



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Phytochemische Untersuchungen an ausgewählten Drogen der
Traditionellen Chinesischen Medizin (TCM)

Isabella Sprinzl

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, im Juni 2010

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A449
Studienrichtung lt. Studienblatt: Pharmazie
Betreuerin: Univ. Prof. Mag. Dr. Brigitte Kopp

Ich bedanke mich herzlich bei Frau Univ. Prof. Mag. Dr. Brigitte Kopp für die Möglichkeit auf dem Gebiet der Traditionellen Chinesischen Medizin zu arbeiten. Für das bereitgestellte Thema und ihre fachliche Unterstützung bei allen aufkommenden Fragen.

Ein großes Dankeschön gilt auch Mag. Judith Singhuber für ihre Geduld und Hilfsbereitschaft. Ebenso dafür, dass sie immer ein offenes Ohr für mich hatte und stets motivierende Worte.

Danke an alle Mitarbeiter des Instituts für Pharmakognosie für ihre Kollegialität und Unterstützung.

Ein großer Dank gilt meiner Familie, besonders meiner Mutter, ohne der mein Studium in dieser Form nicht möglich gewesen wäre, und meinem Bruder Georg. Ich danke all meinen Freunden, die mir immer Daumen hielten und meine Launen ertrugen. Danke Annemarie, danke Simon ganz besonders für die letzte Prüfungszeit.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung und Problemstellung	4
2.	Material und Methoden	5
2.1	Drogenmaterial.....	5
2.2	Referenzen und Reinsubstanzen	6
2.3	Dünnschichtchromatographie.....	6
2.4	Detektion und Reagenzien	6
3.	Ergebnisse	8
3.1	Albiziae Cortex (Seidenakazienrinde).....	8
3.2	Albiziae Flos (Seidenakazienblüten)	17
3.3	Atractylodis macrocephalae Rhizoma (Großköpfige Atractylodes Wurzel).....	20
3.4	Coptidis Rhizoma (Goldfadenwurzelstock).....	27
3.5	Forsythiae Fructus (Forsythienfrüchte).....	31
3.6	Gastrodiae Rhizoma (Gastrodienwurzelstock)	36
3.7	Nelumbinis Plumula (Lotuskeimlinge)	40
3.8	Polygoni multiflori Caulis (Vielblütiger Knöterichstängel)	44
3.9	Tribuli Fructus (Borzeldornfrüchte)	49
3.10	Uncariae Ramulus cum Uncis (Uncaria Zweige und Dornen).....	54
3.11	Ziziphi spinosae Semen (Stacheljubilensamen)	58
4.	Diskussion	63
5.	Zusammenfassung	67
	Summary.....	68
6.	Literatur	69
	Curriculum vitae	73

1 Einleitung und Problemstellung

Als Komplementärmedizin gewinnt die Traditionelle chinesische Medizin (TCM) innerhalb Europas immens an Bedeutung und Anerkennung. Die Lehre der TCM behandelt nicht nur die körperlichen Beschwerden im Einzelnen, sondern den Körper, den Geist und die Seele im Gesamten. Man ist bemüht, die Harmonie des Körpers mit Hilfe von Akupunktur und TCM-Drogen wiederherzustellen. Diese werden anhand ihrer Primäreigenschaften Geschmack, Temperatúrausstrahlung und Toxizität ausgewählt und die Hauptdarreichungsform bildet traditionellerweise das Dekokt. Aufgrund des für unseren westlichen Gaumen nicht immer angenehmen Geschmacks gewinnt die magistrale Herstellung von Tabletten, Kapseln und Granulaten in letzter Zeit auch immer mehr an Bedeutung.

Der Apotheker ist verpflichtet, eine Identitätsprüfung der aus China importierten Arzneidrogen durchzuführen, um so eine hinreichende Qualität und Unbedenklichkeit gewährleisten zu können. Hierzu dienen die Monographien des chinesischen Arzneibuches, das auch in englischer Übersetzung erschienen ist. Von Stöger (2006) übersetzt, überarbeitet und mit mikroskopischen Zeichnungen der einzelnen Drogen versehen, ist auch eine deutsche Version erhältlich. Neben der Mikroskopie stellt die Dünnschichtchromatographie eine rasche und einfache Methode zur Identitätsprüfung dar.

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, 11 verschiedene Drogen der traditionellen chinesischen Medizin von 10 unterschiedlichen Arzneipflanzen mittels Dünnschichtchromatographie zu überprüfen. Dabei sollten schon publizierte DC-Systeme auf ihre Reproduzierbarkeit untersucht und verbessert werden bzw., wenn keine dünnschichtchromatographische Prüfungsmethoden bekannt waren, diese erstellt werden.

2 Material und Methoden

2.1 Drogenmaterial

Das Drogenmaterial wurde von Plantasia, Österreich, bezogen. Analysiert wurde jeweils nur eine Probe der jeweiligen Droge, es fand kein Vergleich mit Proben aus weiteren Chargen bzw. aus verschiedenen Provinzen Chinas statt. Ausgewählt wurden 10 unterschiedliche Pflanzen, 11 verschiedene Drogen, mit einer traditionell sedierenden, beruhigenden Wirkung auf den menschlichen Körper:

Albiziae Cortex (Charge: 710805)

Albiziae Flos (Charge: 410700)

Atractylodis macrocephalae Rhizoma (Charge: 610043)

Coptidis Rhizoma (Charge: 680034)

Forsythiae Fructus (Charge: 440410)

Gastrodiae Rhizoma (Charge: 660067)

Nelumbinis Plumula (Charge: 520350)

Polygoni multiflori Caulis (Charge: 410853)

Tribuli Fructus (Charge: 410444)

Uncariae Ramulus cum Uncis (Charge: 680849)

Ziziphi spinosae Semen (Charge: 640368)

2.2 Referenzen und Reinsubstanzen

Das Drogenmaterial zur Herstellung der Referenzextrakte wurde von KOTTAS, Österreich, bezogen. Die Herstellung der Vergleichsextrakte erfolgte, wenn nicht anders angegeben, unter den gleichen Bedingungen wie die des Untersuchungsextraktes.

Die verwendeten Reinsubstanzen wurden in einem Verhältnis von 1 mg zu 1 ml Lösungsmittel gelöst.

2.3 Dünnschichtchromatographie

Die Entwicklung erfolgte entweder auf Kieselgel-Fertigplatten (Kieselgel 60 F₂₅₄, Fa. Merck, Darmstadt) oder HPTLC-Fertigglasplatten. Die Laufstrecke beträgt 8 cm, wenn nicht anders angegeben. Vor jeder Entwicklung fand eine 15 minütige Kammersättigung mit dem Fließmittel statt.

Die aufzutragenden Probenvolumina sind den jeweiligen Vorschriften zu entnehmen.

2.4 Detektion und Reagenzien

AS-Reagenz = Anisaldehyd-Schwefelsäure Reagenz:

0,5 ml Anisaldehyd werden mit 10 ml Eisessig, 85 ml Methanol und 5 ml konzentrierter Schwefelsäure in angegebener Reihenfolge gemischt. Das Reagenz ist nur begrenzt haltbar; bei Verfärbung nach rotviolett ist es nicht mehr zu verwenden. Die DC-Platte wird besprüht und 5-10 min bei 100 °C im Trockenschrank erhitzt (*Wagner und Blatt, 1996*).

p-DMAS-Reagenz = p-Dimethylaminobenzaldehyd-Salzsäure Reagenz:

1 g p-Dimethylaminobenzaldehyd wird mit 34 ml 36 %iger Salzsäure und 100 ml Methanol gemischt. Die Platte wird kräftig besprüht und anschließend unter Beobachtung bei 105 °C im Trockenschrank erhitzt (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

MPS-Reagenz = Molybdäthosphorsäure Reagenz:

4 g Molybdän-Phosphorsäure werden mit 40 ml heißem Wasser gemischt. Zur abgekühlten Lösung werden vorsichtig 60 ml konzentrierter Schwefelsäure beigemischt. Die Platte wird besprüht und anschließend 5 min bei 100 °C im Trockenschrank erhitzt (*Wagner und Bauer, 2006*).

Die Dünnschichtchromatographie ist idealerweise mit einer mit Kieselgel beschichteten Glasplatte durchzuführen, da nach dem Besprühen einer Aluminiumplatte mit MPS-Reagenz eventuell Verfärbungen auftreten können und das Chromatogramm dann nicht mehr auswertbar ist. Bei Verwendung von Glasplatten konnten Blauverfärbungen erst nach 30 bis 60 min beobachtet werden.

NAT-PEG = Naturstoff-Polyethylenglycol:

Auf die Platte werden nacheinander eine 1 %ige methanolische Lösung von Diphenylborsäure- β -ethylaminoester und eine 5 %ige ethanolische Polyethylenglykol-400-Lösung aufgesprüht.

VS-Reagenz = Vanillin-Schwefelsäure Reagenz:

Die Platte wird kräftig nacheinander mit 5 %iger ethanolischer Schwefelsäure und 1 %iger ethanolischer Vanillinlösung besprüht. Anschließend wird bei 110 °C ca. 5-10 min unter Beobachtung erhitzt und ausgewertet (*Wagner und Bladt, 1996*).

In seltenen Fällen wurden die DC-Platten nicht mit dem Reagenz besprüht, sondern für eine gleichmäßigere Färbung in das Reagenz getaucht. Genauere Angaben sind hierzu bei den Kapiteln der einzelnen Drogen zu entnehmen.

3 Ergebnisse

3.1 Albiziae Cortex (Seidenakazienrinde)

Als *Albiziae Cortex* wird die im Sommer oder Herbst abgeschälte und an der Sonne

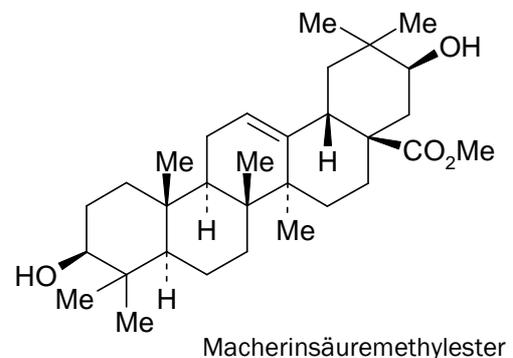
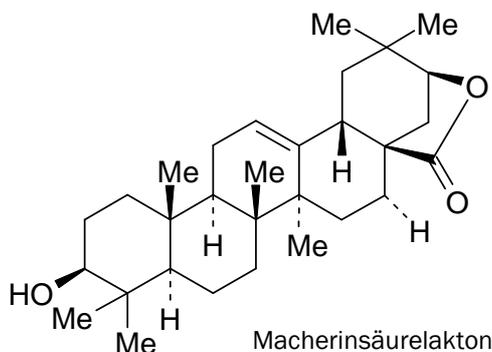


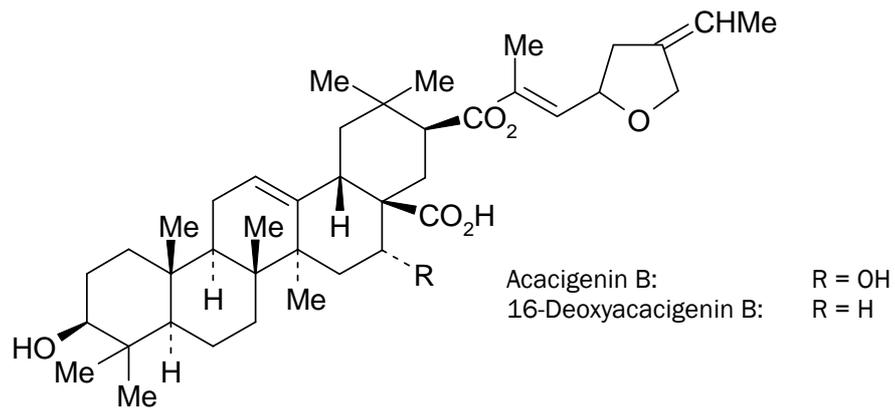
getrocknete Stammrinde von *Albizia julibrissin* DURAZZ. (Fabaceae) bezeichnet.

Die Vorbehandlung der Droge entspricht der Reinigung, dem Waschen, Durchfeuchten, in Streifen oder Stücke Schneiden und abschließendem Trocknen (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

Abb.1: *Albiziae Cortex*

Als Hauptinhaltsstoffe gelten Triterpensaponine, unter anderem Acacigenin B und 16-Deoxyacacigenin, das Lakton und der Methylester der Macherinsäure und diverse Julibroside (*Bensky et al., 2004*). Einige dieser Julibroside zeigen *in vitro* eine Antitumorwirkung gegen verschiedene Zelllinien (z.B. PC-3M-1E8 und Leukämie Jurkat T-Zellen) auf (*Zheng et al., 2005; Won et al., 2006*). Verschiedene Flavonoide wie Isookanin, Luteolin und das Isoflavon Daizein konnten ebenfalls aus *Albizia julibrissin* DURAZZ. isoliert werden (*Jung et al., 2004*). Hiervon konnte Isookanin, Luteolin und zwei Phenolglykosiden (Albibrissinosid A und B) eine Radikalfänger-Aktivität im DPPH-Assay nachgewiesen werden (*Jung et al., 2004*).





6-12 g der Droge werden bei Schlaflosigkeit, Angstzuständen, posttraumatischen Schmerzen oder Schwellungen, Frakturen, Ulzerationen und Abszessen angewendet (*Hempfen und Fischer, 2001; Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Albiziae Cortex*

Bei der Suche nach einem optimalen DC-System für *Albiziae Cortex* fanden 6 verschiedene Extrakte Verwendung. Es wurde versucht, die bei der Auswertung störenden Begleitstoffe abzureichern.

Extrakt-1: 1 g gepulverte Droge wird mit 5 ml Methanol unter Rückfluss 15 min erhitzt und anschließend filtriert.

Extrakt-2: 2 g gepulverte Droge werden mit 10 ml 70 %igem Ethanol unter Rückfluss 15 min erhitzt und filtriert.

Extrakt-3: 2 g gepulverte Droge werden mit 10 ml Methanol unter Rückfluss 15 min erhitzt und filtriert. Anschließend wird das Extrakt dreimal mit jeweils 5 ml Petrolether ausgeschüttelt, um fettige Neutralstoffe abzutrennen.

Extrakt-4: 5 g gepulverte Droge werden mit 25 ml Methanol unter Rückfluss 15 min erhitzt und filtriert. Dieser Vorgang wird mit weiteren 25 ml Methanol wiederholt und die vereinigten Filtrate zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in 5 ml Wasser gelöst, mit 10 ml Petrolether ausgeschüttelt und - um eine ausreichende Trennung der Phasen zu erreichen - über Nacht in einem Scheidetrichter aufbewahrt. Am nächsten Tag sind deutlich eine klare Phase I und eine trübe Phase II zu erkennen; diese werden getrennt voneinander gesammelt und zur Trockene eingedampft. Anschließend werden sie in je 1 ml Methanol gelöst.

Extrakt-5: Hydrolyse nach *Wagner et al., 1983*:

1 g gepulverte Droge wird mit 20 ml Chloroform 15 min geschüttelt, filtriert und anschließend zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in 2 ml einer Chloroform : Methanol Mischung (1 : 1) gelöst => CHCl₃ Auszug I.

Die extrahierte Droge wird mit 30 ml 1 N-Schwefelsäure 1 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend zweimal mit je 20 ml Chloroform ausgeschüttelt; um eine bessere Trennung der Phasen zu erreichen, wird zentrifugiert. Die klare Chloroform-Phase wird mithilfe von Natriumsulfat getrocknet, filtriert und zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird wieder in 2 ml einer Chloroform : Methanol Mischung (1 : 1) gelöst => CHCl₃ Auszug II.

Extrakt-6: 1 g gepulverte Droge wird mit 10 ml Butanol vermengt, unter Rückfluss 15 min erhitzt und filtriert.

Als mobile Phase wurden für *Albiziae Cortex* folgende Systeme untersucht:

AC-1 = Fließmittel 1: Chloroform : Methanol : Ameisensäure (6 : 0,5 : 0,1)

(*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*)

AC-2 = Fließmittel 2: Chloroform : Methanol : Wasser (65 : 35 : 10)

AC-3 = Fließmittel 3: Ethylformiat : Toluol : Ameisensäure (50 : 50 : 15)

(*Wagner und Blatt, 1996*)

AC-4 = Fließmittel 4: n-Butanol : Eisessig : Wasser (4 : 1 : 5), organische Phase

(*Won et al., 2006*)

AC-5 = Fließmittel 5: Ethylacetat : Ameisensäure : Eisessig : Wasser (100 : 11 : 11 : 27)

(*Wagner und Blatt, 1996*)

AC-6 = Fließmittel 6: Chloroform : Methanol (90 : 10)

Als erstes wurde das in der Monographie von *Albiziae Cortex* der *Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2005)* für eine Identitätsprüfung vorgeschriebene DC-System getestet. Dazu wurde ein Methanolextrakt der Droge hergestellt (= Extrakt-1, siehe Seite 7) und als mobile Phase Chloroform : Methanol : Ameisensäure (6 : 0,5 : 0,1) verwendet. Zur Detektion wurde das Chromatogramm nach der Entwicklung mit VS-Reagenz gleichmäßig besprüht (Abb. 2, siehe Seite 9). Nur eine dominante, grün farbige Bande mit einem R_f-Wert von ~0,21 ist deutlich zu erkennen. Bei der Untersuchung des Chromatogramms bei UV₂₅₄ und UV₃₆₆ lassen sich weitere Zonen nur erahnen, aber nicht eindeutig ablesen. Aufgrund der dunklen Zone an der Front wurde auf ein zu polares Fließmittel geschlossen.

Es wurde ein Ethanolextrakt von *Albiziae Cortex* hergestellt und für einen Vergleich auch von *Primulae Radix*, um ausschließlich eine Bewertung für das Fließmittel zu ermöglichen.

Die Polarität der mobilen Phasen wurde gesenkt, um die Trennleistung zu erhöhen. In den Chromatogrammen (Abb. 3 und 4) ließ sich eine Verbesserung der Zonierung im Vergleich zu Fließmittel 1 mit Fließmittel 2 und vor allem mit 3 feststellen. Der Fingerprint von *Albiziae Cortex* weist mehr Banden auf als in Abb. 2, aber aufgrund der Schlieren und dunklen Flecken gestaltet sich eine genaue Identifizierung immer noch als schwierig. Der Fingerprint des Referenzextraktes von *Primulae Radix* zeigt keine Schlieren und die einzelnen Banden sind scharf und gut erkennbar. Deshalb wurde an der Herstellung des Extraktes von *Albiziae Cortex* weiter gearbeitet.

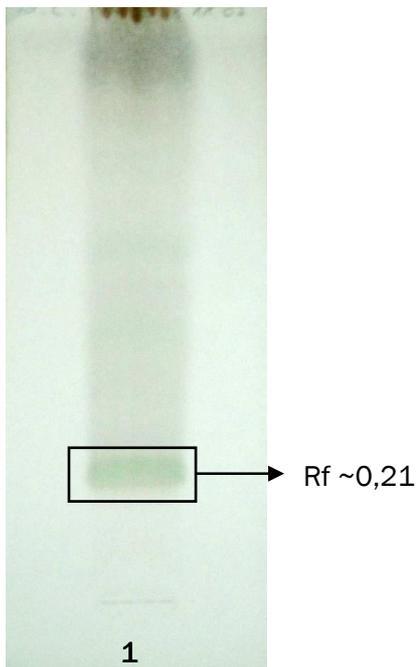


Abb.2: DC von *Albiziae Cortex* Extrakt-1
(Aufnahmen bei Tageslicht)
Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase:
CHCl₃:MeOH:Ameisensäure
(6:0,5:0,1)
Detektion: VS-Reagenz
Bahn 1: 30 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-1 (siehe Seite 7)

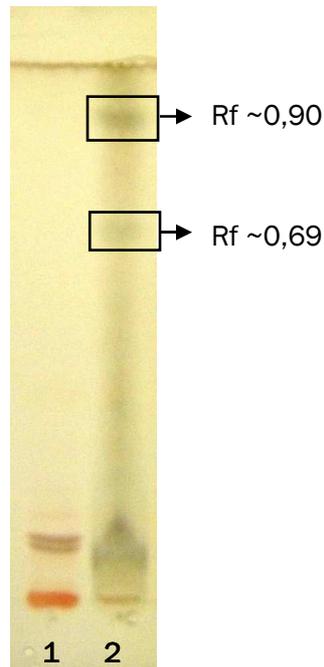


Abb.3: DC von *Albiziae Cortex* Extrakt-2 und *Primulae Radix*
(Aufnahmen bei Tageslicht)
Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase:
CHCl₃:MeOH:H₂O
(65:35:10)
Detektion: VS-Reagenz
Bahn 1: 5 µl *Primulae Radix*
Bahn 2: 5 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-2 (siehe Seite 7)

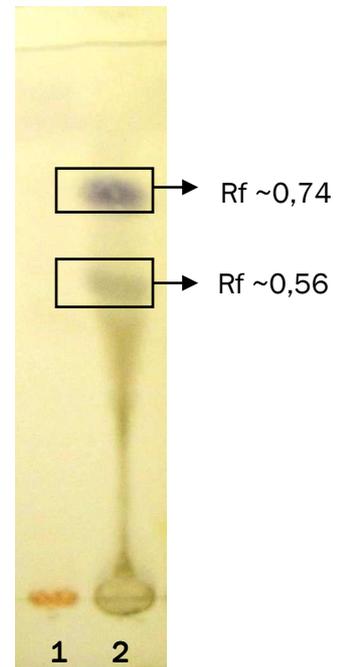


Abb.4: DC von *Albiziae Cortex* Extrakt-2 und *Primulae Radix*
(Aufnahmen bei Tageslicht)
Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase:
Ethylformiat:Toluol:
Ameisensäure (50:50:15)
Detektion: VS-Reagenz
Bahn 1: 5 µl *Primulae Radix*
Bahn 2: 5 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-2 (siehe Seite 7)

Es wurde ein konzentrierteres Methanolextrakt hergestellt und dieses dreimal mit Petrolether ausgeschüttelt (Extrakt-3, siehe Seite 7), um die Detektion störende Begleitstoffe im Extrakt zu entfernen und dominantere Zonen zu erhalten. Ein Vergleich von Ethanolextrakt 2 mit dem aufgereinigtem Methanolextrakt 3 von *Albiziae Cortex* (beide siehe Seite 7) wird in Abb. 5 gezeigt. Durch die Abtrennung der Begleitstoffe im neuen Extrakt konnten die Schlieren im Chromatogramm beseitigt werden. Im Vergleich zu Abb. 4 (siehe Seite 9) kam eine HPTLC-Platte zum Einsatz; das Fließmittel Ethylformiat : Toluol : Ameisensäure (50 : 50 : 15) und die Verwendung von VS-Reagenz als Sprühreagenz blieben gleich.

