Fachbereich
Chemie

Untersuchungen zur Zusammensetzung der flüchtigen Bestandteile von Ginseng- und Schinus-Arten

Isolierung und Strukturaufklärung von Sesquiterpenkohlenwasserstoffen

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Rita Richter

Hamburg 2008

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Organische Chemie der Universität in der Zeit von August 2001 bis März 2007 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. W. A. König durchgeführt und nach dessen Tod (2004) unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. h. c. W. Francke fertig gestellt werden.

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h. c. Wittko Francke
   Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg
2. Gutachter: Priv. Doz. Dr. Wulf Schultze
   Institut für Pharmazie, Abt. Pharmazeutische Biologie und Mikrobiologie

1. Prüfer Prof. Dr. Dr. h. c. Wittko Francke
   Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg
2. Prüfer Frau Prof. Dr. Elisabeth Stahl-Biskup
   Institut für Pharmazie, Abt. Pharmazeutische Biologie und Mikrobiologie
3. Prüfer Dr. Albrecht Sakmann
   Institut für Pharmazie, Abt. Pharmazeutische Technologie

Tag der Disputation: 28. März 2008

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG 1

2 ALLGEMEINE TECHNIKEN ZUR TRENNUNG UND ISOLIERUNG FLÜCHTIGER VERBINDUNGEN 3

2.1 Wasserdampfdestillation – Gewinnung des ätherischen Öls 3
2.2 Dünnschichtchromatographie 4
2.3 Gaschromatographie 6
2.4 Enantiomerenanalytik 8

3 *PANAX GINSENG* C.A. MEYER 10

3.1 Systematische Stellung und Gliederung der Gattung Panax 10
3.2 Geschichte und medizinische Anwendung 11
3.3 Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen Inhaltsstoffe 12
3.3.1 Ginsenoside 13
3.3.2 Polyacetylene 17
3.3.3 Ätherisches Öl (Ginseng) 19
3.4 Gaschromatographische Untersuchungen verschiedener Ginseng Proben 22
3.4.1 Blattöl von Panax ginseng aus deutschem Anbau 22
3.4.2 Frische Ginseng-Wurzel 25
3.4.3 Weißer Ginseng 28
3.4.4 Roter Ginseng 31
3.4.5 Amerikanischer Ginseng (Panax quinquefolium L.) 34
3.4.6 Enantiomerentrennung von Panax ginseng-Inhaltsstoffen 38
3.5 Isolierung neuer Inhaltsstoffe von *Panax ginseng* 40
3.6 Strukturaufklärung 42
3.6.1 Panaxen 42
3.6.2 Panaginsen 51
3.6.3 Ginsinsen 58

4 „SIBIRISCHER GINSENG" – *ELEUTHEROCOCCUS SENTICOSUS* MAXIM. 66

4.1 Inhaltsstoffe der Wurzel (Literatur) 67
4.2 Gaschromatographische Untersuchungen 70
4.2.1 Vergleichende gaschromatographische Untersuchung verschiedener Handelspräparate 70
4.2.2 Trennung der Enantiomere einiger Mono- und Sesquiterpene aus E. senticosus 74

5 *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI 76

5.1 Systematische Stellung und Gliederung 77
5.2 Botanische Beschreibung und Abgrenzung zu anderen Schinus-Arten 78
5.3 Volkstümliche Anwendung und Bedeutung 82

5.4 Gaschromatographische Untersuchungen 83
5.4.1 Vergleichende gaschromatographische Untersuchungen 85
5.4.2 Trennung der Enantiomere einiger Mono- und Sesquiterpene aus Schinus terebinthifolius. 89
5.5 Isolierung neuer Kohlenwasserstoffe aus *Schinus terebinthifolius* 97
5.6 Strukturaufklärung 102
5.6.1 Terebanen 102
5.6.2 Teredenen 108
5.6.3 Terebinthen 114

6 ZUSAMMENFASSUNG 122

7 SUMMARY 125

8 EXPERIMENTELLER TEIL 128

8.1 Analytische Gaschromatographie 128
8.2 Präparative Gaschromatographie 130
8.3 Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) 131
8.4 Gewinnung des ätherischen Öls 131
8.5 Soxhlet-Extraktion 131
8.6 Säulenchromatographische Vortrennung 132
8.7 Dünnschichtchromatographie (DC) 132
8.7.1 Ausgewählte Fließmittel: 133
8.7.2 Nachweisreagenzien: 133
8.8 NMR-Spektroskopie 134
8.9 Pflanzenmaterial 135
8.9.1 Panax ginseng 135
8.9.2 Eleutherococcus senticosus 135
8.9.3 Schinus terebinthifolius, S. molle 135
8.10 Charakterisierung der isolierten Substanzen 136
8.10.1 Panaxen (A) 136
8.10.2 Panaginsen (B) 136
8.10.3 Ginsinsen (C) 137
8.10.4 Terebanen (105) 138
8.10.5 Teredenen (106) 138
8.10.6 Terebinthen (107) 139

9 ANHANG 140

9.1 Gefahrstoffe 140
9.2 Verzeichnis der Abkürzungen 141
9.3 Literaturverzeichnis 143

1 Einleitung und Zielsetzung

Menschen nutzen seit alters her Pflanzen zur Ernährung und als Arzneidrogen. Durch ihre unterschiedlichen Inhaltsstoffe (sekundäre Pflanzenstoffe, Sekundärmetabolite) können sie Krankheiten heilen, Leiden bessern, geschwächte Körperfunktionen unterstützen und das allgemeine Wohlbefinden fördern.

Während es vor dem 2. Arzneimittelgesetz (1978) möglich war, pflanzliche Arzneimittel auf den Markt zu bringen, in dem man sie lediglich registrieren ließ, müssen heute nach der 14. AMG-Novelle Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit der Präparate nachgewiesen werden. Obwohl es für traditionelle pflanzliche Arzneimittel hinsichtlich des Wirksamkeitsnachweises (z. B. durch die seit Jahrhunderten überlieferte Wirkung) Erleichterungen für das Inverkehrbringen gibt, muß der pharmazeutische Unternehmer eidesstattlich versichern, dass das Arzneimittel nach den Arzneimittelprüfrichtlinien geprüft worden ist und die erforderliche Qualität aufweist. Dies kann bedeuten, dass Fingerprints des Inhaltsstoffspektrums ausreichen oder der Nachweis definierter Inhaltsstoffe zu führen ist[1]. Dabei werden Inhaltsstoffe, die durch Auspressen oder Extraktion mit unterschiedlich polaren Lösemitteln gewonnen werden, in verschiedene chemische Gruppen unterteilt. Man isoliert die Einzelsubstanzen mit dem Ziel, pharmazeutisch relevante Gruppen charakteristischen Leitsubstanzen oder Substanzen mit Co-Effekten zuzuordnen. Die Strukturaufklärung der Begleitstoffe erfordert weitere Charakterisierungen. Es gilt z.B., das allergene oder toxische Potenzial der Pflanzen zu untersuchen.

Zahlreichen Einflüssen ist die Arzneipflanze während ihres Wachstums ausgesetzt. Klima und Bodenbeschaffenheit beeinflussen das Spektrum der Sekundärmetabolite sowohl in quantitativer, als auch in qualitativer Hinsicht. Die Erfassung dieser Schwankungen ist zur Sicherung der Qualität essentiell.

Der Vorteil eines zunehmend kontrollierten Anbaus von Pflanzen gegenüber der Wildsammlung besteht in der Sicherung der Identität. Es ist jedoch auch bei kontrolliertem Anbau der Pflanze oft erst nach Jahren des Wachstums (z.B. Ginseng: 4 – 6 Jahre) mit einem wirtschaftlichen Ertrag zu rechnen. Die Gefahren der Verfälschung, des Verschneidens oder Austauschens der Droge durch ähnliche Arzneipflanzen bleiben grundsätzlich bestehen und damit die Notwendigkeit der Prüfung.

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit ist es, einen Beitrag sowohl zur Identifizierung neuer Inhaltsstoffe als auch zur Methodik der Qualitätssicherung traditionell verwendeter Arzneipflanzen zu liefern.

Als Untersuchungsgut dienten Wurzeln aus kontrolliertem Anbau von *Panax ginseng* (Ginseng) gegenüber Handelsware, Wurzeln von *Eleutherococcus senticosus* (Eleutherococcus, Sibirischer Ginseng) unterschiedlicher Herkunft, sowie Blätter und Früchte von *Schinus terebinthifolius* und *Schinus molle* aus verschiedenen Botanischen Gärten in Deutschland sowie eine konzentrierte Sesquiterpenfraktion von *S. terebinthifolius* Früchten aus Frankreich. Durch vergleichende gaschromatographische Untersuchungen der flüchtigen Inhaltsstoffe unter Verwendung konventioneller Trennphasen, Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse chiraler Inhaltsstoffe durch enantioselektive Gaschromatographie sowie die DC-Untersuchung verschiedener Fraktionen nichtflüchtiger, aber bislang als relevant beschriebener Komponenten sollte versucht werden, bestimmte Metabolitengruppen als mögliche Marker zur Qualitätssicherung festzulegen.

2 Allgemeine Techniken zur Trennung und Isolierung flüchtiger Verbindungen

2.1 Wasserdampfdestillation – Gewinnung des ätherischen Öls

Ätherische Öle sind komplexe Gemische flüchtiger lipophiler und flüssiger Stoffe, die meist in Pflanzen gebildet werden

Die Gewinnung aus der Pflanze erfolgt durch physikalische Prozesse. Eine Technik der Gewinnung ist die Wasserdampfdestillation[2] in einer Rücklaufdestillationsapparatur und das Auffangen des Destillates in einer vorgegebenen Menge Lösemittels wie Hexan oder Xylol.

In der Pflanze werden, je nach Lokalisation, die Öldepots in innere (Ölzellen, Ölbehälter) und äußere (Drüsenhaare und Drüsenschuppen) unterschieden[3].

Vor der Wasserdampfdestillation werden die Pflanzenteile zerkleinert, in einen Kolben gegeben und über einen längeren Zeitraum gekocht. Durch diesen über mehrere Stunden währenden Kochprozess besteht die Gefahr, dass einzelne Komponenten des ätherischen Öls sich zersetzen und somit als Artefakte in die Dampfphase übergehen. Die Zersetzung findet zum einen wegen thermischer Labilität statt, zum anderen kann der absinkende pH-Wert auf Grund der im Pflanzenmaterial vorkommenden organischen Säuren bestimmte Inhaltsstoffe hydrolysieren[4]. Um dieses zu vermeiden, eignet sich das Mazerationverfahren oder die Soxhletextraktion mit einem niedrig siedenden Lösemittel wie Pentan. Nachteilig ist hierbei, dass sich auch nichtflüchtige längerkettige lipophile Inhaltsstoffe (z. B. Fettsäuren) lösen, die in einem zweiten Schritt abgetrennt werden müssen.

Typische Komponenten des ätherischen Öls sind Mono- sowie Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe und die entsprechenden oxygenierten Verbindungen wie Alkohole, Aldehyde und Ketone. Auch Diterpenkohlenwasserstoffe und deren Alkohole werden mit Hilfe der Wasserdampfdestillation gut in die Dampfphase überführt. Die Polyine und Fettsäureester sind zunehmend schwerflüchtiger und mit dieser Methode kaum zu erfassen. Außer diesen Stoffen und anderen kurzkettigen Aliphaten lassen sich im ätherischen Öl häufig Phenylpropanoide (Flavonoide und Zimtsäurederivate) nachweisen.

Die Untersuchungen und die Isolierung einzelner Kohlenwasserstoffe des ätherischen Öls ist nur durch einen kombinierten Einsatz verschiedener analytischer Untersuchungsmethoden möglich. Dem vorangestellt ist die Ermittlung der Variabilität von Drogeninhaltsstoffen in den einzelnen Arten.

2.2 Dünnschichtchromatographie

Im Bereich der Analytik ätherischer Öle dient die Dünnschichtchromatographie (DC) als schnelle Methode zur Identitäts- und Reinheitsprüfung. In den nationalen und internationalen Arzneibüchern sind diese Prüfungen als Standardmethoden aufgenommen worden.

Unter Chromatographie versteht man eine physikalisch-chemische Trennmethode, bei der die zu trennenden Komponenten zwischen zwei nur begrenzt miteinander mischbaren Phasen, einer „stationären“ und einer „mobilen“, verteilt werden. Die Trennung der Komponenten erfolgt nach deren physikalischen und chemischen Eigenschaften. Der Prozess des chromatographischen Transportes beruht auf Kapillareffekten. Die mobile Phase (Fliessmittel) bewegt sich aufgrund des Kapillardrucks durch die kapillaren Hohlräume der stationären Phase (Sorbens, meist Kieselgel). Für die Trennung wird die Länge der Trennstrecke vorgegeben, der Trennvorgang wird nach Erreichen der „Front“ unterbrochen. Der Quotient aus der Laufstrecke einer Zielsubstanz und der Laufstrecke des Fliessmittels ist für ein gegebenes Trennsystem konstant und wird als R_f-Wert bezeichnet.

Für die mathematische Erfassung der während der Chromatographie ablaufenden Adsorptions- und Verteilungsprozesse sind zahlreiche Modelle entwickelt worden. Die dynamische Theorie von van Deemter et al.[5], die ursprünglich für die Säulenchromatographie (SC) und Gaschromatographie (GC) entwickelt wurde, ist hier anwendbar. Sie stellt in ihrer vereinfachten Form

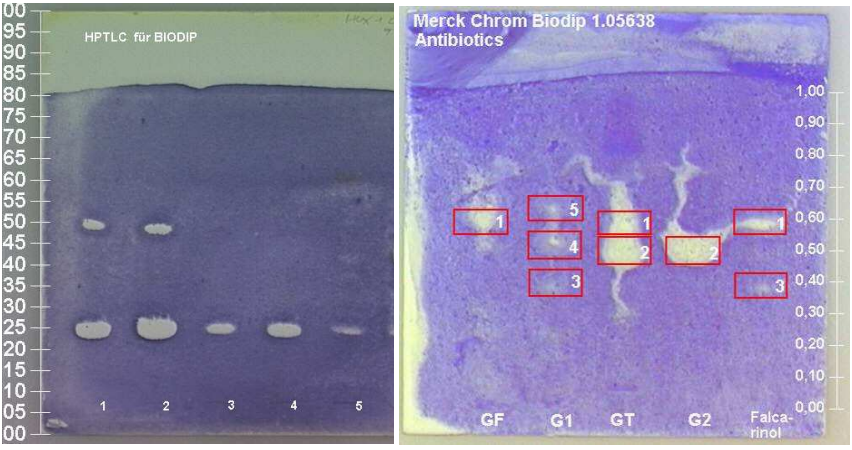
$$\mathbf{H} = A + B/u + C \cdot u$$

H = theoretische Trennstufenhöhe
A = Streudiffusion
B = Diffusion in Längsrichtung der Strecke
C = Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung
u = Strömungsgeschwindigkeit

die Möglichkeit dar, durch die Auswahl optimaler experimenteller Bedingungen – auch für die DC – zu einer Trennung unter reproduzierbaren Bedingungen zu gelangen. Heutzutage gibt es standardisierte Fertigplatten und Entwicklungskammern, was die Qualität und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse optimiert. Durch die Entwicklung eines porösen Kieselgel-Materials einheitlicherer Korn- und Porengröße (HPTLC-Qualität) oder sphärischer Sorbentien (LiChrospher) konnte die Trennschärfe durch die Erniedrigung der

Trennstufenhöhe **H** weiter verbessert werden. Ebenso ließ sich die Selektivität der Trennungen durch die Einführung chemisch modifizierter Sorbentien (RP-18-, NH_2- CN- und chirale Phasen) enorm verbessern.

Üblicherweise werden DC-Chromatogramme eindimensional entwickelt. Die Trennung „kritischer Paare“ gelingt häufig durch die Stufentechnik mit dem gleichen Fließmittel oder einem unterschiedlicher Polarität. Durch Anwendung der zweidimensionalen Entwicklungstechnik (s. **Abb. 3-6**) erfolgt die Auswertung der Chromatogramme über die Diagonale, mit einem gößeren Abstand der Banden zueinander. Quantitative Auswertungen der Chromatogramme sind durch Einsatz von Computer-gesteuerten DC-Scannern und Videogeräten durchführbar. Ein großer Vorteil der DC liegt in der Möglichkeit, die getrennten Komponenten zu derivatisieren. Ebenso ist es möglich, die biologische Aktivität von Substanzen direkt auf der Schicht zu bestimmen. Mit Hilfe des Chrom Biodip® Testkits konnten wir die antibiotische Aktivität von Komponenten aus dem Ginseng-Extrakt in Abb. 2-1 zeigen (Durchführung siehe experimenteller Teil, 8.7.2).



A **B**

Abb. 2-1: Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Hemmhöfen verschiedener Ginseng-Extrakte, Nachweismikroorganismus: *Bacillus subtilis*.

DC-Platte A: Proben:

1 + 2) Ginseng Pentanextr. 5 µl, bzw 8 µl
3 + 4) Ginseng Dichlormethanextr. 5 µl, bzw 8 µl
5) Möhrenextrakt 5 µl
Fließmittel: Hexan + Essigester [8+2] KS

DC-Platte B: Proben:

GF: Ginseng, frisch, GT: Ginseng, getrocknet
G1, G2: isolierte Einzelkomponenten aus Ginseng
Falcarinol-Vergleichslösung

2.3 Gaschromatographie

Die Gaschromatographie (GC) ist ein Trennverfahren mit adsorptions- oder verteilungschromatographischen Eigenschaften. Die Verwendung dieser Methode eignet sich zur Ermittlung flüchtiger Komponenten komplexer ätherischer Öle. Als stationäre Phasen dienen heute Trennflüssigkeiten in Kapillarsäulen, deren Eigenschaften von polar bis unpolar reichen. Bedingt durch die höhere Strömungsgeschwindigkeit (u) zeigt sie gegenüber der Dünnschichtchromatographie, eine höhere Anzahl an Trennstufen (H).

Wichtige Parameter für die chromatographische Trennungen sind:

- Kovats Index (KI) oder linearer Retentionsindex (RI)

Um Ergebnisse von GC-Untersuchungen an unterschiedlichen Geräten vergleichen zu können, entwickelte Kovats einen Retentionsindex (KI). Dieser wird hauptsächlich bei Arbeiten bei konstanter Temperatur angewendet. Als Standardsubstanzen dienen homologe Reihen von n-Alkanen. Es konnte so ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der C-Atome der n-Alkane und dem Logarithmus ihrer Nettoretentionszeit (t_s) hergestellt werden. Der Retentionsindex (I) ist somit eine von den apparativen Gegebenheiten unabhängige Größe. Definitionsgemäß[6] wird die Anzahl der Kohlenstoffatome mit 100 multipliziert. So kann die relative Lage eines Substanzpeaks ($_x$) zwischen den Peaks für benachbarte n-Alkane bestimmt werden.

$$KI = 100 \cdot z + 100 \frac{\log (t_s)_x - \log (t_s)_z}{\log (t_s)_{z+1} - \log (t_s)_z}$$

$(t_s)_x$ = Nettoretentionszeit der zu bestimmenden Komponente (x)
$(t_s)_z$ = Nettoretentionszeit des kürzerkettigen Kohlenwasserstoffs
$(t_s)_{z+1}$ = Nettoretentionszeit des längerkettigen n-Kohlenwasserstoffs
z = Anzahl der C-Atome des kürzerkettigen n-Kohlenwasserstoffs

Der lineare Retentionindex (RI) findet bei Arbeiten mit Temperaturprogrammen mit konstanter Aufheizrate Anwendung. Durch die lineare Abhängigkeit der Anzahl der C-Atome und ihrer Retentionszeit, kann die Bruttoretentionszeit ($t_{(m+s)}$) in die Formel eingesetzt werden.

$$RI = 100 \cdot z + 100 \frac{(t_{m+s})_x - (t_{m+s})_z}{(t_{m+s})_{z+1} - (t_{m+s})_z}$$

- Die Auflösung $R = \frac{\text{Retentionszeitdifferenz zweier Substanzen}}{\text{Summe ihrer Halbwertsbreiten}}$

Die Auflösung *R* beschreibt die Güte der Trennung zweier benachbarter Peaks.

R = 1,0 bedeutet 98 % Auflösung,

R = 1,25 bedeutet 99,5 % Auflösung

Sie ergibt sich aus dem Quotienten der Differenz der Retentionszeiten (t_R) der beiden Peaks und der Differenz der Halbwertsbreiten (*W*) der beiden Peaks.

- Die relative Flüchtigkeit (relative Retention) einer Substanz

$$\alpha = K_2 / K_1,$$

K_1 Verteilungskoeffizient der Substanz, die zuerst eluiert
K_2 Verteilungskoeffizient der Substanz, die länger auf der Säule verweilt

Der Verteilungskoeffizient K gibt das Verhältnis der Konzentration einer Komponente in der Trennflüssigkeit zu der Konzentration der gleichen Komponente im Trägergas wieder.

- Der α-Wert = $\frac{\text{Retentionszeit der Substanz, die länger auf der Säule verweilt}}{\text{Retentionszeit der Subsanz, die kürzer auf der Säule verweilt}}$

Der α-Wert liefert durch die Verwendung der abgelesenen Retentionszeiten aus den Chromatogrammen eine einfache und schnelle Information über die Trennung zweier Substanzen.

2.4 Enantiomerenanalytik

Substanzen, deren Strukturen sich wie nicht deckungsgleiche Spiegelbilder verhalten, werden als Enantiomere bezeichnet. In einer achiralen Umgebung sind die physikalisch-chemischen Eigenschaften von Enantiomeren identisch, während ihre biologischen Eigenschaften wie Duft oder ihre pharmazeutische Wirkung auf die durch chirale Proteine geprägten Rezeptoren sehr unterschiedlich sein kann. So riecht z. B. das (+)-Enantiomer des Limonens nach frischen Orangen und das (-)-Enantiomer minzig.

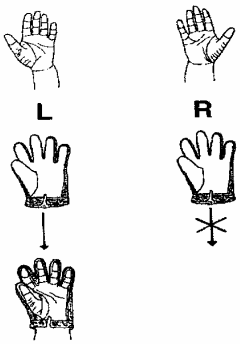


Abb. 2-2: Chiralität = Händigkeit

Bei Einsatz einer achiralen Trennflüssigkeit werden chirale Substanzen nicht in die Enantiomeren getrennt, sondern als Racemate erfaßt. Frühe Ansätze zur gaschromatographische Trennungen von Enantiomeren gehen auf Gil-Av zurück[7].

Eine Trennung der Enantiomeren wird durch die Ausbildung unterschiedlicher diastereotoper Wechselwirkungen zwischen der stationären Phase oder dem Fließmittel und dem Untersuchungsgut erreicht. Die Einführung modifizierter Cyclodextrine als chirale stationäre Phasen brachte die Entwicklung der gaschromatographischen Enantiomerentrennung entscheidend voran[8,9].

Cyclodextrine sind zylindrisch gebaute α-1,4-glycosidisch verknüpfte Oligomere der *D*-Glucopyranose. Nach Anzahl der Glucoseeinheiten (in Klammern) werden die Cyclodextrine in α (6), β (7) und γ (8) unterteilt. Die primären 6-OH-Gruppen befinden sind an der konisch verengten Öffnung, während die sekundären 2- und 3-OH-Gruppen an der entgegengesetzten weiteren Öffnung liegen.

Cyclodextrin weist äußerlich hydrophilen Charakter auf. Der innere Hohlraum ist dagegen hydrophob. Hier lagern sich hauptsächlich unpolare Moleküle an. Die OH-Gruppen bieten eine Vielzahl von chemischen Modifikationsmöglichkeiten an, wie Alkylierung oder Acylierung, so dass die Eigenschaften der Derivate von sehr hydrophil bis hydrophob[10] reichen.

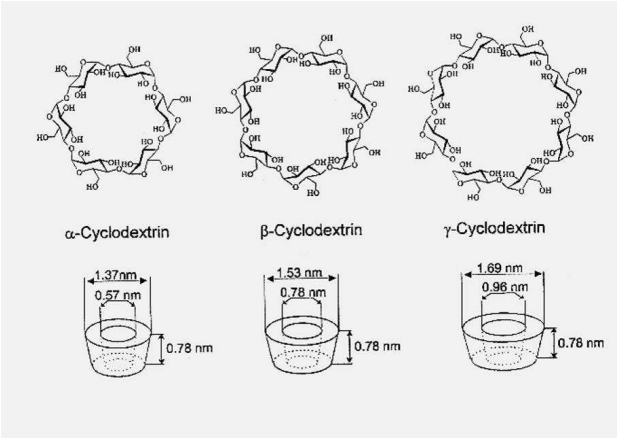


Abb. 2-3: Chemische Struktur und molekulare Dimension von α-, β- und γ-Cyclodextrin [11]

Die anfangs wegen ihrer hohen Schmelzpunkte schwer zu bearbeitenden Cyclodextrinderivate wurden durch Lösen in Polysiloxan OV 1701[12] bei Raumtemperatur anwendbar. Durch die Anwendung von synthetischen perpentylierten Cyclodextrinen, die bei Raumtemperatur flüssig sind, gelang es König et al.[13] stationäre Phasen zu entwickeln, die einen gleichmäßigen dünnen Film auf den Kapillarwänden von GC-Säulen bilden.

3 *Panax ginseng* C.A. MEYER

3.1 Systematische Stellung und Gliederung der Gattung Panax

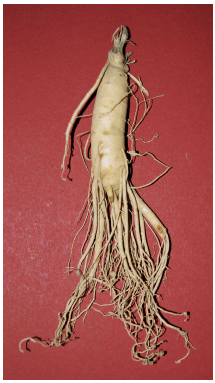


Abb. 3-1: *Panax ginseng* Hauptwurzel mit Neben- und Haarwurzeln

Innerhalb der Systematik des Pflanzenreiches[14] gehört die Gattung Panax zur Ordnung der Araliales, deren erste Familie die Araliaceae (Efeugewächse) sind.

Die Gattung Panax umfasst die Arten:

Panax ginseng C.A. MEYER

Panax quinquefolium L. – amerikanischer Ginseng

Panax trifolium L.D. - amerikanischer Ginseng

Panax notoginseng (Burk.) F.H. CHEN - südasiat. Ginseng

(= San-chi ginseng)

Panax notoginseng ssp. himalaicus – Himalayan ginseng

Panax japonicum C.A. Meyer auch *P. pseudoginseng* Wall. *ssp. japonicus* Hara

(= Japanese chikutsu ginseng)

Panax vietnamesis Ha. et G.

Zu den Arzneipflanzen dieser Familie gehören:

Eleutherococcus senticosus (RUPR. et MAXIM.) MAXIM.,
Syn. *Acanthopanax senticosus* (RUPR. et MAXIM.) HARMS, die Eleutherococcuswurzel,

Hedera helix L., die Efeublätter

Panax ginseng C.A. MEYER., der Ginseng

Beheimatet sind die Araliaceae (Efeugewächse) überwiegend in tropischen bis subtropischen Gebieten Asiens und Amerikas. Einheimisch ist nur der Efeu (*Hedera helix*).

Der in Arzneizubereitungen verwendete Rote und Weiße Ginseng unterscheidet sich nicht botanisch in der Art des Ginsengs, sondern in seiner Aufarbeitung. Beim Weißen Ginseng wird die Wurzel (Abb. 3-1) in frischem Zustand gewaschen und anschließend getrocknet. Dabei verliert die Wurzel den Korkmantel und bleibt hell, z. T. wird die Wurzel auch mit Schwefeldioxid gebleicht. Überbrüht man dagegen die gewaschene Droge, so färbt sich die Rinde nach dem Trocknen rötlich.

Panax ginseng ist eine 50 – 70 cm hohe Staude. Die Blätter sind 5zählig, gefingert an quirlig angeordneten Blattstielen. Der erst nach 3 Jahren erscheinende Blütenstand ist doldenförmig an der Sprossspitze. Die Früchte sind erbsengroß und im reifen Zustand leuchtend rot.

3.2 Geschichte und medizinische Anwendung

Abb. 3-2: Prospekt Flora Farm, Walsrode, Deutschland

Ginseng ist seit Jahrtausenden Bestandteil der chinesischen Medizin[15]. Er lässt sich in der chinesischen Arzneibuchliteratur bis ins 2. Jahrhundert v. Chr. zurückverfolgen. Verwendung fand diese alte asiatische Droge als Tonikum, Roborans und Geriatrikum.

Ob nun die Pflanze durch Marco Polo im Jahre 1294 oder schon früher durch den seit dem 8. Jahrhundert betriebenen Handel mit China durch die Araber nach Europa gelangte, kann nicht mehr genau belegt werden. Seit 1643 liegt aber ein sicheres Zeugnis für die Verwendung als Roborans vor. Auch die Franzosen, die kurze Zeit Handelsbeziehungen mit Thailand unterhielten, berichteten über die Arzneikräfte der Ginsengwurzel. Unter anderem soll sie die Vitalität des „Sonnenkönigs“ Ludwig XIV wieder hergestellt haben[16]. Aus Kanada, einem früheren Teil des französischen Kolonialreiches, kam eine andere Ginseng Art, das heutige *Panax quinquefolium* L. nach Europa.

In allen historischen Beschreibungen der Wurzel wird auf die äußere Ähnlichkeit mit dem menschlichen Körper hingewiesen (Signaturen-Lehre). Ihre Verwendung als Roborans und stark tonisierendes Mittel, d. h. gegen Schwächezustände aller Art, ist nachgewiesen. Da die Übersetzung aus dem Chinesischen „ren-shen“ ein Synonym für Manneskraft sein soll, erklärt sich somit auch die Verwendung als Aphrodisiakum.

Heutzutage belegen kontrollierte klinische Studien[17,18] mit aus Ginseng isolierten Einzelsubstanzen eine signifikante Leistungssteigerung. Bei Ratten kam es unter Ginseng-Medikation zu einer Ökonomisierung des Energiestoffwechsels im Skelettmuskel während längerer körperlicher Belastung[19]. Andererseits werden Effekte einzelner Inhaltsstoffe im Gesamtbild aufgehoben oder gesteigert. Postulierte hemmende Wirkungen auf Tumorzellen konnten nachgewiesen werden[20].

Cytotoxische Eigenschaften[21] sowie ein anti-arteriosklerotischer Effekt durch Hemmung der Blutplättchenaggregation[22] sind für Polyacetylene des Ginsengs belegt. Cytoprotektive und immunmodulierende Effekte werden den Polysacchariden des Ginsengs nachgesagt. Außerdem konnten an den isolierten Glycanen antidiabetische Effekte[23 24 25] nachgewiesen werden.

3.3 Zusammenstellung der in der Literatur beschriebenen Inhaltsstoffe

In den vergangenen Jahren sind viele analytische sowie medizinische Publikationen über Ginseng veröffentlicht worden, und ein internationaler Kongress wurde dieser Heilpflanze gewidmet[26].

Da zur Identifizierung der Arzneipflanze nicht allein ein mikroskopisches Bild der Wurzel[27,28] mit seinen grobstacheligen Ca-Oxalat-Drusen, der kleinkörnig, zusammengesetzten Stärke und den Exkretbehältern im Rindenparenchym ausreichte, versuchten schon 1967 F. Gestirner und H. J. Vogt[29] die Unterschiede von 5 Ginseng-Drogen mittels Pherogrammen der Peptide (unterteilt in einzelne Aminosäuren) zu erfassen. Andere Inhaltsstoffe wie Zucker (Peptidoglykane, Syn. Panaxane), Ascorbinsäure, Steroide und Saponine konnten nachgewiesen werden. Eine Differenzierung der einzelnen Arten (Drogen) war aber noch nicht möglich. Ab 1974 wurden Strukturen von Triterpenglykosiden, den Ginsenosiden, als potentielle Wirkstoffe der Droge bewertet[30,31]. Im weiteren wurden einzelne Polyacetylene isoliert, deren zytotoxische und tumorizide Wirkungen schon von Sonnenborn[18] erwähnt wurden.

Durch die Isolierung und Charakterisierung der Inhaltsstoffe wurden breit angelegte pharmakologische Untersuchungen möglich.

Unbestritten ist die Wichtigkeit dieser Arzneidroge, die zunächst seit 1986 mit dem Erscheinen der 9. Ausgabe des Deutschen Arzneibuches durch eine Monographie „Ginsengwurzel“ vertreten war. Später wurde diese Monographie in das Europäische Arzneibuch[32] übernommen und ist heute im 1. Nachtrag der 5. Ausgabe (Oktober 2005) vorzufinden. Hier werden zur Prüfung auf Identität der Droge die makroskopischen und mikroskopischen Untersuchungen sowie eine eindimensionale Dünnschichtchromatographie beschrieben. Bei der Prüfung auf Reinheit findet nur eine Abgrenzung gegen *Panax quinquefolium* statt, und zwar durch Auswertung des HPLC-Chromatogramms auf Anwesenheit des Peaks für das Ginsenosid Rf (im amerikanischen Ginseng nicht vorhanden). Bei der Gehaltsbestimmung werden sieben Ginsenoside erfasst. Dabei wird der Gehalt von zweien mittels Peakflächenberechnung ermittelt und auf einen geforderten Mindestwert geprüft.

Die Identifizierung der Ginseng-Drogen wird auch im Bereich der molekularbiologischen Verfahren vorangetrieben. Hier dienen die DNA-Sequenzierungen oder die Sequenzierung des Chloroplasten-Erbgutes[33] als Unterscheidungsmerkmal[34, 35].

3.3.1 Ginsenoside

Der Ginseng enthält ein komplexes Gemisch von Triterpensaponinen. Bisher sind über 25 Ginsenoside isoliert worden[36], wobei neutrale bidesmosidische Dammaran-Derivate vorherrschen[37].

Die Hauptkomponenten sind tetracyclische Triterpene. Sie leiten sich von 20*S*-Protopanaxadiol (1) und 20*S*-Protopanaxatriol (2) ab (Abb. 3-3). Nur Ginsenosid Ro ist als pentacyclisches Triterpen ein Derivat der Oleanolsäure (3). Die Zuckerketten liegen jeweils unverzweigt vor. Bei den Ginsenosiden vom Typ Protopanaxadiol sind sowohl die 3-OH- als auch die 20-OH-Gruppe glycosyliert. Bei den Protopanaxatriolglykosiden sind Zucker mit der OH-Gruppe an C-6- und der an C-20 verbunden. Die OH-Gruppe an C-3-bleibt frei.
Gefundene 20*R*-Verbindungen sind Artefakte, die beim Herstellungsprozess bzw. der Aufarbeitung entstehen. Sie stellen daher charakteristische Ginsenoside des roten Ginsengs dar.

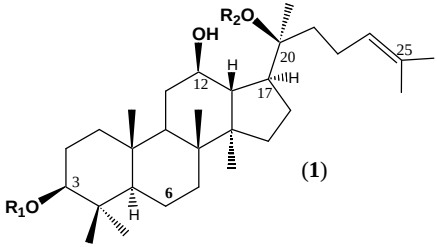
Durch die Entwicklung der Dünnschichtchromatographie mit der Auswertung im kurz- und langwelligen UV-Licht vor und nach Behandlung mit Sprühreagenzien, hier KOH-Lösung, konnten charakteristische Unterschiede im Muster der Ginseng Saponine erfasst und Ginseng-Drogen identifiziert und verifiziert werden.

So war es möglich, nicht nur den Gesamtgehalt der Ginsengsaponine photometrisch zu bestimmen, sondern durch die Weiterentwicklung der HPLC-Bestimmungen 6 Ginsenoside[38] als Einzelsubstanzen zur qualitativen und quantitativen Bewertung heranzuziehen.

	Ginsenoside (% Gehalt)								
	Rg_1	Re	Rf	Rg_2	Rb_1	Rc	Rb_2	Rd	Gesamt
Blätter	1,078	1,524	-	-	0,184	0,736	0,553	1,113	5,188
Blattstiele	0,327	0,141	-	-	-	0,190	-	0,107	0,765
Stengel	0,292	0,070	-	-	-	-	0,397	-	0,759
Hauptwurzel	0,379	0,153	0,092	0,023	0,342	0,190	0,131	0,038	1,348
Seitenwurzel	0,406	0,668	0,203	0,090	0,850	0,738	0,434	0,143	3,532
Wurzelhaare	0,376	1,512	0,150	0,249	1,351	1,349	0,780	0,381	6,148

Tabelle 3.1: Verteilung der Ginsenoside in *Panax ginseng* C.A. Meyer (Nach Soldati u. Sticher 1980[39]). Die Strukturformeln der einzelnen Ginsenoside zeigt Abb. 3-3.

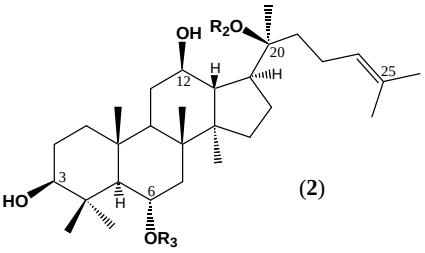
20(S)-Protopanaxadiol – Glycosid (**1**)



(**1**)

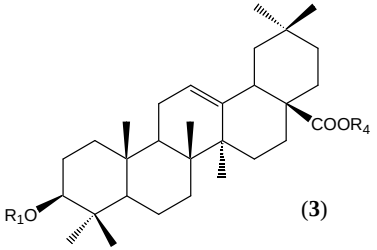
GINSENOSID	R_1	R_2
Ra_1	*β*-D-Glc^2–*β*-D-Glc	*β*-D-Glc^6–*α*-L-Ara (p)^4-Xyl
Rb_1	β-D-Glc^2–β-D-Glc	β-D-Glc^6–β-D-Glc
Rb_2	β-D-Glc^2–β-D-Glc	*β*-D-Glc^6–α-L-Ara (p)
Rb_3	*β*-D-Glc^2–*β*-D-Glc	*β*-D-Glc^6–Xyl
Rc	*β*-D-Glc^2–*β*-D-Glc	*β*-D-Glc^6–α-L-Ara (f)
Rd	*β*-D-Glc^2–*β*-D-Glc	*β*-D-Glc
Rg_3	*β*-D-Glc^2–*β*-D-Glc	H
Rh_2	*β*-D-Glc	H

20(S)-Protopanaxatriol – Glycosid (**2**)



(**2**)

GINSENOSID	R_3	R_2
Re	*β*-D-Glc^2–α-L-Rha	*β*-D-Glc
Rf	*β*-D-Glc^2–*β*-D-Glc	H
Rg_1	*β*-D-Glc	*β*-D-Glc
Rg_2	*β*-D-Glc^2–α-L-Rha	H
Rh_1	*β*-D-Glc	H



(**3**)

Ginsenosid	R_1	R_4
Ro	*β*-D-GlcA^2-*β*-D-Glc	*β*-D-Glc

Abb. 3-3: Ginsenosid-Strukturen - Die Aglyka der 20(S)-Protopanaxadiol- und 20(S)-Protopanaxatriol - Ginsenoside gehören vorwiegend zum tetracyclischen Dammarantyp. Das Ginsenosid Ro (**3**) gehört zu den pentacyclischen Oleanolsäure-Glycosiden.
(Fettdruck: mengenmäßig dominante Ginsenoside), Ara (p) = Arabinose, Pyranoseform, Ara (f) = Arabinose, Furanoseform, Glc = Glucose, GlcA = Glucuronsäure, Rha = Rhamnose, Xyl = Xylose

Es zeigte sich, dass der Ginsenosidgehalt und die Verteilung der Hauptginsenoside in der Wurzel in den Bereichen der Haupt-, Neben- und Haarwurzeln stark schwanken (Tabelle 3.1). Der höchste Gehalt fand sich in den traditionell nicht verwendeten Haarwurzeln.

Die unterschiedlichen Ginsenoside (z.B. R_a, R_{b1}, R_{b2} usw.) werden im Namen mit Indizes (x = a, b usw.) gekennzeichnet, wobei R für Radix steht. Im Gegensatz dazu werden die neueren Isolierungen aus den Blättern mit F für Folia bezeichnet. Die für x stehenden Buchstaben nehmen Bezug auf die Reihenfolge der Rf-Werte im Dünnschichtchromatogramm. Vom Index a zum Index h nimmt die Polarität ab (Abb. 3-4 A, B).

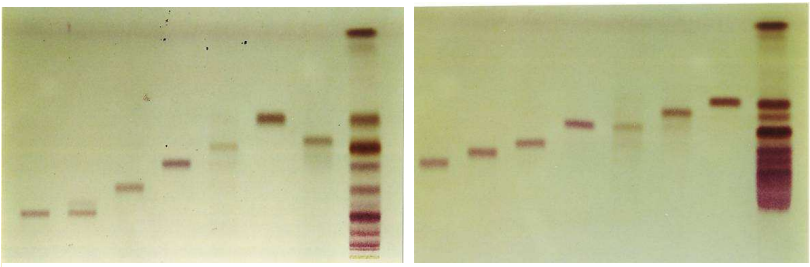


Abb. 3-4: Dünnschichtchromatogramm der Ginsenoside, eindimensional

A: Ginsenoside FM: Shibata[40]	B: FM: Wagner[41]
(n-Butanol + Etylacetat + Wasser)	(Chloroform + Methanol + Wasser)
[40 + 10 + 50; v/v; Oberphase] KS	[64 + 50 + 10; v/v] KS

Schicht: Kieselgel 60 F_{245} (DC-Fertigplatten Merck 5715)

Dou, Hou und Chen[42] entwickelten eine eindimensionale dünnschichtchromatographische Methode zur schnellen Identifizierung von *Panax ginseng* und *P. quinquefolium*. Sie hatten bei der Untersuchung einer großen Anzahl von Proben festgestellt, dass Ginsenosid R_f (Abb. 3-3) nur im chinesischen und 24(R)-Pseudoginsenosid-F11 (**4**) (Abb. 3-5) nur im amerikanischen Ginseng nachweisbar waren und legten diese Inhaltsstoffe als charakteristische Marker fest.

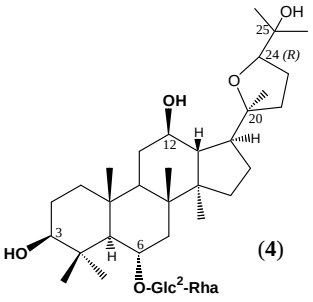
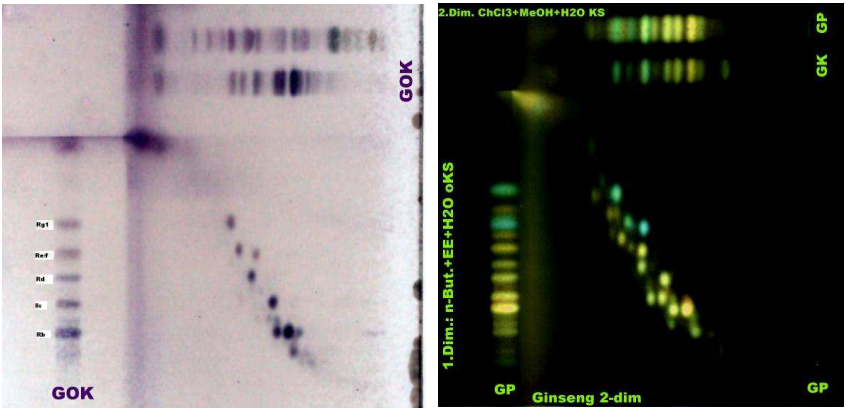


Abb. 3-5: Strukturformel von 24(R)-Pseudoginsenosid-F11

Sehr gute Ergebnisse wurden auch von Reich und Schibli[43] mit HPTLC-Platten und einem Fließmittel aus Chloroform + Ethylacetat + Methanol + Wasser [15 + 40 + 22 + 9; v/v] erzielt. Die Auswertung erfolgte hierbei mit einem Schwefelsäurereagenz (siehe 8.7.2 Dünnschichtchromatographie - Nachweisreagenzien) und anschließender Betrachtung unter UV-Licht bei 366 nm.



A **B**

Abb. 3-6: Zweidimensionale DC von Ginseng

A: Ginseng aus Korea (GOK) B: Ginseng, Handelsware DAB Qualität (GP), Ginseng Kapsel (GK) Handelsware (DC invertiert dargestellt)

.

FM: 1. Dimension FM: n-Butanol + Ethylacetat + Wasser [40 + 10 + 20; v/v] KS
2. Dimension FM: Chloroform + Methanol + Wasser [64 + 50 + 10; v/v] KS
Schicht: HPTLC-Kieselgel 60 F_{245}, Firma Merck; geschnitten auf 7 x 7 cm

Ein besseres Ergebnis bietet die 2-dimensionale Dünnschichtchromatographie (Abb. 3-6)[44], durchgeführt mit einer Kombination der beiden in Abb. 3-4 angegebenen Fliessmittel. Die Auswertung über die Diagonale des Chromatogrammes ergibt eine deutliche Trennung der vorher zum Teil überlagerten oder sehr eng aneinander liegenden Banden.

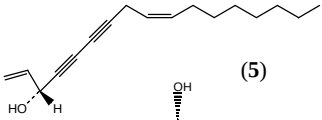
3.3.2 Polyacetylene

Bei den Araliaceae (Familie der Araliales) kommen einfache C_{18}- und C_{17} Polyacetylene (= Polyine), darunter C_{17} Diin-diene der Falcarinolgruppe (Abb 3-7) vor. Die ganze Fülle von kurzkettigen und höher oxidierten Derivaten entwickelt sich erst bei den Apiaceae (2. Familie der Araliales).

Als etherlösliche Bestandteile konnten von Hansen und Boll[45] aus *P. ginseng* die Polyacetylene Panaxynol (**5**) (syn. Falcarinol, Carotatoxin), Panaxytriol (**6**) (syn. Falcarintriol), Panaxydol (**7**) und Heptadeca-1,9-dien-4,6-diin-3,8-diol (**8**) sowie der Sesquiterpenkohlenwasserstoff β-Elemen (**11**) isoliert werden. Das Keton Falcarinon ist für Efeu und andere Araliaceae[46] nachgewiesen worden. Der entsprechende Alkohol Falcarinol ist mit dem Panaxynol aus *Panax ginseng* sowie dem Carotatoxin aus *Daucus carota* identisch.

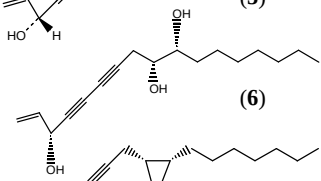
Während früher die Ginsenoside als wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoffe der Ginsengwurzel betrachtet wurden, ist heute gesichert, dass auch die Polyacetylene (Panaxynol (**5**), Panaxytriol (**6**) und Panaxydol[47,48,] (**7**)) und Polysaccharide zur Gesamtwirkung entscheidend beitragen.

