

## 5. Phytochemische Aufarbeitung von Extrakten aus *Pelargonium sidoides*

### 5.1. Bearbeitung der Kraut-Extrakte

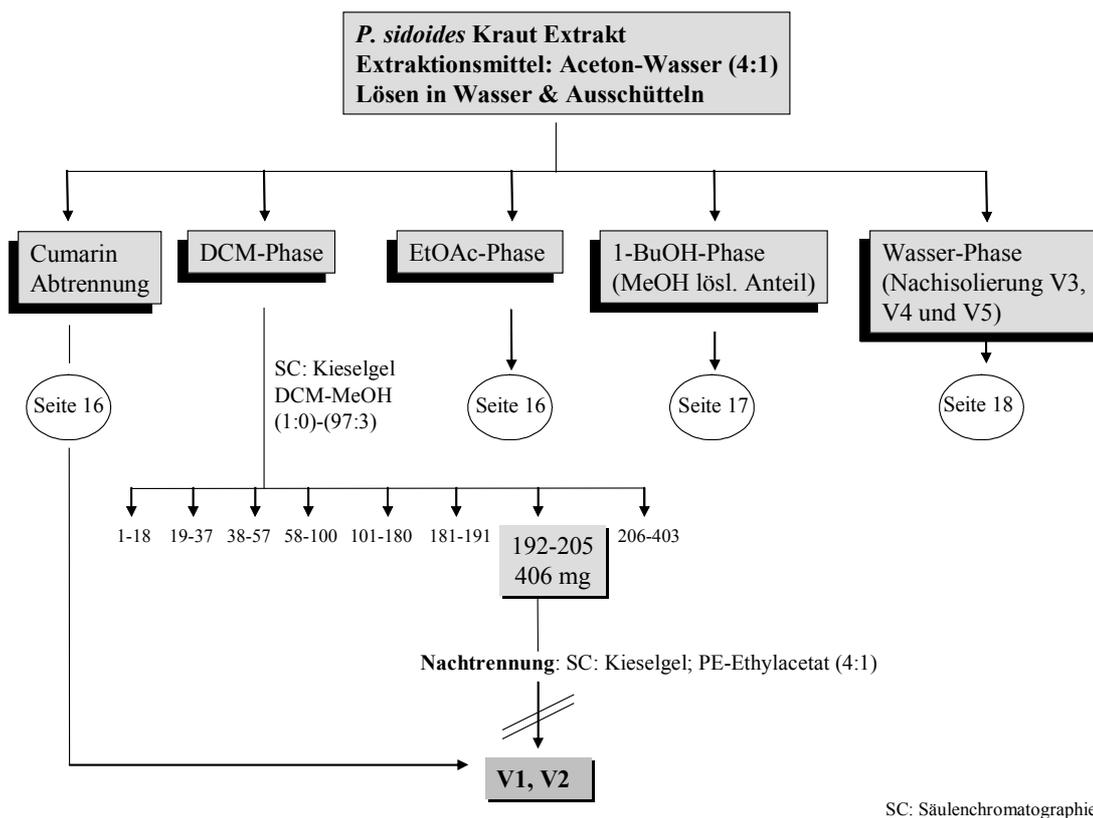


Abbildung 5: Aufarbeitungsschema (mit Fraktionsnummern 1-403; Elutionsvolumina s. Tabelle 37) des Krautextraktes von *P. sidoides*

#### 5.1.1. Auftrennung der Dichlormethan-Fraktion

DC-Untersuchungen zeigten, dass neben Chlorophyll vor allem zwei Cumarine in der Fraktion enthalten waren. Da bislang keine Cumarine aus dieser Fraktion isoliert worden waren, bestand die Möglichkeit, dass es sich um bislang unbekannte Inhaltsstoffe handelte.

Die Fraktion wurde säulenchromatographisch erst über eine Kieselgelsäule mit Hilfe eines Dichlormethan-Methanol-Gradienten (1:0)\*→(97:3) aufgetrennt, anschließend die angereicherte Cumarin Fraktion über eine weitere Kieselgelsäule [Fließmittel: Petrolether-Ethylacetat (4:1)] chromatographiert. Leider konnte so keine vollständige Abtrennung der Cumarine vom Chlorophyll erreicht werden. Weitere Aufreinigungsschritte konnten aufgrund zu geringer Mengen nicht vorgenommen werden (Abbildung 5).