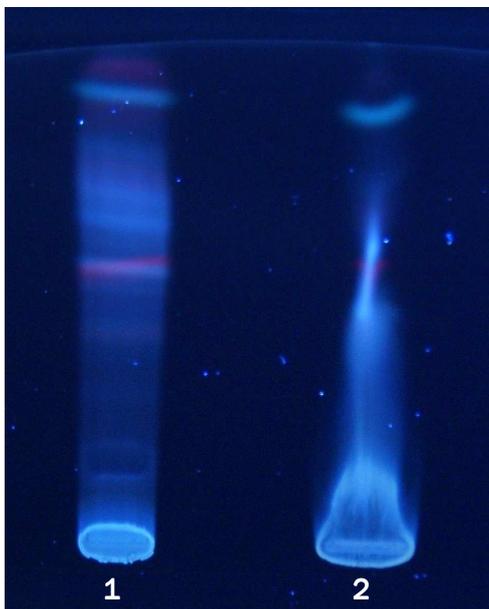


Abb.5 DC von *Albiziae Cortex* Extrakt-3 und Extrakt-2 (Aufnahmen bei UV₃₆₆)
Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: Ethylformiat:Toluol:Ameisensäure (50:50:15)
Detektion: VS-Reagenz
Bahn 1: 30 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-3 (siehe Seite 7)
Bahn 2: 30 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-2 (siehe Seite 7)



Abb.6 DC von *Albiziae Cortex* Extrakt-3 (Aufnahmen bei Tageslicht)
Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: n-Butanol:Eisessig:Wasser (4:1:5)
Detektion: VS-Reagenz
Bahn 1: 40 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-3 (siehe Seite 7)

In einer Publikation von *Won et al.* (2006) diente die organische Phase von n-Butanol : Eisessig : Wasser (4 : 1 : 5) als mobile Phase bei der Isolierung von zytotoxischen Inhaltsstoffen aus *Albizia julibrissin* DURAZZ.. Das Chromatogramm in Abb. 6 zeigt die Entwicklung von Extrakt-3 mit diesem Fließmittel. Die Zonen haben an Schärfe verloren und die Trennleistung am Ende der Laufstrecke ist schwach.

Aufgrund der geringen Konzentration an Inhaltsstoffen im aufgereinigtem Methanolextrakt (Extrakt-3, siehe Seite 7) ist eine hohes Probenvolumina aufzutragen. In Abb. 7 werden die Fingerprints von *Albiziae Cortex* bei einem aufgetragenen Volumen von 20, 30 und 40 µl verglichen. Erst bei 40 µl wird die Farbintensität der Zonen stärker. Deutlich sind eine hellgelbe Bande (Rf ~0,08) mit einer hellgrünen darüber liegenden Zone (Rf ~0,16) zu erkennen und zwei dominante, violette Banden bei Rf-Werten von ~0,57 und ~0,75.

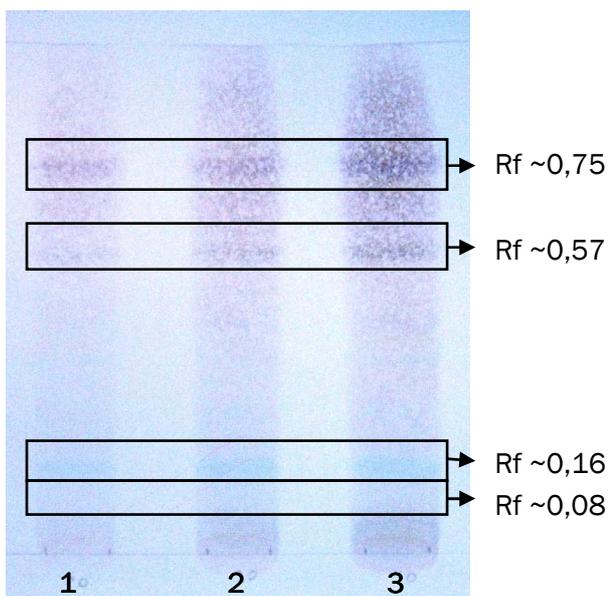


Abb.7 DC von verschiedenen aufgetragenen Probenvolumina von *Albiziae Cortex* Extrakt-3 (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH:H₂O (65:35:10)

Detektion: VS-Reagenz

Bahn 1: 20 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-3

Bahn 2: 30 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-3

Bahn 3: 40 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-3 (siehe Seite 7)



Abb.8 DC von beiden Phasen, die bei der Herstellung von *Albiziae Cortex* Extrakt-4 entstehen (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH:H₂O (65:35:10)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 5 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-4, Phase I

Bahn 2: 5 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-4, Phase II

Bahn 3: 10 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-4, Phase I

Bahn 4: 10 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-4, Phase II (siehe Seite 7)

Eine Aufreinigung des Methanolextraktes mit Petrolether erweist sich als schwierig, da sich eine Trennung der Phasen nur schwer einstellt. Es bildet sich eine klare Phase I und eine trübe, orange gefärbte und leicht visköse Phase II. Um eine Abtrennung der Ballaststoffe aufzeigen zu können, wurden diese getrennt eingedampft und wieder in Methanol gelöst. Nebeneinander aufgetragen zeigen die Fingerprints der Phase I und II (Abb. 8, siehe Seite 11) von Extrakt-4 (siehe Seite 7) von *Albiziae Cortex* keine großen Unterschiede auf.

Für das nächste Chromatogramm wurde die Droge einer sauren Hydrolyse nach *Wagner et al. (1983)* unterzogen, die Saponine werden so in Sapogenine (Aglykone) und ihre Zucker gespalten (Extrakt-5, siehe Seite 8). Die Entwicklung des CHCl_3 -Auszuges I (Saponine) und des CHCl_3 -Auszuges II (Sapogenine) fand mit dem Fließmittel Chloroform : Methanol (90 : 10) statt (siehe Abb. 9 und 10).

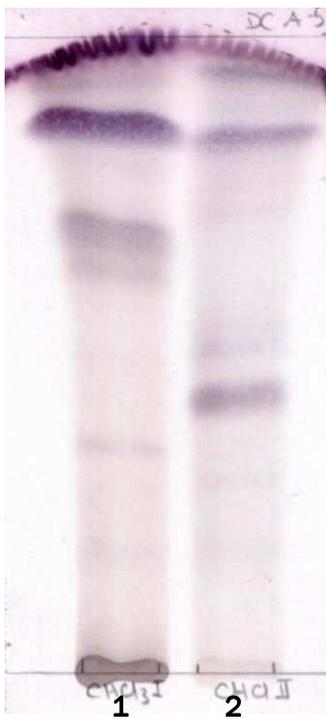


Abb.9 DC von CHCl_3 -Auszug I und II von *Albiziae Cortex* Extrakt-5 (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl_3 :MeOH (90:10)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 5 μl *Albiziae Cortex*

Extrakt-5, CHCl_3 -Auszug I

Bahn 2: 5 μl *Albiziae Cortex*

Extrakt-5, CHCl_3 -Auszug II (siehe Seite 8)



Abb.10 DC von CHCl_3 -Auszug I und II von *Albiziae Cortex* Extrakt-5 (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl_3 :MeOH (90:10)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 5 μl *Albiziae Cortex*

Extrakt-5, CHCl_3 -Auszug I

Bahn 2: 5 μl *Albiziae Cortex*

Extrakt-5, CHCl_3 -Auszug II (siehe Seite 8)

Mit dieser mobilen Phase AC-6 konnte das beste Ergebnis mit der höchsten Trennleistung erzielt werden. In Abbildung 11 werden die Methanolextrakte 3 und 4 (siehe Seite 7) und ein Butanol Extrakt (Extrakt-6, siehe Seite 8) von *Albiziae Cortex* miteinander verglichen, es sind keine Unterschiede zu erkennen.



Abb.11 DC von *Albiziae Cortex* Extrakt 3, 4 und 6
(Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH (90:10)

Detektion: getaucht in AS-Reagenz

Bahn 1: 20 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-3 (siehe Seite 7)

Bahn 2: 20 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-6 (siehe Seite 8)

Bahn 3: 5 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-4 (siehe Seite 7)

Jung et al. (2004) gelang es, die Flavonoide Luteolin und Daidzein aus der Rinde von *A. julibrissin* zu isolieren. Um diese beiden Verbindungen im Chromatogramm als Zonen zu zeigen, wurde das Fließmittel Ethylacetat : Ameisensäure : Eisessig : Wasser (100 : 11 : 11 : 27) angewendet, es erwies sich allerdings als zu polar (Abb. 12, siehe Seite 14). Die Verwendung von Ethylformiat : Toluol : Ameisensäure (50 : 50 : 15) als mobile Phase führte zu einem besseren Ergebnis (Abb. 13, siehe Seite 14). Luteolin und Daidzein lassen sich nur schwach in der Rinde mit dieser Methode identifizieren. Die Quantität dieser Inhaltsstoffe scheint zu gering, um sie dünnschichtchromatographisch nachzuweisen. Generell ist eine Detektion der Saponine jener der Flavonoide vorzuziehen.

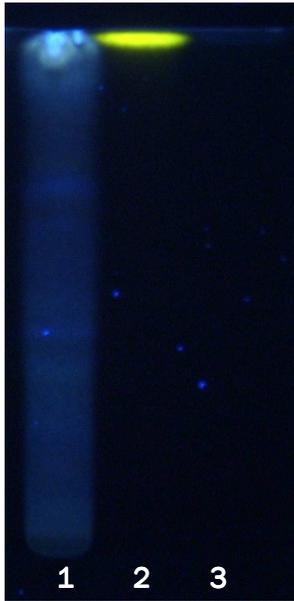


Abb.12 DC von *Albiziae Cortex* Extrakt-3 mit Luteolin und Daidzein (Aufnahmen bei UV₃₆₆)
Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: Ethylacetat: Ameisensäure:Eisessig:H₂O (100:11:11:27)
Detektion: NAT-PEG
Bahn 1: 30 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-3 (siehe Seite 7)
Bahn 2: 5 µl Luteolin
Bahn 3: 5 µl Daidzein

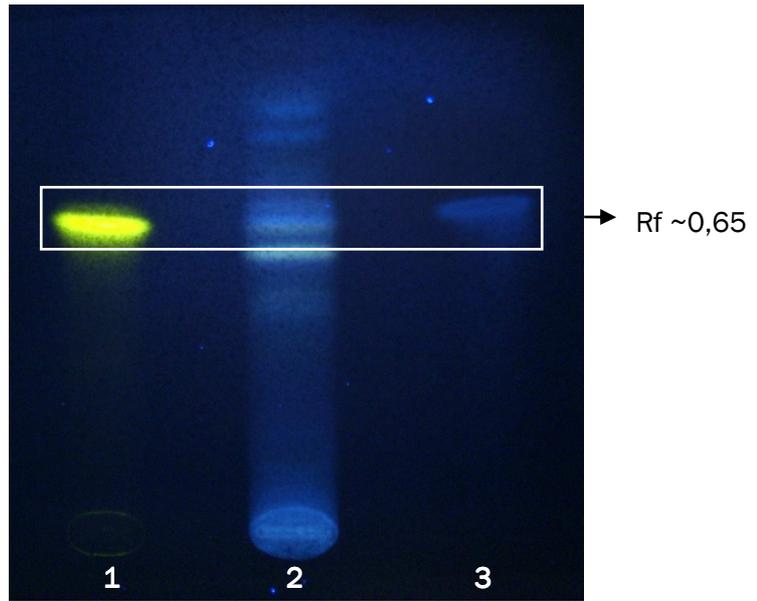


Abb.13 DC von *Albiziae Cortex* Extrakt-3 mit Luteolin und Daidzein (Aufnahmen bei UV₃₆₆)
Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: Ethylformiat: Toluol:Ameisensäure (50:50:15)
Detektion: NAT-PEG
Bahn 1: 10 µl Luteolin
Bahn 2: 30 µl *Albiziae Cortex* Extrakt-3 (siehe Seite 7)
Bahn 3: 10 µl Daidzein

Ein optimales DC-System zur Charakterisierung der Inhaltsstoffe von *Albiziae Cortex* konnte nicht gefunden werden. Im Chromatogramm, entwickelt nach den Vorschriften für eine Identitätsprüfung der Monographie der *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (2005), sind nur wenige undeutliche Zonen zu erkennen (Abb. 2, siehe Seite 9). Von diesem ausgehend hat die Optimierung der Extrakterstellung und die Auswahl der verschiedenen mobilen Phasen stattgefunden. In Abbildung 9 und 11 (siehe Seite 12 und 13) werden Chromatogramme gezeigt, die sich aufgrund ihrer Zonenvielfalt für eine Identitätsprüfung besser eignen. Referenzextrakte anderer Drogen mit einem ähnlichen Inhaltsstoffmuster wie *Albiziae Cortex* konnten nicht gefunden werden.

3.2 *Albiziae Flos* (Seidenakazienblüten)

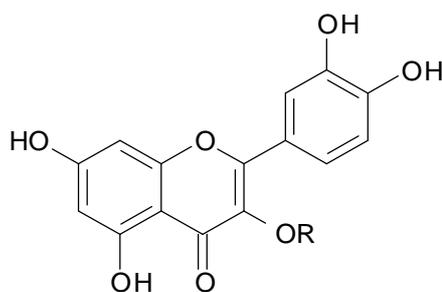


Abb.14 *Albiziae Flos*

Die Blütenstände von *Albizia julibrissin* DURAZZ. (Fabaceae) werden zur Blütezeit im Sommer geerntet und an der Sonne getrocknet (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2005).

Zu den Inhaltsstoffen des ätherischen Öls zählen unter anderem Linalool, Isopentanol, α -Ocimene, β -Myrcene und Isovaleraldehyd (Bensky et al., 2004).

Pharmakologische Untersuchungen über die Samen (z.B. Odani et al., 1980) und die Rinde von *Albizia julibrissin* DURAZZ. sind schon länger bekannt. Aber erst 1999 wurden erste Testungen über die sedative Wirkung zweier Flavonolglykoside, Quercitrin und Isoquercitrin, die aus der Blüte isoliert wurden, vorgenommen und ausgewertet. Das 3-Rhamnosid und 3-Glucosid von Quercetin steigern beide dosisabhängig die durch Pentobarbital induzierte Schlafphase von Mäusen (Kang et al., 2000).



Quercitrin: R = Rhamnose
Isoquercitrin: R = Glucose

Bei einer gebräuchlichen Dosierung von 4,5-9 g wird die Droge gegen Unruhe, Beklommenheit, niedergeschlagener Stimmung, Depression und Schlaflosigkeit angewendet (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2005).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Albiziae Flos*

Für das Extrakt werden 0,1 g gepulverte Droge mit 10 ml Methanol vermengt, unter Rückfluss 15 min erhitzt und filtriert.

Als mobile Phase fanden folgende zwei Fließmittel Verwendung:

AF-1 = Fließmittel 1: n-Hexan : Ethylacetat (17 : 3)

(*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*)

AF-2 = Fließmittel 2: Ethylacetat : Ameisensäure : Eisessig : Wasser (100 : 11 : 11 : 27)

(*Wagner und Blatt, 1996*)

Das Fließmittelsystem AF-1, welches in der Monographie von *Albiziae Flos* der *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (2005) für eine Identitätsprüfung vorgeschrieben ist, erzielte keine auswertbaren Ergebnisse. Ein besseres Resultat wurde mit Ethylacetat : Ameisensäure : Eisessig : Wasser (100 : 11 : 11 : 27) erreicht. Als Referenzen wurden die Reinsubstanzen Quercitrin und Isoquercitrin herangezogen.

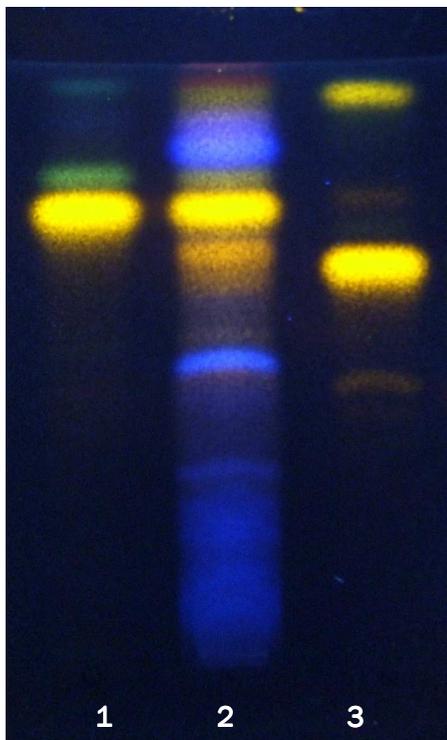


Abb.15 DC von *Albiziae Flos* mit Quercitrin und Isoquercitrin (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase:

Ethylacetat:Ameisensäure:Eisessig:H₂O
(100:11:11:27)

Detektion: NAT-PEG

Bahn 1: 5 µl Quercitrin

Bahn 2: 25 µl *Albiziae Flos* (Extrakt siehe oben)

Bahn 3: 5 µl Isoquercitrin

Abb.16 DC von *Albiziae Flos* mit Quercitrin und Isoquercitrin (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase:

Ethylacetat:Ameisensäure:

Eisessig:H₂O (100:11:11:27)

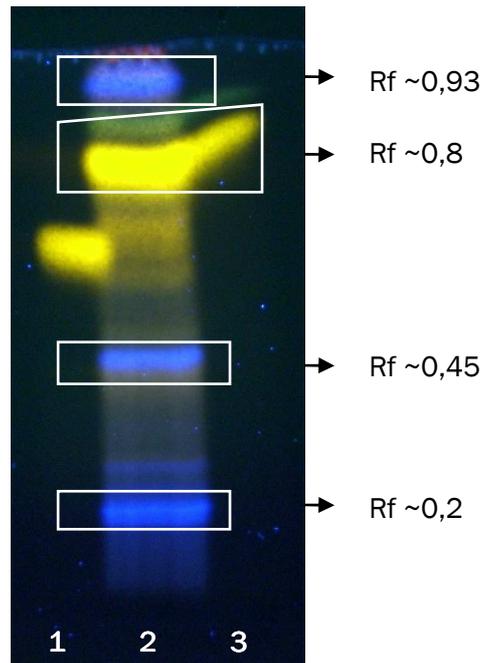
Detektion: NAT-PEG

Bahn 1: 5 µl Isoquercitrin

Bahn 2: 15 µl *Albiziae Flos*

(Extrakt siehe Seite 16)

Bahn 3: 5 µl Quercitrin



Selbst durch ein überlappendes Auftragen der Referenzsubstanzen, wie in Abb. 16, lässt sich nicht mit Bestimmtheit sagen, ob Isoquercitrin (Rf ~0,63) in der verwendeten Probe von *Albiziae Flos* enthalten ist. Mit einer dominanten gelben Zone bei einem Rf-Wert von ~0,8 kann Quercitrin detektiert werden. Der Fingerprint der Droge zeichnet sich zusätzlich durch drei dominante blaue Zonen bei Rf-Werten von ~ 0,21; ~0,45 und ~0,93, sowie durch und eine grüne Bande bei einem Rf-Wert von ~ 0,86 aus.

Bei einer dünnschichtchromatographischen Untersuchung von *Albiziae Flos* ist ein Fließmittel, welches für Flavonoide eingesetzt wird, zu empfehlen. Auf der Suche nach einem geeigneten Referenzextrakt anderer Drogen wurden *Betulae Folium*, *Sambuci Flos*, *Myrtilli Herba* und *Hyperici Herba* untersucht, erbrachten aber keine guten Ergebnisse als geeignete Vergleichslösungen.

3.3 Atractylodis macrocephalae Rhizoma (Großköpfige Atractylodes

Wurzel)



Abb.17 Atractylodis Macrocephalae Rhizoma

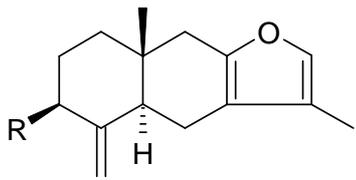
Als Stammpflanze dient *Atractylodes macrocephala* KOIDZ (Asteraceae). Die Droge ist nicht zu verwechseln mit *Atractylodis Rhizoma*, womit *A. lancea* (THUNB.) DC. oder *A. chinensis* (DC.) KOIDZ. bezeichnet werden. Das Rhizom wird im Winter ausgegraben, wenn die unteren Blätter gelb und welk sind und die oberen spröde und zerbrechlich.

Anschließend folgt die Reinigung und Trocknung über offenem Feuer oder in der Sonne und die Entfernung der feinen Nebenwurzeln (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

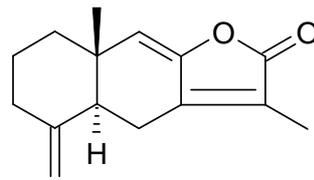
Drei Vorbehandlungen der Droge sind bekannt:

- *Baizhu*: Die Droge wird gereinigt, gewaschen, durchfeuchtet, in dicke Scheiben geschnitten und getrocknet.
- *Tubaizhu*: Die bereits in Scheiben geschnittene Droge wird mit feinpulvrigem gebranntem Lehm (Terra flava usta) solange geröstet, bis die Droge eine erdige Farbe angenommen hat. Anschließend wird der überschüssige gelbe Lehm durch Sieben abgetrennt. Es werden 1 kg Terra flava usta für 5 kg Droge verwendet.
- *Chaobaizhu*: Bei dieser Methode wird Weizenkleie mit Honig in einer heißen Röstpfanne erhitzt. Nach Raumentwicklung werden die Scheiben von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* hinzugegeben und bis zur Gelbfärbung ständig umgewendet. Anschließend wird durch Sieben die Weizenkleie entfernt. Für 10 kg Droge benötigt man 1 kg Weizenkleie mit Honig (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

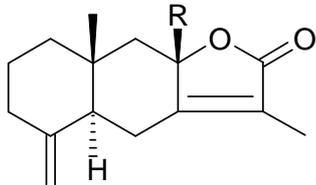
Als Hauptinhaltsstoffe wurden verschiedene Sesquiterpene des „Furyltyps“ (Atractylon, 3 β -Hydroxyattractylon, 3 β -Acetoxyattractylon) und Lactone (Atractylenolid I, II, III, IV) identifiziert. Ebenso enthalten sind das Sesquiterpenlactam Atractylenolactam, verschiedene Polyacetylene, Polysaccharide, das Cumarin Scopoletin und β -Sitosterol (*Wagner und Bauer, 1999*).



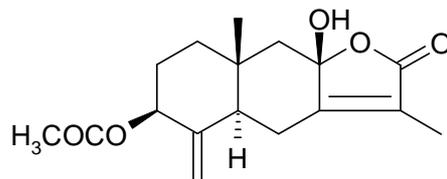
Atractylon: R = H
 3β-Hydroxyattractylon: R = OH
 3β-Acetoxyattractylon: R = OAc



Atractylenolid I



Atractylenolid II: R = H
 Atractylenolid III: R = OH



Atractylenolid IV

Die im ätherischen Öl enthaltenen Furanosesquiterpene zeigen zahlreiche pharmakologische Wirkungen: Nachgewiesen wurden unter anderem antimikrobielle, hepatoprotektive, schwach analgetische, antiphlogistische, tumorhemmende und antioxidative Eigenschaften. Ebenso zeigen sie eine diuretische Wirkung und eine Verlängerung der Prothrombinzeit (*Hempfen und Fischer, 2001*).

Anwendung findet die Droge unter anderem bei Verdauungsstörung, Durchfallerkrankungen, Appetitlosigkeit, Erbrechen, Untergewicht, Gelbsucht, Ödemen, Miktionsbeschwerden, Hämorrhoiden, Schwindelerkrankungen und übermäßiger Schweiß- bzw. Speichelbildung (*Paulus und Yu-he, 1987*). Die gebräuchliche Dosierung beträgt 6-12 g (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma

Für das Extrakt wurden 0,5 g Droge mit 15 ml Methanol vermengt, 15 min unter Rückfluss erhitzt und filtriert.

