

plates (135 µl per well). After 24 h of culture, wells received either 15 µl of medium with DMSO as controls, or 15 µl of medium containing a compound solubilized in this solvent. After 5 d of culture, each well received 15 ml of a sterile solution of MTT in phosphate buffered saline (PBS) solution at 5 mg/ml before incubating 2 h. Then, the culture medium was removed and 100 µl of DMSO was added in each well for quantitation of blue formazan by reading the absorbance at 540 nm on a Titertek Multiskan II (Flow Laboratories).

The respective IC<sub>50</sub> values were calculated from the regression lines plotted as the percentage of decrease in absorbance *versus* controls as a function of the logarithm of the concentration.

## References

- Bouammali, B.; Pautet, F.; Carneiro do Nascimento, S.; Boitard, M.; Fillion, H.: Arch. Pharm. **326**, 547 (1993)
- Carneiro do Nascimento, S.; Nebois, P.; Benameur, L.; Boitard, M.; Bartoli, M.-H.; Fillion, H.: Pharmazie **49**, 296 (1994)
- Carneiro do Nascimento, S.; Bouammali, B.; Boitard, M.; Pautet, F.; Soufiaoui, M.; Fillion, H.: Pharmazie **49**, 702 (1994)
- Nebois, P.; Carneiro do Nascimento, S.; Boitard, M.; Bartoli, M.-H.; Fillion, H.: Pharmazie **49**, 819 (1994)
- Benameur, L.; Bouaziz, Z.; Nebois, P.; Bartoli, M.-H.; Boitard, M.; Fillion, H.: Chem. Pharm. Bull. **44**, 605 (1996)
- The first example of the synthetic usefulness of α, β unsaturated N,N-dimethylhydrazone was established by: Serckx-Poncin, B.; Hesbain-Frisque, A.-M.; Ghosez, L.: Tetrahedron Lett. **23**, 3261 (1982)
- Nebois, P.; Fillion, H.; Benameur, L.; Fenet, B.; Luche, J.-L.: Tetrahedron **49**, 9767 (1993)
- Nebois, P.; Cherkaoui, O.; Benameur, L.; Fillion, H.; Fenet, B.: Tetrahedron **50**, 8457 (1994)
- Cherkaoui, O.; Nebois, P.; Fillion, H.; Domard, M.; Fenet, B.: Tetrahedron **52**, 9499 (1996)
- Cailleau, R.; Young, R.; Olive, M.; Reeves, W. J.: J. Natl. Cancer Inst. Monogr. **49**, 661 (1974)
- Kaighn, M. E.; Lechner, J. F.; Narayan, K. S.; Jones, L. W.: Natl. Cancer Inst. Monogr. **53**, 17 (1978)
- Kaighn, M. E.; Narayan, K. S.; Ohnuki, Y.; Lechner, J. F.; Jones, L. W.: Invest. Urol. **17**, 16 (1979)
- Mosmann, T.: J. Immunol. Methods **65**, 55 (1983)

Received July 22, 1998

Accepted September 3, 1998

Prof. Dr. H. Fillion

8, avenue Rockefeller

69373 Lyon Cedex 08

France

fillion@cismsun.univ-lyon1.fr

Pharmazeutisches Institut<sup>1</sup>, Universität Bonn, Germany and College of Pharmacy<sup>2</sup>, Kang Weon National University, Chuncheon, Korea

## Neue polare Inhaltsstoffe aus *Asiasarum sieboldii*

M. OPITZ<sup>1,3</sup>, P. PACHALY<sup>1</sup> und K. S. SIN<sup>2</sup>

Aus *Asiasarum sieboldii* wurden drei neue Verbindungen, das Monoterpen Asiasarinol (**3**), das Iridoidglycosid 6-O-(3,4-Dimethoxy-)cinnamoyl-ajugol (**14**) und das Isobutylamid Asaramid (**15**) neben 12 weiteren, für die Gattung *Asarum* zum Teil neuen Substanzen isoliert und deren Struktur mit spektroskopischen Methoden aufgeklärt. Vier dieser Verbindungen traten als *E/Z*-Isomerengemische mit unterschiedlichen Isomerenverhältnissen auf.

### New polar ingredients from *Asiasarum sieboldii*

From *Asiasarum sieboldii* 3 new compounds, the monoterpane derivative asiasarinol (**3**), the iridoid glycoside 6-O-(3,4-dimethoxy-)cinnamoyl-ajugol (**14**) and the isobutylamide asaramid (**15**) were isolated besides twelve other, for the genus *Asarum* partly unknown compounds. Their structures were elucidated by spectroscopic methods. Four of these ingredients were detected as mixtures of *E/Z* isomers.

### 1. Einleitung

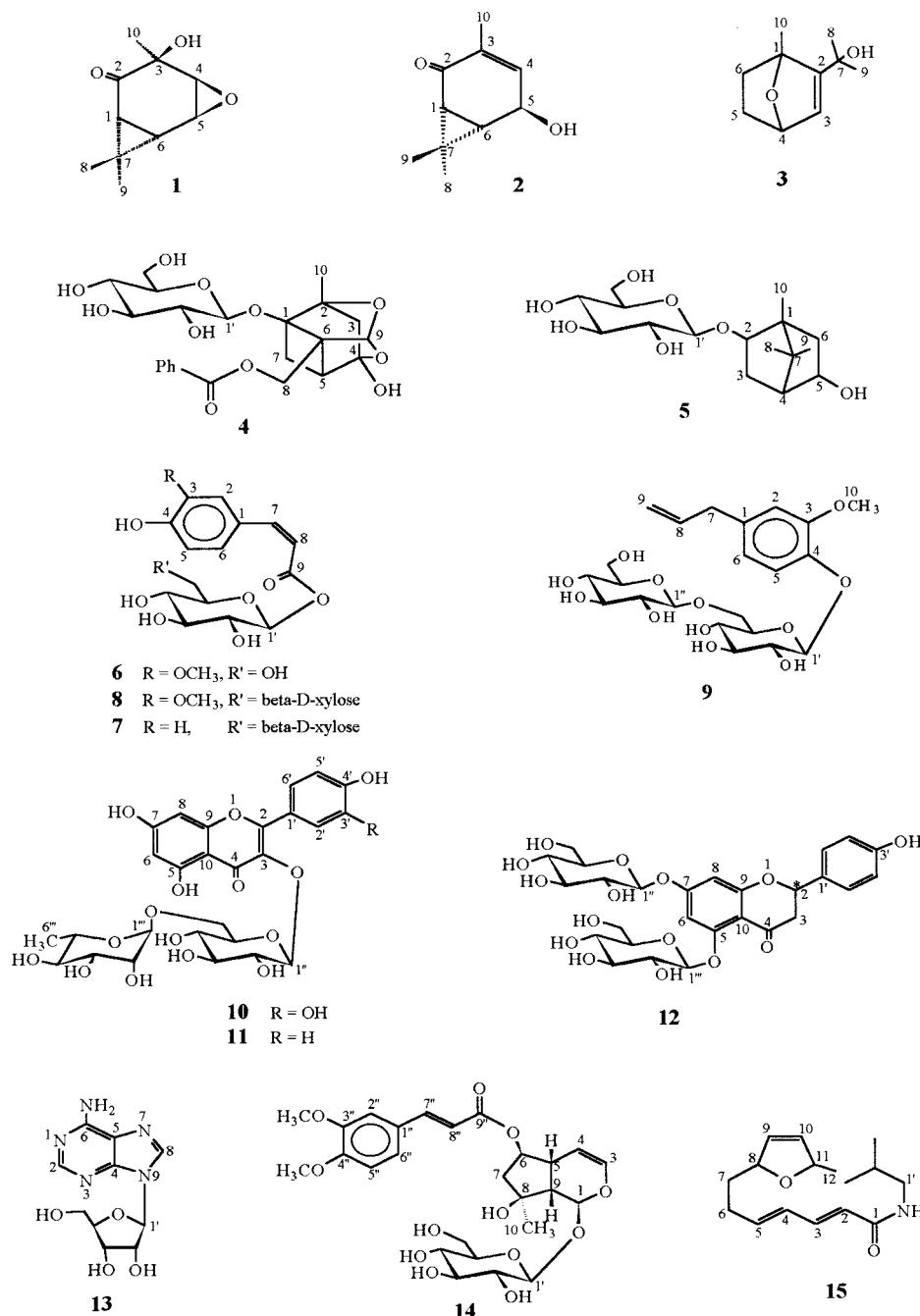
*Asiasarum sieboldii* gehört aufgrund seines sehr breiten Einsatzgebietes in der chinesischen Volksmedizin zu einer der am besten auf ihre Inhaltsstoffe untersuchten Pflanze der Gattung *Asarum*. Seine unpolaren Inhaltsstoffe sind schon seit Jahrzehnten Objekt intensiver Forschung asiatischer Phytochemiker. *Asiasarum sieboldii* zeichnet sich durch das Vorkommen vieler verschiedener Naturstoffklassen aus. Darunter finden sich vor allem Monoterpene, Phenylpropanderivate, Phenolderivate, Orcinderivate, Isobutylamidderivate, Benzylisochinolinderivate, Flavonoide und Lignanoide. Übersichten hierzu finden sich bei Hegnauer [1] und Hager [2].