### **5.1.2. Cumarinabtrennung aus dem Gesamtextrakt**

Um die Cumarine direkt aus dem *Pelargonium* Extrakt zu gewinnen, wurde 1g Extrakt in 1-Butanol gelöst, und mit einer 5%igen, wässrigen Kalilauge ausgeschüttelt. Cumarine gehen dabei durch Öffnung des Lactonringes in eine gut wasserlösliche ionische Form über, durch Ansäuern der wässrigen Phase mit 6%ig HCl auf pH1 wird der Ringschluss zum Lacton katalysiert. Erneutes Ausschütteln mit 1-Butanol überführte die Cumarine in diese Phase, wo sie getrennt vom Chlorophyll und anderen Inhaltsstoffen vorlagen.

Durch zweifache präparative DC auf Kieselgel im unpolaren Fließmittel Petrolether-Ethylacetat (1:2), dann in Toluol-Aceton (2:1) konnten die beiden Cumarine V1 und V2 isoliert und als Umckalin und Scopoletin identifiziert werden (Abbildung 5).

### **5.1.3. Auftrennung der Ethylacetat-Fraktion**

Die Ethylacetat Fraktion wurde über eine Sephadex LH-20 Säule im Fließmittelgradienten Wasser-Methanol (1:0)→(0:1) vorgetrennt.

Die so gewonnen Fraktionen wurden nach DC Prüfung weiteren chromatographischen Trennungsschritten unterworfen; es konnten die in Abbildung 6 aufgeführten Verbindungen isoliert und charakterisiert werden.

---

\* die Angaben zu Mischungsverhältnissen beziehen sich immer auf (V/V); siehe Experimenteller Teil

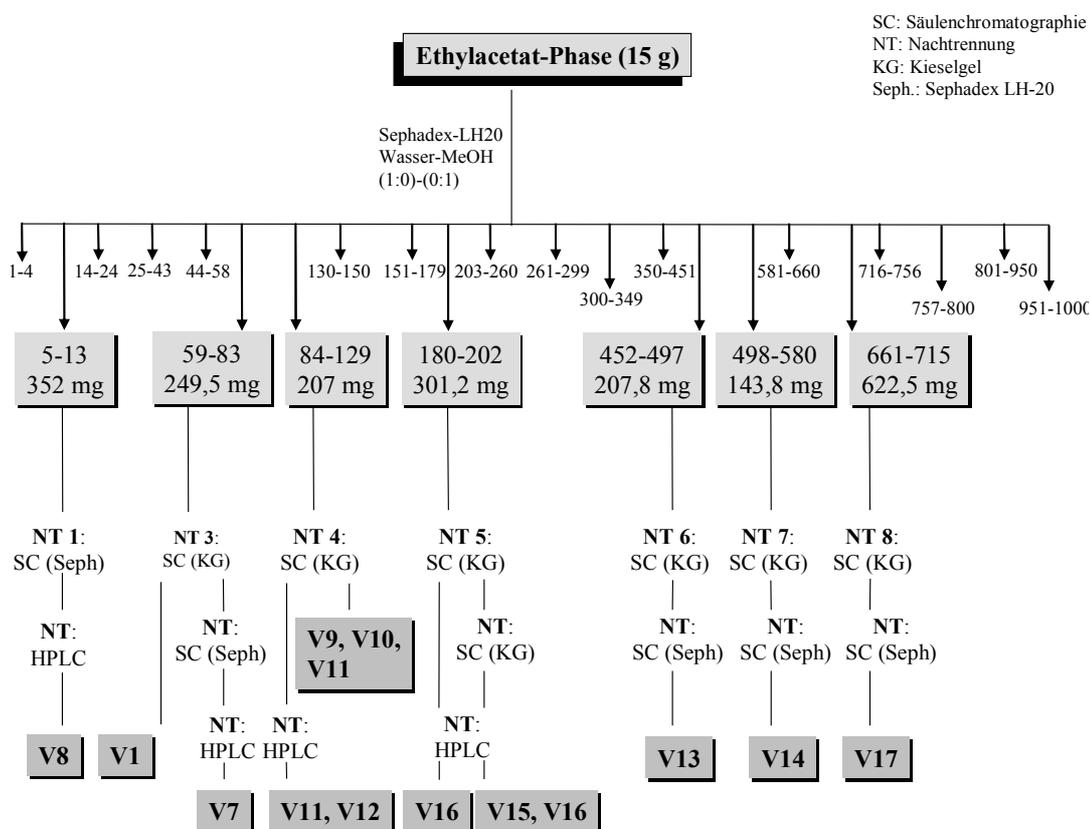


Abbildung 6: Aufarbeitungsschema der Ethylacetat-Fraktion (mit Fraktionsnummern 1-1000; Elutionsvolumina s. Tabelle 36) des Krautextraktes von *P. sidoides*

#### 5.1.4. Auftrennung der 1-Butanol-Fraktion

DC-Untersuchungen ergaben, dass sich in der 1-Butanol-Fraktion sowohl polyphenolische Verbindungen befanden als auch polare Cumarine, unter anderem auch solche, die dünnschichtchromatographischen Voruntersuchungen zufolge sehr stark polar waren, aber keinen Kohlehydratrest besaßen, was einen Hinweis auf sulfatierte Verbindungen gab.

