universität wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Isolierung neuer Xanthone aus *Metaxya rostrata*“

verfasst von / submitted by

Stefanie Rindler

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2019 / Vienna, 2019

Studienkennzahl lt. Studienblatt / degree programme code as it appears on the student record sheet:	A 449
Studienrichtung lt. Studienblatt / degree programme as it appears on the student record sheet:	Diplomstudium Pharmazie
Betreut von / Supervisor:	ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Liselotte Krenn

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich besonders bei Frau ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Liselotte Krenn sowie bei Frau Mag. Eva Mittermair für die Bereitstellung des interessanten Themas und die ausgezeichnete Betreuung während der gesamten Arbeit bedanken.

Weiters bedanke ich mich auch beim Department für Pharmakognosie der Universität Wien für die herzliche Aufnahme und das angenehme Arbeitsklima. Vielen Dank an Mag. Christina Sykora und Dr. Ammar Tahir, MSc. für die Hilfe bei den LC-MS-Analysen.

Ein großes Dankeschön auch an Ass.-Prof. Mag. Dr. Hanspeter Kählig vom Institut für Organische Chemie, für die Durchführung der NMR-Messung und die Strukturaufklärung.

Herzlichen Dank auch an meine Familie, Freunde und meinen Partner, dafür dass sie mich immer unterstützt und motiviert haben.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung ... 1

2. Material und Methoden ... 3

2.1. Material ... 3

2.1.1. Fraktion einer vorangegangenen Dissertation ... 3

2.1.2. Getrocknetes Rhizom ... 3

2.2. Methoden ... 4

2.2.1. Extraktionsmethoden ... 4

2.2.2. Dünnschichtchromatographie (DC) ... 5

2.2.3. Säulenchromatographie (SC) ... 6

2.2.4. Flash-Chromatographie (FC) ... 8

2.2.5. Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie (LC-MS) ... 9

2.2.6. Kernresonanzspektroskopie (NMR) ... 10

3. Ergebnisse ... 11

3.1. Entwicklung und Optimierung eines DC-Systems für Xanthone ... 11

3.2. Untersuchung vorhandener Fraktionen ... 11

3.2.1. LC-MS von Fraktion „9-11 80%“ ... 13

3.2.2. SC1 ... 13

3.2.3. Strukturaufklärung von Fraktion F9 mittels NMR ... 15

3.3. Vergleich des Inhaltsstoffmusters von Wurzelrinde und Zentralzylinder ... 17

3.3.1. Herstellung von Chloroform- und Ethylacetat-Extrakten ... 18

3.3.2. DC-Analysen der Extrakte ... 19

3.4. Auftrennung des Ethylacetat-Extraktes ... 21

3.4.1. SC2 ... 21

3.4.2. DC-Vergleiche mit Tanninen ... 24

3.5. Auftrennung des Chloroform-Extraktes ... 24

3.5.1. FC1 ... 25

3.5.2. FC2 ... 26

3.5.3. Vereinigung der Sammelfraktion von FC1 und FC2 ... 28

3.5.4. DC-Vergleiche mit Xanthonen ... 30

3.5.5. DC-Vergleiche mit Kaffeesäure und Betulinsäure 31
3.6. SC3 33
4. Diskussion 35
5. Zusammenfassung 37
6. Abstract 38
7. Literaturverzeichnis 39
Anhang 40

Abkürzungsverzeichnis

AASS	Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz
CFv	Chloroform-Extrakte vereinigt
DC	Dünnschichtchromatographie
EAv	Ethylacetat-Extrakte vereinigt
F	Fraktion
FC	Flash-Chromatographie
FSF	Sammelfraktion von FC1 und FC2 vereint
LC-MS	Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)
NMR	Kernresonanzspektroskopie (Nuclear Magnetic Resonance)
NS/PEG	Naturstoffreagenz A und PEG 400
OH-XB	2-Deprenyl-7-hydroxy-rheediaxanthon B
PEG	Polyethylenglycol
SC	Säulenchromatographie
SF	Sammelfraktion
WR	Wurzelrinde
XB	2-Deprenyl-rheediaxanthon B
ZZ	Zentralzylinder

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Blätter und Rhizom von *Metaxya rostrata* (C. Presl) 1
Abb. 2: Chemotherapeutika von 1940-2014 1
Abb. 3: Struktur von XB (links) und OH-XB (rechts) 2
Abb. 4: Herstellung von Fraktion "9-11 80%" 3
Abb. 5: Extraktionsschema 4
Abb. 6: Durchführung von SC1, SC2 und SC3 6
Abb. 7: FC mit puriFlash®4250 (interchim) 8
Abb. 8: DC von XB und OH-XB mit System DC7 11
Abb. 9: DC von XB, OH-XB und Fraktion „9-11 80%“ 12
Abb. 10: DC-Vergleich von Fraktion „9-11 80%“ mit Flavonoiden 12
Abb. 11: Massenspektrum (positive ion mode) von Fraktion „9-11 80%“ 13
Abb. 12: DC der Fraktionen von SC1 14
Abb. 13: Strukturformeln von SR1 15
Abb. 14: DC der Chloroform-Extrakte 20
Abb. 15: DC der Ethylacetat-Extrakte 20
Abb. 16: DC der Sammelfraktionen SF1-6 von SC2 22
Abb. 17: DC der Sammelfraktionen SF6-18 von SC2 23
Abb. 18: Vergleich der Sammelfraktionen SF16 und SF17 mit Tanninen 24
Abb. 19: DC der Sammelfraktionen FSF 29
Abb. 20: Vergleich der Sammelfraktionen von FC2 mit Xanthonen 30
Abb. 21: Vergleich von Sammelfraktion FSF6 mit SR1 31
Abb. 22: Vergleich von CFv mit Betulinsäure und Kaffeesäure 32
Abb. 23: Vergleich von Sammelfraktion FSF5 mit Betulinsäure 32
Abb. 24: Sammelfraktionen von SC3 34

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Mobile Phasen der DC 5
Tab. 2: Bedingungen der SC1 7
Tab. 3: Bedingungen der SC2 7
Tab. 4: Bedingungen der SC3 8
Tab. 5: Bedingungen der FC 9
Tab. 6: Bedingungen der LC-MS 9
Tab. 7: Bedingungen der NMR-Analyse 10
Tab. 8: Sammelfraktionen von SC1 14
Tab. 9: NMR-Daten von SR1 – Isomer 1 16
Tab. 10: NMR-Daten von SR1 – Isomer 2 17
Tab. 11: Ausbeute der Chloroform-Extrakte WR 18
Tab. 12: Ausbeute der Chloroform-Extrakte ZZ 18
Tab. 13: Ausbeute der Ethylacetat-Extrakte WR 18
Tab. 14: Ausbeute der Ethylacetat-Extrakte ZZ 19
Tab. 15: Sammelfraktionen von SC2 21
Tab. 16: FC1 Elutionszeiten und Zusammensetzung der mobilen Phase 25
Tab. 17: Sammelfraktionen von FC1 25
Tab. 18: FC2 Elutionszeiten und Zusammensetzung der mobilen Phase 27
Tab. 19: Sammelfraktionen FC2 27
Tab. 20: Sammelfraktionen FSF aus FC1 und FC2 28
Tab. 21: Sammelfraktionen SC3 33

1. Einleitung und Zielsetzung

Der Baumfarn *Metaxya rostrata* (C. Presl) (Metaxyacaea) (Abb. 1) ist in Zentral- und Südamerika beheimatet. Dort wird er traditionell zur Behandlung von intestinalen Krankheiten und Tumoren als wässrige Suspension des getrockneten Rhizoms oral verabreicht (Virtbauer et al., 2008).

Abb. 1: Blätter (Kainz, 2011) und Rhizom von Metaxya rostrata (C. Presl)

Darmkrebs gilt weltweit als die dritthäufigste Krebserkrankung nach Lungenkrebs und Brustkrebs. Die höchste Inzidenz tritt dabei in den industrialisierten Regionen in Europa, Australien, Neuseeland und in Nordamerika auf (Globocan, 2018).

Naturstoffe sind eine wertvolle Quelle für die Entwicklung neuer Arzneistoffe – vor allem auch für Medikamente gegen Krebserkrankungen. Über 50% aller derzeit verwendeten Chemotherapeutika sind Naturstoffe oder davon abgeleitete Strukturen (Abb. 2) (Newman et al., 2016).

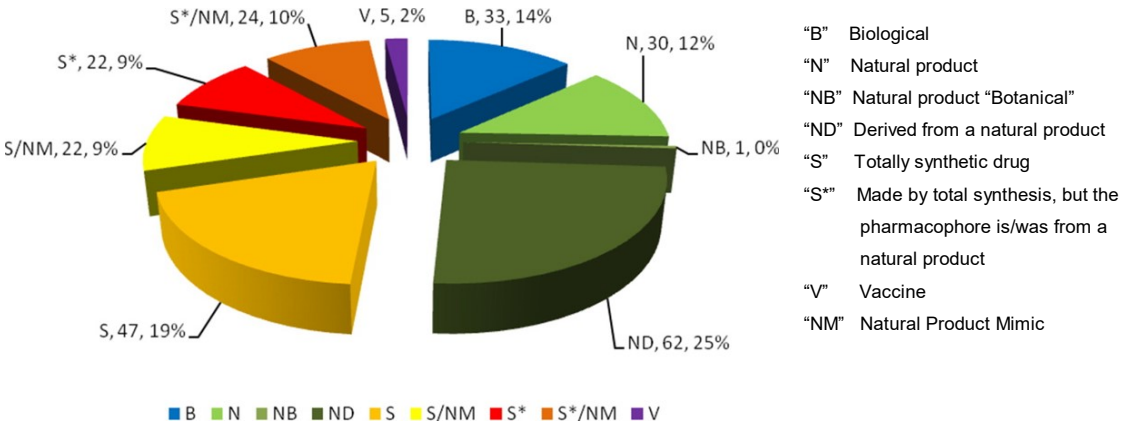


Abb. 2: Chemotherapeutika von 1940-2014 (Newman et al., 2016)

Aufgrund der traditionellen Verwendung als Heilpflanze bei gastrointestinalen Beschwerden, wurde *Metaxya rostrata* als Quelle für zytotoxische Wirkstoffe untersucht. Aus Extrakten wurden bereits die zytotoxischen Komponenten Aesculitannin B und Cinnamtannin B1 (Virtbauer, 2007) sowie Betulinsäure isoliert (Kainz, 2011).

Weiters konnten aus *Metaxya rostrata* zwei strukturverwandte Xanthone isoliert werden. Bei beiden wurde durch bioassay-geleitete Untersuchungen zytotoxische Aktivität nachgewiesen (Kainz, 2011; Mittermair, in Vorbereitung). Es handelt sich dabei um 2-Deprenyl-rheediaxanthon B (XB) (Kainz et al., 2013) und 2-Deprenyl-7-hydroxy-rheediaxanthon B (OH-XB) (Kainz et al., 2014) (Abb. 3).

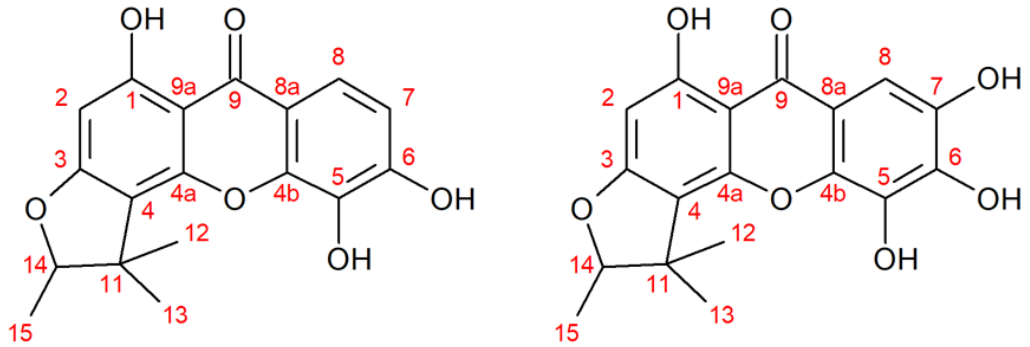


Abb. 3: Struktur von XB (links) und OH-XB (rechts)

Das Ziel dieser Arbeit lag darin, weitere strukturverwandte Xanthone aus *Metaxya rostrata* zu isolieren, die auf ihre Zytotoxizität untersucht werden sollen.

Außerdem sollte im Zuge dieser Diplomarbeit herausgefunden werden, ob sich das Wirkstoffmuster von Wurzelrinde (WR) und Zentralzylinder (ZZ) des Rhizoms unterscheidet und ob sich die Xanthone in einem der beiden Bereiche stärker anreichern.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Fraktion einer vorangegangenen Dissertation

Die Fraktion „9-11 80%“ einer vorrangegangenen Dissertation (Kainz, 2011) wurde genauer untersucht. In der folgenden Abbildung ist dargestellt, wie diese Fraktion von Kainz hergestellt worden war:

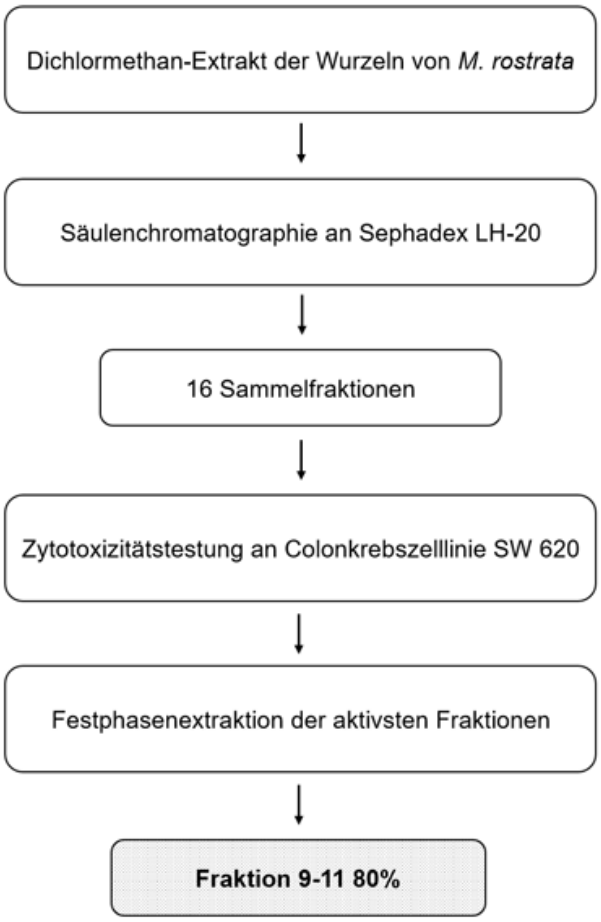


Abb. 4: Herstellung von Fraktion "9-11 80%"

2.1.2. Getrocknetes Rhizom

Es standen ca. 300 g getrocknetes Rhizom von *Metaxya rostrata* zur Verfügung. Dieses wurde im Jahre 2008 in der Umgebung von La Gamba (Costa Rica) gesammelt, getrocknet und authentifiziert.

2.2. Methoden

2.2.1. Extraktionsmethoden

Das getrocknete Rhizom musste zuerst in WR und ZZ getrennt und pulverisiert werden. Danach wurden Chloroform-Extrakte hergestellt, indem das gepulverte Drogenmaterial mit der zehnfachen Menge Chloroform versetzt eine Stunde am Ultraschallbad extrahiert wurde. Das Extrakt wurde filtriert, eingedampft und alle Schritte zweimal wiederholt.

Anschließend wurde der Rückstand verwendet, um Ethylacetat-Extrakte herzustellen, wobei wieder die zehnfache Menge an Lösungsmittel eingesetzt wurde. Die weiteren Schritte entsprachen der Herstellung des Chloroform-Extraktes, jedoch wurden hier insgesamt vier Extraktionsdurchgänge durchgeführt, da die Ausbeute nach dem dritten Schritt noch sehr hoch war. Das Extraktionsschema ist in Abb. 5 graphisch dargestellt und die Mengen und Ausbeuten sind in Kap. 3.3.1 (S. 18) und 3.3.2 (S.19) aufgelistet und beschrieben.

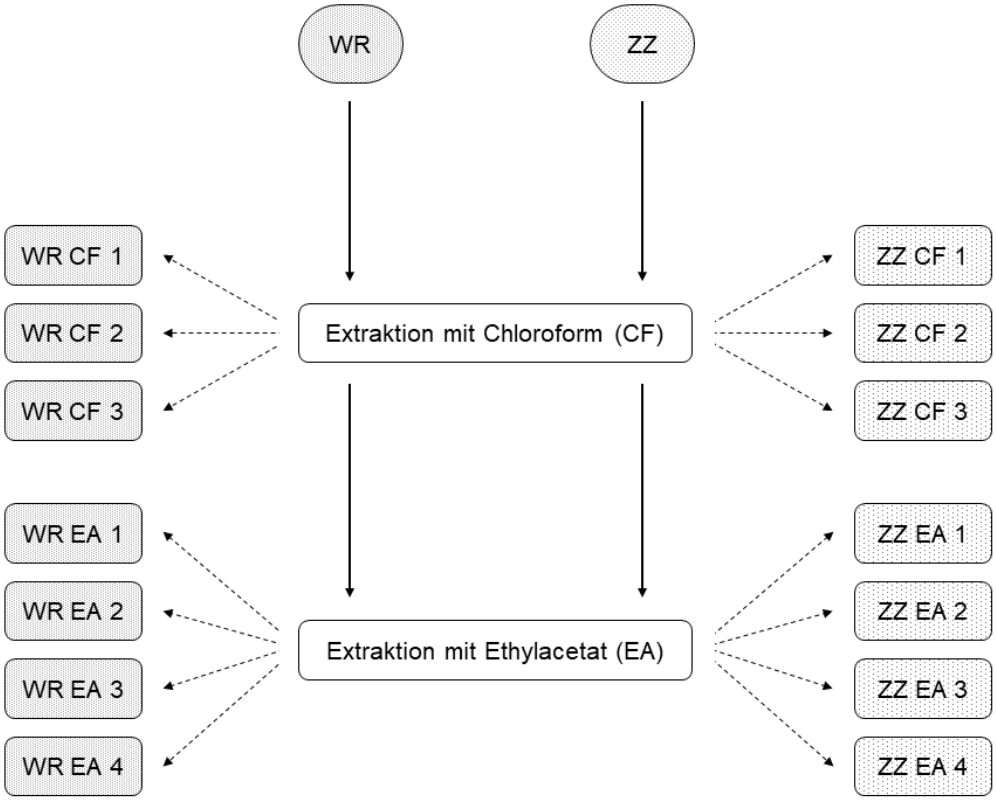


Abb. 5: Extraktionsschema

2.2.2. Dünnschichtchromatographie (DC)

Mittels DC wurde die Zusammensetzung von Fraktionen und Extrakten untersucht. Weiters war die DC eine wichtige Analysenmethode für das Vereinigen von Fraktionen, welche bei den chromatographischen Trennschritten entstanden. Es wurden folgende mobile und stationäre Phasen sowie verschiedene Detektionsmethoden verwendet:

Stationäre Phase:

Bei der stationären Phase handelte es sich um DC Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatten (Firma Merck), 20 x 20 cm (zugeschnitten in die jeweils benötigten Größen mit einer Höhe von jeweils 10 cm) mit Schichtdicke 0,25 mm.

Mobile Phasen:

Als mobile Phasen dienten folgende Gemische, welche immer an die Polarität der jeweiligen Substanzgemische angepasst waren:

Tab. 1: Mobile Phasen der DC

	Mobile Phase	Konzentration
DC1	Ethylacetat : Ameisensäure : Methanol : Wasser	70 : 8 : 8 : 11
DC2	Ethylacetat : Ameisensäure : Methanol : Wasser	70 : 8 : 4 : 4
DC5	Chloroform : Methanol : Wasser	60 : 40 : 10
DC7	Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure	10 : 4 : 1
DC8	Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure	3 : 4 : 1
DC9	Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure	7 : 4 : 1
DC10	Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure	5 : 4 : 1
DC11	Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure : Methanol	5 : 4 : 1 : 1
DC13	Toluol : Petrolether	1 : 1
DC15	Dichlormethan : Ameisensäure : Ethylformiat	30 : 5 : 30

Auftragslösungen:

Für die Auftragslösungen wurde als Lösungsmittel Methanol verwendet oder die mobile Phase der jeweiligen chromatographischen Methode. Es wurde 1 mg Probe in 1 ml Lösungsmittel gelöst, wovon bei Reinsubstanzen 2 µl und bei Fraktionen 5-10 µl auf die DC-Platte aufgetragen wurden.

Detektionsmethoden:

- Naturstoffreagenz A und Polyethylenglycol 400 (NS/PEG):
  Die DC-Platte wurde mit einer 1%igen Lösung von Naturstoff A (Diphenylboryloxyethylamin) in Methanol besprüht. Nach kurzem Trocknen wurde sie anschließend mit einer 5%igen Lösung von PEG 400 in Ethanol besprüht und unter UV-Licht mit einer Wellenlänge von 366 nm ausgewertet (Wagner et al., 1983).

- Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz (AASS):
  AASS wurde hergestellt durch Mischen von 1,5 ml Anisaldehyd, 20 ml Eisessig, 255 ml Methanol und 10 ml konzentrierter Schwefelsäure (in dieser Reihenfolge). Nach Besprühen der DC-Platten mit dieser Lösung und Trocknen bei 100°C für 5-10 min wurden sie bei Tageslicht ausgewertet (Wagner et al., 1983).

