72 ppm wurde eine glukosidische Bindung mit C-3 des Aglykons bestätigt. Das andere anomere Signal erscheint bei 95.66 ppm und bestätigt eine Esterbindung mit dem Aglykon. Bei 62.83 und 62.60 ppm erscheinen zwei Triplets, die den zwei Methylengruppen der Zuckerreste zuzuordnen sind. Die anderen 10 Kohlenstoffatome der Zucker zeigen Resonanzen zwischen 71.26-78.66 ppm. Die Aufspaltung und Lage deuten auf zwei Glucose-Einheiten in  $\beta$ -Pyranoseform hin.

**Tabelle 21**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **10** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>10</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$
C-1	39.99
C-2	27.13
C-3	90.80

## Fortsetzung der Tab.21

C-4	40.14
C-5	56.94
C-6	19.30
C-7	37.88
C-8	40.86
C-9	48.09
C-10	38.08
C-11	23.93
C-12	130.87
C-13	133.47
C-14	57.27
C-15	25.94
C-16	26.52
C-17	*
C-18	55.40
C-19	40.30
C-20	38.27
C-21	31.19
C-22	37.08
C-23	28.54
C-24	17.10
C-25	17.00
C-26	19.30
C-27	**
C-28	178.12
C-29	18.19
C-30	21.51
Glucose an C-3	
C-1'	106.72
C-2'	75.70
C-3'	87.66
C-4'	71.69
C-5'	77.70

Fortsetzung der Tab.21

C-6' 62.83

Glucose an C-28

C-1'' 95.80

C-2'' 73.95

C-3'' 78.29

C-4'' 71.26

C-5'' 78.29

C-6'' 62.60

\* durch CD<sub>3</sub>OD-Signal überlagert

\*\* im Grundrauschen verschwunden

### 3.1.1.10.2. <sup>1</sup>H-NMR Spektrum

Zusätzlich wurde die Struktur der Verbindung **10** durch <sup>1</sup>H-NMR-Daten abgesichert (Abb.76). Im Doppelbindungsbereich tritt das Signal für H-12 als Multiplett bei 5.62 ppm auf. Die anomeren C-Atome der Kohlenhydrate erscheinen als Dubletts bei 5.38 und 4.31 ppm. Beide haben die gleiche Kopplungskonstante von 7.5 Hz, die die β-Konfiguration des Zuckers beweist. Aufgrund der Lage bestätigt das Dublett von C-1' bei 5.38 ppm eine Veresterung mit C-28, die durch <sup>13</sup>C-chemische Verschiebung bei 95.66 ppm nachgewiesen wurde. Das anomere Signal bei 4.31 ppm der anderen Glucose gibt den eindeutigen Hinweis über die Glykosidierung an C-3. Im Hochfeld erscheinen die sechs Methylsignale des Aglykons bei 0.83, 1.03, 1.01, 0.89, 0.92 und 0.97 ppm.

**Tabelle 22** <sup>1</sup>H-chemische Verschiebung der Verbindung **10** (δ-Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>10</b> in CD <sub>3</sub> OD
H-12	m 1H	5.62
H-23	s 3H	0.83
H-24	s 3H	1.02
H-25	s 3H	0.97
H-26	s 3H	0.89

Fortsetzung der Tab.22

H-29/3.30	d 3H	0.92
H-1'	d 1H	5.38
H-1''	d 1H	4.31

### 3.1.1.10.3. MS.

Das ESI-Massenspektrum (Abb.77) im negativen Ionenmodus zeigt einen Peak  $[M-H]^-$  von  $m/z$  809. Dieser Peak bestätigt die Summenformel  $C_{42}H_{66}O_{15}$ , die auch aus dem DEPT- $^{13}C$ -NMR-Spektrum resultiert. Die nächsten Peaks  $[M-H-44]^-$  bei  $m/z$  765 und  $[(M-H)-162]^-$  bei  $m/z$  647 zeigen die Abspaltung von  $CO_2$  bzw. Glucose.

Das Fragment  $[(M-H-44)-162]^-$  bei  $m/z$  603 entstand durch Abspaltung von  $CO_2$  und Glucose.

Somit wurde die Verbindung **10** als 3-O- $\{\beta$ -D-Glucopyranosyl}- chinovasäure-28-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl}-ester (Abb.16) identifiziert.

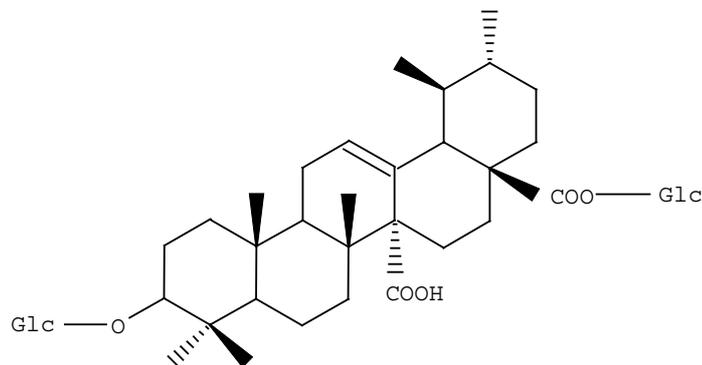


Abb.16 Strukturformel der Verbindung **10**

### 3.1.1.11. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **11**

Die Isolierung der Verb. **11** war nach mehrmaliger Säulenchromatographie an RP-18 aus der Fraktion B7 gelungen. Sie hat einen  $R_f$ -Wert von 0.67 auf einem RP-18-DC im LMS  $H_2O / MeOH / AcN$  im Verhältnis 55:37:8 und besitzt einen Schmelzpunkt von  $238^\circ$ - $240^\circ C$ . Nach Detektion mit Vanillinschwefelsäure-Taucheagenz verfärbt sie sich violett.

### 3.1.1.11.1. $^{13}\text{C}$ NMR Spektrum

Das  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrum der Verb. **11** (Abb.78) liefert sieben Kohlenstoffsignale, davon ein Signal als Triplett für  $\text{CH}_2$ , zwei Signale für quartäre C-Atome und vier Signale als Dublett für CH. Im Bereich der Olefin- und Aromaten-Resonanzen erscheinen vier Signale, ein quartäres C-Atom und drei Methingruppe entsprechend bei 136.60, 130.37, 130.02 und 128.52 ppm. Daß im Aromatenbereich nicht sechs, sondern vier Kohlenstoff-Resonanzen liegen, deutet auf einen mono- substituierten Benzolring hin. Ein Vergleich der Signalintensitäten ergibt ein Verhältnis von 1:2:2:1, wie es für monosubstituierten Benzole charakteristisch ist. Deshalb wurden die Signale der Methingruppe bei 130.37 und 130.02 als doppelt angenommen. Die Lage und Aufspaltung dieser vier Signale bestätigen ganz eindeutig das Vorliegen eines monosubstituierten Benzolrings. Im Tieffeld erscheint ein Singulett bei 174.19 ppm, dessen Lage auf eine Carboxylfunktion schließen läßt. Das Dublettsignal bei 57.23 ppm weist auf eine Methingruppe in Nachbarschaft zu Stickstoff und COOH-Gruppe hin (gute Übereinstimmung mit Inkrementabschätzung für Alanin von Stothers [79]). Ein sekundäres C-Atom befindet sich bei 37.71 ppm.

**Tabelle 23**  $^{13}\text{C}$ - chemische Verschiebungen der Verbindung **11** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>11</b> in $\text{D}_2\text{O} + \text{CD}_3\text{OD}$
C-1	174.19
C-2	57.23
C-3	37.71
C-1 <sup>a</sup>	136.60
C-2 <sup>a</sup> /6 <sup>a</sup>	130.02
C-3 <sup>a</sup> /5 <sup>a</sup>	130.37
C-4 <sup>a</sup>	128.52

<sup>a</sup> aromatische C-Atome

### 3.1.1.11.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum

Den sicheren Strukturbeweis für die Verb. **11** lieferte das  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum (Abb.79). Im aromatischen Bereich bei 7.34 ppm liegt ein breites Multiplett, das sich aus dem Integral für fünf Protonen ergibt. Aufgrund der starken Überlagerung von Signalen sind keine einzelnen Multiplizitäten ablesbar. Sie wurden den fünf Protonen des Benzolrings zugeordnet. Ein Signal bei 3.87 ppm als Doppeldublett, dessen Integral auf ein Proton hinweist, wurde dem Proton der Methingruppe zugeordnet. Die weitere Multiplettsignale bei 3.3 und 3.07 ppm ist den Protonen der Methylengruppe zuzuordnen.

Anhand der  $^{13}\text{C}$ - und  $^1\text{H}$ -NMR Spektren wurde die Verbindung **11** als Phenylalanin (Abb.17) identifiziert.

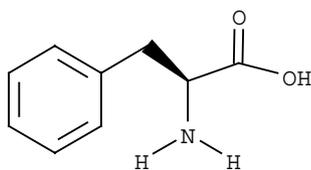


Abb.17 Strukturformel der Verbindung **11**

### 3.1.1.12. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **12**

Aus der ersten Fraktion des  $\text{CHCl}_3$ -Extrakts wurde eine Substanz in Form von silbernen, weißen, blätterigen Kristallen isoliert, die mit Petrolether aus der Säule eluiert wurde. Sie ist sehr unpolar und löst sich nur in Petrolether und Hexan und hat einen Schmelzpunkt von 59°-61°C. Auf dem DC zeigt sie mit Vanillinschwefelsäure-Tauchreagenz eine schwache violette Farbe.

#### 3.1.1.12.1. IR-Spektrum

Die Adsorptionsbanden bei 2920, 2840 und 1460  $\text{cm}^{-1}$  zeigen die Streck- bzw. die Deformationsschwingung der C-H Bindung von Alkanen. Bei 1380  $\text{cm}^{-1}$  tritt eine Bande auf, die der symmetrischen Deformationsschwingung der Methylengruppe entstammt. Die Adsorptionsbande von Tetramethylen treten bei 710  $\text{cm}^{-1}$  auf.

Die im IR Spektrum (Abb.80) gefundenen Schwingungsarten bestätigen, daß es sich bei Verb.12 um ein Alkan handelte.

#### 3.1.1.12.2. MS und Elementaranalyse

Das niederauflösende MS der Verb.12 (Abb.81) zeigt eine Molekülmasse von 436 [  $M^+$  ]. Die weiteren Fragmente bei 393, 365, 337, 296 usw. weisen auf die alkanische Struktur hin. Die monotone Abspaltungen von [M-43], [M-43-28], [M-43-28-28] und usw. sind ganz charakteristisch für diese Substanzklasse.

Die Elementaranalyse lieferte Gewichtsprozent von C: 84.995 und H: 14.779, die eine Summenformel von  $C_{31}H_{64}$  ergibt.

Durch MS-, IR- und Elementaranalyse wurde identifiziert, daß es sich um einen Kohlenwasserstoff, n- Hendriacontan (Abb.59) handelt.



Abb.18 Strukturformel von Verbindung 12

#### 3.1.1.13. Isolierung und Identifizierung der Verbindung 13

Weiterhin wurde aus der ersten Fraktion eine Substanz in Form von farblosen, nadelförmigen Kristallen isoliert. Sie hat einen  $R_f$ - Wert von 0.17 auf dem Kieselgel DC im Laufmittel Petrolether / Aceton (9:1; v:v ) und besitzt einen Schmelzpunkt von 135-136 °C. Bei Detektion mit Schwefelsäurereagenz gibt sie eine rosa Färbung. Wegen der Polarität konnte man erwarten , daß es sich um eine Sterolverbindungen handeln könnte. Mit Hilfe der NMR - Spektroskopie wurde die Identifizierung des Sterols ermöglicht.

##### 3.1.1.13.1. $^{13}\text{C}$ - NMR Spektrum

Das  $^{13}\text{C}$ - NMR Spektrum (Abb.82) weist 27 Signale auf. Im Doppelbindungsbereich bei 140.76 und 121.71 ppm fallen 2 Signale auf, die für C-5 ungesättigten Steroide typisch sind. Während sich das Singulett bei 140.76 ppm C-5 zuordnen läßt, wurde das Dublett bei 121.74

ppm C-6 zugeordnet. Bei 71.80 ppm erscheint ein Methinsignal, dessen chemische Verschiebung auf eine Nachbarschaft zu Sauerstoff deutet. Deshalb wurde dieses Signal C-3 des Sterols zugeordnet. In Hochfeld liegen die charakteristische 6 Methylsignale für eine Sterolverbindung. Aus der Intensität läßt sich ablesen, daß einige C-Atome zufälligerweise in gleichen Resonanzen auftreten, z.B. C-7 und C-8 sowie C-4 und C-13. Die Anwesenheit von 29 Kohlenstoff (nicht 27) wurde noch mal durch das MS bestätigt. Aus der Lage der Signale von C-7 und C-12 konnte man erkennen, daß die Ringe B/C und C/D des Androstan-Grundgerüsts trans-verknüpft sind. Die Substituenten an C-3, C-10, C-13 und 17 sind  $\beta$ -ständig.

**Tabelle 24**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebungen der Verbindung **13** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atom	<b>13</b> in $\text{CDCl}_3$
C-1	37.25
C-2	31.65
C-3	71.80
C-4	42.30
C-5	140.76
C-6	121.68
C-7	31.90
C-8	31.90
C-9	50.13
C-10	36.50
C-11	21.07
C-12	39.78
C-13	42.30
C-14	56.76
C-15	24.29
C-16	28.23
C-17	56.06
C-18	11.86
C-19	19.39

Fortsetzung der Tab.24

C-20	36.14
C-21	18.77
C-22	33.95
C-23	26.09
C-24	45.84
C-25	29.16
C-26	19.80
C-27	19.03
C-28	23.07
C-29	11.97

### 3.1.1.13.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum

Im Tieffeld bei 5.42 ppm des  $^1\text{H}$ -NMR Spektrums (Abb.83) der Verb. **13** erscheint das für  $\beta$ -Sitosterol charakteristische Methinproton an C-6 als Doppeldoublett durch Kopplung zu den zwei Protonen des benachbarten C-7. Das breite Multiplett bei 3.52 ppm wurde durch das  $\alpha$ -ständige Proton an C-3 hervorgerufen.

Im Hochfeld erscheinen die Methylsignale. Die Singulettts bei 1.00 und 0.66 ppm wurden zu den isolierten Methylprotonen an C-19 bzw. C-18 zugeordnet. Aufgrund der Doppelbindungseffekts absorbiert das Signal der Methylgruppe an C-19 bei tieferem Feld als die Protonen an C-18. Die drei Doublettts bei 0.90, 0.82 und 0.79 ppm gehören zu den Protonen an C-21, C-26 und an C-27. Das Proton an C-29 erscheint als Triplett bei 0.84 ppm. Die Aufspaltung als Triplett bestätigt die Nachbarschaft einer Methylengruppe. Die restlichen Methin- und Methylensignale liegen im Bereich 1.02-2.35 ppm als überlagerte, uninterpretierbare Multiplettts.

**Tabelle 25**  $^1\text{H}$ - chemische Verschiebungen der Verbindung **13** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>13</b> in $\text{CDCl}_3$
H-3	m 1H	3.52
H-6	dd 1H	5.42

Fortsetzung der Tab.25

H-18	s	3H	0.66
H-19	s	3H	1.00
H-21	d	3H	0.90
H-26	d	3H	0.82
H-27	d	3H	0.79
H-29	t	3H	0.84

### 3.1.1.13.3. MS

Das MS (Abb.84) zeigt den  $[M+1]^+$  Peak mit der Massenzahl 415, die mit der Summenformel von  $C_{29}H_{50}O$  entspricht.

Aus den spektroskopischen Daten wurde die Verb. **13** als  $\beta$ -Sitosterin ( 24- Ethyl-cholest-5-en-3-ol ) (Abb.19) identifiziert.

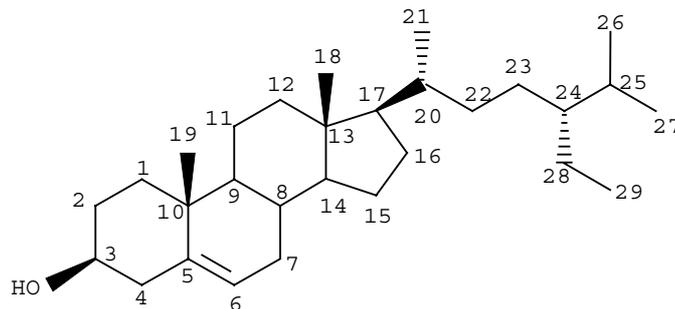


Abb.19 Strukturformel der Verbindung **13**

### 3.1.1.14. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **14**

Die Verbindung **14** wurde aus der polaren Teilfraktion des  $CHCl_3$ - Extrakts isoliert. Daneben wurden in dieser Teilfraktion nochmals die Verbindungen **5** und **6**, die schon aus dem BuOH-Extrakt isoliert wurden, in großen Mengen erhalten. Die Verb. **14** wurde nach Säulenchromatographischer Trennung an Kieselgel SC mit Methanol und Chloroform (1.5:8.5; v:v ) als weißes Pulver isoliert. Sie ist weder löslich in Methanol noch in Chloroform.

### 3.1.1.14.1. IR-Spektrum

Die IR- Absorptionsbanden der Verb.14 wurden in Tabelle 26 zusammengestellt (s. auch Abb.85).

**Tabelle 26** IR-Daten der Verbindung 14

Wellenzahl (cm <sup>-1</sup> )	Zuordnung	Schwingungsart
3393	O-H	Streckschwingung
2935, 2869	C-H	Streckschwingung
1638	C=C	Streckschwingung
1465, 1379	C-H	Deformationsschwingung
1076, 1023	C-O	Streckschwingung

### 3.1.1.14.2. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Das DEPT <sup>13</sup>C-NMR Spektrum (Abb.86) zeigt ein Signalmuster für 35 Kohlenstoffatome.

Die Lage und Aufspaltungen zeigen eine Ähnlichkeit mit dem Spektrum der Verb.13, bis auf das zusätzliche Vorliegen einer Kohlenhydrateinheit.

Im olefinischen Bereich bei 140.52 und 121.23 ppm erscheinen zwei Signale für eine Doppelbindung zwischen C-5 und C-6. Das Signal von C-3 erscheint bei 77.04 ppm.

Gegenüber β-Sitosterin wurde das Signal von C-3 um ca. 5 ppm nach tiefem Feld verschoben.

Damit wurde angedeutet, daß die Glykosidierung über die Hydroxylgruppe an C-3 erfolgt ist.

Die C-3 glykosidische Bindung konnte zusätzlich durch Hochfeldverschiebung von C-2 und C-4 um 2.3-2.8 ppm bestätigt werden.

Das anomere Zuckersignal tritt bei 100.91 ppm auf. Die vier Methin- und ein Methylensignale des Kohlenhydrats liegen bei 76.84, 76.79, 73.53, 70.16 und bei 61.16 ppm. Die chemischen Verschiebungen weisen auf eine β-Glucose in Pyranoseform hin.

**Tabelle 27**  $^{13}\text{C}$ - chemische Verschiebung der Verbindung **14** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>14</b> in DMSO-d <sub>6</sub>
C-1	36.91
C-2	29.34
C-3	77.04
C-4	39.50
C-5	140.52
C-6	121.23
C-7	31.49
C-8	31.49
C-9	49.69
C-10	36.27
C-11	20.67
C-12	38.39
C-13	41.92
C-14	56.25
C-15	25.56
C-16	27.85
C-17	55.23
C-18	11.73
C-19	19.00
C-20	35.56
C-21	18.88
C-22	33.43
C-23	23.93
C-24	45.24
C-25	28.80
C-26	19.75
C-27	19.15
C-28	22.69
C-29	11.84

Fortsetzung der Tab.27

C-1'	100.91
C-2'	73.53
C-3'	76.84
C-4'	70.16
C-5'	76.79
C-6'	61.16

### 3.1.1.14.3. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum

Durch das  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum (Abb.87) wurden die Befunde aus dem DEPT  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum abgesichert. Die Methylgruppen an C-18 und C-19 treten als Singulets bei 0.63 und 0.95 ppm auf. Als Dubletts erscheinen die Methylsignale an C-21, C-26 und C-27 bei 0.88, 0.79 und 0.76 ppm. Das Methylsignal von C-29 erscheint bei 0.82 ppm als Triplett. Das Methinproton an C-6 erscheint erwartungsgemäß bei 5.32 ppm. Bei 3.63 ppm tritt das Methinproton an C-3 als Multiplett auf. Das anomere Zuckerproton erscheint bei 4.21 ppm mit einer Kopplungskonstante von 9 Hz. Die Lage und Aufspaltungen bestätigen die trans-Stellung der Protonen an C'-1 und C-2' und damit die  $\beta$ -Verknüpfung der Glucose.

**Tabelle 28**  $^1\text{H}$ - chemische Verschiebungen der Verbindung **14** ( $\delta$ - Werte in ppm)

Protonen	Signal Integral	<b>14</b> in DMSO-d <sub>6</sub>
C-3	m 1H	3.63
C-6	dd 1H	5.32
C-18	s 3H	0.63
C-19	s 3H	0.95
C-21	d 3H	0.88
C-26	d 3H	0.79
C-27	d 3H	0.76
C-29	t 3H	0.82

Damit konnte die Verbindung **14** als Sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucosid (Abb.20) identifiziert werden.

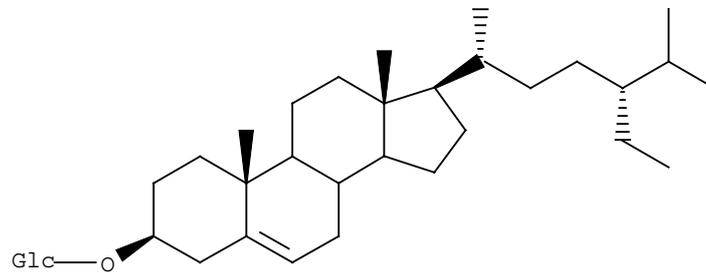


Abb.20 Strukturformel der Verbindung **14**

### 3.2. Chemische Untersuchungen an *Zygophyllum pterocarpum*.

#### 3.2.1. Extrakterstellung und Aufarbeitung der Extrakte

Das Pflanzenmaterial von *Z. pterocarpum* wurde mit 80% Methanol mazeriert. Der Extrakt wurde im Vakuum von Lösungsmitteln befreit und weiterhin zur Entfernung der lipophilen Bestandteile in Wasser aufgenommen und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die verbleibende wäßrige Phase mit n-Butanol extrahiert. Während die organischen Phasen am Rotationsverdampfer eingengt wurden, wurde die wäßrige Phase lyophilisiert.

#### Aufarbeitung des BuOH-Extrakts

Der BuOH- Extrakt wurde durch Flash-chromatographie mit einem Lösungsmittelgradient von Chloroform und Isopropanol zu Fraktionen A, B und C aufgetrennt.

#### Aufarbeitung des $\text{CHCl}_3$ - Extrakts

Aus dem  $\text{CHCl}_3$ - Extrakt wurden als Hauptkomponenten  $\beta$ -Sitosterol und eine Fettsäure isoliert.

### 3.2.1.1. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **15** und **16**

Die Verbindungen **15** und **16** wurden aus der Fraktion A durch mehrmalige SC an Kieselgel und Sephadex LH-20 isoliert. Sie wurden als dünne blattförmige Kristalle nach Umkristallisation aus Hexan erhalten.

Die dünnschichtchromatographische Untersuchung der Verbindung **15** ergab einen Rf-Wert von 0.32 im Laufmittelsystem Aceton / Hexan ( 1:1; v:v ), und einen Rf-Wert von 0.57 im LMS Chloroform / Toluol / Diethylether / Methanol ( 5:5:4:1; v:v:v:v ). Die Verbindung **15** hat einen Schmelzpunkt von 56-57 °C.

Die Verbindung **16** hat einen Rf-Wert von 0.21 im LMS Aceton / Hexan (1:1; v:v).

Bei Detektion mit Vanillin-Schwefelsäure- Tauchreagenz auf dem DC ergaben beide Substanzen leuchtend gelbe Färbungen. Mit Dragendorff-Reagenz gab es keine Farbreaktion.

#### 3.2.1.1.1. <sup>13</sup>C-NMR- Spektrum der Verbindung **15**

Das <sup>13</sup>C-NMR- Spektrum der Verbindung **15** (Abb.88) weist nur 5 Signale für 1 Methin-, 1 Methyl- und 2 Methylengruppe sowie 1 quartäres C-Atom auf. Das quartäre C-Atom erscheint als schwaches Singulett bei 179.86 ppm. Es ist zu erwarten, daß quartäre C-Atome wegen der langen Relaxationszeiten durch kleine Signalintensitäten ausgezeichnet sind. Diese chemische Verschiebung ist für eine Carbonylresonanz (sowie für ein Säureamid) charakteristisch. Das Signal bei 54.35 ppm ist typisch für eine Methylgruppe neben einem Sauerstoffatom. Während die Lage der zwei Methylensignale bei 28.34 ppm und 27.73 ppm keinen großen Substituentenfluß erkennen lassen, zeigt das Methinsignal bei 87.15 eine sehr starke Abschirmung in Richtung Tieffeld. Dies könnte durch die Nachbarschaft zu einem Sauerstoff oder Stickstoffatom hervorgerufen werden (gute Übereinstimmung mit Inkrementabschätzungen nach J.B. Stothers [79]).

**Tabelle 29** <sup>13</sup>C-chemische Verschiebung der Verbindung **15** (δ-Werte in ppm)

C-Atom	<b>15</b> in CDCl <sub>3</sub>
C-2	179.86
C-3	28.34

Fortsetzung der Tab.29

C-4	27.73
C-5	87.15
OCH <sub>3</sub>	54.35

### 3.2.1.1.2. <sup>1</sup>H-NMR- Spektrum

Aus den Integralen des <sup>1</sup>H-NMR- Spektrums (Abb.89) ergeben sich insgesamt 9 Protonen. Im Bereich zwischen 2.00-2.60 ppm erscheinen die Signale als komplexes Multiplett, das durch Integration 4 Protonen entspricht. Aufgrund der chemischen Verschiebung könnten die Signale zu den zwei aliphatischen Methylengruppen gehören. Ein Singulett bei 3.37 ppm mit seinen 3 Protonen bestätigt die Abwesenheit einer Methoxygruppe. Das Dublett bei 4.89 ppm mit einer Kopplungskonstante von ca. 8 Hz wurde dem Proton der einzigen Methingruppe zugeordnet. Die Aufspaltung und die Lage ergibt einen Hinweis auf die Nachbarschaft von einem anderen Proton und einem Sauerstoffatom. Damit entspricht es der Abschirmung der Methingruppe im <sup>13</sup>C-NMR- Spektrum. Desweiteres erhielt man ein breites Singulett bei 8.70 ppm. Das bestätigt die Vermutung über das Vorliegen einer NH-Gruppe. Aus den bisher vorliegenden Daten resultiert die Überlegung, daß es sich bei der Verbindung 1 um eine cyclisch aufgebaute Komponente mit der Summenformel C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub> handelt.

Das <sup>1</sup>H-NMR- Spektrum von Verb.15 stimmt gut mit den Daten für 5-Methoxy-2-pyrrolidinon überein [80].

**Tabelle 30** <sup>1</sup>H-chemische Verschiebungen von Verbindung 15 (δ-Wert in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	15 in CDCl <sub>3</sub>	Lit.[80] in CDCl <sub>3</sub>
NH	br 1H	8.70	7.80
OCH <sub>3</sub>	s 3H	3.37	3.33
H-5	dd 1H	4.89	4.81
H-3/4	m 4H	2.68-1.98	2.68-1.81

## 3.2.1.1.3. MS.

Im Massenspektrum der Verbindung **15** (Abb.90) findet man den Molekülpeak bei  $m/z$  115, was durch die ungerade Zahl auf die Anwesenheit eines Stickstoffatoms hinweist. Diese Molekülmasse entspricht der Summenformel  $C_5H_9NO_2$  der vorgeschlagenen Struktur. Das Fragment bei  $m/z$  84 ergibt sich durch die Abspaltung der Methoxygruppe.

Somit handelte es sich bei Verb.**15** um das bereits aus der Pflanze *Pteridium aquilinum* isolierte Pterolactam (5-Methoxy-2-pyrrolidinon) (Abb.21).

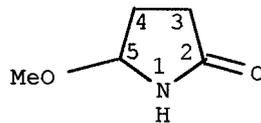


Abb.21 Strukturformel der Verbindung **15**

3.2.1.2. Identifizierung der Verbindung **16**3.2.1.2.1.  $^{13}C$ -NMR- Spektrum

Das  $^{13}C$ -NMR-Spektrum (Abb.91) weist 7 Signale auf, die eine gewisse Ähnlichkeit mit dem vorherigen Spektrum der Verb.**15** zeigen. Bei 179.28 ppm tritt das Signal für ein Carbonylkohlenstoffatom auf. Die chemischen Verschiebungen der 2 Methylengruppen stimmen mit denen der Verbindung **15** gut überein und erscheinen bei 29.03 und 28.45 ppm. Das Signal bei 83.83 ppm erkennt man wieder als die Methoxygruppe in Nachbarschaft zu einem Sauerstoff und Stickstoffatom.

Das  $^{13}C$ -NMR- Spektrum unterscheidet sich von Verbindung **15** durch das Fehlen eines Signals für die Methoxygruppe an C-5. Hinzu kommen ein Peak für eine Methoxygruppe bei 69.35 ppm und 2 Peaks für Methylgruppen bei 22.06 und 23.22 ppm.

**Tabelle 31**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **16** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atom	<b>16</b> in $\text{CDCl}_3$
C-2	179.28
C-3	29.03
C-4	28.45
C-5	83.83
C-6	69.35
C-7	23.22
C-8	22.06

3.2.1.2.2.  $^1\text{H}$ -NMR- Spektrum

Im  $^1\text{H}$ -NMR- Spektrum (Abb.92) ist bei 8.00 ppm ein breites Singulett erkannt, das man wieder dem NH zuordnen kann. Das Doppeldoublett bei 5.10 ppm wurde dem Proton an C-5 zugeordnet. Wie im Spektrum der Verbindung **15** finden sich die 4 Protonen der beiden Methylengruppen C-3 und C-4 im Bereich zwischen 2.60-2.00 ppm. Statt der Methoxygruppe bei 3.37 ppm ist ein Multiplett bei 3.33 ppm neu aufgetaucht, dem nur ein Proton entspricht. Bei 1.20 ppm erscheinen Multipletts, deren Integral auf 6 Protonen hinweist. Sie wurden den Protonen der zweier Methylgruppen zugeordnet.

Aus den spektroskopischen Daten von  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR- Spektren sieht man, daß die Verbindung **16** statt der Methylgruppe von Pterolactam eine Isopropylgruppe enthält. Um zu prüfen, ob diese Verbindung durch Umwandlung von Pterolactam bei der chromatographischen Trennung als Artefakt entstanden ist, wurde die Verb.**15** mit Kieselgel in Isopropanol gerührt. Aus dem Vergleich der dünnschichtchromatographischen Untersuchung konnte bewiesen werden, daß es keine Umwandlung gab.

**Tabelle 32**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **16** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>16</b> in $\text{CDCl}_3$
----------	---------------------	---------------------------------

Fortsetzung der Tab.32

H-1	s	1H	8.00
H-5	dd	1H	5.10
H-3/4	m	4H	2.6-2.0
H-6	m	1H	3.71
H-7/8	m	6H	1.20

Aus den spektroskopischen Daten wurde die Verb.**16** als vorher in der Literatur nicht beschriebenes 5- Isopropoxy-2 pyrrolidinon (Abb.22) identifiziert.

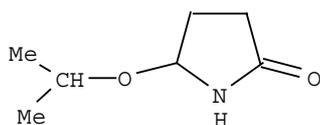


Abb.22 Strukturformel der Verb.**16**

### 3.2.1.3. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **17**

Die Fraktion B wurde durch SC an Sephadex LH-20 und Kieselgel aufgetrennt und anschließend noch einmal an einer Sephadexsäule gereinigt. Dabei wurde die Verb.**17** als farblose nadelförmige Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 103°-106° C erhalten. Sie besitzt einen R<sub>f</sub>-Wert von 0.40 in einem LMS Chloroform/ Methanol ( 8:2; v:v ) und R<sub>f</sub>= 0.18 im LMS Isopropanol/ Methanol (1:9; v:v ).

Nach Detektion auf dem DC mit Vanillinschwefelsäure-Tauchreagent ergab die Verbindung **17** eine rote Färbung.

#### 3.2.1.3.1. <sup>13</sup>C-NMR- Spektrum

Im <sup>13</sup>C-NMR- Spektrum (Abb.93) finden sich nur 4 Signale, 1 quartäres C-Atom und 3 Methingruppen. Das quartäre C-Atom bei 175.0 ppm ist typisch für eine Carbonylresonanz. Im Bereich der Doppelbindungen bei 150.72 ppm und 128.17 ppm erhielt man 2 Methinsignale. Das verbleibende Methinsignal erscheint bei 82.07 ppm. Die chemische Verschiebung von Methingruppen neben einem Sauerstoffatom ist bei ca.70 ppm zu erwarten. In unserem Fall ist die chemische Verschiebung 82.07 ppm , d.h. neben dem Sauerstoffatom

beeinflusst noch ein weiterer Substituenteneffekt diese Tieffeldverschiebung. Es könnte sich hier um ein N / O-Halbacetal handeln. Ein Vergleich mit Literaturdaten [81] von Dihydromaleimid bestätigt die Struktur des Säureimids.

**Tabelle 33**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **17** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atom	<b>17</b>	Lit. [81]
	in $\text{CD}_3\text{OD}$	in $\text{CD}_3\text{OD}$
C-2	175.0	175.0
C-3	128.17	128.1
C-4	150.71	150.8
C-5	82.07	82.2

#### 3.2.1.3.2. $^1\text{H}$ -NMR- Spektrum

Im  $^1\text{H}$ -NMR- Spektrum (Abb.94) waren 2 Signale im olefinischen Bereich zu finden. Bei 7.03 ppm erscheint ein Doppeldublett mit Kopplungskonstanten von ca. 6 und 2 Hz. Das Signal bei 6.05 ppm ergibt sich als Doppeldublett mit Kopplungskonstanten von ca. 6 und 2 Hz. Die chemische Verschiebung beider Protonen ist charakteristisch für einen Pyrin 5- Ring. Aufgrund der Aufspaltung und der Lage wurden die 2 Signale den Protonen an C-3 und an C-4 zugeordnet. Das Signal bei 5.60 ppm konnte dem Proton an C-5 zugeordnet werden. Die Sauerstoffnachbarschaft ist für die extreme Verschiebung in Richtung Tieffeld verantwortlich. Anhand der vorliegenden Daten kann man sagen, daß es sich dabei um eine fünfring Verbindung mit Doppelbindung und mit einem Heteroatom handelt.

**Tabelle 34**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **17** ( $\delta$ -Wert in ppm)

Protonen	Signal/	<b>17</b>	Lit.[81]
	Integral	in $\text{CD}_3\text{OD}$	in $\text{CD}_3\text{OD}$
H-4	dd 1H	7.03	7.07
H-3	dd 1H	6.05	6.08
H-5	br 1H	5.60	5.63

Durch den Vergleich mit Literaturdaten wurde die Verbindung **17** als Dihydromaleimide (Abb.23) zweifelsfrei identifiziert.

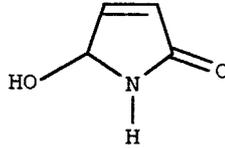


Abb.23 Strukturformel der Verbindung **17**

#### 3.2.1.4. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **18**

Die Verbindung **18** wurde als senfgelbes Pulver aus Fraktion C durch Säulenchromatographie an Sephadex LH-20 mit dem Laufmittel Methanol isoliert. Im sichtbaren Spektralbereich ist eine gelb gefärbte Substanzzone auf dem Dünnschichtchromatogramm zu beobachten. Nach Besprühen mit Naturstoffreagenz ergibt der Substanzfleck im langwelligen UV eine intensiv orange Farbe. Diese orange Färbung gibt einen ersten Hinweis auf eine Quercetinverbindung. Die Verbindung **18** hat einen R<sub>f</sub>-Wert von 0.49 mit dem LMS Essigester: Wasser: Ameisensäure ( 67:26:7; v.v:v ) auf Kieselgel DC-Schicht. Sie besitzt einen Schmelzpunkt von 208°-209° C unter Zersetzung.

##### 3.2.1.4.1. IR-Spektrum

Im IR- Spektrum (Abb.95) weist eine breite O-H Bande bei 3354 cm<sup>-1</sup> auf eine glykosidische Verbindung hindeutet. Bei 1656 cm<sup>-1</sup> tritt eine C=O- Valenzschwingungsbande auf, die durch eine Carbonylgruppierung hervorgerufen wird. Die Lage der Bande der asymmetrischen C-O-C Streckschwingung bei 1064 cm<sup>-1</sup> und das Vorliegen der symmetrischen C-O-C Streckschwingung bei 816 cm<sup>-1</sup> weist auf die Anwesenheit einer Ethergruppierung hin [82]. Die im IR Spektrum der Verb.**18** auftretenden Schwingungsarten belegen das Vorliegen einer flavonoiden Verbindung.

**Tabelle 35** IR- Daten der Verbindung **18**

Wellenzahl (cm <sup>-1</sup> )	Zuordnung	Schwingungsart
3354	O-H	Streckschwingungen
1655	C=O	Streckschwingungen
1605, 1508	C=C	Streckschwingungen
1302	C-H	Deformationsschwingung
1202	O-H	Deformationsschwingung
1064	C-O-C	asymmetrische Streckschwingung
816	C-O-C	symmetrische Streckschwingungen

#### 3.2.1.4.2. UV-Spektren

Die UV-Spektren der Verbindung **18** unter Verwendung verschiedener Shift-Reagenzien (Tab.36) nach dem in Kap.6.1.1.4 beschriebenen Verfahren ergab einige Strukturhinweise auf Quercetin.

Bande I bei 358 nm des in MeOH aufgenommenen Spektrums liegt im Absorptionsbereich für 3-OH-substituierte Flavonoide. Bei Zugabe von NaOMe findet eine bathochrome Verschiebung der Bande um 45 nm statt, was auf eine deprotonierbare, phenolische OH-Gruppe hindeutet. Die zusätzlich aufgetretene Bande bei 328 nm deutet auf eine freie 7-OH-Gruppe hin.

Durch den Zusatz von AlCl<sub>3</sub> wird die Bande I um 75 nm in den langwelligen Bereich verschoben, was (als Summa-Effekt von allen Komplexe) sowohl auf eine vicinale Dihydroxylierung des B-Ringes und als auch auf die 5-OH-Gruppierung hinweist. Nach Zugabe von HCl zur AlCl<sub>3</sub>-komplexierten Lösung findet eine hypsochrome Verschiebung für die Bande I um 33 nm statt, welches eine ortho- Dihydroxylierung am B-Ring beweist. Ebenfalls wurde die ortho-Dihydroxylierung des B-Rings durch bathochrome Verschiebung der Bande I um 12 nm nach Zusatz von NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> bestätigt.

Nach Zugabe NaOAc ergibt sich eine bathochrome Verschiebung der Bande II um 16 nm gegenüber dem in MeOH aufgenommenen Spektrum. Das beweist das Vorliegen einer freien 7-OH-Gruppe im Molekül.

**Tabelle 36** UV-Daten der Verbindung **18** (in nm)

	Bande II	Schulter	Bande I
MeOH	256		358
MeOH + NaOMe	271	328	408
MeOH + AlCl <sub>3</sub>	275	300	433
MeOH + AlCl <sub>3</sub> /HCl	268	300, 365	400
MeOH + NaOAc	272		379
MeOH + NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	260		370

### 3.2.1.4.3. <sup>1</sup>H-NMR Spektrum

Im tieferen Feld des <sup>1</sup>H-NMR Spektrums (Abb.96) treten fünf für aromatische Verbindungen typische Signale ( 6-8 ppm ) auf. Aus den Integralen des <sup>1</sup>H-NMR Spektrums läßt sich zu diesen Signalen jeweils einem Proton zuzuordnen. Es handelt sich hierbei um ein Dublett bei 7.60 ppm mit einer Kopplungskonstante von 2 Hz und ein Doppeldublett bei 7.43 ppm mit Kopplungskonstanten von 9 und 2 Hz. Die Kopplungskonstante von 2 Hz charakterisiert eine Proton - Proton Wechselwirkung über 4 Bindungen und eine Kopplungskonstante von ca. 9 Hz Wechselwirkungen über 3 Bindungen. Lage und Aufspaltung dieser Signale ist typisch für den 3', 4' - O- disubstituierten B-Ring von Flavonoiden. Das Signal bei 7.60 ppm kann dem Proton an C-2' zugeordnet werden, das sich mit dem Proton an C-6' in meta- Kopplung befindet. Dementsprechend kann das Signal bei 7.43 ppm dem Proton an C-6' zugeordnet werden. Bei 6.75 ppm erscheint ein Dublett mit Kopplungskonstante 9 Hz. Aufgrund seiner Aufspaltung kann dieses Signal dem Proton an C-5', das mit dem Proton an C-6' ortho-gekoppelt ist, zugeordnet werden. Die beiden Dubletts bei 6.20 und 6.03 ppm mit Kopplungskonstanten von jeweils 2 Hz sind typisch für die Protonen an C-8 und C-6 im A- Ring einer an C-5 und C-7 sauerstoffsubstituierten Flavonoidverbindung. Im höheren Feld bei 5.08 ppm erhält man ein Dublett mit einer Kopplungskonstante 6 Hz. Wegen der chemischen Verschiebung und Kopplungskonstante erkennt man dieses Signal als anomeres Proton einer an C-3 des Aglykons glykosidisch gebundenen β-D-Glucose. Desweiteres befinden sich zwischen 3,00-4,00 ppm Multiplett- Signale, die typisch für die Protonen glykosidisch gebundener Zucker sind.

Um eine freie OH-Gruppe an C-5 zu bestätigen, wurde das Spektrum auch im DMSO-d<sub>6</sub> aufgenommen, wo zusätzlich bei 11.72 ppm ein Singulettsignal, das typisch für eine freie OH-Gruppe an C-5 eines Flavonols ist, erscheint.

**Tabelle 37** <sup>1</sup>H- chemische Verschiebung der Verbindung **18** (δ-Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>18</b> im CD <sub>3</sub> OD	<b>18</b> im DMSO-d <sub>6</sub>
H-5	br 1H		11.72
H-6	d 1H	6.02	6.44
H-8	d 1H	6.20	6.22
H-2'	dd 1H	7.60	7.57
H-6'	d 1H	7.43	7.60
H-5'	d 1H	6.75	6.86
H-1''	d 1H	5.08	5.48

#### 3.2.1.4.4. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Das <sup>13</sup>C-NMR Spektrum (Abb.97) der Verbindung **18** zeigt 21 Signale, von denen eines einer Methylen-, 10 Methingruppen und 10 quartären C-Atome zuzuordnen sind.

Aufgrund der Auswertung der UV, IR und <sup>1</sup>H-NMR Spektren kann Quercetin, ein Flavonol mit 15 C-Atomen im Grundgerüst, als Struktur des Aglykons angenommen werden.

Im Bereich zwischen 94 -124 ppm finden sich 6 Methingruppe. Eins von diesen Signalen bei 104.42 ppm kann dem anomeren C-Atome des Zuckers zugeordnet werden. Die verbleibenden fünf Signale bei 99.90, 94.81, 123.24, 117.65 und 116.00 ppm können entsprechend C-6, C-8, C-6', C-5' und C-2' des Aglykons zugeordnet werden (s.

Diskussionen bei Verb.4). Die Signale der OH- substituierten quartären C-5, C-7, C-3' und C-4' erscheinen erwartungsgemäß bei 162.64, 165.76, 145.69 und 149.71 ppm. Im tiefsten Feld bei 179.26 ppm erscheint ein Signal, das einer Carbonylgruppe entspricht. Bei 105.56 ppm gibt das quartäre C-10 ein Resonanz. Die Signale der oxidierten C-2 und C-9 befinden sich bei 159.02 und 158.21 ppm. Die verbleibenden 4 Methingruppen erscheinen im Bereich 79-70 ppm als Dubletts. Sie gehören zu der Monosaccharideinheit der Verbindung. Beim 62.46 ppm erscheint ein Signal einer Methylengruppe neben einem Sauerstoffatom, das dem C-6'' des

Zuckers zugeordnet werden kann. Aufgrund der chemischen Verschiebung und Aufspaltung konnte man die Monosaccharideinheit als Glucose definieren.

Bei 135.58 ppm erscheint das typische Signal für C-3 eines in dieser Position glykosidierten Flavonols. Die Struktur der Verbindung **18** wurde zusätzlich durch den Vergleich der chemischen Verschiebungen mit den Literaturdaten von Isoquercitrin [83] abgesichert.

**Tabelle 38**  $^{13}\text{C}$ - chemische Verschiebung der Verbindung **18** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>18</b> in CD <sub>3</sub> OD	<b>18</b> in DMSO-d <sub>6</sub>	Lit.[83] in DMSO-d <sub>6</sub>
C-2	159.02	156.5	156.5
C-3	135.58	133.5	133.7
C-4	179.26	177.6	177.6
C-5	162.64	161.3	161.3
C-6	99.90	98.8	98.8
C-7	165.76	164.3	164.2
C-8	94.81	93.7	93.6
C-9	158.21	156.3	156.5
C-10	105.56	104.1	104.2
C-1'	123.02	121.3	121.4
C-2'	116.00	115.4	115.3*
C-3'	145.69	144.9	144.8
C-4'	149.71	148.6	148.5
C-5'	117.65	116.4	116.5*
C-6'	123.24	121.7	121.6
C-1''	104.42	101.0	101.4
C-2''	75.63	74.2	74.3
C-3''	78.95	76.6	76.8*
C-4''	71.09	70.0	70.3
C-5''	78.14	77.7	77.5*
C-6''	62.46	61.1	61.3

\* kann ausgetauscht werden

### 3.2.1.4.5. MS

Das FAB- MS (Abb.98) bestätigt mit der Massenzahl von  $m/z$  465  $[M+H]^+$  die Summenformel  $C_{21}H_{20}O_{12}$ . Weiterhin traten interpretierbare Fragmentierungen nicht auf. Deswegen wurde zusätzlich ein ESI-MS aufgenommen. Aus dem ESI-Massenspektrum (Abb.14) im negativen Full ms geht der Molekülpeak  $m/z$  463  $[M-1]^-$  hervor, dem die Summenformel  $C_{21}H_{20}O_{12}$  entspricht. Das Fragment im Full ms/ms von  $m/z$  301  $[M-162]^-$  entsteht durch Abspaltung der Glucose-Einheit. Dies entspricht der Masse  $[M-H]^-$  des Aglykons (Quercetin).

Aufgrund der spektroskopischen Daten handelt es sich bei der Verbindung **18** um Quercetin-3-O-glucopyranosid (Isoquercitrin) (Abb.24).

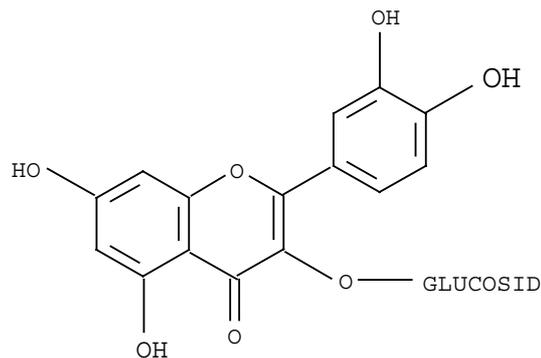


Abb.24 Strukturformel der Verbindung **18**

### 3.2.1.5. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **19**

Die Verbindung **19** wurde als gelbes Pulver aus der Fraktion C durch Gelchromatographie an Sephadex LH-20 mit Methanol vor der Verbindung **18** aus der Säule eluiert. Die endgültige Reinigung gelang durch eine weitere SC an Kieselgel. Auf dem Kieselgel DC gibt die Verbindung einen  $R_f$ - Wert von 0.54 mit dem LMS Essigester / Wasser / Ameisensäure im Verhältnis 67: 26 : 7 ( v:v:v ). Nach Besprühen mit Naturstoffreagenz zeigt die Verbindung **19** eine intensive gelbe Farbe.

### 3.2.1.5.1. IR-Spektrum

Im IR Spektrum (Abb.99) der Verb.19 finden sich die Banden wie bei der Verb.18, die für ein Flavonoid charakteristisch sind.

**Tabelle 39** IR Daten der Verbindung 19

Wellenzahl (cm <sup>-1</sup> )	Zuordnung	Schwingungsart
3423	O-H	Valenzschwingungen
2927	C-H	Streckschwingungen
1655	C=O	Valenzschwingungen
1610, 1499	C=C	Valenzschwingungen
1058	C-O-C	asymmetrische Streckschwingungen
840	C-O-C	symmetrische Streckschwingungen

### 3.2.1.5.2. UV-Spektren

Die UV-Spektren der Verbindung 19 wurde unter gleichen Bedingungen wie bei der Verb.18 aufgenommen (Tab.40). Die methanolische Lösung der Verb.19 ergibt sich die typische Absorptionskurve eines 3-hydroxyl-substituierten Flavonols mit den Banden I und II bei 255 und 355 nm. Bei Zugabe von NaOMe verschieben sich alle Bande bathochrom, ohne Intensitätsverlust. Das bestätigt das Vorhandensein einer freien 4'-OH- Gruppe als auch einer glykosidierten 3-OH- Gruppe. Nach Zugabe von AlCl<sub>3</sub> ergibt sich eine bathochrome Verschiebung der Bande I um 45 nm, welches eine freie 5-OH- und substituierte 3-OH- Gruppe beweist. Bei Säurezusatz findet keine nennenswerte Veränderung statt, was gegen eine vicinale Dihydroxylierung im Molekül spricht. Durch den Zusatz von NaOAc zeigt sich eine bathochrome Verschiebung der Bande II um 16 nm und bestätigt damit das Vorliegen einer freien 7-OH-Gruppe. Bei Zugabe von Borsäure ergibt sich keine Veränderungen gegenüber dem in MeOH- aufgenommenen Spektrum, womit das Vorliegen orthoständiger OH- Gruppen ausgeschlossen werden kann.

**Tabelle 40** UV-Daten der Verbindung **19** (in nm)

	Bande II	Schulter	Bande I
MeOH	255	265	355
MeOH + NaOMe	281		413
MeOH + AlCl <sub>3</sub>	268	303, 367	400
MeOH + AlCl <sub>3</sub> /HCl	234	268, 303 351	398
MeOH + NaOAc	271		367
MeOH + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> + NaOAc	256		355

### 3.2.1.5.3. <sup>1</sup>H-NMR- Spektrum

Im <sup>1</sup>H-NMR Spektrum (Abb.100) erkennt man im aromatischen Bereich von 6.0- 8.05 ppm die charakteristische Signale für 5, 7, 3', 4'- substituierte flavonoidische Verbindungen. Die A-Ring- Protonen H-6 und H-8 erscheinen als meta-kopplenden Dubletts bei 6.20 und 6.40 ppm mit einer Kopplungskonstante von ca. 1.5 Hz. Die B-Ring - Protonen zeigen eine ABX-Aufspaltung mit Signalen als Dublett bei 7.92 ppm mit Kopplungskonstante ca. 2 Hz, als Doppeldublett bei 7.58 ppm mit Kopplungskonstanten von ca. 9 und 1.5 Hz und als Dublett bei 6.88 ppm mit Kopplungskonstante ca. 9 Hz. Sie wurden aufgrund der Aufspaltung und chemischen Verschiebungen jeweils den Protonen H-2', H-6' und H-5' zugeordnet. Ein Singulett bei 3.94 ppm für 3 Protonen gibt die typische Resonanz für eine Methoxygruppe. Bei der Verb. **19** ist die chemische Verschiebung von H-2' gegenüber dem entsprechenden Proton im Quercetin ( 7.60 ppm siehe Verb.**18** ) nach Tieffeld auf 7.92 ppm verschoben. Das bestätigt die Nachbarschaft einer Methoxygruppe. Dadurch wurde die Bindung zur Methoxygruppe an C-3' festgestellt. Die Protonen des Zuckers erscheinen im höheren Feld. Das Signal für das anomere Proton erscheint als Dublett bei 5.42 ppm, dessen Lage und Kopplungskonstante von 8.0 Hz das Vorliegen einer β-D-Glucose belegt. Die restlichen Protonensignale der Glucose erscheinen als komplexes Multipletts von 3.2-4.0 ppm.

**Tabelle 41**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **19** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>19</b> in $\text{CD}_3\text{OD}$
H-6	d 1H	6.20
H-8	d 1H	6.40
H-2'	d 1H	7.92
H-5'	d 1H	6.88
H-6'	dd 1H	7.58
$\text{OCH}_3$	s 3 H	3.94
H-1''	d 1H	5.42

#### 3.2.1.5.4. $^{13}\text{C}$ -NMR- Spektrum

Im  $^{13}\text{C}$ -NMR- Spektrum (Abb.101) der Verbindung **19** sind 22 Signale zu erkennen, von denen 15 im aromatischen Bereich liegen. Im Bereich zwischen 94 -106 ppm befinden sich 3 Methingruppen und 1 quartäres C-Atom. Die Signale bei 99.87 und 94.73 ppm wurden C-6 und C-8 zugeordnet [84]. Infolge des Effektes von OH-Bindungen an C-5 und C-7 erscheinen beide Kohlenstoffatome bei höherem Feld. Das kleine Singulett bei 105.78 ppm wurde C-10 zugeordnet. Die Carbonylgruppe an C-4 erscheint bei 179.43 ppm. Das ist ein Hinweis auf eine Oxidierung an C-3 und C-5 [85]. Die Dublettsignale für C-2', C-6' und C-5' sind erwartungsgemäß bei 114.38, 123.82 und 115.99 ppm aufgetreten. Bei 56.78 ppm befindet sich ein Signal, das zu einer Methoxygruppe gehört. Durch die  $\text{OCH}_3$ - Gruppe sind im Signalmuster des B- Rings einige Änderungen zu beobachten. Durch Vergleich mit dem Spektrum der Verb.**18** wurde bestätigt, daß C-3' bei 150.84 ppm eine Methoxygruppe trägt. Wenn C-3' anstatt einer  $\text{OCH}_3$ -Gruppe eine OH- Gruppe besäße, würde das Signal dieses Kohlenstoffatoms um ca. 5.0 ppm bei höherem Feld erscheinen [85, 86]. Das Signal für das hydroxylierte C-4' erscheint bei 148.39 ppm. Die meta-Metoxo-Nachbarschaft verursachte die Verschiebung von C-4' um 1.4 ppm nach hohem Feld gegenüber der Verb.**18**. Das quartäre C-1' erscheint bei 123.09 ppm. Das im Tieffeld erscheinende Singulett bei 165.97 ppm wurden dem OH- substituierten C-7 zugeordnet. Durch Bildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Carbonylfunktion an C-4 und der Hydroxylgruppe an C-5 ist das Signal von C-5 bei 163.09 ppm zu erwarten. Das oxidierte C-9 erscheint als

quartäres Atom bei 158.46 ppm. Ein quartäres Signal bei 158.66 ppm wurde C-2 zugeordnet. Das Singulett bei 135.33 ppm ist typisch für C-3 einer glykosidierten Flavonolstruktur. Nach der Zuordnung der Aglykonssignale bleiben 6 Signale übrig. Das Signal 103.65 ppm wurde dem C-1'' des Zuckers zugeordnet. Die Lage und Aufspaltungen der verbleibenden Signale weisen auf eine Glucose in Pyranoseform hin. Um die Struktur der Verbindung **19** sicherzustellen wurde das Spektrum mit Hilfe von Literaturdaten [86] von Isorhamnetinglucosid unter Berücksichtigung des Lösungsmiteleinflusses ( Unterschied zwischen den Spektren in DMSO-d<sub>6</sub> und Methanol beträgt 1-2 ppm ) verglichen. Es zeigten sich weitgehende Übereinstimmungen, die eine Identifizierung der Verb.**19** als Isorhamnetinglucosid rechtfertigen.