Das getrocknete ganze Kraut (*Asari herba*) soll sich in der traditionellen chinesischen Volksmedizin als Decoct bei Erkältungen, Kopfschmerzen und Husten [3], äußerlich als Fluidextrakt bei Zahnschmerzen und Gingivitis [4] und als Pflaster bei Gingivitis [4] und als Pflaster bei Gingivo-Stomatitis herpetica bewährt haben [5].

Pharmakologische Testungen auf antiallergische und antiphlogistische Wirkung [6] des *n*-Hexan-, *n*-Butanol-, Methanol- und des Wasserextraktes aus der Wurzel von *Asiasarum sieboldii* zeigten, daß insbesondere Inhaltsstoffe des polaren Butanolextraktes starke pharmakologische Aktivität besitzen. Die Studie wurde mit Hilfe eines 5-LOX Enzym Tests [7] und einer Antagonismusstudie von LTD<sub>4</sub> am Meerschweinchen-Ileum [8] durchgeführt. Somit sollte die Isolierung möglicher wirksamer Bestandteile aus der Butanolfraktion im Hinblick auf eine genauere pharmakologische Untersuchung weitere Informationen zur Wirksamkeit dieser häufig angewandten Arzneipflanze liefern.

### 2. Untersuchungen und Ergebnisse

Aus der *n*-Butanol- und der Dichlormethanfraktion der Ganzdroge von *Asiasarum sieboldii* konnten mit Hilfe von säulenchromatographischen Methoden insgesamt fünfzehn Verbindungen isoliert und deren Strukturen spektroskopisch eindeutig identifiziert werden. Von diesen fünfzehn



Verbindungen traten vier Verbindungen als Konfigurationsisomerengemische mit unterschiedlichen Isomerenverhältnissen auf.

Typische Inhaltsstoffe von *Asarum*-Arten sind Monoterpene, von denen aus der untersuchten Droge neben den von Hashimoto schon beschriebenen Verbindungen Asarinol A (**1**) und Asarinol B (**2**) das in der Literatur noch nicht bekannte Asiasarinol (**3**) identifiziert werden konnte. Die Konstitution von **3** wurde mit Hilfe von HH-COSY-, HET-COR-, CH-COLOC-Experimenten und einem FAB-Massenspektrum zweifelsfrei aufgeklärt. Interessant ist dabei die für Monoterpene eher untypische Bindung der Isopropanolgruppe an das Olefin, welche im CH-COLOC-Spektrum durch die <sup>3</sup>J-CH-Kopplung von C-3 mit den Isopropanoylprotonen H-8 und H-9 bestätigt wird.

Zwei für die Gattung *Asarum* unbekannte Monoterpen-glucoside, Paeoniflorin (**4**) und 2-β-D-Glucosyl-5-exo-hydroxy-borneol (**5**), wurden ebenfalls isoliert und identifiziert.

Insgesamt konnten aus der Droge vier Phenylpropanderylglykoside isoliert werden, welche in der Gattung *Asarum* sehr weit verbreitet sind. Es handelt sich dabei um die drei isomeren Zimtsäureglykoside 1-O-Feruloyl-β-D-glucopyranose (**6**), 1-O-p-Cumaroyl-β-D-xylo-pyranosyl-(1 → 6)-β-D-glucopyranose (**7**) und 1-O-p-Feruloyl-β-D-xylopyranosyl-(1 → 6)-β-D-glucopyranose (**8**), die jeweils im E/Z-Isomerenverhältnis 92/8, 61/39 bzw. 87/13 vorlagen, und das Phenylpropenglykosid β-D-Gentobiosyl-eugenol (**9**). Die Z-Isomeren der Zimtsäureglykoside sind bisher für *Asarum*-Arten nicht beschrieben.

In den sehr polaren Extrakten wurden neben dem für *Asiarum sieboldii* schon beschriebenen Flavanglykosid 2-(R,S)-5,7-Di-O-β-D-glucopyranosyl-naringenin (**12**) die beiden in sehr großen Mengen auftretenden Flavonole Rutin (**10**) und Kämpferol-3-O-rutinosid (**11**) sowie Adenosin (**13**) nachgewiesen. Dabei wurde anhand eines CH-COLOC-Experimentes deutlich, daß bei **13** in der Literatur [9] die Zuordnung der <sup>13</sup>C-NMR-Signale von C-6

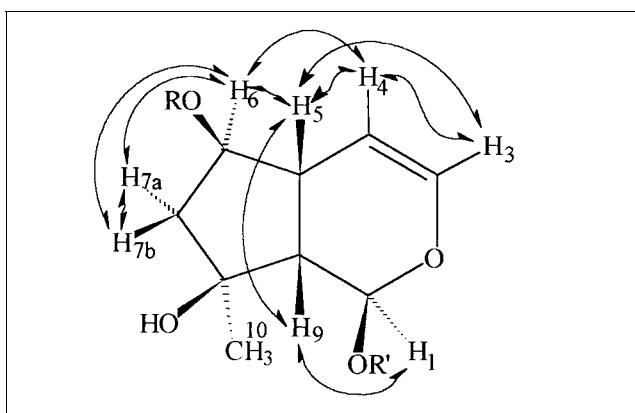


Abb.: Kopplungen am Iridoid-Teil von 14

und C-4 vertauscht ist. Das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signal bei 149,3 ppm zeigt eindeutig eine  $^3\text{J}$ -CH-Kopplung zum H-2 und entspricht somit dem C-6-Atom. Das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signal bei 155,7 ppm zeigt wie erwartet zwei  $^3\text{J}$ -CH-Kopplung jeweils zum H-2 und H-8 und stammt somit vom C-4-Atom.

Mit der Isolierung des in der Literatur noch nicht beschriebenen isomeren Iridoids 6-O-(3,4-Dimethoxy)-cinnamoyl-ajugol (**14**) fanden wir eine für die Gattung *Asarum* völlig neue Stoffklasse. Die NMR-Spektren, insbesondere die HH-COSY-Spektren im Vergleich zu **6** sprachen eindeutig für das Vorliegen eines *E,Z*-Isomerengemisches eines 3,4-Dimethoxy-Zimtsäurederivates, dessen Konfigurationsisomerieverhältnis mit Hilfe der Integralverhältnisse der H-8"-Protonensignale mit 2 : 1 bestimmt wurde.

Ebenfalls mit Hilfe des HH-COSY-Spektrums ließ sich anhand der Kopplungskette, insbesondere der  $^3\text{J}$ - und  $^4\text{J}$ -W-Kopplungen, die Konstitution der Iridoidstruktur bestimmen. Das APT und das Massenspektrum bestätigen die Struktur von **14**. Die Konstitution und die Konfiguration von **14** lässt sich durch einen Vergleich der NMR-Daten mit Literaturdaten [10] von 6-O-Feruloyl-ajugol zweifelsfrei identifizieren.

Das unbekannte Isobutylamidderivat Asaramid (**15**) wurde ebenfalls aus der Butanolphase isoliert. Im HH-COSY-Spektrum kann man zwei Kopplungsketten verfolgen, in denen sämtliche Protonensignale des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums mit einbezogen sind. Bei der kürzeren Kette handelt es sich eindeutig um die Signalfolge einer Isobutylgruppe. Die zweite Kopplungskette erstreckt sich insgesamt über 11 Protonen-Signalgruppen. Das Strukturelement des Dihydrofurans ergibt sich eindeutig aus den Verschiebungswerten und Kopplungskonstanten der entsprechenden Protonen. Die beiden konjugierten Doppelbindungen besitzen aufgrund der großen Kopplungskonstanten (15,3 Hz) für die Protonen H-2 bis H-5 *E*-Konfiguration. Die Verschiebungswerte der Signale im Tieffeldbereich des APT-Spektrum sprechen eindeutig für ein  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -ungesättigtes Säureamid, was sich insbesondere durch die Tieffeldverschiebung des Carbonsäureamidsignals bei 169 ppm und des  $\beta$ -C- (C-3) bzw.  $\beta$ -H-Signals (H-3) gegenüber den anderen Doppelbindungssignalen zeigt. Deutlich zu erkennen ist die Aufspaltung der Signale der beiden olefinischen Kohlenstoffatome C-9 und C-10 zu Doppelsignalen. Dieses Verhalten liegt in den beiden Chiralitätszentren am C-8 und C-11 begründet, wodurch das Molekül in seinen theoretisch vier diastereomeren Formen auftreten kann, die sich in ihrem physikalischen Verhalten voneinander unterscheiden. Dies könnte aber nur durch eine Röntgenstrukturanalyse vollständig geklärt werden.