Als Fließmittel für *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma wurden folgende Systeme verwendet:

AR-1= Fließmittel 1: Petrolether : Ethylacetat (50 : 1)

(*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*)

AR-2 = Fließmittel 2: n-Hexan : Ethylacetat (95 : 5)

(*Wagner und Bauer, 1999*)

AR-3 = Fließmittel 3: Cyclohexan : Chloroform : Ethylacetat (20 : 5 : 8)

(*Weiwei et al, 2004*)

AR-4 = Fließmittel 4: Toluol : Ether (1 : 1, gesättigt mit Eisessig); dieses Fließmittel muss für jeden Lauf frisch in einem Scheidetrichter zubereitet werden. Hierfür wird ein Teil Toluol mit einem Teil Ether gemischt und anschließend mit einem Teil einer 10 %igen Essigsäure mehrmals kräftig geschüttelt. Das gesättigte Toluol-Ethergemisch wird als mobile Phase verwendet (Wagner und Blatt, 1996).

Die in *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* enthaltenen Sesquiterpene können mit den mobilen Phasen Petrolether : Ethylacetat (50 : 1) und n-Hexan : Ethylacetat (95 : 5) im Dünnschichtchromatogramm dargestellt werden (Abb. 18 und 19). Die beiden Chromatogramme weisen miteinander verglichen keine großen Unterschiede auf. Die ein wenig voneinander abweichenden Rf-Werte der Fingerprints lassen sich mit einer verkürzten Laufstrecke von 6 cm (Abb. 18) statt 8 cm (Abb. 19) erklären. Die stark dunklen Flecken am Start der Laufstrecken lassen auf eine nicht optimale Trennung und somit auf eine zu geringe Polarität der Fließmittel schließen.



Abb.18 DC von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* mit β -Sitosterol (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Petrolether:Ethylacetat (50:1)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 10 µl *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 19)

Bahn 2: 5 µl β -Sitosterol

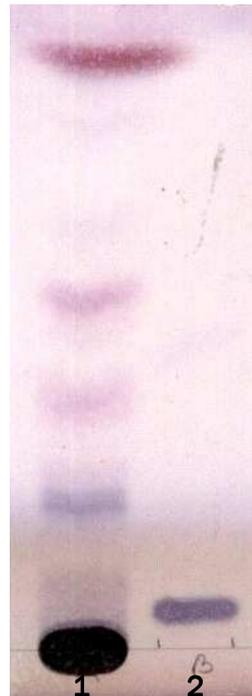


Abb.19 DC von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* mit β -Sitosterol (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: n-Hexan:Ethylacetat (95:5)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 15 µl *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 19)

Bahn 2: 5 µl β -Sitosterol

Mit der mobilen Phase Cyclohexan : Chloroform : Ethylacetat (20 : 5 : 8) werden die Zonen des Fingerprints von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* zur Front hin mehr aufgetrennt (siehe Abb. 20 bei Tageslicht und 21 bei UV₃₆₆). Die Schärfe und die Trennleistung konnten im Vergleich zu Fließmittel 1 und 2 gesteigert werden. In dem abgebildeten Chromatogramm wurde β -Sitosterol und Scopoletin, laut *Wagner und Bauer (1999)* in *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* enthalten, als Referenzsubstanzen aufgetragen. Scopoletin ist allerdings in der verwendeten Probe der Droge in zu geringer Menge enthalten, um es mittels DC deutlich als Zone darstellen zu können. Für den besseren Vergleich der einzelnen Chromatogramme untereinander wurde die Substanz jedoch weiterhin eingesetzt.

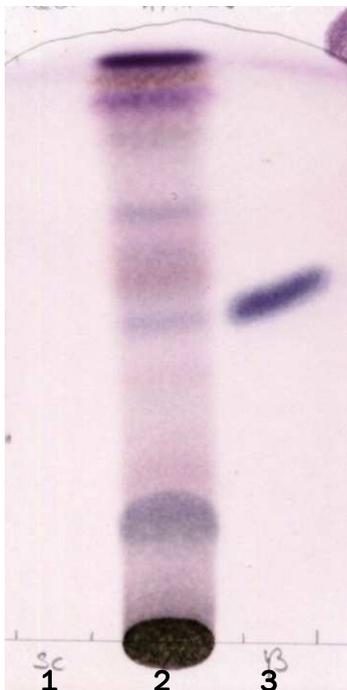


Abb.20 DC von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* mit Scopoletin und β -Sitosterol (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase:

Cyclohexan:CHCl₃:Ethylacetat (20:5:8)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 2 μ l Scopoletin

Bahn 2: 20 μ l *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 19)

Bahn 3: 5 μ l β -Sitosterol

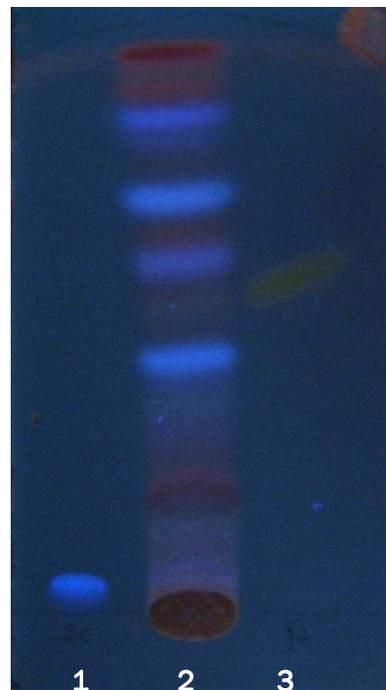


Abb.21 DC von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* mit Scopoletin und β -Sitosterol (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Cyclohexan:CHCl₃:Ethylacetat (20:5:8)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 2 μ l Scopoletin

Bahn 2: 20 μ l *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 19)

Bahn 3: 5 μ l β -Sitosterol

Für Cumarinaglyka eignet sich das Fließmittelsystem Toluol : Ether (1 : 1, gesättigt mit Eisessig), dieses muss für jeden Lauf frisch in einem Scheidetrichter zubereitet werden. Bei der direkten Gegenüberstellung der Chromatogramme, die mit Fließmittel 3 bzw. dieser mobilen Phase entwickelt wurden, lässt sich unter UV₃₆₆ eine Steigerung der Schärfe und Trennung der Zonen erkennen (vergleiche Abb. 22 mit 23). Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit der Inhaltsstoffe von *Chamomillae Flos* und *Angelicae Radix* mit jenen von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* wurden Methanolauszüge dieser beiden Drogen als Referenzextrakte angewendet.

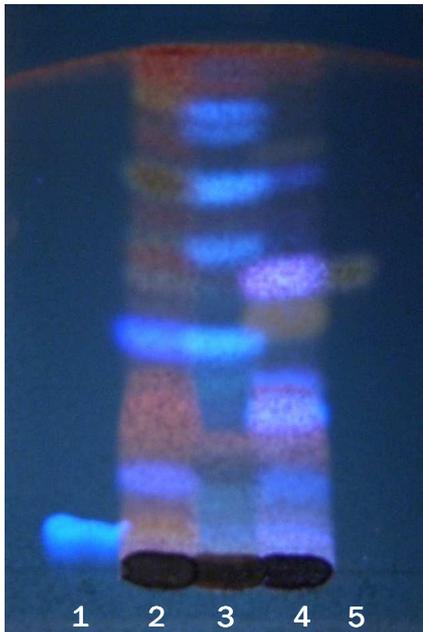


Abb.22 DC von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* mit Scopoletin, β-Sitosterol, *Chamomillae Flos* und *Angelicae Radix* (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Cyclohexan:CHCl₃:Ethylacetat (20:5:8)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 5 µl Scopoletin

Bahn 2: 15 µl *Chamomillae Flos*

Bahn 3: 15 µl *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 19)

Bahn 4: 15 µl *Angelicae Radix*

Bahn 5: 5 µl β-Sitosterol

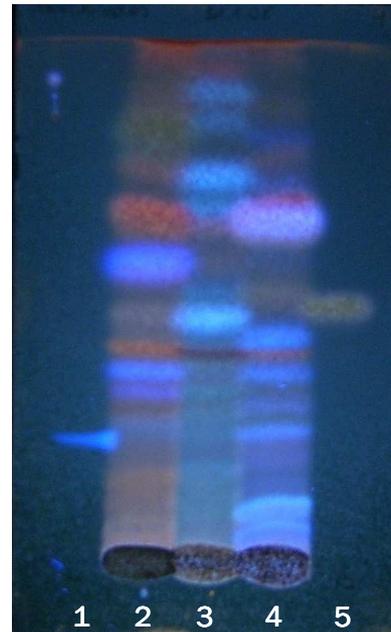


Abb.23 DC von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* mit Scopoletin, β-Sitosterol,, *Chamomillae Flos* und *Angelicae Radix* (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Toluol:Ether (1:1, gesättigt mit Eisessig)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 5 µl Scopoletin

Bahn 2: 15 µl *Chamomillae Flos*

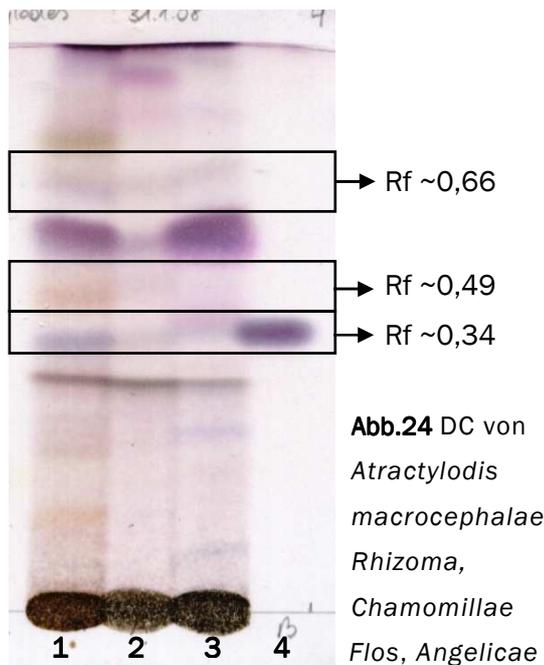
Bahn 3: 15 µl *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 19)

Bahn 4: 15 µl *Angelicae Radix*

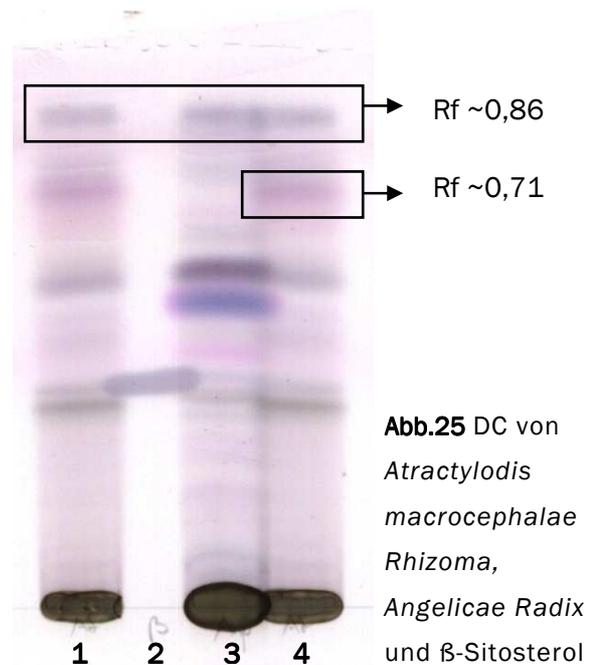
Bahn 5: 5 µl β-Sitosterol

Vergleicht man den Fingerprint der Probe mit jenen der Referenzextrakte bei Tageslicht, lassen sich mehrere Zonen bei gleichen Rf-Werten ablesen. Eine schmale, dunkelgraue, fast schwarze Bande ist bei einem Rf-Wert von $\sim 0,34$ und eine stark violett gefärbte Zone ist bei einem Rf-Wert von $\sim 0,66$ zu erkennen. Bei einem Rf-Wert von $\sim 0,49$ lässt eine schwach violette Bande auf β -Sitosterol vermuten (Abb. 24).

Für mehr Übersichtlichkeit wurde das Extrakt von *Chamomillae Flos* im Chromatogramm in Abb. 25 nicht mehr als Referenz aufgetragen. Um eine regelmäßige Färbung für die Detektion zu erhalten, wurde die DC-Platte in AS-Reagenz getaucht und nicht wie zuvor damit besprüht. Die höhere Farbintensität bietet jedoch das Sprühverfahren. Neben den drei schon zuvor erwähnten Zonen mit gleichen Rf-Werten ist beim direkten Vergleich des Extraktes von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* mit dem von *Angelicae Radix* noch auf eine weitere dominante violette Bande bei einem Rf-Wert von $\sim 0,86$ hinzuweisen.



Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: Toluol:Ether (1:1, gesättigt mit Eisessig)
Detektion: AS-Reagenz
Bahn 1: 15 μ l *Chamomillae Flos*
Bahn 2: 15 μ l *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 19)
Bahn 3: 15 μ l *Angelicae Radix*
Bahn 4: 5 μ l β -Sitosterol



Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: Toluol:Ether (1:1, gesättigt mit Eisessig)
Detektion: getaucht in AS-Reagenz
Bahn 1: 15 μ l *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 19)
Bahn 2: 5 μ l β -Sitosterol
Bahn 3: 15 μ l *Angelicae Radix*
Bahn 4: 15 μ l *Atractylodis macrocephalae Rhizoma*

Unter den getesteten Fließmittelsystemen für *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* erbrachte Fließmittel-4, Toluol : Ether (1 : 1, mit Eisessig gesättigt), die besten Ergebnisse. Ein Auszug von *Angelicae Radix* eignet sich als Referenzextrakt, da dessen Fingerprint 4 Banden bei gleichen Rf-Werten wie jener der Droge aufweist. Eine zusätzliche Detektion bei UV₃₆₆ ist aufgrund der Zonenvielfalt empfehlenswert.

3.4 Coptidis Rhizoma (Goldfadenwurzelstock)



Abb.26 *Coptidis Rhizoma*

Zur Anwendung kommen die Rhizome von *Coptis chinensis* FRANCH. (*Weilian*), *Coptis deltooides* C.Y. CHENG & HSIAO (*Yalian*) und *Coptis teeta* WALL. (*Yunlian*), (Ranunculaceae). Die unterirdischen Teile werden im Herbst ausgegraben, von Erdreich und Nebenwurzeln befreit und anschließend getrocknet.

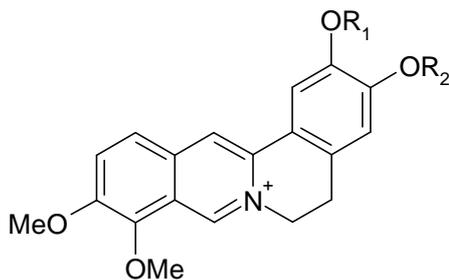
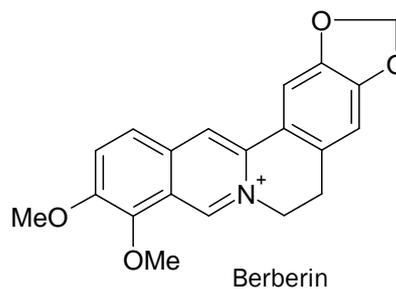
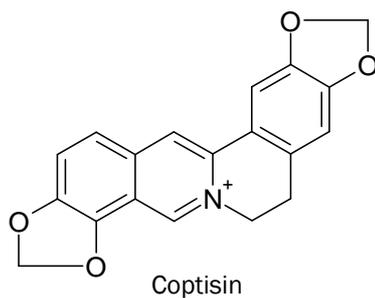
Die chinesische Pharmakopöe kennt vier offizinelle Arten der Vorbehandlung:

- *Huanglian*: Die Droge wird gereinigt, durchfeuchtet und anschließend entweder in dünne Scheiben geschnitten und getrocknet oder im bereits getrockneten Zustand vor Gebrauch einfach zerstoßen.
- *Jiuhuanglian*: Bei dieser Methode verrührt man die gereinigte Droge gleichmäßig mit Reiswein und lässt sie anschließend so lange zugedeckt stehen, bis der Wein aufgesogen worden ist. Danach wird in einer Röstpfanne bei niedriger Hitze zur Trockene geröstet. Dabei werden für 100 kg Droge 12,5 l gelber Reiswein benötigt.
- *Jianguanglian*: Diese Methode gleicht jener von *Jiuhuanglian*, nur wird statt des Reisweins ein eigens hergestellter Ingwerpresssaft aus *Zingiberis recens Rhizoma* verwendet. Auf 100 kg *Coptidis Rhizoma* kommen 12 kg frische Ingwerwurzel zur Anwendung.
- *Yuhuanglian*: Ein filtriertes Dekokt aus Evodia Früchten wird mit der Droge verrührt, bis die Flüssigkeit zur Gänze aufgesogen worden ist. Dann wird das Gemisch bis zur Trockene geröstet. 1 kg Evodia Früchte finden für 10 kg Droge Verwendung (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

Der Hauptinhaltsstoff und maßgebend für die Wirkung der Droge ist Berberin. In geringerer Menge konnten andere quartäre Protoberberin-Alkaloide wie Epiberberin, Worenin, Coptisin, Palmatin, Jatrorrhizin, Columbamin, Groenlandicin und Berberastin isoliert werden. Ebenfalls sind quartäre Aporphinalkaloide (Magnoflorin), Flavonoide (z.B. Baicalin, Wogonosid, Baicalein und Wogonin), tetracyclische Triterpene (Limonin) und

organische Säuren (z.B. Ferulasäure, Gentisinsäure und Chinasäure) enthalten (Wagner und Bauer, 2004).

Die Alkaloide, allen voran Berberin und Palmatin, wirken hemmend auf die Aldose-Reduktase, ein Enzym, das die Bildung von Sorbitol katalysiert und so bei Folgeerkrankungen von Diabetes mellitus eine Rolle spielt (Jung et al., 2008). Aus der Droge isoliertes Magnoflorin besitzt antioxidative Eigenschaften, die unter anderem hemmend auf die durch Cu^{2+} -induzierte Oxidation von LDL-Cholesterin wirkt, welche z.B. zu Arteriosklerose führen kann (Hung et al., 2007).



Jatrorrhizin:	$R_1 = \text{Me};$	$R_2 = \text{H}$
Palmatin:	$R_1 = \text{Me};$	$R_2 = \text{Me}$
Columbamin:	$R_1 = \text{H};$	$R_2 = \text{Me}$

Anwendung findet *Coptidis Rhizoma* bei verschiedenen Darminfektionen, wie Ruhr, Diphtherie oder Typhus sowie bei Brechreiz, Keuchhusten, Otitis media und Konjunktivitis. Lokal wird es auch bei einer Nasennebenhöhlenentzündung, Analfissuren oder Trichomonadenkolpitis verwendet (Hempfen und Fischer, 2001; Paulus und Yu-he, 1987).

Gebräuchlich sind Dosierungen zwischen 2 und 5 g (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2005). Eine Überdosierung von *Coptidis Rhizoma* kann zu unangenehmen Nebenwirkungen bzw. Intoxikation führen, da bei einer hohen Dosis an Berberin-Alkaloiden Symptome wie Erbrechen, übermäßiger Speichelfluss, Stuhl- und Harndrang sowie Atemnot bis hin zur Atemdepression zu erwarten sind (Wagner und Bauer, 2004). Aufgrund der Auswirkungen auf den Bilirubinstoffwechsel ist von einer Einnahme von Berberin haltigen Drogen während der Schwangerschaft und von der Verabreichung an Säuglinge unbedingt abzuraten, da dies zu Ikterus führen kann (Huang, 1999).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Coptidis Rhizoma*

Für das Extrakt werden 0,1 g der gepulverten Droge mit 10 ml Methanol versetzt, unter Rückfluss 15 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt und danach filtriert. Anschließend wird das Filtrat auf 5 ml mit Methanol aufgefüllt.

Als mobile Phase dient Toluol (bzw. Benzol) : Ethylacetat : Isopropanol : Methanol : Wasser (6 : 3 : 1,5 : 1,5 : 0,3) (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*). Die Entwicklung findet in einem Doppelkammertrog statt, wobei eine Kammer mit 25 % Ammoniak und die andere mit dem Fließmittel ca. 15 min vor dem Lauf gefüllt werden, um eine Kammersättigung zu erreichen.

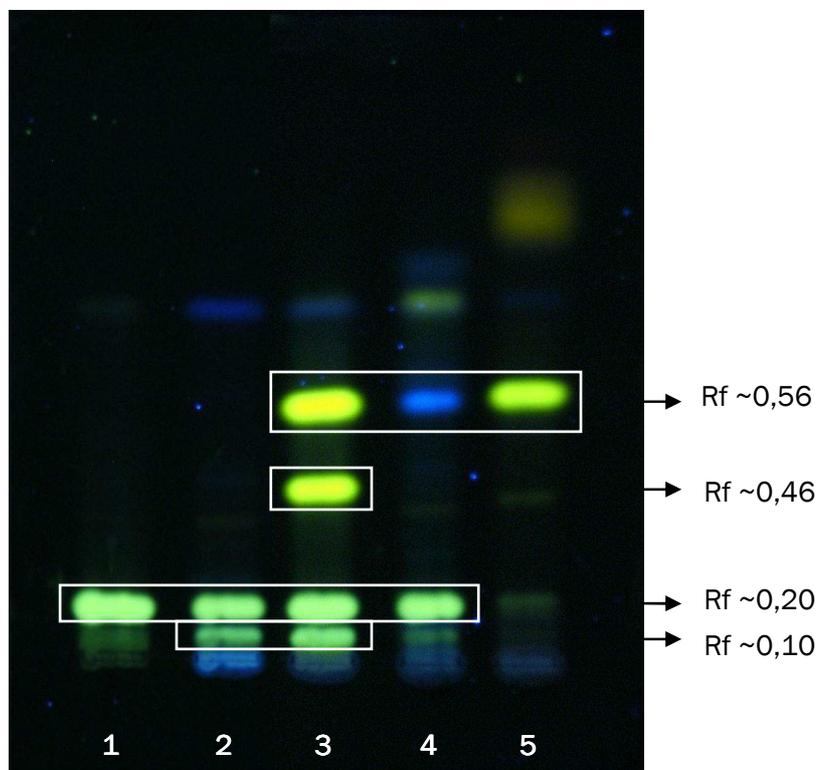


Abb.27 DC von *Coptidis Rhizoma* mit Berberinsulfat, *Berberis Cortex*, *Hydrastidis Radix* und *Chelidonium Herba* (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Toluol:Ethylacetat:Isopropanol:MeOH:H₂O (6:3:1,5:1,5:0,3)

Bahn 1: 5 µl Berberinsulfat

Bahn 2: 5 µl *Berberis Cortex*

Bahn 3: 5 µl *Coptidis Rhizoma* (Extrakt siehe oben)

Bahn 4: 5 µl *Hydrastidis Radix*

Bahn 5: 5 µl *Chelidonium Herba*

Die Detektion des Chromatogramms erfolgt bei UV₃₆₆. Bei einem Rf-Wert von ~0,20 ist Berberin als sehr intensiv grün fluoreszierende Zone zu erkennen. Ebenso grün fluoresziert Palmatin bei einem Rf-Wert von ~0,10. Sollten Berberin und Palmatin als Reinsubstanzen nicht vorhanden sein, können Vergleichsextrakte von *Berberis Cortex* oder *Hydrastidis Radix* als Referenz genommen werden. Die beiden kräftig gelb fluoreszierenden Zonen bei Rf-Werten von ~0,46 und 0,56 sind Epiberberin und Coptisin zuzuordnen. Coptisin stellt auch in *Chelidonium Herba* einen Hauptinhaltsstoff dar, wodurch sich auch diese Droge zur Herstellung eines Vergleichsextraktes eignet.