**Tabelle 42** <sup>13</sup>C- chemische Verschiebung der Verbindung **19** (δ-Werte in ppm)

C-Atome	<b>19</b> in CD <sub>3</sub> OD	Lit.[86] in DMSO-d <sub>6</sub>
C-2	158.66	156.4 <sup>a</sup>
C-3	135.33	133.0
C-4	179.43	177.4
C-5	158.46	161.2
C-6	99.87	98.8
C-7	165.97	164.2
C-8	94.73	93.7
C-9	163.09	156.3 <sup>a</sup>
C-10	105.78	104.1
C-1'	123.09	121.1
C-2'	114.38	113.5
C-3'	150.84	149.4
C-4'	148.39	146.9
C-5'	115.99	115.2
C-6'	123.82	122.1
OCH <sub>3</sub>	56.78	55.7
C-1''	103.65	100.8
C-2''	75.92	74.4

Fortsetzung der Tab.42

C-3''	78.07	76.4 <sup>b</sup>
C-4''	71.49	69.9
C-5''	78.53	77.5 <sup>b</sup>
C-6''	62.55	60.9

<sup>a,b</sup> Werten sind austauschbar.

### 3.2.1.5.5. MS

Im FAB-MS- Spektrum (Abb.102) erscheint das Fragment 479  $[M+H]^+$ , das dem Molekülpeak entspricht. Somit ergibt sich für Verbindung 19 die Summenformel von  $C_{22}H_{22}O_{12}$

Nach Abschluß der spektroskopischen Untersuchungen konnte die Struktur der Verbindung **19** als Isorhamnetin- 3-O-glucopyranosid (Abb.25) identifiziert werden.

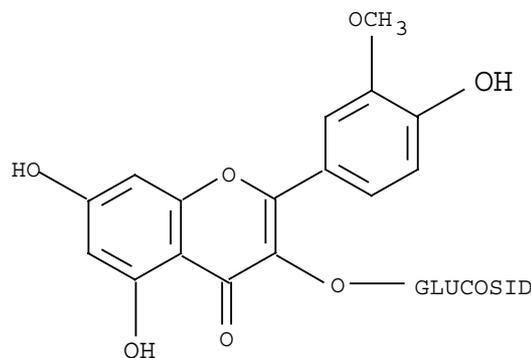


Abb.25 Strukturformel von Verbindung **19**

## 3.3. Chemische Untersuchungen an *Thermopsis hirsutissima*

### 3.3.1. Extrakterstellung und Aufarbeitung des Extrakts

Das Pflanzenmaterial von *Thermopsis hirsutissima* wurde mit 90% Methanol unter Rühren bei Raumtemperatur extrahiert. Nach Abfiltrieren und Einengen des Lösungsmittels wurden 179 g eines dicken, viskosen Rückstands erhalten. Der Rückstand wurde in Wasser

aufgenommen, mit 1M HCl angesäuert und mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Danach wurde die wäßrige Phase nach Zugabe von Ammoniak bis pH= 11 mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und einrotiert. Dabei erhielt man 21.22 g Alkaloid-Extrakt. Die Ausbeute des gesamten Alkaloidgemisches, bezogen auf das getrocknete Pflanzenmaterial, betrug 2.12 %.

#### Aufarbeitung des Alkaloid-Extrakts

Der Alkaloid-Extrakt wurde zuerst durch SC an Kieselgel mit Lösungsmittelgradient von Dichlormethan und Methanol unter Zugabe von  $\text{NH}_4\text{OH}$  aufgetrennt. Es wurden 90 Fraktionen aufgefangen. Nach dünnenschichtchromatographischer Untersuchungen wurden die Teilfraktionen weiter aufgetrennt.

#### 3.3.1.1. Isolierung und Identifizierung der Verbindungen **20** und **21**

Die Fraktionen 4 -11 (530 mg) aus dem Alkaloid-Extrakt nach SC an Kieselgel enthielten die Substanzen **20** und **21**. Eine weitere Auftrennung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit FMS  $\text{CH}_2\text{CL}_2$  / MeOH (9:1; v:v ). Die Fraktionen 3-4 und 11-15 wurden zusammengefaßt und durch Gelchromatographie an Sephadex LH-20 aufgereinigt. So konnten die Verbindungen **20** und **21** in öligem Zustand rein isoliert werden. Sie haben Rf-Werte von 0.72 und 0.60 auf der Kieselgel DC-Platte im LMS Dichlormethan / Methanol / Ammoniak (90:9:1; v:v:v). Mit Dragendorffreagenz färben sich beide Substanzenflecken orange.

#### 3.3.1.1.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum

Das DEPT  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.**20** (Abb.103) zeigt ein Signalmuster von 15 Kohlenstoffatomen, das auf ein tetracyclisches Chinolizidinderivat hinweist . Es liegen im aromatischen Bereich 3 Methin- und 2 quartäre C-Atomsignale. Die Lage und Aufspaltungen der aromatischen Signale bestätigt die Anwesenheit eines  $\alpha$ -Pyridonrings im Decalin-Grundgerüst. Das Singulett bei 163.30 ppm wurde durch die Carbonylgruppe des Ringsystems hervorgerufen. Das zweite Singulett bei 151.79 ppm wurde C-6 zugeordnet, der sich neben dem N-Atom befindet. Die drei aromatische Methingruppe bei 116.15, 138.48 und 104.38 ppm wurden entsprechend den C-3, C-4 und C-5 des Pyridonsystems zugeordnet.

Weiterhin befinden sich 3 Methylen- und 1 Methinsignal im Spektrum, deren Lage auf eine Nachbarschaft der Kohlenstoffe zu Stickstoff hinweisen. Das Methinsignal von C-11 tritt bei 62.81ppm in Resonanz. Das Signal bei 51.26 ppm wurde C-10 zugeordnet. Im Hochfeld erscheinen 2 Methin- und 4 Methylensignale. Es ist bemerkenswert, daß ein Methylensignal bei relativ hohem Feld, bei 20.45 ppm erscheint. Dies wurde dem Brücken-C-Atom C-8 zugeordnet. Die Hochfeldverschiebung konnte auf Konformation mit Wannenform für den C-Ring als auch z.T. auf das  $\alpha$ -Pyridon- System zurückgeführt werden. Es zeigt eine gute Übereinstimmung mit den Literaturdaten von Anagyrin [87, 88].

**Tabelle 43**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **20** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atom	<b>20</b> in $\text{CDCl}_3$	Lit.[88] in $\text{CDCl}_3$
C-2	163.30	163.4
C-3	116.15	116.3
C-4	138.48	138.6
C-5	104.38	104.5
C-6	151.79	151.9
C-7	35.21	35.4
C-8	20.45	20.6
C-9	32.24	32.4
C-10	51.26	51.4
C-11	62.81	62.9
C-12	22.22	22.3
C-13	25.26	25.4
C-14	18.79	18.9
C-15	54.07	54.2
C-17	52.59	52.7

### 3.3.1.1.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum

Das  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum (Abb.104) bestätigt, daß die Verb.**20** ein partiell aromatisiertes Chinolizidin-Ring-System enthält. Im Doppelbindungsbereich bei 7.30, 6.44 und 5.98 ppm

erscheinen die drei olefinischen Methinprotonen, die H-4, H-3 und H-5 zugeordnet wurden. Erwartungsmäßig befinden sich die dem N-Atom benachbarten sekundären und tertiären Protonen bei relativ tiefem Feld zwischen 2.46-4.06 ppm gegenüber den anderen an  $sp^3$ -hybridisierten C-Atom gebundenen Protonen. Aufgrund des Effekts vom  $\alpha$ -Pyridon-System erscheinen die zwei Protonen von H-10 im tiefsten Feld bei 4.06 ppm als Dublett und bei 3.90 ppm als Doppeldublett. Die anderen Signale liegen zwischen 2.14 -1.00 ppm als komplexe Multipletts. Ein Literaturvergleich von Anagyrin [89] zeigte gute Übereinstimmung.

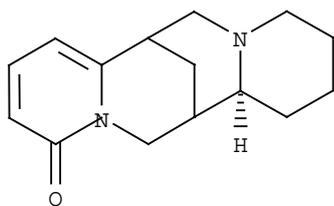
**Tabelle 44**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **20** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>20</b> in $\text{CDCl}_3$
H-3	dd 1H	6.44
H-4	dd 1H	7.30
H-5	dd 1H	5.98
H-9	m 1H	2.14
H-10 $\beta$	d 1H	4.06
H-10 $\alpha$	dd 1H	3.90
H-11	br 1H	2.91
H-15 $\beta$	dd 1H	3.38
H-15 $\alpha$	d 1H	2.45
H-17 $\beta$	br 1H	2.67

### 3.3.1.1.3. MS

Das EI-Massenspektrum (Abb.105) zeigt einen Molekülpeak von  $m/z=244$ , welches der Summenformel  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$  entspricht.

Somit wurde die Verbindung **20** als Anagyrin (Abb.26) identifiziert.

Abb.26 Strukturformel von Verbindung **20**

### 3.3.1.2. Identifizierung der Verbindung **21**

#### 3.3.1.2.1. $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum

Im DEPT  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum (Abb.106) der Verb.**21** befinden sich 15 Signale, die von 10 Methylen-, 4 Methin- und 1 quartären Kohlenstoffatomen stammen. Das Signalmuster des Spektrums spricht für ein Chinolizidonderivat, und zwar Oxosparteine. Das quartäre Signal wird durch die Carbonylgruppe des Lactams hervorgerufen und erscheint im Tieffeld bei 171.50 ppm. Durch die Tieffeldverschiebung von 2 Methin- und 3 Methylensignalen wurde die Anwesenheit von zwei N-Atomen bestätigt. Die Lage der Oxidierung konnte durch die chemische Verschiebung der benachbarten Methylengruppe festgestellt werden. Es ist zu erwarten, daß für das zur Carbonylgruppe  $\alpha$ -ständige C-Atom eine Tieffeldverschiebung, dagegen für das  $\beta$ -C-Atom eine Abschirmung beobachtet werden. Während andere Signale keine bemerkenswerte Verschiebung (Vergleich bezogen auf das Spektrum von unsubstituiertem Sparteine, Verb.**24**) zeigten, erscheint das Signal für C-3 im Tieffeld bei 32.94 ppm. Im Gegensatz dazu, als Folge der Abschirmung der  $\beta$ -ständigen C-Atome erscheinen die Signale für C-4, C-6 und C-10 entsprechend bei 19.46, 60.82 und 46.63 ppm. Damit wurde festgestellt, daß der Sauerstoff an C-2 gebunden ist. Durch einen Vergleich mit Literaturdaten von Oxosparteine [87, 90, 47] konnte die vorgeschlagene Struktur noch mal bestätigt werden.

**Tabelle 45**  $^{13}\text{C}$ - chemische Verschiebungen der Verbindung **21** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>21</b> in $\text{CDCl}_3$	Lit.[47] in $\text{CDCl}_3$
C-2	171.50	171.3
C-3	32.94	33.1

Fortsetzung der Tab.45

C-4	19.46	19.7
C-5	26.51	26.8
C-6	60.82	60.9
C-7	32.06	35.0*
C-8	27.31	27.4
C-9	34.60	32.5*
C-10	46.63	46.8
C-11	64.14	64.0
C-12	33.25	33.6
C-13	24.91	24.5
C-14	24.18	25.3
C-15	55.42	55.4
C-17	52.57	52.9

\* kann ausgetauscht werden

#### 3.3.1.2.2. <sup>1</sup>H-NMR Spektrum

Im <sup>1</sup>H-NMR Spektrum der Verb.**21** (Abb.107) erscheint bei 4.52 ppm das äquatoriale H-10 $\alpha$  - Signal, das für die Lupanine charakteristisch ist. Wegen des anisotropen Effekts der Lactam-Gruppe erscheint dies Signal so isoliert von anderen Protonensignalen. Damit wurden die Ergebnisse des <sup>13</sup>C-NMR Spektrums bestätigt, die die Oxidierung am C-2 belegen. Das dem N-Atom benachbarte tertiäre Proton H-6 tritt bei 3.32 ppm als Multipllett in Resonanz. Die anderen Protonensignale erscheinen zwischen 3.00-1.00 ppm als komplexes Multipllett.

#### 3.3.1.2.3. MS

Als Ergebnis des EI-MS (Abb.108) mit einem Molekülpeak von m/z=248 wurde bestätigt, daß die Verb.**21** tatsächlich eine Summenformel von C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O hat. Weitere Fragmente treten bei m/z 149 und 136 auf.

Somit konnte die Verb.**21** als Lupanin (2-Oxosparteïn) (Abb.27) identifiziert werden.

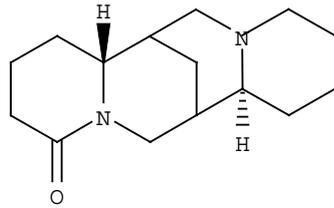


Abb.27 Strukturformel von Verbindung **21**

### 3.3.1.3. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **22**

Die Verb.**22** wurde aus den Fraktionen 17-28 des Alkaloid-Extrakts durch weitere SC an Kieselgel isoliert.

Sie hat einen Schmelzpunkt von 155° C und einen Rf- Wert von 0.40 auf der Kieselgel DC-Platte im LMS Dichlormethan / Methanol / Ammoniak (90:9:1; v:v:v). Der Substanzfleck färbt sich nach Detektion mit Dragendorffreagenz orange.

#### 3.3.1.3.1. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Im DEPT- <sup>13</sup>C-NMR Spektrum (Abb.109) liegen 11 Signale, davon sind 2 Singulets, 5 Dubletts und 4 Triplets. Im aromatischen Bereich erscheinen 3 Methinsignale bei 138.72, 116.66 und 104.91 ppm und ein quartärer Kohlenstoff bei 151.06 ppm. Im Tieffeld bei 163.62 ppm tritt ein Carbonylsignal auf. Die Lage und Aufspaltung dieser Signale weist ebenfalls auf ein  $\alpha$ -Pyridon-System hin. Die Methinsignale bei 138.72, 116.66 und 104.91 ppm wurden entsprechend C- 4, C-3 und C-5 zugeordnet. Im Hochfeld erscheinen 4 Methylensignale. Davon sind 3 Signale bei 53.95, 52.96 und 49.69 ppm relativ Tieffeld verschoben. Diese Tieffeldverschiebung deutet auf eine Nachbarschaft zu Stickstoff hin. Während die Signale bei 53.95 und 52.96 ppm C-11 und C-13 angeordnet wurden, resultiert das Signal bei 49.69 ppm von C-10, das dem Pyridonring benachbart ist. Das verbleibende Methylensignal erscheint bei 26.27 ppm bei relativ hohem Feld. Dieses Signal konnte C-8, dem Brücken-C-Atom, zugeordnet werden. Durch die Hochfeldverschiebung von C-8 wurde bestätigt, daß die Verb.**22** in der Konformation mit Wannenform für den Ring C vorliegt. Die beiden Methinsignale zeigen Resonanzen bei 35.57 und 27.73 ppm. Nach Angaben von Duddeck [88] wurden die Signale entsprechend C-9 und C-7 zugeordnet. Damit wurde die Struktur der Verb.**22** als ein tricyclisches, partiell aromatisiertes Chinolizidinderivat bestätigt. Ein Literaturvergleich [87] zeigt gute Übereinstimmung mit Cytisin.

**Tabelle 46**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **22** ( $\delta$ -Wert in ppm)

C-Atome	<b>22</b> in $\text{CDCl}_3$	Lit.[87] in $\text{CDCl}_3$
C-2	163.62	163.6
C-3	116.66	116.5
C-4	138.72	138.5
C-5	104.91	104.9
C-6	151.01	151.2
C-7	27.73	35.5
C-8	26.27	26.2
C-9	35.57	27.7
C-10	49.70	49.7
C-11	52.96	52.9
C-13	53.95	53.9

### 3.3.1.3.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum

Durch das  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum (Abb.110) der Verb.**22** wurde die Interpretation des  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrums abgesichert. Im aromatischen Bereich befinden sich 3 Methinsignale bei 7.30, 6.43 und 6.01 ppm, die den Protonen des  $\alpha$ -Pyridon-Systems zugeordnet wurden. Aufgrund seiner Kopplungskonstanten von 5.4 und 8.1 Hz wurde das Doppeldublett bei 7.30 ppm dem Proton H-4 zugeordnet, das mit H-3 und H-5 gekoppelt. Das Signal bei 6.43 ppm mit  $J=8.1$  und 1.2 Hz und bei 6.01 ppm mit  $J=5.4$  und 1.2 Hz wurden entsprechend den Protonen H-3 und H-5 zugeordnet. Die zwei Protonen H-10 treten in Resonanz einmal bei 3.89 ppm als Doppeldublett ( $J= 13.6, 5.4$  Hz) und bei 4.10 ppm als Dublett ( $J= 13.6$  Hz ). Zwischen 2.90-3.11 ppm erscheinen als Multipletts die Methylen-Protonen von H-11 und H-13, die neben einem N-Atom vorliegen. Die zwei Protonen von H-8 erscheinen bei 1.96 ppm als Multiplett, dessen Hochfeldverschiebung auf die Wannenform des C-Rings hinweist. Die Methinsignale von H-7 und H-9 erscheinen jeweils bei 2.92 und 2.33 ppm. Eine Literaturvergleich [89] von Cytisin bestätigt die Zuordnungen.

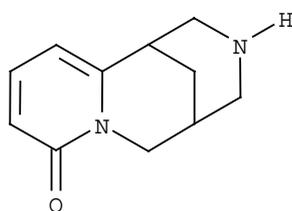
**Tabelle 47**  $^1\text{H}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **22** ( $\delta$ -Werte in ppm)

Protonen	Signal/ Integral	<b>22</b> in $\text{CDCl}_3$	Lit.[89] in $\text{CDCl}_3$
H-3	dd 1H	6.43	6.42
H-4	dd 1H	7.30	7.25
H-5	dd 1H	6.01	6.00
H-7	s 1H	2.92	2.92
H-8	br 2H	1.96	1.96
H-9	br 1H	2.33	2.33
H-10 $\alpha$	dd 1H	3.89	3.91
H-10 $\beta$	d 1H	4.10	4.13
H-11	m 2H	2.98	3.00
H-13	m 2H	3.07	3.07

## 3.3.1.3.3. MS

Das Massenspektrum (Abb.111) zeigt einen Molekülpeak von  $m/z$  190, der die aus der NMR-spektroskopischen Analyse resultierten Summenformel  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$  bestätigt. Weiterhin treten Fragmente bei  $m/z$  160 und 146 auf, die charakteristisch für Chinolizidin-Alkaloide mit  $\alpha$ -Pyridon-Ring sind.

Damit wurde die Verbindung **22** als Cytisin (Abb.28) identifiziert.

Abb.28 Strukturformel von Verbindung **22**

### 3.3.1.4. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **23**

Aus den Fraktionen 50-53 des Alkaloid- Extrakts wurde die Verb.**23** über eine weitere Kieselgelsäule mit FMS Methanol / Chloroform (3:7; v:v) als ölige Substanz isoliert. Sie hat einen Rf-Wert von 0.40 auf der Kieselgel DC mit einem LMS MeOH / CHCl<sub>3</sub> / NH<sub>4</sub>OH (1:9:4; v:v:v).

#### 3.3.1.4.1. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Das <sup>13</sup>C-NMR Spektrum (Abb.112) zeigt 15 Signale, die alle zwischen 66.12- 24.35 ppm liegen. Lage und Aufspaltungen weisen auf eine Sparteinstruktur hin. Zwei Methinsignale erscheinen im relativen Tieffeld bei 66.12 und 64.03 ppm. Sie konnten den neben N-Atomen liegenden C-6 und C-11 zugeordnet werden. Die weiteren zwei Dubletts bei 35.68 und 32.76 ppm gehören zu C-7 und C-9. Es zeigen weiterhin vier Methylensignale bei 61.59, 55.92, 55.05 und 53.03 ppm eine Tieffeldverschiebung, die durch eine Nachbarschaft zu Stickstoff hervorgerufen wird. Das Signal bei 61.59 ppm wurde C-10 zugeordnet. Das Signal für C-8 befindet sich bei 27.28 ppm. Die Hochfeldverschiebung von C-8 konnte durch die sterische Behinderung zwischen dem Elektronenpaar von N-16 und dem C-8 während der Wannenkongformation des C-Rings erklärt werden. Die Summe aller  $\delta$ -Werten beträgt insgesamt  $\Sigma 614.05$  ppm, das entspricht dem angegebenen Werten für Spartein von Duddeck [88]. Damit wurde die Struktur der Verb.**23** als Spartein bestätigt. Ein Literaturvergleich von Spartein [87, 88, 91] zeigte gute Übereinstimmung.

**Tabelle 48** <sup>13</sup>C- chemische Verschiebung der Verbindung **23** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C- Atome	<b>23</b> in CDCl <sub>3</sub>	Lit.[91] in CDCl <sub>3</sub>
C-2	55.92	56.0
C-3	25.30	25.6
C-4	24.46	24.5
C-5	29.04	29.1
C-6	66.12	66.3
C-7	32.76	32.9

Fortsetzung der Tab.48

C-8	27.28	27.4
C-9	35.68	35.9
C-10	61.59	61.8
C-11	64.03	64.2
C-12	33.95	34.5
C-13	24.35	24.5
C-14	25.51	25.8
C-15	55.05	55.2
C-17	53.03	53.4

#### 3.3.1.4.2. $^1\text{H}$ -NMR Spektrum

Das  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum (Abb.113) der Verb.23 zeigt das typische Signalmuster für Sparteinderivate. Alle Signale liegen im Bereich zwischen 3.00-1.00 ppm. Zwischen 2.84 - 2.32 ppm erscheinen Signale für vier Protonen, die sich von den übrigen Signalen absetzen. Das ist charakteristisch für die äquatorialen Protonen benachbart zum N-Atom des Chinolizidins und können C-2, C-10, C-17 und C-15 zugeordnet werden. Die restlichen Signale liegen zwischen 1.08 - 2.1 ppm und das Integral ergibt 22 Protonen. Bei 1.08 ppm erscheint ein Dublett, das charakteristisch für Spartein und seine Derivate ist. Dieses Signal wurde dem axialen H-8 zugeordnet, das durch das darunter liegende trans- Chinolizidin stark abgeschirmt ist, während sein geminaler Partner durch den anisotropen Einfluß des Elektronenpaares an N-16 zu kleinerem Feld verschoben ist und im komplexen Multiplett nicht genau zu zuordnen ist. Dadurch konnte man bestätigen, daß die Konformation des Sparteins in Wannenform vorliegt. Die restlichen Protonen können aufgrund der Komplexität der Signale im Spektrum nicht genau zugeordnet werden.

#### 3.3.1.4.3. MS

Das MS (Abb.114) liefert einen Molekülpeak von 234  $[\text{M}]^+$ , der die Molekülmasse, der durch NMR-Spektren resultierten Summenformel  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_2$  bestätigt. Die aufgetretenen Fragmente (Abb.29) zeigen das charakteristische Muster für ein Spartein.

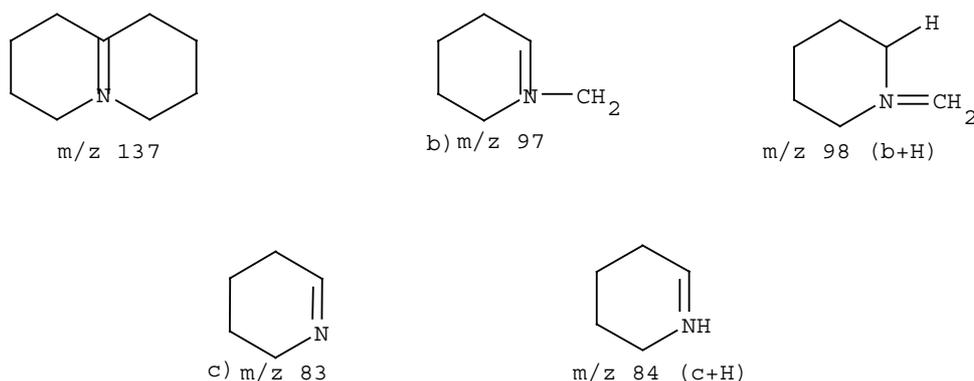
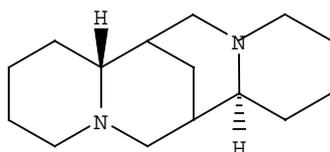


Abb.29 Fragmentmuster für ein Spartein

Anhand von spektroskopischen Daten konnte Verb. **23** als (-) Spartein (Abb.30) identifizieren.

Abb.30 Strukturformel der Verbindung **23**

### 3.3.1.5. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **24**

Die Fraktion 50-53 des Alkaloid-Extrakts wurde an einer weiteren Kieselgelsäule mit FMS von Methanol/ Chloroform (3:7; v:v) chromatographiert. Dabei konnten aus der Fraktionen 6-9 eine ölige Substanz rein isoliert werden. Sie hat einen Rf- Wert von 0.49 auf Kieselgel DC mit einem LMS MeOH/ CHCl<sub>3</sub>/ NH<sub>4</sub>OH (1:9:4; v:v:v).

#### 3.3.1.5.1. <sup>13</sup>C- und <sup>1</sup>H- NMR Spektrum

Das <sup>13</sup>C- und <sup>1</sup>H- NMR Spektrum (Abb.115, 116) der Verbindung **24** zeigt eine gewisse Ähnlichkeit mit der Verb. **23**. Es finden sich im <sup>13</sup>C -NMR Spektrum 15 Signale, deren Lage und Aufspaltungen auf ein Sparteinderivat hindeuten.

Zwei Methin- und vier Methylensignale erscheinen getrennt bei relativ tiefem Feld. Ihre Tieffeldverschiebung bestätigt die Nachbarschaft zu Stickstoff.

**Tabelle 49**  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebung der Verbindung **24** ( $\delta$ -Werte in ppm)

C-Atome	<b>24</b> in CD <sub>3</sub> OD	<b>23</b> in CD <sub>3</sub> OD
C-2	57.01	57.34
C-3	24.63	26.08
C-4	24.33	25.83
C-5	26.43	30.41
C-6	67.35	67.91
C-7	34.34	34.26
C-8	27.47	28.30
C-9	34.34	37.18
C-10	62.38	62.91
C-11	64.33	65.55
C-12	30.45	34.81
C-13	19.08	25.65
C-14	23.76	26.70
C-15	53.79	56.47
C-17	48.14	54.09
	$\Sigma$ 597.83	$\Sigma$ 633.49

## 3.3.1.5.2. MS

Der Molekülpeak von 234 des MS der Verb.**24** (Abb.117) entspricht der Summenformel eines Sparteins C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>. Es treten die typische Fragmente eines Sparteinderivates bei 98, 137 und 193 auf.

Aus den spektroskopischen Daten konnte man die Konformationsstruktur von Verb.24 nicht genau feststellen. Aber aus den chemischen Verschiebungen könnte als Möglichkeit (+) - Spartein angenommen werden. Aufgrund nicht ausreichender Mengen der reinen Substanz konnten keine weiteren Spektren aufgenommen werden.

### 3.3.1.6. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **25**

Die Verbindung **25** wurde aus der Fraktionen 61-65 des Alkaloid- Extrakts nach Abdampfen des Lösungsmittels in Form eines weißen Pulvers erhalten. Sie hat einen Rf- Wert von 0.25 auf der Kieselgel DC-Platte im LMS MeOH / CHCl<sub>3</sub> / NH<sub>4</sub>OH (3:7:2; v:v:v).

#### 3.3.1.6.1. <sup>13</sup>C-NMR Spektrum

Das <sup>13</sup>C-NMR Spektrum (Abb.118) der Verb.**25** liefert 15 Kohlenstoffsignale und zeigt eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Spektrum der Verb.**23**. Beim Vergleich der Spektren (vgl. Tab.48 ) fällt auf, daß ein neues Methinsignal bei Verb.**25** hinzukommt und dagegen ein Methylensignal fehlt. Die chemische Verschiebung des neuen Signals bei 65.05 ppm weist auf eine Sauerstoff- Nachbarschaft hin.

Das fehlende Methylensignal von Verb.**23** deutet auf eine Substitution an C-13 hin. Während die Signale der benachbarten C-12 und C-14 im Vergleich zu Spartein um ca. 7.00 ppm in Richtung Tieffeld verschoben sind, erscheinen die Signale von C-15 und C-11 um ca. 6.00 ppm nach Hochfeld verschoben. Damit wurde zweifelsfrei bestätigt, daß die Hydroxy-Gruppe an C-13 gebunden ist. Damit wurde die Struktur der Verb.**25** als an C-13 hydroxyliertes Spartein bestätigt. Mit dem Literaturvergleich von an C-13 hydroxyliertem Spartein [87] zeigt sich eine gute Übereinstimmung.

**Tabelle 50** <sup>13</sup>C- chemische Verschiebungen der Verbindung **25** (δ-Werte in ppm)

C- Atome	<b>25</b> in CDCl <sub>3</sub>	Lit.[87] in CDCl <sub>3</sub>
C-2	56.09	56.2
C-3	25.72	25.7
C-4	24.61	24.7
C-5	29.24	29.3
C-6	66.37	66.5
C-7	35.43	35.6
C-8	27.34	27.4
C-9	32.96	33.1

Fortsetzung der Tab.50

C-10	61.64	61.7
C-11	57.28	57.2
C-12	41.25	41.7
C-13	65.05	64.6
C-14	32.63	32.8
C-15	49.09	49.2
C-17	53.12	53.2

### 3.3.1.6.2. $^1\text{H-NMR}$ Spektrum

Im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum (Abb.119) der Verb.**25** findet sich gegenüber vom Spektrum der Verb.**23** ein isoliertes Signal bei 4.08 ppm. Dieses breite Singulett wurde dem H-13, das neben einer Hydroxylgruppe liegt, zugeordnet. Im Hochfeld bei 1.07 ppm ist das Dublett des H-8 $\alpha$  zu erkennen. Die Signale für die äquatorialen Protonen in Nachbarschaft zum N-Atom erscheinen ebenfalls isoliert von den übrigen Protonen zwischen 3.00 - 2.40 ppm. Die anderen Protonen treten im Bereich zwischen 2.08-1.12 ppm als komplexes Multipllett auf.

### 3.3.1.6.3. MS

Das MS-Spektrum (Abb.120) liefert einen Molekülpeak von  $m/z$  250. Dieser Peak entspricht der Summenformel  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}$ . Die charakteristischen Sparteinstruktur- Bruchstücke treten bei 137 und 99 auf.

Damit wurde die Struktur von Verbindung **25** als 13 -  $\alpha$ -Hydroxysparteïn (Abb.31) bestätigt.

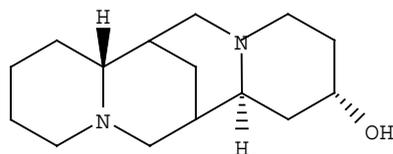


Abb.31 Strukturformel von Verbindung **25**

## 4. Biologische Untersuchung

#### 4.1. Toxizitätstests an Zellkulturen

Zur Charakterisierung des Methanol-Extrakts von *Zygophyllum potaninii* hinsichtlich seiner biologischen Wirksamkeit erfolgte ein Toxizitätstest an Zellkulturen. Die Arbeit mit Zellkulturen wurde unter sterilen Bedingungen ausgeführt [92]. Zur Durchführung des Zelltests wurden Hela-Zelllinien des Chemischen Instituts, deren Ursprung aus einem humanen ephithelialen Tumor (Herkunft von Prof. Dr. Böttcher der Medizinische Hochschule Hannover) entstammen, eingesetzt. Als zu testende Probe wurde der MeOH-Extrakt in 6 verschiedenen Konzentrationen, in Zehnerprozentsschritten von 0.03 µg/ml bis 3000 µg/ml eingesetzt. Durch die Färbung mit Trypanblau können tote von lebenden Zellen unterschieden werden. Zur Erkennung von Lösungsmittelleffekten wurde eine Blindprobe angesetzt (s. Exp.teil). Der MeOH- Extrakt erzielte bei einer Konzentration von 3000 µg/ml eine toxische Wirkung mit Zerstörung von mehr als 90% der Zellen. Bei der Probe mit einer Konzentration von 300 µg/ml war die Toxizität um 50% gesunken. Die restlichen Proben ergaben keine positiven Ergebnisse.

#### 4.2. Wirkung auf Mikroorganismen

Zur Untersuchung der Wirkung des CHCl<sub>3</sub>-Extrakts von *Zygophyllum pterocarpum* auf Mikroorganismen wurde die Wachstumshemmung auf *Saccharomyces cerevisiae* untersucht. Der Extrakt wurde an einer Konzentration von 1mg/ml in Methanol gelöst. Anschließend wurden mit einem Filterpapierplättchen genau 20 µl Lösung aufgenommen und diese auf mit Kulturen beimpfte Petrischalen aufgelegt. Nach einer Inkubationszeit von 5 Tagen sollten die entstandenen Hemmhöfe um die Substanzzonen gemessen werden. Innerhalb der Hemmhöfe wird das Wachstum der Hefe durch den Extrakt verhindert. Es ergab sich eine deutliche Wachstumshemmung auf den eingesetzten Mikroorganismus.

#### 4.3. Wirkung am isolierten Organ

Der MeOH- Extrakt von *Zygophyllum potaninii* wurde auf seine Wirkung am isolierten Darm getestet. Als Testmodell wurde ein Präparat aus dem Darm einer geschlechtsreifen Ratte genommen und in ein Organbad gehängt. Dabei diente Carbachol ( $10^{-8}$  Mol/L) als Referenz-Substanz. Nach Zugabe der jeweiligen Testsubstanzen wurde die Auswirkung auf die Kontraktionsamplitude mit einem Schreiber registriert. Durch Vergleich der Intensitäten der

Kontraktionsamplitude des Carbachols allein und des Testextrakts zusammen mit Carbachol wurde die Auswirkung des MeOH-Extrakts festgestellt. Der Extrakt allein hat keine Wirkung, aber zeigte mit Carbachol eine Effekt. Während der Extrakt in einer Konzentration von 10 mg/L keine Wirkung zeigte, wurde bei einer Konzentration von 100 mg/L eine Relaxation beobachtet. Der Versuch wurde 5 mal wiederholt.

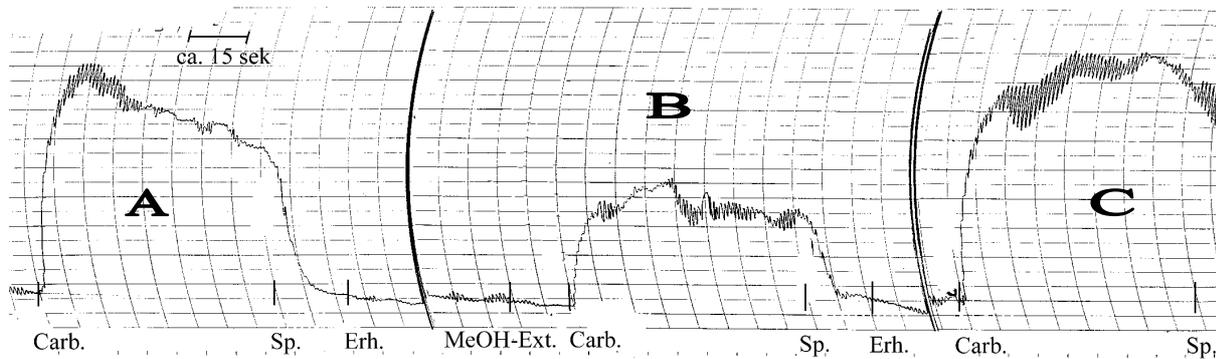


Abb.32 Registrierung der Kontraktionsamplitude des Darms auf Carbachol

- A) nach Zugabe von Carb. $10^{-8}$  Mol/L
- B) nach Zugabe von MeOH-Ext.100mg/L und Carb. $10^{-8}$  Mol/L
- C) nach Zugabe von Carb. $10^{-8}$  Mol/L

## 5. Diskussion und Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war die Isolierung und Strukturaufklärung von sekundären Inhaltsstoffen aus den mongolischen Medizinpflanzen *Zygophyllum potaninii*, *Zygophyllum pterocarpum* und *Thermopsis hirsutissima*. Über diese Pflanzen liegen bisher noch keine phytochemischen Untersuchungen vor.

Die Pflanze *Zygophyllum potaninii* und *Zygophyllum pterocarpum* wurden unter gleichen Bedingungen extrahiert und durch chromatographische Methoden analysiert. Dabei wurde besonders auf die Isolierung und Charakterisierung der polaren Inhaltsstoffe Wert gelegt, weil zur medizinischen Behandlung der wäßrige Aufguß eingenommen wird.

Aus *Zygophyllum potaninii* gelang es, 14 Verbindungen in reiner Form zu isolieren und zu identifizieren. Die Strukturaufklärung erfolgte mittels spektroskopischer Methoden (IR, UV, MS,  $^1\text{H-NMR}$  und  $^{13}\text{C-NMR}$ ) unter Ergänzung durch saure und alkalische Hydrolysen und DC- Untersuchungen der Hydrolyseprodukte mit authentischen Vergleichssubstanzen. Die aus dem BuOH-Extrakt isolierten Substanzen gehörten drei verschiedenen Substanzklassen (Saponine, Flavonoide und Aminosäure) an.

Saponine bilden die Hauptbestandteile des BuOH-Extrakts. Bei den Saponinen handelt es sich um Triterpensaponine, deren Aglykon Chinovasäure ist, welche in den anderen Pflanzen aus dieser Gattung häufig vorkommt. Die isolierten Saponine gehören zur Gruppe der Monodesmosiden und Bidesmosiden. Als Zuckerbestandteile wurden Glucose, Quinovose und Xylose identifiziert. Zwei Saponine, 3-O- $\{\beta\}$ -Xylopyranosyl}-chinovasäure und 3-O- $\{\beta\}$ -Xylopyranosyl}-chinovasäure-28- $\{\beta\}$ -glucopyranosyl}-ester, wurden erstmalig im Pflanzenreich gefunden.

Als weitere Inhaltsstoffe wurden 4 Flavonoide isoliert. Bei den Flavonoidglykosiden handelt es sich um 3-O-Glykoside von Quercetin und Kaempferol.

Aus dem BuOH-Extrakt von *Zygophyllum pterocarpum* konnten 5 Verbindungen isoliert und deren Struktur mittels oben genannter Methoden aufgeklärt werden. In dem Extrakt wurden als Hauptkomponenten cyclische Carbonsäureamide und Flavonoide enthalten. Bei den Flavonoiden handelt es sich hauptsächlich um 3-O-Glykoside von Quercetin und Isorhamnetin, was im Einklang mit der chemotaxonomischen Tendenz der Gattung *Zygophyllum* ist. Als Carbonsäureamide wurden 5-Methoxy-2-pyrrolidinon und 5-Isopropoxy-2-pyrrolidinon und deren Verwandtes, ein Carbonsäureimid (Dihydromaleimide) isoliert. Einen Hinweis auf das Vorkommen von Laktamen innerhalb der Familie gab es bisher nicht. Beim Laktam 5-Isopropoxy-2-pyrrolidinon handelt es sich um einen bisher in der Literatur noch nicht beschriebenen Naturstoff.

Bei *Thermopsis hirsutissima* lag der Schwerpunkt bei der Isolierung und Identifizierung von Alkaloiden. Die Gesamtalkaloid-Fraktion wurden aus getrockneten oberirdischen Teilen von *Thermopsis hirsutissima* durch saure und alkalische Extraktion erhalten. Mittels chromatographischer Methoden wurden einzelne Alkaloide rein isoliert und deren Strukturen durch spektroskopischen Methoden aufgeklärt. Der Gesamtalkaloid-Gehalt beträgt 2.12%, was im Vergleich zu anderen Arten relativ hoch ist. Es gelang, 6 Alkaloide aus der Reihe von Chinolizidin zu isolieren. Als Hauptsubstanzen wurden Cytisin ( $C_{11}H_{12}N_2O$ ), Anagyrin ( $C_{15}H_{20}N_2O$ ) und (-)-Sparteine ( $C_{15}H_{26}N_2$ ) identifiziert. Weiterhin wurden ein anderes Konformer von Sparteine ( $C_{15}H_{26}N_2$ ), Lupanin ( $C_{15}H_{24}N_2O$ ) und Hydroxysparteine ( $C_{15}H_{26}N_2O$ ) isoliert. Durch DC-Untersuchungen und anhand einiger  $^{13}C$ -NMR Spektren wurde die Anwesenheit weiterer Alkaloide, zum Teil auch methylierte Derivate nachgewiesen.

Um zu einer ersten biologischen Charakterisierung zu kommen, wurden einige Tests mit dem MeOH- bzw BuOH- Extrakt von *Zygophyllum potaninii* durchgeführt. Der MeOH- Extrakt in Konzentrationen von 3000 µg/ml und 300 µg/ ml wirkten auf Hela- Zellen zytotoxisch. Bei Versuchen auf einen isolierten Darm wurde eine relaxierende Wirkung des BuOH-Extrakts festgestellt. Weiterhin werden Tests auf Leberzellen durchgeführt.

Über die biologische Funktion der Substanzen läßt sich nach Substanzklassen geordnet folgendes sagen:

### Flavonoide

Aus *Zygophyllum potaninii* konnten Kaempferol-3-O-glykosid  $C_{21}H_{20}O_{11}$  (Astragalin), Kaempferol-3-O-rutinosid  $C_{22}H_{30}O_{12}$ , Kaempferol-3-O-neohesperidosid  $C_{22}H_{30}O_{12}$  und Quercetin-3-O-rutinosid  $C_{27}H_{30}O_{16}$  (Rutin), aus *Zygophyllum pterocarpum* Quercetin-3-O-glykosid  $C_{21}H_{20}O_{12}$  (Isoquercitrin) und Isorhamnetin-3-O-glykosid  $C_{22}H_{22}O_{12}$  isoliert werden. Die Flavonoide sind ubiquitär im Pflanzenreich verbreitet. Sie kommen in allen Pflanzenorganen, überwiegend jedoch in oberirdischen Organen vor. Sie spielen eine bedeutende Rolle im Wachstumsmechanismus und in der Entwicklung der Pflanzen. Als biologische Funktionen sind zu erwähnen die Anlockung von Insekten, der Schutz gegen Insektenbefall und Virus und Pilzinfektionen (Phytoalexine), die Kontrolle von Wachstumsvorgängen in Verbindung mit Wachstumshormonen, die Enzyminhibitorwirkung und Beteiligung an Oxidoreduktionssystemen der Zelle [93]. Flavonoide sind für den menschlichen Organismus nicht toxisch. Aufgrund ihrer antihämorrhagischen Wirkung werden die Flavonoide (z.B. Rutin) in der Arzneimitteltherapie bei Erkrankungen, die mit verminderter Kapillarresistenz einhergehen wie z.B. Skorbut, Hochdruck, Arteriosklerose, Diabetes und Hämorrhagien, eingesetzt. Weiterhin zeigen die Flavonoide antiphlogistische, antiödematöse, antivirale, cytotoxische, diuretische und entzündungshemmende Wirkungen [94, 95]. Die spasmolytische Wirkung einiger Flavonoide (z.B. Luteolin, Quercetin) wurde nachgewiesen [96]. Antihepatotoxische und choleretische Wirkung werden aus der Pflanze *Silybum* (Silymarin) *Helichrysum* beschrieben.

### Saponine

Aus *Zygophyllum potaninii* konnte 3-O- $\{\beta$ -D-Quinovopyranosyl}-chinovasäure, 3-O- $\{\beta$ -D-Xylopyranosyl}-chinovasäure, 3-O- $\{\beta$ -D-Glucopyranosyl}-chinovasäure, 3-O- $\{\beta$ -D-

Quinovopyranosyl}-chinovasäure-28-O- $\{\beta$ -D-glucoopyranosyl}-ester, 3-O- $\{\beta$ -D-Xylopyranosyl}-chinovasäure-28-O- $\{\beta$ -D-glucoopyranosyl}- ester, 3-O- $\{\beta$ -D-Glucoopyranosyl}-chinovasäure-28-O- $\{\beta$ -D-glucoopyranosyl}- ester isoliert werden.

Saponine gehören zu den ubiquitär vorkommenden sekundären Pflanzeninhaltsstoffen.

Saponine sind Glykoside, die aus einem terpenoiden Aglykon ( Steroid oder Triterpen ) und einer oder zwei (in seltenen Fällen auch drei) daran gebundenen Zuckerketten aufgebaut sind.

Diese Verbindungen zeichnen sich durch Oberflächenaktivität und Sterolkomplexbindung aus. Triterpensaponine zeigen hämolytische, expektorierende, antibiotische, diuretische, anthiphlogistische, antimykotische, molluskizide, antivirale, tonisierende,

immunmodulierende, antithrombotische, adrenocorticotrope, antiulcerogene, spermicide, cancerostatische Eigenschaften sowie den Kohlenhydrat- Cholesterol- und

Proteinstoffwechsel beeinflussende Wirkungen [97, 98, 99, 100, 101]. Die Toxizität der

meisten Saponine ist bei peroraler Aufnahme gering. Bei parenteraler Aufnahme zeigen dagegen viele Saponine eine starke Toxizität. Gegenüber Kiemenatmern sind die Saponine stark toxisch. Daraus ergibt sich, daß die Saponine fungistatische Wirkung und gegenüber

Insekten eine toxische Wirkung aufweisen. Saponine haben eine resorptionsfördernde Wirkungen. Die oft beobachtete bessere Wirksamkeit von Pflanzenextrakten gegenüber den

daraus isolierten Reinstoffen kann ebenfalls auf der Anwesenheit von Saponinen beruhen [93]. Monodesmodische Saponine haben eine höhere hämolytische und antibiotische Aktivität

gegenüber bisdesmodischen Saponine. Die hämolytische Aktivität der Saponine ist von der Struktur der Aglykone abhängig.

Wie oben genannt wurde, können die lipidsenkende Aktivität der Saponine und ihre Fähigkeit zum Verringern des Serum-Cholesterols als ihre wichtigsten Charakteristika betrachtet

werden. Ginsinoid-Saponine führen zu einer Steigerung der enzymatischen Aktivitäten in der Leber. So wurde z.B. die Aktivität der HMG-CoA Reduktase, welche das Schlüsselenzym in

der Cholesterol-Biosynthese ist, in der Leber erhöht [102, 103]. Ein weiteres Saponin,

Saikosaponin aus *Bupleurum falcalum*, welches im Orient schon lange in der traditionellen Medizin zur Behandlung von Leber-Gallenerkrankungen und anti-inflammatorischen

Prozessen eingesetzt wird, wurde in Ratten getestet. Dabei wurde festgestellt, daß alle

enzymatischen Vorgänge in der Leber beschleunigt werden. Z.B wurde die Protein-Synthese von Leicin-[ $^{14}$ C] erhöht, der Glucogen-Gehalt in der Leber war gestiegen und die Hepato-

Lipogenese und Cholesterongenese von Glucose-[ $^{14}$ C] beschleunigt [104]. Die

Triterpenoidsaponine aus den Wurzeln von *Caltha palustris* zeigten auch eine reduzierende

Wirkung auf Serum-Cholesterol [105]. Ein weiterer Effekt der Saponine ist die Fähigkeit zur

Komplexbildung mit Cholesterol im Darm. Auf diese Weise ist das Cholesterol gebunden und kann nicht mehr vom Körper resorbiert werden. Dies führt ebenfalls zu einer Reduktion des Plasma-Cholesterols [106, 107]. Daraus ergibt sich die Überlegung, daß die Anwendung der Droge in der mongolischen Volksmedizin bei Leber- und Gallenkrankheiten auf Saponine als mögliche Wirkstoffe hinweisen könnte.

### Aminosäuren

Aminosäuren spielen als Bestandteile der Peptide und Proteine sowie als Ausgangsprodukte für die Biosynthese einer Vielzahl stickstoffhaltiger Naturstoffe eine zentrale Rolle im Stoffwechsel der Organismen. Das aus dem BuOH-Extrakt gewonnene freie Phenylalanin gehören zur Gruppe von proteinogenen Aminosäuren und ist im Pflanzenreich ubiquitär verbreitet. Phenylalanin ist eine essentielle Aminosäure und wird für die Behandlung von Depressionen verwendet [108].

### Chinolizidin- Alkaloide

Alkaloide sind N-haltige Pflanzenbasen zumeist komplizierter Struktur mit charakteristischen physiologischen Wirkungen auf den menschlichen und tierischen Organismus.

Chinolizidine sind bicyclische Ringsysteme, deren 6-Ringe ein gemeinsames N-Atom besitzen. Die Chinolizidin-Alkaloide umfassen 2% aller bisher bekannten Alkaloide (7000). Sie kommen vornehmlich in den Unterfamilie Papilionaten (Leguminoseae) und vereinzelt in den Gattungen *Caulophyllum* (Berberidaceen), *Anabasis* (Chenopodiaceen) und *Chelidonium* (Papaveraceen) vor.

Spartein reizt die Chemorezeptoren des Sinus caroticus und dadurch das Atmungs- und Vasomotorenzentrum. Es hemmt parasympatische Effekte und erhöht die Empfindlichkeit für Adrenalin. Spartein besitzt eine oxytoxische und nicotinähnliche Wirkung auf die Ganglien des vegetativen Nervensystems. Hohe Dosen lähmen das Zentralnervensystem. Es findet eine therapeutische Anwendung bei Reizleitungsstörungen des Herzens [109, 110, 111].

Spartein ist ein Diuretikum und hat hypoglycaemische Aktivität [108].

Cytisin besitzt ebenfalls nicotinähnliche Eigenschaften und ruft Übelkeit und Erbrechen hervor. Cytisin ist auch ein Sympathikomimetikum, der Blutdruck wird teils zentral, teils peripher gesteigert. In hohen Dosen lähmt Cytisin das zentrale und periphere Nervensystem und bewirkt Gefäßverengung und kann zur Tachycardie, Mydriasis und evtl. zum Tod durch

Atemlähmung führen. Es ist stark toxisch ( $LD_{50}$  18 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal in Maus) und teratogen, hallucinogen und respiratorisch [108].

Anagyrin ist stark toxisch und teratogen. Es besitzt eine cardiotonische Aktivität und ruft Tachycardie hervor.

Lupanine ist toxisch. Es ist anti-arrhythmisch, hypotensiv und hypoglycaemisch [108].

## 6. Experimenteller Teil

### 6.1. Methoden und Material

#### 6.1.1. Physikalische Methoden

##### 6.1.1.1. NMR-Spektroskopie

Alle Spektren wurden mit dem Spektrometer AM 300 der Firma Bruker aufgenommen. Die Meßfrequenz betrug für  $^1\text{H}$ -NMR 300 MHz und für  $^{13}\text{C}$  75 MHz. Die Proben wurden im jeweiligen Lösungsmittel gelöst. Jeder Probe wurde Tetramethylsilan als innerer Standard zugesetzt. Die chemischen Verschiebungen werden in ppm auf der  $\delta$ -Skala und die Kopplungskonstanten  $J$  in Hz angegeben. Die  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektren wurden protonen-entkoppelt und im DEPT-Verfahren aufgenommen.

##### 6.1.1.2. Massenspektroskopie

###### EI und FAB

Die Massenspektren und hochauflösenden Massenspektren wurden mit den Spektrometern MAT 312 und MAT 95 der Firma Finnigan und dem VG Autospec durch Direkteinlaß aufgenommen. Das Ionisierungspotential betrug 70 eV bei angegebener Temperatur. Die Signalintensitäten werden im Prozent des Basispeaks angegeben. Die EI und FAB-Massenspektren wurden am Organisch-chemischen Institut der Universität Hannover aufgenommen.

###### GC-MS

Die Massenspektren wurden mit dem Spektrometer SSQ 710 der Firma Finnigan aufgenommen.

###### ESI ( electrospray ionization)

Die Massenspektren wurden mit dem Spektrometer LCQ- Ion-Trap der Firma Finnigan aufgenommen. Die Proben wurden durch eine integrierte Spritzenpumpe ( Flußrate ab  $1\mu/\text{min}$ ) eingelassen. Die Meßmöglichkeiten des LCQ- Ion-Trap Spektrometers sind:  
positive / negative Ionen

full scan ms: ein definierter Massenbereich wird kontinuierlich registriert (max. von 50-2000 )

zoom scan ms: ein Bereich von 10 Massen-einheiten wird hochaufgelöst gemessen: hierdurch sind Aussagen über Ladungszustände / Isotopenverhältnisse möglich

MS-MS: eine ausgewählte Masse kann fragmentiert werden und das Fragmentspektrum wird aufgezeichnet

MS<sup>(n)</sup>: bis zu 10 MS-MS-Experimente von einer ausgewählten Masse möglich

#### 6.1.1.3. IR-Spektren

Die IR- Spektren wurden mit dem Gerät FT-IR 1710 der Firma Perkin Elmer als KBr-Preßling aufgenommen.