Gute Trennergebnisse ließen sich hier mit Polyamid als Säulenmaterial erzielen (Silva *et al.*, 1996). Zum einen ließen sich die polaren Cumarine mit dem Fließmittelgradienten Wasser-Methanol (1:0)→(2:3) in Fraktionen trennen. Im Extrakt enthaltene sulfatierte Verbindungen blieben am Säulenmaterial gebunden, konnten aber sehr einfach durch Zusatz von 0,1% Ammoniumcarbonat zum Fließmittelsystem von der Säule eluiert werden (Lemmich und Shabana, 1984).

Darüber hinaus wurden polyphenolische Verbindungen irreversibel am Säulenmaterial gebunden und störten so bei der weiteren Aufarbeitung nicht mehr (Wall *et al.*, 1996). Um eine zusätzliche Abtrennung von anderen gut wasserlöslichen Komponenten wie Zucker zu erreichen, wurde der Extrakt vor dem Auftragen auf die Säule in Methanol gelöst und filtriert. Nur die in Methanol löslichen Anteile des Extraktes wurden weiter bearbeitet. Abbildung 7 zeigt das Aufarbeitungsschema und die aus der Fraktion isolierten und charakterisierten Verbindungen.

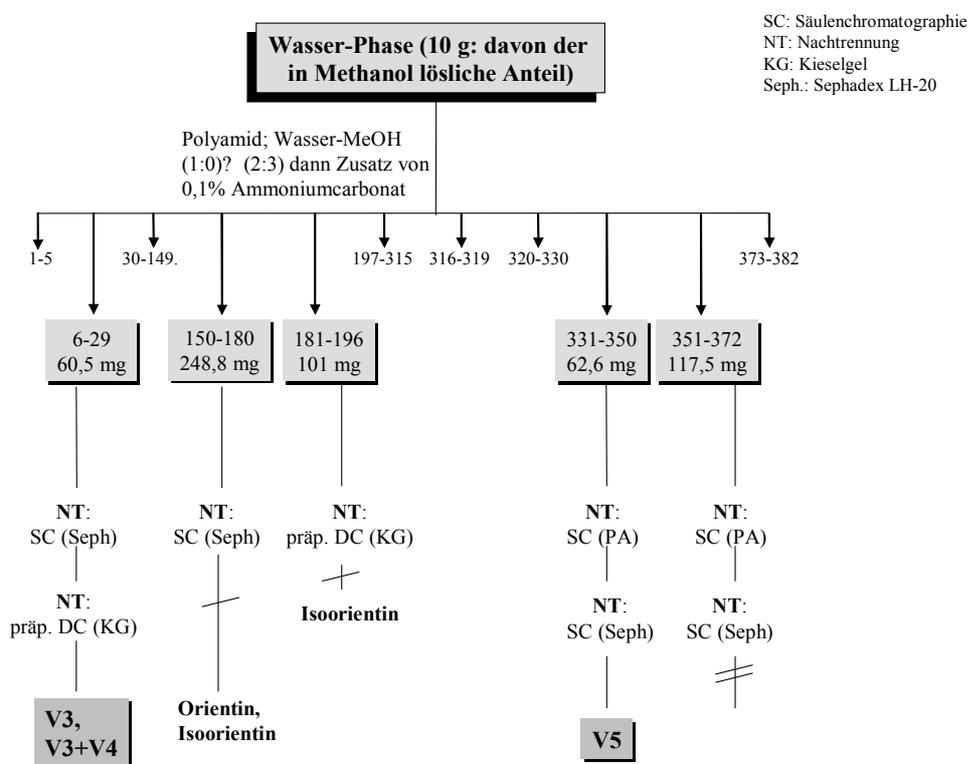


Abbildung 7: Aufarbeitungsschema der 1-Butanol-Fraktion (mit Fraktionsnummern 1-382; Elutionsvolumina s. Tabelle 49) des Krautextraktes von *P. sidoides*

### 5.1.5. Auftrennung der Wasser-Fraktion als Nachtrennung der Substanzen V3-5

Wie bereits oben erwähnt, wurde zur Aufarbeitung der Fraktion nur der methanollösliche Anteil verwendet, was letztlich zur Isolierung der Verbindungen in nur geringen Mengen führte. Aus diesem Grund wurden die polaren Verbindungen 3-5 erneut nach dem Schema in Abbildung 8 aus der Wasser-Fraktion isoliert.

