

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-------------|---|----------|
| 1 | Einleitung und Zielsetzung | 1 |
| 2 | Kenntnisstand | 5 |
| 2.1 | Die Heilpflanze Kava Kava (<i>Piper methysticum</i> G. Forst.) | 5 |
| 2.1.1 | Botanische Klassifizierung | 5 |
| 2.1.1.1 | Morphologische Beschreibung | 5 |
| 2.1.1.2 | Herkunft, Verbreitung und taxonomische Einordnung | 6 |
| 2.1.1.3 | Varietäten | 7 |
| 2.1.1.4 | Anbau, Kultivierung und Vermarktung | 7 |
| 2.1.2 | Kulturelle Bedeutung | 8 |
| 2.1.2.1 | Religiöser Hintergrund | 9 |
| 2.1.2.2 | Kava Zeremonie – Herstellung des Kavagetränks | 9 |
| 2.1.2.3 | Verwendung in der traditionellen Medizin | 10 |
| 2.1.3 | Inhaltsstoffe der Wurzel | 11 |
| 2.1.3.1 | Kavalactone | 12 |
| 2.1.3.1.1 | Biosynthese | 14 |
| 2.1.3.1.2 | Chemotypen | 16 |
| 2.1.3.1.3 | Bioverfügbarkeit und Metabolismus | 17 |
| 2.1.3.1.4 | Physiologische Wirkungen | 19 |
| 2.1.3.1.4.1 | Sedierende Wirkung | 19 |
| 2.1.3.1.4.2 | Muskelrelaxierende und antikonvulsive Eigenschaften | 19 |
| 2.1.3.1.4.3 | Lokal anästhetische und analgetische Eigenschaften | 20 |
| 2.1.3.1.4.4 | Antifungale Wirkung | 20 |
| 2.1.3.1.4.5 | Struktur-Wirkungsbeziehungen | 21 |
| 2.1.3.1.4.6 | Pharmakologische Wirkungen | 21 |
| 2.1.3.1.4.7 | Entzündungshemmende Eigenschaften | 22 |
| 2.1.3.1.4.8 | Humanpharmakologische/klinische Studien | 22 |
| 2.1.3.1.4.9 | Nebenwirkungen (akute und chronische Toxizität) | 23 |
| 2.1.3.2 | Flavokavine | 24 |
| 2.1.3.3 | Flavanone | 26 |
| 2.1.3.4 | Alkaloide | 27 |
| 2.1.3.5 | Weitere Inhaltsstoffe | 29 |
| 2.1.4 | Toxikologie | 30 |
| 2.1.4.1 | Extrakte | 30 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 2.1.4.2 | Mögliche Ursachen für Toxizitätsfälle | 31 |
| 2.1.4.3 | Durchgeführte toxikologische Prüfungen | 32 |
| 2.1.4.4 | Hepatotoxizität | 33 |
| 2.1.4.4.1 | Indikatoren für Leberschädigung | 36 |
| 2.1.4.4.2 | Inhibierung von Cytochrom P450 | 37 |
| 2.1.4.4.3 | Inhibierung von Cyclooxygenase | 38 |
| 2.1.4.4.4 | Rolle des Glutathions in der Leber | 38 |
| 2.1.4.4.5 | Pipermethystin in Arznei- und Nahrungsergänzungsmitteln | 39 |
| 2.1.4.4.6 | Toxische Metabolite | 40 |
| 2.1.4.4.7 | Einfluss der Zubereitungsform auf die Hepatotoxizität | 41 |
| 2.1.4.5 | Zytotoxizität | 42 |
| 2.2 | Bestimmung von Zytotoxizität <i>in-vitro</i> | 44 |
| 2.2.1 | Direkte Bestimmung der überlebenden Zellen | 44 |
| 2.2.2 | Indirekte Bestimmung der überlebenden Zellen | 45 |
| 2.2.2.1 | Der LDH-Test | 45 |
| 2.2.2.2 | Der MTT-Test | 46 |
| 2.2.2.3 | Der Resazurin-Test/Alamar Blue™-Test | 46 |
| 2.3 | Bestimmungsmethoden für die Kavainhaltsstoffe | 48 |
| 2.3.1 | Anreicherung und Isolierung der Inhaltsstoffe | 48 |
| 2.3.1.1 | Gelchromatographie an Sephadex LH-20 | 48 |
| 2.3.1.2 | High-Speed Countercurrent Chromatography | 49 |
| 2.3.2 | Analysierung der Inhaltsstoffe | 52 |
| 2.3.2.1 | Gaschromatographie | 52 |
| 2.3.2.2 | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie | 52 |