Mit dem in der *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (2005) angegebenen Fließmittelsystem für die dünnschichtchromatographische Methode der Identitätsprüfung von *Coptidis Rhizoma*, lässt sich ein aussagekräftiger Fingerprint entwickeln. Die Zonen sind unter UV₃₆₆ kräftig fluoreszierend und intensiv gefärbt. Da das Inhaltsstoffmuster der Spezies von *Coptis* bis auf Epiberberin, welches in *Coptis teeta* WALL. in geringerer Menge vorhanden ist, ident ist, eignet sich diese Methode nicht zur Unterscheidung der einzelnen Arten (Wagner und Bauer, 2004).

3.5 *Forsythiae Fructus* (Forsythienfrüchte)

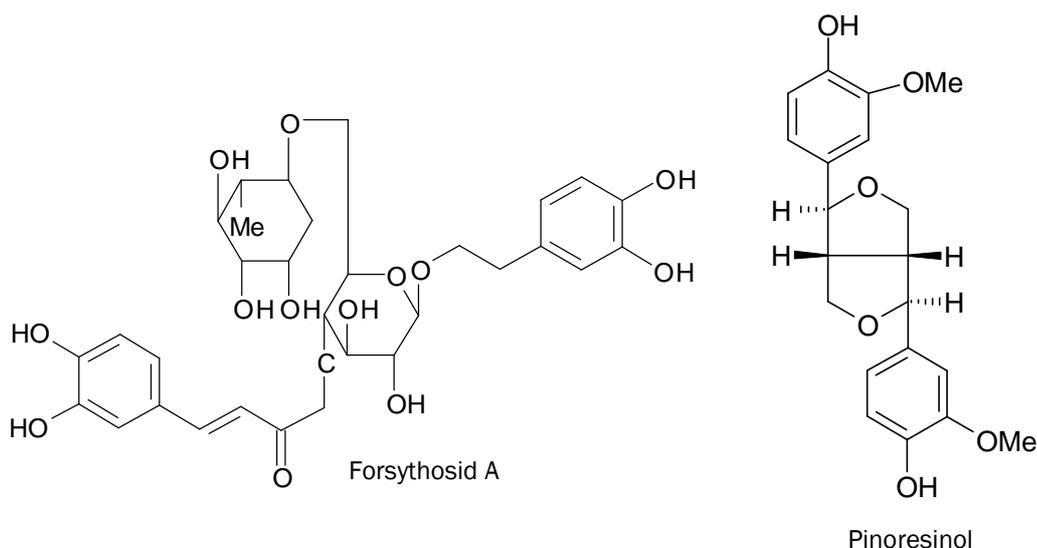


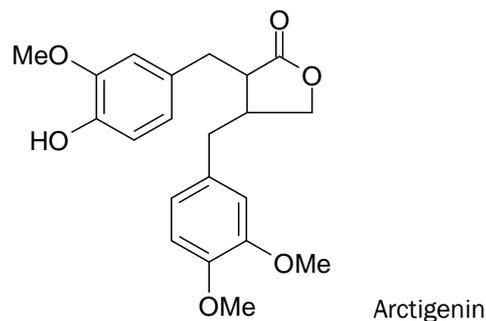
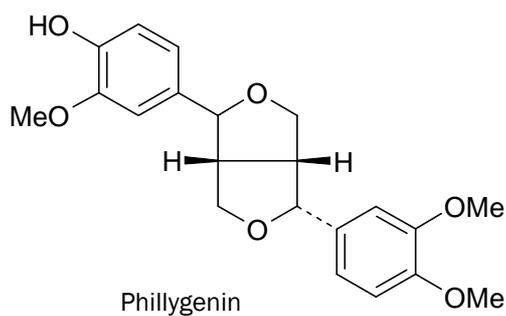
Abb.28 *Forsythiae Fructus*

Als Stammpflanze wird *Forsythia suspensa* (THUNB.) VAHL (Oleaceae) verwendet. Im Herbst, zu Beginn der Reifezeit, werden die noch grünlichen Forsythienfrüchte geerntet, anschließend aufgeschnitten, gereinigt, gargedämpft und an der Sonne getrocknet. Die so behandelte Droge ist unter dem Namen *Qingqiao* bekannt. Werden jedoch statt der grünen Früchte die reifen

ungedämpften verwendet, nennt man sie *Laoqiao* (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

Die Hauptinhaltsstoffe in *Forsythiae Fructus* sind Phenolglycoside (z.B. Forsythosid A, C, D und E) und verschiedene Lignane (z.B. Phillygenin, Phillyrin [syn. Forsythin], Arctiin, weiters Pinoresinol, Matairesinol, Arctigenin und deren Glycoside). Neben diesen sind in den Früchten auch das Phenylethanoid Salidroside, Triterpene (z.B. Betulinsäure oder Oleanolsäure) und das Flavonglycosid Rutin enthalten (*Wagner und Bauer, 2005*).





Die Droge wirkt antibakteriell gegen *Salmonella typhi*, *E.coli*, Cholera, Diphtherie, Tuberkulose, Staphylokokken und Pneumokokken. Sie besitzt antiinflammatorische Eigenschaften, zeigt unterstützende Wirkung auf das Immunsystem und weist vasodilatatorische und hypotensive Effekte am kardiovaskulären System auf. Anwendung findet sie auch als Diuretikum und durch Hemmung der Chemorezeptor-Triggerzone als Antiemetikum (Huang, 1999).

Indikationen für *Forsythiae Fructus* sind Fieber, Kopfschmerzen, Exantheme, Karbunkel, Mastitis, Schwellungen und Entzündungen des oberen Respirationstraktes (z.B. Pharyngitis) und des Urogenitaltraktes. 6-15 g entsprechen einer gebräuchlichen Dosierung (Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Forsythiae Fructus*

Für die Herstellung des Extraktes wird 1 g der gepulverten Droge mit 10 ml Methanol versetzt, ca. 15 min unter Rückfluss erhitzt und anschließend filtriert. Untersucht wurde *Laoqiao* (ungedämpfte, reife Früchte).

Folgende Fließmittelsysteme fanden Verwendung:

FF-1 = Fließmittel 1: Benzol : Aceton : Ethylacetat : Ameisensäure : Wasser (20 : 25 : 30 : 3 : 3) (Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005)

FF-2 = Fließmittel 2: Chloroform : Methanol (90 : 10) (Wagner und Bauer, 2005)

FF-3 = Fließmittel 3: Ethylacetat : Ameisensäure : Eisessig : Wasser (100 : 11 : 11 : 27) (Wagner und Blatt, 1996)

Zu beachten ist, dass die Identitätsprüfung in der Monographie von *Forsythiae Fructus* für das Fließmittel Benzol : Aceton : Ethylacetat : Ameisensäure : Wasser (20 : 25 : 30 : 3 : 3) eine Kammersättigung von 30 min vorsieht. Als Referenzsubstanzen wurden Betulinsäure (Rf ~0,78), Arctiin, Rutin, Forsythin und Salidroside verwendet (Abb. 29, siehe Seite 31). Bis auf Betulinsäure und Rutin ist die Detektion der Zonen allerdings sehr schwierig, da

keine ausreichende Trennung der Banden stattfindet. Die Rf-Werte von Arctiin, Forsythin und Salidroside unterscheiden sich bei der Entwicklung mit diesem DC-System nur gering. Eine genaue Zuordnung der Zonen ist nicht möglich.

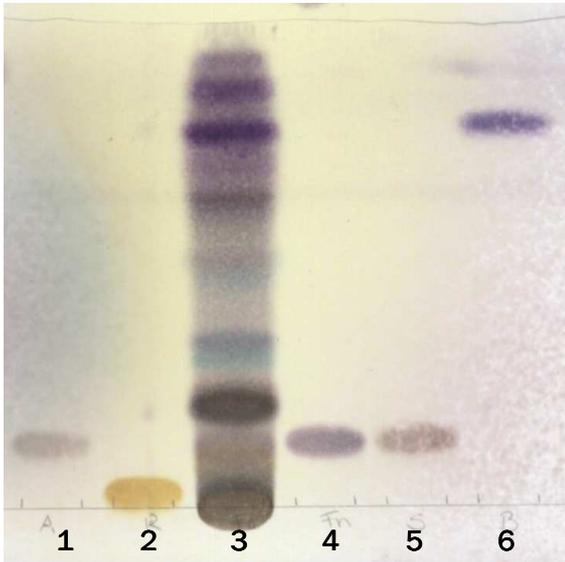


Abb.29 DC von *Forsythiae Fructus* mit Arctiin, Rutin, Forsythin, Salidroside und Betulinic acid (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Benzol:Aceton:Ethylacetat: Ameisensäure:H₂O (20:25:30:3:3)

Detektion: VS-Reagenz

Bahn 1: 10 µl Arctiin

Bahn 2: 10 µl Rutin

Bahn 3: 20 µl *Forsythiae Fructus* (Extrakt siehe Seite 30)

Bahn 4: 10 µl Forsythin

Bahn 5: 10 µl Salidroside

Bahn 6: 10 µl Betulinic acid

Da in *Arnicae Flos* die gleichen Lignane wie in *Forsythiae Fructus* enthalten sind, wurde in Abb. 30 ein Vergleichsextrakt dieser Droge aufgetragen. Es wurde versucht, die Trennleistung mit einer Laufstrecke von 18 cm zu verbessern. Das Chromatogramm wirkt allerdings unscharf und verschwommen. Die Farbintensität der Zonen nimmt ab und die Auswertung wird dadurch erschwert.

Abb.30 DC von *Forsythiae Fructus* mit Betulinic acid, Forsythin und *Arnicae Flos* (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH (90:10)

Detektion: getaucht in AS-Reagenz

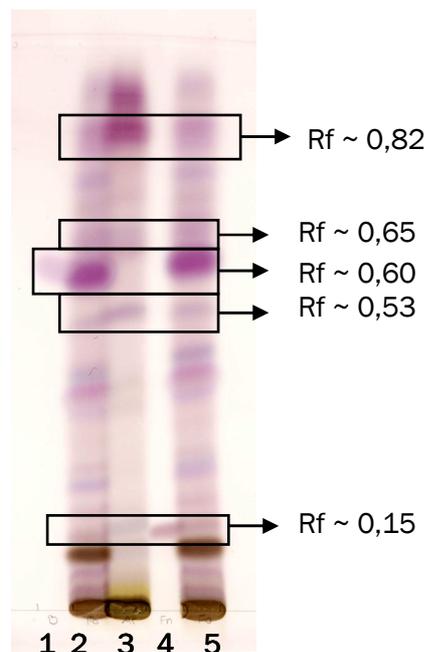
Bahn 1: 10 µl Betulinic acid

Bahn 2: 15 µl *Forsythiae Fructus* (Extrakt siehe Seite 30)

Bahn 3: 20 µl *Arnicae Flos*

Bahn 4: 5 µl Forsythin

Bahn 5: 15 µl *Forsythiae Fructus*



Bei einer Laufstrecke von 18 cm lassen sich vier Zonen mit Rf Werten von ~0,15; ~0,53; ~0,65 und ~0,82 sowohl bei *Forsythiae Fructus* als auch bei *Arnicae Flos* detektieren (Abb. 30, siehe Seite 31). Eine Entwicklung bei 8 cm Laufstrecke zeigt jedoch keine große Ähnlichkeit des Inhaltsstoffmusters der Extrakte (Abb. 31). Der Fingerprint von *Forsythiae Fructus* zeigt eine schmale, dunkelblaue Bande bei einem Rf-Wert von ~0,19 mit einer gleich darüber liegenden roten Zone (Rf ~0,24). Auf einer Höhe von Rf ~0,29 ist eine zweite dunkelblaue Bande zu erkennen, darüber lässt sich eine schwach gelb fluoreszierende Zone (Rf ~0,33) ablesen, die bei *Arnicae Flos* auf gleicher Höhe farbintensiver und wesentlich dominanter ausfällt. An der Front lassen sich eine dritte dunkelblaue Bande (Rf ~0,83), eine schwach rosarote Zone (Rf ~0,93), die wiederum bei *Arnicae Flos* prominenter ausfällt, und eine gelb fluoreszierende Bande bei einem Rf-Wert von ~0,96 erkennen.

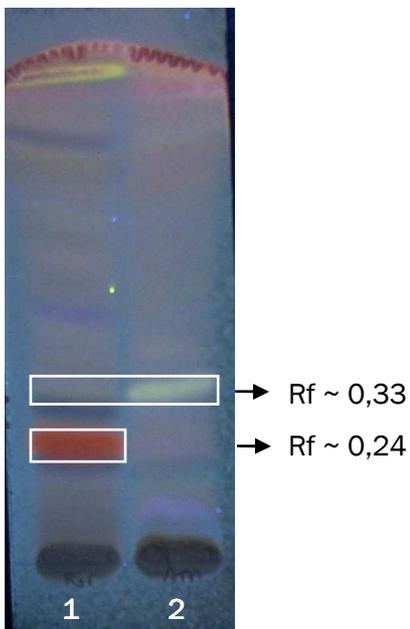


Abb.31 DC von *Forsythiae Fructus* und *Arnicae*

Flos (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH (90:10)

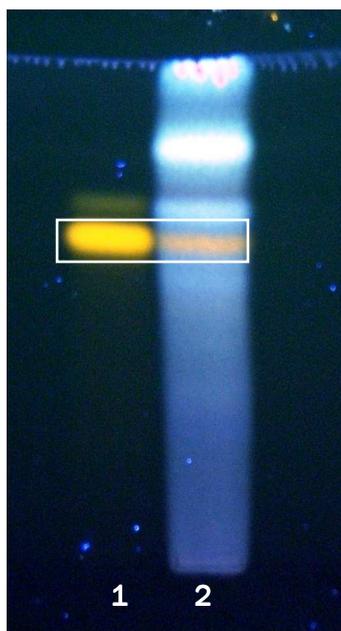
Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 10 µl *Forsythiae Fructus*

(Extrakt siehe Seite 30)

Bahn 2: 10 µl *Arnicae Flos*

Das Fließmittelsystem Ethylacetat : Ameisensäure : Eisessig : Wasser (100 : 11 : 11 : 27), welches oft Einsatz für Flavonoide findet, eignet sich sehr gut zur Darstellung der gelb fluoreszierenden Zone von Rutin, einem Inhaltsstoff von *Forsythiae Fructus*. Neben Rutin (Rf ~0,64) sind noch drei stark hellblau fluoreszierende Banden zu erkennen (Rf-Werte von ~0,69; ~0,82 und ~0,96) (Abb. 32, siehe Seite 33).



→ Rf ~ 0,64

Abb.32 DC von *Forsythiae Fructus* mit Rutin

(Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Ethylacetat:Ameisensäure:Eisessig:H₂O
(100:11:11:27)

Detektion: NAT-PEG

Bahn 1: 10 µl Rutin

Bahn 2: 20 µl *Forsythiae Fructus* (Extrakt siehe Seite 30)

Für die Identitätsprüfung von *Forsythiae Fructus* erwies sich die mobile Phase Ethylacetat : Ameisensäure : Eisessig : Wasser (100 : 11 : 11 : 27) als empfehlenswert. Als Referenz kann die Reinsubstanz Rutin oder ein Vergleichsextrakt einer Droge, in der Rutin enthalten ist - z.B. *Vitis vinifera* - gewählt werden. Forsythin, Arctiin und Salidroside eignen sich nicht als Referenzen, da keine ausreichende Trennung der einzelnen Zonen mit diesem DC-System erreicht werden kann.

3.6 Gastrodiae Rhizoma (Gastrodienwurzelstock)

Unter *Gastrodiae Rhizoma* finden die unterirdischen Teile von *Gastrodia elata* BL.



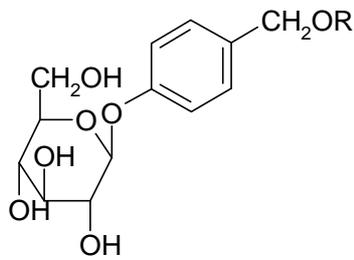
Abb.33 *Gastrodiae Rhizoma*

(Orchidaceae) Verwendung. Das Rhizom wird zwischen November und Anfang April ausgegraben, präziser zwischen dem Tag Lidong und dem Tag Qingming, des chinesischen Mondkalenders. Nach der Ernte wird es gereinigt, gargedämpft und bei niedrigen Temperaturen getrocknet (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

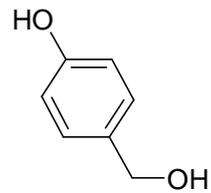
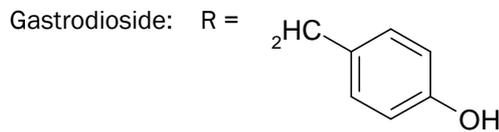
Gastrodia elata BL. ist, wie viele andere Orchideenarten, im CITES-Anhang II (Convention on the International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) zu finden. Dieser Anhang umfasst alle Arten, die vom Aussterben bedroht sein könnten, wenn der Handel nicht eingeschränkt und so strengen Regeln unterworfen werden würde. Seit 1973 besteht die CITES-Konvention, die bis jetzt 173 Staaten, darunter auch China, unterzeichnet haben und die ein Übereinkommen über den internationalen Handel mit gefährdeten Arten freilebender Tiere und Pflanzen darstellt. Die geschützten Arten werden in 3 Klassen unterteilt, die in 3 Anhängen herausgegeben werden. CITES-Anhang I listet alle vom Aussterben bedrohten Arten auf, diese dürfen nicht für kommerzielle Zwecke gehandelt werden (z.B. *Saussurea lappa*). CITES-Anhang III listet Arten auf, die nur in manchen Ländern als gefährdet eingestuft sind (*Martin und Stöger, 2008*).

Mit einem Anteil von 0,41 % und 0,14 % sind Gastrodin und 4-Hydroxybenzylalkohol die Hauptinhaltsstoffe von *Gastrodiae Rhizoma* (*Sha und Sun, 1985*). Der Erntezeitpunkt hat einen großen Einfluss auf den Gehalt an Gastrodin in der Droge (*Ma, 1982*).

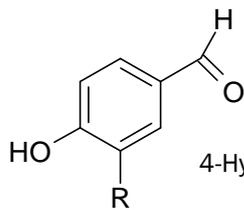
Andere Inhaltsstoffe sind verwandte Verbindungen z.B. 4-Hydroxybenzaldehyd und Vanillin (4-Hydroxy-3-Methoxybenzaldehyd), aber auch organische Säuren (Bernsteinsäure, Zitronensäure, dessen Monomethylester und Palmitinsäure), Sterole (β -Sitosterol, Daucosterol) und Saccharose (*Wagner und Bauer, 2004*).



Gastrodin: R = H



4-Hydroxybenzylalcohol
(Gastrodigenin)



4-Hydroxybenzaldehyd: R = H

4-Hydroxy-3-Methoxybenzaldehyd (Vanillin): R = OCH₃

Sowohl Gastrodin als auch 4-Hydroxybenzylalcohol zeigten eine sedative Wirkung an Mäusen, Affen, Hasen und Menschen. Bei intravenöser Gabe konnte bei Mäusen auch eine antikonvulsive Wirkung nachgewiesen werden (*Deng und Mo, 1979*).

Die Inhaltsstoffe von *Gastrodia elata* haben zusätzlich *in vitro* eine inhibitorische Wirkung auf GABA-Transaminase (GABA-T) (*Choi und Lee, 2006*).

Die Droge wird bei Kopfschmerz, Schwindel, Unruhezustände, Migräne und verschiedenen Krampfstörungen, bei einer gebräuchlichen Dosierung von 3-9 g, angewendet (*Hempfen und Fischer, 2001; Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Gastrodiae Rhizoma*

Für das Extrakt werden 0,5 g der gepulverten Droge mit 5 ml Methanol vermengt, unter Rückfluss 15 min erhitzt und anschließend filtriert.

Folgende mobile Phasen kamen zur Anwendung:

GR-1 = Fließmittel 1: Ethylacetat : Methanol : Wasser (9 : 1 : 0,2)

(*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*)

GR-2 = Fließmittel 2: Ethylacetat : Methanol : Wasser : Ameisensäure (77 : 13 : 10 : 2)

(*Wagner und Bauer, 2004*)

GR-3 = Fließmittel 3: Chloroform : Methanol : Wasser (13 : 7 : 2) (*Yan et al., 2006*)

GR-4 = Fließmittel 4: Ethylacetat : Methanol : n-Butanol (5 : 2 : 3) (*Ruile und Jintang, 1998*)

Bei der in der Monographie beschriebenen Identitätsprüfung von *Gastrodiae Rhizoma* wird das Fließmittel Ethylacetat : Methanol : Wasser (9 : 1 : 0,2) gefordert. Das mit dieser mobilen Phase entwickelte Chromatogramm (siehe Abb. 34) wurde zur Derivatisierung der Substanzen nach der Entwicklung mit MPS-Reagenz besprüht. Die dominanteste Bande des Fingerprints entspricht Gastrodin bei einem Rf-Wert von ~0,24. Sollte diese Substanz allerdings nicht als Referenz zur Verfügung stehen, ist ein Vergleichsextrakt von *Cinnamomi Cortex* zu empfehlen. Neben β -Sitosterol (Rf-Wert von ~0,9) sind noch drei weitere blaue Zonen mit gleichen Rf-Werten (~0,53; ~0,85 und ~0,95) zu erkennen.

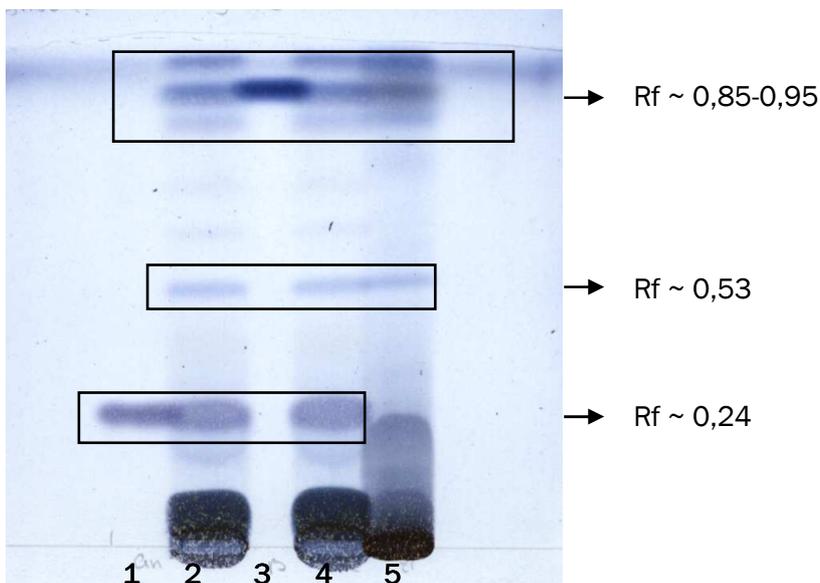


Abb.34 DC von *Gastrodiae Rhizoma* mit Gastrodin und β -Sitosterol
(Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Ethylacetat:MeOH:H₂O (9:1:0,2)

Detektion: MPS-Reagenz

Bahn 1: 5 μ l Gastrodin

Bahn 2: 15 μ l *Gastrodiae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 35)

Bahn 3: 2 μ l β -Sitosterol

Bahn 4: 15 μ l *Gastrodiae Rhizoma*

Bahn 5: 5 μ l *Cinnamomi Cortex*

Die mit Fließmittel 2-4 entwickelten Chromatogramme (Abb. 35-37, siehe Seite 37) eignen sich - verglichen mit jenem in Abbildung 34 - nicht für eine Identitätsprüfung der Droge. Aufgrund der geringeren Farbintensität der Zonen nach der Derivatisierung erwies sich AS-Reagenz zur Detektion als nicht optimal.