Erstaunlicherweise tritt die Verschiebungsdifferenz der isomeren Resonanzsignale weder im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum, noch bei den restlichen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signalen auf. Die optische Drehwertbestimmung ergab, daß **15** keine optische Aktivität besitzt.

### 3. Diskussion

Die gefundenen Inhaltsstoffe könnten mit einiger Vorsicht für *A. sieboldii* einige volksmedizinische Anwendungsbiete erklären. So wurde für die Ferulasäure eine analgetische und antiphlogistische, sowie eine spasmolytische Wirkung gefunden [11]. Ozaki und Ma testeten die Substanz am kontrahierten Rattenuterus [12]. In Tierversuchen zeigte die Ferulasäure eine Erhöhung der Phagozytoseaktivität von Makrophagen, sowie eine Steigerung der Lymphozyten- und Interleukin-2-Produktion [13]. Adenosin führt über die Erregung von A1- und A2-Rezeptoren zu einer Hemmung der Aktivität des Sinus- und AV-Knotens, zu einer negativen inotropen Wirkung, zu einer Er schlaffung der glatten Muskulatur in Dünndarm und Uterus und zu einer Vasodilatation der Koronar- und anderer Blutgefäße. Adenosin hemmt ferner die Thrombozytenaggregation und führt infolge verminderter Neurotransmitterfreisetzung im ZNS zu einer Sedierung des Patienten [14]. Das in der Literatur unbekannte und nur in sehr geringer Konzentration vorkommende Monoterpen *Asiasarinol A* stellt mit seiner isopropanolsubstituierten Doppelbindung eine strukturchemisch sehr selten zu beobachtende Besonderheit dar. Ein im Rahmen dieser Arbeit isoliertes Diterpen, dessen Struktur leider aufgrund zu geringer Substanzmengen nicht zweifelsfrei aufgeklärt werden konnte, weist die identische Teilstruktur auf. Analoges gilt für das von Yahara 1990 aus *Asiasarum sieboldii* isolierte Monoterpen [15]. Eine bemerkenswerte und für die Gattung *Asarum* einmalige Stoffklasse stellen die beiden isomeren, in der Literatur noch nicht bekannten Iridoidglykoside *E*- und *Z*-O-(3,4-Dimethoxy)-cinnamoyl-ajugol dar. Ajugol wurde erstmals 1974 aus der Pflanze *Ajuga reptans* isoliert und strukturchemisch aufgeklärt. Seitdem sind keine Ergebnisse pharmakologischer Testungen dieser sehr interessanten Stoffklasse veröffentlicht worden. Leider reichen die hier aus *Asiasarum sieboldii* isolierten 12 mg Substanz für eigene Untersuchungen nicht aus.

Die strukturelle Verwandtschaft des Asaramids (**15**) mit dem antiallergisch sehr wirksamen Dodeca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*E*-tetraensäureisobutylamid (88,9%ige Hemmung der 5-LOX von RBL-1 Zellen bei einer Konz. von 10  $\mu\text{M}$  [7]) liegt nahe, da **15** durch Elimination des Sauerstoffs aus dem Dihydrofuran-Ring sehr leicht in das Tetraensäurederivat umgewandelt werden kann. Daß es sich bei der Substanz **15** um ein Artefakt handelt, ist dabei eher unwahrscheinlich. Leider wurden bisher durch Nachisolierung nur 7 mg dieses vielversprechenden Inhaltsstoffes erhalten, so daß noch keine pharmakologischen Testungen vorgenommen werden konnten.

### 4. Experimenteller Teil

#### 4.1. Allgemeine Angaben

UV: Lambda 2 UV/VIS-Spektrometer (Perkin-Elmer); IR: IR-298-Spektrometer (Perkin-Elmer); optische Drehung: Polarimeter 241 (Perkin-Elmer); MS: FAB-MS: Concept 1 H (Kratos); NMR: Varian XL 300 (Varian); Sorptionsmaterial für die SC: Kieselgel 60 (63–200  $\mu\text{m}$ ) (Merck); Kieselgel RP 8 (15–40  $\mu\text{m}$ ) (Merck); DC-Platten (Merck); Kieselgel 60  $\text{F}_{245}$ ; Kieselgel RP 8. Das Pflanzenmaterial wurde im Frühjahr 1994 unter der Leitung von Prof. Dr. W. C. Lee in Südkorea gesammelt und identifiziert. Ein Herbarexemplar findet sich bei P. Pachaly.

#### 4.2. Extraktion der Droge

2,8 kg der getrockneten und grob pulverisierten Ganzdroge wurden nacheinander mit 13 l einer Mischung aus Petrolether/Ether (1:1), 14 l Ethylacetat und 18 l CH<sub>3</sub>OH extrahiert. Die Petrolether/Ether-Phase lieferte 94 g Rückstand, die Ethylacetat-Phase ergab 52 g Rückstand. Der CH<sub>3</sub>OH-Extrakt ergab 138 g Rückstand, der in 1,8 l H<sub>2</sub>O suspendiert und abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde nacheinander mit 1,7 l Ethylacetat und 1,3 l n-Butanol extrahiert. Die Ethylacetatphase lieferte 24,7 g Rückstand und der n-Butanolextrakt ergab 8,7 g Rückstand mit den Substanzen **3–15**.

Zur Gewinnung von **1** und **2** wurden 5 kg grob pulverisierte Droge mit 30 l CH<sub>3</sub>OH mazeriert, der Rückstand des Filtrats ergab nach Einengen 800 ml einer sirupösen Flüssigkeit, die nach Verdünnen mit 1 l Wasser zunächst mit 2 Petroläther (40/60) extrahiert wurde. Die Petrolätherphase wurde verworfen. Anschließend wurde mit 1,7 l CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ausgeschüttelt. Die CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Phase lieferte 1,9 g viskoses Öl, das u. a. **1** und **2** enthielt.

#### 4.3. Isolierung der Substanzen

8,7 g n-Butanolextrakt wurden in 12 ml CH<sub>3</sub>OH gelöst und mit MPLC über zwei hintereinandergeschaltete Sephadexäulen (Sephadex LH 20, 155 cm × 3 cm) mit CH<sub>3</sub>OH als Elutionsmittel vortrennt. Man erhielt fünf Fraktionen, von denen die Fraktion 3 (Ve = 620–800 ml, 2,24 g Rückstand) und 4 (800–1210 ml, 2,02 g Rückstand) untersucht wurden.

##### 4.3.1. Vortrennung der Substanzen **3**, **4**, **5**, **10**, **14** und **15**

Fraktion 3 aus 4.3. (2,24 g) wurde in 3 ml CH<sub>3</sub>OH gelöst und erneut mit MPLC über zwei hintereinandergeschaltete Säulen (Sephadex LH 20, 155 cm × 3 cm) mit CH<sub>3</sub>OH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 + 1) als Elutionsmittel getrennt. Die Hauptfraktion (Ve = 0,4–0,7 l, 1,2 g Rückstand) wurde anschließend mit MPLC getrennt [Kieselgel RP 8; Säule 46 × 2,6 cm; Gradientenelution: 800 ml H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (2 + 1), 750 ml H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (3 + 2), weitere 600 ml H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (1 + 1)]. Man erhielt mehrere Fraktionen, von denen die Fraktionen 1 (Ve = 630–725 ml, 33 mg Rückstand), 2 (Ve = 1120–1320 ml, 65 mg Rückstand), 3 (Ve = 1380–1600 ml, 60 mg Rückstand), 4 (Ve = 1600–1870 ml, 70 mg Rückstand), 5 (Ve = 2150–2380 ml, 90 mg Rückstand), und 6 (Ve = 2380–2590 ml, 55 mg Rückstand) Substanzen enthielten, die identifiziert werden konnten.

##### 4.3.1.1. Isolierung von Asiasarinol (**3**)

33 mg der Fraktion 1 aus 4.3.1. wurden in 0,3 ml eines Gemisches aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (5 + 1) gelöst und sc über einer hydrostatischen Säule (Kieselgel 60, 70 cm × 0,8 cm) mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch als Elutionsmittel getrennt. Die Hauptfraktion (Ve = 35–45 l, 4,5 mg Rückstand) wurde erneut über Sephadex LH (20, 70 cm × 0,7 cm) mit CH<sub>3</sub>OH als Elutionsmittel getrennt. Die Fraktion Ve = 10–12 ml ergab schließlich 3 mg reines **3**.

