

Diss. ETH. Nr. 8178

**ANWENDUNG DES "PRISMA"-MODELLS
AUF VERSCHIEDENE CHROMATOGRAPHISCHE METHODEN BEI
POLAREN INHALTSSTOFFEN VON PHARMAKOPÖE-DROGEN**

ABHANDLUNG

Zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Naturwissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

KARIN DALLENBACH-TÖLKE

dipl.pharm.ETH

geboren am 26. Februar 1952

von Hannover, BRD

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. O. Sticher, Referent

PD Dr. Sz. Nyiredy, Korreferent

Zürich 1986

10. Zusammenfassung

Im theoretischen Teil dieser Arbeit werden die verschiedenen planarchromatographischen (DC, HPTLC, OPLC, CLC) und säulenchromatographischen (SC, LPLC, HPLC) Methoden kurz dargestellt.

Im praktischen Teil wird die Strategie für die Anwendung des "PRISMA"-Modells und dessen Verwendung für die Optimierung der mobilen Phase zur Trennung der polaren Inhaltsstoffe von Pharmakopöe-Drogen beschrieben.

Verschiedene chromatographische Analysenmethoden wurden für die Flavonoidglykoside von *Betulae folium*, Ginsenoside von *Ginseng radix* und Iridoidglykoside von *Veronicae herba* ausgearbeitet. Es wurde eine allgemeine Strategie zur Optimierung der mobilen Phase auf NP-DC-Platten entwickelt. Alle Vorversuche wurden in ungesättigten Kammern durchgeführt. Die Trennungen mit dem optimierten Laufmittel wurden auf DC- und HPTLC-Platten miteinander verglichen, wobei die HPTLC-Platten die kompakteren Substanzzonen ergaben und im oberen R_f-Bereich eine bessere Trennung zu beobachten war. Die in diesen Versuchen erhaltenen mobilen Phasen wurden auf verschiedene forced-flow Techniken, wie lineare und zirkulare OPLC sowie CLC übertragen. Es konnte festgestellt werden, dass von den beiden zirkularen Entwicklungstechniken, die CLC mit der Ultramikrokammer die bessere Auflösung zwischen den einzelnen Substanzzonen ergab.

Die für alle drei polaren Substanzklassen ausgearbeiteten DC- und HPTLC-Methoden sind für die qualitative Bestimmung der Inhaltsstoffe von Drogen und Extrakten geeignet, die forced-flow Methoden auch für die quantitative Bestimmung. Die planarchromatographischen forced-flow Methoden können aufgrund der erhaltenen Trennungen der HPLC gleichkommen.

Neben den planarchromatographischen Methoden wurde eine HPLC-Methode für die Trennung der Flavonoidglykoside von *Betulae folium* ausgearbeitet und die dafür notwendigen Referenzsubstanzen mit LPLC isoliert. Quercetin-3-O- β -D-glucuronid, Quercetin-3-O- α -L-arabinofuranosid, Quercetin-3-O- α -L-arabinopyranosid und Kämpferol-3-O- α -L-rhamnosid wurden zum ersten Mal aus *Betulae folium* isoliert. Die Struktur der isolierten Verbindungen wurde mit $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, UV-Spektroskopie und mit Hilfe von Referenzsubstanzen aufgeklärt.

Aufgrund der bei diesen drei untersuchten Substanzklassen gemachten Erfahrungen, kann betont werden, dass es in der Phytochemie notwendig ist, die verschiedenen planar- und säulenchromatographischen Methoden mit ihren sich ergänzenden Möglichkeiten nebeneinander anzuwenden. Durch Einsatz des "PRISMA"-Modells besteht die Möglichkeit die mobile Phase systematisch zu optimieren und zwischen den verschiedenen analytischen und/oder präparativen chromatographischen Methoden zu transferieren. Die ausgearbeiteten Optimierungs- und Analysenmethoden sind ein Beitrag zur Analytik der polaren Inhaltsstoffe von Pharmakopöe-Drogen.

11. Summary

In the theoretical section of this thesis the various planar- (TLC, HPTLC, OPLC, CLC) and column chromatographic (CC, LPLC, HPLC) methods are discussed. In the practical part, a strategy for application of the "PRISMA"-model to mobile phase optimization for separation of polar substances is described.

For the separation of flavonoidglycosides of *Betulae folium*, ginsenosides of *Ginseng radix* and the iridoidglycosides of *Veronicae herba*, different chromatographic methods were elucidated. A general strategy for the optimization of the mobile phase on TLC plates was also developed. The TLC preassays were carried out in unsaturated chambers. The TLC and HPTLC separations were compared; better separation was obtained in the upper R_f range on HPTLC plates. The obtained mobile phases were applied to different planar chromatographic forced-flow techniques, such as linear and circular OPLC and CLC for all substance classes examined. CLC with the ultra-microchamber gave the best resolution from both circular development modes.

The TLC and HPTLC methods may be applied for separation of all three polar substances classes, and they may be adapted for the qualitative examination of herbal drugs and extracts. The forced-flow methods are also appropriate for quantitative determinations.

Considering the separation of all three substance classes, the planar chromatographic forced-flow methods are probably comparable to HPLC.

An HPLC method was developed for separation of the most important flavonoide glycosides from *Betulae folium*; for isolation of the reference

substances, LPLC was employed. Quercetin-3-O- β -D-glucuronide, quercetin-3-O- α -L-arabinofuranoside, quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside and k mpferol-3-O- α -L-rhamnoside were isolated from *Betulae folium* for the first time. Structures of the isolated compounds were elucidated by $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and UV spectroscopic methods.

From the experience gained during the study of these substance classes, it should be emphasized that it is necessary to apply various planar and column chromatographic methods in phytochemistry. By using the "PRISMA"-model, the mobile phase may be transferred between the different analytical and/or preparative chromatographic methods.

The elaborated optimization and analytical methods developed herein are contributions to the analysis of medicinal plants in pharmacopoeias.