2.2.3. Säulenchromatographie (SC)

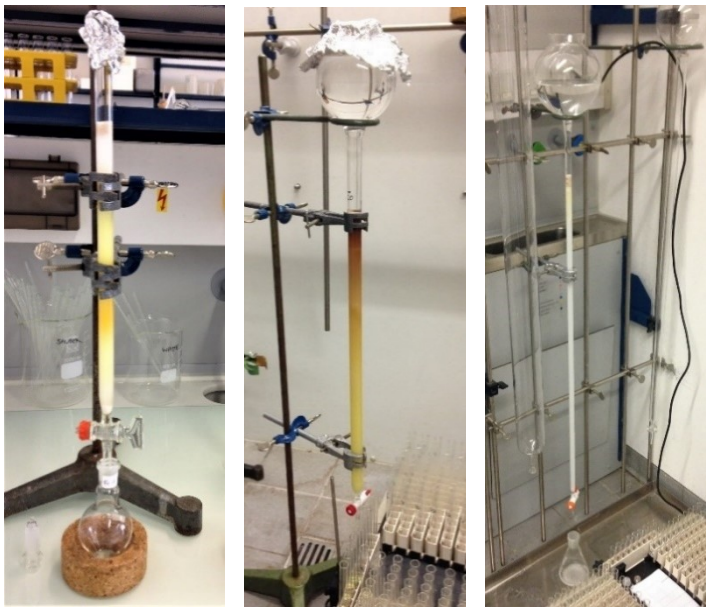


Abb. 6: Durchführung von SC1, SC2 und SC3

Stationäre Phase:

Sephadex® LH-20 der Firma Sigma LifeScience wurde mindestens 2 Stunden in der jeweiligen mobilen Phase vorgequollen und in die Säule gefüllt. Anschließend konnte die Probe aufgetragen und mit Filterpapier und Seesand (Carl Roth GmbH & Co) bedeckt werden.

Mobile Phasen:

Als mobile Phase dienten bei SC1 Methanol-Wasser-Gemische und bei SC2 sowie SC3 Ethylacetat-Methanol-Gemische. Während der SC wurde die mobile Phase in ihrer Konzentration adaptiert, um eine effiziente Trennung zu erreichen. Die erhaltenen Fraktionen wurden dünschichtchromatographisch überprüft und entsprechend ihrer Zusammensetzung zu Sammelfraktionen vereinigt.

Tab. 2: Bedingungen der SC1

Stationäre Phase	Sephadex® LH-20
Mobile Phasen	Methanol : Wasser (50 : 50) Methanol : Wasser (75 : 25) Methanol 100%
Säulendurchmesser	1 cm
Füllhöhe	27 cm
Flussrate	15 ml/h
Auftragslösung	35 mg Probe in 300 µl Methanol : Wasser (75 : 25)

Tab. 3: Bedingungen der SC2

Stationäre Phase	Sephadex® LH-20
Mobile Phasen	Ethylacetat : Methanol (90 : 10) Ethylacetat : Methanol (85 : 15) Ethylacetat : Methanol (80 : 20) Ethylacetat : Methanol (70 : 30)
Säulendurchmesser	2 cm
Füllhöhe	45 cm
Flussrate	8 ml/h
Auftragslösung	1 g Probe in 6 ml Ethylacetat : Wasser (50 : 50)

Tab. 4: Bedingungen der SC3

Stationäre Phase	Sephadex® LH-20
Mobile Phasen	Methanol : Wasser (80 : 20) Methanol : Wasser (90 : 10) Methanol 100%
Säulendurchmesser	1 cm
Füllhöhe	85 cm
Flussrate	7 ml/h
Auftragslösung	72 mg Probe in 700 µl Methanol

2.2.4. Flash-Chromatographie (FC)

Die FC wurde verwendet, um das Chloroform-Extrakt (CFv) aufzutrennen. Die beiden Trennungen wurden am Gerät puriFlash®4250 (interchim, Frankreich) durchgeführt (Abb. 7) und die Bedingungen in Anlehnung an eine vorangegangene Diplomarbeit (Reder, 2017) vorgenommen. Dabei wurde der Gradient etwas abgeändert (Tab. 5, S. 9).

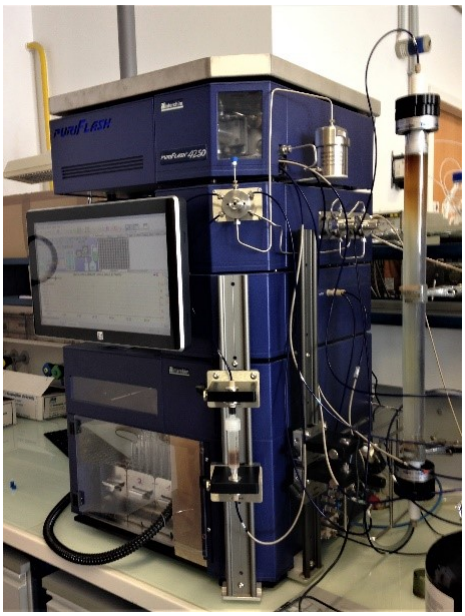


Abb. 7: FC mit puriFlash®4250 (interchim)

Tab. 5: Bedingungen der FC

Trennsäule	Glassäule 25 x 500 mm
Stationäre Phase	Kieselgel 60 (Merck)
Mobile Phase	Chloroform : Methanol : Wasser
Gradient	min 0 - 35 90 : 3,5 : 0,2 min 35 - 45 85 : 8 : 0,5 min 45 - 55 80 : 10 : 1 min 55 - 65 75 : 15 : 1,5 min 65 - 75 70 : 22 : 3,5 min 75 - 100 60 : 30 : 6
Detektion	UV 205 nm, DAD Scan 200-600 nm, ELSD
ELSD Temperatur	35°C
Collection Mode	Treshold
Equilibrierung	10 min
Flussrate	15 ml/min

2.2.5. Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie (LC-MS)

Zur Bestimmung des Molekulargewichts der isolierten Komponenten wurde die Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie (LC-MS) herangezogen. Die Bedingungen sind im Folgenden aufgelistet:

Tab. 6: Bedingungen der LC-MS

Gerät	UltiMate 3000 Rapid Separation LC System
Controller	UltiMate 3000 Dionex
Pumpe	UltiMate 3000 RS Dionex Pump
Detektor	UltiMate 3000 RS Dionex Dioden Array Detector
Säulenofen	UltiMate 3000 RS Dionex column compartment
Autoinjektor	UltiMate 3000 RS Dionex Autosampler
Ionisation	ESI
Temperatur des Trockengases	340°C
Fluss des Trockengases	9,0 l/min

Kapillarspannung	3500 V
Kollisionsgas	Helium
Säule	Acclaim 120 Å C18; 3µm; 2,1 x 150 mm
Mobile Phase	Eluent A: 1%ige Ameisensäure in Wasser Eluent B: Acetonitril
Gradient	min 0 5,0% min 0 5,0% min 45 95,0% min 55 95,0% min 56 5,0% min 66 5,0%
Temperatur	25°C
Flussrate	0,5 ml/min
Injektionsvolumen	10 µl

2.2.6. Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Mittels NMR wurde die Substanz SR1 an einem Avance III 600 MHz NMR-Spektrometer (Firma Bruker, BioSpin, Rheinstetten, Deutschland) mit einem Breitband-Observe-Probenkopf untersucht (Tab. 7).

Tab. 7: Bedingungen der NMR-Analyse

Messfrequenz	700,40 MHz für ^{1}H-NMR 176,12 MHz für ^{13}C-NMR
Messtemperatur	298,2 K
Lösungsmittel	Methanol-d_4
1D-Experimente	^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR
2D-Experimente	COSY, NOESY, HMBC, HSQC

3. Ergebnisse

3.1. Entwicklung und Optimierung eines DC-Systems für Xanthone

Um Xanthone mittels DC optimal zu identifizieren, war es notwendig ein geeignetes DC-System zu ermitteln. Als erster Schritt wurden daher verschiedene mobile Phasen (Tab. 1, S.5) unter Verwendung der Substanzen XB und OH-XB getestet. Von den mobilen Phasen eignete sich das System DC7 am besten (Abb. 8).

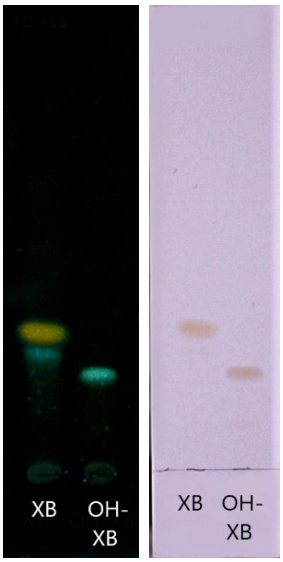


Abb. 8: DC von XB und OH-XB mit System DC7

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (links) und AASS (rechts)

3.2. Untersuchung vorhandener Fraktionen

Eine Reihe von Fraktionen aus vorangegangenen Arbeiten, welche aus zeitlichen Gründen noch nicht ausreichend analysiert worden waren, wurden mittels DC auf ihre genaue Zusammensetzung und das Vorliegen von Xanthonen untersucht. Es wurden 20 Fraktionen analysiert. Aufgrund des Inhaltsstoffmusters und der vorhandenen Menge wurde Fraktion „9-11 80%“, welche im Zuge einer Dissertation (Kainz, 2011) hergestellt worden war, für die weitere Untersuchung herangezogen (Kap. 2.1.1, S. 3). Diese Fraktion enthielt eine gelb fluoreszierende Bande, welche einen ähnlichen Rf-Wert wie XB aufwies (Abb. 9, S.12).

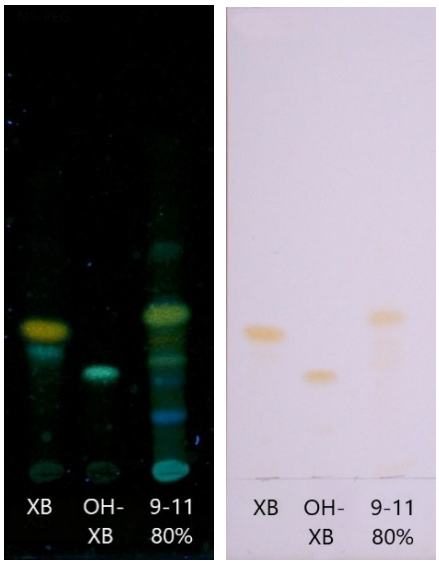


Abb. 9: DC von XB, OH-XB und Fraktion „9-11 80%“

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (links) und AASS (rechts)

Um auszuschließen, dass es sich bei der Hauptkomponente dieser Fraktion um ein Flavonoid handelt, wurden DC-Vergleiche mit Apigenin (1), Isoquercetin (2), Hesperetin (3), Acacetin (4), Kämpferol (5), Kämpferid (6), Homoeriodictyol (7), Naringenin (8) und Sinensetin (9) durchgeführt (Abb. 10). Es gab keine Übereinstimmung mit diesen Flavonoiden.

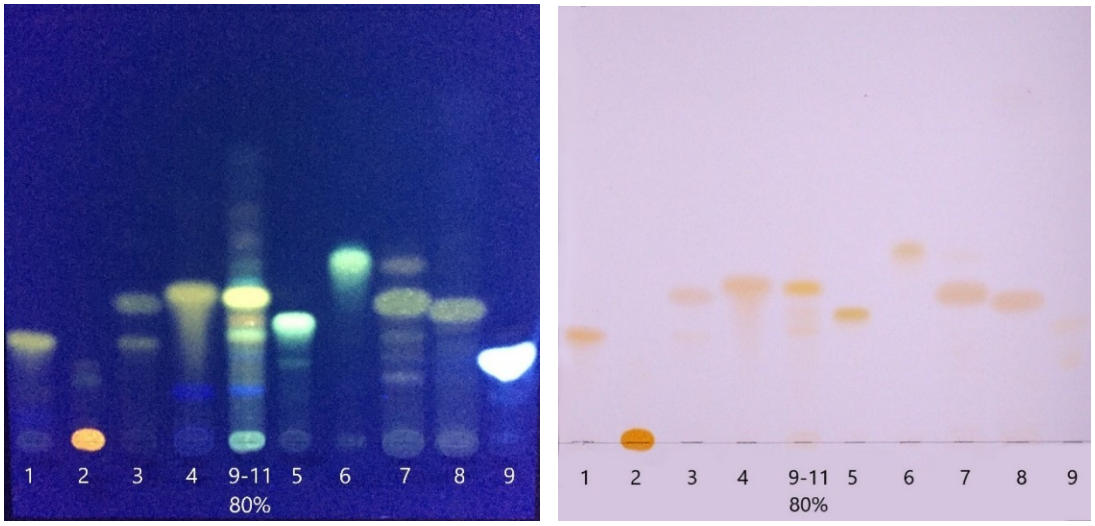


Abb. 10: DC-Vergleich von Fraktion „9-11 80%“ mit Flavonoiden

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (links) und AASS (rechts)

3.2.1. LC-MS von Fraktion „9-11 80%“

Zur weiteren Charakterisierung wurde eine LC-MS-Analyse dieser Fraktion durchgeführt, um die Masse der Substanz zu bestimmen (Tab. 6, S. 9). Das Massenspektrum zeigte einen Hauptpeak mit einem Molekulargewicht von 358 (Abb. 11), was darauf hindeutete, dass es sich bei der Substanz um ein methyliertes OH-XB handeln könnte.

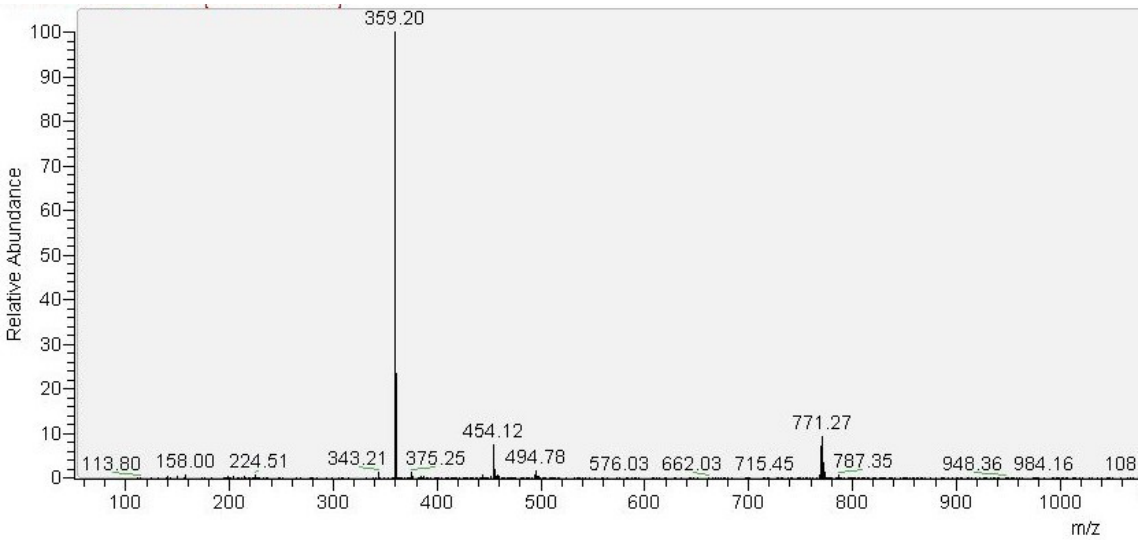


Abb. 11: Massenspektrum (positive ion mode) von Fraktion „9-11 80%“

3.2.2. SC1

Um die Substanz in möglichst hoher Reinheit für NMR-Analysen zu erhalten, wurde Fraktion „9-11 80%“ mittels SC aufgereinigt (Tab. 2, S. 7). Es wurden elf Fraktionen gesammelt. Die größte Fraktion (F9, 8,7 mg) enthielt die gelb fluoreszierende Bande (SR1) als Hauptkomponente (Abb. 12 und Tab. 8, S. 14). Erhebliche Anteile an polaren Begleitstoffen konnten mit SC1 abgetrennt werden. Auch kleinere Anteile von Ballaststoffen mit ähnlicher Polarität wie die Hauptkomponente von F9 wurden in F10 und F11 entfernt.

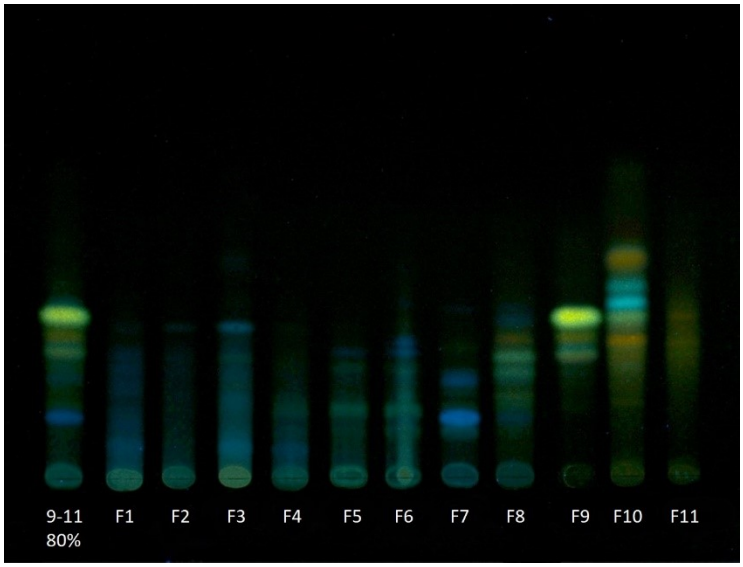


Abb. 12: DC der Fraktionen von SC1

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG

Tab. 8: Sammelfraktionen von SC1

Fraktion	Ausbeute
F1	2,45 mg
F2	2,76 mg
F3	3,24 mg
F4	2,92 mg
F5	2,79 mg
F6	2,46 mg
F7	1,20 mg
F8	1,83 mg
F9	8,73 mg
F10	2,36 mg
F11	1,82 mg
Total	**32,56 mg**

3.2.3. Strukturaufklärung von Fraktion F9 mittels NMR

Die NMR-Analyse bestätigte die Vermutung, dass es sich bei der Substanz um ein methyliertes OH-XB handelt. Jedoch lag ein Gemisch aus 2 Substanzen vor, bei welchen entweder die Hydroxylgruppe in Position 6 oder jene in Position 7 methyliert waren (Abb. 13). Das Verhältnis von Isomer 1 zu Isomer 2 betrug 1,0:0,3.

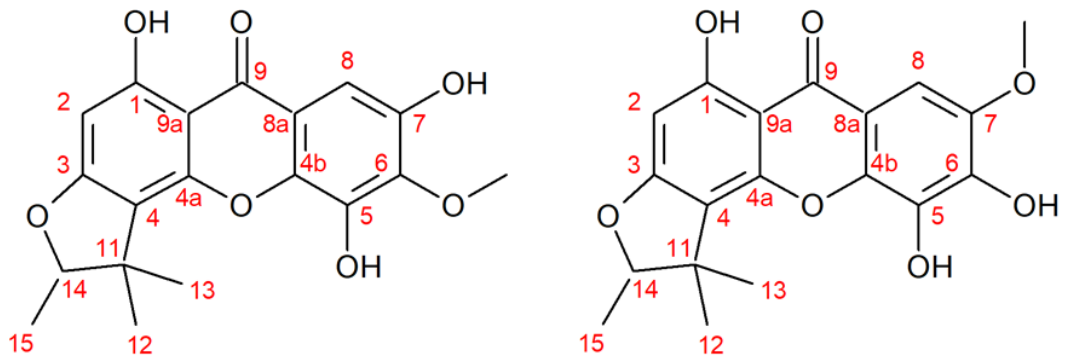


Abb. 13: Strukturformeln von SR1

Isomer 1 (links) = 2-Deprenyl-6-O-methyl-7-hydroxy-rheediaxanthon B
Isomer 2 (rechts) = 2-Deprenyl-7-methoxy-rheediaxanthon B
Chemische Formel: $C_{19}H_{18}O_7$, Molekulargewicht: 358,34

Die Ergebnisse der ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Analysen sind in den folgenden Tabellen dargestellt und die Spektren befinden sich im Anhang.