##### 4.3.1.2. Isolierung von Paeoniflorin (**4**)

Die in Fraktion 2 aus 4.3.1 erhaltenen 65 mg wurden zunächst in 0,4 ml eines Gemisches aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (4 + 1) gelöst und sc über einer hydrostatischen Säule (Kieselgel 60, 80 cm × 1,1 cm) mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch als Elutionsmittel getrennt. Die Fraktion (Ve = 130–145 l, 13 mg Rückstand) wurde erneut über Sephadex LH 20, 70 cm × 0,7 cm) mit CH<sub>3</sub>OH als Elutionsmittel getrennt. Die Fraktion Ve = 18–20 ml ergab schließlich 6 mg reines **4**.

##### 4.3.1.3. Isolierung von 2-exo-β-Glukosyl-5-exo-hydroxy-borneol (**5**)

Die Fraktion 3 (60 mg) aus 4.3.1. wurde in 0,6 ml eines Gemisches aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (13 + 1) gelöst und sc über einer hydrostatischen Säule [Kieselgel 60, 50 cm × 1,3 cm; Gradientenelution: 280 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (13 + 1), 250 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (4 + 1)] getrennt. Die Fraktion Ve = 355–365 ml ergab schließlich 7 mg reines **5**.

##### 4.3.1.4. Isolierung von β-Gentobiosyl-eugenol (**10**)

70 mg der Fraktion 4 aus 4.3.1. wurden in 0,7 ml eines Gemisches aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (4 + 1) gelöst und sc über einer hydrostatischen Säule [Kieselgel 60, 50 cm × 1,3 cm; Gradientenelution: 175 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (4 + 1), 200 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (2 + 1)] getrennt. Die Hauptfraktion (Ve = 250–275 ml, 17 mg Rückstand) wurde erneut über Sephadex (Sephadex LH 20, 38 cm × 1,0 cm) mit CH<sub>3</sub>OH als Elutionsmittel getrennt. Die Fraktion Ve = 12–13,5 ml ergab schließlich 11 mg reines **10**.

##### 4.3.1.5. Isolierung von Asaramid (**15**)

90 mg der Fraktion 5 aus 4.3.1. wurden in 1 ml eines Gemisches aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (5 + 1) gelöst und sc über einer hydrostatischen Säule (Kieselgel 60, 85 cm × 0,8 cm) mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch als Elutionsmittel getrennt. Die Hauptfraktion (Ve = 85–97 ml, 4 mg Rückstand) wurde erneut über Sephadex (Sephadex LH 20, 65 cm × 0,8 cm) mit CH<sub>3</sub>OH als Elutionsmittel getrennt. Die Fraktion Ve = 23–25 ml ergab schließlich 2 mg reines **15**.

##### 4.3.1.6. Isolierung von 3,4-Dimethoxy-cinnamoyl-ajugol (**14**)

Die Fraktion 6 (55 mg) aus 4.3.1. wurde in 0,6 ml eines Gemisches aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (60 + 9 + 1) gelöst und sc über einer hydrostatischen Säule (Kieselgel 60, 70 cm × 0,8 cm) mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch als Elutionsmittel getrennt. Die Fraktion Ve = 72–84 ml ergab schließlich 5 mg reines **14**.

##### 4.3.2. Vortrennung der Substanzen **6**, **7**, **8**, **10**, **11**, **12** und **13**

Fraktion 4 aus 4.3. (2,02 g) wurde in 5 ml CH<sub>3</sub>OH gelöst und erneut mit MPLC über zwei hintereinandergeschaltete Sephadexäulen (Sephadex LH 20, 155 cm × 3 cm) mit CH<sub>3</sub>OH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 + 3) als Elutionsmittel getrennt. Man erhielt mehrere Fraktionen, von denen die Fraktionen A (Ve = 1570 bis 1885 ml, 467 mg Rückstand), B (Ve = 1885–2020 ml, 730 mg Rückstand) und C (Ve = 2020–2176 ml, 460 mg Rückstand) Substanzen enthielten, die identifiziert werden konnten.

##### 4.3.2.1. Isolierung der Substanzen **6**, **8** und **13**

467 mg der Fraktion A aus 4.3.2. wurden in 3 ml eines Gemisches aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (70 + 10 + 2) gelöst und sc über einer hydrostatischen Säule [Kieselgel 60, 95 cm × 2 cm; Gradientenelution: 500 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (70 + 10 + 2), 1000 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (30 + 10 + 1)] getrennt. Neben den beiden isomeren Verbindungen **6** (Ve = 905–950 ml, 48 mg Rückstand) und **8** (Ve = 1130–1325 ml, 68 mg Rückstand), die beide durch erneute Reinigung über Sephadex als Reinsubstanz erhalten werden konnten, wurde eine Fraktion (Ve = 980–1070 ml, 45 mg Rückstand) isoliert, welche nach anschließendem Umkristallisieren in Methanol 24 mg reines **13** ergab.

##### 4.3.2.2. Isolierung der Substanzen **7**, **11** und **12**

Die Fraktion C (730 mg) aus 4.3.2. wurde in 2 ml eines Gemisches aus H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (2 + 1) gelöst und anschließend mittels MPLC getrennt [Kieselgel RP 18; Säule 46 × 2,6 cm (Lobar C); Gradientenelution: 1400 ml H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (2 + 1), weitere 2000 ml H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (3 + 2)]. Neben dem Gemisch der Verbindungen **7** und **12** (beide Ve = 475–610 ml, 117 mg Rückstand), erhielt man **11** mit Ve = 2290–2320 ml (45 mg), das zur weiteren Reinigung erneut sc getrennt wurde [Kieselgel 60; hydrostatische Säule (70 cm × 0,8 cm); Elution mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (80 + 18 + 2)]. Die Fraktion mit Ve = 110–120 ml ergab 35 mg reines **11**.

Das Gemisch aus **7** und **12** wurde erneut auf einer hydrostatischen Säule sc getrennt [Kieselgel 60 (85 × 1,3 cm) Gradienten-Elution mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (80 + 18 + 2) bis (30 + 10 + 1)]. Die Fraktion Ve = 480–560 ml ergab 20 mg **7**, die Fraktion Ve = 685–835 ml 19 mg **12**. Durch erneute und separate Trennung über Sephadex LH 20 (75 × 2,5 cm) mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (1 + 1) erhielt man schließlich mit Ve = 275–475 ml je 13 mg **7** bzw. **12** als reine Substanz.

##### 4.3.2.3. Isolierung von Rutin (**10**)

460 mg der Fraktion C aus 4.3.2. wurden in 1,6 ml eines Gemisches aus H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (3 + 1) gelöst und anschließend mit MPLC getrennt [Kieselgel RP 18; Lobar B; Gradientenelution: 1400 ml H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (3 + 1), weitere 1000 ml H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (3 + 2)]. Die Fraktion mit Ve = 1640–1775 ml (46 mg) wurde erneut über Sephadex LH 20 (75 cm × 2,5 cm) mit dem Elutionsmittel: CH<sub>3</sub>OH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 + 2) getrennt und ergab schließlich 36 mg reines **10** (Ve = 600–980 ml).

#### 4.4. Isolierung der Verbindungen **1** und **2**

1,9 g Dichlormethanextrakt aus 4.2 wurden sc über Sephadex LH 20 (153 × 2,5 cm) mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> getrennt. Fraktion **A** (Ve = 740–820 ml) erhält 150 mg rohes **2**, Fraktion **B** (Ve 1160–1260 ml) 140 mg rohes **1**. Fraktion **A** wurde über Kieselgel (50 × 1,2 cm) mit einem Gemisch aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (20 + 1) erneut sc getrennt, die Fraktion Ve 67–81 ml ergab 100 mg **2**, das nach weiterer Trennung über Sephadex LH 20 (80 × 1 cm) mit CHCl<sub>3</sub> mit einem Ve 47–51 ml 35 mg reines **2** ergab. Fraktion **B** wurde sc über Kieselgel (50 × 1,3 cm) mit einem Gemisch aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (20 + 1) gereinigt und ergab mit Ve 107–123 ml 60 mg reines **1**.

#### 4.5. Charakterisierung der Substanzen

Die Glykoside wurden mittels UV- und NMR-Spektren sowie FAB-MS charakterisiert.

