

Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie

**Methodenentwicklung zur Analytik oligomerer und
polymerer Proanthocyanidine und phytochemische
Charakterisierung neuartiger Alkaloide aus Lindenblüten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften im Fachbereich Chemie und Pharmazie
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Nico Symma

aus Werne

- 2021 -

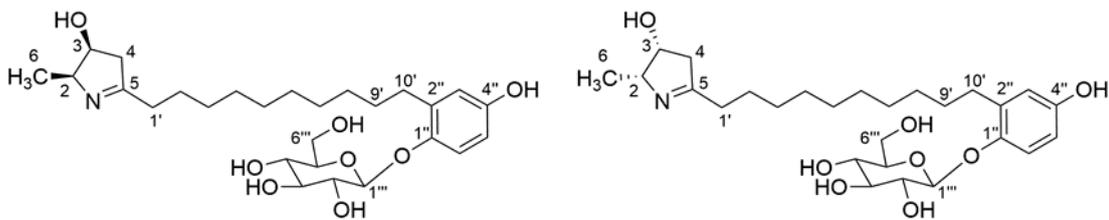
Zusammenfassung

Proanthocyanidine (PAC) sind komplexe oligomere oder polymere Phenole, die aus Flavan-3-ol-Bausteinen aufgebaut sind. Sie kommen in einer Vielzahl unterschiedlicher Pflanzen vor. Als Bestandteil von Lebensmitteln und Getränken sowie von Arzneipflanzen und Phytopharmaka weisen sie ein breites Spektrum an Bioaktivitäten auf. Während aussagekräftige Analysemethoden für PAC mit niedrigem Polymerisationsgrad (DP) gut etabliert sind, fehlt es an Methoden für die detaillierte Analyse komplexer höher oligomerer und polymerer PAC. In dieser Arbeit wurde anhand von PAC-angereicherten Extrakten aus vier verschiedenen Modell-Drogen (Lindenblüten, Weißdornblätter mit Blüten, Japanischer Blauregen-Perikarp und Sauerampferkraut) eine analytische Methode zur verbesserten PAC Analytik entwickelt. Diese so genannte Multistep-Analytik basiert auf der Interpretation von Daten, die mittels Diol-UHPLC-Auftrennung der PAC in einzelne DP-Cluster und nachfolgender fluoreszenzspektroskopischer- und massenspektrometrischer Detektion erhoben wurden.

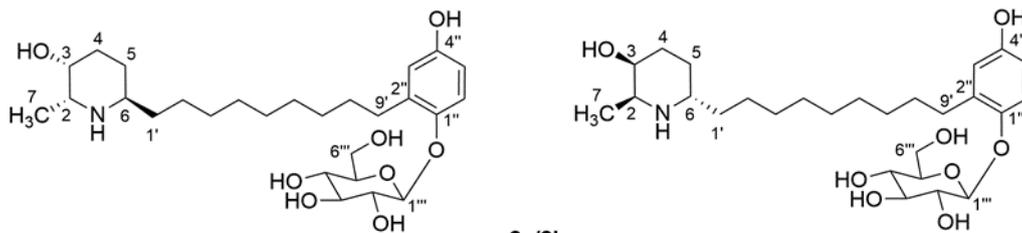
Die so gewonnenen Daten wurden schrittweise anhand von Fluoreszenz-Chromatogrammen, LC-MS-Contour-Plots, Kendrick-Massendefekt-(KMD) Analysen und MS²-Spektren ausgewertet. So wurde im Prozess ein stetig detaillierterer Einblick in die PAC-Komposition von pflanzlichen Extrakten bis hin zur Sequenzierung einzelner PAC-Moleküle ermöglicht. Dieses Multistep-Protokoll PAC-haltiger Extrakte verknüpft moderne Analyse-Techniken miteinander und stellt einen hilfreichen Beitrag zur PAC-Analytik dar. Die Vorteile dieses Ansatzes liegen hierbei nicht nur in der detaillierten Aufklärung der PAC-Komposition, sondern auch in der breiten Anwendbarkeit auf praktisch alle bekannten PAC-Muster sowie in der Schnelligkeit der Methode, die in analytischen Standard-Laboratorien unter wenig Ressourcen- und Zeitaufwand durchgeführt werden kann. Damit eignet sich die Methode auch zum Screening auf bestimmte PAC-Serien oder zur Fingerprint-Analyse im Rahmen der Qualitätskontrolle.

Lindenblüten (*Tiliae flos*) werden als traditionelles pflanzliches Arzneimittels bei Erkältungssymptomen und mentalem Stress eingesetzt. In dieser Arbeit wurden sechs bisher unbekannte Alkaloide in der Droge *Tiliae flos* sowie auch separat in den Arten *Tilia cordata* und *Tilia platyphyllos* nachgewiesen, isoliert und strukturell charakterisiert. Hierbei handelt es sich um Strukturen eines neuartigen Alkaloid-Glykosid-Typs. Es konnten drei unterschiedliche Grundgerüste identifiziert werden, die jeweils als Diastereomeren-Paare enthalten waren. Die Verbindungen **1a** und **1b** (Tiliin A und B) sind zwei Diastereomere eines 2-Methyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrol-3-ol-Alkaloids, bei dem der Stickstoff-Heterozyklus über eine Decylkette mit einer *O*-glykosylierten Hydrochinon-

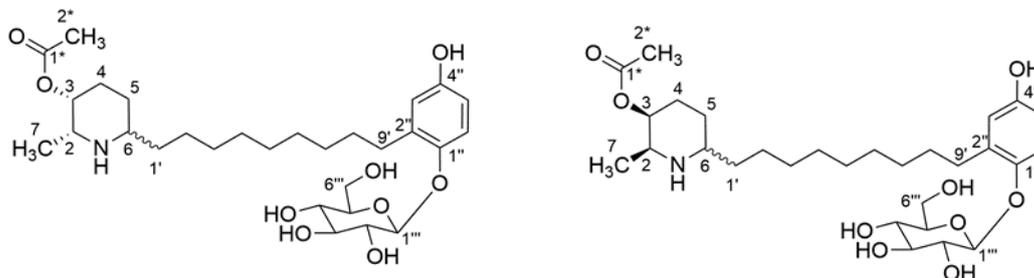
Einheit verbunden ist. Die Verbindungen **2a** und **2b** (Tiliamin A und B) sind Diastereomere eines 2-Methyl-substituierten Piperidin-3-ols, das über eine Nonylkette an wiederum eine *O*-glucosylierte Hydrochinon-Einheit gekoppelt ist. Die Verbindungen **3a** und **3b** (Tilacetin A und B) sind 3-*O*-acetylierte Derivate des 2-Methyl-Piperidin-3-ol-Alkaloid-Typs. Die Quantifizierung der sechs Alkaloide mittels UHPLC-ESI-QqTOF-MS-Analyse zeigte das Vorhandensein aller Alkaloide in den Blüten, Hochblättern und Blättern von *T. platyphyllos*, wobei Tiliin A und B und Tilacetin A und B die wichtigsten Verbindungen darstellten. Aceton/Wasser erwies sich als das für die Extraktion der Alkaloide am besten geeignete Lösungsmittel, aber auch Ethanol und Ethanol/Wasser-Gemische können für eine effektive Extraktion verwendet werden. Außerdem wurden die Alkaloide in einem wässrigen Infus gefunden, wie er typischerweise bei der traditionellen Anwendung der Droge verwendet wird. Keine der isolierten Substanzen zeigte *in vitro* an humanen Zelllinien Proliferations- oder Viabilitäts-hemmende Eigenschaften.



1a/1b



2a/2b



3a/3b