#### 6.1.1.4. UV-Spektren

Die Aufnahme der Spektren erfolgte mit dem Gerät Kontron Uvikon 360 bei Raumtemperatur in Methanol unter Zusatz der folgenden Reagenzien:

-NaOMe-Lsg.: 2.5 g Na werden in kleinen Portionen in 100 ml trockenem spektroskopisch reinem Methanol gelöst

-AlCl<sub>3</sub>-Lsg.: 5 g wasserfreies AlCl<sub>3</sub> werden vorsichtig in 100 ml spektroskopisch reinem Methanol gelöst

-HCl-Lsg.: 50 ml konz. HCl werden mit 100 ml dest. Wasser gemischt.

-NaOAc: es wird wasserfreies NaOAc verwendet.

-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>-Lsg.: 100 ml spektroskopisch reines Methanol werden mit wasserfreiem H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> gesättigt.

Die Aufnahme der Spektren folgte nach den in [112] beschriebenen Methoden.

#### 6.1.1.5. Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit einer Büchi 510 Apparatur bestimmt. Die Werte sind unkorrigiert angegeben.

## 6.1.2. Chromatographische Methoden

### 6.1.2.1. Dünnschichtchromatographie (DC)

Die Dünnschichtchromatographie diente zur Fraktionskontrolle als auch zur Entwicklung der geeigneten Fließmittel für die Säulenchromatographie. Hierfür wurden DC- Fertigplatten Kieselgel 60 F<sub>254</sub> und RP-18 F<sub>254</sub> auf Aluminiumfolie ( Schichtdicke 0,2 mm ) und sowie DC- Glasplatten RP-18 F<sub>254</sub> verwendet. Detektion der Dünnschichtchromatogramme erfolgte unter UV- Licht der Wellenlänge 254 nm und 366 nm, und mit Hilfe von Färbereagenzien.

### 6.1.2.2. Säulenchromatographie

Die Säulenchromatographie diente der Auftrennung der einzelnen Substanzen. Es wurden im Trennungsgang je nach Trennproblem verschiedene chromatographische Verfahren verwendet.

#### ■ dry-flash-Chromatographie

Zur Fraktionierung des Rohextrakts wurde dry-column-flash-Chromatographie verwendet. Dabei diente als Chromatographiesäule eine Glasfritte der Porösität 3 mit einem Durchmesser von 110 mm und einer Höhe von 70 mm, die über eine Saugflasche an eine Pumpe angeschlossen ist. Als Adsorbent wurde Kieselgel 60 mit einer Korngröße von 0,02 mm der Firma Merck eingesetzt. Das Fließmittel wurde so gewählt, daß die Polarität der Gemische kontinuierlich anstieg. Die Fraktionsvolumina betragen jeweils 50 ml. Der Druck war 0.5 kp / cm<sup>2</sup>.

#### ■ Präprative Säulenchromatographie

Um Trennungsgänge zu optimieren und auch zur Reinigung der Substanzen diente die präprative Säulenchromatographie. Dazu wurden Glassäulen unterschiedlicher Durchmesser und Längen eingesetzt. Als Füllmaterial wurden Kieselgel 60 der Korngröße 230-400 mesh, Aluminiumoxid 60 Aktivstufe I basisch und RP-18 der Korngröße 40-63 µm der Firma Merck verwendet. Die Fraktionsvolumina betragen 10 ml.

#### ■ Gelchromatographie

Das Prinzip der Gelchromatographie beruht auf einer Trennung verschiedener Substanzen nach ihrer Molekülgröße. Deshalb wird zur Reinigung der Substanzen, Abtrennung von Chlorophyllen und auch zur Trennung der Flavonoide und Saponine voneinander

Gelchromatographie verwendet. Als Füllmaterial diente Polydextran-Gel Sephadex LH 20 der Firma Pharmacia. Die Fraktionsvolumina betragen 5-10 ml.

#### ■ Mitteldruckchromatographie (MPLC )

Mitteldrucksäulenchromatographie wurden mit einem Omnifit Säulensystem der Firma Macherey und Nagel an RP-18 Polygoprep 60-30 C<sub>18</sub> durchgeführt. Die Fließgeschwindigkeit betrug 3ml / min und der Arbeitsdruck lag zwischen 10-20 bar. Die Fraktionsvolumina betragen 5ml.

#### ■ Hochleistungs-Flußchromatographie ( HPLC )

HPLC wurden mit einem HPLC-Pumpe und UV- Detektor von Firma Knauer an Stahlsäule LiChroCART250 x 10 mit Trennmaterial Superspher R RP-18 ( 4µm ) der Firma Merck durchgeführt. Die Injektionsmenge betrug 1ml und die Fließgeschwindigkeit 30 ml/min. Die Detektion erfolgte bei 211 nm.

### 6.1.3. Chemische Abbaureaktionen und Derivatisierung

#### Alkalische Hydrolyse

Die alkalische Hydrolyse diente zur Überprüfung der Anwesenheit möglicher Carbonsäureester und zur Identifizierung acylglykosidischer Zuckerteile. Für die alkalische Hydrolyse wurden jeweils 10 mg isoliertes Glykosid mit 1 ml 0.5 M methanolischer KOH versetzt und 2 Stunden unter Rückfluß bei 110° C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde mit verdünnten HCl neutralisiert und mit n-BuOH extrahiert. Die butanolische Phase wurde unter Vakuum eingengt und von dem Rückstand wurden <sup>13</sup>C- und <sup>1</sup>H-NMR Spektren aufgenommen. Die wäßrige Phase wurde durch DC mit Hilfe von Vergleichssubstanzen analysiert.

#### Saure Hydrolyse

- a. Die isolierten Substanzen wurden mit 2 N HCl unter Rückfluß 3 Stunden erhitzt, danach mit Essigester extrahiert und die wäßrige Phase wurde wie bei der alkalischen Hydrolyse analysiert. Für die Entwicklung wurden FMS n-Butanol / Essigsäure / Diethylether / Wasser (9:6:3:1, v:v:v:v ) und für die Detektion Anisaldehyd-Reagenz verwendet .Die organische Phase wurde einrotiert und vom Rückstand wurden <sup>13</sup>C- NMR Spektrum aufgenommen.

b. Zum qualitativen Nachweis des glykosidisch gebundenen Zuckeranteils erfolgte eine saure Hydrolyse auf der DC-Platte. Die zu untersuchenden Substanzen wurden zur Hydrolyse auf Kieselgelfertigplatten aufgetragen und in eine DC-Kammer mit konz. HCl gestellt. Die DC-Platte wurde anschließend in einem Trockenschrank bei 100° C getrocknet. Die Hydrolyse dauerte 30 min für den Zuckernachweis, aber für Nachweis des Aglykons reichten 20 min. Nach Abdampfen der Salzsäure wurden die DCs entwickelt und detektiert. Für die Entwicklung wird das Gemisch n-Butanol/ Essigsäure/Ethylether/Wasser (9: 6:3:1, v:v:v:v) und zur Detektion Anisaldehyd- Reagenz verwendet.

### Methylierungen

Um die Positionen des Zuckers am C-27 oder C-28 der Chinovasäure festzustellen, wurden die isolierten Substanzen methyliert. Die Probenvorbereitung erfolgte folgendermaßen: In einem Glasfläschchen wurden 8 mg Substanz in 0.5 ml MeOH gelöst und mit Diethylether bis  $\frac{3}{4}$  des Gesamtvolumens aufgefüllt. In einem Methylierungsgefäß werden 8 ml Diethylether, 1 Spatelspitze Diazal und 4 ml Methanol vorgelegt. Nachdem ca. 5 Minuten lang Stickstoff durchgeleitet wurde, kommen ca. 2 ml Kalilauge (gesättigte Lösung ) hinzu. Es entsteht hierbei das Diazomethan, das unter Stickstoffstrom durch ein Überleitungsröhrchen, welches fest mit dem Gefäß gebunden ist, in die Proben eingeleitet wird. Die Methylierungszeit betrug ca. 30 min. Nach der Methylierungen wurden die Substanzen durch Stickstoffstrom zur Trockne gebracht und NMR- Spektren aufgenommen.

#### 6.1.4. Lösungsmittel und Reagenzien

Die für die Extraktion des Pflanzenmaterials, für die TLC und Säulenchromatographie verwendeten Lösungsmittel waren vorwiegend in technischer Qualität und wurden vor der Benutzung destilliert.

Für die HPLC wurden Lösungsmittel der Qualität A der Firma Merck verwendet.

Für die NMR-Spektren wurden deuterierten Lösungsmittel der Firma Merck eingesetzt.

Als Färbereagenzien zur Detektion der Dünnschichtchromatogramme wurden folgende Reagenzien eingesetzt:

Detektionsmittel für Laktam:

Vanillin-Schwefelsäure-Tauchreagenz.

1 g Vanillin werden in 250 ml Methanol gelöst und vorsichtig mit 25 ml Eisessig und 10 ml konz. Schwefelsäure versetzt.

Detektionsmittel für Alkaloide:

Dragendorff- Reagenz nach Munier und Machboeuf.

Lösung A: 1.7 g basisches Wismutnitrat werden in 20 ml Essigsäure und 80 ml Wasser gelöst.

Lösung B: 16 g Kaliumjodid werden in 40 ml Wasser gelöst. Gleiche Volumina A und B werden zu einer Vorratslösung angesetzt, die in dunkler Flasche aufbewahrt werden muß. Vor Gebrauch werden 1 ml Vorratslösung, 2 ml Essigsäure und 10 ml Wasser gemischt. Nach dem Sprühen auf der DC-Karte ergeben sich beim Vorliegen von Alkaloiden Orangefärbungen der Substanzzonen.

Detektionsmittel für Saponine:

Schwefelsäure-Reagenz.

10 ml Schwefelsäure werden vorsichtig unter Eiskühlung mit 90 ml Ethanol vermischt. Nach dem Sprühen wird das DC über 100° C erhitzt. Dabei färbt sich die Substanz stark rosa-violett.

Detektionsmittel für Flavonoide:

Naturstoffreagenz nach Neu.

1g Diphenylborsäure- $\beta$ -aminoethylester werden in 100 ml MeOH gelöst.  
Fluoreszenz der Flavonoide im UV-Licht bei 360 nm.

Detektionsmittel für Zucker:

Anisaldehyd-Reagenz.

Eine Mischung von 9 ml Ethanol und 0.1 ml Essigsäure werden unter Eiskühlung mit 0.5 ml konz. Schwefelsäure und 0.5 ml Anisaldehyd versetzt. Xylose gibt graue, Glucose blaue und Rhamnose dunkelgrüne Verfärbung.

## 6.2. Herstellung der Pflanzenextrakte und Isolierung der Substanzen

### 6.2.1. *Zygophyllum potaninii*

#### 6.2.1.1. Pflanzenmaterial

Das Pflanzenmaterial von *Zygophyllum potaninii* wurde im September 1995 im Gebiet Chöchölzögiin Gobi des Gurvan Tes Sumons des Ömnö-Gobi Aimaks gesammelt und bei Raumtemperatur getrocknet.

#### 6.2.1.2. Extraktion

980 g oberirdische Teile des Pflanzenmaterials wurden zerkleinert und in 3 Portionen dreimal mit je 2 Liter 80% Methanol mazeriert. Nach dem Abfiltrieren des Pflanzenmaterials wurde der Extrakt am Rotationsverdampfer eingengt und schließlich lyophilisiert. Man erhielt 239.7 g Methanolextrakt. Dieser Rohextrakt wurde in Wasser aufgenommen und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die verbleibende wässrige Phase mit n-Butanol extrahiert. Diese Prozedur wurde jeweils dreimal wiederholt. Während die organischen Phasen am Rotationsverdampfer eingengt wurden, wurde die wässrige Phase lyophilisiert. Dabei wurden 27.8 g dunkelgrüner Chloroform-Extrakt und 37 g dunkelbrauner Butanol-Extrakt erhalten.

#### 6.2.1.3. Aufarbeitung des BuOH- Extraktes

29 g BuOH-Extrakt wurden durch Dry-column-flash-Chromatographie aufgetrennt. Die Trennung erfolgte mit einem Lösungsmittelgradienten zunehmender Polarität von 30% Petrolether in Essigester, Essigester in Isopropanol in 10% - Schritten bis zu 50% Wasser in Isopropanol. Es wurden zunächst 74 Fraktionen von je 50 ml aufgefangen, die nach dünnschichtchromatischer Überprüfung wieder zu acht Fraktionen vereinigt wurden. Fraktionen 1-20 gilt als Vorfraktion und wurde als B1 bezeichnet. Sie wurden nicht weiter

bearbeitet. Die Fraktionen 21-22, die mit einem Lösungsmittelgemisch von Essigester / Isopropanol ( 8:2, v:v ) eluiert wurden, wurden zur Fraktion B2 (310 mg) zusammengefaßt. Die mit 30 % Isopropanol in Essigester gewonnene Fraktionen 23-25 wurden zur Fraktion B3 (1500 mg ) vereinigt. Die nächsten Fraktionen 26-33 wurden Fraktion B4 ( 2740 mg ) genannt, die mit einem Lösungsmittelgemisch Essigester / Isopropanol (6:4 und 5:5; v:v ) aus der Säule eluiert wurden. Die Fraktion B5 ( 3400 mg ) wurde aus der Fraktionen 34 - 46 zusammengesetzt. Hier wurde die Anteil des Isopropanols bis zu 80% gesteigert. Die bis zu 100% Isopropanol eluierte Fraktionen 46-54 wurden zur Fraktion B6 (1420 mg ) vereinigt. Die nächste Fraktion B7 wurde aus den Fraktionen 55-59 (2680 mg ) zusammengesetzt, die aus der Säule mit 10% Wasseranteil in Isopropanol eluiert wurden. Die bis zu 50 % Wasseranteil in Isopropanol ausgespülte, letzte Fraktionen wurden zur Fraktion B8 (10 g ) zusammengefaßt. Die Fraktion B8 wurde nicht chromatographiert, weil auf dem Dünnschichtchromatogramm bei verschiedenen Laufmitteln keine einzelnen Substanzflecken erzielt werden konnte.

#### 6.2.1.3.1 Isolierung und analytische Daten der Verbindungen **5** und **6**

Fraktion B2 (310 mg) wurde im zweiten Trennungsschritt mittels Gelchromatographie über eine Sephadexsäule mit Methanol als Laufmittel aufgetrennt. Es wurden 22 Fraktionen aufgefangen. Hiervon wurden die Fraktionen 7-11 zusammengefaßt und mittels Adsorbtionschromatographie in einer Kieselgelsäule aufgetrennt, wobei als Laufmittel Chloroform / Methanol (9:1, v:v ) verwendet wurde. Dabei wurde die Verbindung **5** (32 mg) als weißes Pulver rein erhalten.

Die Fraktionen 12-25 aus der Sephadexsäule wurden zusammengefaßt und weiterhin in einer Kieselgelsäule chromatographiert. Als Fließmittel wurde MeOH / H<sub>2</sub>O ( 1:9; v:v ) verwendet. Die endgültige Trennung der Verb.**6** (6.3 mg) gelang mit Hilfe PTLC an RP-18 mit einem LMS von Acetonitril/ Essigsäure/ Wasser (60:10:35; v:v:v).

Analytische Daten von Verb.**5** (3-O- $\beta$ -D-Quinovopyranosyl}-chinovasäure) (Abb.11).

Summenformel:	C <sub>36</sub> H <sub>56</sub> O <sub>9</sub>
Schmp.:	218°-220° (dec)
<sup>13</sup> C-NMR:	Tab.11, Abb.56
<sup>1</sup> H-NMR:	Tab.12, Abb.55

MS: 631[M-H]<sup>-</sup>, Abb.57  
 DC: auf Kieselgel  
 Rf=0.41 Isopropanol: Essigester (1:9, v:v)  
 Rf=0.48 MeOH:CHCl<sub>3</sub> (2:8, v...:v)  
 Nach Detektion mit Schwefelsäurereagenz: rote Färbung

Analytische Daten von Verb.6 ( 3-O- $\beta$ -D-Xylopyranosyl}-chinovasäure) (Abb.12).

Summenformel: C<sub>35</sub>H<sub>54</sub>O<sub>9</sub>  
 Schmp.: 198°-200° C  
<sup>13</sup>C-NMR: Tab.13, Abb.58  
<sup>1</sup>H-NMR: Tab.14, Abb.59  
 MS: 617 [M-H]<sup>-</sup>, Abb.60  
 DC: auf RP-18  
 Rf=0.26 MeOH: H<sub>2</sub>O ( 7:3,v:v )  
 Nach Detektion mit Schwefelsäure: graurötliche Färbung.

#### 6.2.1.3.2. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen 3 und 7

Die Verbindungen 3 und 7 lagen in Fraktion B3 vor. Die Fraktion B3 wurde durch SC an Kieselgel chromatographiert. Dabei wurde als Laufmittel Chloroform/ Methanol/ Wasser in einem Verhältnis von 8:2:1 verwendet. Aus der Säule wurden die Fraktionen 42-53 zusammengefaßt und noch einmal an Kieselgelsäule mit Fließmittelgemisch MeOH / CHCl<sub>3</sub> (1.5:8.5; v:v) aufgetrennt. Die Fraktionen 4-6 wurden aufgefangen und an Sephadex LH-20 aufgereinigt. Dabei fiel die Verb.3 (13.7 mg) als gelbes Pulver an.

Aus den Fraktionen 8-17 der Kieselgelsäule wurde die Verb.7 erhalten. Die endgültige Aufreinigung erfolgte über SC an Sephadex LH-20.

Analytische Daten von Verb.3 ( Kaempferol-3-O-glucosid) (Abb.9)

Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub>  
 Schmp.: 175-178 °C  
<sup>13</sup>C-NMR: Tab.8, Abb.50  
<sup>1</sup>H-NMR: Tab.7, Abb.49

MS: 447 [M-H]<sup>-</sup>, Abb.51  
 DC: auf Kieselgel  
 Rf= 0.44 Methanol / Chloroform (2:8; v:v)  
 nach Detektion mit Naturstoffreagenz: grünelbe Farbe.

#### Analytische Daten von Verb.7 (3-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl}-chinovasäure) (Abb.13)

Summenformel: C<sub>36</sub>H<sub>56</sub>O<sub>10</sub>  
 Schmp.: 208°-210°  
<sup>13</sup>C-NMR: Tab.15, Abb.61  
<sup>1</sup>H-NMR: Tab.16, Abb.62  
 MS: 647 [M-H]<sup>-</sup>, Abb.63  
 DC: auf Kieselgel  
 Rf=0.33 MeOH/ CHCl<sub>3</sub> (2:8; v:v )  
 Rf=0.27 Isopropanol/ Essigester (1:9; v:v )  
 nach Detektion mit Schwefelsäure-Reagenz: rotviolette Färbung.

#### 6.2.1.3.3. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen **8** und **9**

Durch Flash-Chromatographie des BuOH-Extrakts mit einem Lösungsmittelgemisch Essigester / Isopropanol ( 3:2 und 1:1; v:v ) wurde die Fraktion B4 gewonnen. Als Vortrennung wurde die Fraktion B4 an Kieselgel mit MeOH / CHCl<sub>3</sub> ( 3:7; v:v ) aufgetrennt und danach an Sephadex LH-20 mit Methanol eluiert. Danach war es mit Hilfe von HPLC an einer RP-18 Säule gelungen, die Verb. **8** (20 mg) und **9** (22 mg) rein zu isolieren. Die Verb.**9** wurde aus der Säule zuerst eluiert. Dabei wurde als Fließmittel MeOH / H<sub>2</sub>O (7:3; v:v ) verwendet. Die Retentionszeiten betragen 9,52 bei der Verb.**9** und 11,78 bei der Verb.**8**.

#### Analytische Daten von Verb.**8** (3-O- $\beta$ -D-Quinovopyranosyl}-chinovasäure-28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl}-ester) (Abb.14)

Summenformel: C<sub>42</sub>H<sub>66</sub>O<sub>14</sub>  
 Schmp.: 196° - 202°C (dec)  
<sup>13</sup>C-NMR: Tab.17, Abb.64

$^1\text{H-NMR}$ :	Tab.18, Abb.65
MS:	793 $[\text{M-H}]^-$ Abb.67
DC:	auf Kieselgel Rf=0.17 MeOH / $\text{CHCl}_3$ ( 2:8; v:v ) auf RP-18 Rf= 0.52 MeOH / $\text{H}_2\text{O}$ ( 7:3; v:v ) nach Detektion mit Schwefelsäure-Reagenz: violette Färbung

Analytische Daten von Verb.9 (3-O- $\{\beta\text{-D-Xylopyranosyl}\}$ - chinovasäure -28-O- $\{\beta\text{-D-glucopyranosyl}\}$ -ester) (Abb.15)

Summenformel:	$\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{O}_{14}$
Schmp.:	198° - 202°
$^{13}\text{C-NMR}$ :	Tab.19, Abb.68
$^1\text{H-NMR}$ :	Tab.20, Abb.69
MS:	779 $[\text{M-H}]^-$ , Abb.73, 74
DC:	auf RP-18 Rf= 0.54 MeOH / $\text{H}_2\text{O}$ ( 7:3; v:v ) Nach Detektion mit Schwefelsäure-Reagenz: violette Farbe.

#### 6.2.1.3.4. Isolierung und Analytische Daten der Verbindungen **1** und **2** und **10**

Die Verbindungen **1**, **2** und **10** lagen in der Fraktion B5 vor. Die Fraktion B5 wurde zuerst durch SC über Sephadex LH-20 mit Methanol chromatographiert. Dabei wurden phenolische Verbindungen von Saponinen abgetrennt. Sie wurden aus der Säule nach den Saponinen eluiert. Somit wurde die Fraktion B5 in zwei Fraktionen (Saponine und Flavonoide) geteilt. Die saponinhaltige Fraktion wurde weiterhin durch SC an RP-18 mit Fließmittel MeOH /  $\text{H}_2\text{O}$  (6:4; v:v ) aufgetrennt und zuletzt mit MPLC an RP-18 bei einer Flußrate von 3 ml/min aufgereinigt. Als Fließmittel wurde MeOH/  $\text{H}_2\text{O}$  ( 7:3; v:v ) verwendet. Hierbei wurde die Verb.**10** (16 mg) als weißes Pulver rein isoliert.

Die phenolische Fraktion wurde weiterhin über SC an RP-18 aufgetrennt. Als Fließmittel wurde  $\text{H}_2\text{O}$  / MeOH / AcN (55:37:8; v:v:v) verwendet. Dabei gelang es die Verbindungen **1** (32 mg) und **2** (28 mg) rein zu isolieren.

Analytische Daten von Verb. **10** (3-O- $\{\beta$ -D-Glycopyranosyl}-chinovasäure-27-O- $\{\beta$ -D-glycopyranosyl}-ester) (Abb.16)

Summenformel:  $C_{42}H_{66}O_{15}$   
 Schmp.:  $200^{\circ} - 204^{\circ}$  ( dec )  
 $^{13}C$ -NMR: Tab.21, Abb.75  
 $^1H$ -NMR: Tab.22, Abb.76  
 MS: 809  $[M-H]^{-}$  Abb.77  
 DC: auf RP-18  
 Rf= 0.61 MeOH / H<sub>2</sub>O ( 7:3; v:v )  
 mit Schwefelsäurereagenz: violette Farbe

Analytische Daten der Verbindung **1** (Kaempferol-3-O-neohesperidosid ) (Abb.7)

Summenformel:  $C_{27}H_{30}O_{15}$   
 $^{13}C$ -NMR: Tab.4, Abb.35, 37  
 $^1H$ -NMR: Tab.3, Abb.34, 36  
 IR: Tab.1, Abb.33  
 UV: MeOH 266, 349  
 + NaOMe 274, 326, 392  
 + AlCl<sub>3</sub> 273, 305, 354,396  
 + AlCl<sub>3</sub>/HCl 274, 305, 352, 294  
 + NaOAc 271, 356  
 + NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 266, 348  
 MS: 593  $[M-H]^{-}$ , Abb.42  
 DC: auf RP-18  
 Rf= 0.24 MeOH: H<sub>2</sub>O:AcN (55:37:8; v:v:v)  
 Rf= 0.64 MeOH : H<sub>2</sub>O (7:3, v:v ).  
 Nach Detektion mit Naturstoffreagenz: gelbgrüne Farbe.  
 saure Hydrolyse: Nachweis von Glucose mit Anisaldehydreagenz (blau) und Rhamnose (dunkelgrün Farbe).

Analytische Daten der Verbindung **2** (Kaempferol-3-O-rutinosid) (Abb.8)

Summenformel:	$C_{27}H_{30}O_{15}$
$^{13}C$ -NMR:	Tab.6, Abb.45, 47
$^1H$ -NMR:	Tab.5, Abb.44, 46
MS:	593 $[M-H]^-$ , Abb.48
DC:	auf RP-18
	Rf= 0.15 MeOH/ H <sub>2</sub> O / AcN (55:37:8; v:v:v)
	Rf= 0.53 MeOH / H <sub>2</sub> O (7:3; v:v )
	nach Detektion mit Naturstoffreagenz: gelbgrüne Farbe.

6.2.1.3.5. Isolierung und Analytische Daten der Verbindung **4**

Zuerst wurde die Fraktion B6 durch SC an RP-18 mit einem Lösungsmittelgemisch von Wasser/ Methanol/ Acetonitril im Verhältnis 55:37:8 aufgetrennt. Die Fraktionen 7 und 8 wurden zusammengefaßt und durch weitere SC an Sephadex LH-20 mit Methanol aufgereinigt. Dabei wurde die Verbindung **4** (22 mg) als gelbes Pulver erhalten.

## Analytische Daten von Verb.4 (Quercetin-3-O-rutinosid) (Abb.10)

Summenformel:	$C_{27}H_{30}O_{16}$
Schmp.:	193° C
$^{13}C$ -NMR:	Tab.10, Abb.53
$^1H$ -NMR:	Tab.9, Abb.52
MS:	609 $[M-H]^-$ , Abb.54
DC:	auf der RP-18-Platte
	Rf= 0.35 Wasser / Methanol/ Acetonitril (55.37:8)
	nach Detektion mit Naturstoffreagenz: orange Farbe

6.2.1.3.6. Isolierung und Analytische Daten der Verbindung **11**

Aus der Fraktion B7 konnte durch dreimaligen SC an RP-18 die Verbindung **11** isoliert werden. Dabei wurden die Laufmittelgemische von Wasser / Methanol / Acetonitril in den

folgenden Verhältnissen 55: 37:8; 60:32:8 und 80:12:8 eingesetzt. So konnte 12 mg der Verb. **11** als weißes Pulver isoliert werden.

Analytische Daten der Verb. **11** (Phenylalanin) (Abb.17)

Summenformel:	$C_9H_{11}NO_2$
Schmp.:	238°-240° C
$^{13}C$ -NMR:	Tab.23, Abb.78
$^1H$ -NMR:	Abb.79
DC:	auf RP-18
	Rf= 0.67 Wasser/ Methanol / Acetonitril (55:37:8)
	Rf= 0.36 Wasser / Methanol / Acetonitril (60:32:8)
	nach Detektion mit Vanillin-Schwefelsäure-Tauchreagenz: violette Farbe.

#### 6.2.1.4. Aufarbeitung des $CHCl_3$ -Extrakts

Der  $CHCl_3$ - Extrakt wurde mit einer Dry-column-flash-Chromatographie mit Lösungsmittelgradient weiter aufgetrennt. Ausgehend von Petrolether wurde der Gradient in 10%- Schritten durch Diethylether bis zu 60% Essigester entwickelt. Somit wurde der  $CHCl_3$ - Extrakt in 3 Fraktionen nach niedriger, mittlerer und höherer Polarität aufgetrennt. Die 3 Fraktionen wurden anschließend einer weiteren Säulenchromatographie unterworfen.

##### 6.2.1.4.1. Isolierung und Identifizierung der Verbindung **12**

Aus der ersten Fraktion des  $CHCl_3$ -Extrakts (niedriger Polarität) wurde eine Substanz in Form von silberweißen blättrigen Kristallen isoliert, die mit Petrolether aus der Säule eluiert wurde. Sie ist sehr unpolar und löst sich nur in Petrolether und Hexan.

Analytische Daten von Verb.12 (n- Hendriacontan) (Abb.18)

Summenformel:	$C_{31}H_{64}$
Schmp.:	59°-61° C
IR-Daten:	Abb.80
Elementar Analyse:	gefunden: C: 84.995%

H: 14.779%

berechnet: C: 85.321%

H: 14.679%

MS: 436 [M<sup>+</sup>], Abb.81DC: nach Detektion mit Vanillin-Schwefelsäure-Tauchreagenz:  
eine schwache violette Farbe.

#### 6.2.1.4.2. Isolierung und analytische Daten der Verbindung **13**

Weiterhin wurde aus der Teilfraktion, die niedrige Polarität besitzt, mit einem Fließmittel von Petrolether / Diethylether (1:1) eine Substanz (17,9 mg) in Form von farblosen nadelförmigen Kristallen isoliert.

#### Analytische Daten der Verb. **13**

Summenformel: C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O (β-Sitosterin) (Abb.19)

Schmp.: 135°-136°

<sup>13</sup>C-NMR: Tab.24, Abb.82<sup>1</sup>H-NMR: Tab.25, Abb.83MS: 414 [M<sup>+</sup>], Abb.84

DC: auf der Kieselgelplatte

Rf= 0.17 Petrolether / Aceton (9:1; v:v)

nach Detektion mit Schwefelsäurereagenz: rosa Farbe.

#### 6.2.1.4.3. Isolierung und analytische Daten der Verbindung **14**

Die Verbindung **14** wurde aus der Fraktion 3 (polaren Teilfraktion) des CHCl<sub>3</sub>- Extrakts durch Kieselgel- SC mit Methanol / Chloroform (1.5:8.5; v:v ) als weißes Pulver isoliert. Sie ist löslich weder in Methanol noch in Chloroform.

#### Analytische Daten der Verb. **14** ( Sitosterol-3-O-β-D-glycosid) (Abb.20)

Summenformel: C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub>

Schmp.: 304° C

IR-Daten:	Tab.26, Abb.85
<sup>13</sup> C-NMR:	Tab.27, Abb.86
<sup>1</sup> H-NMR:	Tab.28, Abb.87

## 6.2.2. *Zygophyllum pterocarpum*

### 6.2.2.1. Pflanzenmaterial

Das Pflanzenmaterial von *Zygophyllum pterocarpum* wurde im Gebiet Schine-Jinst Sumon des Bayanchongor Aimaks im August 1994 gesammelt und im Schatten luftgetrocknet.

### 6.2.2.2. Extraktion

Es wurden 1,5 kg grob zerkleinerte Stengel und Blätter in 3 Portionen dreimal mit je 2 Liter 80% Ethanol unter ständigem Rühren bei Raumtemperatur je 24 Std. extrahiert. Nach der Abfiltrierung des Pflanzenmaterials durch die Nutsche wurde der Ethanol-Extrakt am Rotationsverdampfer bis zu einem dunkelbraunen und zähflüssigen Rückstand eingengt. Dabei erhielt man 283 g Ethanol-Extrakt. Der EtOH-Extrakt wurde in 1 Liter Wasser aufgenommen und nacheinander mit Chloroform und n-Butanol extrahiert. Die organischen Phasen wurden unter Vakuum bis zur Trockene gebracht. Die wässrige Phase wurde tiefgefroren und anschließend lyophilisiert. Dabei wurden 20 g dunkelgrüner Chloroform-Extrakt, 35 g dunkelbrauner Butanol-Extrakt und brauner Wasser-Extrakt erhalten.

### 6.2.2.3. Aufarbeitung des Butanol-Extraktes.

33 g Butanol-Extrakt wurden mit einer dry-column-flash-Chromatographie mit Lösungsmittelgradient aufgetrennt. Ausgehend von 10% Petrolether in Essigsäureethylester und nachfolgend Essigester in Isopropanol wurde der Gradient in 10%-Schritten bis zu 50% Wasser in Isopropanol entwickelt und am Ende mit 100% Wasser gewaschen. Dabei erhielt man folgende Zusammenfassung:

Fraktionen 1-13	A=Fraktionen 14-29 ( 4.2 g. )	B=Fraktionen 30- 49 ( 3.8 g. )
C=Fraktionen 50-62 ( 12.4 g. )	Fraktionen 63-100	

6.2.2.3.1. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen **15** und **16**

Die Fraktion A wurden durch Kieselgelsäulenchromatographie mit einem Gradient von Chloroform / Isopropanol (0.5:9.5; v/v ) und steigendem Isopropanolanteil chromatographiert. Dann wurden die Fraktionen 28-35 gesammelt. Durch Gelchromatographie an Sephadex LH-20 mit Methanol und eine anschließende SC an Kieselgel mit Aceton / Hexan ( 1:1 ; v:v ) gelang es, nachfolgend beschriebene Verbindungen **15** (100mg) und **16** (13 mg) zu isolieren.

Analytische Daten von Verb.**15** ( 5-Methoxy-2-pyrrolidinon oder Pterolactam) (Abb.21)

Summenformel:	$C_5H_9NO_2$
Schmp.:	56°-57°
$^{13}C$ -NMR:	Tab.29, Abb.88
$^1H$ -NMR:	Tab.30, Abb.89
MS:	115 [ $M^+$ ], Abb.90
DC:	auf Kieselgel
	Rf= 0.32 Aceton / Hexan (1:1; v:v)
	Rf=0.57 Chloroform/ Toluol/ Diethylether (5:5:4:1; v:v:v:v)
	nach Detektion mit Vanillin-Schwefelsäure- Tauchreagenz:
	leuchtend-gelbe Farbe
	mit Dragendorffreagenz keine Verfärbung.

Analytische Daten von Verb.**16** ( 5-Isopropoxy-2-pyrrolidinon) (Abb.22)

Summenformel:	$C_7H_{13}NO_2$
$^{13}C$ -NMR:	Tab.31, Abb.91
$^1H$ -NMR:	Tab.32, Abb.92
DC:	auf Kieselgel
	Rf= 0.21 Aceton/ Hexan (1:1; v:v)
	nach Detektion mit Vanillin-Schwefelsäure-Tauchreagenz
	leuchtend-gelbe Farbe
	mit Dragendorffreagenz keine Verfärbung.

### 6.2.2.3.2. Isolierung und analytische Daten der Verbindung **17**

Die Fraktion B wurde durch Gelchromatographie an Sephadex LH 20 mit Methanol chromatographiert. Die Fraktionen 8-17 wurden aufgefangen und weiter durch Kieselgelsäulenchromatographie mit einem Lösungsmittelgradient Isopropanol/ Chloroform (1:9, v:v ) und mit steigendem Isopropanolanteil chromatographiert. Anschließend wurde durch weitere Gelchromatographie an Sephadex LH-20 mit Methanol gereinigt. Es wurden 16.6 mg der Verbindung **17** als nadelförmige farblose Kristalle isoliert.

Analytische Daten von Verb.**17** ( Dihydromaleimid) (Abb.23)

Summenformel:	$C_4H_5NO_2$
Schmp.:	103°-105°
$^{13}C$ -NMR:	Tab.33, Abb.93
$^1H$ -NMR:	Tab.34, Abb.94
DC:	auf Kieselgel
	Rf= 0.40 in LMS Chloroform / Methanol (8:2; v:v)
	Rf= 0.18 Isopropanol / Methanol (1:9;v:v)
	nach Detektion mit Vanillin-Schwefelsäure-
	Tauchreagenz: rote Farbe.

### 6.2.2.3.3. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen **18** und **19**

Die Fraktion C wurde durch Gelchromatographie an Sephadex LH-20 chromatographiert und die Fraktionen 5-6 und 8-10 getrennt zusammengefaßt. Dabei wurde als Fließmittel Methanol verwendet. Die Fraktionen 5-6 wurden zur weiteren Trennung an einer Kieselgelsäule mit Fließmittel MeOH /  $CHCl_3$  /  $H_2O$  (20:80:10; v:v:v) chromatographiert. Dabei wurde die Verb.**19** (35 mg) isoliert. Die Verb.**18** (42 mg) wurde aus der Fraktion 8-10 von der Sephadexsäule ganz rein in Form eines gelben Pulvers isoliert.

Analytische Daten der Verb.**18** ( Quercetin-3-O-glucosid. Abb.24)

Summenformel:	$C_{21}H_{20}O_{12}$
IR-	Tab.35, Abb.95

$^{13}\text{C}$ - NMR:	Tab.38, Abb.97	
$^1\text{H}$ - NMR:	Tab.37, Abb.96	
UV:	MeOH	256, 358
	+ NaOMe	271, 328, 408
	+ $\text{AlCl}_3$	275, 300, 433
	+ $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$	268, 300, 365, 400
	+ NaOAc	272, 379
	+ NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$	260, 370
MS:	465 $[\text{M}+\text{H}]^+$ , Abb.98	
DC:	auf Kieselgel	
	Rf= 0.49 Essigester / Wasser / Ameisensäure (67: 26: 7; v:v:v)	
	nach Detektion mit Naturstoffreagenz: orange Farbe.	

#### Analytische Daten der Verbindung **19** ( Isorhamnetin-3-O-glucosid ) (Abb.25)

Summenformel:	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	
IR-Daten:	Tab.39, Abb.99	
$^{13}\text{C}$ -NMR:	Tab.42, Abb.101	
$^1\text{H}$ -NMR:	Tab.41, Abb.100	
UV:	MeOH	255, 265, 355
	+ NaOMe	281, 413
	+ $\text{AlCl}_3$	268, 303, 367, 400
	+ $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$	234, 268, 303, 351, 398
	+ NaOAc	271, 367
	+ NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$	256, 355
MS:	479 $[\text{M}+\text{H}]^+$ Abb.102	
DC:	auf Kieselgel	
	Rf= 0.54 Essigester / Wasser / Ameisensäure (67:26:7; v:v:v)	
	nach Detektion mit Naturstoffreagenz: gelbe Farbe.	

### 6.2.3. *Thermopsis hirsutissima*

#### 6.2.3.1. Pflanzenmaterial

Das Pflanzenmaterial der Pflanze *Thermopsis hirsutissima* wurde Ende Juni 1996 im Ort Tögrög us des Bulgan -Sumons des Ömnö-Gobi Aimakes gesammelt und im Schatten luftgetrocknet.

#### 6.2.3.2. Extraktion

Zur Gewinnung der Alkaloide wurden 1kg der getrockneten und zerkleinerten oberirdischen Teile von *Thermopsis hirsutissima* dreimal mit 90% Methanol (je.2.5 L.) je für 24 Std. unter Rühren bei Raumtemperatur extrahiert. Nach Abfiltrieren wurde bei 40° C im Rotationsverdampfer eingengt. Dabei erhielt man 179 g dickflüssigen, klebrigen Rückstand. Der Rückstand wurde in 400 ml Wasser aufgenommen und mit 1M HCl bis pH 1 angesäuert. Dadurch wurden die Alkaloide in ihre Salze überführt. Um die neutralen und sauren Bestandteile zu entfernen wurde die angesäuerte, dunkelgrüne, wäßrige Lösung mit Dichlormethan dreimal im Verhältniss 1:1 ausgeschüttelt und abdekantiert. Die übrig gebliebene, rotbraune, wäßrige Phase wurde unter Abkühlung im Eisbad mit KOH auf pH= 11 gebracht. Dadurch wurden die stickstoffhaltigen Inhaltsstoffe in ihre freie Form überführt. Die Alkaloide konnten anschließend mit Dichlormethan aus der wäßrigen Phase extrahiert werden. Sie wurden über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und eingengt. Danach erhielt man 21,22 g Alkaloid-Extrakt.

#### 6.2.3.3. Aufarbeitung des Alkaloid-Extrakts

7.35 g des Alkaloid-Extrakts wurde zuerst durch SC an Kieselgel mit Lösungsmittelgradient aufgetrennt. Ausgehend von einem Gemisch aus 95% Dichlormethan und 5% Methanol wurde der Gradient in 5% Schritten bis 70% Dichlormethan und 30% Methanol entwickelt. Dabei wurde zusätzlich 1% Ammoniak ab 85% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und 15% MeOH zugesetzt. Es wurden 90 Fraktionen von je 20 ml aufgefangen. Nach dünnschichtchromatographischer Untersuchung wurden die interessanten Teilfraktionen weiter aufgetrennt.

##### 6.2.3.3.1. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen **20** und **21**

Die Fraktionen 4 -11 (530 mg) enthielten die Substanzen **20** und **21**. Eine weitere Auftrennung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit FMS CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH (9:1; v.v ). Die Fraktionen 3-4 enthielten die Verb.**20** (70 mg) und die Fraktionen 11-15 die

Verb.**21**(19 mg). Die endgültige Aufreinigung beider Substanzen erfolgte mittels Gelchromatographie an Sephadex LH-20. Dabei diente Methanol als Fließmittel. Die beiden Verbindungen sind von öliger Konsistenz.

Analytische Daten der Verb.**20** (Anagyrin) (Abb.26)

Summenformel:	$C_{15}H_{20}N_2O$
$^{13}C$ -NMR:	Tab.43, Abb.103
$^1H$ -NMR:	Tab.44, Abb.104
MS:	244 [ $M^+$ ] Abb.105
DC:	auf Kieselgel Rf= 0.72 $CH_2Cl_2$ / MeOH / $NH_4OH$ (90:9:1; v:v:v) nach Detektion mit Dragendorffreagenz: orange.

Analytische Daten der Verb.**21** (Lupanin) (Abb.27)

Summenformel:	$C_{15}H_{24}N_2O$
$^{13}C$ -NMR:	Tab.45, Abb.106
$^1H$ -NMR:	Abb.107
MS:	248 [ $M^+$ ] Abb.108
DC:	auf Kieselgel Rf= 0.60 $CH_2Cl_2$ / MeOH / $NH_4OH$ (90:9:1; v:v:v) nach Detektion mit Dragendorffreagenz: orange.

6.2.3.3.2. Isolierung und analytische Daten der Verbindung **22**

Die Verb.**22** (102 mg) wurde aus den Fraktionen 17-28 (990 mg) des Alkaloid-Extrakts durch weitere SC an Kieselgel mit Laufmittel Dichlormethan/ Methanol/ Ammoniak (90.9:1; v:v:v) isoliert.

Analytische Daten der Verb.**22** (Cytisin) (Abb.28)

Summenformel:	$C_{11}H_{12}N_2O$
Schmp.:	155° C

$^{13}\text{C}$ -NMR:	Tab.46, Abb.109
$^1\text{H}$ -NMR:	Tab.47, Abb.110
MS:	188 [ $\text{M}^+$ ] Abb.111
DC:	auf Kieselgel Rf= 0.40 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ / MeOH / $\text{NH}_4\text{OH}$ (90:9:1; v:v:v) nach Detektion mit Dragendorffreagenz: orange

#### 6.2.3.3.3. Isolierung und analytische Daten der Verbindungen **23** und **24**

Die Fraktionen 50-53 wurden weiterhin einer Chromatographie an einer Kieselgelsäule mit FMS Methanol / Chloroform (3:7; v:v) untergezogen. Aus der Fraktionen (6-9) und (15-26) wurden 24.9 mg der Verb.**24** sowie 83 mg der Verb.**23** als ölige Substanzen isoliert.

Analytische Daten der Verb.**23** ( -(-) Spartein ) (Abb.29)

Summenformel:	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_2$
$^{13}\text{C}$ -NMR:	Tab.48, Abb.112
$^1\text{H}$ -NMR:	Tab.49, Abb.113
MS:	234 [ $\text{M}^+$ ] Abb.114
DC:	auf Kieselgel Rf= 0.40 $\text{CHCl}_3$ / MeOH / $\text{NH}_4\text{OH}$ (9:1:4; v:v:v) nach Detektion mit Dragendorffreagenz: orange

Analytische Daten der Verb.**24** ( Spartein )

Summenformel:	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_2$
$^{13}\text{C}$ -NMR:	Tab.48, Abb.115
$^1\text{H}$ -NMR:	Tab.49, Abb.116
MS:	234 [ $\text{M}^+$ ] Abb.117
DC:	auf Kieselgel Rf= 0.49 $\text{CHCl}_3$ / MeOH / $\text{NH}_4\text{OH}$ (9:1:4; v:v:v) nach Detektion mit Dragendorffreagenz: orange

#### 6.2.3.3.4. Isolierung und analytische Daten der Verbindung **25**

Die Verbindung **25** (50 mg) wurde aus den Fraktionen 61-65 nach Abdampfen des Lösungsmittels rein in Form von weißem Pulver erhalten.

Analytische Daten der Verb.**25** (13-Hydroxysparteïn) (Abb.30)

Summenformel:	$C_{15}H_{26}N_2O$
$^{13}C$ -NMR:	Tab.49, Abb.118
$^1H$ -NMR:	Abb.119
MS:	250 [ $M^+$ ] Abb.120
DC:	auf Kieselgel
	Rf= 0.25 $CHCl_3$ / MeOH / $NH_4OH$ (3:7:2; v:v:v)
	nach Detektion mit Dragendorffreagenz: orange

### 6.3. Durchführung der biologischen Tests

#### 6.3.1. Toxizitätstest mit Zellen

Die Arbeiten mit Zellkulturen wurden unter sterilen Bedingungen durchgeführt. Das Labor war mit Sterilbank und UV-Lampen ausgestattet, um keimfreie Arbeitsbedingungen zu gewährleisten. Pipettenspitzen, Eppendorffreaktionsgefäße und Pufferlösungen wurden vor dem Einsatz autoklaviert.

##### 6.3.1.1. Anzucht und Aufbewahrung des Zellmaterials

Die Inkubation der Zellen erfolgte in einem  $CO_2$ -begasteten Brutschrank unter Standardbedingungen ( 37 °C, 90% Luftfeuchtigkeit, 5%  $CO_2$ -Begasung). Adhärende Zelllinien wurden routinemäßig in Gewebekulturflaschen T80 kultiviert. Nach Erreichen der Konfluenz und Ausbildung eines Zellwachstums wurde der Medienwechsel im 3-Tage-Rhythmus durchgeführt. Die Zellen wurden wie folgt passagiert:

Es erfolgte zunächst eine morphologische Beurteilung unter dem Mikroskop. Das Medium (s. Anhang A) wurde mit einer 5ml-Pipette abgesaugt und in ein steriles Gefäß überführt. Da es sich um eine adhärende Zelllinie handelte, haften die Zellen in der Kulturflasche. Sie wurden

mit 3ml PBS (37 °C) gewaschen, das PBS daraufhin verworfen. Die Zellen wurden durch Zugabe von 1ml vorgewärmtem Trypsin und anschließender Inkubation für 5-10 Minuten bei 37 °C im Brutschrank von der Oberfläche abgelöst. Die so abgelösten Zellen wurden im Mikroskop kontrolliert, sie sollten eine kugelige Form angenommen haben. Die noch angehafteten Zellen wurden durch vorsichtiges Beklopfen der Kulturflaschen abgelöst. Die Wirkung des Trypsins wurde durch Zugabe von 3 ml vorgewärmtem Medium (10% FKS, Firma KREBER® ) gestoppt. In 3 kleinen Kulturschälchen wurden je 1ml der Zellsuspension ausgesät und je 1ml vorher abgenommenes Medium dazugegeben. Zur Bestimmung der Zellzahl wurden 30 µl entnommen und in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß 1:1 mit Trypanblau-Lösung (Firma COSTAR® ) verdünnt. Die Zellen wurden in eine Neubauer-Kammer gegeben und darin 16 Felder ausgezählt. ( Die Zellzahl wurde visuell bestimmt. ) Die Konzentration der Zellen wurde nach folgender Formel errechnet:

$$\text{Zellzahl/ml} = \text{Mittelwert der gezählten Zellen} \times \text{Verdünnungsfaktor} \times 10^4$$

Die ausgesäten Zellen wurden bei 37 °C und 5% CO<sub>2</sub> angezchtet. Nach ca. 2 Stunden wurde im Mikroskop kontrolliert, ob sich die Zellen angehaftet hatten.

Als Kulturmedium wurde RPMI 1640, Firma BIOCHROM® + FKS 10% verwendet.

#### 6.3.1.2. Verwendete Lösungen:

PBS (5fach konzentriert):	80.0 g	NaCl
	2.0 g	KCl
	14.4 g	NA <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	2.0 g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
	2000.0 ml	dest. Wasser

Die Lösung wurde anschleißend autoklaviert und bis zum Gebrauch bei -20 °C gelagert.

#### Trypsinlösung:

1) <i>Trypsin-Stammlösung (5 mg/ml):</i>	1.0 g	Trypsin
	200.0 ml	dest. Wasser

Der pH-Wert wurde mit NaOH (1 mol/l) auf 7.5 eingestellt.

2) <i>Saline-Tris-Stammlösung:</i>	4.00 g	NaCl
	0.19 g	KCl

0.20 g	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
1.50 g	Tris (Hydroxymethylaminomethan)
250.0 ml	dest. Wasser

Der pH Wert wurde mit HCl (1 mol/l) auf 7.5 eingestellt und die Lösung autoklaviert.

3) <i>Saline-EDTA-Stammlösung:</i>	0.20 g	EDTA (Titriplex III)
	8.0 g	NaCl
	0.20 g	KCl
	1.15 g	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2 H <sub>2</sub> O
	0.20 g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
	1000.0 ml	dest. Wasser

Die Lösung wurde anschließend autoklaviert.

Trypsingebrauchslösung (0.5 mg/ml):	10 ml	Trypsinstammlösung
	10 ml	Saline-Tris-Stammlösung
	80 ml	Saline-EDTA Stammlösung

Die Gebrauchslösung wurde steril filtriert und bis zum Gebrauch bei -20 °C gelagert.

### 6.3.1.3. Zusammensetzung des Zellkulturmediums

RPMI 1640	
mg/l	
Essentielle Aminosäuren	
L-Isoleucin	50.00
L-Leucin	50.00
L-Lysin	40.00
L-L-Methionin	15.00
L-Phenylalanin	15.00
L-Threonin	20.00
L-Tryptophan	5.00
L-Valin	20.00
Nicht-Essentielle Aminosäuren	
L-Ardinin	200.00

L-Asparagin H <sub>2</sub> O	56.87
L-Aspartat	20.00
L-Cystin	66.17
L-Glutamin	300.00
L-Glutaminsäure	20.00
Glycin	10.00
L-Histidin	15.00
L-Hydroxyprolin	20.00
L-Prolin	20.00
L-Serin	30.00
L-Tyrosin	20.00
<b>Vitamine</b>	
D-Biotin	0.20
Ca-D (+)- panthotenat	0.25
Cholinchlorid	3.00
Folsäure	1.00
Myo-Inosit	35.00
Nicotinamid	1.00
p-Aminobenzosäure	1.00
Pyridoxin HCl	1.00
Riboflavin	0.20
Thiamin HCl	1.00
Vitamin B <sub>12</sub>	0.005
<b>Salze</b>	
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> x 4 H <sub>2</sub> O	100.00
KCl	400.00
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	100.00
NaCl	6000.00
NaHPO <sub>4</sub> x 2 H <sub>2</sub> O	1003.60
NaHCO <sub>3</sub>	2000.00
<b>Sonstige Substanzen</b>	
D (+) Glucose H <sub>2</sub> O	2200.00
Glutathion	1.00
Phenol-Rot (Na)	5.30

Pyruvat (Na)

110.00 z

#### 6.3.1.4. Durchführung der Toxizitätstests an Zellen

In Mikrotiterplatten wurde pro Well 200 µl Zellsuspension ausgesät und 24 Stunden bei 37 °C im Brutschrank inkubiert. Es wurden vom MeOH-Extrakt der Pflanze *Zygophyllum potaninii* 3000 µg abgewogen und in 100 µl DMSO+ 900 µl PBS-Lösung gelöst, so daß sich eine Konzentration von 3000 µg/ml ergab. Aus dieser Lösung wurden Verdünnungsreihen in folgender Weise hergestellt: 100 µl der jeweils vorhergehenden Verdünnung wurden in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß pipettiert und mit 900 µl PBS-Lösung versetzt. Dabei ergibt sich eine Verdünnung von 1:10 und die Verdünnungsreihe umfaßte 6 Konzentrationen von 3000 µg/ml bis 0.03 µg/ml. 100 µl der jeweiligen Konzentrationen wurden pro Well auf die Mikrotiterplatten gegeben. Die Mikrotiterplatte wurde 24 Std. bei 37 °C inkubiert und dann mit 10 µl Trypanblau gefärbt. Während der Farbstoff die porösen Zellwände abgestorbener Zellen durchdringt und dabei eine Blaufärbung entsteht, nehmen lebende Zellen keinen Farbstoff auf. Nach Betrachtung der Zellen unter dem Mikroskop wurde der prozentuale Teil der abgestorbenen Zellen subjektiv abgeschätzt.

#### 6.3.2. Durchführung der Toxizitätstests an *Saccharomyces cerevisiae*

4.0 g Hefe-Extrakt, 10.0 g Malz-Extrakt, 4.0 g Glucose und 12 g Agar wurden in 100 ml dest. Wasser gelöst und 15 Minuten autoklaviert. Aus dieser Lösung wurde eine etwa 0.5 cm dicke Schicht als Unterschicht in Petrischalen gegossen. Danach wurde ein Medium aus 4.0 g Hefe-Extrakt, 10.0 g Malz-Extrakt, 4.0 g Glucose und 15 g Agar in 1000 ml Wasser angesetzt, eine halbe Stunde autoklaviert und nach Abkühlung auf 40 °C mit *Saccharomyces cerevisiae* angeimpft. Dieses Medium wurde als Oberschicht auf die mit der Unterschicht versehenen Petrischalen aufgegossen. Sobald die Oberschicht fest geworden war, wurden Pellets aufgelegt, die mit 20 µl einer Lösung des zu testenden CHCl<sub>3</sub>-Extrakts getränkt waren. Diese Lösung wurde hergestellt, indem der Extrakt zunächst in einer Konzentration von 1 µg/µl in MeOH gelöst und anschließend mit 500 µl PBS verdünnt wurde. Die Petrischalen wurden abgedeckt 5 Tage bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurde die Größe der um den Extrakt gebildeten Hemmhöfe visual ausgewertet.

### 6.3.3. Test zur Wirkung auf ein isoliertes Organ

Der MeOH- Extrakt von *Zygophyllum potaninii* wurde auf seine Wirkung am isolierten Darm einer Ratte getestet. Das Experiment wurde am Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der TiHo durchgeführt.