##### 4.5.1. Asarinol A (**1**)

Farbloses, hochviskoses Öl; löslich in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; DC: R<sub>f</sub> = 0,28 [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Fließmittel CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (15 + 1)]; schwache UV-Lösung bei 254 nm; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: orangerot; (+)-FAB-MS (Thioglycerin): m/z (% rel. Intensität): 197,1 (66), 167,1 [M + H]<sup>+</sup> (64), 149,1 (100), 125,0 (58); [α]: 0° c = 0,48, Lösungsmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 300 MHz, δ, ppm): 1,76 (dd, J = 7,2/1,8, H-1); 6,48 (ddq, J = 6,3/1,5/1,3, H-4); 4,31 (m, H-5); 1,71 (ddd, J = 7,2/

1,5/0,9, H-6); 1,20 (s, H-8); 1,03 (s, H-9); 1,77 (t, J = 1,3, H-10); 2,91 (m, OH). <sup>13</sup>C-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 34,3 (C-1); 196,1 (C-2); 136,8 (C-3); 141,5 (C-4); 62,0 (C-5); 36,5 (C-6); 25,6 (C-7); 28,8 (C-8); 14,4 (C-9); 16,0 (C-10). C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> (166,1)

#### 4.5.2. Asarinol B (2)

Farbloses, hochviskoses Öl; löslich in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; DC: R<sub>f</sub> = 0,47 [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Fließmittel CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (15 + 1)]; keine UV-Lösung; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: blau; [α]: 0,0 (c = 0,52, Lösungsmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); (+)-FAB-MS (Thioglycerin): m/z (% rel. Intensität): 232,1 (23), 200,1 (60), 183,1 [M + H]<sup>+</sup> (45), 165,1 (45), 137,1 (100); <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 1,69 (dd, J = 7,5/1,8, H-1); 3,29 (dd, J = 3,9/1,5, H-4); 3,64 (ddd, J = 3,9/1,8/1,5, H-5); 2,11 (ddd, J = 7,5/1,5/1,5, H-6); 1,23 (s, H-8); 1,32 (s, H-9); 1,40 (s, H-10); 3,19 (s, OH). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 36,5 (C-1); 207,5 (C-2); 70,8 (C-3); 59,3 (C-4); 53,6 (C-5); 32,7 (C-6); 30,6 (C-7); 28,9 (C-8); 18,5 (C-9); 22,9 (C-10). C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub> (182,1)

#### 4.5.3. Asiaasarinol (3)

Farbloses, hochviskoses Öl; löslich in CH<sub>3</sub>OH; DC: R<sub>f</sub> = 0,61 (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Fließmittel CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (4 + 1); keine UV-Lösung; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: rot; UV  $\lambda_{\max}$  (c = 1,3 mg/10 ml (MeOH)) nm ( $\epsilon$  (1 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)): 212 (7753); 278 (1336). FAB-MS (Thioglycerin): m/z (% rel. Intensität): 232,1 (54); 214,0 (42); 197,0 (72); 185,0 (63); 169,1 [M + H]<sup>+</sup>; 149,1 (57); 123,0 (55); 105,0 (76). <sup>1</sup>H-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 5,59 (ddd, J = 3,1/1,5/1,5, H-3); 3,92 (ddd, J = 3,1/1,8/1,8, H-4); 2,10 (dddd, J = 18,0/8,1/5,7/1,8/1,5, H-5endo); 2,24 (dddd, J = 18,0/8,1/5,7/1,8/1,5, H-5endo); 1,62 (ddd, J = 13,2/8,1/6,0, H-6exo); 1,69 (ddd, J = 13,2/5,7/5,7, H-6endo); 1,29 (s, H-8); 1,29 (s, H-9); 1,15 (s, H-10). <sup>13</sup>C-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 72,9x (C-1); 146,9 (C-2); 122,2 (C-3); 74,7 (C-4); 24,2xx (C-5); 34,7xx (C-6); 72,5x (C-7); 29,1 (C-8); 29,0 (C-9); 21,9 (C-10). C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub> (184,1)

#### 4.5.4. Paeoniflorin (4)

Farblose, amorphe Substanz; löslich in CH<sub>3</sub>OH; DC: R<sub>f</sub> = 0,18 [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Fließmittel CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (5 + 1)]; keine UV-Lösung; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: rot; (+)-FAB-MS (Thioglycerin): m/z (% rel. Intensität): 503,1 [M + Na]<sup>+</sup> (6); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 2,19 (d, J = 12,3, H-3exo); 1,80 (d, J = 12,3, H-3endo); 2,58 (d, J = 6,9, H-5); 2,49 (dd, J = 10,5/6,9, H-7exo); 1,95 (d, J = 10,5, H-7endo); 4,75 (s, H-8); 5,42 (s, H-9); 1,36 (s, H-10); 4,53 (d, J = 7,8, H-1'); 3,15–3,28 (m, H-2'–H-5'); 3,60 (dd, J = 12,0/5,4, H-6'a); 3,85 (dd, J = 12,0/1,8, H-6'b); 8,06 (ddd, J = 7,5/1,5/1,5, H-2'', H-6''); 7,49 (dd, J = 7,5/7,5, H-3'', H-5''); 7,62 (tt, J = 7,5/1,5, H-4''). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 89,3 (C-1); 87,2 (C-2); 44,6 (C-3); 106,3 (C-4); 44,0 (C-5); 72,2 (C-6); 23,5 (C-7); 61,7 (C-8); 102,2 (C-9); 19,7 (C-10); 100,1 (C-1'); 75,0 (C-2'); 78,0 (C-3'); 71,7 (C-4'); 77,9 (C-5'); 62,9 (C-6'); 131,1 (C-1''); 130,5 (C-2''); 129,5 (C-3''); 134,3 (C-4''); 129,5 (C-5''); 130,5 (C-6''); 167,8 (C-7''). C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>11</sub> (480,1)

#### 4.5.5. 2-exo- $\beta$ -D-Glucosyl-5-exo-hydroxy-borneol (5)

Farblose, amorphe Substanz, löslich in CH<sub>3</sub>OH; DC: R<sub>f</sub> = 0,26 [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Fließmittel CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (4 + 1)]; keine UV-Lösung; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: rot; UV  $\lambda_{\max}$  (c = 0,7 mg/10 ml (MeOH)) nm ( $\epsilon$  (1 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)): 214 (14644); 278 (4145); 332 (1890). FAB-MS (Thioglycerin): m/z (% rel. Intensität): 355,1 [M + Na]<sup>+</sup> (52); 237,0 (40); 197,0 (14); 181,0 (16); 153,1 (64); 135,1 (48); 109,1 (100). <sup>1</sup>H-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 4,04 (ddd, J = 9,3/3,0/1,7, H-2endo); 1,01 (dd, J = 13,5/3,0, H-3endo); 2,17 (ddd, J = 13,5/3,4/1,7, H-3exo); 1,69 (d, J = 5,4, H-4); 3,86 (m, H-5endo); 1,30 (ddd, J = 13,3/3,4/1,7, H-6endo); 2,48 (dd, J = 13,3/7,9, H-6exo); 4,21 (d, J = 7,8, H-1'); 3,14 (dd, J = 9,3/7,8, H-2'); 3,24–3,36 (m, H-3'–H-4'); 3,20 (ddd, J = 10,0/5,1/9, H-5'); 3,85 (dd, J = 11,8/1,9, H-6a); 3,65 (dd, J = 11,8/5,5, H-6b). <sup>13</sup>C-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 51,0 (C-1); 82,9 (C-2); 34,3 (C-3); 53,6 (C-4); 75,0 (C-5); 39,7 (C-6); X (C-7); 21,4 (C-8); 20,4 (C-9); 13,4 (C-10); 102,8 (C-1'); 75,8 (C-2'); 78,1 (C-3'); 71,6 (C-4'); 77,8 (C-5'); 62,8 (C-6'). C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>O<sub>7</sub> (332,1)

#### 4.5.6. 1-O-Feruloyl- $\beta$ -D-glucopyranose (6)

Farblose, amorphe Substanz; löslich in CH<sub>3</sub>OH; DC: R<sub>f</sub> = 0,55 [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Fließmittel CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (3 + 1)]; UV-Lösung bei 254 nm; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: gelb; UV  $\lambda_{\max}$  (c = 1,0 mg/10 ml MeOH) nm ( $\epsilon$  (1 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)): 238 (22209); 322 (29845). (–)-FAB-MS (Glycerin): m/z (% rel. Intensität): 355 [M – H]<sup>−</sup> (46).