Panaxynol, (–), syn. (–)-Falcarinol (**5**)
= (3R, 9*Z*)-Heptadeca-1,9-diene-4,6-diin-3-ol



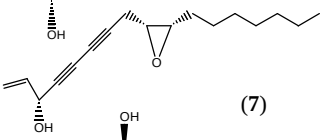
(**5**)

Panaxytriol, (–) (**6**)
= (3R,9R,10R)-Heptadec-1-en-4,6-diin-3,9,10-triol,



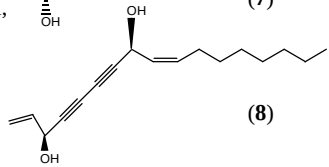
(**6**)

Panaxydol, (–) (**7**)
= (3R, 9R,10S)-9,10-Epoxyheptadec-1-en-4,6-diin-3-ol,



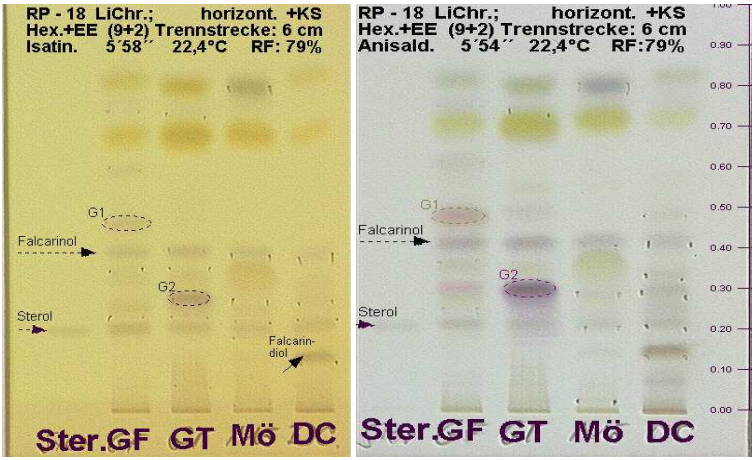
(**7**)

Falcarindiol, (+)- (**8**)
(3S, 8S, 9*Z*)-Heptadeca-1,9-dien-4,6-diin-3,8-diol



(**8**)

Abb. 3-7: Grundgerüste der häufigsten Polyacetylene aus Ginseng.



A **B**

Abb. 3-8: DC-Fingerprint verschiedener Ginseng-Extrakte mit spezifischem Nachweis für Polyacetylene

A:	B:
mit Isatin (typische Braunfärbung)	mit Anisaldehyd (hell- bis dunkelviolette Banden)

Vergleichssubstanzen: Ster: β-Sitosterol, GF: Ginseng-Wurzel, frisch, GT: Ginseng-Wurzel, trocken
Mö: Möhre (Lebensmittel), DC: Daucus carota (Wilde Möhre).
Chromatographische Bedingungen siehe 8.7.

Die Dünnschicht-Chromatogramme (Abb. 3-8) zeigen die Anwesenheit der Polyacetylene Falcarinol und Falcarindiol sowohl im frischen Ginseng (GF) wie auch im getrockneten (GT). Die Substanzen der mit G1 bezeichnete Bande scheinen sich durch den Tocknungsprozess in G2 umzulagern.

Die im DC aufgetragenen und entwickelten Extrakte der Möhre und Wurzeln von *Daucus carota* (DC) dienen als Standardlösungen zur Festlegung der Rf-Werte der Polyacetylene.

3.3.3 Ätherisches Öl (Ginseng)

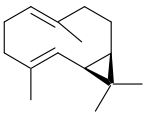
In der Ordnung **Ariales**[14] treten vermehrt ätherische Öle und Balsame auf. So war auch im Ginseng ätherisches Öl in der Wurzel zu finden, welches bei den Araliaceae in Exkretgängen lokalisiert ist. In der Ginsengwurzel werden Konzentrationen von 0,05 bis 0,1 % beschrieben. Das Öl besteht hauptsächlich aus Mono- und Sesquiterpenen.

In den ersten Untersuchungen des ätherischen Öls wurden 14 Sesquiterpene[49] beschrieben. Die Hauptkomponente in der frischen Wurzel wird als Bicyclogermacren (**9**) (36 %) angegeben und als Precursor für Bicycloelemen (**10**), Maalien (**13**), Ledol (**15**), Aromadendren (**17**) postuliert. Weitere Untersuchungen wurden von der Arbeitsgruppe um Iwabuchi[50, 51] durchgeführt. Sie fanden die Sesquiterpenalkohole Panasinsanol A (**22**) und B (**23**) und konnten die Strukturen durch deren Synthese ausgehend von (–)-β-Caryophyllen (**28**) belegen. Als weiteren Alkohol isolierten sie Ginsenol[52] (**24**) aus den Feinwurzeln.

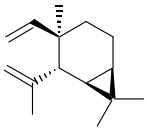
In einer weiteren Arbeit[53] beschreiben sie die Isolierung von (+)-Spathulenol (**14**), (–)-4β,10α-Aromadendrandiol (**18**) und (–)-Neointermedeol (**40**) aus dem Etherextrakt von *P. ginseng*.

In Abhängigkeit von der Aufarbeitung der Wurzel, sei es durch einen Etherauszug eines wässrigen Extraktes[54] der gefriergetrockneten Droge oder ein Destillat, schwanken die Angaben zu den Konzentrationen der isolierten Mono- und Sesquiterpene.

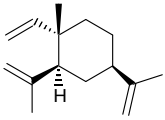
Auf der Suche nach einer Unterscheidungsmöglichkeit des Ginsengs verschiedener Herkünfte versuchten Sohn et al.[55] mittels Headspace Analyse Koreanischen und Chinesischen Ginseng miteinander zu vergleichen. Obwohl die gefundenen Inhaltsstoffe der Gaschromatogramme gleich waren, ermittelten sie ein unterschiedliches Verhältnis der Hauptkomponenten β-Panasinsen (**21**) zu β-Muurolen (**37**). Beim Koreanischen Ginseng betrug dieses bei roter Ware 1,22 und bei weißen Wurzeln 1,49. Signifikant niedriger zeigte sich das Verhältnis der Chinesischen Ware (rote Wurzeln 0,58 und weiße 0,57). Während Wee et al.[56] 30 Sesquiterpene als Hauptkomponenten bei der von ihnen entwickelten Methode zur Gewinnung der flüchtigen Inhaltsstoffe und deren Identifizierung durch die GC/MS-Analyse ermittelten, beschrieben sie neben β-Panasinsen (**21**), Germacren B (**33**), *allo*-Aromadendren (**16**) und Isocaryophyllen (**30**), als weitere Komponente γ-Muurolen (**38**) und nicht β-Muurolen (**37**) wie Sohn et al.. So ist schon hier die These, über die Festlegung der Verhältnisse dieser zwei Inhaltsstoffe aus einem so komplexen Inhaltsstoffspektrum der Wurzeln, unterschiedliche Herkünfte abzuleiten, nicht haltbar.



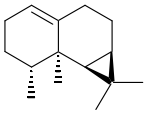
(+)-Bicyclogermacren
(**9**)



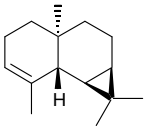
(-)-Bicycloelemen
(**10**)



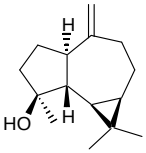
β-Elemen
(**11**)



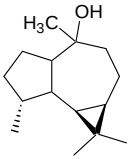
Calaren
(**12**)



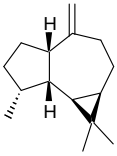
(-)-α-Maalien
(**13**)



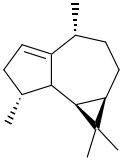
(+)-Spathulenol
(**14**)



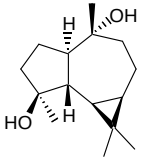
(+)-Ledol
(**15**)



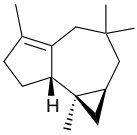
(−)-*allo*-Aromadendren
(**16**)



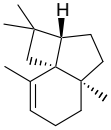
(+)-1-Aromadendren
(**17**)



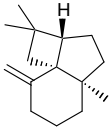
(−)-4β,10α-Aromadendrandiol
(**18**)



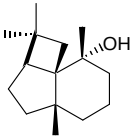
African-2-en
(**19**)



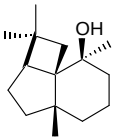
(−)-α-Panasinsen
(**20**)



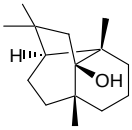
(−)-β-Panasinsen
(**21**)



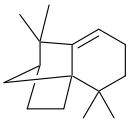
(−)-Panasinsanol A
(**22**)



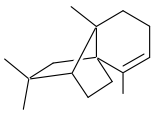
(−)-Panasinsanol B
(**23**)



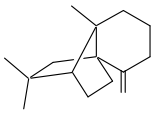
(−)-Ginsenol
(**24**)



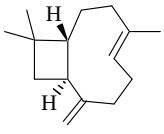
(−)-Isolongifolen
(**25**)



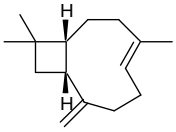
(−)-α-Neocloven
(**26**)



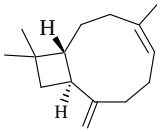
(−)-β-Neocloven
(**27**)



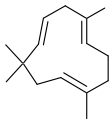
(−)-β-Caryophyllen
(**28**)



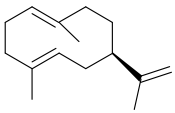
2-*epi*-(*E*)-β-Caryophyllen
(**29**)



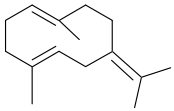
(−)-Isocaryophyllen
(**30**)



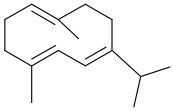
α-Humulen
(**31**)



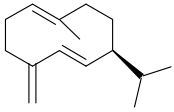
(+)-Germacren A
(**32**)



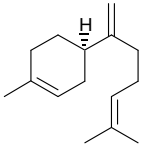
Germacren B
(**33**)



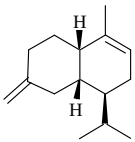
Germacren C
(**34**)



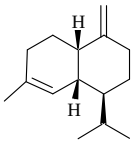
Germacren D
(**35**)



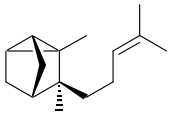
(+)-β-Bisabolen
(**36**)



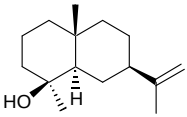
(−)-β-Muurolen
(**37**)



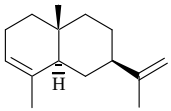
(−)-γ-Muurolen
(**38**)



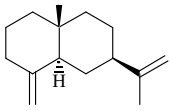
(+)-α-Santalen
(**39**)



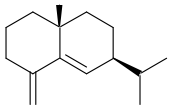
(−)-Neointermedeol
(**40**)



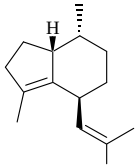
(−)-α-Selinen
(**41**)



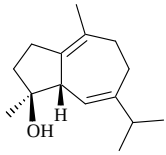
(+)-β-Selinen
(**42**)



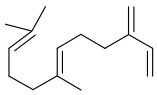
Selina-4(15),5-dien
(**43**)



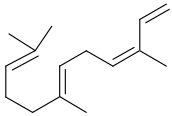
(−)-Valerena-4,7(11)-dien
(**44**)



Guaja-6,9-dien-4-β-ol
(**45**)



(*E*,*E*)-*β*-Farnesen
(**46**)



(*Z*,*E*)-*β*-Farnesen
(**47**)

Abb. 3-9: Sesquiterpenkohlenwasserstoffe und -alkohole aus den Wurzeln von *P. ginseng*

3.4 Gaschromatographische Untersuchungen verschiedener Ginseng Proben

3.4.1 Blattöl von *Panax ginseng* aus deutschem Anbau

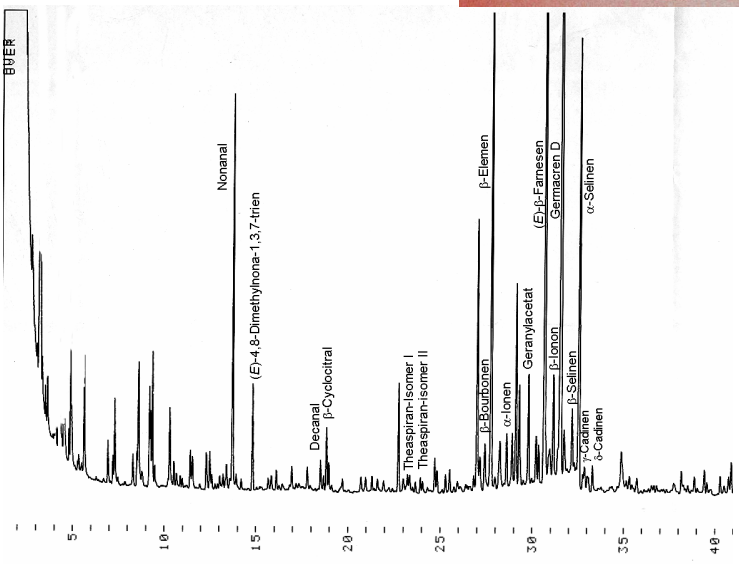


Abb. 3-10: Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillates von luftgetrockneten *Panax ginseng* Blättern (Foto) aus deutschem Anbau.
(Säule: CPSil 5 CB, 25 m Kapillarsäule, 50 °C, 3 °C/min bis 230 °C, Injektor 200 °C, Detektor 250 °C, Trägergas Wasserstoff, 0,5 bar)

Panax-ginseng-Blattöl			
Name	Ret. Zeit (min.)	Ret.Index	Flächenprozente
n-Nonanal	13,8	1089	3,8
(*E*)-4,8-Dimethylnona-1,3,7-trien	14,9	1111	1,0
n-Decanal	18,6	1188	0,4
M^+ 154, BP 43	18,8	1198	0,2
β-Cyclocitral (**48**)	18,9	1202	0,7
M^+ 166, BP 41	19,1	1242	0,2
M^+ 194, BP 179	22,9	1287	1,2
Theaspiran (Isomer I) (**49**)	23,4	1299	0,3
Theaspiran (Isomer II)	24,4	1312	0,2
M^+ 178, BP 79	24,9	1329	0,4
M^+ 174, BP 159	25,4	1347	0,2
β-Bourbonen (**50**)	27,5	1388	0,9
β-Elemen (**11**)	27,9	1392	6,5
M^+ 208, BP 123	28,4	1397	1,1
M^+ 204, BP 119	28,7	1401	0,9
α-Ionon (**51**)	29,0	1410	1,6
M^+ 204, BP 119	29,3	1416	1,0
M^+ 204, BP 123	29,5	1420	2,6
Geranylaceton (**53**)	29,9	1430	1,7
(*E*)-β-Farnesen (**46**)	30,8	1447	10,7
β-Santalen (**54**)	31,0	1459	1,3
β-Ionon (**52**)	31,3	1467	2,0
Germacren D (**35**)	31,7	1480	15,7
β-Selinen (**42**)	32,3	1487	1,3
α-Selinen (**41**)	32,7	1495	7,0
M^+ 204, BP 69	32,9	1505	0,4
γ-Cadinen (**55**)	33,0	1509	0,5
δ-Cadinen (**56**)	33,1	1516	1,1
Identifizierte und charakterisierte Mono- und Sesquiterpene			65 %

Tabelle 3.2: Komponenten des ätherischen Öls von *Panax ginseng* Blättern aus deutschem Anbau.
(CPSil 5 CB, 25 m Kapillarsäule, 50 °C, 3°C/min bis 230 °C, Injektor 200 °C, Detektor 250 °C, Trägergas Wasserstoff, 0,5 bar)

Die Arbeitsgruppe um Wang et al[57] untersuchten die flüchtigen Bestandteile der Blätter und Stängel. Sie isolierte (Z)-β-Farnesen (**47**), β-Bisabolen (**36**), β-Selinen (**42**), Isolongifolen (**25**), α-Santalen (**39**) und a*llo*-Aromadendren(**16**). Im Zusammenhang mit Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurden dagegen als Hauptkomponenten mittels GC-MS-Analyse (siehe Abb. 3-10 und Tabelle 3.2) Germacren D (**35**) (15,7 %), (*E*)-β-Farnesen (**46**) (10,7 %), β-Elemen (**11**) (6,5 %) und α-Selinen (**41**) (6,1 %) identifiziert, während β-Selinen (**42**) nur in geringerer Konzentration (1,3 %) in dem Blattöl nachweisbar

war. Die Auswertung wurde mit dem MassFinder Softwareprogramm und einer Datenbank[58] durchgeführt.

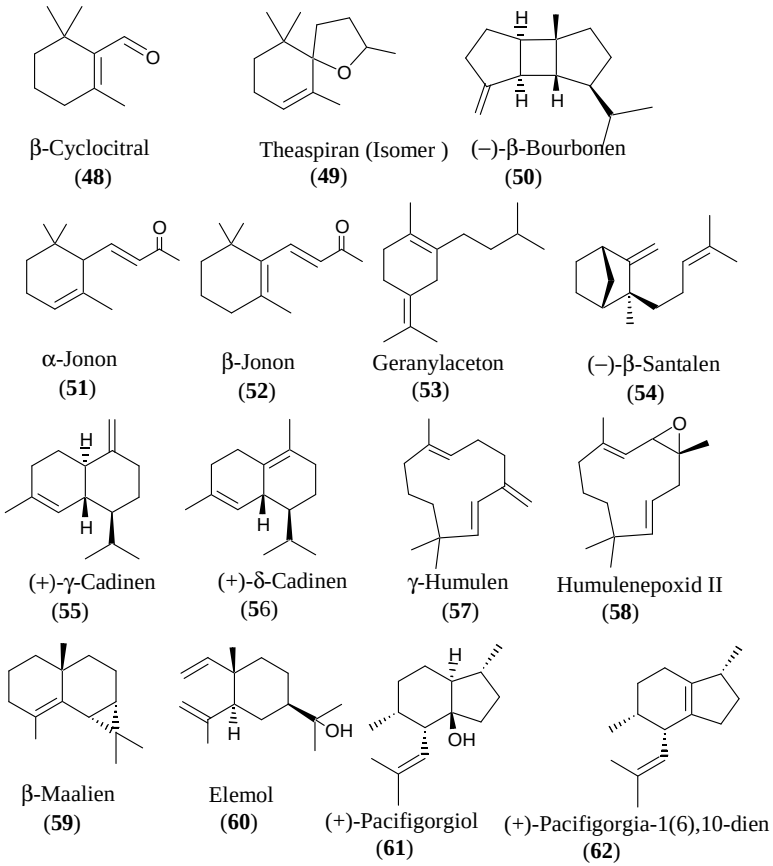


Abb. 3-11: Mono- und Sesquiterpenstrukturen aus dem ätherischen Öl von *P. ginseng* Blättern.

3.4.2 Frische Ginseng-Wurzel

In frischen Ginseng-Wurzeln beträgt der Anteil ätherischen Öls ca. 0,01 – 0,05 %.

Frische Ginseng-Wurzeln aus deutschem Anbau

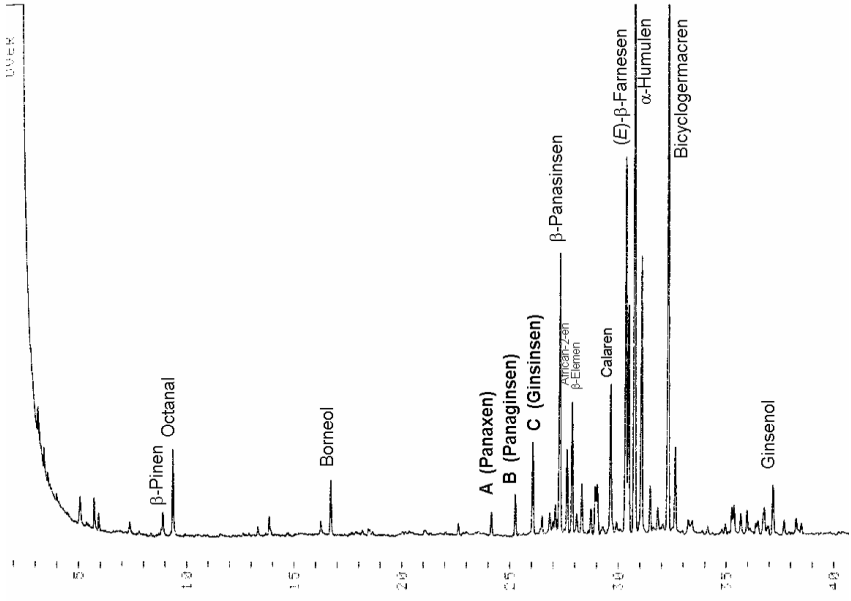


Abb. 3-12: Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillates von frischen *Panax ginseng* Wurzeln (Foto)
(Säule: CPSil 5 CB, 25 m Kapillarsäule, 50 °C, 3 °C/min bis 230 °C, Injektor 200 °C, Detektor 250 °C, Trägergas Wasserstoff, 0,5 bar)

Im Gaschromatogramm des frischen koreanischen Ginsengs (Abb. 3-12, Auswertung mittels GC/MS-Analyse) wurde im Rahmen dieser Arbeit Bicyclogermacren (**9**) (15,1 %) als eine bereits von Yoshihara und Hirose[49] erwähnte Hauptkomponente bestätigt.

			frische *P. ginseng*-Wurzel (Korea)		Frische *P. ginseng*-Wurzel (deutscher Anbau)	
Name	Ret.-Zeit	Ret.Index	GC-Flächenproz.	Mono- u. Sesquiterpen-Anteil in %	GC-Flächenproz	Mono- u. Sesquiterpen-Anteil in %
2-Heptanol	5,5	907	0,6	1,0		
α-Pinen (**81**)	7,5	952	0,4	0,7		
Camphen (**103**)	8,0	965	0,3	0,5		
β-Pinen (**81**)	9,0	990	0,4	0,7	0,1	0,3
n-Octanal	9,5	996	1,3	2,1	0,2	0,5
Borneol	16,6	1157	0,8	1,3		
(*E,Z*)-2,4-Decadienal	22,7	1272			0,7	1,7
(*E*,*E*)-2,4-Decadienal	23,7	1294			0,9	2,2
A (Panaxen)	24,4	1314	0,6	1,0	Spur	Spur
B (Panaginsen)	25,5	1339	0,7	1,1	0,2	0,5
C (Ginsinsen)	26,3	1356	1,6	2,6	0,5	1,2
β-Panasinsen (**21**)	27,5	1386	4,8	7,8	1,5	3,7
African-2-en (**19**)	27,9	1389	1,4	2,3	0,4	1,0
β-Elemen (**11**)	28,1	1390	2,1	3,4		
Pacifigorgia-1(6),10-dien (**62**)	28,3	1412	1,1	1,8	0,9	2,2
(*E*)-β-Caryophyllen (**28**)	29,2	1421	0,9	1,5		
M^+ 204, BP 91	29,3	1423	1,0	1,6	0,4	1,0
Calaren (**12**)	29,4	1436	2,8	4,6	6,0	14,8
(*E*)-β-Farnesen (**46**)	29,9	1446	6,0	9,8		
Valerena-4,7(11)-dien (**44**)	30,2	1451	3,8	6,2	2,7	6,6
α-Neocloven (**26**)	30,6	1453			1,7	4,2
α-Humulen (**31**)	31,0	1454	10,5	17,1		
allo-Aromadendren (**16**)	31,2	1461	4,8	7,8	7,7	18,9
M^+ 204, BP 41, 93	31,3	1468	0,9	1,5	1,1	2,7
β-Neocloven (**27**)	31,8	1473	0,6	1,0	1,6	3,9
γ-Humulen (**57**)	32,1	1484	0,4	0,7		
M^+ 222, BP 147	32,2	1488			4,5	11,1
Bicyclogermacren (**9**)	32,6	1493	9,3	15,1		
δ-Cadinen (**56**)	33,7	1512	2,1	3,4		
Guaja-6,9-dien-4β-ol (**45**)	35,6	1564			6,7	16,5
M^+ 222, BP 151	36,0	1571	0,5	0,8		
M^+ 222, BP 107	36,7	1581	0,6	1,0	1,2	3,0
Ginsenol (**24**)	37,5	1618	1,2	2,0	1,6	3,9
Fettsäureester, verschied.	50-60	1866-2046	18,8		30,5	
			80,3 %	100 %	71,1 %	99,9 %

Tabelle 3.3: Frische *Panax ginseng*-Wurzel (Korea und deutscher Anbau) – GC-Zusammensetzung des Wasserdampfdestillats.

Es werden 80,3 % der Inhaltsstoffe mit einem Sesquiterpen-Anteil von 61,5 % beschrieben, im Vergleich zu Wurzeln aus deutschem Anbau mit 71,1 % identifizierter Komponenten mit einem Anteil von 40,6 % an Mono- und Sesquiterpenen. (Die Substanzen A, B, C wurden im Rahmen dieser Dissertation isoliert und als neue Naturstoffe charakterisiert.)

Weiter konnte in der frischen Droge aus Korea (Tabelle 3.3) nun α-Humulen (**31**) (17,1 %), (*E*)-β-Farnesen (**46**) (9,8 %), jeweils *allo*-Aromadendren (**16**) sowie β-Panasinsen (**21**) mit 7,8 % und Valerena-4,7(11)-dien (**44**) mit 6,2 % identifiziert werden. Weitere Komponenten lagen mengenmäßig in geringerer Konzentration vor (unter 5 %). Im ätherischen Öl der frischen Ginseng-Wurzel aus deutschem Anbau (Tabelle 3.3) wurden die gleichen Mono- und Sesquiterpene wie in der frischen koreanischen Wurzel identifiziert. Nicht nachweisbar waren in der deutschen Ware α-Humulen (**31**) und Bicyclogermacren (**9**), wohingegen *allo*-Aromadendren (**16**) mit 18,9 % und Calaren (**12**) mit 14,8 % in wesentlich höherer Konzentration vorlagen, als in der koreanischen Ware (7,8 % bzw. 4,6 %). Guaja-6,9-dien-4*β*-ol (**45**) war nur in der deutschen Wurzel zu finden, und mit 16,5 % zählte es mit zu den am stärksten vertretenen Komponenten. Der Gehalt an *β*-Panasinsen (**21**) war mit 3,7 % gering gegenüber dem Anteil von 7,8 % in der koreanischen Wurzel. Der Gehalt des Sesquiterpenalkohols Ginsenol (**24**) war mit 2,9 % in der deutschen Ware vergleichbar mit den 2,0 % der koreanischen Ware.

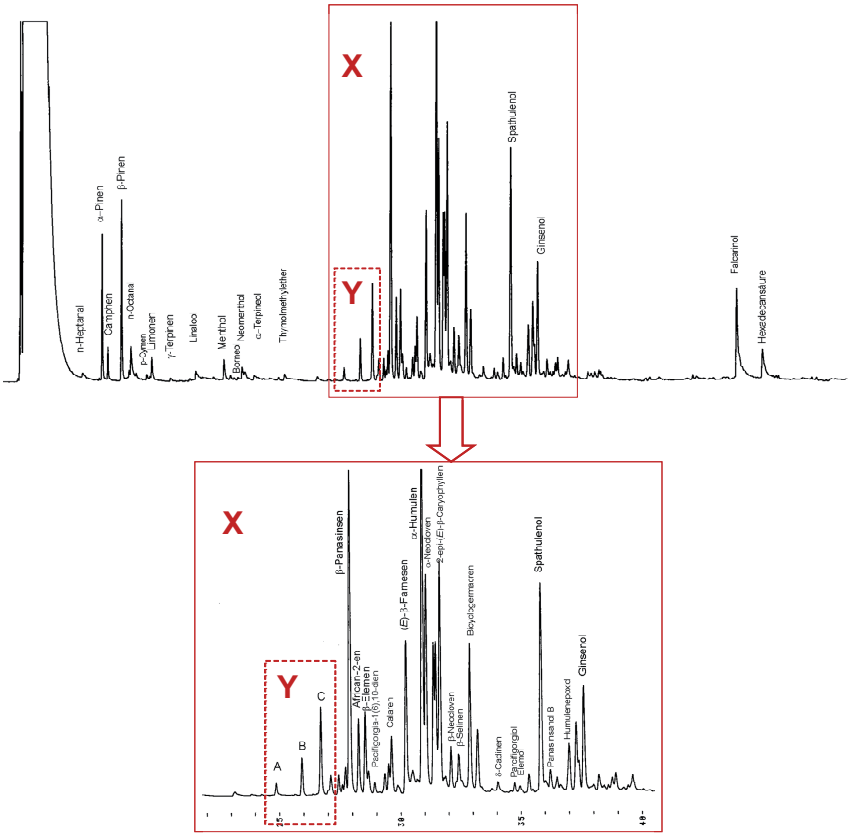
Die Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit war die Isolierung bisher unbekannter Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe (A, B, C in Abb. 3-12), da diese zur Beschreibung und Charakterisierung von Sesquiterpen-Pattern unterschiedlicher Ginseng-Proben beitragen könnten. Darüberhinaus wiesen die Massenspektren der Substanzen auf neue Verbindungen hin. Die als unbekannt markierten Kohlenwasserstoffe mit RI von 1314, 1339, 1356 waren sowohl in den frischen Wurzeln aus koreanischem, als auch aus deutschem Anbau zu finden und sind somit genuin in der Ginseng-Wurzel vorhanden. Gaschromatographische vergleichende Untersuchungen eines Pentan-Kaltextraktes gegenüber der durch Hitze belasteten Wasserdampfdestillation oder der Soxhlet-Extraktion führten zum gleichen Ergebnis. Die Konzentrationen der drei Inhaltsstoffe sind in der koreanischen Droge höher, so dass in der deutschen Ware nur die beiden höher konzentrierten über die GC-Flächenprozent-Berechnung zu erfassen waren.

Die Isolierung und Strukturaufklärung der drei unbekannten Kohlenwasserstoffe wird im weiteren beschrieben (Kapitel 3.5).

3.4.3 Weißer Ginseng

Als weiteres Untersuchungsgut dienten getrocknete Haupt- und Nebenwurzeln koreanischer Ware (siehe Bild rechts) und nach Deutschland eingeführte Feinwurzel-Handelsware.

Getrockneter weißer Ginseng aus Korea
4 jährige Haupt- und Nebenwurzel



Sesquiterpenbereich

Abb. 3-1: Gaschromatogramm des ätherischen Öls der weißen Ginseng-Wurzel (Foto)
X = Bereich der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe (roter Rahmen)
Y = Bereich der isolierten Verbindungen A (Panaxen) , B (Panaginsen) und C (Ginsinsen) (gestrichelter Rahmen)

Name	Ret.-Zeit (min.)	R.I.	Feinwurzeln (Handelsware W.-Typ 62754) Mono- und Sesquiterpen-Anteil in % (Enantiomeren-verhältnis %)	Feinwurzeln (Handelsware MB-Typ 87123) Mono- und Sesquiterpen-Anteil in %	Hauptwurzeln (Korea) Mono- und Sesquiterpen-Anteil in %
n-Heptanal	5,8	889	0,3		
α-Thujen	7,2	934	0,1	0,7	
α-Pinen (**81**)	7,5	943	1,9 ((–) : (+) = 65,3 : 34,7 %)		
Camphen (**103**)	8,0	956	0,4		
1-Octen-3-ol	8,9	969	0,1		
β-Pinen (**100**)	9,0	982	2,5 ((–) : (+) = 91,0 : 9,0 %)	1,0	1,0
2-Pentylfuran	9,5	987	0,3		
n-Octanal	9,51	989	1,1		
Myrcen (**104**)	9,6	991	0,3		
p-Cymen (**96**)	10,1	1020	0,2		
Limonen (**66**)	11,2	1031	0,6 ((+) : (–) = 83,6 : 16,4 %)	0,5	0,4
γ-Terpinen	12,8	1057	0,1		
2-Nonanon	13,5	1075	0,1		
Linalool	14,1	1089	0,6		
Campher	15,5	1128	0,1		
Menthon	16,2	1139	0,9		
Isomenthon	16,4	1148	0,2		
Borneol	16,6	1154	0,1		
Neomenthol	17,4	1161	0,5		
Terpinen-4-ol	17,5	1166	0,4		
α-Terpineol	18,1	1176	0,3		
Estragol	18,3	1178	0,2		
Thymolmethylether	20,1	1217	0,5		
Carvacrolmethylether	21,3	1227	0,3		
trans-Anethol (**89**)	22,3	1263	0,3	0,6	
Thymol	22,9	1267	0,2		
Carvacrol	23,2	1276	0,1		
Menthylacetat	23,3	1280	0,2		
(*E*,*E*)-2,4-Decadienal	23,7	1290	0,2		0,2
A (Panaxen)	24,4	1312	0,2	0,3	0,2
B (Panaginsen)	25,5	1336	0,7	0,9	0,6
C (Ginsinsen)	26,3	1353	1,9	2,4	1,7
β-Panasinsen (**21**)	27,5	1384	7,3	8,5	5,3
African-2-en (**19**)	27,9	1388	1,7	2,2	1,4
β-Elemen (**11**)	28,1	1390	1,5	0,8	
Pacifigorgia-1(6),10-dien (**62**)	28,3	1412	0,5	2,1	1,4
β-Maalien (**59**)	29,0	1416	0,5		
(*E*)-β-Caryophyllen (**28**)	29,2	1420	1,1		
Calaren (**12**)	29,3	1435	1,3		6,7
Selina-4(15),5-diene (**43**)	29,6	1440		5,9	
(*E*)-β-Farnesen (**46**)	29,9	1444	3,5	10,8	7,4
Valerena-4,7(11)-dien (**44**)	30,2	1450	0,6	5,7	4,3
α-Humulen (**31**)	30,6	1454	13,6		
α-Neocloven (überlagert) (**26**)	31,0	1455	4,8	12,3	13,5
2-epi-(*E*)-β-Caryophyllen (**29**)	31,3	1468	5,7	7,3	1,1
β-Neocloven (**27**)	31,8	1473	1,2	1,6	1,0

Name	Ret.-Zeit (min.)	R.I.	Feinwurzeln (Handelsware W.-Typ 62754) Mono- und Sesquiterpen-Anteil in % (Enantiomeren-verhältnis %)	Feinwurzeln (Handelsware MB-Typ 87123) Mono- und Sesquiterpen-Anteil in %	Hauptwurzeln (Korea) Mono- und Sesquiterpen-Anteil in %
β-Selinen (**42**)	32,1	1484	1,2		
Bicyclogermacren (**9**)	32,6	1492	4,5	9,2	20,4
δ-Cadinen (**56**)	33,7	1513	0,5		
Pacifigorgiol (**61**)	34,4	1531	0,4		
Elemol (**60**)	34,7	1543	0,5		
Spathulenol (**14**)	35,6	1564	6,2	5,6	2,9
Panasinsanol B (**23**)	36,0	1576	0,8	0,5	2,0
Humulenepoxid II (**58**)	36,8	1595	1,7	2,6	
Ginsenol (**24**)	37,5	1619	3,8	2,5	1,5
Summe (%)			78,5	84,0	72,8

Tabelle 3.4: Vergleich der Wasserdampfdestillate der Wurzeln des weißen Ginsengs aus Korea mit deutscher Handelsware (GC-Flächenprozente). Die Bestimmung der Enantiomere siehe Kap. 3.4.6.

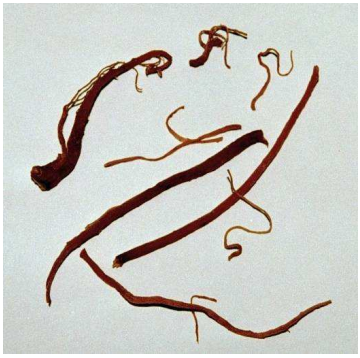
Die vergleichende Gaschromatographie der Handelswaren getrockneter Ginsengwurzeln (Tabelle 3.4) zeigte einen Monoterpenanteil (Bereich des RI von 600 bis 1290) von 13,0 % gegenüber 2,8 und 1,6 % bei dem ersten Muster der Feinwurzelware. Der Sesquiterpenanteil von 84,0 % (Handelsware Firma Martin Bauer - Feinwurzeln) fiel gegenüber 78,5 % (Handelsware Firma Worlee - Feinwurzeln) und 72,8 % in der untersuchten Ware der Hauptwurzeln etwas höher aus.

Dominant war in den Hauptwurzeln der hohe Anteil an Bicyclogermacren (**9**) mit 20,4 %, während in den Feinwurzeln Konzentrationen von 4,5 und 9,2 % zu finden waren. β-Panasinsen (**21**) war in allen Mustern mit einer Konzentration über 5 % zu registrieren. Im zweiten Feinwurzelmuster lag eine höhere Konzentration von (*E*)-β-Farnesen (**46**) (10,8 %) gegenüber den Hauptwurzeln mit 7,4 %, und 3,5 % der ersten Feinwurzeldroge vor. Die Sesquiterpenalkohole Spathulenol (**14**) und Ginsenol (**24**) waren in den Feinwurzeln in höherer Konzentration vorhanden als in den Hauptwurzeln, wobei hier Panasinsanol B (**23**) (0,8 / 0,5 zu 2,0) höher konzentriert war.

Das Polyacetylen Falcarinol (**4**) konnte im Gaschromatogramm der Feinwurzeln nachgewiesen werden (erstes Muster mit 3,8 %, zweites Muster 0,2 %). Unter den Pflanzenfettsäuren dominierte in allen Proben Hexadecansäure.

3.4.4 Roter Ginseng

Als „Roter Ginseng“ werden die frischen, vor dem Trocknen mit Wasserdampf überbrühten *P. ginseng*-Wurzeln bezeichnet. Vergleichend wurde eine Handelsware gaschromatographisch auf Veränderungen im Spektrum der Inhaltsstoffe - bedingt durch die Aufarbeitung gegenüber dem „weißen Ginseng“ - untersucht.



Rote *P. ginseng* Feinwurzeln

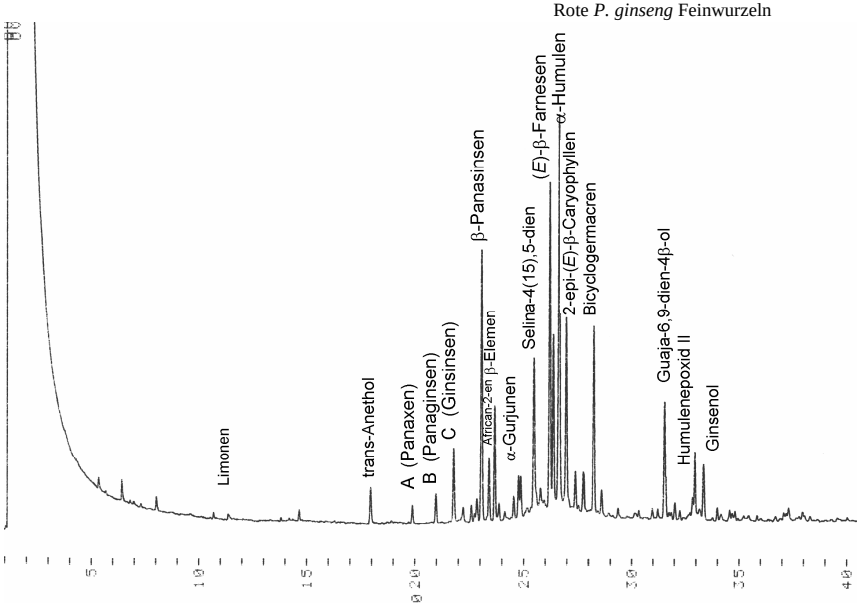


Abb. 3-14: Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillates von roten *Panax ginseng* Wurzeln (Foto)

(Säule: CPSil 5 CB, 25 m Kapillarsäule, 50 °C, 3 °C/min bis 230 °C, Injektor 200 °C, Detektor 250 °C, Trägergas Wasserstoff, 0,5 bar)

Name	Ret.-Zeit	Ret.index	Feinwurzel Mono- u- Sesquiterpenanteil in %
n-Nonan	6,0	912	0,4
M^+ 136, BP 57	7,1	945	0,4
β-Pinen (**100**)	9,8	984	0,4
M^+ 120, BP 105	10,0	993	0,3
M^+ 142, BP 57	10,4	1009	0,3
Limonen (**66**)	11,5	1032	0,5
n-Octansäure	13,9	1156	0,3
M^+ 154, BP 128	14,2	1168	0,3
Estragol	14,9	1180	0,4
trans-Anethol (**89**)	18,0	1265	1,4
A (Panaxen)	20,0	1315	0,7
B (Panaginsen)	21,0	1339	1,2
C (Ginsinsen)	22,1	1356	2,9
M^+ 204, BP 133	22,3	1366	0,6
M^+ 204, BP 189	22,5	1375	0,7
M^+ 204, BP 133	23,0	1380	1,0
β-Panasinsen (**21**)	23,2	1387	9,6
African-2-en (**19**)	23,3	1388	2,3
β-Elemen (**11**)	23,8	1391	3,8
M^+ 204, BP 133	24,5	1403	0,6
α-Gurjunen (**63**)	24,8	1415	1,1
M^+ 204, BP 91, 105	25,0	1423	1,6
Selina-4(15),5-dien (**43**)	25,6	1437	6,2
(*E*)-β-Farnesen (**46**)	26,0	1447	11,3
Valerena-4,7(11)-dien (**44**)	26,2	1452	5,6
α-Humulen (**31**)	26,4	1455	14,8
α-Neocloven (**26**)	26,7	1458	0,9
allo-Aromadendren (**16**)	26,8	1462	0,3
2-*epi*-(*E*)-β-Caryophyllen (**29**)	27,0	1469	6,9
β-Neocloven (**27**)	27,4	1475	1,7
β-Selinen (**42**)	27,7	1485	1,9
Bicyclogermacren (**9**)	28,2	1494	7,4
M^+ 202, BP 105	28,4	1503	0,2
M^+ 204, BP 161	29,2	1508	0,2
M^+ 204, BP 161	29,4	1515	0,4
Pacifigorgiol (**61**)	30,5	1533	0,6
M^+ 218, BP 151	31,0	1561	0,6
Guaia-6,9-dien-4-β–ol (**45**)	31,5	1566	3,5
M^+ 222, BP 151	31,8	1574	0,5
Globulol (**64**)	32,1	1584	0,3
M^+ 204, BP 91	32,2	1586	0,3
Humulenepoxid II (**58**)	33,0	1596	1,0
M^+ 222, BP 81	33,2	1602	1,5
Ginsenol (**24**)	33,5	1621	1,4
Summe			98,3 %

Tabelle 3.5: Auswertung flüchtiger Verbindungen im Wasserdampfdestillat von roten *P. ginseng* Feinwurzeln (Handelsware).

Im Roten Ginseng wurden als Hauptkomponenten (siehe Tabelle 3.5) α-Humulen (**31**) (14,8 %), (*E*)-β-Farnesen (**46**) (11,3 %), β-Panasinsen (**21**) mit 9,6 % und Bicyclogermacren (**9**) mit 7,4 % identifiziert. Der Gehalt an Bicyclogermacren (**9**) der untersuchten Drogen schwankte somit zwischen 15,1 % bei frischem Ginseng (sieheTabelle 3.3), sowie 9,2 und 4,5 % bei getrockneten Feinwurzeln (Tabelle 3.4) und 7,4 % bei der überbrühten roten Ginsengwurzel (Tabelle 3.5).

Auffällig war, dass der Gehalt an *allo*-Aromadendren (**16**) in der getrockneten und behandelten Droge in einer Konzentration von 0,3 Prozent vorlag, wo hingegen im frischen Ginseng (Tabelle 3.3) noch 7,8 % zu finden waren. Der hohe Gehalt an α-Humulen (**31**) (14,8 %) war nur mit einer Handelsware getrockneter weißer Feinwurzeln (Tabelle 3.4) (9,4 %) identisch, während (*E*)-β-Farnesen (**46**) (11,3 %) in ähnlicher Konzentration wie in der zweiten Feinwurzeldroge vorkam (Tabelle 3.4, Handelsware MB) (10,8 %). Der Gehalt an β-Panasinsen (**21**) mit 9,6 % blieb durch den Brühprozess unverändert gegenüber der getrockneten weißen Ware (7,3 und 8,5 %).

Weiter wurden Selina-4(15),5-dien (**43**) (6,2 %), 2-epi-(*E*)-β-Caryophyllen (**29**) (6,9 %) und Valerena-4,7(11)-dien (**44**) (5,6 %) als Verbindungen mit einem Gehalt größer als 5 % identifiziert.

3.4.5 Amerikanischer Ginseng (*Panax quinquefolium* L.)

Amerikanischer Ginseng ist im Habitus nicht vom *P. ginseng* zu unterscheiden. Die Wuchshöhe ist mit 25 - 50 cm[22] etwas kleiner als *P. ginseng* für den 50 – 70 cm angegeben werden. Die Wildvorkommmen von *P. quinquefolium* beschränken sich auf das nördliche Amerika. Da er heutzutage angebaut und nach China und Korea exportiert wird, ist auch hier die Frage nach den Unterscheidungen der Handelsdrogen relevant.

Mit dem Gaschromatogramm des Wurzelöls von *P. quinquefolius* (Abb. 3-15) wurde ein Pflanzenmaterial mit gesicherter Herkunft untersucht und mit einer Ware (Abb. 3-16) verglichen, die auf einem Markt in Peking gekauft worden war.

Auffällig bei dem authentischen amerikanischen Ginseng waren die hohen Konzentrationen von n-Octansäure (6,1 %) und Nonansäure (4,0 %), während die Sesquiterpene Calaren (**12**) (5,0 %), β-Panasinsen (**21**) (4,7 %), β-Bisabolen (**36**) (3,1 %) und Humulenepoxid II (**58**) (3,3%) als Hauptkomponenten dieser Verbindungsklasse identifiziert werden konnten. Betrachtet man das Gaschromatogramm im Bereich β-Panasinsen (**21**) und Calaren (**12**) (Abb. **3-15**), sind hier geringe Mengen an Sesquiterpenkohlenwasserstoffe zu finden, wo hingegen oxygenierte Sesquiterpene im weiteren Verlauf des Chromatogrammes vermehrt auftreten.

Die für die Isolierung gesuchten neuen Kohlenwasserstoffe A, B und C aus *P. ginseng* waren auch im *P. quinquefolium* zu finden. Jedoch waren sie in geringerer Konzentration vorhanden und ihr Verhältnis zueinander unterschied sich im Vergleich zu dem Untersuchungsgut von *P. ginseng.*

Das Gaschromatogramm der Abb. 3-16 ähnelt dem Gaschromatogramm eines *Panax ginseng* Öls (Abb. 3-13) im Bereich der Sesquiterpene (unterer Bereich der Abb. 3-13, zwischen 24 – 33 min, bei entsprechenden GC-Bedingungen), wobei das typische Bild der Substanzen Panaxen (A), Panaginsen (B) und Ginsinsen (C) fehlt, was auf eine Vermischung von Wurzeln verschiedener Ginseng-Arten hindeutet.

