

INHALTSVERZEICHNIS

I EINLEITUNG

1. Botanik von <i>Leptospermum scoparium</i>	1
1.1. Systematische Stellung und Vorkommen	1
1.2. Etymologie und historischer Überblick	1
1.3. Beschreibung der Pflanze	2
1.3.1 Habitus	2
1.3.2 Geobotanik	5
1.3.3 Kultivierung in Europa	6
1.3.4 Anatomie der Blätter	6
2. Volksmedizinische Bedeutung der Pflanze	7
3. Kurze Charakterisierung der bisher aus <i>Leptospermum scoparium</i> isolierten Naturstoffgruppen	9
3.1. Bestandteile des Ätherischen Öls	10
3.2. Nichtflüchtige Naturstoffe	10
4. Ausgangspunkt und Zielsetzung dieser Arbeit	12

II METHODEN UND ERGEBNISSE

5. Entwicklung einer flüssigen Arzneiform	14
5.1. Zielvorgaben	14
5.2. Analytische Methoden zur Auswahl von Arzneidroge und Herstellungsverfahren	14
5.2.1 HPLC-Fingerprint-Analytik	14
5.2.2 Vergleich von Extraktionsverfahren und Optimierung des Menstruums	19
5.2.3 Arzneidrogen unterschiedlicher Herkunft	23
5.2.4 Erntezeitpunkt	27
5.3. DC-Analytik von Droge und Extrakten	28
5.3.1 Vorbemerkungen	28
5.3.2 Alkoholischer Gesamtextrakt	28
5.3.3 Ätherisches Öl	30
5.4. HAB-Monographieentwurf für <i>Leptospermum scoparium</i>	31
5.5. Stabilität und Haltbarkeit	34
5.6. Zusammenfassung und Diskussion der Methoden und Ergebnisse	36

6. Isolierung und Strukturaufklärung der lipophilen Leitsubstanzen	38
6.1. Übersicht	38
6.2. Verfahren zur Extraktion und Vortrennung	38
6.2.1 Geltrennung des Dichlormethanextrakts	38
6.2.2 Vorfractionierung durch Extraktion mit Lösungsmitteln ansteigender Polarität	44
6.2.3 Kutikulaextraktion der Blattdroge	45
6.3. Isolierung extern akkumulierter Naturstoffe	50
6.3.1 Trennschema	50
6.3.2 Fraktion K_1	52
6.3.3 Fraktion K_2	59
6.3.4 Fraktion K_3	63
6.3.5 Fraktion K_4	64
6.3.6 Fraktion K_5	67
6.3.7 Isolierung von F3 und F4	68
6.3.8 Isolierung der Harzester	69
7. Naturstoffanalytik	74
7.1. HPLC-Analytik der Leitsubstanzen	74
7.1.1 Analytik der Flavonoide	74
7.1.2 Analytik der Triterpenester	77
7.2. Fluorimetrie	78
7.2.1 Theoretische Grundlagen	78
7.2.2 Fluoreszenzmessung der Flavonoide	79
7.3. Analytik polarer Extraktkomponenten	81
8. Radiorezeptor-Bindungsassays am GABA_A-Rezeptor-Chloridkanalkomplex	82
8.1. Ausgangspunkt der Untersuchungen	82
8.2. Theoretische Grundlagen	82
8.2.1 Rezeptortypen des zentralen Nervensystems	82
8.2.2 Der GABA _A -Rezeptor -Chloridkanalkomplex	84
8.2.3 Rezeptorkonformationen unter molekularbiologischem Aspekt	87
8.2.4 Prinzip von Rezeptorbindungsstudien und Radiorezeptorassays	90

8.2.5 Auswertungsmethoden von Hemmungsexperimenten unter Einbeziehung der biologischen Aktivität	92
8.2.6 Einfluß der relativen Reizaktivität von BZD-Liganden auf die TBPS-Bindungsstelle	94
8.2.7 GABA-Shift von BZD-Rezeptorliganden	95
8.3. Zielsetzung und Versuchsanordnung	96
8.4. Hemmung der [³ H]FNT-Bindung an der Benzodiazepin-Bindungsstelle des Rezeptorkomplexes durch Naturstoffe aus <i>Leptospermum scoparium</i>	97
8.4.1 Screening von Fraktionen unterschiedlicher Polarität	97
8.4.2 Bindungsdaten der getesteten Flavonoide	102
8.4.3 Bindungsdaten der Triterpenester	107
8.4.4 Hill-Koeffizient der Flavonoide	109
8.5. GABA-Shift der Flavonoide und Harzester mit Affinität zum Benzodiazepinrezeptor	110
8.5.1 Shift-Experimente an der GABA-Bindungsstelle	110
8.5.2 Shift-Experimente zur Kooperativität des GABA _A -Antagonisten [³ H]BMC	110
8.5.3 Bicucullin-Shift der Flavonoide	112
8.5.4 Bicucullin-Shift der Harzester	114
8.5.5 Kooperation der Flavonoide mit dem GABA _A -Agonisten [³ H] Muscimol als Ligand der GABA-Bindungsstelle	115
8.6. TBPS-Shift der Benzodiazepinrezeptorliganden	116
8.6.1 Methodik und Interpretation von TBPS-Shift-Experimenten	116
8.6.2 TBPS-Shift-Experimente mit Flavonoiden	119
9. Pharmakologische in-vivo-Testung	123
9.1. Ausgangspunkt der Untersuchungen	123
9.2. Auswahl der Arzneizubereitung	123
9.3. Lokomotionsstudien	124
10. Flavonoidmuster unterschiedlicher Ökotypen	126
11. Zusammenfassung und Ausblick	132
12. Experimenteller Teil	137
12.1. Materialien zur Extraktion und Analytik	137
12.1.1 Pflanzenmaterial	137