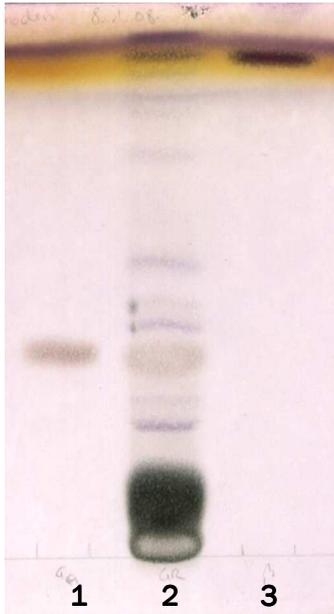


Abb.35 DC von *Gastrodiae Rhizoma* mit Gastrodin und β -Sitosterol (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Ethylacetat: MeOH:H₂O:Ameisensäure (77:13:10:2)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 10 μ l Gastrodin

Bahn 2: 20 μ l *Gastrodiae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 35)

Bahn 3: 10 μ l β -Sitosterol

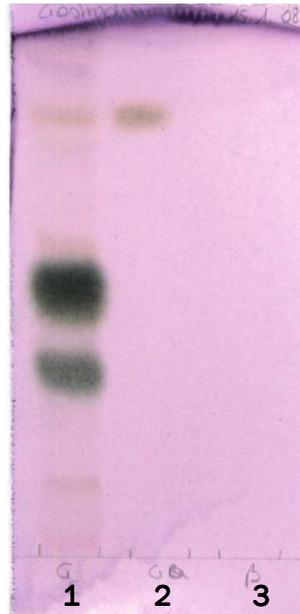


Abb.36 DC von *Gastrodiae Rhizoma* mit Gastrodin und β -Sitosterol (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH:H₂O (13:7:2)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 10 μ l *Gastrodiae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 35)

Bahn 2: 5 μ l Gastrodin

Bahn 3: 5 μ l β -Sitosterol

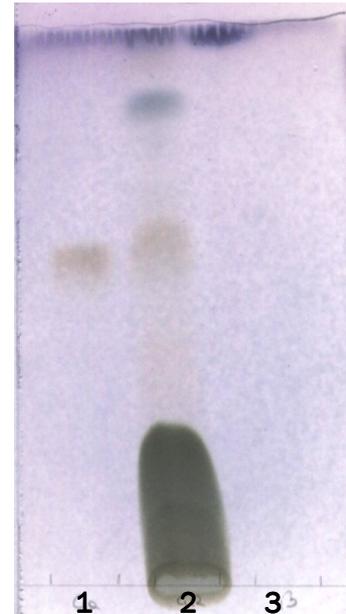


Abb.37 DC von *Gastrodiae Rhizoma* mit Gastrodin und β -Sitosterol (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Ethylacetat: MeOH:n-Butanol (5:2:3)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 10 μ l Gastrodin

Bahn 2: 10 μ l *Gastrodiae Rhizoma* (Extrakt siehe Seite 35)

Bahn 3: 5 μ l β -Sitosterol

Die auffallend dunklen Flecken am Start der Probe von *Gastrodiae Rhizoma* sind vermutlich auf die hohe Menge an Polysacchariden bzw. Zucker zurückzuführen. Bei sinkender Polariät der Fließmittel (in Abb. 36 und 37) steigt der Rf-Wert dieser Substanzen und β -Sitosterol kann aufgrund seines lipophilen Charakters nicht mehr als Referenz herangezogen werden.

Als Fließmittel der Wahl für ein aussagekräftiges, leicht detektierbares Dünnschichtchromatogramm von *Gastrodiae Rhizoma* empfiehlt sich die Verwendung von Ethylacetat : Methanol : Wasser (9 : 1 : 0,2). Dieses DC-System war aufgrund der Schärfe und Trennleistung den anderen Systemen überlegen. Als Referenz erwies sich ein Vergleichsextrakt von *Cinnamomi Cortex* als empfehlenswert.

3.7 *Nelumbinis Plumula* (Lotuskeimlinge)



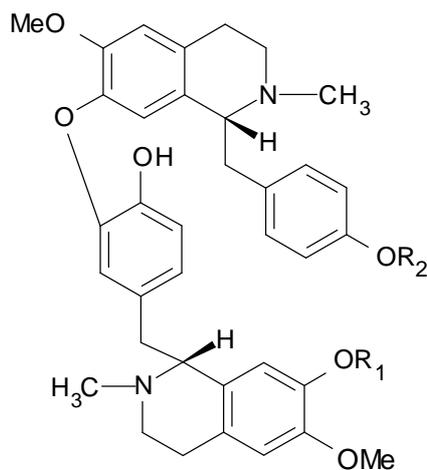
Abb.38 *Nelumbinis Plumula*

Nelumbinis Plumula sind die getrockneten jungen Keimblätter und Keimwurzeln der reifen Samen von *Nelumbo nucifera* GAERTN (*Nymphaeaceae*). Nach der Ernte wird die Droge vom Samen befreit und an der Sonne getrocknet (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2005).

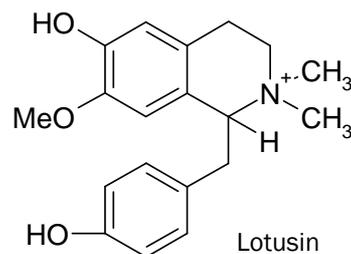
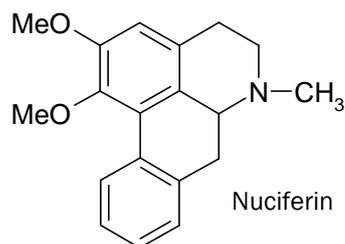
Hauptinhaltsstoffe sind Alkaloide. Neben Liensinin, Isoliensinin und

Neferin zählen auch Nuciferin und Pronuciferin dazu. Ebenso enthalten sind Flavonoidglykoside (z.B. Galuteolin, Hyperin und Rutin) und apolare Verbindungen wie β -Sitosterol und Fettsäuren (Bensky et al., 2004).

Nuciferin konnte eine beruhigende Wirkung auf Nagetiere nachgewiesen werden, zusätzlich wirkt es antiinflammatorisch, analgetisch und antitussiv (Macko et al., 1972). Neferin zeigt vasodilatorische Eigenschaften, die unabhängig vom Endothel-relaxierendem Faktor NO sind. Liensin können antihypertensive und antiarrhythmische Wirkungen zugeschrieben werden. Aufgrund einer verlängerten Wirkung von ADP auf das Aktionspotential senkt Liensin auch die Kontraktionskraft des Myocards (Huang, 1999).



Liensin: $R_1=CH_3$ $R_2=H$
 Isoliensin: $R_1=H$ $R_2=CH_3$
 Neferin: $R_1=R_2=CH_3$



Indikationen für die Droge sind fieberhafte Infekte, Nervosität, Bluthochdruck, Schlafstörungen und Diarrhoe, bei einer gebräuchlichen Dosierung von 9-15 g (Paulus und Yu-he, 1987; Keys, 1976).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Nelumbinis Plumula*

Für das Extrakt werden 0,1 g gepulverte Droge mit 10 ml Methanol versetzt, 15 min unter Rückfluss erhitzt und filtriert.

Folgende Fließmittelsysteme kamen zur Anwendung:

NP-1 = Fließmittel 1: Chloroform : Ethylacetat : Diethylamin (5 : 4 : 1)

(*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*)

NP-2 = Fließmittel 2: Toluol : Aceton : Ethanol : konz. Ammoniak (40 : 40 : 6 : 2)

(*Wagner und Bladt, 1996*)

NP-3 = Fließmittel 3: Ethylacetat : Ameisensäure : Eisessig : Wasser (100 : 11 : 11 : 27)

(*Wagner und Bladt, 1996*)

Reinsubstanzen der Inhaltsstoffe von *Nelumbinis Plumula* sind sehr teuer und wurden nicht als Referenz herangezogen.

Das Chromatogramm in Abbildung 39 weist bei UV₃₆₆ vier spezifische Zonen auf, die für eine Identifizierung herangezogen werden können. Bei Rf-Werten von ~0,1 und ~0,12 zwei knapp übereinander liegende, blau fluoreszierende Banden, eine kräftig blau gefärbte Zone bei Rf ~0,54 und bei einem Rf-Wert von ~0,85 eine schwach rot fluoreszierende Bande. Als mobile Phase diente Chloroform : Ethylacetat : Diethylamin (5 : 4 : 1).

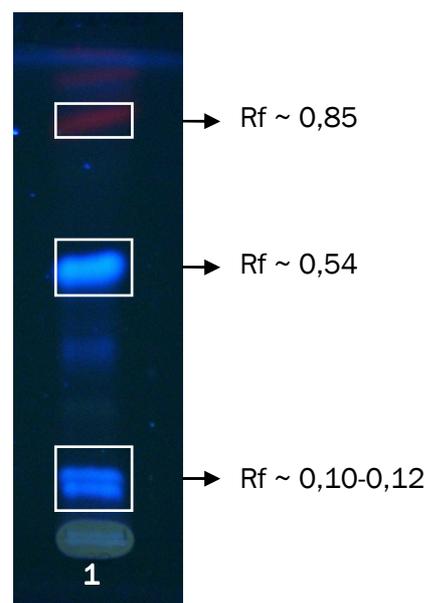


Abb.39 DC von *Nelumbinis Plumula*

(Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:Ethylacetat:

Diethylamin (5:4:1)

Bahn 1: 15 µl *Nelumbinis Plumula*

(Extrakt siehe oben)

Die in *Nelumbinis Plumula* vorkommenden Alkaloide zeigen eine große Strukturähnlichkeit zu Opiumalkaloiden. Deshalb wurde als Fließmittel 2 Toluol : Aceton : Ethanol : konz. Ammoniak (40 : 40 : 6 : 2), eine mobile Phase, die laut *Wagner und Bladt* (1996) bei Opiumalkaloiddrogen Einsatz findet, angewendet (Abb. 40). Um bessere Voraussetzungen für eine Auswertung zu schaffen, wurde zum Vergleich ein Methanolextrakt von *Papaveris Fructus* aufgetragen. Es wird vermutet, dass die Fingerprints in den Chromatogrammen sowohl der Abbildung 39 als auch 40 aufgrund der ähnlichen Farbgebung die Substanzklasse der Alkaloide aufzeigen.



Abb.40 DC von *Nelumbinis Plumula* mit *Papaveris Fructus*

(Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Toluol:Aceton:Ethanol:konz. Ammoniak (40:40:6:2)

Bahn 1: 15 µl *Papaveris Fructus*

Bahn 2: 15 µl *Nelumbinis Plumula* (Extrakt siehe Seite 39)

Um ein leicht reproduzierbares DC-System für eine Identitätsprüfung von *Nelumbinis Plumula* zu finden, wurde die mobile Phase Ethylacetat : Ameisensäure : Eisessig : Wasser (100 : 11 : 11 : 27) eingesetzt (Abb. 41, siehe Seite 41). Dieses Fließmittel findet häufig Einsatz für die Substanzklasse der Flavonoide, welche in der Droge ebenfalls enthalten sind. So kann eine zeitaufwendige Anreicherung der Alkaloide im Probenextrakt vermieden werden. Auch teure Reinsubstanzen können durch Rutin und Hyperosid ersetzt werden. Es empfiehlt sich daher das Auftragen eines Vergleichsextraktes von *Hyperici Herba*, welches beide Flavonoide enthält. Die bei UV₃₆₆ gelb fluoreszierende Zone von Rutin hat einen Rf-Wert von ~0,34, die gelb gefärbte Bande von Hyperosid ist auf der Höhe von Rf ~0,63 zu erkennen. Allerdings ist die Zone von Hyperosid im Fingerprint der Droge nicht exakt auf gleicher Höhe wie die der Reinsubstanz, allein mit dieser Methode lässt sich daher diese Verbindung nicht einwandfrei nachweisen. Die blaue, braune und

türkisfarbenen Zonen (Rf-Wert von ~0,2; ~0,25 und ~0,29) können zusätzlich zur Charakterisierung des Fingerprints von *Nelumbinis Plumula* herangezogen werden.

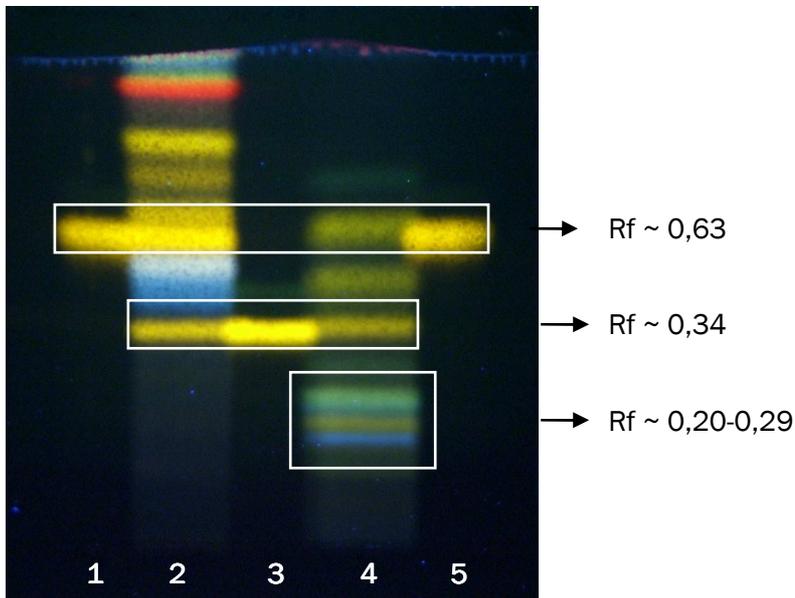


Abb.41 DC von *Nelumbinis Plumula* mit Hyperosid, Rutin und *Hyperici Herba*
(Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Detektion: NAT-PEG

Mobile Phase: Ethylacetat:Ameisensäure:Eisessig:H₂O (100:11:11:27)

Bahn 1: 5 µl Hyperosid

Bahn 2: 20 µl *Hyperici Herba*

Bahn 3: 5 µl Rutin

Bahn 4: 20 µl *Nelumbinis Plumula* (Extrakt siehe Seite 39)

Bahn 5: 5 µl Hyperosid

Für eine schnelle dünnschichtchromatographische Identitätsprüfung von *Nelumbinis Plumula* eignet sich am besten die Entwicklung eines Chromatogramms mit einem Fließmittel, welches Einsatz für Flavinoide findet. Referenzen dieser Substanzklasse sind einfach und kostengünstig oder es dient ein Vergleichsextrakt von *Hyperici Herba*, das Rutin und Hyperosid enthält.

3.8 *Polygoni multiflori Caulis* (Vielblütiger Knöterichstängel)



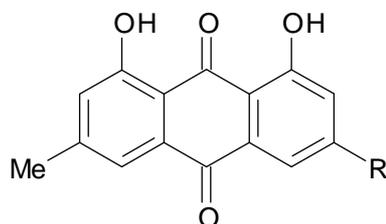
Abb.42 *Polygoni multiflori Caulis*

Unter *Polygoni multiflori Caulis* versteht man die getrockneten Stängel von *Polygonum multiflorum* THUNB. (Polygonaceae). Die Pflanze wird in der zweiten Hälfte des Jahres geschnitten, von Blättern befreit, in Bündeln verknüpft und getrocknet.

Eine Vorbehandlung der Droge setzt sich aus der Reinigung, dem

Waschen der Sprosse, in Stücke schneiden und an der Sonne Trocknen zusammen (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

Eine Vielzahl von Anthrachinone (z.B. Emodin, Physcion, Chrysophanol, Aloe-Emodin und Rhein) bilden die Hauptinhaltsstoffe von *Polygonis multiflori Caulis*. Weiter sind Flavonoide (z.B. Quercetin-3-O-galactosid und Quercetin-3-O-arabinosid), 6-Methoxy-7-hydroxycumarin sowie Polygoacetophenoxid, ein 2,3,4,6-Tetrahydroxyacetophenon-3-O-glucosid enthalten (*Reichling und Horz, 2007*).



Emodin: R=OH
Physcion: R=OMe
Chrysophanol: R=H

Die Inhaltsstoffe von *Polygoni multiflori Caulis* wirken neuroprotektiv durch Hemmung verschiedener Caspasen, wichtige Enzyme der Apoptose, die eine Rolle bei der Entstehung eines Schlaganfalls spielen (*Fattorusso et al., 2006*).

Bei der Behandlung von Ratten mit einem Extrakt aus *Polygoni multiflori* konnte eine gesteigerte Plasma- und Leberlipoproteinlipase-Aktivität festgestellt werden und eine Senkung des Plasmacholesterins (*Zhang et al., 1983; Mei et al., 1979*).

Angewendet wird die Droge bei Schlaflosigkeit, Angstzuständen und lokal bei rheumatischen Erkrankungen und Hämorrhoiden (*Paulus und Yu-he, 1987; Hempten und Fischer, 2001*). Standarddosierungen liegen zwischen 9 und 15 g, wobei bei äußerer Anwendung eine ausreichende Menge des Dekoktes zur Waschung dient (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Polygoni multiflori Caulis*

Für das Extrakt wird 1 g der gepulverten Droge mit 10 ml Methanol unter Rückfluss für 15 min erhitzt und anschließend filtriert.

Folgende Fließmittelsysteme fanden Verwendung:

PM-1 = Fließmittel 1: Benzol : Ethanol (2 : 1) und (4 : 1)

(*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*)

PM-2 = Fließmittel 2: Toluol : Ethanol (3 : 1) (*Wagner und Bauer, 2006*)

PM-3 = Fließmittel 3: Ethylacetat : Methanol : Wasser (100 : 13,5 : 10)

(*Wagner und Blatt, 1996*)

Die Identitätsprüfung der Monographie von *Polygoni multiflori Caulis* in der *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (2005) sieht für das Dünnschichtchromatogramm zwei Entwicklungen vor. Für die erste Entwicklung wird das Fließmittel Benzol : Ethanol (2 : 1) beschrieben, nach anschließender Trocknung der Platte wird ein Mischungsverhältnis von (4 : 1) als mobile Phase gefordert (siehe Abb. 43).

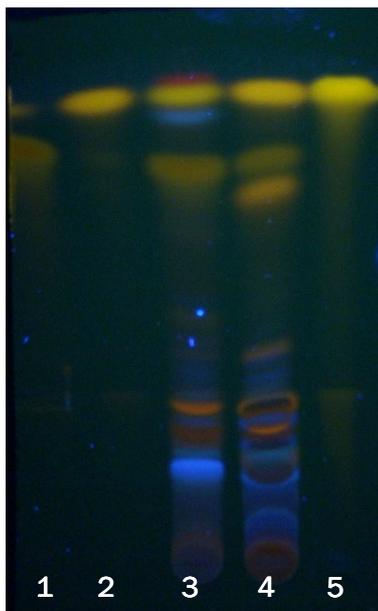


Abb.43 DC von *Polygoni multiflori Caulis* mit Emodin, Chrysophanol, Physcion und *Rhei rhapontici Radix* (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Benzol:Ethanol (2:4) und (4:1)

Bahn 1: 5 µl Emodin

Bahn 2: 5 µl Chrysophanol

Bahn 3: 10 µl *Polygoni multiflori Caulis* (Extrakt siehe oben)

Bahn 4: 10 µl *Rhei rhapontici Radix*

Bahn 5: 5 µl Physcion

Das in der Publikation von *Wagner und Bauer* (2006) vorgestellte DC-System für *Polygoni multiflora Radix* kann auch für *Polygoni multiflora Caulis* angewendet werden. Als mobile Phase wird Toluol : Ethanol (3 : 1) eingesetzt und als Sprühreagenz dient NAT-PEG. Die Schärfe der Zonen und die Trennleistung konnten im Vergleich zu dem Chromatogramm in Abb. 43 gesteigert werden. Als Referenzsubstanzen wurden Emodin, Physcion und Chrysophanol aufgetragen; allerdings aufgrund ihrer ähnlichen Struktur, besitzen die Zonen von Physcion und Chrysophanol gleiche Rf-Werte und sind nicht einzeln auswertbar. Ein Vergleichsextrakt von *Rhei rhapontici Radix* wird daher zusätzlich empfohlen.



Abb.44 DC von *Polygoni multiflora Caulis* mit Emodin, Chrysophanol, Physcion und *Rhei rhapontici Radix*

(Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Toluol:Ethanol (3:1)

Detektion: NAT-PEG

Bahn 1: 10 µl Emodin

Bahn 2: 10 µl *Rhei rhapontici Radix*

Bahn 3: 10 µl *Polygoni multiflora Caulis*

(Extrakt siehe Seite 43)

Bahn 4: 10 µl Chrysophanol

Bahn 5: 10 µl Physcion

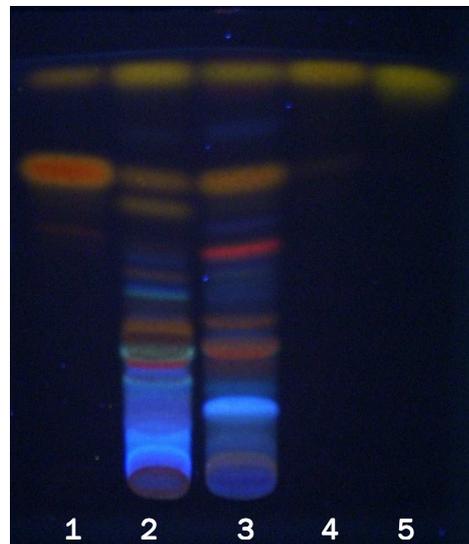


Abb.45 DC von *Polygoni multiflora Caulis* mit Emodin, Chrysophanol, Physcion und *Rhei rhapontici Radix*

(Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Toluol:Ethanol (3:1)

Detektion: NAT-PEG

Bahn 1: 10 µl Emodin

Bahn 2: 10 µl *Rhei rhapontici Radix*

Bahn 3: 10 µl *Polygoni multiflora Caulis*

(Extrakt siehe Seite 43)

Bahn 4: 10 µl Chrysophanol

Bahn 5: 10 µl Physcion

Um die Schärfe der Zonierung noch zu steigern, kann die Platte statt mit NAT-PEG - wie in Abb. 44 und 45 - mit MPS-Reagenz besprüht werden (siehe Abb. 46). Ab einem Rf-Wert von ca. $\sim 0,35$ wirken die Fingerprints von *Polygoni multiflori Caulis* und *Rhei rhapontici Radix* fast identisch, was auf ein ähnliches Inhaltsstoffmuster der beiden Drogen schließen lässt. Insgesamt fünf Banden besitzen den gleichen Rf-Wert: Die rot-gelb gefärbten Zonen von Emodin (Rf $\sim 0,72$) und Chrysophanol bzw. Physcion (Rf $\sim 0,93$) und drei blaue Banden bei Rf-Werten von $\sim 0,35$; $\sim 0,49$ und $\sim 0,67$.