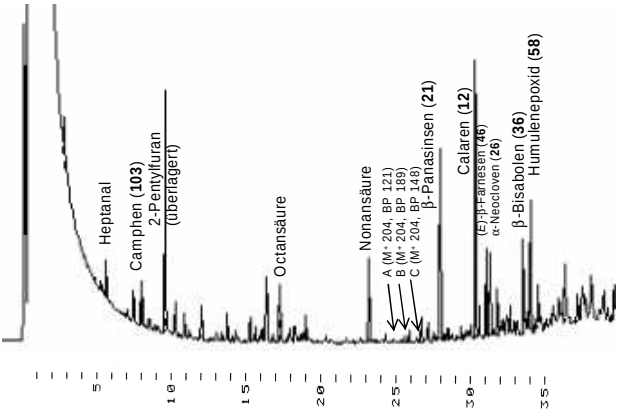


Abb. 3-15: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *P. quinquefolium* L.
(Drogenmaterial mit gesicherter Herkunft, Typ 87126, Lieferant M. Bauer, siehe 8.9.1),

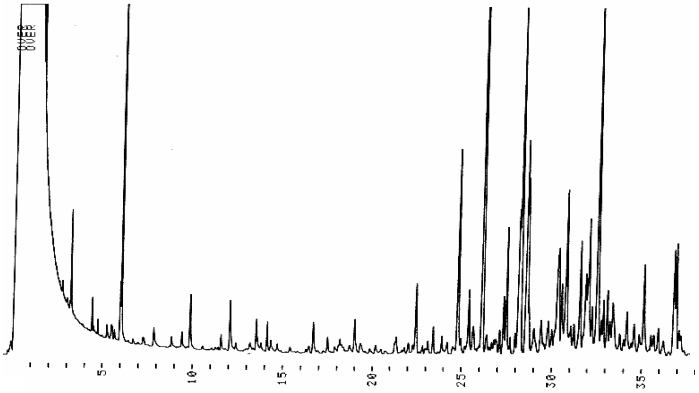


Abb. 3-16 Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *P. quinquefolium* L.
(gepulvertes Material auf einem Markt in Peking, China, gekauft).

(Die Gaschromatogramme der Abb. 3-15 und 3-16 sind an unterschiedlichen Geräten aufgenommen, jeweils Säule: CPSil 5 CB, 25 m Kapillarsäule, 50 °C, 3 °C/min bis 230 °C, Injektor 200 °C, Detektor 250 °C, Trägergas: Wasserstoff, 0,5 bar, Auswertung mittels GC-MS.)

Name	Ret.index	Flächenprozente im GC
2-Heptanon	895	0,5
n-Heptanal	905	1,4
α-Pinen (**81**)	943	Spur
(*E*)-2-Heptenal	949	1,5
Camphen (überlagert) (**103**)	965	1,6
1-Hepten-3-on	972	0,6
6-Methyl-5-hepten-2-on	979	0,8
2-Pentylfuran	994	1,4
M^+ 110, BP 41, 57, 84	998	2,8
M^+ 152, BP 109	1014	0,8
p-Cymen (**96**)	1027	1,1
(*E*)-2-Octenal	1044	1,3
M^+ 150, BP 91	1051	1,4
1-Octanol	1063	1,1
2-Nonanon	1080	2,6
n-Nonanal	1092	1,4
Methyl octanoat	1114	1,9
cis-Verbenol	1134	0,7
M^+ 152, BP 109	1137	1,5
(*E*)-2-Nonenal	1142	0,8
m/z 134, BP 59, 94	1154	1,9
Borneol	1158	2,0
n-Octansäure	1176	6,1
M^+ 166, BP 81	1186	0,3
n-Decanal	1189	0,3
(*E,E*)-2,4-Nonadienal	1191	0,2
Methyl nonanoat	1209	0,5
M^+ 152, BP 55	1220	1,0
(*E*)-2-Decenal	1241	0,9
n-Nonansäure	1260	4,0
M^+ 180, BP 95	1271	1,5
(*E,E*)-2,4-Decadienal	1292	1,0
M^+ 162, BP 85	1320	1,3
A (Panaxen)	1331	Spur
B (Panaginsen)	1339	0,2
α-Cubeben	1352	0,9
C (Ginsinsen)	1356	0,3
m/z 173, BP 85	1361	0,9
M^+ 204, BP 133	1365	1,3
α-Copaen (**87**)	1380	0,9
β-Panasinsen (**21**)	1386	4,7
M^+ 204, BP 162	1389	0,7
Calaren (**12**)	1435	5,0
M^+ 202, BP 111	1439	1,2
(*E*)-β-Farnesen (**46**)	1445	1,3

α-Neocloven (überlagert) (**26**)	1455	3,4
β-Neocloven (**27**)	1472	1,1
m/z 161, BP 103	1475	2,0
M^+ 220, BP 147	1483	1,1
β-Bisabolen (**36**)	1498	3,1
m/z 182, BP 57, 84	1507	3,3
δ-Cadinen (**56**)	1514	2,0
α-Calacoren (**65**)	1529	1,1
Guaia-6,9-dien-4β-ol (**45**)	1565	2,0
m/z 182, BP 57, 84	1507	2,2
Humulenepoxid II (**58**)	1595	3,3
Cubenol (**88**)	1629	1,3
Summe		91,2 %

Tabelle 3.6: Auswertung des Gaschromatogramms des Wasserdampfdestillates einer Handelsware amerikanischer Ginseng-Feinwurzel.
(Ware mit gesicherter Herkunft (MB), siehe 8.9.1) (siehe Abb. 3-15) im Bereich der Mono- (44,9 %) und Sesquiterpene (46,3 %)

3.4.6 Enantiomerentrennung von *Panax ginseng*-Inhaltsstoffen

Die Trennung der Enantiomere wurde am Beispiel der Monoterpene α-, β-Pinen und Limonen aus den Feinwurzeln des *P. ginseng* (Abb. 3-13; Tabelle 3.4) durchgeführt. Die Fraktionen wurden bei der Aufarbeitung der zu isolierenden Kohlenwasserstoffe A, B und C durch präparative GC-Trennung (Abb. 3-19 B – Fraktion 1) erhalten (Abb. 3-18).

- α-Pinen (**81**)

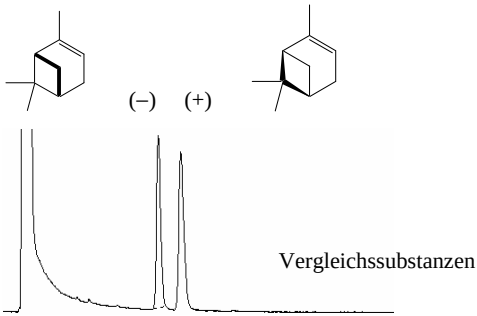


Abb. 3-17: α-Pinen Enantiomere[11]
Säule: 6-Me-2,3-di-Pe-β-CD,
Temp.: 30°C, 20 min isotherm, Trägergas: Wasserstoff, 50 kPa, konst. Druck

Das α-Pinen (**81**) aus der Handelsprobe (Tabelle 3.4) weist ein Verhältnis seiner Enantiomere von (S) : (R) = 65,3 : 34,7 % auf. Der α-Wert beträgt (R) : (S) = 1,200.

- β-Pinen (**100**)

Die Trennung des Racemates von β-Pinen (**100**) in seine Enantiomere ergab einen Wert von (S) : (R) = 91,0 : 9,0 %, wobei ein α-Wert = (R) : (S) = 1,156 auf einer 6-Me-2,3-di-Pe-β-CD-Säule erzielt werden konnte. Bei GC-Bedingungen (30° C, 20 min isotherm, Rate 1° C/ min.) eluierten die Enantiomere bei ca. 21 und 24 min., wobei die genaue Erfassung der Retentionzeit durch Co-Injektion mit Standardlösungen festgelegt wurde.

- Limonen (**66**)

(–)-(*S*)-Limonen (+)-(*R*)-Limonen

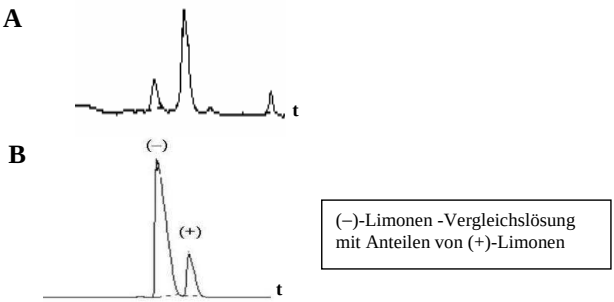


Abb. 3-18 A: GC-Trennung der Isomeren von Limonen (**66**) aus Ginseng
B: Vergleichslösung (–)-Limonen mit einem Anteil (+)-Limonen.
Säule: 6-Me-2,3-di-Pe-β-CD, Temp: 35°C, 30 min iso, 1°C/min, - 160°C
Trägergas: Wasserstoff, (50 kPa, konst. Druck.)

Die durch Co-Injektion abgesicherte Bestimmung des Enantiomerenverhältnisses[11] von Limonen (**66**) in Feinwurzeln von *P. ginseng* ergab einen Wert von (R) : (S) = 83,6 : 16,4 %. Der bei der Trennung erzielte α-Wert betrug α =(R) : (S) = 1,062.

3.5 Isolierung neuer Inhaltsstoffe von *Panax ginseng*

Im ätherischen Öl der Wurzeln von *Panax ginseng* war eine Gruppe unbekannter Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe enthalten (s. Abb. 3-12, Tabelle 3.3), deren Isolierung und Strukturaufklärung Aufgabe dieser Arbeit war.

Die Isolierung aus dem ätherischen Öl oder dem Soxhlet-Extrakt gelang mittels einer Vortrennung in unpolare und polare Fraktionen über eine Kieselgelsäule mit Pentan, Pentan – Ethylacetat-Gemischen bis hin zu Ethylacetat (100 %). Die Fraktionierung des Pentanextraktes zeigte durch die kontrollierend durchgeführten Gaschromatogramme, dass in den ersten 50 ml des aufgefangenen Eluats die gesuchten Substanzen enthalten waren.

Die Lösung wurde unter Vakuum reduziert und zur weiteren Auftrennung durch präparative Gaschromatographie portionsweise auf eine gepackte SE 52 – Säule gegeben.

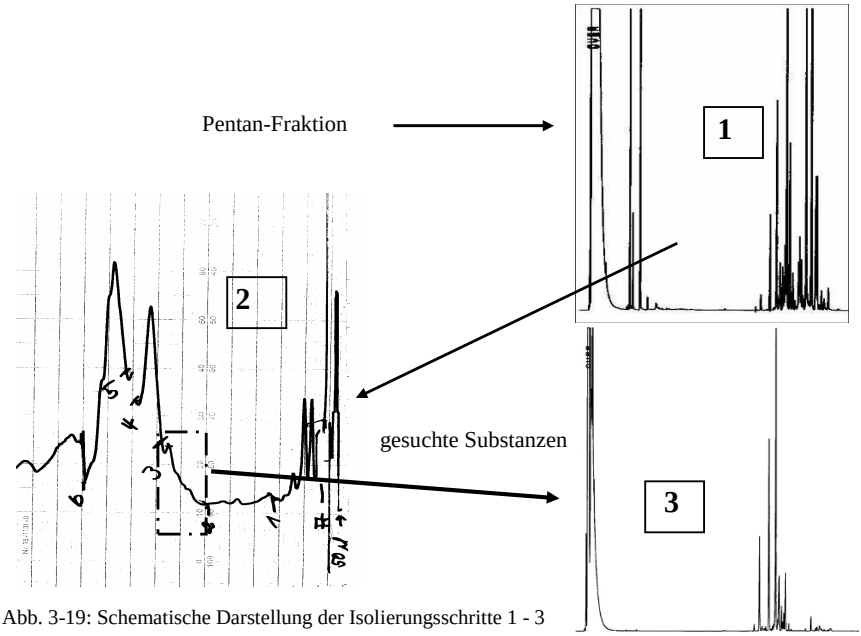


Abb. 3-19: Schematische Darstellung der Isolierungsschritte 1 - 3

1: Gaschromatogramm der Pentanfraktion nach der Kieselgeltrockensäulenchromatographie (GC-Säule: CPSil 5 CB, 50 °C, 3 °C/min bis 230 °C)
2: präp.GC Varian 1440, gepackte SE 52-Säule (ca. 2 m an Chromasorb W-HP), 90 °C, 2 °C/min – 150 °C
3: analyt. GC (GC-Säule: CPSil 5 CB, 50 °C, 3 °C/min bis 230 °C) der präparativen GC (SE 52) – Bereich 2-3 (Rahmen)

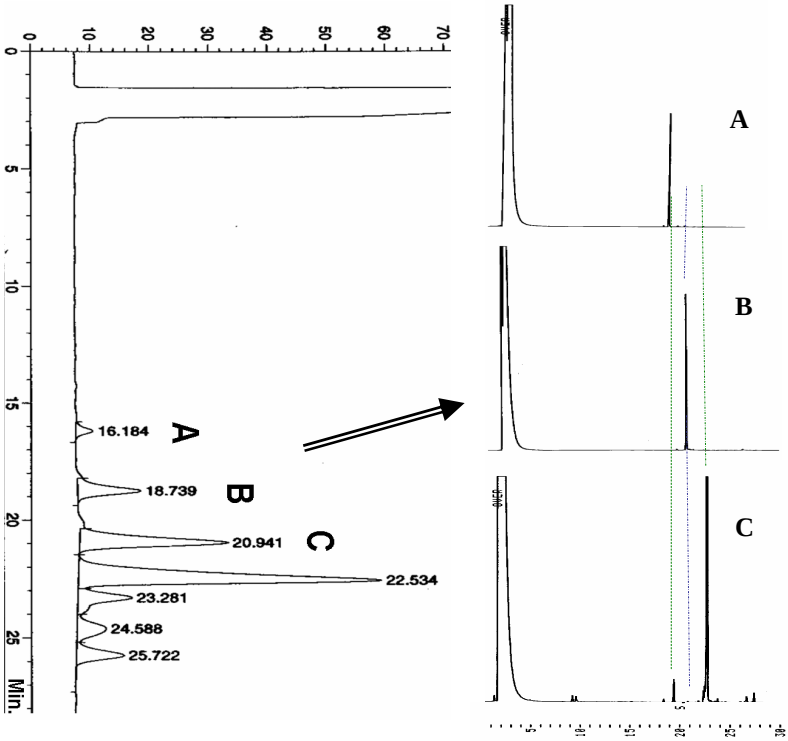


Abb. 3-20: Präp. GC HP 6890, Megabor DB 1-Säule (155 °C, isotherm) (linke Seite).
Analytisches GC zur Kontrolle der Reinheit der isolierten Substanz A, B und C mit einer GC-Reinheit über 95 % (rechte Seite).

Der aufgefangene Bereich der Fraktion 2 (Abb. 3-19 2, Rahmen 2-3) wurde gaschromatographisch weiter durch eine präparative DB 1-Megabor-Säule getrennt (Abb. 3-20 (linke Seite)). Die in gekühlten Fallen gesammelten Fraktionen A, B und C (Abb. 3-20) wurden in deuteriertem Benzol aufgenommen und konnten so als in hoher Reinheit isolierte Substanzen (Abb. 3-20 (rechte Seite)) zur Durchführung von NMR-Experimenten genutzt werden. Die Auswertung der entsprechenden Daten führte zur Strukturaufklärung (Kap. 3.6).

3.6 Strukturaufklärung

Die Strukturen von drei über mehrere Zwischenschritte isolierten (Abb. 3-19 und Abb. 3-20) unbekannten Sesquiterpenkohlenwasserstoffen aus dem ätherischen Öl von *P. ginseng* Wurzeln wurden aufgrund der massenspektrometrischen und kernresonanzspektroskopischen Daten zugeordnet und deren relative Konstitution aufgeklärt. Die Substanzen wurden Panaxen, Panaginsen und Ginsinsen genannt.

3.6.1 Panaxen

(A)

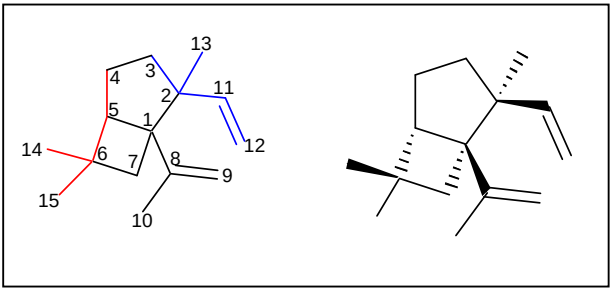


Abb. 3-21: (1 *R**, 2 *S**, 5 *S**)-2-Ethenyl-1(1-methylethenyl)-2,6,6-trimethyl bicyclo[3.2.0]heptan

Die Grundstruktur von Panaxen (A) entspricht nur zum Teil dem Bauprinzip für Sesquiterpene aus Isopren-Einheiten (Abb. 3-21, farbige Darstellung (rot und blau)) mit einer Kopf - Schwanz Verknüpfung.

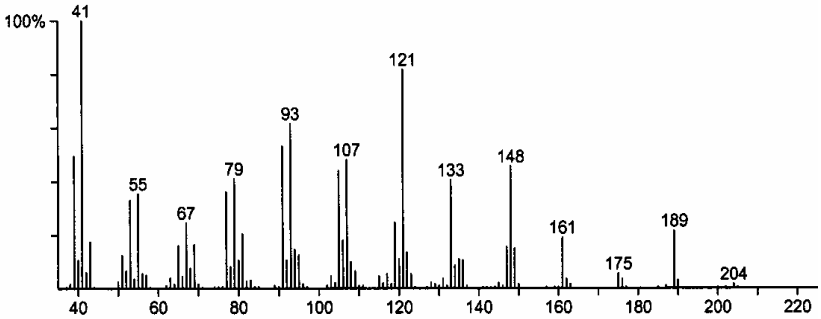


Abb. 3-22: Massenspektrum von Panaxen aus dem ätherischen Wurzelöl von *P. ginseng* (EI, 70 eV)

Die massenspektrometrisch bestimmte Summenformel $C_{15}H_{24}$ ([M^+] = *m/z* 204) (Abb. 3-22) wurde der neuen isolierten Komponente A (Abb. 3-20) zugeordnet und liefert den Ausgangspunkt für die Strukturaufklärung des Panaxens.

Aufgrund der im Massenspektrum entstandenen Fragment-Ionen lassen sich mögliche Teilstrukturen entwickeln, wobei eine Methylabspaltung an C-6, bzw. C-2, bedingt durch die quartären Kohlenstoffe zu erwarten ist. Die Methylgruppe an C-2 befindet sich dazu in allylischer Stellung. Selten ist in Sesquiterpenen ein Fragment-Ion mit m/z = 148 zu finden, welches hier jedoch mit einer relativen Intensität von 50 % auftritt.

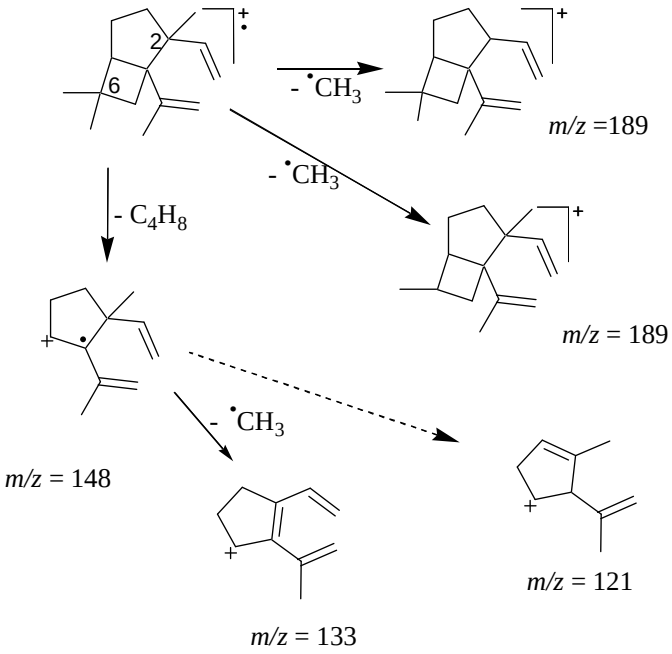


Abb. 3-23: Mögliche Fragmentierung des Panaxens mit postulierten Ionenstrukturen

Das ^{1}H-NMR-Spektrum von Panaxen zeigt vier Singuletts für Methylgruppen. Drei von ihnen weisen Resonanz bei hohem Feld (δ 0,81, 1,03 und 1,15) auf, während eine olefinische Methylgruppe bei δ 1,68 tieffeldverschoben ist.

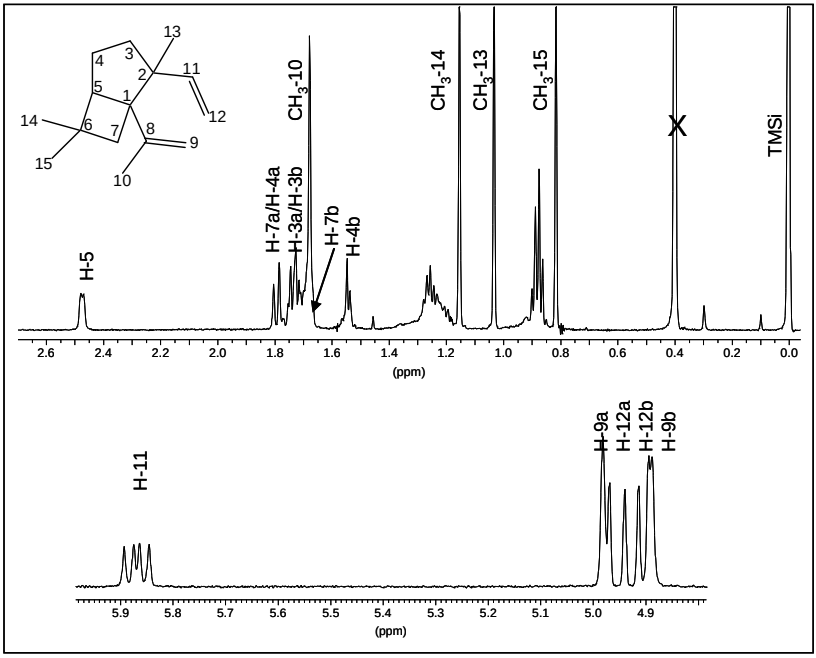
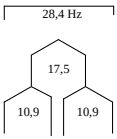


Abb. 3-24: ^{1}H NMR-Spektrum von Panaxen

Das Spektrum (Abb. 3-24) zeigt 5 olefinische Protonen (δ 5,86, 4,97, 4,95, 4,90 und 4,88) aus deren Kopplungsmuster sich eine Vinylgruppe und eine exo-Methylengruppe ableiten lassen. Die Kopplungskonstanten des Protones **H-11** (δ 5,86) mit *J* 10,9 Hz deutet auf eine vicinale Kopplung zu einem weiteren Proton in *cis*-Stellung, wohingegen die Kopplungskonstante *J* 17,5 Hz für eine *trans*-Stellung (laut Tabelle 11-18 Hz) spricht. Die Aufspaltung der Protonen zwischen δ 4,95 und 4,90 sprechen durch ihre Kopplungskonstanten um *J* 1,6 Hz für eine geminale und



mit *J* 10,9 Hz für eine vicinale *cis*-, und mit *J* 17,5 Hz für eine vicinale *trans*- Kopplung (Abb. 3-25).

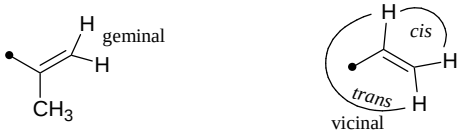


Abb. 3-25: Teilstruktur einer geminalen ^{2}J-Kopplung mit *J* = 1,6 Hz und vicinaler ^{3}J-Kopplung mit *J* = 10,9 Hz für *cis*- und *J* = 17,5 Hz für *trans-Kopplung.*

Ein tieffeldverschobenes Proton bei δ 2,47 (H-5) spricht für ein Methinproton.

Das ^{13}C NMR (Abb. 3-26) bestätigt vier Methylgruppen bei δ 18,5, 21,2, 23,7 und 31,4 sowie eine Vinylgruppe (δ 150,0 (s), 111,6 (t) ppm) und eine exo-Methylengruppe (δ 144,8 (d), 109,5 (t) ppm). Darüberhinaus sind drei Methylenkohlenstoffe (δ 24,6, 40,5, 42,7 ppm) und ein Methin-Kohlenstoff (δ 50,5) zu sehen. Sieht man ab von einem quartären Kohlenstoff bei δ 30,2 ppm, verbleiben noch 2 quartäre Kohlenstoffe aufgrund der durch das MS-Spektrum ermittelten Summenformel von $C_{15}H_{24}$, die durch Kopplungen im HMBC-Spektrum (Abb. 3-29) zu finden sind.

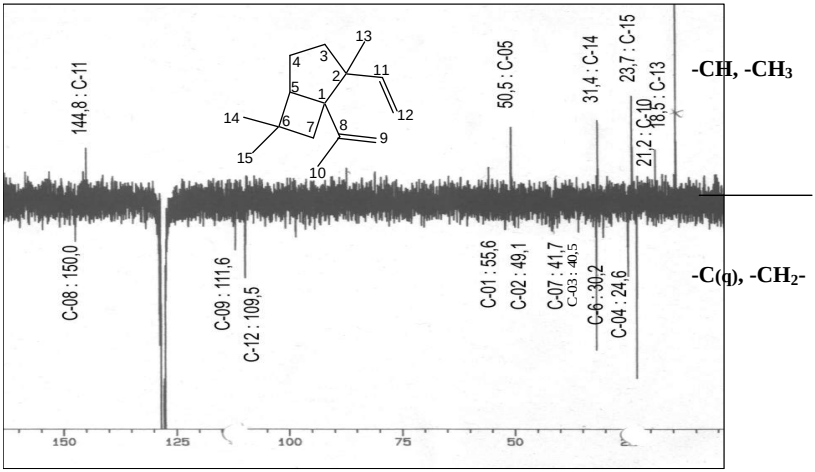


Abb. 3-26: ^{13}C-NMR-PENDANT-Spektrum von Panaxen

Die Auswertung des HMQC-Spektrums (Abb. 3-27), bei dem die direkte ^{1}H-^{13}C-Verknüpfung ermittelt wurde, ergab die Teilstrukturen (Abb. 3-28), die zur weiteren Aufstellung der Konstitutiuon des Moleküls mit den Daten aus dem HMBC-Spektrum (Abb. 3-29) ergänzt wurden.

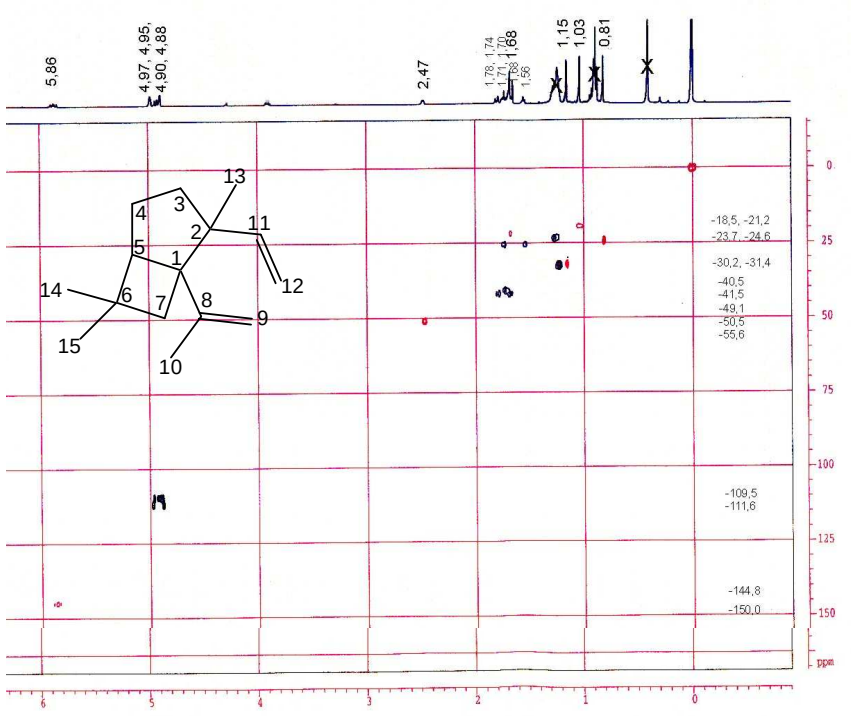


Abb. 3-27: HMQC-Spektrum von Panaxen

Panaxen				
Kohlenstoff	^{13}C (ppm)	^{1}H-a (ppm)	^{1}H-b (ppm)	HMBC-Kopplungen
C-01	55,6			H-13, H-4b, H-10, H-7a, H-9a, H-9b
C-02	49,1			H-13, H-4b, H-7a, H-12b, H-12a
C-03	40,5	1,71 (*m*, 1 H)	1,70 (*m*, 1 H)	H-13
C-04	24,6	1,74 (*m*, 1 H)	1,56 (*m*, 1 H)	
C-05	50,5	2,47 (*d*, 1 H (*J* = 5,4))		H-15, H-14, H-7b
C-06	30,2			H-15, H-14,H-4b, H-4a, H-7a
C-07	41,5	1,78 (*d*, *J* = 12,0)	1,68 (*m*, 1 H)	H-15, H-14
C-08	150,0			H-10, H-7a
C-09	111,6	4,97 (*m*, 1 H)	4,88 (*m*, 1 H)	H-10
C-10	21,2	1,68 (*s*, 3 H)		H-9a, H-9b
C-11	144,8	5,86 (*dd*, 1 H (*J* = 10,9, 17,5 Hz))		H-13, H-12a
C-12	109,5	4,95 (*dd*, 1H (*J* = 1,51,17,5))	4,90 (*dd*, 1 H (*J* = 1,6, 10,9 Hz)	H-13
C-13	18,5	1,03 (*s*, 3 H)		H-11
C-14	31,4	1,15 (*s*, 3 H)		H-15, H-7a
C-15	23,7	0,81 (*s*, 3 H)		

Tabelle 3.7*:* ^{1}H-^{13}C-Korrelationen von Panaxen, die sich aus den HMQC- und HMBC-Kopplungen ergeben.

Diese Informationen, ergänzt mit den ^{1}H-^{1}H-COSY-Korrelationen, ergeben folgende Teilstrukturen.

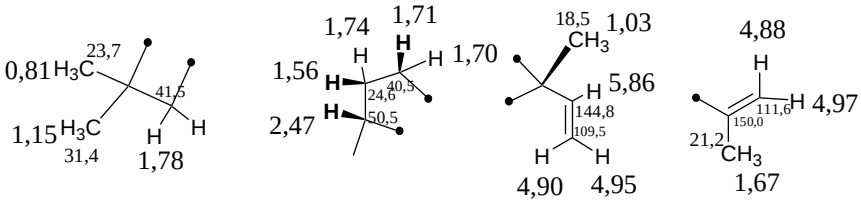
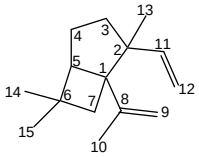


Abb. 3-28: Teilstrukturen von Panaxen aus dem ^{1}H-^{1}H-COSY-Experiment

Das HMBC Spektrum (Abb. 3-29) bestätigt die Korrelation zweier geminaler Methylgruppen mit einem quartären Kohlenstoff (δ 30,2, **C-6**; 1,15, 31,4, **CH$_3$-14**; 0,81, 23,7, **CH$_3$-15**) sowie mit einem tertiären Kohlenstoff (δ 2,47, 50,5, **C-5**), welcher mit zwei Methylengruppen (δ 1,56-1,74, 24,6, **C-4**; 1,70-1,71, 40,5, **C-3**) in Wechselbeziehung steht. Anderenseits ist der

Kohlenstoff C-6 mit einer Methylengruppe (δ 1,68-1,78, 41,5, **C-7**) verbunden, gefolgt von einem quartären Kohlenstoff (δ 55,6, **C-1**), die zusammen mit C-5 einen Cyclobutanring bilden. Die Korrelation der Methylgruppe (δ 1,03, 18,5, **CH_3-13**) mit der Methylengruppe C-3 (δ 1,71-1,70, 40,5) und mit den quartären Kohlenstoffen C-2 (δ 49,0) und C-1 (δ 55,6) beschreibt vor dem Hintergrund, dass C-1 und C-5 verbunden sind, einen Cyclopentanring.

C-2 ist mit zwei olefinischen Kohlenstoffen (δ 4,90-4,95, 109,5, **C-12**; 5,86, 144,8, **C-11**) verbunden. C-1 zeigt eine Verbindung mit zwei weiteren olefinischen Kohlenstoffen (δ 150, **C-8**; 4,88-4,97, 111,6, **C-9**). Das C-8 Kohlenstoffatom koppelt mit der vierten Methylgruppe, die tieffeldverschoben ist (δ 1,68, 21,2, **C-10**).



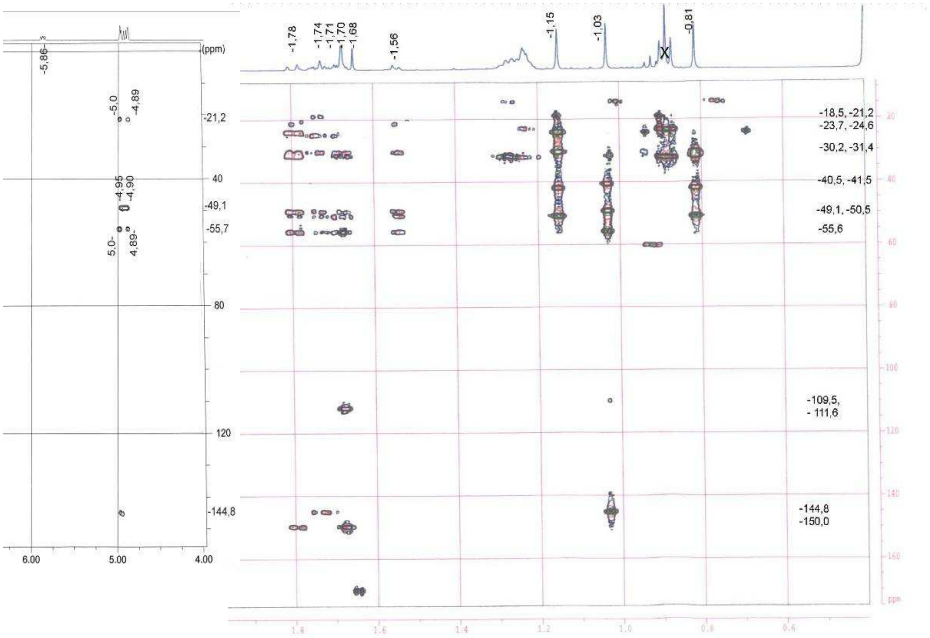


Abb. 3-29: HMBC-Spektrum von Panaxen

Die Auswertung des ^{1}H-^{1}H-NOESY-Spektrums ergibt die relative Konfiguration der Verbindung (Abb. 3-21).

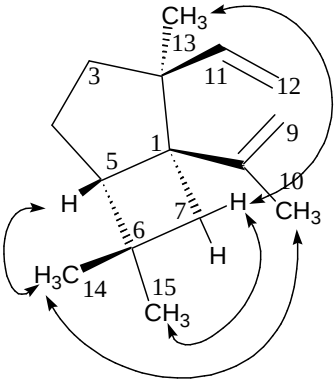
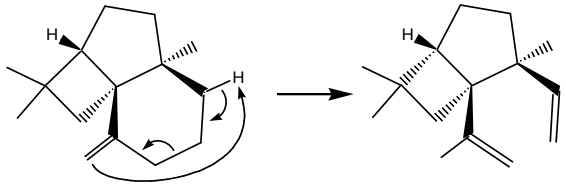


Abb. 3-30: Das ^{1}H-^{1}H-NOESY-Spektrum bestimmt die relative Konfiguration der Struktur des Panaxens als (1*R**, 2 *S**, 5 *S**)-2-Ethenyl-1(1-methylethenyl)-2,6,6-trimethylbicyclo[3.2.0]-heptan

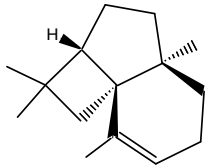
Die Auswertung des ^{1}H-^{1}H-NOESY Spektrums (Abb. 3-30) zeigt die Korrelation des Methin-Protons H-5 mit den Protonen der Methylgruppe C-14 und ein Signal zu denen der Mehylgruppe C-10. Das Proton H-7a wiederum zeigt Kopplungen zu den Protonen der Methylgruppen C-15 und C-13. Beides spricht dafür, dass sie auf einer Ebene liegen. Das fehlende Signal zwischen H-5 und der Methylgruppe C-15 deutet auf eine *trans*-Konfiguration dieses Protons hin. Die Interaktion der Protonen der Methylgruppe C-13 mit H-12a ist ein Hinweis auf *cis*-Konfiguration zwischen H-11 und H-12b hin. Aus diesem Grund weist die Substanz (1*R**, 2*S**, 5*S**)-Konfiguration auf (Abb. 3-30). Es ergibt sich so für Panaxan (A) die Struktur für das bereits in Abb. 3-21 gezeigte (1 *R**, 2 *S**, 5 *S**)-2-Ethenyl-1(1-methylethenyl)-2,6,6-trimethylbicyclo[3.2.0]-heptan.

Es ist denkbar, dass es sich bei dem neuen Kohlenwasserstoff Panaxen (**A**) um ein Umlagerungsprodukt des bereits bekannten β-Panasinsens (**21**) handelt (Abb. 3-31). Dessen Struktur ist in unmittelbarem Zusammenhang mit dem α-Isomer zu sehen.



β-Panasinsen (**21**)
(−)-Isomer

Panaxen (A)



α-Panasinsen (**20**)
(−)-Isomer

Abb. 3-31: Panaxen in strukturellem Zusammenhang mit α- und β-Panasinsen.

3.6.2 Panaginsen

Panaginsen (**B**)

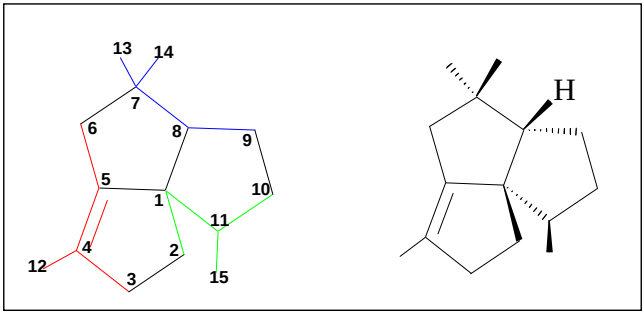


Abb. 3-32: Panaginsen ist (1 *S**, 8 *S**, 11 *R**)-4,7,7,11-Tetramethyl-tricyclo[6.3.0.0^{1,5}]undec-4-en mit den Isopren-Einheiten in farbiger Darstellung.

Das abgebildeten Massenspektrum (Abb. 3-33) ist das der bis dahin unbekannten Verbindung Panaginsen (B) (Abb. 3-20, Komponente B), für die sich eine Molmasse von 204 g/mol und ein Basispeak von 189 *m/z* ergaben. Die Masse 204 macht auch hier eine Summenformel von $C_{15}H_{24}$ wahrscheinlich.

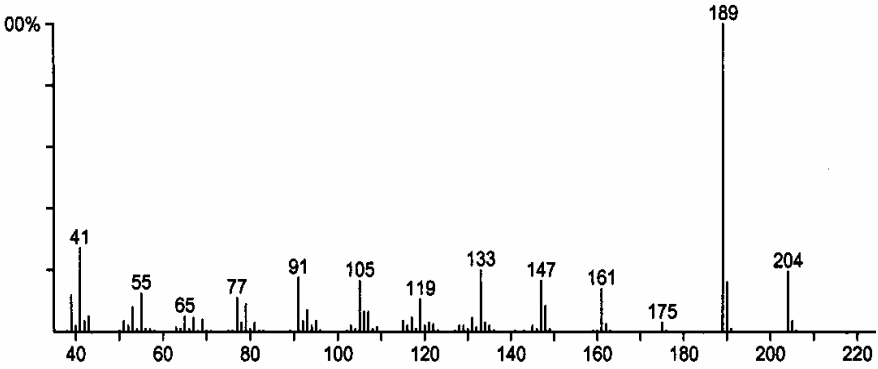
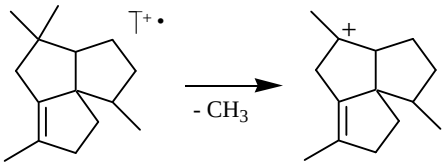


Abb. 3-33: Massenspektrum von Panaginsen (GC-MS, EI 70 eV)

Der Basispeak der Masse m/z = 189 (Abb. 3-33) entsteht durch eine Methylgruppenabspaltung (Abb. 3-34). Die weiteren Fragmente liegen unter 35 % der relativen Intensität im Vergleich zum Basispeak.



m/z 204 *m/z* 189

Abb. 3-34: Mögliche Struktur des Basisions von Panaginsen (**B**) bei *m/z* 189

Die Strukturaufklärung des in deuteriertem Benzol aufgenommenen Panaginsens wurde mit Hilfe der NMR-Technik durchgeführt. Dazu ergab die Betrachtung des ^{1}H-NMR Spektrums (Abb. 3-35) drei Signale für Methylgruppen als Singulett bei δ 0,89, 0,97 und 1,68 ppm. Bei δ 1,68 ppm wurde eine olefinische Methylgruppe (**C 12**) sichtbar. Das Signal bei δ 0,99 zeigt eine Methylgruppe als Dublett (J = 7 Hz) an sekundärer Position.

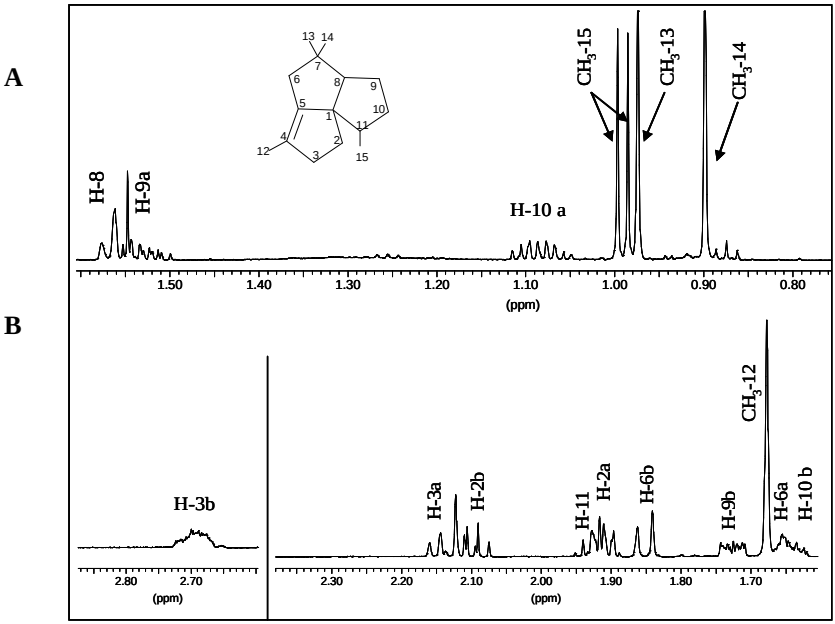


Abb. 3-35: ^{1}H-NMR Spektrum von Panaginsen (**B**)
unterteilt in A: Bereich 0,8 - 1,6 ppm und B: Bereich 1,6 – 2,8 ppm

Während das Proton im Bereich von δ 1,1 ppm (**H-10a**) (Abb. 3-35) eine gute Auflösung zeigt, sind die Signale anderer Protonen überlagert (δ 1,62 ppm, **H-10b**, 1,66 ppm, **H-6a**), bzw. zeigen ein breites Signal im tieffeldverschobenen Bereich um δ 2,7 ppm (**H-3b**).

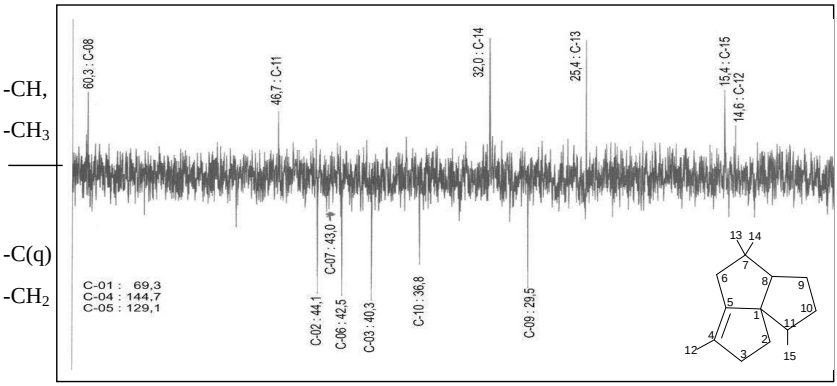


Abb. 3-36: ^{13}C-NMR-PENDANT-Spektrum von Panaginsen (ppm, in C_6D_6)

Das ^{13}C-NMR-PENDANT-Spektrum (Abb. 3-36) zeigt vier primäre Kohlenstoffe bei δ 14,6, 15,4, 25,4, 32,0 ppm, fünf sekundäre Kohlenstoffe bei δ 29,5, 36,8, 40,3, 42,5 und 44,1 ppm, zwei tertiäre (δ 46,7, 60,3 ppm) und ein quartäres Kohlenstoffatom (δ 43,0 ppm). Die durch die Summenformel $C_{15}H_{24}$ sich ergebenen nicht sichtbaren zwei Kohlenstoffe werden durch die Korrelationen im HMBC-Spektrum deutlich.

Die Auswertung des HMQC-Spektrums (Abb. 3-37) ergab 5 Methylengruppen (δ 29,5, **C-9**; 36,8, **C-10**; 40.3, **C-3**; 42,5, **C-6**; 44,1, **C-2**) und zwei Methingruppen (δ 46,7, **C-11**; 60,3, **C-8)** (Tabelle 3.8).

