

Untersuchung der Cumarinmuster in Früchten ausgewählter Apiaceae

DISSERTATION

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen
Doktorgrades des Fachbereiches Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Andreas Herde
aus Hamburg

Hamburg 2005



Köhler's Medizinal Pflanzen (1883-1914)

Untersuchung der Cumarinmuster in Früchten ausgewählter Apiaceae

DISSERTATION

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen
Doktorgrades des Fachbereiches Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Andreas Herde
aus Hamburg

Hamburg 2005

die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von April 2000 bis August 2004
am Institut für Pharmazie
Abteilung pharmazeutische Biologie und Mikrobiologie der Universität Hamburg
unter der Leitung von
Frau Prof. Dr. Elisabeth Stahl-Biskup
der ich für die Unterstützung und Förderung meiner Arbeit danken möchte

- | | |
|---------------|----------------------------------|
| 1. Gutachter: | Prof. Dr. Elisabeth Stahl-Biskup |
| 2. Gutachter: | Prof. Dr. Karl-Heinz Kubeczka |

Tag der Disputation: 29.04.2005

Meinen Eltern

Danksagung

Frau Yvonne Gland gilt mein Dank für die geleistete Unterstützung im chemisch-analytischen Bereich.

Frau Cornelia Sojka danke ich für zahlreiche Ratschläge, Anregungen und ermunternden Gespräche, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein Dank gilt Herrn H.G. Mierendorff für die wichtigen Anregungen und Ratschläge im analytischen Bereich, sowie für die oft nächtelangen Diskussionen.

Frau Shirin Keyhanian danke ich für die Unterstützung und die Anregungen, die in der Endphase zum Abschluss dieser Arbeit beigetragen hat.

Herrn Michael Heldmaier gilt mein Dank für die Unterstützung und Anregungen, die zum Abschluss dieser Arbeit beigetragen haben.

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
DAD	Dioden-Array-Detektor
DC	Dünnschichtchromatographie
DC-Platte	Dünnschicht-Platte
DCM	Dichlormethan
DNA	Desoxyribonukleinsäure
HCl	Salzsäure
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
KOH	Kaliumhydroxid
Rf-Wert	Retentionsfaktor DC
RP-18	Reversed-Phase C18
spec.	Species
ssp.	Subspecies
Tab.	Tabelle
UV-Licht	ultraviolettes Licht
UV-Vis	ultraviolettes und sichtbares Licht
vergl.	Vergleiche
RT	Retentionszeit
var.	Varietät

Inhaltsverzeichnis

A Einleitung.....	15
1 Die Familie der Apiaceae (Umbelliferae).....	16
1.1 Morphologie und Anatomie.....	16
1.2 Systematik und Verbreitung.....	17
1.2.1 Unterfamilie Hydrocotyloideae.....	19
1.2.2 Unterfamilie Saniculoideae.....	19
1.2.3 Unterfamilie Apioideae.....	19
1.3 Chemische Merkmale.....	20
1.3.1 Ätherische Öle.....	20
1.3.2 Flüchtige Alkaloide.....	22
1.3.3 Polyacetylene.....	22
1.3.4 Phenolische Verbindungen.....	22
1.3.5 Sonstige Inhaltsstoffe.....	23
1.3.6 Cumarine.....	23
1.4 Wirtschaftliche Bedeutung.....	23
1.4.1 Verwendung als Gemüse- und Gewürzpflanzen	23
1.4.2 Verwendung als Arzneipflanzen.....	23
2 Cumarine.....	25
2.1 Definition und Biosynthese.....	25
2.2 Strukturelle Einteilung der Cumarine	26
2.3 Biologische Aktivität.....	28
2.3.1 Nutzen für die Pflanze.....	28
2.3.2 Pharmakologische Eigenschaften.....	28
2.4 Cumarine in der Familie der Apiaceae.....	30
B Methodik.....	31
1 In dieser Arbeit identifizierte Cumarinderivate und Referenzsubstanzen.....	31
2 Extraktion.....	36
3 UV-Spektroskopie.....	37
4 Trennmethoden.....	37
4.1 Dünnschichtchromatographie (DC).....	37
4.1.1 DC auf Kieselgelschichten.....	37
4.1.2 DC auf RP-18 Phasen.....	38
4.1.3 Hydrolyse auf der Platte.....	38
4.2 HPLC.....	39
4.2.1 DC - HPLC Kombination.....	41
5 quantitative Auswertung.....	42

5.1 Problematik der quantitativen Auswertung in der HPLC.....	42
5.2 Erarbeitung einer Berechnungsformel.....	43
5.2.1 Physikalische Grundlagen.....	43
5.2.2 Entwicklung der Berechnungsformel.....	44
5.2.3 Versuchsreihen zur Ermittlung der Spektraldaten für Xanthotoxin.....	47
C Ergebnisse.....	50
1 Untersuchte Pflanzen.....	50
1.1 <i>Aegopodium podagraria</i> L.	53
1.1.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	53
1.1.2 Chemie der Cumarine.....	53
1.1.2.1 Literatur.....	53
1.1.2.2 Eigene Ergebnisse.....	53
1.2 <i>Ammi majus</i> L.	54
1.2.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	54
1.2.2 Chemie der Cumarine.....	54
1.2.2.1 Literatur.....	54
1.2.2.2 Eigene Ergebnisse.....	55
1.3 <i>Ammi visnaga</i> LAM.	57
1.3.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	57
1.3.2 Chemie der Cumarine.....	57
1.3.2.1 Literatur.....	57
1.3.2.2 Eigene Ergebnisse.....	57
1.4 <i>Anethum graveolens</i> L.	59
1.4.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	59
1.4.2 Chemie der Cumarine.....	60
1.4.2.1 Literatur.....	60
1.4.2.2 Eigene Ergebnisse.....	60
1.5 <i>Angelica archangelica</i> L.	61
1.5.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	61
1.5.2 Chemie der Cumarine.....	61
1.5.2.1 Literatur.....	61
1.5.2.2 Eigene Ergebnisse.....	61
1.6 <i>Angelica sylvestris</i> L.	63
1.6.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	63
1.6.2 Chemie der Cumarine.....	63
1.6.2.1 Literatur.....	63
1.6.2.2 Eigene Ergebnisse.....	64
1.7 <i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) HOFFM.	65

1.7.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	65
1.7.2 Chemie der Cumarine.....	65
1.7.2.1 Literatur.....	65
1.7.2.2 Eigene Ergebnisse.....	66
1.8 <i>Astrantia major</i> L.	67
1.8.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	67
1.8.2 Chemie der Cumarine.....	67
1.8.2.1 Literatur.....	67
1.8.2.2 Eigene Ergebnisse.....	67
1.9 <i>Carum carvi</i> L.	68
1.9.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	68
1.9.2 Chemie der Cumarine.....	68
1.9.2.1 Literatur.....	68
1.9.2.2 Eigene Ergebnisse.....	69
1.10 <i>Chaerophyllum aromaticum</i> L.	70
1.10.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	70
1.10.2 Chemie der Cumarine.....	70
1.10.2.1 Literatur.....	70
1.10.2.2 Eigene Ergebnisse.....	70
1.11 <i>Chaerophyllum temulum</i> L.	71
1.11.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	71
1.11.2 Chemie der Cumarine.....	72
1.11.2.1 Literatur.....	72
1.11.2.2 Eigene Ergebnisse.....	72
1.12 <i>Conium maculatum</i> L.	73
1.12.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	73
1.12.2 Chemie der Cumarine.....	73
1.12.2.1 Literatur.....	73
1.12.2.2 Eigene Ergebnisse.....	73
1.13 <i>Coriandrum sativum</i> L.	74
1.13.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	74
1.13.2 Chemie der Cumarine.....	75
1.13.2.1 Literatur.....	75
1.13.2.2 Eigene Ergebnisse.....	75
1.14 <i>Cuminum cyminum</i> L.	76
1.14.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	76
1.14.2 Chemie der Cumarine.....	76
1.14.2.1 Literatur.....	76

1.14.2.2 Eigene Ergebnisse.....	76
1.15 <i>Daucus carota</i> L.	77
1.15.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	77
1.15.2 Chemie der Cumarine.....	78
1.15.2.1 Literatur.....	78
1.15.2.2 Eigene Ergebnisse.....	78
1.16 <i>Eryngium campestre</i> L.	79
1.16.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	79
1.16.2 Chemie der Cumarine.....	79
1.16.2.1 Literatur	79
1.16.2.2 Eigene Ergebnisse.....	79
1.17 <i>Eryngium planum</i> L.	81
1.17.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	81
1.17.2 Chemie der Cumarine.....	81
1.17.2.1 Literatur.....	81
1.17.2.2 Eigene Ergebnisse.....	81
1.18 <i>Ferula asa foetida</i> L.	82
1.18.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	82
1.18.2 Chemie der Cumarine.....	83
1.18.2.1 Literatur	83
1.18.2.2 Eigene Ergebnisse.....	83
1.19 <i>Foeniculum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> var. <i>vulgare</i> MILL.	84
1.19.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	84
1.19.2 Chemie der Cumarine.....	84
1.19.2.1 Literatur	84
1.19.2.2 Eigene Ergebnisse.....	85
1.20 <i>Heracleum lanatum</i> MICHX.	86
1.20.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	86
1.20.2 Chemie der Cumarine.....	86
1.20.2.1 Literatur.....	86
1.20.2.2 Eigene Ergebnisse.....	86
1.21 <i>Heracleum mantegazzianum</i> SOMM. & LEV.	88
1.21.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	88
1.21.2 Chemie der Cumarine.....	88
1.21.2.1 Literatur.....	88
1.21.2.2 Eigene Ergebnisse.....	89
1.22 <i>Heracleum sphondylium</i> L.	90
1.22.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	90

1.22.2 Chemie der Cumarine.....	91
1.22.2.1 Literatur.....	91
1.22.2.2 Eigene Ergebnisse.....	91
1.23 <i>Heracleum sphondylium</i> ssp. <i>ternatum</i>	92
1.23.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	92
1.23.2 Chemie der Cumarine.....	92
1.23.2.1 Literatur.....	92
1.23.2.2 Eigene Ergebnisse.....	93
1.24 <i>Levisticum officinalis</i> KOCH.	94
1.24.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	94
1.24.2 Chemie der Cumarine.....	95
1.24.2.1 Literatur.....	95
1.24.2.2 Eigene Ergebnisse.....	95
1.25 <i>Ligusticum scoticum</i> L.	96
1.25.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	96
1.25.2 Chemie der Cumarine.....	96
1.25.2.1 Literatur.....	96
1.25.2.2 Eigene Ergebnisse.....	97
1.26 <i>Oenanthe pimpinelloides</i> L.	98
1.26.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	98
1.26.2 Chemie der Cumarine.....	98
1.26.2.1 Literatur.....	98
1.26.2.2 Eigene Ergebnisse.....	98
1.27 <i>Pastinaca sativa</i> L.	100
1.27.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	100
1.27.2 Chemie der Cumarine.....	100
1.27.2.1 Literatur.....	100
1.27.2.2 Eigene Ergebnisse.....	100
1.28 <i>Petroselinum spec.</i> HILL.	101
1.28.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	101
1.28.2 Chemie der Cumarine.....	102
1.28.2.1 Literatur.....	102
1.28.2.2 Eigene Ergebnisse.....	102
1.29 <i>Peucedanum austriacum</i> (JACQ.) KOCH	103
1.29.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	103
1.29.2 Chemie der Cumarine.....	104
1.29.2.1 Literatur.....	104
1.29.2.2 Eigene Ergebnisse.....	104

1.30 <i>Peucedanum cervaria</i> (L.) LAP.	105
1.30.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	105
1.30.2 Chemie der Cumarine.....	106
1.30.2.1 Literatur.....	106
1.30.2.2 Eigene Ergebnisse.....	106
1.31 <i>Peucedanum officinale</i> L.	107
1.31.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	107
1.31.2 Chemie der Cumarine.....	108
1.31.2.1 Literatur.....	108
1.31.2.2 Eigene Ergebnisse.....	108
1.32 <i>Peucedanum palustre</i> (L.) MOENCH.	110
1.32.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	110
1.32.2 Chemie der Cumarine.....	110
1.32.2.1 Literatur.....	110
1.32.2.2 Eigene Ergebnisse.....	111
1.33 <i>Peucedanum verticillare</i> (L.) KOCH ex DC.	112
1.33.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	112
1.33.2 Chemie der Cumarine.....	112
1.33.2.1 Literatur.....	112
1.33.2.2 Eigene Ergebnisse.....	113
1.34 <i>Pimpinella anisum</i> L.	114
1.34.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	114
1.34.2 Chemie der Cumarine.....	114
1.34.2.1 Literatur.....	114
1.34.2.2 Eigene Ergebnisse.....	115
1.35 <i>Pimpinella major</i> (L.) HUDS.	116
1.35.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	116
1.35.2 Chemie der Cumarine.....	116
1.35.2.1 Literatur.....	116
1.35.2.2 Eigene Ergebnisse.....	116
1.36 <i>Torilis japonica</i> (HOUTT.) LK.	117
1.36.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte.....	117
1.36.1.1 Chemie der Cumarine.....	117
1.36.1.2 Literatur.....	117
1.36.1.3 Eigene Ergebnisse.....	118
2 Zusammenstellung der Ergebnisse.....	119
D Diskussion.....	123
1 Chemotaxonomischer Aspekt.....	123

2 Analytischer Aspekt.....	126
2.1 Quantifizierungsformel.....	127
E Material und Methoden.....	128
1 Untersuchungsmaterial.....	128
2 Probenvorbereitung.....	130
2.1 Extrakte.....	131
3 Analytische Methoden.....	132
3.1 Dünnschichtchromatographie (DC).....	132
3.2 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC).....	133
4 Verwendete Chemikalien.....	135
4.1 R- und S-Sätze.....	135
F Zusammenfassung / Summary.....	136
G Anhang.....	140
1 UV-Vis-Spektren.....	140
2 Messdaten für die Berechnungsformel.....	142
H Literatur.....	146
I Lebenslauf.....	151

A Einleitung

Die Familie der Apiaceae erfährt auf Grund der Tatsache, dass sie viele Gemüse- und Gewürzpflanzen sowie einige Arzneipflanzen beherbergt, ein beachtliches Interesse angewandter Fachrichtungen wie Lebensmittelchemie und Pharmazie. Stofflich fokussiert sich dabei das Augenmerk in erster Linie auf die ätherischen Öle, die praktisch in allen Arten enthalten und in schizogenen Ölgängen der Wurzel, Kraut und Früchte akkumuliert sind. Durch ihren besonderen Geruch tragen diese zur Würzkraft mancher Wurzeln, Kräuter und Früchte bei (z.B. Sellerie, Dill, Kümmel), wodurch sie in der Lebensmittel- und Gewürzindustrie eine wichtige Rolle spielen. Die antimikrobielle, expektorierende und spasmolytische Wirkung der ätherischen Öle haben einigen Apiaceen-Arten (z.B. Anis, Fenchel, Kümmel) ihren Platz in der Phytotherapie gesichert. Die ätherischen Öle der europäischen Apiaceae sind wissenschaftlich gut untersucht und in der Literatur angemessen dokumentiert.

Demgegenüber sind die Cumarine, eine weitere in Apiaceae verbreitete Stoffklasse, weit weniger bekannt. Cumarine sind Lactone der cis-ortho-Hydroxyzimtsäure. Man unterscheidet nach ihren Grundkörpern einfache Cumarine, Furanocumarine (auch Furocumarine genannt) und Pyranocumarine. Ob Cumarine an der Wirkung einiger Arzneidrogen aus der Familie der Apiaceae, wie z.B. Angelikawurzel oder Liebstöckelwurzel bzw. deren Zubereitungen, beteiligt sind, ist wissenschaftlich nicht detailliert belegt. Man kann jedoch davon ausgehen, dass es sich um eine biologisch sehr aktive Substanzgruppe handelt, was sich z.B. in ihrer phototoxischen Eigenschaft dokumentiert. Pflanzen mit hohen Konzentrationen an bestimmten Cumarinen im Kraut (z.B. *Heracleum*-Arten – Bärenklau) führen nach Kontakt mit der Haut und anschließender Sonnenbestrahlung zu verbrennungsähnlichen Hautveränderungen, die im harmlosesten Fall als das Krankheitsbild der Wiesendermatitis bekannt sind und im Sommer mitunter bei in Wiesen spielenden Kindern zu Zwischenfällen führen. Insofern ist die Kenntnis über Vorkommen und Verbreitung der Cumarine in Apiaceae schon allein wegen der Risikoabschätzung ein wichtiges Anliegen.

Wertet man die über Cumarine in Apiaceae vorliegende Literatur aus (Murray et al. 1982 als Standardwerk und zahlreiche Einzelveröffentlichungen), stellt man fest, dass die Früchte diesbezüglich bisher am wenigsten beachtet wurden. Deshalb wird mit dieser Arbeit ein Screening der Apiaceen-Früchte hinsichtlich des Cumarinvorkommens angestrebt. Es soll klären, welche der in der gemäßigten Zonen heimischen Apiaceae (hier: Deutschland und angrenzende Länder) Cumarine in den Früchten enthalten und welche chemischen Cumarin-Strukturen dort verwirklicht sind. Damit soll ein Beitrag zu Vorkommen und Verbreitung der

Cumarine in der Familie der Apiaceae geleistet und auch einige chemotaxonomische Fragen beantwortet werden:

- Zeichnet sich die Familie der Apiaceae durch bestimmte und bevorzugte Cumarin-Grundgerüste aus?
- Wie hoch ist die strukturelle Variation der Cumarine in Apiaceae im Vergleich zu den Rutaceae, einer ursprünglich als nah verwandt eingestufte und ebenfalls als „cumarinreich“ zu bezeichnende Pflanzenfamilie?
- Können innerhalb der Apiaceae die Cumarine als chemotaxonomisches Merkmal auf der Ebene der Unterfamilie, der Tribus oder der Gattung dienen?

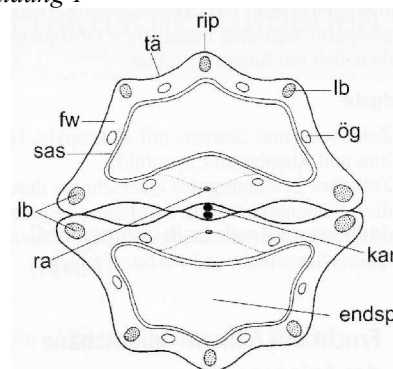
Voraussetzung für dieses Screening ist die Entwicklung einer analytischen Routinemethode, die gewährleistet, dass die Cumarinfraktionen der Apiaceen-Früchte chromatographisch getrennt, die einzelnen Cumarine spektralphotometrisch charakterisiert und möglichst weitgehend identifiziert werden können. Dabei bietet sich die HPLC an, die auch die Möglichkeit einer quantitativen Bestimmung zulässt, wobei diesbezüglich auch Überlegungen anzustellen sind, wie das Fehlen entsprechender Referenzsubstanzen zu kompensieren ist.

1 Die Familie der Apiaceae (Umbelliferae)

1.1 Morphologie und Anatomie

Die Apiaceae lassen sich morphologisch gut von anderen Familien durch ihre typische Blütenstandsform unterscheiden. Beim Blütenstand handelt es sich um eine so genannte Dolde, ein racemöser Blütenstand, bei dem die Hauptachse gestaucht ist und die gestielten Blüten strahlenförmig von einem Punkt ausgehen. Häufig ist auch eine Doppeldolde zu finden, bei der sich an der Spitze der Strahlen erster Ordnung erneut Dolden befinden, diese Dolden zweiter Ordnung werden als Döldchen bezeichnet. Die Dolden und Döldchen sind häufig von Hüllblättern umgeben. Bei einigen Apiaceen sind die Doldenstrahlen stark

Abbildung 1



endosp Endosperm, **fw** Fruchtwand, **kar** Karpophor, **lb** Leitbündel, **ö** Ölgang, **ra** Raphenleitbündel, **rip** Rippe, **sas** Samenschale, **tä** Tälchen

Quelle : Anatomie und Histologie der Samenpflanzen

verkürzt (*Astrantia major* L., Arten der Gattung *Eryngium*), oder die Randblüten der Dolde sind zygomorph und stark vergrößert (Gattung *Orlaya*); in beiden Fällen ergibt sich für den Blütenstand der Eindruck eines Pseudanthiums, ähnlich dem der Asteraeae.

Die Apiaceae sind in der Regel einjährige oder ausdauernde Kräuter. Nur in sehr wenigen Fällen werden verholzte Stämme ausgebildet (*Steganotenia araliacea* HOCHST.). Der hohle Stängel ist in Nodien und Internodien unterteilt. Die Blätter sind zumeist wechselständig, einfach bis mehrfach gefiedert oder fiederspaltig mit einer ausgeprägten Blattscheide.

Die zwittrigen Blüten, mit der Blütenformel $*K_5 C_5 A_5 G_{(2)}$, sind pentamer und tetracyclisch. Der fünfzählige Kelch ist häufig klein oder reduziert. Die 5 Kronblätter sind vielfach gespalten und mit einer nach innen umgebogenen Spitze zwischen den beiden Kronblattzipfeln versehen. Viele Apiaceenblüten sind protandrisch. Das unterständige Gynoeceum besteht aus zwei Fruchtblättern und ist coeno-synkarp. In jedem Loculament hängt eine anatrophe Samenanlage. Während der Fruchtreife bildet sich als Fruchtform eine Achäne, eine Sonderform der Nuss, bei der Pericarp und Testa miteinander verwachsen. Die beiden Fruchtblätter lösen sich während der Fruchtreife an ihrer Verwachungsstelle voneinander (Spaltfrucht) und werden von einem so genannten Karpophor (Fruchträger) gehalten. Die Früchte enthalten einen kleinen Embryo und als Speicherstoffe fettes Öl, sowie Aleuronkörner. Es findet sich keine Stärke. Als Reservekohlenhydrat wird stattdessen Mannan an die Zellwände des Endosperms angelagert [Strasburger 2002].

Betrachtet man einen Querschnitt (Abb. 1), so tragen die Teilfrüchte an den Flanken charakteristische Rippen. In den fünf Hauptrippen liegen die Leitbündel. In den Tälchen dazwischen befinden sich teilweise Nebenrippen, die schizogenen Ölgänge liegen vor allem in diesen Tälchen.

1.2 Systematik und Verbreitung

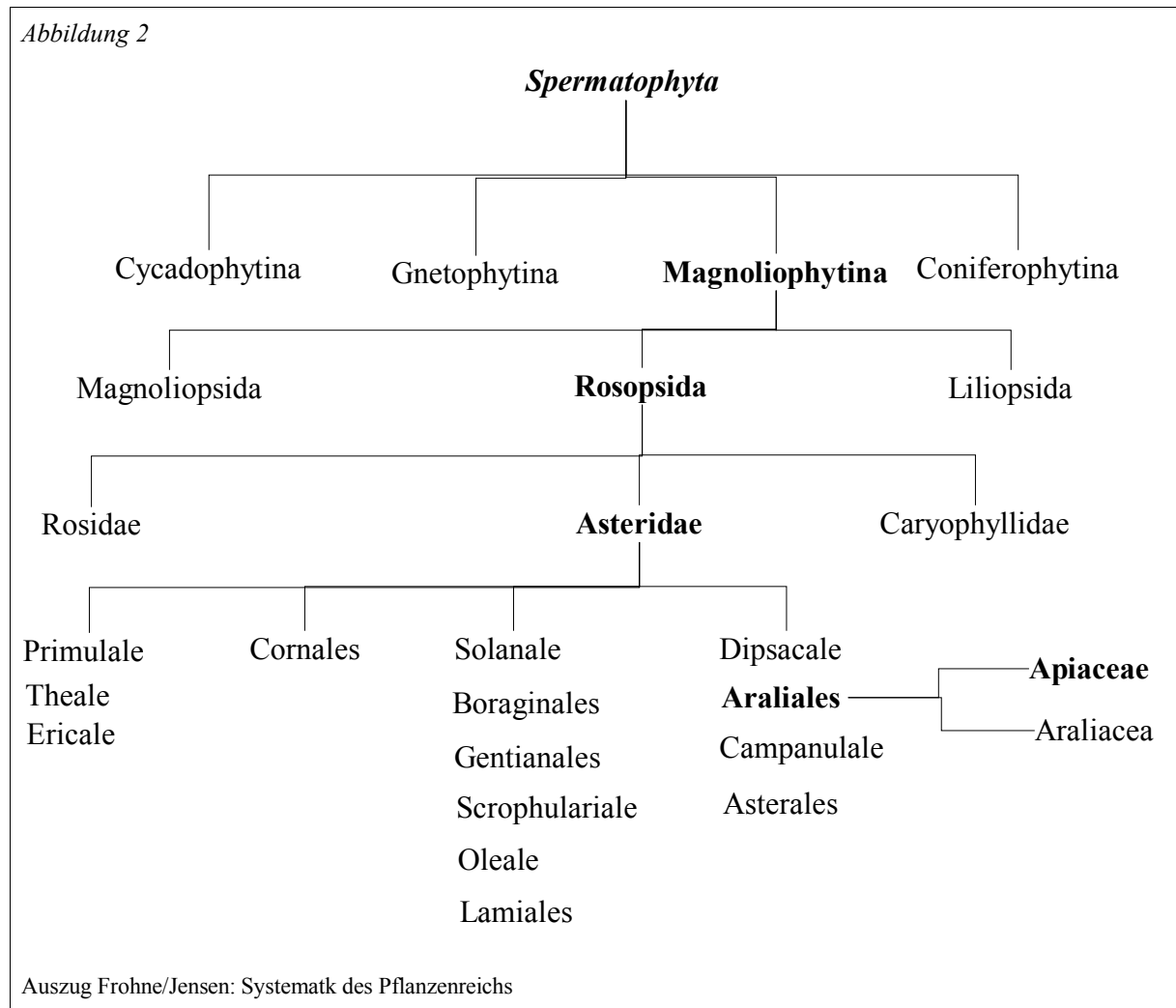
Die Familie der Apiaceae gehört zur Ordnung der Apiales (Abb. 2) und diese heute zur Unterklasse der Asteridae. Bis vor einigen Jahren befand sich die Ordnung der Apiales noch in der Unterklasse der Rosidae, begründet durch die Annahme, dass die Bildung von Pseudanthien (Scheinblüten) als eine Parallelentwicklung in verschiedenen Unterklassen angesehen wurde. Des weiteren führten u.a. die nicht stark abgeleiteten Blüten mit freien Blütenblättern zu dieser Klassifizierung. Neuere molekularbiologische Erkenntnisse im Bezug

A Einleitung

auf mehrere Gene zeigen jedoch eindeutig, dass es sich um eine monophyletische Verwandtschaftsgruppierung handelt, die eine Tendenz zur Ausbildung von Pseudanthien und anderen abgeleiteten Merkmalen zeigt[Frohne et al. 1998].

Charakteristische Merkmale für die Ordnung der Apiales sind die Ausbildung geteilter und zusammengesetzter Blätter, das Vorkommen schizogener Exkretgänge und Diskusbildung. Chemisch sind für diese Ordnung ätherische Öle und Balsame, sowie Polyacetylene, Triterpensaponine und petroselinensäurehaltige Samenöle. Auch das Fehlen von Iridoiden und echten Gerbstoffen zeichnet diese Ordnung aus [Frohne et al. 1998].

Abbildung 2



Die Familie der Apiaceae umfasst ca. 3000 Arten. Sie hat zwei Verbreitungsschwerpunkte, einen in Europa und einen in Asien. Sie gliedert sich in drei Unterfamilien, die Hydrocotyloideae, die Saniculoideae und die Apioideae. Diese drei Unterfamilien lassen sich auch auf Grund morphologischer Merkmale unterscheiden [Heywood 1978].

1.2.1 Unterfamilie Hydrocotyloideae

Diese Unterfamilie besitzt Stipeln (Nebenblätter), sowie Früchte mit verholzten Endocarp und kein freies Karpophor.

Es gibt folgende Triben und Subtriben:

- Tribus: Hydrocotyleae
 Subtribus: Hydrocotylinae
 Xanthosiinae
- Tribus: Molineae
 Subtribus: Bowlesinae
 Azorellinae
 Asterisciinae

1.2.2 Unterfamilie Saniculoideae

In dieser Unterfamilie findet man Gattungen, deren Früchte ein weiches, parenchymatisches Endocarp besitzen. Es kommen keine Stipel vor. Der Diskus am Griffelgrund ist ringförmig.

- Tribus: Saniculeae
- Tribus: Lagoëcieae

1.2.3 Unterfamilie Apioideae

Diese Unterfamilie besitzt ebenfalls ein weiches parenchymatisches Endocarp und keine Stipel. Der Griffel steht auf einem zugespitzten Diskus.

Diese Unterfamilie gliedert sich in folgende Triben und Subtriben :

- Tribus: Echinophoreae
- Tribus: Scandiceae
 Subtribus: Scandicinae
 Caucalinae
- Tribus: Coriandrae

- Tribus: Smyrnieae
- Tribus: Ammieae
 - Subtribus: Carinae
 - Seselinae

- Tribus: Peucedaneae
 - Subtribus: Angelicinae
 - Ferulinae
 - Toryliinae
- Tribus: Laserpitieae
 - Subtribus: Silerinae
 - Elaeoselinae
 - Thapsiinae
- Tribus: Dauceae

Die meisten in dieser Arbeit behandelten Apiaceen-Früchte stammen aus der letztgenannten Unterfamilie.

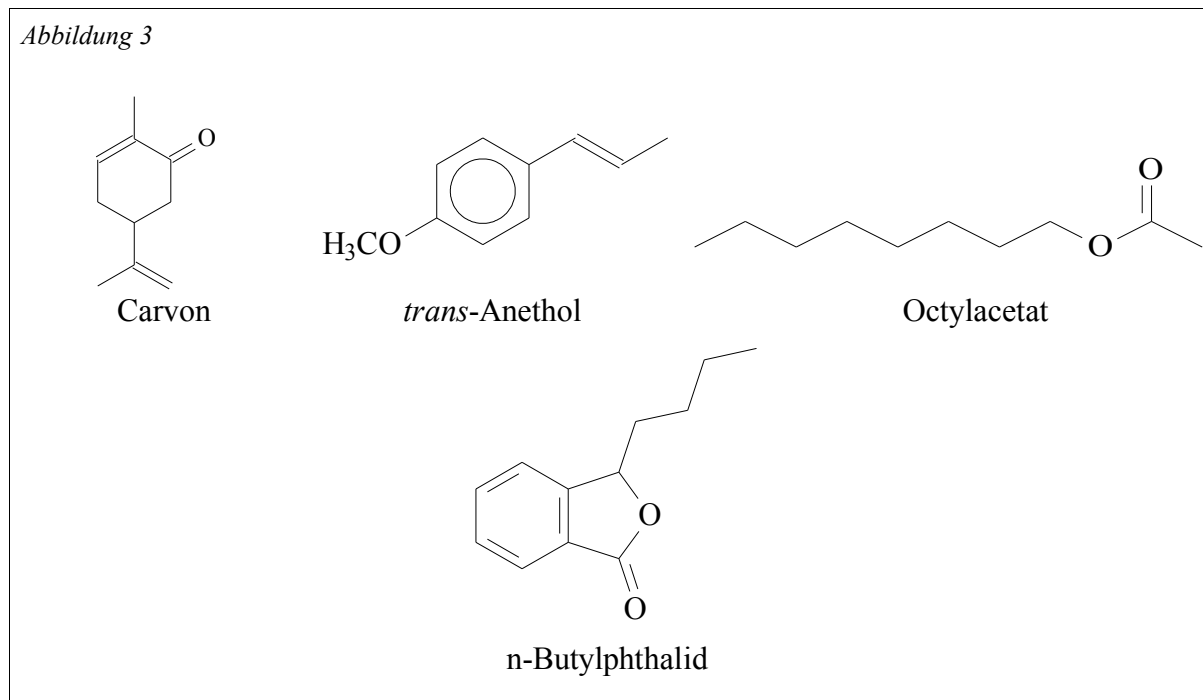
1.3 Chemische Merkmale

1.3.1 Ätherische Öle

Die Familie der Apiaceen ist reich an ätherischen Ölen, das der Grund für die Verwendung vieler Apiaceen als Gemüse oder Gewürzpflanzen ist. Das ätherische Öl findet sich in schizogenen Ölgängen der Früchte, der Wurzel und des Krautes. Dabei lassen sich verschiedene Typen von ätherischen Ölen unterscheiden. Es kommen Öle vor, die fast ausschließlich aus Phenylpropanen bestehen, eine andere Gruppe hat als Hauptkomponente Terpene, und eine dritte Gruppe besteht hauptsächlich aus aliphatischen Estern. Zur Gruppe der phenylpropanhaltigen Öle zählt zum Beispiel das ätherische Öl vom Anis (*Pimpinella anisum* L.) dessen Hauptkomponente trans-Anethol ist (Abb. 3). Das ätherische Öl des

Kümmels (*Carum carvi* L.), dessen Hauptkomponente D-Carvon ist (Abb. 3), ist ein Beispiel für die Gruppe der terpenoiden Öle. Zur dritten Gruppe zählt das Öl des Pastinaks (*Pastinaca sativa* L.). Die Hauptkomponente dieses Öls ist Octylacetat (Abb. 3).

Abbildung 3

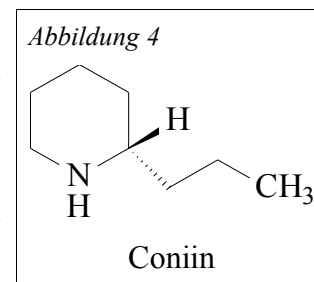


Die Familie der Apiaceen zeigt bei den ätherischen Ölen das Phänomen von chemischen Rassen. Darunter versteht man Pflanzen einer Art mit unterschiedlichen chemischen Ausstattung. Ein Beispiel für ein solches Verhalten ist die Petersilie (*Petroselinum crispum* (MILL.) NYM.). Bei der Petersilie lassen sich drei Rassen unterscheiden, zum einen eine Apiol-Rasse, bei der die Hauptkomponente im ätherischen Öl Apiol ist, und zum anderen eine Myristicin-Rasse, bei der wie der Name angibt, Myristicin Hauptbestandteil ist. Die dritte chemische Rassen hat als Hauptbestandteil Allyltetramethoxybenzoll [Frank 1994], [Warncke et al. 1992], [Jork 1963].

Eine weitere Substanzklasse, die sich im ätherischen Öl einiger Apiaceen (z.B. im Liebstöckel *Levisticum officinale* KOCH. und im Bärwurz *Meum athamanticum* L.) findet, sind die Alkylphthalide (Abb. 3). Diese flüchtigen Substanzen sind für den typischen Geruch des Liebstöckels und des Selleries verantwortlich.

1.3.2 Flüchtige Alkaloide

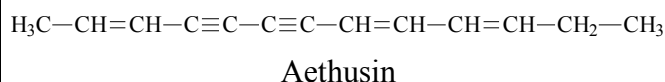
Eine kleine Gruppe von Substanzen stellen die Alkaloide dar, deren Vertreter Abkömmlinge des Coniins (Abb. 4), ein Piperidin-Alkaloid, sind. Coniin selbst kommt mit ca. 3,2% im gefleckten Schierling (*Conium maculatum* L.), und hier vor allem in den Früchten, vor. Neben-Alkaloide sind γ -Conicien, Conhydrin, Pseudoconhydrin und N-Methylconiin vor. Coniin ist für die Giftwirkung des Schierlings verantwortlich (siehe auch dort).



1.3.3 Polyacetylene

Polyacetylene sind an der Giftwirkung vieler Apiaceen beteiligt [Teuscher 1989]. Es handelt sich dabei um Verbindungen mit mehreren konjugierten Doppelbindungen und

Abbildung 5



zwei konjugierten Dreifachbindungen. Diese toxischen Verbindungen sind jedoch relativ oxidationsempfindlich und zersetzen sich schnell. Ein Beispiel für die Gruppe der Polyacetylene ist das Aethusin aus der Hundspetersilie (*Aethusa cynapium* L.), siehe Abb. 5. Bei dieser Verbindung handelt es sich um das giftige Prinzip dieser Pflanze.

1.3.4 Phenolische Verbindungen

Hier seien zunächst die Flavonoide genannt. Sie stellen in diesem Zusammenhang keine familienspezifische Besonderheit dar, da Flavonoide im Pflanzenreich ubiquitär vorkommen. Als Besonderheit ist jedoch zu erwähnen, dass das Flavonoidmuster mit der Klassifikation innerhalb der Familie korreliert. Innerhalb eines Taxons kommen z.B. nur Flavonol- oder Flavonglykoside vor.[Hegnauer 1990].

Als weitere Substanzklasse finden sich Phenolcarbonsäuren. Es handelt sich dabei vorwiegend um Ester der Kaffeesäure, wie Chlorogensäure und Isochlorogensäure, bei einigen Mitgliedern der Unterfamilie Saniculoideae auch um Rosmarinsäure[Hegnauer 1990]. Außer Kaffeesäure kommen Ferula- und Isoferulasäure als Phenolcarbonsäuren vor.

1.3.5 Sonstige Inhaltstoffe

Außer den oben genannten Verbindungen lassen sich als Besonderheit noch das Vorkommen der Petroselinssäure in den Samenölen, als Charakteristikum des Kohlenhydratstoffwechsels die Bildung des Trisaccharids Umbelliferose sowie die Bildung von Gummiharzen anführen. Diese Gummiharze haben auf Grund von disulfidischen Verbindungen einen typischen und unangenehmen Geruch. Sie kommen bei *Ferula*-Arten häufig vor; z.B. stellt der „Teufelsdreck“, gewonnen aus *Ferula asa-foetida* L.[Frohne et al. 1998] ein solches Gummiharz dar.

1.3.6 Cumarine

Eine verbreitete Substanzklasse innerhalb der Apiaceen sind die Cumarine, auf die in Kapitel .. näher eingegangen wird. In den Apiaceae liegen sie in den schizogenen Ölgängen gelöst im ätherischen Öl vor.

1.4 Wirtschaftliche Bedeutung

1.4.1 Verwendung als Gemüse- und Gewürzpflanzen

Als Gemüse werden meist die Wurzeln wie z.B. Karotte (*Daucus sativa* L.), Pastinak (*Pastinaca sativa* L.) und Sellerie (*Apium graveolens* L.) oder die stark vergrößerten und fleischigen Blattscheiden beim Gemüsefenchel (*Foeniculum vulgare* var *azoricum* MILL.) verwendet. Als Gewürz werden Früchte z.B. Kümmel (*Carum carvi* L.), Wurzeln Wurzelpetersilie und Kraut Petersilie (*Petroselinum crispum* A.W. HILL.) verwendet.

1.4.2 Verwendung als Arzneipflanzen

In der Phytotherapie werden verschiedene Pflanzenteile, vor allem Früchte und Wurzeln verwendet. Bei wenigen Arten auch das Kraut. Die Wirkung dieser Drogen beruht auf ihren Gehalt an ätherischem Öl. In der nachfolgenden Aufzählung werden nur die Drogen, die von der Kommission E. mit einer Positivmonographie bedacht worden sind, berücksichtigt:

1) Angelicawurzel (*Angelica archangelica* L.)

Anwendungsgebiet: dyspeptische Beschwerden, leichte Magen-Darm-Krämpfen sowie Blähungen und Völlegefühl.

2) Anisfrüchte (*Pimpinella anisum* L.)

Anwendungsgebiet: Katarrhe der oberen Luftwege und dyspeptische Beschwerden.

3) Bibernellwurzel (*Pimpinella saxifraga* (L.) HUDS.)

Anwendungsgebiet: Katarrhe der oberen Luftwege.

4) Dillfrüchte (*Anethum graveolens* L.)

Anwendungsgebiet: dyspeptische Beschwerden..

5) Fenchelfrüchte (*Foeniculum vulgare* MILLER)

Anwendungsgebiet: Katarrhe der oberen Luftwege und dyspeptische Beschwerden, sowie leichten Magen-Darm-Krämpfe, Blähungen und Völlegefühl.

6) Korianderfrüchte (*Coriandrum sativum* L.)

Anwendungsgebiet: Appetitlosigkeit und dyspeptische Beschwerden.

7) Kümmelfrüchte (*Carum carvi* L.)

Anwendungsgebiet: dyspeptische Beschwerden, leichten Magen-Darm-Krämpfe, sowie Blähungen und Völlegefühl.

8) Liebstöckelwuzel (*Levisticum officinalis* KOCH)

Anwendungsgebiet: zur Durchspülungstherapie von entzündlichen Erkrankungen der ableitenden Harnwege, sowie zur Vorbeugung bei Nierengrieß.

9) Petersilienkraut/Wurzel (*Petroselinum crispum* (MILL.) NYM.)

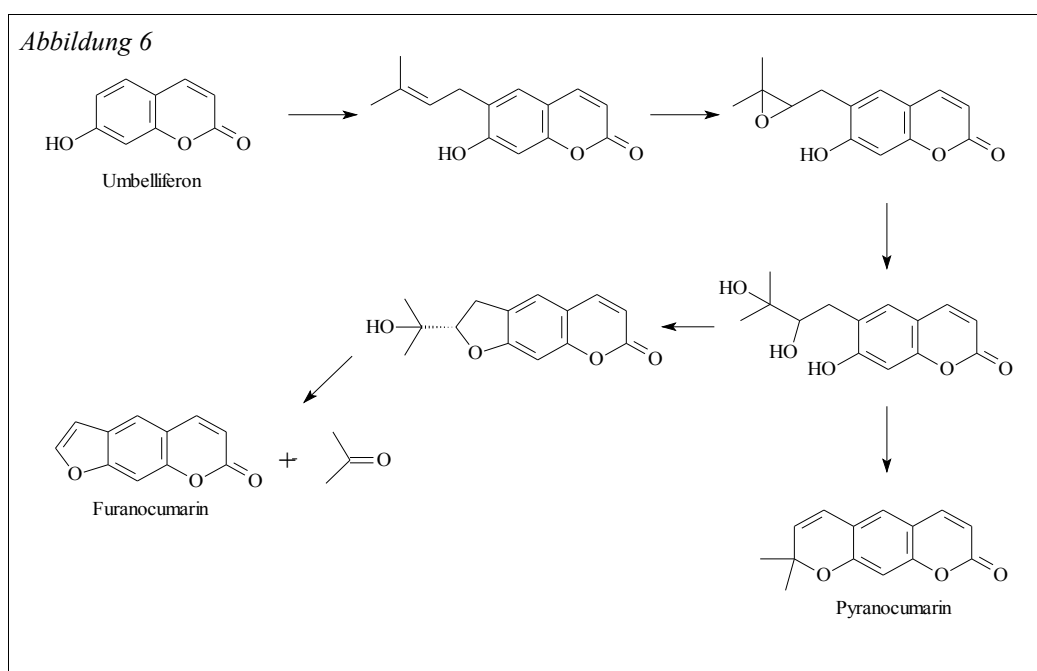
Anwendungsgebiet: entzündliche Erkrankungen der ableitenden Harnwege und zur Vorbeugung von Nierengries.

2 Cumarine

2.1 Definition und Biosynthese

Das Cumarin (2-H-[1]-Benzopyran-2-on, siehe Abb. 7a), nach dem die gesamte Substanzklasse benannt ist, wurde 1820 von Vogel aus der Tonka-Bohne (*Dipteryx odorata* [AUBL.] WILLD.) isoliert. Er benannte die isolierte Substanz nach den karibischen Wort „Coumarou“, der Beschreibung für den Tonka Baum. Cumarin findet sich auch in vielen anderen Pflanzen, wie z.B. im Steinklee (*Melilotus officinalis* MILL) oder dem Waldmeister (*Gallium odoratum* (L.) SCOP.). Es ist flüchtig und verleiht diesen Pflanzen ihren typischen Geruch. Es entsteht erst beim Welkevorgang durch spontane Cyclisierung der cis-ortho-Hydroxyzimtsäure.

Formal sind Cumarine Lactone der cis-ortho-Hydroxyzimtsäure. Ihre Biosynthese verläuft über Shikimisäure (Shikimat-Weg), die nach mehreren Schritten weiter zur cis-ortho-Hydroxyzimtsäure reagiert. Sie ist das Ausgangsmolekül für die Biosynthese aller Cumarine. Sie entsteht durch Hydroxylierung der trans-Zimtsäure in ortho-Stellung und anschließende Isomerisierung in das entsprechende cis-Derivat. Einfache Hydroxycumarine entstehen durch weitere Hydroxylierung vor der Lactonbildung aus cis-ortho-Hydroxyzimtsäure.