| 2.3.3 | Charakterisierung der Inhaltsstoffe | 53 |
| 3 | Ergebnisse und Diskussion | 54 |
| 3.1 | „Bioassay-orientierte Fraktionierung“ von Inhaltsstoffen der Kavawurzel mit Hilfe des Brine-Shrimp-Assays | 54 |
| 3.1.1 | Extraktgewinnung | 54 |
| 3.1.1.1 | Charakterisierung der Extrakte | 55 |
| 3.1.1.2 | Brine-Shrimp-Assay | 57 |
| 3.1.2 | Vorfraktionierung an Sephadex LH-20 | 59 |
| 3.1.2.1 | Charakterisierung der Sephadex-Fractionen | 59 |
| 3.1.2.2 | Brine-Shrimp-Assay | 61 |

| | | |
|-------------|--|-----|
| 3.1.3 | Fraktionierung mittels High-Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC) | 62 |
| 3.1.3.1 | Sephadex-Fraktion 1.2 | 62 |
| 3.1.3.1.1 | Charakterisierung der HSCCC-Fraktionen | 63 |
| 3.1.3.1.2 | Brine-Shrimp-Assay | 64 |
| 3.1.3.1.2.1 | Fraktion 1.2.3 | 65 |
| 3.1.3.1.2.2 | Fraktion 1.2.6 | 66 |
| 3.1.3.1.2.3 | Fraktion 1.2.Coil | 67 |
| 3.1.3.1.2.4 | Extrakt Aceton RT (Taveuni) | 68 |
| 3.1.3.2 | Sephadex-Fraktion 1.3 | 72 |
| 3.1.3.2.1 | Charakterisierung der HSCCC-Fraktionen | 72 |
| 3.1.3.2.2 | Brine-Shrimp-Assay | 74 |
| 3.1.3.2.2.1 | Fraktion 1.3.6 | 75 |
| 3.1.3.2.2.2 | Fraktion 1.3.Coil | 76 |
| 3.1.3.2.2.3 | Sephadex-Fraktion 2.3 | 77 |
| 3.1.3.3 | Sephadex-Fraktion 1.4 | 78 |
| 3.1.3.3.1 | Charakterisierung der HSCCC-Fraktionen | 79 |
| 3.1.3.3.2 | Brine-Shrimp-Assay | 81 |
| 3.1.4 | Isolierung von Reinsubstanzen | 82 |
| 3.1.4.1 | Hauptkavalactone | 82 |
| 3.1.4.2 | Minorkavalactone | 85 |
| 3.1.4.3 | Weitere Inhaltsstoffe | 88 |
| 3.1.4.3.1 | Flavokavine und Flavanone | 88 |
| 3.1.4.3.2 | Zimtsäurederivate | 98 |
| 3.1.4.4 | Quantifizierungen | 100 |
| 3.1.4.5 | HSCCC-Fraktionen 1.2.6b und 1.3.6b | 103 |
| 3.2 | „Bioassay-orientierte Fraktionierung“ von Inhaltsstoffen der Kavawurzel mit Hilfe des Alamar Blue™-Tests | 105 |
| 3.2.1 | Rohextrakte | 105 |
| 3.2.1.1 | Alamar Blue™-Test | 105 |
| 3.2.1.2 | LDH-Test | 107 |
| 3.2.2 | Sephadex-Fraktionen | 108 |
| 3.2.1 | Reinverbindungen | 109 |
| 3.3 | Vergleich der Testsysteme | 110 |
| 3.3.1 | Rohextrakte | 110 |
| 3.3.2 | Sephadex-Fraktionen | 111 |
| 3.3.3 | Reinsubstanzen | 111 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 3.3.4 | Fazit | 111 |
| 3.4 | Zusammenfassung | 112 |
| 4 | Material und Methoden | 116 |
| 4.1 | Probenmaterial | 116 |
| 4.2 | Chemikalien | 116 |
| 4.3 | Geräteparameter | 116 |
| 4.3.1 | Dünnschichtchromatographie | 116 |
| 4.3.2 | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) | 117 |
| 4.3.2.1 | Analytische Anlage | 117 |
| 4.3.2.2 | Präparative Anlage | 117 |
| 4.3.3 | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) | 117 |
| 4.3.4 | Verwendete HPLC Säulen | 117 |
| 4.3.4.1 | Analytische Säulen | 117 |
| 4.3.4.2 | Präparative Säulen | 118 |
| 4.3.5 | HPLC-Gradienten | 118 |
| 4.3.5.1 | Analytisches Fließmittelsystem für die Normalphase | 118 |
| 4.3.5.2 | Analytische Gradienten für die Umkehrphase | 118 |
| 4.3.5.3 | Präparative Fließmittelsysteme für die Normalphase | 119 |