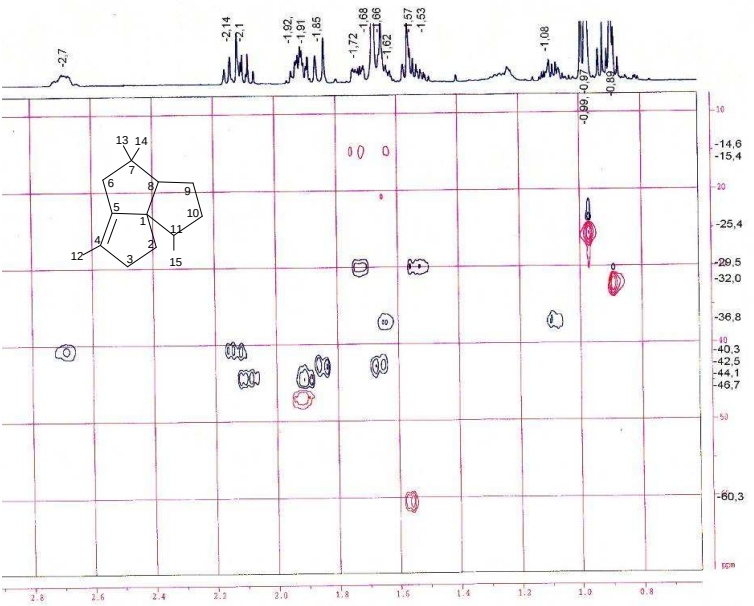


Abb. 3-37: HMQC-Spektrum von Panaginsen

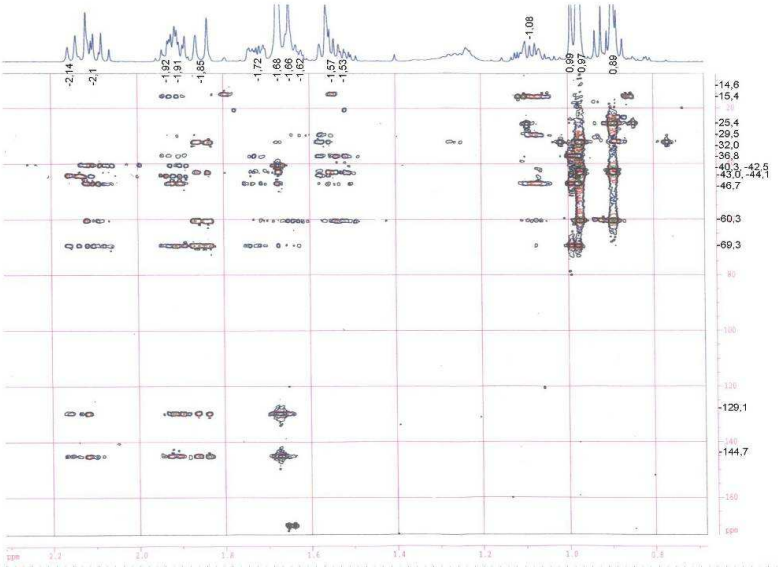


Abb. 3-38: HMBC-Spektrum von Panaginsen

Kohlen -stoff	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)		HMBC-Kopplungen
C-01	69,3			H-15, H-6b
C-02	44,1	1,91 (1 H)	2,1 (1 H)	H-11, H-3a
C-03	40,3	2,14 (1 H)	2,7 (1 H)	H-12, H-2b
C-04	144,7			H-12, H-2a, H-2b, H-6b,
C-05	129,1			H-12, H-2a, H-2b, H-6b,
C-06	42,5	1,66 (1 H)	1,85 (1 H)	H-13, H-14,
C-07	43,0			H-13, H-14,
C-08	60,3	1,57 (1 H)		H-13, H-14, H-9a, H-6b
C-09	29,5	1,53 (1 H)	1,72 (1 H)	
C-10	36,8	1,08 (sept, 1 H)	1,62 (1 H)	H-13
C-11	46,7	1,92 (1 H)		H-15, H-10a, H-2a, H-2b
C-12	14,6	1,68 (s, 3 H)		
C-13	25,4	0,97 (s, 3 H)		H-14
C-14	32,0	0,89 (s, 3 H)		H-13, H-6b,H-8
C-15	15,4	0,99 (d, 3 H (J = 6,9 Hz)		H-10a, H-11

Tabelle 3.8: ^{1}H-^{13}C-Korrelationen, die sich aus den Daten der HMQC- und HMBC-Spektren ergeben.

Das HMBC-Spektrum (Abb. 3-38) zeigt, dass zwei geminale Methylgruppen an ein quartäres Kohlenstoffatom gebunden sind (δ 43,0, **C-7**; 0,97, 25,4, **C-13**; 0,89, 32,0, **C-14**). An dieses quartäre C-Atom binden auf der einen Seite ein tertiäres Kohlenstoffatom (δ 1,57, 60,0, **C-8**) und auf der anderen Seite eine Methylengruppe (δ 1,66-1,85, 42,5, **C-6**). Hier schließt sich eine Doppelbindung (δ 129,1, C-5, 144.7, **C-4**) an, gefolgt von zwei Methylengruppen (δ 2,14-2,7, 40,3, **C-3**; 1,91-2,10 und 44,1, **C-2**). Die Verbindung des C-2 Kohlenstoffatoms zu dem quartären C-1 Kohlenstoffatom (δ 69.3) schließt einen Cyclopentanring.

Die tieffeldverschobene Singulett-Methylgruppe (δ 1,68, **C-12**) ist an das C-4 Atom (δ 144,7) gebunden. Die Dublett-Methylgruppe C-15 (δ 0,99, J = 6.9 Hz), verbunden mit dem Methin-Kohlenstoff (δ 1,92 und 46,7, **C-11**) und zwei sich anschließenden Methylen-Gruppen (δ 1,08-1,62, 36,8, **C-10**; 1,53-1,72 und 29,5, **C-9**), vervollständigen die tricyclische Struktur durch die Verbindung von C-9 mit C-8.

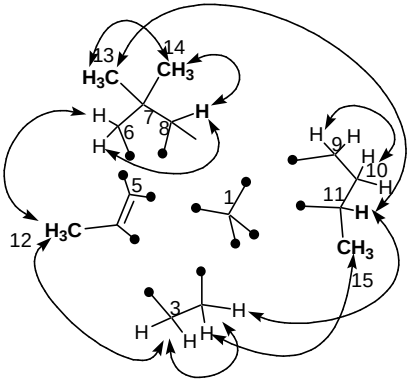


Abb. 3-39: ^{1}H-^{1}H-COSY-Spektrum von Panaginsen (in C_6D_6, 600 MHz mit Cryo-Kopf)

Das ^{1}H-^{1}H-COSY-Spektrum zeigt deutlich die Resonanzen vicinaler Protonen (Abb. 3-39) mit den geminalen Protonen (δ 1,53, 1,72, **H-9**, δ 1,08, 1,62, **H-10**), während die Resonanzen der geminalen Protonen (δ 1,91, 2,1, **H-2**, δ 2,14, 2,7, **H-3**) durch die Nähe zur Doppelbindung Verschiebungen in den Tieffeldbereich erfahren.

Die aus diesen Daten resultierende Struktur von Panaginsen ist ein 4,7,7,11-Tetramethyl-tricyclo[6.3.0.0^{1,5}]undec-4-en.

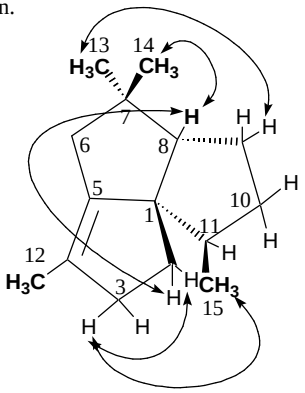


Abb. 3-40: Die ^{1}H-^{1}H-NOESY-Korrelationen von Panaginsen (in C_6D_6, 500 MHz)

Die ergänzenden Daten des NOE-Experimentes (Abb. 3-40) bestätigen die bereits in Abb. 3-32 gezeigte relative Konfiguration von Panaginsen (**B**): Das Proton H-9b zeigt Kopplungen zu der Methylgruppe H-13. Bei dem Proton H-2b konnte eine Korrelation mit dem Methinproton H-8 sowie mit der Methylgruppe H-14 festgestellt werden. Die Methylgruppe H-15 koppelt mit H-3b. Aus dieser Beobachtung kann geschlossen werden, dass sich C-11 in *trans*-Position zu H-8 und C-9 zu C-2 befinden muß (Abb. 3-40).

Aus diesem Grund besitzt Panaginsen (1 *S**, 8 *S**, 11 *R**)-Konfiguration.

3.6.3 Ginsinsen

Ginsinsen (**C**)

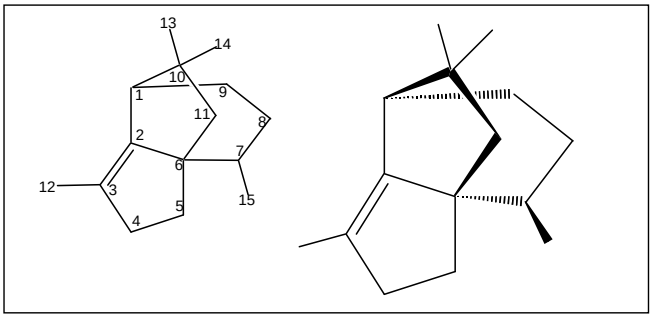


Abb. 3-41: Ginsinsen ist (1 *R**, 6 *R**, 7 *R**)-3,7,10,10-Tetramethyl-tricyclo[4.3.2.$0^{2,6}$]undec-2-en

Die für die Aufklärung der Struktur wichtige Kenntniss der Molmasse konnte aus dem aufgenommenen Massenspektrum (Abb. 3-42) der mittels präparativer GC isolierten Substanz erlangt werden. Das Spektrum zeigt ein Molekülion von *m/z* 204 und lässt somit auf eine Summenformel von $C_{15}H_{24}$ schließen. Auffällig ist der Basispeak von *m/z* 148, der für Massenspektren der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe recht selten ist.

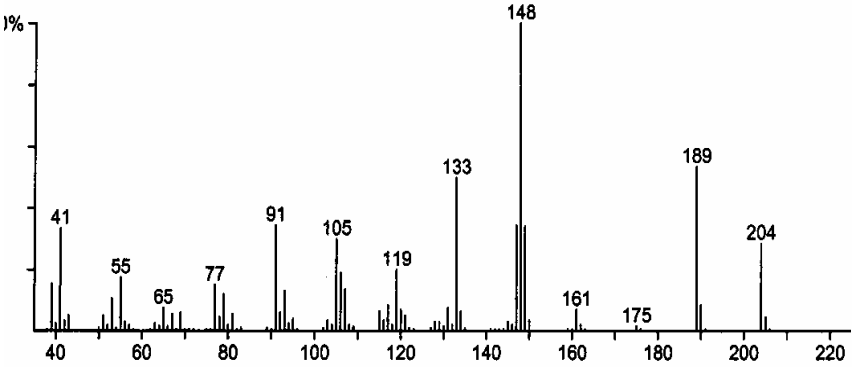


Abb. 3-42: MS-Spektrum von Ginsinsen (**C**) (EI, 70 eV)

Mögliche Teilstrukturen durch Fragmentierungen der Verbindung im MS von Ginsinsen sind in der Abb. 3-43 aufgeführt. Auffällig sind neben dem Fragment bei m/z 148 die relativ intensiven Signale bei m/z 189 (M-15) und m/z 133 (m/z 148-15), die auf gute Stabilisierung an quartärer Position in Allyl- oder Homoallylstellung hinweisen.

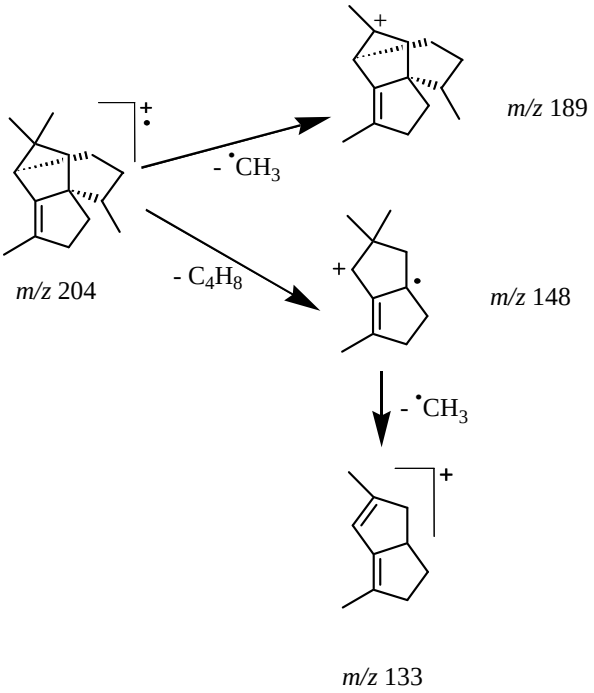


Abb. 3-43: Mögliche Fragmentierung des Ginsinsens (**C**) mit postulierten Ionenstrukturen

Zur Strukturaufklärung werden im Weiteren NMR-spektroskopische Daten verwendet.

Das ^{1}H-NMR Spektrum von Ginsinsen (Abb. 3-44) zeigt vier Methylgruppen an. Drei Singulett-Signale liegen bei δ 0,99, 1,07 und bei δ 1,65, welches deutlich tieffeldverschoben auf eine olefinische Methylgruppe hinweist. Ein Dublett-Signal bei δ 0,81 ppm spricht für eine sekundäre Methylgruppe.

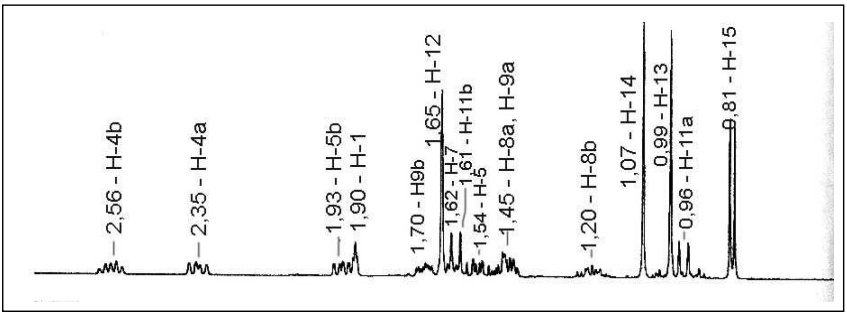


Abb. 3-44: ^{1}H-NMR von Ginsinsen (**C**) (ppm)

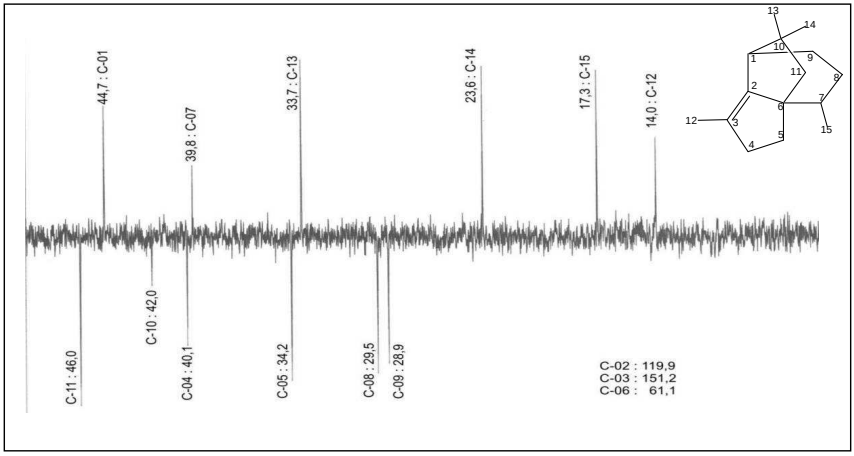


Abb. 3-45: ^{13}C-PENDANT-Spektrum von Ginsinsen (ppm).
Das Spektrum zeigt positive Signale für -CH, -CH_3, sowie negative für –C_q und –CH_2 Strukturelemente an.

Im ^{13}C-Spektrum (Abb. 3-45) sind vier primäre Kohlenstoffe bei δ 14,0, 17,3, 23,6 und 33,7, zwei tertiäre Kohlenstoffe (δ 39,8, 44,7), sowie fünf sekundäre (δ 28,9, 29,5, 34,2, 40,1, 46,0) und ein quartäres Kohlenstoff (δ 42,0) zu sehen. Die aus der Summenformel $C_{15}H_{24}$ abzuleitenden, im Spektrum (Abb. 3-45) nicht sichtbaren Signale für drei C-Atome entsprechen quartären Kohlenstoffen, wobei zwei olefinisch sind. Sie zeigen sich erst im HMBC-Spektrum (Abb. 3-48).

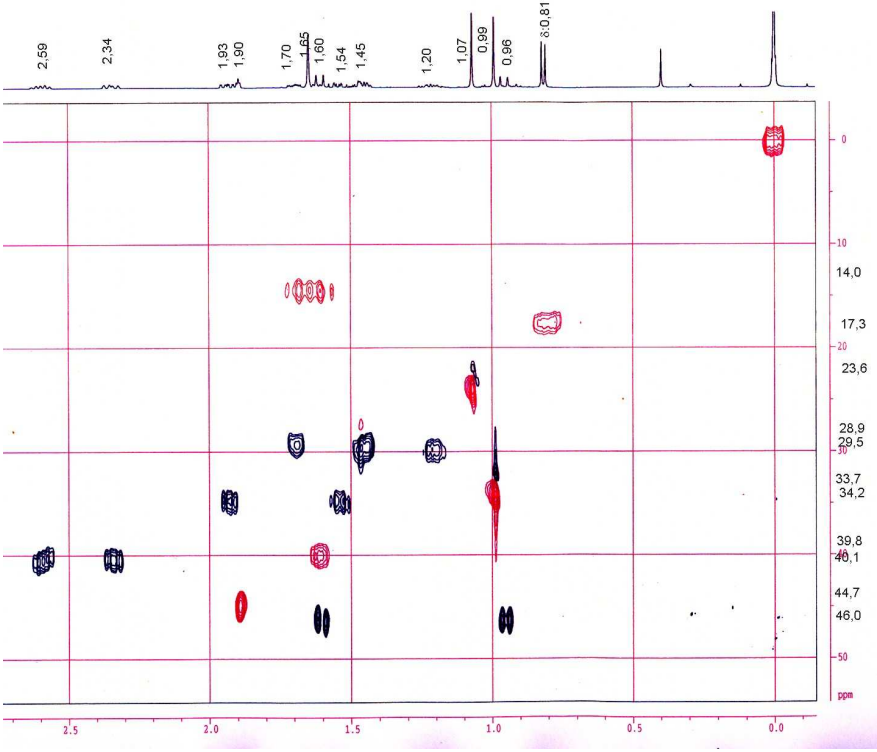


Abb. 3-46: HMQC-Spektrum von Ginsinsen (**C**)

Das zweidimensionale HMQC (Abb. 3-46) zeigt neben den vier Methylgruppen (δ 0,81, *J* = 6,6 Hz, 17,3, **C-15**, 0,99, 33,7, **C-13**, 1,07, 23,6, **C-14** und 1,65, 14,0, **C-12**) fünf Methylengruppen an (δ 1,45-1,70, 28,9, **C-9**; 1,20-1,45, 29,5, **C-8**; 1,54-1,93, 34,2, **C-5**; 2,35-

2,56, 40,1, **C-4**; 0,96-1,61, 46,0, **C-11**) und zwei Methingruppen (δ 1,62, 39,8, **C-7**; 1,90, 44,7, **C-1**).

Erste Strukturhinweise liefert das ^{1}H-^{1}H-COSY-Spektrum.

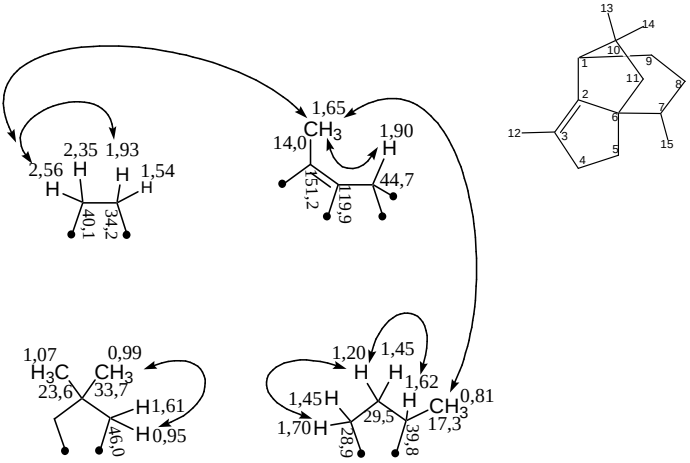


Abb. 3-47: Teilstrukturen aus den Korrelationen des ^{1}H-^{1}H-COSY-Spektrums.

Die Betrachtung der Signale des ^{1}H-^{1}H-COSY-Spektrums führen zu Teilstrukturen (Abb. 3-47). Deutliche Signale werden durch die Kopplungen der Methylengruppen H-4 (δ 2,35, 2,56), H-5 (δ 1,93, 1,54) mit der Methylgruppe C-12 (δ 1,65, 14,0) aufgezeigt. Diese zeigt wiederum zu der Methylgruppe (δ 0,81, J = 6,6 Hz) Resonanz. Durch die Kopplung der Methylgruppe (δ 0,81, J = 6,6 Hz) mit dem Proton der Methingruppe (δ 1,62, 39,8, **C-7**) ist die Aufspaltung des Signales zum Dublett erklärbar. Das Signal für das Proton bei δ 1,20 zeigt deutlich dessen Nähe zu der Methylengruppe (δ 1,45, 1,70, 28,9, **C-9**), sowie zum Proton der Methingruppe (δ 1,90, 44,7 **C-1**). Die Signale der Methylengruppe (δ 0,95, 1,61, 46,0, **C-11**) zur Methylgruppe (δ 0,99, 33,7, **C-13**) sind infolge der ^{4}J-Kopplung schwächer.

Weitere Informationen liefert das zweidimensionale HMBC-Spektrum.

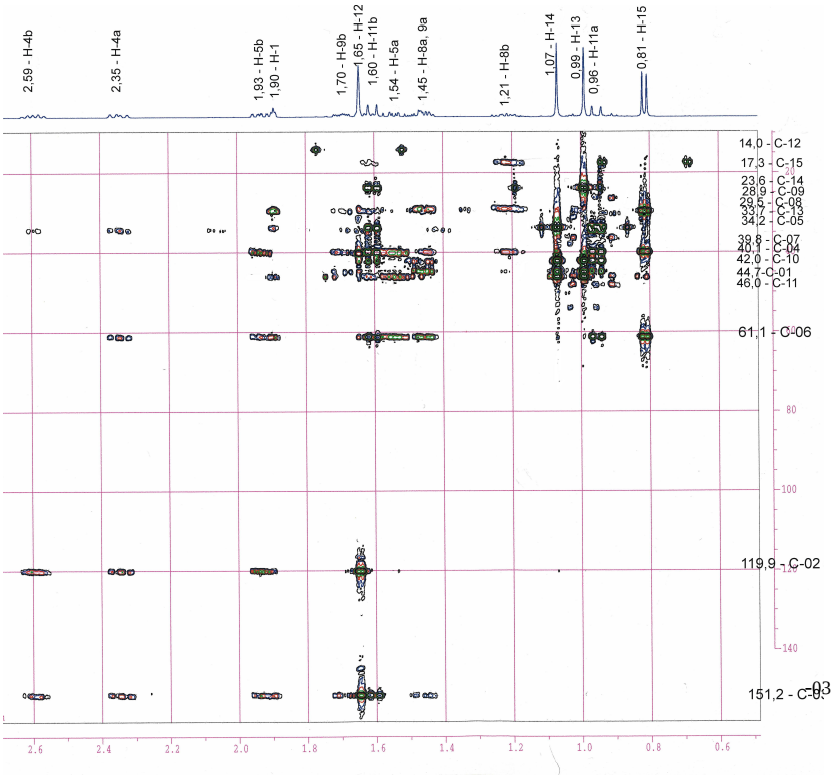


Abb. 3-48: HMBC-Spektrum von Ginsinsen

Das HMBC-Spektrum (Abb. 3-48) zeigt die Anwesenheit einer Doppelbindung (δ 151,2, 119,9 ppm) und zweier quartärer Kohlenstoffe (δ 61,1, 42,0), wobei der Kohlenstoff bei δ 61,1 im ^{13}C-NMR-Spektrum nicht zu sehen war (Tabelle 3.9). Im zweidimensionalen HMBC wird sichtbar, dass zwei geminale Methylgruppen mit einem quartären Kohlenstoff (δ 42,0, **C-10**; 0,99, 33,7, **C-13**; 1,07, 23,6 ppm, **C-14**) koppeln (Abb. 3-48). Im Anschluss an dieses quartäre Kohlenstoffatom zeigt sich auf der einen Seite eine Methylengruppe (δ 0,96-1,61, 46,0, **C-11**) und auf der anderen ein tertiärer Kohlenstoff (δ 1,9, 44,7 ppm, **C-1**), wobei der letzte mit einer Doppelbindung (δ 119,9, **C-2**, 151,2 ppm, **C-3**) verbunden ist. Eine tieffeldverschobene Methylgruppe koppelt mit diesem C-3-Atom, gefolgt von zwei Methylengruppen (δ 2,35-2,56 und 40,1, **C-4**; 1,54-1,93 und 34,2, **C-5**). Von diesem C-5

Kohlenstoffatom erfolgt die Verbindung zum quartären Kohlenstoff **C-6** (δ 61,1 ppm) sowie zu **C-11** (δ 46,0 ppm).

Zwei Fünfringe (Abb. 3-47) werden durch **C-6** und **C-2** als Brückenköpfe geschlossen. Die Methylgruppe **C-15** (δ 0,81 ppm, *J* = 6,6 Hz), gefolgt von der Methingruppe (δ 1,62, 39,8 ppm, **C-7**) und von zwei Methylengruppen (δ 1,20-1,45, 29,5 ppm, **C-8**; 1,45-1,70, 28,9 ppm, **C-9**), komplettieren die tricyclische Struktur dieser Substanz durch die Verbindung von **C-9** zum Methinkohlenstoff **C-1**.

Ginsinsen				
Kohlen-stoff	^{13}C (ppm)	^{1}H (ppm)		HMBC-Kopplungen
C-01	44,7	1,90 (t, 1 H)		H-11a, H-13, H-14
C-02	119,9			H-12, H-1, H-4a, H-4b
C-03	151,2			H-12, H-1, H-4a, H-4b
C-04	40,1	2,35 (m, 1 H)	2,56 -	
C-05	34,2	1,54 (m, 1 H)	1,93 (m, 1 H)	H-4a, H-4b
C-06	61,1	-		H-15, H-11a, H-11b, H-8a, H-5a, H-5b
C-07	39,8	1,62 (m, 1 H)		H-8b, H-15, H-11a
C-08	29,5	1,45 (m, 1 H)	1,20 (m, 1 H)	H-15
C-09	28,9	1,45 (m, 1 H)	1,70 (m, 1 H)	H-8b
C-10	42,0	-		H-11a, H-13, H-14
C-11	46,0	0,96 (d, 1 H)	1,61 (m, 1 H)	H-14, H-13, H-15
C-12	14,0	1,65 (s, 3 H)		
C-13	33,7	0,99 (s, 3 H)		
C-14	23,6	1,07 (s, 3 H)		H-13, H-11a, H-8b
C-15	17,3	0,81 (d, 3 H, *J* = 6,6 HZ)		H-11a, H-8b, H-7

Tabelle 3.9: ^{1}H/^{13}C-Korrelationen von Ginsinsen (**C**)

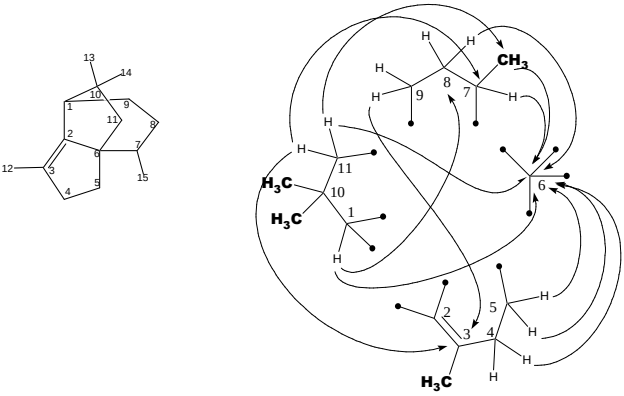


Abb. 3-49: Wichtige Korrelationen aus dem HMBC-Spektrum von Ginsinsen

Die aus diesen Daten resultierende Struktur zeigt für Ginsinsen ein 3,7,10,10-tetramethyl-tricyclo[4.3.2.$0^{2,6}$]undec-2-en.

Die relative Konfiguration von Ginsinsen erhält man aus den Daten des ^{1}H,^{1}H-COSY- und NOE-Experimentes. Deutlich ist der Korrelationspeak des Signals der Methylgruppe **C-15** (δ 0,81, 17,3 ppm) mit dem **H-5**b-Signal (δ 1,93, 34,2 ppm) zu sehen. Die Intensität der Kopplung zwischen dem Proton **H-1** (δ 1,90, 44,7 ppm) und den Protonen der Methylgruppe **H-13** (δ 0,99, 33,7 ppm) ist höher als mit denen der Methylgruppe **H-14** (δ 1,07, 23,6 ppm). Daraus kann man schließen, dass, wie bereits in Abb. 3-41 gezeigt, bei Ginsinsen (1 *R**, 6 *R**, 7 *R**)-Konfiguration vorliegt (Abb. 3-50).

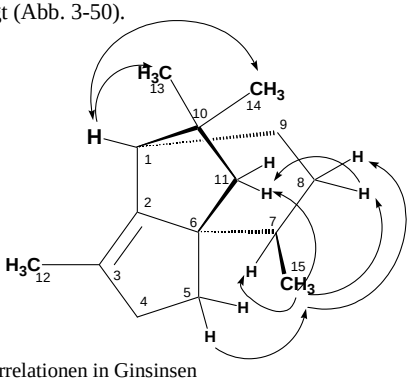


Abb. 3-50: ^{1}H,^{1}H-NOESY-Korrelationen in Ginsinsen

4 „Sibirischer Ginseng" – *Eleutherococcus senticosus* Maxim.

Die Wurzel von *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., auch als Taigawurzel und Stachelpanax-Wurzel im Deutschen (chinesisch Ciwujia) bezeichnet, findet in der gleichen Weise wie Ginseng als Adaptogen[59] Verwendung. Das Arzneibuch der chinesischen Medizin[60] gibt eine vermehrende und kräftigende, Energie zuführende und sedierende Wirkung an. Entsprechende Indikationen sind allgemeine Körperschwäche und Kraftlosigkeit, sowie Schwäche und Schmerzen in den Lenden und Kniegelenken.

Die Gattung *Eleutherococcus* Maxim. gehört zur Familie der Araliaceae und umfasst ca. 30 Arten[61] Morphologisch ist die Pflanze aber nicht mit den Ginseng-Arten zu verwechseln, da die Wurzel im Gegensatz zu Ginseng keine anthropomorphe Gestalt aufweist. Ähnlicher sind da schon die fünf ungleich großen Blätter, die fingerförmig an einem etwa 10 cm langen Stiel stehen. Die Blüten sind einfache Dolden (weibliche Blüten gelb, männliche blauviolett). Im Herbst entwickeln sich daraus schwarze Beeren[62].

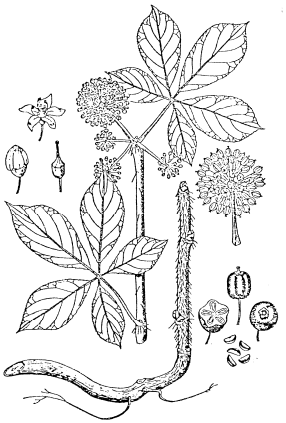


Abb. 4-1: Blühender Zweig mit fünfzählig gefingerten Blättern – Lit New Scientist 1980

4.1 Inhaltsstoffe der Wurzel (Literatur)

Die ersten isolierten Inhaltsstoffe wurden zunächst allgemein als Eleutheroside bezeichnet und unterschieden sich durch den Zusatz der Buchstaben A bis G. Es handelte sich aber nicht um eine chemisch einheitliche Gruppe wie bei den Ginsenosiden. Das Europäische Arzneibuch[63] lässt in der Taigawurzel-Monographie die Identität der Wurzel und deren Gehalt an den Eleutherosiden B und E bestimmen.

Eleutheroside (Eleutherokokk-Inhaltsstoffe (Farnsworth u.a., 1985)[64])

A Daucosterol (β-Sitosterol-3-O-β-D-glucosid) (**68**)

B Syringin (Sinapinalkoholglucosid) – Hauptwirkstoff (**70**)

B_1 Isofraxidin-7-O-α-L-glucosid (**72**)

B_2 Chromonderivat (nicht näher identifiziert)

B_3 Cumarinderivat (nicht näher identifiziert)

B_4 (–) Sesamin (**73**)

C Methyl-α-D-Galaktosid

D (–) Syringaresinol-di-O-β-D-glucosid (**76**)

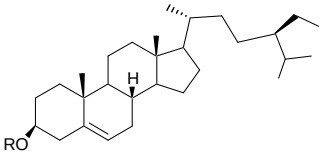
E verschiedene Kristallformen von Eleutherosid D (2. Hauptwirkstoff) (**75**)

F, G unbekannte Glykoside in geringer Menge

I, K, L, M Oleanolsäureglykoside aus Blättern, zu denen auch die nicht näher identifizierten Oleanolsäureglykoside zählen, die auch als Senthicoside A-F[64] oder Ciwujianoside A_{1-4}, B, C_{1-4} sowie D_{1-3} und E [65, 66] bezeichnet werden. (78)

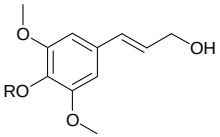
In der Wurzel schwankt der Gesamteleutherosid-Gehalt zwischen 0,6 und 0,9 Prozent. Jahreszeitlich betrachtet, findet man die höchsten Werte im Mai und Oktober, die niedrigsten im Juli. Die unterschiedlichen klimatischen Bedingungen im Verbreitungsgebiet der Arzneipflanze fördert die Ausbildung von mehreren Chemotypen.[67]

Sterole



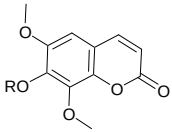
β-Sitosterol R = H (**67**)
Eleutherosid A = Daucosterol R = Glc (**68**)

Phenylpropanoide:



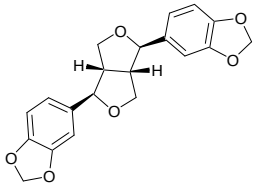
Syringin R = H (**69**)
Eleutherosid B R = Glc (**70**)

Cumarine:

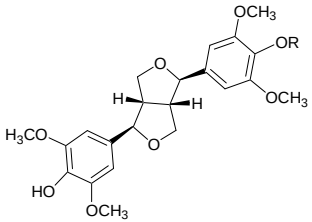


Isofraxidin R = H (**71**)
Eleutherosid B_1 R = Glc (**72**)

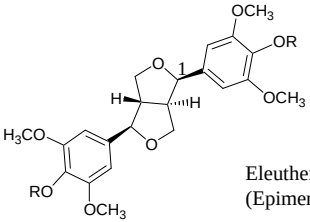
Lignane



Eleutherosid B_4 (= (–)-Sesamin) (**73**)



(+)-Syringaresinol R = H (**74**)
Eleutherosid E_1 R = Glc (**75**)

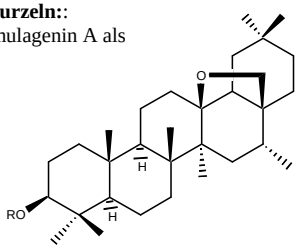


Eleutherosid D (E) R = Glc
(Epimer) (**76**)

Abb. 4-2: Strukturformeln der Eleutheroside

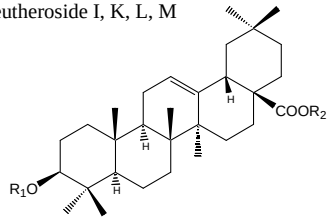
Triterpensaponin mit Oleanolsäure-Grundgerüst)[68]

in den **Wurzeln:**:
Protoprimulagenin A als Aglykon
R = H



(**77**)

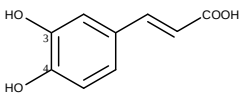
in den **Blättern:**
Eleutheroside I, K, L, M



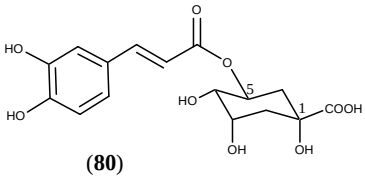
(**78**)

	R_1	R_2
Oleanolsäure	-H	-H
Eleutherosid I (= Mussein B)	α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara-(1→)-	-H
Eleutherosid K (= β-Hederin)	α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara-(1→)-	-H
Eleutherosid L	α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara-(1→)-	α-L-Rha-(1→4)-β-D-Glc-(1→6)-β-D-Glc-(1→)
Eleutherosid M (= Hederasaponin B)	α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara-(1→)-	α-L-Rha-(1→4)-β-D-Glc-(1→6)-β-D-Glc-(1→)

Abb. 4-3: Strukturformeln der Eleutheroside mit Oleanolsäuregrundgerüst



(**79**)



(**80**)

Abb. 4-4: Phenylpropanoide (Kaffee- (**79**) und Chlorogensäure (**80**) (ein Ester mit Chinasäure)

Die Arbeitsgruppe um Hikino[69] isolierte sieben Polysaccharide (auch Eleutherane A bis G genannt) aus einem wässrigen Wurzelextrakt. Durch saure Hydrolyse wurden sie in ihre Zuckerbestandteile zerlegt und die Reihenfolge der Verknüpfungen bestimmt. Die anschließenden pharmakologischen Untersuchungen zeigten für alle sieben Verbindungen eine hypoglykämische Aktivität.

4.2 Gaschromatographische Untersuchungen

4.2.1 Vergleichende gaschromatographische Untersuchung verschiedener Handelspräparate

In der Literatur gab es bisher keine Angaben zum ätherischen Öl von *Eleutherococcus senticosus*. Eigene Untersuchungen umfassten 3 Proben der Taigawurzel, aus denen sechzig Komponenten des ätherischen Öls identifiziert werden konnten.

Abb. 4-5: Wurzel von *E. senticosus* Maxim.

Die erste Probe kam aus Ländern der russischen Föderation, während die anderen aus China stammten. Die untersuchten Wasserdampfdestillate wurden mittels GC und GC/MS untersucht und mit Daten aus einer Spektrenbibliothek[58] verglichen, die unter identischen experimentellen Bedingungen entstanden war.

Als Hauptkomponenten der ersten Probe (russische Föderation) (siehe Abb. 4-6, Tabelle 4.1) wurden *trans*-Anethol (**89**) (27,9 %), Limonen (**66**) (9,8 %), α-Longipinen (**82**) (8,9 %), Guaia-6,9-dien-4β-ol (**45**) (5,4 %) und Spathulenol (14) (1,1 %) und Guaja-6,10(14)-dien-4β-ol (**108**) (2,6 %) ermittelt. In der chinesischen Importware (Probe 2) war *trans*-Anethol (**89**) mit 17,2 %, Guaia-6,9-dien-4β-ol (**45**) (7,2 %), Carvon (**90**) (4,0 %) Guaja-6,10(14)-dien-4β-ol (**108**) (7,4 %), Bisabololoxid (**94**) (4,7 %) und α-Bisabolol (**91**) mit 3,5 % vertreten, während Limonen (**66**) (1,4 %) und α-Longipinen (**82**) (0,8 %) nur in geringeren Mengen detektiert werden konnten.

Das Wurzelöl der Probe 3, die direkt aus China stammt, unterscheidet sich wesentlich von den vorher erwähnten Proben. *trans*-Anethol (**89**) (1 %) konnte nur als Nebenkomponente detektiert werden. Nur diese Probe enthielt Thymol (**92**) (4,7 %). Die Gruppe der Bisabolenderivate war in höherer Konzentration vertreten, wobei es sich um β-Bisabolen (**36**) (1,7 %), γ-Bisabolen (**93**) (0,8 %), α-Bisabolol (**91**) (7,6 %) und Bisabololoxid (**94**) (2,2 %) handelte.

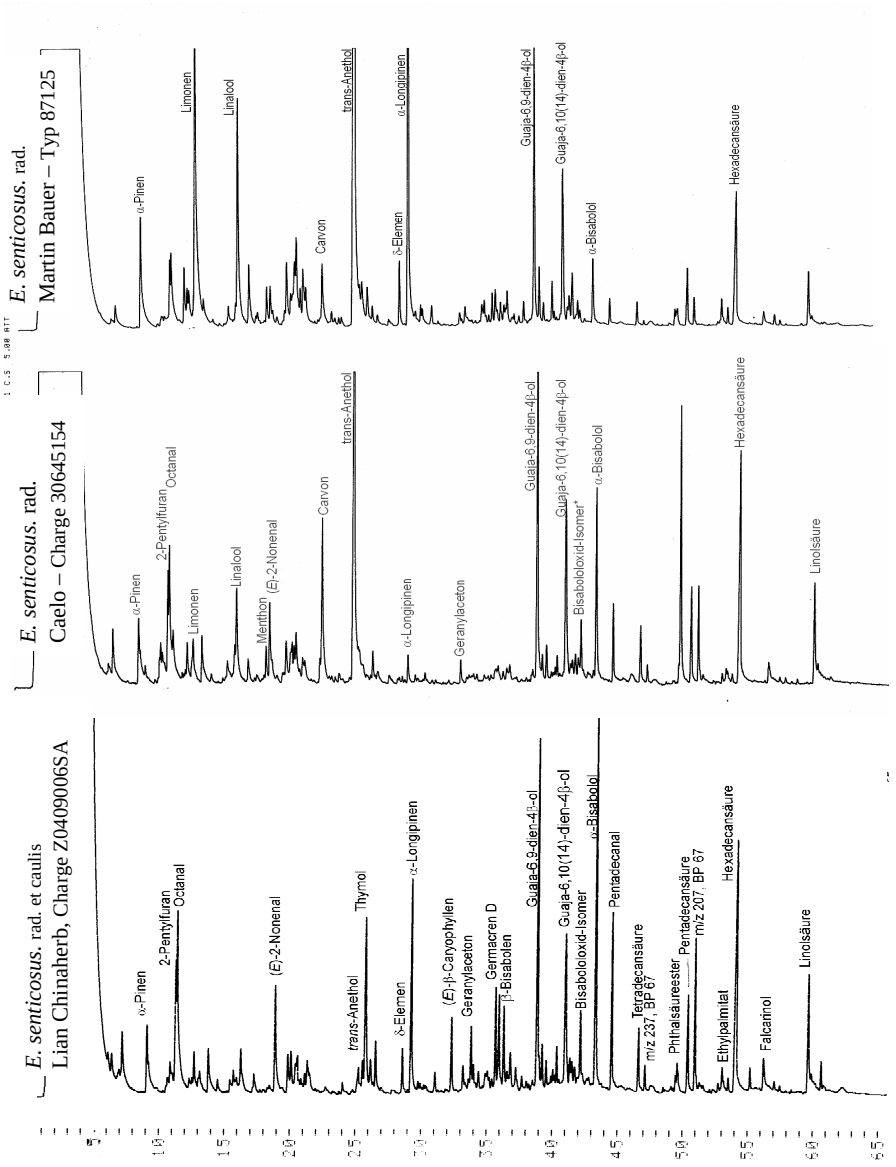


Abb. 4-6: GC-Chromatogramme der untersuchten Handelswaren

(Säule: CPSil 5 CB, 25 m Kapillarsäule, 50 °C, 3 °C/min bis 230 °C, Injektor 200 °C, Detektor 250 °C, Trägergas Wasserstoff, 0,5 bar)

Inhaltsstoffe	Ret. Zeit	Ret.Index	Probe 1 (Martin Bauer)	Probe 2 (Caelo)	Probe 3 (Lian Ch.)
			GC-Flächen (%)	GC-Flächen (%)	GC-Flächen (%)
2-Hexanon		800	Spur	0,6	0,6
Heptanal	7,2	882	0,5	1,3	1,6
α-Pinen (**81**) (Enantiomere)	9,1	940	2,7 (-):(+)- 95:5	2,1	2,8
Camphen	10,7	953	-	0,6	-
6-Methyl-5-hepten-2-on	10,0	969	Spur	0,7	0,7
β-Pinen	11,1	976	0,2	0,5	0,5
2-Pentylfuran	11,3	985	0,8	1,4	1,9
Octanal	11,4	987	2,1	3,3	6,8
Δ-3-Caren	12,4	1011	0,9	1,0	0,4
m-Cymen	12,7	1019	0,6	0,4	-
p-Cymen	12,7	1020	0,8	1,4	1,1
Limonen (**66**) (Enantiomere)	13,2	1025	9,8 (-):(+)- 18,3:81,7	1,4	0,9
(*E*)-2-Octenal	13,8	1035	Spur	0,3	1,4
γ-Terpinen	14,5	1053	0,4	0,3	0,3
2-Nonanon	15,7	1072	-	0,6	0,6
Nonanal	16,3	1084	-	0,7	1,7
Linalool	16,4	1088	4,0	2,7	0,3
m/z 138, BP 83[1]	17,3	1110	1,2	0,7	0,6
Campher	17,8	1126	0,4	0,2	Spur
(*E*)-2-Nonenal	18,8	1134	0,7	2,4	3,2
Menthon	19,2	1139	0,7	0,8	-
Isomenthon	19,7	1147	0,3	0,3	-
Octansäure	19,8	1155	Spur	Spur	0,8
Terpinen-4-ol	20,1	1167	1,2	1,2	0,3
Myrtenal	20,4	1175	0,5	0,7	0,7
α-Terpineol	20,6	1178	1,0	0,9	1,0
Estragol	21,1	1179	2,1	1,0	0,4
m/z 136, BP 69[2]	21,4	1186	-	0,9	0,5
Carvon (**90**)	22,7	1221	1,3	4,0	0,5
(*E*)-2-Decenal	23,9	1234	0,2	0,2	0,3
trans-Anethol (**89**)	25,2	1257	27,9	17,2	1,0
Thymol	25,7	1263	-	-	4,7
Carvacrol	26,1	1290	0,9	-	1,1
δ-Elemen	28,5	1336	1,0	-	1,2
α-Longipinen (**82**) (Enantiomere)	29,2	1358	8,9 (−):(+) - 0,5:99,5	0,8	4,8
α-Ylangen	30,2	1374	0,4	-	0,3
β-Elemen (**11**)	30,9	1389	0,3	-	0,6
β-Caryophyllen (**28**)	32,2	1414	-	-	1,5
Geranylaceton (**53**)	33,1	1428	0,3	0,6	0,6
Guaia-6,9-dien	33,2	1436	0,6	-	0,4
α-Himachalen	34,1	1450	0,7	0,8	-
γ-Humulen (**57**)	36,0	1482	0,7	0,5	-
β-Bisabolen (**36**)	36,2	1492	0,6	-	1,7
δ-Cadinen (**56**)	36,7	1506	0,8	-	1,1
γ-Bisabolen (**93**)	37,1	1513	-	-	0,8

Guaia-6,9-dien-4β-ol (**45**)	38,7	1561	5,4	7,2	7,4
Spathulenol (**14**)	39,0	1571	1,1	0,6	-
β-Himachalen epoxid	40,2	1598	0,6	-	0,8
Guaia-6,10(14)-dien-4β-ol (**108**)	40,8	1602	2,6	7,4	4,6
β-Himachalol	41,5	1632	0,9	-	-
Bisabololoxid (Isomer*) (**94**)	42,0	1639	-	4,7	2,2
α-Bisabolol (**91**)	43,1	1672	1,3	3,5	7,6
Pentadecanal	44,4	1676	0,4	1,6	3,3
Farnesol (Isomer*)	45,0	1696	-	0,5	-
Tetradecansäure	46,4	1740	0,5	1,2	1,3
M^+ 242 ?, BP 69[3]	46,9	1793	-	0,5	0,6
Pentadecansäure	50,7	1848	0,9	2,0	2,1
Ethylpalmitat	53,3	1947	0,4	0,3	0,7
n-Hexadecansäure	53,9	1960	2,8	6,5	7,0
Falcarinol (**5**)	56,0	1965	-	-	1,7
9, 12 Octadecadiensäure (Linolsäure)	59,4	2030	1,8	1,1	3,8
Linolsäuremethylester	60,4		0,7	2,0	0,6
Total			97,8	92,7	93,4

Monoterpenkohlenwasserstoffe und oxygenierte Monoterpene	55,9 %	36,9 %	16,3 %
Sesquiterpen-KW und oxygenierte Sesquiterpene	35,3 %	24,9 %	35,0 %
andere Substanzen	6,6 %	30,9 %	42,1 %

Tabelle 4.1*: Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim mit einer Übersicht der gaschromatographisch erfassten Stoffgruppen (Trennung der Enantiomere siehe Kap.4.2.2 (* Isomer nicht genauer identifziert))

Aus den GC-MS-Daten wurden folgende Komponenten charakterisiert:

1: RI 1110 - m/z (rel. Int.): 138 (10),119 (13), 109 (20), 95 (35), 83 (100), 67 (28), 55 (62), 41 (44)

2: RI 1186 - m/z (rel. Int.): 136 (19),123 (35), 107 (17), 93 (56), 81 (46), 69 (60), 55 (21)

3: RI 1793 - m/z (rel. Int.): 242 (2),229 (3), 222 (1), 213(1), 199 (2), 185 (6), 177 (2), 171 (4), 161 (5), 149 (7), 136 (17), 129 (8), 121 (11), 107 (12), 93 (27), 81 (39), 69 (100), 55 (35), 41 (59)

4.2.2 Trennung der Enantiomere einiger Mono- und Sesquiterpene aus *E. senticosus*

Die Kohlenwasserstoff-Fraktionen wurden aus dem Wasserdampfdestillat von *E. senticosus* (Tabelle 4.1, Probe 1) durch Trockensäulenchromatographie (Kap. 8.6) erhalten und mittels enantioselektiver GC untersucht.