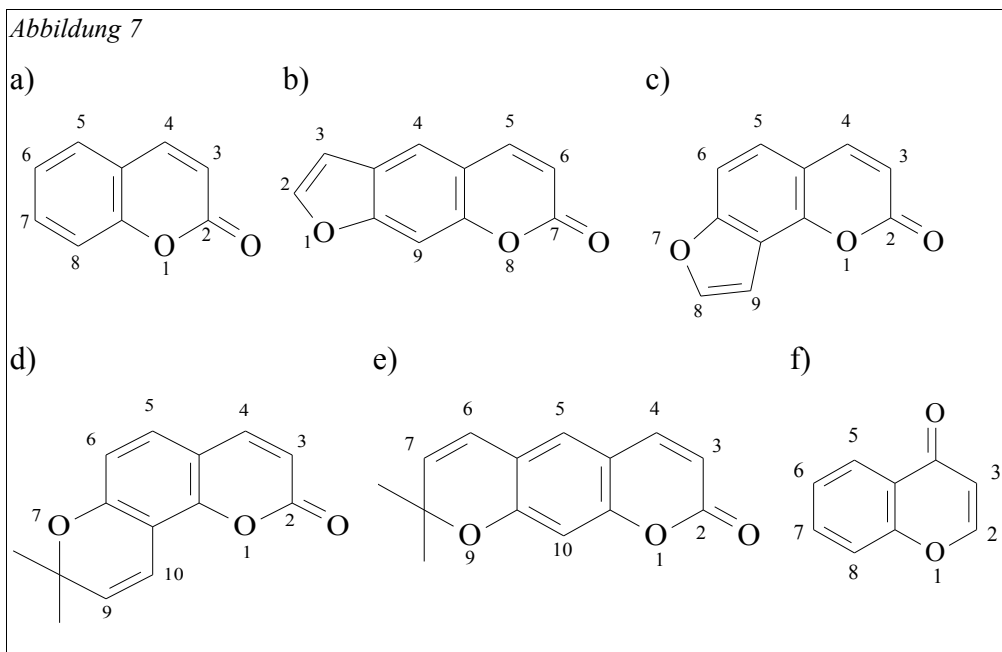


Die Biogenese der Furano- und Pyranocumarine geht von unsubstituierten oder substituierten Umbelliferon aus, an dessen Benzolring in Stellung 6 oder 8 ein Isoprenmolekül (C5) angefügt wird. Die im Isopren enthaltene Doppelbindung wird oxidiert und anschließend wird das entstandene Epoxid in ein Diol gespalten. Aus dem so entstandenen Zwischenprodukt resultiert dann entweder ein Furano- oder ein Pyranocumarin (Abb. 6).

2.2 Strukturelle Einteilung der Cumarine

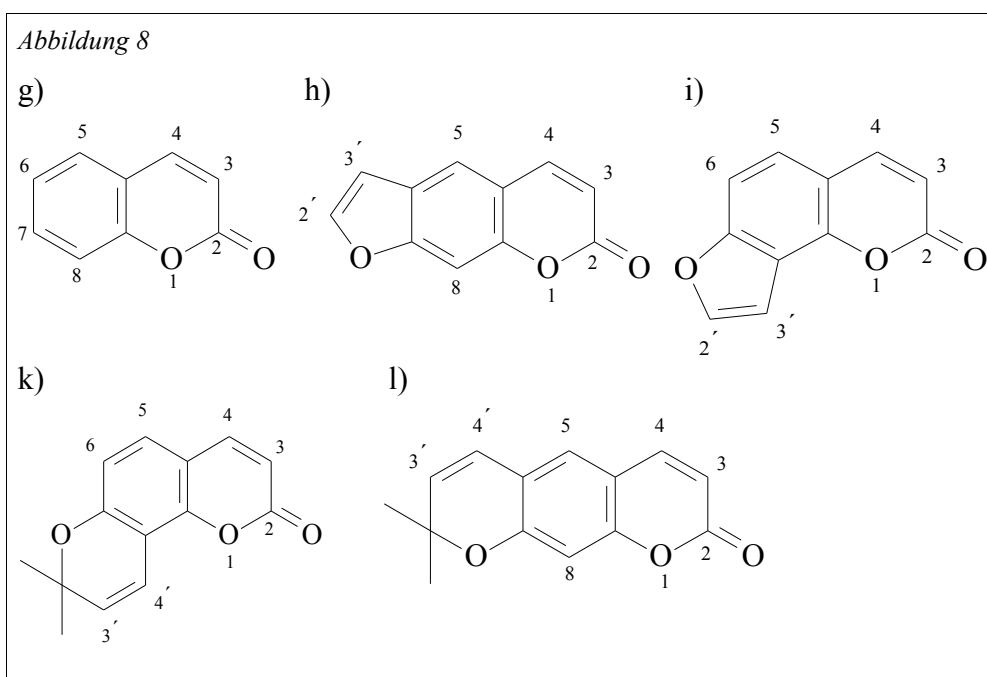
Die Cumarine lassen sich strukturell in Gruppen einteilen. Man unterscheidet:

- 1) einfache Cumarine: 2-H-[1]-Benzopyran-2-one, (Abb. 7a)
- 2) Furanocumarine (oder Furocumarine)
 - 1) Psoralene: 7-H-Furo[3,2-g]-[1]-benzopyran-7-one, (Abb. 7b)
 - 2) Angelicine: 2-H-Furo[2,3-h]-[1]-benzopyran-2-one, (Abb. 7c)
- 3) Pyranocumarine
 - 1) Seseline: 2H,8H-8,8-Dimethyl-benzo-[1,2-b:-3,4-b']-dipyran-2-one, (Abb. 7d)
 - 2) Xanthyletine: 2H,8H-8,8-Dimethyl-benzo-[1,2-b:-5,4-b']-dipyran-2-one (Abb. 7e)
 und als verwandte Stoffgruppe die
- 4) Chromone: 4-H-[1]-Benzopyran-5-one (Abb. 7f)



Bei den Psoralenen und Angelicinen ist das Grundgerüst um einen Furanring, bei den Pyranocumarinen um einen Pyranring erweitert. Bei den Chromonen handelt es sich genau genommen nicht mehr um Cumarine Sinne der Definition (s.o.).

Die oben benutzte Nomenklatur ist die chemisch exakte nach IUPAC. Sie bedingt die Bezifferung in Abb. 7. Gebräuchlicher ist jedoch eine Nomenklatur, bei der die ursprüngliche Bezifferung des Cumarin-Gerüsts (Abb. 7a) beibehalten wird. Bei den Furano- und Pyranocumarinen wird somit der ankondensierte Ring separat beziffert (Abb. 8). Um Diskrepanzen mit der Literatur zu vermeiden, wird im weiteren Verlauf der Arbeit ebenfalls diese Art der Bezifferung und Nomenklatur verwendet.



Die Grundkörper sind in der Regel substituiert. Bei den einfachen Cumarinen findet man Hydroxylierungen in Position 5, 6, 7 oder 8. Man spricht dann auch von Hydroxycumarinen. Hierbei können bis zu 2 Hydroxyl-Gruppen am aromatischen Ring vorkommen. Diese Hydroxyl-Gruppen liegen entweder frei, methyliert oder glykosidiert vor. Es werden auch Isopren-Reste oder Mono- bzw. Sesquiterpene über eine Ether-Brücke mit dem aromatischen Ring verknüpft. Die Anknüpfung von Isoprenresten kann auch ohne Ether-Brücke, direkt am Ring erfolgen. Werden Mono- und Sesquiterpenbausteine mit Umbelliferon kombiniert, so sind sie häufig cyclisiert. Die Isopren- und Terpenreste können ihrerseits substituiert sein.

Bezüglich des Substitutionsortes gilt, dass Furanocumarine vorwiegend am aromatischen Benzolring substituiert sind. Bei den Psoralenen findet die Substitution in Position 5 und 8, bei den Angelicinen in Position 5 und 6 statt. Die Substituenten sind mit den oben beschriebenen der einfachen Cumarine identisch.

2.3 Biologische Aktivität

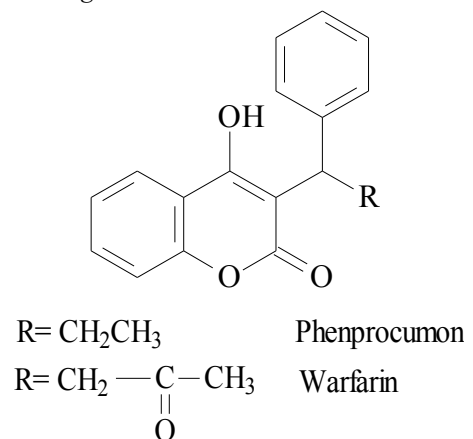
2.3.1 Nutzen für die Pflanze

Hydroxycumarine und vor allem Furanocumarine dienen auf Grund ihrer phototoxischen Eigenschaft den Pflanzen als Abwehrmechanismus gegen Herbivoren. Einige Cumarine haben für die Pflanze Bedeutung als Phytoalexine bei Pilzinfektionen. Der hierbei zugrunde liegende Wirkmechanismus ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Manche Cumarine haben eine keimungshemmende Wirkung [Frohne et al. 1998], die den Pflanzen in der Konkurrenz einen Wachstumsvorteil verschaffen.

2.3.2 Pharmakologische Eigenschaften

Einige Cumarine haben spasmolytische oder sogar eine die Coronargefäße erweiternde Wirkung. Diese Eigenschaften lassen sich wegen der relativ hohen Toxizität kaum oder gar nicht für die Therapie einsetzen. 4-Hydroxycumarin zeigt eine strukturelle Ähnlichkeit mit Vitamin K und ist somit ein kompetitiver Antagonist des Vitamin K. So greift 4-Hydroxycumarin wie Vitamin K in die Synthese des Prothrombins und einiger weiterer Gerinnungsfaktoren (Faktoren II, VII, IX und X) ein [Lüllmann et al. 1996]. Entdeckt wurde diese Eigenschaft des 4-Hydroxycumarins bei Dicumarol,

Abbildung 9

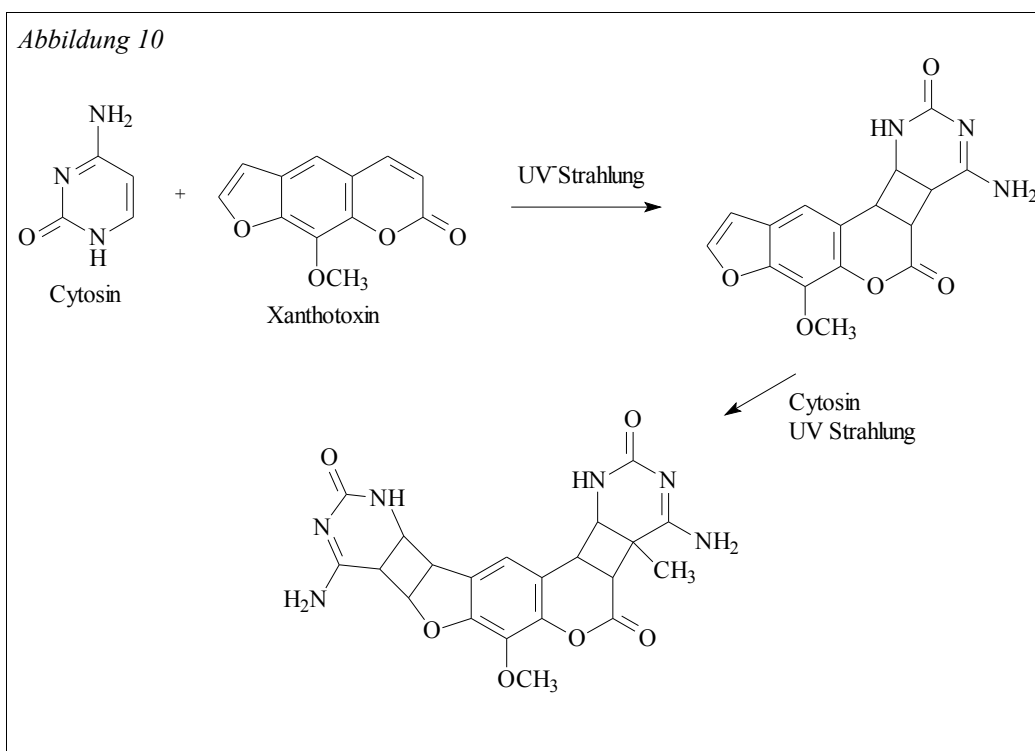


einem Dimeren des Cumarins, das sich durch bakterielle Einwirkung in feucht gelagertem Heu bildet und bei Rindern zu starken Blutungen führte [Teuscher 1989]. In der Therapie sind heute zwei Substanzen eingeführt, das Phenprocoumon mit dem Handelsnamen Marcumar® und das Warfarin unter dem Handelsnamen Coumadin® [Rote Liste 2003] (Abb. 9). Bei diesen Substanzen wurde die Wirkung des 4-Hydroxycumarins durch strukturelle Modifikation verbessert.

Die antiödematöse Wirkung des Krautes des echten Steinklees (*Melilotus officinalis* L.) wird auf den Gehalt an Cumarinen zurückgeführt, denn die enthaltenen Cumarine (Melilotosid, freies Cumarin und 3,4-Dihydrocumarin) sorgen für eine Zunahme des venösen Rückflusses auf Grund einer Verbesserung des Lymphflusses. Steinkleekraut wird deshalb von der Kommission E bei chronischer venöser Insuffizienz empfohlen [Schilcher et al. 2000].

Das Hydroxycumarin Aesculin aus der Zweigrinde der Rosskastanie (*Aesculus hippocastanum* L.) hat die Eigenschaft, UV-Licht zu absorbieren. Aus diesem Grund wird es technisch als Lichtschutzfaktor in Sonnenschutzmitteln eingesetzt.

Furanocumarine zeichnen sich durch besondere Eigenschaften aus. Sie erhöhen, percutan oder peroral appliziert, die Empfindlichkeit der Haut gegenüber UV-Strahlung. Sie sind deshalb für die so genannte Wiesendermatitis verantwortlich, die nach Kontakt der Haut mit furanocumarinhaltigen Pflanzen und anschließender Sonnenbestrahlung entsteht. Die Photosensibilisierung kann so stark ausgeprägt sein, z.B. beim Riesenbärenklau (*Heracleum mantegazzianum* SOMM. et LEV.), dass es zu starken Verbrennungen und schwer heilenden



Wunden mit ausgeprägter Narbenbildung kommen kann. Die photosensibilisierende Wirkung beruht auf der Fähigkeit des Pyronrings, unter UV-Einwirkung mit Pyrimidinbasen der DNA ein C-3/C-4-Cyclomonobutan-Additionsprodukt zu bilden. Bei weiterer Bestrahlung reagiert der Furanring ebenfalls unter Bildung eines Cyclo-Additionsproduktes mit den

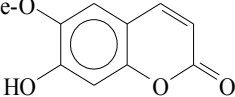
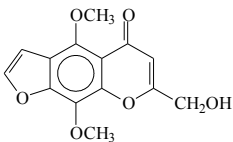
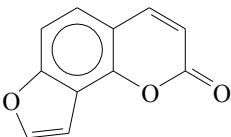
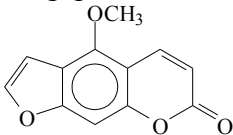
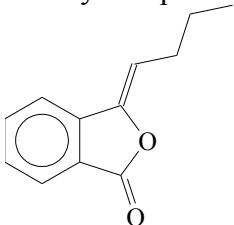
Pyrimidinbasen der DNA, wobei es dann zu einer Vernetzung der beiden DNA-Stränge (cross-linking) kommen kann (Abb. 10). Somit wird eine Zellteilung in den Epidermiszellen unmöglich und es kommt zu Erythem- und Bläschenbildung. Diese Wirkung wird bei der Behandlung der Schuppenflechte (Psoriasis), bei der sich die Zellen der oberen Hautschichten zu schnell teilen, ausgenutzt. Für die Behandlung der Psoriasis wird vor allem das Furanocumarin Xanthotoxin unter dem Handelsnamen Meladine® verwendet [Mutschler 1996].

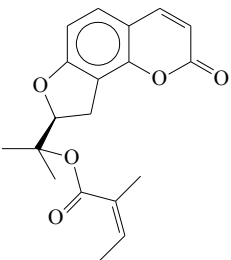
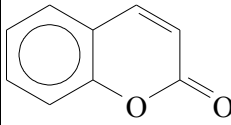
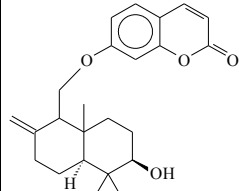
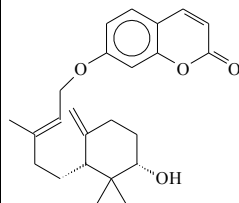
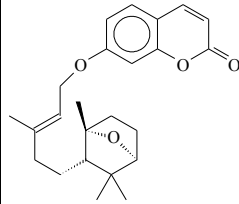
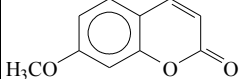
2.4 Cumarine in der Familie der Apiaceae

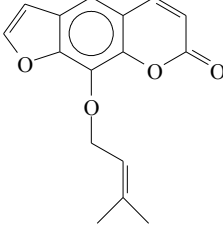
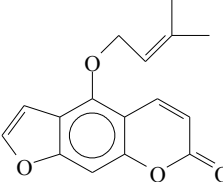
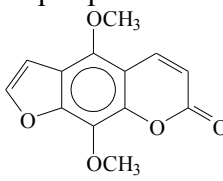
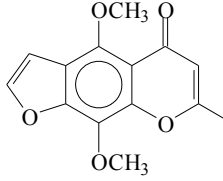
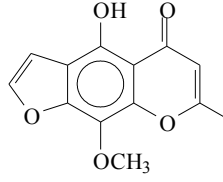
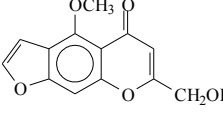
Das Vorkommen von Cumarinen in Apiaceen wird bis zum Jahre 1982 in zwei Übersichtswerken abgesichert [Murray et al. 1982; Eichstedt Nielsen 1970]. Die weitere Literatur beschäftigt sich mit relativ wenigen Gattungen, vorzugsweise mit den Gattungen *Heracleum* und *Angelica*. Bei letzterer sind es vor allem die asiatischen Arten, die im Interesse der Forschung stehen. Welche Cumarine in den untersuchten Arten gefunden wurden, wird in den entsprechenden Kapiteln in dieser Arbeit detailliert dargestellt.

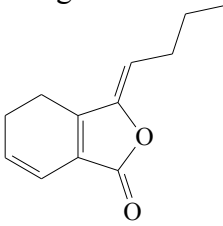
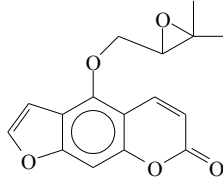
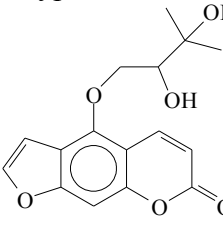
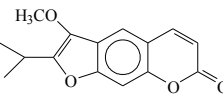
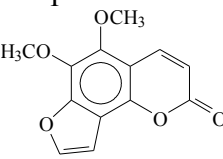
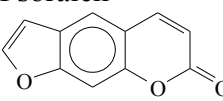
B Methodik

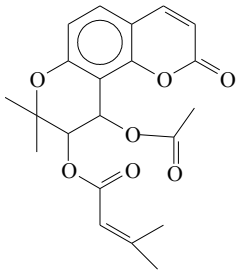
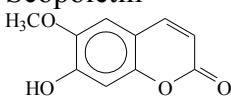
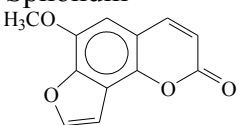
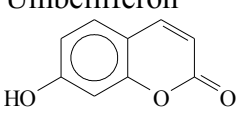
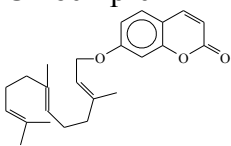
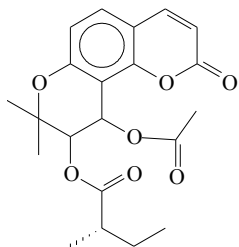
1 In dieser Arbeit identifizierte Cumarinderivate und Referenzsubstanzen

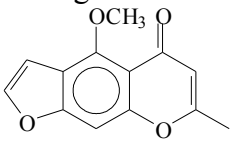
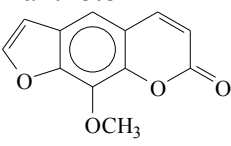
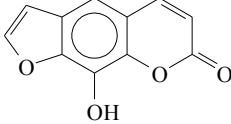
Aesculin β-D-Glucose-O- 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Merck vor.
Ammiol 	Ammiol wurde anhand des UV-Vis-Spektrums identifiziert
Angelicin 	Angelicin wurde mittels eines Vergleichs-UV-Spektrums identifiziert [Erdelmeier et al. 1985]
Bergapten 	Bergapten wurde mittels eines Vergleichs-UV-Spektrums identifiziert [Erdelmeier et al. 1985]
Z-Butylidenphthalid 	Z-Butylidenphthalid wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.

Columbianadin 	Columbianadin wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.
Cumarin 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Roth vor.
Farnesiferol A 	Farnesiferol A wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.
Farnesiferol B 	Farnesiferol B wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.
Farnesiferol C 	Farnesiferol C wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.
Herniarin 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Roth vor.

Imperatorin 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Roth vor.
Isoimperatorin 	Isoimperatorin wurde mittels seines UV-Vis-Spektrums identifiziert [Erdelmeier et al. 1985].
Isopimpinellin 	Isopimpinellin wurde mittels eines Vergleichs-UV-Spektrums identifiziert [Erdelmeier et al. 1985]
Khellin 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Roth vor.
Khellinol 	Khellinol wurde mittels des UV-Vis -Spektrums identifiziert.
Khellol 	Khellol wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.

Z-Ligustilid 	Z-Ligustilid wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.
Oxypeucedanin 	Oxypeucedanin wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.
Oxypeucedanin-Hydrat 	Oxypeucedanin-Hydrat wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.
Peucedanin 	Peucedanin wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.
Pimpinellin 	Pimpinellin wurde mittels eines Vergleichs-UV-Spektrums identifiziert [Erdelmeier et al. 1985]
Psoralen 	Psoralen wurde mittels eines Vergleichs-UV-Spektrums identifiziert [Erdelmeier et al. 1985]

Samidin 	Samidin wurde mittels des UV-Vis-Spektrums identifiziert.
Scopoletin 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Roth vor.
Sphondin 	Sphondin wurde mittels eines Vergleichs-UV-Spektrums identifiziert [Erdelmeier et al. 1985]
Umbelliferon 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Roth vor.
Umbelliprenin 	Umbelliprenin kann zu Umbelliferon hydrolysiert werden. In <i>Angelica archangelica</i> Früchten kommt Umbelliprenin vor. Zur Identifizierung wurde ein Extrakt von <i>Angelica archangelica</i> hydrolysiert und die DC bzw. das HPLC-Chromatogramm mit denen eines nicht hydrolysierten Extraktes verglichen. Die Lage auf der DC und im HPLC-Chromatogramm ließ sich auf Grund der Lipophilie dieser Substanz gut einschätzen.
Visnadin 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Dr. Madaus & Co vor.

Visnagin 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Roth vor.
Xanthotoxin 	Diese Substanz lag als Referenzsubstanz der Firma Roth vor.
Xanthotoxol 	Imperatorin lässt sich zu Xanthotoxol hydrolysieren. Aus diesem Grund war es möglich durch einen Vergleich der HPLC-Chromatogramme, vor und nach einer Hydrolyse, diese Substanz zu identifizieren. Das Spektrum von Xanthotoxol ist dem von Xanthotoxin sehr ähnlich, was als zusätzlicher Beweis diente. Xanthotoxol liegt jedoch auf Grund seiner größeren Polarität im Chromatogramm weiter vorne (RT 12,3 min).

2 Extraktion

Für die Extraktion des Untersuchungsmaterials wurde Methanol verwendet. Cumarine lassen sich mit Methanol gut und vollständig extrahieren. Apolare Lösungsmittel sind weniger gut geeignet. Mit Ethylacetat erreicht man zwar ebenfalls eine vollständige Extraktion, da es jedoch nicht mit Wasser mischbar ist, ist es für die HPLC mit RP-18 Phasen ungeeignet. Stark polare Lösungsmittel wiederum bringen die lipophileren Cumarine (Furanocumarine und Pyranocumarine) nicht in Lösung.

Für die Extraktion wurden verschiedene Methoden ausprobiert. Zum einen wurde Erhitzen unter Rückfluss als Methode in Betracht gezogen. Damit ließen sich jedoch die Cumarine nicht quantitativ extrahieren. Quantitativ sehr viel bessere Ergebnisse ergab eine Extraktion mittels Ultraschall. Eine 15 minütige Ultraschallextraktion überführte die Cumarinderivate zu ca. 90% in den Extrakt. Eine erschöpfende quantitative Extraktion der Cumarine gelang schließlich mit einer Soxhlet-Apparatur. Bei einer Extraktionsdauer von 2 Stunden (ca. 25 Soxhletdurchläufe) gehen die Cumarinderivate vollständig in den Extrakt über.

3 UV-Spektroskopie

Eine direkte Auswertung der Extrakte mittels einfacher UV-Vis-Spektroskopie ist auf Grund ihrer komplexen Zusammensetzung nicht möglich. Die UV-Spektren der einzelnen Cumarine wurden deshalb nach der Trennung mittels Dioden-Array-Detektor aufgenommen. Dieser Detektor ermöglichte es, die Spektraldaten aller im Extrakt vorhandenen Substanzen einzeln zu erfassen. Die so ermittelten UV-Spektren wurden dann zur Substanzidentifizierung herangezogen.

4 Trennmethoden

4.1 Dünnschichtchromatographie (DC)

Da Cumarine im UV-Licht bei 366 nm fluoreszieren, können sie leicht auf der Platte detektiert werden. Die Nachweisgrenze liegt bei Cumarinen substanzabhängig zwischen 1 bis 5 µg. Die DC bietet sich auf Grund der einfachen und schnellen Durchführbarkeit für ein schnelles Screening an. Ein Nachteil dieser Methode ist die teilweise ungenügende Trennleistung.

4.1.1 DC auf Kieselgelschichten

Für die DC wurden Kieselgel 60 Platten mit Fluoreszenzindikator bei 254 nm verwendet. Als Fließmittel erwies sich eine Mischung aus Toluol/Ethylacetat (85+15) als geeignet (Standard-DC I). Dieses Fließmittel ist etwas apolarer, als das von Wagner in der Literatur verwendete Gemisch Toluol/Ether 1+1 (gesättigt mit Essigsäure)[Wagner et al. 1983], erwies sich jedoch in der Trennleistung genauso gut, bisweilen sogar als besser. Ein weiterer Vorteil der Toluol/Ethylacetat-Mischung ist die leichtere Handhabbarkeit, da es vor der Verwendung nicht mit Essigsäure gesättigt werden muss.

Bei der Auswertung ließen sich zum Teil bereits anhand der Fluoreszenzfarben Aussagen über die einzelnen Substanzen machen, da Cumarine je nach Grundgerüst typische Fluoreszenzfarben aufweisen. Hydroxycumarine fluoreszieren meist strahlend-blau bis türkis, wohingegen Furanocumarine meist grün bis gelblich, manche auch blau fluoreszieren.

Chromone zeigen eine weniger intensive Fluoreszenz (Khellin schwach gelb-braun, Visnagin fahlblau). Die in einigen Apiaceen vorkommenden Phthalide zeigen eine intensiv türkisfarbene Fluoreszenz, die alle anderen Banden überstrahlt.

Cumarin-Glykosiden und Phenolcarbonsäuren bleiben mit dem verwendeten Fließmittel am Start zurück und zeigen dort eine blaue Fluoreszenz. Für die weitere Untersuchung dieser Substanzen wurde ein polareres Fließmittel Ethylacetat / Ethylmethylether / Ameisensäure / Wasser (30+18+3+6) (Standard-DC II) verwendet. Damit laufen die Cumarine in der Front mit, die Cumarin-Glykoside und Phenolcarbonsäuren werden über die gesamte Laufstrecke aufgetrennt.

Einige Cumarine zeigen nach dem Besprühen mit methanolischer KOH eine Fluoreszenzintensivierung. Hierbei öffnet sich der Lactonring unter Salzbildung. Cumarin selbst fluoresziert überhaupt erst nach Behandlung mit dieser Reagenz. Andere Cumarine zeigen eine Änderung der Fluoreszenzfarbe, z.B. bei Osthenol wechselt sie von blau vor, in Richtung türkis nach dem Besprühen [Genies 1981]. Eine Gesetzmäßigkeit zwischen strukturellen Gegebenheiten und Farbwechsel lassen sich jedoch nicht ableiten.

4.1.2 DC auf RP-18 Phasen

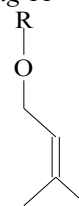
Die Verwendung von RP-18 Material als stationäre Phase in der DC erlaubt einen direkten Vergleich mit den Trennergebnissen der HPLC. Aus diesem Grund wurde in einzelnen Fällen diese Methode angewendet. Als Fließmittel diente ein Gemisch aus Methanol / Wasser / Acetonitril (2,5+17,5+80) (Standard-DC III). Dieses Gemisch entspricht in etwa der Mitte des HPLC-Gradienten und erwies sich als das für die Trennung günstigste. Die damit erhaltenen Trennergebnisse und die Beobachtungen der einzelnen Fluoreszenzen flossen in die Identifizierung der Substanzen mit ein.

4.1.3 Hydrolyse auf der Platte

Einige Strukturmerkmale von Cumarinen ließen sich durch eine Hydrolyse auf der DC-Platte erkennen. Damit ließen sich vor allem Prenylether-Strukturen (Abb. 11) nachweisen. Diese Strukturen sind säureempfindlich und lassen sich mit HCl spalten. Die Spaltung kann mittels HCl-Dämpfen direkt auf der Dünnschichtplatte erzielt werden. Hierzu wird die Platte nach der Auftragung für 15 min bei 120°C im Trockenschrank Salzsäuredämpfen ausgesetzt. Danach lässt man die Platte abkühlen und bläst das restliche Salzsäuregas mit Stickstoff ab.

Nach der Hydrolyse wird der ursprüngliche Extrakt zum Vergleich aufgetragen. Beispiele für Cumarine, die eine solche Struktur enthalten sind Imperatorin, Umbelliprenin und die Farnesiferole A-C. Deren Spaltprodukte weisen eine zusätzliche freie OH-Gruppe auf, die zu einem kleineren R_f-Wert auf der Kieselgelplatte führt.

Abbildung 11



Prenylether-Struktur

4.2 HPLC

Alle untersuchten Extrakte wurden für die Substanz-Identifizierung und die Substanz-Quantifizierung mittels HPLC untersucht. Es wurden verschiedene Elutionsmittelzusammensetzungen für die HPLC getestet. Hierbei kamen nach Angaben in der Literatur sowohl Gradienten als auch isokratische Elutionsgemische zum Einsatz [Hawryl et al. 2000], [Vuorela et al. 1989]. Bei den getesteten Gemischen handelte es sich um verschiedene Gemische von Methanol, Wasser und Acetonitril. Methanol-Wasser-Gradienten trennten häufig

Tabelle 1

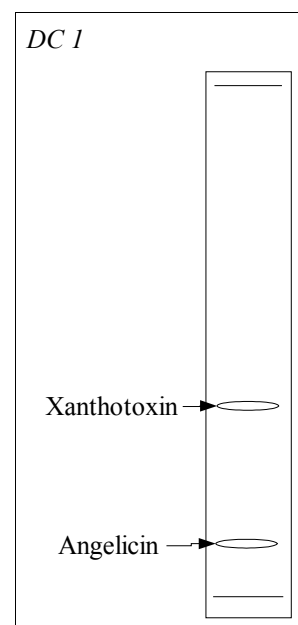
Der Fluß beträgt: 0,75 ml/min

<i>Zeit [min]</i>	<i>Methanol [%]</i>	<i>Acetonitril [%]</i>	<i>Wasser [%]</i>
0	5	15	80
20	2,5	80	17,5
24	0	95	5
26	0	100	0
28,5	0	100	0
30	5	15	80
35	5	15	80

ungenügend und verursachten Schulterbildung, auch waren die Peaks relativ breit (Basisbreite $\geq 0,20$ min). Die besten Ergebnisse lieferte ein Acetonitril / Methanol / Wasser-Gradient (Tab. 1). Mit diesem Gradienten werden schmale und meist Basislinien getrennte Peaks erhalten. Zudem liegen die Cumarine im Chromatogramm gut verteilt über die ganze Chromatogrammlänge.

Der verwendete Gradient zeigt nur bei zwei Substanzpaaren eine Schwachstelle, zum einen bei den Substanzpaaren Angelicin/Xanthotoxin und Khellin/Visnagin. Die einzelnen Partner haben praktisch identische Retentionszeiten, jedoch deutlich unterschiedliche UV-Vis-Spektren, die eine Identifizierung trotzdem möglich macht.

1. Anglicin und Xanthotoxin lassen sich nicht mit dem verwendeten System trennen. Auch die UV Spektren der beiden Substanzen lassen sich bei Überlagerung nicht eindeutig zuordnen. Um eine Identifizierung vorzunehmen wurde eine DC auf Kieselgel durchgeführt, bei der beide Substanzen unterschiedliche R_f-Werte haben (DC 1). Durch Ausschaben der Banden von der DC-Platte und Elution der Substanzen mit nachfolgender HPLC konnte die Identität abgesichert werden (Abb. 12). Für die quantitative Auswertung musste zusätzlich ein anderes Elutionsmittel verwendet werden, das diese beiden Cumarine vollständig trennt.
2. Khellin und Visnagin sind mit den verwendeten Methoden nur unvollständig zu trennen, so dass in diesem Falle die quantitative Auswertung nur näherungsweise möglich ist.



Die Detektion der Cumarine erfolgte bei vier verschiedenen Wellenlängen: 245 nm, 250 nm, 314 nm und 210 nm. Damit erfasst man die Maxima aller Cumarine (Hydroxycumarine, Psoralene und Angelicine). Für Cumarine charakteristisch ist das Absorptionsmaximum im Bereich von 314 nm. Der kurzwelligere UV-Bereich (210 nm, 245 nm und 250 nm) ist nicht sehr spezifisch, da sehr viele Substanzen, die in den Extrakten enthalten sind. Im Ergebnisteil dieser Arbeit wird daher bei der Besprechung der einzelnen Pflanzen ein Chromatogramm, aufgenommen bei 314 nm, abgebildet.

Weiterhin muss die Temperatur der Trennsäule berücksichtigt werden. Diese muss möglichst konstant sein, damit Chromatogramme, die bei verschiedenen Umgebungstemperaturen gemacht wurden, vergleichbar bleiben. Aus diesem Grund wurde die Säule für die Analysen auf 25°C temperiert. Diese Temperatur lies sich bei den gegebenen Umgebungstemperaturen gut einhalten.

Die in Kapitel B.4.1.3 erwähnte saure Hydrolyse lässt sich ebenfalls für die HPLC verwenden. Hierfür wurde der Extrakt mit Salzsäure 32% 10 min unter Rückfluss erhitzt und anschließend mit KOH-Lsg. neutralisiert. Zur Analyse der Hydrolyseprodukte wurde der Reaktionsansatz direkt für HPLC verwendet, um säurelabile Substanzen, sowie Prenyletherstrukturen zu identifizieren. Da sich aus Imperatorin unter sauren Bedingungen Xanthotoxol bildet, kann man damit z.B. die Lage von Xanthotoxol (8-Hydroxypsoralen) im HPLC-Chromatogramm leicht ermitteln. Im Chromatogramm, nach saurer Hydrolyse fehlt der Peak von Imperatorin, wohingegen ein Peak für Xanthotoxol erscheint. Eine Sicherheit, dass es sich bei diesem Peak tatsächlich um Xanthotoxol handelt, gibt das UV-Vis-Spektrum.

Das UV-Spektrum des Xanthotoxols ist dem von Xanthotoxin sehr ähnlich, da die Substituenten die Form des UV-Vis-Spektrums nur unwesentlich beeinflussen (Xanthotoxol : OH-Gruppe; Xanthotoxin : CH₃-Gruppe; Imperatorin : Prenyl-Rest).

Eine Reaktion mit alkalischen Reagenzien und anschließender Neutralisation mit Säuren ist nicht zu empfehlen, da es bei Zugabe von Lauge zur Ringöffnung kommt. Beim Ansäuern cyclisiert der Ring wieder, aber Cumarine mit Esterstrukturen werden irreversibel gespalten, oder es kommt zu Umlagerungen in den Molekülen [Eichstedt Nielsen 1970].

4.2.1 DC - HPLC Kombination

Eine HPLC-Analyse eines Extraktes von *Angelica archangelica* mit dem in Tab. 1 vorgegebene Gradienten erweckt den Eindruck, dass in diesem Extrakt nur Xanthotoxin enthalten ist, da der Peak bei der Retentionszeit 16,50 min (Retentionszeit von Xanthotoxin und Angelicin) das typische UV-Spektrum von Xanthotoxin zeigt. Führt man eine Vorfraktionierung mittels DC aus und trennt dabei den Extrakt in 2 Fraktionen (die erste bis zum R_f-Wert 0,18 und die zweite mit allem größer einem R_f-Wert von 0,18), dann ergibt sich ein völlig anderes Bild. Der Peak mit der Retentionszeit 16,50 min in der unteren Fraktion (R_f ≤ 0,18) zeigt das UV-Spektrum von Angelicin. Der Peak in der

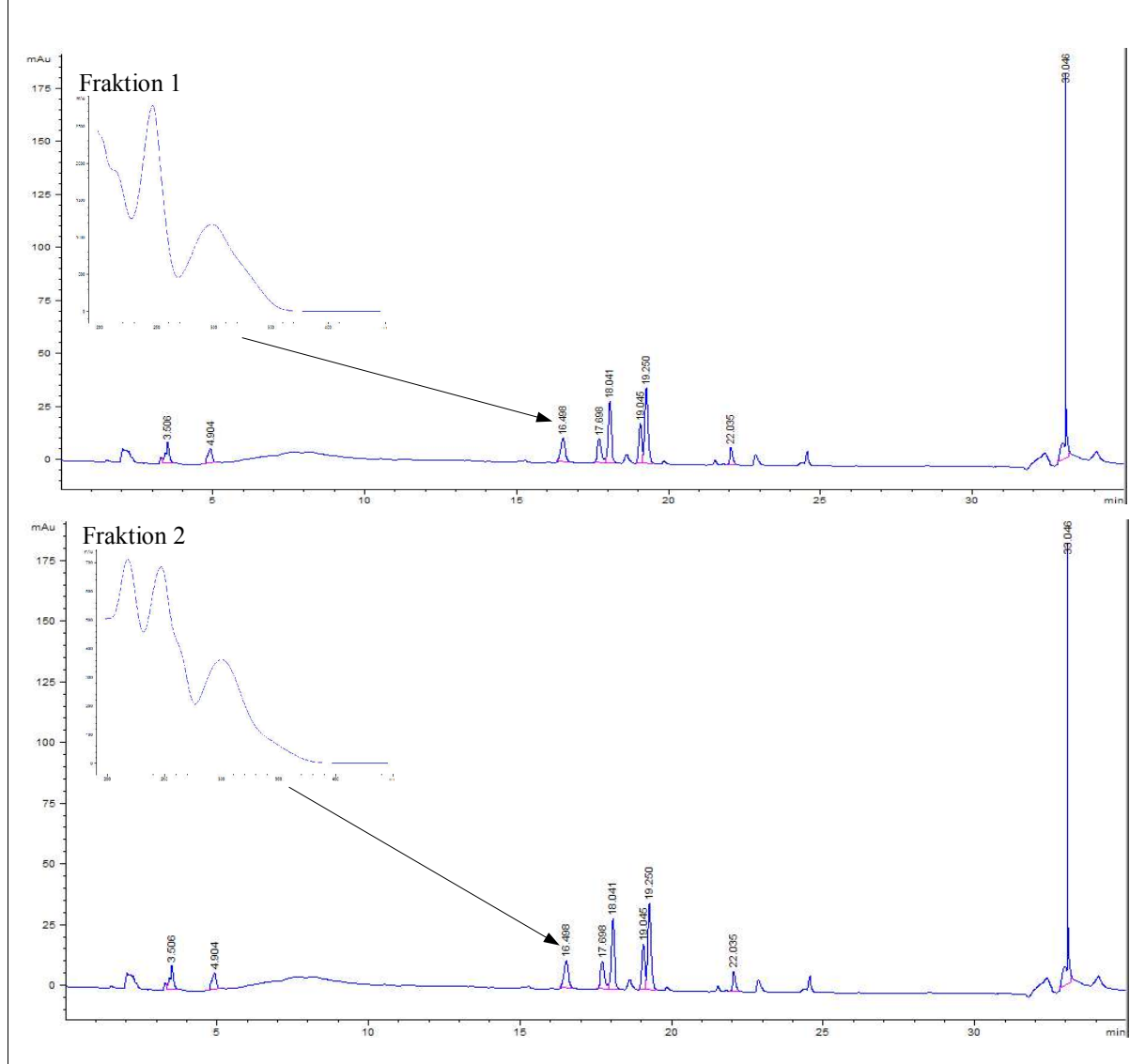
Tabelle 2

Der Fluß beträgt: 0,75 ml/min

<i>Zeit [min]</i>	<i>Methanol [%]</i>	<i>Wasser [%]</i>
0	45	55
5	45	55
20	70	30
30	70	30
35	99	1
40	99	1
45	45	55

oberen Fraktion (R_f ≥ 0,18) mit der gleichen Retentionszeit zeigt, wie das ursprüngliche Chromatogramm, das UV-Spektrum von Xanthotoxin (Abb. 12). Die quantitative Auswertung gestaltet sich schwierig, da nicht gewährleistet ist, dass alle Substanzen quantitativ vom Kieselgel eluiert werden. Deshalb wurde nach einer HPLC-Trennmöglichkeit für Angelicin und Xanthotoxin gesucht, die durch die Verwendung eines Methanol-Wasser-Gradienten (Tabelle 2) gefunden wurde. Insofern wurde bei der Quantifizierung mit zwei verschiedenen HPLC-Gradienten gearbeitet, zumindest dann, wenn anhand eines Dünnschichtchromatogramms anzunehmen war, dass sich im Extrakt sowohl Angelicin als auch Xanthotoxin befanden.

Abbildung 12



5 quantitative Auswertung

5.1 Problematik der quantitativen Auswertung in der HPLC

Auf Grund der für jede Substanz unterschiedlichen und spezifischen spektralen Eigenschaften, ist es nicht möglich, eine direkte prozentuale Aussage über die im Chromatogramm erfassten Substanzen machen, wenn keine Referenzsubstanz zur Verfügung steht oder die Komponente unbekannt ist. Die Methode der Normalisierung (100%-Methode), bei der die Summe aller Peakflächen als 100% der im Extrakt enthalten Substanzen gesetzt wird, wie sie häufig in der Gaschromatographie angewendet wird, ist für die HPLC

ungeeignet, da sie die Ergebnisse verfälscht. Die Normalisierung kann nur angewendet werden, wenn alle Substanzen bei einer bestimmten Wellenlänge die gleiche spezifische Absorption hätten; dies ist jedoch nicht der Fall. Deshalb ist es nötig, eine Berechnungsmöglichkeit zu finden, die den verschiedenen spezifischen Absorptionen der einzelnen Substanzen Rechnung trägt. Damit könnten alle in einem Extrakt enthaltenen Substanzen mittels einer einzigen Referenzsubstanz quantifiziert werden. Im Falle der Cumarine wäre dies besonders hilfreich, da es schwer ist, Cumarine als Referenzsubstanzen zu isolieren.

5.2 Erarbeitung einer Berechnungsformel

5.2.1 Physikalische Grundlagen

Als physikalische Grundlage für alle quantitativen Berechnungen, bei denen UV-Spektraldaten eine Rolle spielen, dient das Lambert-Beersche Gesetz, das die Proportionalität zwischen der Absorption und der Konzentration einer Substanz beschreibt:

$$A = \varepsilon * c * d$$

A: Absorption, c: molare Konzentration [$\frac{\text{mol}}{\text{l}}$], d: Schichtdicke [cm] und

ε : molarer Absorptionskoeffizient [$\frac{\text{l}}{(\text{mol} \cdot \text{cm})}$]

Anstelle des molaren Absorptionskoeffizienten (ε) kann auch die spezifische Absorption ($A_{1\text{cm}}^{1\%}$) verwendet werden. Dieser Wert gibt die Absorption einer 1%igen Lösung einer Substanz bei einer definierten Wellenlänge an. Diese Größe ist ein rein theoretischer Wert, da man sich im Konzentrationsbereich von einem Prozent weit außerhalb des linearen Bereichs des Lambert-Beerschen-Gesetzes bewegt. Die Verwendung der spezifischen Absorption $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ hat den Vorteil, dass man das Molekulargewicht einer Substanz nicht zu kennen braucht, um ihre Konzentration zu bestimmen. Durch Umformung des Lambert-Beerschen Gesetzes ist dies leicht möglich.

$$c = \frac{A}{(A_{1\text{cm}}^{1\%} * d)}$$

c : Konzentration [$\frac{\text{g}}{(100 \text{ ml})}$]

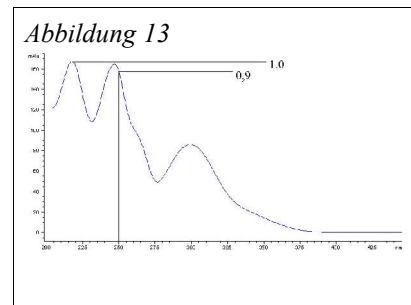
Diese Gleichung dient als Grundlage für eine Berechnungsformel, mit der sich die Konzentrationen unbekannter Cumarine in einem Extrakt bestimmen lassen.

5.2.2 Entwicklung der Berechnungsformel

Die Entwicklung der Formel geht von folgender Voraussetzung aus:

Das Verhältnis der höchsten Absorption einer Substanz und deren Absorption bei einer festen Wellenlänge (hier: 250 nm) ist konstant und somit unabhängig von der Konzentration im Extrakt.

Die Berechnungsformel beruht darauf, dass es möglich ist, die spezifische Absorption einer bekannten Substanz mittels eines Umrechnungsfaktors in die spezifische Absorption einer unbekannten Substanz umzurechnen. Dieser Umrechnungsfaktor kann nur bestimmt werden, wenn es möglich ist, die UV-Vis-Spektren zweier Substanzen direkt miteinander zu vergleichen. Die Absorptionswerte der Spektren sind aber immer konzentrationsabhängig, d.h. der Maßstab der Achsen bei der Anzeige der Spektren beinhaltet die Konzentration der Substanz. Um zwei UV-Vis-Spektren direkt miteinander vergleichen zu können, ist es nötig, sie konzentrationsunabhängig zu machen. Damit wäre dann der Maßstab für alle betrachteten Spektren gleich. Um dieses zu erreichen, ist eine mathematische Transformation nötig. Dazu wird jeweils das absolute Maximum innerhalb der Spektren als Bezugspunkt gewählt und damit der Maßstab der betrachteten Spektren vereinheitlicht. Um dies zu erreichen, werden alle Werte für die Messwellenlänge (hier 250 nm) als Verhältnis zu diesem Bezugspunkt angegeben (Abb. 13). Durch diese Verhältnisbildung werden die Werte konzentrationsunabhängig. Diese Transformation ermöglicht es nun, die Spektraldaten einer Referenzsubstanz direkt mit den Spektraldaten einer unbekannten Substanz zu vergleichen.