#### 6.3.3.1. Präparation

Nach Tötung und Entbluten adulter, weiblicher Ratte wurden Darmabschnitte von 2 – 2,5 cm Länge gewonnen. Dann wurde das Darmpräparat in ein Organbad eingehängt, das mit temperierter (32.5 °C) O<sub>2</sub>-angereicherter Tyrodelösung gefüllt ist. Durch Anbringen einer Vorlast wurde der Darm etwas vorgedehnt. Nach 3-5 Spülungen mit Tyrodelösung wurden die Testsubstanz (Carbachol 10<sup>-8</sup> Mol/L) zugegeben. Die Lebensdauer des Präparates beträgt ca. 2 Std.

#### 6.3.3.2. Injektion der Testsubstanzen in das Organbad:

Das Verhältnis von Injektionsvolumen zu Organbad muß kleiner als 1:100 sein. Daher wurden 0.2 ml von den vorbereiteten Substanzen in das Organbad (Inhalt 30 ml) injiziert. Die Injektion erfolgte mit konstanter Geschwindigkeit und war auf die Glasgefäßwandung gerichtet.

Die Auswirkung auf die Kontraktionsamplitude wurde mit einem Schreiber registriert. Nach Einwirken der Testsubstanz über ca. 1 min wurde das Organbad mit Tyrodelösung (20 sek.) gespült. Zuerst wurde die Ansprechbarkeit des Präparates auf Carbachol (10<sup>-8</sup> Mol/L) geprüft. Carbachol diente als Referenzsubstanz. Dazu wurde Carbachol wiederholt dem Organbad zugesetzt bis mit diesem mindestens zweimal hintereinander gleiche Kontraktionsamplituden erzielt wurden. Danach wurde das Organbad mit Tyrodelösung gespült. Nach Regenerierung des Darms (ca. 30-40 sek) wurde 0.2 ml von der Testlösung (100mg/L und 10mg/L MeOH-Extrakt in Wasser) injiziert und nach 15 sek Carbachol dazugegeben. Nach 1 Min Wirkungszeit wurde gespült und noch einmal reines Carbachol injiziert. Durch Vergleich der Intensitäten der Kontraktionsamplitude konnte die relaxierende Wirkung des Extrakts auf den Darm festgestellt werden.

## 7. Abbildungen

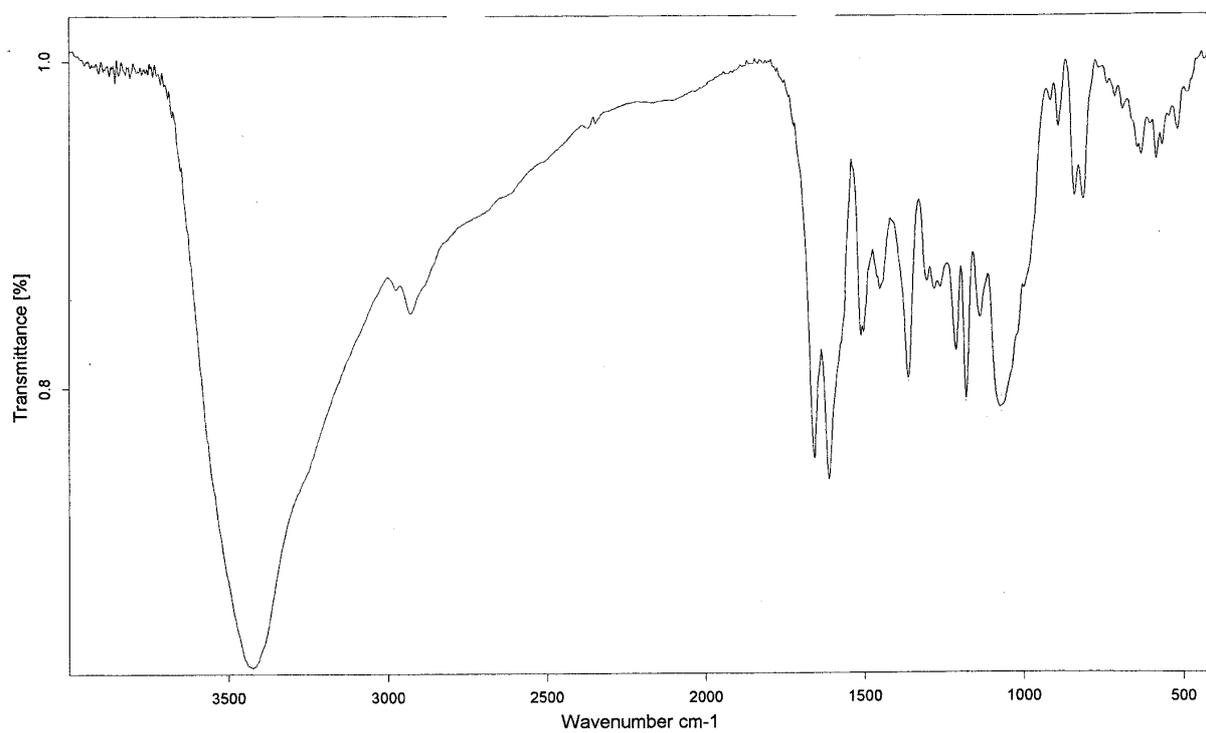
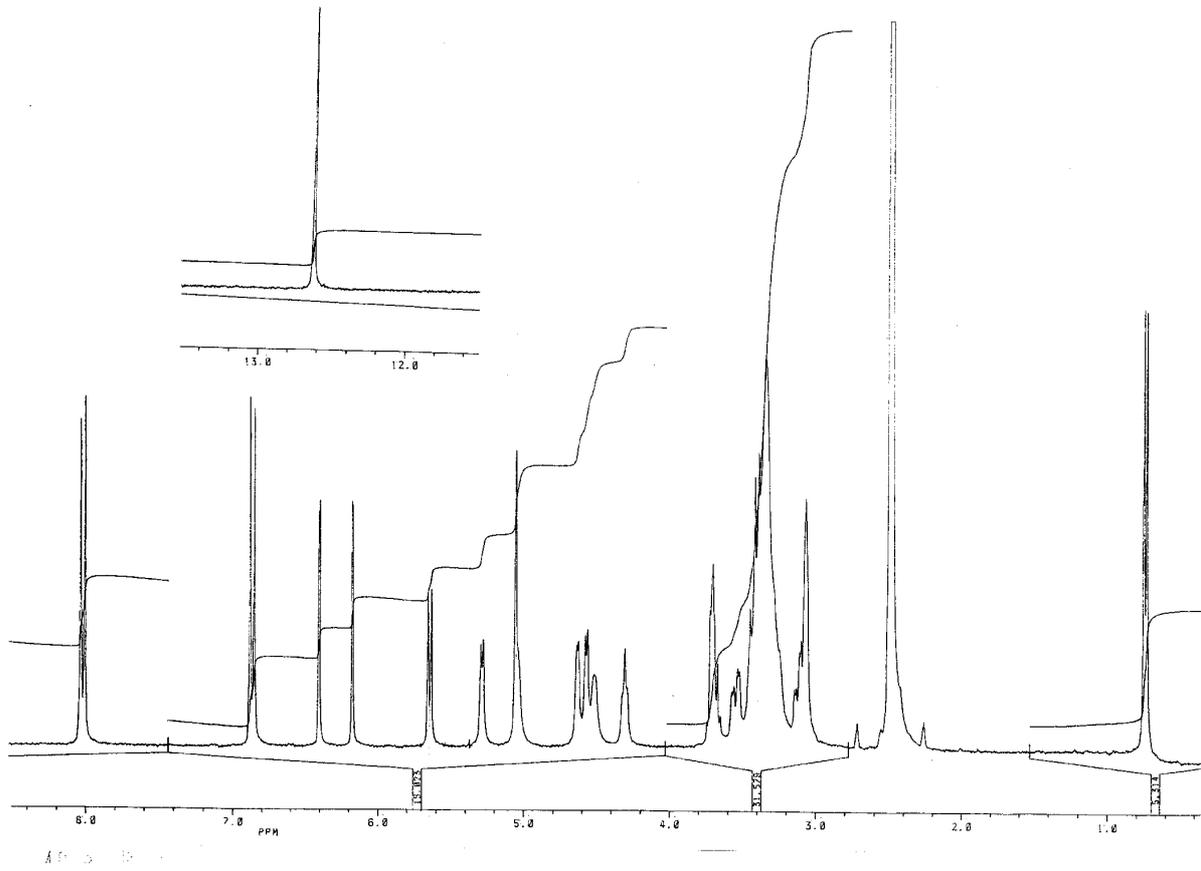
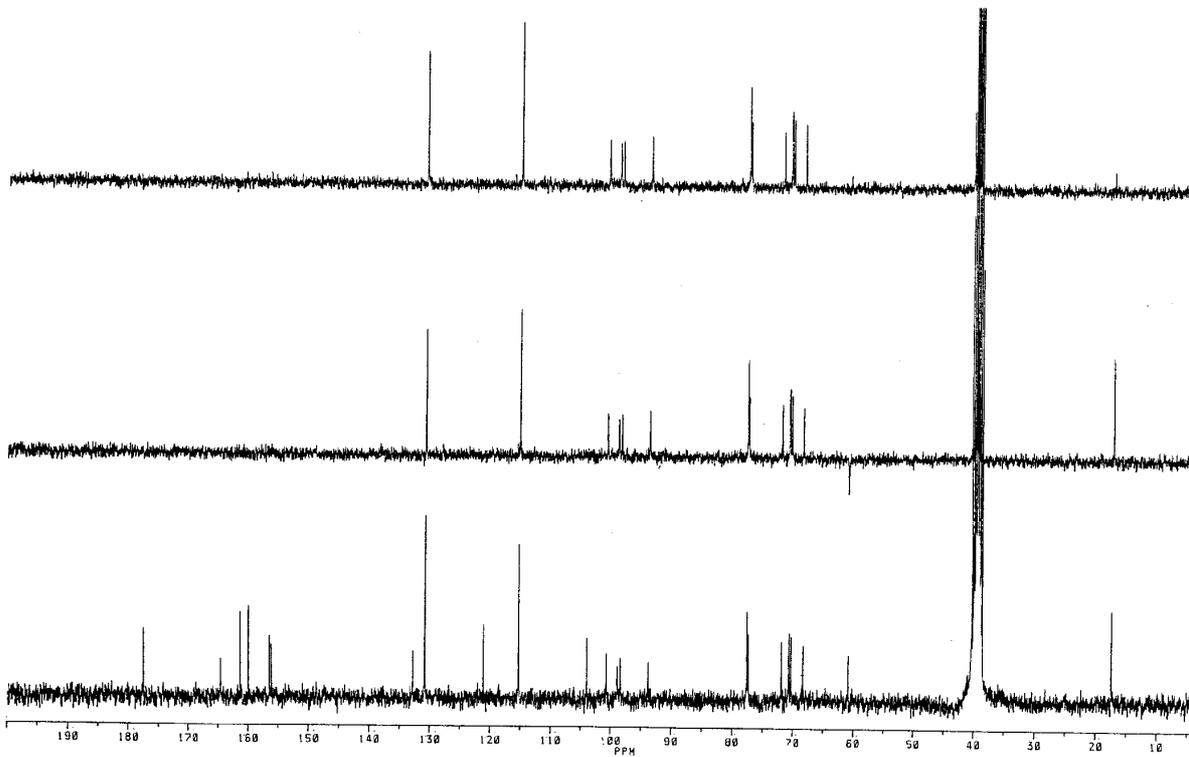
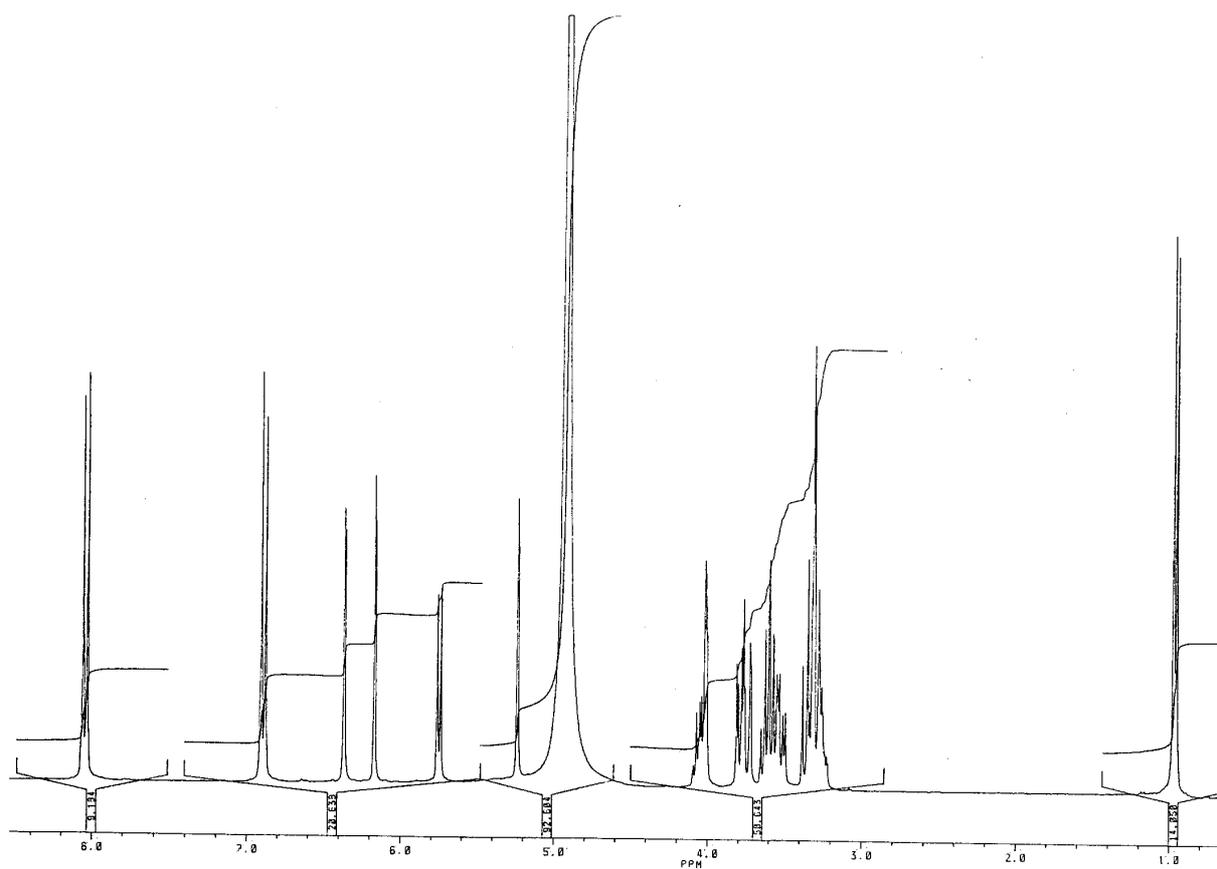
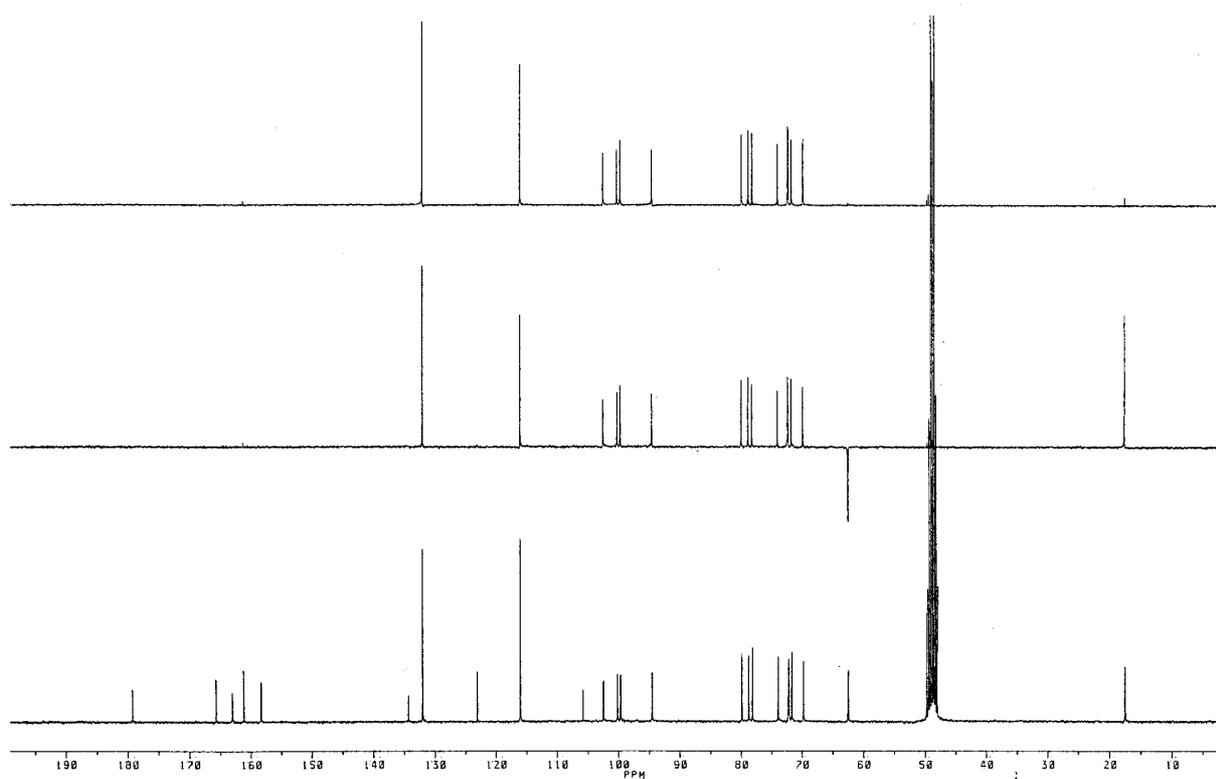
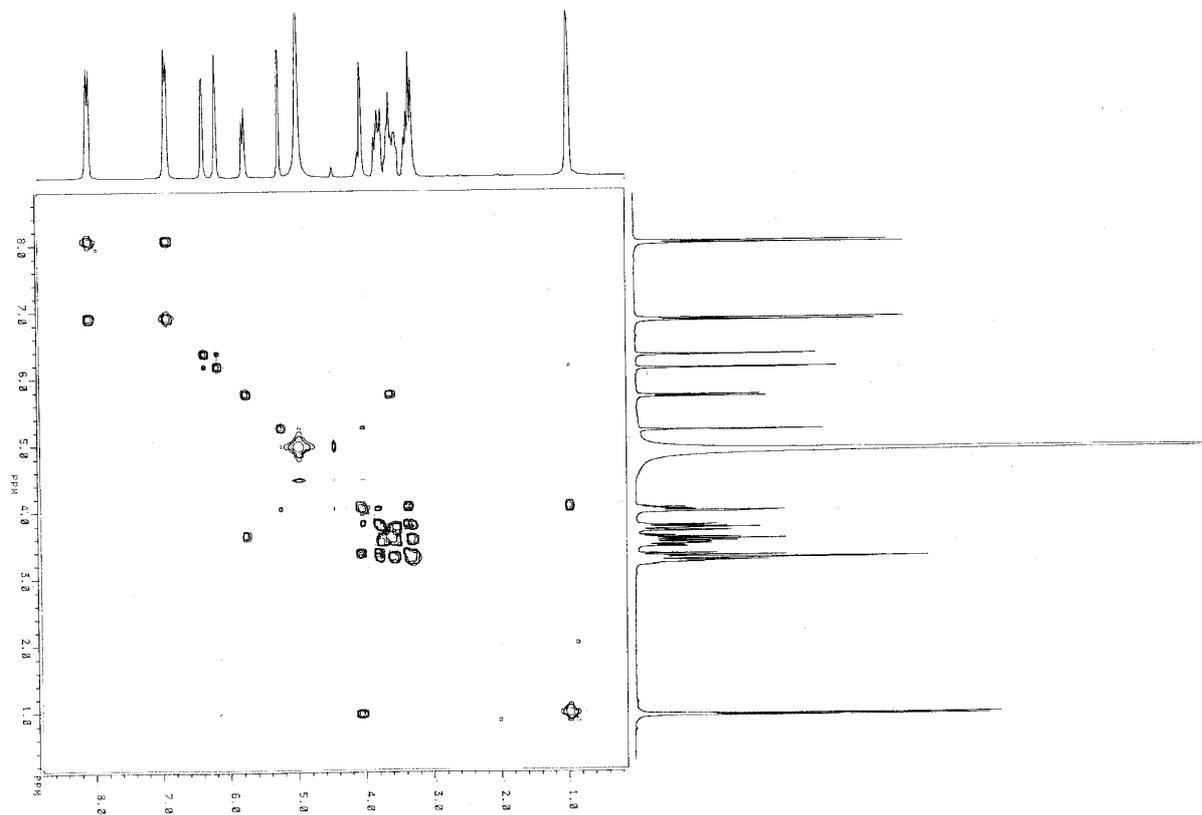
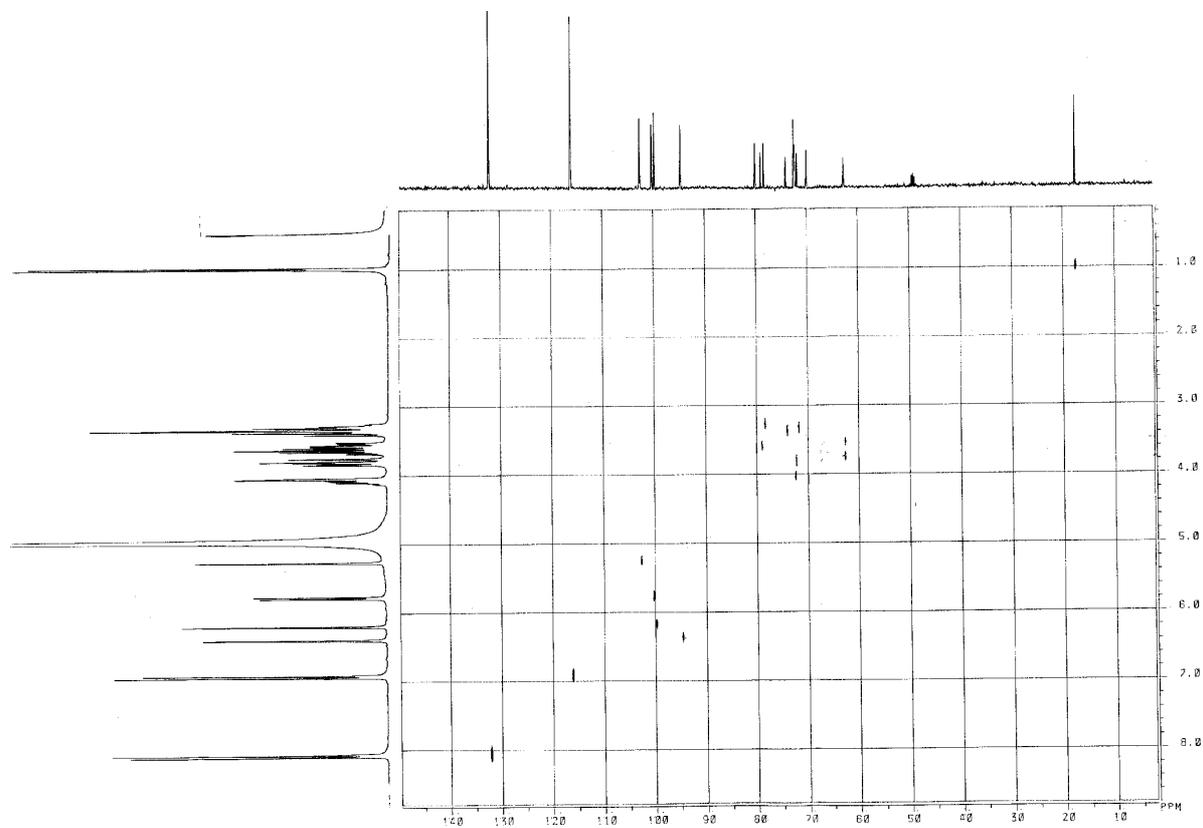
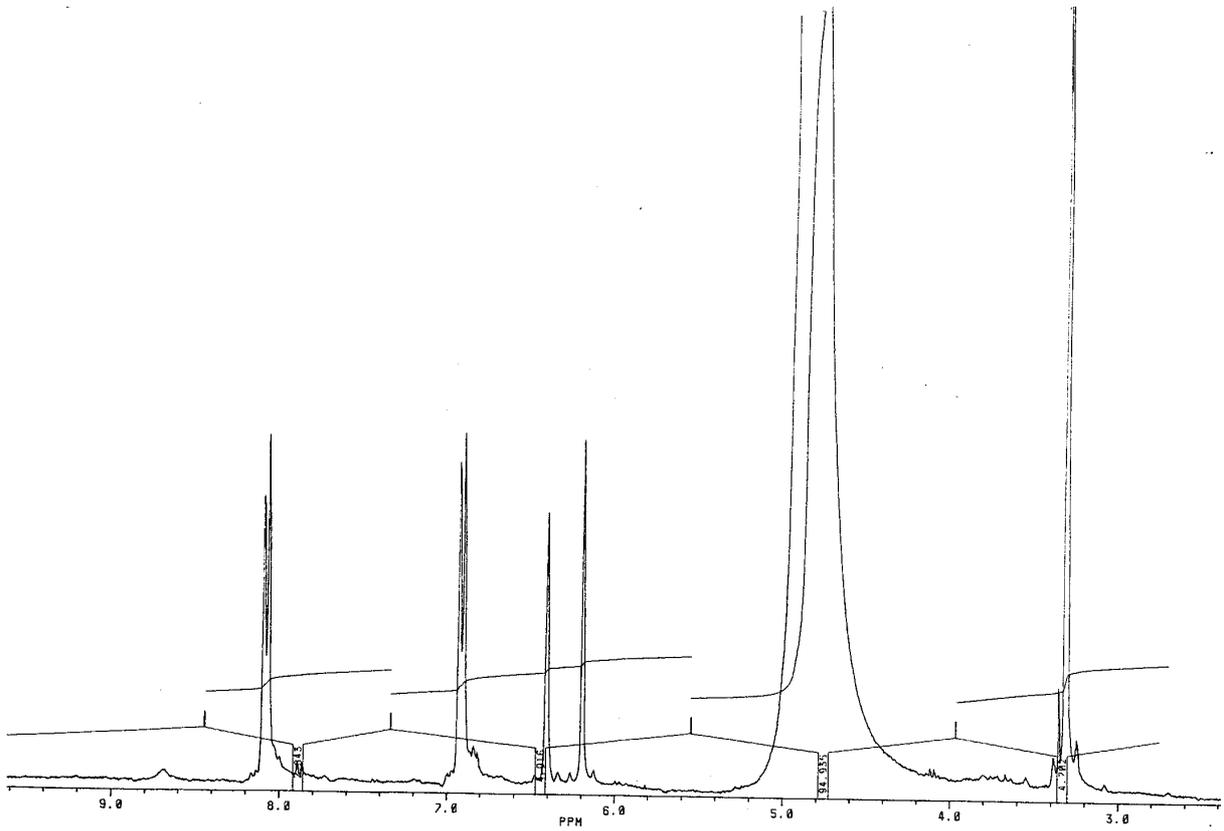
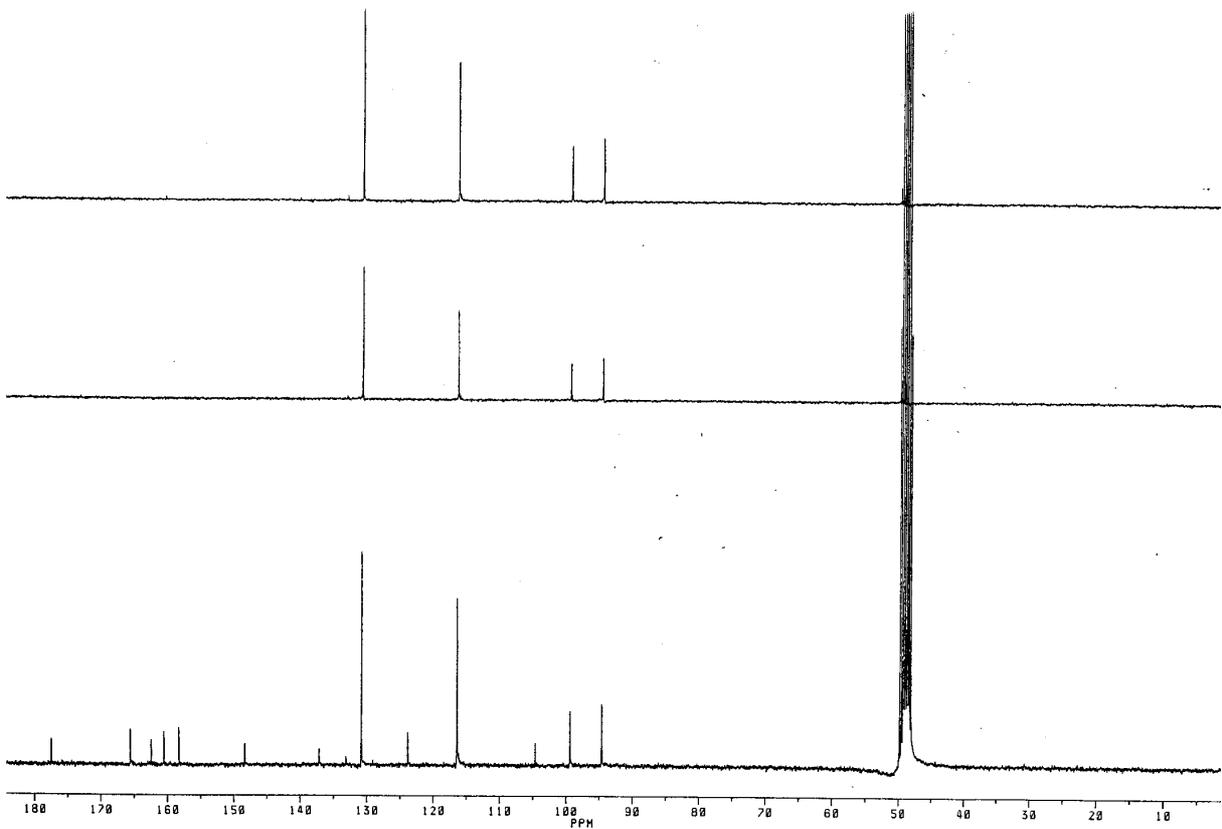


Abb.33 IR Spektrum der Verbindung **1**  
( Kaempferol-3-O- neohesperidosid )

Abb.34  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.1 in DMSOAbb.35  $^{13}\text{C-NMR}$  Spektrum der Verb.1 in DMSO

Abb.36  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.1 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ Abb.37  $^{13}\text{C-NMR}$  Spektrum der Verb.1 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

Abb.38  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY Spektrum der Verb.1 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ Abb.39  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  COSY Spektrum der Verb.1 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

Abb.40  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb. **1a** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ Abb.41  $^{13}\text{C-NMR}$  Spektrum der Verb. **1a** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

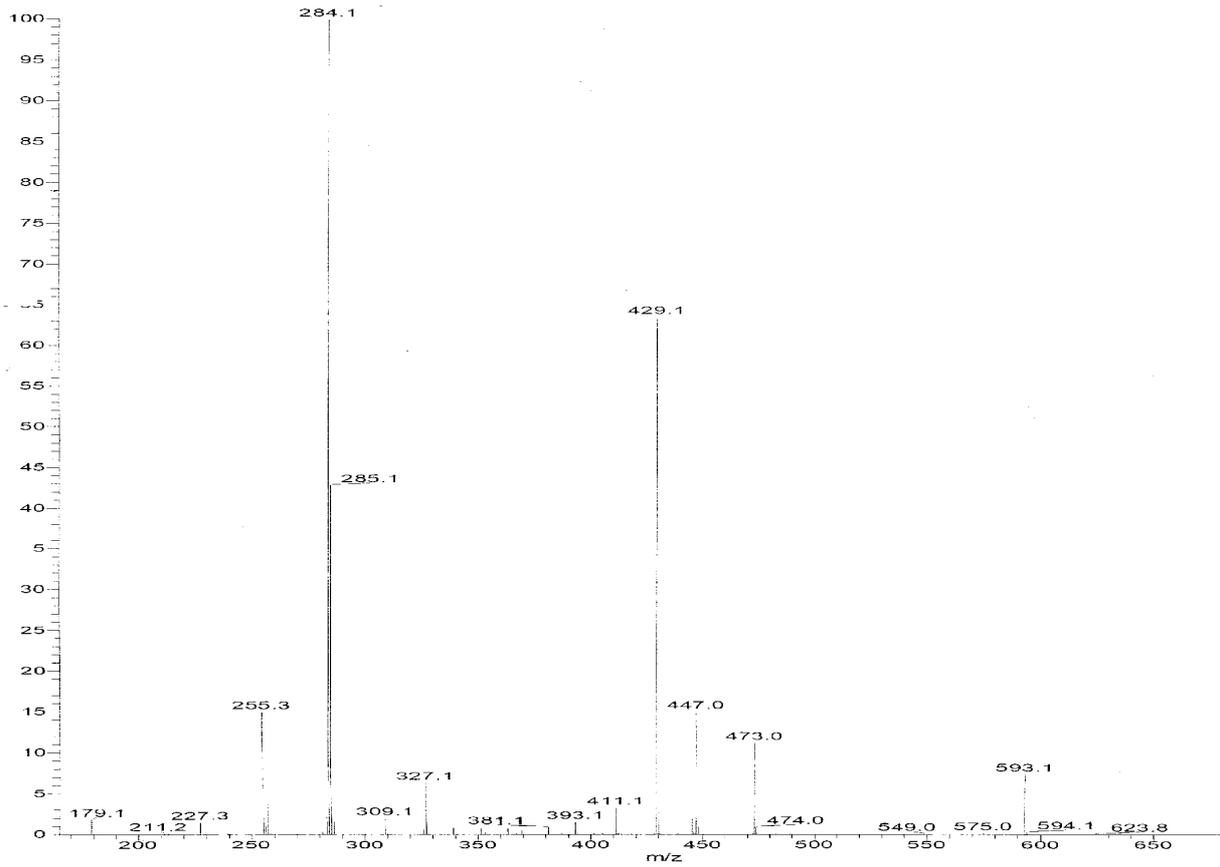


Abb.42 MS Spektrum der Verb.1

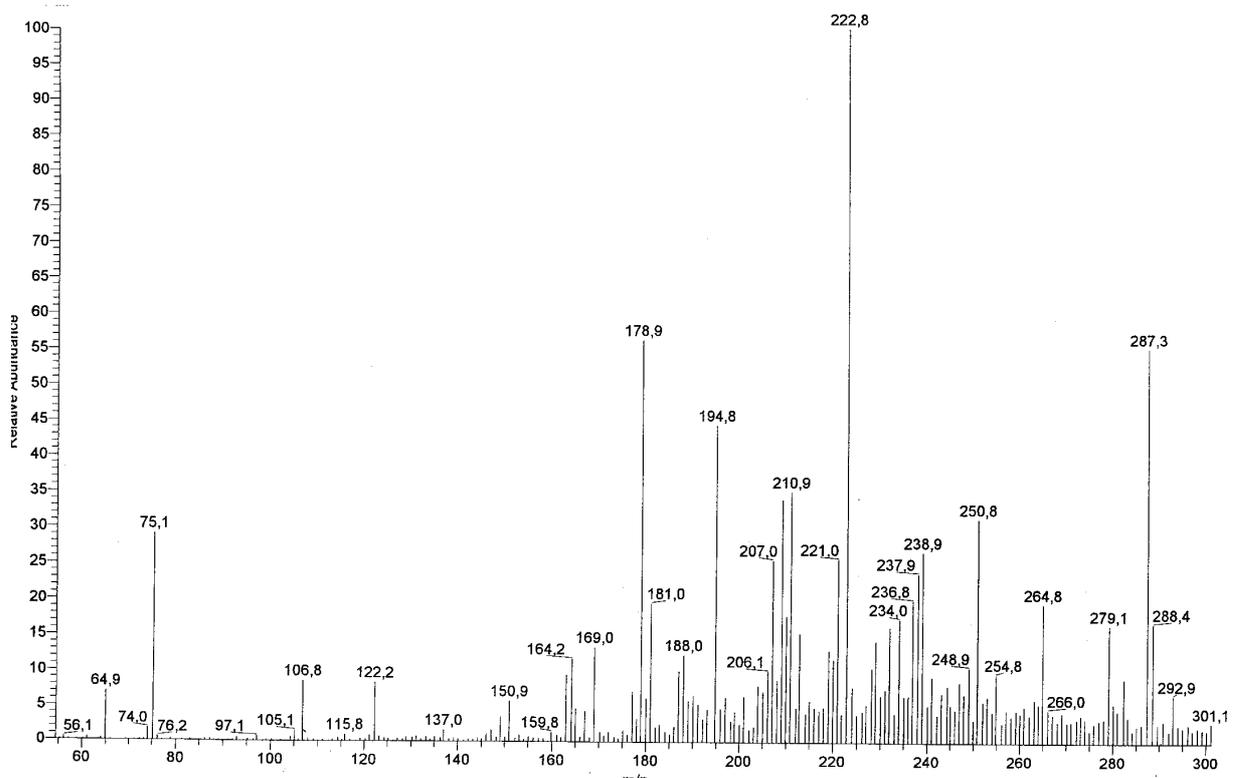


Abb.43 MS Spektrum der Verb.1a

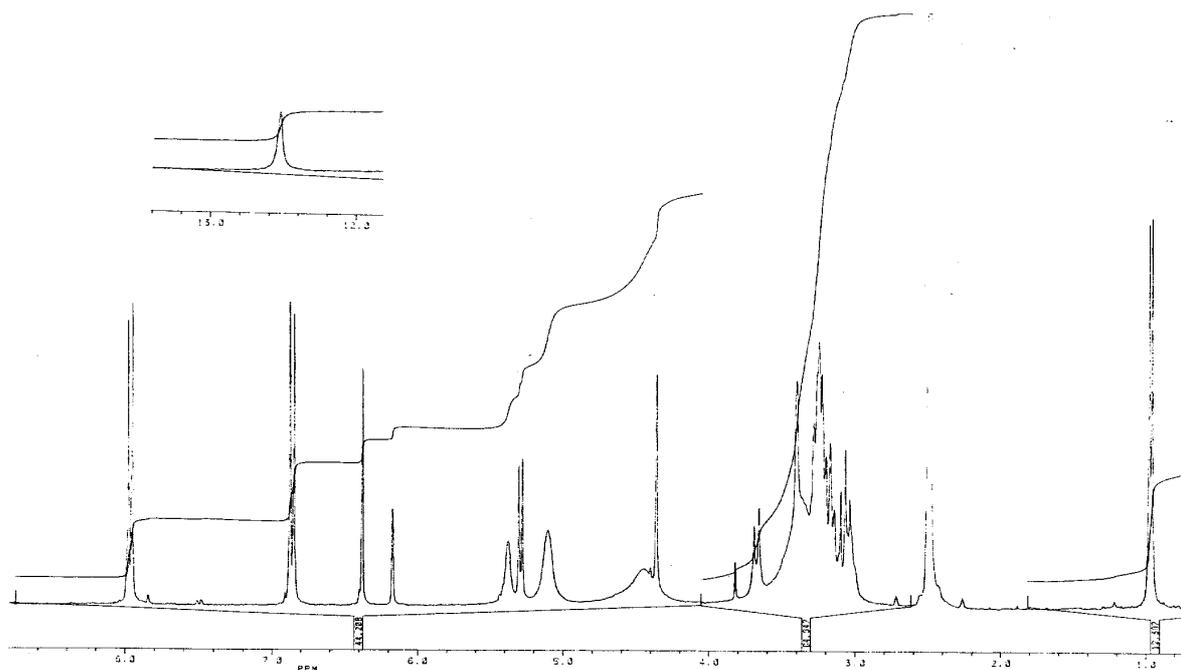


Abb.44  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.2 in DMSO  
( Kaempferol-3-O-rutinosid )

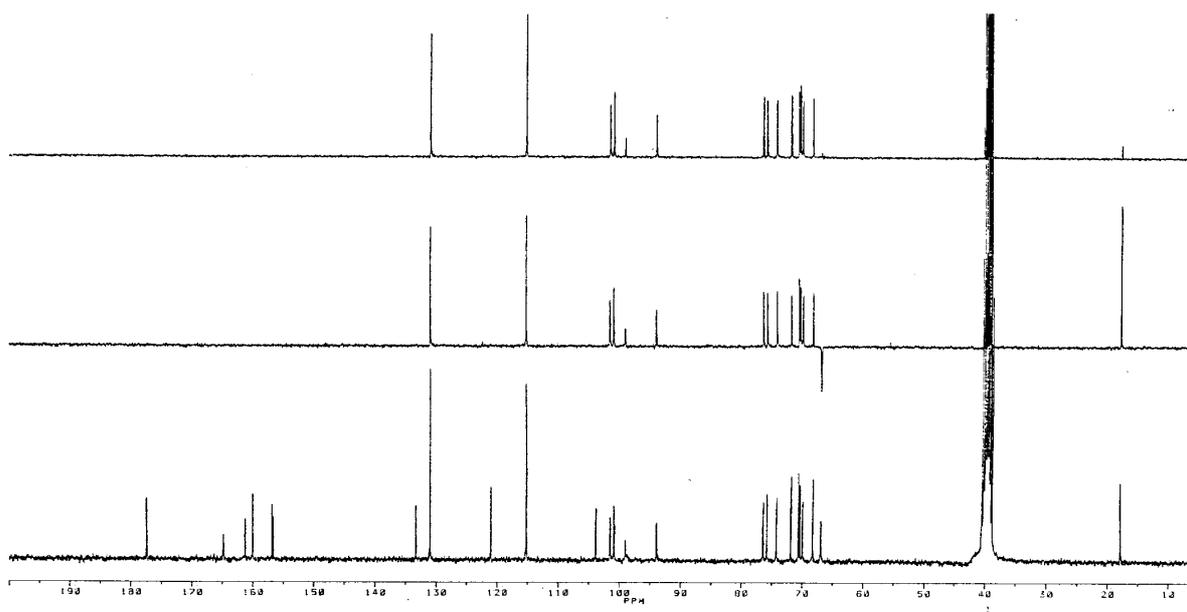
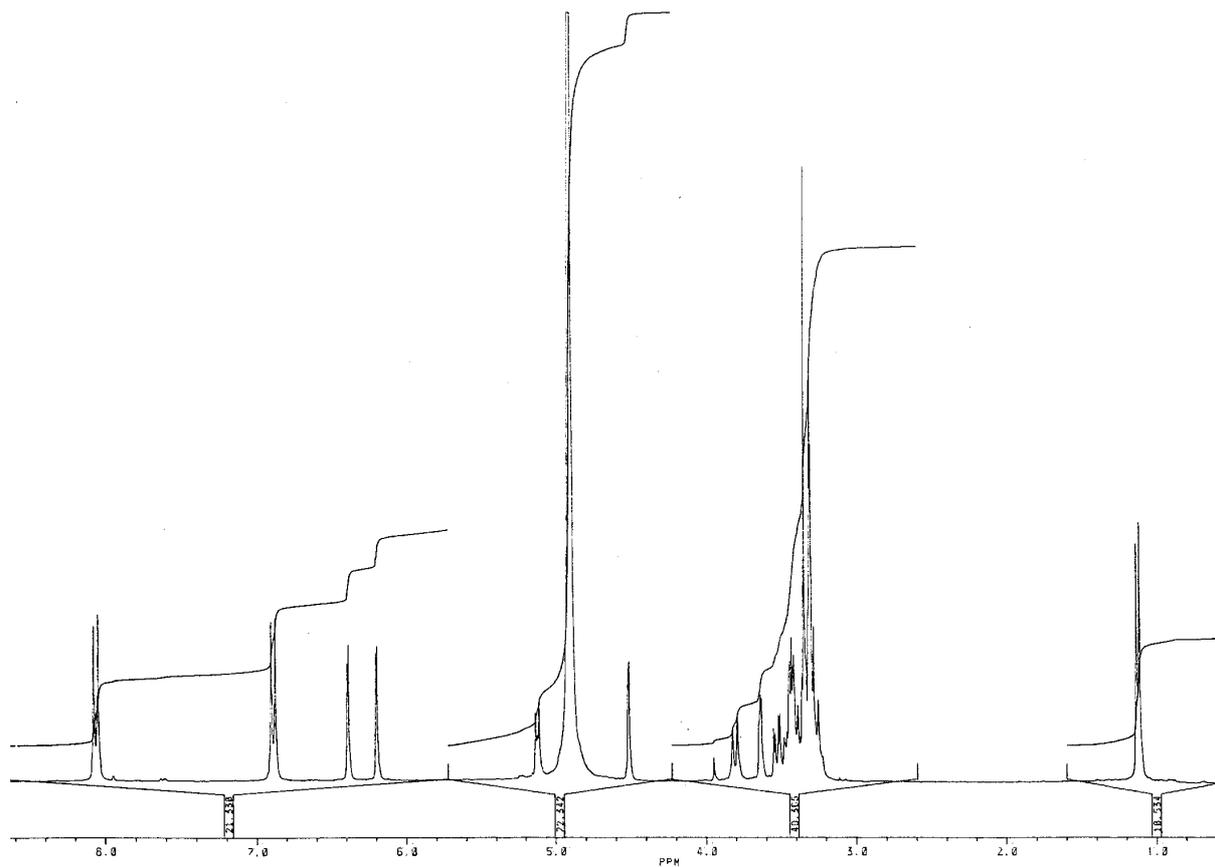
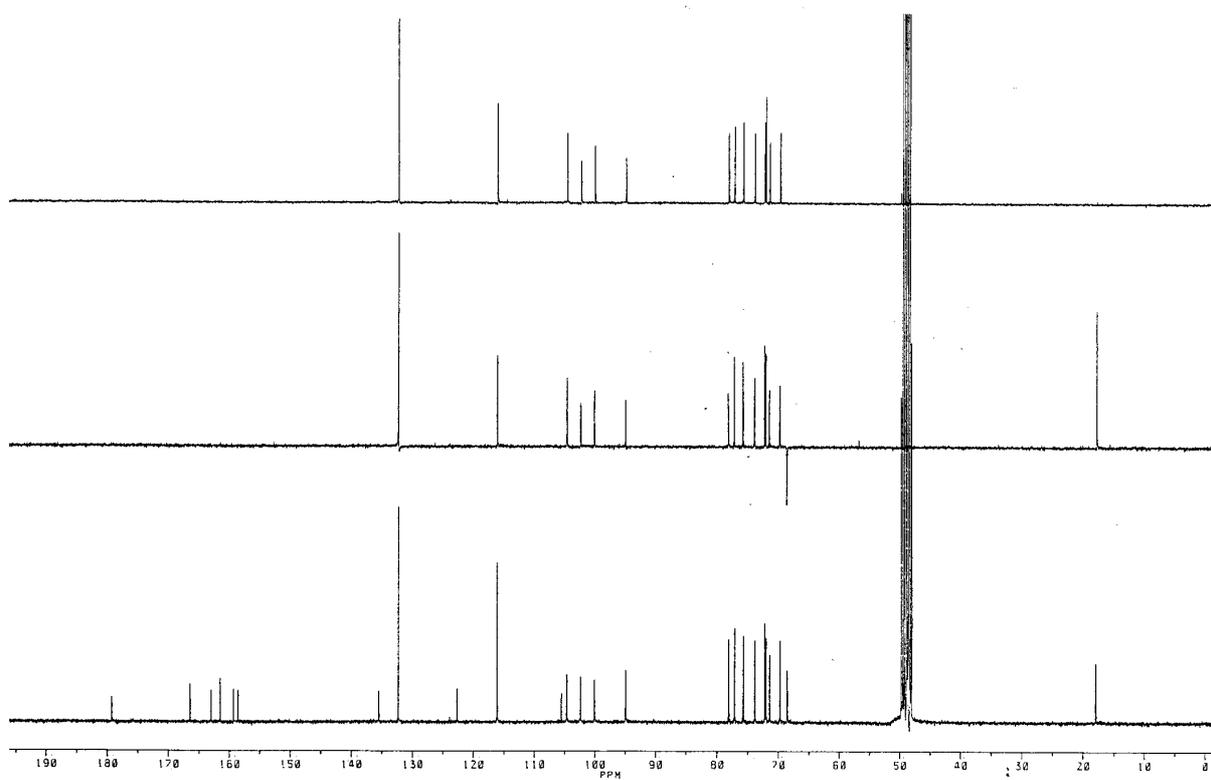


Abb.45  $^{13}\text{C-NMR}$  Spektrum der Verb.2 in DMSO

Abb.46  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.2 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ Abb.47  $^{13}\text{C-NMR}$  Spektrum der Verb.2 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

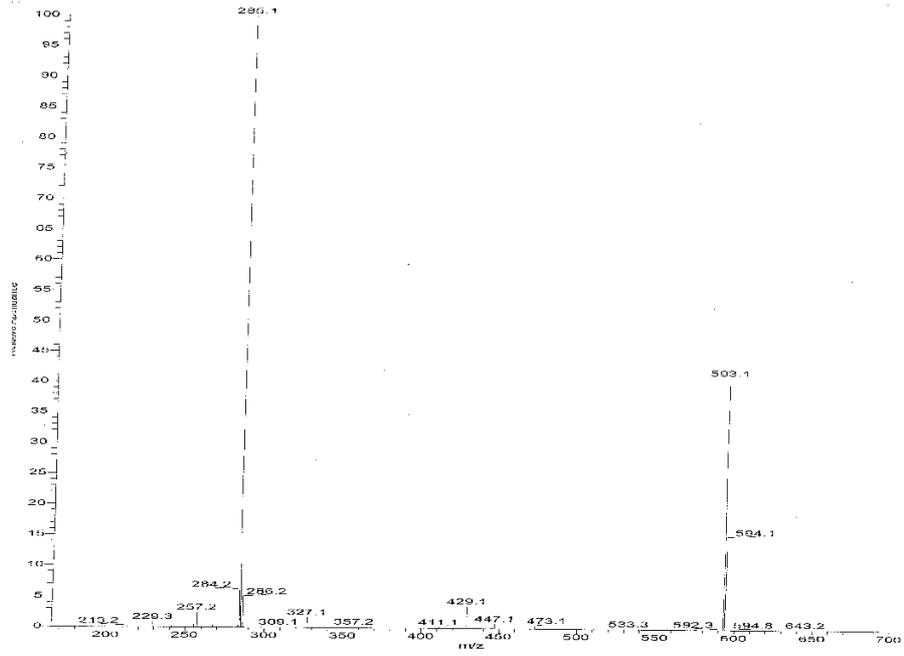
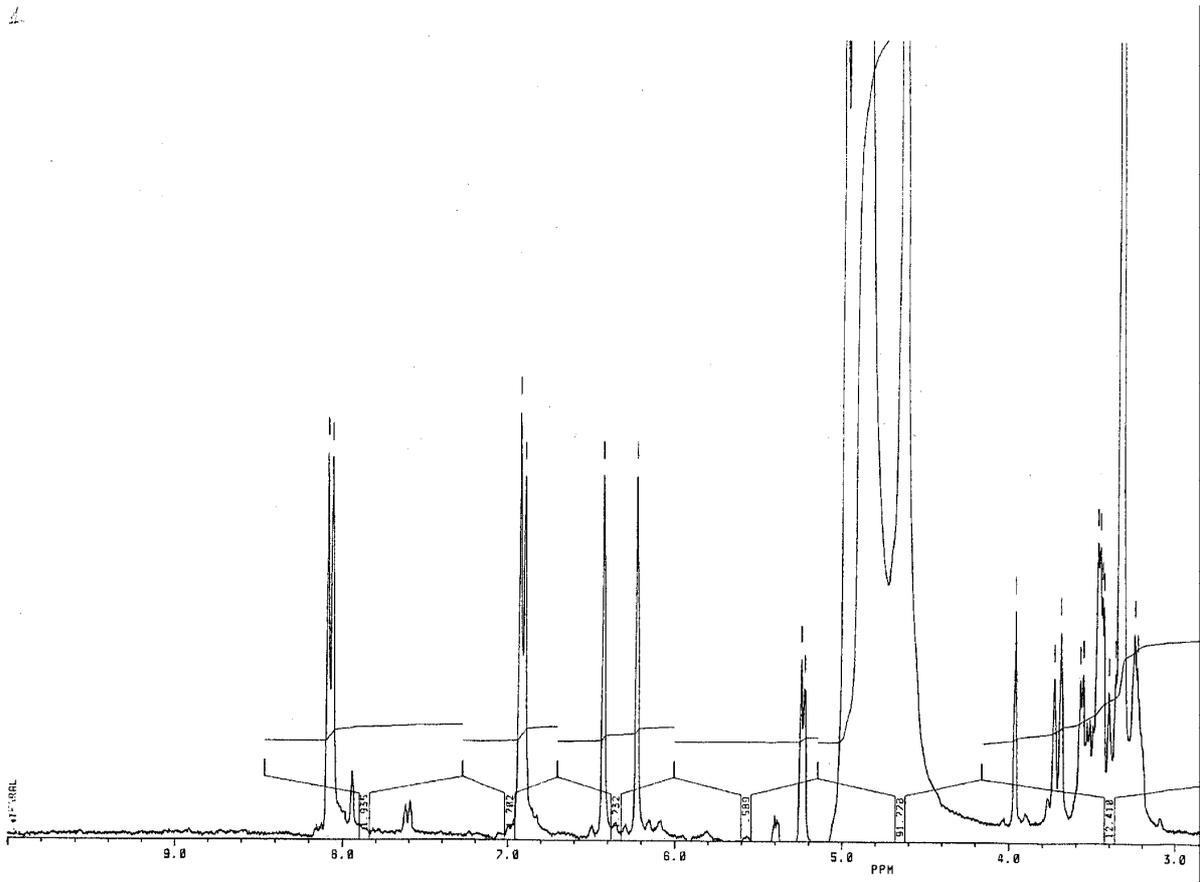


Abb.48 MS Spektrum der Verb.2

Abb.49 <sup>1</sup>H-NMR Spektrum der Verb.3 in CD<sub>3</sub>OD  
(Kaempferol-3-O-glucosid)