Tab. 9: NMR-Daten von SR1 – Isomer 1

		^{1}H (ppm)	$J_{H,H}$ (Hz)	^{13}C (ppm)
1	C	-	-	165,13
2	CH	6,120	s	93,99
3	C	-	-	167,27
4	C	-	-	114,12
4a	C	-	-	154,44
4b	C	-	-	148,90
5	C	-	-	140,89
6	C	-	-	143,47
6‘	OCH_3	3,966	s	61,19
7	C	-	-	141,83
8	CH	7,083	s	100,46
8a	C	-	-	117,60
9	C	-	-	181,70
9a	C	-	-	104,28
11	C	-	-	44,95
12	CH_3	1,604	s	25,92
13	CH_3	1,316	s	21,39
14	CH	4,530	d 6,6	92,28
15	CH_3	1,398	d 6,6	14,56

Tab. 10: NMR-Daten von SR1 – Isomer 2

		^{1}H (ppm)	$J_{H,H}$ (Hz)	^{13}C (ppm)
1	C	-	-	164,96
2	CH	6,118	s	93,98
3	C	-	-	166,94
4	C	-	-	114,13
4a	C	-	-	154,30
4b	C	-	-	143,69
5	C	-	-	134,94
6	C	-	-	143,69
7	C	-	-	147,27
7‘	OCH_3	3,948	s	56,58
8	CH	7,170	s	96,47
8a	C	-	-	112,93
9	C	-	-	181,50
9a	C	-	-	104,08
11	C	-	-	44,98
12	CH_3	1,611	s	25,96
13	CH_3	1,320	s	21,42
14	CH	4,525	d 6,6	92,21
15	CH_3	1,399	d 6,6	14,56

3.3. Vergleich des Inhaltsstoffmusters von Wurzelrinde und Zentralzylinder

Nachdem die Rhizomteile getrennt und pulverisiert worden waren, standen 233 g gepulverte WR und 86 g gepulverter ZZ für die weiteren Extraktionen zur Verfügung.

3.3.1. Herstellung von Chloroform- und Ethylacetat-Extrakten

Nach Extraktion des Pflanzenmaterials (Kap. 2.2.1, S. 4) wurden folgende Mengen an Extrakten für die Untersuchungen erhalten:

Tab. 11: Ausbeute der Chloroform-Extrakte WR

	Ausbeute
WR Extraktion 1	737,1 mg
WR Extraktion 2	138,9 mg
WR Extraktion 3	194,8 mg
Total	**1.070,8 mg**

Tab. 12: Ausbeute der Chloroform-Extrakte ZZ

	Ausbeute
ZZ Extraktion 1	333,2 mg
ZZ Extraktion 2	67,0 mg
ZZ Extraktion 3	83,9 mg
Total	**484,1 mg**

Tab. 13: Ausbeute der Ethylacetat-Extrakte WR

	Ausbeute
WR Extraktion 1	102,1 mg
WR Extraktion 2	148,0 mg
WR Extraktion 3	184,9 mg
WR Extraktion 4	248,8 mg
Total	**683,8 mg**

Tab. 14: Ausbeute der Ethylacetat-Extrakte ZZ

	Ausbeute
ZZ Extraktion 1	75,0 mg
ZZ Extraktion 2	132,7 mg
ZZ Extraktion 3	73,3 mg
ZZ Extraktion 4	74,9 mg
Total	**355,9 mg**

3.3.2. DC-Analysen der Extrakte

Die DC-Analyse der Extrakte in DC-System 7 (Tab. 1, S. 5) ergab, dass sich die Wirkstoffmuster zwischen WR und ZZ quantitativ unterschieden, jedoch in ihrer qualitativen Zusammensetzung übereinstimmen (Abb. 14 und Abb. 15, S. 20). Aus diesem Grund und aufgrund der geringen Ausbeuten, wurden alle Chloroform-Extrakte (außer ZZ1) und alle Ethylacetat-Extrakte (EAv) vereinigt.

Im Chloroform-Extrakt ZZ1 konnte man bei Detektion mit NS/PEG unter UV-Licht blau fluoreszierende Banden bei Rf 0,35 und 0,45 erkennen, die scheinbar eine Verunreinigung zeigten, da sie bei keinem der anderen Extrakte auftraten (Abb. 14, S. 20). Daher wurde dieses Extrakt nicht mit den anderen vereinigt.

Das nächste Ziel bestand darin, die beiden Extrakte auf das Vorliegen von weiteren Xanthonen zu untersuchen bzw. zusätzliche Mengen der Substanzen XB, OH-XB und SR1 zu isolieren.

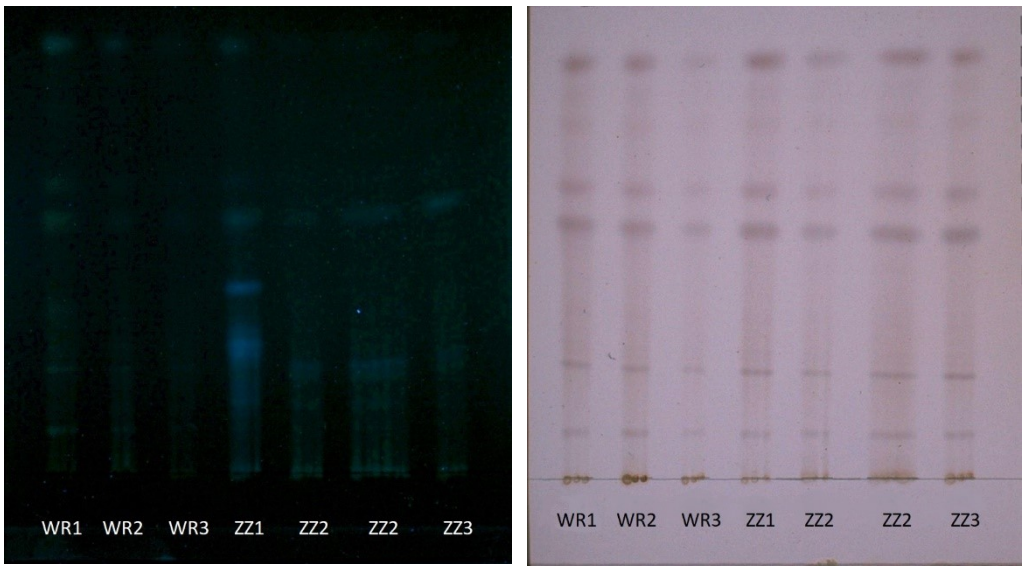


Abb. 14: DC der Chloroform-Extrakte

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (links) und AASS (rechts)

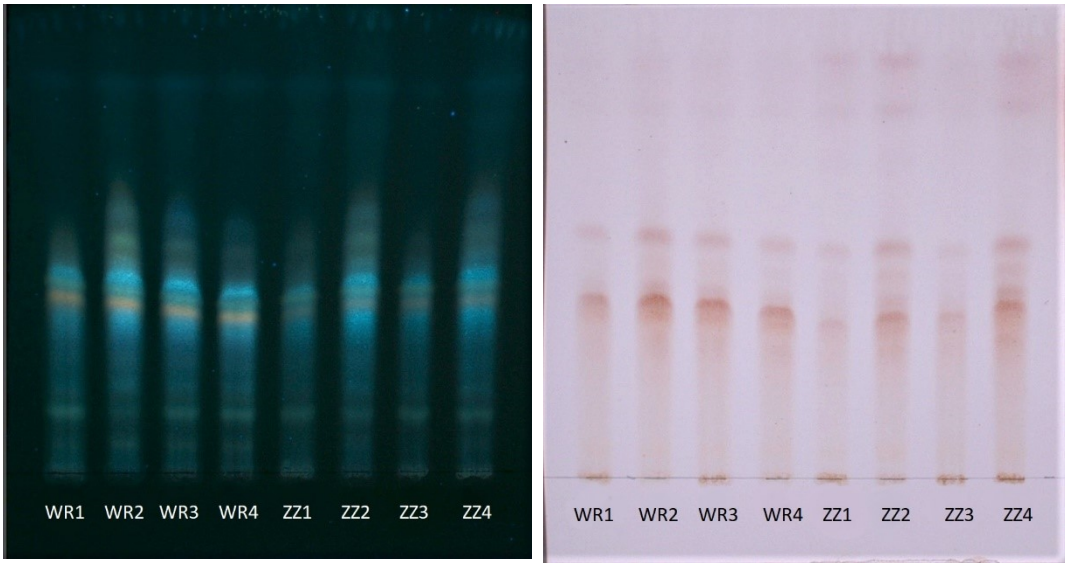


Abb. 15: DC der Ethylacetat-Extrakte

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (links) und AASS (rechts)

3.4. Auftrennung des Ethylacetat-Extraktes

3.4.1. SC2

Um EAv aufzureinigen wurde SC2 durchgeführt (Tab. 3, S. 7). Es wurden dabei 183 Fraktionen zu je 8 ml gesammelt. Jede fünfte Fraktion wurde mittels DC überprüft und aufgrund übereinstimmender Zusammensetzung wurde zu 18 Sammelfraktionen vereinigt (Tab. 15).

Tab. 15: Sammelfraktionen von SC2

Sammel-fraktion (SF)	Fraktionen	Ausbeute
SF1	1	12,62 mg
SF2	2	26,73 mg
SF3	3	16,61 mg
SF4	4	10,03 mg
SF5	5	22,64 mg
SF6	6-7	8,55 mg
SF7	8-16	18,75 mg
SF8	17-20	12,11 mg
SF9	21-25	26,23 mg
SF10	26-33	85,44 mg
SF11	34-42	48,06 mg
SF12	43-48	7,35 mg
SF13	49-89	12,46 mg
SF14	90-97	1,59 mg
SF15	98-180	13,85 mg
SF16	181	93,50 mg
SF17	182	203,90 mg
SF18	183	113,30 mg
	Total	**733,72 mg**

In Abb. 16 und Abb. 17 (S. 23) sind die DC-Analysen der Sammelfraktionen dargestellt. Aufgrund der unterschiedlichen Polarität der Substanzen, musste mit zwei verschiedenen mobilen Phasen gearbeitet werden.

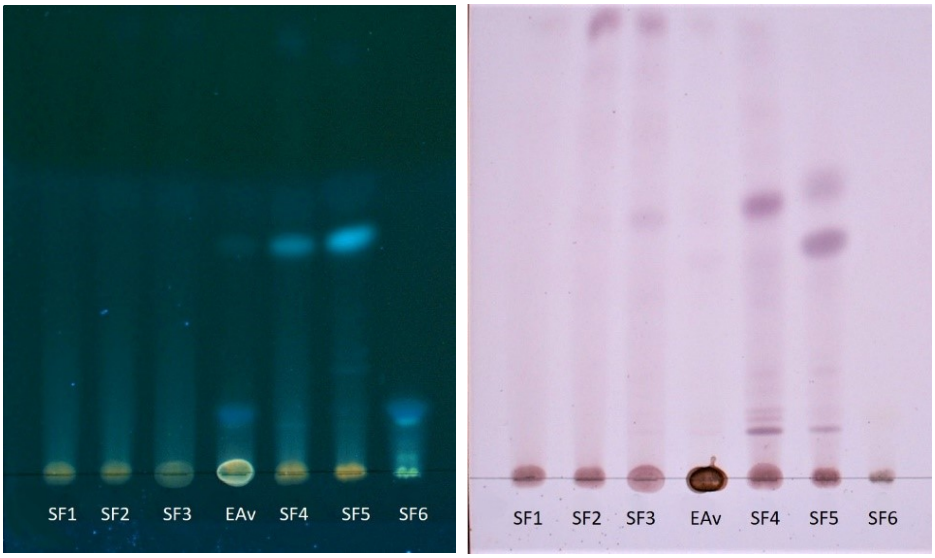


Abb. 16: DC der Sammelfraktionen SF1-6 von SC2

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (links) und AASS (rechts)

Für SF1-5 wurde die apolare mobile Phase DC7 verwendet (Abb. 16). Bei der Detektion mit NS/PEG sind in SF4 und SF5 blau fluoreszierende Banden mit Rf=0,5 zu sehen. In SF1-3 ist unter UV-Licht keine Trennung zu erkennen, jedoch sieht man bei der Detektion mit AASS eine violette Hauptkomponente mit einem Rf von 0,95. In SF4 wurden eine violette Hauptkomponente bei Rf=0,6 sowie mehrere schmale Banden im Bereich Rf=0,1-0,25 detektiert. Diese schmalen Banden sind in SF5 auch zu erkennen, jedoch ist hier die Hauptkomponente eine intensiv violette Bande mit dem gleichen Rf wie die blau fluoreszierende Bande unter UV-Licht.

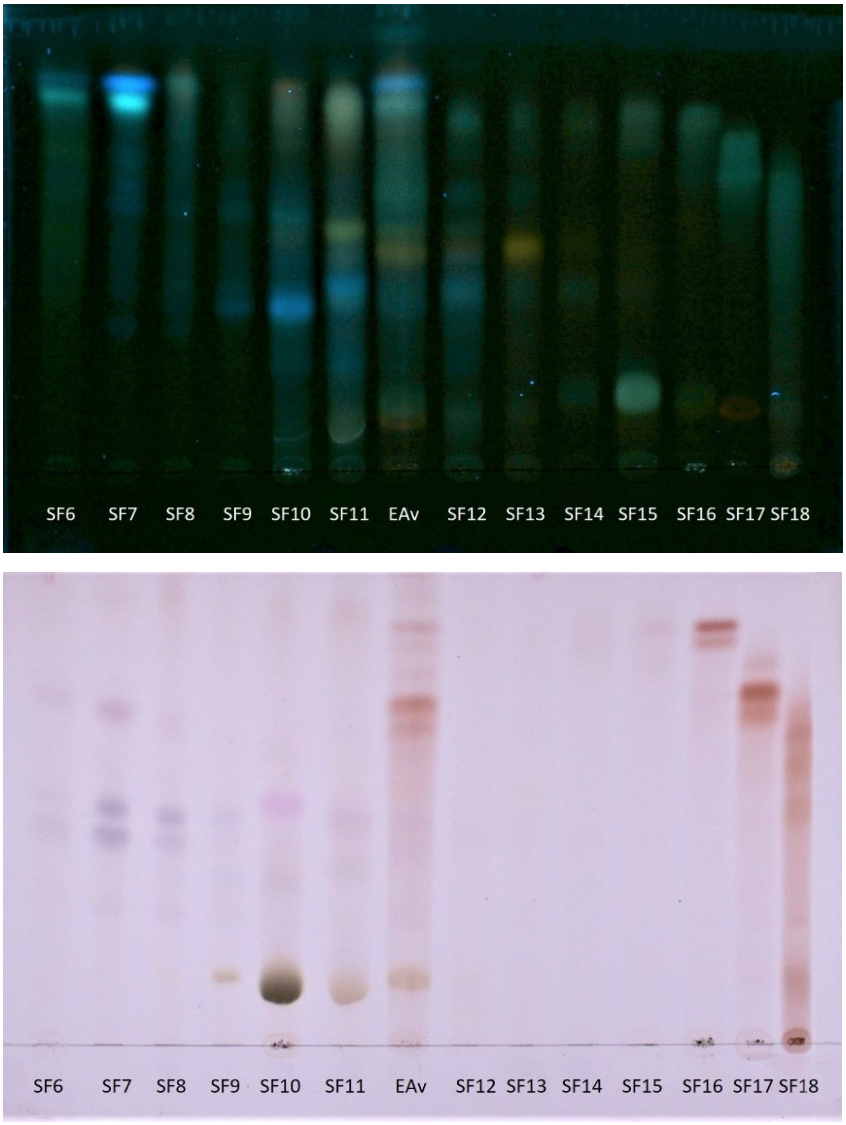


Abb. 17: DC der Sammelfraktionen SF6-18 von SC2

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC2: Ethylacetat : Ameisensäure : Methanol : Wasser (70 : 8 : 4 : 4)
Detektion mit NS/PEG (oben) und AASS (unten)

Für SF6-18 (Abb. 17) kam die mobile Phase DC2 zum Einsatz. Bei der Detektion mit NS/PEG sind in SF6 und SF7 intensiv türkis und blau fluoreszierende Banden mit einem Rf von etwa 0,8 erkennbar. Weiters wurden leicht blau fluoreszierende Banden in SF10 mit Rf=0,3 und in SF11 und SF12 mit Rf=0,4 detektiert. In SF15 ist als Hauptkomponente eine gelb-grüne Komponente mit einem Rf von 0,15 zu sehen, bei welcher es sich eventuell um ein glykosyliertes Xanthon handeln könnte. Bei der Detektion mit AASS ist in SF10 eine dunkelbraune Bande mit Rf=0,1 erkennbar.

3.4.2. DC-Vergleiche mit Tanninen

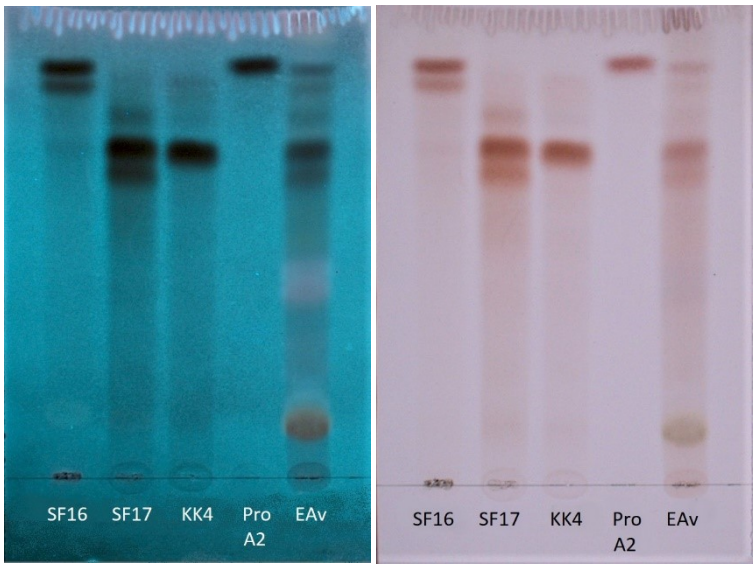


Abb. 18: Vergleich der Sammelfraktionen SF16 und SF17 mit Tanninen

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (links) und AASS (rechts)

SF16 zeigte bei einem Rf-Wert von etwa 0,9 zwei rotbraune Banden und SF17 im Bereich von Rf 0,7-0,8 drei rotbraune Banden, welche eine Ähnlichkeit mit bereits isolierten Tanninen aus *Metaxya rostrata* aufwiesen. Aus diesem Grund wurden ein DC-Vergleich mit der Reinsubstanz Procyanidin A2, sowie mit „KK4“, einer Mischung aus Cinnamtannin B1 und Aesculitannin B (Kainz, 2011) durchgeführt. Es konnte nachgewiesen werden, dass in SF16 Procyanidin A2 und in SF17 die beiden bekannten Tannine als Hauptkomponente enthalten waren (Abb. 18).

3.5. Auftrennung des Chloroform-Extraktes

CFv wurde in zwei Schritten mit Hilfe der FC getrennt. Dabei wurde zuerst die Hälfte des vorhandenen Extraktes verwendet (FC1), um zu testen, ob die gewählten Bedingungen geeignet sind.

3.5.1. FC1

Mittels FC1 (Kap. 2.2.4, S.8) wurde das Extrakt CFv in 196 Fraktionen aufgetrennt. Hierzu wurden zuerst 630 mg des Extraktes in 100 ml Chloroform gelöst und anschließend mit 1100 mg Kieselgel am Rotavapor zum Dry Load eingedampft.

Durch DC-Analysen jeder fünften Fraktion und Vereinigung aufgrund der Zusammensetzung wurden 24 Sammelfraktionen erhalten. Die Konzentrationen der mobilen Phasen und Zeitverläufe der ersten Trennung mittels FC, sowie die Mengen der erhaltenen Sammelfraktionen sind in den folgenden Tabellen dargestellt:

Tab. 16: FC1 Elutionszeiten und Zusammensetzung der mobilen Phase

Zeit (min)	Chloroform + Methanol + Wasser
0-35	90 + 3,5 + 0,2
35-45	85 + 8 + 0,5
45-55	80 + 10 + 1
55-65	75 + 15 + 1,5
65-75	70 + 22 + 3,5
75-100	60 + 30 + 6

Tab. 17: Sammelfraktionen von FC1

SF	Fraktionen	Ausbeute
SF1	1-9	16,97 mg
SF2	10-15	19,06 mg
SF3	16-17	11,44 mg
SF4	18-22	22,06 mg
SF5	23-33	69,41 mg
SF6	34-38	21,82 mg
SF7	39-43	21,24 mg

SF8	44-52	20,92 mg
SF9	53-57	11,81 mg
SF10	58-68	26,10 mg
SF11	69-83	20,73 mg
SF12	84-89	7,79 mg
SF13	90-100	15,09 mg
SF14	101-112	12,59 mg
SF15	113-118	10,06 mg
SF16	119-132	26,55 mg
SF17	133-146	11,96 mg
SF18	147-152	10,24 mg
SF19	153-162	20,69 mg
SF20	163-171	10,23 mg
SF21	172-187	21,77 mg
SF22	188-196	7,7 mg
SF23	Nachlauf 1	28,18 mg
SF24	Nachlauf 2	11,90 mg
	Total	**456,31 mg**

3.5.2. FC2

Mittels FC2 (Kap. 2.2.4, S.8) wurde das Extrakt CFv in 241 Fraktionen aufgetrennt. Für die Herstellung des Dry Loads wurde eine zweite Portion von 630 mg Extrakt in 100 ml Chloroform gelöst und anschließend mit 1100 mg Kieselgel am Rotavapor eingedampft. Durch DC-Analysen jeder fünften Fraktion und Vereinigung aufgrund der Zusammensetzung wurden 21 Sammelfraktionen erhalten.