Die spezifische Absorption lässt sich, legt man obige Transformation zugrunde, durch das Absorptionsverhältnis ersetzen (Term 6). Somit kann die spezifische Absorption einer unbekannten Substanz über die spezifische Absorption einer Referenzsubstanz (hier: Xanthotoxin) berechnet werden.

Der erste Schritt für die Entwicklung einer Berechnungsformel ist die Einführung eines Umrechnungsfaktors, im Folgenden p genannt, mit dessen Hilfe zwei spezifische Absorptionen ineinander umgerechnet werden können.

$$A_{1\text{cm}}^1[\text{unbekannt}] = p \cdot A_{1\text{cm}}^1[\text{bekannt}] \quad (1)$$

$$p = \frac{(A_{1\text{cm}}^1[\text{unbekannt}])}{(A_{1\text{cm}}^1[\text{bekannt}])}$$

Als zweiter Schritt müssen die Flächen, die der Integrator liefert, in Absorptionen umgerechnet werden. Zu diesem Zweck werden die Flächenintegrale als Dreiecksflächen definiert und zur Höhe des Dreiecks hin aufgelöst.

$$F = \frac{1}{2} \cdot w \cdot A$$

$$A = \frac{2 \cdot F}{w} \quad (2)$$

F (Flächenintegral), w (Basisbreite des Peaks), A (Absorption)

Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz gilt :

$$A = A_{1\text{cm}}^1 \cdot c \cdot d$$

$$c = \frac{A}{(A_{1\text{cm}}^1)} \quad (3)$$

d kann entfallen, weil es für alle Messungen gleich ist.

Als nächster Schritt wird die Absorption (A) in Gleichung (3) durch den Term aus Gleichung (2) ersetzt.

$$c = \frac{2 \cdot F}{(A_{1\text{cm}}^1 \cdot w)} \quad (4)$$

$$\rightarrow c[\text{unbekannt}] = \frac{(2 \cdot F[\text{unbekannt}])}{(A_{1\text{cm}}^1[\text{unbekannt}] \cdot w[\text{unbekannt}])}$$

ersetzt man $A_{1\text{cm}}^1[\text{unbekannt}]$ durch Gleichung (1) so erhält man :

$$c[\text{unbekannt}] = \frac{(2 \cdot F[\text{unbekannt}])}{(w[\text{unbekannt}] \cdot p \cdot A_{1\text{cm}}^1[\text{bekannt}])} \quad (5)$$

Für den Faktor p gilt dann:

$$p = \frac{\left(\frac{A_{250\text{ nm}}[\text{unbekannt}]}{A_{\text{max}}[\text{unbekannt}]} \right)}{\left(\frac{A_{250\text{ nm}}[\text{bekannt}]}{A_{\text{max}}[\text{bekannt}]} \right)} \quad (6)$$

Damit kann der Faktor p in Formel (5) durch den Term in Formel (6) ersetzt werden:

$$c[\text{unbekannt}] = 2 \cdot \left(\frac{F[\text{unbekannt}]}{w[\text{unbekannt}]} \right) \cdot \left(\frac{A_{\text{max}}[\text{unbekannt}]}{A_{250\text{ nm}}[\text{unbekannt}]} \right) \cdot \left(\frac{A_{250\text{ nm}}[\text{bekannt}]}{A_{\text{max}}[\text{bekannt}]} \right) \cdot \left(\frac{1}{A_{1\text{ cm}}^1[\text{bekannt}]} \right) \quad (7)$$

Gleichung (7) stellt die allgemeine Formel für die Berechnung unbekannter Substanzen mittels einer einzigen Referenzsubstanz dar. Die mit „[bekannt]“ benannten Faktoren lassen sich später rechnerisch zusammenfassen, da deren Zahlenwerte bekannt sind. Auch müssen noch die Dimensionen berücksichtigt werden. Da als Software die HP-ChemStation verwendet wurde, müssen die Umrechnungsfaktoren daraus entnommen werden.

- Die Flächenintegrale (F) werden mit der Einheit mAU * sec angegeben. Die Peakbasisbreiten (w) in Minuten. Die Werte für w müssen also mit 60 multipliziert werden um die Einheiten anzupassen. In der Formel bedeutet dies, es muss der Faktor 1/60 eingeführt werden.
- Die Flächenintegrale (F) haben für die Absorption die Einheit mAU, d.h. tausendstel Absorptionseinheiten, die spezifische Absorption wird jedoch in Absorptionseinheiten gemessen, deshalb müssen die Flächenintegrale durch den Wert 1000 geteilt werden. Für die Formel bedeutet dies die Einführung eines Faktors 1/1000.
- Die Einheit der Konzentration c ist wegen der Verwendung der spezifischen Absorption $\left(A_{1\text{ cm}}^1 \right) \frac{\text{g}}{(100\text{ ml})}$; für die Gehaltsberechnungen ist jedoch die Einheit $\frac{\text{mg}}{\text{ml}}$ besser geeignet. Zur Umrechnung wird deshalb in der Formel der Faktor 10 benötigt.

Die für die Analysen verwendete Probenschleife hat ein Volumen von 20 µl. Sollen andere Probenschleifen Verwendung finden, ist es erforderlich, auch das Schleifenvolumen in der Formel zu berücksichtigen. Liegt, wie in diesem Falle eine 20 µl Probenschleife zugrunde, geht das Volumen durch die Einführung des Faktors $\frac{20}{v}$ [v = Schleifenvolumen in µl], in die Formel ein.

Setzt man diesen Faktoren in die Gleichung (8) ein und fasst alle numerischen Faktoren zusammen, dann ergibt sich folgende Formel :

$$c[\text{unbekannt}] = \left(\frac{2}{300}\right) \cdot \left(\frac{F[\text{unbekannt}]}{w[\text{unbekannt}]}\right) \cdot \left(\frac{A_{\max}[\text{unbekannt}]}{A_{250\text{nm}}[\text{unbekannt}]}\right) \cdot \left(\frac{1}{v}\right) \cdot \left(\frac{A_{250\text{nm}}[\text{bekannt}]}{A_{\max}[\text{bekannt}]}\right) \cdot \left(\frac{1}{A_{1\text{cm}}^1[\text{bekannt}]}\right)$$

Als letzten Schritt ersetzt man alle mit dem Index „[bekannt]“ bezeichneten Variablen durch die experimentell ermittelten Werte für die gewählte Referenzsubstanz (hier: Xanthotoxin). In Kapitel 2.2.3 wurden folgende Werte ermittelt : $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 338,43$, $p = 0,9125$. Daraus ergibt sich folgende Endformel:

$$c[\text{mg/ml}] = \left(\frac{F}{w}\right) \cdot \left(\frac{A_{\max}}{A_{250\text{nm}}}\right) \cdot \left(\frac{1}{v}\right) \cdot 1,798 \cdot 10^{-5}$$

Mit : F (Flächenintegral) [mAU * sec]; w (Peakbasisbreite) [min]; v (Probenschleifenvolumen) [µl]

5.2.3 Versuchsreihen zur Ermittlung der Spektraldaten für Xanthotoxin

Als Standardlösung zur Erstellung der Messreihen für die Berechnungsformel, dient eine Lösung, die Umbelliferon, Xanthotoxin und Imperatorin enthält (siehe Chromatogramm 1).

Zunächst müssen einige Begriffe zum Verständnis der Tabellen im Anhang 2 definiert werden:

1. Relatives Spektrum: Quotient aus Absorption bei einer ausgewählten Wellenlänge und höchster Absorption innerhalb des Spektrums
2. Relative Absorption: Berechnete Absorption (A) aus dem Flächenintegral (F) und der

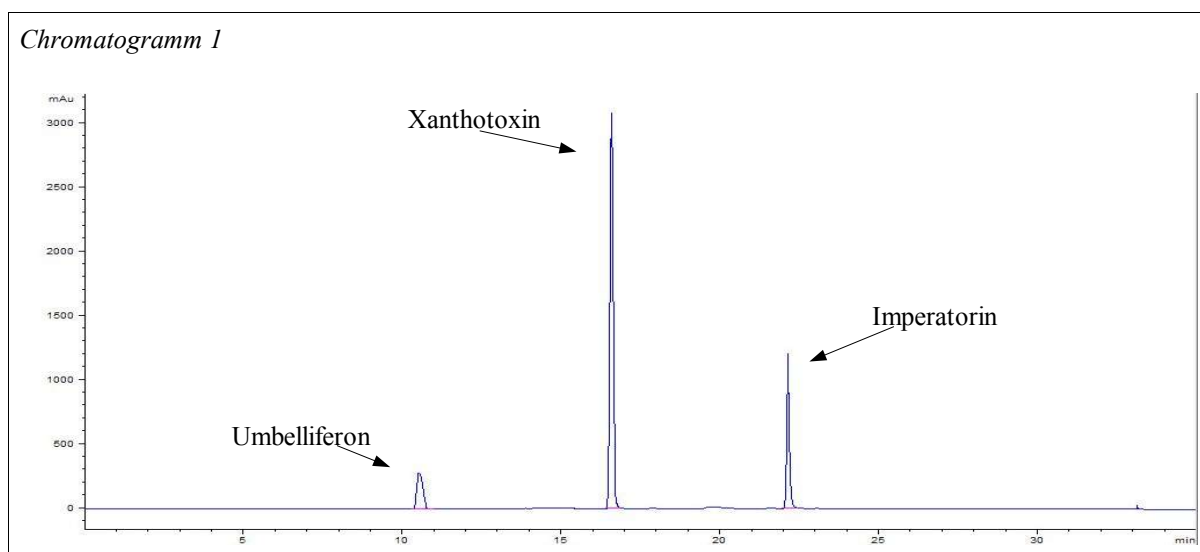
Peakbasisbreite(w) nach: $A = \frac{2 \cdot F}{w}$.

Für die Versuchsreihen wurde eine Lösung der Cumarine in Methanol RotiSolv® in folgenden Konzentrationen hergestellt:

Umbelliferon : 0,412 $\frac{\text{mg}}{\text{ml}}$

Xanthotoxin : 0,424 $\frac{\text{mg}}{\text{ml}}$

Imperatorin : 0,196 $\frac{\text{mg}}{\text{ml}}$



Diese Lösung wird im Folgenden als „Stammlösung“ bezeichnet. Aus dieser Lösung wird eine Verdünnungsreihe mit fünf 1+1 Verdünnungen mit Methanol RotiSolv® hergestellt (V1-V5). Diese Lösungen wurden jeweils 6 mal mittels HPLC vermessen. Die Ergebnisse sind in den Tabellen dargestellt. Es werden die Werte für jeweils drei Wellenlängen (245 nm, 250 nm und 314 nm) betrachtet.

Bei der Entwicklung der Berechnungsformel wurde Xanthotoxin als Referenzsubstanz eingeführt. Diese Wahl ergab sich durch die Tatsache, dass Xanthotoxin ein charakteristisches UV-Spektrum mit 3 Maxima aufweist und dass das Verhältnis des höchsten Maximums zum Absorptionswert bei 250 nm nahezu 1 (0,91) war und der Peak in der Mitte des Chromatogramms lag. In diesen Eigenschaften zeichnete sich Xanthotoxin gegenüber Umbelliferon und Imperatorin aus, die ebenfalls auf ihre Eignung hin untersucht wurden.

Wie die Versuchsdaten (Tabellen im Anhang 2) zeigen, war Umbelliferon als Referenzsubstanz völlig ungeeignet, da die spezifische Absorption zu große Abweichungen zeigte. Imperatorin war diesbezüglich Xanthotoxin ebenbürtig, jedoch von seiner Lage her im Chromatogramm ungünstiger.

Aus den Tabellen wurden für Xanthotoxin die Mittelwerte gebildet. Vor der Bildung des Mittelwertes werden bereits einzelne Ausreißer eliminiert (in den Tabellen sind bereits die Werte mit einer äußerst schlechten Qualität durch „---“ ersetzt worden). Es wurden folgende Mittelwerte gefunden :

a) Mittelwerte für die relativen Absorptionen bei 250 nm

Verdünnung V1 : Mittelwert : 6428,83 → relative Standardabweichung : 3,39%

Verdünnung V2 : Mittelwert : 3439,07 → relative Standardabweichung : 2,95%

Verdünnung V3 : Mittelwert : 1889,85 → relative Standardabweichung : 3,04%

Verdünnung V4 : Mittelwert : 929,26 → relative Standardabweichung : 2,08%

Verdünnung V5 : Mittelwert : 475,59 → relative Standardabweichung : 3,25%

b) Mittelwerte für die relativen Spektren :

250,4 nm : Mittelwert : 0,9125 → relative Standardabweichung : 1,50%

245,4 nm : Mittelwert : 0,9772 → relative Standardabweichung : 1,04%

314,4 nm : Mittelwert : 0,3592 → relative Standardabweichung : 2,93%

c) Mittelwerte für die spezifische Absorptionen $A^{1\%}_{1\text{cm}}$:

250,4 nm : Mittelwert : 338,43 → relative Standardabweichung : 1,63%

245,4 nm : Mittelwert : 372,80 → relative Standardabweichung : 1,56%

314,4 nm : Mittelwert : 140,55 → relative Standardabweichung : 1,42%

In die Berechnungsformel (Gleichung 8) gehen jeweils die für die Wellenlänge 250 nm gemessenen Mittelwerte ein.

C Ergebnisse

1 Untersuchte Pflanzen

alphabetische Auflistung der untersuchten Pflanzen:

<i>Art (latein/deutsch)</i>	<i>Unterfamilie / Tribus / Subtribus</i>
<i>Aegopodium podagraria</i> L. (Gewöhnlicher Geißfuß, Giersch)	<i>Apioideae / Ammieae / Carinae</i>
<i>Ammi majus</i> L. (Bischofskraut, Große Knorpelmöhre)	<i>Apioideae / Ammieae / Carinae</i>
<i>Ammi visnaga</i> LAM. (Zahnstocher-Ammei)	<i>Apioideae / Ammieae / Carinae</i>
<i>Anethum graveolens</i> L. (Dill)	<i>Apioideae / Ammieae / Seselinae</i>
<i>Angelica archangelica</i> L. (Echte Engelwurz)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Angelicinae</i>
<i>Angelica sylvestris</i> L. (Wald-Engelwurz)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Angelicinae</i>
<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) HOFFM. (Wiesenkerbel)	<i>Apioideae / Scandiceae / Scandicinae</i>
<i>Astrantia major</i> L. (Große Sterndolde)	<i>Saniculoideae / Saniculeae</i>
<i>Carum carvi</i> L. (Echter Kümmel)	<i>Apioideae / Ammieae / Carinae</i>
<i>Chaerophyllum aromaticum</i> L. (Gewürz-Kälberkropf)	<i>Apioideae / Scandiceae / Scandicinae</i>
<i>Chaerophyllum temulum</i> L. (Taumel-Kälberkropf)	<i>Apioideae / Scandiceae / Scandicinae</i>
<i>Conium maculatum</i> L. (Gefleckter Schierling)	<i>Apioideae / Smirnieae</i>
<i>Coriandrum sativum</i> L. (Koriander)	<i>Apioideae / Coriandreae</i>

<i>Art (latein/deutsch)</i>	<i>Unterfamilie / Tribus / Subtribus</i>
<i>Cuminum cyminum</i> L. (Kreuzkümmel, Cumin)	<i>Apioideae / Ammieae / Carinae</i>
<i>Daucus carota</i> L. (Wilde Möhre)	<i>Apioideae / Dauceae /</i>
<i>Eryngium campestre</i> L. (Feld-Mannstreu)	<i>Saniculoideae / Saniculeae</i>
<i>Eryngium planum</i> L. (Flachblättriger Mannstreu)	<i>Saniculoideae / Saniculeae</i>
<i>Ferula asa foetida</i> L. (Stinkasant)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Ferulinae</i>
<i>Foeniculum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> var. <i>vulgare</i> MILL. (Fenchel)	<i>Apioideae / Ammieae / Seselinae</i>
<i>Heracleum lanatum</i> MICHX. (Wolliger Bärenklau)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Tordyliinae</i>
<i>Heracleum mantegazzianum</i> SOMM. & LEV. (Riesen-Bärenklau, Herkulesstaude)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Tordyliinae</i>
<i>Heracleum sphondylium</i> L. (Wiesen-Bärenklau)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Tordyliinae</i>
<i>Heracleum sphondylium</i> ssp. <i>ternatum</i> (Wiesen-Bärenklau)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Tordyliinae</i>
<i>Levisticum officinalis</i> KOCH. (Liebstöckel, Maggikraut)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Angelicinae</i>
<i>Ligusticum scoticum</i> L. (Schottische Mutterwurz)	<i>Apioideae / Ammieae / Seselinae</i>
<i>Oenanthe pimpinelloides</i> L. (Bibernell-Wasserfenchel)	<i>Apioideae / Ammieae / Seselinae</i>
<i>Pastinaca sativa</i> L. (Pastinak)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Ferulinae</i>
<i>Petroselinum spec.</i> HILL. (Petersilie)	<i>Apioideae / Ammieae / Carinae</i>
<i>Peucedanum austriacum</i> (JACQ.) KOCH. (Österreichischer Haarstrang)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Ferulinae</i>

<i>Art (latein/deutsch)</i>	<i>Unterfamilie / Tribus / Subtribus</i>
<i>Peucedanum cervaria</i> (L.) LAP. (Hirschwurz)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Ferulinae</i>
<i>Peucedanum officinale</i> L. (Echter Haarstrang)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Ferulinae</i>
<i>Peucedanum palustre</i> (L.) MOENCH. (Sumpf-Haarstrang)	<i>Apioideae / Peucedaneae / Ferulinae</i>
<i>Peucedanum verticillare</i> (L.) KOCH ex DC.	<i>Apioideae / Peucedaneae / Ferulinae</i>
<i>Pimpinella anisum</i> L. (Anis)	<i>Apioideae / Ammieae / Carinae</i>
<i>Pimpinella major</i> (L.) HUDS. (Große Bibernelle)	<i>Apioideae / Ammieae / Carinae</i>
<i>Torilis japonica</i> (HOUTT.) LK. (Gewöhnlicher Klettenkerbel)	<i>Apioideae / Scandiceae / Caucalinae</i>

1.1 *Aegopodium podagraria* L.

1.1.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Aegopodium podagraria ist eine 30 bis 100 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet sie in ganz Europa, mit Ausnahme der Iberischen Halbinsel, stets auf feuchten nährstoffhaltigen Böden. *Aegopodium podagraria* hat einen kantigen, gefurchten Stängel. Die Blätter sind doppelt dreizählig gefiedert. Die weißen Blüten stehen in 12- bis 20-strahligen Dolden. Blütezeit ist Mai/Juni. Die Früchte sind dunkelbraun, 5 mm lang.

1.1.2 Chemie der Cumarine

1.1.2.1 Literatur

In der Literatur finden sich Angaben über das Vorkommen von Cumarinen in *Aegopodium podagraria*. Es wird das Cumarin Angelicin [Murray et al. 1982] beschrieben, es wird nicht spezifiziert, in welchem Pflanzenteil dieses Cumarin gefunden wurde. Für die Wurzel beschreibt Murray Apterin als weiteres Cumarin.

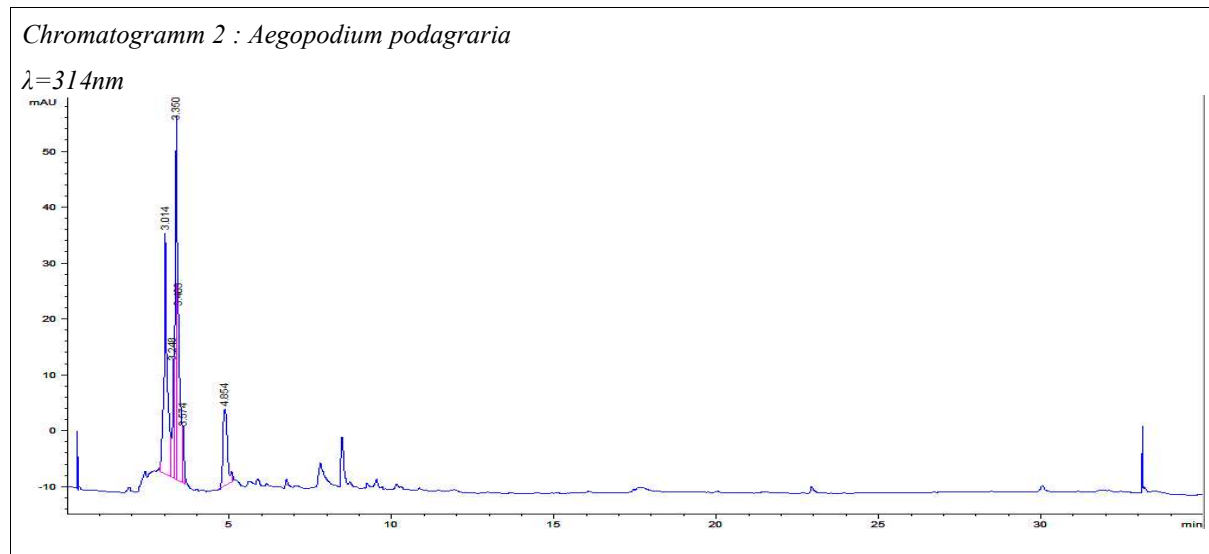
1.1.2.2 Eigene Ergebnisse

Angelicin ließ sich in den untersuchten Früchten weder mittels DC (DC 2) noch mittels HPLC (Chromatogramm 2) nachweisen. Das zweite in der Literatur erwähnte Cumarin, Apterin, verbirgt sich in der fluoreszierenden Band am Start, da es sich hierbei um ein glykosidisch gebundenes Cumarin handelte. Eine genaue Zuordnung war auf der DC nach Standard-Methode II nicht möglich, da eine Referenzsubstanz nicht beschafft werden konnte. Auch enthielt das HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 2) keinen Peak, dessen UV-Vis-Spektrum mit den bekannten Cumarinen übereinstimmte. Der Peak Komplex von RT 3 min bis RT 3,6 min besteht aus Phenolcarbonsäuren (Ferulasäure, Kaffeesäure).

DC 2 Standard I

*Aegopodium
podagraria*





1.2 Ammi majus L.

1.2.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Ammi majus ist eine 30 bis 100 cm hohe einjährige Pflanze. Sie ist aus dem arabischen Raum eingeschleppt, in Mitteleuropa eher selten, meist an Äckern anzutreffen. *Ammi majus* hat einen gefurchten Stängel. Das hellgrüne Laub ist gefiedert, die Blätter des oberen Stängelbereichs sind fein zerteilt. Die Blütenstände tragen 20 bis 30 Strahlen und sind rein weiß. Blütezeit: Juli/August. Die Früchte sind 1,5 bis 2 mm lang, von hell brauner Farbe. Die Früchte besitzen 5 Hauptrippen, die teilweise gewellt sind.

1.2.2 Chemie der Cumarine

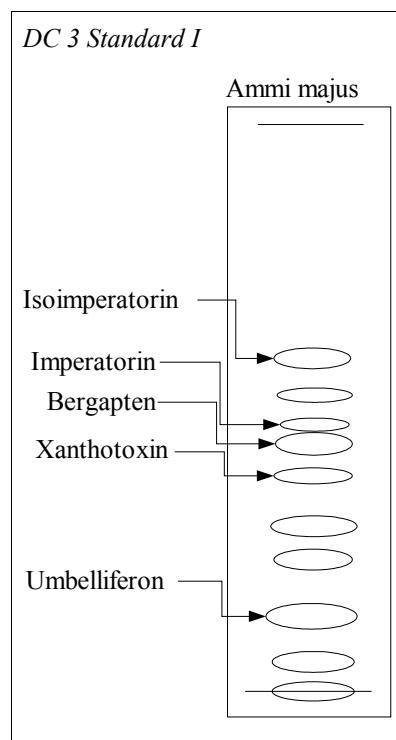
1.2.2.1 Literatur

Für *Ammi majus* Früchte werden in der Literatur viele Cumarine beschrieben. Es kommen in *Ammi majus* Früchten Alloimperatorin, Ammirin, Bergapten, Imperatorin, Isobergapten, Isoimperatorin, Isopimpinellin, Marmesin, Umbelliferon sowie Umbelliprenin vor [Murray et al. 1982]. Des weiteren wurden in den Früchten Isoxyimperatorin und Komalin gefunden [Elgamal et al. 1991].

1.2.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (siehe DC 3) zeigte eine Vielzahl fluoreszierender Banden. Dabei handelte es sich sowohl um Hydroxy-, als auch um Furanocumarine. Die gesamte Platte wurde von der leuchtend blau-türkis fluoreszierenden Umbelliferon-Bande (Rf 0,12) dominiert. Außer einer DC mit dem Standardfließmittel I wurde zur genaueren Charakterisierung der fluoreszierenden Bande an Start auch eine DC mit dem Fließmittel für Glykoside und Phenolcarbonsäuren (Standard II) angefertigt. Eine dritte Dünnschicht, auf der vor der Entwicklung eine saure Hydrolyse durchgeführt wurde, wurde ebenfalls angefertigt. Diese DC wurde für Überlegungen, die Struktur der Cumarine betreffend, herangezogen. Ein Vergleich der Platten mit und ohne Hydrolyse gab dann die erhofften Daten über Strukturelemente der in *Ammi majus* vorkommenden Cumarine. Der Vergleich zeigte, dass nach der Hydrolyse

einige Banden verschwanden, wohingegen andere neu auftauchten oder verstärkt wurden. Vor allem die Umbelliferonbande (Rf 0,12) verstärkte sich. Dies deutet darauf hin, dass in der Früchten von *Ammi majus* L. Ester und/oder Glykoside des Umbelliferons vorhanden sind. Des weiteren werden bei der Hydrolyse Imperatorin und Isoimperatorin in Xanthotoxol bzw. Bergapton umgewandelt. Das HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 3) zeigte als Hauptkomponenten die Peaks von Umbelliferon (RT 10,80 min), Xanthotoxin (RT 16,55 min) und den von Bergapten (RT 17,77 min). Bergapten war das Hauptcumarin in den untersuchten Früchten. Die Identifizierung und Quantifizierung aller Cumarine ist in Tabelle 3 dargestellt.



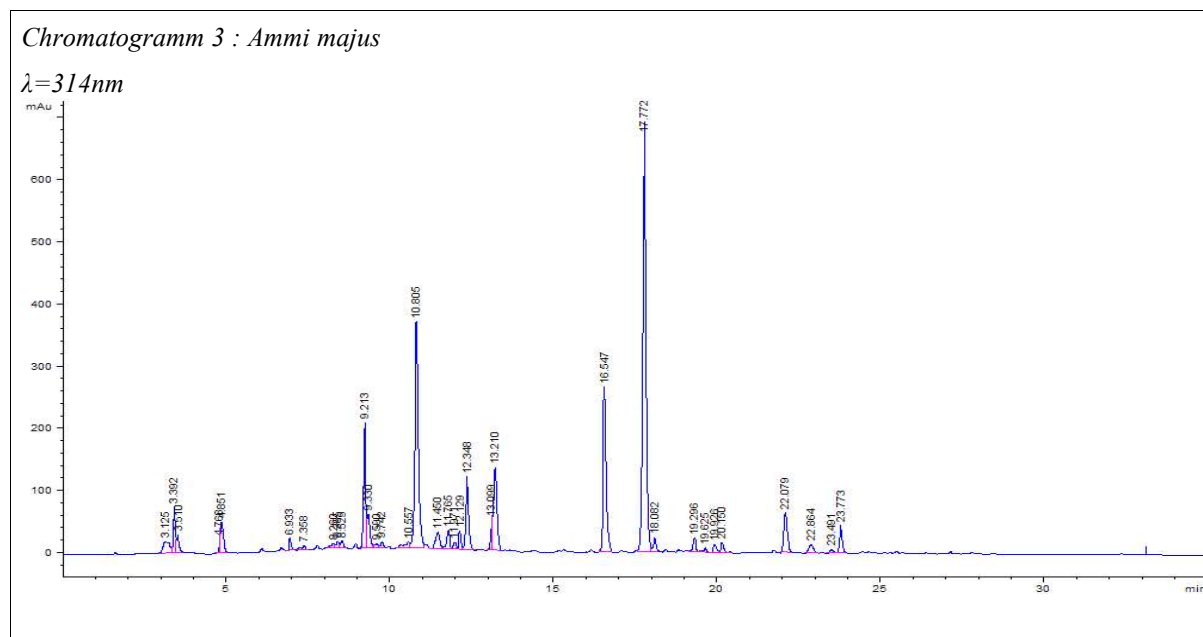


Tabelle 3: Quantifizierung von Ammi majus

Retentionszeit [min]	Substanzname	c(mg/ml) im Extrakt	Prozent in den Früchten
9,213	unbekanntes Hydroxycumarin	0,1826	0,60
10,800	Umbelliferon	0,1110	0,37
12,340	Xanthotoxol	0,0709	0,23
13,210	Oxypeucedanin- Hydrat	0,0586	0,19
16,550	Xanthotoxin	0,1876	0,62
17,772	Bergapten	0,3184	1,05
19,300	Oxypeucedanin	0,0180	0,06
22,080	Imperatorin	0,0524	0,17
23,774	Isoimperatorin	0,0195	0,06

1.3 Ammi visnaga LAM.

1.3.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Ammi visnaga ist eine bis 100 cm hohe, einjährige Pflanze. Man findet sie im Mittelmeerraum und auf der arabischen Halbinsel. Der Stängel ist glatt und rund. Die Blätter sind mehrfach fiederschnittig, mit fadenförmigen Zipfeln. Die weißen Blüten stehen in großen, vielstrahligen Dolden. Der gesamte Blütenstand besitzt ein schirmförmiges Aussehen. Die Blütezeit ist Juli/August. Die Früchte sind 1,5 bis 3 mm lang. Die Farbe ist graubraun. Die 5 Hauptrippen treten deutlich heller hervor.

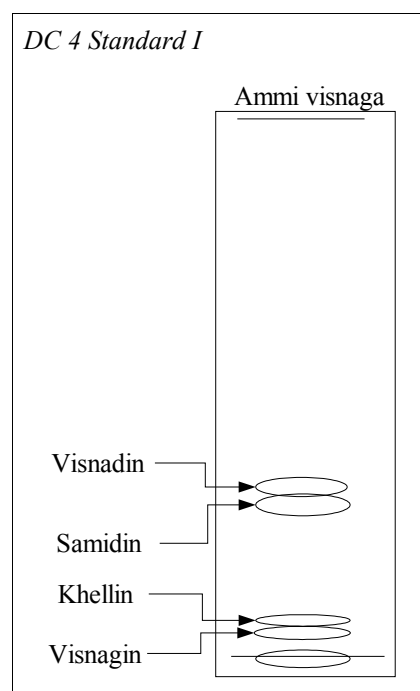
1.3.2 Chemie der Cumarine

1.3.2.1 Literatur

In der Literatur werden für die Früchte von *Ammi visnaga* folgende Cumarine beschrieben: Dihydrosamidin, 8-Hydroxybergapten, Marmesin, Samidin, Umbelliferon und Visnadin [Murray et al. 1982].

1.3.2.2 Eigene Ergebnisse

Auf der Standard DC-Platte (DC 4) ließen sich 5 fluoreszierende Banden erkennen. Die Banden von Khellin und Visnagin waren unter diesen Bedingungen jedoch nicht vollständig getrennt und ließen sich nur anhand ihrer Farbe unterscheiden. Am Startpunkt blieben die Pflanzensäuren, wie z.B. Chlorogensäure, Kaffeesäure, zurück. Diese Bande am Start lies sich mittels einer dritten DC, die mit dem Standard Fließmittel II entwickelt wurde, weiter auftrennen. Außer den Phenolcarbonsäuren waren bei dieser Platte noch weitere Banden zu erkennen. Dabei handelte es sich um die Chromone Khellinol, Khellol und Ammiol. Die endgültige Identifizierung erfolgte dann mittels HPLC.



Im HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 4) fanden sich drei Substanzen (RT 10,873 RT 8,873 und RT 8,309), die auf der Standard-DC-Platte nicht erkennbar waren. Beim Vergleich der UV-Spektren dieser Substanzen mit denen von Khellin und Visnagin zeigte sich eine große Ähnlichkeit, so dass es sich um strukturell sehr ähnliche Substanzen handeln musste. Angesichts der Tatsache, dass diese Komponenten auf der DC-Platte am Start lagen, konnte geschlossen werden, dass es sich um die Chromone Khellol, Khellinol und Ammiol handelte. Diese drei Chromone besitzen freie Hydroxylgruppen, mit denen sich die große Polarität und somit das Verhalten auf der DC erklären ließ. Auf Grund der Struktur ließ sich die Reihenfolge der drei Verbindungen von Start in Richtung Front wie folgt festlegen: Khellinol, Khellol und Ammiol. Die Zuordnung der Peaks und die quantitativen Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

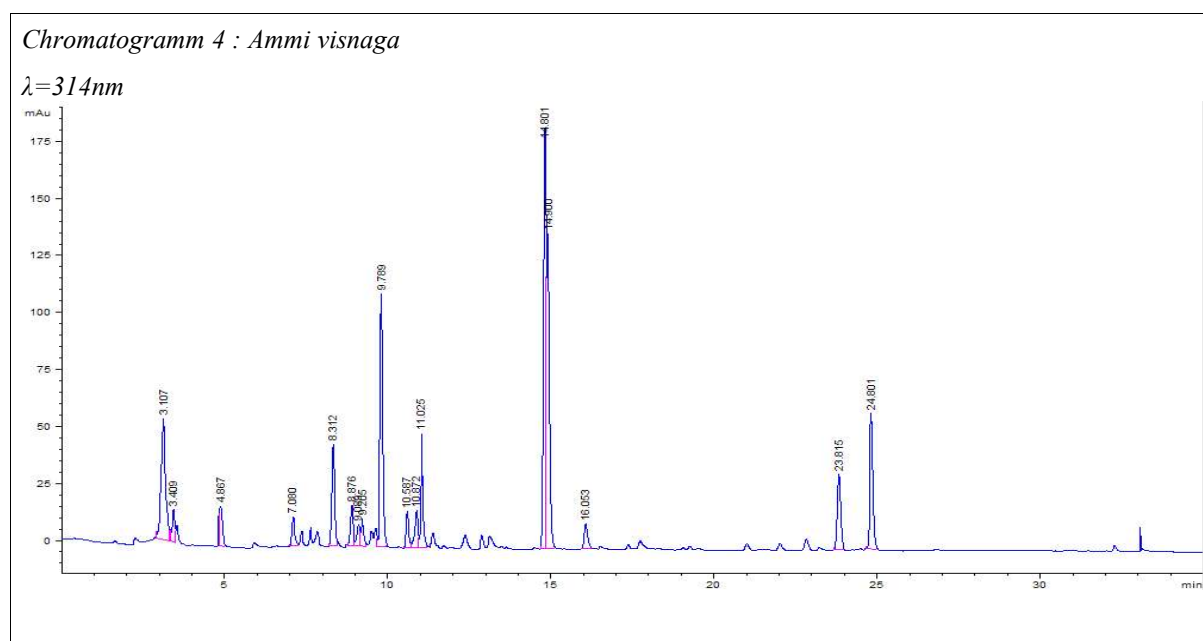


Tabelle 4 : Quantifizierung von *Ammi visnaga*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Gehalt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
8,309	Khellinol	0,1372	0,45
8,873	Khellol	0,0640	0,21
9,789	unbekanntes Hydroxycumarin	0,0932	0,31
10,873	Ammiol	0,0440	0,15
14,800	Khellin	0,5396	1,78
14,896	Visnagin	0,3532	1,16
23,815	Samidin	0,0324	0,11
24,801	Visnadin	0,0524	0,17

1.4 *Anethum graveolens* L.

1.4.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Anethum graveolens ist eine 50 bis 125 cm hohe, einjährige Pflanze. Die Pflanze stammt aus Vorderasien, wird aber in ganz Europa als Kulturpflanze angebaut. Der Stängel ist fein gerillt, oberwärts bläulich bereift. Die Blätter sind 3 bis 4fach fiederschnittig, die Fieder letzter Ordnung sind fadenförmig. Die unteren Blätter sind gestielt, die Oberen sitzend. Die gelben Blüten stehen in bis 50-strahligen Dolden, die einen Durchmesser von 15 cm erreichen. Blütezeit ist Juli/August. Die Früchte sind 5 mm lang und flach. Die Farbe ist braun. Die Hauptrippen sind beige. Zwei der Hauptrippen sind zu schmalen Flügelleisten umgewandelt. Die beiden Teilfrüchte bleiben vielfach auch nach der Fruchtreife zusammen.

1.4.2 Chemie der Cumarine

1.4.2.1 Literatur

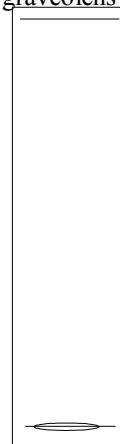
Für die Früchte *Anethum graveolens* sind folgende Cumarine in der Literatur beschrieben: Aesculetin, Bergapten, Scopoletin, Umbelliferon und Umbelliprenin [Murray et al. 1982].

1.4.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 5) zeigte außer einer Bande am Start keine Banden, die auf Cumarine hindeuteten. Auch mittels HPLC (Chromatogramm 5) konnten die in der Literatur erwähnten Cumarine nicht identifiziert werden. Die Peaks im Bereich RT 16 bis 21 min stammten vom ätherischen Öl, das reichlich in den Früchten enthalten ist.

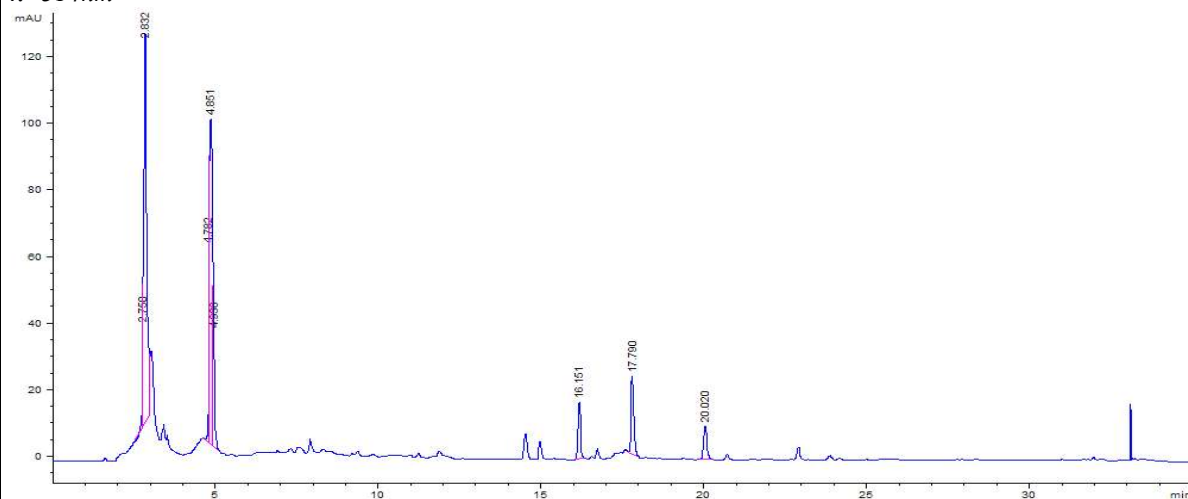
DC 5 Standard I

Anethum
graveolens



Chromatogramm 5 : *Anethum graveolens*

$\lambda = 314 \text{ nm}$



1.5 *Angelica archangelica* L.

1.5.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Angelica archangelica ist eine 50 bis 250 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Sie ist in ganz Europa heimisch. Sie bevorzugt feuchte Wiesen und Ufer. Der Stängel ist rund. Die Blätter sind 2 bis 3fach gefiedert. Die Blattspreite ist bis zu 50 cm breit. Der Blattstiel ist rund. Die Blüten stehen in 20 bis 30-strahligen Dolden. Die Blütenfarbe ist grünlichgelb. Blütezeit ist Juni/Juli. Die Früchte sind 7 mm lang von schmutzig brauner Farbe. Zwei der Hauptrippen sind zu Flügelleisten umgewandelt. Die Frucht hat einen stark aromatischen Geruch.

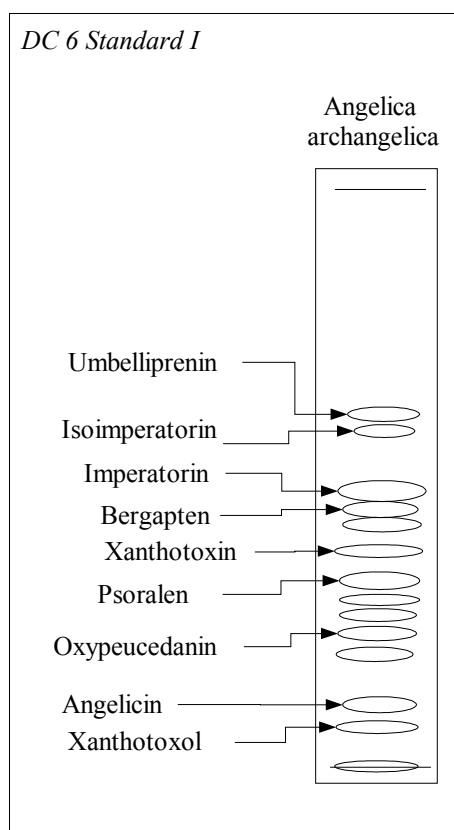
1.5.2 Chemie der Cumarine

1.5.2.1 Literatur

In der Literatur sind eine Vielzahl von Cumarinen für *Angelica archangelica* angegeben. Diese sind: Angelicin, Bergapten, 8-Hydroxybergapten, Imperatorin, Isoimperatorin, Isopimpinellin, Oroselon, Osthol, Ostruthol, Oxypeucedanin, Oxypeucedanin-Hydrat, Phellopterin, Umbelliferon, Umbelliprenin, Xanthotoxin und Xanthotoxol [Murray et al. 1982].

1.5.2.2 Eigene Ergebnisse

Auf der Standard-DC (DC 6) waren viele fluoreszierende Banden zu erkennen. Diese DC wurde in 4 Querbanden geteilt, das Kieselgel wurden ausgeschabt und anschließend die Cumarine mittels Ethylacetat vom Kieselgel eluiert. Die Fraktionen wurden zur Trockene eingeeengt und anschließend in Methanol aufgenommen und mittels HPLC vermessen. Die entsprechenden Chromatogramme dienen dann zur genaueren Identifizierung und Lokalisierung der einzelnen Cumarinderivate auf der DC-Platte. Somit konnten Referenzsubstanzen zur Identifizierung gewonnen werden. Die DC-Platte zeigte, dass sowohl



C Ergebnisse

Angelicin als auch Xanthotoxin in den Früchten enthalten waren. So musste bei der HPLC-Analyse für die Trennung von Angelicin und Xanthotoxin der zweite HPLC-Gradient angewendet werden. Für Tabelle 5 sind die Werte der quantitativen Berechnung dem letzteren Chromatogramm entnommen worden und nicht aus dem in Chromatogramm 6 dargestellten. Alle Zuordnungen und Quantifizierungen sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

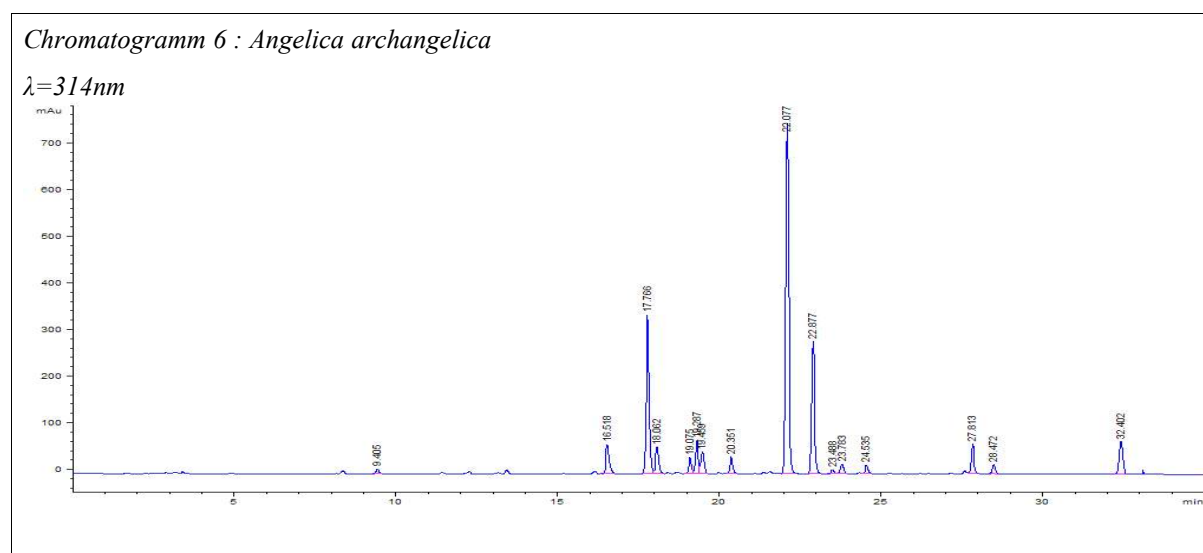


Tabelle 5 : Quantifizierung von *Angelica archangelica*

Retentionszeit [min]	Substanzname	c [mg/ml] im Extrakt	Prozent in den Früchten
12,246	Xanthotoxol	0,0031	0,01
16,119	Psoralen	0,0052	0,02
16,518	Xanthotoxin	0,0191	0,08
	Angelicin	0,0028	0,01
17,767	Bergapten	0,1455	0,59
19,291	Oxypeucedanin	0,0307	0,13
22,080	Imperatorin	0,5720	2,33
23,780	Isoimperatorin	0,0092	0,04
32,402	Umbelliprenin	0,0764	0,31

1.6 *Angelica sylvestris* L.