12.1.2 Lösungsmittel	139
12.1.3 Geräte und Sorbentien zur Chromatographie	140
HPLC-Geräte	140
Datenverarbeitung	140
Analytische und präparative HPLC-Säulen	140
Gelchromatographie	140
Dünnschicht-Chromatographie	141
12.2. Extraktionsmethoden	141
12.2.1 Alkoholische Tinktur	141
Zerkleinerung	141
Extraktion	141
12.2.2 Extraktion mit ansteigender Polarität des Menstruums	142
12.2.3 Vorschrift zur Abtrennung der Lipide aus P_1 bis D_6	143
12.2.4 Dichlormethanmazeration und Lipoidabtrennung	143
12.2.5 Vorschrift zur Abtrennung der Lipide aus Fraktion G	144
12.2.6 Kutikulaextraktion	144
Arbeitsvorschrift zur Extraktionsmitteloptimierung	145
Diethyletherextraktion der Blattoberflächen	145
12.2.7 Abtrennung der Lipide aus Fraktion K	145
12.2.8 Extraktion polarer Komponenten	146
12.3. Chromatographische Methoden	147
12.3.1 Analytische HPLC-Methoden	147
Reversed Phase Chromatographie	147
Chromatographie mit chemisch gebundenen Phasen	149
12.3.2 Präparative HPLC-Methoden	150
12.3.3 Niederdruck-Chromatographie	150
Analytische Voroptimierung der Fraktogel-Trennung	151
Präparative Durchführung der Geltrennung	151
12.3.4 Dünnschicht-Chromatographie	152
Flavonoid-Analytik	153
Analytik des ätherischen Öls	153
12.4. Spektroskopische und physikalische Methoden	154
12.4.1 Schmelztemperaturen	154

12.4.2 Ultraviolett-Spektren	154
12.4.3 Massenspektren und Hochauflösung	154
12.4.4 NMR-Spektren	155
12.4.5 Drehwerte	155
12.4.6 Fluoreszenzspektrometrie	156
12.4.7 Szintillationsspektroskopie	156
12.5. Radiorezeptorassays	157
12.5.1 Geräte und Materialien	157
12.5.2 Lösungsmittel	157
12.5.3 Reagenzien	157
12.5.4 Gewinnung der Membransuspensionen	158
Cortexpräparation 1	158
Cortexpräparation 2	159
Cortexpräparation 3	159
Cortexpräparation 4	159
Cortexpräparation 5	160
Cortexpräparation 6	160
12.5.5 Hemmungsexperimente an der BZD-Bindungsstelle	161
12.5.6 Hemmungsexperimente an der TBPS-Bindungsstelle	162
Standardbedingungen	162
Experimente mit abweichenden Versuchsbedingungen	164
12.5.7 Hemmungsexperimente an der GABA-Bindungsstelle	165
Radioligand [³ H]Bicucullin Methochlorid	165
Radioligand [³ H]Muscimol	166
12.5.8 Messung und Auswertung	166
12.6. Lokomotionsstudie	166
12.7. Register der isolierten Flavonoide und ihrer Kenndaten	167
12.7.1 5,7-Dimethoxyflavon (F 1)	167
12.7.2 5,7-Dimethoxy-6-methylflavon (F 2)	168
12.7.3 5-Hydroxy-7-methoxy-6-methylflavon (F 3)	168
12.7.4 5-Hydroxy-7-methoxy-6,8-dimethylflavon (F 4)	169
12.7.5 5,7-Dimethoxy-6-methylflavanon (F 5)	169
12.7.6 5-Hydroxy-7-methoxy-6-methylflavanon (F 6)	170

12.7.7	5-Hydroxy-7-methoxyflavanon (F 7)	170
12.7.8	5,7-Dimethoxyflavanon (F 8)	171
12.7.9	2,5-Dihydroxy-7-methoxy-6,8-dimethylflavan-3-on (F 9)	171
12.7.10	5,7-Dihydroxy-6-methylflavon (F 10)	172
12.8.	Register der isolierten Harzester und ihrer Kenndaten	172
12.9.	Kaffeesäuremethylester aus Fraktion M_E	175
III	LITERATURVERZEICHNIS	176
IV	ANHANG	184
	DAD-Chromatogramme der neuseeländischen Pflanzenproben	185
	Rohdaten und statistische Auswertung der Radiorezeptorassays	192
	Fingerprint-Chromatogramme unterschiedlicher alkoholischer Extrakte	204