Die Konzentrationen der mobilen Phasen, Zeitverläufe und genauen Flussraten der zweiten Trennung mittels FC, sowie die Mengen der Sammelfraktionen sind in den folgenden beiden Tabellen dargestellt:

Tab. 18: FC2 Elutionszeiten und Zusammensetzung der mobilen Phase

Zeit (min)	Chloroform + Methanol + Wasser	Fluss (ml/min)
0-100	90 + 3,5 + 0,2	3
100-105	90 + 3,5 + 0,2	5
105-110	90 + 3,5 + 0,2	7
110-125	90 + 3,5 + 0,2	8
125-140	90 + 3,5 + 0,2	9
140-150	85 + 8 + 0,5	9
150-160	80 + 10 + 1,0	9
160-170	75 + 15 + 1,5	9
170-180	70 + 22 + 3,5	9
180-210	60 + 30 + 6	9

Tab. 19: Sammelfraktionen FC2

SF	Fraktionen	Ausbeute
SF1	1-27	32,02 mg
SF2	28-38	73,05 mg
SF3	39-52	28,48 mg
SF4	53-63	28,05 mg
SF5	64-72	13,20 mg
SF6	73-88	27,54 mg
SF7	89-98	14,00 mg
SF8	99-107	14,22 mg
SF9	108-113	12,72 mg
SF10	114-132	31,40 mg
SF11	133-147	21,66 mg
SF12	148-157	7,16 mg
SF13	158-191	8,46 mg
SF14	192-202	8,57 mg

SF15	203-212	10,07 mg
SF16	213-217	5,65 mg
SF17	218-227	12,92 mg
SF18	228-234	6,91 mg
SF19	235-241	7,54 mg
SF20	Nachlauf 1	2,50 mg
SF21	Nachlauf 2	1,5 mg
	Total	**367,62 mg**

3.5.3. Vereinigung der Sammelfraktionen von FC1 und FC2

Die Sammelfraktionen der FC1 und FC2 wurden mittels DC verglichen und aufgrund ihrer Zusammensetzung zu 15 Sammelfraktionen vereinigt (Tab. 20 und Abb. 19, S. 29).

Tab. 20: Sammelfraktionen FSF aus FC1 und FC2

SF	Fraktionen aus FC1 und FC2	Ausbeute
FSF1	1/FC2, 2/FC2	107,63 mg
FSF2	1/FC1, 2/FC1	35,65 mg
FSF3	3/FC1, 3/FC2, 4/FC1, 4/FC2	99,15 mg
FSF4	5/FC1, 5/FC2, 6/FC1, 6/FC2, 7/FC1	169,83 mg
FSF5	7/FC2, 8/FC1, 8/FC2, 9/FC1	65,31 mg
FSF6	9/FC2, 10/FC1, 10/FC2, 11/FC1	98,81 mg
FSF7	12/FC1, 13/FC1	20,32 mg
FSF8	14/FC1	12,07 mg
FSF9	11/FC2, 15/FC1	32,61 mg
FSF10	12/FC2, 16/FC1	32,85 mg
FSF11	13/FC2, 14/FC2, 17/FC1, 15/FC2	38,02 mg
FSF12	18/FC1, 19/FC1, 16/FC2, 17/FC2	47,34 mg
FSF13	20/FC1, 21/FC1	29,12 mg
FSF14	18/FC2, 22/FC1, 19/FC2	21,00 mg
FSF15	Nachläufe	22,77 mg
	Total	**832,48 mg**

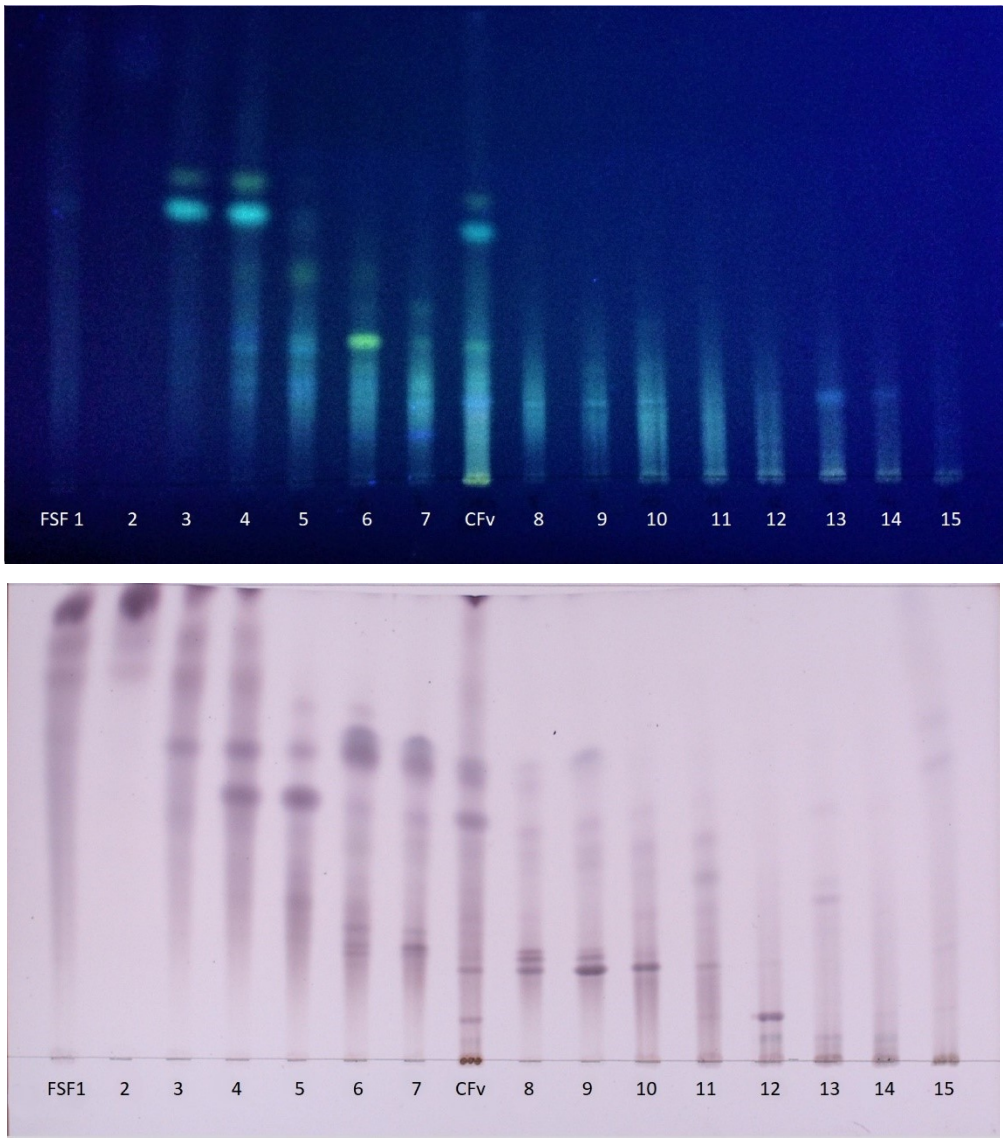


Abb. 19: DC der Sammelfraktionen FSF

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F254 Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (oben) und AASS (unten)

Bei der DC-Analyse der Sammelfraktionen konnte mittels Detektion mit NS/PEG eine gelb fluoreszierende Bande in FSF6 detektiert werden (Abb. 19), welche einen Rf-Wert von etwa 0,35 aufwies. Außerdem konnten eine intensiv blau fluoreszierende Bande mit Rf=0,6 in FSF3 und FSF4 und eine weitere gelb-grünlich fluoreszierende Zone mit etwas höherem Rf-Wert nachgewiesen werden.

3.5.4. DC-Vergleiche mit Xanthonen

Schon bei der Vereinigung der Sammelfraktionen von FC2 wurde ein DC-Vergleich mit den Xanthonen XB, OH-XB, SR1 sowie mit einem neuen Xanthon „EM“ (Mittermair, in Vorbereitung) durchgeführt (siehe Abb. 20). Es stellte sich heraus, dass in den Fraktionen SF9 und SF10 der FC2 das Xanthongemisch SR1 enthalten war (Kap. 3.2.3, S. 15).

Nach der Vereinigung der Sammelfraktionen von FC1 und FC2 war SR1 in Fraktion FSF6 (98 mg) angereichert (Abb. 21, S.31). In weiterer Folge sollte diese Fraktion aufgereinigt werden, um die Ausbeute an SR1 für die Reindarstellung der Einzelkomponenten zu erhöhen.

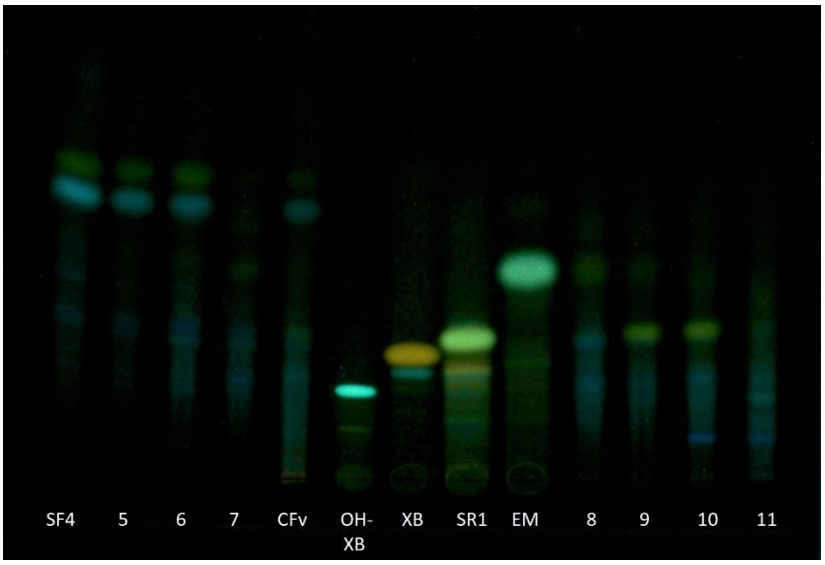


Abb. 20: Vergleich der Sammelfraktionen von FC2 mit Xanthonen

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG

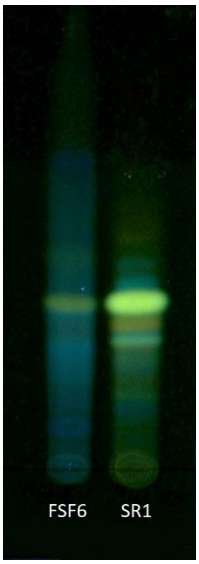


Abb. 21: Vergleich von Sammelfraktion FSF6 mit SR1

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG

3.5.5. DC-Vergleiche mit Kaffeesäure und Betulinsäure

Bei der DC-Analyse von Extrakt CFv wurde eine Hauptkomponente mit ähnlicher Färbung und Rf-Wert wie Betulinsäure detektiert. Nach Besprühen mit NS/PEG war außerdem eine blau fluoreszierende Bande im Rf-Bereich von Kaffeesäure sichtbar. Daher wurde ein DC-Vergleich mit den beiden authentischen Vergleichssubstanzen durchgeführt (Abb. 22, S. 32). Es konnte gezeigt werden, dass die blau fluoreszierende Zone nicht der Kaffeesäure entsprach. Der Rf-Wert und die Färbung nach Besprühen mit AASS deuteten bei einer Hauptkomponente auf Betulinsäure. Diese Komponente war nach der FC in FSF5 angereichert.

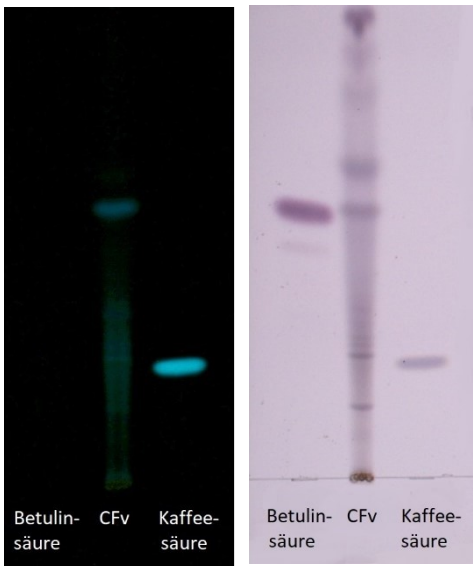


Abb. 22: Vergleich von CFv mit Betulinsäure und Kaffeesäure

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (links) und AASS (rechts)

Bei einem weiteren DC-Vergleich von FSF5 mit Betulinsäure konnte jedoch gezeigt werden, dass es sich bei der Bande mit einem Rf-Wert von etwa 0,6, nicht um diese Substanz handelt (Abb. 23).

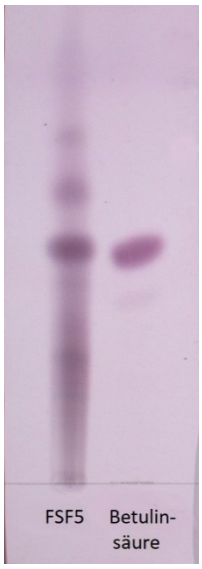


Abb. 23: Vergleich von Sammelfraktion FSF5 mit Betulinsäure

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase Links: DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit AASS

3.6. SC3

Da gezeigt worden war, dass FSF6 das Substanzgemisch SR1 enthielt (Abb. 21, S. 31) wurde diese Fraktion weiter aufgetrennt, um SR1 in größerer Menge zu isolieren. Dazu wurde eine weitere SC durchgeführt (Tab. 4, S. 8). Es wurden 535 Fraktionen gesammelt, jede fünfte Fraktion mittels DC kontrolliert und die Fraktionen aufgrund ihrer Zusammensetzung vereinigt. Es entstanden 11 Sammelfraktionen (Tab. 21 und Abb. 24, S. 34).

Tab. 21: Sammelfraktionen SC3

Sammelfraktion	Fraktionen	Ausbeute
6/SF1	1-14	1,28 mg
6/SF2	15-49	32,94 mg
6/SF3	50-85	9,32 mg
6/SF4	86-169	4,36 mg
6/SF5	170-209	2,57 mg
6/SF6	210-242	4,38 mg
6/SF7	243-260	1,07 mg
6/SF8	261-300	2,68 mg
6/SF9	301-350	2,23 mg
6/SF10	351-535	8,20 mg
6/SF11	Nachlauf	0,28 mg
	Total	**69,31 mg**

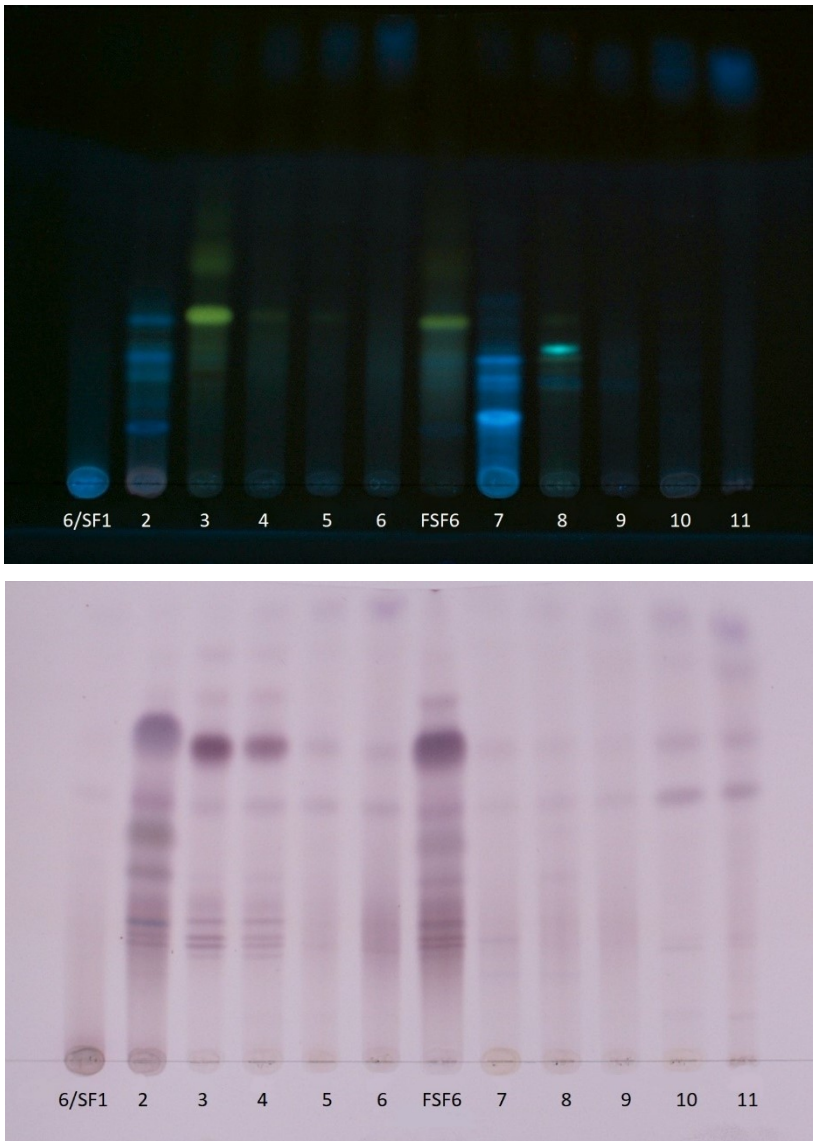


Abb. 24: Sammelfraktionen von SC3

Stationäre Phase: Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatte
Mobile Phase DC7: Toluol : Ethylformiat : Ameisensäure (10 : 4 : 1)
Detektion mit NS/PEG (oben) und AASS (unten)

Substanz SR1 war nach dem Vereinigen in Sammelfraktion 6/SF3 (9,32 mg) enthalten (Tab. 21, S. 33 und Abb. 24). Allerdings enthielt diese Fraktion eine Reihe weiterer Komponenten, insbesondere eine violett gefärbte Hauptkomponente mit Rf = 0,7. Aufgrund der zu erwartenden sehr geringen Ausbeute an SR1 schien die weitere Aufreinigung dieser Fraktion nicht zielführend.

4. Diskussion

Metaxya rostrata ist ein Baumfarn, aus dem schon mehrere zytotoxisch aktive Substanzen isoliert worden waren – darunter die beiden Xanthone XB und OH-XB. Im Zuge dieser Diplomarbeit sollten weitere Xanthone aus dem Rhizom dieser Pflanze isoliert werden.

Bei der DC-Untersuchung von Fraktionen aus vorangegangenen Arbeiten zu diesem Thema wurde eine gelb fluoreszierende Bande detektiert, welche keine Übereinstimmung mit bereits isolierten Xanthonen zeigte. Nach Ausschluss des Vorliegens eines Flavonoids wurde eine LC-MS-Analyse durchgeführt und die Masse der Substanz bestimmt. Durch Aufreinigung mittels SC1 wurde die Substanz soweit angereichert, um die Struktur durch NMR-Analyse aufzuklären. Es handelt sich um ein Gemisch zweier methylierter Xanthone, welches als SR1 bezeichnet wurde. Diese beiden Substanzen stellen neue Naturstoffe dar, und das Gemisch soll im Zuge einer Dissertation (Mittermair, in Vorbereitung) auf ihre Zytotoxizität untersucht werden.

Als nächster Schritt wurden Chloroform- und Ethylacetat-Extrakte von WR sowie ZZ des Rhizoms hergestellt. In DC-Analysen stellte sich heraus, dass es qualitativ nur geringe Unterschiede in der Zusammensetzung gab, weshalb alle Chloroform-Extrakte und alle Ethylacetat-Extrakte vereinigt wurden, um aus einer größeren Extraktmenge Xanthone zu isolieren.

Extrakt EAv wurde mittels SC2 weiter aufgetrennt. Nach DC-Analyse konnten die Tannine Proanthocyanidin A2, Cinnamtannin B1 und Aesculitannin B identifiziert werden. Weiters wurden gelb-grün fluoreszierende Banden detektiert, welche glykosylierte Xanthone sein könnten. Dies könnte im Zuge einer nachfolgenden Arbeit weiter untersucht werden, war aber im Rahmen dieser Diplomarbeit aus Zeitgründen nicht mehr möglich.

Extrakt CFv wurde in zwei Schritten mittels FC zu 15 Sammelfraktionen aufgetrennt. Die Vermutung, dass Kaffeesäure und Betulinsäure in den Fraktionen FSF3-5 enthalten sein könnte, wurde mittels DC-Analysen widerlegt. In Sammelfraktion FSF6 konnte durch DC-Vergleich das Substanzgemisch SR1 identifiziert werden. Diese Fraktion wurde durch SC3 weiter aufgetrennt, jedoch

war es dadurch nicht möglich, SR1 in Fraktion 6/SF3 ausreichend aufzureinigen. Aufgrund der geringen Menge von Fraktion 6/SF3 und der weiteren Neben- sowie Hauptkomponenten, die mittels DC detektiert wurden, schien eine weitere Bearbeitung dieser Fraktion nicht sinnvoll.

5. Zusammenfassung

Diese Diplomarbeit beschäftigte sich mit der Isolierung neuer Xanthone aus *Metaxya rostrata* (C. Presl). Da diese Pflanze in Costa Rica ethnomedizinisch bei gastrointestinalen Beschwerden verwendet wird, waren in phytochemischen Analysen zytotoxische Komponenten, wie die Xanthone 2-Deprenyl-rheediaxanthon B und 2-Deprenyl-7-hydroxy-rheediaxanthon B, isoliert und an Dickdarmkrebszellen getestet worden.