1.6.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Angelica sylvestris ist eine bis 150 cm hohe mehrjährige Pflanze. Sie ist in ganz Europa heimisch und wächst an Gebüsch, in Auen und Sumpf- oder Feuchtwiesen. Der Stängel ist rund, gerillt und weißlich bereift. Die Blattspreite der Grundblätter kann 30 bis 60 cm messen. Die Blätter sind 2 bis 3fach gefiedert und unterseits rau behaart. Die Blattstiele haben auf der Oberseite eine rinnenförmige Vertiefung (Unterscheidungsmerkmal zu *Angelica archangelica* L. siehe auch dort). Die Blüten stehen in 20- bis 30-strahligen Dolden, die im Durchmesser bis zu 20 cm groß werden. Die Einzelblüten sind sehr klein (2 mm). Die Blütenfarbe variiert von weiß bis rosa. Die Blütezeit liegt von Juli bis September. Die Früchte sind 5 mm lang und hellbraun. Zwei der Hauptrippen sind zu Flügelleisten umgewandelt, die breiter sind als die Frucht. Die Täler zwischen den Rippen sind dunkelbraun bis schwarz gefärbt.

1.6.2 Chemie der Cumarine

1.6.2.1 Literatur

Für die Früchte von *Angelica sylvestris* sind folgende Cumarine beschrieben: Athamantin, Aurapten, Byakangelicol, Iliensin, Imperatorin, Isoimperatorin, Isooxypeucedanin, Marmesin, Oxypeucedanin, Oxypeucedanin-Hydrat, Phellopterin, Scopoletin, Umbelliferon, Umbelliprenin, Xanthotoxin und Xanthotoxol [Murray et al. 1982]. Laut einer Literaturstelle [Milosavljevic et al. 1993] kommen in *Angelica sylvestris* nur Furanocumarine vom Psoralen-Typ vor. Eine weitere Quelle beschreibt Glykoside des Marmesins [Lemmich et al. 1982]

1.6.2.2 Eigene Ergebnisse

Ein Vergleich der Standard DC (DC 7) von *Angelica sylvestris* mit der von *Angelica archangelica* zeigte einen deutlichen Unterschied. In *Angelica sylvestris* waren wesentlich weniger Cumarine vorhanden, als in der verwandten Art. Die DC kann gut dazu dienen, diese beiden sehr ähnlichen Arten zu unterscheiden. Der wichtigste Unterschied war das Fehlen von Angelicin und Xanthotoxin in *Angelica sylvestris*. Im HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 7) ließen sich noch weitere Cumarine identifizieren. Auch ließ sich so das Ergebnis von Milosavljevic bestätigen, denn im Chromatogramm wurden nur Cumarine vom Psoralen-Typ gefunden. Alle Peakzuordnungen und quantitativen Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

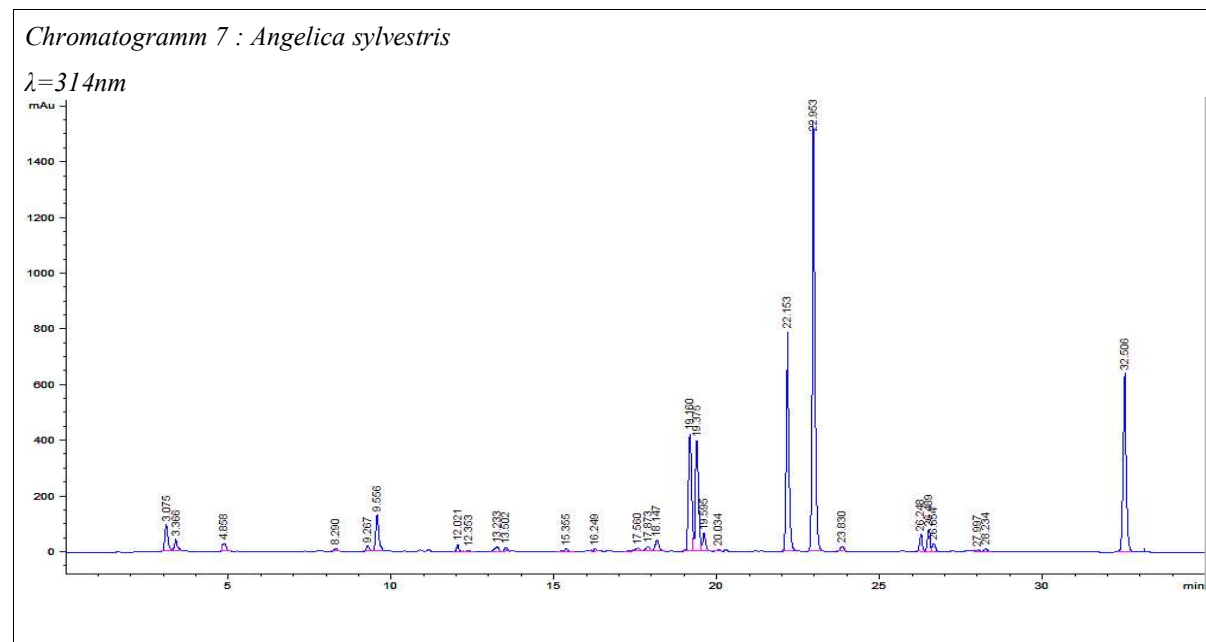
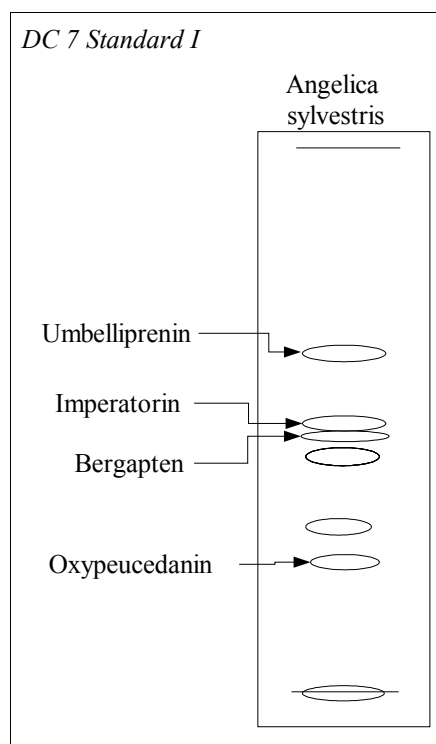


Tabelle 6 :Quantifizierung von *Angelica sylvestris*

Retentionszeit [min]	Substanzname	c[mg/ml]	Prozent in den Früchten
16,25	Psoralen	0,0022	0,01
17,87	Bergapten	0,0020	0,01
	unbekanntes		
19,16	Furanocumarin	0,0559	0,19
19,37	Oxypeucedanin	0,0456	0,15
22,15	Imperatorin	0,1490	0,49
32,51	Umbelliprenin	0,1332	0,44

1.7 *Anthriscus sylvestris* (L.) HOFFM.

1.7.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Anthriscus sylvestris ist eine 60 bis 150 cm hohe, zwei- oder mehrjährige Pflanze. Sie wächst in ganz Europa, ist aber in Südeuropa nur in den Bergregionen zu finden. Sie bevorzugt stickstoffhaltige Böden, auf Wiesen, in Hecken oder Gebüsch. Der Stängel der Pflanze ist stark gefurcht und unterseits rau behaart, im oberen Bereich hingegen ist er kahl. Die Blätter sind zwei- bis mehrfach gefiedert. Die einzelnen Fieder sind lanzettlich. *Anthriscus sylvestris* blüht mit weißen bis 15-strahligen Dolden, wobei die Randblüten der Döldchen deutlich vergrößert sind. Die Blütezeit ist von April bis August. Die Früchte sind 7 mm lang und dunkelbraun bis schwarz. Die Form der Frucht ist länglich und tropfenförmig, mit einer deutlichen Furche.

1.7.2 Chemie der Cumarine

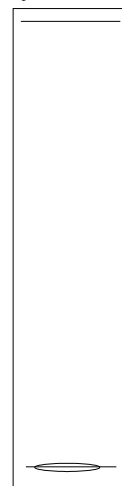
1.7.2.1 Literatur

In der Literatur gibt es eine Angabe über das Vorkommen von Apterin in den Wurzeln von *Anthriscus sylvestris* [Murray et al. 1982].

1.7.2.2 Eigene Ergebnisse

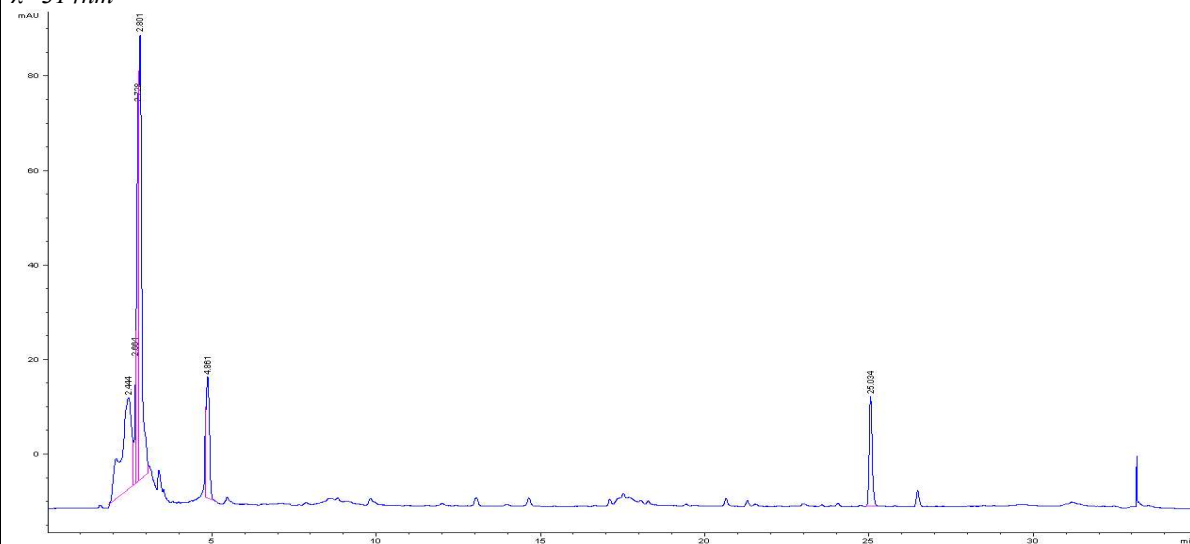
Die Standard DC (DC 8) zeigte nur am Start eine fluoreszierende Bande. Sie stammte von Phenolcarbonsäuren. Dies und das Fehlen von Cumarinen in *Anthriscus sylvestris* ließ sich durch HPLC (Chromatogramm 8) bestätigen. Die Peaks im RT-Bereich von 2 bis 3 min rührten von den Phenolcarbonsäuren her. Bei der Substanz, die durch den Peak mit der Retentionszeit RT 25,034 min repräsentiert wurde, handelte es sich nicht um Cumarine.

DC 8 Standard I
Anthriscus
sylvestris



Chromatogramm 8 : *Anthriscus sylvestris*

$\lambda = 314 \text{ nm}$



1.8 Astrantia major L.

1.8.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Astrantia major ist eine bis ca. 100 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet sie vor allem in den Gebirgen und Mittelgebirgen Mittel- und Südeuropas. Die Pflanze fehlt im Norden Deutschlands. *Astrantia major* wächst in Au- und Mischwäldern, im Gebüsch oder auf Wiesen. Der Stängel ist rund und schwach verzweigt und besitzt kleine Stängelblätter. Die grundständigen Blätter sind lang gestielt, 10 bis 20 cm breit und 3 bis 7-teilig. Die Blüten stehen in einer einfachen Dolde mit extrem kurzen Doldenstrahlen. Die Dolde ist von derben Hüllblättern umgeben, die bis 3 cm lang werden können. Die Blütenfarbe variiert von weiß bis dunkel-rosa (Kulturform). Blütezeit ist Juni-August. Die Früchte sind 7 mm lang und von hellbrauner Farbe. Sie tragen breite, geriefte Rippen. An der Spitze der Frucht finden sich Reste der Kelchblätter. Häufig sind die beiden Teilfrüchte auch nach der Fruchtreife zusammen.

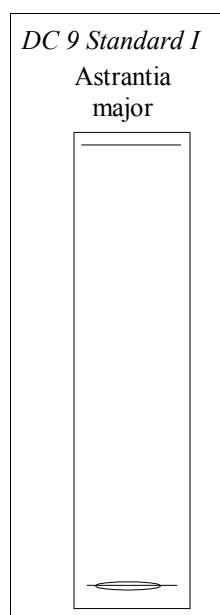
1.8.2 Chemie der Cumarine

1.8.2.1 Literatur

In der Literatur gibt es keine Angaben über das Vorkommen von Cumarinen in *Astrantia major*.

1.8.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 9) zeigte nur am Start eine fluoreszierenden Bande. Dabei handelte es sich um Phenolcarbonsäuren. Dies ließ sich mittels HPLC (Chromatogramm 9) bestätigen. Die Phenolcarbonsäuren liegen im RT-Bereich von 2,5 bis 3 min.

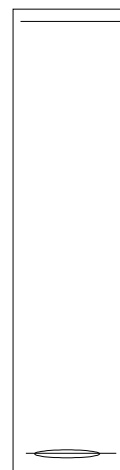


1.9.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 10) zeigte nur die fluoreszierende Bande der Phenolcarbonsäuren am Startpunkt. Auch im HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 10) waren nur die Phenolcarbonsäuren im RT-Bereich von 2,5 bis 4,2 min zu erkennen. Bei dem Peak RT 19,922 min handelte es sich mit um die Hauptkomponente des ätherischen Öls, *d*-Carvon.

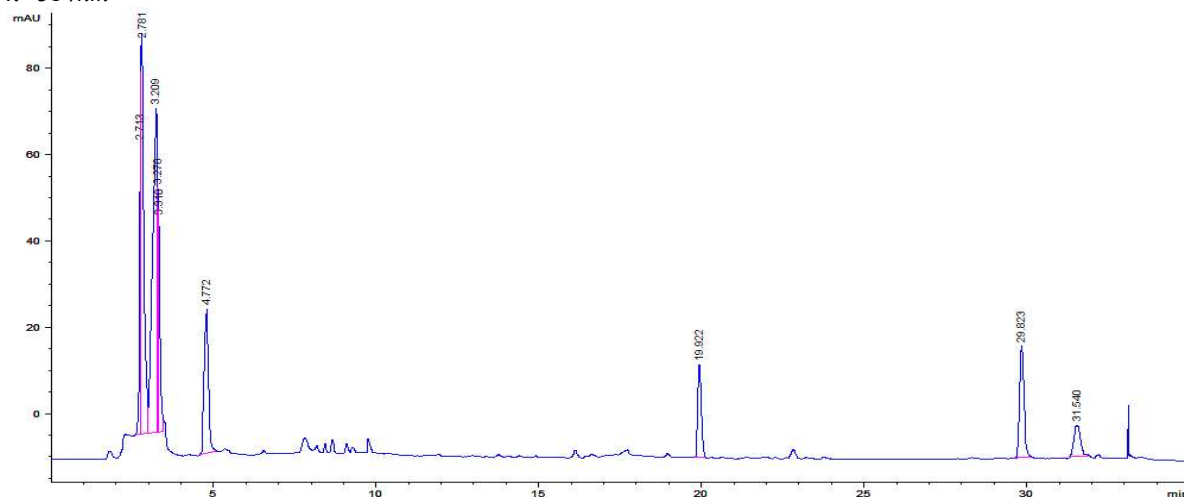
DC 10 Standard I

Carum
carvi



Chromatogramm 10 : Carum carvi

$\lambda = 314 \text{ nm}$



1.10 Chaerophyllum aromaticum L.

1.10.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Chaerophyllum aromaticum ist eine ca. 120 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet sie in Süddeutschland, sie fehlt im Norden. *Chaerophyllum aromaticum* wächst stets in feuchten Laubwäldern und an Bächen. Der Stängel ist glatt und unter den Nodien deutlich verdickt. Die Grundblätter sind doppelt dreifach gefiedert. Die Pflanze blüht mit weißen Dolden. Blütezeit ist Juni bis August. Die Früchte sind bis zu 15 mm lang und schmutzig-braun. Die Form ist nadelförmig mit einer deutlichen Kerbe.

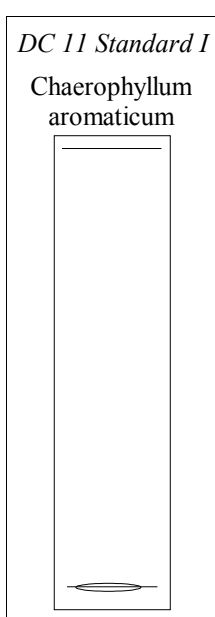
1.10.2 Chemie der Cumarine

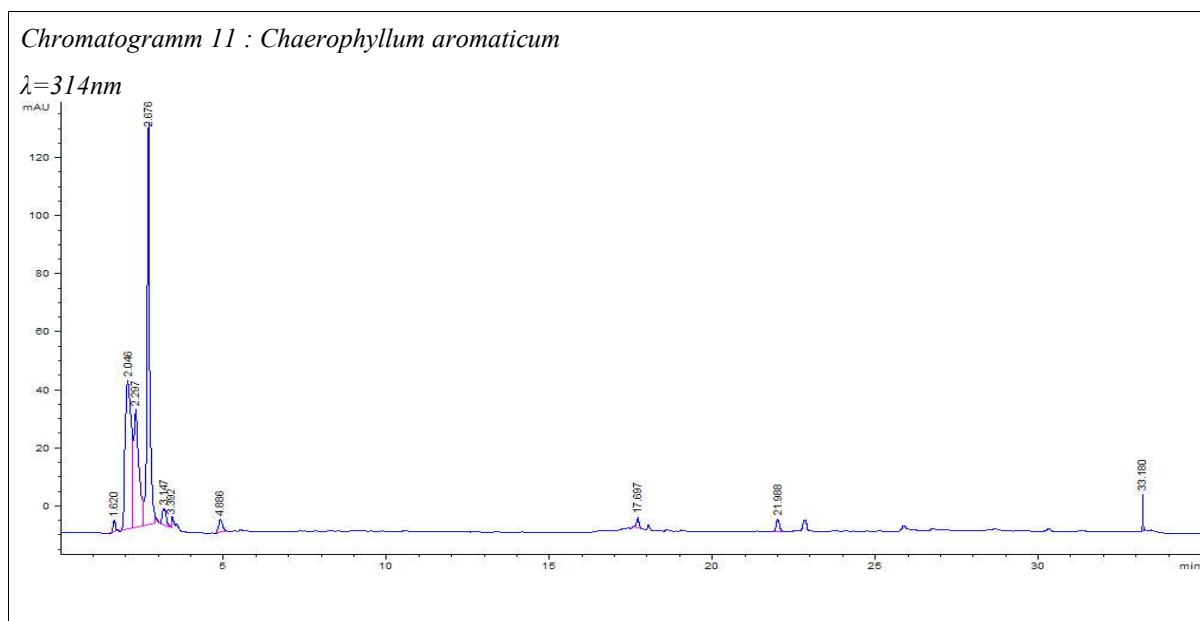
1.10.2.1 Literatur

In der Literatur gibt es keine Hinweise auf das Vorkommen von Cumarinen in *Chaerophyllum aromaticum*.

1.10.2.2 Eigene Ergebnisse

Auf der Standard DC (DC 11) zeigte sich nur eine fluoreszierende Bande am Start. Bei dieser Bande handelte es sich um Phenolcarbonsäuren. Dieses Ergebnis wurde durch das HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 11) bestätigt. In diesem Chromatogramm waren die Phenolcarbonsäuren im Retentionsbereich von RT 2 bis 3 min zu erkennen. Das in Tabelle 7 identifizierte und quantifizierte Imperatorin war auf der DC nicht erkennbar. Die Konzentration im Extrakt lag unterhalb der Nachweisgrenze für die DC.



Tabelle 7 : Quantifizierung von *Chaerophyllum aromaticum*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
21,998	Imperatorin	0,0009	0,003

1.11 *Chaerophyllum temulum* L.

1.11.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Chaerophyllum temulum ist eine 30 bis 120 cm, selten auch bis 170 cm hohe, ein oder zweijährige Pflanze. Man findet die Pflanze in Europa, auf Kahlschlägen, in Auwäldern und Laub- und Mischwäldern. *Chaerophyllum temulum* wächst stets auf etwas feuchtem, stickstoffhaltigen Böden. Der Stängel ist kantig und steif behaart, mit roten Flecken. Er besitzt auffällig bauchig aufgetriebene Nodien. Die Blätter sind doppelt gefiedert. Die weißen Blüten stehen in Dolden mit 6 bis 12 rauhaarigen Doldenstrahlen. Blütezeit ist Juni/Juli. Die Früchte sind 5 mm lang. Die Farbe ist bräunlich-grau. Die Form der Früchte ist nadelförmig mit einer deutlichen Kerbe.

1.11.2 Chemie der Cumarine

1.11.2.1 Literatur

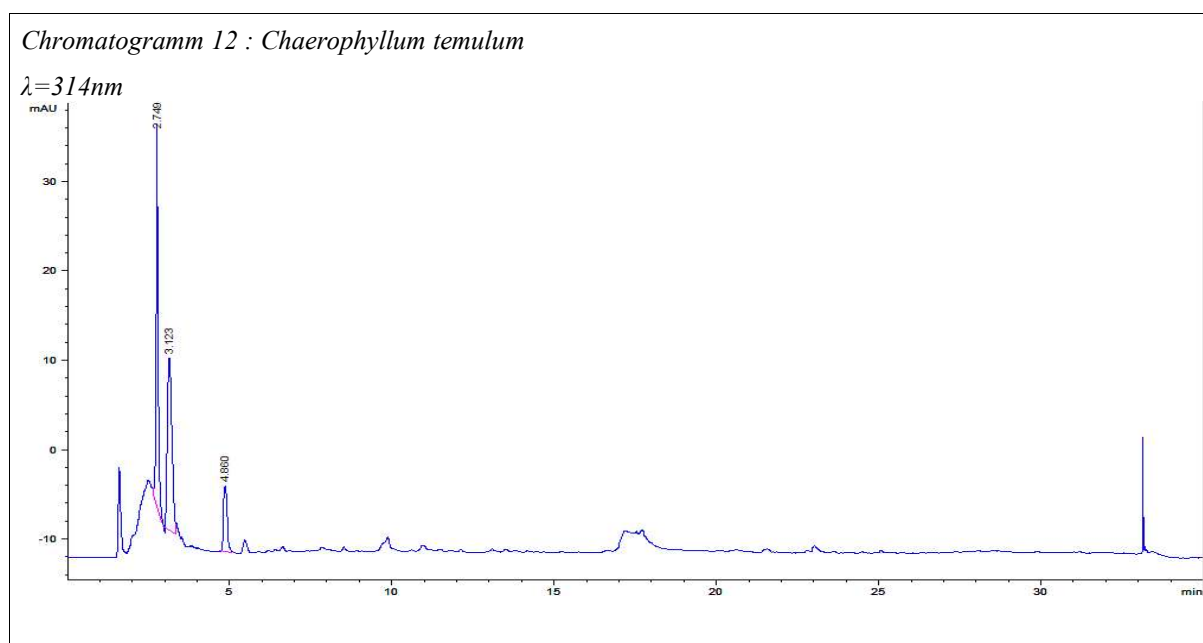
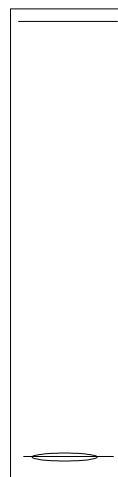
In der Literatur gibt es keine Angaben über das Vorkommen von Cumarinen in *Chaerophyllum temulum*.

1.11.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 12) zeigte nur eine fluoreszierende Bande am Start. Bei dieser Banden könnte es sich um Phenolcarbonsäuren handeln, obwohl sich diese Vermutung mittels HPLC (Chromatogramm 12) nicht bestätigen ließ. Auch sonst waren im Chromatogramm keine typischen Cumarin-Peaks zu erkennen. Die Peaks im Bereich von RT 2,5 bis 4,8 min repräsentierten die Substanzen der fluoreszierenden Bande am Start, ließen sich jedoch anhand ihrer Spektren nicht zuordnen.

DC 12 Standard I

Chaerophyllum
temulum



1.12 Conium maculatum L.

1.12.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Conium maculatum ist eine zwischen 50 und über 200 cm hohe, zweijährige Pflanze. Man findet sie in fast ganz Europa. Im Norden bis nach Skandinavien. *Conium maculatum* wächst auf Brachland, an Hecken oder auf Schuttplätzen. Der Stängel ist fein gerillt und reich verzweigt. Er ist bläulich bereift und trägt an der Basis rote Flecken. Die Blätter sind 2- bis 4fach gefiedert. Der Umriss der Fieder ist typischerweise dreieckig. Die ganze Pflanze macht einen schlappen Eindruck. Die Blüten stehen in weißen, 8- bis 20-strahligen Dolden mit einem Durchmesser von ca. 20 cm. Die Einzelblüte ist mit 2 mm recht klein. Blütezeit ist Juni bis September. Die Früchte sind bis 4 mm lang und hellbraun. Die fünf Hauptrippen sind in der Farbe etwas heller. Die Form ist leicht kugelig, ähnlich den Früchten des Anis (*Pimpinella anisum*).

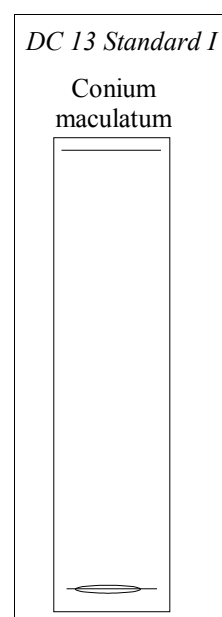
1.12.2 Chemie der Cumarine

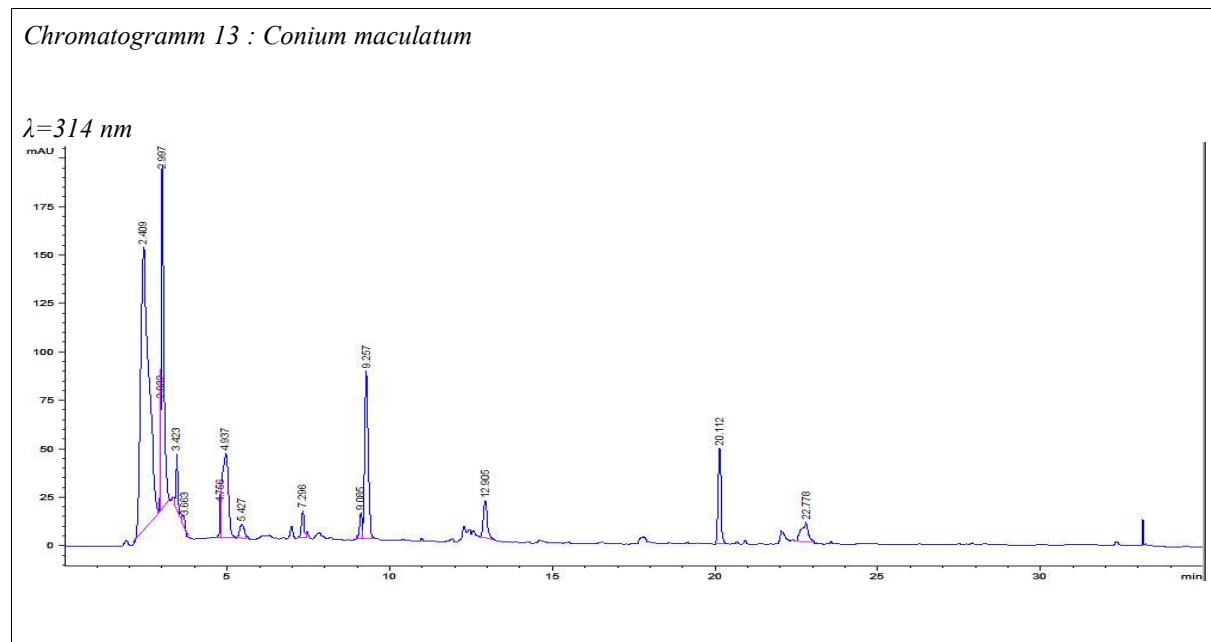
1.12.2.1 Literatur

Für *Conium maculatum* werden folgende Cumarine angegeben: Bergapten, Sphondin, Umbelliferon und Xanthotoxin [Murray et al. 1982]. Die Quelle sagt nichts drüber aus in welchem Pflanzenteil diese Cumarine gefunden wurden.

1.12.2.2 Eigene Ergebnisse

Auf der DC (DC 13) war nur eine fluoreszierende Bande am Start zu erkennen. Bei dieser Bande handelte es sich um Phenolcarbonsäuren, die sich auch im HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 13) im Retentionsbereich von RT 2 bis 3 min identifizieren ließen. Im HPLC-Chromatogramm fand sich bei RT 9,257 min Chlorogensäure. Bei den übrigen Peaks handelte es sich nicht um Cumarine, auch die UV-Vis-Spektren waren so uncharakteristisch, dass eine Identifizierung unmöglich war.





1.13 Coriandrum sativum L.

1.13.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Coriandrum sativum ist eine 20 bis 50 cm hohe, einjährige Pflanze. Die Pflanze stammt ursprünglich aus Westasien, heute findet man sie vor allem in Mittel- und Südeuropa. *Coriandrum sativum* wird auf Feldern angebaut oder wächst verwildert auf Schuttplätzen und Unkrautfluren. Der Stängel ist rund und kahl. Die unteren Blätter sind ungeteilt und nur eingeschnitten. Die oberen Blätter hingegen sind 2- bis 3fach fiederspaltig. Die Blüten stehen in 3- bis 5-strahligen Dolden. Die Blütenfarbe reicht von weiß bis dunklem rosa. Die Randblüten der Dolden sind deutlich vergrößert. Blütezeit ist der Juni/Juli. Die Früchte sind 4 mm lang und von kugelförmiger Form. Die beiden Teilfrüchte sind auch nach der Fruchtreife häufig noch miteinander verbunden. Die Farbe ist hell braun. Die Rippen sind als hellere Linien zu erkennen.

1.13.2 Chemie der Cumarine

1.13.2.1 Literatur

In der Literatur werden für *Coriandrum sativum* folgende Cumarine angegeben: Bergapten, Scopoletin, Umbelliferon und Umbelliprenin [Murray et al. 1982].

1.13.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 14) zeigte nur die Bande der Phenolcarbonsäuren am Start. Mittels HPLC (Chromatogramm 14) ließ sich ein Cumarin identifizieren. Bei diesem Cumarin handelte es sich um Angelicin (Tabelle 8), das in der Literatur nicht erwähnt wird. Andererseits konnten die dort beschriebenen Cumarine in der untersuchten Probe nicht identifiziert werden. Eine Erklärung hierfür kann sein, dass es sich bei der Literaturangabe nicht um Früchte handelte.

DC 14 Standard I
Coriandrum
sativum

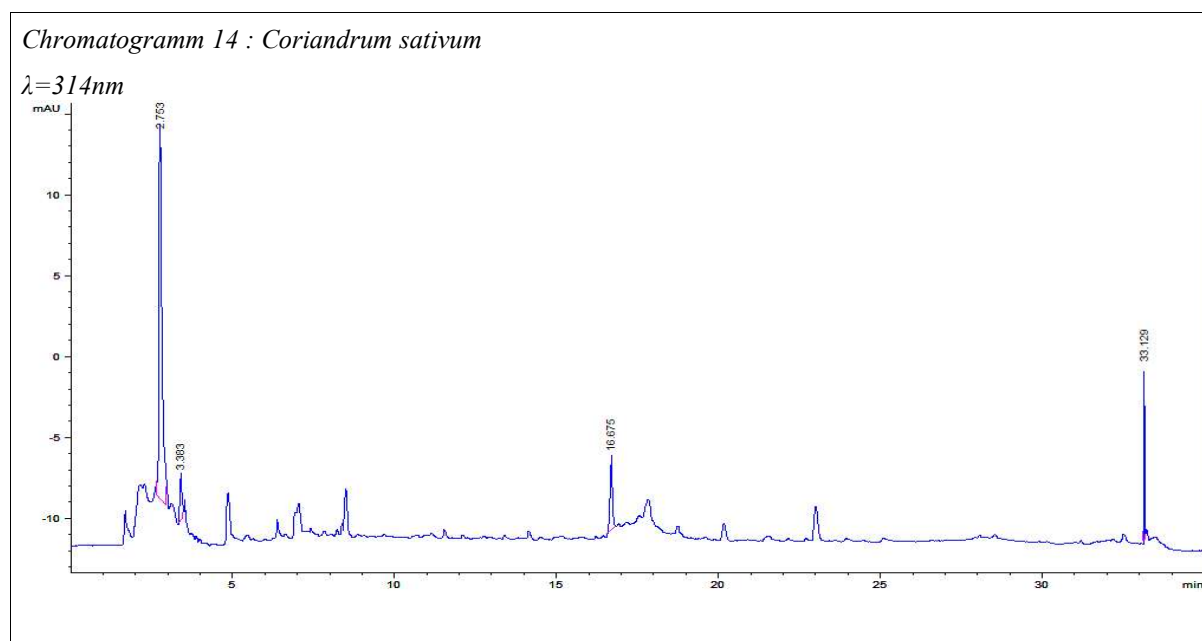


Tabelle 8 : Quantifizierung von *Coriandrum sativum*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
16,675	Angelicin	0,0010	0,003

1.14 Cuminum cyminum L.

1.14.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Cuminum cyminum ist eine 30 bis 40 cm hohe, einjährige Pflanze. Man findet diese Pflanze nur in Südeuropa, da sie sehr wärmebedürftig ist. Der Stängel ist sehr weich, so dass die Pflanze teilweise kriechend wächst. Die Blätter sind doppelt 3-fingerig, bis 10 cm lang und haben eine ausgeprägte Blattscheide. Die Blüten stehen in 4-strahligen bis 2,5 cm breiten Dolden. Die Blütenfarbe variiert von weiß bis rötlich. Blütezeit ist Juni. Die Früchte sind 6 mm lang. Die Farbe ist grau bis graugrün. Die Rippen zeichnen sich durch eine hellere Farbe deutlich ab. Die Form der Frucht ist länglich.

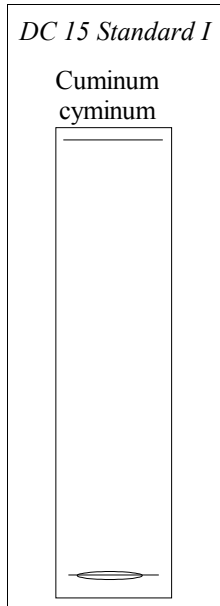
1.14.2 Chemie der Cumarine

1.14.2.1 Literatur

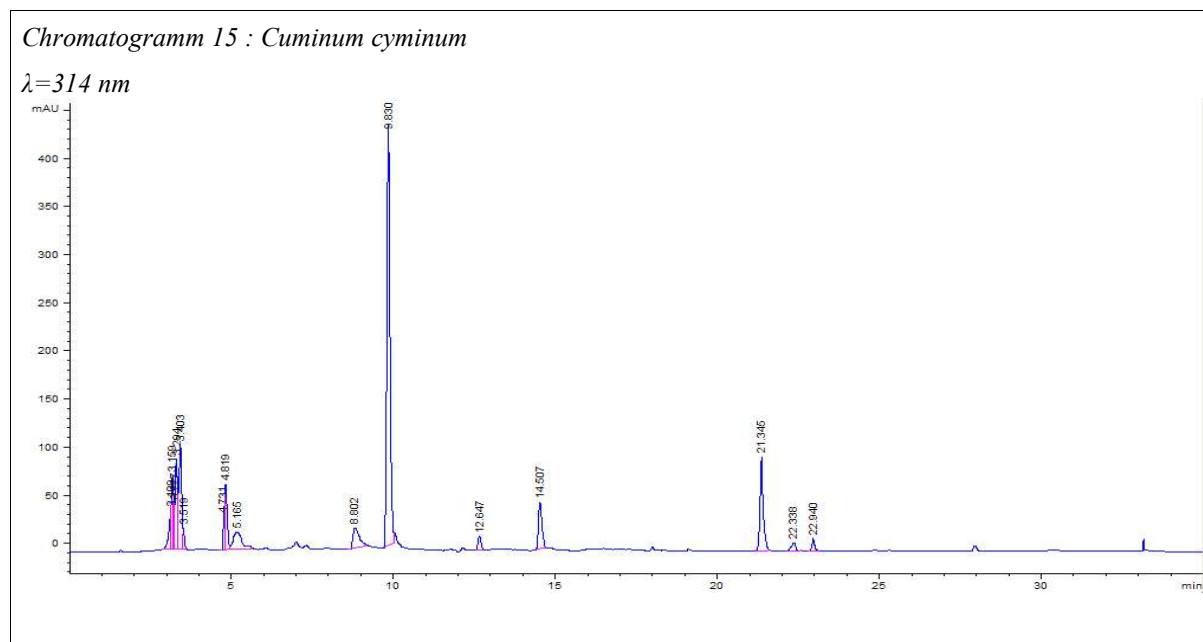
Für die Früchte von *Cuminum cyminum* werden folgende Cumarine angegeben: Scopoletin und Umbelliferon [Murray et al. 1982].

1.14.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 15) zeigte nur die typische Bande der Phenolcarbonsäuren am Startpunkt. Ansonsten waren keine fluoreszierenden Banden erkennbar. Auch das HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 15) zeigte keinerlei Peaks, die sich als Cumarine



identifizieren ließen. Die im Chromatogramm erkennbaren Peaks stammten aus dem in den Früchten reichlich vorhandenen ätherischen Öl. Die in der Literatur angegebenen Cumarine ließen sich in der untersuchten Ware nicht nachweisen.



1.15 *Daucus carota* L.

1.15.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Daucus carota ist eine 50 bis 100 cm hohe, zweijährige Pflanze. Man findet die Pflanze in ganz Süd- und Mitteleuropa. In Nordeuropa bis Südnorwegen. *Daucus carota* wächst auf Wiesen und an Wegrändern. Der Stängel ist borstig behaart. Die Blätter sind 2 bis 3fach, seltener 4fach gefiedert. Die einzelnen Fieder sind sehr schmal. Die Blüten stehen in weißen Dolden. Im Zentrum des Blütenstandes findet sich häufig eine tief violette Blüte, die „Mohrenblüte“. Der Blütenstand besitzt eine fein zerteilte Hülle. Zur Fruchtreife neigen sich die Doldenstrahlen nach innen und bilden eine nestartige Vertiefung. Blütezeit ist Mai/Juni. Die Früchte sind 4 mm lang, braun und besitzen 3 mit steifen Wimperhärchen besetzte Rippen. Diese Rippen sind etwa so breit wie die Frucht selbst.

1.15.2 Chemie der Cumarine

1.15.2.1 Literatur

Für *Daucus carota* sind in der Literatur Angaben über das Vorkommen von Cumarin, Peucedanin und Umbelliferon in den oberirdischen Pflanzenteilen gemacht worden [Murray et al. 1982].

1.15.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 16) zeigte nur eine schwach fluoreszierende Bande am Start. Bei dieser Bande handelte es sich nicht um Phenolcarbonsäuren, da diese im HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 16) nicht im Bereich von RT 2 bis 4 min identifiziert werden konnten. Auch die in der Literatur angegebenen Cumarine konnten in den untersuchten Früchten nicht nachgewiesen werden. Bei den im Chromatogramm enthaltenen Peaks handelte es sich um Substanzen mit uncharakteristischen UV-Vis-Spektren, so dass eine Identifizierung mittels dieser Daten nicht möglich war.

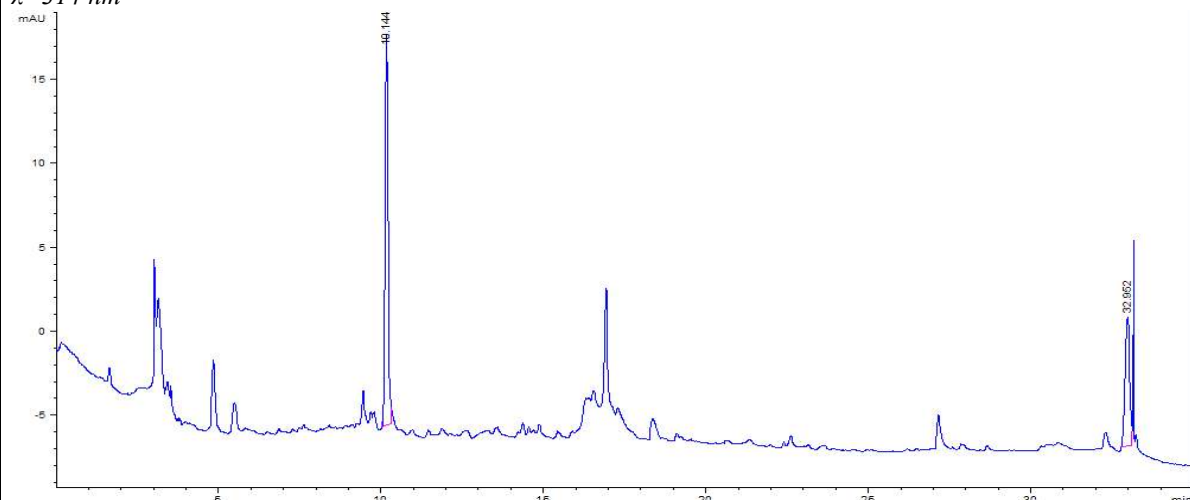
DC 16 Standard I

*Daucus
carota*



Chromatogramm 16 : *Daucus carota*

$\lambda = 314 \text{ nm}$



1.16 *Eryngium campestre* L.

1.16.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Eryngium campestre ist eine bis 100 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet diese Pflanze in Mittel- und Südeuropa, in Deutschland zerstreut, sie fehlt in den Alpen. *Eryngium campestre* wächst auf trockenen Rasen und Wiesen. Der Stängel ist sparrig verzweigt. Die Blätter sind entweder ungeteilt oder fiederschnittig. Die ganze Pflanze ähnelt einer Distel. Die weißlichgrünen Blüten stehen in fast kugeligen Dolden. Der Blütenstand ist lanzettlichen von dornigen Hüllblättern umgeben. Blütezeit ist Juli bis September. Die Früchte sind ca. 6 mm lang und braun. Sie sind mit weißen Schuppen besetzt und an der Spitze sind Reste der Kelchblätter zu erkennen.

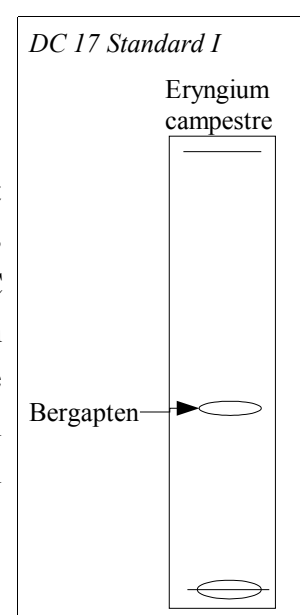
1.16.2 Chemie der Cumarine

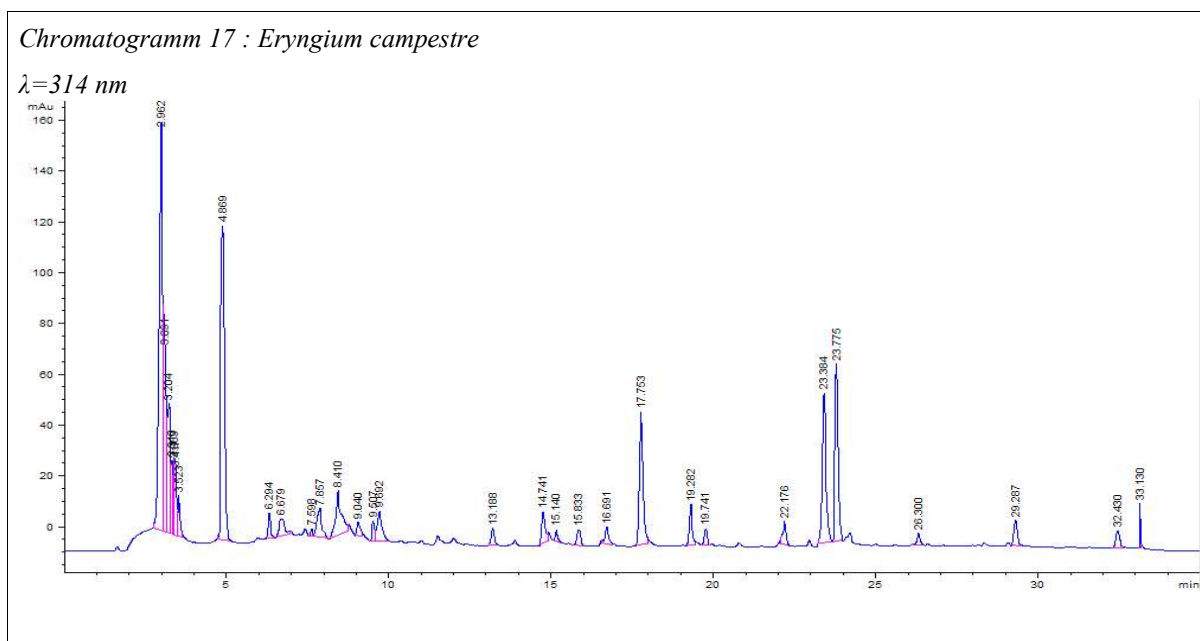
1.16.2.1 Literatur

Die Literaturangaben für das Vorkommen von Cumarinen in *Eryngium campestre* beziehen sich nur auf die Blätter und die Wurzeln der Pflanze. Für die Blätter wird Scopoletin beschrieben [Murray et al. 1982]. Für die Wurzeln werden als ein neues Dihydroxanthyletin-Derivat das Angelinolbenzoat, sowie die Cumarine Agasyllin, Grandivittin und Aegelinol beschrieben [Erdelmeier et al. 1985].