Die Trennung der Monoterpene in die Enantiomere wurde auf einer 6-Me-2,3-di-Pe-β-CD-Säule (Tab. 8.1) durchgeführt.

- **α-Pinen (81)**

Bei α-Pinen ist zu 95 % das (–)- und zu 5 % das (+)-Enantiomer nachzuweisen (Vergleich siehe Abb. 3-17), wobei sich ein α-Wert von (R) : (S) = 1,20 bei einem Temperaturprogramm von 30°C, 20 min. isotherm ergibt (vergleiche Abb. 3-17).

- **Limonen (66)**

Für Limonen aus dem ätherischen Öl der Eleutherococcus Wurzel der Probe 1 (vergleiche Abb. 3-18, siehe Kap. 8.9.2) konnte ein Enantiomerenverhältnis von (–) : (+) = (18,3 % : 81,7 %) bestimmt werden. Der erzeilte α-Wert betrug α = (R) : (S) = 1,052.

- **Bicyclogermacren (9)**

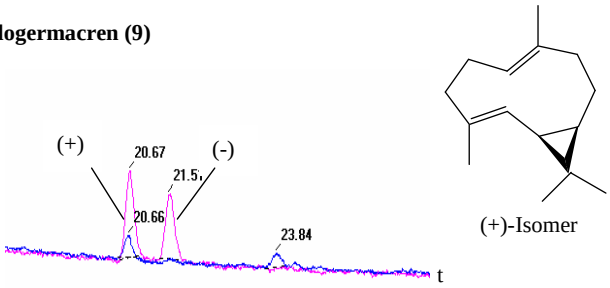


Abb. 4-7: Vergleichlösung der Bicyclogermacren Enantiomere, wobei (+) angereichert ist (pinkfarben, Reihenfolge durch im Arbeitskreis König isolierte Substanzen festgelegt[70])
Probe: *E. senticosus*- Fraktion 8 (Kieselgel-Vortrenung (8.6, Säulengröße 3) (blau)
Säule: 6-T-2,3-Me-β-CD 50 % in OV 1701 bei 115°C iso, konst. Druck

Bicyclogermacren ist in dem Drogenmuster Probe 1 in geringerer Konzentration vorhanden. Es wurde durch die Vortrennung (Kap. 8.6, 3) angereichert und direkt zur Enantiomerentrennung verwendet. Die Auftrennung erfolgte mit guter Auflösung. Das (+)-Enantiomer von Bicyclogermacren lässt sich mit einem Anteil von ca. 90 % nachweisen (α-Wert = (S) : (R) = 1,041).

- **α-Longipinen (82)**

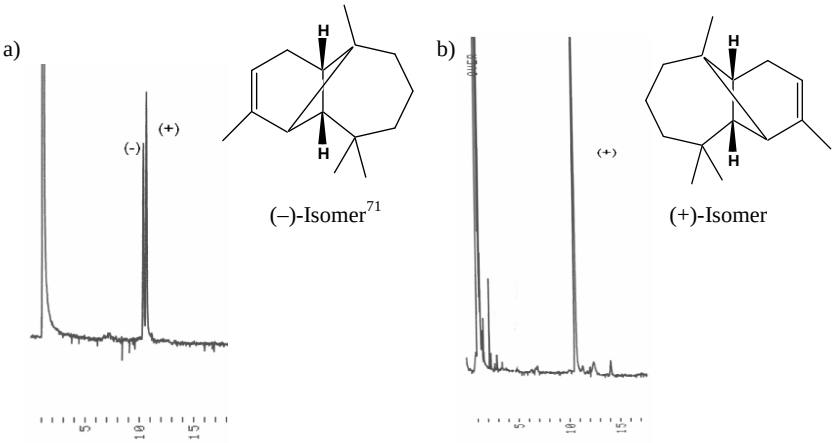


Abb. 4-8 a: α-Longipinen Vergleichslösung (links)
b: α-Longipinen aus *E. senticosus*, Probe 1 (Tabelle 4.1) (rechts)
Säule: 6-T-2,3-Me-β-CD 50 % in OV 1701 bei 100°C isotherm

In der Ausgangslösung treten zu 99,5 % das (+)- und zu 0,5 % das (–)-Enantiomer auf. Der bei der Trennung erzielte α-Wert betrug α = (R) : (S) = 1,027. Die Reihenfolge der Enantiomere wurde durch isolierte Substanzen der Arbeitsgruppe König festgelegt.

5 *Schinus terebinthifolius* RADDI

Die immergrüne Pflanze stammt ursprünglich aus Südamerika. Die schattenspendenden Blätter von den Schinus Arten führten zur Kultivierung der Pflanze in vielen wärmeren Klimazonen der Erde und so auch im europäischen Raum, wobei die zahlreichen Samen zur weiteren Verbreitung durch Verwilderung beitrugen. Die als Mastix- oder Pfefferbaum bezeichnete Pflanze enthält in den Blättern, Blüten und Früchten ätherisches Öl. Dieses besteht hauptsächlich aus Mono- und Sesquiterpenen, deren Zusammensetzung nach den Literaturangaben beträchtlich schwanken kann.

Aus diesem Grund wurde gesichertes Pflanzenmaterial von *S. terebinthifolius* aus verschiedenen Botanischen Gärten aus Deutschland gesammelt und sowohl Blätter als auch Früchte untersucht. Die durchgeführten GC-MS-Messungen zeigten unter anderem Spektren unbekannter Sesquiterpenkohlenwasserstoffe, deren Isolierung und Charakterisierung Aufgabe dieser Arbeit ist. Hierzu diente als Untersuchungsgut eine Sesquiterpenkohlenwasserstofffraktion aus den Früchten.

Die durch ihre Verwendung der Früchte in bunten Pfeffermischungen verbreitetere Art *S. molle* ist gaschromatographisch häufiger untersucht. Vergleichend wurde das ätherische Öl verschiedener Proben destilliert und in die Untersuchung einbezogen.

5.1 Systematische Stellung und Gliederung

Ordnungsgruppe: rautenartige Magnoliaphytina

2. Ordnung	Anacardiales
1. Familie	Anacardiaceae
Tribus	Rhoideae
Gattungsgliederung:	Schinus L.
Art	*Schinus terebinthifolius* RADDI
	Schinus molle var. areira (L.) DC. u. *auch var.(aroeira)*
	u. a., ca. 30 verschiedene Arten

Tabelle 5.1: Systematische Stellung der Gattung Schinus

Vorkommen

Schinus terebinthifolius Raddi ist in Südamerika vor allem in Argentinien, Brasilien und Paraguay verbreitet. Bezeichnungen als Brasilianischer Pfefferbaum, „Brazilian pepper tree“[77], pimenta de Brasil, aroeira negra, chichita und andere leiten sich dadurch ab. Die Kultivierung in Florida und Verwendung der Früchte in Gestecken führte zu Namen wie Christmas-berry tree. Ein weiteres Synonym für *S. terebinthifolius* ist auf Grund seiner volkstümlichen Verwendung *S. antiarthriticus* MART[72].

Schinus molle (L.) besitzt ein begrenztes Verbreitungsgebiet in Südamerika. Ursprünglich war der Baum heimisch an den Wasserläufen der gemäßigten Zonen der Anden in Peru. Wesentlich weiter verbreitet ist die Varietät *S. molle var. areira* (L.) DC.[74], da sie auch als Zier- und Schattenpflanze angebaut wird. Schrutka-Rechtenstamm u. a.[76] nehmen daher an, dass sich alle Literaturangaben über „*S. molle* L.“ eigentlich auf „*S. molle* var. *areira* (L.) DC“ beziehen und auch die Handelsdrogen von dieser Varietät stammen.

Das Synonym *Schinus areira* L. ist in der Literatur für *S. molle* [74], aber auch für *S. terebinthefolius*[77] zu finden. Andere Namen sind Wilder Pfeffer, auch Amerikanischer Pfefferbaum, Peruanischer Pfefferbaum und Indischer Mastixbaum.

5.2 Botanische Beschreibung und Abgrenzung zu anderen Schinus-Arten

Abb. 5-1: *Schinus terebinthifolius* Herbarblatt

	S. terebinthifolius	*S. terebinthi-folius.* var. *acutifolius*	*S. terebinthifolius* var. *Pohlianus* ENGL.	*S. terebinthi-foliu.* var. *Raddianus*	*S. terebinthifolius* var. *rhoifolius* syn.*(aroeira)*
Strauch bis Baum	bis zu 12 m hoch , immergrün, schnellwüchsig				kleiner Baum
Blätter	bis zu 40 cm lang, unpaarig, behaart, dunkel-grün – ober-, hell untenseits	7-22 cm lang, oft asymmetrisch	7-19 cm lang, stark behaart Blattunterseite, später oft kahl	7-16 cm, glatt	7-15 cm lang, schwach behaart
Blättchenzahl und Gestalt	7-13, schwach spitz oder stumpf	7-15, (gewöhnlich 11-13) spitz	5-15 (oft 11) gezackt, stumpf an der Spitze	3-9 (oft 5 oder 7)	3-7 (oft 5)
Blütenstand	klein, elfenbeinweiß bis grünlich, bis zu 15 cm lange Rispen	2,5-15 cm lang	2-8 cm lang		1-9 cm lang, gewöhnlich 7 cm lang
Stiel, Stengel		stiellos	behaart		
Früchte	ca. 5 mm im Durchmesser, rot (reif)	ca. 5 mm im Durchmesser pinkfarben	ca. 5 mm im Durchmesser pinkfarben		

Tabelle 5.2: Botanische Beschreibung einiger Varietäten von *Schinus terebinthifolius* RADDI [72]

Abb. 5-2:: *Schinus terebinthifolius*-Blätter und reife Früchte

A: Botanischer Garten, Hamburg B: Bot. Garten Hohenheim und Bot. G. Wupperthal

	Schinus molle *Schinus molle* var. *areira*	*S. molle* var. *Rusbyi*	*S. molle* var. *Hussleri*
Baum	zweihäusig, bis zu 15 m hoch , immergrün, schnellwüchsig		
Blätter	bis zu 25 cm lang, wechselständig, unpaarig gefiedert, zusammengesetzt, obere Blättchen selten zusammengewachsen		
Blättchenzahl und Gestalt	ziemlich konstant 17 oder mehr, schmal lanzettförmig, unregelmäßig gezähnt, 1,5 – 6 cm lang, 2 – 8 mm breit, durch Öldrüsen punktiert, Stiel glatt, stachelgespitztes Einzelblättchen	gewöhnlich 30, endständiges Blättchen fehlt	13 – 15, endständiges Blättchen anwesend
Blütenstand	endständig, reich verzweigt achsenständig, hängende, 6 bis 30 cm lang, rispenartig, übertreffen oft die Blätter in der Länge kahl, glatt	gewöhnlich kürzer als die Blätter, schwach flaumhaarig	
Einzelblüten	klein, unscheinbar, gelblich-weiß, eingeschlechtlich mit 5zipfeligem Kelch, 5 Kronblättern und 10 Staub-blättern, Fruchtknoten oberständig mit 3spaltigem Griffel		
Stiel, Stengel	nicht stachelig		
Früchte	Steinbeeren, kugelig, ca. 8 mm im Durchmesser, reifen von grün zu rosa		

Tabelle 5.3: Botanische Beschreibung einiger Varietäten von *Schinus molle* L.[73,]

Abb. 5-3: *Schinus molle* -Blätter
A: Botanischer Garten, Hamburg B: Bot. Garten Münster

Obwohl die systematische Stellung dieser Pflanze ausreichend beschrieben zu sein scheint, ist an den Abb. 5-2 und Abb. 5-3 zu erkennen, dass die Eingruppierung in die Vorgaben von Barkley[72] sich als schwierig erweist. Die systematische Dokumentation der unterschiedlichen Schinus-Arten erfolgte hauptsächlich durch Differenzierung der Blattmerkmale, die aber in so großen Arealen, wie die Herkunftsländer Brasilien und Peru es sind, schon aufgrund der klimatischen Bedingungen erheblich variieren können. Nur unter Einbeziehung aller Pflanzenteile wie Blätter, Blüten und Samen, sowie der chemischen Analyse kann die Variationsbreite der Schinus-Arten genauer beschrieben werden.

5.3 Volkstümliche Anwendung und Bedeutung

In Mittel- und Südamerika werden Blätter, Rinde und Harz von *S. molle* als Heilmittel bei einer Vielzahl von Beschwerden[74] und zu magischen Praktiken von Schamanen (Angstbekämpfung, Gebetshilfe) verwendet. Hierzu werden entweder die getrockneten Blätter, ein Decoct oder der Saft, rein oder mit Milch verdünnt, zubereitet und in Form von Umschlägen, Getränken und Salben eingesetzt. Die Mittel sollen als Heilmittel bei Rheuma und Ischias, Infektionen des Rachens, der Atemwege, bei Eiterungen der Schleimhäute und zur Behandlung von Geschwüren[75] helfen. Das in der Rinde befindliche Gummiharz dient als Kataplasma zur Behandlung von Rheuma und zur Vernarbung von Wunden. Für das ätherische Öl von *S. molle* wurde eine starke fungizide Wirkung nachgewiesen, die möglicherweise auf der fungitoxischen Aktivität von α- und β-Phellandren beruht.

Die Früchte sind rot und werden als „Rosa Beeren“ oder auch „Pimenta de Brasil“ bezeichnet. Diese Bezeichnung führt aufgrund der Farbe zu Verwechslungen mit den als Rosa Pfeffer[76] oder Roter Pfeffer bezeichneten Gewürzdrogen, wobei es sich bei Rosa Pfeffer um Früchte von *Piper nigrum* L. und beim Roten Pfeffer um Früchte von *Capsicum annuum* L. handelt.

Morton[77] hat in Brasilien die direkte Verwendung der getrockneten Blätter bei Geschwüren als Antiseptikum, und die Einname eines Aufgusses der Blätter zur Behandlung von Bronchitis und anderen Erkrankungen der Atemwege beschrieben. Aufgrund ihrer Verbreitung in den Vorgärten wird ein toxischer Effekt auf Menschen und Tiere beobachtet, der zu einer Erkrankung der Atemwege und Schwellungen der Haut führt. In einer Studie von Gazzaneo aus dem Jahre 2005[78] über die Verwendung einheimischer Pflanzen in Brasilien wird *S. terebinthifolius* RADDI („aroeira“) zur Behandlung von Entzündungen aufgeführt.

Siddiqui u.a.[79], [80] untersuchten in Pakistan die antimikrobielle Aktivität des ätherischen Öls von *S. terebinthifolius* gegen *Eschericha coli*, *Shigella dysenteriae* und *Bacillus subtilis*. Dieses Öl hatte im Vergleich zu anderen Pflanzenölen den größten Effekt. Erazo et. al.[81] belegen ebenfalls eine biologische Aktivität des ätherischen Öls einer anderen *Schinus*-Art (*S. polygamus*) gegen verschiedene gram-positive und –negative Bakterien. Als Untersuchungsgut dienten Blätter aus Chile und Argentinien. Je nach der Herkunft der Pflanze fiel die Aktivität unterschiedlich spezifisch aus, da die Zusammensetzung des Öls variierte (Chile – β-Pinen, Argentinien – α-Phellandren und Limonen).

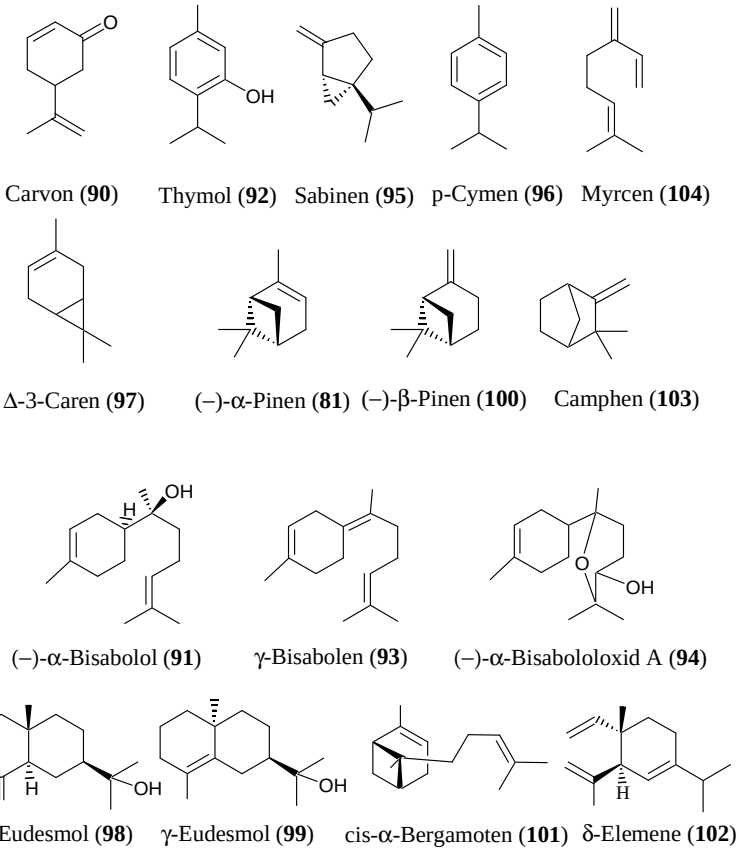
5.4 Gaschromatographische Untersuchungen

Je nach Herkunft der Drogen ergeben sich aus den bislang vorliegenden Untersuchungen bedeutende Unterschiede in der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung des Öls.

Ätherisches Öl kommt in den Blättern, Blüten und Früchten der Schinus-Arten vor. Es besteht vorwiegend aus Monoterpenkohlenwasserstoffen und Sesquiterpenen. Die Ausbeute beträgt je nach Herkunft, Pflanzenteil und Erntezeitpunkt 0,2 bis 5,2 %[82,83]. Chowdhury und Tripathi[84] fanden in den Blättern indischer Pflanzen einen Ölgehalt von 0,53 % (v/w), wobei vorwiegend α-Pinen (**81**) (51,82 %) nachgewiesen wurde. Malik u.a.[85] identifizierten im Blattöl pakistanischer Herkunft (Ölgehalt 0,2 %) α-Pinen (43,2 %), α-Phellandren (**83)** (18,85 %), β-Phellandren (**84**) (10,61 %), Limonen (**66**) (11,6 %) und Sabinen (**95**) (1,91 %) als die Hauptkomponenten. Singh et. al.[86] haben im ätherischen Blatt- und Blütenöl indischer Pflanzen 41 Komponenten (86,4 % des Öls) identifiziert, wobei α-Pinen (**81**) (24,4 %), Limonen (**66**) (11,9 %) und *p*-Cymen (**96**) (14,3 %) die Hauptkomponenten waren.

Laut „Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis“[74] ist die qualitative Zusammensetzung des ätherischen Öls aus Zweigen, Blättern und Früchten gleich. Vermin und Parkanyi[87] konnten in Pflanzenmaterial von *S. therebinthifolius* aus Reunion durch GC/MS-Analyse 96 Komponenten identifizieren. Unter diesen flüchtigen Ölbestandteilen waren 60 % Kohlenwasserstoffe, darunter 15 Monoterpene und 20 Sesquiterpene. Die Hauptkomponenten der Monoterpenfraktion waren Limonen (**66**) (17,7 %), *p*-Cymen (**96**) (15,7 %), α-Pinen (**81)** (10,4 %) und Δ-3-Caren (**97**) (5,5 %). Von den Sesquiterpenalkoholen wurden Elemol (**60**) (2,4 %), β-Eudesmol (**98**) (2,0 %), γ-Eudesmol (**99**) (1,8 %) und Spathulenol (**14**) (1,5 %) als Hauptkomponenten identifiziert. Jamal und Agusta[88] fanden im ätherischen Öl der indonesischen Blätter 47 Komponenten darunter 17 Hauptkomponenten (> 1%). Unter ihnen befanden sich Δ-3-Caren (**97**), α-Pinen (**81**), β-Pinen (**100**), α-Phellandren (**83**), Limonen (**66**), β-Elemen (**11**) und Isocaryophyllen (**30**). Das Gesamtöl bestand zu 68,63 % aus Monoterpenen.

Erazo et. al[81]. charakterisierten β-Pinen (**100**) als Hauptkomponente des ätherischen Öls der Blätter von *S. polygamus* aus Chile, wo hingegen in Argentinien gesammelte Blätter α-Phellandren und Limonen als Hauptkomponenten bzw. in größeren Mengen enthielten. Baser et. al.[89] untersuchten das ätherische Öl der Blätter und Früchte von *S. molle*, die in der Türkei im Gebiet um Izmir gesammelt wurden. Insgesamt wurden 80 Komponenten identifiziert, die ca. 98 % des Öls repräsentierten. Die Hauptkomponenten in den Blättern waren α-Phellandren (**83**) (45,7 %), β-Phellandren (**84**) (13,6 %) und Limonen (**66**) (13,4 %).



Carvon (**90**) Thymol (**92**) Sabinen (**95**) p-Cymen (**96**) Myrcen (**104**)

Δ-3-Caren (**97**) (–)-α-Pinen (**81**) (–)-β-Pinen (**100**) Camphen (**103**)

(–)-α-Bisabolol (**91**) γ-Bisabolen (**93**) (–)-α-Bisabololoxid A (**94**)

β-Eudesmol (**98**) γ-Eudesmol (**99**) cis-α-Bergamoten (**101**) δ-Elemene (**102**)

Abb. 5-4 Einige Mono- und Sesquiterpene aus den untersuchten ätherischen Ölen

5.4.1 Vergleichende gaschromatographische Untersuchungen

Um einen ersten Anhaltspunkt zur Zusammensetzung des ätherischen Öls zu erhalten, wurden Proben frischer Blätter sowohl von *S. terebinthifolius* (B) als auch *S. molle* (A) aus verschiedenen Botanischen Gärten in Deutschland (siehe 8.9.3) gesammelt und in die Untersuchung einbezogen (Tabelle 5.6, Abb. 5-5 und 5–4).

A

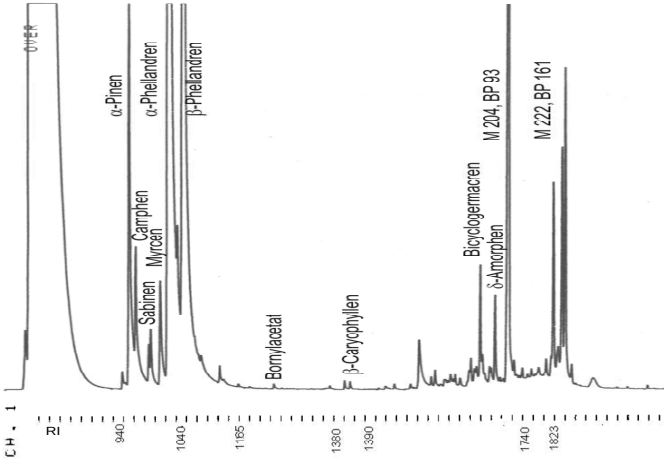


Abb. 5-5: Gaschromatogramm des ätherischen Öls frischer Blätter von *S. molle* - Muster aus dem Bot. Garten Hamburg.
(GC Säule: CPSil 5, 50° C, 3° C / min., 230° C, Inj. 200°C, Det. 250°C)

S. molle-Blattöl - Bot. G. Hamburg			
Name	GC %	Name	GC %
α-Pinen (**81**)*	4,3 (11,6/88,4%(-/+))		
Camphen (**103**)	2,3	α-Copaen (**87**)	0,2
Sabinen (**95**)	0,3	(*E*)-β-Caryophyllen (**28**)	0,1
β-Pinen (**100**)	0,8	α-Humulen (**31**)	0,2
Myrcen (**104**)	1,4	γ-Amorphen	0,2
α-Phellandren (**83**)*	42,3	Bicyclogermacren (**9**)	1,1
p-Cymen (**96**)	7,3	δ-Amorphen	0,7
β-Phellandren (**84**)*	22,2	M 204, BP 93	8,3
Bornylacetat	0,1	M 222, BP 161	3,0
Mono- und Sesquiterpene - Summe			94,8 %

Tabelle 5.4: Zusammensetzung des Wasserdampfdestillates frischer Blätter von *S. molle*, Bot. Garten Hamburg, nach GC/MS-Analyse
(GC-Säule: CPSil 5, 50° C, 3° C / min., 230° C, Injektor 200°C, Detektor 250°C), *Enantiomere siehe Tabelle 5.7.

B

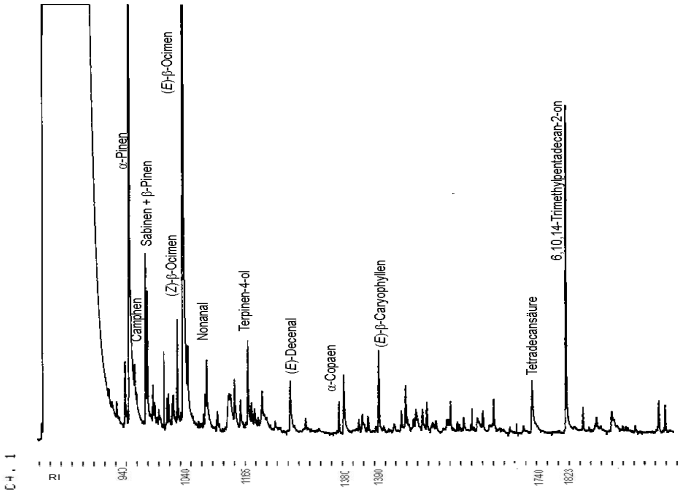


Abb. 5-6: Gaschromatogramm des ätherischen Öls frischer Blätter von *Schinus terebinthifolius* - Muster aus dem Botanischen Garten Hamburg
(GC-Säule: CPSil 5, 50° C, 3° C / min., 230° C, Injektor 200°C, Detektor 250°C)

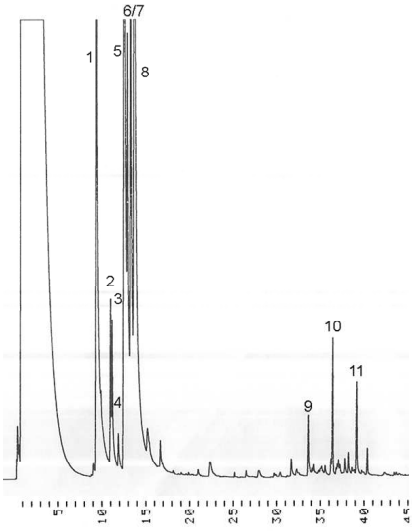
S. terebinthifolius-Blattöl - Bot. G. Hamburg					
Name	RI	GC %	Name	RI	GC %
(*E*)-2-Hexenal	832	0,7	Terpinen-4-ol	1165	1,7
α-Pinen (**81**)	942	19,7 ((–):(+) = 95,4:4,6)	Myrtenal	1172	0,7
Camphen (**103**)	955	0,5	M 150, BP 41	1184	1,2
Sabinen (**95**)	975	1,8	(*E*)-2-Decenal	1236	1,7
β-Pinen (**100**)	981	2,4	α-Terpinylacetat	1330	0,6
2-Pentylfuran	985	0,5	M 172, BP 41	1337	1,7
α-Terpinen	1017	0,6	α-Copaen (**87**)*	1376	0,4
p-Cymen (**96**)	1019	0,6	(*E*)-β-Caryophyllen (**28**)	1386	1,5
(*Z*)-β-Ocimen (**86**)	1031	1,6	δ-Cadinen (**56**)	1511	0,8
(*E*)-β-Ocimen (**86**)	1043	25,8	Caryophyllenoxid	1570	0,6
γ-Terpinen	1054	0,4	M 204, BP 57	1651	0,8
M 124, BP 109	1080	0,6	n-Tetradecansäure	1739	2,5
n-Nonanal	1085	1,3	6,10,14-Trimethyl-pentadecan-2-on	1823	5,9
M 150, BP 81, 53	1142	1,4	*n*-Hexadecansäure	1933	0,7
Summe					78,7 %
Mono- und Sesquiterpene ≥ 1 %					70,3 %

Tabelle 5.5: Zusammensetzung des Wasserdampfdestillates von Blättern von *S. terebinthifolius*, Bot. Garten Hamburg, gemäß GC/MS-Analyse (Enantiomere siehe Tabelle 5.7)

Der in der Literatur beschriebene hohe Monoterpenanteil des Blattöls[74] bestätigte sich nicht bei allen Untersuchungen der vorliegenden Proben (Tabelle 5.6).

C Fruchtöl von *Schinus terebinthifolius*

Getrocknete Früchte von *S. terebinthifolius*



Bereich:
Monoterpene (10- 25 min)- Sesquiterpene (25-45 min)

Fruchtöl von *S. terebinthifolius*		
		%-Anteile
1	α Pinen (**81**)	16,9
2	Sabinen (**95**)	1,6
3	β-Pinen (**100**)	2,6
4	Myrcen (**104**)	0,9
5	α-Phellandren (**83**)	21,1
6	p-Cymen (**96**)	7,1
7	β-Phellandren (**84**)	10,8
8	Limonen (**66**)	23,7
9	(*E*)-β-Caryophyllen	0,8
10	Germacren D	1,5
11	M 220, BP 119 (überlagert)	1,2
		88,2

Abb. 5-7: Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *S. terebinthifolius* Früchten (Foto) mit tabellarischer Zusammensetzung des Monoterpen- und Sesquiterpenbereichs (Probe aus Frankreich). (Enantiomere siehe Tabelle 5.7)
(GC-Säule: CPSil 5, 50° C, 3° C / min., 230° C, Injektor 200°C, Detektor 250°C).

In der gleichen Weise wie die Blätter, wurden auch die mittels Wasserdampfdestillation gewonnenen ätherische Öle der Früchte gaschromatographisch untersucht (Abb. 5-7). Das Ergebnis, gemessen mit Hilfe einer relativ unpolaren stationären Phase, zeigt eine Zusammensetzung von 85% an Monoterpenen. Die Trennung dieser Monoterpene durch enantioselektive Gaschromatographie differenziert dieses Ergebnis (Tabelle 5.7).

Zur Isolierung unbekannter Sesquiterpenkohlenwasserstoffe (siehe 5.5) wurde der aufkonzentrierte Sesquiterpenbereich (Abb. 5-7, zwischen 25 - 45 min) der Probe aus Frankreich verwendet.

	Monoterpene % im Öl	Sesquiterpene % im Öl
Schinus terebinthifolius Blätter		
Bot. Garten Hamburg	72,6	27,4
Bot. Garten Braunschweig	83,1	16,9
Bot. Garten Greifswald	70,7	29,3
Bot. Garten Hohenheim	36,8	63,2
Bot. Garten Ulm	58,7	41,3
Schinus terebinthifolius Früchte		
Bot. Garten Hamburg	31,5	68,5
Bot. Garten Hohenheim	79,2	20,8
Frankreich	96,1	3,9
Schinus molle Blätter		
Bot. Garten Braunschweig	86,3	13,7
Bot. Garten Hamburg	72,6	27,4
Bot. Garten Münster	89,5	10,5
Schinus molle Früchte		
Bot. Garten Braunschweig	91,9	8,1

Tabelle 5.6: Aufteilung der GC-Untersuchung in die Bereiche der Mono- und Sesquiterpene (GC-Säule: 6-Me-2,3-di-Pe-β-CD (Tabelle 8.1), 30 °C, 20 min isotherm, 1 °C/min – 150 °C, Trägergas: Wasserstoff, konst. Druck 50 kPa,

Betrachtet man in diesen Proben das Verhältnis von Mono- und Sesquiterpenen (Tabelle 5.6) zueinander, so fällt auf, dass der Anteil der Monoterpene in der Regel höher als der Anteil der Sesquiterpene ist. Eine Abweichung dieses Verteilungsmusters zugunsten der Sesquiterpene findet sich in den Proben der Bot. G. Hamburg (Früchte) und Hohenheim (Blätter). Eine mögliche Erklärung kann mit dem abweichenden Erntezeitpunkt (Hamburg, Frankreich) oder dem Vorliegen morphologischer Unterschiede (Hohenheim) gegeben werden.

Weitere Versuche zur Klärung der Enantiomerenverhältnisse der Mono- und einiger Sesquiterpene wurden an ausgewählten Beispielen durch enantioselektive GC unter Verwendung modifizierter Cyclodextrine (CD) als stationäre Phasen (Tabelle 8.1) durchgeführt (Tabelle 5.7).

5.4.2 Trennung der Enantiomere einiger Mono- und Sesquiterpene aus *Schinus terebinthifolius*.

Die Trennung verschiedener Sesquiterpenkohlenwasserstoffe des ätherischen Öls von *S. terebinthifolius* und *S. molle* in seine Enantiomere erfolgte durch enantioselektive GC an modifizierten CD-Säulen (Tabelle 8.1). Dazu musste zum Teil eine Vorfraktionierung mittels Kieselgel-Trockensäulen-Chromatographie oder eine Vortrennung durch präparative Gaschromatographie durchgeführt werden.

5.4.2.1 Monoterpene

- **α-Pinen (81)**

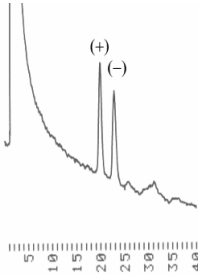
Das ätherische Öldestillat von *S. terebinthifolius*-Blätter ist ist bei drei von fünf Proben mit ca. 80 % geprägt durch einen hohen α-Pinen-Anteil (**81**) (Tabelle 5.7). Dieser Anteil besteht wiederum bei diesen Proben zu ≥ 95 % aus dem (–)-Enantiomeren besteht. Die Abweichung in der Probe aus Hohenheim, in der fast 100 % des (+)-Enantiomers bei einem 30 %igen Anteil an α-Pinen (**81**) im Öl nachzuweisen ist, läßt sich mit den morphologischen Unterschieden in Zusammenhang bringen. Während die Blätter aus dem Bot. Garten Ulm bei 39 % an α-Pinen im ätherischen Öl und einem Verhältnis von (–) : (+) mit 40 : 60 % eine Ausnahme darstellten. Die Enantiomerenverhältnisse der untersuchten Früchte aus Hamburg und Hohenheim glichen denen der Blätter. Bei dem Frucht-Öl aus Frankreich konnte ein Verhältnis von 37,5 % (–)- : 62,5 % (+)-Enantiomer bestimmt werden. Die ätherischen Öle von *S. molle* enthielten alle eine Menge unter 10% an α-Pinen, wobei immer ein hoher Anteil (88 - 98,0 %) des (+)-Enantiomers zu finden war. Chromatographische Bedingungen siehe Tabelle 8.1.

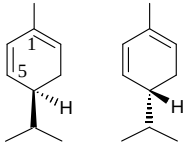
- β-Pinens (**100**)

Die Auftrennung des β-Pinens (**100**) (5 – 19 % im Öl) in seine Enantiomere zeigt bei vier *S. tebinthinae* Proben einen hohen Anteil (> 87 %) des (–)-Enantiomers. In der Probe des Bot. G. Hohenheim war, eventuell bedingt durch die niedrige Konzentration von 0,7 %, kein (+)-Enantiomer nachzuweisen. Die Proben der Früchte wiesen auch bei höheren Konzentrationen an β-Pinens zu 100 % das (–)-Enantiomer auf, wo hingegen bei dem Öl aus Frankreich ein racemisches Verhältnis nachgewiesen werden konnte.

Phellandren in *S. molle*

- **α-Phellandren (83)**





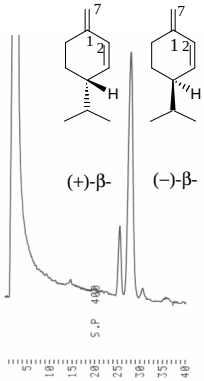
(+)-α- (–)-α-

Abb. 5-8: GC von α-Phellandren (**83**) Vergleichssubstanz (plus vor minus mit α = 1,151)
Säule: 6-Me-2,3-Pe-γ-CD (Tabelle 8.1), 50 °C isotherm

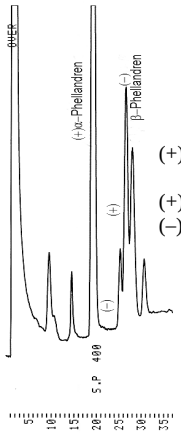
Im Gegensatz zu α-Pinen ist das Verhältnis der Enantiomeren für α-Phellandren (**83**) in Pflanzen nahezu spezifisch. In *S. molle* kommt bei zwei von drei Proben das (+)-Enantiomer zu 100 % vor (Tabelle 5.7). Unter anderen ist auch im Dillsamen Öl, das bis zu 60 % aus α-Phellandren besteht, zu 100 % das (+)-Enantiomer[11] zu finden.

- **β-Phellandren (84)**

A



B



(+)-α-Phellandren 100 %

(+)-β-Phellandren 18,2 %
(–)-β-Phellandren 81,8 %

Abb. 5-9: A: GC von β-Phellandren (**84**)Vergleichssubstanz (+) vor (–)
B*: S. molle* Öl (Bot. G. Hamburg) mit 18,2 % (+)- und 81,8 % (–)-Enantiomer
Säule: 6-Me-2,3-Pe-γ-CD, 50 °C isotherm (α-Wert mit (S) : (R) = 1,085)

	α-Pinen (**81**)			β-Pinen (**100**)			Sabinen (**95**)			α-Phellandren (**83**)			β-Phellandren (**84**)			Limonen (**66**)		
	% i. Öl	(–) vor	(+)	% i. Öl	(–) vor	(+)	% i. Öl	(+) vor	(–)	% i. Öl	(–) vor	(+)	% i. Öl	(+) vor	(–)	% i. Öl	(–) vor	(+)
S. terebinthifolius Blätter																		
Bot. G. Hamburg	**86,0**	95,4	4,6	**5,4**	88,0	12,0	**6,4**	93,1	6,9	**Spur**			**Spur**			**2,0**	32,0	68,0
Bot. G. Braunschweig	**72,5**	97,2	2,8	**18,4**	96,7	3,3	**0,6**	—	100	**0,9**	—	100,0	**4,3**	100,0	—	**3,1**	99,8	0,2
Bot. G. Greifswald	**72,4**	99,8	0,2	**19,0**	96,1	3,9	**2,8**	73,0	27,0	**0,2**	6,2	93,8	**3,3**	—	100	**0,5**	95,4	4,6
Bot. G. Hohenheim	**30,1**	0,2	99,8	**0,7**	100,0	—	**0,1**	20,0	80,0	**Spur**			**0,9**	28,4	71,6	**66,8**	2,2	97,8
Bot. G. Ulm	**38,8**	40,6	59,4	**4,9**	86,9	13,1	**3,2**	38,2	61,8	**36,6**	6,8	93,2	**12,1**	47,4	52,6	**4,3**	26,3	73,7
S. terebinthifolius Früchte																		
Bot. G. Hamburg	**64,2**	91,3	8,7	**15,7**	100,0	—	**3,9**	77,1	22,9	**Spur**			**13,5**	100,0	—	**2,5**	72,8	27,2
Bot. G. Hohenheim	**88,9**	—	100	**2,3**	100,0	—	**0,3**	85,2	14,8	**Spur**			**0,6**	60,0	40,0	**6,0**	0,1	99,9
Aus Frankreich	**28,6**	37,5	62,5	**6,2**	45,5	54,5	**0,5**	5,9	94,1	**36,5**	4,4	95,6	**14,7**	53,2	46,8	**13,6**	97,4	2,6
S. molle Blätter																		
Bot. G. Braunschweig	**6,6**	2,0	98,0	**0,1**	44,4	55,6	**Spur**			**59,6**	0,5	99,5	**28,9**	15,9	84,1	**4,6**	75,2	24,8
Bot. G. Hamburg	**1,9**	11,6	88,4	**2,0**	86,6	13,4	**Spur**			**55,9**	–	100,0	**14,3**	18,2	81,8	**25,7**	74,2	25,8
Bot. G. Münster	**8,8**	0,5	99,5	**Spur**			**Spur**			**61,2**	–	100,0	**14,9**	18,7	81,3	**14,8**	78,0	22,0
S. molle Früchte																		
Bot. G. Braunschweig	**3,5**	1,7	98,3	**Spur**			**0,5**	—	100	**60,4**	—	100,0	**31,0**	18,4	81,6	**4,5**	75,8	24,2
	Auswertung über 6-Me-2,3-Pe-β-CD-Säule									Auswertung über 6T-2,3-Me-β-CD-Säule								

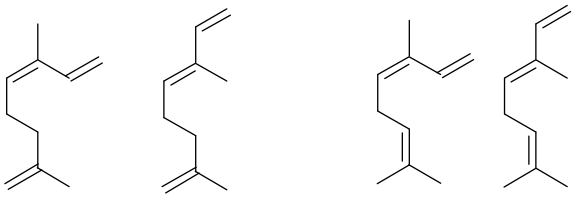
Tabelle 5.7: Enantiomerenverhältnisse von Monoterpenen im äther. Öl der Schinus-Proben aus Bot. Gärten in Deutschland mit der prozentualen Verteilung für α- u. β-Pinen, Sabinen, sowie α- u. β-Phellandren und Limonen.

GC-Bedingungen siehe Kap. 8.1

Die Probe der *S. terebinthifolius*-Früchte aus Frankreich zeigte eine nahezu gleichmäßige Verteilung der beiden Enantiomeren des α-Pinens (**81**) auf (38 % (–) zu 62 % (+)). Dieses letzt genannte Öl und das der Blätter aus Ulm sind zusätzlich geprägt durch einen hohen Anteil an α-Phellandren (**83**) (36 %), mit einem über 90 %igen Anteil des (+) Enantiomers.

Die Hauptkomponente der ätherischen Öle aus *S. molle* Blättern (3 Muster) ist mit ca. 60 % das α-Phellandren, welches annähernd zu 100 % aus dem (+)-Enantiomer besteht.

Eine Besonderheit zeigt das Muster aus dem Bot. G. Hamburg mit einer hohen Konzentration an (*E)*- und (*Z)*-β-Ocimen (**86**) (7,4 und 3,4 %), während diese Inhaltsstoffe in den anderen Ölen nur in Spuren detektierbar, beziehungsweise nicht nachweisbar sind.



α-Ocimen (**85**) β-Ocimen (**86**)

Abb. 5-10: Strukturen von α- und β -Ocimen

Die Daten dieser enantioselektiven Bestimmung der ätherischen Ölbestandteile von *S. terebinthifolius* zeigen unterschiedliche Ergebnisse. Umso wichtiger wird die Frage zu stellen sein, ob es sich hier um eine oder mehrere chemische Rassen handelt. Neben den rein taxonomischen Gesichtspunkten, sollte die chemische Analyse der Einzelkomponenten und hier die der Enantoimeren systematisch erfasst und in die Klassefizierung mit einbezogen werden. Durch Sammeln dieser Daten werden biogenetische Abläufe und somit verwandschaftliche Beziehungen nachvollziehbarer und eine eventuelle Einteilung in chemische Rassen möglich und in bezug auf diese Pflanze notwendig.

5.4.2.2 Sesquiterpene

Die Auftrennung einzelner Sesquiterpene in ihre Enantiomere erfolgte an der Probe von *S. terebinthifolius* Früchten aus Frankreich (Abb. 5-18), die zu den Isolierungsarbeiten verwendet wurde. Die Substanzen wurden mittels präparativer Gaschromatographie isoliert und zur Auftrennung in die Enantiomere verwendet.

- **α-Copaen (87)**

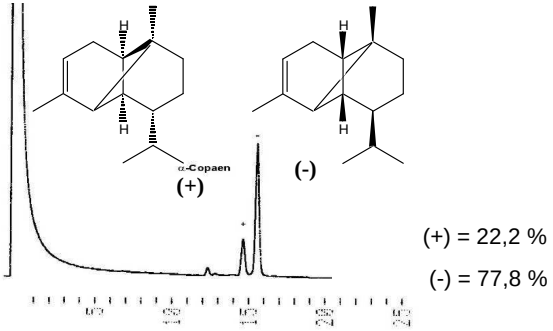


Abb. 5-11: Gaschromatographische Trennung der Isomeren von α-Copaen.
(Fraktion durch präparative GC erhalten), Säule: 6-T-2,3-Me-β-CD, 80°C isotherm

Das isolierte α-Copaen (**87**) enthält zu 77,8 % das (–) und zu 22,2 % das (+)-Isomer. wobei ein α-Wert = (S) : (R) = 1,089 auf einer 6-T-2,3-Me -β-CD-Säule erzielt werden konnte.

- **Germacren D (35)**

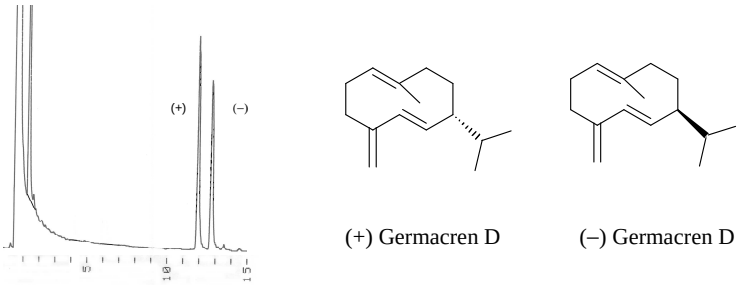
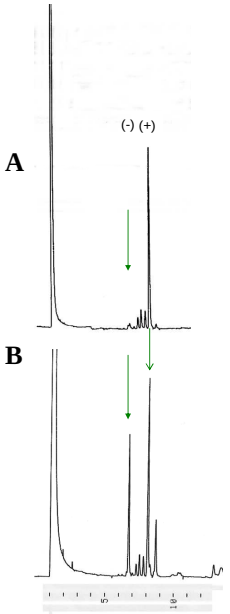
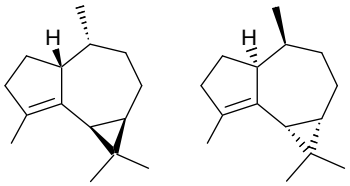


Abb. 5-12: Trennung von (+) und (–) Germacren D (**35**) aus dem Fruchtöl von *S. terebinthifolius*
Vergleichssubstanzen im Arbeitskreis König isoliert[90], Säule: 6-T-2,3-Me-β-CD-Säule bei 120°C isotherm, α-Wert = (S) : (R) = 1,075

Auch das aus dem Fruchtöl (**Abb. 5-18**) isolierte Germacren D ist mit beiden Enantiomeren (+) 51 % und (–) 49 % vertreten, wobei die relativ hohe Konzentration des (+) Enanatiomers in höheren Pflanzen selten gefunden wird, wie z.B. in einigen Solidago-Arten[90].