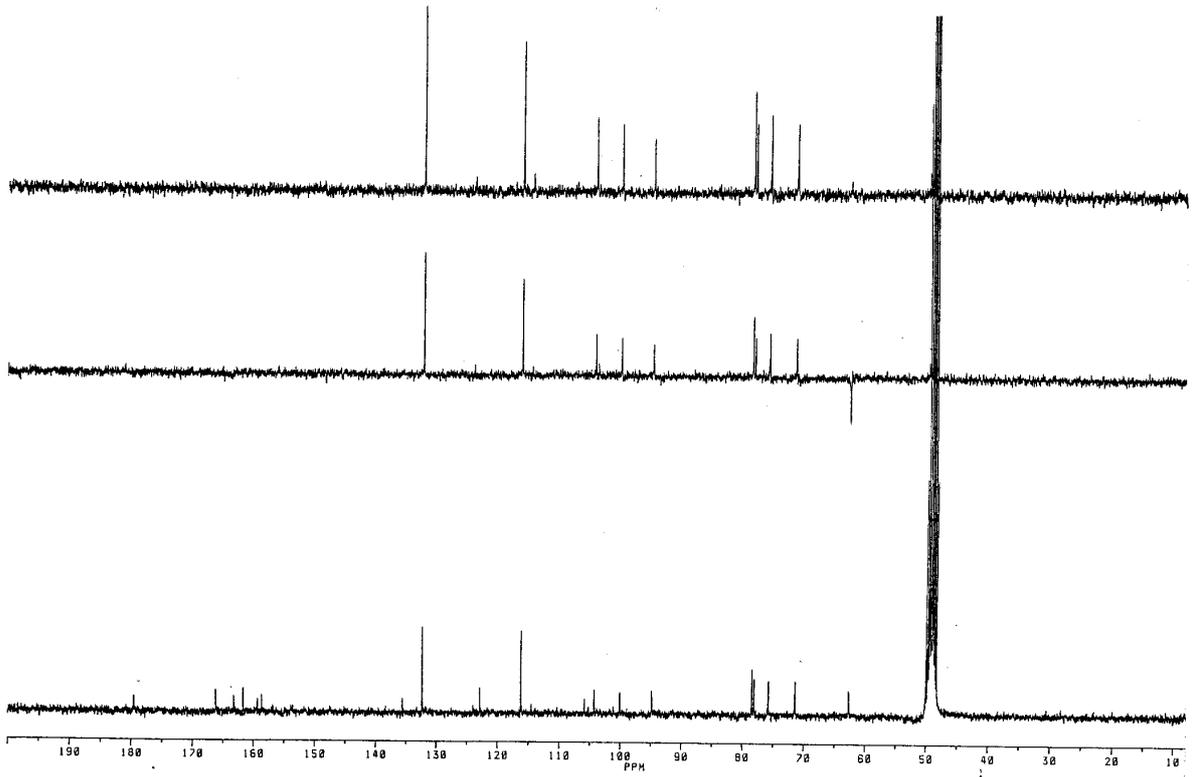
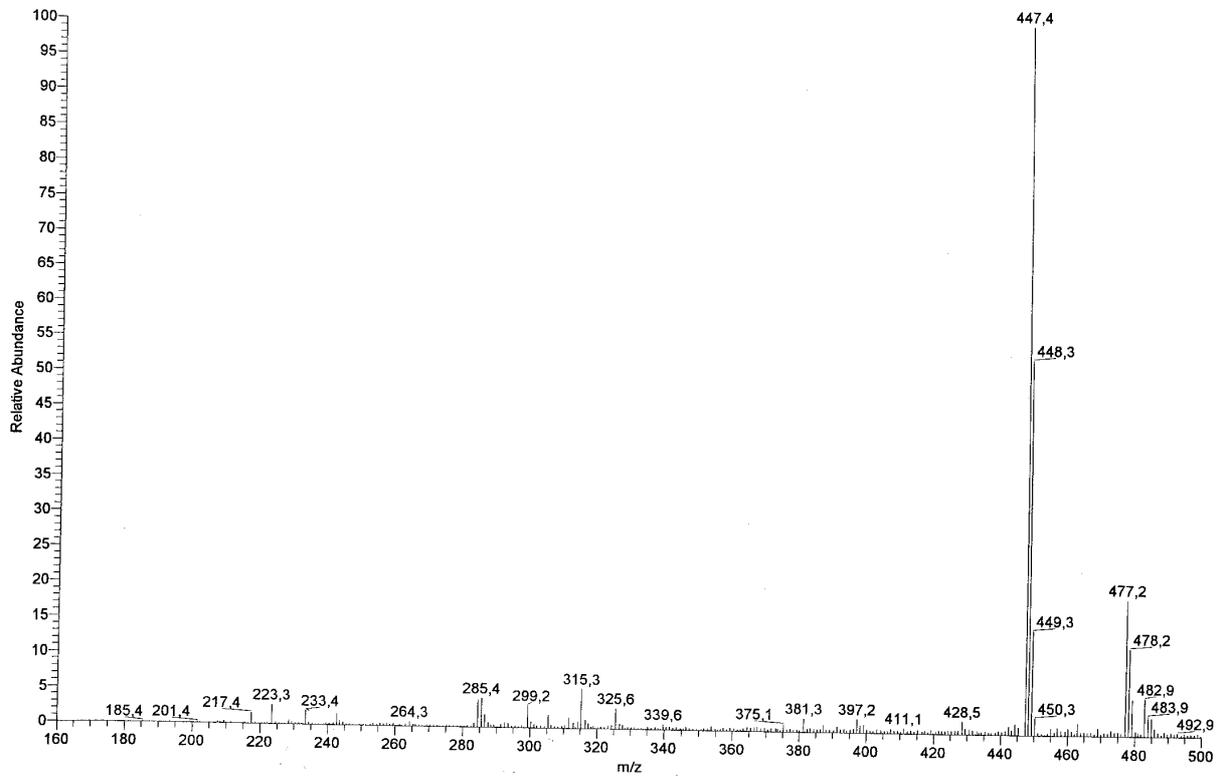
Abb.50  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.3 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

Abb.51 MS Spektrum der Verb.3

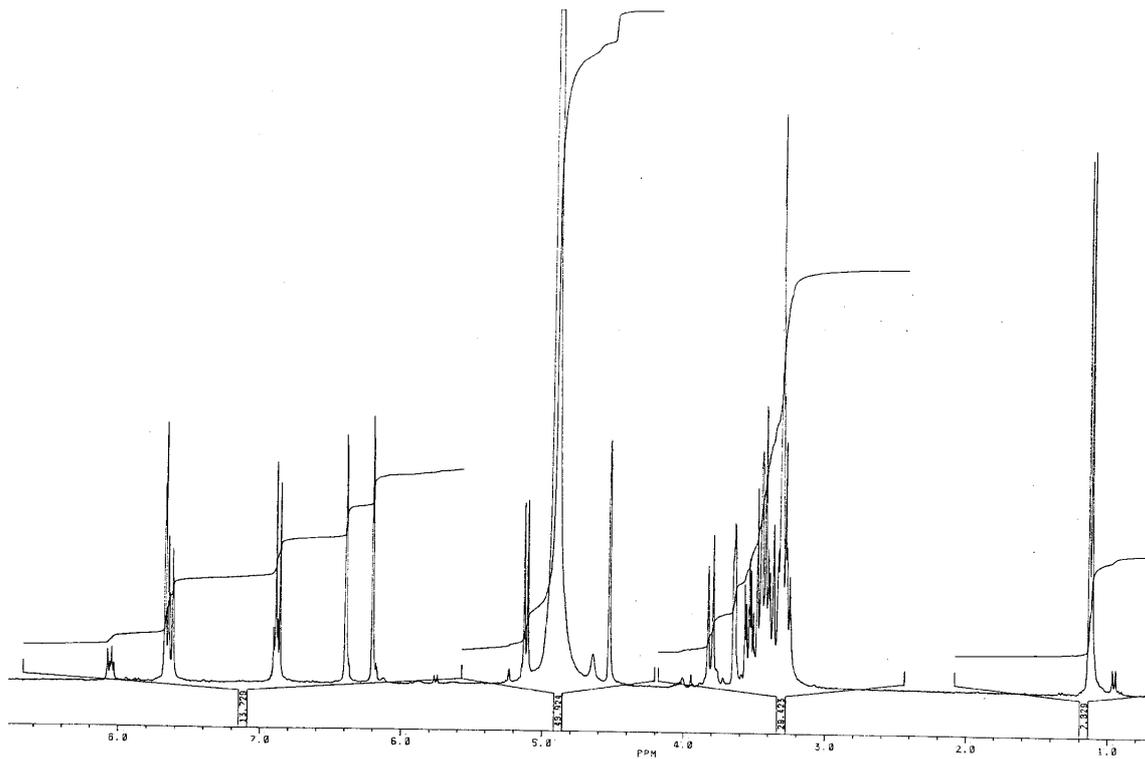


Abb.52  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.4 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

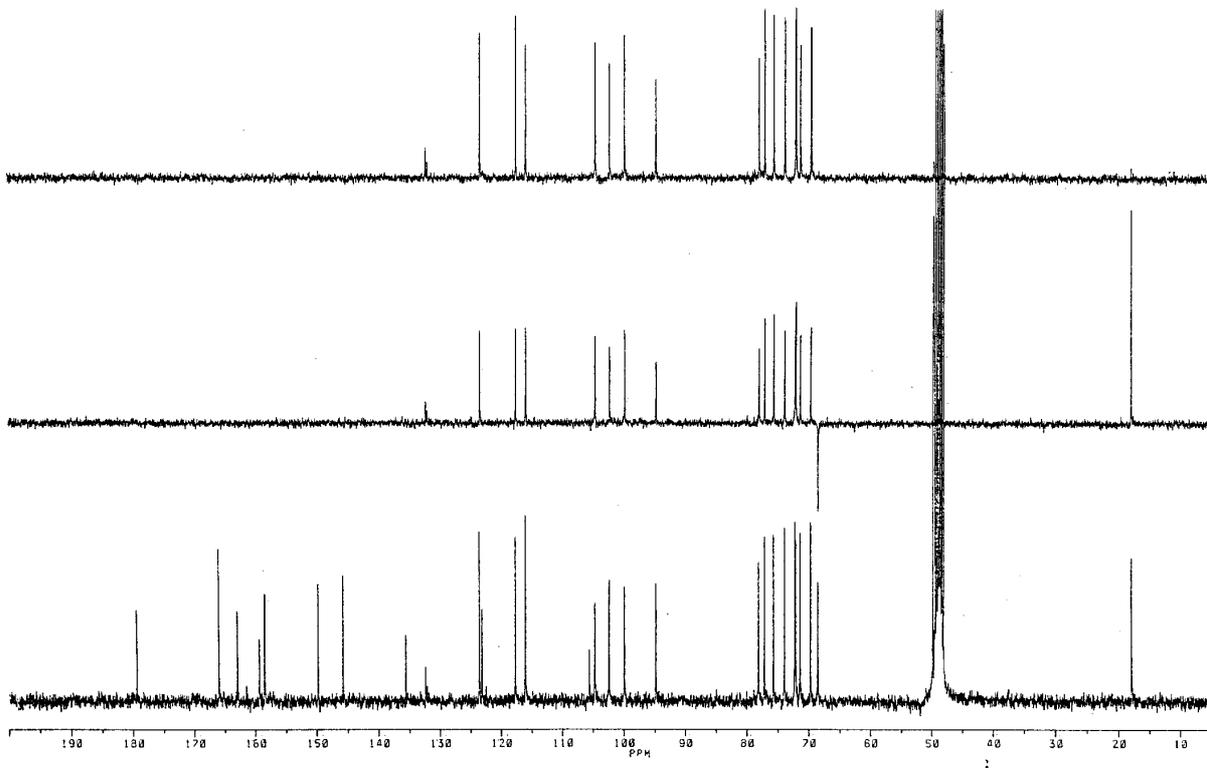


Abb.53  $^{13}\text{C-NMR}$  Spektrum der Verb.4 in  $\text{CD}_3\text{OD}$   
( Quercetin-3-O-rutinosid )

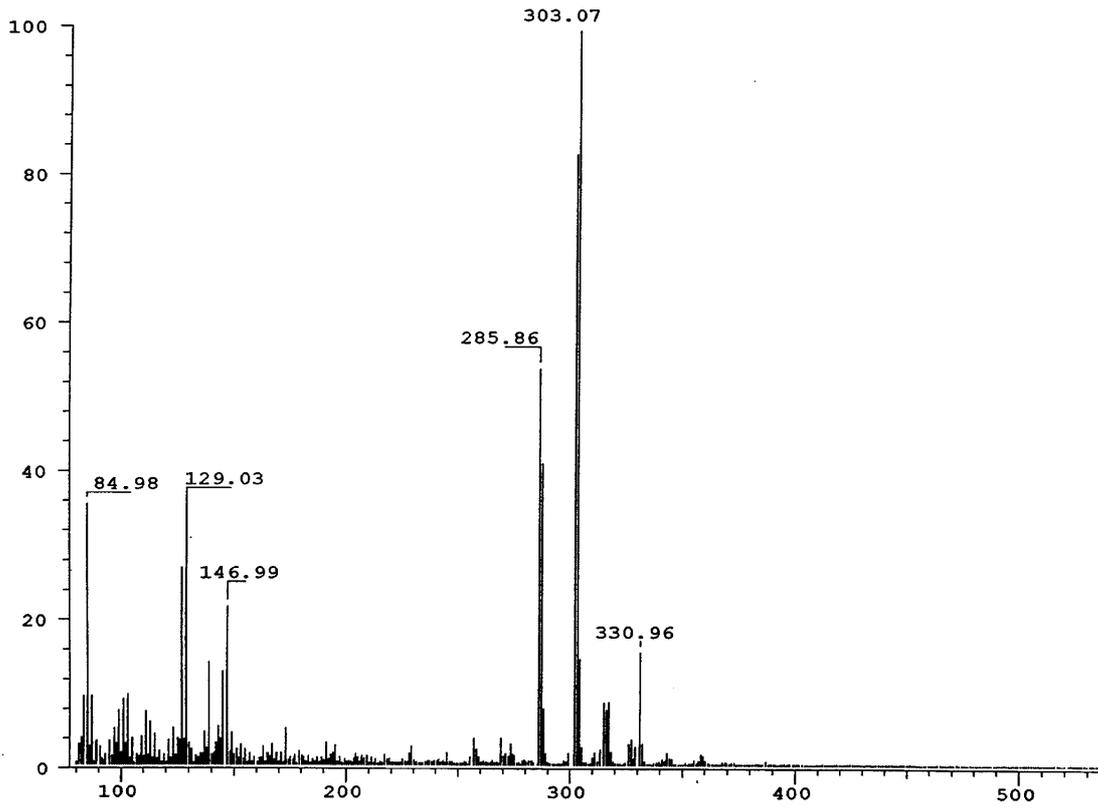
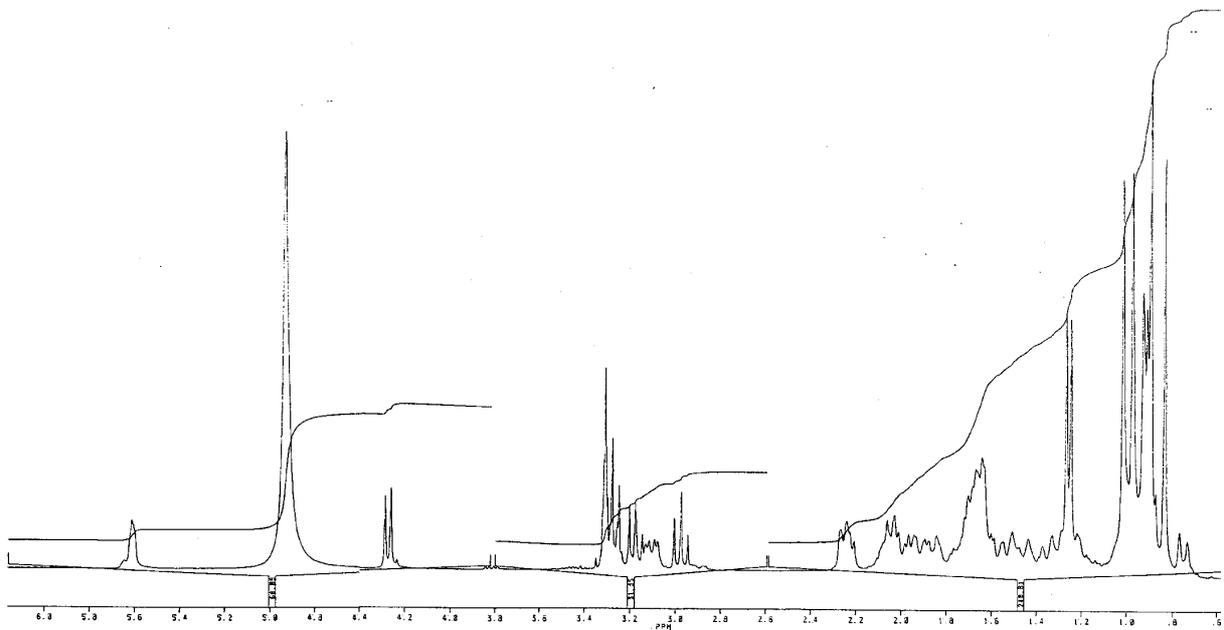


Abb.54 MS Spektrum der Verb.4

Abb.55  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.5 in  $\text{CD}_3\text{OD}$   
(3-O- $\{\beta\text{-D-Quinovyranosyl}\}$ -chinovasäure)

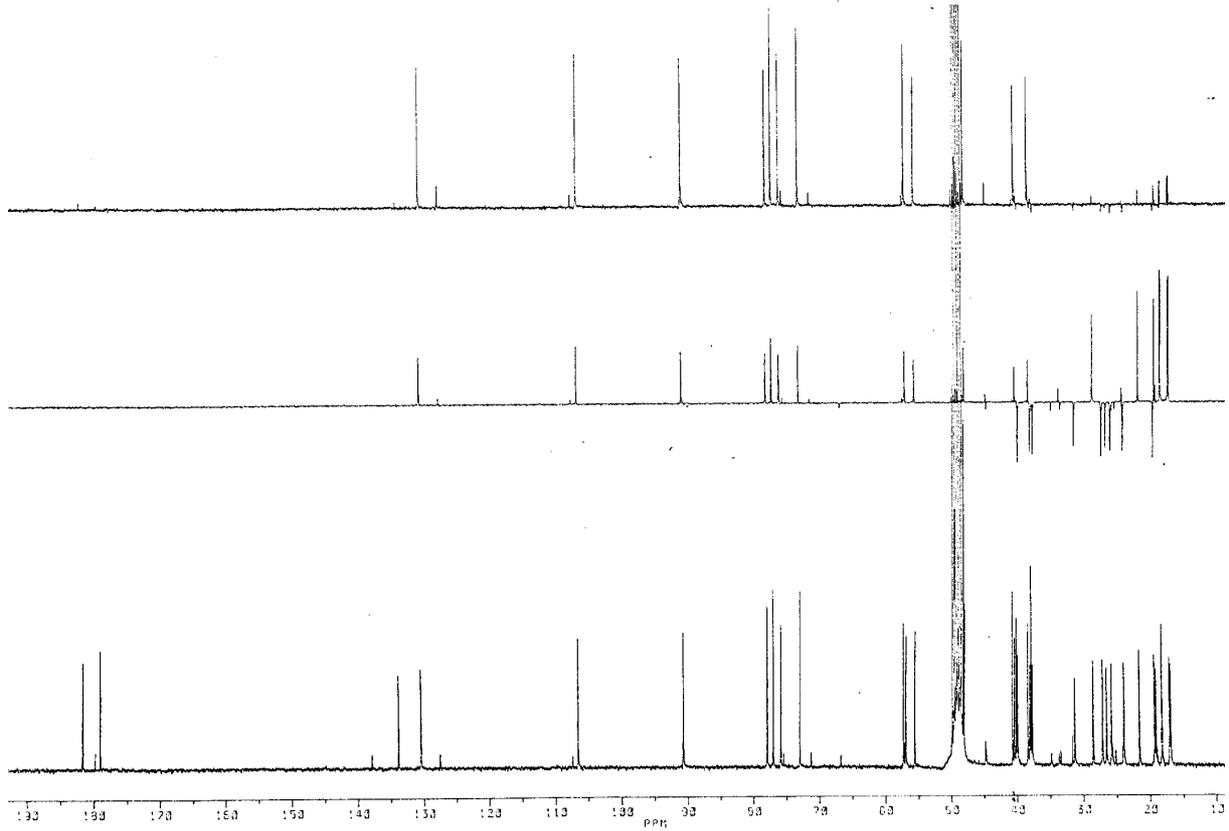
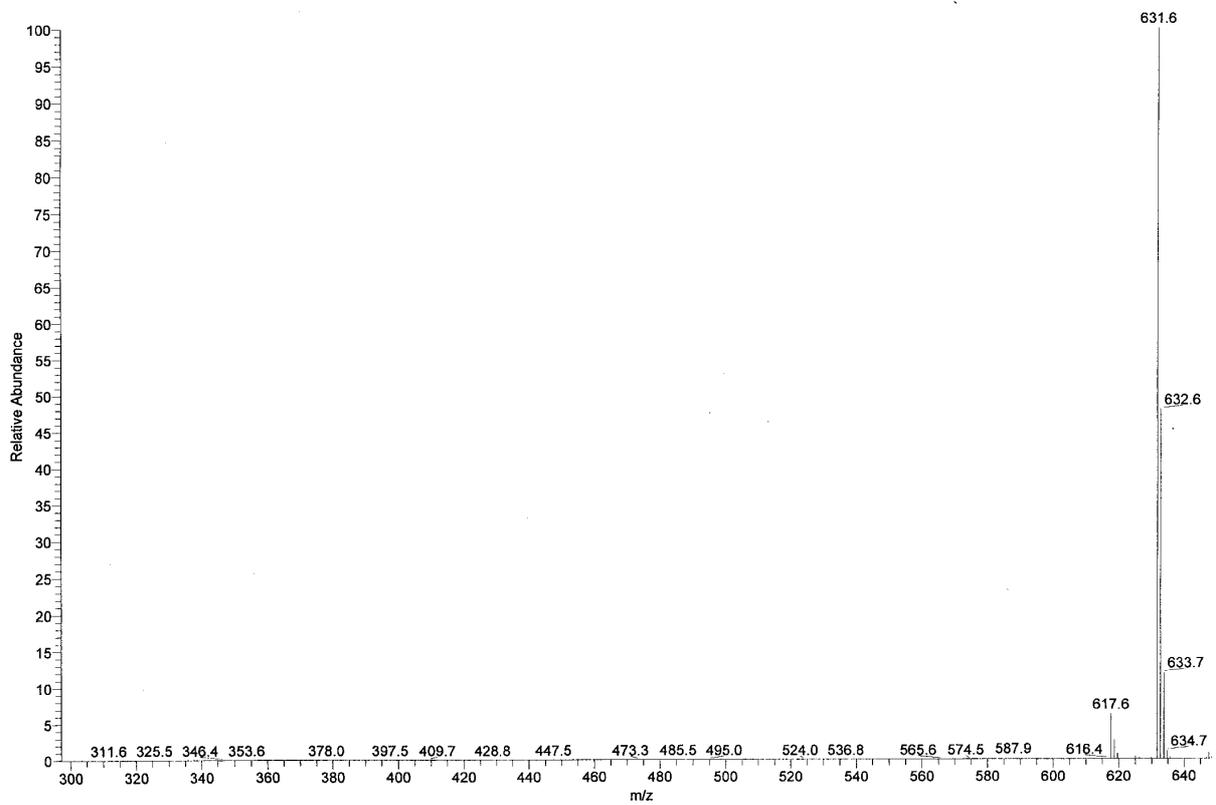
Abb.56  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.5 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

Abb.57 MS Spektrum der Verb.5

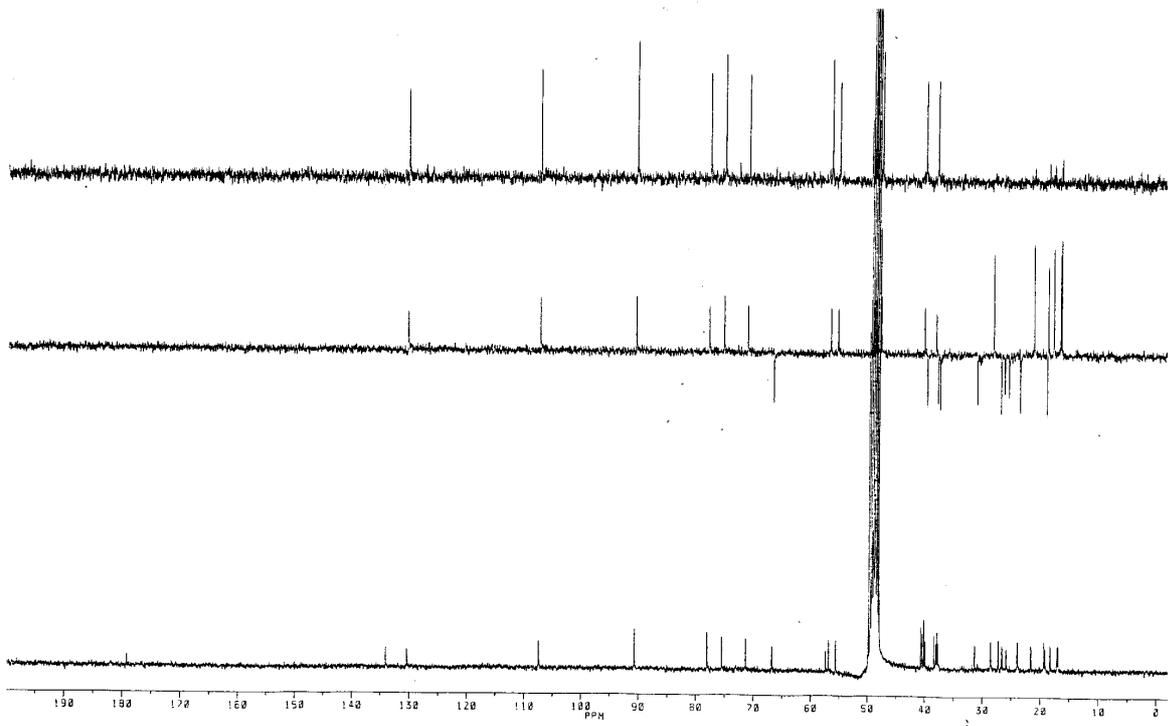


Abb.58  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.6 in  $\text{CD}_3\text{OD}$   
( 3-O- $\{\beta\text{-D-Xylopyranosyl}\}$ -chinovasäure )

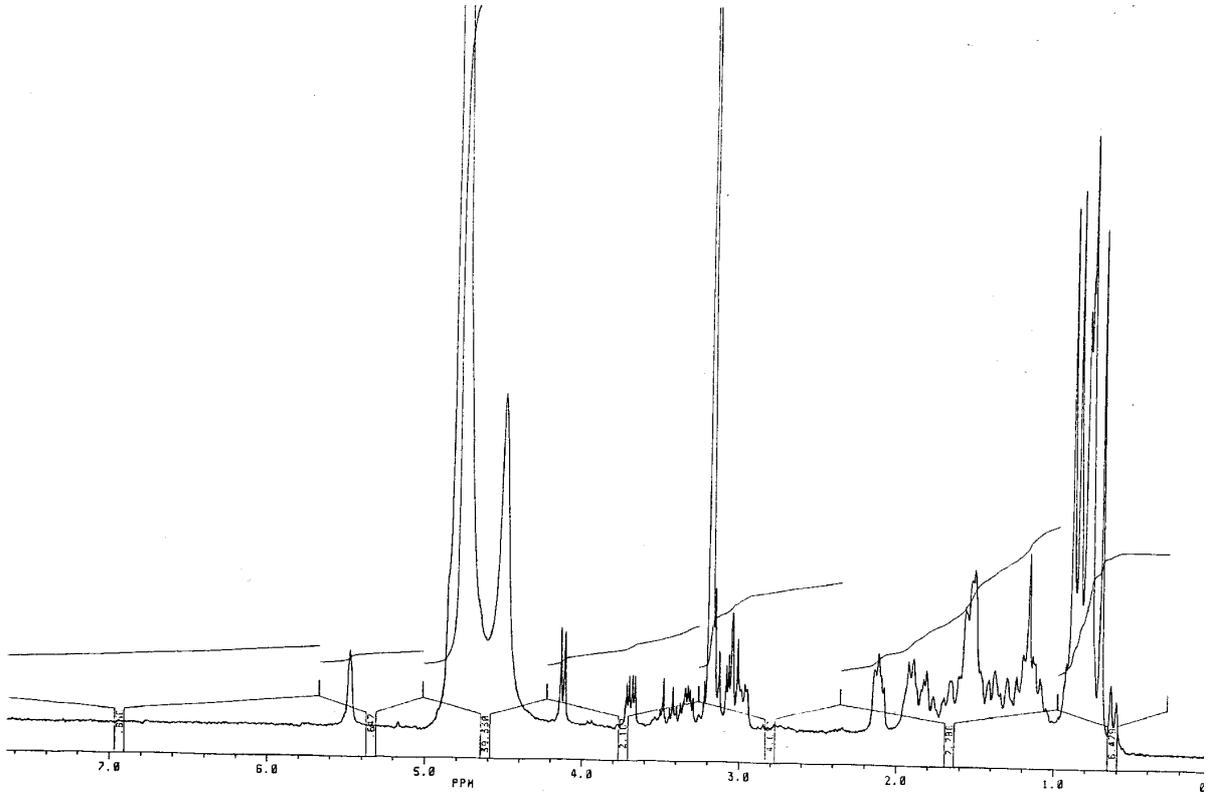


Abb.59  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.6 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

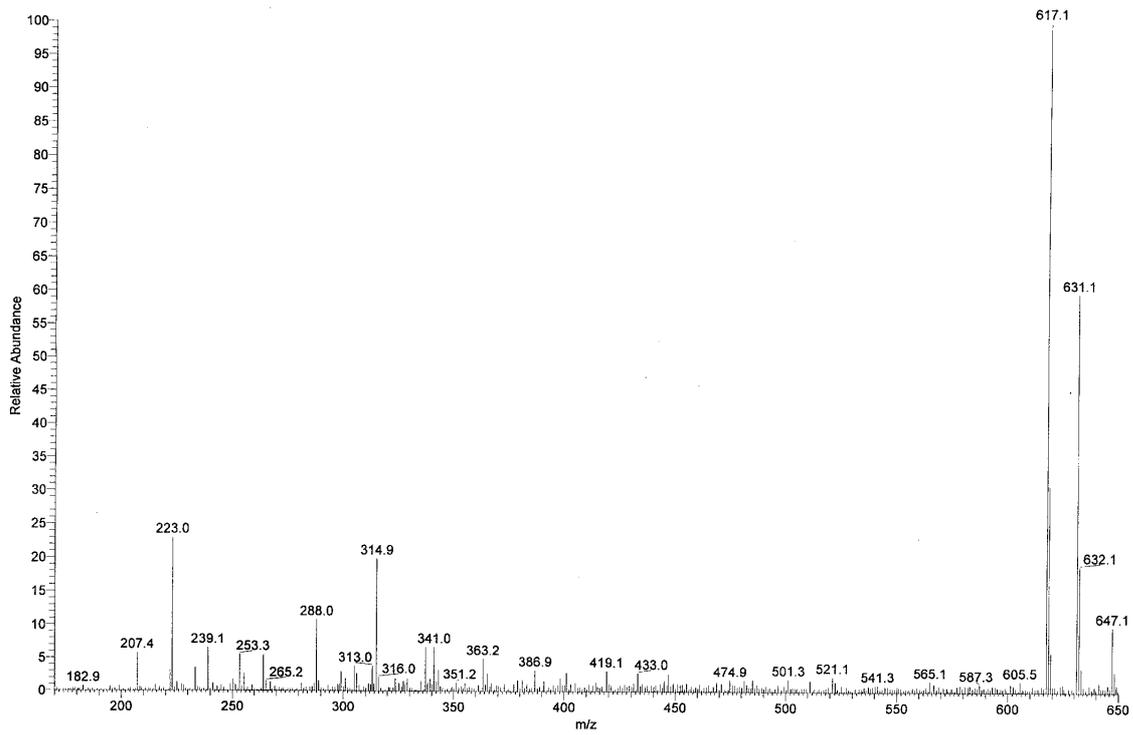
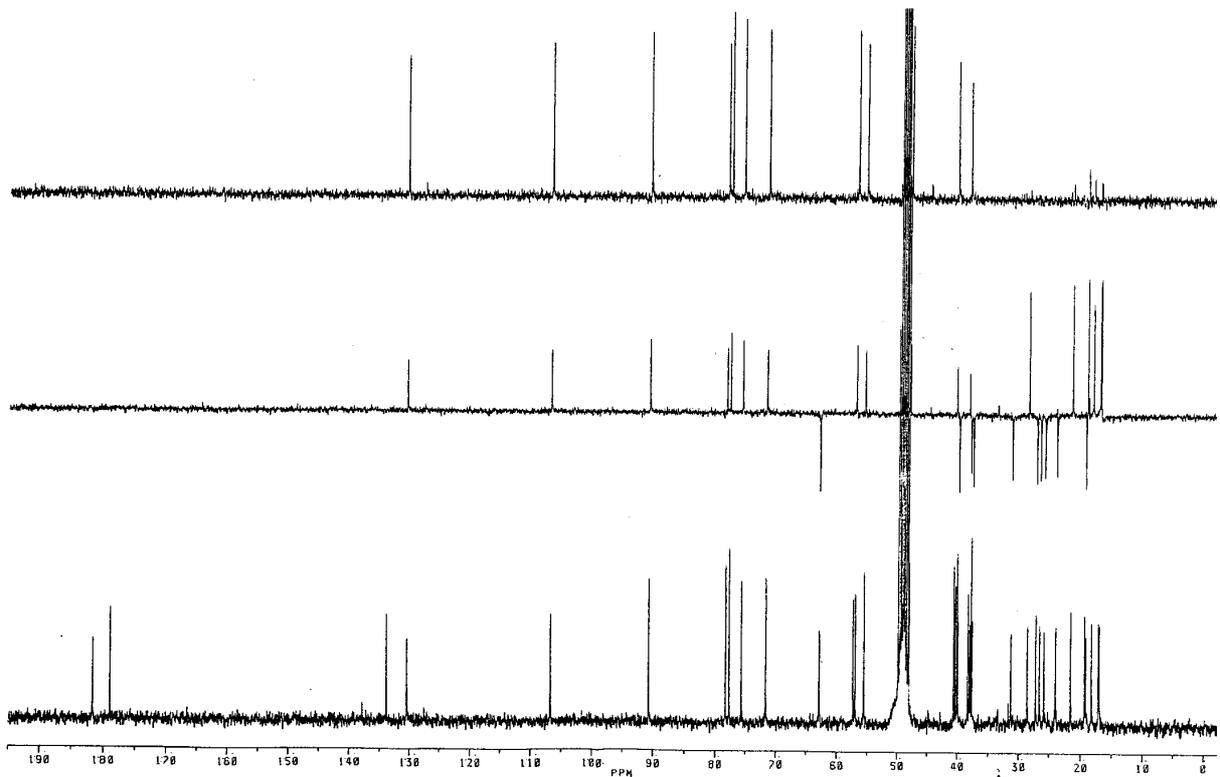


Abb.60 MS Spektrum der Verb.6

Abb.61  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.7 in  $\text{CD}_3\text{OD}$   
(3-O- $\{\beta\text{-D-Glucopyranosyl}\}$ -chinovasäure)

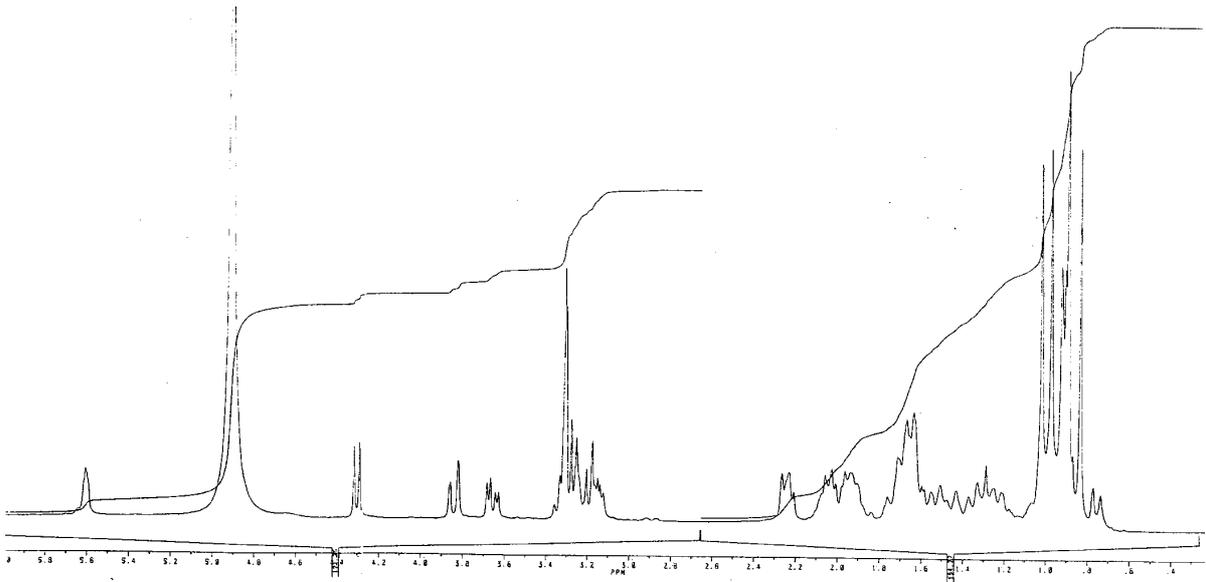
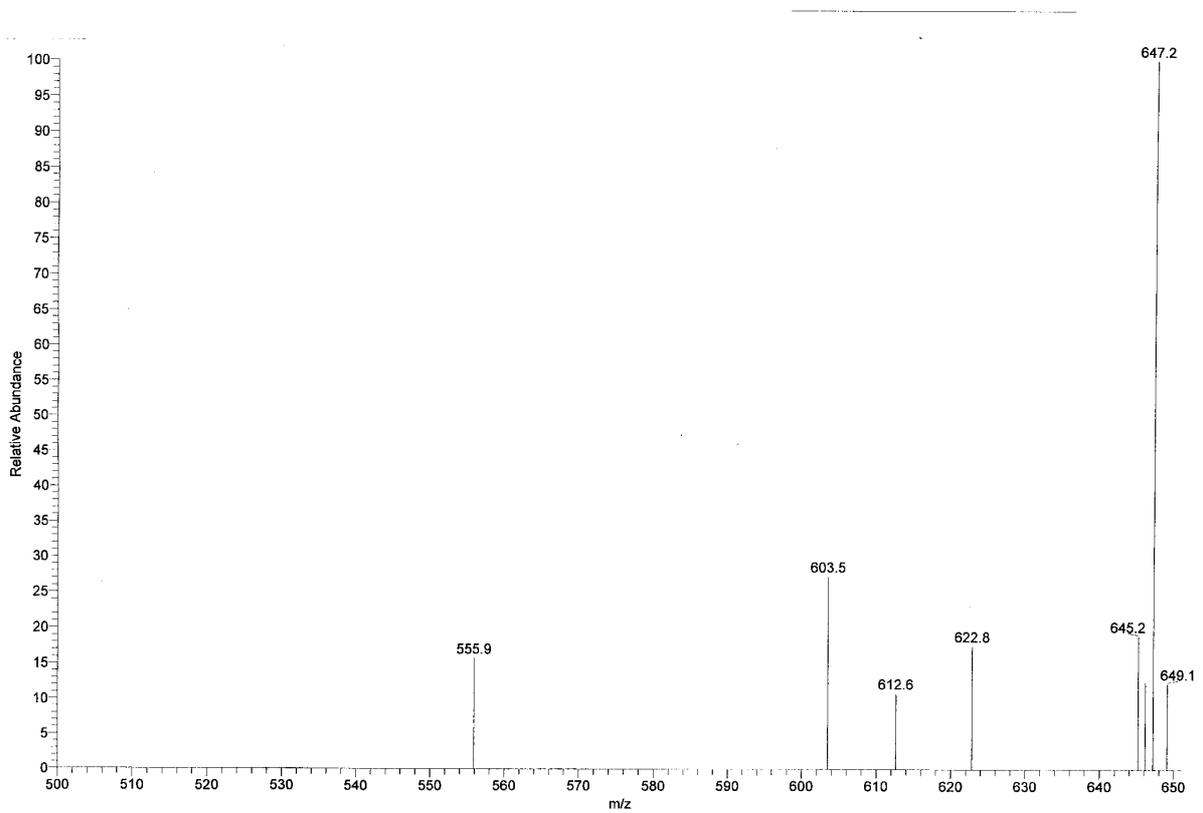
Abb.62  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.7 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

Abb.63 MS Spektrum der Verb.7

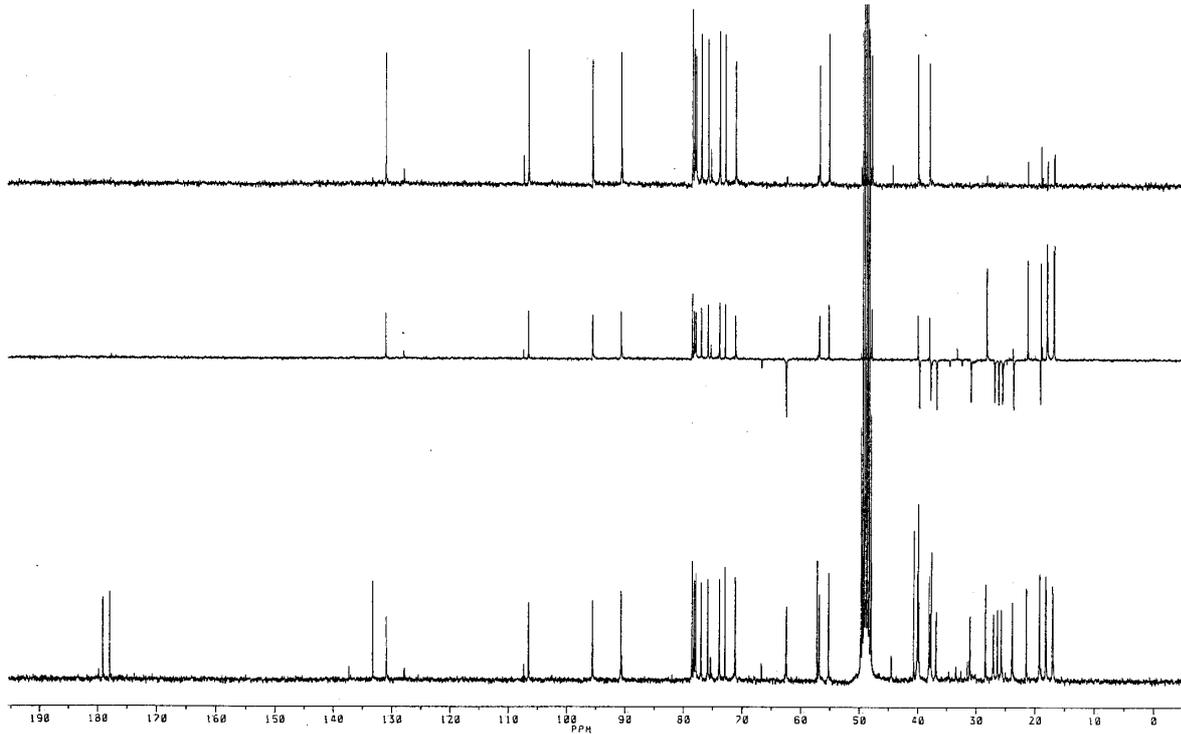


Abb.64  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.8 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

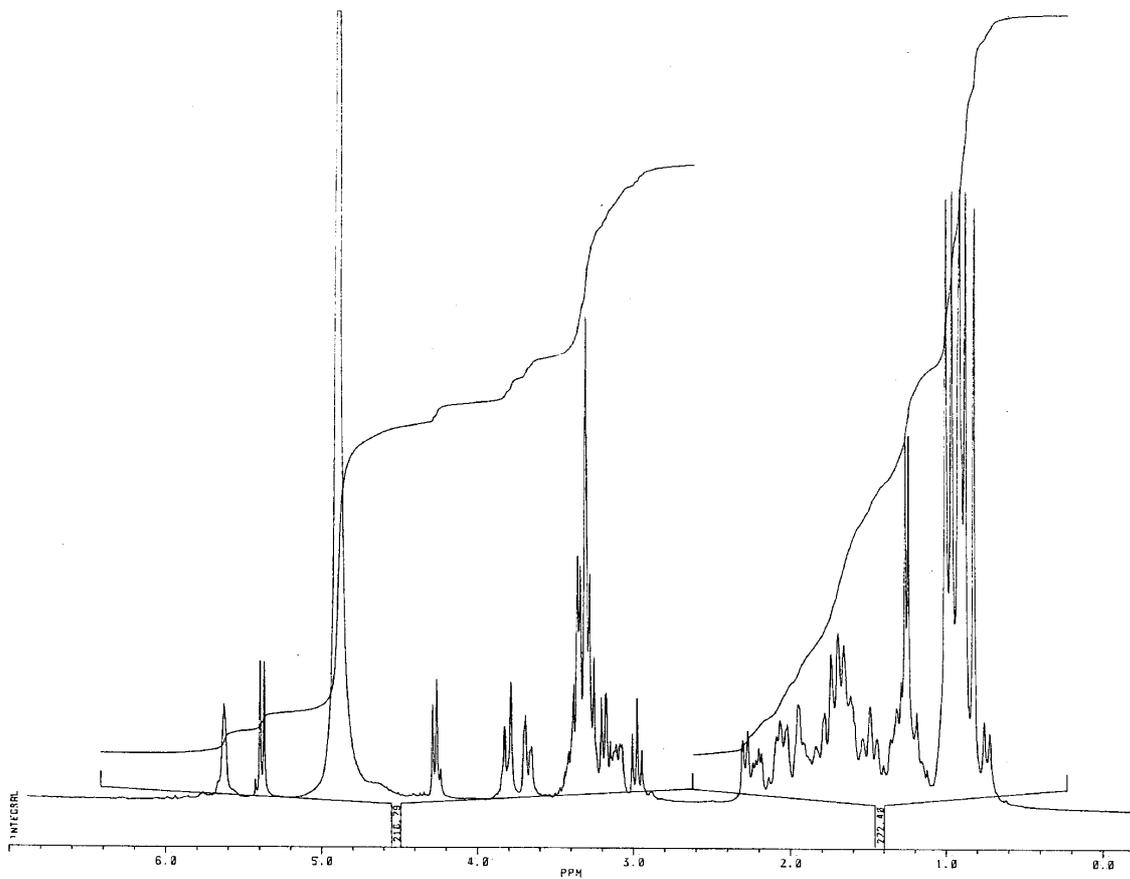


Abb.65  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.8 in  $\text{CD}_3\text{OD}$   
 ( 3-O- $\{\beta\text{-D-Quinovopyranosyl}\}$ -chinovasäure-28-O- $\{\beta\text{-D-glucopyranosyl}\}$ -ester )

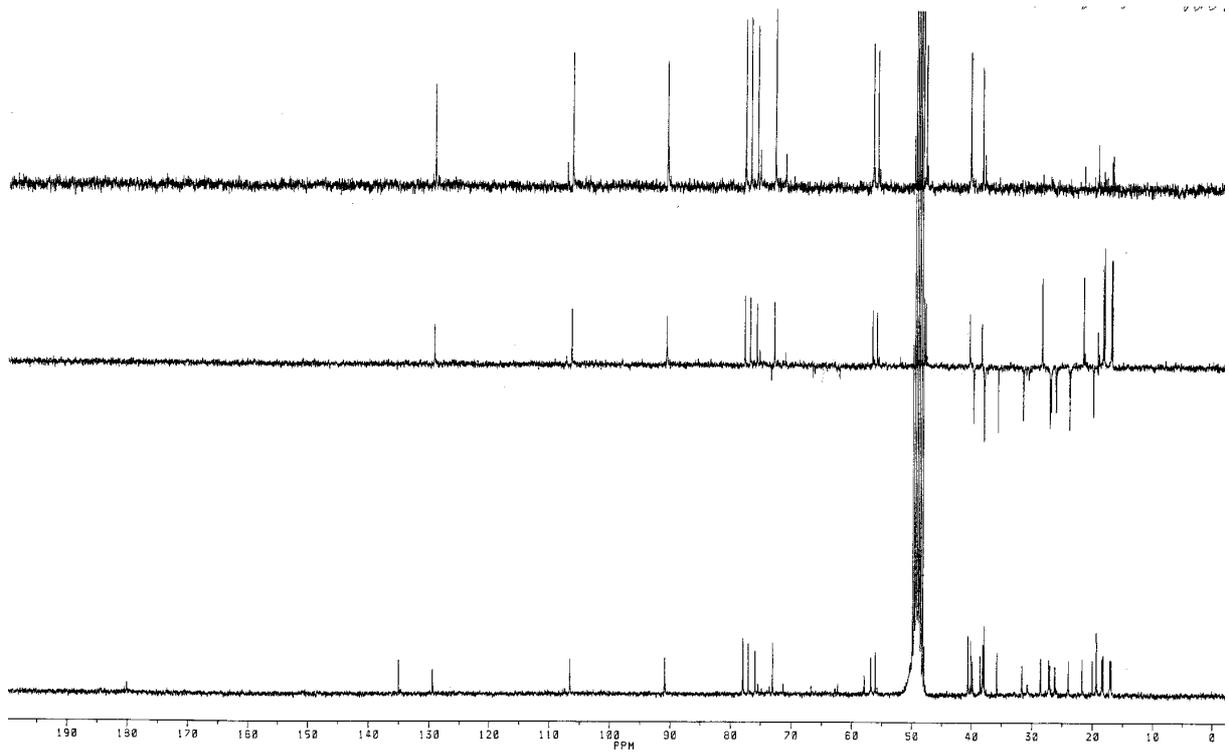
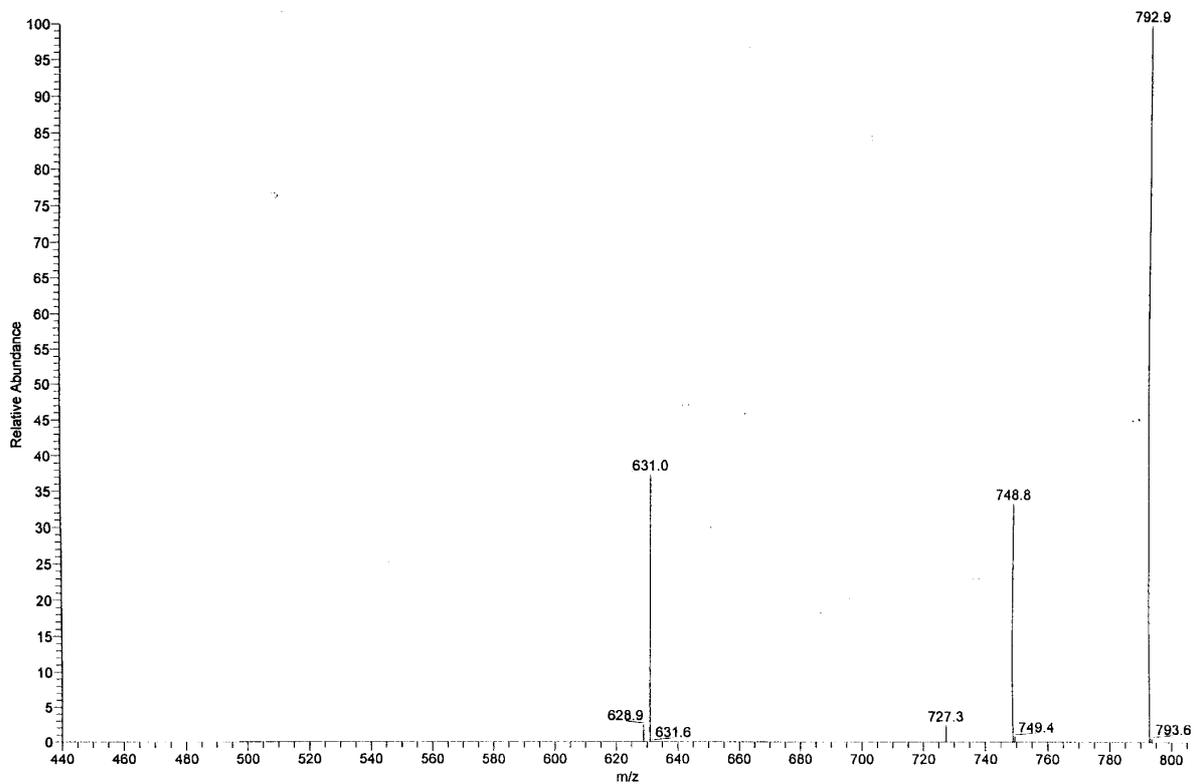
Abb.66  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.8a in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

Abb.67 MS Spektrum der Verb.8

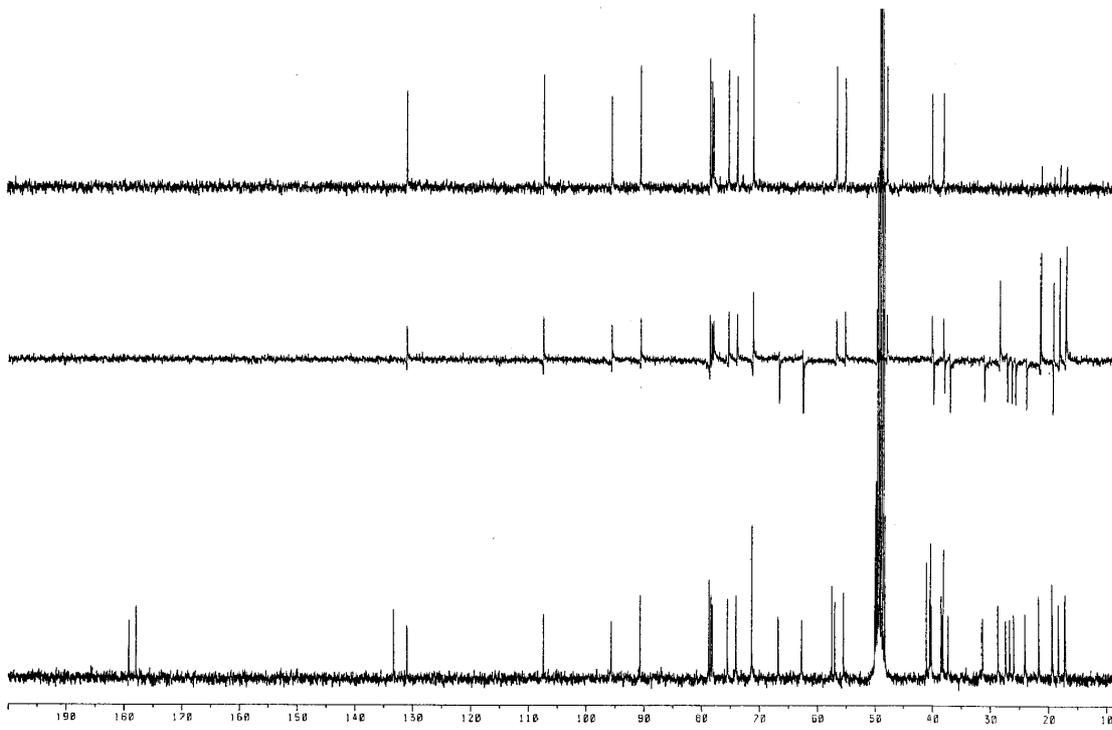


Abb.68  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.9 in  $\text{CD}_3\text{OD}$   
( 3-O- $\{\beta\text{-D-Xylopyranosyl}\}$ -chinovasäure-28-O- $\{\beta\text{-D-glucopyranosyl}\}$ -ester )