1.16.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 17) zeigte eine fluoreszierende Bande am Start und die blaue Bergapten-Bande. Bei der Bande am Start handelte es sich um Phenolcarbonsäuren. Dies wurde mittels HPLC (Chromatogramm 17) bestätigt. Im HPLC-Chromatogramm ließen sich außer Bergapten noch weitere Cumarine identifizieren (Tabelle 9). Die Identifizierung und Quantifizierung der Substanzen ist in Tabelle 9 dargestellt. Das für die Blättern erwähnte Scopoletin konnte in den Früchten nicht nachgewiesen werden.



Tabelle 9 : Quantifizierung von *Eryngium campestre*

<i>Retentionszeit [min]</i>	<i>Substanzname</i>	<i>Konzentration im Extrakt [mg/ml]</i>	<i>Prozent in den Früchten</i>
13,188	Oxypeucedanin- Hydrat	0,0007	0,002
17,753	Bergapten	0,0052	0,014
19,282	Oxypeucedanin	0,0022	0,006
23,384	Peucedanin	0,0153	0,043
23,775	Isoimperatorin	0,0082	0,023

1.17 Eryngium planum L.

1.17.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Eryngium planum ist eine 30 bis 60 cm hohen, mehrjährige Pflanze. Man findet diese Pflanze vor allem in Osteuropa, oder als Zierpflanze in Gärten. Als Standort bevorzugt *Eryngium planum* Flussniederungen und Trockenwiesen. Die ganze Pflanze ist blau überlaufen und hat eine distelartige Erscheinung. Die unteren Blätter sind ungeteilt, die oberen 3- bis 5-spaltig. Die Blüten stehen in blauen köpfchenförmigen, ovalen Dolden. Blütezeit ist Juni bis September. Die Früchte sind 5 mm lang. Die Farbe ist hell braun bis beige. Die Oberfläche ist mit weißen Schuppen besetzt. An der Spitze sind noch Reste des Kelches zu erkennen. Nach der Fruchtreife sind beide Teilfrüchte häufig noch miteinander verbunden.

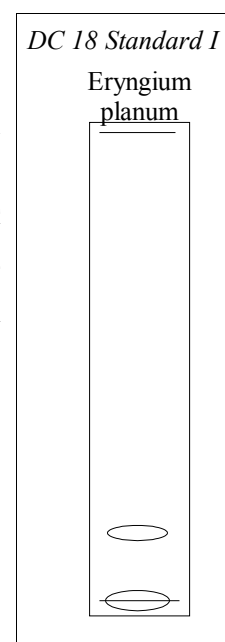
1.17.2 Chemie der Cumarine

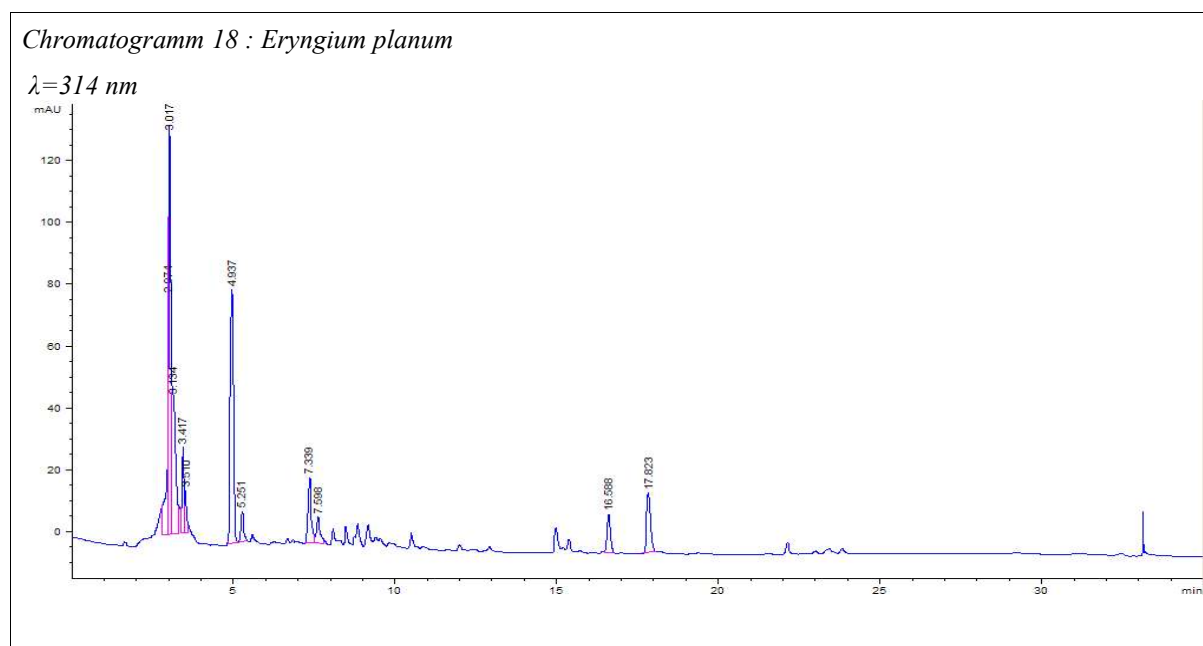
1.17.2.1 Literatur

In der Literatur gibt es keine Angaben über das Vorkommen von Cumarinen in *Eryngium planum*.

1.17.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 18) zeigte zwei fluoreszierende Banden. Von denen die obere sehr schwach ausgeprägt war. Die Bande am Start stammte vermutlich von Phenolcarbonsäuren, die sich jedoch auch mittels HPLC (Chromatogramm 18) nicht eindeutig zuordnen ließen. Im HPLC-Chromatogramm ließen sich jedoch zwei Cumarine eindeutig zuordnen und quantifizieren (Tabelle 10).



Tabelle 10 : Quantifizierung von *Eryngium planum*

<i>Retentionszeit [min]</i>	<i>Substanzname</i>	<i>Konzentration im Extrakt [mg/ml]</i>	<i>Prozent in den Früchten</i>
16,588	Xanthotoxin	0,0022	0,01
17,823	Bergapten	0,0021	0,01

1.18 *Ferula asa foetida* L.

1.18.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Ferula asa foetida ist eine bis 200 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Sie kommt in Südeuropa und auf der arabischen Halbinsel vor. Der Stängel ist rund und fein gerillt. An der Basis kann er einen Umfang von bis zu 15 cm betragen. Die Blätter sind 3 bis 4fach gefiedert. Die Fieder oberster Ordnung sind sehr schmal bis haarförmig. Die gelben Blüten stehen in 10- bis 20-strahligen Dolden. Blütezeit ist von Juni bis August. Die Früchte sind 10 mm lang und sehr flach. Die Farbe ist rotbraun bis braun. Die Hauptrippen sind in der Farbe etwas heller als der Rest der Frucht, zwei von ihnen sind zu schmalen Flügelleisten umgewandelt.

1.18.2 Chemie der Cumarine

1.18.2.1 Literatur

In der Literatur wird für *Ferula asa foetida* das Vorkommen von Umbelliferon, Farnesiferol A-C in der Wurzel beschrieben [Murray et al. 1982], [Eichstedt Nielsen 1970]. Es werden auch zwei Sesquiterpencumarine (Assafoetidnol A und Assafoetidnol B) für die Wurzel beschrieben [Abd. El-Razek et al. 2001].

1.18.2.2 Eigene Ergebnisse

Auf der Standard-DC (DC 19) ließ sich nur Umbelliprenin eindeutig zuordnen. Bei den anderen Banden handelte es sich um die Substanzen Farnesiferol A-C. Eine genaue Zuordnung war auf Grund fehlender Referenzen nicht möglich. Auch im HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 19) war nur eine eindeutige Zuordnung von Umbelliprenin möglich. Um welches Farnesiferol es sich im Einzelnen handelte musste offen bleiben. Die UV-Vis-Spektren ähnelten dem des Umbelliprenins, mit dem die Farnesiferole verwandt sind. Die Zuordnung und die Quantifizierung ist in Tabelle 11 dargestellt.

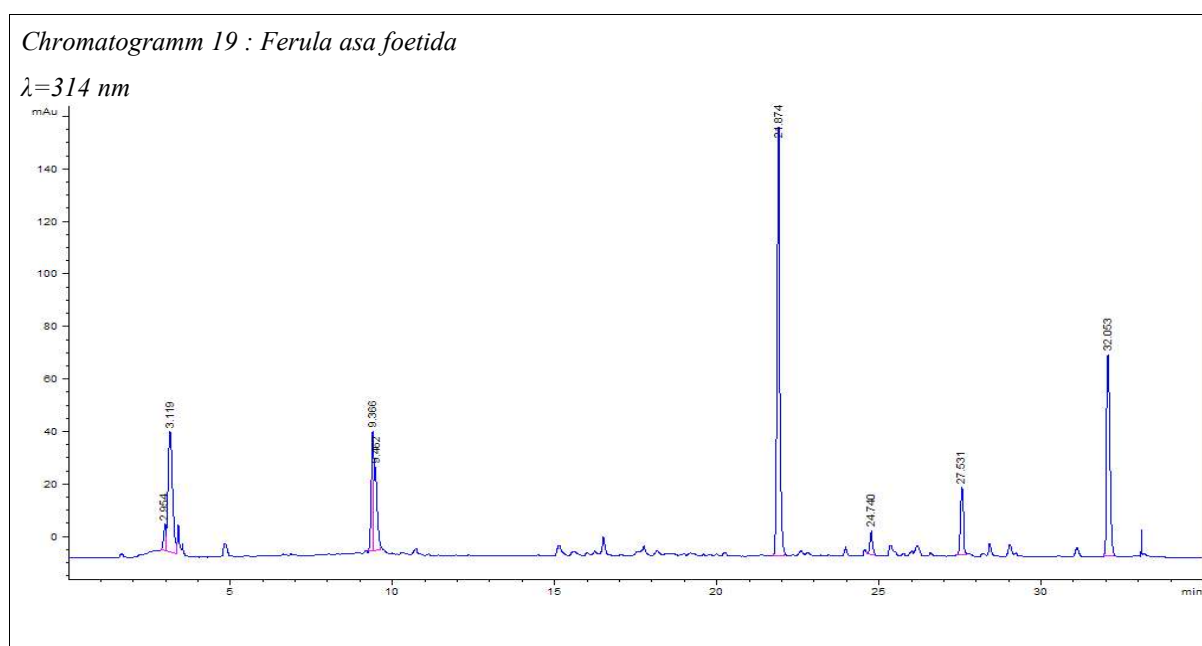
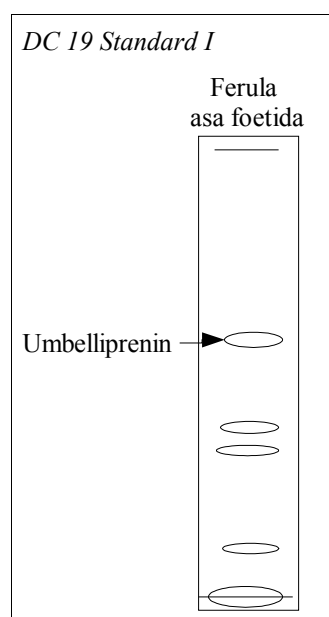


Tabelle 11 : Quantifizierung von *Ferula asa foetida*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
21,874	Farnesiferol (?)	0,0612	0,21
27,531	Farnesiferol (?)	0,0201	0,07
32,053	Umbelliprenin	0,0235	0,08

1.19 *Foeniculum vulgare* ssp. *vulgare* var. *vulgare* MILL.

1.19.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Foeniculum vulgare ssp. *vulgare* var. *vulgare* ist eine 90 bis 200 cm hohe, zweijährige Pflanze. Sie stammt aus Süd- und Südwesteuropa, findet sich jedoch auch verwildert in Mitteleuropa. Man findet die Pflanze entweder aus Kulturen verwildert oder auf Bahndämmen, in Weinbergen und auf Schuttflächen. Der Stängel ist rund mit feinen Rillen. Die Blätter sind 3 bis 4fach fiederschnittig. Die Fieder letzter Ordnung sind sehr schmal, fast haarförmig. Die Pflanze blüht mit 25-strahligen, gelben Dolden. Blütezeit ist Juli/August. Die Früchte sind bis zu 10 mm lang und von brauner Farbe. Die Form ist etwas gebogen, mit 5 Rippen.

1.19.2 Chemie der Cumarine

1.19.2.1 Literatur

Für die Früchte von *Foeniculum vulgare* sind folgende Cumarine beschrieben: Aesculetin, Bergapten, Columbianadin, Osthenol, Scopoletin, Scoparon, Seselin und Umbelliferon [Murray et al. 1982]. In einer anderen Arbeit werden nur Columbianadin, Osthenol, Psoralen, Scoparon und Seselin erwähnt [Mendez et al. 1981].

1.19.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 20) zeigte nur eine fluoreszierende Bande am Start. Diese Bande stammte von Phenolcarbonsäuren. Es gab keinerlei Hinweise auf die in der Literatur erwähnten Cumarine. Auch mittels HPLC (Chromatogramm 20) waren keine Cumarine zu identifizieren. In der Quelle von Murray gab es keinerlei Angaben über die Herstellung des Extraktes und ob die Cumarine dann speziell angereichert wurden. Es war jedenfalls nicht möglich diese Ergebnisse zu reproduzieren. Der Hauptpeak des Chromatogramms bei RT 23,720 min stammt aus der Hauptkomponente des ätherischen Öls, dem *trans*-Anethol.

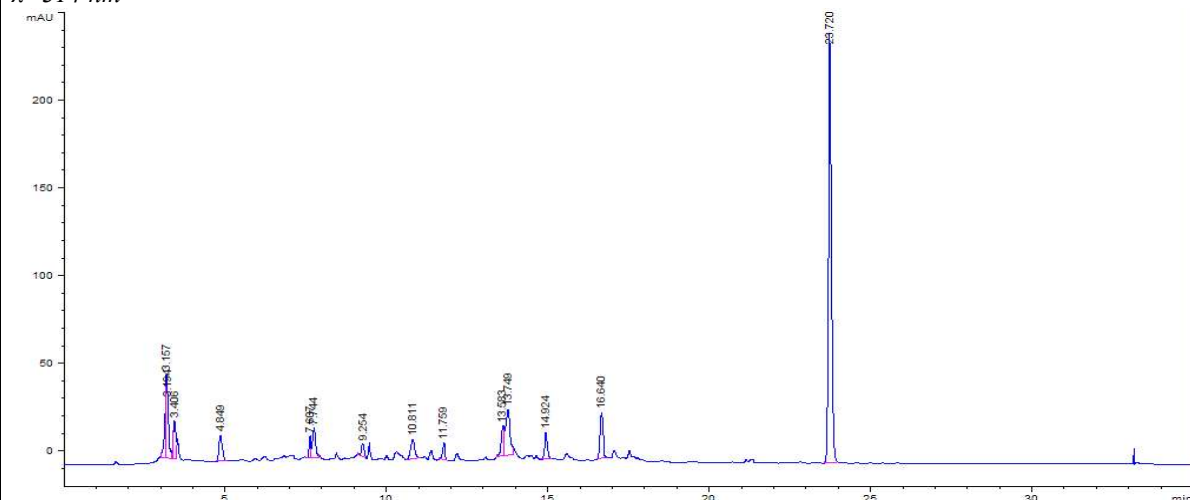
DC 20 Standard I

Foeniculum
vulgare



Chromatogramm 20 : *Foeniculum vulgare ssp. vulgare var. vulgare*

$\lambda = 314 \text{ nm}$



1.20 *Heracleum lanatum* MICHX.

1.20.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Heracleum lanatum ist eine bis 150 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet diese Pflanze in Nordamerika bis nach Alaska, auf Fettwiesen und an Auwäldern. Der Stängel ist kantig gefurcht mit wolliger Behaarung. Die Blätter sind unterschiedlich gefiedert und auf der Oberseite borstig behaart. Die Blütendolden haben einen Durchmesser von 5 bis 15 cm. Die Blütenfarbe ist zumeist weiß, kann aber auch rosa sein. Blütezeit ist Juni/Juli. Die Frucht ist bis 10 mm lang, von beiger Farbe. Sie ist fast ebenso breit wie lang und extrem flach. Zwei Rippen sind zu schmalen Flügelleisten umgewandelt.

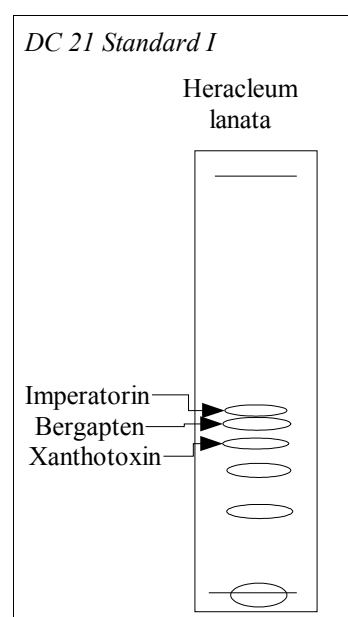
1.20.2 Chemie der Cumarine

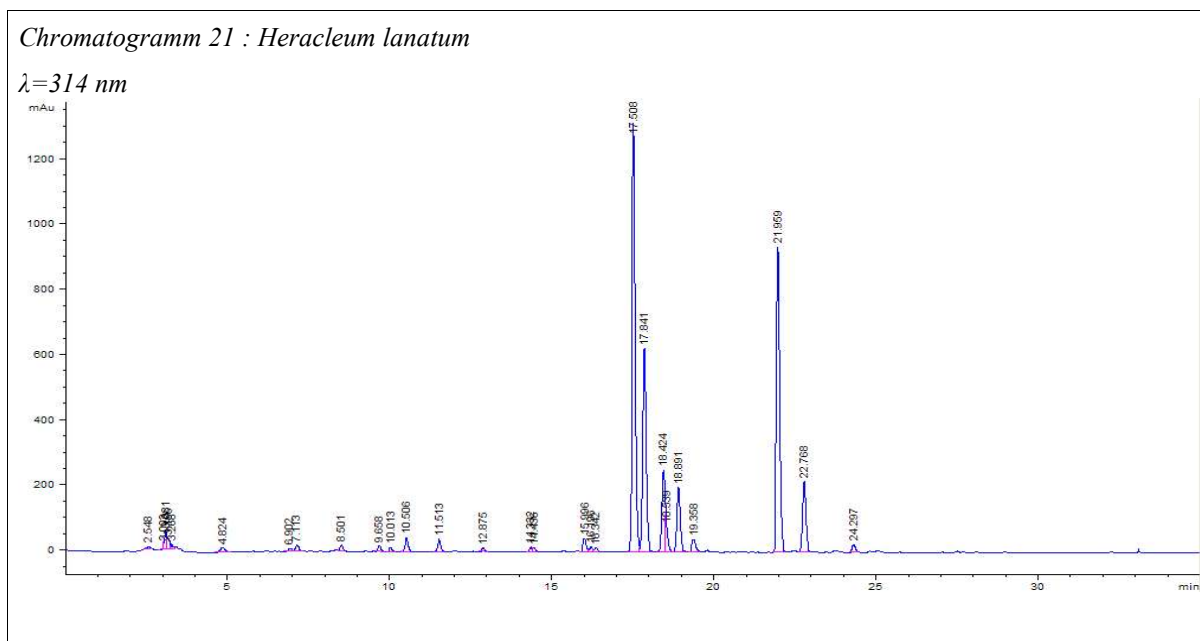
1.20.2.1 Literatur

In der Literatur werden für die Früchte von *Heracleum lanatum* folgende Cumarine beschrieben: Angelicin, Bergapten, Columbianetin, Imperatorin, Isobergapten, Isopimpinellin, Pimpinellin und Sphondin. Für die Blätter werden zusätzlich Psoralen und Umbelliferon und Xanthotoxin beschrieben [Murray et al. 1982]. Auch eine weitere Quelle beschreibt Xanthotoxin für die Blätter [Zobel et al. 1990].

1.20.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard DC (DC 21) zeigte entgegen den Angaben in der Literatur auch für die Früchte das Vorkommen von Xanthotoxin. Dieses Ergebnis deckte sich jedoch nicht mit den Literaturangaben. Das Ergebnis der HPLC-Analyse (Chromatogramm 21) deckte sich weitestgehend mit den Literaturangaben. Isobergapten konnte auf Grund fehlender Referenz nicht identifiziert werden. Alle Zuordnungen und Quantifizierungen sind in Tabelle 12 zusammengestellt.



Tabelle 12 : Quantifizierung von *Heracleum lanatum*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
11,541	Xanthotoxol	0,0064	0,02
15,996	Sphondin	0,0139	0,04
16,342	Xanthotoxin	0,0024	0,01
17,508	Bergapten	0,1385	0,44
	unbekanntes		
17,841	Furanocumarine ¹⁾	0,1164	0,37
18,424	Pimpinellin	0,0427	0,13
	unbekanntes		
18,891	Furanocumarin ²⁾	0,0261	0,08
	unbekanntes		
19,358	Furanocumarin	0,0067	0,02
21,959	Imperatorin	0,1743	0,55
22,768	Isopimpinellin	0,0307	0,10
	unbekanntes		
24,297	Furanocumarin ³⁾	0,0041	0,01

1) strukturelle Ähnlichkeit mit Xanthotoxin

2) strukturelle Ähnlichkeit mit Isopimpinellin

3) strukturelle Ähnlichkeit mit Pimpinellin

1.21 *Heracleum mantegazzianum* SOMM. & LEV.

1.21.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Heracleum mantegazzianum ist eine bis 350 cm hohe, zwei bis mehrjährige Pflanze. Die Heimat liegt im Kaukasus, heute gilt die Pflanze in Deutschland als eingebürgert. Die Pflanze hat einen dicken, kahlen Stängel. Die Blätter sind dreizählig. Die Blattspreit kann eine Breite von bis zu 100 cm erreichen. Die weißen Blüten stehen in 50- bis 150-strahligen Dolden, die einen Durchmesser von 50 cm erreichen können. Blütezeit ist Juni bis August. Die Früchte sind bis 20 mm lang und etwa halb so breit. Die Farbe ist beige, oft schmutzig wirkend. Die Form ist oval und extrem flach. Zwei der Hauptrippen sind zu schmalen Flügelleisten umgewandelt.

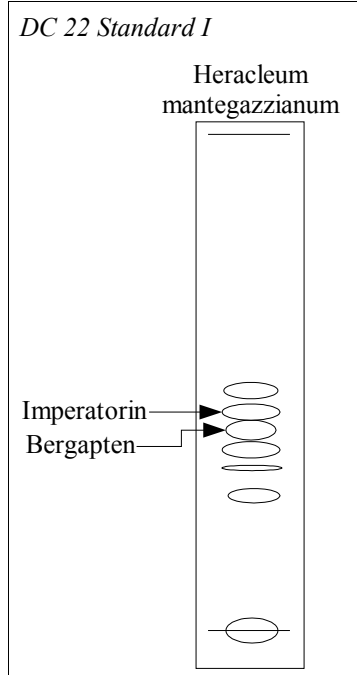
1.21.2 Chemie der Cumarine

1.21.2.1 Literatur

Für die Früchte von *Heracleum mantegazzianum* werden Angelicin, Bergapten, Imperatorin, Isopimpinellin, Phellopterin, Pimpinellin und Xanthotoxin beschrieben [Dragan et al. 1999]. Für die Wurzel werden zusätzlich Osthol, Sphondin und Umbelliferon angegeben [Murray et al. 1982], [Wawrzynowicz et al. 1989]. Bergapten wird als Cumarin der Wurzel in einer anderen Quelle genannt [Eichstedt Nielsen 1970]. Eine weitere Quelle beschreibt als zusätzliche Cumarine zu den zuvor genannten noch Isobergapten und Psoralen.[Erdelmeier et al. 1985]. Im Jahr 2000 wurden zwei neue Cumarine beschrieben (Limetin, 5,7-Dimethoxycumarin und 5-Methoxy-7-(3,3-Dimethylallyloxy)-cumarin) [Glowniak et al. 2000].

1.21.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 22) zeigte verschieden fluoreszierende Banden, von denen sich nur Bergapten und Imperatorin eindeutig zuordnen ließen. Die Bande unterhalb von Bergapten hatte den gleichen Rf-Wert wie Xanthotoxin, es konnte sich jedoch nicht um Xanthotoxin handeln, da diese Substanz nicht im HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 22) zu identifizieren war. Dies stand im Gegensatz zu den Angaben in der Literatur, in denen Xanthotoxin für die Früchte beschrieben wird. Als weiteres in der Literatur nicht genanntes Cumarin konnten den untersuchten Früchten Spuren von Oxypeucedanin nachgewiesen werden. Die Zuordnungen und Quantifizierungen der einzelnen Substanzen sind in Tabelle 13 zusammengestellt.



Chromatogramm 22 : *Heracleum mantegazzianum*

$\lambda = 314 \text{ nm}$

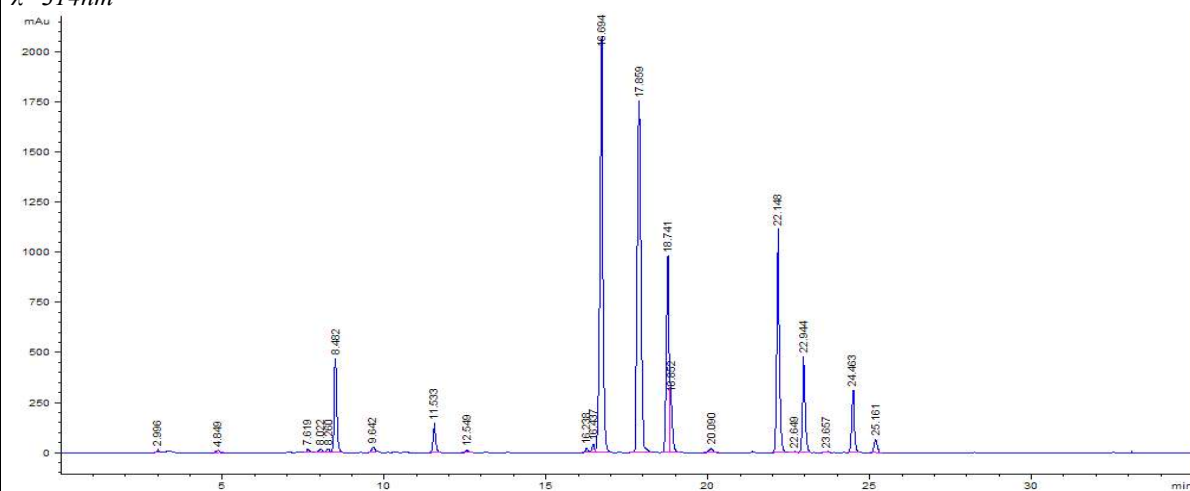


Tabelle 13 : Quantifizierung von *Heracleum mantegazzianum*

Retentionszeit [min]	Substanzname	c(mg/ml) im Extrakt	Prozent in den Früchten
8,482	unbekanntes Hydroxycumarin ¹⁾	0,0860	0,28
12,549	Xanthotoxol	0,0021	0,01
16,238	Psoralen	0,0052	0,02
16,437	Sphondin	0,0120	0,04
16,694	Angelicin	0,4212	1,37
17,859	Bergapten	0,1886	0,61
18,741	Pimpinellin	0,1596	0,52
18,852	Oxypeucedanin ^{*)}		
22,148	Imperatorin	0,2072	0,68
22,944	Isopimpinellin	0,0686	0,22
24,463	unbekanntes Furanocumarin ²⁾	0,0538	0,18

*) Dieser Peak wurde bei der für die Quantifizierung benötigten Wellenlänge nicht als separater Peak integriert.

1) typisches UV-Vis-Spektrum der Hydroxycumarine

2) strukturelle Ähnlichkeit mit Pimpinellin

1.22 *Heracleum sphondylium* L.

1.22.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Heracleum sphondylium ist eine bis 150 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet diese Pflanze in ganz Europa mit Ausnahme des hohen Nordens, auf Fettwiesen und an Auwäldern. Der Stängel ist kantig gefurcht mit borstiger Behaarung. Die Blätter sind unterschiedlich gefiedert und auf der Oberseite borstig behaart. Die Blütendolden haben einen Durchmesser von 5 bis 15 cm. Die Blütenfarbe ist zumeist weiß, kann aber auch rosa sein. Blütezeit ist Juni bis Oktober. Die Frucht ist bis 10 mm lang und von beiger Farbe. Sie ist fast ebenso breit wie lang und extrem flach. Zwei Rippen sind zu schmalen Flügelleisten umgewandelt.

1.22.2 Chemie der Cumarine

1.22.2.1 Literatur

In der Literatur sind für *Heracleum sphondylium* eine Reihe von Cumarinen angegeben. Für die Früchte werden Bergapten, Imperatorin und Isobergapten[Murray et al. 1982] beschrieben. In einer weiteren Quelle wird zusätzlich für die Wurzel Oroselol und Isopimpinellin[Brazdovicova et al. 1982] angegeben.

1.22.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 23) zeigte fünf fluoreszierende Banden, von denen 4 eindeutig zugeordnet werden konnten. Hierbei wurde auch Xanthotoxin und Oxypeucedanin gefunden, welches in den Literaturangaben für die Früchte nicht erwähnt wurde. Die Ergebnisse der DC wurden mit einer HPLC Analyse (Chromatogramm 23) untermauert. Mittels HPLC ließen sich noch weitere Cumarine, die auf der DC nicht sichtbar waren, identifizieren. Die Zuordnungen und entsprechenden Quantifizierungen sind in Tabelle 14 zusammengestellt.

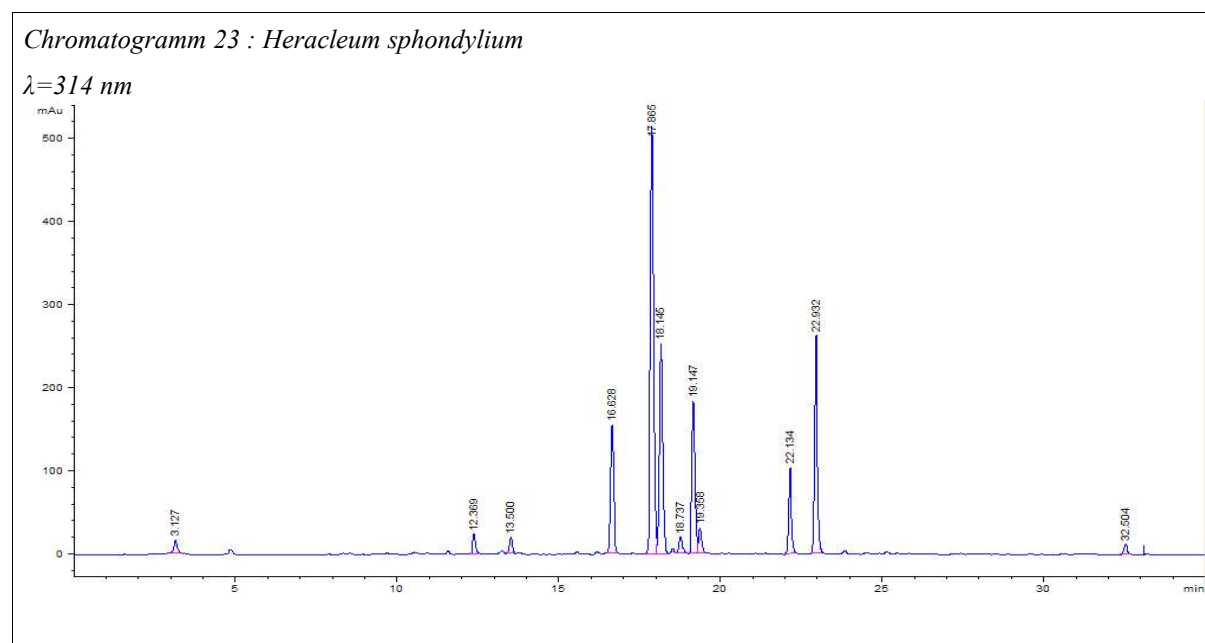
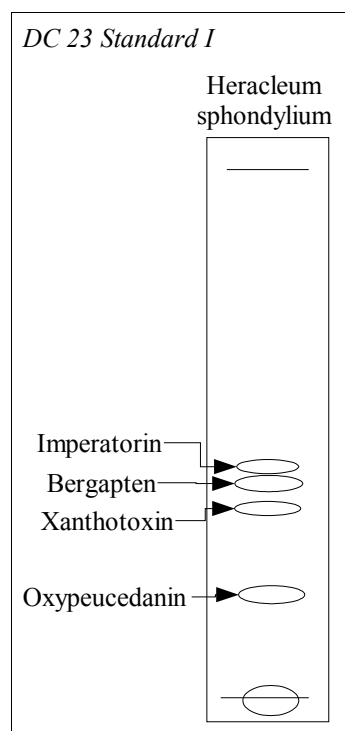


Tabelle 14 : Quantifizierung von *Heracleum sphondylium*

Retentionszeit [min]	Substanzname	c(mg/ml) im Extrakt	Prozent in den Früchten
12,369	Xanthotoxol	0,0040	0,01
16,628	Xanthotoxin	0,0272	0,09
17,865	Bergapten	0,0562	0,18
18,737	Pimpinellin	0,0036	0,01
	unbekanntes		
19,147	Furanocumarin ¹⁾	0,0241	0,08
19,358	Oxypeucedanin	0,0038	0,01
22,134	Imperatorin	0,0204	0,07
22,932	Isopimpinellin	0,0305	0,12
32,504	Umbelliprenin ^{*)}		

*) Diese Substanz konnte bei der für die Quantifizierung benutzten Wellenlänge nicht integriert werden.

1) strukturelle Ähnlichkeit mit Isopimpinellin

1.23 *Heracleum sphondylium* ssp. *ternatum*

1.23.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Heracleum sphondylium ssp. *ternatum* ist eine bis 150 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Der Habitus ist mit dem von *Heracleum sphondylium* fast identisch. Die Blütendolden haben einen Durchmesser von 5 bis 15 cm. Die Blütenfarbe ist zumeist weiß bis gelblich. Blütezeit ist Juni bis Oktober. Die Frucht ist bis 10 mm lang und von beiger Farbe. Sie ist fast ebenso breit wie lang und extrem flach. Zwei Rippen sind zu schmalen Flügelleisten umgewandelt.

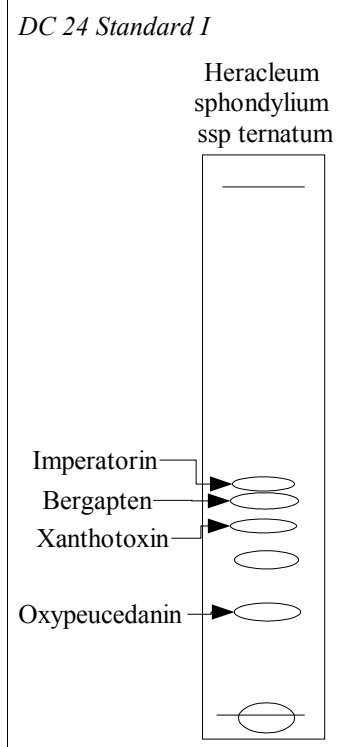
1.23.2 Chemie der Cumarine

1.23.2.1 Literatur

In der Literatur gibt es keine Angaben über Cumarine für diese Subspezies von *Heracleum sphondylium*.

1.23.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 24) zeigte ein bis auf eine Bande identisches Bild zu *Heracleum sphondylium* (siehe dort). Das HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 24) hingegen zeigte einige Unterschiede. So konnten in diesem Extrakt Oxypeucedanin-Hydrat und Sphondin identifiziert werden, wohingegen Umbelliprenin nicht vorhanden war. Alle Zuordnungen und quantitativen Ergebnisse sind in Tabelle 15 zusammengestellt.



Chromatogramm 24 : *Heracleum sphondylium ssp. ternatum*

$\lambda = 314 \text{ nm}$

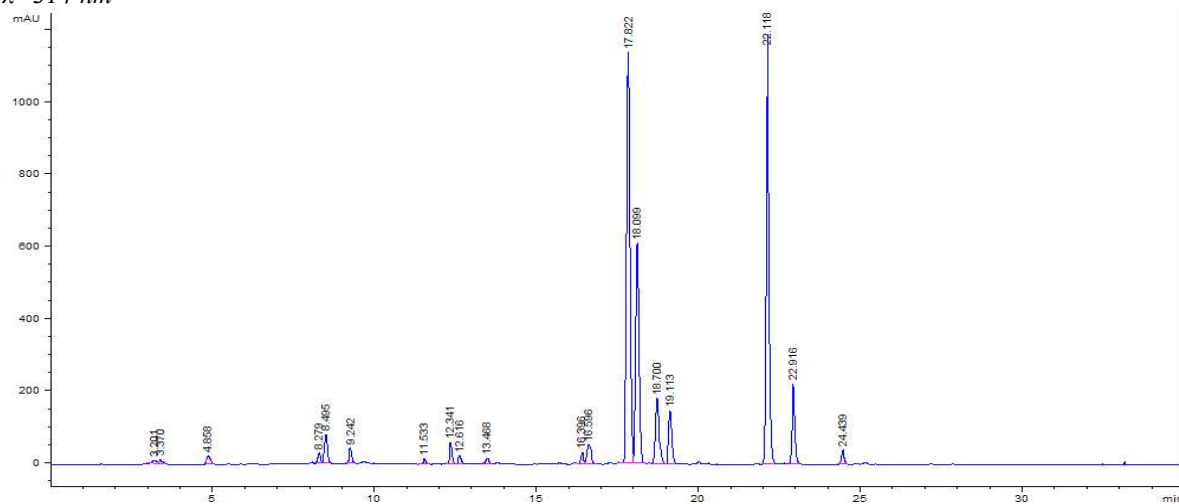


Tabelle 15 : Quantifizierung von *Heracleum sphondylium* ssp. *ternatum*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
12,341	Xanthotoxol	0,0097	0,03
12,616	Oxypeucedanin- Hydrat	0,0040	0,01
13,468	unbekanntes Furanocumarin ¹⁾	0,0019	0,01
16,396	Sphondin	0,0100	0,04
16,696	Xanthotoxin	0,0088	0,03
17,822	Bergapten	0,1226	0,43
18,099	unbekanntes Furanocumarin ²⁾	0,1147	0,40
18,700	Pimpinellin	0,0311	0,11
19,113	unbekanntes Furanocumarin ³⁾	0,0197	0,07
22,118	Imperatorin	0,2117	0,74
22,916	Isopimpinellin	0,0316	0,11
24,439	unbekanntes Furanocumarin ⁴⁾	0,0068	0,02

1) strukturelle Ähnlichkeit zu Isopimpinellin

2) strukturelle Ähnlichkeit zu Xanthotoxin

3) strukturelle Ähnlichkeit zu Isopimpinellin

4) strukturelle Ähnlichkeit zu Pimpinellin

1.24 *Levisticum officinalis* KOCH.

1.24.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Levisticum officinalis ist eine bis 200 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet *Levisticum officinalis* als Kulturpflanze in fast ganz Europa, die Heimat ist wahrscheinlich Westasien. Die Pflanze wächst bis in einer Höhe von 1200 m. Der Stängel ist glatt und rund. Die Blätter sind 3- zählig und 2- bis 3fach fiederschnittig. Die Fieder sind leicht fleischig und rhombisch. Die Blätter können eine Länge von 70 cm und eine Breite von 65 cm erreichen. Die gelben

Blüten stehen in leicht gewölbten, bis 12 cm breiten Dolden. Blütezeit ist Juli/August. Die Früchte sind 5 mm lang, hellbraun und leicht gebogen. Die Rippen sind zu schmalen Leisten verbreitert.

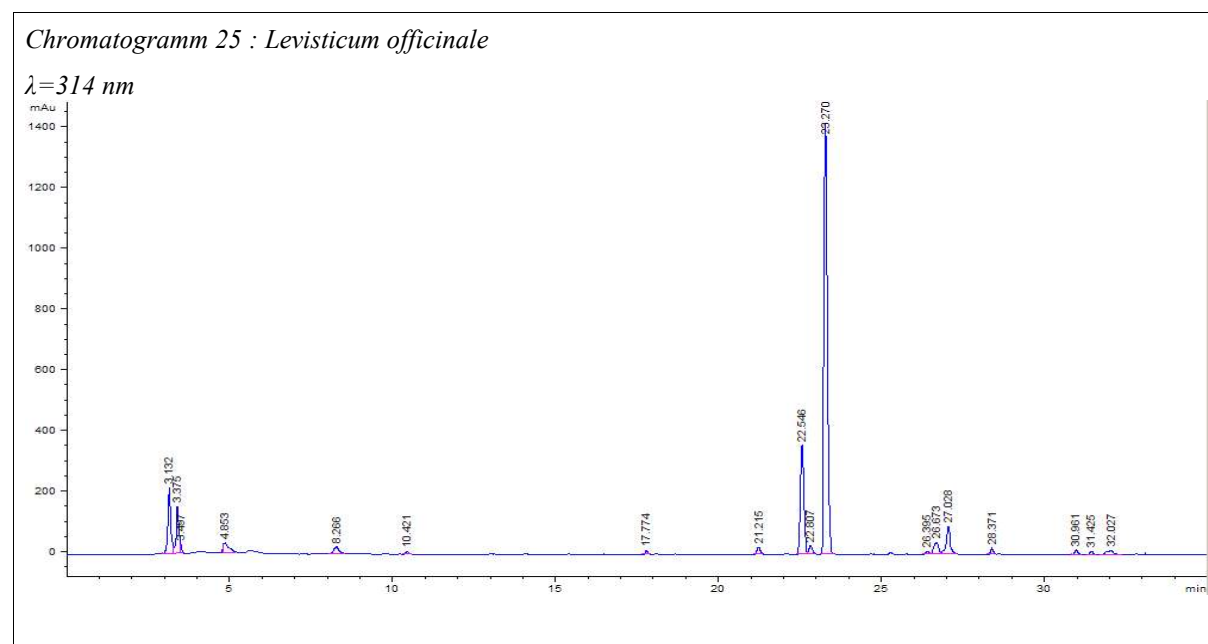
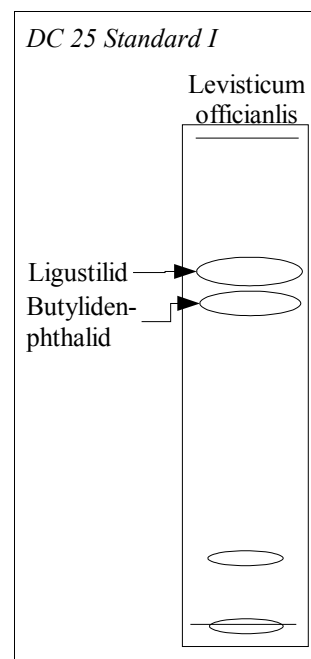
1.24.2 Chemie der Cumarine

1.24.2.1 Literatur

In der Literatur finden sich für die Wurzeln von *Levisticum officinalis* Angaben für folgende Cumarine: Bergapten, Psoralen, Umbelliferon und Cumarin [Murray et al. 1982], [Karlsen et al. 1969], [Eichstedt Nielsen 1970].

1.24.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 25) wurde von den stark fluoreszierenden Banden des Ligustildes und Butylidenphthalids dominiert. Bergapten und die anderen Cumarine, die in der Literatur erwähnt werden, ließen sich auf der DC nicht detektieren. Auch mittels HPLC (Chromatogramm 25) konnte nur Bergapten identifiziert



werden. Die übrigen Cumarine, die für die Wurzel beschrieben werden, waren in den untersuchten Früchten nicht nachweisbar. Die Zuordnung und die Quantifizierung sind in Tabelle 16 dargestellt.

Tabelle 16 : Quantifizierung von *Levisticum officinalis*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
17,774	Bergapten	0,0015	0,005
22,546	Z-Butylidenphthalid	0,0291	0,09
23,270	Z-Ligustilid	0,1135	0,37

1.25 *Ligusticum scoticum* L.

1.25.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Ligusticum scoticum ist eine 15 bis 90 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet sie im nördlichen Dänemark und auf den britischen Inseln. Sie wächst im Küstenbereich. Der Stängel ist hohl und bis in den Blütenbereich beblättert. Die Blätter sind doppelt dreizählig gefiedert. Die Fieder sind ei- bis rautenförmig. Die Blüten stehen in weißen Dolden. Blütezeit ist im Juli. Die Früchte sind 9 mm lang und gräulich- bis gelblichbeige. Die Früchte sind leicht gebogen. Zwei der Rippen sind zu Flügelleisten umgewandelt. Die Flügelleisten sind etwa halb so breit wie die Frucht selbst.