Bei der DC-Untersuchung von Fraktionen aus vorangegangenen Arbeiten, wurde eine gelb fluoreszierende Bande detektiert, die auf das Vorliegen eines unbekannten Xanthons deutete. Nach Anreicherung mittels Säulen-chromatographie zeigten Massenspektrometrie- und NMR-Analysen, dass es sich um ein Gemisch aus zwei Derivaten von 2-Deprenyl-7-hydroxy-rheediaxanthon B handelte (SR1), nämlich um 2-Deprenyl-6-O-methyl-7-hydroxy-rheediaxanthon B und 2-Deprenyl-7-methoxy-rheediaxanthon B.

Zur Isolierung weiterer Xanthone bzw. Nachisolierung bereits bekannter Vertreter dieser Stoffgruppe wurden Chloroform- und Ethylacetat-Extrakte hergestellt. Zuerst wurde die Wurzelrinde und der Zentralzylinder des Rhizoms getrennt, um deren Zusammensetzung zu analysieren. Die dünnschichtchromatographische Untersuchung zeigte jedoch qualitativ keine Unterschiede, weshalb alle Chloroform-Extrakte sowie auch alle Ethylacetat-Extrakte vereinigt wurden.

Zur Auftrennung des Ethylacetat-Extraktes wurde die Säulenchromatographie verwendet. In den Sammelfraktionen SF16 und SF17 konnten die Tannine Procyanidin A2, Cinnamtannin B1 und Aesculitannin B identifiziert werden.

Das Chloroform-Extrakt wurde in zwei Schritten mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgetrennt. In der Sammelfraktion FSF6 befand sich nach dünnschichtchromatographischer Analyse eine gelb fluoreszierende Bande, welche als SR1 identifiziert wurde. Zur Aufreinigung von FSF6 wurde eine weitere Säulenchromatographie durchgeführt, jedoch konnte SR1 dadurch nicht vollständig aufgereinigt werden.

6. Abstract

The aim of this diploma thesis was to isolate new xanthones from *Metaxya rostrata* (C. Presl). Since this plant is used in Costa Rican ethnomedicine against gastrointestinal complaints, cytotoxic components had been isolated in a phyto-chemical examination, including the two xanthones 2-deprenyl-rheediaxanthone B and 2-deprenyl-7-hydroxy-rheediaxanthone B, which have been tested on colorectal cancer cell lines.

During the investigation of fractions from previous work, a yellow fluorescent compound was detected by TLC, which indicated the presence of an unknown xanthone. After enrichment by column chromatography, mass spectrometric and NMR spectroscopic analyzes confirmed a mixture of two derivatives of 2-deprenyl-7-hydroxy-rheediaxanthone B (SR1), namely 2-deprenyl-6-O-methyl-7-hydroxy-rheediaxanthone B und 2-deprenyl-7-methoxy-rheediaxanthone B.

To isolate further xanthones, chloroform and ethyl acetate extracts were prepared. For this purpose, the bark and wood of the dried rhizome were separated to analyze their composition. TLC-examination showed no qualitative differences and thus, all chloroform extracts and all ethylacetate extracts were combined.

For purification of the ethylacetate extract, column chromatography was performed. In fraction SF16 and SF17 the tannins procyanidin A2, cinnamtannin B1 and aesculitannin B were identified.

The chloroform extract was separated in two steps by flash chromatography. By TLC a yellow fluorescent substance was detected in fraction FSF6, which was identified as the mixture SR1. Further column chromatography of this fraction did not result in complete purification of compound SR1.

7. Literaturverzeichnis

Globocan (2018) http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/10_8_9-Colorectum-fact-sheet.pdf (abgerufen am: 14.09.2018)

Kainz K. P. (2011) Phytochemical investigation and bioactivity-guided isolation of cytotoxic compounds from *Metaxya rostrata*. Dissertation, Univ. Wien.

Kainz K. P., Krenn L., Erdem Z., Kählig H., Zehl M., Bursch W., Berger W., Marian B. (2013) 2-Deprenyl-Rheediaxanthone B isolated from *Metaxya rostrata* induced active cell death in colorectal tumor cells. *PLoS One* 8(9). e65745.

Kainz K. P., Zehl M., Bleier J., Merkinger B., Pemmer T., Schmidt N., Winkler J., Kählig H., Krenn L. (2014) New compounds from the tree fern *Metaxya rostrata* C. Presl. *Rec. Nat. Prod.* 8, 348-353.

Mittermair E. Xanthones from *Metaxya rostrata* as promising new lead compounds for cancer therapy. Dissertation, Univ. Wien, in Vorbereitung.

Newman D.J., Cragg G.M. (2016) Natural products as sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.* 79 (3), 629-661.

Reder C. (2017) Untersuchung von Saponinen aus *Solanum gilo* Raddi. Diplomarbeit, Univ. Wien.

Virtbauer J. (2007) Bioassay-guided chemische Untersuchungen von tropischen Arzneipflanzen. Dissertation, Univ. Wien.

Virtbauer J., Krenn L., Kählig H., Hüfner A., Donath O., Marian B. (2008) Chemical and pharmacological investigations of *Metaxya rostrata*. *Z. Naturforsch.* 63c, 469-475.

Wagner H., Bladt S., Zgainski E. M. (1983) Drogenanalyse, Dünnschichtchromatographische Analyse von Arzneidrogen. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Anhang