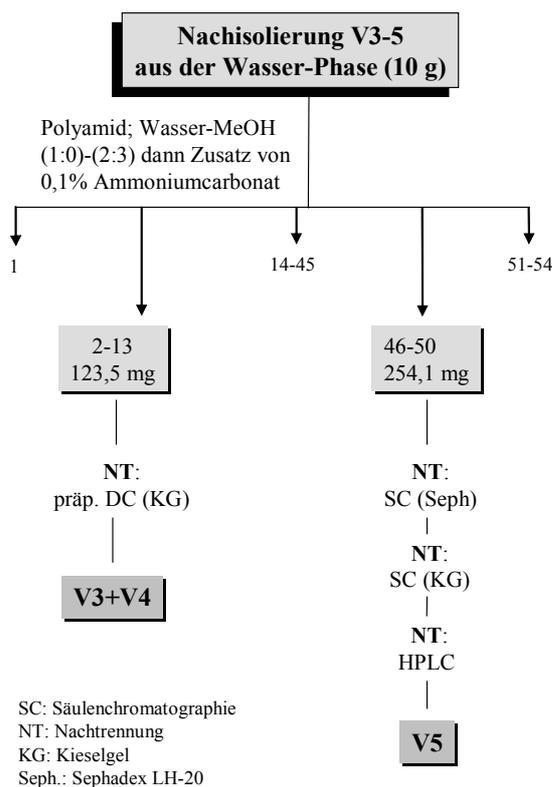


Abbildung 8: Nachisolierung von V3, V4 und V5 aus der Wasser-Fraktion (Fraktionsnummer 1-54; Elutionsvolumina s. Tabelle 53) des Krautextraktes von *P. sidoides*

## 5.2. Bearbeitung der Wurzel-Extrakte

Die meisten aus *P. sidoides* schon bekannten Verbindungen wurden bisher aus dem Wurzelmaterial isoliert (Kayser und Kolodziej, 1995). Die Bearbeitung der Wurzelextrakte in der vorliegenden Arbeit beschränkte sich daher in Anlehnung an DC Voruntersuchungen, auf den Versuch der Isolierung noch unbekannter Verbindungen. Die Aufarbeitung erfolgt grundsätzlich wie in Abbildung 5, es werden 133,5 g des Extraktes eingesetzt.

### 5.2.1. Auftrennung der Ethylacetat-Fraktion

Die Aufarbeitung erfolgt hier in analoger Weise zur Ethylacetat-Fraktion des oberirdischen Pflanzenteils. Aus der Ethylacetat-Fraktion des Wurzelextraktes konnten keine neuen Verbindungen isoliert werden (Tabelle 29).

### 5.2.2. Auftrennung der 1-Butanol-Fraktion

Die Aufarbeitung der 1-Butanol-Fraktion erfolgt analog zur Aufarbeitung der entsprechenden Fraktion des Extraktes der oberirdischen Pflanzenteile. Aufarbeitungsschema und isolierte, sowie charakterisierte Verbindungen finden sich in Abbildung 9.

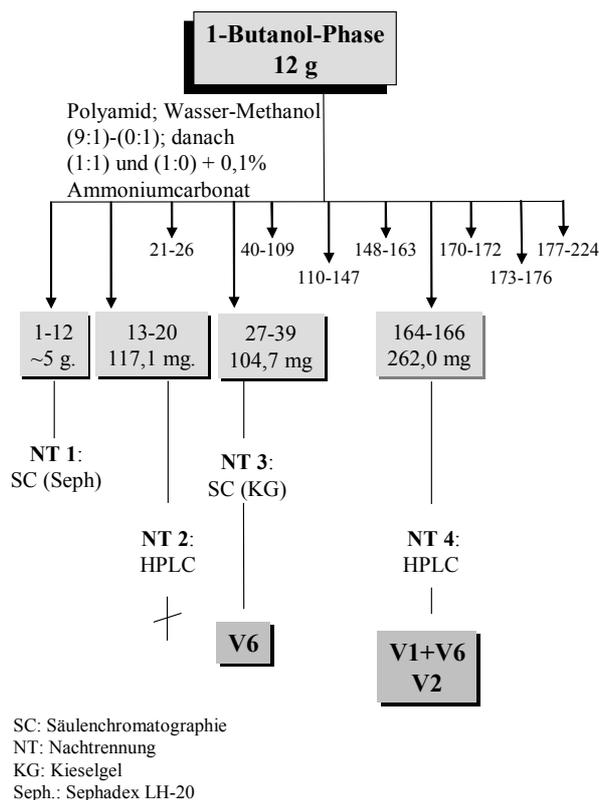


Abbildung 9: Aufarbeitungsschema der 1-Butanol-Fraktion (Fraktionsnummern 1-179; Elutionsvolumina s. Tabelle 32) des Wurzelextraktes von *P. sidoides*