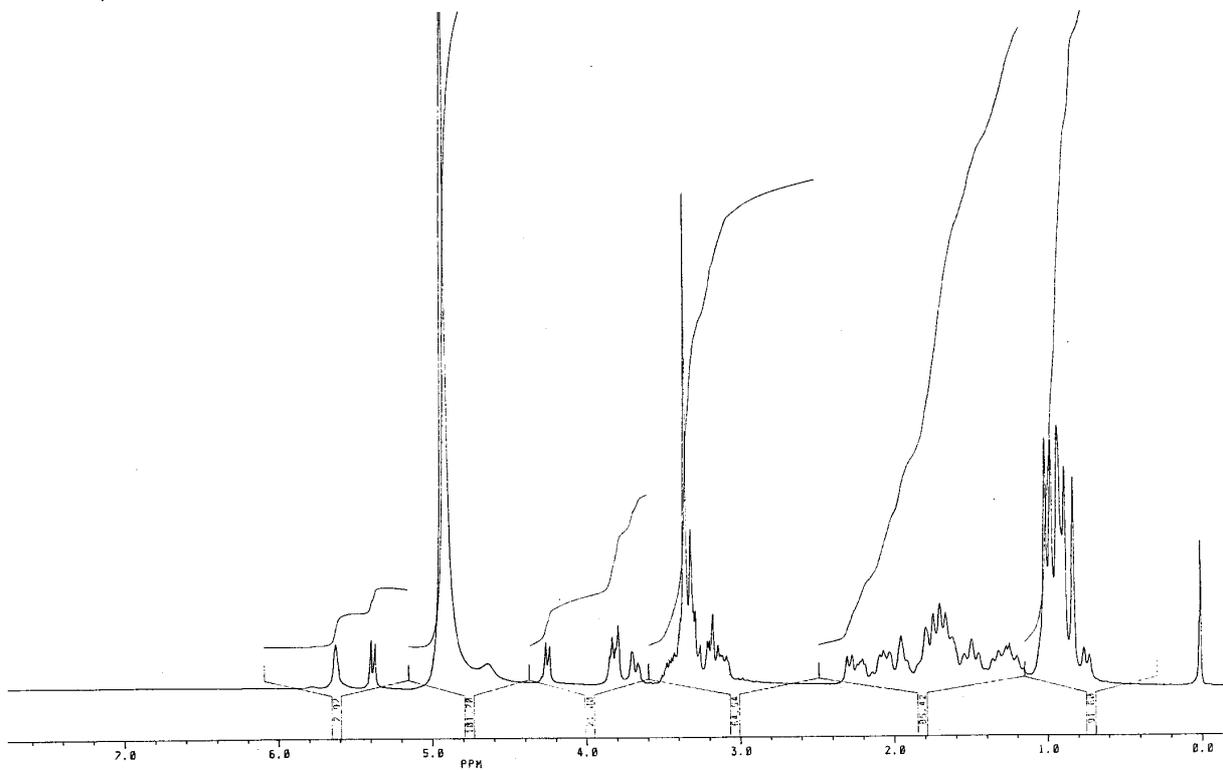


Abb.69  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.9 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

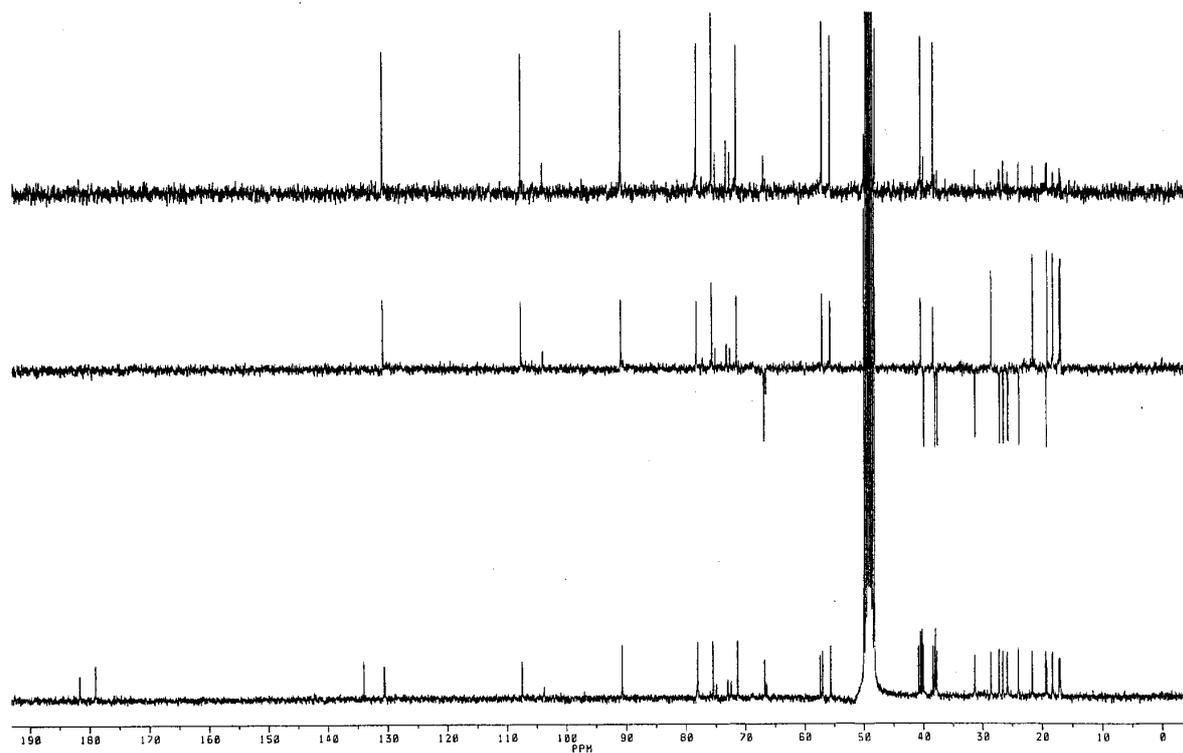


Abb.70  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.**9b** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

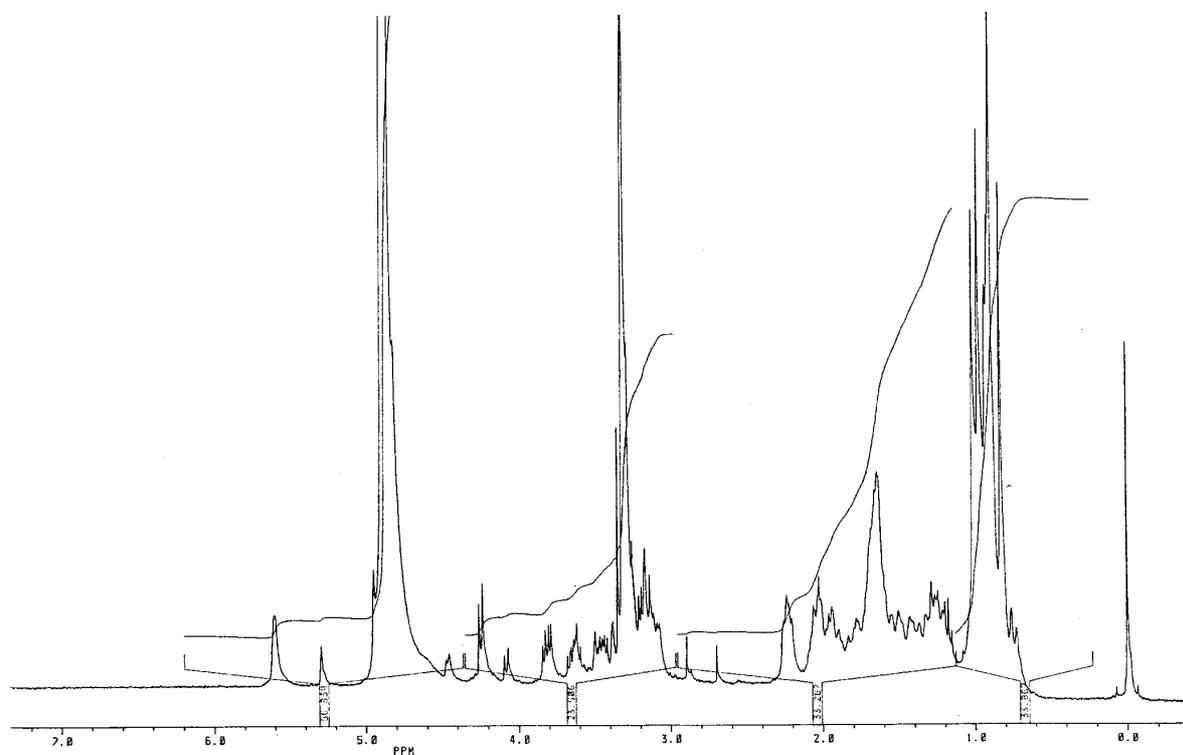


Abb.71  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.**9b** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

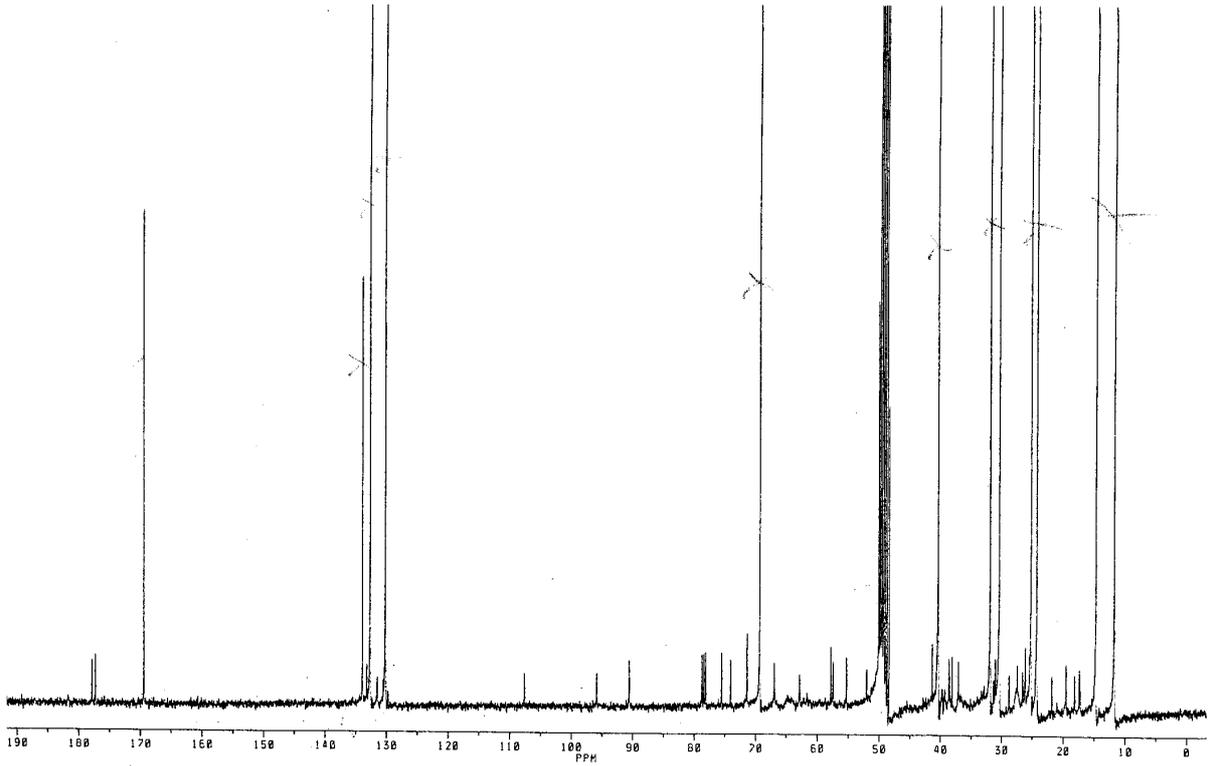


Abb.72  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.9a in  $\text{CD}_3\text{OD}$  (x - Verunreinigung)

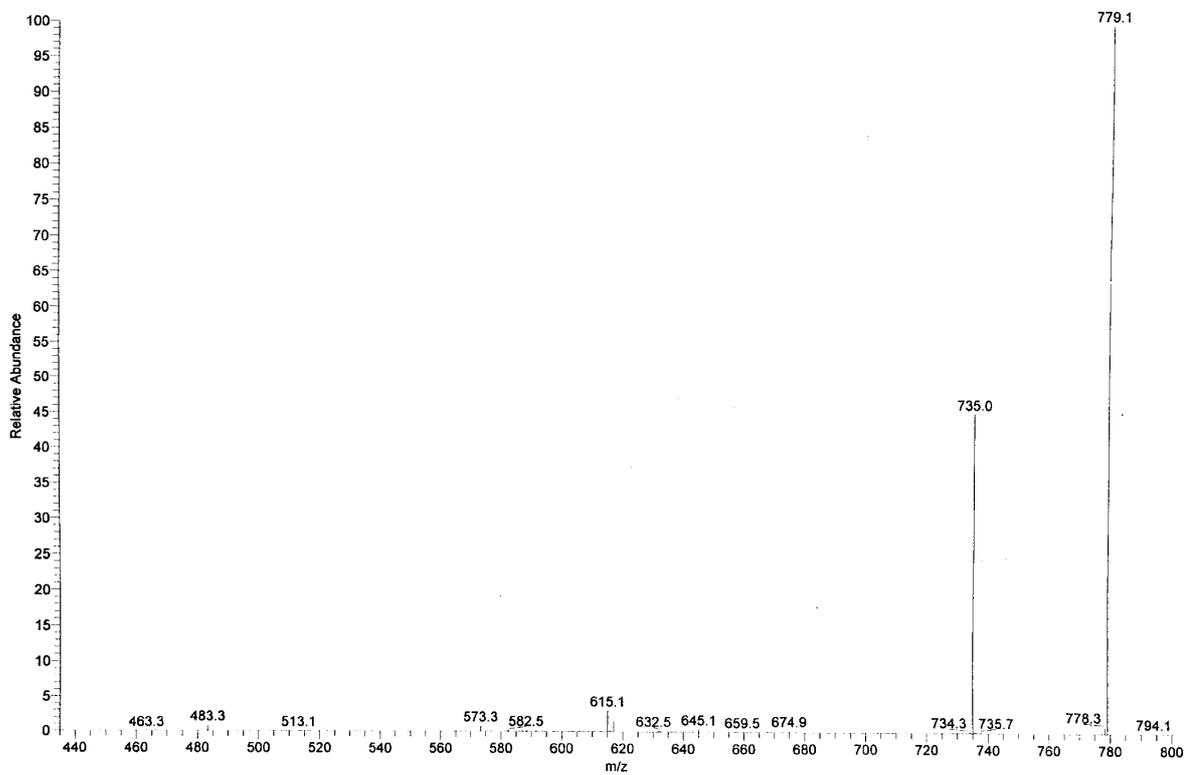


Abb.73 MS Spektrum der Verb.9

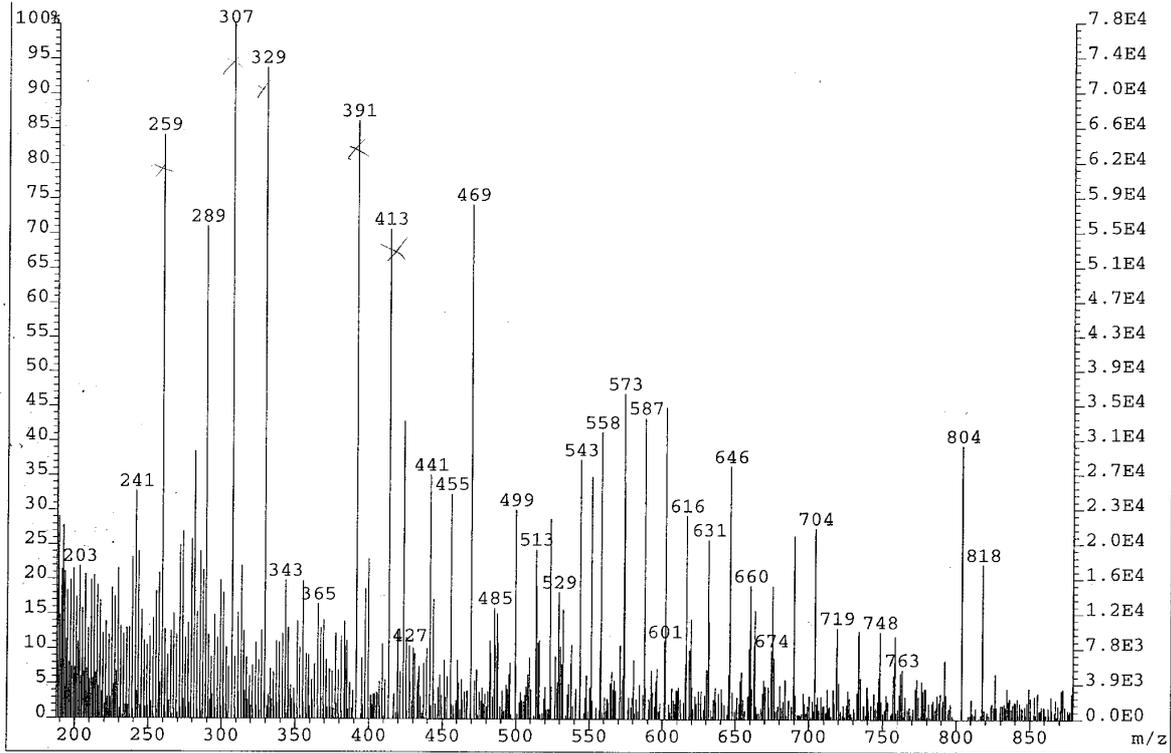


Abb.74 FAB-MS Spektrum der Verb.9

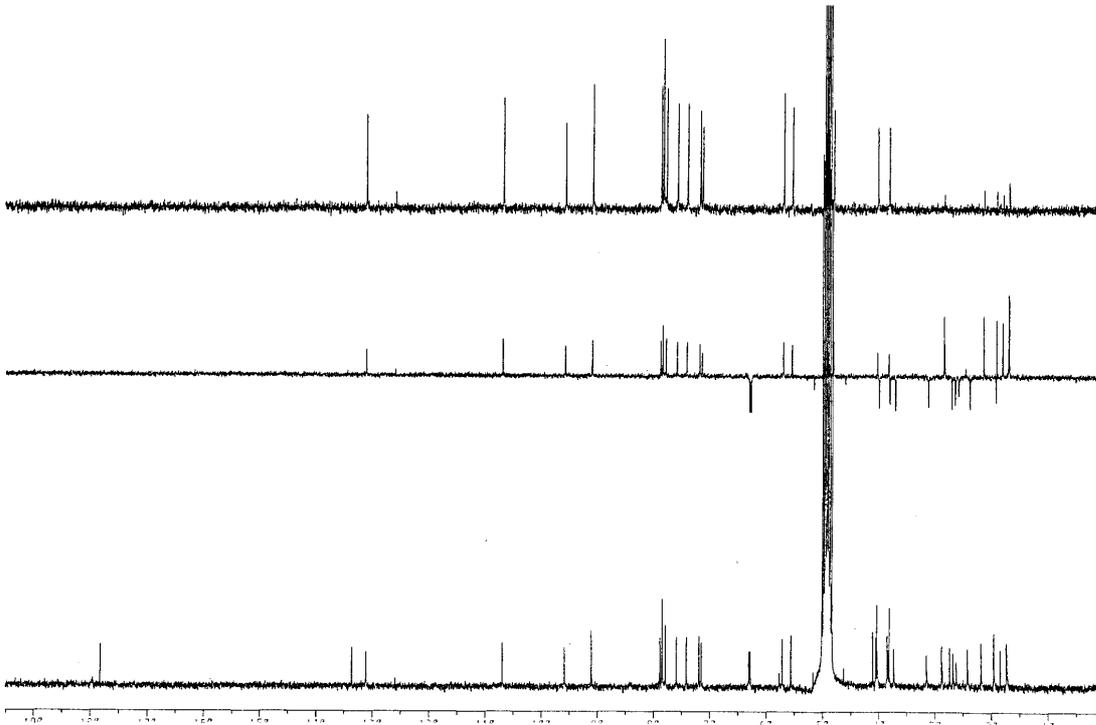


Abb.75  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.10 in  $\text{CD}_3\text{OD}$   
 ( 3-O- $\{\beta\text{-D-Glucopyranosyl}\}$ -chinovasäure-28-O- $\{\beta\text{-D-glucopyranosyl}\}$ -ester )

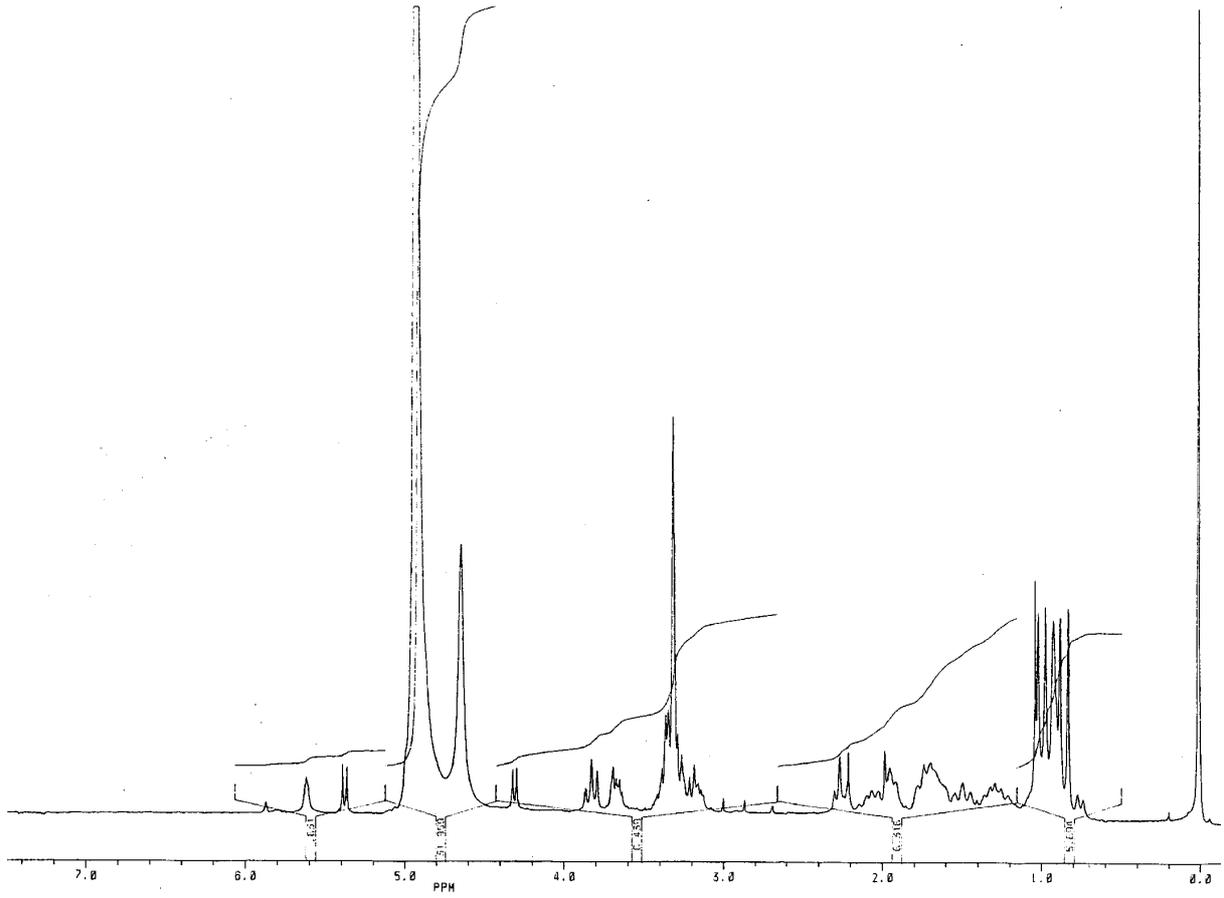
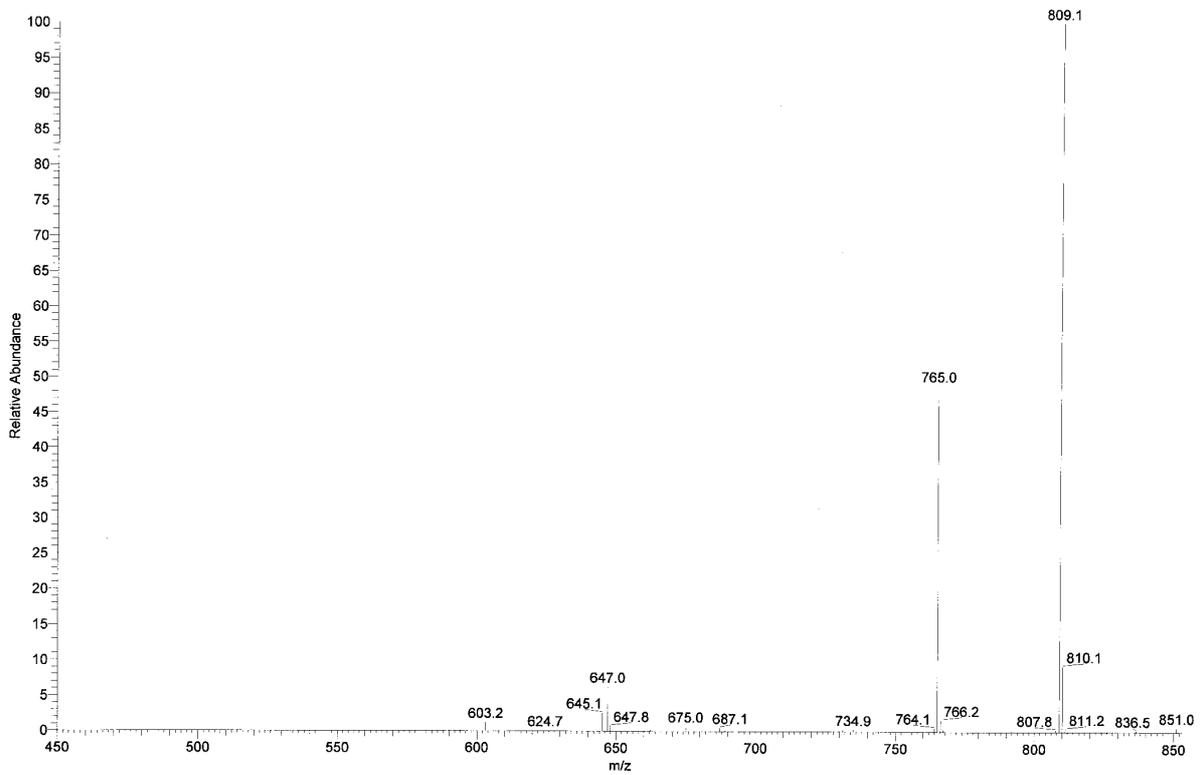
Abb.76  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.10 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

Abb.77 MS Spektrum der Verb.10

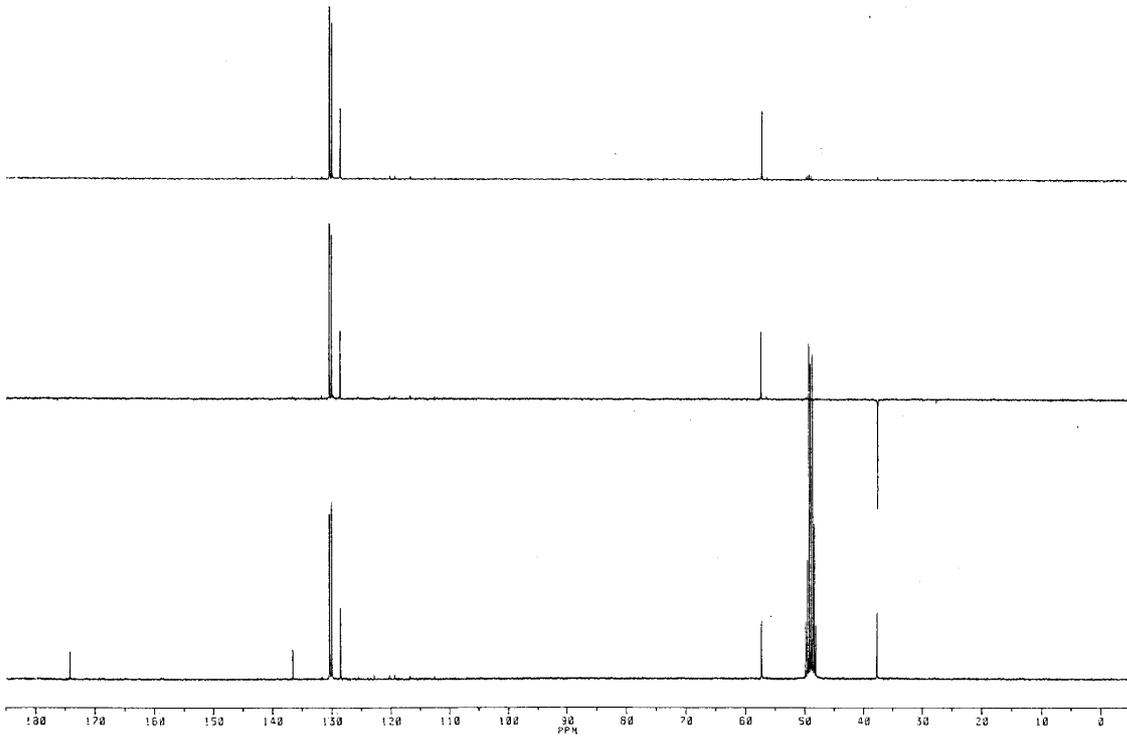


Abb.78  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.11 in  $\text{D}_2\text{O} + \text{CD}_3\text{OD}$   
( Phenylalanin )

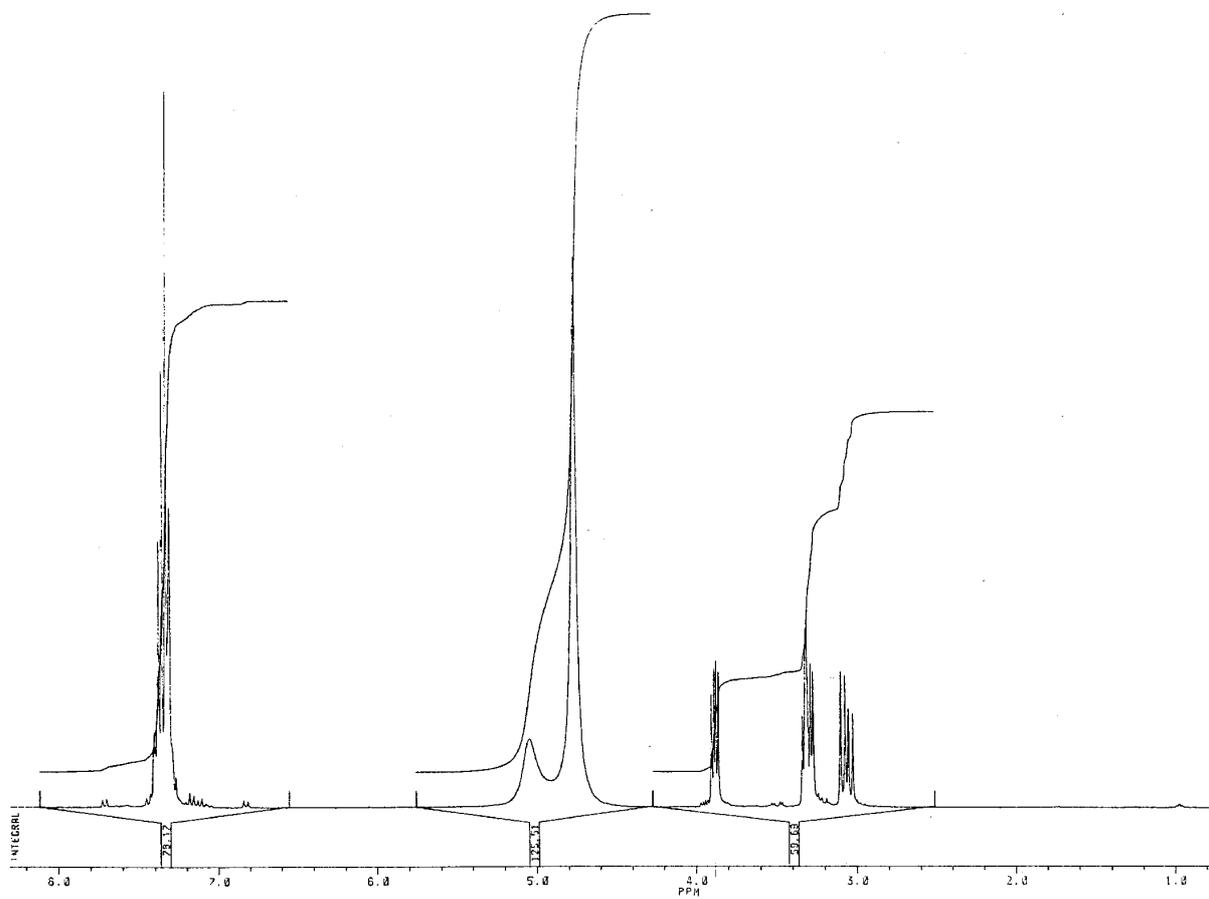


Abb.79  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.11 in  $\text{D}_2\text{O} + \text{CD}_3\text{OD}$

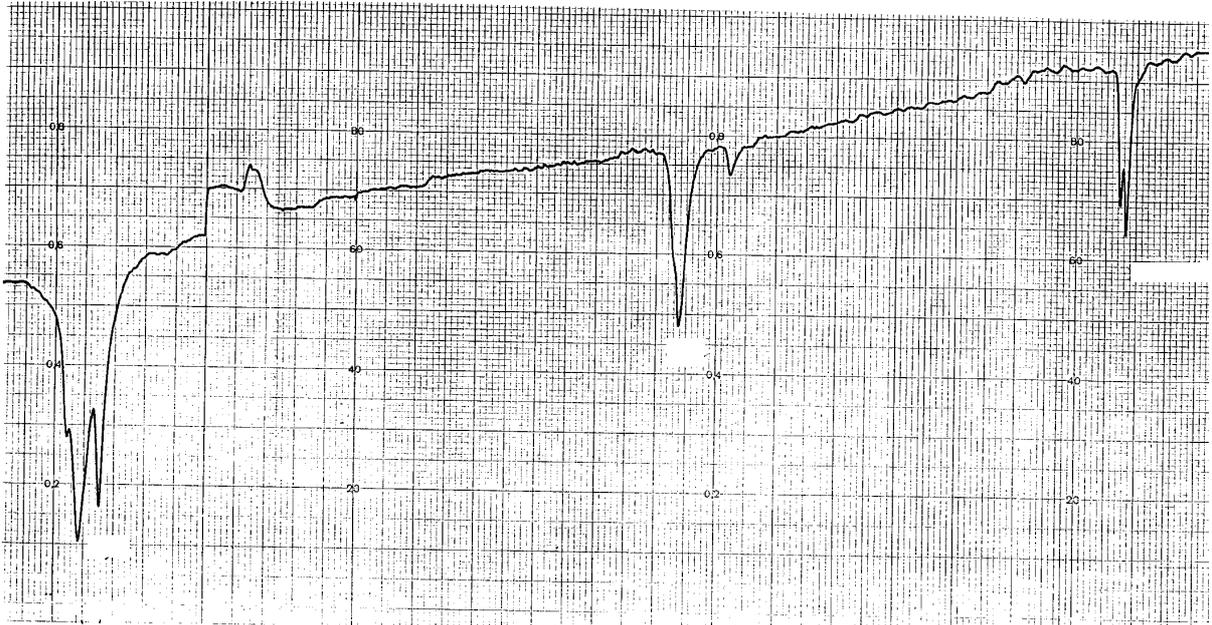


Abb.80 IR Spektrum der Verb.12  
( n-Hendriacontan )

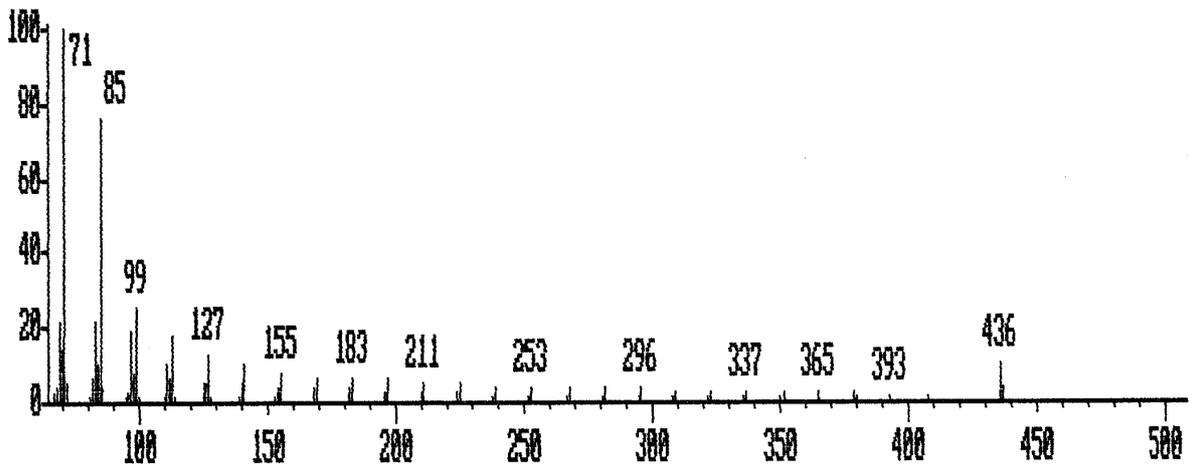


Abb.81 MS Spektrum der Verb.12

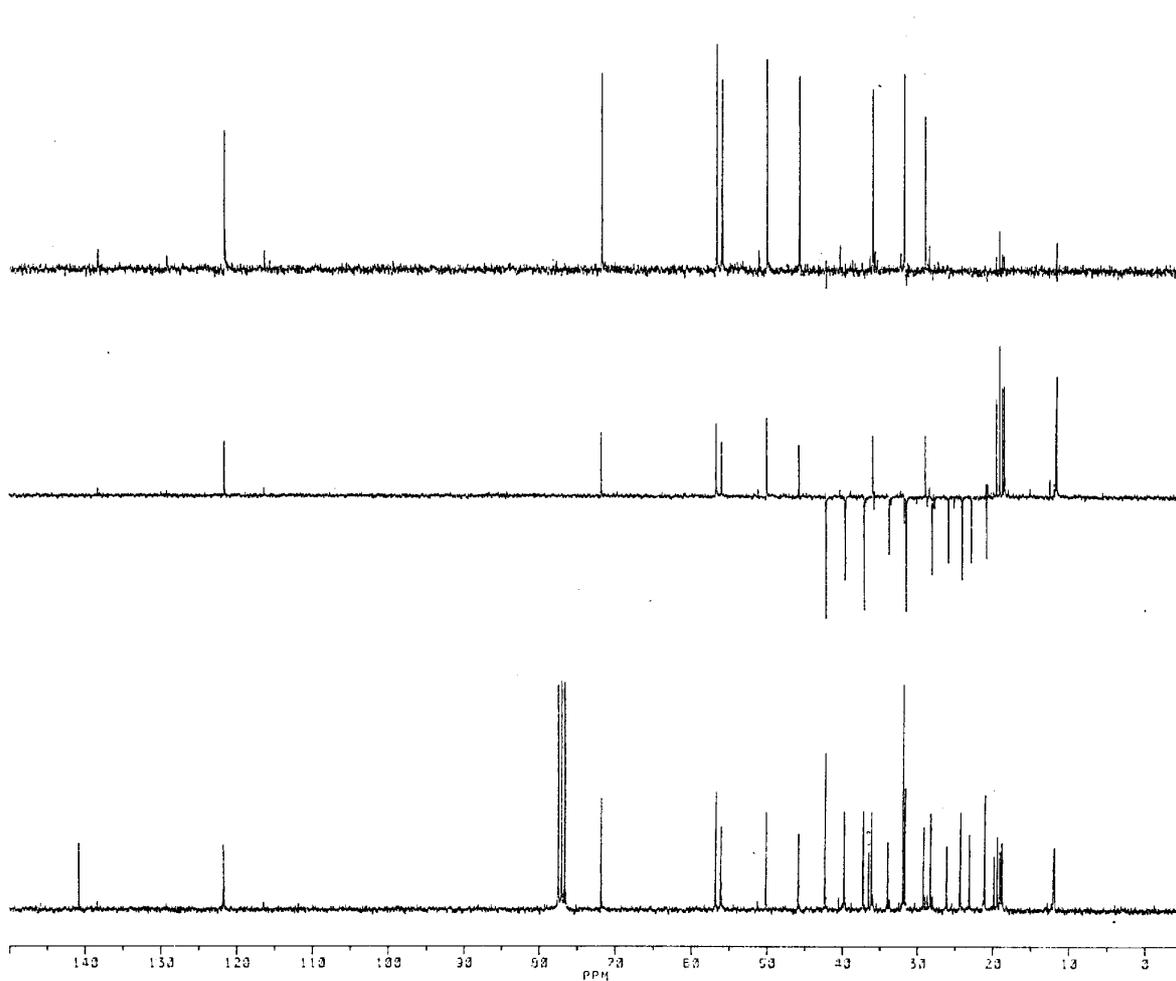


Abb.82  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.13 in  $\text{CDCl}_3$   
(  $\beta$ -Sitosterin, 24-Ethyl-cholest-5-en-3-ol )

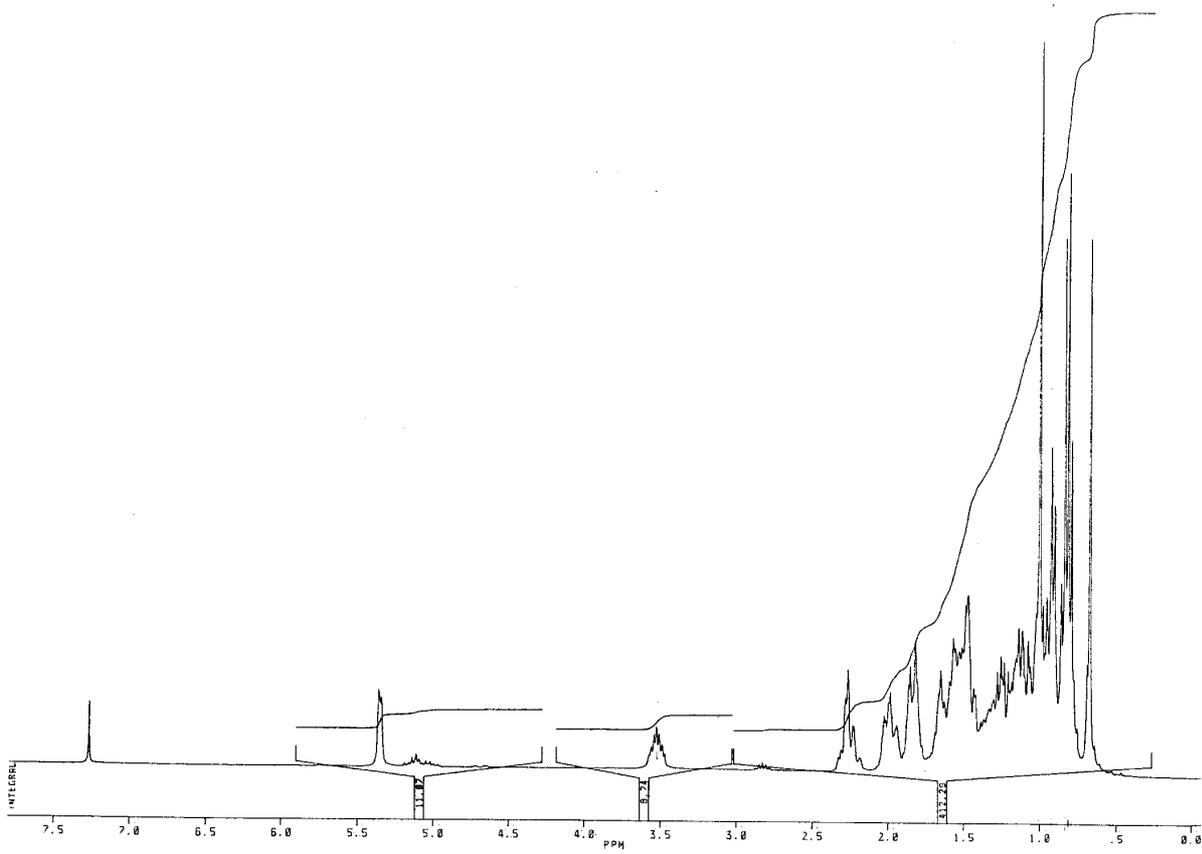
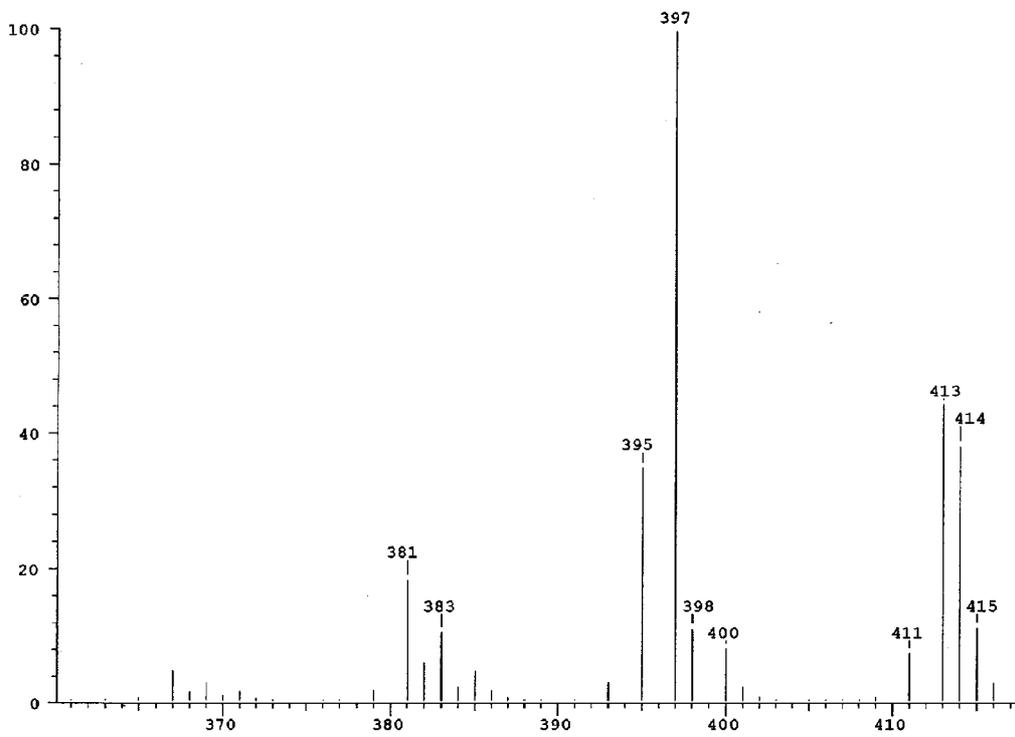
Abb.83  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.13 in  $\text{CDCl}_3$ 

Abb.84 MS Spektrum der Verb.13

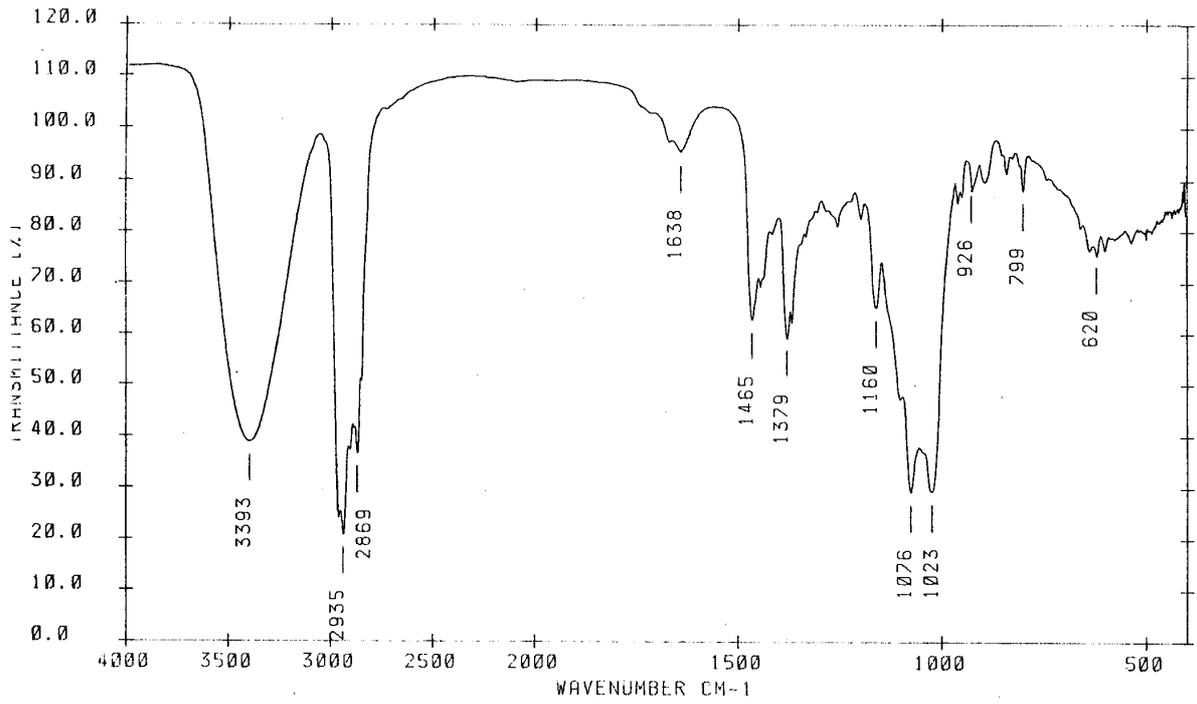


Abb.85 IR Spektrum der Verb.14  
( $\beta$ -Sitosterol-3-O-glucopyranosid)