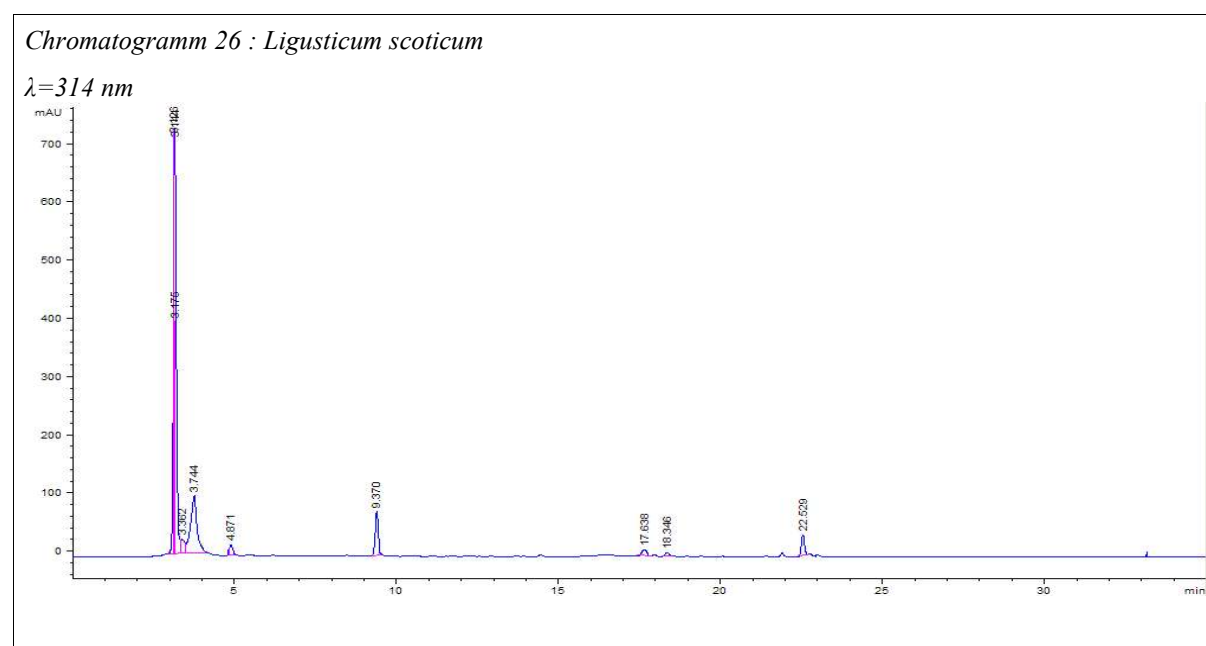
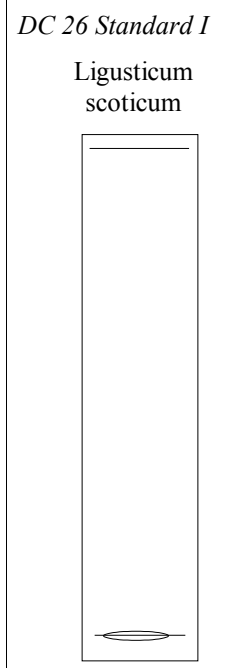
1.25.2 Chemie der Cumarine

1.25.2.1 Literatur

Für *Ligusticum scoticum* wird in der Literatur Scopoletin als Cumarin, das in den Blättern vorkommt, beschrieben [Murray et al. 1982].

1.25.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 26) zeigte nur eine Bande am Start, bei der es sich um Phenolcarbonsäuren handelte. Die wurde durch das HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 26) bestätigt, in dem die Phenolcarbonsäuren vom Kaffeesäure-Typ im Bereich von RT 3 bis 4 min lagen. Das für die Blätter angegebene Scopoletin konnte in den Früchten nicht nachgewiesen werden.



1.26 *Oenanthe pimpinelloides* L.

1.26.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Oenanthe pimpinelloides ist eine bis 100 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet die Pflanze zerstreut in Belgien und Holland, in Deutschland fehlt sie. *Oenanthe pimpinelloides* wächst auf feuchten Böden. Die Grundblätter sind einfach, die Stängelblätter einfach bis doppelt gefiedert. Die weißen Blüten stehen in kurz gestielten Dolden. Die Blütenstiele und Doldenstrahlen verdicken sich während der Fruchtreife. Blütezeit ist Juni/Juli. Die Früchte sind 4 bis 5 mm lang, von schmutzig beiger Farbe.

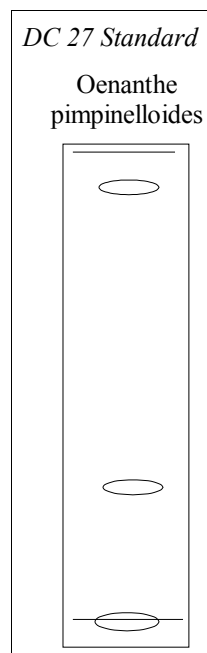
1.26.2 Chemie der Cumarine

1.26.2.1 Literatur

In der Literatur finden sich keine Angaben über das Vorkommen von Cumarinen in *Oenanthe pimpinelloides*.

1.26.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 27) zeigte drei fluoreszierende Banden, die bis auf die Bande am Start äußerst schwach, bis kaum sichtbar waren. Mittels HPLC (Chromatogramm 27) ließen sich vier Substanzen an Hand der UV-Vis-Spekten als Cumarine identifizieren. Davon ließen sich auch drei namentlich zuordnen. Die anderen beiden konnten auf Grund ihrer Lage im Chromatogramm und der Form ihres Spektrums den Pyranocumarinen zugeordnet werden. Die Hauptpeaks (RT 27,956 , 29,699 , 31,707-32,024) zeigten für Cumarine ganz untypische UV-Vis-Spektren (Abb. 14). Auf Grund der Lage im Chromatogramm musste es sich um sehr lipophile Substanzen handeln. Vermutlich sind diese Substanzen um Polyacetylene, oder deren Umwandlungsprodukte, die in der Gattung *Oenanthe* sehr häufig anzutreffen sind. Die namentliche Zuordnung und die quantitativen Ergebnisse sind in Tabelle 17 dargestellt.



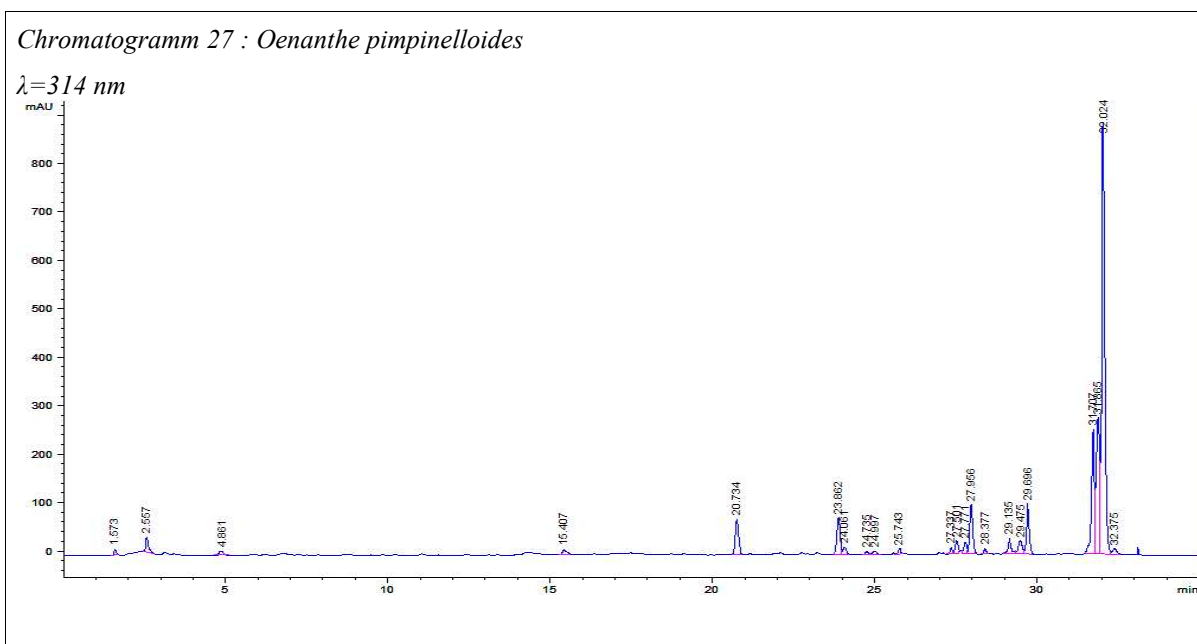
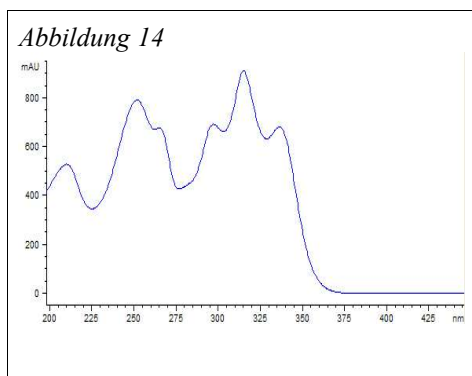


Tabelle 17 : Quantifizierung von *Oenanthe pimpinelloides*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
15,407	unbekanntes Cumarin ^{*)}		
20,734	unbekanntes Cumarin	0,0163	0,06
23,862	Samidin	0,0217	0,08
24,997	Visnadin	0,0071	0,03
32,375	Umbelliprenin ^{*)}		

^{*)} Dieser Peak ließ sich bei der für die Quantifizierung nötigen Wellenlänge nicht integrieren.

1.27 *Pastinaca sativa* L.

1.27.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Pastinaca sativa ist eine bis 100 cm hohe, zweijährige Pflanze. Man findet die Pflanze als alte Kulturpflanz in Europa weit verbreitet auf Wiesen und Trockenhängen und auf den Seitenstreifen von Straßen. Der Stängel ist kantig gefurcht und behaart. Die Blätter sind einfach, selten zweifach gefiedert, mit 3 bis 7 Fiederpaaren. Die gelben Blüten stehen in 5- bis 15-strahligen Dolden. Blütezeit ist Juli/August. Die Früchte sind 7 mm lang, flach und eiförmig. Die Farbe ist gelblichbraun bis hellbraun. Die Unterseite ist heller als die Oberseite. Zwei der Hauptrippen sind zu Flügelleisten umgewandelt. Die einzelnen Flügelleisten sind etwa halb so breit wie die Frucht.

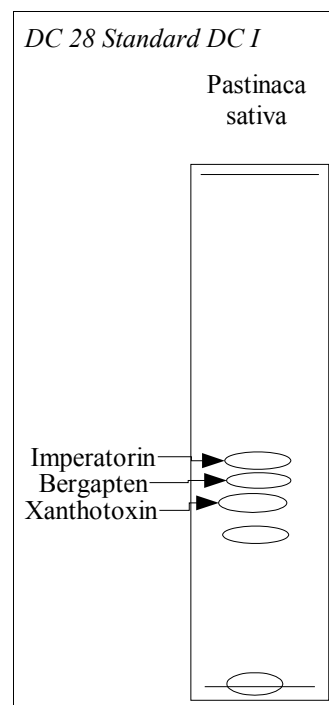
1.27.2 Chemie der Cumarine

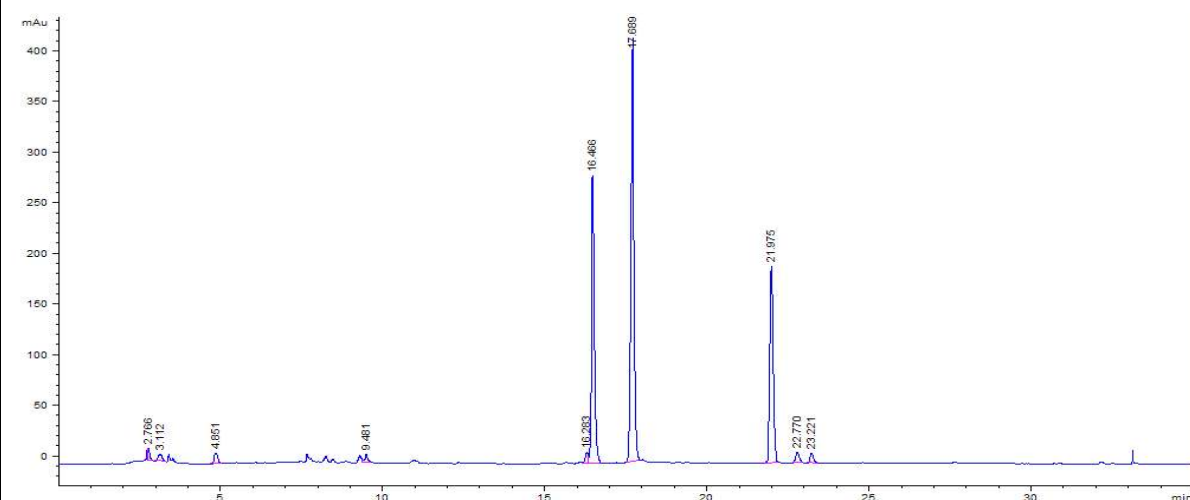
1.27.2.1 Literatur

Für *Pastinaca sativa* werden in der Literatur folgende Cumarine beschrieben: Bergapten, Imperatorin, Isopimpinellin und Xanthotoxin [Stein et al. 1984], [Eichstedt Nielsen 1970]. An anderer Stelle werden für die Früchte noch weitere Cumarine angegeben: Cumarin, Isobergapten, Osthol, Pimpinellin, Sphondin, Umbelliferon, Xanthotoxol [Murray et al. 1982].

1.27.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 28) zeigte die fluoreszierenden Banden von Imperatorin, Bergapten und Xanthotoxin. Es war noch eine schwache vierte Bande von bläulicher Farbe zu erkennen, bei der es sich um Sphondin handeln könnte. Hierfür sprach die quantitative Auswertung des HPLC-Chromatogramms (Chromatogramm 28). Die Peakzuordnung und die quantitativen Ergebnisse sind in Tabelle 18 zusammengestellt.



Chromatogramm 28 : *Pastinaca sativa* $\lambda = 314 \text{ nm}$ Tabelle 18 : Quantifizierung von *Pastinaca sativa*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
16,282	Sphondin	0,0034	0,05
16,466	Xanthotoxin	0,0498	0,71
17,689	Bergapten	0,0472	0,68
21,975	Imperatorin	0,0376	0,54
22,770	Isopimpinellin	0,0017	0,02

1.28 Petroselinum spec. HILL.

1.28.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Bei *Petroselinum spec.* handelt es sich um eine zweijährige Pflanze, die in vielen Kulturformen vorkommt. Petroselinum wird 30 bis 40 cm hoch. Der Stängel der Pflanze ist glatt und kahl. Die Blätter sind doppelt bis 3-zählig gefiedert und je nach Kulturform glatt oder stark gekräuselt. Man findet die Pflanze in ganz Europa. Die ursprüngliche Heimat liegt

vermutlich in Südost-Europa. Die grünlich-gelben zum Teil auch weissen Blüten stehen in lang gestielten Dolden. Blütezeit ist Juni/Juli. Die Früchte sind 3 mm lang, von grün-grauer Farbe. Die Hauptrippen sind als deutlich hellere Linien auf den Früchten zu erkennen.

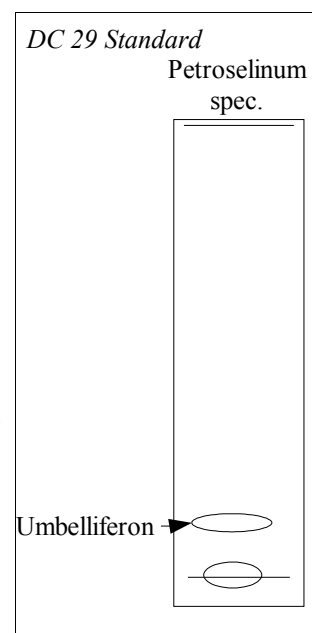
1.28.2 Chemie der Cumarine

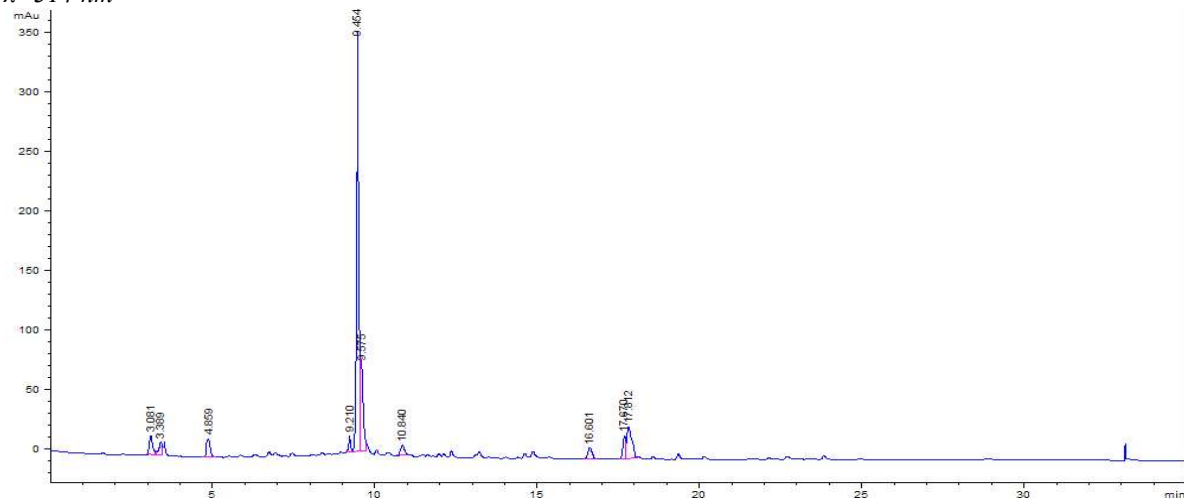
1.28.2.1 Literatur

In der Literatur werden für *Petroselinum* folgende Cumarine beschrieben: Bergapten, Cumarin, Heraclenol, Isopimpinellin, Xanthotoxin, Imperatorin und Oxypeucedanin. Es wurde entweder die ganze Pflanze [Murray et al. 1982], oder das Kraut bzw. die Wurzeln [Chaudhary et al. 1986], untersucht.

1.28.2.2 Eigene Ergebnisse

Auf der Standard-DC (DC 29) sah man nur zwei fluoreszierende Banden, von denen die obere äußerst schwach war. An Hand des R_f-Wertes ließ sich diese Bande als Umbelliferon identifizieren. Die anderen Cumarine, die mittels HPLC identifiziert wurden (Tabelle 19) lagen auf der DC unterhalb ihrer Nachweisgrenzen. Die identifizierten und quantifizierten Cumarine sind in Tabelle 19 dargestellt. Das in der Literatur als Hauptkomponente für das Kraut und die Wurzeln gefundene Oxypeucedanin konnte in den untersuchten Früchten auch mittels HPLC nicht nachgewiesen werden.



Chromatogramm 29 : *Petroselinum spec.* $\lambda = 314 \text{ nm}$ Tabelle 19 : Quantifizierung von *Petroselinum spec.*

<i>Retentionszeit [min]</i>	<i>Substanzname</i>	<i>Konzentration im Extrakt [mg/ml]</i>	<i>Prozent in den Früchten</i>
10,840	Umbelliferon	0,0137	0,045
16,601	Xanthotoxin	0,0013	0,004
17,670	unbekanntes Cumarin	0,0037	0,012
17,815	Bergapten	0,0033	0,011

1.29 *Peucedanum austriacum* (JACQ.) KOCH

1.29.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Peucedanum austriacum ist eine ca. 100 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet sie nur in Österreich an Waldrändern und auf buschigen Abhängen. *Peucedanum austriacum* hat einen kantig gefurchten Stängel. Die Blätter sind dreifach gefiedert, wobei jede Fieder wiederum dreifach gefiedert ist (doppelt dreifach gefiedert). Die Blütenfarbe ist weiß. Blütezeit ist Juli/August. Die Früchte sind ca. 8 mm lang, von gelblich-grauer Farbe. Zwei der Hauptrippen sind zu Flügelleisten umgebildet. Diese Flügelleisten haben eine Breite von mindestens 1,5 mm.

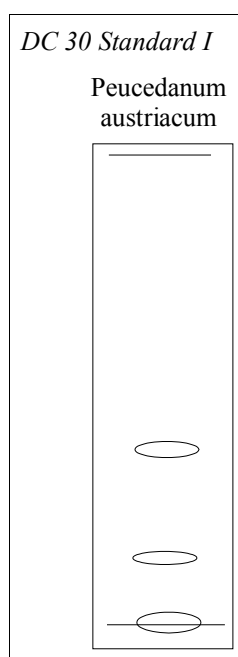
1.29.2 Chemie der Cumarine

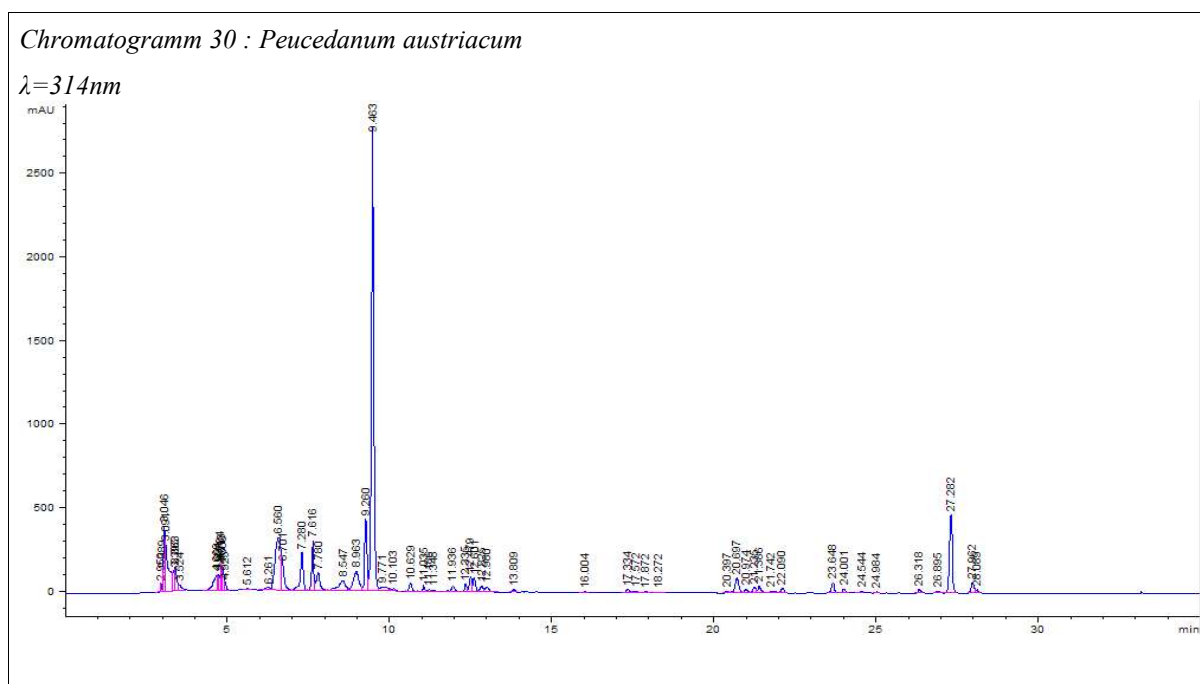
1.29.2.1 Literatur

In der Literatur finden sich Angaben über das Vorkommen von Dihydropyranocumarinen in den Wurzeln von *Peucedanum austriacum* [Milosavljevic et al. 1993], namentlich: Deltoin, Secorin, Zosimin und Agasyllin.

1.29.2.2 Eigene Ergebnisse

Auf der Standard-DC (DC 30) fanden sich 3 fluoreszierende Banden. Die Bande am Start stammte in diesem Fall von Chlorogensäure. Dies ließ sich mit der HPLC bestätigen. Im HPLC-Chromatogramm bildet Chlorogensäure den stärksten Peak (RT 9,463). Die anderen beiden Fluoreszenzen ließen sich auf Grund fehlender Referenzen nicht zuordnen. Im HPLC-Chromatogramm fanden sich mehrere Peaks, die auf das Vorkommen von Cumarinen hindeuteten. Die UV-Spektren der entsprechenden Substanzen zeigten große Ähnlichkeit mit dem Spektrum von Visnadin, bei dem es sich ebenfalls um ein Dihydropyranocumarin handelt. Die Zuordnungen und quantitative Auswertung ist in Tabelle 20 dargestellt.



Tabelle 20 : Quantifizierung von *Peucedanum austriacum*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
9,463	Chlorogensäure	0,2525	0,88
27,28	unbekanntes Cumarin ¹⁾	0,2702	0,94

1) Die Form des UV-Vis-Spektrums sprach für ein Hydropyranocumarin

1.30 *Peucedanum cervaria* (L.) LAP.

1.30.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Peucedanum cervaria eine 30 bis 100 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet sie in ganz Europa auf trockenen Magerwiesen und in lichten trockenen Wäldern. Der Stängel trägt am Grund einen Faserschopf. Die Blätter von *Peucedanum cervaria* sind zweifach gefiedert. Die Fieder sind eiförmig bis rhombisch und grannig gezähnt. Die Blüten stehen in weißen Dolden.

Blütezeit: Juli/August. Die Früchte sind 8 mm lang von orange-brauner Farbe. Die Unterseite ist heller gefärbt. Zwei der Hauptrippen sind zu Flügelleisten umgebildet. Die Breite einer Flügelleiste entspricht etwa der Breite der Frucht.

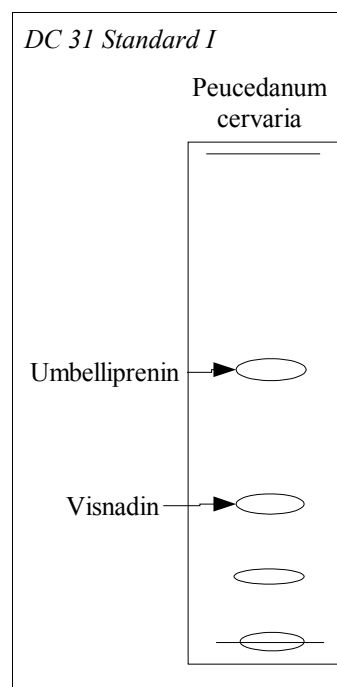
1.30.2 Chemie der Cumarine

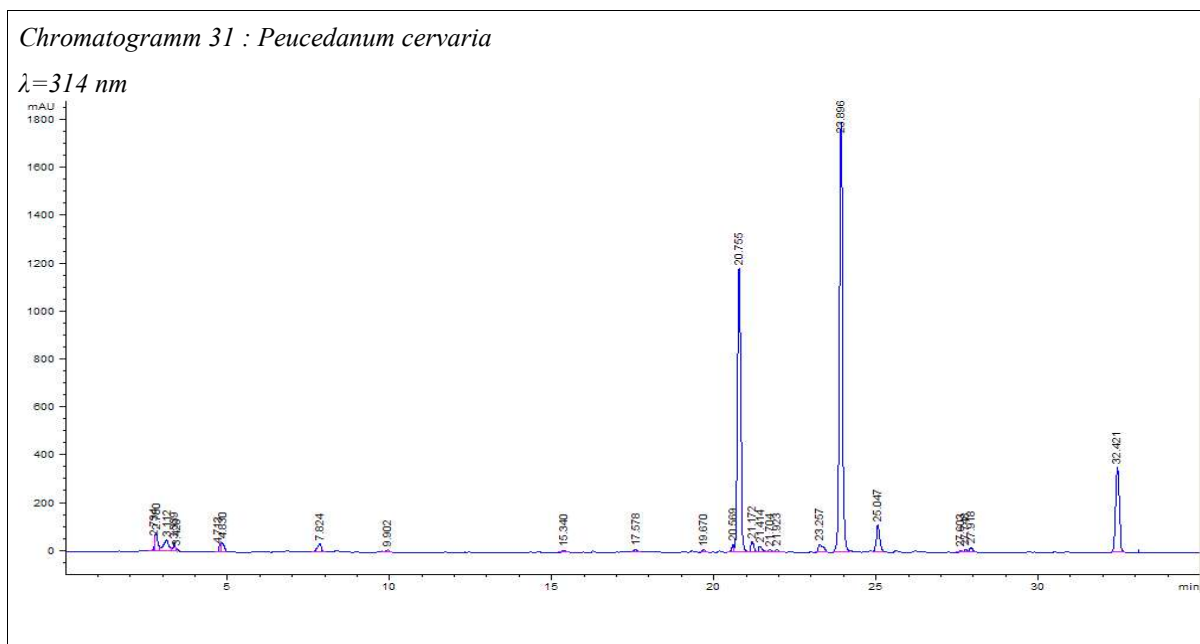
1.30.2.1 Literatur

Für *Peucedanum cervaria* werden zwei Cumarine beschrieben: Isoxypeucedanin und Oxypeucedanin [Murray et al. 1982]. Es gibt keine Angaben über den Pflanzenteil, in dem diese Substanzen gefunden wurden.

1.30.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 31) zeigte vier fluoreszierende Banden, von denen sich zwei eindeutig zuordnen ließen. Das in der Literatur erwähnte Oxypeucedanin und Isoxypeucedanin ließ sich in den untersuchten Früchten nicht detektieren. Mit der HPLC-Analyse bestätigten sich die Zuordnungen der DC. Die beiden Hauptpeaks des Chromatogramms (Chromatogramm 31) ließen sich auf Grund fehlender Referenzen nicht identifizieren. Auf Grund der Form der UV-Spektren konnte davon ausgegangen werden, dass es sich bei diesen Substanzen um Cumarinderivate handelt. Die Spektren waren denen von Columbianadin und Visnadin sehr ähnlich. Somit kann es sich bei diesen Substanzen entweder um Dihydropyrano- oder um Hydrofuranocumarine handeln. Die Zuordnung der identifizierten und quantifizierten Cumarine ist in Tabelle 21 dargestellt.



Tabelle 21 : Quantifizierung von *Peucedanum cervaria*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
20,755	unbekanntes Cumarin	0,1722	0,63
23,895	unbekanntes Cumarin	0,2132	0,76
25,049	Visnadin	0,0244	0,09
32,421	Umbelliprenin	0,0943	0,34

1.31 *Peucedanum officinale* L.

1.31.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Peucedanum officinale ist eine 50 bis 100 cm, vereinzelt auch bis 200 cm hohe, mehrjährige Pflanze. Man findet sie in ganz Europa, mit Ausnahme von Skandinavien. *Peucedanum officinale* wächst auf Wiesen und Trockenrasen. Der Stängel der Pflanze ist rund. Die Blätter sind 3 bis 6 mal dreizählig zerschnitten. Die einzelnen Fieder können bis zu 9 cm lang sein. Der Habitus des Blattes ähnelt einen Reisigbesen. Die gelben Blüten stehen in 10- bis 40-strahligen Dolden. Blütezeit ist von Juli bis September. Die Früchte sind 7 mm lang, von

hellbrauner Farbe. Die Unterseite ist gelblich-weiß mit zwei schwarzen Linien neben der Mittelrippe. Zwei der Rippen sind zu Flügelleisten umgewandelt, die jeweils etwa die Hälfte der Fruchtbreite ausmachen.

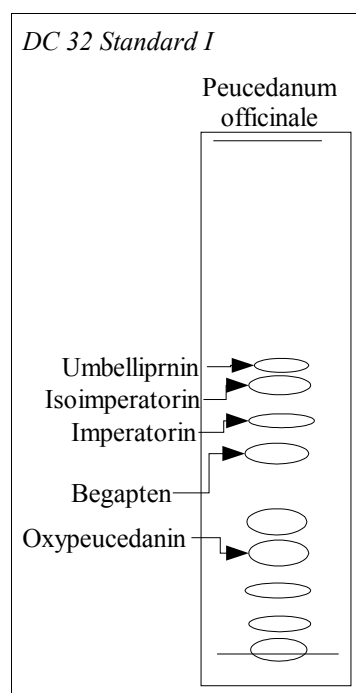
1.31.2 Chemie der Cumarine

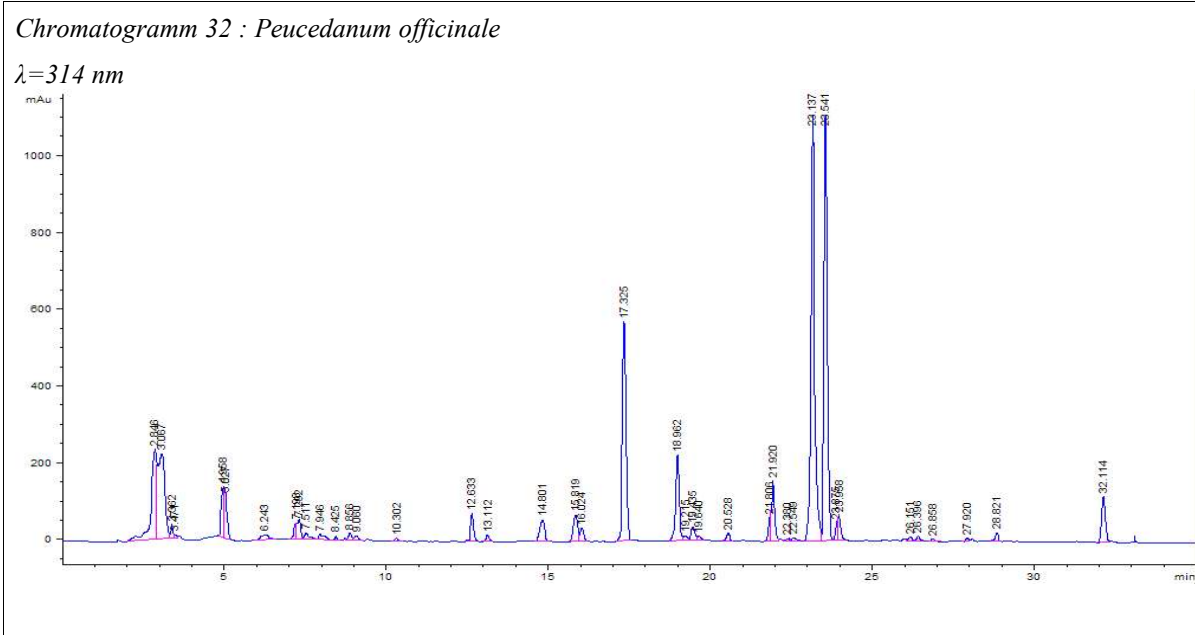
1.31.2.1 Literatur

In der Literatur sind für *Peucedanum officinale* folgende Cumarine beschrieben: Bergapten, Isobergapten, Isoimperatorin, Officinalin, Officinalin-Acetat, Officinalin-Isobutytrat, Oroselon, Peucedanin, Scoparon und Scopoletin. Es wird nicht genauer definiert, in welchem Pflanzenteil diese Cumarine gefunden wurden. Es wird nur von oberirdischen Teilen gesprochen. In den Wurzeln kommen nur fünf Cumarine vor: ($\pm$)-Oxypeucedanin, Xanthotoxin, Bergaptol, Orselon, Peucedanin [Murray et al. 1982]. In einer weiteren Arbeit wurde Isoimperatorin in den Wurzeln von *Peucedanum officinale* gefunden [Dabine Lengyel et al. 1986].

1.31.2.2 Eigene Ergebnisse

Auf der Standard-DC ließen sich viele Cumarinbanden erkennen, von denen sich die in DC 32 beschrifteten gut zuordnen ließen. Über weitere Substanzen gab die HPLC Aufschluss. Die quantitativen Daten sind in Tabelle 22 zusammengestellt. Die Ergebnisse deckten sich weitgehend mit den Literaturangaben. Als zusätzliche Komponenten sind für die Früchte vor allem Bergapten und Umbelliprenin zu nennen, die in der Literatur nicht erwähnt werden.



Tabelle 22 : Quantifizierung von *Peucedanum officinale*

<i>Retentionszeit [min]</i>	<i>Substanzname</i>	<i>Konzentration im Extrakt [mg/ml]</i>	<i>Prozent in den Früchten</i>
12,633	Oxypeucedanin- Hydrat	0,0075	0,02
16,024	Xanthotoxin	0,0058	0,02
17,325	Bergapten	0,0646	0,18
18,962	Oxypeucedanin	0,0248	0,07
21,802	Imperatorin	0,0126	0,04
23,137	Peucedanin	0,1426	0,41
23,541	Isoimperatorin	0,1256	0,36
23,958	Columbianadin	0,0164	0,05
32,114	Umbelliprenin	0,0388	0,11

1.32 *Peucedanum palustre* (L.) MOENCH.

1.32.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Peucedanum palustre ist eine 80 bis 150 cm hohe, zweijährige Pflanze. Man findet sie in Nord- und Mitteleuropa bis Südfrankreich, im Norden und in Höhenlagen fehlt sie. *Peucedanum palustre* wächst stets auf sumpfigen und feuchtem Gelände. Der Stängel der Pflanze ist kantig und rötlich überlaufen. Die Blätter sind zwei- bis mehrfach gefiedert. Die weißen Blüten stehen in 15 bis 30strahligen Dolden. Blütezeit ist Juli bis September. Die Früchte sind eiförmig und bis zu 5 mm lang und von orange-brauner Farbe, die Unterseite ist heller gefärbt. Zwei Hauptrippen sind zu Flügelleisten umgewandelt. Diese Flügelleisten sind heller als der Rest der Frucht gefärbt.

1.32.2 Chemie der Cumarine

1.32.2.1 Literatur

In der Literatur werden für die Früchte von *Peucedanum palustre* viele Cumarine beschrieben. Als solche werden genannt: Columbianadin, Columbianadinoxid, Imperatorin, Isoimperatorin, Isooxypeucedanin, Isopeulustrin, Peucedanin, Peulustrin und Umbelliprenin [Murray et al. 1982]. Diese Angaben decken sich mit den Angaben aus weiterer Literatur [Eichstedt Nielsen 1970]. Des weiteren wird über das Vorkommen von chemischen Rassen bei *Peucedanum palustre* berichtet. Hierbei werden drei Rassen unterschieden. Die erste hat Oxypeucedanin und Columbianadin als Hauptkomponenten, eine weitere hat Bergapten und Columbianadin, und die dritte Bergapten, Oxypeucedanin und Columbianadin als Hauptkomponenten [Vourela 1989]. Diese Angaben beziehen sich jedoch auf Ergebnisse, die bei der Untersuchung der Wurzeln von *Peucedanum palustre* gemacht wurden.

1.32.2.2 Eigene Ergebnisse

Auf der Standard-DC (DC 33) ließen sich 8 fluoreszierende Banden erkennen, von denen sich die Banden von Umbelliprenin, Columbianadin und Imperatorin gut zuordnen ließen. Weitere Cumarine wurden mittels HPLC identifiziert (Tabelle 23). Die identifizierten Cumarine deckten sich mit den Angaben aus der Literatur. Nur Bergapten konnte in den Früchten nicht gefunden werden. Neu war Oxypeucedanin-Hydrat, das in der Literatur nicht erwähnt wird. Die Einteilung in chemische Rassen scheint möglicherweise auch für die Cumarine in den Früchten zu gelten. Bei den untersuchten Früchten handelte es sich um den Typ, der Oxypeucedanin und Columbianadin als Hauptkomponente enthält. Die untersuchten Früchten enthielten allerdings Umbelliprenin fast in der gleichen Konzentration wie Columbianadin. Die Ergebnisse der Quantifizierung sind in Tabelle 23 zusammen gestellt.

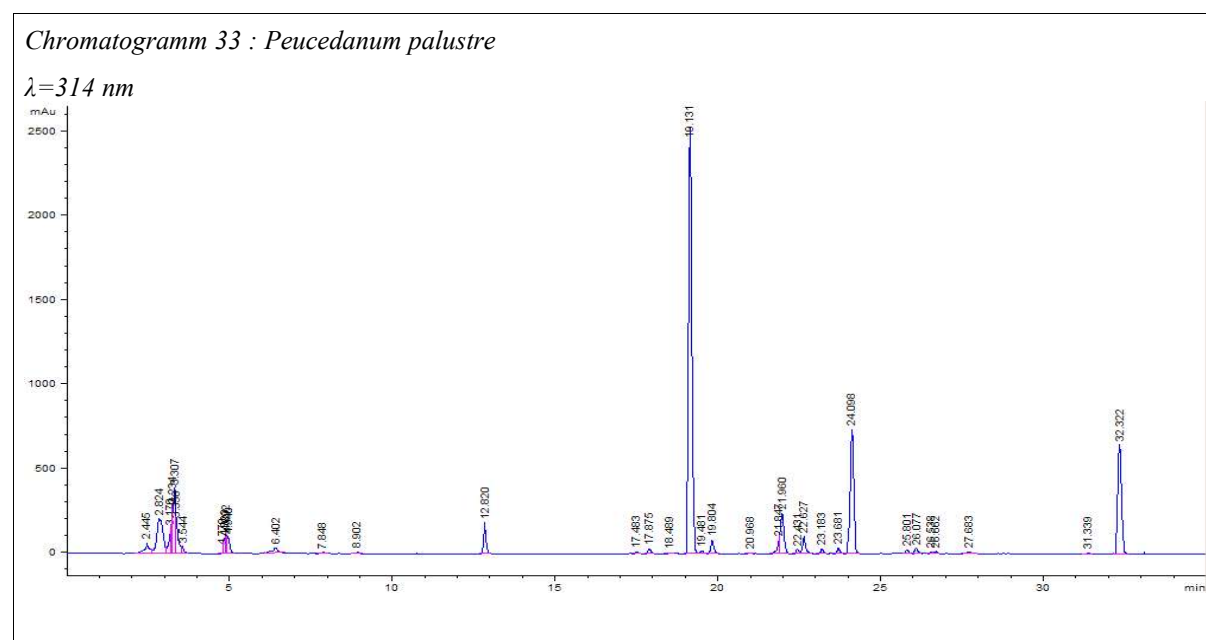
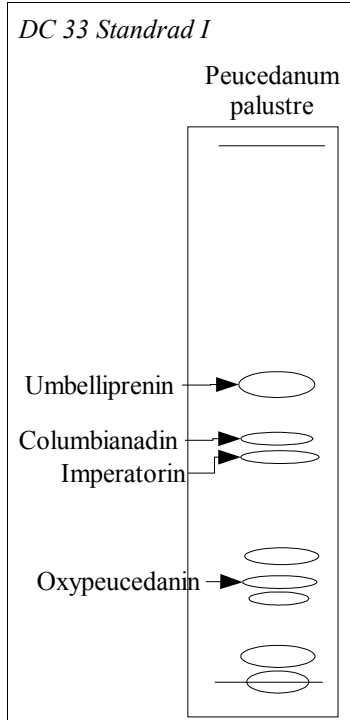


Tabelle 23 : Quantifizierung von *Peucedanum palustre*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
12,820	Oxypeucedanin- Hydrat	0,0196	0,08
19,131	Oxypeucedanin	0,2323	0,98
21,960	Imperatorin	0,0459	0,19
23,681	Isoimperatorin	0,0043	0,02
24,098	Columbianadin	0,1484	0,63
32,322	Umbelliprenin	0,1434	0,61

1.33 *Peucedanum verticillare* (L.) KOCH ex DC.

1.33.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Peucedanum verticillare ist eine 120 bis 350 cm hohe, mehrjährige Pflanze. *Peucedanum verticillare* kommt vor allem in den österreichischen Alpen vor. Hier wächst sie an trockenen Abhängen auf kalkhaltigen Böden. Der kahle Stängel ist im oberen Bereich gegen- oder quirlständig verzweigt. Die Blätter sind 2- bis 3fach gefiedert. Die Blüten sind grünlich-gelb. Blütezeit ist Juni-August. Die Früchte sind 8 mm lang und von dunkelbrauner Farbe. Sie tragen auf der Unterseite eine deutlich hellere Leiste. Die äußeren beiden Hauptrippen sind zu großen Flügelleisten umgebildet, die größer als die eigentliche Frucht sind.

1.33.2 Chemie der Cumarine

1.33.2.1 Literatur

Für diese Pflanze beschreibt eine Literaturangabe das Vorkommen von Cumarinen und zwar das Cumarin Bergapten [Murray et al. 1982]. Unklar bleibt in welchem Pflanzenteil dieses Cumarin vorkommt.

1.33.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 34) zeigt verschieden fluoreszierende Banden. Bei der obersten blauen Bande handelt es sich um das Cumarin Umbelliprenin. Bei der mittleren blauen Bande handelte es sich um Samidin. Dies ließ sich aus der Standard-DC von *Ammi visnaga* ableiten (siehe auch dort). Bergapten lies sich weder mit der DC noch mittels HPLC in den untersuchten Früchten nachweisen. Es war daher davon auszugehen, dass sich die Literaturangabe auf einen anderen Pflanzenteil bezog. Der Hauptpeak des Chromatogramms (RT 20,686) besaß ein UV-Spektrum ähnlich dem von Samidin. Dies ließ die Vermutung zu, dass es sich um ein Cumarin handelte, das strukturell sehr eng mit Samidin verwandt war. Für diese These sprach auch die Übereinstimmung in der Retentionszeit. Die Quantifizierung der Hauptpeaks ist Tabelle 24 dargestellt.