- **α-Gurjunen (63)**





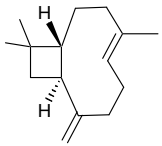
(–)- (+)-

α-Gurjunen (**63**)

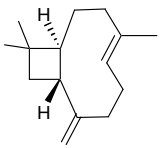
Abb. 5-13: GC der Vergleichssubstanz (+)-α-Gurjunen (A), sowie Coinjektion der Probe α-Gurjunen mit der Vergleichslösung (+)-α-Gurjunen (B).
Säule: 6-T-2,3-Me-β-CD, 25 m, 50 % OV 1701; Temp.: 120°C (isotherm)

Das α-Gurjunen (**Abb. 5-13**) konnte aus dem Fruchtöl von *S. terebinthifolius* isoliert und an der chiralen 6-T-2,3-Me-β-CD-Säule bei 120°C (isotherm) in die Enantiomere getrennt werden, wobei das (–) Enantiomer zu 100 % gefunden wurde (α-Wert = (R) : (S) = 1,206).

- **β-Caryophyllen (28)**



(–)-β-Caryophyllen



(+)-β-Caryophyllen

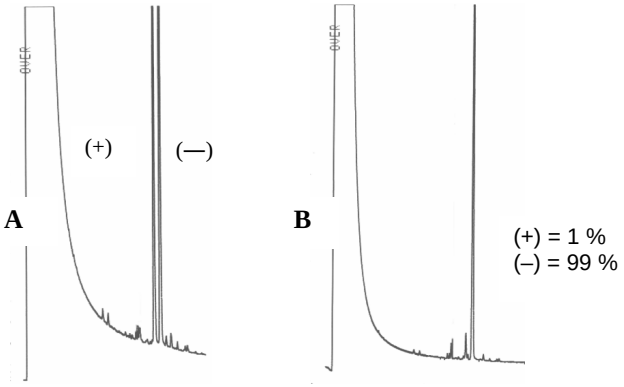
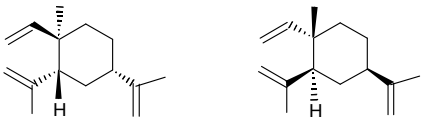


Abb. 5-14: Vergleichssubstanz (+/-) (A) β-Caryophyllen aus dem Öl = (-)-Enantiomer (B).
Säule: 2,6-Me-3-Pe-β-CD, 25 m, 50 % OV 1701; Temp: 120°C, isotherm.

Die gaschromatographische Untersuchung des aus dem Fruchtöl isolierten β-Caryophyllens (**28**) ergab einen Anteil von 99,0 % des (–)-Enantiomers (α-Wert = (S) : (R) = 1,040); Festlegung durch Injektion isolierter Enantiomere aus dem Arbeitskreis König.

- **β-Elemen (11)**



(+)-β-Elemen (–)-β-Elemen

Abb. 5-15: Struktur der Isomeren von *trans*-β-Elemen (**11**)

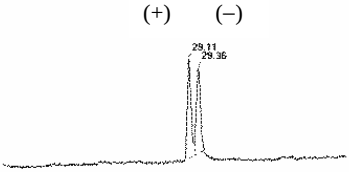


Abb. 5-16: Gaschromatogramm der Vergleichssubstanz (+/-)-β-Elemen (**11**)

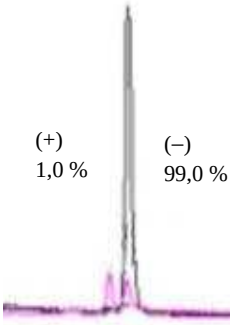


Abb. 5-17: Enantiomerentrennung von β-Elemen aus *S. terebinthifolius* isoliert (grau dargestellt) Vergleich farbig (+/-) dargestellt.

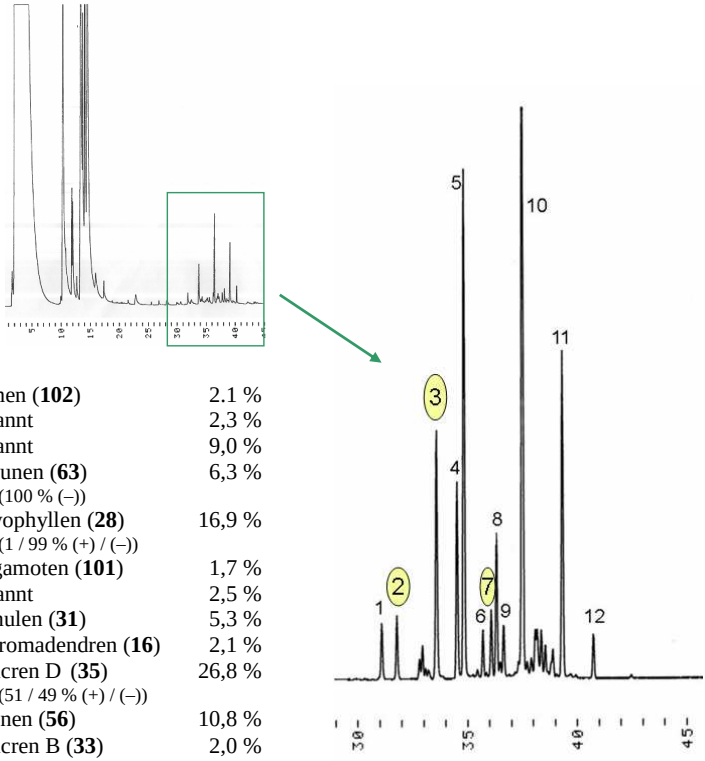
Säule: 6-T-2,3-Me-β-Cyclodextrin 50 % in OV 1701 ; Temp : 100°C, konst. Druck

In der Sesquiterpenfraktion konnte β-Elemen (**11**) nicht eindeutig zugeordnet werden, da die Substanz gaschromatographisch zur gleichen Zeit eluierte wie eine bis dahin unbekannte Komponente. So wurde β-Elemen erst nach der Abtrennung dieser unbekannten Substanz durch präparative GC mit unterschiedlich polaren Säulen isoliert und das Enantiomeren-Verhältnis bestimmt.

β-Elemen (**11**) bestand zu 99,0 % aus dem (–)-Enantiomer (α-Wert = (S) : (R) = 1,026).

5.5 Isolierung neuer Kohlenwasserstoffe aus *Schinus terebinthifolius*

Ausgangsmaterial für die Isolierung einiger bisher unbekannter Kohlenwasserstoffe war eine angereicherte Sesquiterpenfraktion (siehe **Abb. 5-18**) aus Frankreich, die aus dem ätherischen Öl der Früchte von *Schinus terebinthifolius* nach Abtrennung von Monoterpenen und Fettsäuren erhalten worden war.



1	δ-Elemen (**102**)	2.1 %
2	unbekannt	2,3 %
3	unbekannt	9,0 %
4	α-Gurjunen (**63**) (100 % (–))	6,3 %
5	β-Caryophyllen (**28**) (1 / 99 % (+) / (–))	16,9 %
6	α-Bergamoten (**101**)	1,7 %
7	unbekannt	2,5 %
8	α-Humulen (**31**)	5,3 %
9	*allo*-Aromadendren (**16**)	2,1 %
10	Germacren D (**35**) (51 / 49 % (+) / (–))	26,8 %
11	δ-Cadinen (**56**)	10,8 %
12	Germacren B (**33**)	2,0 %

Abb. 5-18: GC der angereicherten Sesquiterpenfraktion von *Schinus terebinthifolius* Früchten – Ausgangslösung der Isolierungsarbeiten

(GC-Säule CPSil 5, 50°C-230°C, 3°C/ min, Kap. 8.1)

Die einzelnen Komponenten dieser Fraktion (**Abb. 5-18**) wurden zunächst durch Vergleich mit Literaturdaten[58] identifiziert bzw. charakterisiert. Substanzen wie β-Caryophyllen (**28**) (16,9 %), Germacren D (**35**) (26,8 %) und δ-Cadinen (**56**) (10,8 %) dominierten in dieser Sesquiterpenfraktion.

Die Komponenten 2, 3 und 7 (Abb. 5-18) zeigten bei GC/MS-Untersuchungen Spektren bisher unbekannter Verbindungen. Die Strukturaufklärung der drei Substanzen erfolgte nach Auftrennung der Gesamtfraktion in mehreren Stufen. Durch Säulenchromatographie mit Pentan wurden zunächst verschiedene Kohlenwasserstoff-Fraktionen erhalten, gefolgt von den oxygenierten Verbindungen, die mit Pentan-Essigester-Gemischen unterschiedlicher Konzentration eluierten. Die Trennung wurde mittels DC (8.7.1: FM-8) qualitativ verfolgt (Abb. 5-19).

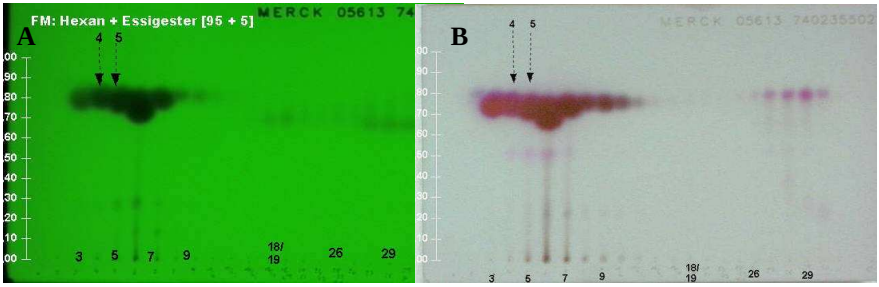
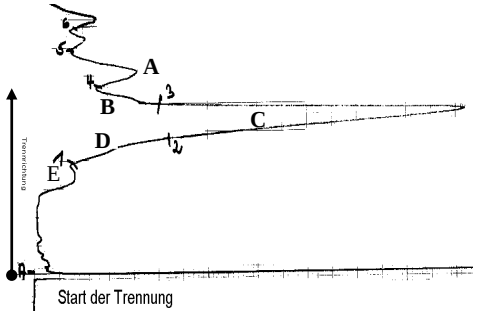


Abb. 5-19: DC der Auftrennung des ätherischen Öls mittels Trockensäulenchromatographie (Fraktionen durch Pentan – Essigester – Gradient erhalten und durchnummeriert) auf 10 x 10 cm Kieselgel 60 F_{254}-Platten, Auswertung: UV_{254}-Licht (A), Nachweisreagenz :Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz, Ansicht: Tageslicht (B)

Die Kieselgel-Fraktionen 3, 4 und 5 (Abb. 5-19) enthielten die gesuchten Komponenten 2, 3 und 7 (Abb. 5-18) in unterschiedlichen Konzentrationen. Durch präparative Gaschromatographie mit einer gepackten Säule SE-52 erfolgte zunächst eine weitere Auftrennung der eingeengten Trockensäuleneluate 3, 4 und 5 (Abb. 5-19) in Fraktionen A - D (Abb. 5-20), wobei zunächst eine weitere Abtrennung bereits bekannter Inhaltsstoffe erfolgte. Gleichzeitig konnte eine Anreicherung der unbekannten Komponenten D und B (Abb. 5-20) erzielt werden.



A: Germacren D (**35**)
B. unbekannte Substanz 7
C: β-Caryophyllen (**28**)
D: unbekannte Substanzen 2 und 3
E: δ-Elemen (**102**)

Abb. 5-20: Präparative GC der Kieselgelfraktion 3 (Abb. 5-19) mit gepackter SE 52-Säule (90°C bis 140 °C, bei 1°C/min)

Eine weitere Auftrennung des Bereichs D (Abb. 5-20) an einer semipräparativen DB1-Megabor-Säule ergab für die gesuchte Substanz 2 (Abb. 5-18) eine hinreichende Reinheit um 90 %. Aufgenommen in deuteriertem Benzol, konnte diese Komponente für die Strukturaufklärung verwendet werden (siehe 5.6.1).

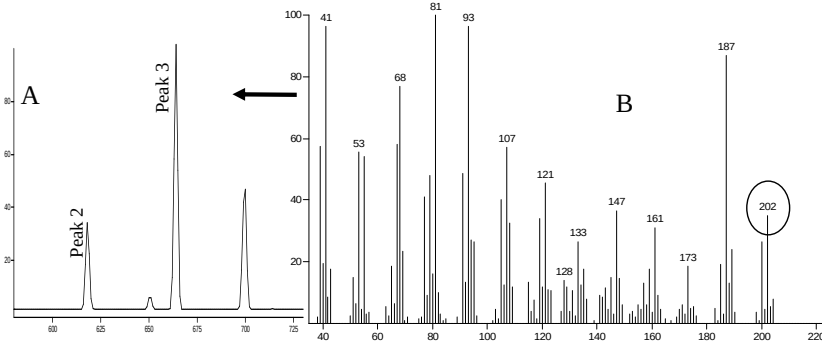


Abb. 5-21 A: GC-MS der Fraktion D (Abb. 5-20), Hauptkomponente entspricht Peak 3 (Abb. 5-18)
B: MS des aus 2 Substanzen (M^+ 204 und M^+ 202) bestehenden Gemisches von Peak 3 bei Scan 664

Eine Überprüfung der Reinheit von Peak 3 (Abb. 5-18), isoliert mit Hilfe der DB1-Megborsäule (Abb. 5-21 A), zeigte, dass dieser Peak ein Gemisch aus zwei Verbindungen war, die unter GC/MS-Bedingungen im selben Scanbereich eluierten. Dieses Gemisch ließ sich durch präparative Gaschromatogrphie mit einer mittelpolaren Megaborsäule (DB 1701) in β-Elemen und eine unbekannte Verbindung trennen (Abb. 5-22) Durch Variation des Temperaturprogrammes konnte die Komponente 3 (A) rein isoliert werden (siehe 5.6.2).

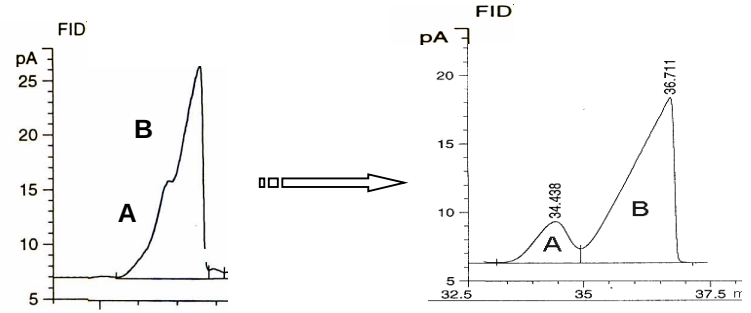
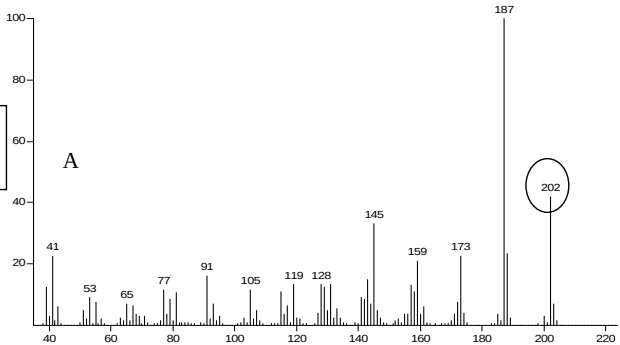


Abb. 5-22: Trennung an der mittelpolaren DB 1701 Säule, unbekannten Substanz (A) aus Peak 3 (Abb. 5-18) und β-Elemen (B), eluiert im GC auf einer CPSil 5 und DB1-Säule im gleichen Bereich wie Komponente 3 A.

A: MS der unbekannten Substanz



B: MS von β-Elemen (**11**)

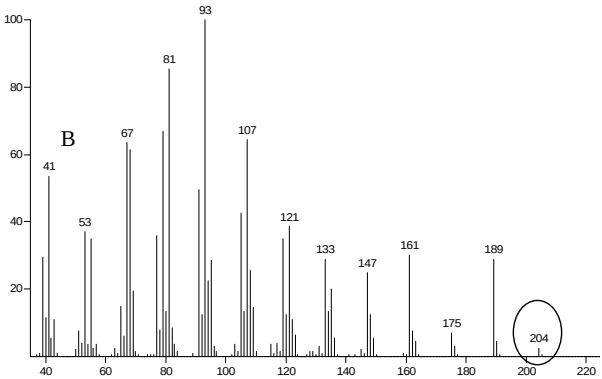


Abb. 5-23: MS-Spektren der unbekannten Substanz A (Abb. 5-22) getrennt von β-Elemen (mit MS-Spektrum).

Die Isolierung der gesuchten Komponente 7 (Abb. 5-18) wurde in gleicher Weise durchgeführt.

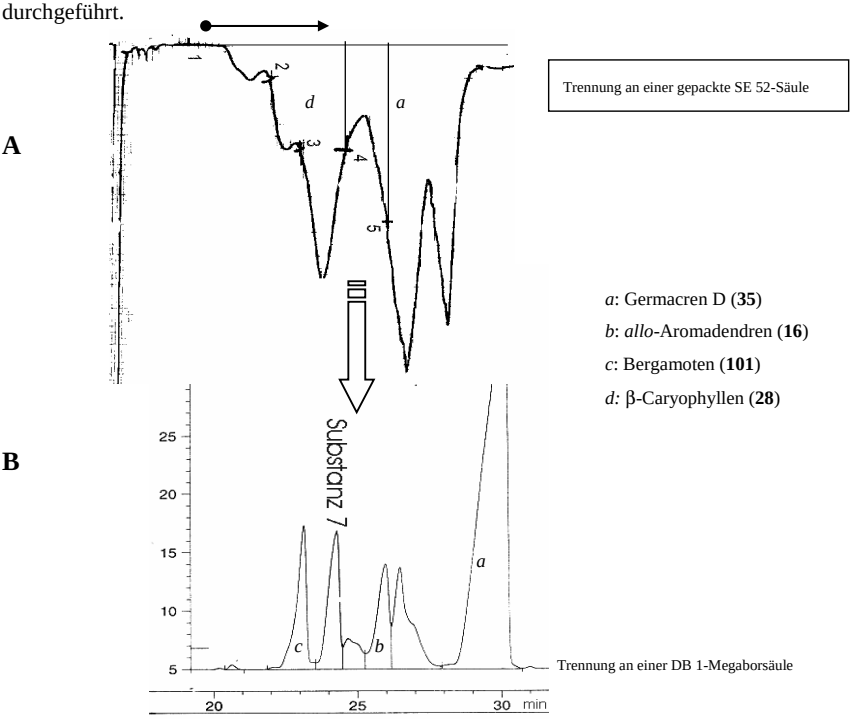


Abb. 5-24: Präparative GC der Kieselgelfraktion 5 (Abb. 5-19) zur Isolierung der Substanz 7
A: (125 °C isotherm, ab Bereich 5 – 2 °C/ min bis 145 °C)
B: DB 1 – Megaborsäule (100 – 135 °C, bei 2 °C/min Temperaturprogramm).

Ausgangslösung war die Fraktion 5 der Trockensäulentrennung, (siehe DC der Abb. 5-19). Überführt auf einen präparativen, mit einer gepackten SE-52 Säule bestückten GC, ließen sich große Mengen von den in hoher Konzentration vorhandenen Substanzen Germacren D (**35**) und β-Caryophyllen (**28**) (Abb. 5-24 A im Bereich 3 und 5) abtrennen. Der so gesammelte Bereich 4 wurde auf die DB 1 Megaborsäule (Abb. 5-24 B) übertragen. Die weitere Auftrennung führte zur Isolierung der Komponenten 7. Sie konnte mit einer Reinheit von 99 % zur Strukturaufklärung (siehe 5.6.3) verwendet werden.

Für die drei neuen Substanzen wurden folgende Trivialnamen vorgeschlagen:
Komponente 2 = Terebanen, Komponente 3 = Teredenen und Komponente 7 = Terebinthen.

5.6 Strukturaufklärung

5.6.1 Terebanen (**105**)

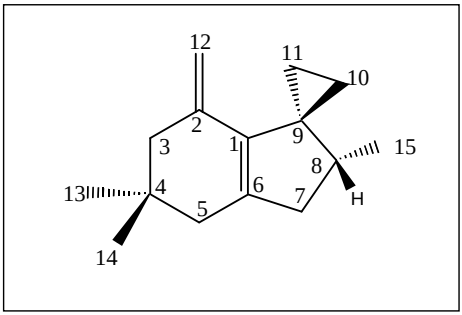


Abb. 5-25: Als 9-Spiro(cyclopropa)-4,4,8-trimethyl-2-methylen-bicyclo[4.3]non-1(6)-en wurde die Konstitution und relativen Konfiguration des neuen Sesquiterpenkohlenwasserstoffs identifiziert.
Die absolute Kofiguration der Substanz konnte nicht bestimmt werden.

Im Massenspektrum (Abb. 5-26) der isolierten Komponente 2 (Abb. 5-18) tritt das Signal für das Molekülion bei *m/z* 202 auf, so daß dem Molekül die Summenformel $C_{15}H_{22}$ zugeordnet werden kann. Der Basispeak hat eine Masse von *m/z* 131.

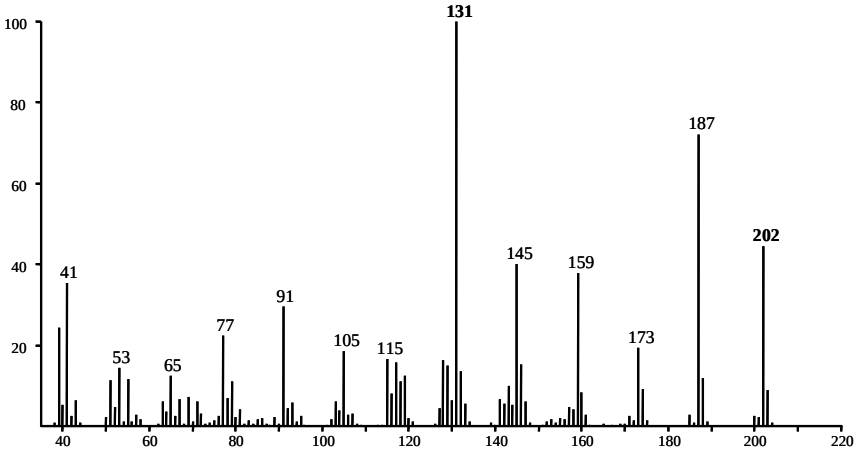


Abb. 5-26: Massenspektrum von Terebanen (GC-MS Scan 625, RI 1356; EI 70 eV)

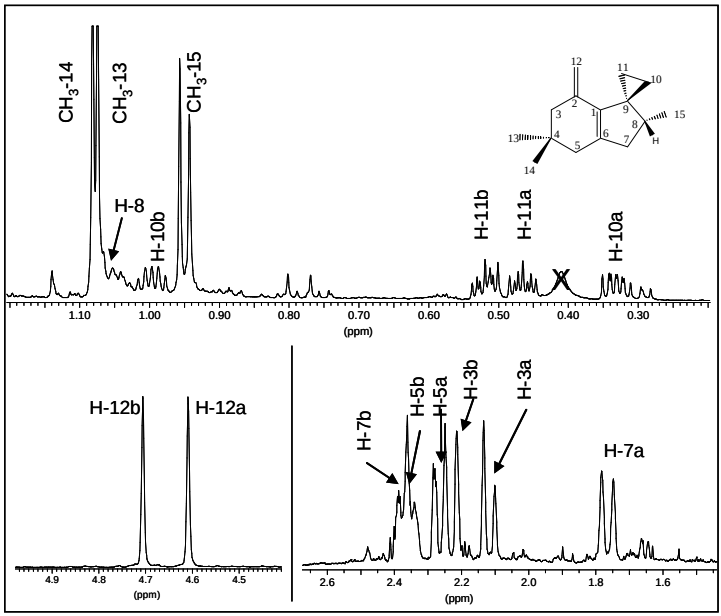
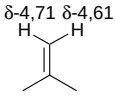


Abb. 5-27: ^{1}H-NMR-Spektrum von Terebanen

Das ^{1}H-NMR (Abb. 5-27) zeigt zwei Singulett-Signale für Methylgruppen bei δ 1,07 und 1,09 ppm, sowie ein Dublett bei δ 0,95 (J = 6,9 Hz) an einem sekundären Kohlenstoff. Die Signale bei δ 4,61 und 4,71 deuten auf olefinische Protonen einer exo-Methylengruppe hin.



Hochfeldverschobene Signale im Bereich δ 0,33, 0,46, 0,99 und 1,06 ppm verweisen auf Methylengruppen in einem Cyclopropanring. Die $^{1}J_{CH}$ Kopplungen aus dem HMQC-Spektrum zeigen die Kopplungen des C-Atoms bei δ 9,7 mit den H-Atomen bei δ 0,33 und 0,99 ppm und die Kopplungen des C-Atoms bei δ 17,1 mit den H-Atomen bei δ 0,46 und 0,51 ppm. Der Cyclopropan-Ring mit dem quartären Kohlenstoff bei δ 26,0 ppm ist aus dem HMBC-Experiment deutlich zu ersehen.

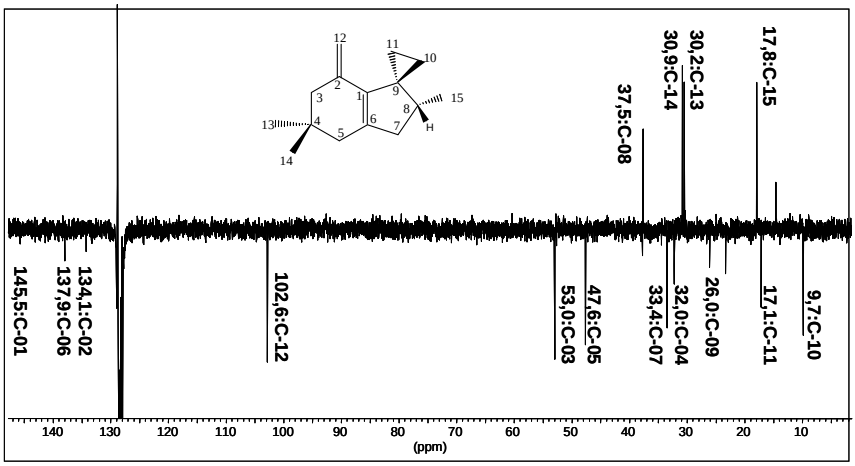


Abb. 5-28: ^{13}C-NMR-PENDANT-Spektrum von Terebanen aus *S. terebinthifolius* (in ppm) (500 MHz, C_6D_6)

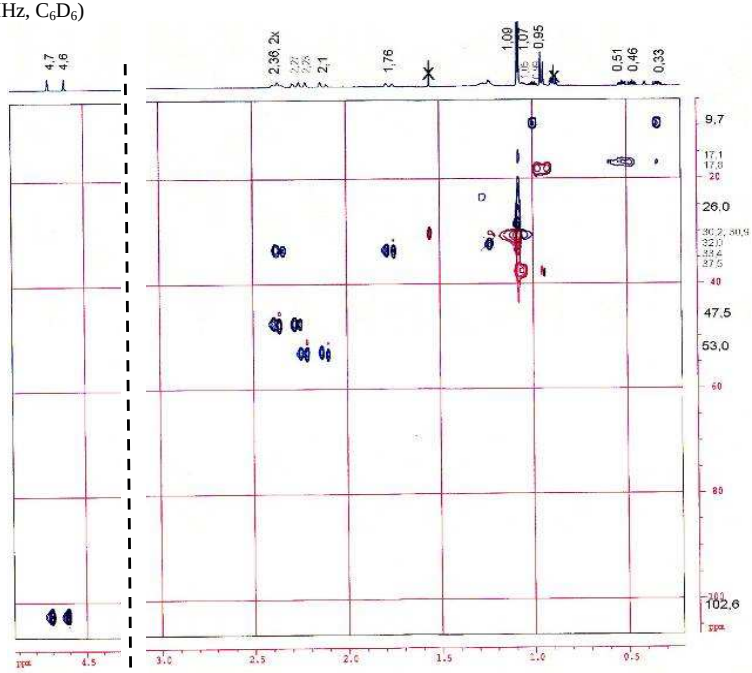


Abb. 5-29: HMQC-Spektrum von Terebanen

Im ^{13}C-NMR-PENDANT-Spektrum (Abb. 5-28) sind Signale für Kerne von drei primären Kohlenstoffatomen bei δ 17,8, 30,2 und 30,9 ppm, sechs sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 9,7, 17,1, 33,4, 47,6, 53,0 und 102,6 ppm, einem tertiären Kohlenstoffatom bei δ 37,5 ppm und fünf quartären Kohlenstoffatomen bei δ 26,0, 32,0 134,1, 137,9 und 145,5 ppm zu erkennen.

Das HMQC-Spektrum (Abb. 5-29) bestätigt die Kopplungen der charakteristischen Protonen im ^{1}H-Spektrum bei δ 0,33 und 0,99 mit dem ^{13}C-Signal bei δ 9,7 ppm sowie δ 0,46 und 0,51 mit dem ^{13}C-Signal bei δ 17,1 ppm als Protonen einer Cyclopropan-Teilstruktur.

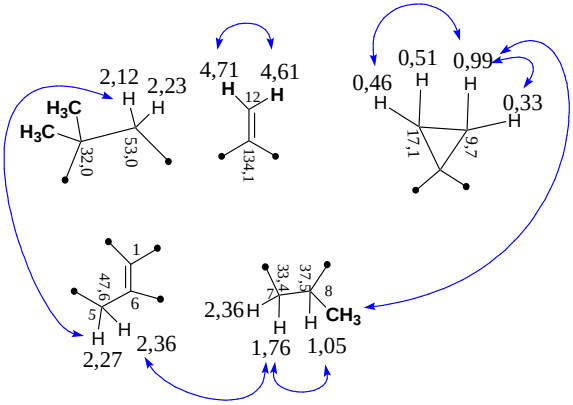


Abb. 5-30 Teilstrukturen aus den Korrelationen des ^{1}H-^{1}H-COSY-Spektrums von Terebanen.

Schwache Kopplungen des Protons bei 4,71 ppm (**H-12** b) zu den Methylgruppen (**H-13/14**), den Protonen der Methylengruppe (**H-7**) und (H-3) sind zu erkennen. Dagegen zeigt das Proton der exo-Methylengruppe bei δ 4,6 ppm Fernkopplungen zu einem Proton (**H-10** b, ^{5}J) der Methylengruppe aus dem Cyclopropanring und den Protonen der Methylengruppen (**H-7**, ^{5}J) und (**H-3**, ^{4}J).

Position	^{13}C δ(ppm)	^{1}H – (a) δ (ppm)	^{1}H –(b) δ (ppm)
C- 1	145,5		
C- 2	134,1		
C- 3	53,0	2,12, d, *J* = 16,7 Hz	2,23, d, *J* = 17,3 Hz
C- 4	32,0		
C- 5	47,6	2,27, d, *J* = 16,7Hz	2,36, m
C- 6	137,9		
C- 7	33,4	1,76, d, *J* = 17,5 Hz	2,36, m
C- 8	37,5	1,05, m	
C- 9	26,0		
C-10	9,7	0,33, q, *J* = 19,8 Hz	0,99, q, *J* = 19,5 Hz
C-11	17,1	0,46, sep, *J* = 18,6 Hz	0,51, sep, *J* = 18,2 Hz
C-12	102,6	4,61, s	4,71, s
C-13	30,2	1,07, s	
C-14	30,9	1,09, s	
C-15	17,8	0,95, d, *J* = 6,9 Hz	

Tabelle 5.8: Die ^{1}H-^{13}C-Korrelation von Terebanen wurden den HMQC- und HMBC-Daten entnommen.

Die Korrelationen des HMBC-Experimentes (siehe **Abb. 5-32**) zeigten die Verknüpfung der Teilstrukturen auf. So standen die Methylenprotonen des Cyclopopanrings in Resonanz zu dem Methinkohlenstoff bei δ 37,5 (**C-8**) und einem olefinisches C-Atom bei δ 145,5 ppm (**C-1**). Im Weiteren sind deutlich die Kopplungen des quartären C-Atoms (**C-2**) bei δ 134,1 ppm mit dem olefinischen Methylenkohlenstoff (**C-12**, δ 102,6, 4,6, 4,7 ppm) zu sehen. Einen Hinweis auf konjugierte Doppelbindungen liefert eine zweite olefinische Bindung zwischen δ 145,5 (**C-1**) und 137,9 ppm (**C-6**) im Spektrum.

Die Kopplungen der geminalen Methylgruppen mit dem quartären C-Atom (**C-4**) bei 32 ppm sind dem HMQC zu entnehmen. Die Resonanzen der Methylen-Gruppen mit den Kohlenstoffatomen 134,1 ppm (**C-2**) und 137,9 ppm (**C-6**) sind im HMBC ausgeprägt.

Die Protonen der Methylengruppe (δ 1,76, 2,36 zu 33,4 ppm (**C-7**)) zeigen eine *Long-Range*-Kopplung mit den Protonen der Methylengruppe (δ 2,27, 2,36 zu 47,6 ppm (**C-5**)) und den geminalen Methylgruppen.

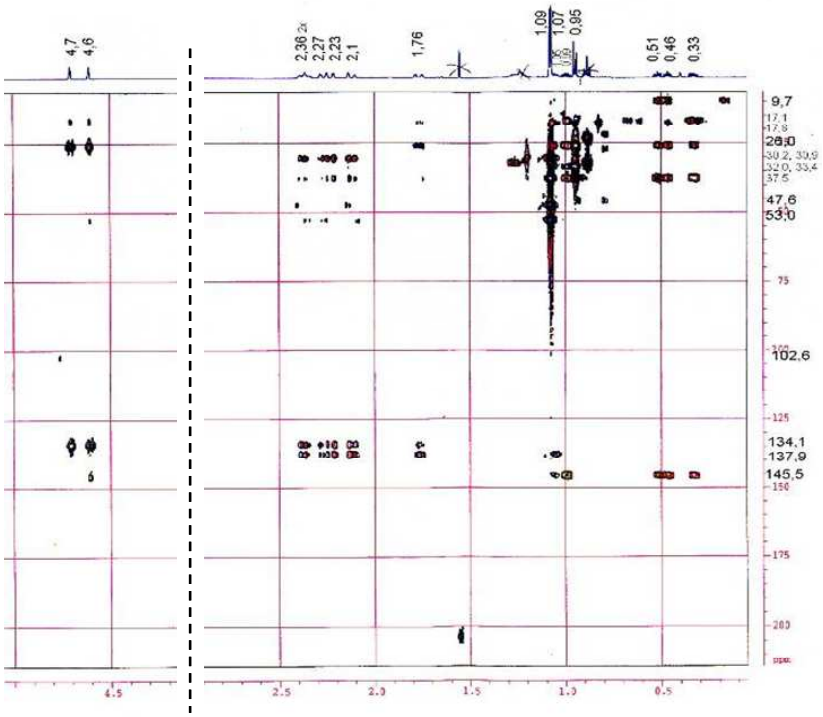


Abb. 5-31: HMBC-Spektrum von Terebanen (Substanz 2, Abb. 5-18)

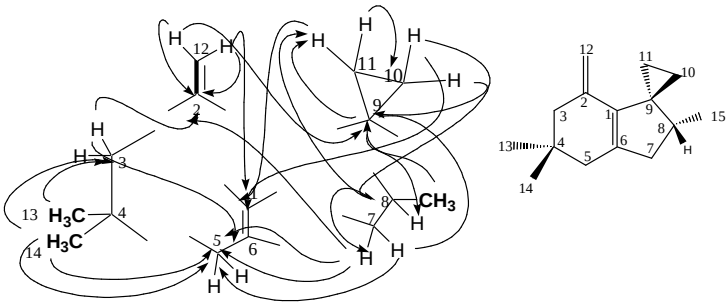


Abb. 5-32: HMBC- Korrelationen von Terebanen (**105**).

Eine detaillierte Betrachtung der Teilstrukturen des ^{1}H-^{1}H-COSY-Experimentes und der Auswertung aller Spektren führten zu der Struktur des Terebanens (**105**) als
9-Spiro(cyclopropa)-4,4,8-trimethyl-2-methylen-bicyclo[4.3]non-1(6)-en.

5.6.2 Teredenen (**106**)

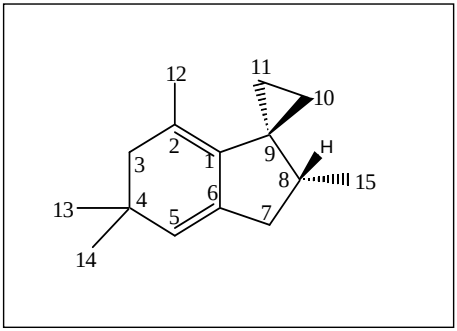


Abb. 5-33: Als 9-Spiro(cyclopropa)-2,4,4,8-tetramethylbicyclo[4.3]nona-1,5-dien wurde die Konstitution und relative Konfiguration des neuen Sesquiterpenkohlenwasserstoffs identifiziert.

Das im Massenspektrum (Abb. 5-34) dieser Substanz (Abb. 5-18, Komponente 3) zu findende Signal für das Molekülion bei *m/z* 202 weist auf eine Summenformel $C_{15}H_{22}$ hin.

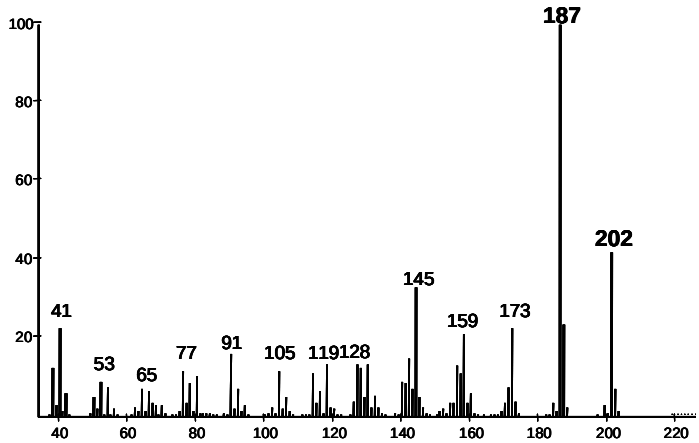


Abb. 5-34: MS-Spektrum von Teredenen (GC-MS-Scan 668, RI 1393, 70 eV)

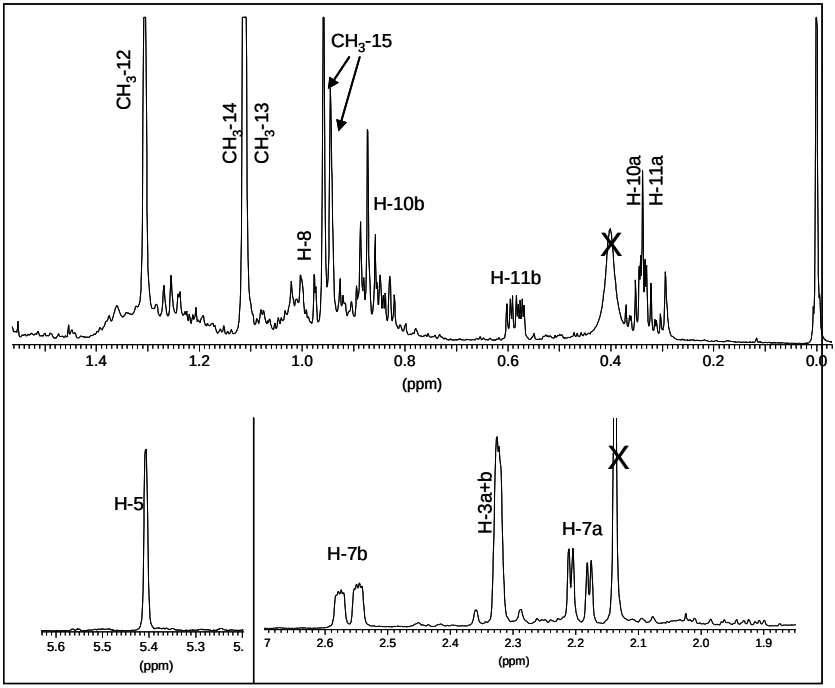


Abb. 5-35: ^{1}H-NMR-Spektrum von Teredenen (**106**)

Wichtige Merkmale des ^{1}H-NMR-Spektrums (Abb. 5-35) zur Erstellung der Struktur von Teredenen sind eine Singulett-Methylgruppe bei δ 1,33 und zwei Methylgruppen bei δ 1,1 ppm. Eine Methylgruppe spaltet zum Dublett bei δ 0,95 (J = 6,6 Hz). Dieses geschieht durch die Kopplung mit einem Proton (**H-8**, δ 1,02) an einem Methin-Kohlenstoff. Da das Proton H-5 mit δ 5,4 tieffeldverschoben ist, muss es an eine Doppelbindung gebunden sein. Die Protonen im Bereich δ 0,33, 0,34, 0,57 und 0,83 ppm deuten auf einen Cyclopropanring hin.

Im ^{13}C-NMR-PENDANT-Spektrum (Abb. 5-36) sind Signale für Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 14,5, 17,6, 30,0 und 30,4 ppm, vier sekundären Kohlenstoffatomen bei δ 9,6, 13,0, 31,7 und 44,3 ppm, von zwei tertiären Kohlenstoffatomen bei δ 38,4 und 138,5 festzustellen. Die Signale der fünf quartären Kohlenstoffatome bei δ 26,4, 43,4, 123,0, 138,0 und 139,0 ppm sind erst deutlich durch H-C-Korrelation im HMBC-Spektrum (Abb. 5-39) zu sehen.

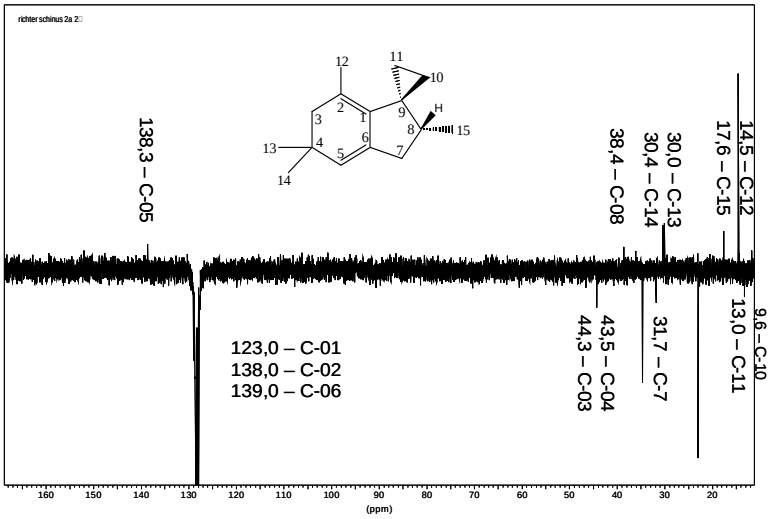


Abb. 5-36: ^{13}C-NMR-Spektrum von Teredenen

Kohlenstoff	^{13}C (ppm)	^{1}H –(a)	^{1}H –(b)	
C-1	123,0	-		
C-2	138,0	-		
C-3	44,3	2,3	2,3	
C-4	43,5			
C-5	138,5	5,4 (*s*)		
C-6	139,0	-		
C-7	31,7	2,2	2,6	
C-8	38,4	1,02		
C-9	26,4	-		
C-10	9,6	0,34, *m*	0,83, *m*	
C-11	13,0	0,33 *m*	0,57, *m*	
C-12	14,5	1,33 (*s*)		CH_3
C-13	30,0	1,1 (*s*)		CH_3
C-14	30,4	1,1 (*s*)		CH_3
C-15	17,6	0,95 (*d*, *J* = 6,6 Hz)		CH_3

Tabelle 5.9: ^{1}H-^{13}C-Korrelation von Teredenen

Die Auswertung des HMQC-Spektrums (Abb. 5-37), in dem die ^{1}J-Kopplungen dargestellt sind, zeigt eine Methylengruppe, bestehend aus den Protonen δ 0,34, 0,83, in Resonanz mit dem Kohlenstoff bei δ 9,6 ppm sowie eine zweite bei δ 0,33, 0,57 in Resonanz mit δ 13,0 ppm. Diese hochfeldverschobenen Signale deuten auch bei dieser neuen Struktur auf einen Cyclopropanring hin.

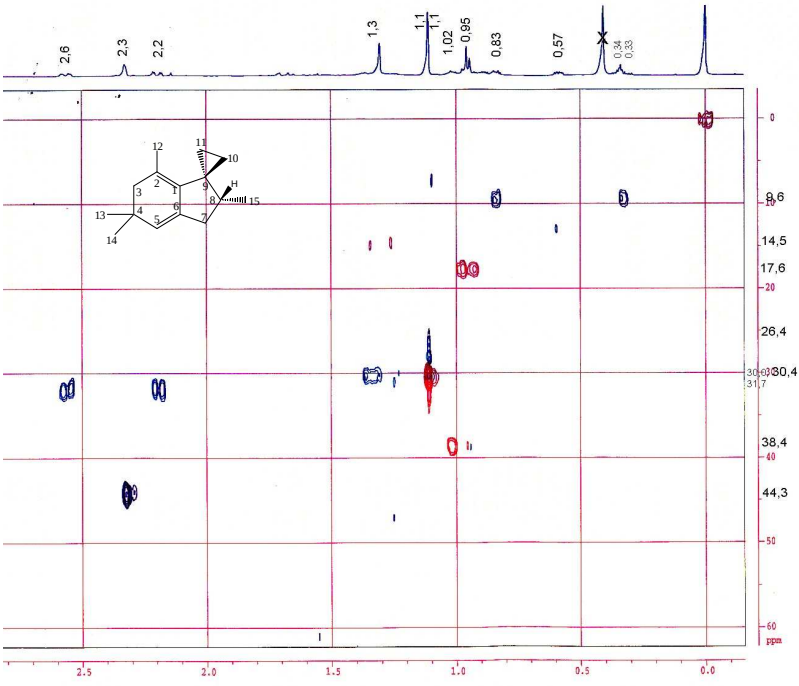


Abb. 5-37: HMQC-Spektrum von Teredenen

Aus den Messungen des HMBC-Experiments (Abb. 5-39) ergeben sich zwei Doppelbindungen (δ 123,0, C-1, 138,0 ppm, **C-2**) (δ 138,5, C-5, 139,0 ppm, **C-6**). Die erste der Doppelbindung steht in Resonanz mit dem Cyclopropanring, zur Methylgruppe bei δ 1,33, 14,5 ppm (**C-15**) und zu den Protonen einer Methylengruppe (δ 2,3, 2,3, 44,3 ppm, **C-3**). Die Protonen dieser Methylengruppe korrelieren ebenfalls mit der zweiten Doppelbindung. Dagegen stehen die geminalen Methylgruppen (**C-13**, **C-14**), welche an das quartäre Kohlenstoff bei δ 43,5 ppm gebunden sind, nur in Resonanz zum Kohlenstoff **C-5** der zweiten Doppelbindung.

