

Diss. ETH 6586

Vergleichende Untersuchung zur Gewinnung präparativer Mengen iridoider Pflanzenstoffe mit Hilfe verschiedener Isolierungsverfahren am Beispiel der Substanzen Aucubin und Catalpol

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften
der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

STEFAN BERNBECK

Dipl. Pharm. ETH

geboren am 22. März 1951

von Darmstadt (BRD)

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. O. Sticher, Referent

PD Dr. K. Hostettmann, Korreferent

1980

1980

8. ZUSAMMENFASSUNG

=====

Die vorliegende Arbeit befasst sich im allgemeinen Teil mit einigen Aspekten, die bei präparativen gaschromatographischen Arbeitsprozessen zu beachten sind sowie mit Möglichkeiten zur Optimierung präparativer Trennschritte.

Im experimentellen Teil wurden die Charakterisierung einer analytischen GC-Säule sowie die Probleme, die beim Arbeiten mit präparativen Substanzmengen auftreten, beschrieben. Es konnte anhand des Iridoidglucosidgemisches Aucubin und Catalpol gezeigt werden, dass eine Trennung durch präparative Gaschromatographie möglich ist; die Identität der eingangs eingesetzten Stoffe wurde nach Umwandlung der derivatisierten Verbindungen bewiesen. Allerdings waren die bei dieser Isolierungstechnik auftretenden Verluste im Vergleich zu anderen Isolierungsverfahren sehr gross. Unter optimalen Arbeitsbedingungen fiel der Gewinn/Zeiteinheit zwar höher aus als mit dem herkömmlichen Verfahren der Säulenchromatographie, jedoch war in bezug auf Wirtschaftlichkeit und Vielzahl von auszuführenden Arbeitsschritten dieser Methode Vorzug zu geben.

Eine weitere Verbesserung wurde durch die Tropfen Gegenstrom-Chromatographie ermöglicht. Hierbei wurden nur geringfügige Mengen an Lösungsmittel benötigt, und es entstanden keine durch Adsorption oder Degradation auftretende Verluste. Die entscheidende Verbesserung jedoch stellte das Trennsystem C_{18} -Reversed-Phase (stationär) und Mischungen von Methanol-Wasser (mobil) dar. Semipräparative HPLC ergab unter den als optimal ermittelten Bedingungen eine Steigerung um den Faktor 31, präparative LC um den Faktor 1400 im Vergleich zur DCCC.

Für die Gewinnung dieses Iridoidgemisches erwies sich die präparative LC allen anderen untersuchten Trennverfahren als eindeutig überlegen.

Summary

In the theoretical part of the present work some aspects of gas-chromatography have been discussed where special attention is given to the optimization of preparative scale - up technique.

Under experimental part of the work selection of analytical GC-column as well as the problems occurred during preparative work have been described. As an example, separation of a catalpol - aucubin mixture has been developed; the identity of these two compounds has been established by cleaving the trimethylsilyl derivatives followed by IR-analyses as well as comparison with authentic samples. However the loss of substances by this method is quite high compared with other conventional methods. Under optimized conditions the gain per unit time has been improved but the preparation of the extract is very time consuming and thus this method is not very suitable for preparative work.

Further improvement of separation has been done by Droplet-Counter-Current-Chromatography. Since DCCC is an all-liquid separation technique it has thus no irreversible adsorption. Additionally small volume of solvent is required for the whole separation. A real improvement of separation has been achieved with the help of reversed-phase C_{18} as stationary phase and methanol-water as mobile phase. Under optimum condition the separation with the help of semipreparative HPLC and preparative LC has been improved by 3I and I400 times respectively as compared with DCCC. Thus HPLC has been found to be the best method for the separation of this iridoid-glucoside mixture.