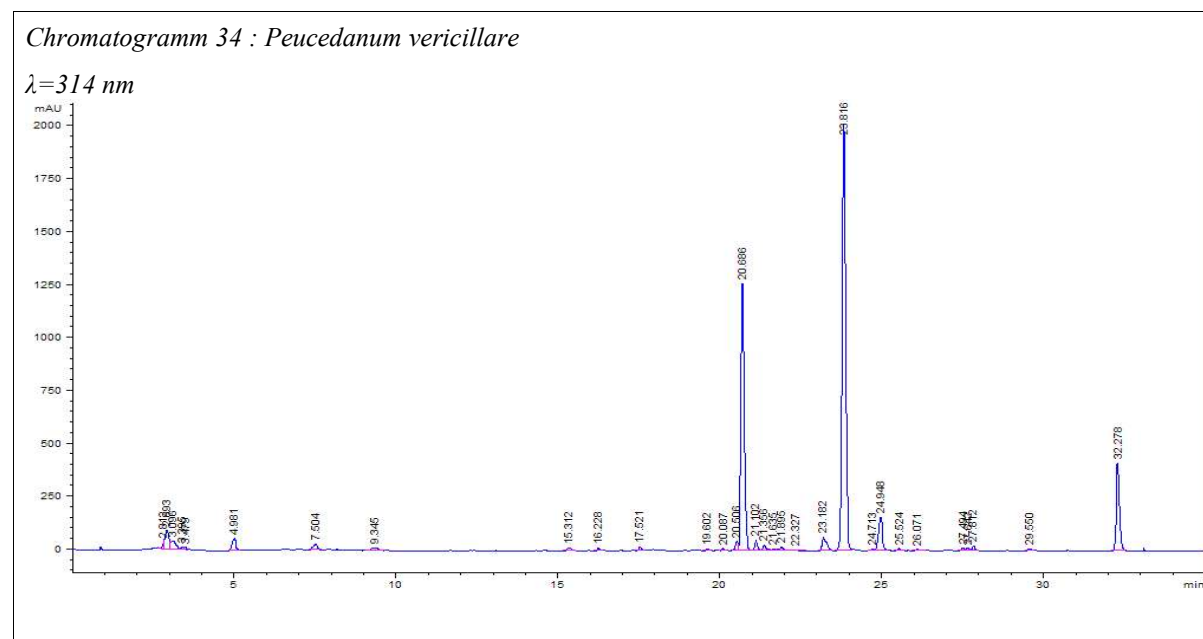
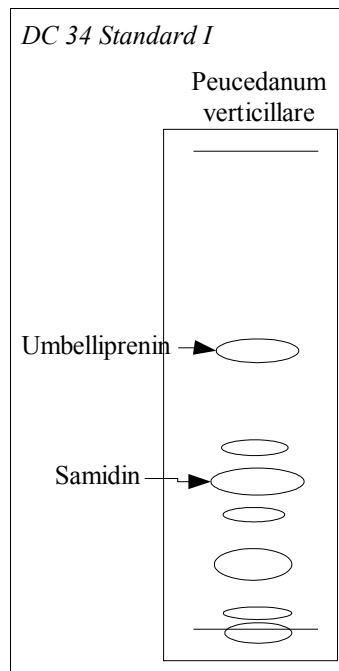


Tabelle 24 : Quantifizierung von *Peucedanum vericillare*

Retentionszeit [min]	Substanzname	Konzentration im Extrakt [mg/ml]	Prozent in den Früchten
20,686	unbekanntes Pyranocumarin	0,5950	2,01
23,816	Samidin	0,2140	0,72
32,278	Umbelliprenin	0,1070	0,36

1.34 *Pimpinella anisum* L.

1.34.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Pimpinella anisum ist eine bis 50 cm hohe, einjährige Pflanze. Die Pflanze stammt aus Südeuropa. In nördlichen Europa kommt *Pimpinella anisum* nur selten aus Kulturen verwildert vor. Der Stängel ist rund, aufrecht und gefurcht. Im oberen Teil ist er verästelt. Die gesamte Pflanze ist abstehend flaumig behaart. Die unteren Blätter sind gestielt und ungeteilt. Die folgenden sind entweder, wie die unteren Blätter ungeteilt oder dreischnittig geteilt. Die obersten Laubblätter sind kurz gestielt oder sitzend mit einer schmalen Scheide. Die Blattspreite ist 2- bis 3fach fiederschnittig mit schmalen Zipfeln. Die weißen Blüten stehen in 7- bis 15-strahligen Dolden. Die Kronblätter sind bewimpert. Blütezeit ist Juli bis September. Die 4 mm langen Früchte kommen meist als Doppelachänen vor. Die Farbe ist graubräunlich mit deutlich hervortretenden Hauptrippen. Die Früchte sind im Gegensatz zu ihrer Verfälschung *Conium maculatum* flaumig behaart. Die Form ist eiförmig bis länglich, an den Seiten leicht abgeflacht.

1.34.2 Chemie der Cumarine

1.34.2.1 Literatur

In der Literatur wird für *Pimpinella anisum* das Vorkommen von Bergapten, Scopoletin, Umbelliferon und Umbelliprenin in den Früchten beschrieben [Murray et al. 1982].

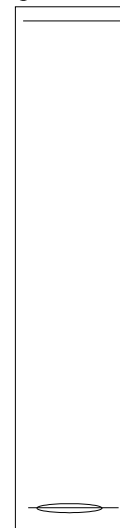
1.34.2.2 Eigene Ergebnisse

Die Standard-DC (DC 35) von *Pimpinella anisum* L. zeigte nur am Start eine fluoreszierende Bande.

Im HPLC-Chromatogramm (Chromatogramm 35) dominierte der Peak bei RT 23,7 min. Bei diesem Peak handelte es sich um die Hauptkomponente des ätherischen Öls, *trans*-Anethol. Die Identifizierung war leicht durch einen Vergleich mit dem HPLC-Chromatogramm von *Foeniculum vulgare* MILL. möglich, da *trans*-Anethol auch in diesem ätherischen Öl Hauptkomponente ist. Der entsprechende Peak bei 23,7 min war auch im entsprechenden HPLC-Chromatogramm vorhanden (siehe auch dort). Das Vorkommen der in der Literatur erwähnten Cumarine konnte bei den hier verwendeten Früchten nicht bestätigt werden. In Spuren lassen sich im HPLC-Chromatogramm Phenolcarbonsäuren nachweisen. Die der Grund für die Fluoreszenz am Start der Standard-DC I sind.

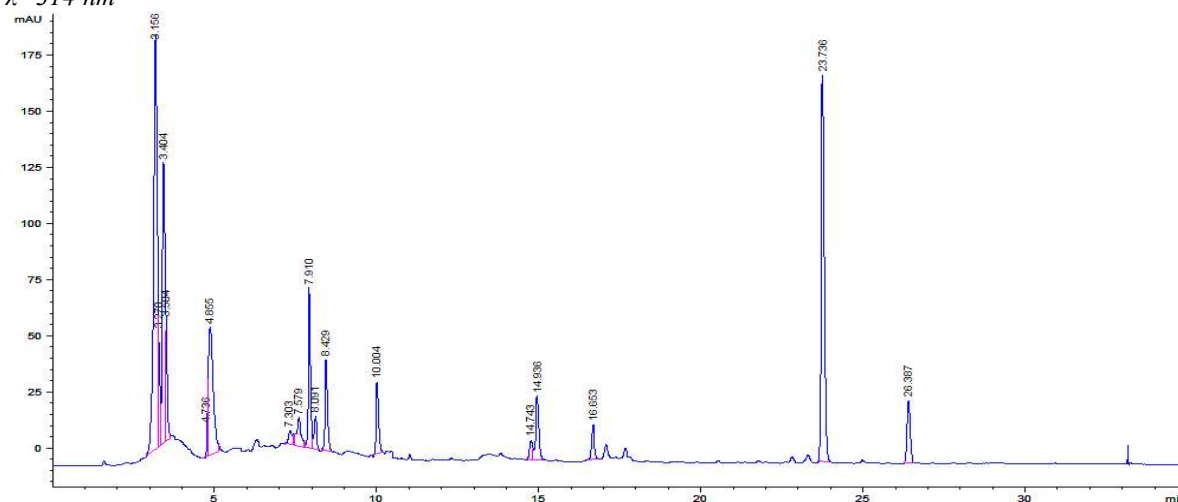
DC 35 Standard I

Pimpinella anisum



Chromatogramm 35 : *Pimpinella anisum*

$\lambda = 314 \text{ nm}$



1.35 *Pimpinella major* (L.) HUDS.

1.35.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Pimpinella major ist eine 40 bis 100 cm hohe mehrjährige Pflanze. Man findet *Pimpinella major* in ganz Europa, mit Ausnahme des südöstlichen Europas, an Wegrändern und auf Wiesen. Die Pflanze besitzt einen kantig gefurchten Stängel. Alle Blätter der Pflanze sind einfach gefiedert. Die einzelnen Fiedern werden bis zu 4 cm lang. Der Blattrand ist grob gezähnt. Die weißen oder rosa Blüten stehen in 10- bis 25-strahligen, 3 bis 6 cm breiten Dolden. Blütezeit ist Juni bis September. Die Früchte sind 4 mm lang, halbmondförmig, hellbraun, ohne deutliche Rippen, zumeist mit einem beigen Rest des Karpophors auf ihrer Unterseite.

1.35.2 Chemie der Cumarine

1.35.2.1 Literatur

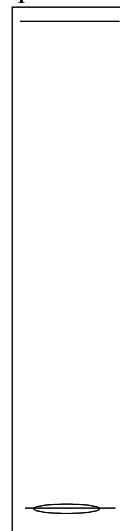
Die Literaturangaben für *Pimpinella major* beziehen sich stets auf die Wurzel der Pflanze. In der Wurzel sollen Angelicin, Bergapten, Isobergapten, Isoxypeucedanin, Isopimpinellin, Oxypeucedanin, Pimpinellin, Sphondin sowie Umbelliferon vorkommen [Eichstedt Nielsen 1970], [Murray et al. 1982]. An anderer Stelle wird darauf hingewiesen, dass die Cumarine nur in stark angereicherten Extrakten nachweisbar sind [Wagner et al. 1983].

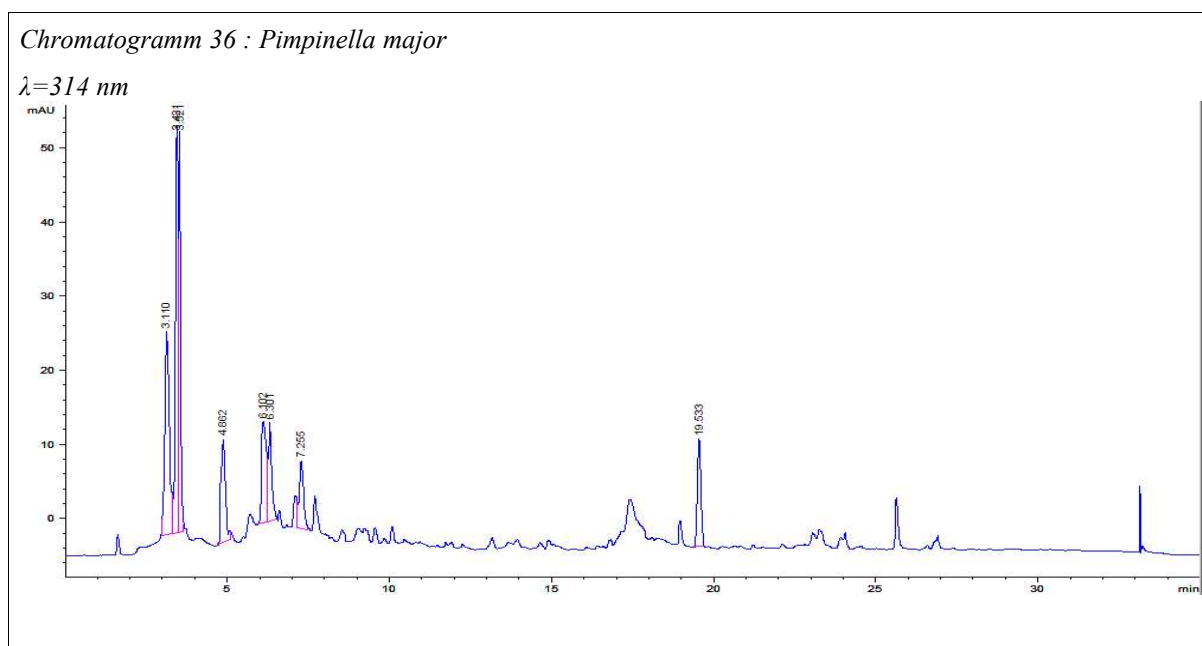
1.35.2.2 Eigene Ergebnisse

In den Früchten von *Pimpinella major* fanden sich bei einer DC-Analyse keine Cumarine. Am Start war eine schwach fluoreszierende Bande zuerkennen (DC 36) zu erkennen. Diese schwache Fluoreszenz ließ sich auch nicht mit einer DC nach Standard II näher bestimmen. Eine HPLC-Analyse des Extraktes zeigte ebenfalls keine Cumarine an (Chromatogramm 36). Die UV-Vis-Spektren der einzelnen Peaks waren wenig charakteristisch. Es zeigte sich bei dieser Analyse auch, dass es sich bei der Fluoreszenz am Start der DC um Phenolcarbonsäuren handelte, da der Peak (RT 6,102 min) das Spektrum von Ferulasäure aufwies.

DC 36 Standard I

Pimpinella major





1.36 *Torilis japonica* (HOUTT.) LK.

1.36.1 Beschreibung der Pflanze und der Früchte

Torilis japonica ist eine 30 bis 120 cm hohe, ein- bis zweijährige Pflanze. Sie ist in Europa weit verbreitet und wächst an Zäunen, Hecken und Waldrändern. Die Pflanze besitzt einen rauhaarigen, verzweigten Stängel. Die Blätter sind 1- bis 3fach gefiedert. Die weiß oder rosa farbigen Blüten stehen in lang gestielten Dolden, mit 5 oder mehr Hüllblättern. Blütezeit: Juni bis August. Die Frucht ist 4 mm lang, länglich leicht gebogen und von grauer Farbe. Sie trägt 4 Stacheln ohne Widerhaken.

1.36.1.1 Chemie der Cumarine

1.36.1.2 Literatur

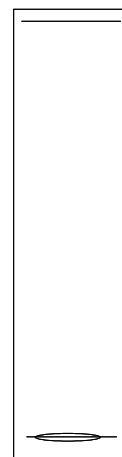
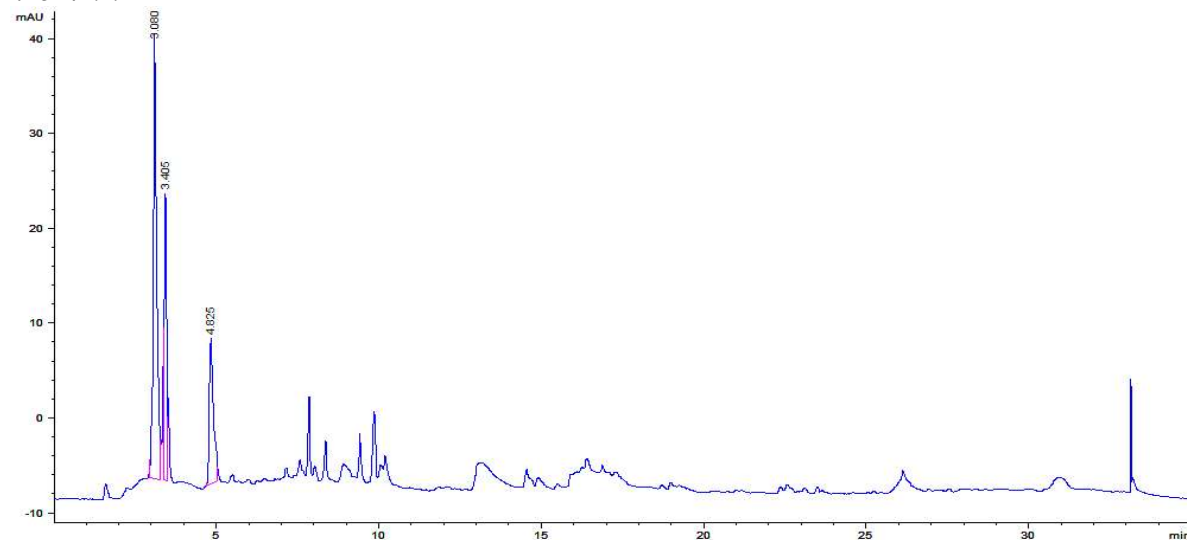
In der Literatur finden sich keine Angaben über das Vorkommen von Cumarinen in *Torilis japonica* (HOUTT.) LK..

1.36.1.3 Eigene Ergebnisse

Auf der Standard-DC (DC 37) von *Torilis japonica*, ließen sich keine Cumarine detektieren. Auch die fluoreszierenden Substanzen am Start waren sehr schwach und ließen keine Zuordnung zu. Die HPLC-Analyse (Chromatogramm 37) zeigte ebenfalls keine charakteristischen Peaks. Eventuell vorhandene Phenolcarbonsäuren (Fluoreszenz am Start der DC) lagen unterhalb der Nachweisgrenze der HPLC.

DC 37 Standard I

Torilis japonica

Chromatogramm 37 : *Torilis japonica* $\lambda = 314 \text{ nm}$ 

2 Zusammenstellung der Ergebnisse

	Aegopodium podagraria	Ammi majus	Ammi visnaga	Anethum graveolens	Angelica archangelica	Angelica sylvestris	Anthriscus sylvestris	Astrantia major
Gesamt- Cumarine	-	3,35%	4,49%	-	3,52%	1,29%	-	-
Ammiol	-	-	0,15%	-	-	-	-	-
Angelicin	-	-	-	-	0,01%	-	-	-
Bergapten	-	1,05%	-	-	0,59%	0,01%	-	-
Imperatorin	-	0,17%	-	-	2,33%	0,49%	-	-
Isoimperatorin	-	0,06%	-	-	0,04%	-	-	-
Khellin	-	-	1,78%	-	-	-	-	-
Khellinol	-	-	0,45%	-	-	-	-	-
Khellol	-	-	0,21%	-	-	-	-	-
Oxypeucedanin	-	-	-	-	0,13%	0,15%	-	-
Oxypeucedanin- Hydrat	-	0,19%	-	-	-	-	-	-
Psoralen	-	-	-	-	0,02%	0,01%	-	-
Samidin	-	-	0,11%	-	-	-	-	-
Umbelliferon	-	0,37%	-	-	-	-	-	-
Umbelliprenin	-	-	-	-	0,31%	0,44%	-	-
Unbekanntes Furanocumarin	-	-	-	-	-	0,19%	-	-
Unbekanntes Hydroxicumarin	-	-	0,31%	-	-	-	-	-
Unbekanntes Hydroxycumarin	-	0,60%	-	-	-	-	-	-
Visnadin	-	-	0,17%	-	-	-	-	-
Visnagin	-	-	1,16%	-	-	-	-	-
Xanthotoxin	-	0,19%	-	-	0,08%	-	-	-
Xanthotoxol	-	0,23%	-	-	0,01%	-	-	-

	Carum carvi	Chaerophyllum aromaticum	Chaerophyllum temulum	Conium maculatum	Coriandrum sativum	Cuminum cyminum	Daucus carota
Gesamt- Cumarine	-	0,003%	-	-	0,003%	-	-
Angelicin	-	-	-	-	0,003%	-	-
Imperatorin	-	0,003%	-	-	-	-	-

C Ergebnisse

	Eryngium campestre	Eryngium planum	Ferula asa foetida	Foeniculum vulgare	Heracleum lanatum	Heracleum mantegazzianum	Heracleum sphondylium
Gesamt- Cumarine	0,09%	0,02%	0,36%	-	1,77%	3,92%	0,57%
Angelicin	-	-	-	-	-	1,37%	-
Bergapten	0,01%	0,002%	-	-	0,44%	0,61%	0,18%
Farnesiferol (?)	-	-	0,21%	-	-	-	-
Farnesiferol (?)	-	-	0,07%	-	-	-	-
Imperatorin	-	-	-	-	0,55%	0,68%	0,07%
Isoimperatorin	0,02%	-	-	-	-	-	-
Isopimpinellin	-	-	-	-	0,10%	0,22%	0,12%
Oxypeucedanin	-	-	-	-	-	-	0,01%
Oxypeucedanin	0,01%	-	-	-	-	-	-
Oxypeucedanin- Hydrat	0,002%	-	-	-	-	-	-
Peucedanin	0,04%	-	-	-	-	-	-
Pimpinellin	-	-	-	-	0,13%	0,52%	0,01%
Psoralen	-	-	-	-	-	0,02%	-
Sphondin	-	-	-	-	0,04%	0,04%	-
Umbelliprenin	-	-	0,08%	-	-	-	-
unbekanntes Furanocumarin	-	-	-	-	-	-	0,08%
unbekanntes Furanocumarin	-	-	-	-	0,01%	-	-
unbekanntes Furanocumarin	-	-	-	-	0,21%	-	-
unbekanntes Furanocumarin	-	-	-	-	0,37%	-	-
unbekanntes Furanocumarin	-	-	-	-	-	0,18%	-
unbekanntes Hydroxycumarin	-	-	-	-	-	0,28%	-
Xanthotoxin	-	0,002%	-	-	0,01%	-	0,09%
Xanthotoxol	-	-	-	-	0,02%	0,01%	0,01%

	Heracleum sphondylium ssp. ternatum	Levisticum officinale	Ligusticum scoticum	Oenanthe pimpinell- loides	Pastinaca sativa	Petroselinum spec.	Peucedanum austriacum
Gesamt- Cumarine	2,01%	0,47%	-	0,17%	2,00%	0,07%	0,94%
Bergapten	0,43%	0,01%	-	-	0,68%	0,01%	-
Imperatorin	0,75%	-	-	-	0,55%	-	-
Isopimpinellin	0,11%	-	-	-	0,02%	-	-
Oxypeucedanin -Hydrat	0,01%	-	-	-	-	-	-
Pimpinellin	0,11%	-	-	-	0,05%	-	-
Samidin	-	-	-	0,08%	-	-	-
Sphondin	0,04%	-	-	-	-	-	-
Umbelliferon	-	-	-	-	-	0,05%	-
unbekanntes Cumarin	-	-	-	-	-	-	0,94%
unbekanntes Cumarin	-	-	-	-	-	0,01%	-
unbekanntes Cumarin	-	-	-	0,06%	-	-	-
unbekanntes Furanocumarin	0,01%	-	-	-	-	-	-
unbekanntes Furanocumarin	0,40%	-	-	-	-	-	-
unbekanntes Furanocumarin	0,07%	-	-	-	-	-	-
unbekanntes Furanocumarin	0,02%	-	-	-	-	-	-
Visnadin	-	-	-	0,03%	-	-	-
Xanthotoxin	0,03%	-	-	-	0,71%	0,004%	-
Xanthotoxol	0,03%	-	-	-	-	-	-
Z-Butyliden- phthalid	-	0,09%	-	-	-	-	-
Z-Ligustilid	-	0,37%	-	-	-	-	-

C Ergebnisse

	Peucedanum cervaria	Peucedanum officinale	Peucedanum palustre	Peucedanum verticillare	Pimpinella anisum	Pimpinella major	Torilis japonica
Gesamt- Cumarine	1,82%	1,26%	2,51%	2,73%	-	-	-
Bergapten	-	0,18%	-	-	-	-	-
Columbianadin	-	0,05%	0,63%	-	-	-	-
Imperatorin	-	0,04%	0,19%	-	-	-	-
Isoimperatorin	-	0,36%	0,02%	-	-	-	-
Oxypeucedanin	-	0,07%	0,98%	-	-	-	-
Oxypeucedanin -Hydrat	-	0,02%	0,08%	-	-	-	-
Peucedanin	-	0,41%	-	-	-	-	-
Samidin	-	-	-	0,36%	-	-	-
Umbelliprenin	-	0,11%	0,61%	0,36%	-	-	-
Umbelliprenin	0,34%	-	-	-	-	-	-
unbekanntes Cumarin	0,76%	-	-	-	-	-	-
unbekanntes Cumarin	0,63%	-	-	-	-	-	-
unbekanntes Pyranocumarin	-	-	-	2,01%	-	-	-
Visnadin	0,09%	-	-	-	-	-	-
Xanthotoxin	-	0,02%	-	-	-	-	-

D Diskussion

Ausgangspunkt für die Untersuchungen war die Frage nach Vorkommen und Vielfalt der Strukturen von Cumarinen in den Früchten von Apiaceae. Zu diesem Zweck wurde das Cumarinmuster der Früchte von 36 verschiedenen Arten aus 24 Gattungen untersucht. Hierbei wurden folgende Beobachtungen gemacht:

1 Chemotaxonomischer Aspekt

Cumarine in den Früchten sind kein durchgehendes chemisches Merkmal in der Familie der Apiaceae: In den Früchten 14 der 36 untersuchten Arten konnten keine Cumarine nachgewiesen werden. Diese sind: *Aegopodium podagraria*, *Anethum graveolens*, *Anthriscus sylvestris*, *Astrantia major*, *Carum carvi*, *Chaerophyllum temulum*, *Conium maculatum*, *Cuminum cyminum*, *Daucus carota*, *Foeniculum vulgare*, *Ligusticum scoticum*, *Pimpinella anisum*, *Pimpinella major* und *Torilis japonica*. Andere Arten enthalten relativ niedrige Konzentrationen (bis 0,5%), mittlere Konzentrationen (>0,5% bis 2%) oder verhältnismäßig hohe Konzentrationen (>2% bis 4%) an Cumarinen. Zur letzteren Gruppe gehören die Früchte von *Peucedanum palustre* (2,5%), *Peucedanum verticillare* (2,7%), *Ammi majus* (3,3%), *Angelica archangelica* (3,5%) und *Heracleum mantegazzianum* (3,9%).

Heracleum mantegazzianum ragt mit einer Cumarin-Konzentration von 3,9% heraus, was offensichtlich jedoch nicht typisch für die Gattung *Heracleum* ist, denn mit 0,57% liegt der Cumarinegehalt der Früchte von *Heracleum sphondylium* deutlich tiefer. Das gleiche Phänomen ist in der Gattung *Peucedanum* zu beobachten: zwei der untersuchten Arten, *Peucedanum palustre* (2,5%) und *Peucedanum verticillare* (2,7%), zeigten eine hohe Konzentration an Cumarinen, wohingegen die Arten *Peucedanum austriacum* (0,9%) und *Peucedanum officinalis* (1,3%) im mittleren Bereich zu finden waren. Unter Einbeziehung der Literatur [Murray et al. 1982] lässt sich sogar das Phänomen erkennen, dass innerhalb einer Gattung cumarinfreie als auch cumarinhaltige Arten enthalten sind. So waren in den Früchten von *Anthriscus sylvestris*, *Carum carvi*, *Ligusticum scoticum*, *Pimpinella anisum* und *Pimpinella major* keine Cumarine nachweisbar, während in *Anthriscus cerefolium* (L.) Hoffm., *Carum roxburghianum* Benth. et Hook., *Ligusticum acutilobum* Sieb. et Zucc., *Ligusticum seguieri* Koch und *Pimpinella monoica* Dalz. Cumarine beschrieben sind [Murray et al. 1982]. Aus diesen Beobachtungen lässt sich ableiten, dass das Vorkommen von Cumarinen in Früchten auf der Ebene der Gattungen kein taxonomisches Merkmal sein kann.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob Pflanzen, die in den Früchten keine Cumarine enthalten, überhaupt zur Cumarin-Biosynthese befähigt sind. Hierzu werden Daten der Literatur [Murray et al. 1982] ausgewertet, woraus zu entnehmen ist, dass in 5 bezüglich der Früchte cumarinfreien Arten in Blättern (*Ligusticum scoticum*, *Daucus carota*) bzw. in Wurzeln (*Anthriscus sylvestris*, *Ligusticum scoticum*, *Pimpinella major*) Cumarine beschrieben sind. Für die Zukunft wäre die Beleuchtung dieser Frage lohnenswert.

Das Buch „The Natural Coumarins“, von Murray, Méndez und Brown (1982), das als Standardwerk betrachtet werden kann, versucht eine Einteilung der Apiaceae auf der Ebene der Unterfamilien im Hinblick auf das Vorkommen von Cumarinen. Die beiden Unterfamilien Hydrocotyloideae und Saniculoideae werden dort als cumarinfrei dargestellt. Als Ausnahme gilt die Gattung *Eryngium* (Saniculoideae), für die dort Cumarine aufgeführt sind. Dies konnte durch unsere Untersuchungen bestätigt werden, auch wenn bezüglich der Cumarinstrukturen bei beiden untersuchten *Eryngium*-Arten keine Übereinstimmung mit der Literatur zu finden war. Letzteres könnte dadurch begründet sein, dass dort ein anderer Pflanzenteil untersucht wurde, was sich aus obiger Literatur leider nicht entnehmen ließ.

Die größte der drei Unterfamilien der Apiaceae ist die Unterfamilie der Apioideae. Sie wird von Murray im Bezug auf die Cumarine als „cumarinreiche“ Unterfamilie dargestellt (d.h. sehr viele Gattungen enthalten Cumarine). Auch diese Erkenntnis lässt sich mit den Ergebnissen dieser Arbeit untermauern. Immerhin enthielten 20 Arten von den 33 aus dieser Unterfamilie untersuchten Cumarine. Für die beiden anderen Unterfamilien lassen sich keine chemotaxonomischen Aussagen machen, da die Anzahl der aus diesen Unterfamilien untersuchten Arten nicht repräsentativ war.

Betrachtet man das Vorkommen von Cumarine auf der Ebene der Triben, dann kann die Tribus Peucedaneae als herausragend bezeichnet werden. Alle 14 aus dieser Tribus untersuchten Arten enthielten in ihren Früchten Cumarine. Die Tribus Ammineae verhält sich diesbezüglich sehr variabel. Sie enthält Arten, in denen sich keine Cumarine in den Früchten fanden, wie z.B. *Carum carvi* oder *Pimpinella anisum*. Andere Arten, wie z.B. *Ammi majus* (3,4%), enthielten recht hohe Konzentrationen an Cumarinen. *Ammi visnaga* stellt in dieser Tribus einen Sonderfall dar. Sie enthält in ihren Früchten neben 1,1% Cumarinen noch 3,8% Chromone, eine den Cumarinen nahe verwandte Substanzklasse, die unseres Wissens nach bisher im Pflanzenreich ausschließlich in *Ammi visnaga* beschrieben ist.

Beleuchtet man die Strukturen der gefundenen Cumarine und die Häufigkeit ihres Vorkommens, so erkennt man eine besondere Bedeutung des Imperatorins, ein Furanocumarin. Es ist in 5 der 22 Arten, in denen Cumarine gefunden wurden,

Hauptkomponente. Dabei handelte es sich um folgende 5 Arten/Unterarten: *Angelica archangelica*, *Angelica sylvestris*, *Chaerophyllum aromaticum*, *Heracleum lanatum* und *Heracleum sphondylium ssp. ternatum*. Als weitere Furanocumarine kommen folgende auch als Hauptkomponenten vor: Bergapten (in 3 Arten), Angelicin (in 2 Arten), Xanthotoxin (in 2 Arten), Peucedanin (in 2 Arten), Oxypeucedanin (in einer Art). Somit ist Bergapten neben Imperatorin das wichtigste Furanocumarin. Es ist auch immer als Nebenkomponekte enthalten, wenn Imperatorin Hauptkomponente ist und umgekehrt, es sei denn, es ist überhaupt nur ein einziges Cumarin vorhanden. Diese auffallende Paarbildung von Imperatorin und Bergapten bestätigt sich auch in der Literatur [Murray et al. 1982]. Xanthotoxin, das in Früchten zweier Arten Hauptkomponente ist, kommt bei vielen Früchten als Partner des Paares Bergapten/Imperatorin vor.

Die Unterschiede dieser drei Furanocumarine liegt in der Art der Substitution des Psoralen-Grundkörpers. Strukturell wäre es wahrscheinlicher, dass Imperatorin (8-Prenyloxy-Psoralen) und Xanthotoxin (8-Methoxy-Psoralen), die die gleiche Substituentenposition haben, miteinander kombiniert sind. Vielmehr ist es aber so, dass häufiger Imperatorin (8-Prenyloxy-Psoralen) mit Bergapten (5-Methoxy-Psoralen) kombiniert ist, wobei sowohl der Substitutionsort als auch der Substituent verschieden ist. Es scheint demnach so zu sein, dass die Pflanze für die Einführung eines Prenylrests die Position 8 und für die Einführung einer Methoxygruppe die Position 5 bevorzugt.

Offensichtlich spielen in den untersuchten Apiaceen-Früchten Pyranocumarine nur eine untergeordnete Rolle. Es konnten nur zwei Vertreter dieser Cumaringruppe identifiziert werden, namentlich Samidin und Visnadin. Sie kamen in drei der untersuchten Pflanzenarten vor, in *Ammi visnaga*, *Oenanthe pimpinelloides* und *Peucedanum verticillare*. Mit Ausnahme von *Oenanthe pimpinelloides* wo Samidin Hauptkomponente ist, sind sie allerdings nur Nebenkomponekten. In den Früchten von *Ammi visnaga* und *Oenanthe pimpinelloides* kommen Samidin und Visnadin jedoch als Paar vor. Sie unterscheiden sich nur durch die Substitutionsart einer Seitenkette. In *Peucedanum verticillare* ist Samidin mit zwei weiteren Pyranocumarinen kombiniert. Diese konnten leider nicht identifiziert werden.

Umbelliprenin und Umbelliferon stellen bei den einfachen Cumarinen die häufigsten Vertreter dar. Sie kommen allein oder in Kombination vor, Umbelliferon einmal als Hauptkomponente in *Petroselinum spec.* Farnesiferol, ein für *Ferula*-Arten typisches Hydroxycumarin, war dort auch Hauptkomponente.

Zuletzt soll die Stellung der Apiaceae im System der Pflanzen diskutiert werden. Sie gehörten bis vor einigen Jahren noch zur Unterklasse der Rosidae. Sie waren somit in der gleichen Unterklasse wie die Familie Rutaceae, die mit ihren Gattungen *Ruta* und *Citrus* als „cumarinreich“ gilt. Analysiert man das Cumarinmuster der Rutaceae [Murray et al. 1982] und vergleicht die dort vorkommenden Cumarinstrukturen mit denen der Apiaceae, dann kann man feststellen, dass sich die Rutaceae durch eine größere Vielfalt an Cumarinen auszeichnen. Dies ist durch eine größere Variation der Substituenten begründet. Insbesondere kommen dort Cumarine/Furanocumarine vor, bei denen die verschiedenen Cumarin-Grundgerüste um über eine Ether-Brücke verknüpfte Geranyl-Reste (C10) erweitert sind. Diese Reste sind häufig noch oxygeniert. Bei den Apiaceae überwiegen über Ether-Brücken verknüpfte Prenyl-Reste (C5). Heute stehen die Apiaceae in der Unterklasse der Asteridae, wodurch eine nähere Verwandtschaft zur Familie der Asteraceae, eine als „cumarinarm“ geltende Familie, dokumentiert ist. Diese Umordnung ist mit der Chemie der Cumarine nicht in Einklang zu bringen.

2 Analytischer Aspekt

Voraussetzung für die chemotaxonomischen Betrachtungen war die Möglichkeit einer zweifelsfreien Identifizierung der Cumarine sowie ihrer quantitativen Bestimmung in den Früchten. Dafür wurde eine als Routinemethode gut geeignete HPLC-Methode entwickelt, die auf Grund ihrer Retentionszeiten, durch die UV-Vis-Spektren und in Kombination mit der DC die zuverlässige Identifizierung der unterschiedlichen Cumarine erlaubte. Es konnten damit 30 verschiedene Cumarine und Chromone sowie 2 Phthalide der Früchte in 36 untersuchten Arten innerhalb von 35 min aufgetrennt werden. Außerdem gab die HPLC Auskunft über das Vorkommen von Phenolcarbonsäuren und Cumaringlykosiden. Nebenbei lieferte die DC wertvolle Hinweise zur Struktur durch die Fluoreszenzfarben und die Möglichkeit zur Hydrolyse auf der DC.

Die Nachweisgrenze für Cumarine wurde für die entwickelte HPLC-Methode mit 20 ppm (20 µg pro Gramm Früchte) bestimmt. Damit war die Methode empfindlich genug, um auch Spuren von Cumarinen zu finden bzw. sicherzustellen, dass keine Cumarine vorhanden sind. Die Methode erwies sich mit einer relativen Standardabweichung von ca. 2,5% als präzise, als wenig störanfällig, säulenschonend und preiswert.

Zur Identifizierung der einzelnen Cumarine waren die UV-Vis-Spektren, die der DAD lieferte, sehr gut geeignet. Beim Vergleich der Spektren wurde deutlich, dass die Form des

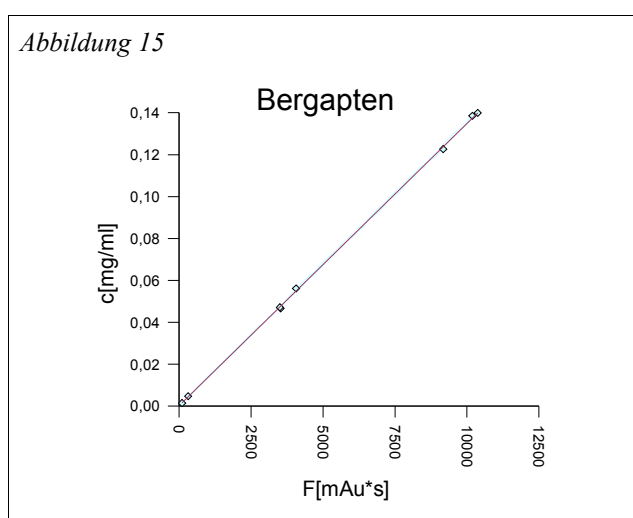
Spektrums sich im Prinzip vom Grundkörper des Cumarins ableitet. So konnte schnell erkannt werden, ob es sich um ein einfaches Cumarin, ein Psoralen oder ein Angelicin handelte. Hierbei zeigte sich auch, dass die UV-Vis-Spektren der Dihydro-Pyranocumarine keine charakteristische, auf einen eigenen Cumarin-Grundkörper hindeutende Form besitzen, sondern dem Spektrum von Umbelliferon sehr ähnlich sind. Deshalb mussten zusätzliche Informationen, nämlich die Lage innerhalb des Chromatogramms, die die strukturellen Eigenschaften der einzelnen Cumarine besser charakterisiert, herangezogen werden.

2.1 Quantifizierungsformel

Ein besonderes Interesse bestand an der Entwicklung einer Quantifizierungsformel. Anliegen war, alle Cumarine quantitativ zu erfassen und zwar unter Berücksichtigung ihrer spezifischen Absorption, auch wenn entsprechende Referenzen nicht zur Verfügung standen. Damit sollten auch unbekannte Cumarine in die Berechnung einbezogen werden können. Durchleuchtet man an dieser Stelle noch einmal die Theorie der Ableitung der Formel, dann wird deutlich dass diese Formel ohne

weiteres auch auf andere Stoffgruppen übertragen werden kann. Voraussetzung ist lediglich, dass die UV-Vis-Spektren dieser Stoffgruppen bei 250 nm eine Absorption aufweisen müssen, die ungleich Null ist. Es wird jedoch empfohlen, die Formel bei Wechsel des Analysensystems oder beim Wechsel der Stoffgruppe mit einer für diese Stoffgruppe chemisch repräsentative Referenz neu zu berechnen.

Abbildung 15



Die Reproduzierbarkeit der einzelnen Spektraldaten ist Voraussetzung. Der verwendete Detektor zeigte sich hierfür gut geeignet, die relative Standardabweichung der Spektraldaten lag bei ca. 1,5 %. Auch die Peakflächen und die Peakbreiten, die ebenfalls in die Formel eingehen, waren gut reproduzierbar, wobei die relative Standardabweichung für diese Werte bei ca. 3% lag. Die Streuung dieser Werte scheint sich durch Einbeziehung der Spektren bei der Quantifizierung teilweise zu kompensieren, denn die berechneten Werte aus verschiedenen Extrakten zeigten eine geringere Standardabweichung. Damit sind die Voraussetzungen für eine gute Linearität, wie in Abb. 15 zuerkennen ist, gegeben. Die entwickelte Formel erfüllt damit alle Kriterien, wie sie für eine quantitative Bestimmung

komplexer Cumaringemische gefordert werden.

E Material und Methoden

1 Untersuchungsmaterial

Die in dieser Arbeit untersuchten Apiaceen-Früchte stammen aus verschiedene Quellen. Ein Großteil der Früchte stammt aus Selbstsammlungen, ein weiterer Teil von Botanischen Gärten oder es handelt sich um Handelsware, wie sie in Apotheken Verwendung findet.

Die Handelsware stammt von der Firma Caesar & Loretz GmbH, Hilden und Bonn.

Ich danke folgenden Botanischen Gärten, für die freundliche Überlassung von Apiaceen-Früchten:

dem Botanischer Garten Wien (Österreich); dem Botanischer Garten Kiel (Deutschland); dem Botanischer Garten Wroclaw (Polen) und dem Botanischer Garten Oslo (Norwegen).

Die selbst gesammelten Früchte stammen größtenteils aus der Umgebung Hamburgs oder aus anderen Teilen Deutschlands. Ein weiterer Teil der Früchte wurde auf Urlaubsreisen gesammelt und stammt aus Südeuropa bzw. aus Alaska.

<i>Pflanzenname</i>	<i>Sammeldatum</i>	<i>Standort</i>
Aegopodium podagraria	Sommer 2000	Klövenstehn (Hamburg)
Aethusa cynapium	Sommer 2000	Geomatikum (Hamburg)
Ammi majus	Sommer 2000	Pharmazeutisches Institut (Hamburg)
Ammi visnaga		Handelsware
Anethum graveolens		Handelsware
Angelica archangelica	Sommer 2000	Außenalster (Hamburg)
Angelica sylvestris	Sommer 2000	Kühbach (Bayrischer Wald)
Anthriscus sylvestris	Sommer 2000	Niendorfer Gehege
Astrantia major	Sommer 2000	Planten un Blomen (Hamburg)

<i>Pflanzenname</i>	<i>Sammeldatum</i>	<i>Standort</i>
Carum carvi		Handelsware
Chaerophyllum aromaticum	Sommer 2001	Versuchsfeld (Ahrensburg)
Chaerophyllum temulum	Sommer 2001	Niendorfer Gehege
Conium maculatum	Sommer 2000	Botanischer Garten (Hamburg)
Coriandrum sativum		Handelsware
Cuminum cyminum		Handelsware
Daucus carota	Sommer 2000	BAB HH-Eidelstedt
Eryngium campestre	Sommer 2001	Botanischer Garten Wien
Eryngium planum	Sommer 2001	Botanischer Garten Wien
Ferula asa foetida	Sommer 2002	Portugal
Foeniculum vulgare		Handelsware
Heracleum lanata	Sommer 2001	Kenai Halbinsel (Alaska)
Heracleum mantegazzianum	Sommer 2000	Bad Segeberg
Heracleum sphondylium	Sommer 2000	Dittmern
Heracleum sphondylium ssp. ternatum	Sommer 2001	Versuchsfeld (Ahrensburg)
Levisticum officinalis	Sommer 2000	Planten un Blomen (Hamburg)
Ligusticum scoticum	Sommer 2001	Versuchsfeld (Ahrensburg)
Meum athamanticum	Sommer 2001	Versuchsfeld (Ahrensburg)
Oenanthe pimpinelloides	Sommer 2001	Versuchsfeld (Ahrensburg)
Pastinaca sativa	Sommer 2000	Bispingen
Pertroselinum sp.		Handelsware
Peucedanum austriacum	Sommer 2001	Versuchsfeld (Ahrensburg)
Peucedanum cervaria	Sommer 2001	Botanischer Garten Wien
Peucedanum officinalis	Sommer 2001	Botanischer Garten Wien
Peucedanum palustre	Sommer 2001	Botanischer Garten Wien
Peucedanum venetum	Sommer 2001	Versuchsfeld (Ahrensburg)
Peucedanum verticillare	Sommer 2001	Botanischer Garten (Hamburg)
Pimpinella anisum		Handelsware
Pimpinella major	Sommer 2000	Planten un Blomen (Hamburg)
Torillia japonica	Sommer 2000	Wasching (Bayrischer Wald)

2 Probenvorbereitung

Die Früchte wurden vor der Extrakterstellung, in einer Kaffeemühle zermahlen.

Für die Vorversuche wurden die Extrakte wie folgt hergestellt:

S-Reihe:

1,00 g der zermahlenen Früchte werden mit 10,0 ml Methanol RotiSolv® Gradient grade versetzt.

Dieser Ansatz wird 15 min mittels Ultraschall extrahiert.

Nach dieser Zeit wird der Extrakt filtriert und der Filtrerrückstand noch zweimal mit je 10 ml Methanol RotiSolv® Gradient grade gewaschen. Die Filtrate werden vereinigt und mit Methanol RotiSolv® Gradient grade auf 50,0 ml aufgefüllt.

Ein Teil dieses Extraktes wird über eine StepPak®-Kartusche der Firma Waters gegeben. Die ersten 2 ml des Eluates werden verworfen. Dieser so erhaltene Extrakt bekommt die Bezeichnung Sxxxxxx.

Für die quantitative Auswertung wurden die Extrakte nach folgender Methode hergestellt:

Q-Reihe:

1,50 g der gemahlenen Früchte werden in eine 30 ml Extraktionshülse gegeben und mittels einer Soxhlet-Apparatur 2 Stunden extrahiert (ca. 25 Durchläufe). Als Vorlage dienen 50 ml Methanol RotiSolv® Gradient grade. Nach 2 Stunden wird der erkaltete Extrakt mit Methanol RotiSolv® Gradient grade auf 50,0 ml aufgefüllt.

Der so gewonnene Extrakt trägt im weiteren Verlauf die Bezeichnung QRxxxxxx. Dieser Extrakt diente zu Herstellung der DC-Platten.

Für die HPLC ist es notwendig den Extrakt zu entfetten. Dazu wurde der Extrakt über eine StepPak®-Kartusche der Firma Waters gegeben. Die ersten 2 ml des Eluates werden verworfen. Dieser so gewonnene Extrakt trägt die Bezeichnung Qxxxxxx.

Die StepPak®-Kartusche muss vor dem Gebrauch äquilibriert werden. Dies geschieht, indem man über die Kartusche 6 ml Methanol gibt. Nach der Benutzung wird die Kartusche mit 4 ml DCM gereinigt. Anschließend wird mit 6 ml Methanol requilibriert.