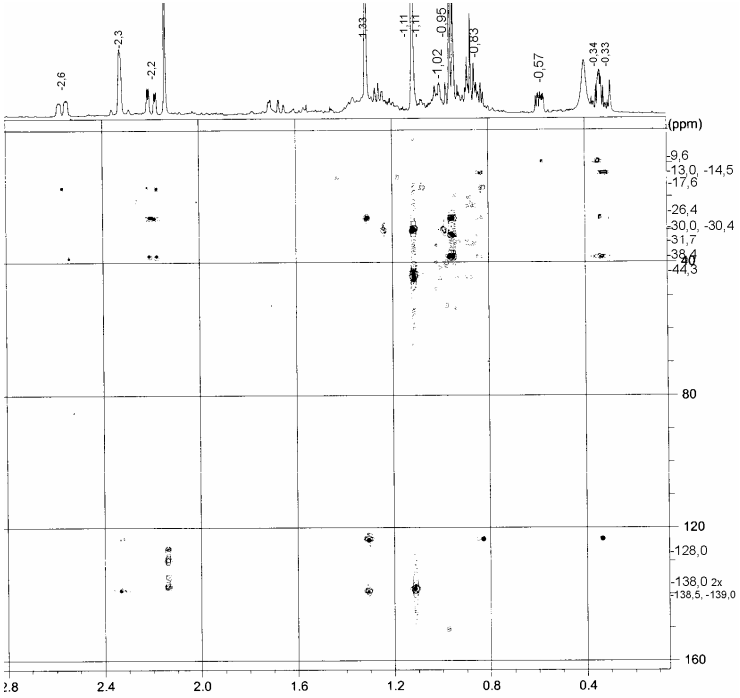


Abb. 5-38: HMBC-Spektrum von Teredenen (**106**)

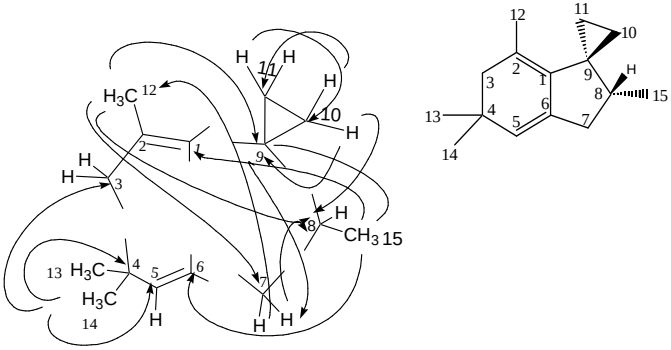


Abb. 5-39: HMBC-Korrelationen von Teredenen

Unter Einbeziehung des $^{1}H^{1}H$-COSY-Spektrums ergeben die Teilstrukturen eine tricyclische Struktur. Wie bei den vorherigen Strukturen des Terebanens (**105**) aus *Schinus terebinthifolius* setzt sie sich auch diese aus einem Cyclopropan, Cyclopentan und –hexan-Ring zusammen.

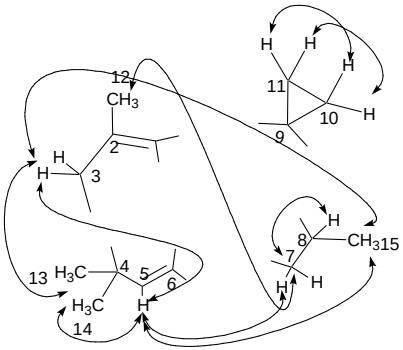


Abb. 5-40: ^{1}H-^{1}H-COSY-Beziehungen von Teredenen

Die relative Konfiguration des Teredenen (**106**) ergibt sich aus den Daten des $^{1}H,^{1}H$-COSY- und NOE-Experimentes. Dieser neue Sesquiterpenkohlenwasserstoff wurde so als 9-Spiro(cyclopropa)-2,4,4,8-tetramethylbicyclo[4.3]nona-1,5-dien identifiziert, wobei die absolute Konfiguration der Struktur nicht geklärt werden konnte.

5.6.3 Terebinthen (**107**)

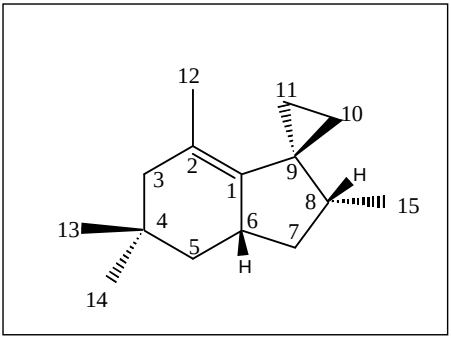


Abb. 5-41: Als (6 *R**, 8 *R**)-9-Spiro(cyclopropa)-2,4,4,8-tetramethyl-bicyclo[4.3.0]non-1-en wurde die Konstitution und relative Konfiguration des neuen Sesquiterpenkohlenwasserstoffs identifiziert.

Die Summenformel $C_{15}H_{24}$ ergibt sich aus dem Massenspektrum dieser Substanz, die ein Signal für das Molekülion bei *m/z* 204 (Abb. 5-42) aufweist. Der Basispeak hat eine Masse von 119 *m/z*.

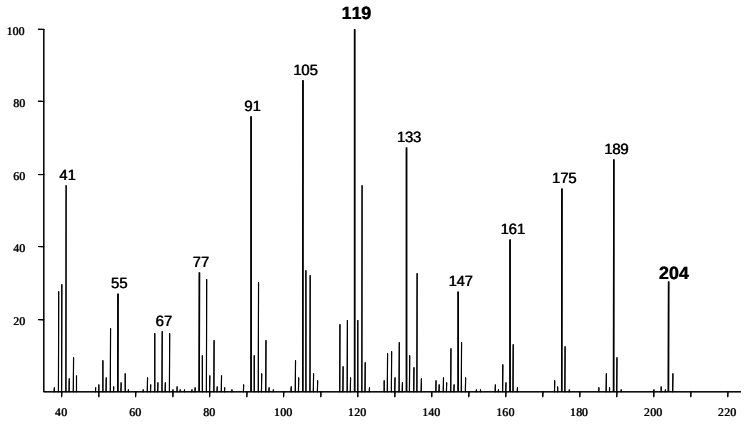


Abb. 5-42: Massenspektrum von Terebinthen (GC-MS-Scan 727, RI 1447; EI 70 eV)

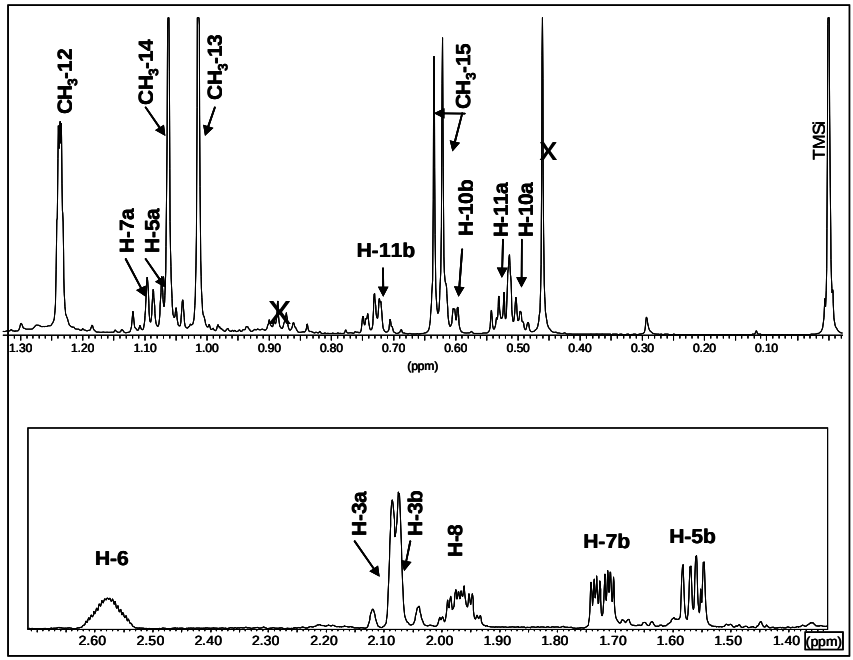


Abb. 5-43: ^{1}H-NMR-Spektrum von Terebinthen (500 MHz, C_6D_6)

Das ^{1}H NMR-Spektrum (

Abb. **5-43**) zeigt die stark hochfeldverschobenen Cyclopropan-Protonen (δ 0,51, 0,62 und δ 0,52 und 0,73 ppm). Außerdem erkennt man drei tertiäre Methylgruppen (δ 1,01, *s*, 1,06, *s*, 1,24, *s*) und eine zum Dublett aufgespaltene Methylgruppe an sekundärer Position bei δ 0,62. Die breiten Methin-Signale (δ 1,97, 2,58 ppm) sind charakteristisch tieffeldverschoben. Die weiteren Protonen liegen zwischen δ 1,09 und 2,08 und gehören zu Methylen-Gruppen, wobei das Signal δ 2,08 ppm, 2 H eine isolierte Methylen-Gruppe darstellt.

Im ^{13}C-NMR-Spektrum (Abb. 5-44) sind Signale für Kerne von vier primären Kohlenstoffatomen bei δ 13,8, 17,3, 29,7 und 31,4 ppm, fünf sekundäre Kohlenstoffatome bei δ 6,5, 7,3, 38,6, 46,3 und 48,7 ppm, zwei tertiäre Kohlenstoffatome bei δ 34,5 und 41,5 ppm

sowie ein quartäres Kohlenstoffatom bei δ 139,0 ppm zu finden. Drei weitere quartäre Kohlenstoffe bei δ 24,7, 37,2 und 126,1 ppm sind erst durch die Signale der H, C-Korrelationen im HMBC (Abb. 5-48) zu erkennen.

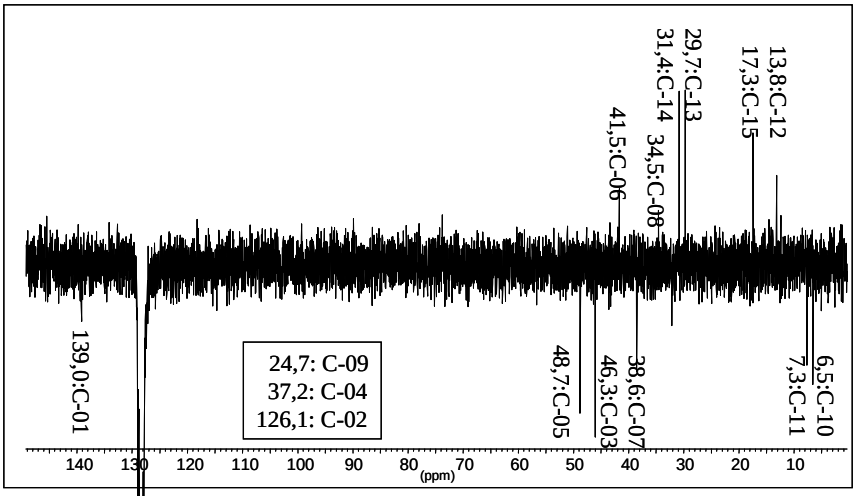


Abb. 5-44: ^{13}C-NMR--Spektrum von Terebinthen (**107**)

Die $^{1}J_{CH}$-Kopplungen der Protonen der Methylengruppen lassen sich deutlich aus dem HMQC-Spektrum ablesen (Abb. 5-46). Die hochfeldverschobenen Protonen koppeln ebenfalls mit zwei hochfeldverschobenen Kohlenstoffatomen eines Cyclopropanringes. Die Methylengruppe (**C-3**) ist mit δ 46,3 deutlich tieffeldverschoben und deutet die Nähe zu einer Doppelbindung an, was auch für die Methingruppe (**C-6**) mit δ 41,5 ppm gilt.

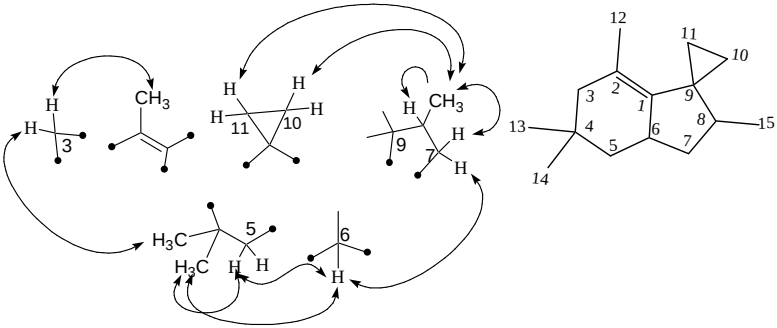


Abb. 5-45: Wichtige ^{1}H^{1}H-COSY-Korrelation führen zu Teilstrukturen von Terebinthen (**107**)

Die $^{1}H^{1}H$-COSY-Korrelationen (Abb. 5-45) führen zu Teilstrukturen von Terebinthen (**107**). So finden sich Signale für einen Cyclopanring (δ 0,51, 0,62, 6,5 und δ 0,52, 0,73, 7,3) und eine isolierte Methylengruppe (δ 2,06, 2,08, 46,3). Neben den schwachen Signalen einer olefinischen Methylgruppe (δ 1,24, 13,8) zeigen sich im Spektrum intensive Signale zweier geminaler Methylgruppen (δ 1,01, 29,7 und δ 1,06, 31,4).

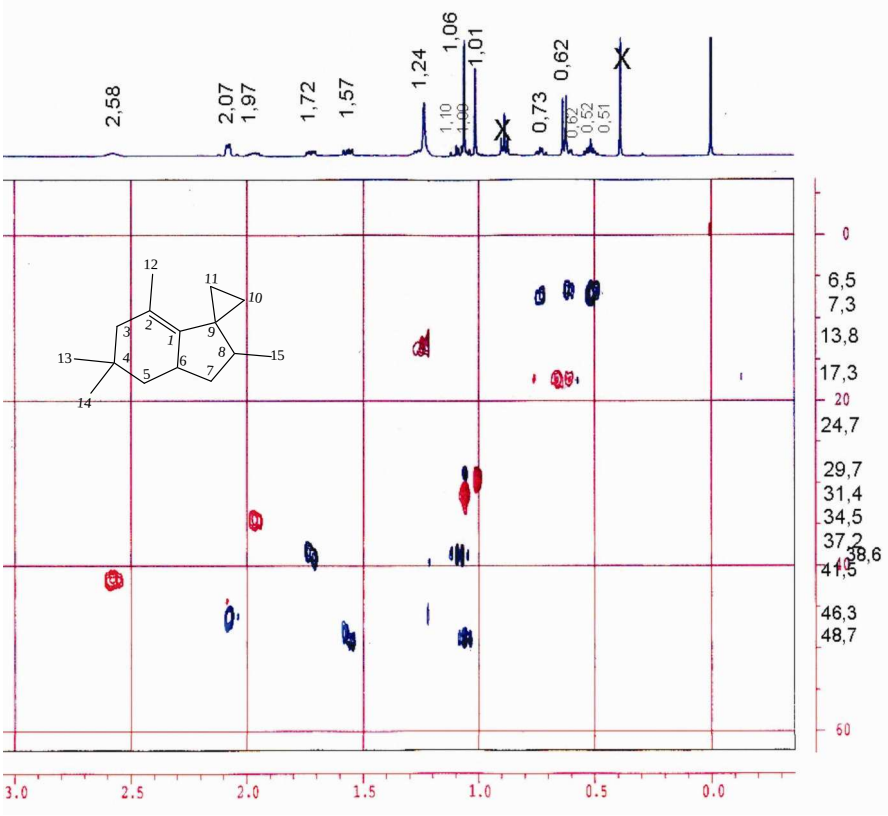
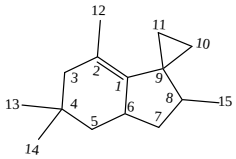


Abb. 5-46: HMQC-Spektrum von Terebinthen (**107**)

	^{13}C (ppm)	^{1}H –(a)	^{1}H –(b)
C-1	139	-	
C-2	126,1	-	
C-3	46,3	1 H, 2,08, *d*, *J* = 16,8 Hz	1 H, 2,06, *d*, *J* = 17,0 Hz
C-4	37,2	-	
C-5	48,7	1 H, 1,09	1,57, *m*, *J* = 18,5 Hz
C-6	41,5	2,58, *br*	
C-7	38,6	1,1, *m*	1,72, *m*
C-8	34,5	1,97, *br*	
C-9	24,7	-	
C-10	6,5	0,51, *m*	0,62, *m*
C-11	7,3	0,52, *m*	0,73, *m*
C-12	13,8	3 H, 1,24, *s*	
C-13	29,7	3 H, 1,01, *s*	
C-14	31,4	3 H, 1,06, *s*	
C-15	17,3	3 H, 0,62, *d*, *J* = 6,9 Hz	

Tabelle 5.10: ^{1}H-^{13}C-Kopplungen (HMQC) von Terebinthen (**107**)

Deutlich ist aus dem HMBC-Spektrum (Abb. 5-48) die Kopplung der geminalen Methylgruppen (**C-13**, **C-14**) mit dem quartären Kohlenstoffatom bei δ 37,2 ppm zu erkennen. Weitere Kopplungen zu den Kohlenstoffatomen δ 46,3 (**C-3**) und δ 48,7 ppm (**C-5**) sind vorhanden, so dass sie in direkter Verbindung stehen müssen. Eine Nähe des Cyclopropanringes zur Doppelbindung ist durch die Kopplungen erkennbar. Starke Resonanz zeigt die Metylgruppe bei δ 17,3 ppm mit dem quartären Kohlenstoff (δ 24,7 ppm, **C-09**) des Cyclopropanringes, dem Methinkohlenstoff bei δ 34,5 ppm, (**C-08**) sowie dem Kohlenstoffatom der Doppelbindung bei δ 126,1 ppm, (**C-02**).



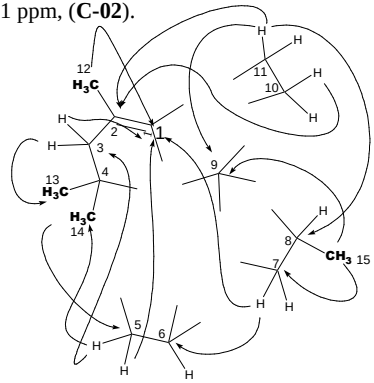


Abb. 5-47: Wichtige HMBC-Korrelationen von Terebinthen (**107**)

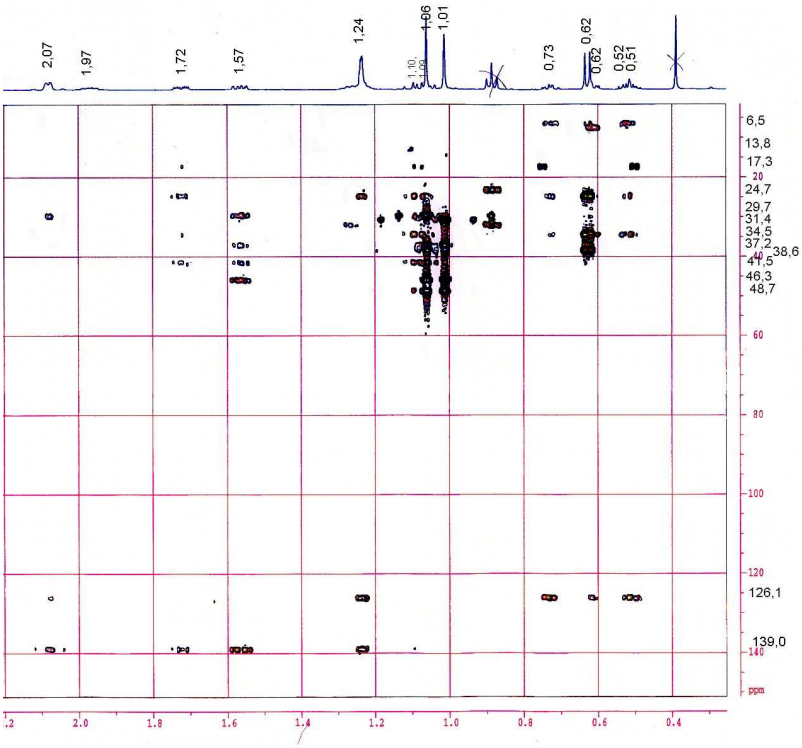


Abb. 5-48: HMBC-Spektrum von Terebinthen (**107**)

Durch die Auswertung der bisherigen Daten mit den Informationen des $^{1}H^{1}H$-COSY-Spektrums lassen sich die beobachteten Strukturelemente zu einem Molekül mit tricyclischer Struktur, die der Terebanen Struktur (**105**) ähnelt, zusammenfügen. Bestehend aus einem Cyclopropan-, einem Cyclopentan- und einem Cyclohexen-Ring befinden sich die Methylgruppen in der Struktur in den gleichen Positionen. Das aus dem Massenspektrum (Abb. 5-42) bekannte Molgewicht von *m/z* 202 im Vergleich zum Molgewicht von 204 deutet auf eine Dihydro-Teredenen Struktur hin. Terebinthen enthält eine Doppelbindung in 1,2-Position.

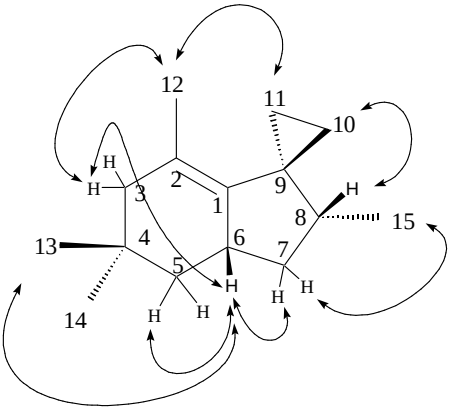


Abb. 5-49: NOESY Korrelation von Terebinthen

Das NOE-Spektrum bestätigt die tricyclische Struktur (**107**). Die Methylgruppe **C-13** (δ 1,07, 30,02 ppm) steht in Wechselwirkung zu dem Proton **H-6** (δ 2,57 ppm), wobei dieser Wasserstoff auch in Korrelation zu dem Proton **H-8** (δ 1,97 ppm) steht.

Als (6 *R**, 8 *R**)-9-Spiro(cyclopropa)-2,4,4,8-tetramethyl-bicyclo[4.3.0.]non-1-en konnte die relative Konfiguration der Struktur von Terebinthen festgelegt werden.

Die Strukturen der isolierten Kohlenwasserstoffe aus *S. terebinthifolius* sind bisher nicht aus Pflanzen isoliert worden. Vergleichbare Substanzen (siehe Illudan-Skelett, Abb. 5-50) wurden bisher nur in Pilzen beschrieben. Das neue Grundgerüst entspricht nicht dem typischen Sesquiterpenmuster der Kopf-Schwanz-Verknüpfung. Denkbar ist, ähnlich dem aus Pilzen isolierten Illudan, eine Bildung aus Farnesylpyrophosphat durch Cyclisierungs- und Umlagerungssequenzen.

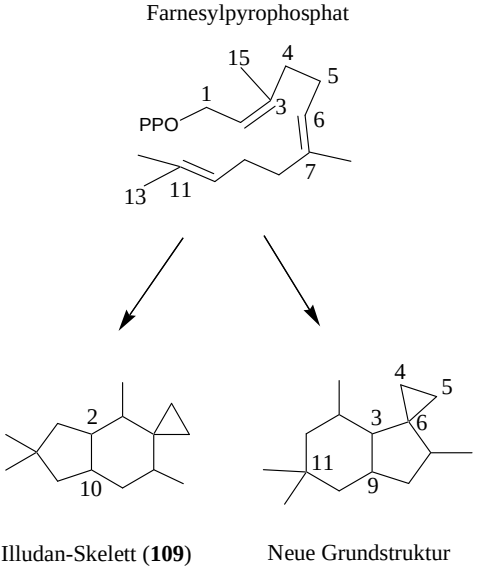


Abb. 5-50: Strukturelle Zusammenhänge zwischen Farnesylpyrophosphat, den neuen Schinus-Sesquiterpenen und den aus Pilzen bekannten Sesquiterpenen mit Illudanstruktur.

Die isolierten reinen Verbindungen erwiesen sich in Lösung als instabil.

6 Zusammenfassung

Gegenstand der vorliegenden Arbeit waren Untersuchungen der ätherischen Öle von *Panax ginseng* C.A. Meyer, *Eleutherococcus senticosus* MAXIM. (Araliaceae) und *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) mittels GC- und GC-MS-Analyse. Einige Sesquiterpenkohlenwasserstoffe, die auf diese Weise nicht identifiziert werden konnten, wurden isoliert und ihre Struktur durch ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie aufgeklärt.

Anhand von GC- Untersuchungen wurde Wurzelöl von *P. ginseng* C.A. Meyer aus deutschem Anbau mit Ware aus Korea verglichen. Hier konnte in allen sowohl getrockneten als auch frischen Mustern bis auf die Probe aus Deutschland, Bicyclogermacren (**9**) (4,5 – 20,4 %) als Hauptkomponente nachgewiesen werden. In letzterer waren *allo*-Aromadendren (**16**), Guaja-6,9-dien-4β-ol (**45**) und Calaren (**12**) dominierend. Im ätherische Blattöl der einheimischen Pflanzen zeigten sich Germacren D (**35**) (15,7 %) und (E)-β-Farnesen (**46**) (10,7 %) als Hauptkomponenten.

Außerdem wurden zwei Proben des amerikanischen Ginseng (*P. quinquefolium* L., Araliaceae), bezogen aus China und Deutschland, untersucht. Hier dominierten Calaren (**12**) und β-Panasinsen (**21**).

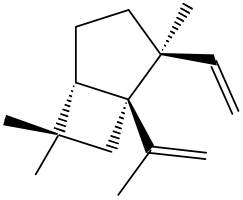
Die bisher unbekannte Zusammensetzung der flüchtigen Bestandteile des ätherischen Öls der Wurzeln von Sibirischem Ginseng (*E. senticosus* Maxim.) wurde in die Untersuchung einbezogen. Es zeigten sich erhebliche Unterschiede im Bereich der Monoterpene / Phenylpropane, wobei *trans*-Anethol (**89**) mit 27 % und 17,2 % bei zwei Proben die Hauptkomponente darstellte. In der dritten Probe dominierte Thymol (**92**)(4,7 %). Im Bereich der Sesquiterpene war in allen Proben Guaja-6,9-dien-4β-ol (**45**) und Guaja-6,10(14)-dien-4β-ol (**108)** (8 % bis 14,6 %) nachzuweisen. In hohen Konzentrationen waren α-Longipinen (**82**) mit 0,8 - 8,9 % und α-Bisabolol mit 1,3 – 7,6 % zu finden.

Desweiteren dienten Blätter und Früchte von *Schinus terebinthifolius* und *S. molle* als Untersuchungsgut. Da das Verhältnis der Mono- u. Sesquiterpene im ätherischen Öl große Unterschiede aufwies, wurden Blätter und Früchte aus verschiedenen Botanischen Gärten in die Untersuchung einbezogen. So zeigten Blätter von *S. terebinthifolius* bei 3 von 5 Mustern einen Anteil von 70 – 83 % Monoterpene im ätherischen Öl. Eine Probe aus dem Bot. Garten Hohenheim enthielt einen Monoterpenanteil von unter 40 %, während ein Muster aus dem Bot. Garten Ulm ein Verhältnis von 60 % Mono- zu 40 % Sesquiterpenen aufwies. Im weiteren wurden drei Muster von Früchten untersucht, deren ätherisches Öl zwischen 31 und

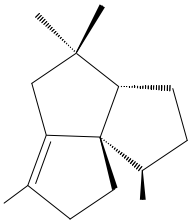
96 % Monoterpene enthielten. Bei den Untersuchungen der drei Proben von *S. molle* Blättern und einem Muster an Früchten zeigten sich einheitlichere Ergebnisse (73 - 90 % zu 10 – 27 %). Hauptkomponenten waren dabei α-Pinen (**81**), β-Pinen (**100**), α- und β-Phellandren (**83**, **84**). Limonen (66) war in einem der Blattöle und einem Fruchtöl die Hauptkomponente.

Die Zusammensetzung der Enantiomere im Bereich der Mono- und Sesquiterpene wurde durch enantioselektive Gaschromatographie bestimmt. Hier konnte unter anderem nachgewiesen werden, dass Germacren D im Fruchtöl von *S. terebinthifolius* nahezu racemisch vorliegt.

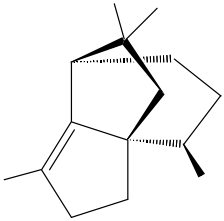
Ferner wurde die Isolierung und Charakterisierung neuer Sesquiterpenkohlenwasserstoffe sowohl aus den Feinwurzeln von *P. ginseng* als auch aus dem Früchten von *S. terebinthifolius* durchgeführt. Zur Aufklärung der Konstitution wurde MS- sowie ein- und zweidimensionale NMR-Technik verwendet.



Panaxen (**A**)

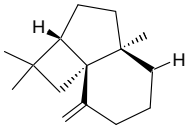


Panaginsen (**B**)



Ginsinsen (**C**)

Panaginsen (**B**) und Ginsinsen (**C**) stellen dabei neue Verbindungen dar, während das neue Panaxen (**A**) einen strukturellen Zusammenhang zum β-Panasinsen (**21**) vermuten läßt.

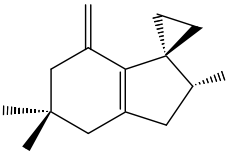


β-Panasinsen (**21**)

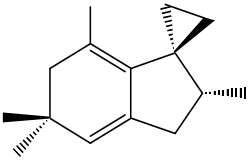
Einen wichtigen Beitrag zur Feststellung der Identität von Arzneidrogen können diese Substanzen als Marker des unverfälschten *P. ginseng* gegenüber *P. quinquefolium* leisten, da diese Komponenten nur in ersterem in einem definierten Verhältnis (1:1,1:2,6) enthalten waren.

Aus dem ätherischen Fruchtöl von *S. terebinthifolius* wurden drei weitere neue Sesquiterpenkohlenwasserstoffe mittels präparativer GC isoliert und deren Struktur mit Hilfe der NMR-Technik bestimmt. Diese drei Sesquiterpenkohlenwasserstoffe weisen ungewöhnliche

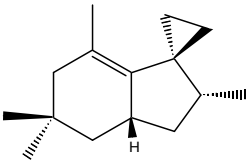
tricyclische Strukturen mit einem Spirocyclopropanring auf. Sie wurden bislang nicht in höheren Pflanzen gefunden.



Terebanen (**105**)

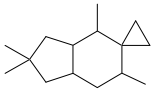


Teredenen (**106**)



Terebinthen (**107**)

Es lassen sich strukturelle Zusammenhänge zu der aus Pilzen bekannten Illudanstruktur (**109**) erkennen.



Illudan-Skelett (**109**)

7 Summary

Subjects of this study are the investigations on mono- and sesquiterpenes in *Panax ginseng*, *Eleutherococcus senticosus* (Araliaceae) and *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) by means of GC- and GC-MS-analysis. Some sesquiterpene hydrocarbons, which could not be identified by these methods, were isolated and their structures were elucidated by one- and two-dimensional NMR-spectroscopy.

Using the GC-method the essential oil of roots of *P. ginseng* – obtained from Korea and Germany – were investigated and the results compared. In all samples, both the dried and the freshly harvested ones, except the German, bicyclogermacrene (**9**) (4,5 – 20,4 %) was identified as the main component. The root oil sample from German cultivations was dominated by *allo*-aromadendrene (**16**), guaja-6,9-diene-4*β*-ol (**45**) and calarene (**12**). The oils from the leaves showed germacrene D (**35**) (15,7 %) and (*E*)-β-farnesene (**46**) (10,7 %) as main constituents. In addition, a Chinese and German trade samples of the American ginseng (*P. quinquefolium* L., Araliaceae), were analyzed. The significant components in these were calarene (**12**) and β-panasinsene (**21**).

For the first time previously unknown components of the volatile oil of Sibirian Ginseng (*E. senticosus* Maxim.) were subject of this investigation. The result showed significant differences among the monoterpenes and phenylpropanes. *trans*-Anethol was the main component with a range of 17.2 – 27 %. The third sample was dominated by thymol (**92**) (4,7 %). Among the sesquiterpenes all samples showed guaja-6,9-diene-4*β*-ol (**45**) and guaja-6,10(14)-diene-4*β*-ol (**108**) 8 % - 14,6 %). α-Longipinene (**82**) (0,8 – 8,9 %) and α-Bisabolol (1,3 – 7,6 %) were present in high concentrations.

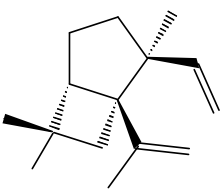
In addition, samples of leaves and fruits of *S. terebinthifolius* and *S. molle* (Anacardiaceae) were investigated. Again, the concentration of mono- and sesquiterpenes differed greatly. Therefore, leaves and fruits were collected from different botanical gardens and included in the investigation. In three of five samples the essential oil of the leaves of *S. terebinthifolius* showed relative amounts of 70 – 83 % monoterpenes.

One sample from the Bot. Garden of Hohenheim contained a percentage of below 40 %, while the sample from the Bot. Garden of Ulm showed a ratio of 60 mono- to 40 % of sesquiterpenes. Three different samples of fruits were analysed: the essential oil contained 31 to 96 % of monoterpenes. The results of the investigation of the three samples of *S. molle* leaves and one sample of fruit showed a greater similarity: 90 –73 % of monoterpenes to 10 – 27 % of sesquiterpenes.

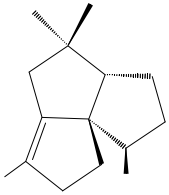
Main components were α-Pinene (**81**), β-Pinene (**100**), α- and β-Phellandrene (**83, 84**); in one case of the leaf oil and fruit oil respectively, the main component was Limonene (**66**).

Enantioselective GC was used to analyze the enantiomeres of mono- and sesquiterpenes. A very unusual case was the presence of racemic Germacrene D in the fruit oil of *S. terebinthifolius*.

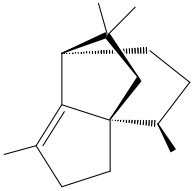
Three new sesquiterpene hydrocarbons from the rootletts of *P. ginseng* and the fruit of *S. terebinthifolius* were isolated and characterized. The relative configurations were identified by NMR-techniques.



Panaxene (**A**)



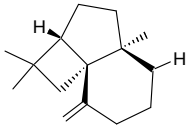
Panaginsene (**B**)



Ginsinsene (**C**)

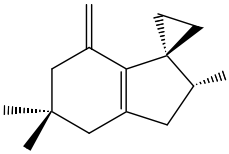
The new structures were termed panaginsene (**B**) and ginsinsene (**C**). The newly found Panaxen (**A**) may be structurally close to β-panasinsene (**21**).

The three new sesquiterpenes may serve as markers to distinguish between *P. quinquefolium* and the original *P. ginseng*, as only *P. ginseng* showed a relation of **A : B : C** = (1 : 1.1 : 2.6) of this substances.

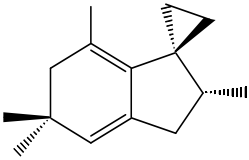


β-Panasinsene (**21**)

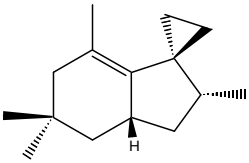
Another three new sesquiterpene hydrocarbons were isolated from the volatile fruitoil of *S. terebinthifolius* via preparative GC, and their structures were assigned by NMR-techniques. These new sesquiterpene hydrocarbons show unusual tricyclic structures with a spirocyclopropan-ring. Up to now none of these structures has been found in any higher plant.



Terebanene (**105**)

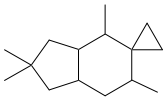


Teredenene (**106**)



Terebinthene (**107**)

These substances indicate a possible relation to the illudane structure (**109**) of some fungal metabolites.



Illudane-Skeleton (**109**)

8 Experimenteller Teil

8.1 Analytische Gaschromatographie

Es wurde der Doppelsäulengaschromatograph Mikromat 412 der Firma Orion verwendet. Er war ausgestattet mit zwei jeweils 25 m lange Kapillarsäulen (0,25 mm I.D), die mit den Phasen Polysiloxan CPSil-5 beziehungsweise Polysiloxan CPSil-19 (Chrompack) belegt waren. Ferner wurden ein Gaschromatograph HRGC 4160 der Firma Carlo Erba eingesetzt, der mit einer ca. 23 m CPSil-5 belegten Kapillare ausgestattet war. Die Filmdicke der Phasen betrug 0,25 µm.

Die enantioselektive Gaschromatographie wurde an Geräten der Firma Carlo Erba, Baureihe 2150 durchgeführt. Zur Integration und Chromatographieaufzeichnung dienten Integratoren der Firma Merck-Hitachi Serie D-2500. Weiterhin wurde ein GC Fison Instrument 8160 mit computerintegriertem Programm (Chrom Card for Windows, Vers. 1.19-4β) eingesetzt. Die Gaschromatographen waren mit 25 m langen Kapillarsäulen ausgestattet, die mit unterschiedlichem Säulenmaterial (siehe Tabelle 8.1) belegt waren. Alle Geräte waren mit einem Flammenionisationsdetektor und einen Splitinjektor (Splitverhältnis ca. 1 : 30) versehen. Als Trägergas diente Wasserstoff bei 0,5 bar (Reinheit 5.0). Die Injektortemperatur betrug 200 °C, die Detektortemperatur 250 °C.

Stationäre Phase (Phase in Polysiloxan OV 1701)	**Temperatur**	**Substanz**	**Enantimeren-Reihenfolge**
Phase 1: 2,6-Me-3-Pe-β-CD (50 %)	80°C, 10 min isotherm, 2°C / min bis 120 °C od. 120°C isotherm	β-Caryophyllen, Germacren D	(+)vor (–), α = 1,040 (+)vor (–), α = 1,046
Phase 2: 6-Me-2,3-Pe-β-CD (60 % bzw 80 %)	30 °C, 20 min isotherm 35 °C, 30 min isotherm, 1 °C/min bis 160 °C	α-Pinen β-Pinen Limonen	(–)vor (+), α = 1,200 (–)vor (+), α = 1,156 (–)vor (+) α = 1,052
Phase 3: 6-Me-2,3-Pe-γ-CD (80 %)	50 °C, isotherm,	α-Phellandren β-Phellandren	(+)vor (–), α = 1,151 (+) vor (–), α = 1,085
Phase 4: 6-T-2,3-Me-β-CD (50 %)	70 °C isotherm 70 °C isotherm 80 °C isotherm 100 °C isotherm 100 °C isotherm 115 °C isotherm 120 °C isotherm 120 °C isotherm	α-Phellandren β-Phellandren α-Copaen α-Longipinen β-Elemen Bicyclogermacren Germacren D α-Gurjunen	(–)vor (+), α = 1,032 (+) vor (–), α = 1,097 (+)vor (–), α = 1,088 (–)vor (+) α = 1,027 (+)vor (–) α = 1,026 (–)vor (+) α = 1,041 (+)vor (–), α = 1,075 (–)vor (+), α = 1,206

Tabelle 8.1: Enantioselektives Säulenmaterial mit getrennten Komponenten

Abkürzungen der verwendeten Cyclodextrinphasen

2,6-Me-3-Pe-β-CD = Heptakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-penthyl)-β-cyclodextrin

2,6-Me-3-Pe-γ-CD = Octakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-penthyl)-γ-cyclodextrin

6-Me-2,3-Pe-β-CD = Heptakis(6-*O*-methyl-2,3-di-*O*-penthyl)-β-cyclodextrin

6T-2,3-Me-β-CD = Heptakis(6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)-β-cyclodextrin

8.2 Präparative Gaschromatographie

Eingesetzt wurde zur Isolierung der unbekannten Substanzen ein modifizierter Varian 1400 Gaschromatograph. Als Trennsäule diente eine 1,85 m langen Edelstahlsäule (i. D. 4,3 mm), die mit mit Chromosorb W-HP- Material gefüllt war. Dieses Ausgangsmaterial war wahlweise mit SE-30-Phase (6,4 %) oder SE-52-Phase (15 %) belegt war. Die Ansatzstücke der Säulen waren jeweils mit desaktivierter Quarzwolle verschlossen. Der Ausgang der Säule wurde mit einem Splittventil versehen, durch das ein kleiner Teil der eluierten Substanz mit Hilfe einer Kapillare (i. D. 0,25 mm) zur Detektion in den Flammenionisationsdetektor geleitet wurde. Der größte Teil wurde durch einen Teflonschlauch geführt. Die austretenden Substanzen kondensierten in auswechselbaren Teflonschläuchen, die in einer mit flüssigem Stickstoff gefüllten Kühlfalle steckten. Das Chromatogramm wurde mit einem Recorder 312 der Firma W + W Electronics Scientific Instruments aufgezeichnet und die Fraktionen in dem gewünschten Bereich entsprechend dem chromatographischen Bild in einzelne Fraktionen getrennt. Das ausströmende Gas wurde durch Teflonschläuche geleitet, die mit flüssigem Stickstoff gekühlt waren. Die zu isolierenden Stoffe konnten sich in der Kälte an den Wandungen der Schäuche niederschlagen. Die Injektortemperatur betrug 200 °C und die Detektortemperatur 250 °C (Hardt und König)[91]. Helium diente als Trägergas mit einer Flussrate von ca. 120 ml/min.

Ein HP 6890 Gaschromatograph (FID) mit Autosampler Agilent Serie 7683, ausgestattet mit einer 30 m DB 1 Megabor Kapillarsäule der Firma Hewlett Packard (0,53 mm i. D., Filmdicke 5 µm) oder einer 30 m DB 1701 Megabor Kapillarsäule der Firma Hewlett Packard (0,53 mm i. D., Filmdicke 1,5 µm) war an einen automatischen Fraktionssammler PFC-System der Firma Gerstel, Mühlheim, angeschlossen. Als Trägergas diente Helium mit einer konstanten Flussrate von 5ml/ min. Die Injektortemperatur wurde auf 200 °C und die Detektortemperatur auf 250 °C eingestellt. Die Injektion erfolgte splittlos. Am Ende der Trennsäule war ein Splittkreuz angeschlossen. Durch die Aufteilung in eine Detektorkapillare (7,1 cm x 0,05 mm) und eine beheizbare Transferkapillare (80 cm x 0,45 mm) ergab sich ein Splittverhältnis von ca. 1 : 10.

Es konnten 6 Fraktionen in Glastraps gesammelt werden, die über einen beheizbaren, computerprogrammierten Controller 505 (Gerstel) nach Retentionszeit angesteuert wurden. Ein Julabo FP 50 (Julabo, Deutschland) Temperierbad kühlte die Glastraps. Ethanol diente als Kühlflüssigkeit, sodass ein Temperaturbereich bis zu –30 °C möglich war.

8.3 Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)

Die GC/MS-Messungen wurden mit einem Hewlett Packard HP 5890 Gaschromatographen (25 m Kapillarsäule mit Polysiloxan CPSil 5 CB, Filmdicke 0,4 µm, Splitt ca. 1:10, Temperaturprogramm 80 °C, 2 min isotherm, dann 10 °C/min bis 270° C, Trägergas Helium ca. 1 ml / min), verbunden mit einem VG Analytik 70-250S Massenspektrometer (Ionisationsenergie 70 eV, Ionenquelltemperatur: 200 °C) durchgeführt. Die Auswertung der Spektren wurde mit der MassFinder Software 3.0. und der dazugehörigen Datenbank der Universität Hamburg vorgenommen[58].

8.4 Gewinnung des ätherischen Öls

Zur Gewinnung der wasserdampfflüchtigen Bestandteile des Untersuchungsgutes wurde das Pflanzenmaterial von anhaftenden Verunreinigungen gesäubert, mittels Schere und elektrischem Mixer zerkleinert und gegebenenfalls im Mörser pulverisiert. Die Destillation wurde in einem Kolben (2 l oder 4 l) mit Destillationsbrücke nach Sprecher[2] durchgeführt. Die Destillationszeit betrug bei den Wurzeldrogen 4 h, bei den Blattdrogen 2 h. Als Vorlage diente 2 ml Pentan, welches nach dem Ablassen aus der Apparatur über Natriumsulfat getrocknet, dekantiert und eingeengt zur Chromatographie verwendet wurde.

8.5 Soxhlet-Extraktion

Da die Ginseng-Wurzel neben den wasserdampfflüchtigen Inhaltsstoffen auch Saponine enthält, die das Untersuchungsgut im Kolben zum Schäumen bringen und so ein ausreichender Umlauf des Destillates schwer zu erreichen war, wurde das Extraktionverfahren mittels Soxhlet-Apparatur gewählt. Eine Kolbengröße von 250 – 1000 ml wurde zum entsprechenden Glasaufsatz und der Hülse gewählt. Als Extraktionflüssigkeit diente Petroleumbenzin mit einem Siedebereich von 40 – 50 °C oder Pentan p.a.. Nach 1,5 – 2 Stunden Extraktionzeit wurde die Lösung am Rotationverdampfer eingeengt und zur Abtrennung der schwer- bis nicht flüchtigen Bestandteile zur säulenchromatographischen Vortrennung verwendet.

8.6 Säulenchromatographische Vortrennung

Zur flüssig-chromatographischen Trennung wurde Kieselgel Si 60 (60-230 mesh, Porendurchmesser 60 Å) der Firma Merck, als Sorbens verwendet.

1. Durchmeser 3,5 cm; 50 g Kieselgel – 4 ml ätherisches Öl
2. Durchmesser 2,0 cm, 10 g Kieselgel – 2 ml ätherisches Öl
3. Pasteurpipette, 0,7 g Kieselgel – 0,5 ml ätherisches Öl

Elutionsmittel waren Pentan (Hexan), Pentan (Hexan) – Essigestergemische im Verhältnis 9 : 1, 7,5 : 2,5, 5 : 5, 7,5 : 2,5 und reiner Essigester. Die aufgefangenen Fraktionen wurden am Rotationsverdampfer eingeengt und weiter verarbeitet.

8.7 Dünnschichtchromatographie (DC)

Als Plattenmaterial diente HPTLC Si $60_{F\ 254,}$ LiChrospher® Si $60_{F\ 254}$ und RP-18 Lichrospher -Glasplatten der Firma Merck. Die Plattengröße betrug 10 x 10 cm bzw. 5 x 5 cm, die Schichtdicke 0,25 mm. Auftragungen erfolgten mit dem Desaga AS 30 Auftragegerät oder mit Hilfe von Mikro-Kapillaren. Entwicklungen wurden sowohl mit der Horizontal-Kammer Firma Desaga, als auch vertikal mit der Doppeltrogkammer der Firma Camag durchgeführt.

Das Besprühen der Dünnschichtplatten mit dem Nachweisreagenz erfolgte automatisiert mit dem ChromaJet DS 20 Gerät (Desaga), gefolgt vom Trocknen im Luftstrom und dem Erhitzen auf einer Heizplatte (ca. 100 °C) mit anschließender Auswertung im Tageslicht. Die Dokumentation durch das ProVidoc VD 40 Dokumentationssystem mittels einer integrierten Kamera HV-C20E/K-S4 (Hitachi Denshi Ltd.) der Firma Desaga mit Hilfe eines Mitsubishi Fotodruckers CP700 konnte im UV-Licht bei 245 nm bzw. 366 nm und im sichtbaren Bereich erfolgen.