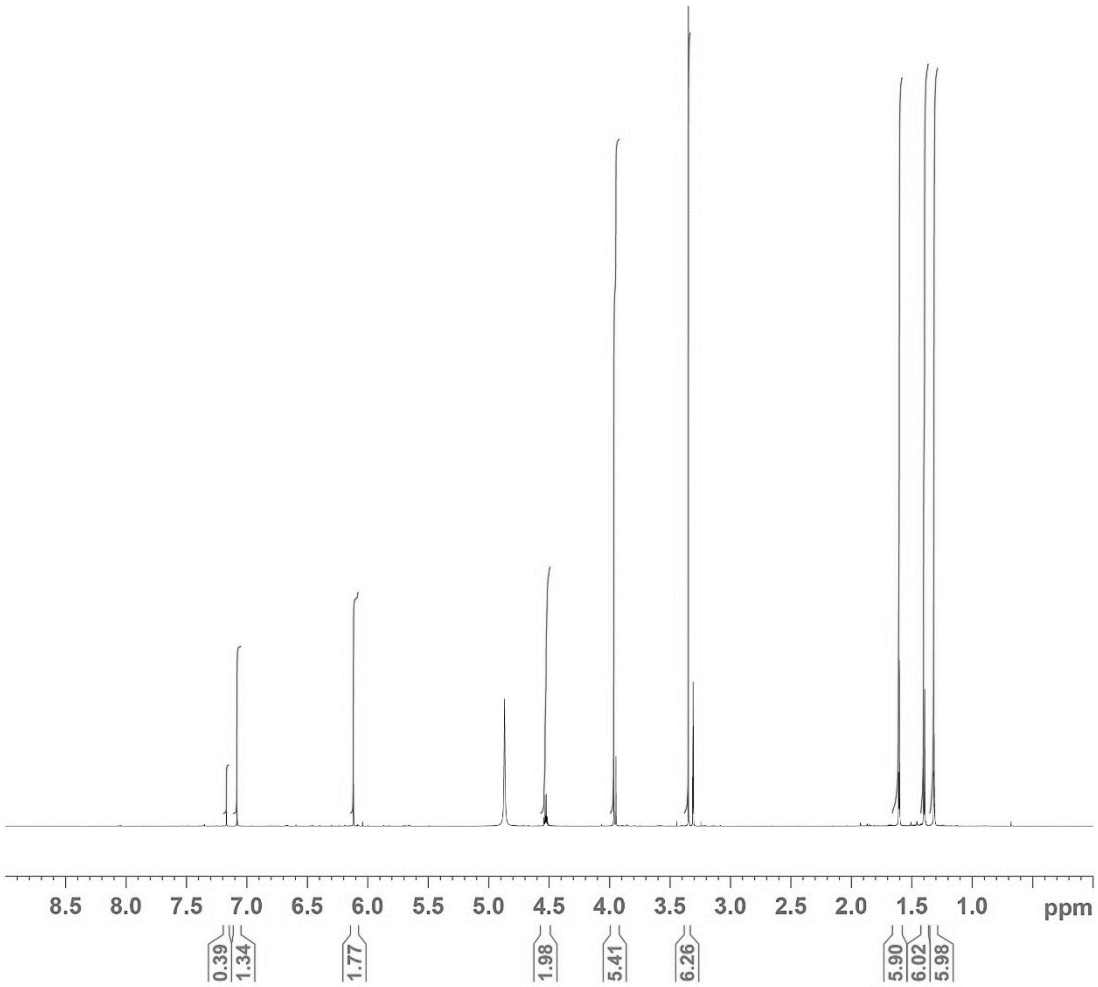


Abb. Anhang 1: ^{1}H-NMR von SR1 in MeOH-d_4

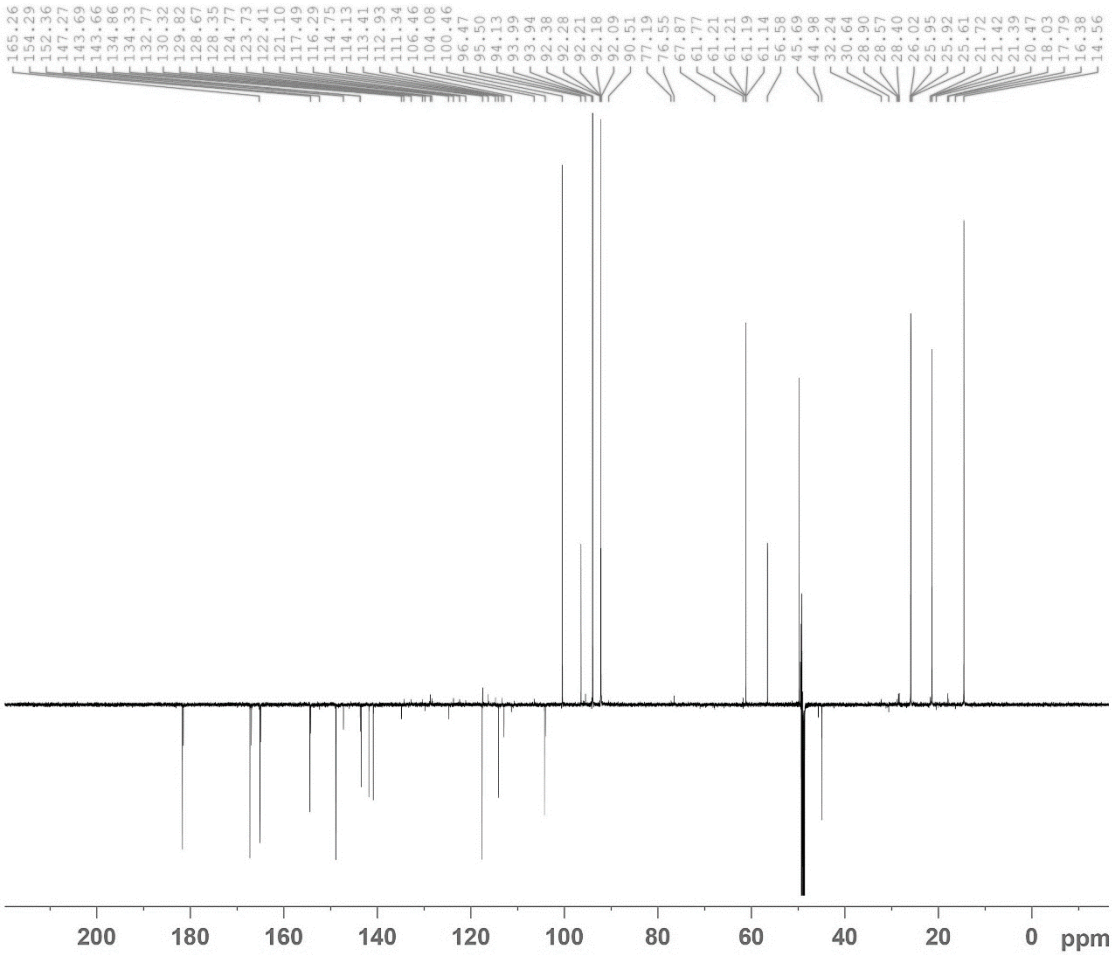


Abb. Anhang 2: ^{13}C-NMR von SR1 in MeOH-d_4

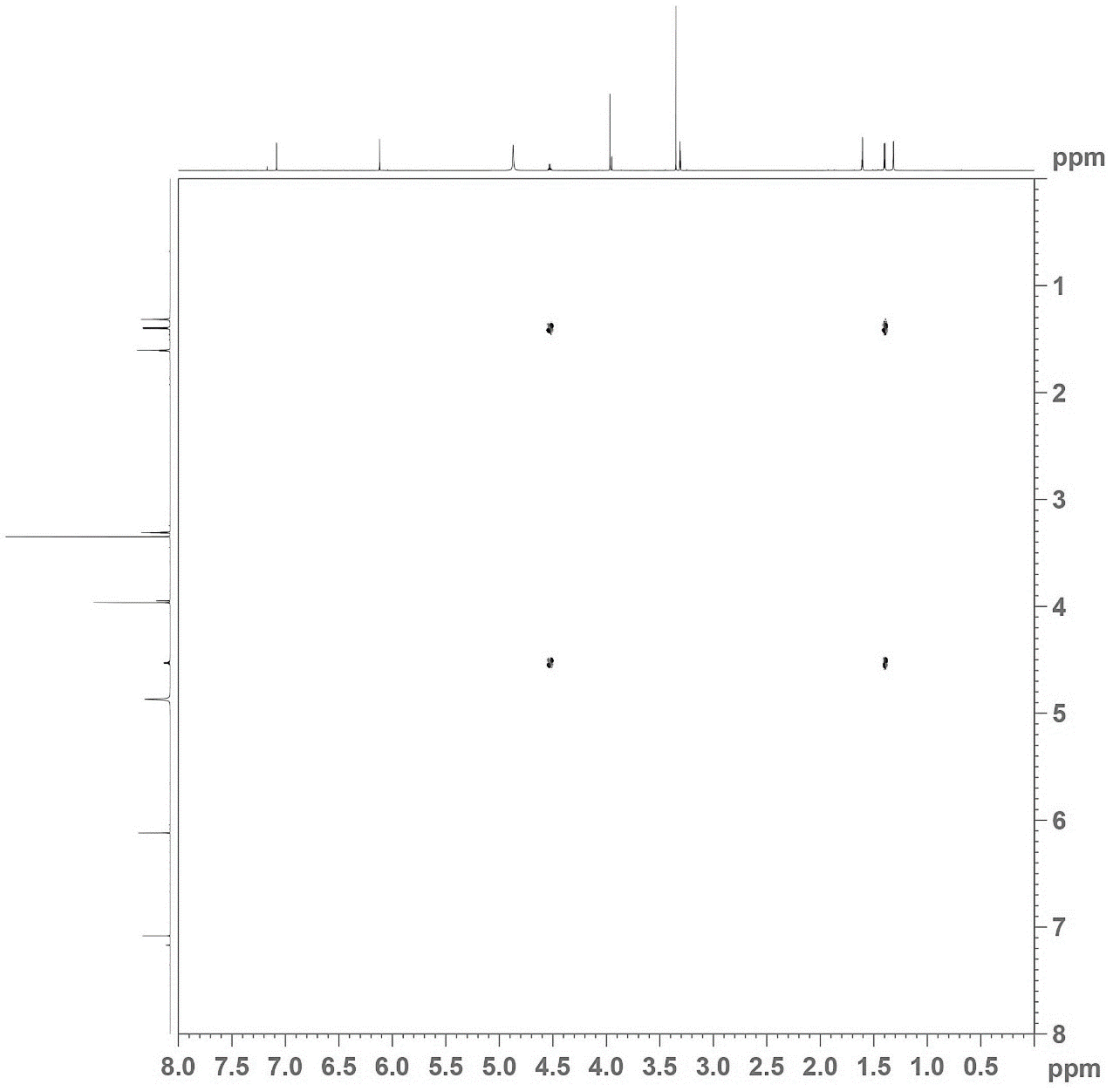


Abb. Anhang 3: COSY-Spektrum von SR1 in MeOH-d_4

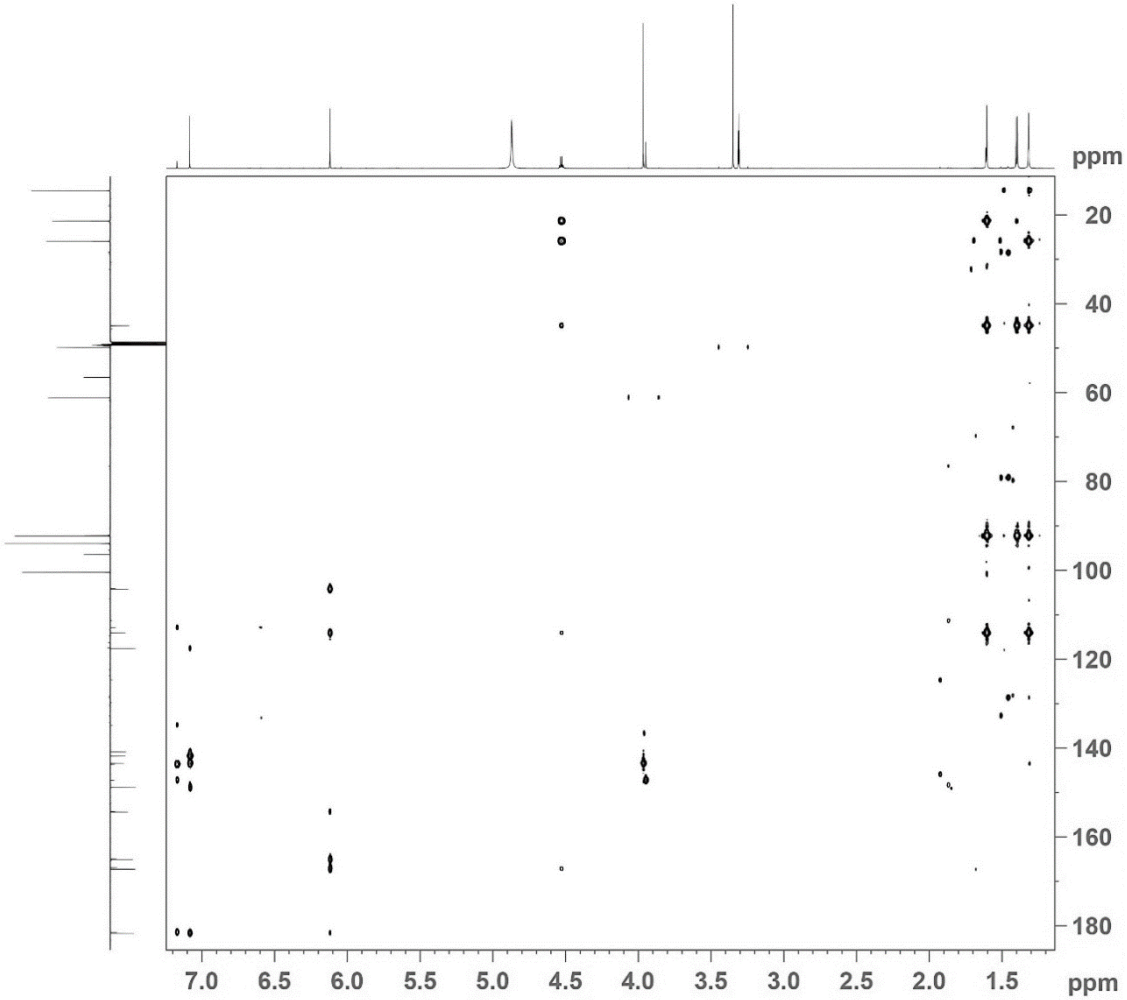


Abb. Anhang 4: HMBC-Spektrum von SR1 in MeOH-d_4

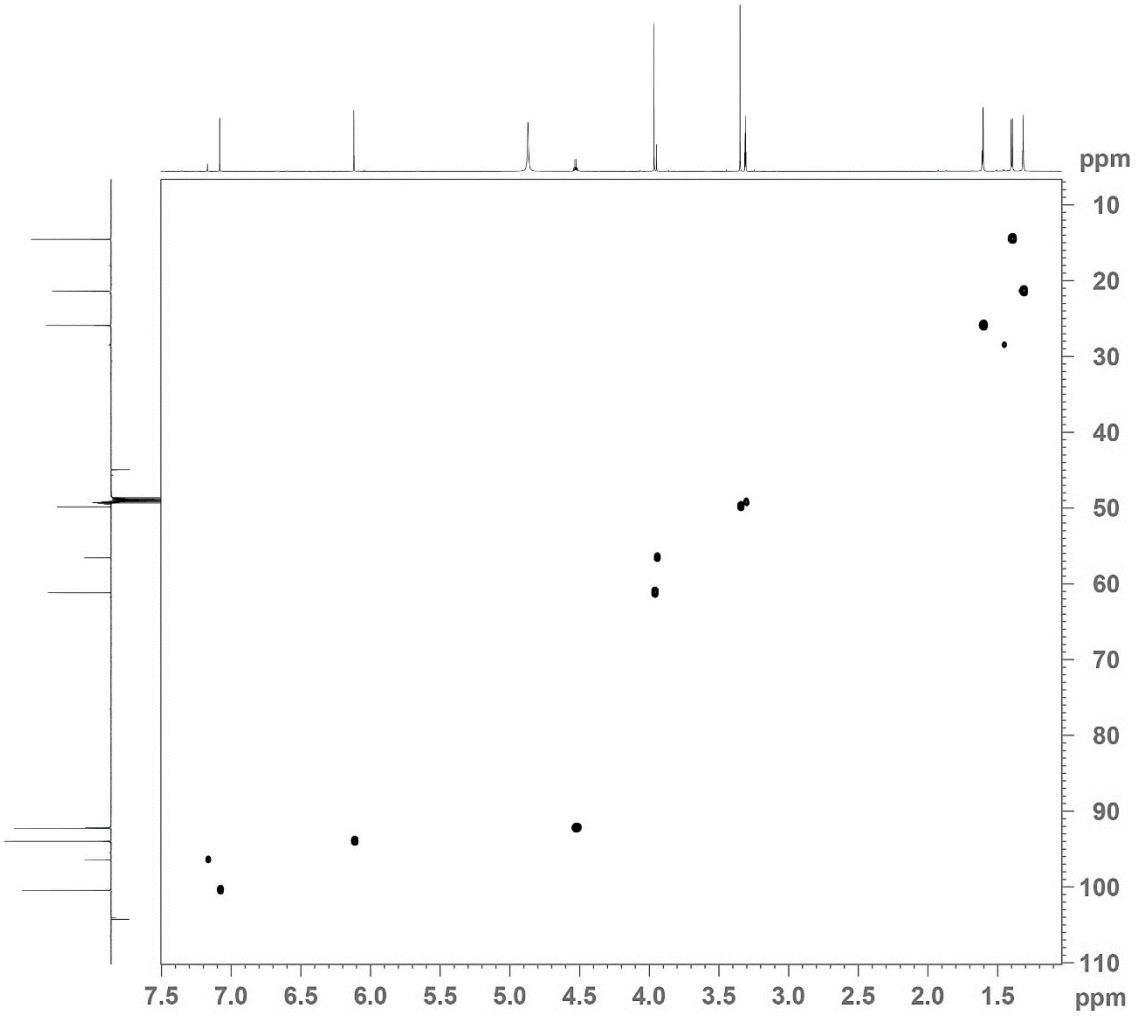


Abb. Anhang 5: HSQC-Spektrum von SR1 in MeOH-d_4

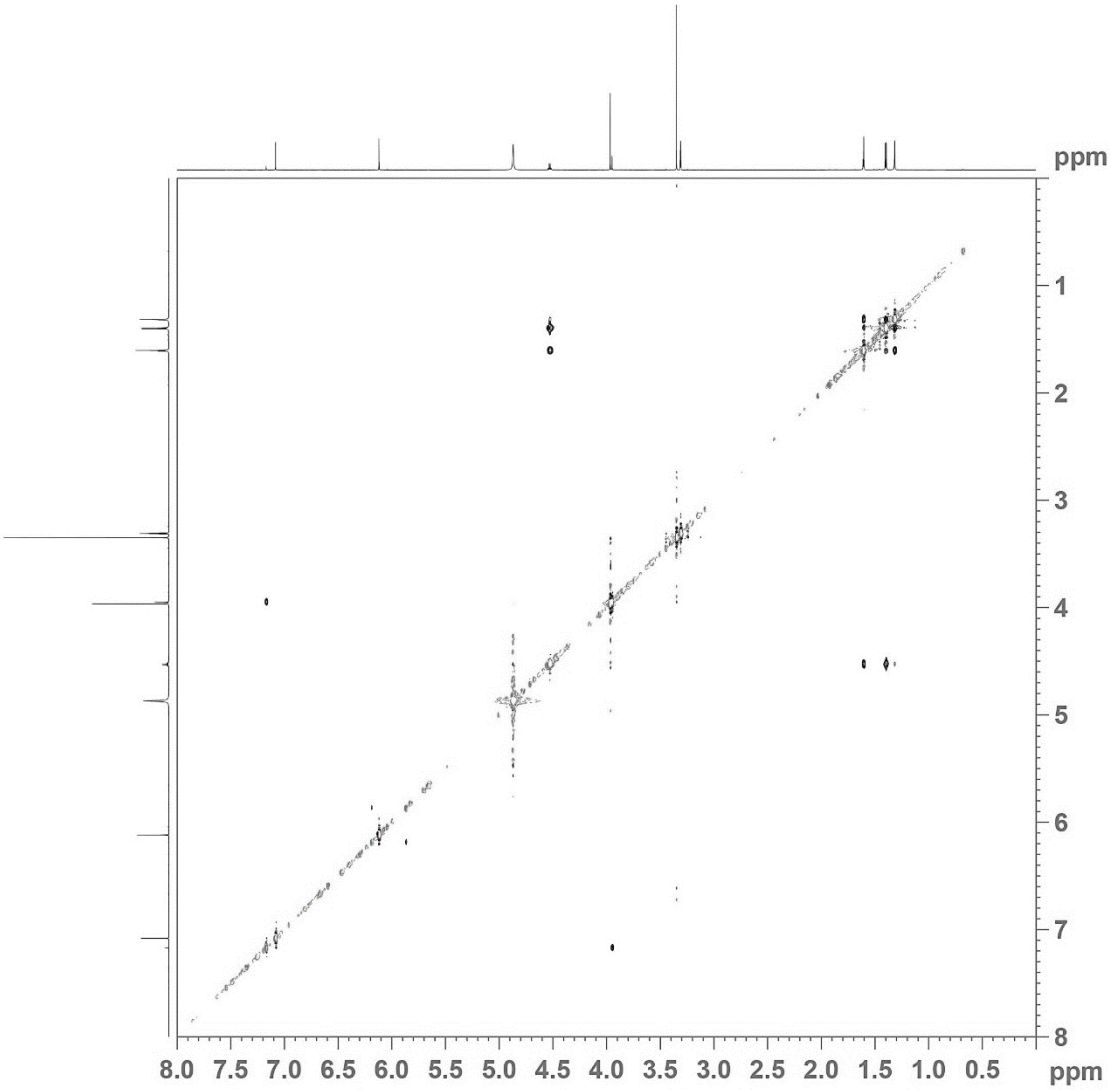


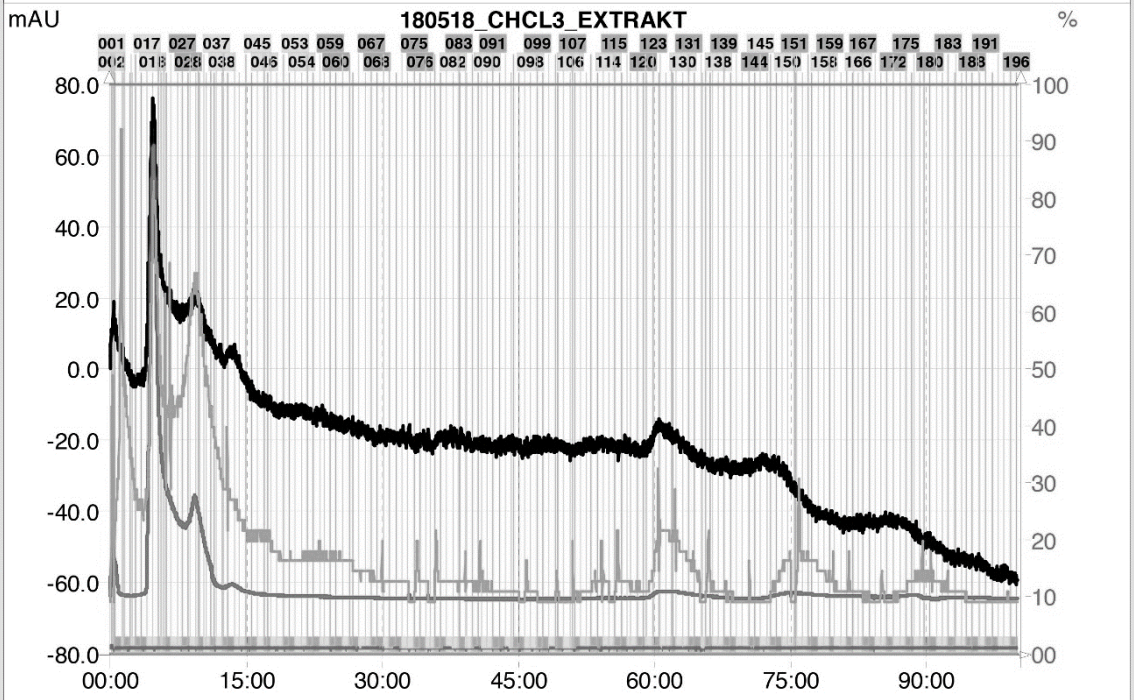
Abb. Anhang 6: NOESY-Spektrum von SR1 in MeoH-d_4

Data Time : 5/18/2018 12:35:40 PM

180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash

Printing Time : 5/18/2018 3:19:55 PM

Title : 180518_CHCL3_EXTRAKT	Author : EM
Sample : 180518_CHCL3_EXTRAKT	Column : - 1.0 g (10 bar)
Solvent A :	Solvent C : Hexane
Solvent B : Chloroform/MeOH/H20	Solvent D :
Channel 1 : UV600:SIG1 ==> 205 nm	Channel 2 : UV600:SCAN ==> 200-600
Channel 3 : ELSD ==> 35°-1	
Equil+Inject Mode : Equil. (Simple) + Valve Inj. + Wait	Stop Mode : Pause
RUN Time : 5/18/2018 12:25:22 PM	



Peak Tracking

22 mL				22 mL				22 mL				22 mL				22 mL			
132	111	110	089	088	067	066	045	044	023	022	001								
131	112	109	090	087	068	065	046	043	024	021	002					177	176	155	154	133
130	113	108	091	086	069	064	047	042	025	020	003					178	175	156	153	134
129	114	107	092	085	070	063	048	041	026	019	004					196	179	174	157	152	135
128	115	106	093	084	071	062	049	040	027	018	005					195	180	173	158	151	136
127	116	105	094	083	072	061	050	039	028	017	006					194	181	172	159	150	137
126	117	104	095	082	073	060	051	038	029	016	007					193	182	171	160	149	138
125	118	103	096	081	074	059	052	037	030	015	008					192	183	170	161	148	139
124	119	102	097	080	075	058	053	036	031	014	009					191	184	169	162	147	140
123	120	101	098	079	076	057	054	035	032	013	010					190	185	168	163	146	141
122	121	100	099	078	077	056	055	034	033	012	011					189	186	167	164	145	142
																188	187	166	165	144	143

<< RackSet #1 >> << RackSet #2 >>

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 1/5

Abb. Anhang 7: FC1 Daten Teil 1/3

Data Time : 5/18/2018 12:35:40 PM

180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash

Printing Time : 5/18/2018 3:19:56 PM

Collection Table

Rack	Tubes	Fraction	Peak	RSet	Coll.	Volume	Area	%Area	Start Time	End Time
1	1	001	001	1	1	0.9	0.2	0.0 %	00:00:06	00:00:10
1	2	002	002	1	1	0.3	0.1	0.0 %	00:00:10	00:00:11
1	3	003	003	1	1	0.5	0.1	0.0 %	00:00:11	00:00:13
1	4	004	004	1	1	0.2	0.1	0.0 %	00:00:13	00:00:14
1	5	005	005	1	1	1.6	0.4	0.0 %	00:00:14	00:00:19
1	6	006	006	1	1	1.2	0.5	0.0 %	00:00:19	00:00:24
1	7	007	007	1	1	2.0	0.6	0.0 %	00:00:24	00:00:32
1	8	008	008	1	1	10.1	1.8	0.0 %	00:00:32	00:01:12
1	9	009	009	1	1	2.2	0.2	0.0 %	00:01:12	00:01:21
1	10	010	010	1	1	2.5	0.2	0.0 %	00:01:21	00:01:31
1	11	011	011	1	1	8.8	0.1	0.0 %	00:01:31	00:02:06
1	12	012	012	1	1	2.3	-0.1	0.0 %	00:02:06	00:02:15
1	13	013	013	1	1	2.3	-0.2	0.0 %	00:02:15	00:02:24
1	14	014	014	1	1	4.8	-0.4	0.0 %	00:02:24	00:02:43
1	15	015	015	1	1	10.0	-0.7	0.0 %	00:02:43	00:03:23
1	16	016	016	1	1	8.9	-0.2	0.0 %	00:03:23	00:03:59
1	17	017	017	1	1	10.1	9.7	0.0 %	00:03:59	00:04:39
1	18	018	017	1	1	10.1	13.4	0.0 %	00:04:39	00:05:19
1	19	019	017	1	1	2.2	1.6	0.0 %	00:05:19	00:05:28
1	20	020	018	1	1	0.5	0.4	0.0 %	00:05:28	00:05:30
1	21	021	019	1	1	3.0	2.0	0.0 %	00:05:30	00:05:42
1	22	022	020	1	1	3.3	1.9	0.0 %	00:05:42	00:05:55
1	23	023	021	1	1	3.5	1.9	0.0 %	00:05:55	00:06:09
1	24	024	022	1	1	8.3	4.1	0.0 %	00:06:09	00:06:42
1	25	025	023	1	1	10.1	4.1	0.0 %	00:06:42	00:07:22
1	26	026	023	1	1	7.4	2.8	0.0 %	00:07:22	00:07:52
1	27	027	024	1	1	10.1	3.9	0.0 %	00:07:52	00:08:32
1	28	028	024	1	1	4.0	1.6	0.0 %	00:08:32	00:08:48
1	29	029	025	1	1	10.1	4.7	0.0 %	00:08:48	00:09:28
1	30	030	025	1	1	3.5	1.6	0.0 %	00:09:28	00:09:42
1	31	031	026	1	1	2.3	1.0	0.0 %	00:09:42	00:09:51
1	32	032	027	1	1	6.3	2.3	0.0 %	00:09:51	00:10:16
1	33	033	028	1	1	4.0	1.2	0.0 %	00:10:16	00:10:32
1	34	034	029	1	1	6.8	1.5	0.0 %	00:10:32	00:10:59
1	35	035	030	1	1	7.0	1.2	0.0 %	00:10:59	00:11:27
1	36	036	031	1	1	2.5	0.3	0.0 %	00:11:27	00:11:37
1	37	037	032	1	1	10.1	1.1	0.0 %	00:11:37	00:12:17
1	38	038	032	1	1	2.2	0.2	0.0 %	00:12:17	00:12:26
1	39	039	033	1	1	8.0	0.6	0.0 %	00:12:26	00:12:58
1	40	040	034	1	1	10.1	1.1	0.0 %	00:12:58	00:13:38
1	41	041	034	1	1	8.7	0.6	0.0 %	00:13:38	00:14:13
1	42	042	035	1	1	10.1	-0.4	0.0 %	00:14:13	00:14:53
1	43	043	036	1	1	10.1	-1.1	0.0 %	00:14:53	00:15:33
1	44	044	037	1	1	10.1	-1.7	0.0 %	00:15:33	00:16:13
2	1	045	038	1	1	10.1	-2.1	0.0 %	00:16:13	00:16:53
2	2	046	039	1	1	1.5	-0.4	0.0 %	00:16:53	00:17:00
2	3	047	040	1	1	4.8	-1.0	0.0 %	00:17:00	00:17:19
2	4	048	041	1	1	6.0	-1.3	0.0 %	00:17:19	00:17:43
2	5	049	042	1	1	10.1	-2.7	0.0 %	00:17:43	00:18:23
2	6	050	043	1	1	10.1	-2.7	0.0 %	00:18:23	00:19:03
2	7	051	044	1	1	10.1	-2.8	0.0 %	00:19:03	00:19:43
2	8	052	045	1	1	10.1	-2.9	0.0 %	00:19:43	00:20:23
2	9	053	046	1	1	10.1	-2.8	0.0 %	00:20:23	00:21:04
2	10	054	047	1	1	10.1	-2.9	0.0 %	00:21:04	00:21:44
2	11	055	048	1	1	10.0	-3.1	0.0 %	00:21:44	00:22:24
2	12	056	049	1	1	10.1	-3.2	0.0 %	00:22:24	00:23:04
2	13	057	050	1	1	7.3	-2.3	0.0 %	00:23:04	00:23:34
2	14	058	051	1	1	10.1	-3.5	0.0 %	00:23:34	00:24:14
2	15	059	052	1	1	10.1	-3.5	0.0 %	00:24:14	00:24:54
2	16	060	053	1	1	10.1	-3.7	0.0 %	00:24:54	00:25:34
2	17	061	054	1	1	1.4	-0.5	0.0 %	00:25:34	00:25:40
2	18	062	055	1	1	10.1	-3.8	0.0 %	00:25:40	00:26:20

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 2/5

Data Time : 5/18/2018 12:35:40 PM

180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash

Printing Time : 5/18/2018 3:19:56 PM

Collection Table (Following)

Rack	Tubes	Fraction	Peak	RSet	Coll.	Volume	Area	%Area	Start Time	End Time
2	19	063	056	1	1	5.9	-2.3	0.0 %	00:26:20	00:26:44
2	20	064	057	1	1	10.1	-4.0	0.0 %	00:26:44	00:27:24
2	21	065	058	1	1	10.1	-4.1	0.0 %	00:27:24	00:28:04
2	22	066	059	1	1	10.1	-4.4	0.0 %	00:28:04	00:28:44
2	23	067	060	1	1	10.1	-4.6	0.0 %	00:28:44	00:29:24
2	24	068	061	1	1	10.1	-4.5	0.0 %	00:29:24	00:30:05
2	25	069	062	1	1	0.5	-0.2	0.0 %	00:30:05	00:30:07
2	26	070	063	1	1	10.1	-4.5	0.0 %	00:30:07	00:30:47
2	27	071	064	1	1	10.1	-4.5	0.0 %	00:30:47	00:31:27
2	28	072	065	1	1	10.1	-4.6	0.0 %	00:31:27	00:32:07
2	29	073	066	1	1	10.1	-4.6	0.0 %	00:32:07	00:32:47
2	30	074	067	1	1	10.1	-4.7	0.0 %	00:32:47	00:33:28
2	31	075	068	1	1	10.1	-4.9	0.0 %	00:33:28	00:34:08
2	32	076	069	1	1	10.1	-4.7	0.0 %	00:34:08	00:34:48
2	33	077	070	1	1	6.1	-2.9	0.0 %	00:34:48	00:35:13
2	34	078	071	1	1	7.7	-3.9	0.0 %	00:35:13	00:35:44
2	35	079	072	1	1	10.1	-4.8	0.0 %	00:35:44	00:36:24
2	36	080	073	1	1	10.1	-4.6	0.0 %	00:36:24	00:37:04
2	37	081	074	1	1	10.1	-4.5	0.0 %	00:37:04	00:37:44
2	38	082	075	1	1	10.1	-4.7	0.0 %	00:37:44	00:38:24
2	39	083	076	1	1	1.3	-0.6	0.0 %	00:38:24	00:38:30
2	40	084	077	1	1	10.1	-4.7	0.0 %	00:38:30	00:39:10
2	41	085	078	1	1	1.7	-0.9	0.0 %	00:39:10	00:39:17
2	42	086	079	1	1	9.8	-4.8	0.0 %	00:39:17	00:39:56
2	43	087	080	1	1	10.1	-5.0	0.0 %	00:39:56	00:40:36
2	44	088	081	1	1	4.2	-2.1	0.0 %	00:40:36	00:40:53
3	1	089	082	1	1	10.1	-5.2	0.0 %	00:40:53	00:41:33
3	2	090	083	1	1	10.1	-5.2	0.0 %	00:41:33	00:42:13
3	3	091	084	1	1	10.1	-5.3	0.0 %	00:42:13	00:42:53
3	4	092	085	1	1	10.1	-5.2	0.0 %	00:42:53	00:43:33
3	5	093	086	1	1	10.1	-5.0	0.0 %	00:43:33	00:44:14
3	6	094	087	1	1	2.3	-1.2	0.0 %	00:44:14	00:44:23
3	7	095	088	1	1	10.1	-5.0	0.0 %	00:44:23	00:45:02
3	8	096	089	1	1	10.1	-5.4	0.0 %	00:45:02	00:45:42
3	9	097	090	1	1	10.1	-5.3	0.0 %	00:45:42	00:46:22
3	10	098	091	1	1	10.1	-5.1	0.0 %	00:46:22	00:47:03
3	11	099	092	1	1	10.1	-5.1	0.0 %	00:47:03	00:47:43
3	12	100	093	1	1	10.1	-5.0	0.0 %	00:47:43	00:48:23
3	13	101	094	1	1	10.1	-5.1	0.0 %	00:48:23	00:49:03
3	14	102	095	1	1	0.6	-0.3	0.0 %	00:49:03	00:49:06
3	15	103	096	1	1	3.2	-1.6	0.0 %	00:49:06	00:49:19
3	16	104	097	1	1	10.1	-5.2	0.0 %	00:49:19	00:49:59
3	17	105	098	1	1	10.1	-5.3	0.0 %	00:49:59	00:50:39
3	18	106	099	1	1	4.2	-2.3	0.0 %	00:50:39	00:50:56
3	19	107	100	1	1	3.5	-1.9	0.0 %	00:50:56	00:51:10
3	20	108	101	1	1	10.0	-5.4	0.0 %	00:51:10	00:51:50
3	21	109	102	1	1	10.1	-5.2	0.0 %	00:51:50	00:52:30
3	22	110	103	1	1	7.7	-3.9	0.0 %	00:52:30	00:53:01
3	23	111	104	1	1	10.1	-5.2	0.0 %	00:53:01	00:53:41
3	24	112	105	1	1	9.2	-4.5	0.0 %	00:53:41	00:54:18
3	25	113	106	1	1	10.1	-5.0	0.0 %	00:54:18	00:54:58
3	26	114	107	1	1	10.1	-5.1	0.0 %	00:54:58	00:55:38
3	27	115	108	1	1	10.1	-5.3	0.0 %	00:55:38	00:56:18
3	28	116	109	1	1	10.1	-5.2	0.0 %	00:56:18	00:56:58
3	29	117	110	1	1	6.3	-3.3	0.0 %	00:56:58	00:57:24
3	30	118	111	1	1	10.1	-5.3	0.0 %	00:57:24	00:58:04
3	31	119	112	1	1	10.1	-5.5	0.0 %	00:58:04	00:58:44
3	32	120	113	1	1	3.2	-1.7	0.0 %	00:58:44	00:58:57
3	33	121	114	1	1	3.0	-1.6	0.0 %	00:58:57	00:59:09
3	34	122	115	1	1	10.1	-5.1	0.0 %	00:59:09	00:59:49
3	35	123	116	1	1	10.1	-4.1	0.0 %	00:59:49	01:00:29
3	36	124	117	1	1	1.1	-0.4	0.0 %	01:00:29	01:00:34