2.1 Extrakte

<i>Pflanze</i>	<i>Extrakt</i>	<i>Drogen-Extrakt Verhältnis [mg/ml]</i>
<i>Aegopodium podagraria</i>	Q170702AP	32,29
<i>Ammi majus</i>	Q080402AM	30,36
<i>Ammi visnaga</i>	Q090402AV	30,38
<i>Anethum graveolens</i>	Q110702AG	34,04
<i>Angelica archangelica</i>	Q030402AA	24,53
<i>Angelica sylvestris</i>	Q040402AS	30,13
<i>Anthriscus sylvestris</i>	Q170702AS	25,34
<i>Astrantia major</i>	Q110702AM	30,53
<i>Carum carvi</i>	Q120702CC	34,89
<i>Chaerophyllum aromaticum</i>	Q290702CA	31,08
<i>Chaerophyllum temulum</i>	Q230702CT	27,75
<i>Coriandrum sativum</i>	Q180702CS	34,88
<i>Cuminum cyminum</i>	Q230702CC	29,27
<i>Daucus carota</i>	Q230702DC	29,51
<i>Eryngium campestre</i>	Q060602EC	35,82
<i>Eryngium planum</i>	Q060602EP	29,93
<i>Ferula asa foetida</i>	Q210502FAF	29,67
<i>Foeniculum vulgare ssp. vulgare var. vulgare</i>	Q240702FV	34,79
<i>Heracleum lanata</i>	Q210502HL	31,76
<i>Heracleum mantegazzianum</i>	Q020402HM	30,68
<i>Heracleum sphondylium</i>	Q020402HS	30,68
<i>Heracleum sphondylium ssp. ternatum</i>	Q290702HST	28,44
<i>Levisticum officinalis</i>	Q220502LO	30,96
<i>Ligusticum scoticum</i>	Q300702LS	26,44
<i>Oenanthe pimpinelloides</i>	Q180602OP	28,06
<i>Pastinaca sativa</i>	Q220502PS	6,99
<i>Petroselinum spec.</i>	Q150402PS	30,74
<i>Peucedanum austriacum</i>	Q310702PA	28,84
<i>Peucedanum cervaria</i>	Q130602PC	28,05
<i>Peucedanum officinalis</i>	Q040602PO	35,00
<i>Peucedanum palustre</i>	Q310502PP	23,70

<i>Pflanze</i>	<i>Extrakt</i>	<i>Drogen-Extrakt Verhältnis [mg/ml]</i>
<i>Peucedanum verticillare</i>	Q110602PV	29,58
<i>Pimpinella anisum</i>	Q240702PA	33,65
<i>Pimpinella major</i>	Q250702PM	26,59
<i>Torilis japonica</i>	Q260702TJ	28,70

3 Analytische Methoden

3.1 Dünnschichtchromatographie (DC)

Als stationäre Phase dienten Kieselgel 60 F₂₅₄ Platten von Merck, des weiteren fanden RP-18 F₂₅₄ Platten der Firma Merck Verwendung.

Für die DC wurden standardmäßig folgende Bedingungen benutzt:

	Standard I	Standard II	Standard III
Stationäre Phase	Kieselgel 60 F ₂₅₄	Kieselgel 60 F ₂₅₄	RP 18 F ₂₅₄
Mobile Phase	Ethylacetat 15,0 Toluol 85,0	Ethylacetat 30,0 Ethylmethylketon 18,0 Ameisensäure 3,0 Wasser 6,0	Methanol 2,5 Acetonitril 80,0 Wasser 17,5
Plattengrösse	10 x 10 cm	10 x 10 cm	10 x 10 cm
Laufstrecke	8 cm	8 cm	8 cm
Kammersättigung	nein	nein	nein
Auftragevolumen	5 µl	5 µl	5 µl
Detektion	UV- Licht bei 366 nm optional: besprühen mit methanolischer KOH- Lsg. 5%	UV- Licht bei 366 nm optional: besprühen mit methanolischer KOH- Lsg. 5%	UV- Licht bei 366 nm optional: besprühen mit methanolischer KOH- Lsg. 5%

3.2 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

Für die HPLC diente eine HPLC-Anlage der Firma Hewlett Packard.

Pumpen-System und Detektor:

Pumpe: HP 1050 Series Pumpensystem mit einem quartären Gradientenmischer

Detektor: HP 1040M Serie II DAD.

Trennsäulen:

Vorsäule:

Zum Schutz der Trennsäule wurde eine Phenomenex® Vorsäule verwendet, die aus zwei Elementen C18 (ODS, Octadecyl) mit den Maßen 4 mm Länge x 0,3 mm Innendurchmesser bestand.

Trennsäule:

Bei der Trennsäule handelte es sich um eine Säule von Phenomenex® vom Typ LUNA 5µ C18 (2). Die Säule hatte eine Länge von 250 mm und einen Innendurchmesser von 4,60 mm. Die Partikelgrösse betrug 5 µm.

Lösungsmittel:

Als Elutionsmittel für die HPLC wurden Lösungsmittel der Firma Roth in der Qualität RotiSolv® Gradient grade verwendet.

Auswertung:

Als Software für die Auswertung kam die HP-ChemStation zum Einsatz.

Als Trennmethode finden zwei Gradienten Verwendung.

1. HPLC-Gradient für die Quantifizierung:

Säulentemperatur: 25°C

Fluß : 0,75 ml/min

<i>Zeit [min]</i>	<i>Acetonitril [%]</i>	<i>Methanol [%]</i>	<i>Wasser [%]</i>
0	15	5	80
20	80	2,5	17,5
24	95	0	5
26	100	0	0
28,5	100	0	0
30	15	5	80
35	15	5	80

2. HPLC-Gradient für die Trennung von Angelicin und Xanthotoxin:

Säulentemperatur: 25°C

Fluß: 0,75 ml/min

<i>Zeit [min]</i>	<i>Methanol [%]</i>	<i>Wasser [%]</i>
0	45	55
5	45	55
20	70	30
30	70	30
35	99	1
40	99	1
45	45	55

4 Verwendete Chemikalien

4.1 R- und S-Sätze

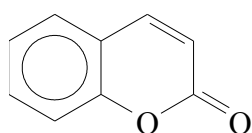
<i>Substanz CAS-Nr.</i>	<i>Gefahrenmerkmal</i>	<i>R-Sätze</i>	<i>S-Sätze</i>
Acetonitril 75-05-8	leicht entzündlich, gesundheitsschädlich, reizend	11-20/21/22-36	16-36/37
Dichlormethan 75-09-2	gesundheitsschädlich	40	(02)-23-24/25-36/37
Methanol 67-56-1	leicht entzündlich, giftig	11-23/24/25- 39723/24/24	7-16-36/37-45
Ethylacetat 141-78-6	leicht entzündlich, reizend	11-36-66-67	16-26-33
Toluol 108-88-3	leicht entzündlich, gesundheitsschädlich	11-20	16-25-29-33
KOH 1310-58-3	gesundheitsschädlich, ätzend	22-35	26-36/37/39-45
Ethylmethyleketon 78-93-3	leicht entzündlich, reizend	11-36-66-67	9-16
Ameisensäure 64-18-6	ätzend	35	23.2-26-45
Salzsäure 25%	ätzend	34-37	26-36/37/39-45

F Zusammenfassung / Summary

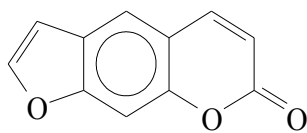
Zusammenfassung

In der Familie der Apiaceae stellen die Cumarine neben den ätherischen Ölen auf Grund ihrer biologischen Aktivität eine bemerkenswerte Stoffklasse dar. Sie können in allen Organen der Pflanze vorkommen und sind dort jeweils in den schizogenen Ölgängen akkumuliert. Wertet man die Literatur zu Cumarinen in Apiaceae aus, so wird deutlich, dass die Apiaceen-Früchte bisher am wenigsten Beachtung fanden. Das mit dieser Arbeit vorgelegte Screening von Apiaceen-Früchten auf ihre Cumarine soll Aufschluss über Vorkommen, Verbreitung und strukturelle Variationen der Cumarine in der Familie der Apiaceae, wobei auch chemotaxonomische Fragen diskutiert werden sollen.

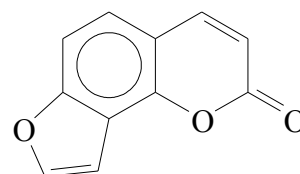
Cumarin Grundkörper



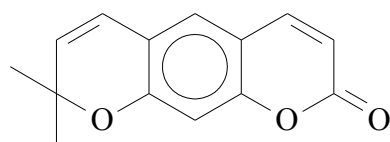
Cumarin



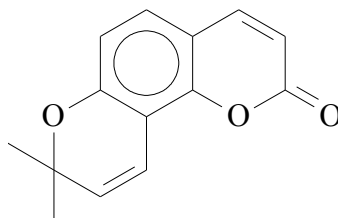
Angelicin



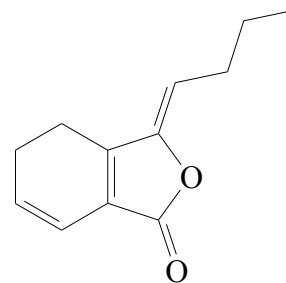
Psoralen



Xanthyletin



Seselin



Z-Ligustilid

Als Methode wurde eine zur Routine gut geeignete HPLC-Methode erarbeitet, die eine zuverlässige Identifizierung der unterschiedlichen Cumarine erlaubte. Hierbei kam ein Acetonitril/Methanol/Wasser-Gradient an RP18-Material zum Einsatz (Detektion im UV-Licht). Für die quantitative Bestimmung wurde eine einfache Berechnungsformel entwickelt, die es ermöglicht, alle Cumarine unter Berücksichtigung ihrer spezifischen Absorption mittels einer einzigen Referenzsubstanz (hier Xanthotoxin) zu erfassen.

Insgesamt wurden die Früchte von 36 Arten aus 24 Gattungen untersucht. In 14 der 36 Arten konnten keine Cumarine nachgewiesen werden. Andere Arten enthielten relativ niedrige

Konzentrationen (bis 0,5%), mittlere Konzentrationen (>0,5% bis 2%) oder verhältnismäßig hohe Konzentrationen (>2% bis 4%) an Cumarinen. Im Ergebnis konnten 30 verschiedene Cumarine und Chromone sowie 2 Phthalide identifiziert werden. Beleuchtet man die Strukturen so handelte es sich um 8 einfache Cumarinderivate, 15 Furanocumarine, 2 Pyranocumarine und 5 Chromone. Sieben Cumarine konnten nicht endgültig identifiziert werden. Die Furanocumarine gliederten sich in 10 Psoralene (Furanring in 6,7 Stellung) und 5 Angelicine (Furanring in 7,8 Stellung).

In Bezug auf die Häufigkeit kommt den Furanocumarinen eine besondere Bedeutung zu, vor allem Imperatorin, Bergapten und Xanthotoxin. Diese kommen in 5, 3 bzw. 2 Arten als Hauptkomponenten vor, jeweils begleitet durch andere Cumarine. Besonders auffallend ist das gemeinsame Auftreten von Imperatorin und Bergapten. Pyranocumarine spielen in den untersuchten Apiaceen-Früchten eher eine untergeordnete Rolle. Samidin und Visnadin kamen in drei der untersuchten Pflanzenarten vor, meist jedoch nur als Nebenkomponten. In der Gruppe der einfachen Cumarine stellen Umbelliprenin und Umbelliferon die häufigsten Vertreter dar.

Im Hinblick auf die Chemotaxonomie der Apiaceae wurden folgende Beobachtungen gemacht:

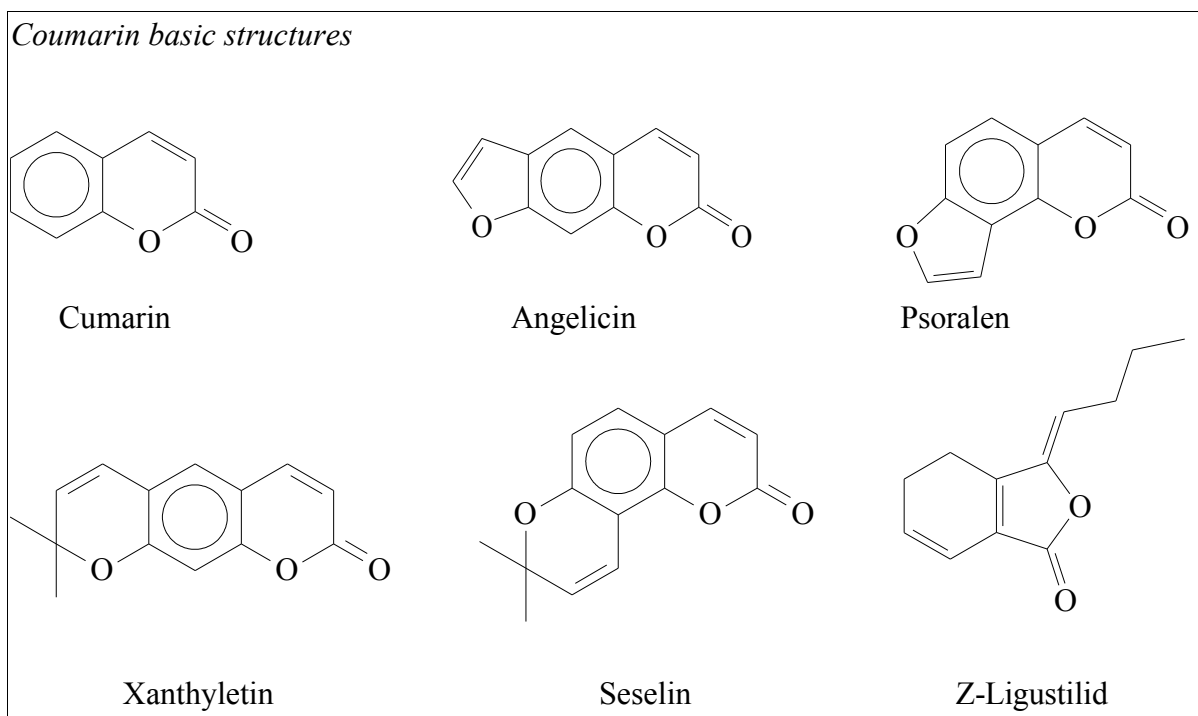
Cumarine in den Früchten sind kein durchgehendes Merkmal der Familie der Apiaceae. In 14 der 36 Arten konnten keine Cumarine nachgewiesen werden. Die Unterfamilie der Apioideae, die hier vorwiegend untersucht wurde, erwies sich, wie schon in der Literatur dokumentiert, auch bezüglich der Früchte als „cumarinreiche“ Unterfamilie. Immerhin enthielten 20 der 33 aus dieser Unterfamilie untersuchten Arten Cumarine. Auf der Ebene der Triben war die Tribus Peucedaneae herausragend, die durchgehend Cumarine enthielt, im Gegensatz zur Tribus Ammineae, die sich diesbezüglich als sehr variabel zeigte.

Betrachtet man die Stellung der Familie der Apiaceae im System der Pflanzen, so ist festzustellen, dass die Umordnung von der Unterklasse der Rosidae in die Unterklasse der Asteridae, die vor einigen Jahren vorgenommen wurde, sich mit der Chemie der Cumarine nicht in Einklang bringen lässt. Ursprünglich waren die Apiaceae mit der als „cumarinreich“ geltenden Familie der Rutaceae in der Unterklasse der Rosidae vereinigt. Vergleicht man die dort vorkommenden Cumarinstrukturen mit denen der Apiaceae, dann kann man allerdings feststellen, dass sich die Rutaceae durch eine größere Vielfalt an Cumarinen auszeichnen. Dies ist durch eine größere Variation der Substituenten begründet. Insbesondere kommen dort Cumarine/Furanocumarine vor, bei denen die verschiedenen Cumarin-Grundgerüste um über Ether-Brücken verknüpfte Geranyl-Reste (C₁₀) erweitert sind. Diese Reste sind häufig

zusätzlich noch oxygeniert. Bei den Apiaceae überwiegen über Ether-Brücken verknüpfte Prenyl-Reste (C5).

Summary

Due to their biological activities the coumarins within the Apiaceae also deserve close attention. They occur in all the organs of the plant and are accumulated in the schizogenous oil ducts. Evaluating the scientific literature on coumarins in Apiaceae, it becomes obvious that the fruits have received little attention. Therefore a screening on coumarins in Apiaceae fruits was undertaken in order to investigate the occurrence, the pattern of distribution and the structural variation of the coumarins including chemotaxonomic questions.



For a reliable identification of the coumarins a HPLC-method was developed using an acetonitrile/methanol/water gradient on RP18 material and UV-detection. Quantification considering the specific absorption of each coumarin was achieved by elaborating a simple formula based on the spectral data of one single reference substance (xanthotoxin).

In total the fruits of 36 species from 24 genera were analysed. In the fruits of 14 species coumarins could not be detected. Other species contained relatively low concentrations (up to 0.5%), mid-level (>0.5 to 2%) or relatively high concentrations (>2 to 4%) of coumarins. As a result 30 structurally different coumarins and chromones as well as 2 phthalides could be identified. The coumarins included 8 ordinary coumarin derivatives, 15 furanocoumarins, 2

pyranocoumarins and 5 chromones. Seven coumarins could not be identified. Among the furanocoumarins there were 10 psoralens (furan ring in 6,7-position) and 5 angelicins (furan ring in 7,8 position).

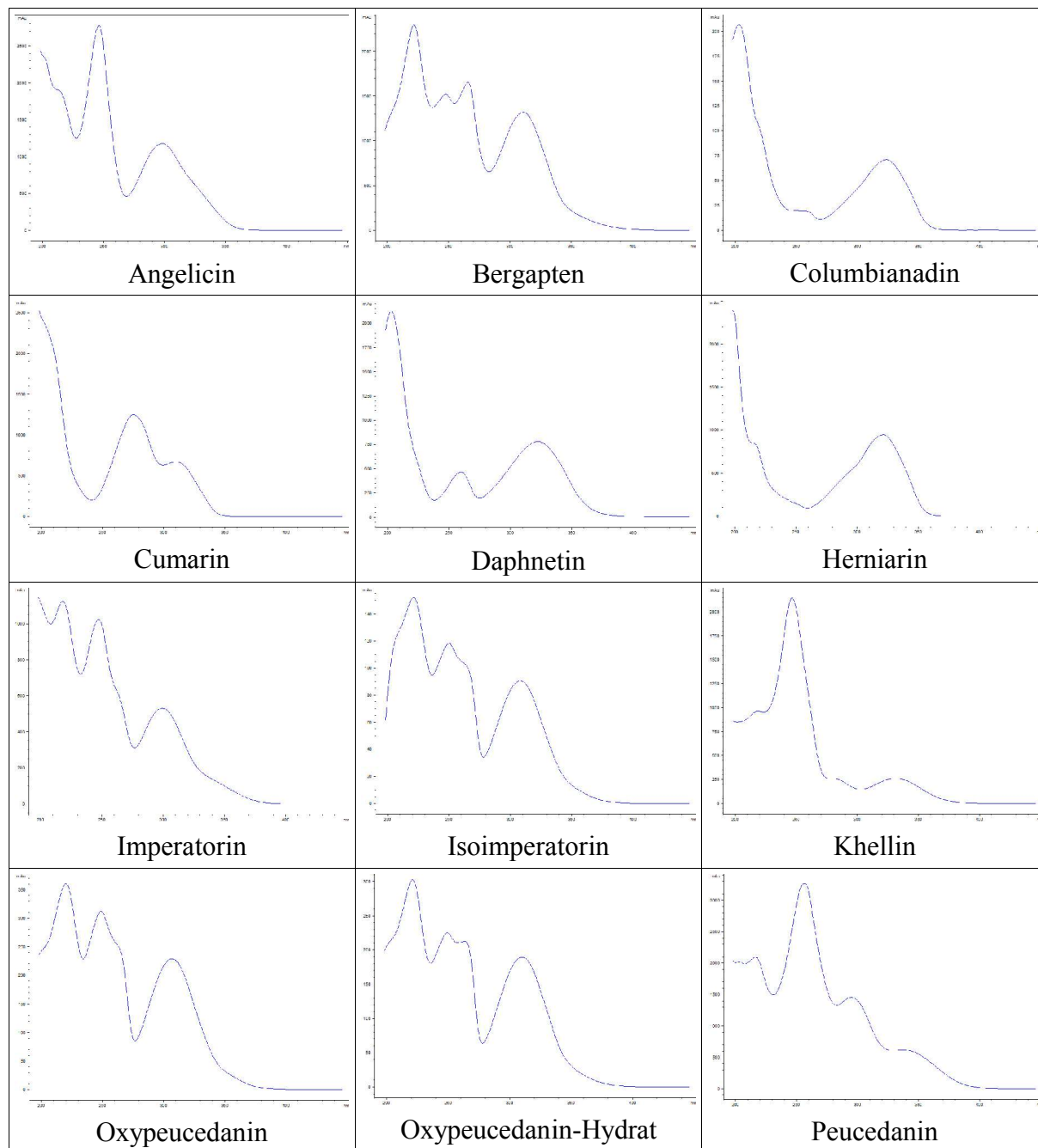
As to frequency the furanocoumarins seem to be the most important, especially the three furanocoumarins imperatorin, bergapten and xanthotoxin. They occur in 5, 3 and 2 species, respectively, as main components, each accompanied by other coumarins. The most striking feature is the simultaneous presence of imperatorin and bergapten. In the investigated Apiaceae fruits the pyranocoumarins were obviously less important. Samidin and visnadin occurred in the fruits of 3 species but mostly as secondary compounds. Within the group of the simple coumarin derivatives umbelliprenin and umbelliferon turned out to be the most frequent ones.

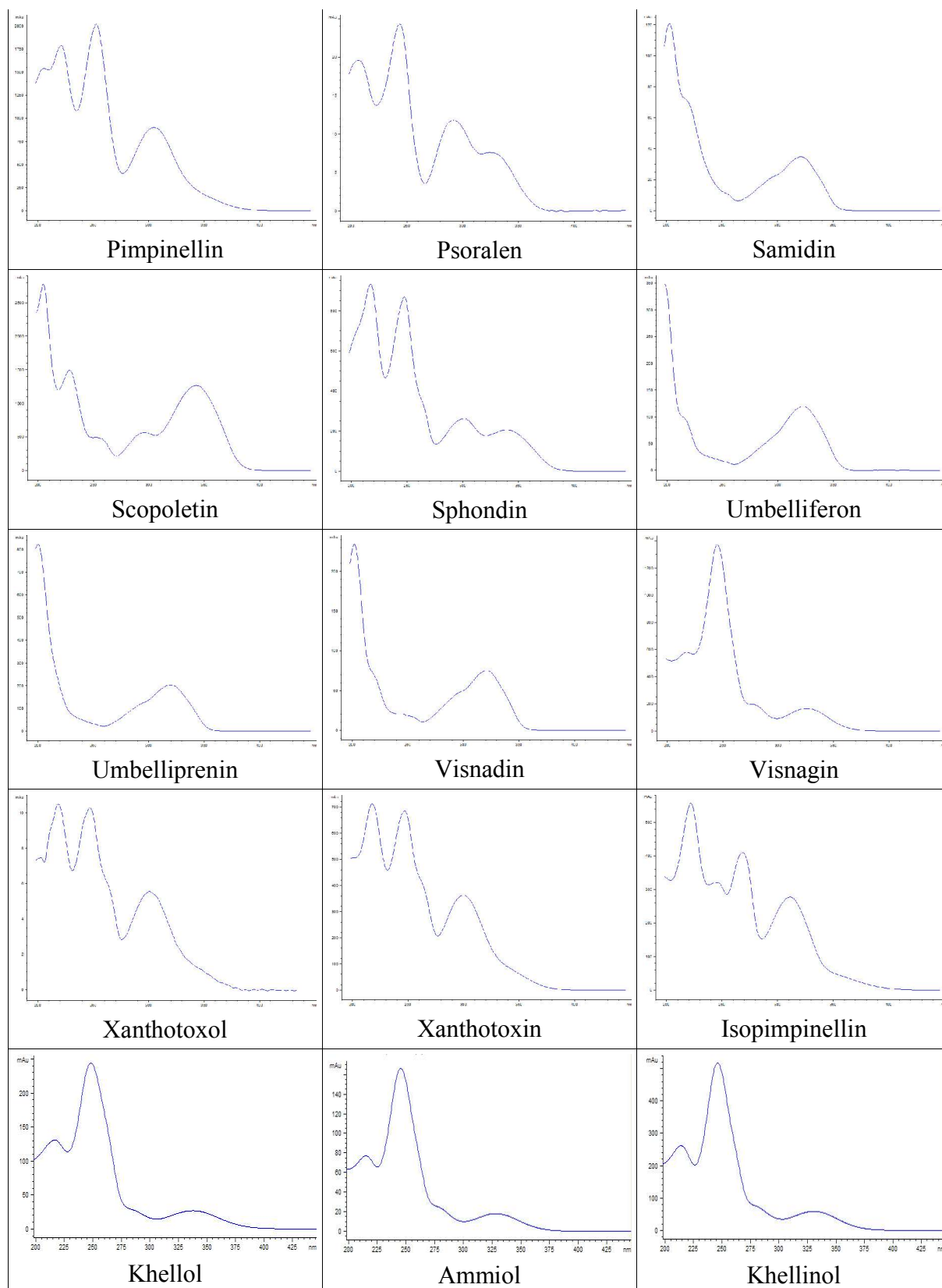
With regard to chemotaxonomic questions the following observations could be made: in the Apiaceae coumarins are not common characteristics of the fruits; in 14 of 36 investigated species no coumarins could be detected. As has already been documented in literature the subfamily Apioideae, the main object here, turned out to be “rich in coumarins”; 20 of 33 species of this subfamily contained coumarins. In the level of the tribes the tribe Peucedaneae was conspicuous with all the investigated representatives containing coumarins. In contrast the Ammineae proved to be quite variable, some showing no coumarins and others showing high concentrations of coumarins.

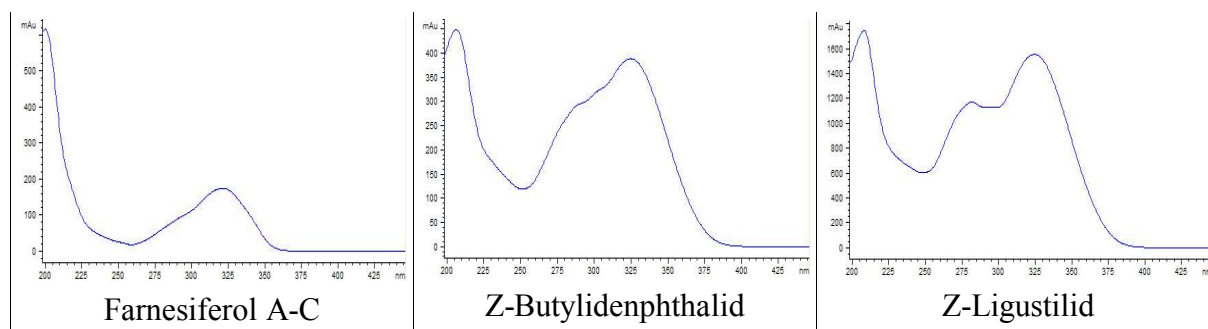
Considering the position of the Apiaceae within the plant system it can be stated that the transfer of the family from the subclass Rosidae to the subclass Asteridae, which was completed some years ago, does not agree with the chemistry of the coumarins. Before that the Apiaceae belonged to the Rosidae together with the Rutaceae which are considered also to be “rich in coumarins”. In comparison with the coumarin structures of Apiaceae the coumarins of the Rutaceae are much more variable due to the higher variation of the side chains. It is striking that in Rutaceae coumarins with geranyl side chains (C10) linked by an ether-bridge are frequent whereas in Apiaceae prenyl side chains (C5) are predominant.

G Anhang

1 UV-Vis-Spektren







2 Messdaten für die Berechnungsformel

Relative Absorptionen

<i>Verdün- nung</i>	<i>Umbelliferon</i>			<i>Xanthotoxin</i>			<i>Imperatorin</i>		
	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm
V1-01	549,33	643,29	2980,51	6710,28	7274,01	2788,15	2629,64	2710,48	989,42
V1-02	522,76	611,55	2835,48	6404,63	6950,75	2728,40	2589,53	2689,89	970,30
V1-03	540,19	631,92	3229,58	6073,72	6734,59	2603,88	2420,62	2558,23	903,09
V1-04	380,97	----	1091,73	6598,99	7652,12	2779,13	2702,02	2811,78	1018,52
V1-05	355,01	465,07	1043,42	6395,11	7135,39	2774,56	2689,31	2809,57	1010,89
V1-06	504,72	583,92	122,91	6390,26	7396,14	2760,35	2659,13	2782,36	997,34
V2-01	359,37	420,46	1947,82	3351,37	3614,00	1363,28	1281,49	1328,69	475,58
V2-02	375,06	438,65	2027,21	3427,18	3818,80	1394,78	1356,92	1407,64	502,13
V2-03	386,58	452,29	2130,25	3294,11	3550,37	1338,30	1249,73	1294,23	468,29
V2-04	451,41	522,17	1444,46	3557,73	3854,53	1425,06	1394,80	1452,56	521,95
V2-05	457,83	529,67	2400,33	3519,80	3816,85	1434,24	1409,86	1467,69	527,69
V2-06	478,33	554,05	2628,70	3484,20	3841,04	1418,70	1405,88	1464,92	525,67
V3-01	277,94	325,74	1535,84	1973,24	2100,42	796,12	786,86	815,18	280,38
V3-02	268,57	314,48	1515,98	1892,00	2017,81	763,07	708,76	740,82	266,50
V3-03	260,84	309,14	1486,70	1911,16	2040,04	700,57	717,39	745,27	267,50
V3-04	266,21	312,97	1561,31	1813,00	1944,46	732,03	718,84	747,74	268,73
V3-05	265,34	307,93	1557,80	1847,14	1979,80	745,78	721,02	750,88	268,45
V3-06	244,87	293,59	1379,23	1848,56	1998,53	749,22	721,98	745,89	270,82

<i>Verdün- -nung</i>	<i>Umbelliferon</i>			<i>Xanthotoxin</i>			<i>Imperatorin</i>		
	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm
V4-01	135,88	161,05	789,92	941,20	1000,70	378,42	360,98	368,41	131,17
V4-02	139,23	163,12	797,84	947,49	1006,91	380,48	360,23	372,62	133,56
V4-03	136,50	159,72	778,93	898,25	954,60	360,76	335,25	346,14	125,30
V4-04	137,34	157,02	829,92	918,62	975,47	370,18	369,92	377,14	138,25
V5-05	138,85	161,11	842,83	946,24	1006,63	374,72	371,97	387,02	138,05
V4-06	138,02	159,91	838,61	923,72	984,34	371,67	364,30	377,86	135,94
V5-01	72,64	83,74	407,59	493,79	524,42	197,93	184,51	190,22	69,53
V5-02	71,71	84,08	412,18	490,39	520,07	196,38	182,36	189,52	68,74
V5-03	72,15	84,53	418,00	483,24	512,96	193,35	199,21	207,43	68,10
V5-04	68,98	79,43	418,54	458,21	495,45	187,31	181,11	187,79	68,94
V5-05	68,28	77,98	412,88	461,25	490,33	185,03	186,23	192,95	70,40
V5-06	68,20	78,87	411,35	466,67	496,66	187,36	189,62	193,36	69,32

Relative Spektren

<i>Verdün- -nung</i>	<i>Umbelliferon</i>			<i>Xanthotoxin</i>			<i>Imperatorin</i>		
	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm
V1-01	0,17	0,19	0,92	0,93	1,00	0,37	0,88	0,91	0,32
V1-02	0,16	0,19	0,92	0,92	1,00	0,38	0,88	0,91	0,32
V1-03	0,12	0,14	0,69	0,94	1,00	0,37	0,88	0,91	0,32
V1-04	0,18	0,2	0,92	---	---	---	0,89	0,92	0,32
V1-05	0,14	0,16	0,07	---	---	---	0,89	0,92	0,32
V1-06	---	---	---	---	---	---	0,88	0,91	0,32
V2-01	0,16	0,18	0,92	0,91	0,98	0,36	0,87	0,91	0,31
V2-02	0,16	0,19	0,92	0,91	0,98	0,36	0,87	0,90	0,31
V2-03	0,16	0,18	0,92	0,91	0,98	0,36	0,86	0,90	0,31
V2-04	---	---	---	---	---	---	0,88	0,92	0,32
V2-05	---	---	---	---	---	---	0,88	0,97	0,32
V2-06	---	---	---	---	---	---	0,88	0,92	0,32
V3-01	0,17	0,20	0,93	0,91	0,97	0,35	0,87	0,91	0,28
V3-02	0,17	0,19	0,92	0,91	0,97	0,34	0,85	0,89	0,28
V3-03	0,16	0,19	0,92	0,90	0,97	0,34	0,84	0,88	0,28
V3-04	0,15	0,17	0,93	0,91	0,97	0,36	0,89	0,92	0,32
V3-05	---	---	---	---	---	---	---	---	---
V3-06	0,16	0,19	0,92	0,92	0,97	0,36	0,89	0,91	0,32

<i>Verdün- nung</i>	<i>Umbelliferon</i>			<i>Xanthotoxin</i>			<i>Imperatorin</i>		
	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm
V4-01	0,16	0,20	0,91	0,88	0,95	0,33	0,78	0,83	0,24
V4-02	0,16	0,20	0,91	0,88	0,94	0,32	0,77	0,81	0,23
V4-03	0,16	0,19	0,91	0,87	0,94	0,32	0,75	0,79	0,23
V4-04	0,15	0,18	0,93	0,92	0,97	0,36	0,89	0,91	0,32
V5-05	0,16	0,18	0,93	0,91	0,97	0,36	0,89	0,92	0,32
V4-06	0,16	0,18	0,93	0,91	0,97	0,36	0,89	0,92	0,32
V5-01	0,16	0,20	0,89	0,82	0,89	0,29	0,65	0,69	0,16
V5-02	0,16	0,20	0,89	0,81	0,88	0,28	0,63	0,69	0,15
V5-03	0,17	0,22	0,90	0,80	0,86	0,28	0,66	0,70	0,15
V5-04	0,15	0,18	0,93	0,87	0,97	0,36	0,89	0,91	0,32
V5-05	0,15	0,17	0,93	0,92	0,97	0,36	0,89	0,92	0,32
V5-06	0,15	0,18	0,93	0,92	0,97	0,36	0,89	0,92	0,32

Spezifische Absorptionen ($A^{1\%}_{1\text{cm}}$)

<i>Verdün- nung</i>	<i>Umbelliferon</i>			<i>Xanthotoxin</i>			<i>Imperatorin</i>		
	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm
V1-01	26,67	31,23	144,69	316,52	343,11	131,52	268,33	276,58	100,96
V1-02	25,38	29,69	137,64	302,11	327,87	128,70	264,28	274,39	99,01
V1-03	26,22	30,68	156,78	286,50	317,67	122,82	247,00	261,04	92,15
V1-04	a)	a)	a)	311,27	360,95	131,09	275,72	286,92	103,93
V1-05	a)	a)	a)	301,66	336,57	130,88	274,42	286,69	103,15
V1-06	a)	a)	a)	301,43	348,87	130,21	271,34	283,91	101,77
V2-01	34,89	40,82	189,11	316,17	340,94	128,52	261,53	271,16	97,06
V2-02	36,41	42,59	196,80	323,32	360,26	126,25	276,92	287,27	102,48
V2-03	37,53	43,91	206,82	310,76	334,94	126,25	255,05	264,23	95,57
V2-04	a)	a)	a)	335,64	363,63	134,44	284,65	296,44	106,52
V2-05	a)	a)	a)	332,06	360,08	135,31	287,73	299,53	107,69
V2-06	a)	a)	a)	328,70	362,36	133,84	286,92	298,96	107,28
V3-01	53,97	63,25	298,22	372,31	396,31	150,21	321,17	332,73	114,44
V3-02	52,15	61,06	294,36	356,98	380,72	143,98	289,29	302,37	108,58
V3-03	50,65	60,03	288,68	360,60	384,91	145,39	292,81	304,19	109,18
V3-04	a)	a)	a)	342,08	366,88	138,12	293,40	305,20	109,69

<i>Verdün- nung</i>	<i>Umbelliferon</i>			<i>Xanthotoxin</i>			<i>Imperatorin</i>		
	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm	250,4nm	245,4nm	314,4nm
V3-05	a)	a)	a)	348,52	373,55	140,71	294,30	306,13	109,57
V3-06	a)	a)	a)	348,78	377,08	141,36	294,69	304,45	110,54
V4-01	52,77	62,54	306,77	355,17	377,62	142,80	294,68	300,74	107,08
V4-02	54,07	63,35	309,50	357,54	379,97	143,58	294,06	304,18	109,03
V4-03	53,01	62,03	302,50	338,96	360,23	136,14	23,68	282,57	102,28
V4-04	a)	a)	a)	346,65	368,10	139,80	301,97	307,87	112,86
V5-05	a)	a)	a)	357,07	379,86	141,40	303,65	315,94	112,69
V4-06	a)	a)	a)	348,58	371,45	140,25	297,39	308,46	110,97
V5-01	56,42	65,04	316,57	372,67	395,79	149,38	301,24	310,57	113,52
V5-02	55,70	65,31	320,14	370,11	392,51	148,21	297,73	309,42	112,23
V5-03	56,04	65,65	324,66	364,71	387,14	145,92	325,25	338,66	111,18
V5-04	a)	a)	a)	345,82	373,93	141,37	295,68	306,60	112,56
V5-05	a)	a)	a)	348,11	370,06	139,65	304,05	315,03	114,93
V5-06	a)	a)	a)	352,21	374,84	141,40	309,58	315,68	113,17

a) Diese Werte wurden nicht berechnet, da für die Formelberechnung Xanthotoxin bzw. Imperatorin besser geeignet sind, da die UV-Spektren charakteristischer und besser auswertbar sind.

H Literatur

Abd. El-Razek, M. H.; Otha, S.; Ahmed, A. A.

Sesquiterpen coumarins from the roots of *Ferula asa foetida*.

Phytochemistry **58**: 1289-1295; 2001.

Brazdovicova, B.; Kostalova, D.; Strocinska, E.; Tomko, J.

Isolation and identification of oroselol and other furocoumarin derivatives from the roots of the common cow parsnip.

Cesko-Slovenska Farmacie **31**: 346-347; 1982

Chaudhary, S. K.; Ceska, O.; Tetu, C.

Oxypeucedanin, a major furocoumarin in parsley, *Petroselinum crispum*.

Planta Medica : 462-464; 1986

Dabine Lengyel, E.; Tompa-Farkas, I.; Zambo, I.

Herba Hungarica , 95-104; 1986

Dragan, T.; Zgorka, G.; Glowniak, K.

Der Gehalt an linearen Furanocumarinen in den Früchten einiger *Heracleum* Spezies.

Herba Polonia **45**: 12-17; 1999

Eichstedt Nielsen, B.

Coumarins of umbellifrous plants.

Dansk Tidsskrift for Farmaci Vol. **44**: 1970

Elgamal, M. H. A.; Abu Mustafa, E. A.; Shalaby, N. M. M

Isolation of komalin and isooxyimperatorin from the fruits of *Ammi majus* L.

Egyptian Journal of Pharmaceutical Science **33**: 389-384; 1991

Erdelmeier, C. A. J.; Sticher, O.

Coumarin derivatives from *Eryngium campestre*.

Planta Medica : 407-409; 1985

Erdelmeier, C.A.J.; Meier, B; Sticher, O.

Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of closely related furocoumarins.

Journal of Chromatography **346**: 456-460; 1985

Frank, B.

Petroselinum in Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis Band 6, 5. Auflage

Springer Verlag: 105-119; 1994

Frohne, D.; Jensen, U.

Systematik des Pflanzenreichs.

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 265, 268-269, 273-275; 1998

Genius, O.-B.

Radix Angelicae archangelicae. Identitätsnachweis und Gehaltsbestimmung auf der Basis von Osthenol.

Deutsche Apotheker Zeitung **121**: 386-387; 1981

Glowniak, K; Mroczek, T.; Zabza, A.; Cierpicki, T.

Isolation and structure elucidation of 5,7-disubstituted simple coumarins in the fruits of *Heracleum mantegazzianum*.

Pharmaceutical Biology **38**: 308-312; 2000

Hawryl, M. A.; Soczewinski, E. Dzido, T. H.

Separation of coumarins from *Angelica officinalis* in high-performance liquid chromatography and thin-layer chromatography systems.

Journal of Chromatography A **886** : 75-81; 2000

Hegnauer, R.

Chemotaxonomie der Pflanzen Band 9.

Birkhäuser Verlag Basel, 668; 1990

Hegnauer, R.

Chemotaxonomie der Pflanzen Band 9.

Birkhäuser Verlag Basel, 670-671; 1990

Heywood , V.A.

Blütenpflanzen der Welt.

Birkhäuser Verlag Basel, 221; 1978

Jacob, F; Jäger E.; Ohmann E.

Botanik.

VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 309-310; 1987

Jork, H.

Chemische Rassen bei *Petroselinum hortense* HOFFM. und *Asarum europaeum* L.

Dissertation Saarbrücken 1963

Karlsen, J.; Boomsma, L. E. J.; Baerheim Svendsen, A.

Furanocoumarins of *Levisticum officinale*. Isolation of psoralen and bergapten.

Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap: 169-172; 1968

Lemmich, J.; Havelund, S.; Thastrup, O.

Dihydrofurocoumarin glucosides from *Angelica archangelica* and *Angelica silvestris*.

Phytochemistry **22**: 553-555; 1982

Lüllmann, H.; Mohr, K.; Ziegler A.

Taschenatlas der Pharmakologie,

Thieme Verlag, 144; 1996

Mendez, J.; Castro-Poceiro, J.

Coumarins in *Foeniculum vulgare* fruits.

Revista Latinoamericana de Quimica **12**: 91-92; 1981

Milosavljevic, S.; Jeremic, D.; Nevescanin, M.

Furo- and pyranocoumarins from plant species *Angelica sylvestris* and *Peucedanum austriacum*.

Journal of the Serbian Chemical Society **58**: 997-1001; 1993

Murray, R. D. H.; Méndez, J.; Brown S. A.

The natural coumarins.

Wiley & Sons Ltd., Bristol 1982

Mutschler, E.

Arzneimittelwirkungen.

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 607; 1996

Rote-Liste 2003

Hauptgruppe 20.B.2

Editiv Cantor Verlag Aulendorf/Württ. 2003

Rücker, G.; Neugebauer, M.; Willems, G. G.

Instrumentelle pharmazeutische Analytik.

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 76-77; 1992

Schilcher, H; Kammerer, S.

Leitfaden Phytotherapie; Urban & Fischer, München, Jena, 217; 2000

Sitte, P.; Weiler, E.W.; Kadereit, J.K.; u.a.

Strasburger Lehrbuch der Botanik, 35. Auflage; Spektrumverlag, 855-858; 2002

Stein, M. L.; Posocco, E.

Furocoumarins of *Pastinaca sativa* subsp. *sylvestris*.

Fitoterapia **55**: 119-122; 1984

Teuscher, E.

Pharmazeutische Biologie .

Akademie Verlag Berlin, 139, 216-217; 1989

Vuorela, H.; Dallenbach-Tölke, K.; Nyiredy, S.

HPLC analysis of the main furanocoumarins from *Peucedanum palustre*.

Planta Medica **55**: 181-185; 1989

Wagner, H.; Bladt, S.; Zgainski, E.M.

Drogenanalyse

Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York , 152; 1983

Warncke, D.

Untersuchungen über die Zusammensetzung der ätherischen Öle von *Petroselinum crispum* (MILL.) A.W. HILL. und *Petroselinum segetum* (L.) KOCH unter besonderer Berücksichtigung von Handelsdrogen.

Dissertation Würzburg 1992

Wawrzynowicz, T.; Waksmundzka-Hajnos, M.; Bieganska, M.

Chromatographic investigations of furocoumarins from *Heracleum* genus fruits.

Chromatographia **28**: 161-166; 1989

Zobel, Alicja M.; Brown, Stewart A.

Seasonal changes of furanocoumarin concentrations in leaves of *Heracleum lanatum*.

Journal of Chemical Ecology **16**: 1623-1634;1990

/ Lebenslauf

Name Andreas Herde
 Familienstand ledig
 Staatsangehörigkeit deutsch

geboren am 03.10.1972 in Hamburg

September 1979 - Juni 1983

Grundschule Rothestrasse

August 1983 - Juni 1992

Gymnasium Altona
 Abitur Juni 1992

August 1989 - Januar 1993

Ausbildung zum CTA im Rahmen einer
 Doppelqualifikation
 Abschluss Januar 1993

Februar 1993 - Februar 1994
 Februar 1994 - Mai 1994

Grundwehrdienst
 Wehrdienst als Soldat auf Monat

April 1994 - November 1998

Pharmaziestudium an der Universität Hamburg

5.September 1996 erstes Staatsexamen
 13.November 1998 zweites Staatsexamen

Dezember 1998 – November 1999

Pharmaziepraktikum in der Neuen Apotheke
 Hoheluftchaussee 85

20. Dezember 1999 drittes Staatsexamen
 07. Januar 2000 Erteilung der Approbation

Januar 2000 - März 2000

als angestellter Apotheker in der Neuen Apotheke
 Hoheluftchaussee 85

April 2000

Beginn der Dissertation am Institut für
 Pharmazie der Universität Hamburg

April 2000 bis September 2003

Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für
 Pharmazie der Universität Hamburg

ab Oktober 2004

Angestellter Apotheker bei
 SALUS Haus GmbH & Co.KG, 83052 Bruckmühl