Z-Isomer: <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 7,87 (d, J = 1,8, H-2); 6,76 (d, J = 8,1, H-5); 7,15 (dd, J = 8,1/1,8, H-6); 6,93 (d, J = 12,9, H-7);

5,82 (d, J = 12,9, H-8); 5,55 (d, J = 8,0, H-1'); 3,33–3,50 (m, H-2'–H-5'); 3,87 (dd, J = 11,4/1,8, H-6'a); 3,68 (dd, J = 11,4/5,4, H-6'b); 3,88 (s, OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 127,7 (C-1); 111,6 (C-2); 149,7 (C-3); 149,2 (C-4); 115,5 (C-5); 127,3 (C-6); 147,4 (C-7); 115,1 (C-8); 166,3 (C-9); 95,7 (C-1'); 73,9 (C-2'); 77,7 (C-3'); 70,9 (C-4'); 77,7 (C-5'); 69,4 (C-6'); 56,4 (OCH<sub>3</sub>). C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub> (356,1)

#### 4.5.7. 1-O-p-Coumaroyl- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 → 6)- $\beta$ -D-glucopyranose (7)

Farblose, amorphe Substanz, löslich in CH<sub>3</sub>OH; DC: R<sub>f</sub> = 0,59 [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Fließmittel CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (3 + 2)]; UV-Lösung bei 254 nm; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: blaugrau; UV  $\lambda_{\max}$  (c = 1,2 mg/10 ml MeOH) nm ( $\epsilon$  (1 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)): 236 (19011); 316 (24604). (–)-FAB-MS (NBA): m/z (% rel. Intensität): 457 [M – H]<sup>−</sup> (71). Z-Isomer: <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 7,70 (d, J = 8,7, H-2); 6,75 (d, J = 8,7, H-3); 6,75 (d, J = 8,7, H-5); 7,70 (d, J = 8,7, H-6); 6,94 (d, J = 12,8, H-7); 5,81 (d, J = 12,8, H-8); 5,55 (d, J = 8,0, H-1'); 3,37–3,50 (m, H-2'–H-4'); 3,56 (ddd, J = 10/5,1/8, H-5'); 4,10 (dd, J = 11,3/1,8, H-6'a); 3,73 (dd, J = 11,3/5,5, H-6'b); 4,28 (d, J = 7,1, H-1"); 3,19 (dd, J = 7,1/9,1, H-2"); 3,37–3,51 (m, H-3"–H-4"); 3,84 (dd, J = 11,3/3,0, H-5"); <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 127,2 (C-1); 134,0 (C-2); 115,8 (C-3); 160,2 (C-4); 115,8 (C-5); 134,0 (C-6); 147,0 (C-7); 115,3 (C-8); 166,3 (C-9); 95,5 (C-1'); 73,8 (C-2'); 77,7 (C-3'); 70,9 (C-4'); 77,7 (C-5'); 69,4 (C-6'); 105,1 (C-1"); 74,8 (C-2"); 77,6 (C-3"); 71,1 (C-3"); 66,8 (C-5"). C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub> (458,1)

#### 4.5.8. 1-O-p-Feruloyl- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 → 6)- $\beta$ -D-glucopyranose (8)

Farblose, amorphe Substanz; löslich in CH<sub>3</sub>OH; DC: R<sub>f</sub> = 0,31 [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Fließmittel CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (3 + 1)]; UV-Lösung bei 254 nm; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: gelb; UV  $\lambda_{\max}$  (c = 1,3 mg/10 ml (MeOH)) nm ( $\epsilon$  (1 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)): 240 (18518); 320 (23029). (–)-FAB-MS (Glycerin): m/z (% rel. Intensität): 487 [M – H]<sup>−</sup> (17). Z-Isomer: <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 7,82 (d, J = 1,8, H-2); 6,77 (d, J = 8,4, H-5); 7,15 (dd, J = 8,4/1,8, H-6); 6,93 (d, J = 12,9, H-7); 5,82 (d, J = 12,9, H-8); 5,54 (d, J = 7,5, H-1'); 3,37–3,60 (m, H-2'–H-5'); 4,11 (dd, J = 11,1/1,5, H-6'a); 3,73 (dd, J = 11,1/5,4, H-6'b); 4,28 (d, J = 7,8, H-1"); 3,19 (dd, J = 7,1/9,1, H-2"); 3,37–3,51 (m, H-3"–H-4"); 3,83 (dd, J = 11,4/5,1, H-5'a); 3,15 (dd, J = 11,3/3,0, H-5"); 3,88 (s, OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): C-1 (127,7); C-2 (110,8); C-3 (149,7); C-4 (149,2); C-5 (115,5); C-6 (127,2); C-7 (147,3); C-8 (114,4); C-9 (166,3); C-1' (95,7); C-2' (73,9); C-3' (77,7); C-4' (70,9); C-5' (77,7); C-6' (69,4); C-1" (105,0); C-2" (74,8); C-3" (77,6); C-4" (71,1); C-5" (66,8); OCH<sub>3</sub> (56,4). C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>13</sub> (488,1)

#### 4.5.9. $\beta$ -Gentobiosyl-eugenol (9)

Farblose, amorphe Substanz; löslich in CH<sub>3</sub>OH; keine UV-Lösung; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: grau; DC: R<sub>f</sub> = 0,42 [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Fließmittel CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH (2 + 1)]; FAB-MS (Thioglycerin): m/z (% rel. Intensität): 619,1 (19); 511,1 [M + Na]<sup>+</sup> (5); 255,1 (23); 197,0 (62); 163,1 (69); 137,1 (100); 103,0 (74). <sup>1</sup>H-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 6,82 (d, J = 2,1, H-3); 6,74 (dd, J = 8,1/2,1, H-5); 7,11 (d, J = 8,1, H-6); 3,33 (ddd, J = 6,6/1,8/1,4, H-7); 5,96 (ddt, J = 17,1/10,2/6,6, H-8); 5,06 (ddt, J = 17,1/2,1/1,8, H-9a); 5,02 (ddt, J = 10,2/2,1/1,4, H-9b); 4,35 (d, J = 7,8, H-1'); 3,19 (dd, J = 11,7/2,4, H-2'); 3,32 (dd, J = 9,3/8,2, H-3'); 3,26 (dd, J = 8,0/7,8, H-4'); 3,19 (ddd, J = 7,8/5,7/2,4, H-5'); 3,84 (dd, J = 11,7/2,4, H-6'a); 3,63 (dd, J = 11,7/5,7, H-6'b); 4,85 (x, H-1"); 3,39–3,50 (m, H-2'–H-4'); 3,62 (ddd, J = 9,3/5,7/1,9, H-5"); 4,13 (dd, J = 11,4/1,9, H-6'a); 3,81 (dd, J = 11,4/5,7, H-6"). <sup>13</sup>C-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 150,5 (C-1); 146,1 (C-2); 122,2 (C-3); 136,3 (C-4); 118,2 (C-5); 114,0 (C-6); 40,8 (C-7); 138,9 (C-8); 115,8 (C-9); 102,8 (C-1'); 75,1 (C-2'); 77,9 (C-3'); 71,6 (C-4'); 77,9 (C-5'); 69,6 (C-6'); 104,6 (C-1"); 74,9 (C-2"); 77,6 (C-3"); 71,3 (C-4"); 77,3 (C-5"); 62,7 (C-6"); 56,7 (OCH<sub>3</sub>). C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>12</sub> (488,1)

#### 4.5.10. Rutin (10)

Orangegelbliche, amorphe Substanz; löslich in CH<sub>3</sub>OH; DC: R<sub>f</sub> = 0,64 (RP8; H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (1 + 1); Lösung UV<sub>254</sub> und UV<sub>366</sub>; Farbreaktion mit Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf dem DC: gelb; FAB-MS: (NBA, pos.): m/z (% rel. Intensität): 633 [M + Na]<sup>+</sup> (18); 611 [M + H]<sup>+</sup> (5); 460 (5); 399 (10); 391 (12); 329 (14); 307 (30); 289 (28); 154 (100); 136 (81). <sup>1</sup>H-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 6,38 (d, J = 2,1, H-6); 6,19 (d, J = 2,1, H-8); 7,66 (d, J = 2,2, H-2'); 6,85 (d, J = 8,4, H-5'); 7,62 (dd, J = 8,4/2,2, H-6'); 5,10 (d, J = 7,1, H-1"); 3,22–3,56 (m, H-2'–H-6"); 4,51 (d, J = 1,8, H-1"); 3,64 (dd, J = 3,4/1,8, H-2"); 3,51 (dd, J = 9,3/3,4, H-3"); 3,22–3,56 (m, H-4"–H-5"); 3,12 (d, J = 6,0, H-6"). <sup>13</sup>C-NMR (CH<sub>3</sub>OH, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 158,3 (C-2); 135,5 (C-3); 179,1 (C-4); 162,7 (C-5); 99,8 (C-6); 165,8 (C-7); 94,8 (C-8); 159,1 (C-9); 105,5 (C-10); 123,0 (C-1')

115,9 (C-2'); 145,6 (C-3'); 149,6 (C-4'); 117,6 (C-5'); 123,4 (C-6'); 104,6 (C-1'); 75,7 (C-2'); 78,1 (C-3'); 71,3 (C-4'); 77,1 (C-5'); 68,5 (C-6'); 102,3 (C-1''); 72,0 (C-2''); 72,2 (C-3''); 73,9 (C-4''); 69,7 (C-5''); 18,0 (C-6'').  
 $C_{27}H_{30}O_{16}$  (610,15)