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 3/5

Abb. Anhang 8: FC1 Daten Teil 2/3

Data Time : 5/18/2018 12:35:40 PM

180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash

Printing Time : 5/18/2018 3:19:56 PM

Collection Table (Following)

Rack	Tubes	Fraction	Peak	RSet	Coll.	Volume	Area	%Area	Start Time	End Time
3	37	125	118	1	1	10.1	-4.1	0.0 %	01:00:34	01:01:14
3	38	126	119	1	1	10.1	-4.2	0.0 %	01:01:14	01:01:54
3	39	127	120	1	1	1.4	-0.7	0.0 %	01:01:54	01:02:00
3	40	128	121	1	1	6.3	-2.8	0.0 %	01:02:00	01:02:25
3	41	129	122	1	1	10.1	-4.8	0.0 %	01:02:25	01:03:05
3	42	130	123	1	1	10.1	-5.2	0.0 %	01:03:05	01:03:45
3	43	131	124	1	1	10.1	-5.7	0.0 %	01:03:45	01:04:25
3	44	132	125	1	1	10.1	-6.1	0.0 %	01:04:25	01:05:05
1	1	133	126	2	1	3.6	-2.3	0.0 %	01:05:05	01:05:20
1	2	134	127	2	1	4.5	-2.7	0.0 %	01:05:20	01:05:38
1	3	135	128	2	1	7.5	-4.8	0.0 %	01:05:38	01:06:08
1	4	136	129	2	1	3.5	-2.3	0.0 %	01:06:08	01:06:22
1	5	137	130	2	1	10.1	-6.6	0.0 %	01:06:22	01:07:02
1	6	138	131	2	1	10.1	-6.5	0.0 %	01:07:02	01:07:42
1	7	139	132	2	1	10.1	-6.6	0.0 %	01:07:42	01:08:22
1	8	140	133	2	1	10.1	-6.7	0.0 %	01:08:22	01:09:02
1	9	141	134	2	1	10.1	-6.7	0.0 %	01:09:02	01:09:43
1	10	142	135	2	1	10.1	-6.7	0.0 %	01:09:43	01:10:23
1	11	143	136	2	1	10.1	-6.6	0.0 %	01:10:23	01:11:03
1	12	144	137	2	1	10.1	-6.4	0.0 %	01:11:03	01:11:43
1	13	145	138	2	1	10.1	-6.2	0.0 %	01:11:43	01:12:23
1	14	146	139	2	1	5.8	-3.7	0.0 %	01:12:23	01:12:47
1	15	147	140	2	1	10.1	-6.4	0.0 %	01:12:47	01:13:27
1	16	148	141	2	1	10.1	-6.6	0.0 %	01:13:27	01:14:07
1	17	149	142	2	1	9.2	-6.3	0.0 %	01:14:07	01:14:44
1	18	150	143	2	1	10.1	-7.6	0.0 %	01:14:44	01:15:24
1	19	151	144	2	1	2.5	-2.0	0.0 %	01:15:24	01:15:34
1	20	152	145	2	1	2.8	-2.2	0.0 %	01:15:34	01:15:45
1	21	153	146	2	1	8.8	-7.3	0.0 %	01:15:45	01:16:20
1	22	154	147	2	1	9.3	-8.3	0.0 %	01:16:20	01:16:57
1	23	155	148	2	1	6.0	-5.6	0.0 %	01:16:57	01:17:21
1	24	156	149	2	1	10.0	-9.7	0.0 %	01:17:21	01:18:01
1	25	157	150	2	1	10.1	-9.8	0.0 %	01:18:01	01:18:41
1	26	158	151	2	1	10.1	-10.0	0.0 %	01:18:41	01:19:21
1	27	159	152	2	1	0.4	-0.4	0.0 %	01:19:21	01:19:23
1	28	160	153	2	1	7.5	-7.5	0.0 %	01:19:23	01:19:53
1	29	161	154	2	1	10.1	-10.3	0.0 %	01:19:53	01:20:33
1	30	162	155	2	1	10.1	-10.5	0.0 %	01:20:33	01:21:13
1	31	163	156	2	1	10.1	-10.3	0.0 %	01:21:13	01:21:53
1	32	164	157	2	1	0.6	-0.7	0.0 %	01:21:53	01:21:56
1	33	165	158	2	1	8.8	-9.0	0.0 %	01:21:56	01:22:31
1	34	166	159	2	1	7.3	-7.5	0.0 %	01:22:31	01:23:00
1	35	167	160	2	1	10.0	-10.3	0.0 %	01:23:00	01:23:40
1	36	168	161	2	1	10.1	-10.3	0.0 %	01:23:40	01:24:20
1	37	169	162	2	1	10.1	-10.3	0.0 %	01:24:20	01:25:00
1	38	170	163	2	1	10.0	-10.2	0.0 %	01:25:00	01:25:40
1	39	171	164	2	1	10.1	-10.2	0.0 %	01:25:40	01:26:21
1	40	172	165	2	1	0.5	-0.6	0.0 %	01:26:21	01:26:23
1	41	173	166	2	1	10.0	-10.3	0.0 %	01:26:23	01:27:03
1	42	174	167	2	1	10.1	-10.3	0.0 %	01:27:03	01:27:43
1	43	175	168	2	1	10.1	-10.7	0.0 %	01:27:43	01:28:23
1	44	176	169	2	1	3.3	-3.7	0.0 %	01:28:23	01:28:37
2	1	177	170	2	1	10.1	-11.0	0.0 %	01:28:37	01:29:17
2	2	178	171	2	1	6.9	-7.9	0.0 %	01:29:17	01:29:45
2	3	179	172	2	1	10.1	-11.4	0.0 %	01:29:45	01:30:25
2	4	180	173	2	1	10.1	-11.8	0.0 %	01:30:25	01:31:05
2	5	181	174	2	1	10.1	-12.1	0.0 %	01:31:05	01:31:45
2	6	182	175	2	1	10.1	-12.5	0.0 %	01:31:45	01:32:25
2	7	183	176	2	1	10.1	-12.7	0.0 %	01:32:25	01:33:06
2	8	184	177	2	1	2.3	-2.9	0.0 %	01:33:06	01:33:15
2	9	185	178	2	1	10.1	-12.6	0.0 %	01:33:15	01:33:55
2	10	186	179	2	1	6.9	-8.8	0.0 %	01:33:55	01:34:23

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 4/5

Data Time : 5/18/2018 12:35:40 PM

180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash

Printing Time : 5/18/2018 3:19:56 PM

Collection Table (Following)

Rack	Tubes	Fraction	Peak	RSet	Coll.	Volume	Area	%Area	Start Time	End Time
2	11	187	180	2	1	10.1	-12.9	0.0 %	01:34:23	01:35:03
2	12	188	181	2	1	10.1	-13.1	0.0 %	01:35:03	01:35:43
2	13	189	182	2	1	2.7	-3.4	0.0 %	01:35:43	01:35:54
2	14	190	183	2	1	10.1	-13.1	0.0 %	01:35:54	01:36:34
2	15	191	184	2	1	10.1	-13.5	0.0 %	01:36:34	01:37:14
2	16	192	185	2	1	10.1	-13.8	0.0 %	01:37:14	01:37:54
2	17	193	186	2	1	10.1	-13.8	0.0 %	01:37:54	01:38:34
2	18	194	187	2	1	10.1	-13.8	0.0 %	01:38:34	01:39:15
2	19	195	188	2	1	10.1	-14.2	0.0 %	01:39:15	01:39:55
2	20	196	189	2	1	1.2	-1.7	0.0 %	01:39:55	01:40:00
-	-	-	-	-	-	0.0	0.2	0.0 %	00:00:00	00:00:00

Elution Steps

N°	Time	Flow Rate	%B	B.Flush
01	00 s	15.0	100	Dir.
02	01:40:00	15.0	100	Dir.

Detection Steps

N°	Time	Parameter	Collect	Threshold	F1
01	00 s	UV600:SIG1 ==> 205 nm	Yes	10	1
		UV600:SCAN ==> 200-600	Yes	10	1
		ELSD ==> 35°-1	Yes	10	1

Collection Steps

N°	Time	Local	Volume	Mode	Action
01	00 s	Yes	15.0	Threshold	None
02	19 s	Yes	10.0	All	None

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 5/5

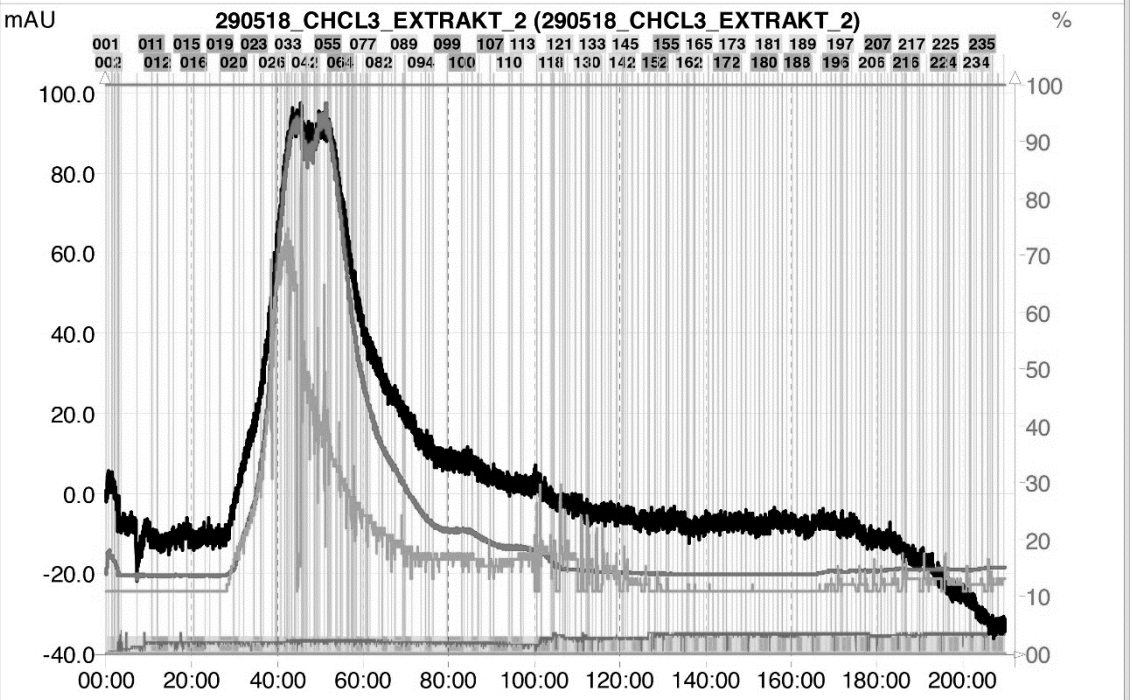
Abb. Anhang 9: FC1 Daten Teil 3/3

Data Time : 5/29/2018 12:36:12 PM

180529-1225-290518_CHCL3_EXTRAKT_2

Printing Time : 5/29/2018 4:56:00 PM

Title : 290518_CHCL3_EXTRAKT_2	Author : EM
Sample : 290518_CHCL3_EXTRAKT_2	Column : - 1.0 g (10 bar)
Solvent A :	Solvent C : Hexane
Solvent B : Chloroform/MeOH/H20	Solvent D :
Channel 1 : UV600:SIG1 ==> 205 nm	Channel 2 : UV600:SCAN ==> 200-600
Channel 3 : ELSD ==> 35°-1	
Equil+Inject Mode : Equil. (Simple) + Valve Inj. + Wait	Stop Mode : Pause
RUN Time : 5/29/2018 12:25:53 PM	



Peak Tracking

22 mL				22 mL				22 mL			
132	111	110	089	088	067	066	045	044	023	022	001
131	112	109	090	087	068	065	046	043	024	021	002
130	113	108	091	086	069	064	047	042	025	020	003
129	114	107	092	085	070	063	048	041	026	019	004
128	115	106	093	084	071	062	049	040	027	018	005
127	116	105	094	083	072	061	050	039	028	017	006
126	117	104	095	082	073	060	051	038	029	016	007
125	118	103	096	081	074	059	052	037	030	015	008
124	119	102	097	080	075	058	053	036	031	014	009
123	120	101	098	079	076	057	054	035	032	013	010
122	121	100	099	078	077	056	055	034	033	012	011

<< RackSet #1 >>

22 mL				22 mL				22 mL			
			221	220	199	198	177	176	155	154	133
		241	222	219	200	197	178	175	156	153	134
		240	223	218	201	196	179	174	157	152	135
		239	224	217	202	195	180	173	158	151	136
		238	225	216	203	194	181	172	159	150	137
		237	226	215	204	193	182	171	160	149	138
		236	227	214	205	192	183	170	161	148	139
		235	228	213	206	191	184	169	162	147	140
		234	229	212	207	190	185	168	163	146	141
		233	230	211	208	189	186	167	164	145	142
		232	231	210	209	188	187	166	165	144	143

<< RackSet #2 >>

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 1/7

Abb. Anhang 10: FC2 Daten Teil 1/4

Data Time : 5/29/2018 12:36:12 PM

180529-1225-290518_CHCL3_EXTRAKT_2

Printing Time : 5/29/2018 4:56:02 PM

Collection Table

Rack	Tubes	Fraction	Peak	RSet	Coll.	Volume	Area	%Area	Start Time	End Time
1	1	001	001	1	1	8.8	0.2	0.1 %	00:00:00	00:00:36
1	2	002	002	1	1	10.1	0.6	0.2 %	00:00:36	00:01:15
1	3	003	003	1	1	10.1	0.6	0.2 %	00:01:15	00:01:57
1	4	004	004	1	1	1.0	-0.0	-0.0 %	00:01:57	00:02:01
1	5	005	005	1	1	10.1	-0.4	-0.1 %	00:02:01	00:02:41
1	6	006	006	1	1	2.3	-0.1	-0.0 %	00:02:41	00:02:42
1	7	007	007	1	1	9.5	-0.7	-0.2 %	00:02:42	00:03:03
1	8	008	008	1	1	10.0	-1.3	-0.4 %	00:03:03	00:03:30
1	9	009	009	1	1	9.1	-10.2	-3.2 %	00:03:30	00:07:06
1	10	010	010	1	1	9.8	-14.2	-4.4 %	00:07:06	00:10:31
1	11	011	011	1	1	4.3	-5.6	-1.8 %	00:10:31	00:11:56
1	12	012	012	1	1	7.8	-11.5	-3.6 %	00:11:56	00:14:33
1	13	013	013	1	1	3.7	-5.0	-1.6 %	00:14:33	00:15:47
1	14	014	014	1	1	10.1	-11.6	-3.6 %	00:15:47	00:18:58
1	15	015	015	1	1	4.2	-5.3	-1.7 %	00:18:58	00:20:21
1	16	016	016	1	1	8.0	-10.6	-3.3 %	00:20:21	00:23:01
1	17	017	017	1	1	3.7	-4.6	-1.4 %	00:23:01	00:24:15
1	18	018	018	1	1	6.7	-8.8	-2.7 %	00:24:15	00:26:30
1	19	019	019	1	1	10.1	-10.2	-3.2 %	00:26:30	00:29:51
1	20	020	020	1	1	3.4	0.0	0.0 %	00:29:51	00:30:59
1	21	021	021	1	1	3.5	2.1	0.7 %	00:30:59	00:32:08
1	22	022	022	1	1	7.4	11.2	3.5 %	00:32:08	00:34:37
1	23	023	023	1	1	4.7	12.0	3.8 %	00:34:37	00:36:11
1	24	024	024	1	1	1.3	4.1	1.3 %	00:36:11	00:36:37
1	25	025	025	1	1	6.3	29.0	9.1 %	00:36:37	00:38:43
1	26	026	026	1	1	2.4	15.6	4.9 %	00:38:43	00:39:31
1	27	027	027	1	1	1.3	9.1	2.9 %	00:39:31	00:39:56
1	28	028	028	1	1	2.0	16.3	5.1 %	00:39:56	00:40:37
1	29	029	029	1	1	0.4	3.5	1.1 %	00:40:37	00:40:45
1	30	030	030	1	1	3.0	27.6	8.6 %	00:40:45	00:41:45
1	31	031	031	1	1	1.7	17.2	5.4 %	00:41:45	00:42:19
1	32	032	032	1	1	0.5	4.7	1.5 %	00:42:19	00:42:28
1	33	033	033	1	1	1.1	11.6	3.6 %	00:42:28	00:42:50
1	34	034	034	1	1	1.0	10.8	3.4 %	00:42:50	00:43:10
1	35	035	035	1	1	2.3	24.9	7.8 %	00:43:10	00:43:56
1	36	036	036	1	1	0.8	8.3	2.6 %	00:43:56	00:44:11
1	37	037	037	1	1	1.7	18.0	5.7 %	00:44:11	00:44:43
1	38	038	038	1	1	3.2	34.9	11.0 %	00:44:43	00:45:46
1	39	039	039	1	1	0.4	4.0	1.3 %	00:45:46	00:45:54
1	40	040	040	1	1	0.8	8.3	2.6 %	00:45:54	00:46:10
1	41	041	041	1	1	0.7	7.3	2.3 %	00:46:10	00:46:24
1	42	042	042	1	1	0.7	7.9	2.5 %	00:46:24	00:46:39
1	43	043	043	1	1	1.0	9.8	3.1 %	00:46:39	00:46:58
1	44	044	044	1	1	0.2	1.9	0.6 %	00:46:58	00:47:02
2	1	045	045	1	1	1.4	14.8	4.6 %	00:47:02	00:47:30
2	2	046	046	1	1	3.0	31.9	10.0 %	00:47:30	00:48:31
2	3	047	047	1	1	0.4	4.7	1.5 %	00:48:31	00:48:40
2	4	048	048	1	1	0.8	7.9	2.5 %	00:48:40	00:48:55
2	5	049	049	1	1	0.6	6.3	2.0 %	00:48:55	00:49:07
2	6	050	050	1	1	1.1	11.8	3.7 %	00:49:07	00:49:29
2	7	051	051	1	1	0.9	10.5	3.3 %	00:49:29	00:49:48
2	8	052	052	1	1	0.3	3.4	1.1 %	00:49:48	00:49:54
2	9	053	053	1	1	3.3	36.2	11.4 %	00:49:54	00:51:00
2	10	054	054	1	1	1.9	20.3	6.4 %	00:51:00	00:51:37
2	11	055	055	1	1	0.5	5.2	1.6 %	00:51:37	00:51:47
2	12	056	056	1	1	0.3	3.7	1.2 %	00:51:47	00:51:54
2	13	057	057	1	1	0.2	2.7	0.9 %	00:51:54	00:51:59
2	14	058	058	1	1	1.1	12.3	3.9 %	00:51:59	00:52:22
2	15	059	059	1	1	0.3	3.2	1.0 %	00:52:22	00:52:28
2	16	060	060	1	1	0.3	2.5	0.8 %	00:52:28	00:52:33
2	17	061	061	1	1	2.9	28.9	9.1 %	00:52:33	00:53:30
2	18	062	062	1	1	1.3	13.3	4.2 %	00:53:30	00:53:57

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 2/7

Data Time : 5/29/2018 12:36:12 PM

180529-1225-290518_CHCL3_EXTRAKT_2

Printing Time : 5/29/2018 4:56:02 PM

Collection Table (Following)