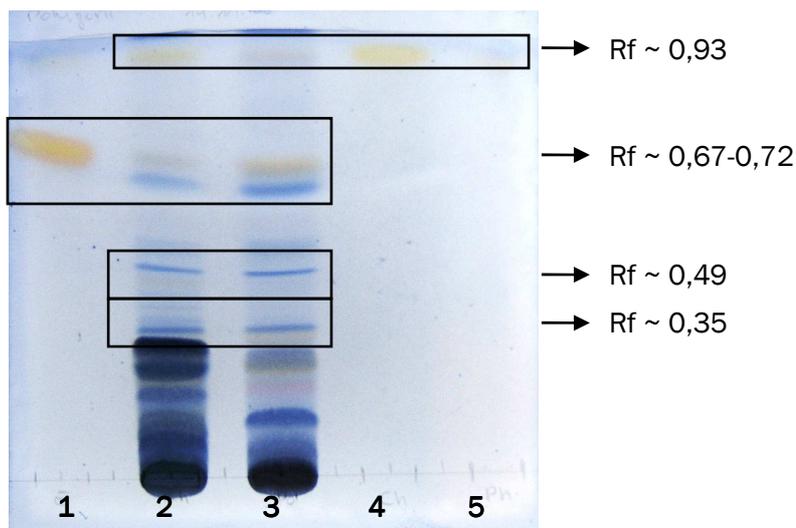


Abb.46 DC von *Polygoni multiflori Caulis* mit Emodin, Chrysophanol, Physcion und *Rhei rhapontici Radix* (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Toluol:Ethanol (3:1)

Detektion: MPS-Reagenz

Bahn 1: 10 µl Emodin

Bahn 2: 10 µl *Rhei rhapontici Radix*

Bahn 3: 10 µl *Polygoni multiflori Caulis* (Extrakt siehe Seite 43)

Bahn 4: 10 µl Chrysophanol

Bahn 5: 10 µl Physcion

Von *Wagner und Bladt* (1996) wird das Fließmittel Ethylacetat : Methanol : Wasser (100 : 13,5 : 10) zur Steigerung der Trennschärfe der Zonen der ersten Hälfte des Fingerprints von *Rhei Radix* vorgestellt. Auch bei *Polygoni multiflori Caulis* gelingt dies sehr gut (Abb. 47, siehe Seite 46). Das so entwickelte Chromatogramm zeichnet sich durch zwei kräftig blau fluoreszierende Banden (Rf $\sim 0,37$ und $\sim 0,52$), eine gelbe gefärbte Zone (Rf $\sim 0,92$), zurückzuführen auf die in der Droge enthaltenen Anthraderivate, und drei schwach rot fluoreszierende Banden (Rf $\sim 0,15$; $\sim 0,22$ und $\sim 0,5$) aus.

Abb.47 DC von *Polygoni multiflori* *Caulis* mit Emodin, Chrysophanol, Phycion und *Rhei rhapontici Radix* (Aufnahmen bei UV₃₆₆)

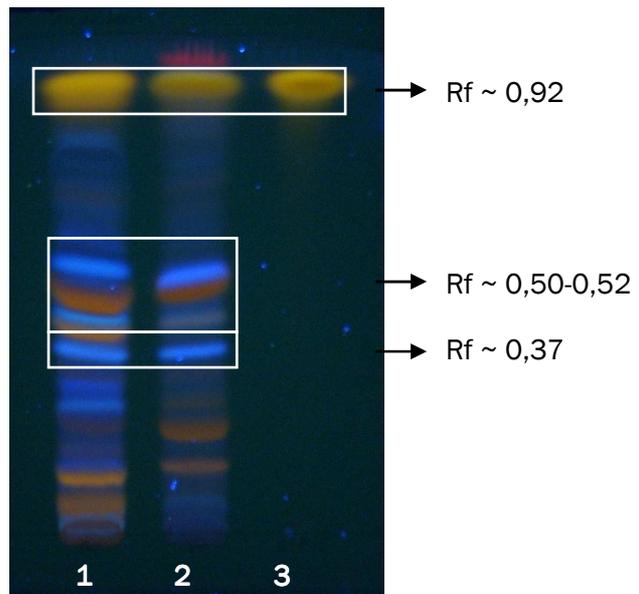
Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: Ethylacetat:MeOH:H₂O (100:13,5:10)

Bahn 1: 10 µl *Rhei rhapontici Radix*

Bahn 2: 10 µl *Polygoni multiflori* *Caulis* (Extrakt siehe Seite 43)

Bahn 3: je 3 µl Chrysophanol, Phycion, Emodin



Das in der Publikation von *Wagner und Bauer (2006)* angegebene Fließmittel Toluol : Ethanol (3 : 1) erwies sich für *Polygoni multiflori* *Caulis* als empfehlenswert. Eine zeitaufwändige Entwicklung mit zwei Fließmitteln, wie in der *Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2005)* beschrieben, kann so umgangen werden. Zur Detektion werden gute Ergebnisse mit MPS-Reagenz erzielt, und ein Vergleichsextrakt von *Rhei rhapontici Radix* eignet sich optimal als Referenz.

3.9 *Tribuli Fructus* (Burzeldornfrüchte)

Im Herbst, zur Reifezeit der Früchte, wird *Tribulus terrestris* L. (Zygophyllaceae)

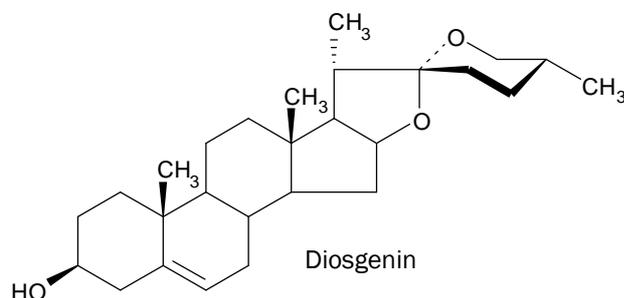


Abb.48 *Tribuli Fructus*

geschnitten und an der Sonne getrocknet. Anschließend werden durch Dreschen die Sammelfrüchte gewonnen und gereinigt.

Als Vorbehandlung kann die Droge neben der bloßen Reinigung auch nach der *Qingchao*-Methode bis zur leichten Gelbfärbung geröstet werden (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2005).

Diosgenin, Gitogenin, Chlorogenin und Ruscogenin bilden die Hauptsapogenine, die in *Tribuli Fructus* enthalten sind. Weitere Inhaltsstoffe sind Flavonoidglycoside von Kämpferol und Quercetin. Alkaloide (z.B. Harman), Phytosterole (z.B. β -Sitosterol, Stigmasterol) und Fettsäuren konnten ebenfalls isoliert werden (*Bensky et al.*, 2004).



Das Ethanolextrakt von *Tribuli Fructus* wirkt hemmend auf das Wachstum diverser Gram-negativer und Gram-positiver Bakterien wie z.B. *B. cereus* oder *C. diptheriae* (*Al-Bayati und Al-Mola*, 2008). *Tribulus terrestris* L. ist für seine aphrodisierende Wirkung und den Einsatz bei Unfruchtbarkeit des Mannes in der traditionellen Medizin bekannt. Extrakte zeigen Wirkung bei erektiler Dysfunktion bei Affen, Hasen und Ratten (*Gauthaman und Ganesan*, 2008). Bei Mäusen mit einer Intoxikation mit Quecksilberchlorid konnte dem Methanolextrakt aus *Tribuli Fructus* eine nephroprotektive Wirkung zugeschrieben werden (*Kavitha und Jagadeesan*, 2006).

Mit einer gebräuchlichen Dosierung von 6-9 g wird die Droge unter anderem bei Kopfschmerzen, Schwindel, Schmerzen im Brustbereich, geröteten Augen und Hornhauttrübungen eingesetzt (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2005).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Tribuli Fructus*

Bei der Suche nach einem optimalen DC-System und geeigneten Referenzsubstanzen bzw. Vergleichsextrakten für *Tribuli Fructus*, fanden folgende 4 Extrakte Verwendung:

Extrakt-1: 1 g gepulverte Droge wird mit 10 ml Methanol vermengt und unter Rückfluss ca. 15 min erhitzt und filtriert. Aufgrund des hohen Gehalts an Fettsäuren wird das Filtrat dreimal mit je 10 ml Petrolether ausgeschüttelt.

Extrakt-2: 1 g Droge wird mit 10 ml Methanol unter Rückfluss 15 min erhitzt und anschließend zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in 5 ml Wasser gelöst und in einem Scheidetrichter zweimal mit je 5 ml Petrolether ausgeschüttelt. Nach dem zweiten Mal wird der Petrolether erst am nächsten Tag abgelassen, um eine ausreichende Trennung der Phasen zu gewährleisten. Das Extrakt wird zur Trockene eingedampft und anschließend in 2 ml Methanol kurz im Ultraschallbad wieder gelöst.

Extrakt-3: Zur Anreicherung der Alkaloide werden 2 g Droge mit 2 ml einer 10 %igen Ammoniaklösung etwa 1 min im Mörser verrieben und 7 g basisches Aluminiumoxid (Aktivitätsstufe I) beigemischt. Die Anreibung wird locker in eine Glassäule (ϕ 1 cm) gefüllt und mit 10 ml CHCl_3 werden die Alkaloidbasen eluiert. Die ersten 5 ml werden aufgefangen und auf 1 ml eingeeengt (Wagner und Bladt, 1996).

Extrakt-4: Um die Konzentration der Alkaloide zu verstärken, wird Extrakt-3 zur Trockene eingedampft und der Rückstand in 5 ml salzsaurem Wasser (pH-Wert 2) gelöst. Nach dem Ausschütteln mit 5 ml CHCl_3 wird zentrifugiert, um eine Phasentrennung zu beschleunigen und die Neutralstoffe abzutrennen. Durch Zugabe von NH_3 zur wässrigen Phase wird der pH-Wert auf 10 erhöht und anschließend noch einmal mit 5 ml CHCl_3 ausgeschüttelt und ein weiteres mal zentrifugiert. Die Chloroformphase wird auf 1 ml eingeeengt.

Folgende 2 Fließmittelsysteme wurden verwendet:

TF-1 = Fließmittel 1: Chloroform : Methanol : Wasser (13 : 7 : 2)

(*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2005)

TF-2 = Fließmittel 2: Chloroform : Methanol (90 : 10)

Für die Identitätsprüfung von *Tribuli Fructus* wird in der Monographie der *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (2005) für eine Dünnschichtchromatographie ein in der Herstellung aufwändiges Chloroformextrakt gefordert. Dieses Extrakt wurde durch ein in der Herstellung zeitsparenderes Methanolextrakt ersetzt. Für die Entwicklung kam das Fließmittel Chloroform : Methanol : Wasser (13 : 7 : 2) zur Anwendung und für die

Detektion wurde die Platte anschließend mit p-DMAS-Reagenz besprüht. Die Auswertung des Chromatogramms ist nur wenig informativ (siehe Abb. 49). Es sind einige nicht aussagekräftige rote Banden zu erkennen. Referenzsubstanzen wie Harmin oder Diosgenin weisen keine Zonen auf.



Abb.49 DC von *Tribuli Fructus* Extrakt-1 mit Harmin und Diosgenin (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH:H₂O (13:7:2)

Detektion: p-DMAS-Reagenz

Bahn 1: 10 µl Harmin

Bahn 2: 10 µl *Tribuli Fructus*

(Extrakt-1 siehe Seite 48)

Bahn 3: 10 µl Diosgenin

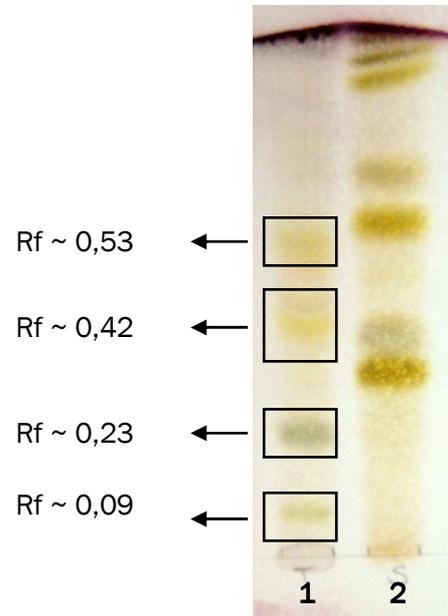


Abb.50 DC von *Tribuli Fructus* Extrakt-1 mit *Sarsaparillae Radix* (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH:H₂O (13:7:2)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 10 µl *Tribuli Fructus*

(Extrakt-1 siehe Seite 48)

Bahn 2: 10 µl *Sarsaparillae Radix*

Um die vorhandenen Banden einer Substanzklasse zuordnen zu können, wurde das Sprühreagenz gegen AS-Reagenz getauscht und für einen Vergleich ein Methanolextrakt von *Sarsaparillae Radix* aufgetragen (Abb. 50). Aufgrund der ähnlichen Farbgebung der Zonen der beiden Fingerprints wird vermutet, dass es sich bei den Banden von *Tribuli Fructus* um Steroidsaponine handelt. Am charakteristischsten sind eine schmale grünlich gefärbte Zone bei einem Rf-Wert von ~0,09, eine graue, dominante Bande bei Rf ~0,23 und zwei gelbe Zonen bei Rf-Werten von ~0,42 und ~0,53.

Für eine nähere Charakterisierung der Inhaltstoffe der Droge, wurden weitere Vergleichsextrakte von verschiedenen Saponindrogen hergestellt (Abb. 51, siehe Seite 50). Ein Saponingemisch von *Saponariae albae Radix*, *Discorae villosae Rhizoma*, *Primulae*

Radix und ein Reinsubstanzgemisch Aescin eignen sich allerdings nicht besser als Referenz als *Sarsaparillae Radix*.

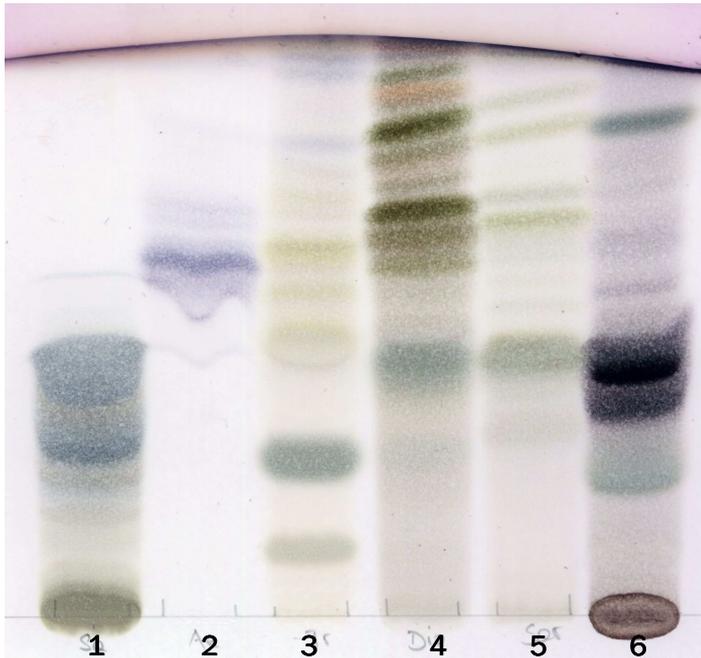


Abb.51 DC von *Tribuli Fructus* Extrakt-2 mit *Saponariae albae Radix*, Aescin, *Dioscorea villosa*, *Sarsaparillae Radix* und *Primulae Radix* (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH:H₂O (13:7:2)

Detektion: AS-Reagenz

Bahn 1: 10 µl *Saponariae albae Radix*

Bahn 2: 10 µl Aescin

Bahn 3: 10 µl *Tribuli Fructus* (Extrakt-2 siehe Seite 48)

Bahn 4: 10 µl *Dioscorea villosa*

Bahn 5: 10µl *Sarsaparillae Radix*

Bahn 6: 10µl *Primulae Radix*

Von *Borkowski und Lutomski (1961)* wurden Alkaloide - vermutlich Harman im Kraut und Harmin im Samen - in *Tribulus terrestris L.* chromatographisch nachgewiesen. Um die Detektion dieser Alkaloide zu erleichtern, wurde ein Extrakt mit angereichertem Alkaloidgehalt hergestellt (= Extrakt-3, siehe Seite 48). Extrakt-1 und Extrakt-3 wurden auf einer DC-Platte aufgetragen und mit der mobilen Phase Chloroform : Methanol (90 : 10) entwickelt (Abb. 52, siehe Seite 51). Im Fingerprint des Alkaloid angereicherten Extrakts von *Tribuli Fructus* lässt sich eine blau fluoreszierende Zone deutlich bei gleichem Rf-Wert wie Reinsubstanz Harman (Rf ~0,38) ablesen. Die Auswertung des Chromatogramms wird allerdings durch unschöne Schlieren erschwert. Um diese zu vermeiden, wurde das Extrakt-3 eingeeengt und mit CHCl₃ ausgeschüttelt (= Extrakt-4).

Mit Extrakt-4 kann bei Anwendung des gleichen DC-Systems ein besseres Ergebnis erzielt werden. Die Zone auf Höhe des Harman ist in Abb. 53 weniger deutlich zu erkennen wie in Abb. 52, jedoch konnte eine Bildung von Schlieren gegen Ende der Laufstrecke verhindert werden. Harmin scheint in dieser Probe von *Tribulus terrestris L.* nicht oder in zu geringen Mengen enthalten zu sein, als dass es mit dieser Methode detektierbar wäre.

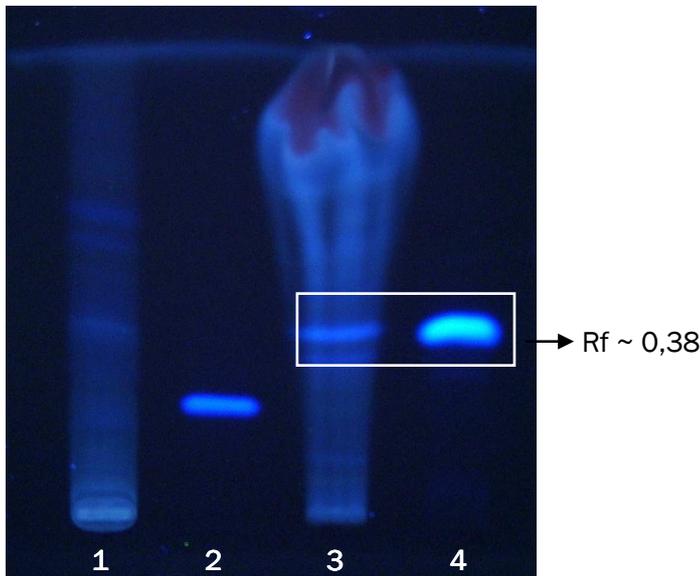


Abb.52 DC von *Tribuli Fructus* Extrakt-1 und Extrakt-3 mit Harman und Harmin (Aufnahmen bei UV₂₅₄)
Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: CHCl₃:MeOH (90:10)
Bahn 1: 30 µl *Tribuli Fructus* (Extrakt-1 siehe Seite 48)
Bahn 2: 5 µl Harmin
Bahn 3: 30 µl *Tribuli Fructus* (Extrakt-3 siehe Seite 48)
Bahn 4: 5 µl Harman

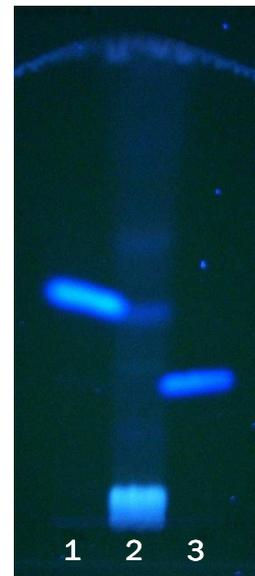


Abb.53 DC von *Tribuli Fructus* Extrakt-4 mit Harman und Harmin (Aufnahmen bei UV₃₆₆)
Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: CHCl₃:MeOH (90:10)
Bahn 1: 2 µl Harman
Bahn 2: 30 µl *Tribuli Fructus* (Extrakt-4 siehe Seite 48)
Bahn 3: 2 µl Harmin

Für die Identitätsprüfung von *Tribuli Fructus* erwies sich das Fließmittel Chloroform : Methanol : Wasser (13 : 7 : 2) als empfehlenswert; es dient zur Detektion der Substanzklasse der Saponine. Um die in der Droge enthaltenen Alkaloide für eine Identifizierung heranziehen zu können, ist eine intensive Anreicherung dieser im Probenextrakt der Droge nötig. Für die Entwicklung eignet sich die mobile Phase Chloroform : Methanol (90 : 10) und als Referenz kann Harman bzw. Harmin verwendet werden. Ein Vergleichsextrakt anderer Drogen mit einem ähnlichen Inhaltsstoffmuster konnte nicht gefunden werden.

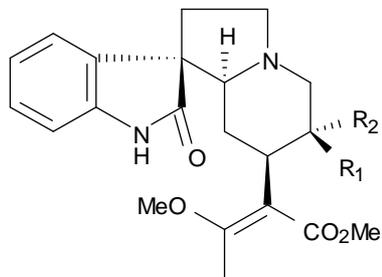
3.10 Uncariae Ramulus cum Uncis (Uncaria Zweige und Dornen)

Es werden die Stängel mit ihren hakenförmigen Auswachsungen von *Uncaria rhynchophylla* (MIQ) JACKS., *U. macrophylla* WALL., *U. hirsuta* HAVIL., *U. sinensis* (OLIV.) HAVIL. oder *U. sessilifructus* ROXB. (Rubiaceae) verwendet. Im Herbst oder Winter werden sie geschnitten, von Blättern befreit, in Stücke zerteilt und an der Sonne getrocknet (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2005).



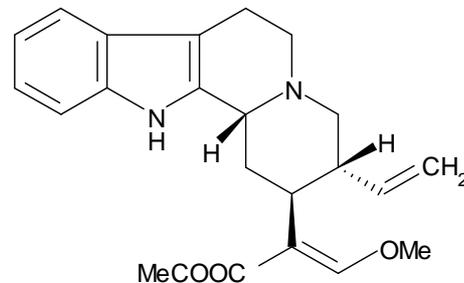
Abb.54 *Uncariae Ramulus cum Uncis*

Hauptinhaltsstoffe sind verschiedene Alkaloide: pentacyclische (z.B. Isopteropodin, Pteropodin) und tetracyclische (z.B. Rhynchophyllin, Corynoxein), Heteroyohimbinalkaloide (z.B. Akuammigin, Hirsutein) und Pyridinoindolochinolizidonalkaloide (z.B. Angustidin, Angustolin). Auch Phenole (z.B. Hyperin, Epicatechin), Triterpene und ein Cumarin (Scopoletin) konnten isoliert werden (*Bensky et al.*, 2004).



Corynoxein: $R_1 = H$; $R_2 = CH = CH_2$

Rynchophyllin: $R_1 = H$; $R_2 = C_2H_5$



Hirsutein

Ein Alkaloidgemisch von *U. rhynchophylla* (MIQ) JACKS. weist nach intravenöser Gabe bei Katzen und Ratten eine hypotensive Wirkung auf (*Chang et al.*, 1978). Den Gesamtalkaloiden von *U. macrophylla* WALL. konnte ebenfalls ein hypotensiver Effekt bei Hunden nachgewiesen werden (*Liu et al.*, 1983). Das Methanolextrakt von *U. rhynchophylla* zeigt eine inhibitorische Wirkung auf Liganden von α_2 -Adrenorezeptoren, Dopamin-1-, 5-HT_{1A}-, Opiat-, GABA_A- und GABA_B Rezeptoren auf (*Zhu et al.*, 1997).