| 4.3.5.4 | Präparative Gradienten für die Umkehrphase | 120 |
| 4.3.6 | Gelchromatographie an Sephadex LH-20 | 120 |
| 4.3.7 | High-Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC) | 120 |
| 4.3.8 | Massenspektrometrie (MS) | 120 |
| 4.3.9 | NMR | 121 |
| 4.3.10 | Circulardichroismus (CD) | 121 |
| 4.3.11 | Photometer | 121 |
| 4.4 | Isolierung von Inhaltsstoffen aus der Kavawurzel | 121 |
| 4.4.1 | Extraktherstellung | 121 |
| 4.4.1.1 | Wurzeln aus Fiji | 121 |
| 4.4.1.2 | Wurzeln von der Insel Taveuni (Fiji) | 122 |
| 4.4.1.3 | Wurzeln aus Samoa | 122 |
| 4.4.2 | Vorfraktionierung an Sephadex LH-20 | 123 |
| 4.4.3 | Fraktionierung mittels HSCCC | 124 |
| 4.4.3.1 | Ermittlung des Fließmittelsystems | 124 |
| 4.4.3.2 | Durchführung der Trennung | 125 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 4.4.3.3 | Berechnung der Verteilungskoeffizienten | 129 |
| 4.4.4 | Reinstoffisolierung mittels präparativer HPLC | 130 |
| 4.5 | Quantifizierung der Inhaltsstoffe | 130 |
| 4.5.1 | Erstellung der Kalibriergeraden | 130 |
| 4.5.2 | Probenlösungen | 131 |
| 4.5.2.1 | Rohextrakte | 131 |
| 4.5.2.2 | Sephadex-Fractionen | 131 |
| 4.5.2.3 | HSCCC-Fractionen 1.2.6b und 1.3.6b | 131 |
| 4.5.3 | Berechnung | 131 |
| 4.6 | Bestimmung der Varietäten | 131 |
| 4.7 | Brine-Shrimp-Assay auf Zytotoxizität | 132 |
| 4.7.1 | Material | 132 |
| 4.7.2 | Ausbrüten der Eier | 132 |
| 4.7.3 | Probenvorbereitung | 132 |
| 4.7.4 | Auswertung | 133 |
| 4.7.5 | Ergebnisse | 133 |
| 4.7.5.1 | Rohextrakte | 134 |
| 4.7.5.2 | Sephadex-Fractionen | 134 |
| 4.7.5.3 | HSCCC-Fractionen | 134 |
| 4.7.5.4 | Reinverbindungen | 135 |
| 4.8 | Alamar Blue™-Test/LDH-Test | 136 |
| 4.9 | Isolierte Verbindungen | 137 |
| 4.9.1 | (6R)-Kavain (K) | 137 |
| 4.9.2 | (6S)-7,8-Dihydrokavain (DHK) | 137 |
| 4.9.3 | (6R)-Methysticin (M) | 138 |
| 4.9.4 | (6S)-7,8-Dihydromethysticin (DHM) | 138 |
| 4.9.5 | Yangonin (Y) | 139 |
| 4.9.6 | Demethoxyyangonin (DMY) | 139 |
| 4.9.7 | (6S)-5,6,7,8-Tetrahydroyangonin (THY) | 139 |
| 4.9.8 | (6R)-5,6-Dihydroyangonin (DHY) | 140 |
| 4.9.9 | (5S,6S)-5-Hydroxy-7,8-dihydrokavain (5HDHK) | 140 |
| 4.9.10 | (6S)-5,6,7,8-Tetrahydro-11-methoxyyangonin (TH11MY) | 141 |
| 4.9.11 | 11-Methoxy-5,6-dihydroyangonin (11M5,6DHY) | 141 |
| 4.9.12 | 11-Methoxyyangonin (11MY) | 142 |
| 4.9.13 | Flavokavin A (FK-A) | 142 |
| 4.9.14 | Flavokavin B (FK-B) | 142 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 4.9.15 | Flavokavin C (FK-C) | 143 |
| 4.9.16 | Cardamonin (CAR) | 143 |
| 4.9.17 | (2S)-5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavanon (5H7,4'DMF) | 144 |
| 4.9.18 | (2S)-5-Hydroxy-7-methoxyflavanon (5H7MF) | 144 |
| 4.9.19 | (2S)-5,4'-Dihydroxy-7-methoxyflavanon (5,4'DH7MF) | 145 |
| 4.9.20 | Zimtsäurebornylester (ZBE) | 145 |
| 4.9.21 | 3',4'-Methylenedioxyzimtsäurebornylester (MDZBE) | 146 |
| 5 | Literaturverzeichnis | 147 |
| 6 | Anhang | 160 |
| 7 | Übersicht der wichtigsten Inhaltsstoffe der Kavawurzel | 169 |