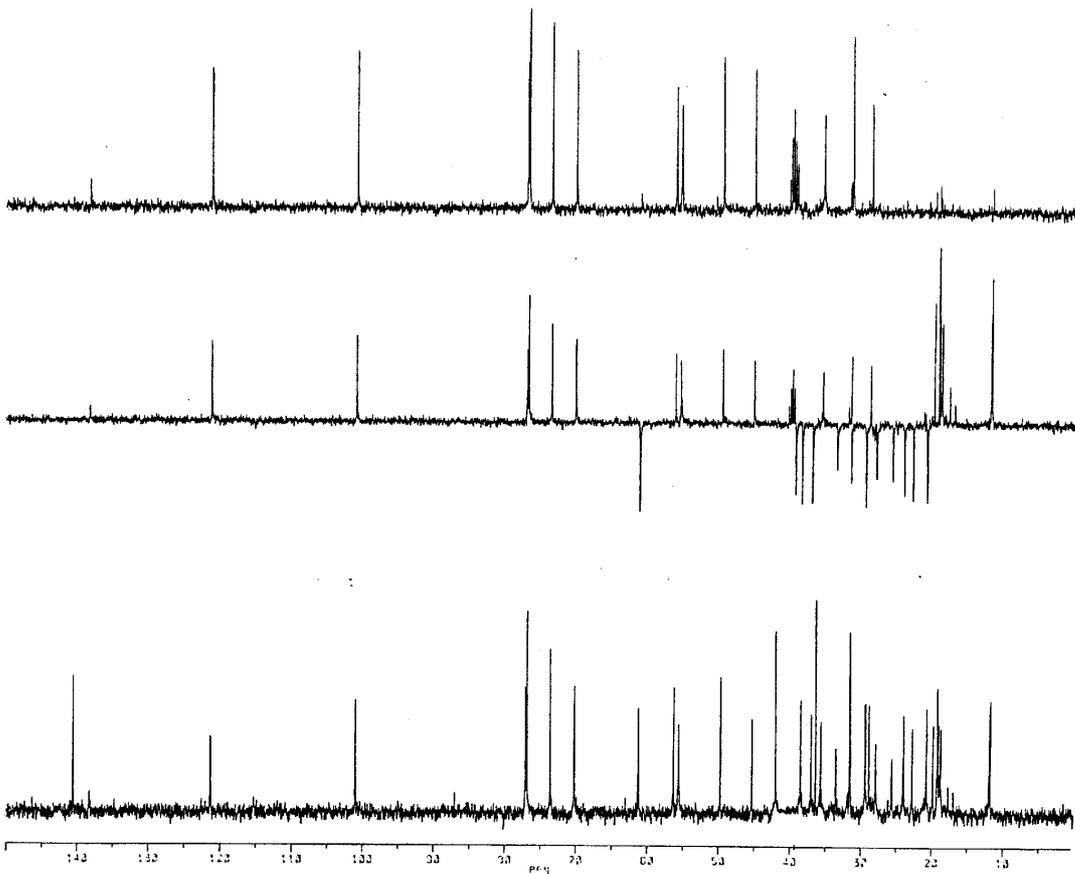


Abb.86 <sup>13</sup>C-NMR Spektrum der Verb.14 in DMSO

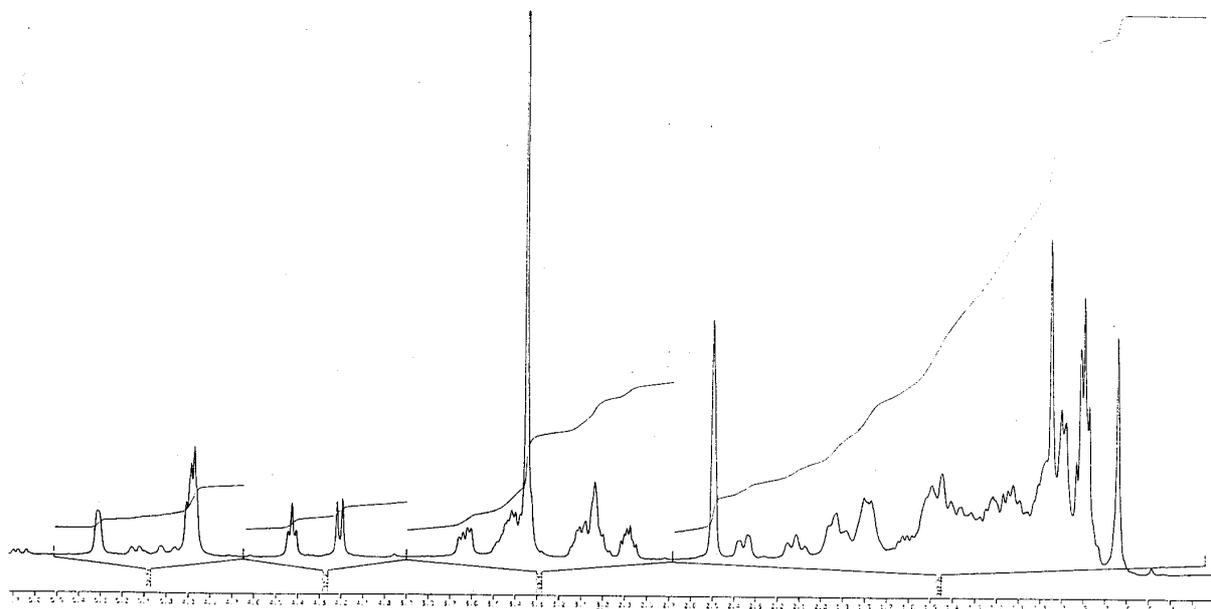


Abb.87  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.14 in DMSO

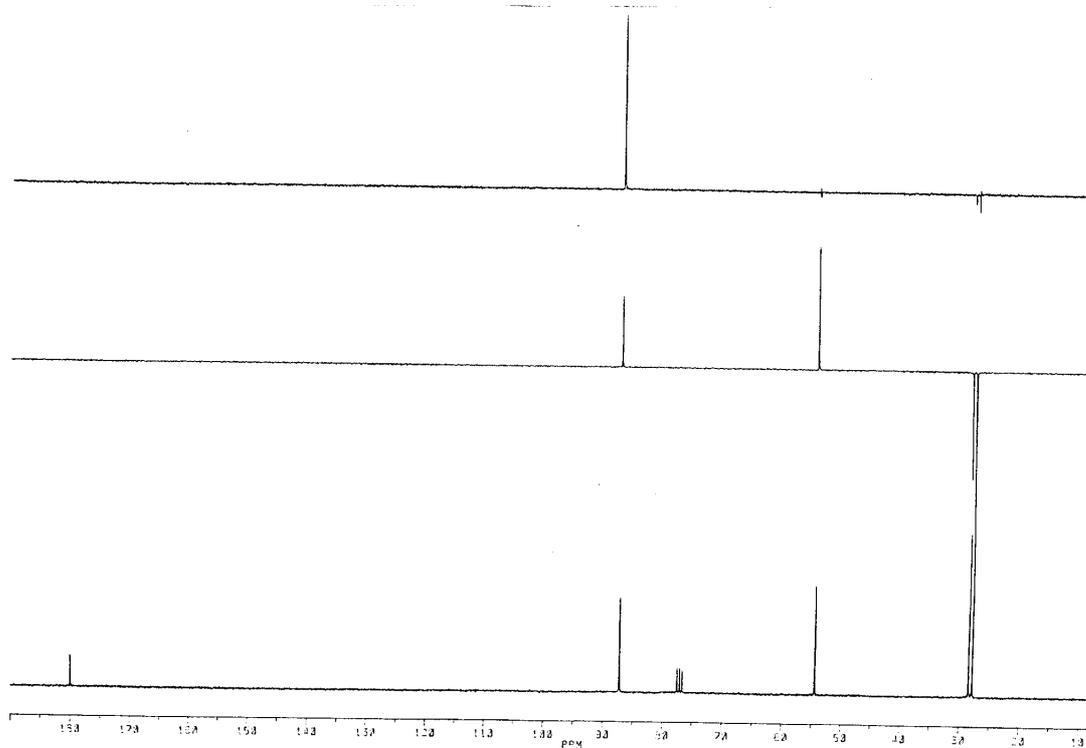


Abb.88  $^{13}\text{C-NMR}$  Spektrum der Verb.15 in  $\text{CDCl}_3$   
( Pterolactam, 5-Methoxy-2-pyrrolidinon )

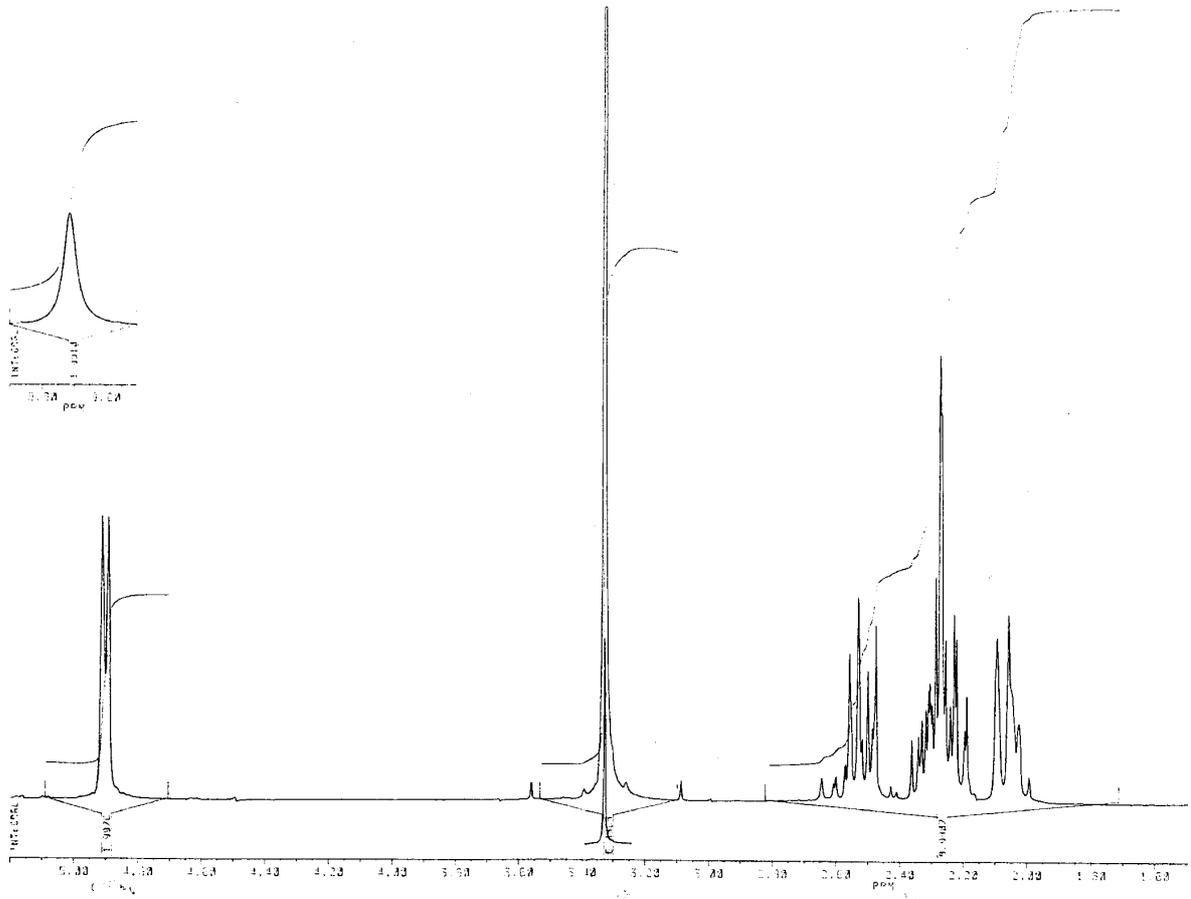
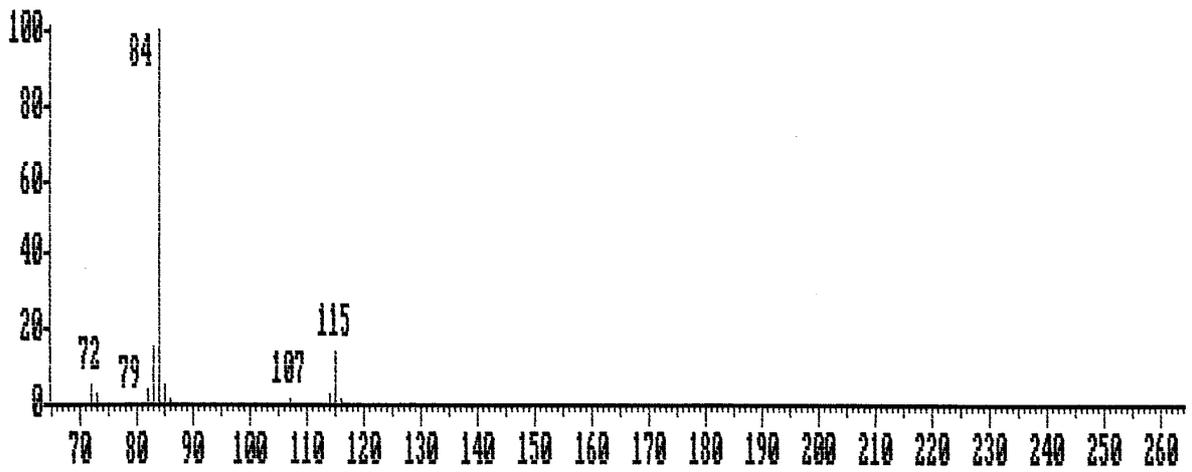
Abb.89  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.15 in  $\text{CDCl}_3$ 

Abb.90 MS Spektrum der Verb.15

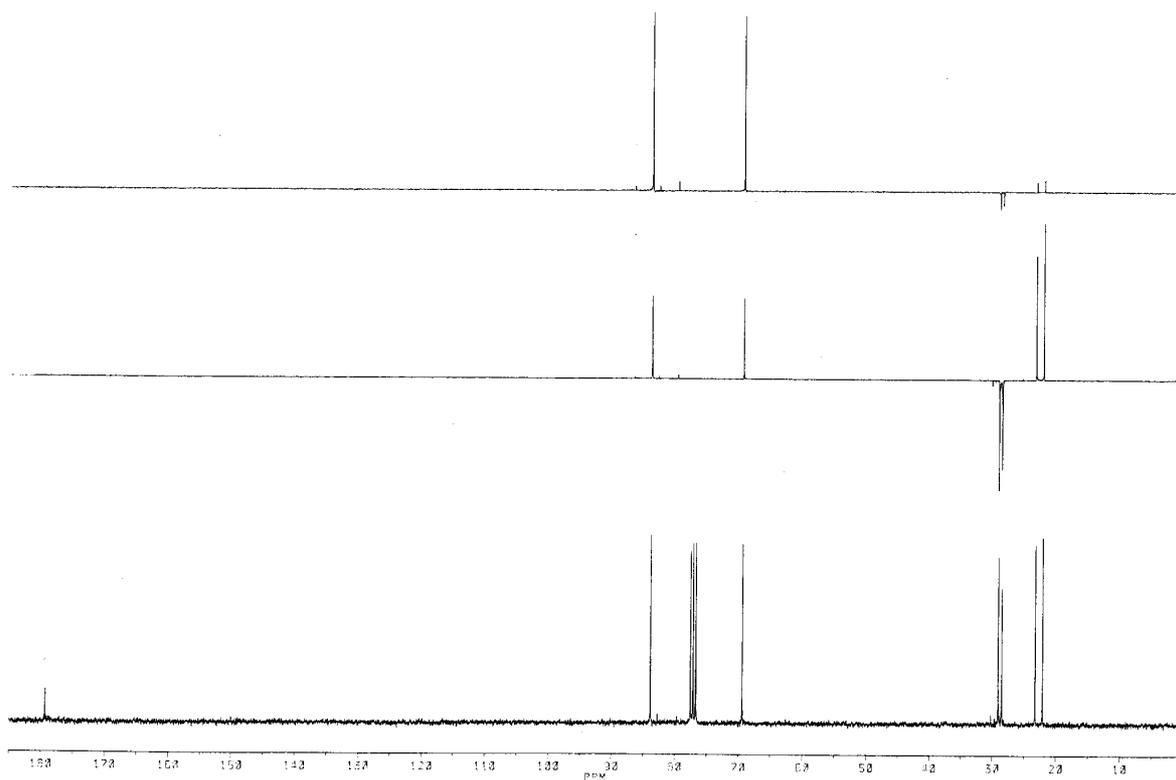


Abb.91  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.16 in  $\text{CDCl}_3$   
( 5-Isopropoxy-2-pyrrolidinon )

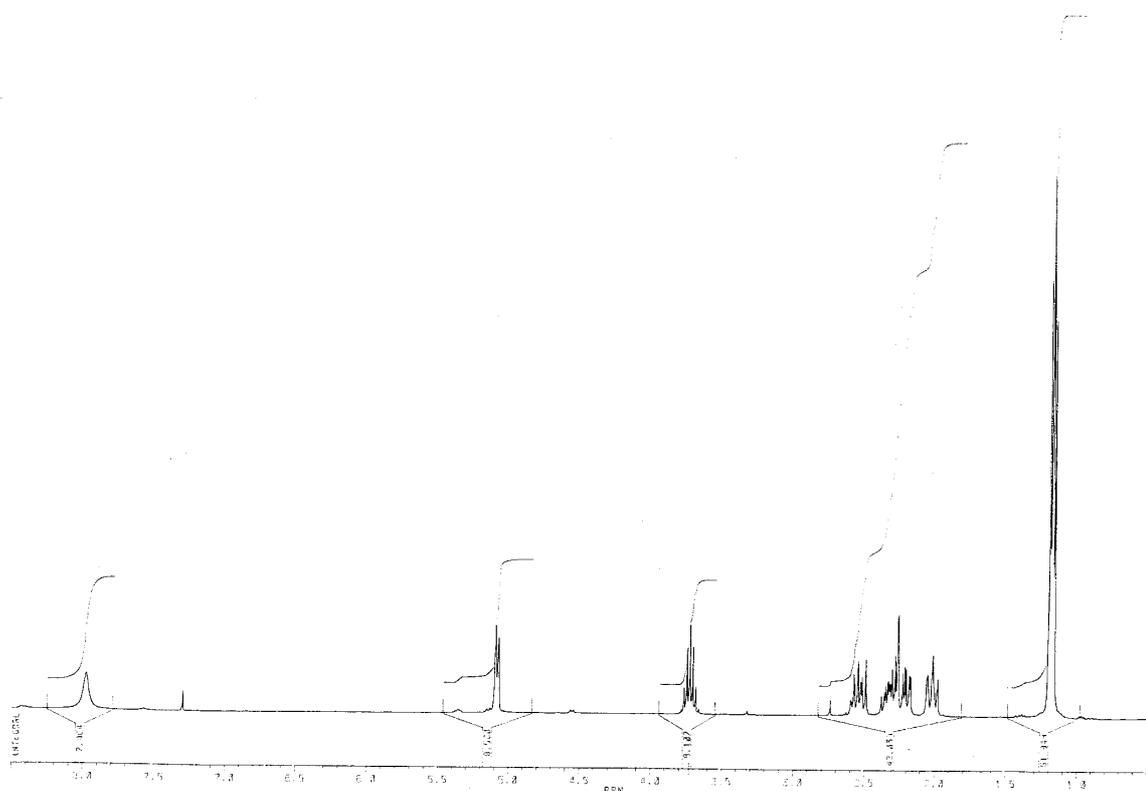


Abb.92  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.16 in  $\text{CDCl}_3$

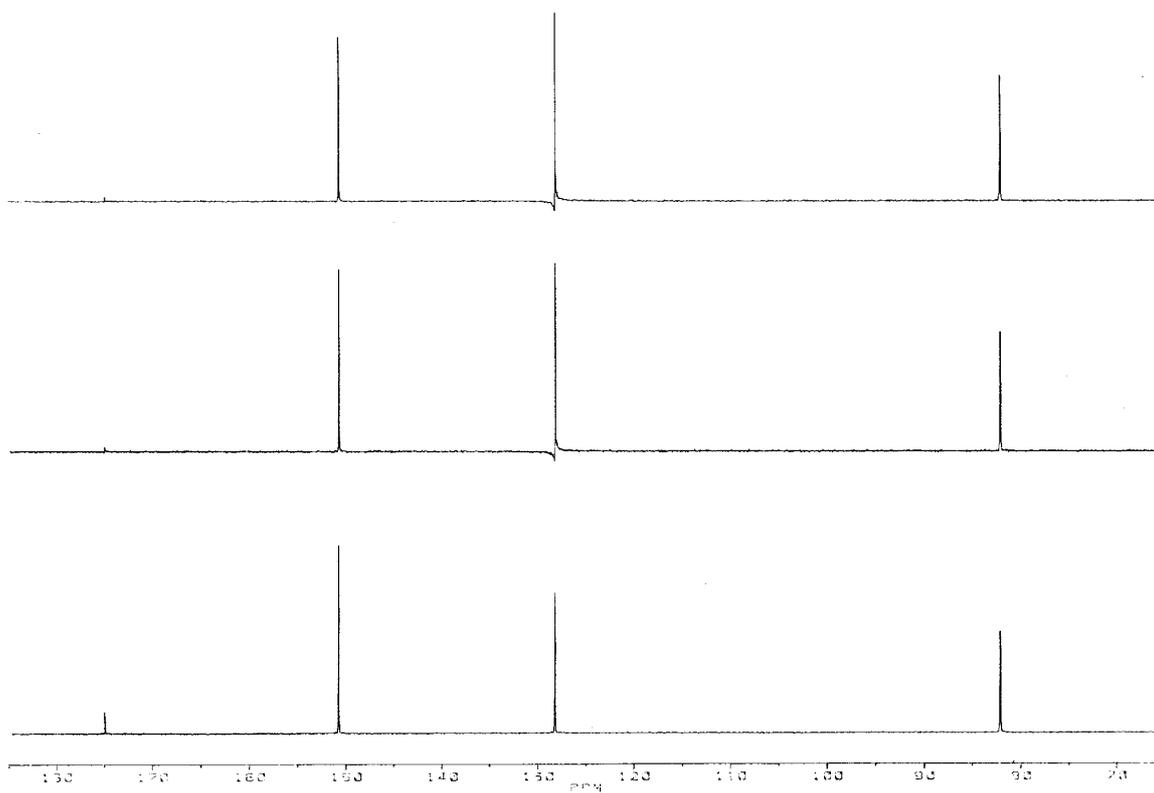


Abb.93  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.17 in  $\text{CDCl}_3$   
( Dihydromaleimide )

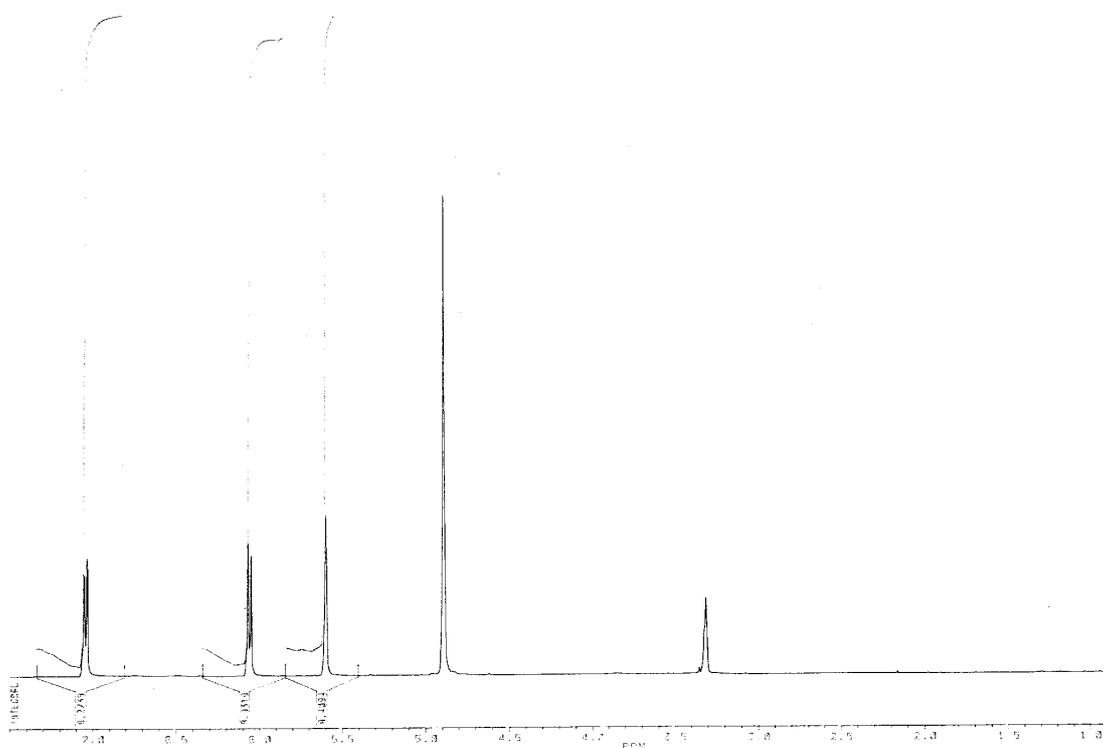


Abb.94  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.17 in  $\text{CDCl}_3$

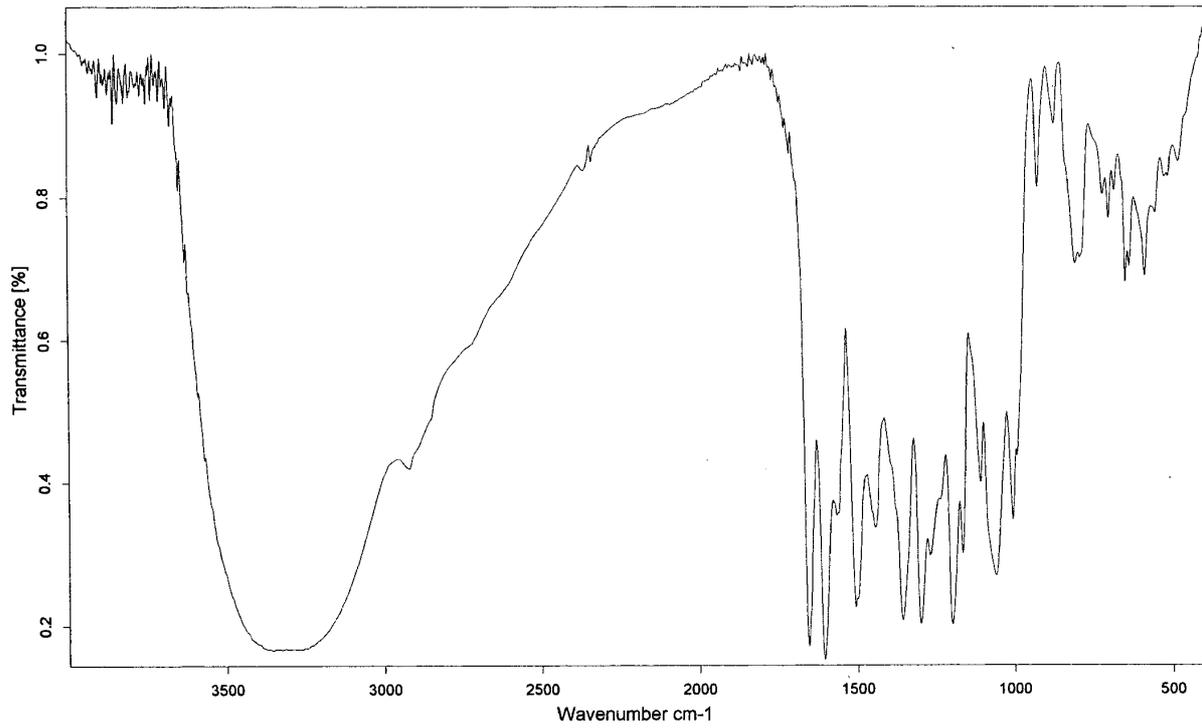


Abb.95 IR Spektrum der Verb.18  
( Quercetin-3-O-glucopyranosid )

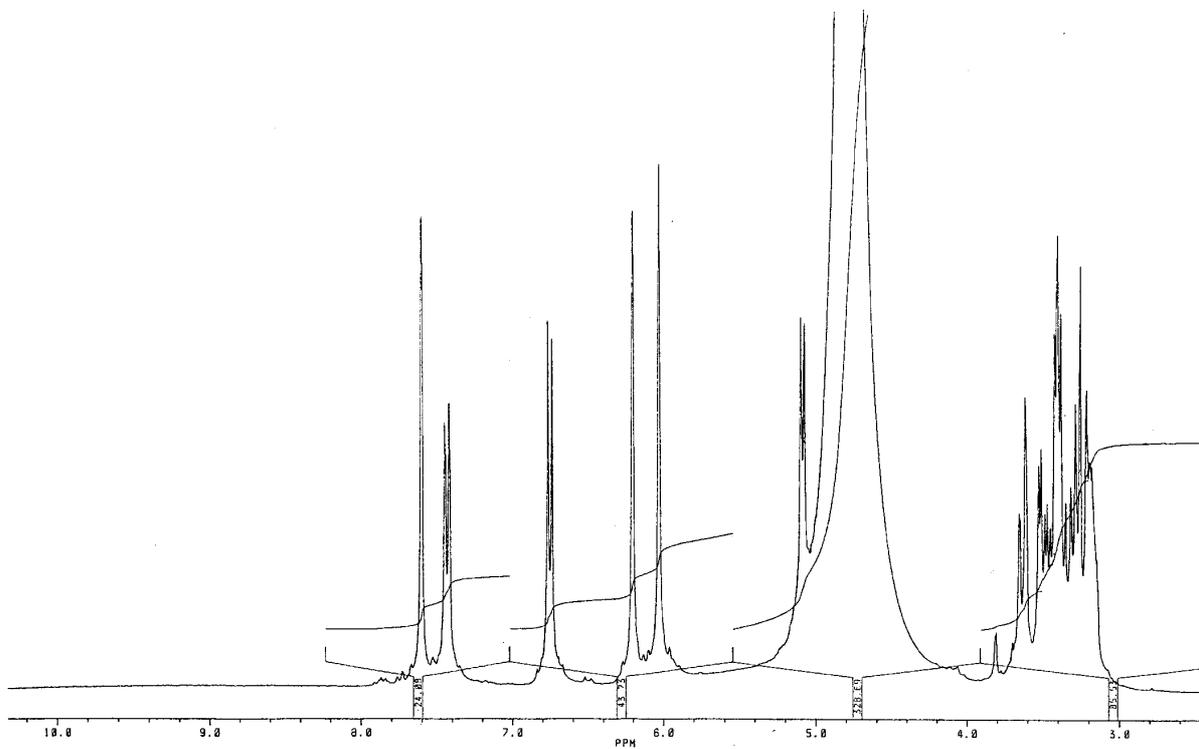


Abb.96  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.18 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

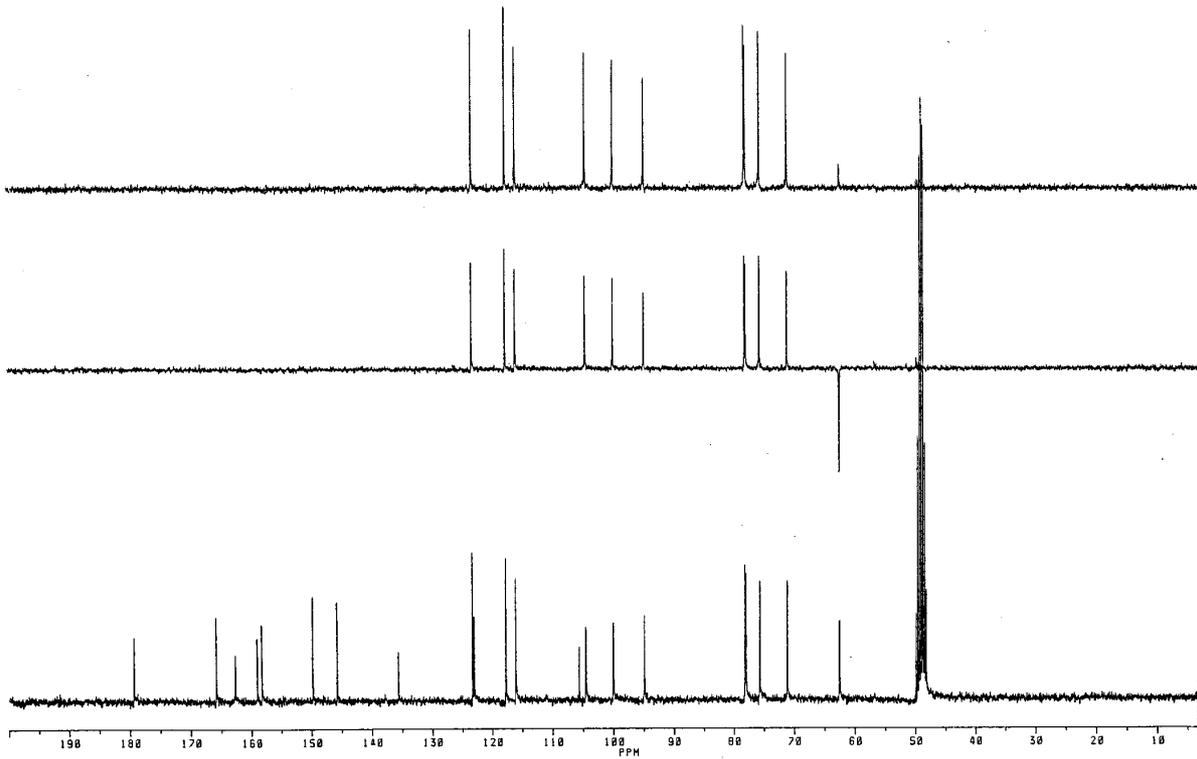
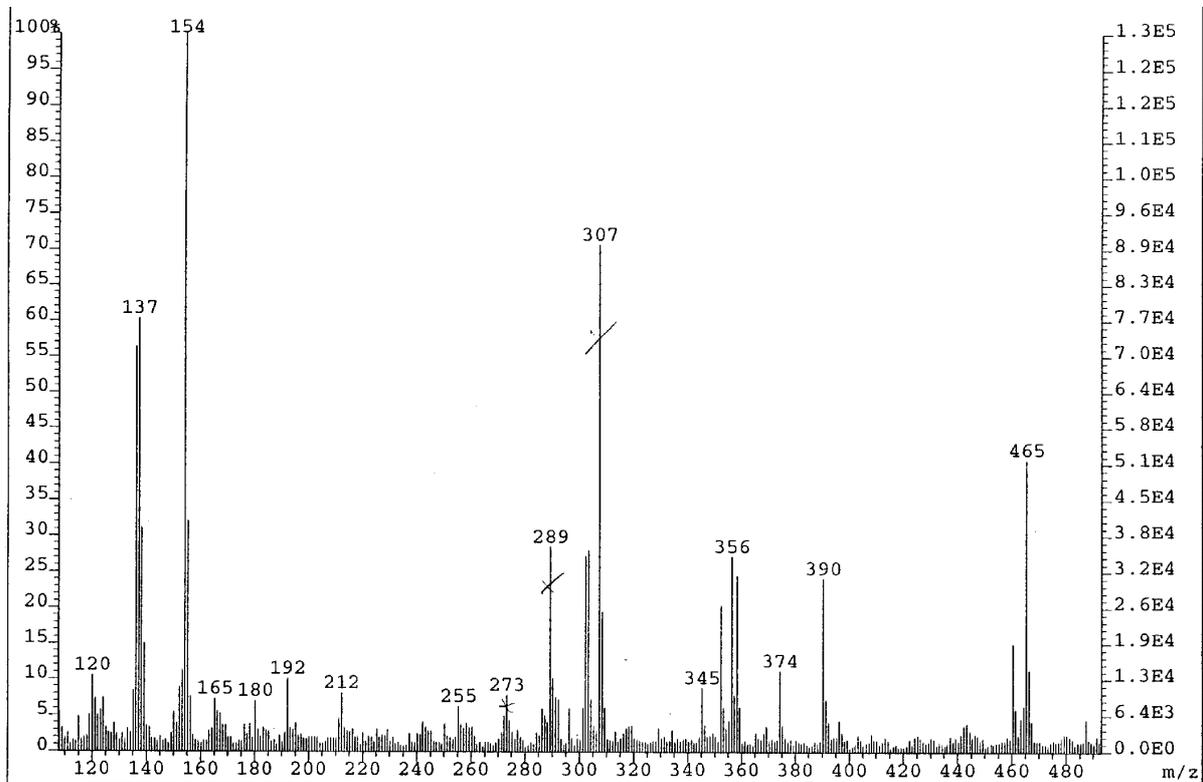
Abb.97  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.18 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

Abb.98 FAB-MS Spektrum der Verb.18

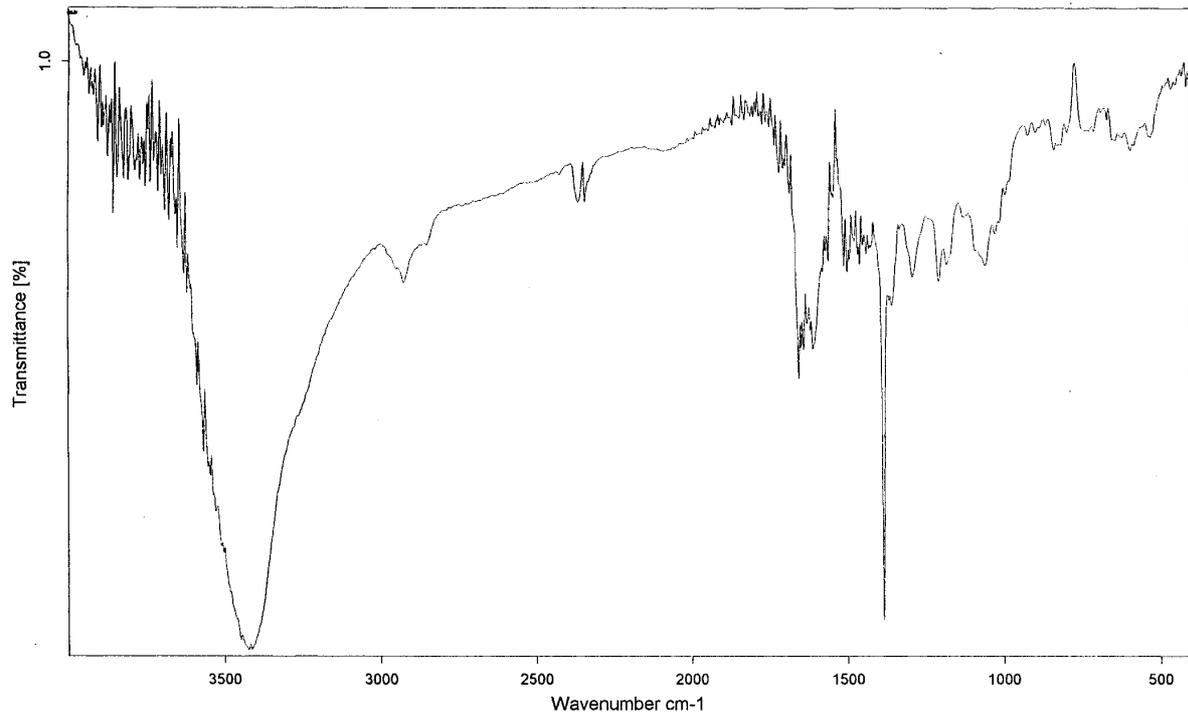


Abb.99 IR Spektrum der Verb.19  
( Isorhamnetin-3-O-glucopyranosid )

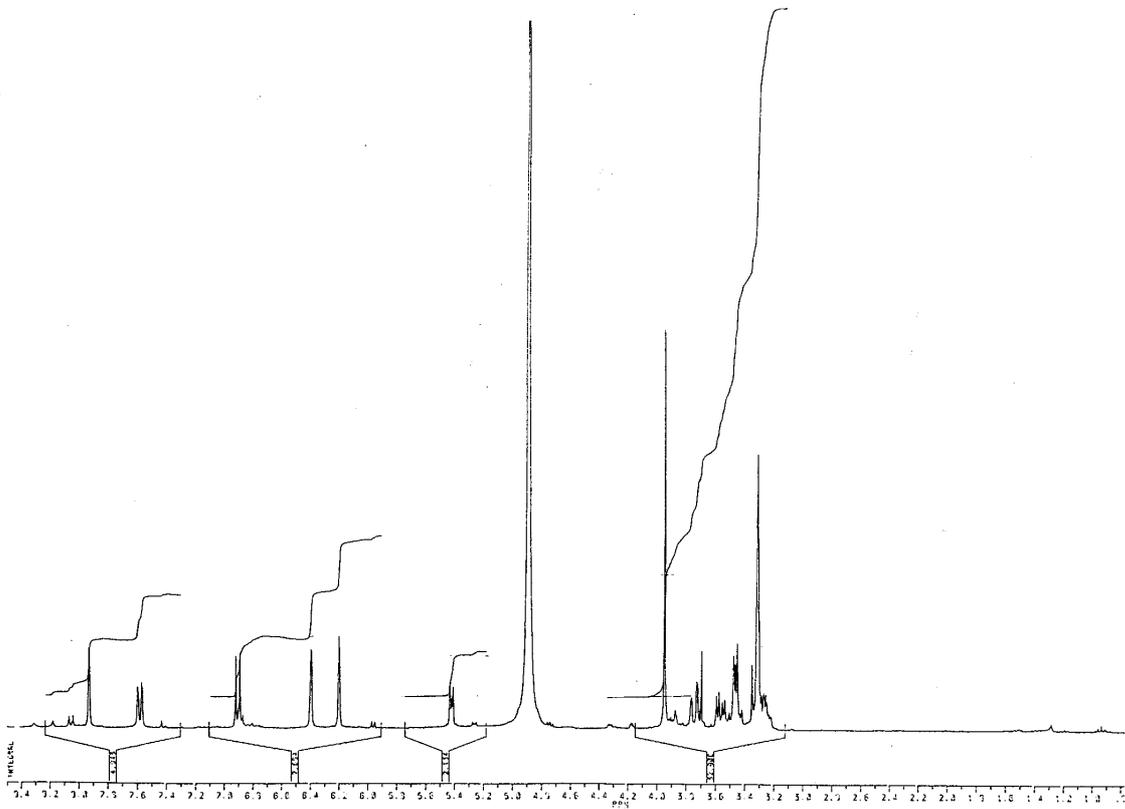


Abb.100  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.19 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

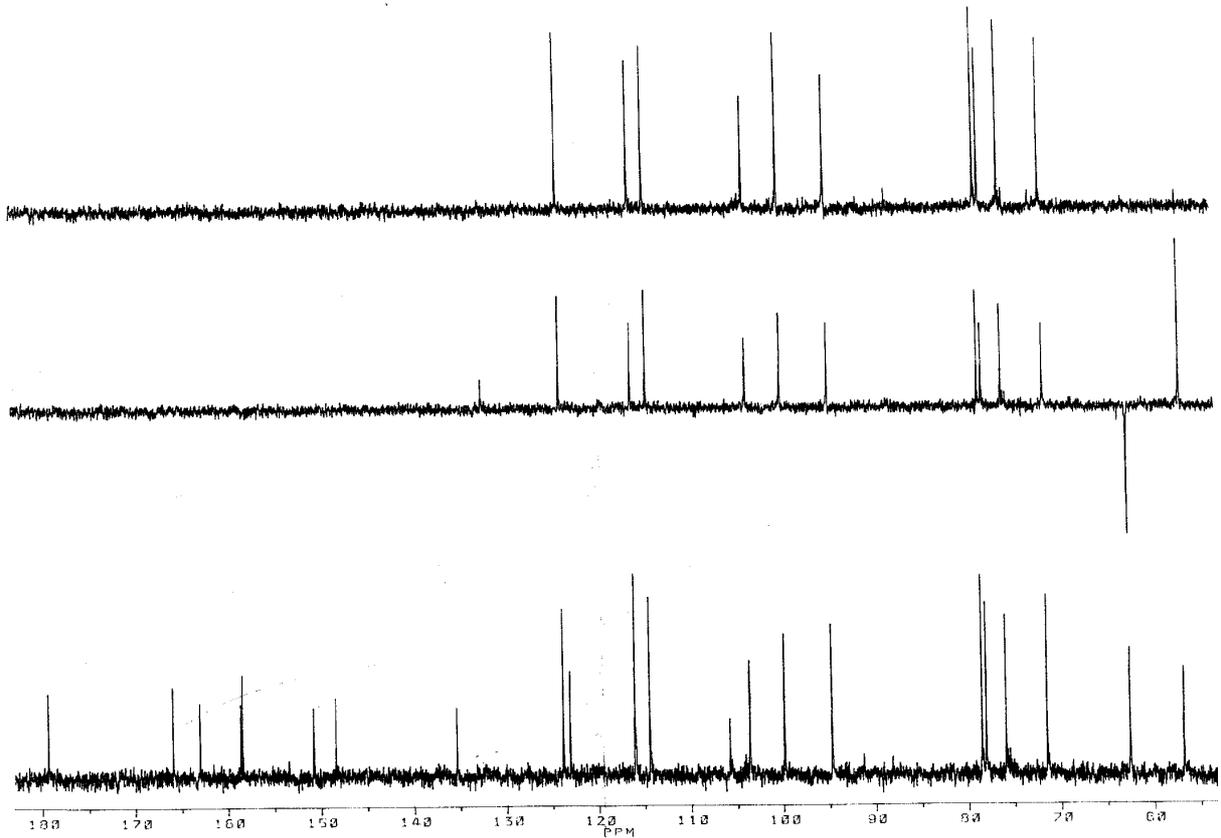
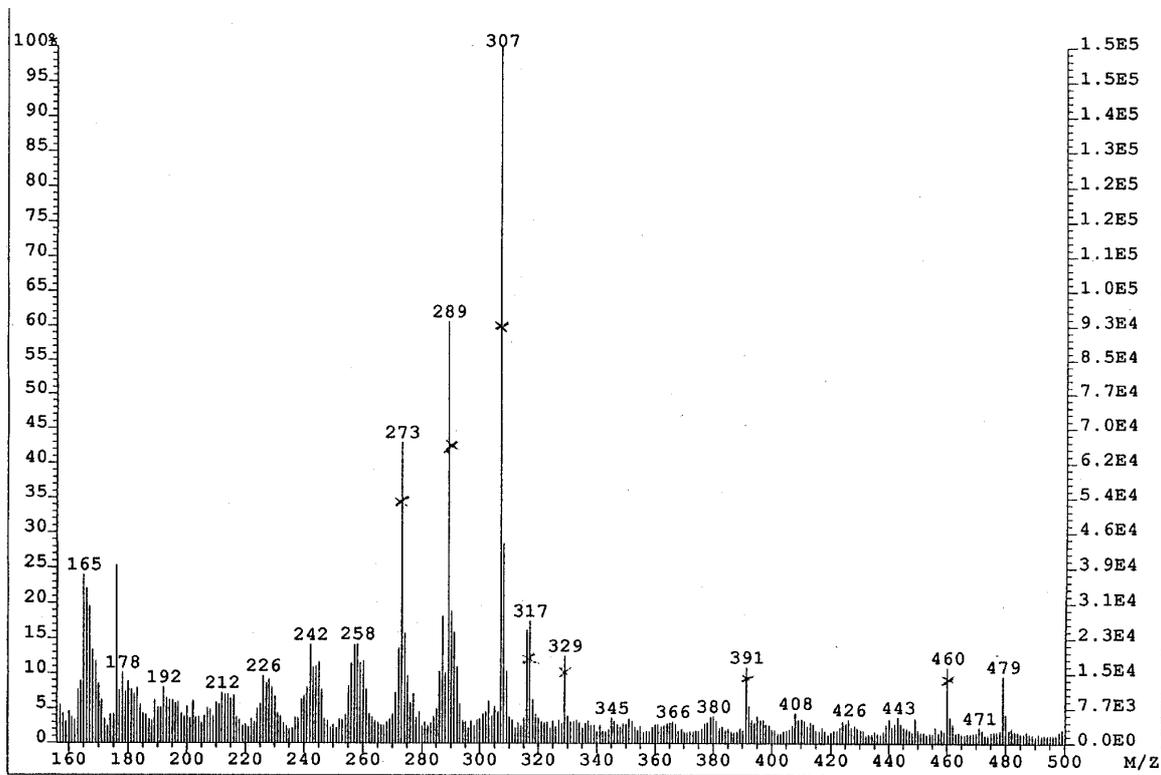
Abb.101  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.19 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

Abb.102 MS Spektrum der Verb.19

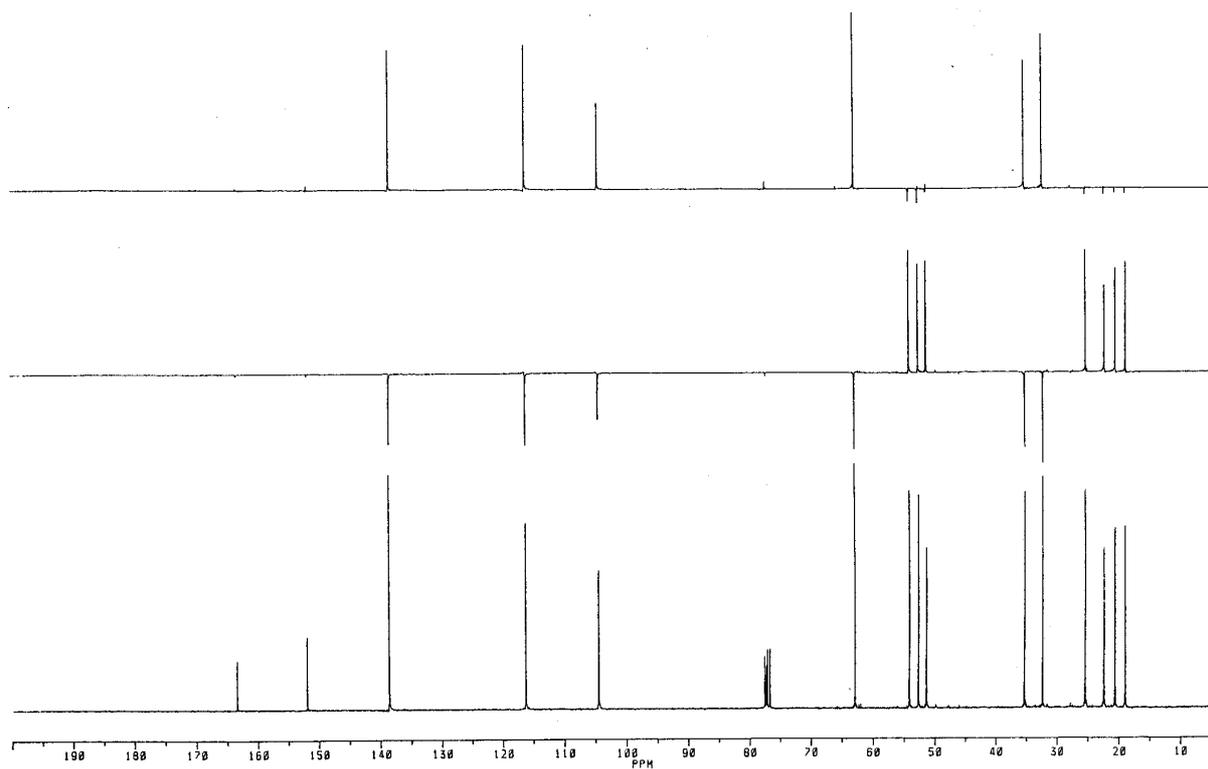


Abb.103  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.20 in  $\text{CDCl}_3$   
( Anagyrin )

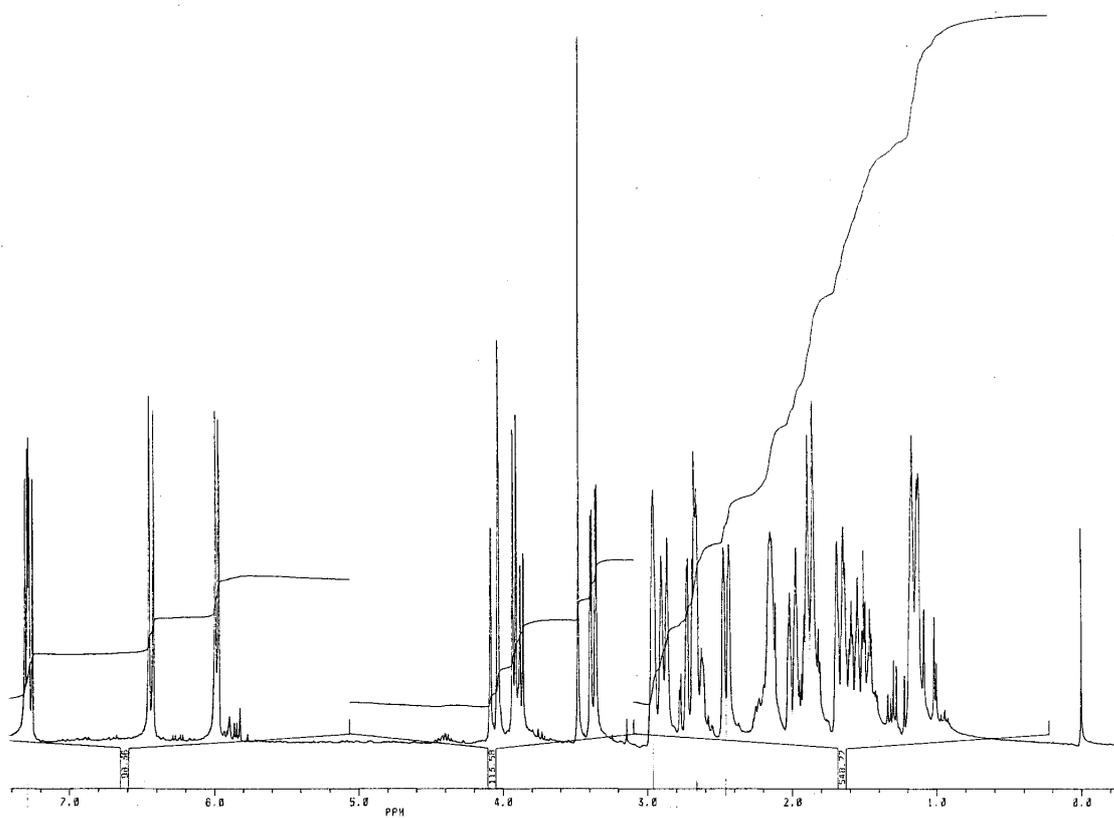


Abb.104  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.20 in  $\text{CDCl}_3$

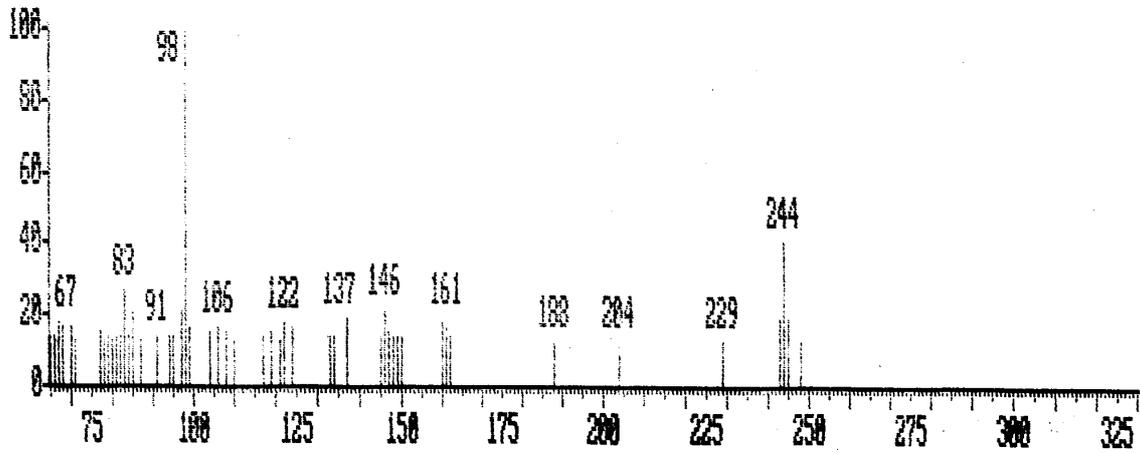
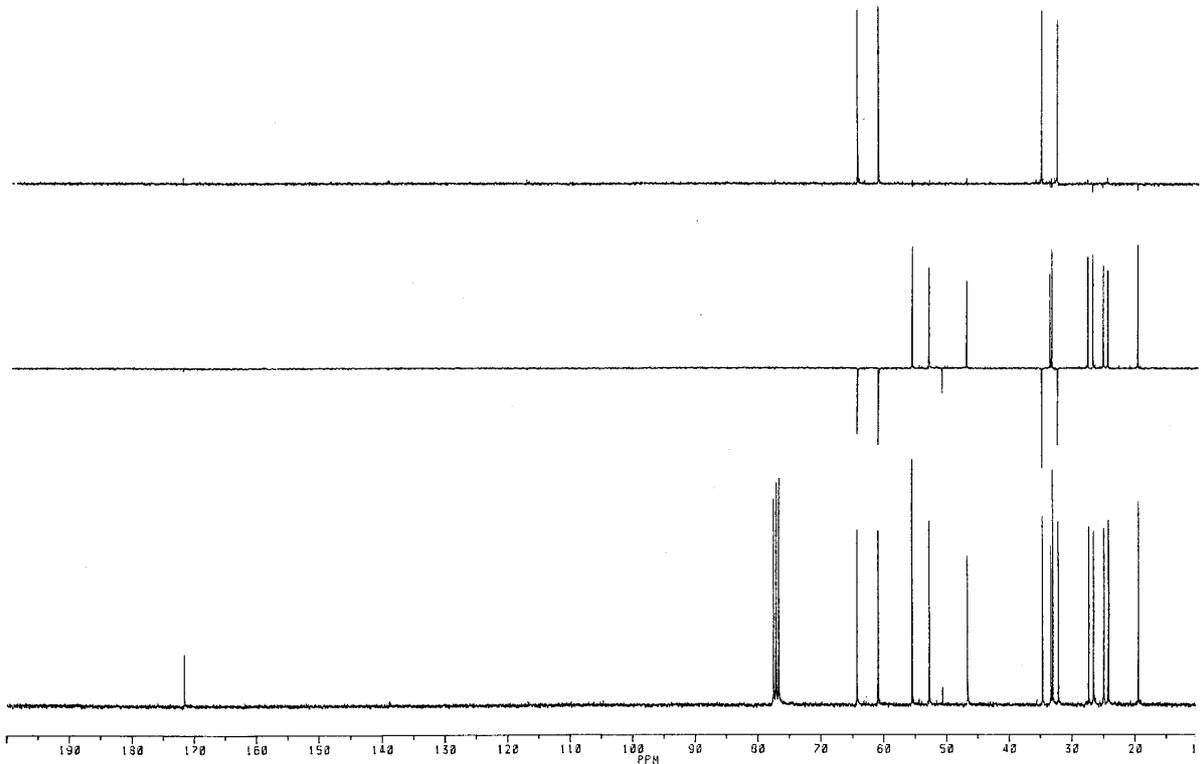