Anwendung findet die Droge mit einer gebräuchlichen Dosierung von 3-12 g bei Fieber, Krampfanfällen, Reizbarkeit, Schwindel und Kopfschmerzen (*Hempfen und Fischer, 2001; Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Uncariae Ramulus cum Uncis*

Für das Extrakt werden 2 g der gepulverten Droge mit 5 ml 10 %iger Ammoniaklösung vermengt und 10 min stehen gelassen. Anschließend wird nach Zugabe von 150 ml Methanol 2 Stunden unter Rückfluss erhitzt, filtriert und die Lösung zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in 2 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 20 ml Wasser wird zweimal mit jeweils 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten Ethylacetatphasen werden eingedampft und der Rückstand in 2 ml Methanol gelöst. Die Herstellung stellt eine vereinfachte Form jenes Extraktes zur Anreicherung von Alkaloiden von *Wagner und Bauer (2005)* dar.

Folgende Fließmittelsysteme kamen zur Anwendung:

UR-1 = Fließmittel-1: Chloroform : Methanol (90 : 10) (*Wagner und Bauer, 2005*)

UR-2 = Fließmittel-2: Chloroform : Aceton : konz. Ameisensäure (75 : 16,5 : 8,5)

(*Wagner und Bauer, 2005*)

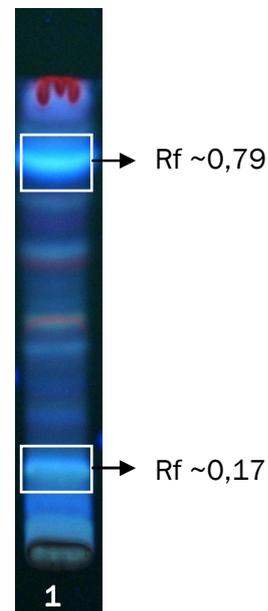


Abb.55 DC von *Uncariae Ramulus cum Uncis*

(Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:MeOH (90:10)

Bahn 1: 5 µl *Uncariae Ramulus cum Uncis*

(Extrakt siehe Seite oben)

In der derzeitigen Monographie von *Uncariae Ramulus cum Uncis* ist kein DC-System für eine Identitätsprüfung angegeben.

Die in der Publikation von *Wagner und Bauer (2005)* angegebene mobile Phase Chloroform : Methanol (90 : 10) kann für eine Identifizierung der in der Droge enthaltenen Alkaloide herangezogen werden (siehe Abb. 55). Am dominantesten erscheinen zwei blau fluoreszierende Zonen bei Rf-Werten von ~0,17 und ~0,79.

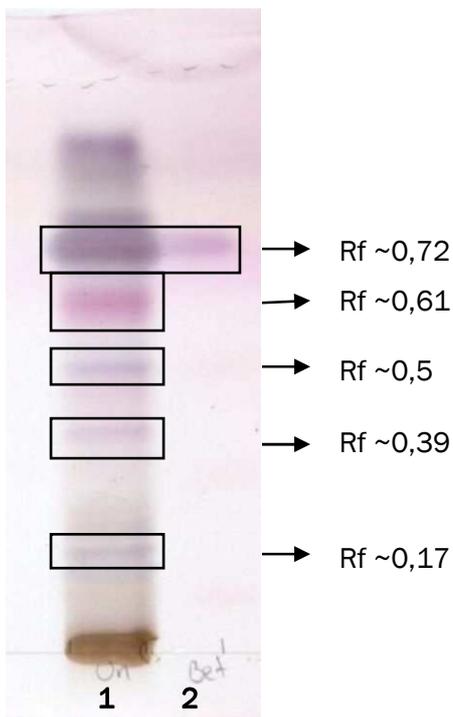


Abb.56 DC von *Uncariae Ramulus cum Uncis* mit Betulinsäure (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Detektion: getaucht in AS-Reagenz

Mobile Phase: CHCl₃:Aceton:konz.

Ameisensäure (75:16,5:8,5)

Bahn 1: 5 µl *Uncariae Ramulus cum Uncis* (Extrakt siehe Seite 53)

Bahn 2: 5 µl Betulinsäure



Abb.57 DC von *Uncariae Ramulus cum Uncis* mit Catechin (Aufnahmen bei Tageslicht)

Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄

Detektion: getaucht in AS-Reagenz

Mobile Phase: CHCl₃:Aceton:konz.

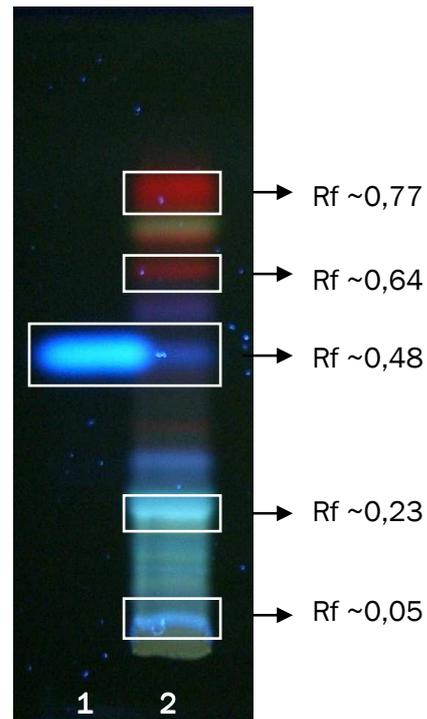
Ameisensäure (75:16,5:8,5)

Bahn 1: 5 µl *Uncariae Ramulus cum Uncis* (Extrakt siehe Seite 53)

Bahn 2: 5 µl Catechin

Für einen Nachweis mit den Reinsubstanzen Catechin und Betulinsäure wurden die Chromatogramme in Abb. 56 und 57 mit dem Fließmittel Chloroform : Aceton : konz. Ameisensäure (75 : 16,5 : 8,5) entwickelt. Der Fingerprint von *Uncariae Ramulus cum Uncis* weist eine leicht orangefarbene Bande auf der Höhe von Catechin (Rf ~0,11) auf. Weiters sind drei grauviolette schmale Zonen bei Rf-Werten von ~0,17; ~0,39 und ~0,5 und eine größere, rosaviolette Bande bei einem Rf-Wert von ~0,61 zu erkennen. Am dominantesten erscheint eine grauviolette Zone, die auf Höhe der Reinsubstanz Betulinsäure (Rf ~0,72) detektierbar ist.

Abb.58 DC von *Uncariae Ramulus cum Uncis* mit Scopoletin (Aufnahmen bei UV₃₆₆)
Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: CHCl₃:Aceton:
konz. Ameisensäure (75:16,5:8,5)
Bahn 1: 5 µl Scopoletin
Bahn 2: 5 µl *Uncariae Ramulus cum Uncis*
(Extrakt siehe Seite 53)



Betrachtet man den Fingerprint unter UV₃₆₆, lässt sich eine blau fluoreszierende Bande bei einem Rf-Wert von ~0,48 erkennen, dies entspricht einem Rf-Wert von Scopoletin (siehe Abb. 58). Neben dieser sind viele andere kräftig fluoreszierende Zonen zu erkennen, sie besitzen ein Farbspektrum von hellgrün, türkis über blau und am Ende der Laufstrecke rot.

Da es in der derzeitigen Ausgabe der *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (2005) keine DC für die Identitätsprüfung von *Uncariae Ramulus cum Uncis* gibt, bietet das Fließmittel Chloroform : Aceton : konz. Ameisensäure (75 : 16,5 : 8,5) eine Möglichkeit für eine dünnschichtchromatographische Überprüfung. Eine Auswertung bei Tageslicht und unter UV₃₆₆ ist empfehlenswert bei der Verwendung von Catechin, Betulinsäure und Scopoletin als Referenzsubstanzen.

3.11 *Ziziphi spinosae Semen* (Stacheljubarosamen)

Die reifen Fruchte von *Ziziphus jujuba* MILL. var. *spinosa* HU (Rhamnaceae) werden im



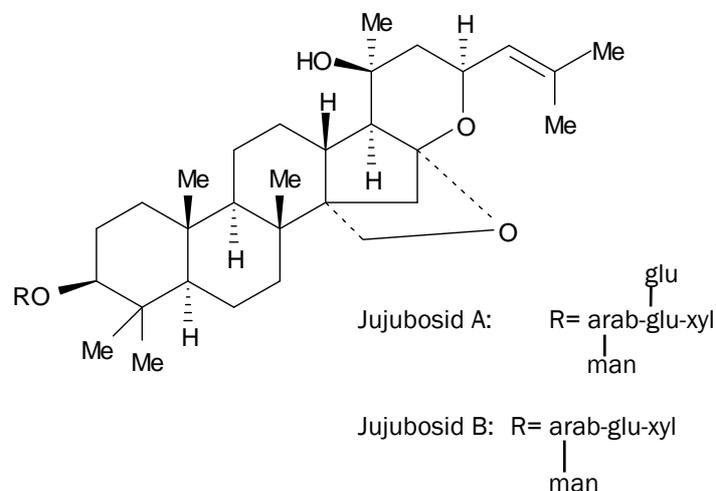
ABB.59 ZIZIPHI SPINOSAE SEMEN

Spätherbst oder zu Winterbeginn geerntet. Nach dem Entfernen von Fruchtfleisch und Kernschale werden die Samen an der Sonne getrocknet.

Zwei Arten der Vorbehandlung werden im Arzneibuch beschrieben:

- *Suanzaoren*: Die Droge wird ein weiteres Mal von Resten der Kernschale befreit und vor Gebrauch zerstoßen.
- *Chaosuanzaoren*: Die gereinigte Droge wird nach der *Qingchao*-Methode geröstet, bis die Samen sich aufwölben und eine leichte Farbvertiefung erreicht worden ist. Vor Gebrauch wird die Droge wiederum zerstoßen (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2005).

Jububoside sind die Hauptinhaltsstoffe von *Ziziphi spinosae Semen*, die sich von den ebenfalls in der Droge vorkommenden Triterpenaglyka wie Betulinsäure, Oleanolsäure und Ursolsäure ableiten. In geringerer Menge sind Alkaloide (Zizyphusin), Cyclopeptide (Daechucyclopeptide-1) und Flavon C-glycoside wie Swertisin und Spinosin nachgewiesen worden. Auch enthalten sind Ascorbinsäure, Fettsäuren, Polysaccharide und Ferulasäure (*Wagner und Bauer*, 2005).



Swertisin und Spinosin wirken im Tierexperiment sedativ, wobei Swertisin ein stärkerer Effekt zuzuschreiben ist (Woo et al., 1980). Vergleicht man die sedative und schlaffördernde Wirkung der Flavonoide, Saponine und Polysaccharide, die in *Ziziphus jujuba* MILL. enthalten sind, zeigen die Saponine den stärksten Effekt neben den Flavonoiden. Die Polysaccharide weisen keine der Wirkungen auf (Jiang et al., 2007). In einer klinischen Studie wurde gezeigt, dass das Extrakt von *Ziziphi spinosae* Semen als effektives und sicheres Mittel bei chronischer Obstipation eingesetzt werden kann (Naftali et al., 2008).

Indikation findet die Droge bei einer gebräuchlichen Dosierung von 9-15 g gegen Schlafstörungen, Angstgefühlen, innere Unruhe, Appetitlosigkeit, verschiedenen Leberleiden und Geschwüren (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005; Wagner und Bauer, 2005*).

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zu *Ziziphi spinosae* Semen

Vor der Herstellung des Methanolextraktes muss die Droge zuerst mit Petrolether entfettet werden. Hierzu werden 2 g gepulverte Droge mit 25 ml Petrolether 2 Stunden unter Rückfluss erhitzt und anschließend filtriert. Der Drogenrückstand wird mit 25 ml Methanol weitere 2 Stunden unter Rückfluss erhitzt und filtriert. Anschließend wird das Lösungsmittel auf ungefähr 1 ml eingeeengt und mit 10 ml Wasser vermengt. Diese Lösung wird dreimal mit jeweils 10 ml Wasser gesättigtem n-Butanol ausgeschüttelt. Um eine optimale Phasentrennung zu erreichen, wurde nach jedem Schüttelvorgang zentrifugiert und das Lösungsmittel am Rotavapor auf ca. 0,5 ml eingeeengt. Anschließend wird auf 2 ml mit Methanol ergänzt und das Extrakt filtriert (Millipore 0,8 µm Filter) (*Wagner und Bauer, 2005*).

Folgende Fließmittelsysteme wurden angewendet:

ZS-1 = Fließmittel 1: n-Butanol, gesättigt mit Wasser

(*Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005*)

ZS-2 = Fließmittel 2: Ethylacetat : Ethanol : Wasser : 25 %iger Ammoniak (70 : 25 : 9 : 1)

(*Wagner und Bauer, 2005*)

ZS-3 = Fließmittel 3: Chloroform : Eisessig : Methanol : Wasser (64 : 32 : 12 : 8)

(*Wagner und Bauer, 2005*)

Das Chromatogramm in Abb. 60 wurde mit der in der Monographie von *Ziziphi spinosae* Samen geforderten mobilen Phase für eine Identitätsprüfung entwickelt. Der Nachteil von mit Wasser gesättigtem n-Butanol als Fließmittel ist allerdings eine sehr langsame Entwicklung. Der Fingerprint der Droge weist vier dominante Zonen auf. Zwei kräftig blau gefärbte bei Rf-Werten von ~0,1 und 0,25, eine gelbe bei Rf ~0,33 und eine graublau gefärbte bei einem Rf-Wert von ~0,66. Die Trennleistung des DC-Systems am Ende der Laufstrecke ist sehr schlecht und eine mögliche Bande, die der Reinsubstanz Betulinsäure entsprechen könnte, aufgrund dessen nicht erkennbar.



Abb.60 DC von *Ziziphi spinosae* Samen mit Betulinsäure (Aufnahmen bei Tageslicht)
Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: n-Butanol mit H₂O gesättigt
Detektion: AS-Reagenz
Bahn 1: 5 µl Betulinsäure
Bahn 2: 10 µl *Ziziphi spinosae* Samen (Extrakt siehe Seite 57)

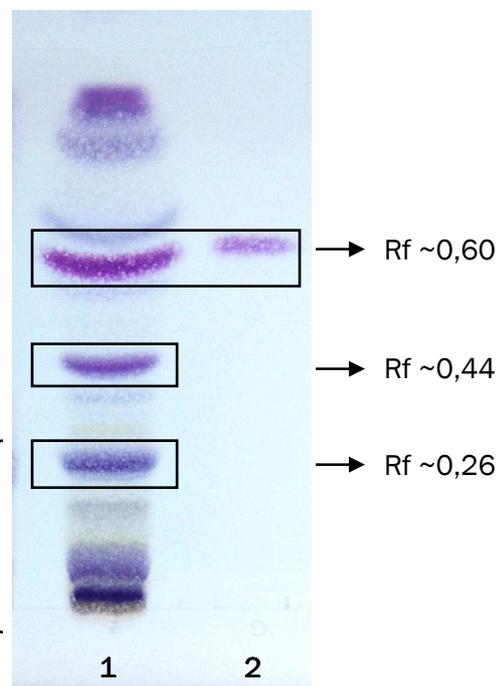


Abb.61 DC von *Ziziphi spinosae* Samen mit Betulinsäure (Aufnahmen bei Tageslicht)
Schicht: HPTLC mit Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: Ethylacetat:Ethanol:H₂O: 25%iger Ammoniak (70:25:9:1)
Detektion: AS-Reagenz
Bahn 1: 10 µl *Ziziphi spinosae* Samen (Extrakt siehe Seite 57)
Bahn 2: 5 µl Betulinsäure

Mit der mobilen Phase Ethylacetat : Ethanol : Wasser : 25 %iger Ammoniak (70 : 25 : 9 : 1) kann die Trennschärfe der Zonen im Chromatogramm gesteigert werden. Deutlich sind zwei dunkelviolette Banden bei Rf-Werten von ~0,26 und ~0,44 und eine Zone bei gleichem Rf-Wert wie Betulinsäure (Rf ~0,6) zu erkennen (Abb. 61).

Auf der Suche nach einem geeigneten Vergleichsextrakt für *Ziziphi spinosae* Semen wurde der Versuch unternommen, die Flavon-C-glykoside Swertisin und Spinosin mittels Dünnschichtchromatographie in der Droge nachzuweisen. Die mobile Phase Chloroform : Eisessig : Methanol : Wasser (64 : 32 : 12 : 8), ein Fließmittel, welches häufig Verwendung findet für die Substanzklassen der Saponine und C-glykoside, wurde eingesetzt. Als Referenz wurden Extrakte von *Polygalae Radix* und *Ononidis Radix* für den Nachweis von Spinosin und *Millefolii Herba* und *Passiflorae Herba* für Swertisin hergestellt. Die Fingerprints der Vergleichsextrakte zeigen zwar Zonen bei gleichen Rf-Werten wie die der Droge (Abb. 62 und 63), aber das Vorkommen der beiden Flavon-C-glykoside scheint ohne Anreicherung der Extrakte zu gering, um sie mit dieser Methode detektieren zu können.

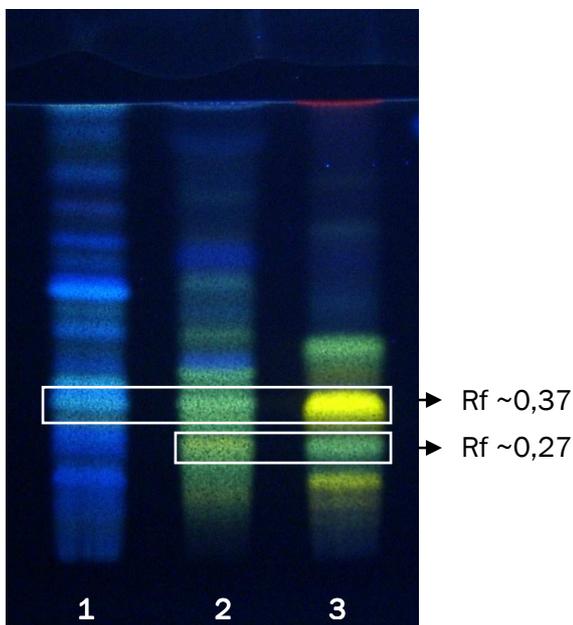


Abb.62 DC von *Ziziphi spinosae* Semen mit *Polygalae Radix* und *Passiflora*

(Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:Eisessig:MeOH:H₂O (64:32:12:8)

Detektion: NAT-PEG

Bahn 1: 5 µl *Polygalae Radix*

Bahn 2: 5 µl *Ziziphi spinosae* Semen (Extrakt siehe Seite 57)

Bahn 3: 5µl *Passiflora*

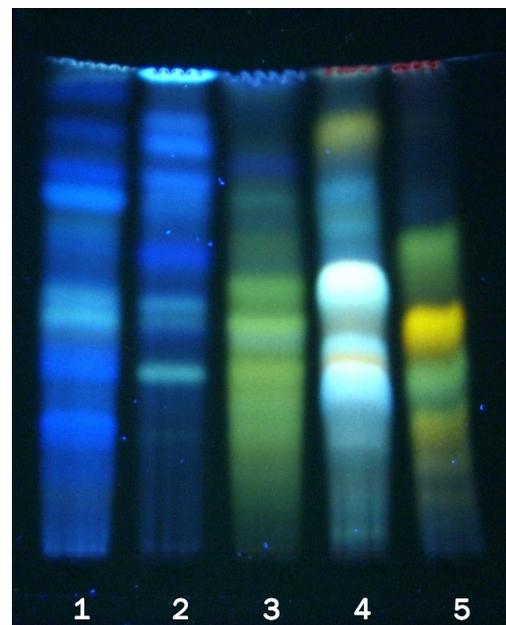


Abb.63 DC von *Ziziphi spinosae* Semen mit *Polygalae Radix*, *Ononidis Radix*, *Millefolii Herba* und *Passiflora*

(Aufnahmen bei UV₃₆₆)

Schicht: Kieselgel 60 F₂₅₄

Mobile Phase: CHCl₃:Eisessig:MeOH:H₂O (64:32:12:8)

Detektion: NAT-PEG

Bahn 1: 5 µl *Polygalae Radix*

Bahn 2: 5 µl *Ononidis Radix*

Bahn 3: 5 µl *Ziziphi spinosae* Semen (Extrakt siehe Seite 57)

Bahn 4: 5 µl *Millefolii Herba*

Bahn 5: 5µl *Passiflora*

Die mobile Phase Ethylacetat : Ethanol : Wasser : 25 %iger Ammoniak (70 : 25 : 9 : 1) erwies sich für eine Identitätsprüfung von *Ziziphi spinosae* Semen als empfehlenswert. Die Trennschärfe dieses Systems ist sehr gut und mit Betulinsäure konnte eine geeignete Referenzsubstanz gefunden werden.

4 Diskussion

Die dünnschichtchromatographische Überprüfung zur Identitätsprüfung in den Monographien der chinesischen Pharmakopöe wird größtenteils ohne entsprechende Referenzen durchgeführt. Lediglich eine Probelösung aus authentifiziertem Vergleichsmaterial wird teilweise gefordert, allerdings ohne weitere Angaben nachvollziehbarer Rf-Werte. Reinsubstanzen der Inhaltsstoffe für chinesische Arzneipflanzen sind größtenteils sehr teuer und nur schwer zu bekommen. Das Ziel dieser Arbeit war für die ausgewählten Drogen ein einfaches, leicht reproduzierbares Trennsystem zu entwickeln, Fingerprints zu charakterisieren und, wenn möglich, Referenzen mit uns bekannten, in der Apotheke gebräuchlichen Drogen zu finden. Bei der Detektion wurde darauf geachtet, mit einfach herzustellenden und gebräuchlichen Sprühreagenzien zu arbeiten - wie z.B. AS-Reagenz - um mit wenigen Chemikalien auszukommen. Die Betrachtung der Chromatogramme unter UV₂₅₄ und UV₃₆₆ lieferte weitere Informationen und kann während dem Betrieb in einer Apotheke schnell durchgeführt werden.

Die Entwicklung eines DC-Systems für *Albiziae Cortex* gestaltete sich am schwierigsten. In der deutschen Übersetzung der chinesischen Pharmakopöe von Stöger (2006) setzt sich die Identitätsprüfung für *Albiziae Cortex* neben der Mikroskopie lediglich aus den beiden Vorproben für Saponindrogen, Schaumbildung und Hämolytische Aktivität zusammen. Das in der chinesischen Pharmakopöe geforderte DC-System war nicht aussagekräftig genug. Viel Zeit wurde für die Extrakterstellung benötigt, um einen auswertbaren Fingerprint der Droge zu erhalten. Leider ist es innerhalb dieser Arbeit nicht möglich gewesen, passende Referenzsubstanzen oder Vergleichsextrakte zu finden. Es konnten 6 verschiedene Extrakte von *Albiziae Cortex* und 6 verschiedene mobile Phasen gezeigt und deren Chromatogramme ausgewertet werden.