8.7.1 Ausgewählte Fließmittel:

FM-1	Hexan + Essigester [8 + 2; v/v] KS	Abb. 2-1 Ginseng-Extrakte auf Bioaktivität
FM-2	1. Dimension: n-Butanol + Essigester + Wasser [40 + 10 + 20; v/v] KS 2. Dimension: Chloroform + Methanol + Wasser [64 + 50 + 10; v/v] KS	2-dim. DC auf Ginsenoside, Abb. 3-6 (Lit. Koch[44])
FM-3	Hexan + Ethylacetat [9 + 2; v/v] KS	Abb. 3-8 auf Polyacetylene
FM-4	Hexan + Etylacetat [95 + 5; v/v] KS	Abb. 5-19 auf Terpene

8.7.2 Nachweisreagenzien:

- Anisaldehyd-Schwefelsäure[5] für Terpene

0,5 ml Anisaldehyd wurden in 10 ml Essigsäure 100 %, 85 ml Methanol und 5 ml konzentrierter Schwefelsäure unter Kühlung gemischt. Nach dem Besprühen wurde die Schicht getrocknet, bis zur optimalen Farbbildung auf 100 – 110 °C erhitzt und im Tageslicht ausgewertet. Es entstanden rote bis blauviolette Färbungen der entsprechenden Substanzen.

- Schwefelsäure-Reagenz u.a. für Ginsenoside

10 ml Schwefelsäure wurden vorsichtig in 90 ml eisgekühltes Methanol gegeben. Die Platte wurde nach dem Tauchen oder Besprühen mit dem Reagenz ca. 5 min. lang bis zur optimalen Farbbildung bei ca. 100 °C erhitzt. Die Ausgewertung des Dünnschichtchromatogramms erfolgte im Tageslicht und unter langwelligem UV-Licht (366 nm).

- Isatin-Reagenz für Polyacetylene[92]

0,4 g Isatin wurde in 50 %iger Schwefelsäure gelöst. Nach dem Tauchen bzw dem Besprühen mit dem Reagenz wurde die getrocknete DC-Platte auf 110 °C erhitzt. Die Banden färbten sich im Tageslicht braun bis violett-braun.

- Biodip®-Testkit-Nachweis auf antibiotisch wirkende Substanzen[93]

Die Durchführung des Testes erfolgte durch Anzucht der Bakterien (*Bacillus subtilis*) aus Sporen in einer Suspension, Aufbringen dieser auf die entwickelte, vom Fließmittel befreite DC-Platte oder Eintauchen der Platte in die Lösung. Nach einer Inkubationszeit

von 12-20 Stunden bei 30-35 °C wurde die Platte mit einer 0,3 %igen MTT-Lösung (Tetrazoniumsalz) als Farbreagenz bis zur leichten Gelbfärbung besprüht und nach weiteren 20-30 Minuten ausgewertet. Die gelben Hemmhöfe auf blau-violettem Untergrund zeigten eine Hemmung des Mikroorganismus *Bacillus subtilis* aus der Bakteriensuspension an.

8.8 NMR-Spektroskopie

Die Aufnahme der ^{1}H-, ^{13}C-Kernresonanzspektren erfolgte mit Geräten der Firma Bruker und zwar mit AMX 400 (^{1}H: 400,1 MHz, ^{13}C: 100,6 MHz) und DRX 500 (^{1}H: 500,1 MHz, ^{13}C: 125,8 MHz, sowie an einem NMR-Gerät mit Cryo-Kopf bei 600/150 MHz. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der 1D- und 2D-Win-NMR Programme der Firma Bruker. Als Lösemittel dienten d_6-Benzol und d_1-Chloroform. Als interner Standard wurde Tetramethylsilan (TMSi) verwendet und als δ 0,0 gesetzt.

8.9 Pflanzenmaterial

8.9.1 Panax ginseng

Name	Lieferant	Charge	Herkunftsland
Ginseng	Wischmann-Farm		Deutschland
Ginseng, amerikanisch	China	0439-7229398	China (auf einem öffentlichen Markt erstanden)
Ginseng, amerikanisch	Martin Bauer	Typ 87126	-
Ginseng, ostasiatisch	Caelo	4395011	-
Ginseng, ostasiatisch	Caelo	95167529	-
Ginseng, ostasiatisch	Caelo	74556108	-
Ginseng, white, slender Tails (sekundär Wurzel)	Worlée	Typ 62.754 - lot.no.: 0602/1393/001	-
Ginsengfaserwurzel, rot	Martin Bauer	Typ 87124	chines.
Ginsengfaserwurzel, weiss	Martin Bauer	Typ 87123	korean.

8.9.2 Eleutherococcus senticosus

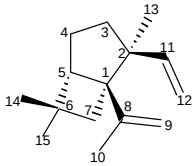
Name	Lieferant	Charge	Herkunftsland
Eleutherococcus, Wurzel (grob zerteilt)	Martin Bauer	Typ 87125	Länder der Russischen Föderation
Eleutherococcus, radix (conc.)	Caelo	30645154	China
Acanthopanacis senticosus, radix et caulis	Lian Chinaherb AG	Z 0409006 SA	China

8.9.3 Schinus terebinthifolius, S. molle

Name	Pflanzenteil	Lieferant	Herkunftsland
S. terebinthifolius	Blätter, Ernte: Februar	Bot. G. Braunschweig	Deutschland
	Blätter, Ernte: Februar	Bot. G. Greifswald	Deutschland
	Blätter, Früchte, Ernte: August	Bot. G. Hamburg	Deutschland
	Blätter, Ernte: Februar, Früchte,	Bot. G. Hohenheim	Deutschland
	Blätter, Ernte: Februar	Bot. Garten Ulm	Deutschland
S. molle	Blätter, Ernte: Februar, Früchte	Bot. G. Braunschweig	Deutschland
	Blätter, Ernte: August	Bot. G. Hamburg	Deutschland
	Blätter, Ernte: Februar	Bot. G. Münster	Deutschland
S. terebinthifolius – Öl und angereicherte Sesquiterpenfraktion	Früchte	-	Frankreich

8.10 Charakterisierung der isolierten Substanzen

8.10.1 Panaxen (A)



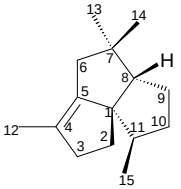
(1*R**, 2*S**, 5*S**)-2-Ethenyl-1(1-methylethenyl)-2,6,6-trimethylbicyclo[3.2.0]heptan

R.I.$_{CPSil\ 5}$: 1312; ^{1}H NMR (400.1 MHz, C_6D_6): δ 0,81 (3 H, *s*, CH_3-15), 1,03 (3 H, *s*, CH_3-13), 1,15 (3 H, *s*, CH_3-14), 1,56 (1 H, *m*, H-4b), 1,68 (1 H, *m*, H-7b), 1,68 (3 H, *s*, CH_3-10), 1,70 (1 H, *m*, H-3b), 1,71 (1 H, *m*, H-3a), 1,74 (1 H, *m*, H-4a), 1,78 (1 H, m, H-7a), 2,47 (1 H, *d*, *J* = 5,4 Hz, H-5), 4,88 (1 H, s, br, H-9b), 4,90 (1 H, *dd*, *J* = 1,6, 10,9 Hz, H-12b), 4,95 (1 H, *dd*, *J* = 1,49, 17,5 Hz, H-12a), 4,97 (1 H, *s*, *br*, H-9a), 5,86 (1 H, *dd*, *J* = 10,9, 17,5 Hz, H-11);

^{13}C NMR (600.1 MHz, C_6D_6): δ 18,5 (*q*, C-13), 21,2 (*q*, C-10), 23,7 (*q*, C-15), 24,6 (*t*, C-4), 30,2 (*s*, C-6), 31,4 (*q*, C-14), 40,5 (*t*, C-3), 41,5 (*t*, C-7), 49,1 (*s*, C-2), 50,5 (*d*, C-5), 55,6 (*s*, C-1), 109,5 (*t*, C-12), 111,6 (*t*, C-9), 144,8 (*d*, C-11), 150,0 (*s*, C-8);

MS (EI, 70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (3) $[M]^+$, 189 (36), 175 (12), 161 (30), 148 (70), 133 (65), 121 (100), 107 (56), 105 (58), 93 (72), 92 (54), 79 (40), 77 (26), 67 (18), 55 (22), 41 (41), 39 (15).

8.10.2 Panaginsen (B)



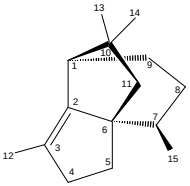
(1*S**, 8*S**, 11*R**)-4,7,7,11-tetramethyl-tricyclo[6.3.0.0^{1,5}]undec-4-en

R.I.$_{CPSil\ 5}$: 1336; ^{1}H NMR (400.1 MHz, C_6D_6): δ 0,89 (3 H, s, CH_3-14), 0,97 (3 H, s, CH_3-13), 0,99 (3 H, *d*, *J* = 6,87 Hz, CH_3-15), 1,08 (1 H, *m*, H-10a), 1,53 (1 H, *m*, H-9a), 1,57 (1 H, *s*, H-8), 1,62 (1 H, *m* , H-10b), 1,66 (1 H, *m*, H-6a), 1,68 (3 H, s, CH_3-12), 1,72 (1 H, m, H-9b), 1,85 (1 H, *m*, H-6b), 1,91 (1 H, *m* , H-2a), 1,92 (1 H, *m* , H-11), 2,10 (1 H, *m*, H-2b), 2,14 (1 H, *m* , H-3a), 2,7 (1 H, *m*, H-3b);

^{13}C NMR (600.1 MHz, C_6D_6): δ 14,6 (*q*, C-12), 15,4 (*q*, C-15), 25,4 (q, C-13), 29,5 (*t*, C-9), 32,0 (*q*, C-14), 36,8 (*t*, C-10), 40,3 (*t*, C-3), 42,5 (*t*, C-6), 43 (*s*, C-7), 44,1 (*t*, C-2), 46,7 (*d*, C-11), 60,3 (*d*, C-8), 69,3 (*s*, C-1), 129,1 (*s*, C-5), 144,7 (*s*, C-4);

MS (EI, 70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (24) $[M]^+$, 189 (100), 175 (5), 161 (12), 147 (16), 133 (18), 119 (11), 105 (15), 91 (13), 79 (7), 77 (7), 69 (3), 67 (3), 65 (3), 55 (8), 53 (3), 41 (12), 39 (4).

8.10.3 Ginsinsen (C)



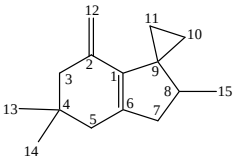
(1*R**, 6*R**, 7*R**)-3,7,10,10-tetramethyltricyclo[4.3.2.0^{2,6}]undec-2-en

R.I.$_{CPSil\ 5}$: 1353; ^{1}H NMR (400.1 MHz, C_6D_6): δ 0,81 (3 H, *d*, *J* = 6,61 Hz, CH_3-15), 0,96 (1 H, *d*, *J* = 13,2 Hz, H-11a), 0,99 (3 H, *s*, CH_3-13), 1,07 (3 H, s, CH_3-14), 1,20 (1 H, *m*, H-8b), 1,45 (1 H, *m*, H-9a), 1,45 (1 H, *m*, H-8a), 1,54 (1 H, *m*, H-5a), 1,60 (1 H, *m*, H-9), 1,61 (1 H, *m*, H-7b), 1,65 (3 H, *s*, CH_3-12), 1,70 (1 H, *m*, H-9b), 1,90 (1 H, *t*, H-1), 1,93 (1 H, *m*, H-1b), 2,34 (1 H, *m*, H-2a), 2,59 (1 H, *m*, H-2b);

^{13}C NMR (600.1 MHz, C_6D_6): δ 14,0 (*q*, C-12), 17,3 (*q*, C-15), 23,6 (*q*, C-14), 28,9 (*t*, C-9), 29,5 (*t*, C-8), 33,7 (*q*, C-13), 34,2 (*t*, C-5), 39,8 (*t*, C-7), 40,1 (*t*, C-4), 42,0 (*s*, C-10), 44,7 (*d*, C-1), 46,0 (*t*, C-11), 61,1 (*s*, C-6), 119,9 (*s*, C-2), 151,2 (*s*, C-3);

MS (EI, 70 eV), *m/z* (rel. int.): 204 (35) $[M]^+$, 189 (58), 175 (3), 161 (7), 148 (100), 133 (51), 119 (20), 105 (29), 91 (27), 79 (9), 77 (10), 69 (4), 67 (3), 65 (5), 55 (11), 41 (16), 39 (6).

8.10.4 Terebanen (105)



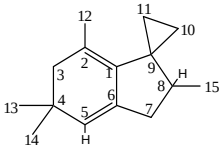
9-Spiro(cyclopropa)-4,4,8-trimethyl-2-methylenbicyclo[4.3]non-1(6)en

R.I.$_{CPSil\ 5}$: 1356; ^{1}H NMR (400.1 MHz, C_6D_6): δ 0,33 (1 H, *q*, *J* = 19,8 Hz, H-10a), 0,46 (1 H, H 11a), 0,51 (1 H, H-11b), 0,95 (3 H, *d*, *J* = 6,9 Hz, CH_3-15), 0,99 (1 H, *q*, *J* = 19,5 Hz, H-10b), 1,05 (1 H, *m*, H-8), 1,07 (3 H, *s*, CH_3-13), 1,09 (3 H, *s*, CH_3-14), 1,76 (1 H, *d*, *J* = 17,5 Hz, H-7a), 2,1 (1 H, *d*, *J* = 16,7 Hz, H-3a), 2,23 (1 H, *d*, *J* = 17,3 Hz, H-3b), 2,27 (1 H, *d*, *J* = 16,7 Hz, H-5a), 2,36 (1 H, *m*, H-5b), 2,36 (1 H, *m*, H-7b), 4,61 (1 H, *s*, H-12a), 4,71 (1 H, *s*, H-12b);

^{13}C NMR (600.1 MHz, C_6D_6): δ 9,7 (*t*, C-10), 17,1 (*t*, C-11), 17,8 (*s*, C-15), 26,0 (*s*, C-9), 30,2 (*s*, C-13), 30,9 (*s*, C-14), 32,0 (*s*, C-4), 33,4 (*t*, C-7), 37,5 (*d*, C-8), 47,6 (*t*, C-5), 53,0 (*t*, C-3), 102,6 (*t*, C-12), 134,1 (*s*, C-2), 137,9 (*s*, C-6), 145,5 (*s*, C-1);

MS (EI, 70 eV), m/z (%) = 202 (21) $[M]^+$, 40 (51), 51 (8), 65 (10), 77 (16), 91 (33), 105 (18), 115 (24), 131 (100), 145 (41), 159 (35), 173 (12), 187 (45).

8.10.5 Teredenen (106)



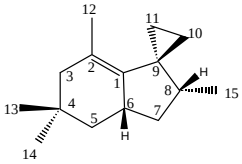
9-Spiro(cyclopropa)-2,4,4,8-tetramethylbicyclo[4.3]nona-1, 5-dien

R.I.$_{CPSil\ 5}$: 1393; ^{1}H NMR (400.1 MHz, C_6D_6): δ 0,33 (1 H, *m*, H-11a), 0,34 (1 H, *m*, H-10a), 0,57 (1 H, *m*, H-11b), 0,83 (1 H, *m*, H-10b), 0,95 (3 H, *d*, *J* = 6,6 Hz, CH_3-15), 1,02 (1 H, *m*, H-8), 1,11 (3 H, *s*, CH_3-13), 1,11 (3 H, *s*, CH_3-14), 1,33 (3 H, *s*, CH_3-12), 2,2 (1 H, *d*, *J* = 15,0 Hz, H-7a), 2,3 (2 H, H-3a, b), 2,6 (1 H, *d*, *J* = 16,0 Hz, H-7b), 5,4 (1 H, *s*, H-5);

^{13}C NMR (600.1 MHz, C_6D_6): δ 9,6 (*t*, C-10), 13,0 (*t*, C-11), 14,5 (*q*, C-12), 17,6 (*q*, C-15), 26,4 (*s*, C-9), 30,0 (*q*, C-13), 30,4 (*q*, C-14), 31,7 (*t*, C-7) 38,4 (*d*, C-8), 43,5 (*s*, C-4), 44,3 (*t*, C-3), 123,0 (*s*, C-1), 138,0 (*s*, C-2), 138,5 (*d*, C-5), 139,0 (*s*, C-6);

MS (EI, 70 eV), m/z (%) = 202 (42) $[M]^+$, 41 (21), 53 (9), 65 (7), 77 (12), 91 (14), 105 (12), 119 (14), 128 (14), 145 (33), 159 (21), 173 (21), 187 (100).

8.10.6 Terebinthen (107)



9-Spiro(cyclopropa)-2,4,4,8-tetramethylbicyclo[4.3]non-1-en

R.I.$_{CPSil\ 5}$: 1447; ^{1}H NMR (400.1 MHz, C_6D_6): δ 0,51 (1 H, *m*, H-10a), 0,52 (1 H, *m*, H-11a), 0,62 (3 H, *d*, *J* = 6,8 Hz, CH_3-15), 0,62 (1 H, *m*, H-10b), 0,73 (1 H, *m*, H-11b), 1,01 (3 H, *s*, CH_3-13), 1,06 (3 H, *s*, CH_3-14), 1,09 (1 H, H-5a), 1,10 (1 H, *m*, H-7a), 1,24 (3 H, *s*, CH_3-12), 1,57 (1 H, *m*, *J* = 18,5 Hz, H-5b), 1,72 (1 H, *m*, H-7b), 1,97 (1 H, *m*, H-8), 2,07 (2 H, *dd*, *J* = 39 (22) Hz, H-3a, -3b), 2,58 (1 H, H-6);

^{13}C NMR (600.1 MHz, C_6D_6): δ 6,5 (*t*, C-10), 7,3 (*t*, C-11), 13,8 (*q*, C-12), 17,3 (*q*, C-15), 24,7 (*s*, C-9), 29,7 (*q*, C-13), 31,4 (*q*, C-14), 34,5 (*d*, C-8), 37,2 (*s*, C-4), 38,6 (*t*, C-7), 41,5 (*d*, C-6), 46,3 (*t*, C-3), 48,7 (*t*, C-5), 126,1 (*s*, C-2), 139,0 (*s*, C-1);

MS (EI, 70 eV), m/z (%) = 204 (31) $[M^+]$, 41 (57), 55 (27), 67 (17), 77 (33), 91 (76), 105 (86), 119 (100), 133 (68), 147 (28), 161 (42), 175 (56), 189 (64),

9 Anhang

9.1 Gefahrstoffe

Name	Summenformel	Molmasse	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	C_3H_6O	58,08	F, Xi	11-36-66-67	9-16-26
Anisaldehyd	$C_8H_8O_2$	136,15			23-24/25
Benzol-d_6	C_6D_6	84,15	F, T	45-11-48/23/24/25.1	53.1-45
Butanol, n-	$C_4H_{10}O$	74,12	X_n	10-22-37/38-41-67	7/9-13-26-37/39-46
Chloroform	$CHCl_3$	119,38	X_n	22-38-40-48/20/22	36/37
Chloroform-d_1	$CDCl_3$	120,38	X_n	22-38-40-48/20/22	36/37
Diethylether	$(C_2H_5)_2O$	74,12	F^+, X_n	12-19-22-66-67	9-16-29-33
Essigsäure 100 %	CH_3COOH	60,05	C	10-35	23-26-45
Ethylacetat	$C_4H_8O_2$	88,11	F, X_i	11-36-66-67	16-26-33
Hexan, n-	C_6H_{14}	86,18	F, X_n, N	11-38-48/20-51/53-62-65-67	9-16-29-33-36/37-61-62
Isatin	$C_8H_5NO_2$	147,14	X_n		22-24/25
Methanol	CH_3OH	32,04	F, T	11-23/24/25-39/23/24/25	7-16-36/37-45
MTT-Reagenz Thiazolylblau - Tetrazoliumbromid	$C_{18}H_{16}BrN_5S$	414,33			22-24/25
Pentan	C_5H_{12}	72,15	F, X_n	12-51/53-65-66-67	9-16-29-33-62
Petrolether	-	-	F, Xn	11-65	9-16-29-33-62
Schwefelsäure	H_2SO_4	98,08	C	35	26-30-45

Tabelle 9.1: Verwendete Chemikalien mit Gefahrsymbol und zugehörigen R- und S-Sätzen

9.2 Verzeichnis der Abkürzungen

^{13}C-	Kohlenstoff-Isotop 13 (Resonanzen)
Abb.	Abbildung
BP	Basispeak
C	Elementsymbol Kohlenstoff
C.A. Meyer	Meyer, Carl Anton v., russ. Botaniker, 1795 - 1855
CD	Cyclodextrin
conc.	Concisus(a, um): zerkleinert, grob geschnitten
COSY	Correlated Spectroscopy
DAB	Deutsches Arzneibuch
DC.	de Candolle, Aug. Pyr.; schweizer Botaniker, 1778-1841
DC	Dünnschichtchromatographie
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie
Hara	Hara, Hiroshi, jap. Botaniker, geb. 1911
Harms	Harms, H., deutscher Botaniker, 1870-1942
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie (High performance liquid chromatography)
HPTLC	Hochleistungs-Dünnschichtchromatographie (High performance thinlayer chromatography)
KI	Kovats Index
KS	Kammersättigung
L.	Linné, Carl von; schwed. Naturforscher, 1707-1778
m/z	Masse durch Ladungszahl
M^+	Molekülion
Maxim.	Maximowicz, D.J., russ. Botaniker u. Reisender, 1827 - 1891
MS	Massenspektroskopie

MTT	Thiazolylblau - Tetrazoliumbromid
µl	Mikroliter
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effekt
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
PENDANT	Polarization Enhancement Nurtured During Attached Nucleus Testing
ppm	Parts per million
RADDI	Raddi, G.; ital. Botaniker und Reisender, 1770 - 1829
R_F	Retentionsfaktor
RI_{CPSIL5}	Linearer Retentionsindex gemessen an der Trennphase CPSIL5
TIC	Total Ion Current
TMSi	Tetramethylsilan
t_s	Nettoretentionszeit
δ	Chemische Verschiebung, bezogen auf einen Standard (z.B. TMSi)
UV	Ultraviolettes Licht, (hier: Wellenlängen bei 366 oder 254 nm)
Wall.	Wallich, N. dän. Arzt, als Botaniker in Indien tätig, 1786-1854

Abkürzungen der verwendeten achiralen Phasen

CP-Sil-5	unpolare Dimethylpolysiloxan (100 %)-Phase (Chrompack)
CP-Sil-19	mittelpolare Dimethyl (86 %)-Cyanopropylphenyl (14 %)-Polysiloxan (Chrompack)
DB1	unpolar, Dimethylpolysiloxan (100 %)-Phase (Agilent)
DB 1701	schwach bis mittelpolare (14 % Cyanopropylphenyl)-methylpolysiloxan-Phase (Agilent)
SE-30	Dimethylpolysiloxan (100%)-Trennphase (Alltech)
SE-52	Diphenyl (5 %)- Dimethyl (95%)-Polysiloxan-Trennphasenbezeichnung (Alltech)

9.3 Literaturverzeichnis

[1] Gaedcke, F. und B. Steinhoff (2000) Phytopharmaka, Wissenschaftliche und rechtliche Grundlagen für die Entwicklung, Standardisierung und Zulasseung in Deutschland und Europa, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart

[2] Sprecher, E. (1963) Rücklaufapparatur zur erschöpfenden Wasserdampfdestillation ätherischen Öls aus voluminösem Destillationsgut, Dtsch. Apoth. Ztg. 103, 213-214.

[3] Kubeczka, K.-H. (1979) Vorkommen und Analytik ätherischer Öle, Georg Thieme Verlag Stuttgart

[4] Baerheim Svendsen, A. (1987) Bestandteile ätherischer Öle? Artefaktbildung bei der Isolierung und Analyse von Pflanzenstoffen, Dtsch Apoth. Ztg 127 (47) 2458-2460.

[5] Kraus, Lj., A. Koch, S. Hoffstetter-Kuhn, (1995) Dünnschichtchromatographie, Springer – Verlag, Berlin Heidelberg New York, S. 21

[6] Rücker, G., M. Neugebauer, G. Willems (1992) Instrumentelle pharmazeutische Analytik, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, S. 247 - 254

[7] Gil-Av, E., B. Feibush, R. Charles-Sigler, (1966) Separation of Enantiomers by Gas Liquid Chromatography with an Optically Active Stationary Phase, Tetrahedron Lett., 1009-1015

[8] König, W. A. (1990) Modifizierte Cyclodextrine als chirale Trennphasen in der Gaschromatographie, Merck: Kontakte 2, 3-14

[9] Schuring, V. (1994) Enantiomer separation by gas chromatography on chiral stationary phase, J. Chromatographie A 666, S. 111 – 129

[10] Junge, M. (2004) Neue chirale Cyclodextrinderivate für die enantioselektive Gaschromatographie, Dissertation, Hamburg .

[11] König, W. A. (1992) Gas Chromatographic Enantiomer Separation with Modified Cyclodextrins, Hüthig Buch Verlag Heidelberg.

[12] Schuring, V., H.-P. Nowotny, (1988) Separation of Enantiomers on Diluted permethylated β-Cyclodextrin by High-Resolution Gas chromatography , J. Chromatogr. 441, 155 – 163

[13] König, W. A., S. Lutz und G. Wenz, (1988) Modifizierte Cyclodextrine – neue, hochenantioselektive Trennphasen für die Gaschromatographie, Angew. Chem. (100) 989 – 990

[14] Frohne, D., U. Jensen (1998) Systematik des Pflanzenreiches, 5. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgemeinschaft mbH Stuttgart, 268 – 275.

[15] Caesar, W. (1991) Ginsengwurzel in Europa, Dtsch Apoth. Ztg 131 (19) 935-941.

[16] Coordes, G. (1999) Den Mythos an der Wurzel packen, Berichte in Pharm Ztg 144(1), 34.

[17] Sonnenborn, U. (1987) Ginseng – Neuere Untersuchungen immunologischer, pharmakologischer und endokrinologischer Aktivitäten einer alten Arzneipflanze, Dtsch Apoth. Ztg 127 (9) 433-441.

[18] Sonnenborn, U., Y. Proppert (1990) Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer), Z. Phytother 11, 35-49.

[19] Avakian, E. V., Jr., E. Evonuk (1979) Effect of Panax Ginseng Extract on Tissue Glycogen and Adrenal Cholesterol Depletion during Prolonged Exercise, Planta med. 36, 43-48.

[20] Yun KT et al (2003) Experimental and epidemiological evidence on non-organ specific cancer preventive effect of Korean ginseng and identification of active compounds, Mutat Res 523-524, 63-74 – zitiert in: Apotheken-Depesche 9/2004 S. 17.

[21] Ahn, B.-Z. und Sh.il Kim (1988) Heptadeca-1,8*t*-dien-4,6-diin-3,10-diol, ein weiteres, gegen L1210-Zellen cytotoxisches Wirkprinzip aus der Koreanischen Ginsengwurzel, Planta Med. (54) 183.

[22] Court, W. E. (2000) Ginseng – The Genus Panax, Harwood Academic Publishers, Amsterdam

[23] Konno, Ch., K. Sugiyama, M. Kano, M. Takahashi and H. Hikino (1984) Isolation and Hypoglycaemic Activity of Panaxans A,B, C, D and E, Glycans of *Panax ginseng* Roots, Planta Med. (50) 434-43

[24] Tomoda, M., K. Shimada, Ch. Konno, K. Sugiyama and H. Hikino (1984) Partial Structure of Panaxan A, A Hypoglycaemic Glycan of *Panax ginseng* Roots, Planta Med. (50) 436-438

[25] Tomoda, M., K. Shimada, Ch. Konno and H. Hikino (1985) Structure of Panaxan B, A Hypoglycaemic Glycan of *Panax ginseng* Roots, Phytochemistry (24) 2431-2433.

[26] 1. Europäischer Ginseng-Kongreß, Marburg (1998), Dtsch Apoth Ztg 138 (51/52) 5022-5023.

[27] Deutschman, F., B. Hohmann, E. Sprecher und E. Stahl (1992) Pharmazeutische Biologie 3, Drogenanalyse I: Morphologie und Anatomie, 3. überarbeitete Auflage, S. 223-226.

[28] Stöger, Arzneibuch der chinesischen Medizin, dt. Übersetzung (1995) 9, Monographie: Ginseng Radix, Deut. Apoth. Verlag, Stuttgart, S. 1-7.

[29] Gestirner, F. und H. J. Vogt (1967) Vergleichende chemische Untersuchungen an Ginsengdrogen, Arch. Pharmaz., 300, 371-384.

[30] Wagner, H. und A. Wurmböck (1977) Chemie, Pharmakologie und Dünnschichtchromatographie der Ginseng- u. Eleutherococcus-Droge, Dtsch Apoth Ztg 117 (20) 743-748.

[31] Kenkyusho, O. Y. und K. K. Odajima (1983) Isolation of a saponin from ginseng, Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 58 57, 399 [CA 99: 76852u].

[32] Ph. Eur. 4. Ausgabe, Grundwerk 2002, Monographie Ginsengwurzel, 1947-1948, überarbeitet: Ph. Eur. 5. Ausgabe, Grundwerk 2005, 2243-44, sowie überarbeitet im 1. Nachtrag vom 7. Okt. 2005, 3911-13.

[33] Kim, K.-J., H.-L. Lee (2004) Complete chloroplast genome sequences from Korean ginseng (*Panax schinseng* Nees) and comparative analysis of sequence evolution among 17 vascular plants, DNA Res. 11 (4) 247-261.

[34] Um, J.-Y., H.-S. Chung, M.-S. Kim, H.-J. Na, H.-J. Kwon, J.-J. Kim, K.-M. Lee, S.-J. Lee, J. P. Lim, K.-R. Do, W.-J. Hwang, Y.-S. Lyu, N.-H. An, H.-M. Kim (2001) Molekular Authentication of *Panax ginseng* Species by RAPD Analysis and PCR-RFLP, Biol. Pharm. Bull. 24(8) 872-875

[35] Cui, X. M., C. K. Lo, K. L. Yip, T. T. X. Dong and K.W.K. Tsim, (2003) Authentication of Panax notoginseng by 5S-rRNA Spacer Domain and Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis, Planta Med 69, 582-584

[36] Hänsel, R., O. Sticher u. E. Steinegger (1999) Ginsengwurzel in: Pharmakognosie – Phytopharmazie, 6. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, S. 554-562.

[37] Rimpler, Horst (1999) Ginseng radix in: Biogene Arzneistoffe, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, S. 449 -451.

[38] Sollorz, G. (1985) Qualitätsbeurteilung von Ginsengwurzeln, Dtsch Apoth Ztg 125 (41), 2052-2055.

[39] Soldati, F., O. Sticher (1980) HPLC separation and quantitative determination of ginsenosides from Panax ginseng, Panax quinquefolium and from ginseng drug preparations, Planta Med. 39, 348-357.

[40] Sanada, S., N. Kondo, J. Shoji, O. Tanaka und S. Shibata (1974) Chem. Pharm. Bull.22 (2), 421-428.

[41] Wagner, H., S. Bladt, E. M. Zgainski (1983) Drogenanalyse, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, S. 238.

[42] Dou, D.-Q., W.-B. Hou und Y.-J. Chen (1998) Studies on the Characteristic Constituents of Chinese Ginseng and American Ginseng, Planta Med. 64, 585-586.

[43] Reich, Eike, A. Schibli (2006) High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plant, Thieme Verlag, New York Stuttgart, S. 107

[44] Koch, A., E. Hahn-Deinstrop, Quality Control of Ginseng Roots by a Rapid & Sensitive HPTLC-Method - Posterpräsentation auf der Tagung der Arzneipflanzengesellschaft in Wien (1998)

[45] Hansen, L., P. M. Boll (1986) Polyacetylenes in Araliaceae: Their chemistry, biosyntheses and biological significance, Phytochemistry, 25, 285-293

[46] Ayoub, N., O. Rashwan, K.-H. Kubeczka (2002),The essential oils and polyacetylenes from *Sciadophyllum pulchrum* Hort., Bulletin of the Faculty of Pharmacy, 40(1), 73-78, CAN 143:56585

[47] Hirakura, K., M. Morita, K. Nakajima, Y. Ikeya and H. Mitsuhashi. (1991) Polyacetylenes from the roots of *Panax ginseng* (A,B,C,D und E), Phytochemistry, 30 (10), 3327-3333.

Hirakura, K., M. Morita, K. Nakajima, Y. Ikeya and H. Mitsuhashi. (1991) Three acetylated polyacetylenes from the roots of *Panax ginseng* (F, G and H), Phytochemistry 30 (12), 4053-4055.

Hirakura, K., M. Morita, K. Nakajima, Y. Ikeya and H. Mitsuhashi. (1991) Three acetylenic compounds from the roots of *Panax ginseng* (I, J and K), Phytochemistry 31(3), 899-903.

[48] Hirakura, K., M. Morita, K. Niitsu, Y. Ikeya and M. Maruno. (1994) Linoleoylated polyacetylenes from the root of *Panax ginseng*, Phytochemistry, 35 (4), 963-967.

[49] Yoshihara, K. and Y. Hirose (1975) The sesquiterpenes of Ginseng, Bull. Chem. Soc. Jpn., 48 (7) 2078-2080.

[50] Iwabuchi, H., M. Yoshikura, Y. Ikawa and W. Kamisako (1987) Studies on the Sesquiterpenoids of *Panax ginseng* C. A. MEYER. Isolation ans Structure Determination of Sesquiterpene Alcohols, Panasinsanols A and B, Chem. Pharm. Bull, 35 (5) 1975-1981.

[51] Iwabuchi, H., N. Kato and M. Yoshikura, (1990) Studies on the Sesquiterpenoids of *Panax ginseng* C. A. MEYER. IV, Chem. Pharm. Bull 38 (5) 1405-1407.

[52] Iwabuchi, H., M. Yoshikura and W. Kamisako (1988) Studies on the sesquiterpenoids of *Panax ginseng* C. A. MEYER. II. Isolation and structure determination of ginsenol, a novel sesquiterpene alcohol, Chem. Pharm. Bull. 36 (7), 2447-51.

[53] Iwabuchi, H., M. Yoshikura, and W. Kamisako (1989) Studies on the Sesquiterpenoids of *Panax ginseng* C. A. MEYER. III, Chem. Pharm. Bull, 37 (2) 509-510.

[54] Park, H. H. J. Sohn and B. G. Cho. (1990) Isolation of volatiles from Panax ginseng root by vacuum-distillation with freeze-drying, Koryo Insam Hakhoechi 14(3) 353-6, (CAN 114:205701).

[55] Sohn, H.-J., J.-N. Heo, K.-B. Nho and M.-W. Kim (1997) A comparison of the composition of the major headspace volatiles between Korean ginseng and Chinese ginseng, Koryo Insam Hakhoechi 21(3) 196-200 (CAN 128:151753).

[56 Wee, J. J., J. Y. Shin, H. J. Sohn, N. J. Heo, S.-K. Kim and M. W. Kim (1997) New methods for isolation of sesquiterpenes from *Panax ginseng*, Koryo Insam Hakhoechi 21(3) 214-218 (CAN 128:196520).

[57] Wang, H., Z-Q. Liu, J-H. W, Z. Hong, Y.-J- Lin, X.-Y. Luo, Y.-X. Sun, L. Shi and Y. Wang (2001) Isolation and identification of sesquiterpenes from the volatile oil in the stems and leaves of *Panax ginseng* C.A. Mey., Jilin Daxue Ziran Kexue Xuebao (1), 88-90 (CAN 135:43485.

[58] Hochmuth, D. H., D. Joulain, W. A. König (2005) MassFinder Software, Version 3.x und der Datenbank, Universität, Hamburg.

[59] Wagner, H., H. Nörr and H. Winterhoff (1994) Plant Adaptogens, Phytomedicine Vol 1, 63-76.

[60] Stöger, Arzneibuch der Chinesischen Medizin, Deutsche Übersetzung (2003) *Acanthopanacis senticosi* radix – Stachelpanax-Wurzel, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 2. Auflage, 9. Ergänzungslieferung, 1-3.

[61] Hagers Handbuch der pharmzeutischen Praxis (1998) 5. Auflage, 2. Folgeband, Drogen A-K – Eleutherococcus, Springer Verlag, Berlin Heidelberg NewYork, 556-597.

[62] Sprecher, E. (1989) *Eleutherococcus senticosus* auf dem Weg zum Pharmakon, Pharm Ztg 134 (45) 2773-2779.

[63] Europäisches Arzneibuch, Grundwerk 2005, Taigawurzel – *Eleutherococci* radix, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 3425-3427.

[64] Farnsworth, N.R., A. D. Kinghorn, D. D. Soejarto, and D. P. Waller, Sibirian Ginseng (*Eleutherococcus senticosus*): Current Status as an Adaptogen, in: Economic and Medicinal Plant Research (Ed. Wagner, H., H. Hikino and N.R. Farnsworth), Vol 1, Academic Press, London, 1985, 155-215.

[65] Shao, Ch.-J., R. Kasai, J.-D. Xu and O. Tanaka (1988) Saponins from Leaves of *Acanthopanax senticosus* HARMS., Ciwujia: Structures of Ciwujianosides B, C_1, C_2, C_3, C_4 and D_1, D_2 and E, Chem. Pharm. Bull. 36(2) 601-608.

[66] Shao, Ch.-J., R. Kasai, J.-D. Xu and O. Tanaka (1989) Saponins from Leaves of *Acanthopanax senticosus* HARMS., Ciwujia. II. Structures of Ciwujianosides A_1, A_2, A_3, A_4 and D_3, Chem. Pharm. Bull. 37(1) 42-45.

[67] Aicher, B., H.-J. Ulm, L. Gund, und A. Schutz (2001) Therapie bei akuten grippalen Infekten Pharm Ztg 146 (41) 3575-3582

[68] Hänsel, R., O. Sticher und E. Steinegger (1999) Eleutherococcuswurzel in: Pharmakognosie – Phytopharmazie, 6. Auflage 811-813.

[69] Hikino, H., M. Takahashi, K. Otake and Ch. Konno (1986) Isolation and Hypoglycemic activity of eleutherans A,B, C, D, E, F, and G: Glycans of *Eleutherococcus senticosus* roots, J. of Natural Prod., 49 (2), 293-297.

[70] König, W. A., A. Rieck, I. Hardt, and B. Gehrcke, K.H. Kubeczka, H. Muhle (1994) Enantiomeric Composition of the Chiral Constituents of Essential Oils, Part 2: Sesquiterpene Hydrocarbons, J. of High Resolution Chomatography (17) 315-320.

[71] Joulain, D., W. A. König (1998) α-Longipinene in: The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons, E.B.-Verlag Hamburg, S. 455

[72] Barkley F. A. (1957) A Study of Schinus L. - *Schinus terebinthifolius* Raddi, in: Lilloa 28: 5-110

[73] Barkley F. A. (1944) *Schinus* L. in: Brittonia 5: 160-198

[74] Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis bearbeitet von K. Schneider (1995) 5. Auflage, Band 6, Drogen P-Z – Schinus, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, S. 627-640.

[75] Bacci, E. M., (1986) Antiulcer and cicatrization action of some Brazilian plants, Revista Brasileira de Farmacognosia 1(1), 93-100; (CAN 107:190 153).

[76] Schrutka-Rechtenstamm, R., E. Aurada, J. Jurenitsch und W. Kubelka (1988) Identifizierung und Qualitätsprüfung von *Schinus*-Früchten, Ernährung 12(8/9) 541-547.

[77] Morton, J. F. (1978) Brazilian Pepper – Its Impact on People, Animals and the Environment, Economic Botany 32 (4), 353-359.

[78] Gazzaneo, L. R. S., R. F. P. de Lucena and U. P. de Albuquerque (2005) Knowledge and use of medicinal plants by local specialists in an region of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil) Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 1-8.

[79] Siddiqui, R. F., U. Zafar, S. S. Chaudhry and H. Ahmad (1995) Antimicrobial activity of essential oils from *Schinus terebinthifolius*, *Cypress sempervirens*, *Citrus lemon*, *Ferula assafoetida*. Part I, Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research 38(9-10) 358-361, CAN 126:303577.

[80] Siddiqui, R. R., H. Ahmad, S. S. Ch, A. F. M. Ehteshamuddin and S. Shireen (1996) Antimicrobial activity of essential oils. Part II. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research 39(1-4) 45-47, CAN 127:343893.

[81] Erazo, S., C. Delport, R. Negerete, R. C´Garcia, M. Zaldivar, G. Iturra, E. Caballero, J. L. Lopez and N. Backhouse (2006) Constituents and biological activities of *Schinus polygamus*, Journal of Ethnopharmacology 107 (3), 395-400.

[82] Maffei M. and F. Chialva (1990) Essential oils from *Schinus molle* L. berries and leaves, Flav Fragr. J., 5, 49-52.

[83] Bernhard, R. A. and R. Wrolstad (1963) The essential oil of *Schinus molle*. The terpene hydrocarbon fraction. J. Food Sci. 28, 59-63.

[84] Chowdhury, A. R.and S. Tripathi (2001) Essential Oil from leaves of *Schinus terebinthifolius* Raddi, Indian Perfumer 45(4) 257-259, CAN 136:276086.

[85] Malik, M. Shafiq, M. Shahid und A. Sattar (1994) Studies on the essential oil of *Schinus terebinthifolius*, Science International (Lahore), 6(4), 351-352, CAN 123:251323.

[86] Singh, A. K., J. Singh, K. C. Gupta, J. J. Brophy (1998) Essential oil of leaves and inflorescence of *Schinus terebinthifolius*: an exotic plant of India; J Essent Oil Res 10(6), 697-699, CAN 130:234638

[87] Vermin, G. and C. Parkanyi (2003) GC/MS analysis of the volatile constituents of *Schinus terebinthifolius* from Reunion island; Abstract of Papers, 225Th ACS National Meeting, New Orleans, LA, United States, March 23-27; Publisher: American Chemical Society, Washington, D. C., AN:2003:178613

[88] Jamal, Y. and A. Agusta (2001) Chemical Composition of essential oil *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves, Majalah Farmasi Indonesia 12(3), 135-139; CAN 136:406553

[89] Baser, K. H. C., M. Kurkcuoglu, B. Demircakmak, N. Ulker and S. H. Beis (1997) Composition of the essential Oil of *Schinus molle* L. grown in Turkey, J Essent Oil Res. 9(6), 693-696.

[90] Schmidt, C. O. (1998) Biosynthese der Sesquiterpene (+)-Germacren D, (–)-Germacren D und (–)-α-Gurjunen in Solidago canadensis, Dissertation, Hamburg.

[91] Hardt, I., W. A. König (1994) Preparative enantimer separation with modified cyclodextrins as chiral statinary phases, J. Chrom. A, 666, 611-615.

[92] Crowden, R. K., J. B. Harborne and V. H. Heywood (1969) Chemosystematics of the Umbelliferae – A general survey, Phytochemistry, 8, 1963-84.

[93] Eymann, R., H.-E. Hauck (2000) Antibiotika-Bioautographie, CLB Chemie in Labor und Biotechnik 51, 204-205.

Posterpräsentation:

R. Richter, S. Basar, A. Koch and W. A. König
The Essential Oil Composition of *Panax ginseng* C.A. Meyer
33rd International Symposium on Essential Oils 2002, Lisboa, Portugal

Publikationen:

Rita Richter, Simla Basar, Angelika Koch, Wilfried A. König†
Three sesquiterpene hydrocarbons from the root of *Panax ginseng* C.A. Meyer (Araliaceae)
Phytochemistry **66** (23), 2005, 2708-2713

Rita Richter, Hans-P. Hanssen and Wilfried A. König†
Essential Oil Composition of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim Roots
J. Essential Oil Res, **19**, 2007, 209-210

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Wilfried A. König danke ich sehr für die Überlassung des Arbeitsplatzes und für die Möglichkeit, die vorliegende Arbeit durchführen zu können, sowie seine stets freundliche Unterstützung. Leider verstarb Prof. Dr. Wilfried A. König 2004.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Wittko Francke danke ich für seine Bereitschaft, die Betreuung der Arbeit zu übernehmen, so dass ich dank seiner wertvollen Anregungen die Arbeit beenden konnte.

Frau Dr. Angelika Koch und Dr. Hans-Peter Hanssen bin ich für die Diskussionsbereitschaft und vielfältige Unterstützung, auch mit aufmunternden Worte, dankbar.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei den Mitgliedern des Arbeitskreises für die freundliche Aufnahme und gute Zusammenarbeit, besonders Dr. Simla Basar möchte ich erwähnen, die mich gründlich und engagiert in die einzelnen Bereiche eingearbeitet und durchgehend hilfreich unterstützte, Stefan von Reuß, der stets für Fragen offen war, sowie Frau A. Meiners und Herrn M. Preuße, die zahlreiche GC-MS Messungen durchführten.

Herrn Dr. V. Sinnwell und seinem Team danke ich für die Aufnahme der NMR-Spektren, sowie der Hilfe bei der Strukturaufklärung. Auch Herrn Dr. R. Hartmann, Bonn, danke ich für die Aufnahme und Interpretationshilfe von NMR-Spektren.

Den Firmen Worlée NaturProdukte GmbH und Martin Bauer GmbH & Co. KG, Hamburg, danke ich für die Überlassung von Pflanzenmaterial.

In meinen Dank beziehe ich abschließend meine Freunde ein, hier besonders Klaus Weber und Frau Dr. Gudrun Wiborg, ihnen danke ich für ihre Geduld, ihr Verständnis und Hilfsbereitschaft bei der Fertigstellung der Arbeit.

Lebenslauf

Name:	Rita Richter
Geburtsdatum	09.01.1951
Geburtsort	Bösel, Ortsteil Banneick
Familiestand	ledig, ein Sohn: Wolfgang Richter

Schulausbildung

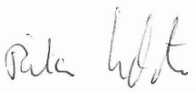
1957-1966	Besuch der Volks- und Realschule Lüchow
1989-1992	Besuch des Staatl. Abendgymnasiums Hamburg
Juni 1992	Abitur
1993-2000	Studium der Pharmazie, Hamburg
Jan 2001	Approbation als Apotheker
August 2001	Beginn der Promotion am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg unter Leitung von Prof. Dr. Wilfried A. König.

Berufliche Ausbildung u. Tätigkeit

1966-1968	Ausbildung zur Apothekenhelferin, Lüchow
1968-1970	Besuch der Chemie- u. Pharmazieschule, Bückeburg, Ausbildung zur Pharmazeutisch-technischen Assistentin (PTA);
Seit April 1971	Berufstätigkeit als PTA in verschiedenen Apotheken in Lüchow, Hamburg, der Karl-Werner Schlüter GmbH, Hamburg und der Universität Hamburg, Abt. Pharmaz. Biologie;
Seit Jan 2001	Berufstätigkeit als Apothekerin in Teilzeit und kurzfristigen Vertretungen in Öffentlichen Apotheken in Hamburg und Umgebung.

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Dissertationsschrift selbstständig und allein von mir unter den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt wurde.
Ferner erkläre ich, dass ich vorher keine weiteren Promotionsversuche unternommen worden sind, oder an einer anderen Stelle vorgelegt wurden

Hamburg, den 04.04. 2008



Rita Richter