#### 4.5.11. Kämpferol-3-O-rutinosid (11)

Gelbliche, amorphe Substanz; löslich in  $CH_3OH$ ;  $[\alpha]_D + 6,92$  ( $c = 0,48$ ,  $CH_3OH$ ); DC:  $R_f = 0,61$  (RP8;  $H_2O/CH_3OH$  (1 + 1)); Lösung UV<sub>254</sub> und UV<sub>366</sub>; Farbreaktion mit Anisaldehyd/ $H_2SO_4$  auf dem DC: gelb; UV  $\lambda_{max}$  ( $c = 0,6$  mg/10 ml (MeOH)) nm ( $\epsilon$  (1 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)): 230 (31142); 268 (38626); 344 (36099). FAB-MS (NBA, pos.): m/z (% rel. Intensität): 617 [M + Na]<sup>+</sup> (52); 595 [M + H]<sup>+</sup> (7); 329 (19); 307 (30); 287 (24); 176 (33); 154 (100); 136 (76); 89 (38); 77 (45); 51 (23). <sup>1</sup>H-NMR ( $CH_3OH$ , 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 6,40 (d,  $J = 2,1$ , H-6); 6,20 (d,  $J = 2,1$ , H-8); 8,06 (d,  $J = 9,0$ , H-2'); 6,88 (d,  $J = 9,0$ , H-3'); 6,88 (d,  $J = 9,0$ , H-5'); 8,06 (d,  $J = 9,0$ , H-6'); 5,12 (d,  $J = 7,8$ , H-1'); 3,22–3,47 (m, H-2''–H-5'); 3,37 (dd,  $J = 9,5/3,0$ , H-6a''); 3,80 (dd,  $J = 9,5/1,4$ , H-6b''); 4,50 (d,  $J = 1,5$ , H-1'''); 3,62 (dd,  $J = 3,4/1,5$ , H-2''); 3,51 (dd,  $J = 9,4/3,4$ , H-3''); 3,22–3,47 (m, H-4''–H-5''); 1,12 (d,  $J = 6,0$ , H-6''). <sup>13</sup>C-NMR ( $CH_3OH$ , 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 158,3 (C-2); 135,5 (C-3); 179,1 (C-4); 162,7 (C-5); 99,8 (C-6); 165,8 (C-7); 94,8 (C-8); 159,1 (C-9); 105,5 (C-10); 123,0 (C-1'); 115,9 (C-2'); 145,6 (C-3'); 149,6 (C-4'); 117,6 (C-5'); 123,4 (C-6'); 104,6 (C-1''); 75,7 (C-2'); 78,1 (C-3'); 71,3 (C-4'); 77,1 (C-5'); 68,5 (C-6''); 102,3 (C-1''); 72,0 (C-2''); 72,2 (C-3''); 73,9 (C-4''); 69,7 (C-5''); 18,0 (C-6'').  
 $C_{27}H_{30}O_{15}$  (594,16)

#### 4.5.12. 2-(S,R)-Naringenin-5,7-di-O- $\beta$ -D-glucosid (12)

Farblose, amorphe Substanz, löslich in MeOH; DC:  $R_f = 0,55$  [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>; Fließmittel  $CH_2Cl_2/CH_3OH$  (3 + 2)]; Lösung UV<sub>254</sub>; Farbreaktion mit Anisaldehyd/ $H_2SO_4$  auf dem DC: rot. (+)FAB-MS: m/z (% rel. Intensität): 617 [M + Na]<sup>+</sup> (7); 595 [M + H]<sup>+</sup> (2); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 5,43 (dd,  $J = 12,3/3,0$ , H-2); 3,10 (dd,  $J = 17,1/12,3$ , H-3ax); 2,66 (dd,  $J = 17,1/3,0$ , H-3eq); 6,50 (d,  $J = 2,4$ , H-6); 6,31 (d,  $J = 2,4$ , H-8); 7,30 (d,  $J = 8,7$ , H-2'); 6,79 (d,  $J = 8,7$ , H-3'); 6,79 (d,  $J = 8,7$ , H-5); 7,30 (d,  $J = 8,7$ , H-6'); 4,93 (d,  $J = 7,2$ , H-1'); 3,05–3,75 (m, H-2''–H-6''); 4,83 (d,  $J = 6,9$ , H-1''); 3,05–3,75 (m, H-2''–H-6''). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 2-S-Isomer: 78,2 (C-2); 44,5 (C-3); 189,6 (C-4); 159,0 (C-5); 98,0 (C-6); 163,1x (C-7); 98,0 (C-8); 163,0x (C-9); 106,7 (C-10); 128,6 (C-1'); 128,0 (C-2'); 115,0 (C-3'); 157,4 (C-4'); 115,0 (C-5'); 128,0 (C-6'); 99,2 (C-1''); 72,9 (C-2''); 76,3 (C-3''); 69,5 (C-4''); 76,9 (C-5''); 60,6 (C-6''); 102,9 (C-1''); 73,3 (C-2''); 76,1 (C-3''); 69,7 (C-4''); 77,3 (C-5''); 60,8 (C-6''); 2-R-Isomer: 78,2 (C-2); 44,5 (C-3); 188,9 (C-4); 159,5 (C-5); 97,7 (C-6); 163,5x (C-7); 97,8 (C-8); 162,6x (C-9); 106,6 (C-10); 128,7 (C-1'); 127,9 (C-2'); 115,0 (C-3'); 157,3 (C-4'); 115,0 (C-5'); 127,9 (C-6'); 99,2 (C-1''); 72,9 (C-2''); 76,3 (C-3''); 69,5 (C-4''); 76,9 (C-5''); 60,6 (C-6''); 101,2 (C-1''); 73,2 (C-2''); 75,6 (C-3''); 69,7 (C-4''); 77,1 (C-5''); 60,7 (C-6'').  
 $C_{27}H_{32}O_{15}$  (596,1)

#### 4.5.13. Adenosin (13)

Farbloses, amorphe Substanz; löslich in  $H_2O$ ; DC:  $R_f = 0,18$  [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>; Fließmittel  $CH_2Cl_2/CH_3OH/H_2O$  (80 + 18 + 2)]; Lösung UV<sub>254</sub>; Farbreaktion mit Anisaldehyd/ $H_2SO_4$  auf dem DC: graugrün; FAB-MS (Glycerin, pos.): m/z (% rel. Intensität): 268 [M + H]<sup>+</sup> (10); 185 (30); 136 (16); 115 (10); 93 (100); 61 (34). <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 8,13 (s, H-3); 8,31 (s, H-8); 5,86 (d,  $J = 6,3$ , H-1'); 4,56 (dd,  $J = 6,0/5,1$ , H-2'); 4,13 (dd,  $J = 5,1/3,0$ , H-3'); 3,97 (ddd,  $J = 3,0/3,0/3,0$ , H-4'); 3,67 (dd,  $J = 12,3/3,0$ , H-5a'); 3,55 (dd,  $J = 12,3/3,0$ , H-5b'); <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 151,9 (C-2); 155,7 (C-4); 119,1 (C-5); 148,8 (C-6); x (C-8); 87,7 (C-1'); 73,3 (C-2'); 70,4 (C-3'); 85,6 (C-4'); 61,5 (C-5').  
 $C_{10}H_{13}N_5O_4$  (267,1)

#### 4.5.14. 6-O-(3,4-Dimethoxy)-cinnamoyl-ajugol (14)

Farbloses, hochviskoses Öl; löslich in  $CH_3OH$  – DC:  $R_f = 0,47$  [Kieselgel 60 F<sub>254</sub>; Fließmittel  $CH_2Cl_2/CH_3OH$  (4 + 1)]; UV-Lösung bei 254 nm und 366 nm; Farbreaktion mit Anisaldehyd/ $H_2SO_4$  auf dem DC: rot; UV  $\lambda_{max}$  ( $c = 1,1$  mg/10 ml MeOH), nm,  $\epsilon$  (1 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 236 (19054); 320 (23700). FAB-MS (Glycerin, neg.): m/z (5 rel. Intensität): 537 [M – H]<sup>–</sup> (5), 523 (6), 207 [M-Cinnamoyl] (100). E-Isomer (14a): <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 5,50 (d,  $J = 2,7$ , H-1); 6,22 (dd,  $J = 6,0/2,4$ , H-3); 4,9–5,0 (m,  $J = 6,3/2,7$ , H-4); 2,93 (dd,  $J = 9,0/2,4$ , H-5); 4,9–5,0 (m, H-6); 2,24 (dd,  $J = 14,4/6,6$ , H-7a); 1,99 (dd,  $J = 14,4/3,5$ , H-7b); 2,57 (dd,  $J = 9,0/2,4$ , H-9); 1,38 (s, H-10); 4,66 (d,  $J = 7,8$ , H-1'); 3,19 (dd,  $J = 9,2/7,8$ , H-2'); 3,2–3,4 (m, H-3'–H-5'); 3,89 (dd,  $J = 12,0/2,1$ , H-6a'); 3,65 (dd,  $J = 12,0/5,7$ , H-6b'); 7,21 (d,  $J = 1,8$ , H-2'); 6,97 (d,  $J = 8,5$ , H-5'); 7,16 (dd,  $J = 8,5/1,8$ , H-6''); 7,64 (d,  $J = 16,2$ , H-7''); 6,44 (d,  $J = 16,2$ , H-8'); 3,86 (s, H-10''); 3,86 (s, H-11''). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 93,3 (C-1); 141,0 (C-3); 104,4 (C-4); 39,4 (C-5); 80,3 (C-6); 47,9 (C-7); 79,1 (C-8); 51,7 (C-9); 26,1