Abb.105 MS Spektrum der Verb.20

Abb.106  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.21 in  $\text{CDCl}_3$   
(Lupanin, 2-Oxosparteïn)

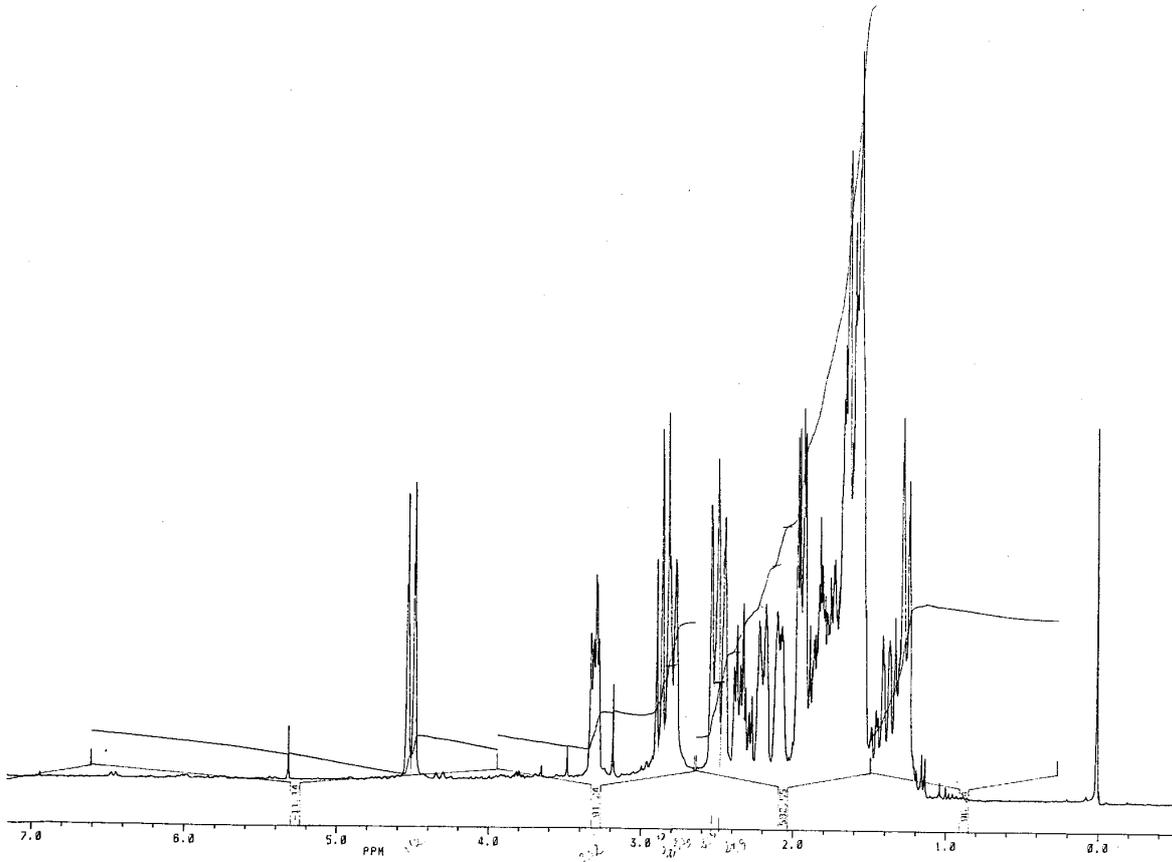
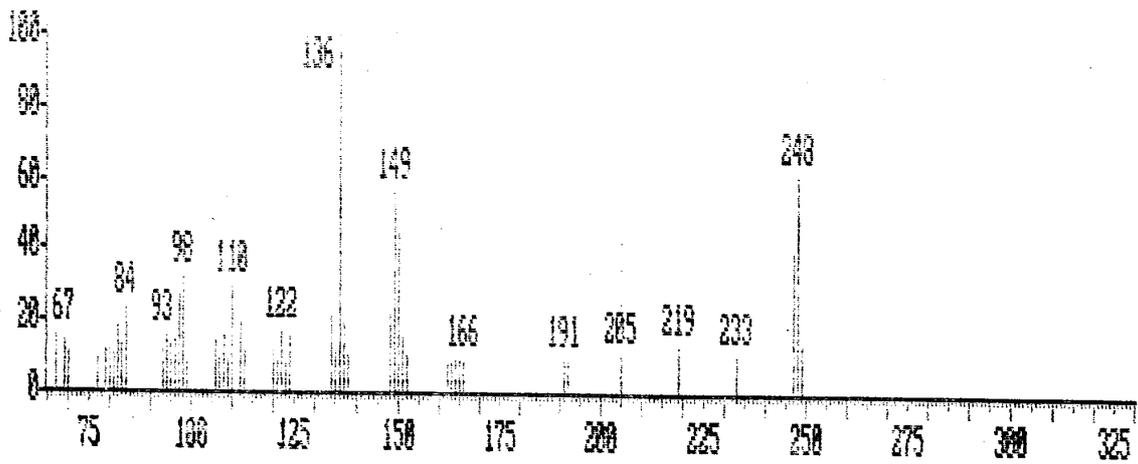
Abb.107  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.21 in  $\text{CDCl}_3$ 

Abb.108 MS Spektrum der Verb.21

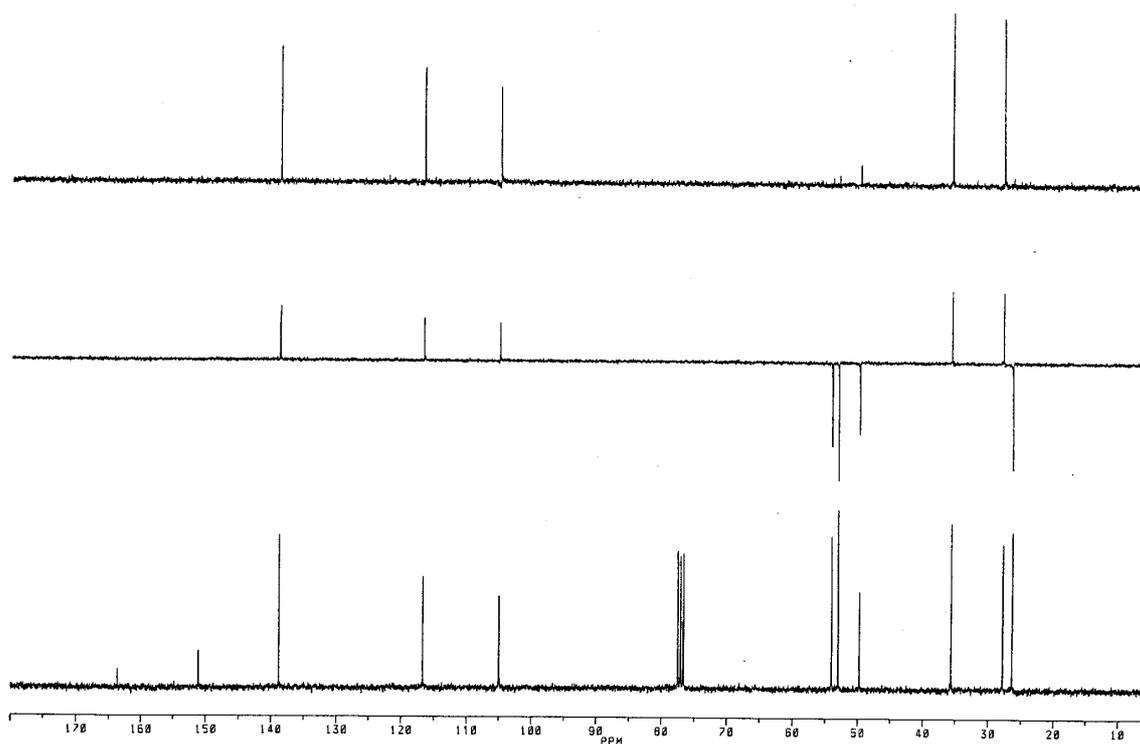


Abb.109  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.22 in  $\text{CDCl}_3$   
( Cytisin )

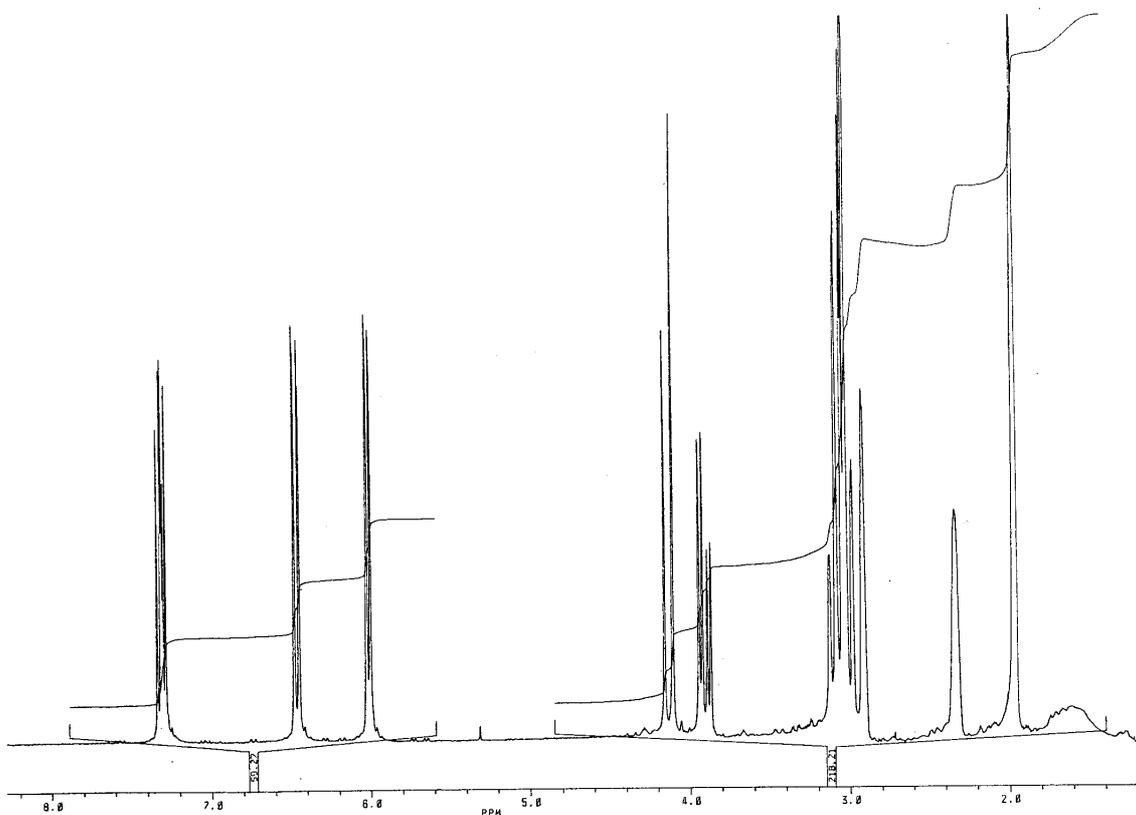


Abb.110  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.22 in  $\text{CDCl}_3$

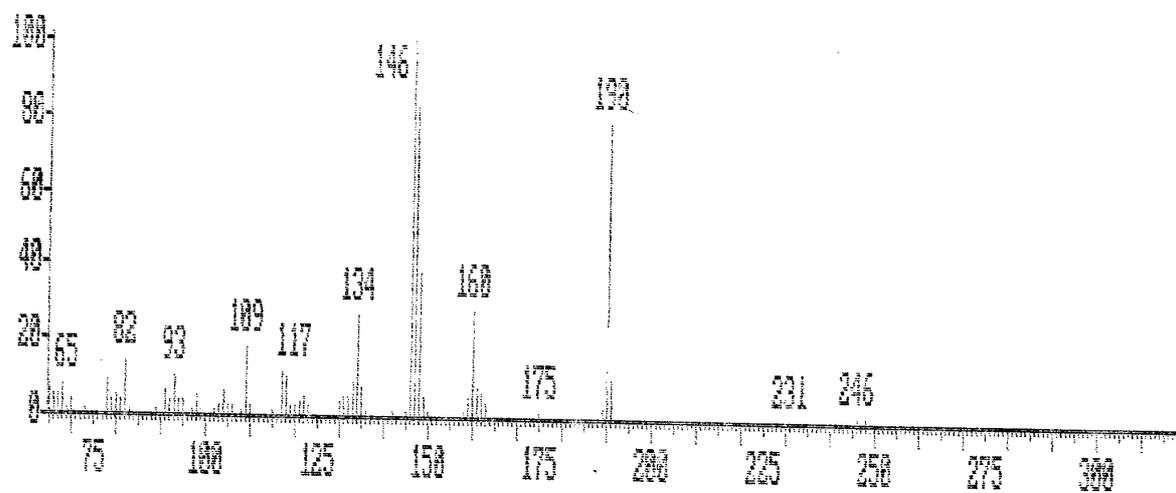
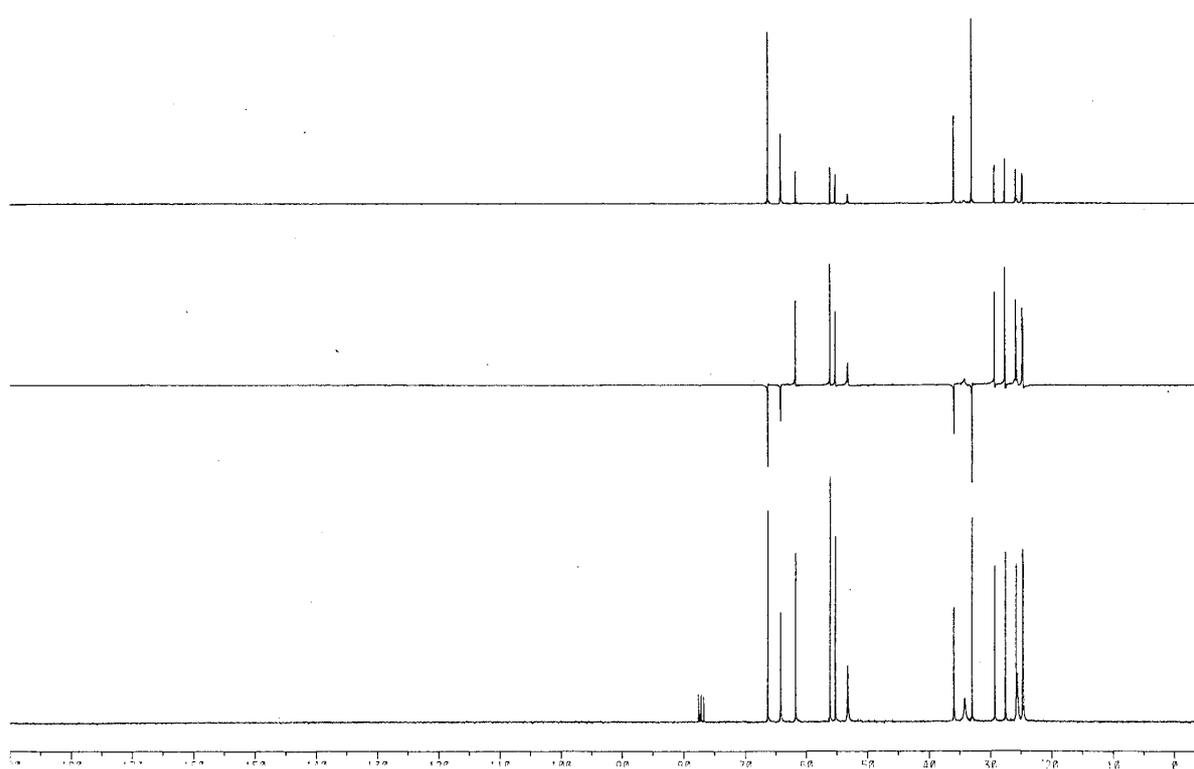


Abb.111 MS Spektrum der Verb.22

Abb.112  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.23 in  $\text{CDCl}_3$   
( Spartein )

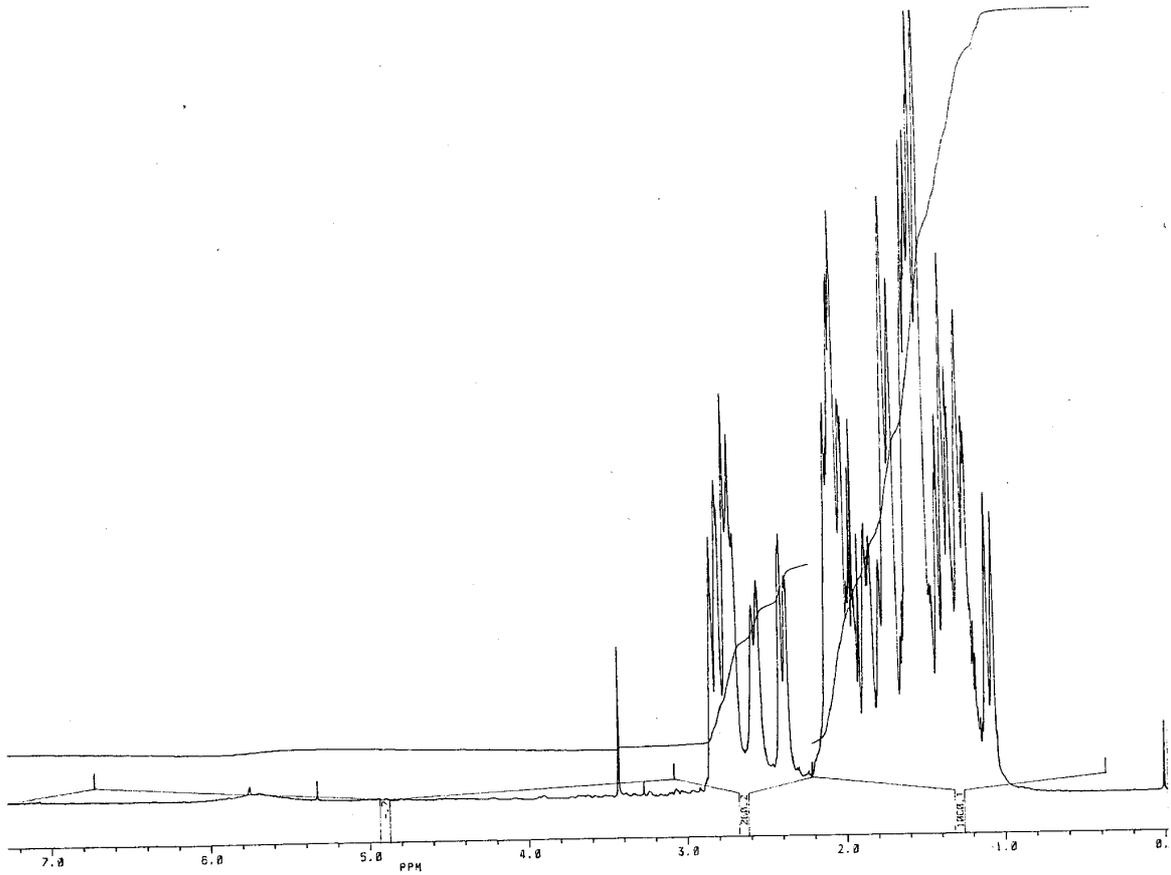
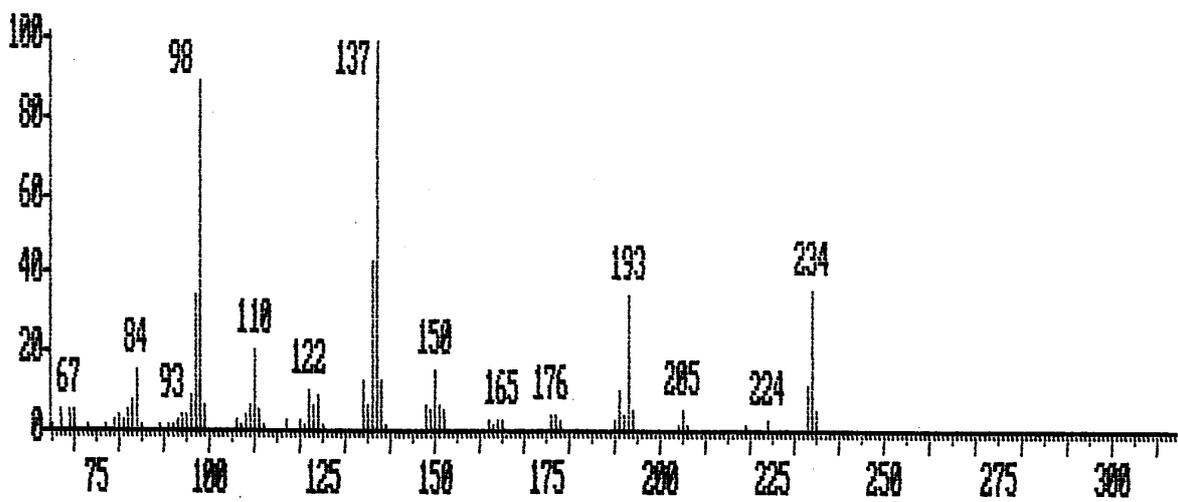
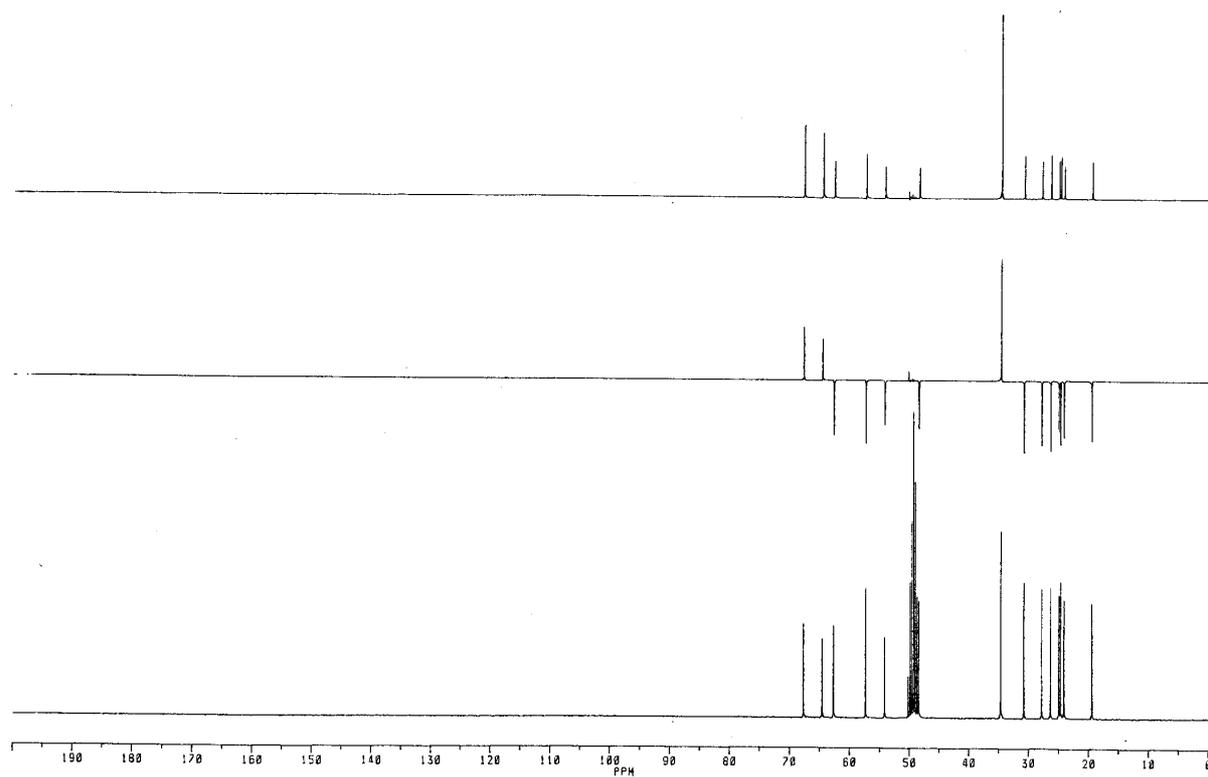
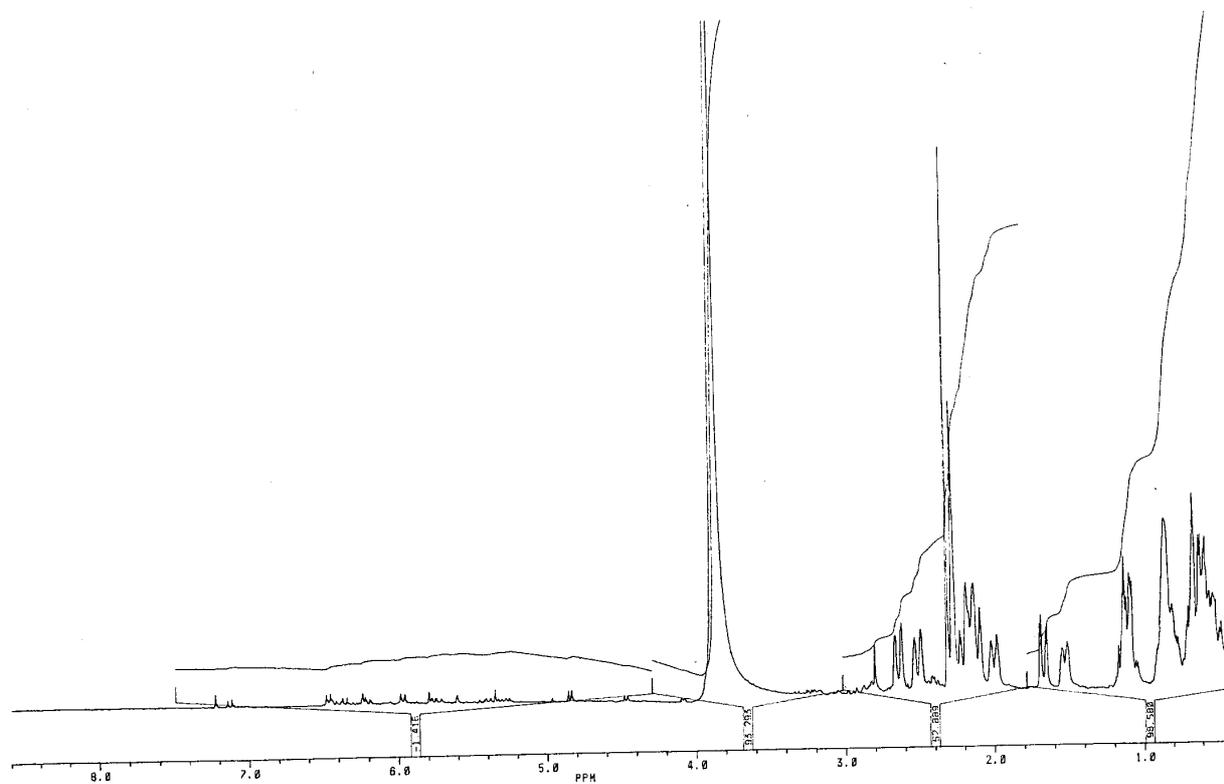
Abb.113  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.23 in  $\text{CDCl}_3$ 

Abb.114 MS Spektrum der Verb.23

Abb.115  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.24 in  $\text{CDCl}_3$ Abb.116  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der Verb.24 in  $\text{CDCl}_3$

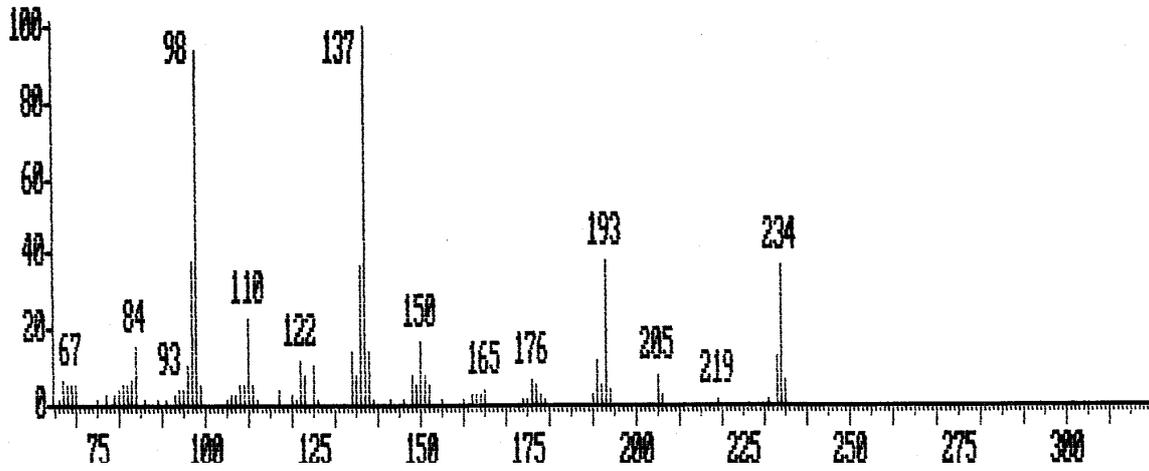


Abb.117 MS Spektrum der Verb.24

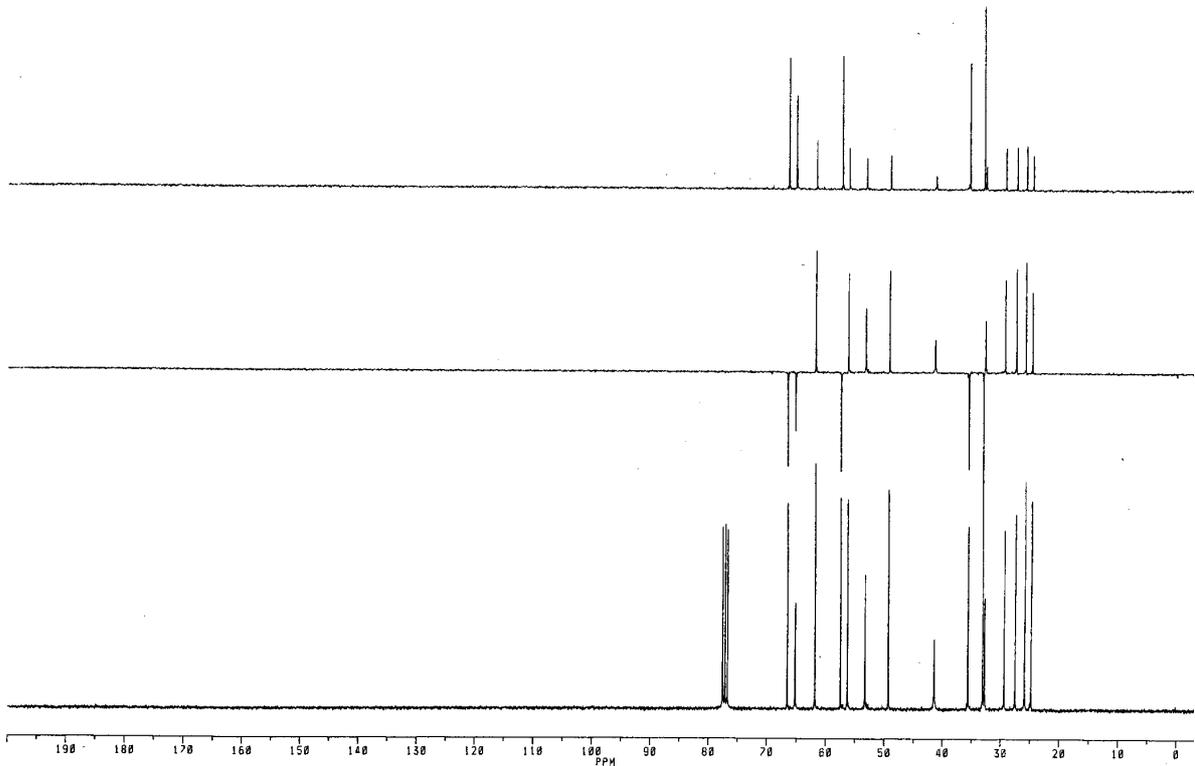


Abb.118  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum der Verb.25 in  $\text{CDCl}_3$   
 ( 13-  $\alpha$  -Hydroxysparteine )

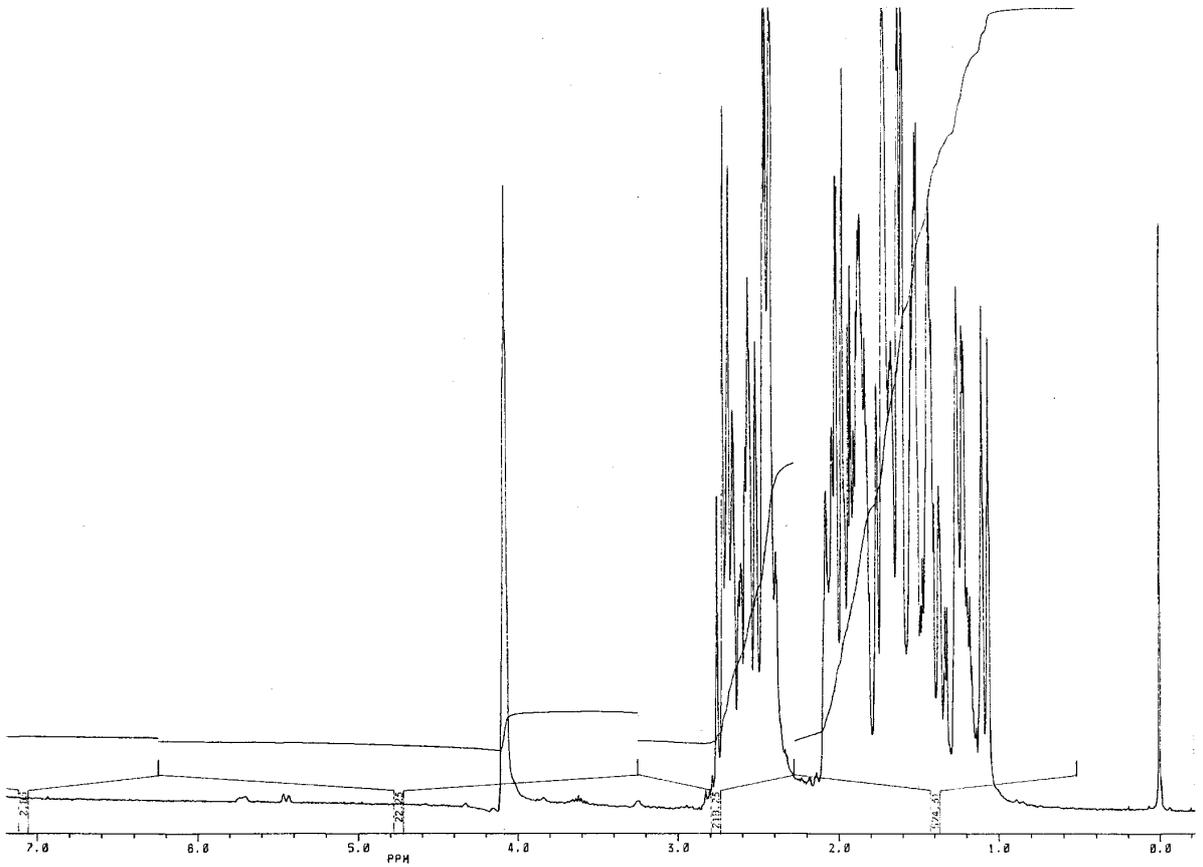
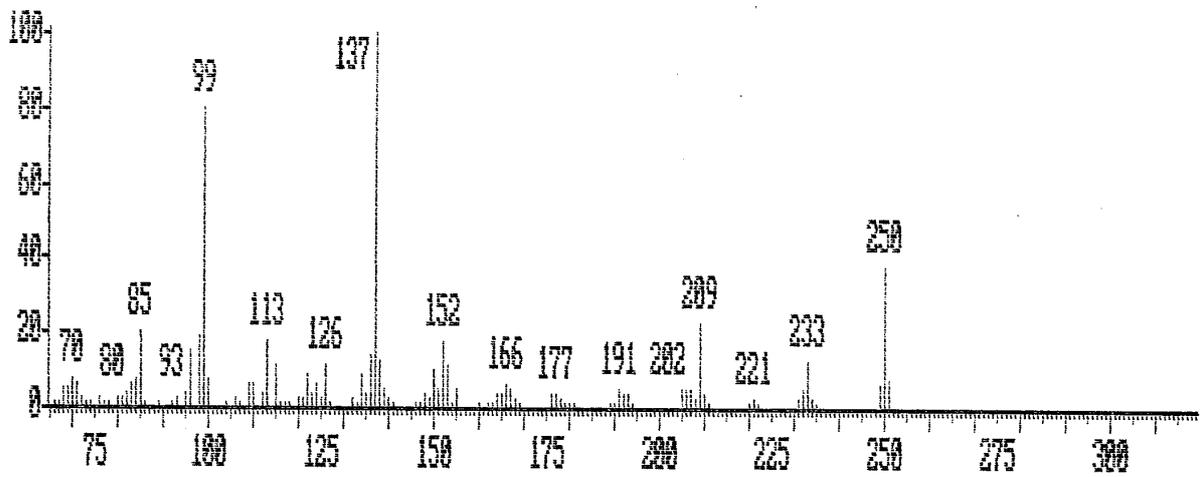
Abb.119  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der Verb.25 in  $\text{CDCl}_3$ 

Abb.120 MS Spektrum der Verb.25

## 8. Literaturverzeichnis

- [1] Ligaa, U., *Medicinal Plants of Mongolia Used in Monolian Traditional Medicine*, (1997), KGA Press.
- [2] Ligaa, U., *Mongol ornii Tarvagan schiiriin (Thermopsis R. BR. ) törliin urgamal*, (1976), Ulaanbaatar und dort zitierte Literatur.
- [3] Hegnauer, R., *Chemotaxonomie der Pflanzen*, (1973), Bd. VI.
- [4] Ghafoor, A., in *Flora of West Pakistan*, (1974), 76 (Nasir, E. and Ali, S.I., eds), 28.
- [5] Oelsiihutag, N., *B.N.M.A. Ulsijn belzeer, hadlan dah tejheelijn urgamal tanih bizig*, (1985), Ulaanbaatar,.
- [6] Engler, A., *In die Natürlichen Pflanzenfamilien*, (1931), 2nd Edn. Vol.19a, p.144, Engelmann, Leipzig.
- [7] Grubov, Z., *Opredelitel sosudistych rastenij Mongolii*, (1982), Leningrad.
- [8] Hegnauer, R., *Chemotaxonomie der Pflanzen*, (1994), Bd. XI.
- [9] Sofowora, E.A. and Hartman, R., *Planta Medica*, (1974), 25, 22-27.
- [10] Soliman, G., *J. Chem. Soc.* 1939, 1760.
- [11] Hifny Saber, A. and El-Moghazy Shoaib, A. M., *J. Pharm. Sci. U. A. R.*, (1960), 1, 1; (1966), 7, 117.
- [12] Ahmad, V. U., Ghazala, Uddin, S. and Bano, S., (1990), *J. Nat. Prod.*, 53, 1193.
- [13] Ahmad, V. U., Ghazala and Shafi Uddin., *Phytochemistry*, (1992), 31, 1051.
- [14] Ahmad, V. U., Ghazala, Shafi Uddin and Ali, M. S., *Phytochemistry*, (1993), 33, 453.
- [15] Pöllman, K., Gagel, S., Elgamal, M. H. A., Shaker, K. H. and Seifert, K., *Phytochemistry*, (1997), 44, 485.
- [16] Elgamal, M. H. A., Shaker, K. H., Pöllmann, K. and Seifert K., *Phytochemistry*, (1995), 40, 1233.
- [17] Pöllmann, K., Schaller, K., Schweizer, U., Elgamal M. H. A., Shaker, K. H. and Siefert K., *Phytochemistry*, (1998), 48, 875.
- [18] Hassanean.H.H., Desoky, E.K. and El-Hamouly, M.M.A., *Phytochemistry*, (1993), 33, 663.
- [19] Hassanean, H.A., El-Hamouly, M.M.A., El-Moghazy, S.A. and Bishay, D.W., *Phytochemistry*, (1993), 33, 667.
- [20] Ansamatova R.A. and et al., *Chemija prirod. Soedinenii*. (1979), 2, 237.
- [21] Kerimova, M., *C. A.* 75, (1971), 137, 443.
- [22] Kerimova, M., *Chemija prirod. Soedinenii*. (1971), 4, 536.

- [23] Tomova, M. and et al., Farmazija (NRB) (1978), 28, 6, 31.
- [24] Saleh, N. A. and El-Hadidi, M. N., Biochem. Syst.Ecol., (1977), 5, 121.
- [25] Grim, F., Bounaga, N., Lebreton, P., Acta Pharm., (Zagreb), (1996), 46 (3), 187.
- [26] Singh, V., Sethia, M., Mathur, K., Indian J. Pharm. Sci., (1988), 50 (2), 133.
- [27] Cong-Jin Li, M. H. Elmagal, K. H. Sharker, A. A. Ahmed and T. J. Mabry, Nat. Prod. Letters, ( 1996), 8, 281.
- [28] Borkowski, B., Herba Polon. (i.e. Biul.), (1959), 5, 167.
- [29] Lutomski, J., Herba Polon., (1967), 13, 44.
- [30] Lutomski, J. and Nowicka, B., Herba Polon, (1968), 14, 235.
- [31] Zapadnük, I. P., Farmakologija i Tokikologija, (1947), 10 (4), 51.
- [32] Zoloznizkaja, S. Ja., Biol. I s.-h. nauki., (1954), 14, 75.
- [33] Plouvier, V., Compt. Rend., (1954), 239, 1678.
- [34] Ismailov, A. I., Dokl. AN Az SSR., (1949), 5 (11), 471.
- [35] Teodosiu, C., Compt. Rend. Soc. Biol., (1935), 120, 659.
- [36] Saad, S.F., Saber, A.H and Scott, P.M., Bull. Fac. Pharm., Cairo Univ. (1967), 6, 245.
- [37] Saad, S.F., Saber, A. H. and Skott, P. M., Bull. Fac. Pharm., Cairo Univ., (1967), 7, 265.
- [38] Qui, S.A., Abbel Hady, F.K., Elgamal, M.H. Shaker, K.H., Folia Microbiol. ( Prague), (1994), 39(3), 215.
- [39] Li, G. J., Elgamal, M.H., Nat. Prod. Lett., (1996), 8, 281.
- [40] Rollov. A. H. Dikorastuschiye rasteniya Kavkasa ich rasprostraneniya, svoistva i primeneniye, Tiflis, (1908), s.599.
- [41] Sahobiddinov. S. S. Dikorastuschj lekarstvennj rastenij Srednei Asie. Taschkent. (1948), S.216.
- [42] Slünen H. B., Materialj dlya isuzenij narodnoi Medizinj v. Rossii, Tr..rus. Brazei. Spb. (1982), t.48, b.1, s.1-91.
- [43] Pavlov, H.B., Rastitelnj sirj Kasachstana, M., (1947), S.550.
- [44] Annenkov, N.I., Botanizeskii slovar, 2. Isd., cpb., (1978), s.464.
- [45] Hoppe, H.A. Drogenkunde, Berlin, (1975), Bd.1, s.1311.
- [46] Harborne, J.B., Boulter, D., Turner, B.L., Chemotaxonomy of the Leguminosae, (1971), Academic Press, London & New York und dort zitierten Literaturen.
- [47] Saito, K., Takomatsu, S., Ohmiya, S., Otomasu, H., Yasuda, M., Kano, Y., Murakoshi, I., Phytochemistry, (1988), 27 (11), 3715-16.
- [48] Saito, K., Takomatsu, S., Murakoshi, I., Ohmiya, S., Otomasu, H., J. Nat. Prod., (1989), 52 (5), 1032-5.

- [49] Jia, Z., Liu, Z., Jiang, D., Song, G., Chem. Res. Chin. Univ., (1993), 9 (1), 35-9.
- [50] Gao, W., Li, Y., Zhu, D., Zhongcaoyao, (1998), 29(12), 796-798.
- [51] Selenghe, D., Zhavsan, S., Zhamyansan, Ya., J. Nat. Prod., (1991), 54 (5), 1413-15.
- [52] Yuldashev, M.P., Batirov, E.Kh., Vdovin, A.D., Malikov, V.M., Yagudaev, M.R., Khim. Prir. Soedin., (1989), 3, 352-9.
- [53] Yuldashev, M.P., Batirov, E.Kh., Malikov, V.M., Khim. Prir. Soedin., (1990), 4, 547-8.
- [54] Melnizuck, P.D., Farmakognostizeskoe issledovanie trabii thermopsisa, Avtoref. Kand. Diss., (1955), Livov.
- [55] Wagner, H., Bladt, S., Zgainski; E.M., Drogenanalyse, (1989), Springer Verlag, Berlin/ Heidelberg/ New York.
- [56] Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B., (1970), The Systematic Identification of Flavonoids, Springer Verlag, New York/ Heidelberg/ Berlin
- [57] Victoria, C., Haag-Berrurier, M., Lobsteingut, A., Balz, J.P. and Antony, R., Planta Medica, (1988), 51, 288.
- [58] Karting, T., Gruber, A. and Stachel, J., Planta Medica, (1985), 51, 288.
- [59] Harborne, J.B., Mabry, T.J., The flavonoids: Advances in Research, (1982), Chapman & Hall, London / New York.
- [60] Levy, G.C., Nelson, G.L., Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for Chemists, (1972), Wiley, New York.
- [61] Markham, K.R., Ternai, B., <sup>13</sup>C- MNR of Flavonoids II, Tetrahedron, (1976), Vol.32, pp. 2607-2612.
- [62] Geiger, H. and Beckmann, S., Z. Naturforsch., (1965), 20b, 1139.
- [63] Breitmeier, E., Voelter, W., Jung, G. und Tänzer, C., Chem. Ber., (1971), 104, 1147.
- [64] Cussans, N.J. and Huckerby, T.N., Tetrahedron, (1975), 31, 2719.
- [65] Markham, K.R., Ternai, B., Stanley, R., Geiger, H. and Mabry, T.J., Tetrahedron, (1978), 34, 1389.
- [66] Chaurasta, N. and Wichtl, M., Planta Medica, (1987), 53, 432.
- [67] Philip A.J., Corin and Mytosk Mazurek., Can. J. Chem., (1975), 53, 1212.
- [68] Miana, G.A. and Al-Hazimi, H.M.G., Phytochemistry, (1987), 26, 225.
- [69] Doddrell, D.M., Khong, P.W. and Lewis, K.G., Tetrahedron Letters, (1974), 2381.
- [70] Aquino, R., Simone, F.D., Pizza, C. and Mello, J.F.D., Phytochemistry, (1988), 27, 2927.
- [71] Pöllmann, K., Gagel, S., Elmagal, M.H.A., Shaker, K.H. and Seifert, K., Phytochemistry, (1997), 44(3), 485.
- [72] Ahmed, V.U., Ghazala, Uddin, S. and Bano, S., J. Nat. Prod., (1990), Vol.53, 5, 1193.

- [73] Wray, V., GBF Braunschweig, pers. Mitteilung
- [74] Pizza, C., De Tommasi, N. (1987) *J.Nat.Prod.* 50, 784
- [75] Elgamal, M.H.A., Shaker, K. H., Pöllmann, K. and Seifert, K., *Phytochemistry*, (1995), Vol.40, 1233.
- [76] Ahmed, V.U., Ghazala, S.U. and Ali, M.S., *Phytochemistry*, (1993), 33, 453.
- [77] Gafner, F., Msonthi, J.D. and Hostettmann, K. (1985) *Helv. Chim. Acta*, 68, 555.
- [78] Ahmed, V.U., Uddin, S., Bano, S. and Fatima, I., *Phytochemistry*, (1989), 28, 2169.
- [79] Stothers, J.B., *Carbon-13 NMR-Spektroskopie*, (1972), Academic Press, S. 56 und 479.
- [80] Takatori, K., et al, *Chem. Pharm. Bull. Jpn.*, (1972), 20, 1087.
- [81] Masuko, M., Miyamoto, K., Sakurai, K., Iino, M., Takeuchi, Y. and Hashimoto, T., *Phytochemistry*, (1983), 22, 5, 1278-1280
- [82] Günther, H., Bock, H., *IR- Spektroskopie*, (1983), Verlag Chemie, Weinheim.
- [83] Aly, H.F., Geiger, H., Schucker, U., Waldrum, H., Velde G.V. and Mabry, T.J., *Phytochem.*, (1975)14, 1613.
- [84] Wehrli, F.W., *Chem. Commun.*, (1975), 663.
- [85] Ternai, B. and Markham, K.R., *Tetrahydron*, (1976), 32, 565.
- [86] H Hassanean, A.E., Desoky, K., *Phytochemistry*, (1992), 31, 9, 3293.
- [87] Bohlmann, F. and Ziesberg, R., *Chem. Ber.*, (1975), 108, 1043
- [88] Mikhova, B. and Duddeck, H., *Magn. Reson. Chem.*, (1998), 36 (11), 779-796.
- [89] Liu, Z., Yang, L., Jia, Z. and Chen, J., *Magn. Reson. Chem.*, (1992), 50, 502.
- [90] Golebiewski, W. and Spenser, I.D., *Can. J. Chem.*, (1985), 63, 716.
- [91] Boczon. W., and Bkolik, J., *Bull. Pol. Acad. Sci. Chem.*, (1989), 37, 35, *Chem. Abstr.*, (1990),113:78781b.
- [92] Batatinha, M.J.M., *Diss.*, (1997), Hannover, TiHo.
- [93] Wagner, H., *Pharmazeutische Biologie*, (1985), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart NewYork.
- [94] Morimoto, I., Watanabe, F., Osawa, T., Okatsu, T., *Mutation Res.*, (1982), 97, 81.
- [95] Kanamori, H., Sakamoto, I., Mitzuta, M., Hascimota, K., Tanaka, O., *Chem. Pharm. Bull.*, (1984), 32, 2290.
- [96] Ghosal, S., Chadbury, R.K., *J. Pharm. Sci.*, (1975), 64, 888.
- [97] Bader, G., Hiller, K., *Pharmazie*, (1987), 42, 577.
- [98] Schöpke, T., Hiller, K., *Pharmazie*, (1990), 45, 313.
- [99] Nagao, T., Tanaka, R., Iwase, Y. and Okabe, H., *Chem. Pharm. Bull.*, (1993), 41, 659.
- [100] Takagi, K. and Lee, E.B., *J. Pharma. Soc. Jpn.*, (1972), 92, 961 and 969.

- [101] Christopher, H., William, I.B., Chem. Abstr., C.A. (1984), 102:1191, 121.
- [102] Sakakibara, K., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S. and Shoji, J., Chem. Pharm. Bull. Jpn.,(1975), 23, 1009; (1976), 24, 2985.
- [103] Ikehara, M., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S. and Shoji, J., Chem. Pharm. Bull. Jpn.,(1978), 26, 2884.
- [104] Yamamoto, M., Yamamura, Y., Arzneim. Forsch., (1975), 25, 1021, 1240.
- [105] Goleneva, A. F., Khidasheli, V.D. and Figurkin, B.A., Rastit. Resur. (1979), 15, 115.
- [106] Wilcox, E.B. and Galloway, L.S., Am. J. Clin. Nutr., (1961), 9, 236.
- [107] Newman, H.A.I., et. al., Poultry Sci., (1958), 37, 42; Chem. Abstr. (1959), 53, 517.
- [108] Harborne, J.B., Baxten, H., Moss, G.P., Phytochemical Dictionary, (1999), Taylor & Francis.
- [109] Döpke, W., Einführung in die Chemie der Alkaloide, (1968), Akademie Verlag, Berlin,
- [110] Raschack, M., Arzneim. Forsch., (1974), 24, 753.
- [111] Wink, M., Planta Med., (1987), 53, 509 (Zitierung).
- [112] Markham, K.R., Techniques of Flavonoid Identification, (1982), Academic Press.

## Lebenslauf

Name	Enkhmaa Dagvadorj
Geburtsdatum	09.01.1965
Geburtsort	Dundgobi (Mongolei)
Staatsangehörigkeit	mongolisch
Familienstand	verheiratet, 2 Kinder
Schulbildung	1972 – 1974 Grundschule in Ulaanbaatar 1974 – 1982 Mittel- und Oberschule in Undur-Khan
Hochschulausbildung	1982 – 1988 an der Staatsuniversität Irkutsk UdSSR, Studiengang Chemie
Abschluß	1988 Diplom Chemie
Berufstätigkeit	1988 – 1994 als wissenschaftliche Mitarbeiterin im Informationszentrum für Technologie der Mongolei
Sprachschule	April – September 1994 am Goethe-Institut in Freiburg
Promotionsstudium	Ab Oktober 1994 an der Universität Hannover, Fachbereich organische Chemie
Wintersemester 1997/98	Wissenschaftliche Hilfskraft bei der Betreuung von Studenten im Chemiepraktikum an der Tierärztlichen Hochschule Hannover