Rack	Tubes	Fraction	Peak	RSet	Coll.	Volume	Area	%Area	Start Time	End Time
2	19	063	063	1	1	1.9	17.5	5.5 %	00:53:57	00:54:35
2	20	064	064	1	1	0.7	6.1	1.9 %	00:54:35	00:54:49
2	21	065	065	1	1	1.4	12.1	3.8 %	00:54:49	00:55:17
2	22	066	066	1	1	2.5	20.4	6.4 %	00:55:17	00:56:08
2	23	067	067	1	1	1.0	7.5	2.4 %	00:56:08	00:56:28
2	24	068	068	1	1	0.6	4.5	1.4 %	00:56:28	00:56:41
2	25	069	069	1	1	1.7	11.8	3.7 %	00:56:41	00:57:15
2	26	070	070	1	1	0.5	3.4	1.1 %	00:57:15	00:57:25
2	27	071	071	1	1	0.2	1.3	0.4 %	00:57:25	00:57:29
2	28	072	072	1	1	1.1	6.7	2.1 %	00:57:29	00:57:50
2	29	073	073	1	1	0.6	3.8	1.2 %	00:57:50	00:58:02
2	30	074	074	1	1	1.0	6.2	2.0 %	00:58:02	00:58:23
2	31	075	075	1	1	3.5	19.6	6.1 %	00:58:23	00:59:34
2	32	076	076	1	1	0.9	4.5	1.4 %	00:59:34	00:59:52
2	33	077	077	1	1	2.1	10.1	3.2 %	00:59:52	01:00:35
2	34	078	078	1	1	0.9	3.9	1.2 %	01:00:35	01:00:52
2	35	079	079	1	1	0.8	3.3	1.0 %	01:00:52	01:01:07
2	36	080	080	1	1	1.3	5.5	1.7 %	01:01:07	01:01:33
2	37	081	081	1	1	6.2	24.4	7.6 %	01:01:33	01:03:36
2	38	082	082	1	1	2.4	8.8	2.8 %	01:03:36	01:04:24
2	39	083	083	1	1	0.3	0.9	0.3 %	01:04:24	01:04:29
2	40	084	084	1	1	3.8	12.0	3.8 %	01:04:29	01:05:44
2	41	085	085	1	1	2.9	8.7	2.7 %	01:05:44	01:06:43
2	42	086	086	1	1	2.3	6.7	2.1 %	01:06:43	01:07:29
2	43	087	087	1	1	5.1	13.5	4.2 %	01:07:29	01:09:11
2	44	088	088	1	1	1.0	2.5	0.8 %	01:09:11	01:09:32
3	1	089	089	1	1	0.1	0.2	0.1 %	01:09:32	01:09:34
3	2	090	090	1	1	0.7	1.5	0.5 %	01:09:34	01:09:47
3	3	091	091	1	1	0.1	0.2	0.1 %	01:09:47	01:09:49
3	4	092	092	1	1	4.5	9.8	3.1 %	01:09:49	01:11:18
3	5	093	093	1	1	6.9	14.0	4.4 %	01:11:18	01:13:36
3	6	094	094	1	1	3.2	5.7	1.8 %	01:13:36	01:14:40
3	7	095	095	1	1	1.8	2.9	0.9 %	01:14:40	01:15:16
3	8	096	096	1	1	2.7	4.0	1.2 %	01:15:16	01:16:10
3	9	097	097	1	1	0.6	0.7	0.2 %	01:16:10	01:16:21
3	10	098	098	1	1	10.1	10.6	3.3 %	01:16:21	01:19:42
3	11	099	098	1	1	10.1	9.7	3.1 %	01:19:42	01:23:04
3	12	100	098	1	1	1.9	1.8	0.6 %	01:23:04	01:23:43
3	13	101	099	1	1	2.3	2.2	0.7 %	01:23:43	01:24:30
3	14	102	100	1	1	2.8	2.7	0.9 %	01:24:30	01:25:25
3	15	103	101	1	1	4.3	3.7	1.1 %	01:25:25	01:26:52
3	16	104	102	1	1	0.7	0.5	0.2 %	01:26:52	01:27:06
3	17	105	103	1	1	1.7	1.2	0.4 %	01:27:06	01:27:40
3	18	106	104	1	1	5.8	3.1	1.0 %	01:27:40	01:29:36
3	19	107	105	1	1	3.0	1.5	0.5 %	01:29:36	01:30:37
3	20	108	106	1	1	10.1	3.7	1.2 %	01:30:37	01:33:58
3	21	109	107	1	1	1.1	0.3	0.1 %	01:33:58	01:34:20
3	22	110	108	1	1	1.6	0.4	0.1 %	01:34:20	01:34:52
3	23	111	109	1	1	6.0	1.7	0.5 %	01:34:52	01:36:52
3	24	112	110	1	1	1.4	0.4	0.1 %	01:36:52	01:37:20
3	25	113	111	1	1	9.4	2.6	0.8 %	01:37:20	01:40:28
3	26	114	112	1	1	0.6	0.3	0.1 %	01:40:28	01:40:41
3	27	115	113	1	1	3.9	0.9	0.3 %	01:40:41	01:41:39
3	28	116	114	1	1	10.1	0.2	0.1 %	01:41:39	01:43:40
3	29	117	115	1	1	1.6	-0.1	-0.0 %	01:43:40	01:43:59
3	30	118	116	1	1	1.5	-0.2	-0.1 %	01:43:59	01:44:17
3	31	119	117	1	1	1.5	-0.1	-0.0 %	01:44:17	01:44:30
3	32	120	118	1	1	9.0	-0.9	-0.3 %	01:44:30	01:45:48
3	33	121	119	1	1	1.4	-0.2	-0.0 %	01:45:48	01:46:00
3	34	122	120	1	1	4.8	-0.5	-0.2 %	01:46:00	01:46:41
3	35	123	121	1	1	4.4	-0.4	-0.1 %	01:46:41	01:47:19
3	36	124	122	1	1	3.4	-0.4	-0.1 %	01:47:19	01:47:48

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 3/7

Abb. Anhang 11: FC2 Daten Teil 2/4

Data Time : 5/29/2018 12:36:12 PM

180529-1225-290518_CHCL3_EXTRAKT_2

Printing Time : 5/29/2018 4:56:02 PM

Collection Table (Following)

Rack	Tubes	Fraction	Peak	RSet	Coll.	Volume	Area	%Area	Start Time	End Time
3	37	125	123	1	1	2.8	-0.4	-0.1 %	01:47:48	01:48:12
3	38	126	124	1	1	10.1	-1.3	-0.4 %	01:48:12	01:49:38
3	39	127	125	1	1	8.2	-1.4	-0.4 %	01:49:38	01:50:49
3	40	128	126	1	1	10.1	-1.8	-0.6 %	01:50:49	01:51:59
3	41	129	127	1	1	1.5	-0.3	-0.1 %	01:51:59	01:52:10
3	42	130	128	1	1	3.7	-0.8	-0.2 %	01:52:10	01:52:38
3	43	131	129	1	1	1.5	-0.3	-0.1 %	01:52:38	01:52:49
3	44	132	130	1	1	5.7	-1.2	-0.4 %	01:52:49	01:53:32
1	1	133	131	2	1	6.2	-1.4	-0.4 %	01:53:32	01:54:19
1	2	134	132	2	1	10.1	-2.3	-0.7 %	01:54:19	01:55:34
1	3	135	133	2	1	1.8	-0.3	-0.1 %	01:55:34	01:55:48
1	4	136	134	2	1	5.2	-1.2	-0.4 %	01:55:48	01:56:27
1	5	137	135	2	1	6.1	-1.4	-0.4 %	01:56:27	01:57:13
1	6	138	136	2	1	4.7	-1.1	-0.3 %	01:57:13	01:57:48
1	7	139	137	2	1	10.1	-2.4	-0.7 %	01:57:48	01:59:03
1	8	140	138	2	1	1.8	-0.5	-0.1 %	01:59:03	01:59:17
1	9	141	139	2	1	10.1	-2.5	-0.8 %	01:59:17	02:00:32
1	10	142	140	2	1	2.1	-0.6	-0.2 %	02:00:32	02:00:48
1	11	143	141	2	1	2.9	-0.8	-0.2 %	02:00:48	02:01:10
1	12	144	142	2	1	1.2	-0.3	-0.1 %	02:01:10	02:01:19
1	13	145	143	2	1	4.0	-1.0	-0.3 %	02:01:19	02:01:49
1	14	146	144	2	1	8.9	-2.2	-0.7 %	02:01:49	02:02:56
1	15	147	145	2	1	10.1	-3.1	-1.0 %	02:02:56	02:04:11
1	16	148	146	2	1	10.1	-3.2	-1.0 %	02:04:11	02:05:27
1	17	149	147	2	1	10.1	-3.0	-1.0 %	02:05:27	02:06:42
1	18	150	148	2	1	0.1	-0.5	-0.2 %	02:06:42	02:06:53
1	19	151	149	2	1	4.8	-3.0	-0.9 %	02:06:53	02:08:08
1	20	152	150	2	1	4.5	-1.2	-0.4 %	02:08:08	02:08:38
1	21	153	151	2	1	8.7	-2.3	-0.7 %	02:08:38	02:09:36
1	22	154	152	2	1	10.1	-2.5	-0.8 %	02:09:36	02:10:43
1	23	155	153	2	1	4.7	-1.4	-0.4 %	02:10:43	02:11:15
1	24	156	154	2	1	10.1	-2.8	-0.9 %	02:11:15	02:12:22
1	25	157	155	2	1	10.1	-2.5	-0.8 %	02:12:22	02:13:29
1	26	158	156	2	1	10.1	-2.8	-0.9 %	02:13:29	02:14:35
1	27	159	157	2	1	10.1	-3.0	-0.9 %	02:14:35	02:15:42
1	28	160	158	2	1	0.5	-0.1	-0.0 %	02:15:42	02:15:45
1	29	161	159	2	1	3.6	-1.2	-0.4 %	02:15:45	02:16:09
1	30	162	160	2	1	10.1	-3.5	-1.1 %	02:16:09	02:17:16
1	31	163	161	2	1	0.9	-0.3	-0.1 %	02:17:16	02:17:22
1	32	164	162	2	1	10.1	-3.4	-1.1 %	02:17:22	02:18:29
1	33	165	163	2	1	10.1	-3.4	-1.1 %	02:18:29	02:19:36
1	34	166	164	2	1	10.1	-3.0	-0.9 %	02:19:36	02:20:43
1	35	167	165	2	1	10.1	-2.9	-0.9 %	02:20:43	02:21:50
1	36	168	166	2	1	7.1	-2.1	-0.7 %	02:21:50	02:22:38
1	37	169	167	2	1	4.1	-1.2	-0.4 %	02:22:38	02:23:05
1	38	170	168	2	1	10.1	-3.0	-0.9 %	02:23:05	02:24:12
1	39	171	169	2	1	7.2	-2.1	-0.7 %	02:24:12	02:25:00
1	40	172	170	2	1	10.1	-3.1	-1.0 %	02:25:00	02:26:05
1	41	173	171	2	1	10.1	-3.0	-0.9 %	02:26:05	02:27:13
1	42	174	172	2	1	10.1	-2.9	-0.9 %	02:27:13	02:28:20
1	43	175	173	2	1	10.1	-3.0	-0.9 %	02:28:20	02:29:27
1	44	176	174	2	1	7.8	-2.1	-0.7 %	02:29:27	02:30:20
2	1	177	175	2	1	10.1	-3.0	-0.9 %	02:30:20	02:31:27
2	2	178	176	2	1	10.1	-3.4	-1.1 %	02:31:27	02:32:34
2	3	179	177	2	1	10.1	-3.1	-1.0 %	02:32:34	02:33:41
2	4	180	178	2	1	10.1	-3.1	-1.0 %	02:33:41	02:34:48
2	5	181	179	2	1	7.6	-2.1	-0.7 %	02:34:48	02:35:40
2	6	182	180	2	1	10.1	-2.6	-0.8 %	02:35:40	02:36:47
2	7	183	181	2	1	10.1	-2.7	-0.8 %	02:36:47	02:37:54
2	8	184	182	2	1	10.1	-2.7	-0.9 %	02:37:54	02:39:01
2	9	185	183	2	1	10.1	-2.9	-0.9 %	02:39:01	02:40:09
2	10	186	184	2	1	10.1	-3.0	-0.9 %	02:40:09	02:41:16

C:\Program Files\interSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 4/7

Data Time : 5/29/2018 12:36:12 PM

180529-1225-290518_CHCL3_EXTRAKT_2

Printing Time : 5/29/2018 4:56:02 PM

Collection Table (Following)

Rack	Tubes	Fraction	Peak	RSet	Coll.	Volume	Area	%Area	Start Time	End Time
2	11	187	185	2	1	1.4	-0.5	-0.2 %	02:41:16	02:41:26
2	12	188	186	2	1	10.1	-3.3	-1.1 %	02:41:26	02:42:33
2	13	189	187	2	1	10.1	-3.1	-1.0 %	02:42:33	02:43:40
2	14	190	188	2	1	10.1	-3.5	-1.1 %	02:43:40	02:44:47
2	15	191	189	2	1	10.1	-3.0	-0.9 %	02:44:47	02:45:54
2	16	192	190	2	1	10.1	-2.6	-0.8 %	02:45:54	02:47:02
2	17	193	191	2	1	10.1	-2.8	-0.9 %	02:47:02	02:48:09
2	18	194	192	2	1	10.1	-2.8	-0.9 %	02:48:09	02:49:16
2	19	195	193	2	1	10.1	-2.8	-0.9 %	02:49:16	02:50:24
2	20	196	194	2	1	10.1	-3.3	-1.0 %	02:50:24	02:51:31
2	21	197	195	2	1	1.3	-0.4	-0.1 %	02:51:31	02:51:40
2	22	198	196	2	1	1.5	-0.4	-0.1 %	02:51:40	02:51:50
2	23	199	197	2	1	10.1	-3.2	-1.0 %	02:51:50	02:52:57
2	24	200	198	2	1	10.1	-3.5	-1.1 %	02:52:57	02:54:04
2	25	201	199	2	1	10.1	-3.2	-1.0 %	02:54:04	02:55:11
2	26	202	200	2	1	10.1	-3.6	-1.1 %	02:55:11	02:56:18
2	27	203	201	2	1	7.7	-3.1	-1.0 %	02:56:18	02:57:10
2	28	204	202	2	1	10.1	-4.6	-1.5 %	02:57:10	02:58:17
2	29	205	203	2	1	5.4	-1.9	-0.6 %	02:58:17	02:58:48
2	30	206	204	2	1	10.1	-5.2	-1.6 %	02:58:48	03:00:04
2	31	207	205	2	1	6.2	-3.1	-1.0 %	03:00:04	03:00:51
2	32	208	206	2	1	7.3	-3.9	-1.2 %	03:00:51	03:01:46
2	33	209	207	2	1	5.5	-2.9	-0.9 %	03:01:46	03:02:27
2	34	210	208	2	1	6.4	-3.2	-1.0 %	03:02:27	03:03:15
2	35	211	209	2	1	9.3	-5.1	-1.6 %	03:03:15	03:04:25
2	36	212	210	2	1	10.1	-5.8	-1.8 %	03:04:25	03:05:40
2	37	213	211	2	1	1.8	-1.1	-0.3 %	03:05:40	03:05:54
2	38	214	212	2	1	6.0	-3.9	-1.2 %	03:05:54	03:06:39
2	39	215	213	2	1	2.0	-1.3	-0.4 %	03:06:39	03:06:54
2	40	216	214	2	1	10.1	-6.9	-2.2 %	03:06:54	03:08:09
2	41	217	215	2	1	10.1	-7.1	-2.2 %	03:08:09	03:09:25
2	42	218	216	2	1	4.6	-3.5	-1.1 %	03:09:25	03:10:00
2	43	219	217	2	1	7.4	-5.1	-1.6 %	03:10:00	03:10:53
2	44	220	218	2	1	6.4	-4.7	-1.5 %	03:10:53	03:11:41
3	1	221	219	2	1	10.1	-7.7	-2.4 %	03:11:41	03:12:56
3	2	222	220	2	1	10.1	-8.8	-2.8 %	03:12:56	03:14:12
3	3	223	221	2	1	10.1	-9.4	-3.0 %	03:14:12	03:15:27
3	4	224	222	2	1	6.1	-6.2	-1.9 %	03:15:27	03:16:14
3	5	225	223	2	1	3.2	-3.2	-1.0 %	03:16:14	03:16:38
3	6	226	224	2	1	1.5	-1.6	-0.5 %	03:16:38	03:16:49
3	7	227	225	2	1	10.1	-11.1	-3.5 %	03:16:49	03:18:04
3	8	228	226	2	1	10.1	-11.0	-3.4 %	03:18:04	03:19:20
3	9	229	227	2	1	10.1	-11.1	-3.5 %	03:19:20	03:20:35
3	10	230	228	2	1	8.7	-10.0	-3.1 %	03:20:35	03:21:41
3	11	231	229	2	1	1.3	-1.6	-0.5 %	03:21:41	03:21:51
3	12	232	230	2	1	6.7	-8.0	-2.5 %	03:21:51	03:22:41
3	13	233	231	2	1	5.1	-6.4	-2.0 %	03:22:41	03:23:19
3	14	234	232	2	1	10.1	-13.5	-4.2 %	03:23:19	03:24:34
3	15	235	233	2	1	10.1	-13.6	-4.3 %	03:24:34	03:25:50
3	16	236	234	2	1	4.0	-5.6	-1.8 %	03:25:50	03:26:20
3	17	237	235	2	1	4.5	-6.7	-2.1 %	03:26:20	03:26:54
3	18	238	236	2	1	1.2	-1.8	-0.6 %	03:26:54	03:27:03
3	19	239	237	2	1	10.1	-14.9	-4.7 %	03:27:03	03:28:18
3	20	240	238	2	1	10.1	-14.8	-4.6 %	03:28:18	03:29:34
3	21	241	239	2	1	3.4	-5.0	-1.6 %	03:29:34	03:30:00
-	-	-	-	-	-	151.0	0.0	0.0 %	00:00:00	00:00:00

Elution Steps

N°	Time	Flow Rate	%B	B.Flush
01	00 s	15.0	100	Dir.
02	03:20	15.0	100	Dir.
03	03:23	10.0	100	Dir.

C:\Program Files\interSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash Page 5/7

Abb. Anhang 12: FC2 Daten Teil 3/4

180529-1225-290518_CHCL3_EXTRAKT_2

Data Time : 5/29/2018 12:36:12 PM

Printing Time : 5/29/2018 4:59:02 PM

Elution Steps (Following)

N°	Time	Flow Rate	%B	B.Flush
01	03:24	10.0	100	Dir.
02	03:27	15.0	100	Dir.
03	03:34	15.0	100	Dir.
04	03:37	1.0	100	Dir.
05	03:34	1.0	100	Dir.
06	03:37	1.0	100	Dir.
07	04:27	1.0	100	Dir.
08	04:30	5.0	100	Dir.
09	04:46	5.0	100	Dir.
10	04:49	1.0	100	Dir.
11	05:45	1.0	100	Dir.
12	05:48	2.0	100	Dir.
13	08:41	2.0	100	Dir.
14	08:44	5.0	100	Dir.
15	08:59	5.0	100	Dir.
16	09:02	3.0	100	Dir.
17	17:09	3.0	100	Dir.
18	17:12	5.0	100	Dir.
19	17:22	5.0	100	Dir.
20	17:25	3.0	100	Dir.
21	01:40:00	3.0	100	Dir.
22	01:41:08	3.0	100	Dir.
23	01:41:11	5.0	100	Dir.
24	01:44:16	5.0	100	Dir.
25	01:44:19	7.0	100	Dir.
26	01:45:00	7.0	100	Dir.
27	01:50:00	7.0	100	Dir.
28	01:51:13	7.0	100	Dir.
29	01:51:16	10.0	100	Dir.
30	01:51:21	10.0	100	Dir.
31	01:51:24	8.0	100	Dir.
32	01:55:00	8.0	100	Dir.
33	02:00:00	8.0	100	Dir.
34	02:05:00	8.0	100	Dir.
35	02:06:35	8.0	100	Dir.
36	02:06:38	10.0	100	Dir.
37	02:07:46	10.0	100	Dir.
38	02:07:49	9.0	100	Dir.
39	02:10:00	9.0	100	Dir.
40	02:15:00	9.0	100	Dir.
41	02:20:00	9.0	100	Dir.
42	02:25:00	9.0	100	Dir.
43	02:30:00	9.0	100	Dir.
44	02:35:00	9.0	100	Dir.
45	02:40:00	9.0	100	Dir.
46	02:45:00	9.0	100	Dir.
47	02:50:00	9.0	100	Dir.
48	02:55:00	9.0	100	Dir.
49	02:58:24	9.0	100	Dir.
50	02:58:27	8.0	100	Dir.
51	03:00:00	8.0	100	Dir.
52	03:05:00	8.0	100	Dir.
53	03:10:00	8.0	100	Dir.
54	03:15:00	8.0	100	Dir.
55	03:20:00	8.0	100	Dir.
56	03:25:00	8.0	100	Dir.
57	03:30:00	8.0	100	Dir.

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash

Page 6/7

180529-1225-290518_CHCL3_EXTRAKT_2

Data Time : 5/29/2018 12:36:12 PM

Printing Time : 5/29/2018 4:59:02 PM

Detection Steps

N°	Time	Parameter	Collect	Threshold	F1
01	00 s	UV600:SIG1 ==> 205 nm	Yes	10	1
		UV600:SCAN ==> 200-600	Yes	10	1
		ELSD ==> 35°-1	Yes	10	1

Collection Steps

N°	Time	Local	Volume	Mode	Action
01	00 s	Yes	10.0	All	None

C:\Program Files\InterSoft\Data\180518-1225-180518_CHCL3_EXTRAKT.Flash

Page 7/7

Abb. Anhang 13: FC2 Daten Teil 4/4