(C-10); 99,3 (C-1'); 74,8 (C-2'); 78,0x (C-3'); 71,7 (C-4'); 78,2x (C-5'); 62,9 (C-6'); 128,7 (C-1''); 112,5 (C-2''); 150,6 (C-3''); 152,7 (C-4''); 111,3 (C-5''); 123,9 (C-6''); 146,3 (C-7''); 116,6 (C-8''); 168,6 (C-9''); 56,5xx (C-10''); 56,4xx (C-11'').

Z-Isomer (14b): <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 5,47 (d,  $J = 2,7$ , H-1); 6,20 (dd,  $J = 6,0/2,4$ , H-3); 4,9–5,0 (m, H-4); 2,86 (dd,  $J = 9,0/2,4$ , H-5); 4,9–5,0 (m, H-6); 2,22 (dd,  $J = 14,4/6,6$ , H-7a); 1,94 (dd,  $J = 14,4/3,5$ , H-7b); 2,50 (dd,  $J = 9,0/2,4$ , H-9); 1,36 (s, H-10); 4,65 (d,  $J = 7,8$ , H-1'); 3,19 (dd,  $J = 9,2/7,8$ , H-2'); 3,2–3,4 (m, H-3'–H-5'); 3,89 (dd,  $J = 12,0/2,1$ , H-6a'); 3,65 (dd,  $J = 12,0/5,7$ , H-6b'); 7,72 (d,  $J = 2,1$ , H-2''); 6,93 (d,  $J = 8,5$ , H-5''); 7,21 (dd,  $J = 8,5/2,1$ , H-6''); 6,89 (d,  $J = 13,2$ , H-7''); 5,86 (d,  $J = 13,2$ , H-8''); 3,84x (s, H-10''); 3,85x (s, H-11''). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 93,3 (C-1); 140,8 (C-3); 104,6 (C-4); 39,2 (C-5); 80,1 (C-6); 47,9 (C-7); 79,0 (C-8); 51,5 (C-9); 25,9 (C-10); 99,3 (C-1'); 74,8 (C-2'); 78,1y (C-3'); 71,6 (C-4'); 78,3y (C-5'); 62,9 (C-6'); 129,1 (C-1''); 114,8 (C-2''); 149,5 (C-3''); 151,6 (C-4''); 111,8 (C-5''); 126,0 (C-6''); 144,8 (C-7''); 117,9 (C-8''); 167,7 (C-9''); 56,5yy (C-10''); 56,4yy (C-11'').  
 $C_{26}H_{34}O_{12}$  (538,2)

#### 4.5.15. Asaramid (15)

Farblose, amorphe Substanz; löslich in  $CH_3OH$ ; DC:  $R_f = 0,73$  (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>; Fließmittel  $CH_2Cl_2/CH_3OH$  (4 + 1)); UV-Lösung bei 254 nm; Farbreaktion mit Anisaldehyd/ $H_2SO_4$  auf dem DC: grün; UV  $\lambda_{max}$  ( $c = 1,1$  mg/10 ml MeOH) nm,  $\epsilon$  (1 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 244 (24145); 264 (23708). El-MS: m/z (% rel. Intensität): 263,2 [M]<sup>+</sup> (12); 220,1 (28); 206,1 (19); 191,1 (12); 180,1 (23); 152,1 (55); 57,1 (100).  $[\alpha]$ : 0,0 ( $c = 0,19$ , Lösungsmittel:  $CH_3OH$ ); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300 MHz,  $\delta$ , ppm): 5,92 (d,  $J = 15,3$ , H-2); 7,11 (dd,  $J = 15,3/10,2$ , H-3); 6,22 (dd,  $J = 15,3/10,2$ , H-4); 6,10 (dt,  $J = 15,3/6,3$ , H-5); 2,24 (m, H-6); 1,61 (m, H-7); 4,03 (dt,  $J = 6,0/5,7$ , H-8); 5,61 (dd,  $J = 15,6/5,7$ , H-9); 5,69 (dd,  $J = 15,6/5,0$ , H-10); 4,24 (dq,  $J = 6,6/5,0$ , H-11); 1,22 (d,  $J = 6,6$ , H-12); 3,06 (d,  $J = 6,9$ , H-1'); 1,79 (m, H-2'); 0,91 (d,  $J = 6,6$ , H-3'); 0,91 (d,  $J = 6,6$ , H-4'). <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 75 MHz,  $\delta$ , ppm): 168,9 (C-1); 123,1 (C-2); 141,9 (C-3); 130,0 (C-4); 143,2 (C-5); 30,0 (C-6); 37,5 (C-7); 72,2 (C-8).  
 $C_{16}H_{25}O_2N$  (263,19)

Danksagung: K. S. Sin dankt der Korean Research Foundation für die Förderung der Arbeit durch Sachmittel.

<sup>3</sup> Teil der Dissertation von M. Opitz, Universität Bonn, 1997

#### Literatur

- 1 Hegnauer: Chemotaxonomie der Pflanzen, Birkhäuser Verlag Basel, Bd. III (1964), Teil 1, S. 342–345.
- 2 Hänsel, R.; Keller, K.; Rimpler, H.; Schneider, G. (Hrsg.): Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, 5. Aufl., Bd. 4, S. 377, Springer Verlag, 1992
- 3 Zhongshan Medical College (Hrsg.): Clinical Applications of Chinese Traditional Drugs, S. 17, Guangdong People's Publishing House, 1975
- 4 Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine (Hrsg.): Lectures on the Pharmacology of Chinese Traditional Drugs, S. 3, 1974
- 5 He, E. S.: Xinyiyaoxue Zazhi (Journal of Traditional Chinese Medicine): 13 (1977), zit. nach Chang, H. M.; But, P. P. H. (Hrsg.): Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica. Vol. I. S. 838. Chinese Medicinal Material Research Centre, The Chinese University of HongKong, 1987
- 6 Hashimoto, K.; Yanagisawa, T.; Okui, Y.; Ikeda, Y.; Maruno, M., Planta Med. **60**, 124 (1993)
- 7 Jakshick, B. A.; Harper, T.; Murphy, R. C.; Lands, W. E.; Smith, W. L. (Hrsg.): in: Methods in Enzymology, Vol. 86, S. 30, Academic Press, New York, 1987
- 8 Hasegawa, Y.; Yanagisawa, T.; Okui, Y.; Sato, T.; Hosaka, K.; Chin, M.; Matsuhashi, H., Chem. Pharm. Bull. **39**, 3180 (1991)
- 9 Chenon, M.-T.; Pugnire, R. J.; Grant, D. M.; Panzica, R. P.; Townsend, L. B.: J. Am. Chem. Soc. **97**, 4627 (1975)
- 10 Nishimura, H.; Sasaki, T.; Morota, T.; Chin, M.; Matsuhashi, H.: Phytochemistry **28**, 2705 (1989)
- 11 Okazi, Y.: Chem. Pharm. Bull. **33**, 954 (1992)
- 12 Okazi, Y.; Ma, J.-P.: Chem. Pharm. Bull. **38**, 1620 (1990)
- 13 Wu, W.; Gao, X.: Zhongguo yaoke Daxue Xuebao, **20**, 219 (1989); CA **111**, 208839y (1989)
- 14 Hartke, K.; Hartke, H.; Mutschler, E.; Rücke, G.; Wichtl, M. (Hrsg.): DAB 10, Kommentar Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, Govi-Verlag GmbH Frankfurt, 2. Lieferung 1993, Band II/2, A8
- 15 Yahara, S.; Kato, K.; Nohara, T.: Shoyakugaku Zasshi **44**, 331 (1990); CA **115**, 25988j (1991)

Eingegangen am 12. Mai 1998  
Angenommen am 22. Juli 1998

Prof. Dr. Peter Pachaly  
Im Moos 1  
D-79872 Bernau  
Pachaly@uni-bonn.de