Bei *Albiziae Flos* konnte mit dem Trennsystem der chinesischen Pharmakopöe kein auswertbares Chromatogramm erstellt werden. Ein besseres Ergebnis wurde mit einem für Flavonoide gebräuchlichen Fließmittel erzielt. Mit den Referenzsubstanzen Quercitrin und Isoquercitrin konnte der Fingerprint näher charakterisiert werden. Der Versuch, einen aussagekräftigen Vergleich mit einem Vergleichsextrakt westlicher Arzneipflanzen (*Betulae Folium*, *Sambuci Flos*, *Myrtilli Herba*, *Hyperici Herba*) zu entwickeln, gelang jedoch nicht.

Das DC-System der Identitätsprüfung der Monographie von *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* in der chinesischen Pharmakopöe und jenes in der Publikation von Wagner und Bauer (1999) lieferten keine zufriedenstellenden Chromatogramme. Ein Fließmittel,

welche oft für Cumarinaglyka eingesetzt wird, brachte hier das beste Ergebnis und mit einem Methanolextrakt aus *Angelicae Radix* wurde ein Vergleichsextrakt gefunden, bei dem gleich vier Banden die gleichen Rf-Werte wie die des Fingerprints der Droge aufweisen.

Im Vergleich zu den anderen Drogen wird über *Coptidis Rhizoma* in der Literatur am ausführlichsten berichtet. Das DC-System der Identitätsprüfung der chinesischen Pharmakopöe ist einfach zu reproduzieren und erzielt einen gut auswertbaren Fingerprint der Droge. Die Verwendung eines Doppeltroges für die Entwicklung - wie in der Publikation von *Wagner und Bauer (2004)* aufgezeigt - vereinfacht zusätzlich die Methode des Arzneibuchs und ist daher weiter zu empfehlen. Auch Referenzextrakte sind bei fehlenden Reinsubstanzen in einem Apothekenbetrieb leicht zu finden, ob *Chelidonii Herba*, *Hydrastidis Radix* oder *Berberis Cortex*, jede dieser Drogen führt zu einem zufriedenstellenden Vergleich.

Bei *Forsythiae Fructus* zeigt das in der Monographie der *Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2005)* geforderte Fließmittelsystem der Identitätsprüfung zwar einen auswertbaren Fingerprint der Droge auf, aber die Trennleistung der einzelnen Zonen ist nicht ausreichend. Getestet wurden weitere Fließmittelsysteme, die hier nur kurz erwähnt seien: Chloroform : Aceton : Ameisensäure (75 : 16,5 : 8,5), ein Fließmittel gebräuchlich für Flavolignane (*Wagner und Blatt, 1996*), Chloroform : Methanol : Wasser (65 : 35 : 10) und Butanol : Ethanol : Wasser (15 : 3 : 2) (*Wang und Chengsong, 1982*). Mit keinem konnte ein aussagekräftiges Ergebnis entwickelt werden. Sie sind für eine Identitätsprüfung von *Forsythiae Fructus* nicht geeignet. Die mobile Phase Toluol : Ethylacetat (70 : 30) (*Wagner und Bauer, 2005*) ist vergleichbar mit Chloroform : Methanol (90 : 10) (*Wagner und Bauer, 2005*) und wurde daher nicht extra erwähnt. Eine Laufstrecke von 8 cm ist für die Entwicklung ausreichend, eine bessere Auftrennung der Zonen erreicht man allerdings mit einer Laufstrecke von 18 cm, man muss aber mit einem großen Verlust der Trennschärfe rechnen. Ein verwendetes Vergleichsextrakt von *Arnicae Flos* bietet eine erste Hilfestellung bei der Charakterisierung des Fingerprints der Droge, stellt aber noch keine optimale Referenz dar. Findet die Entwicklung des Chromatogramms mit einem für Flavonoide geeigneten Fließmittel statt, kann Rutin als Vergleichssubstanz genutzt werden.

Im Fall von *Gastrodiae Rhizoma* konnte die Herstellung des Probenextraktes im Vergleich zur Monographie der chinesischen Pharmakopöe verkürzt und vereinfacht werden. Eine 30 min lange Behandlung im Ultraschallbad wurde durch 15 min Erhitzen unter Rückfluss ersetzt. Das DC-System konnte optimiert werden und ist so einfach und schnell reproduzierbar. Eine Laufstrecke von 18 cm ist nicht empfehlenswert, da die

Farbintensität der einzelnen Zonen stark nachlässt. Mit *Cinnamomi Cortex* konnte ein optimales Referenzextrakt gefunden werden, welches bei einer Charakterisierung des Fingerprints von *Gastrodiae Rhizoma* hilft.

Die Beschaffung von Reinsubstanzen der in *Nelumbinis Plumula* enthaltenen Alkaloide ist sehr teuer. Daher kamen keine zur Anwendung, da auch ihre Verwendung in der Apotheke als nicht praxisorientiert erscheint. Die Entwicklung eines Chromatogramms mit einem für Flavonoide häufig verwendetem Fließmittel erwies sich als empfehlenswert. Laut *Bensky et al. (2004)* stellt Hyperosid einen Inhaltsstoff von *Nelumbinis Plumula* dar, jedoch ist keine Zone im Fingerprint der Droge bei gleichem Rf-Wert wie die der Reinsubstanz zu erkennen. Die Vermutung liegt nahe, dass Hyperosid zumindest in dieser Probe von *Nelumbinis Plumula* zu gering oder nicht vorhanden war. Generell ist die Detektion der Flavonoide jener der Alkaloide vorzuziehen und ergibt einen charakteristischen Fingerprint.

Bei *Polygoni multiflori Caulis* wurde die Herstellung des Extraktes für die Dünnschichtchromatographie im Vergleich zur Pharmakopöe vereinfacht, da 15 min Erhitzen unter Rückfluss für eine ausreichende Extraktion genügen. Weitere 45 min und ein anschließendes Einengen konnten so eingespart werden. Mit *Rhei rhapontici Radix* konnte ein optimales Vergleichsextrakt gefunden werden und mit Hilfe verschiedener Fließmittelsysteme ist eine Auftrennung im niedrigen und hohen Rf-Bereich möglich. Die im Arzneibuch geforderte Anwendung einer aufwendigen Zweifachentwicklung kann mit Hilfe des Fließmittels Toluol : Ethanol (3 : 1) umgangen werden. Das DC-System wurde dadurch in der Durchführung deutlich vereinfacht.

Für *Tribuli Fructus* konnte kein ideales Vergleichsextrakt einer anderen Saponindroge gefunden werden. Eine nähere Charakterisierung der Steroidsaponine kann mit *Sarsaparillae Radix* erfolgen. Über die beiden Alkaloide Harman und Harmin, die in den Früchten von *Tribulus terrestris L.* enthalten sein sollen, wurden unterschiedliche Angaben in der Literatur gefunden. Laut *Bensky et al. (2004)* enthält die Droge nur Harman, *Borkowski und Lutomski (1961)* wies vermutlich chromatographisch Harman im Kraut und Harmin im Samen der Pflanze nach und *Huang (1999)* gibt wiederum beide Alkaloide als Inhaltsstoffe der Früchte an. Die Probe von *Tribuli Fructus*, die analysiert wurde, enthielt, bezugnehmend auf die entwickelten DCs, mit großer Wahrscheinlichkeit nur Harman. Ein für Saponine gebräuchliches Fließmittel ist jenem für Alkaloide vorzuziehen und bietet mehr Informationen über das Inhaltsstoffmuster der Droge.

Bei *Uncariae Ramulus cum Uncis* konnte kein optimales Vergleichsextrakt einer anderen Droge gefunden werden. Das in der Pharmakopöe beschriebene DC-System zeigt die in der Droge enthaltenen Alkaloide. Durch das Auftragen der Referenzsubstanz Harman war

zu zeigen, dass Harman im Extrakt der Droge keine Hauptkomponente darstellt, da keine Bande bei gleichem Rf-Wert im Fingerprint sichtbar war. Laut *Bensky et al. (2004)* würde es sich bei der verwendeten Probe von *Uncariae Ramulus cum Uncis* um *Uncaria rhynchophylla* handeln, da kein Harman nachgewiesen werden konnte. Mit dem Fließmittel Chloroform : Aceton : konz. Ameisensäure (75 : 16,5 : 8,5) können die in der Droge enthaltenen Triterpene detektiert werden. Dieses System stellt eine gute Alternative zu Chloroform : Methanol (90 : 10) dar.

Das in der Monographie von *Ziziphi spinosae Semen* geforderte Fließmittel für eine Identitätsprüfung der Droge brachte kein zufriedenstellendes Ergebnis. Die Reproduzierbarkeit eines in der Publikation von *Wagner und Bauer (2005)* vorgestellten DC-Systems konnte bestätigt werden. Als Referenz diente Betulinsäure, da kein optimales Vergleichsextrakt einer anderen Saponindroge gefunden werden konnte. Der Versuch, Spinosin und Swertisin nachzuweisen, ist nicht gelungen. Die beiden Verbindungen sind in zu geringen Mengen in der Droge enthalten, um die Zonen mit Hilfe von Referenzextrakten von *Polygalae Radix* und *Ononidis Radix* für Spinosin und *Passiflorae Herba* für Swertisin im Fingerprint der Droge nachweisen zu können. *Passiflorae Herba* zeigt Zonen mit gleichen Rf-Werten wie *Ziziphi spinosae Semen*, die sich aber für eine nähere Charakterisierung aufgrund ihrer unterschiedlichen Färbung nicht eignen.

5 Zusammenfassung

Die Traditionelle chinesische Medizin gewinnt in Österreich als Komplementärmedizin immer mehr an Bedeutung. Um Verfälschungen unter den Drogen ausschließen zu können, müssen die aus China importierten Arzneipflanzen einer Identitätsprüfung in der Apotheke unterzogen werden. In dieser Arbeit werden 11 verschiedene Drogen näher vorgestellt. Nach einer umfangreichen Literaturrecherche erfolgte eine Überprüfung der Drogen mit bekannten Trennsystemen der Dünnschichtchromatographie.

Für *Albiziae Cortex*, *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* und *Tribuli Fructus* konnten neue Fließmittel entwickelt werden. Die Reproduzierbarkeit der Identitätsprüfung in der Monographie der Pharmakopöe konnte für *Coptidis Rhizoma* und *Gastrodia Rhizoma* bestätigt werden. Für *Forsythiae Fructus*, *Uncariae Ramulus cum Uncis* und *Ziziphi spinosae Semen* wurden DC-Systeme aus der Literatur erprobt. Neue Referenzen zu bekannten Fließmittelsystemen wurden für *Nelumbinis Plumula* und *Polygoni multiflori Caulis* getestet. Aufgrund teilweise ähnlicher Inhaltsstoffe konnten Vorschläge für Vergleichsextrakte verschiedener europäischer Arzneipflanzen für *Atractylodis macrocephalae Rhizoma*, *Coptidis Rhizoma*, *Forsythiae Fructus*, *Gastrodia Rhizoma*, *Nelumbinis Plumula* und *Polygoni multiflori Caulis* entwickelt werden, um so die Verwendung von teuren Reinsubstanzen in einem Apothekenbetrieb umgehen zu können. Für *Albiziae Flos* bzw. *Cortex*, *Tribuli Fructus*, *Uncariae Ramulus cum Uncis* und *Ziziphi spinosae Semen* gelang es, nicht ideale Vergleichsextrakte von Arzneipflanzen zu finden, die angegebenen DC-Systeme zeigen allerdings signifikante Fingerprints auf und machen so eine Charakterisierung und Identifizierung der Drogen möglich.

Summary

Traditional Chinese medicine is becoming more and more important as complementary medicine in Austria. In order to guarantee the quality of medicinal plants, pharmacists have to have excellent identification methods for the approval of plants imported from China. This paper introduces 11 different drugs, literature about preparation and pharmacologic effects has been summarized and established TLC methods have been investigated for their appropriateness.

New mobile phases were found for *Albiziae Cortex*, *Atractylodis macrocephalae Rhizoma* and *Tribuli Fructus*. The reproducibility of the methods of the *Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2005)* was confirmed for *Coptidis Rhizoma* and *Gastrodia Rhizoma*. Referring to literature new mobile phases of *Forsythiae Fructus*, *Uncariae Ramulus cum Uncis* and *Ziziphi spinosae Semen* have been demonstrated. New reference extracts for *Nelumbinis Plumula* and *Polygoni multiflori Caulis* have been tested. New reference extracts of different drugs have been developed for *Atractylodis macrocephalae Rhizoma*, *Coptidis Rhizoma*, *Forsythiae Fructus*, *Gastrodia Rhizoma*, *Nelumbinis Plumula* and *Polygoni multiflori Caulis*. No significant reference extracts of drugs for *Albiziae Flos*, *Albiziae Cortex*, *Tribuli Fructus*, *Uncariae Ramulus cum Uncis* and *Ziziphi spinosae Semen* were found. Certainly the tested TLC systems show presentable fingerprints and allow a characterization and identification of these drugs.

6 Literatur

Al-Bayati F.A., Al-Mola H.F. (2008), Antibacterial and antifungal activities of different parts of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq, J. Zhejiang Univ. Sci. B. 9, 154-159.

Bensky D., Clavey S., Stöger E. (2004), *Materia Medica*, 3rd Edition, Eastland Press, Inc., Seattle, USA.

Borkowski B., Lutomski J. (1961), Chromatographic examination of the alkaloid fraction from the herb and seeds of *Tribulus terrestris*, Chem. Abstr. 55, 25159.

Chang T.H., Li H.T., Li Y., Wang Y. F., Wu L., Li T.H. (1978) Hypotensive effect of *Uncaria rhynchophylla* total alkaloids and rhynchophyllin, Natl. Med. J. China 58, 408-411.

Choi J.H., Lee D.U (2006), A New Citryl Glycoside from *Gastrodia elata* and Its Inhibitory Activity an GABA Tranaminase, Chem. Pharm. Bull. 54, 1720-1721.

Deng S.X., Mo Y.T. (1979), Pharmacological studies on *Gastrodia elata* BL., Acta Bot Yunnan 1, 66-73.

Fattorusso R., Frutos S., Sun X., Sucher N.J., Pellecchia M. (2006), Traditional Chinese medicines with caspase-inhibitory activity, Phytomed. 13, 16-22.

Gauthaman K., Ganesan A.P. (2008), The hormonal effects of *Tribulus terrestris* and its role in the management of male erectile dysfunction, Phytomed., 15, 44-54.

Hempfen C.H., Fischer T. (2001), Leitfaden chinesische Phytotherapie, Urban & Fischer Verlag, München und Jena.

Huang K.C. (1999), *The Pharmacology of Chinese Herbs*, CRC Press LLC, Boca Raton, London, New York, Washington D.C.

Hung T.M., Na M., Min B.S., Zhang X., Lee I., Ngoc T.M., Thuong P.T., Sok D.E., Bae K. (2007), Protective effect of magnoflorine isolated from *Coptidis Rhizoma* on Cu²⁺-induced oxidation of human low density lipoprotein, Planta Med., 73, 1281-1284.

Jiang J.G., Huang X.J., Chen J., Lin Q.S. (2007), Comparison of the sedative and hypnotic effects of flavonoids, saponins and polysaccharides extracted from Semen *Ziziphus jujube*, Nat. Prod. Res. 21, 310-320.

Jung H.A., Yoon N.Y., Bae H.J., Min B.S., Choi J.S. (2008), Inhibitory activities of the alkaloids from *Coptidis Rhizoma* against aldose reductase, Arch. Pharm. Res. 31, 1405-1412.

- Jung M. J., Kang S.S., Jung H.A., Kim G.J., Choi J.S. (2004), Isolation of Flavonoids and a Cerebroside from the Stem Bark of *Albizzia julibrissin*, Arch. Pharm. Res. Vol 27, No 6, 593-599.
- Jung M. J., Kang S.S., Jung Y.J., Choi J.S. (2004), Phenolic Glycosides from the Stem Bark of *Albizzia julibrissin*, Chem. Pharm. Bull. 52, 1501-1503.
- Kang T.H., Jeong S.J., Kim N.Y., Higuchi R., Kim Y.C. (2000), Sedative activity of two flavonol glycosides isolated from the flowers of *Albizzia julibrissin* DURAZZ., J. Ethnopharmacol. 71, 321-323.
- Kavitha A.V., Jagadeesan G. (2006), Role of *Tribulus terrestris* (LINN.) (Zygophyllacea) against mercuric chloride induced nephrotoxicity in mice, J. Environ Biol., 27, 397-400.
- Keys J.D. (1976), Chinese Herbs, Charles E. Tuttle Company, Rutland-Vermont, Tokyo-Japan, 142-143.
- Liu G.X., Huang X.N., Peng Y. (1983), Hemodynamic effects of the total alkaloids of *Uncaria macrophylla* in anesthetized dogs, Acta Pharmacol. Sin. 4, 114-116.
- Ma G.J., Wang L.F., Gao Y.Z. (1982), Preliminary comparison of the constituents of *Gastrodia elata*, cultivated and wild, from Zhaotong, Yunnan, China, Chin. J. Pharm. Anal. 2, 280-283.
- Macko E., Douglas B., Weisbach J.A., Waltz D.T. (1972), Pharmacology of nuciferine and related aporphines, Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 197, 261-273.
- Martin J., Stöger E. (2008), Praxisleitfaden TCM-Drogen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 135-141.
- Mei M.Z., Zhuang Q.Q., Liu G.Z., Xie W.J. (1979), Rapid screening method for hypocholesterolemic agents, Acta. Pharm. Sin. 14, 8-11.
- Naftali T., Feingelernt H., Lesin Y., Rauchwarger A., Konikoff F.M. (2008), *Ziziphus jujube* extract for the treatment of chronic idiopathic constipation, a controlled clinical trial, Digestion 78, 224-228.
- Odani S., Ono T., Ikenaka T. (1980), The reactive site amino acid sequences of silktree (*Albizzia julibrissin*) seed proteinase inhibitors, J. Biochem. (Tokyo) 88, 297-301.
- Paulus E., Yu-he D. (1987), Handbuch der traditionellen chinesischen Heilpflanzen, Karl F. Haug Verlag, Heidelberg.

Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2005), Peoples Medical Publishing House, Beijing, English ed., Vol. 1.

Reichling J., Horz K.-H. (2007), Polygonum, in Blaschek W., Ebel S., Hackenthal E., Holzgrabe U., Keller K., Reichling J., Schulz V. (Hrsg.), Hagers Enzyklopädie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, Band 16, 1043.

Ruile P., Jintang X. (1998), Analysis gastrodin in various types of *Gastrodia elata* Bl., Zhongguo Zhongyao Zazhi 23, 336-337.

Sha Z.F., Sun W.J. (1985), HPLC determination of gastrodin an p-hydroxybenzyl alcohol in *Gastrodia elata*, Chin. J. Pharm. Anal. 5, 218-221.

Stöger E. A., Friedl F. (2006), Arzneibuch der chinesischen Medizin, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart.

Wagner H., Bauer R. (1999), Chinese Drug Monographs and Analysis – *Rhizoma Atractylodis macrocephalae* – *Baizhu*, Vol. 2, No. 10, Verlag für ganzheitliche Medizin Dr. Erich Würh GmbH, Kötzing, Deutschland.

Wagner H., Bauer R. (2004), Chinese Drug Monographs and Analysis – *Rhizoma Coptidis* – *Huanglian*, Vol. 5, No. 28, Verlag für ganzheitliche Medizin Dr. Erich Würh GmbH, Kötzing, Deutschland.

Wagner H., Bauer R. (2005), Chinese Drug Monographs and Analysis – *Fructus Forsythiae* – *Lianqiao*, Vol. 6, No. 35, Verlag für ganzheitliche Medizin Dr. Erich Würh GmbH, Kötzing, Deutschland.

Wagner H., Bauer R. (2004), Chinese Drug Monographs and Analysis – *Rhizoma Gastrodiae* – *Tianma*, Vol. 5, No. 23, Verlag für ganzheitliche Medizin Dr. Erich Würh Kötzing, GmbH, Deutschland.

Wagner H., Bauer R. (2006), Chinese Drug Monographs and Analysis – *Radix Polygoni multiflori* – *Heshouwu*, Vol. 7, No. 40, Verlag für ganzheitliche Medizin Dr. Erich Würh Kötzing, GmbH, Deutschland.

Wagner H., Bauer R. (2005), Chinese Drug Monographs and Analysis – *Ramulus Uncaria cum Uncis* – *Gouteng*, Vol. 6, No. 32, Verlag für ganzheitliche Medizin Dr. Erich Würh Kötzing, GmbH, Deutschland.

Wagner H., Bauer R. (2005), Chinese Drug Monographs and Analysis – *Semen Ziziphi spinosae* – *Suanzaoren*, Vol. 6, No. 30, Verlag für ganzheitliche Medizin Dr. Erich Würh Kötzing, GmbH, Deutschland.

Wagner H., Bladt S. (1996), *Plant Drug Analysis*, Second Edition, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

Wagner H., Bladt S., Zgainski E.M. (1983), *Drogenanalyse-Dünnschichtchromatographische Analyse von Arzneidrogen*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York.

Wang, Chengsong (1982), Chemical identification of some traditional Chinese drugs containing saponins, *Zhongyao Tongbao* 7, 13-14.

Weiwei S., Yexing L., Zhong W. (2004), Process of establishing the standard TLC fingerprint of *Atractylodes macrocephala*, *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu*, CN 1529162.

Won H.J., Han C.H., Kim Y.H., Kwon H.J., Kim B.W., Choi J.S., Kim K.-H. (2006), Induction of apoptosis in human acute leukemia Jurkat T cells by *Albizia julibrissin* extract, *J. Ethnopharmacol.* 106, 383-389.

Woo W.S., Shin K.H., Kang S.S. (1980), Chemistry and pharmacology of flavones-C-glycoside from *Zizyphus* seeds, Seoul National University Press, Seoul, 33-40.

Yan L., Wenwen C., Jun W., Xia Z. (2006), Selection of TLC developer for determining gastrodin content in *Gastrodia elata* granules, *Huaxi Yaoxue Zazhi* 21, 99-100.

Zhang Z., Zhuang Q.Q., Mei M.Z. (1983), Effects of some drugs on plasma and liver lipoprotein lipase activities and plasma cholesterol levels in rats, *Acta. Pharm. Sin.* 18, 468-471.

Zheng L., Zheng J., Zhao Y., Wang B., Wu L., Liang H. (2006), Three anti-tumor saponins from *Albizia julibrissin*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16.

Zhu M., Phillipson J.D., Yu H., Greengrass P.M., Norman N.G. (1997), Application of Radioligand-Receptor Binding Assays in the Search for Active Principles of the Traditional Chinese Medicine 'Gouteng', *Phytother. Res.* 11, 231-236.

Curriculum vitae

ISABELLA SPRINZL

Persönliche Informationen:

Staatsangehörigkeit: Österreich

Geburtstag: 15. Juni 1984

Geburtsort: Wien

Ausbildung:

1990 - 1994 Volksschule Sacré Cœur Wien/Österreich

1994 - 2002 BG3 Kundmanngasse Wien/Österreich

Okt. 2002 Universität Wien
Studium der Pharmazie Wien/Österreich

Berufliche Tätigkeiten:

2002-2004 Herba-Chemosan Wien/Österreich

2005-2010 S.Med Generika Wien/Österreich
Marketing, Qualitätsmanagement

Weiterbildung:

Sept./Okt. 2008 *Qualitätsmanagementsysteme für Pharma-Unternehmen*

Mai 2009 *Basics: Pharma-Marketing;*

Sprachkenntnisse:

Englisch