

# Das Lignanglykosid Arctiin als chemotaxonomisches Merkmal in der Familie der Compositae\*

Von R. HÄNSEL, H. SCHULZ und CH. LEUCKERT

Aus dem Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin  
(Z. Naturforschg. **19 b**, 727—734 [1964]; eingegangen am 21. April 1964)

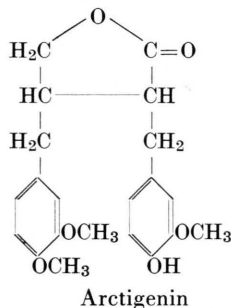
Die Verbreitung des Lignanglykosids Arctiin in der Familie der Compositae wurde untersucht. In 20 Arten konnte die Verbindung neu nachgewiesen werden. Die Verteilung dieses Pflanzenstoffes stützt die bekannte Auffassung der Systematik von einer engen Zusammengehörigkeit der Carduinae und Centaureinae.

Seit einiger Zeit werden zur Lösung taxonomischer Fragen neben morphologischen etc. auch chemische Methoden mit Erfolg eingesetzt.

In der näheren Untergliederung der Compositae stehen verschiedene Systeme zur Diskussion. Die vorliegende Untersuchung will prüfen, ob das chemische Merkmal der Arctiinführung auf diesem Gebiet eine Hilfe geben kann.

Beim Arctiin handelt es sich um ein Lignanglykosid, das bisher nur aus der Gattung *Arctium* L. [*A. lappa* L., *A. minus* (Hill) Bernh., *A. tomentosum* Mill.)] bekannt ist<sup>1, 2</sup>, so daß möglicherweise ein „taxoncharakteristischer“ Inhaltsstoff vorliegt.

Die Konstitution der Verbindung wurde von OMAKI aufgeklärt<sup>3-6</sup>. Arctiin ist das  $\beta$ -D-Glucosid des Arctigenins, das nach den Nomenklaturvorschlägen von FREUDENBERG und WEINGES<sup>7</sup> als 4'-Hydroxy-3,4,3'-trimethoxy-lignan-olid (9,9') zu bezeichnen ist.



Die Gattung *Arctium* L. gehört zur Tribus Cynareae innerhalb der Compositae. Zu dieser Tribus sind nach HOFFMANN<sup>8</sup> die Subtribus Echinopsidinae, Carlininae, Carduinae und Centaureinae zu rechnen. Vertreter dieser Taxa sowie der übrigen Tribus der Compositae waren in unsere Untersuchung einzubeziehen\*\*. Es ist schwierig, bei einer so umfangreichen Familie, wie es die Compositae sind, allgemeine Aussagen zu machen. Man muß sich in solchen Fällen auf eine Auswahl von Objekten beschränken und versuchen, die Proben möglichst gleichmäßig dem zu untersuchenden Gebiet zu entnehmen. Das Ergebnis hat unter diesen Umständen Wahrscheinlichkeitswert.

## Methodik

Die Früchte (andere Pflanzenteile s. Versuchsteil) wurden mit Petroläther entfettet und anschließend mit Äther und Chloroform extrahiert. Das Arctiin fand sich dabei in der Chloroformfraktion. Der Extrakt wurde auf papierchromatographischem Wege weiter getrennt und die auf Arctiin hinweisenden Flecken mit Methanol extrahiert. Die Identität mit Arctiin war für uns immer dann gegeben, wenn 1. die extrahierte Substanz in verschiedenen Laufmitteln die gleichen  $R_f$ -Werte aufwies wie die mitlaufende authentische Testsubstanz, wenn 2. die Substanz die gleichen Farbreaktionen ergab, und wenn 3. die Maxima der UV-Absorption hinsichtlich der Wellenlänge übereinstimmten.

\* Unter auszugsweiser Verwendung der Dissertationen von H. SCHULZ (1961) und CH. LEUCKERT (in Vorbereitung). Einige der vorliegenden Ergebnisse wurden auf dem 23. Internationalen Kongreß der Pharmazeutischen Wissenschaften Münster 1963 vorgetragen (CH. LEUCKERT).

<sup>1</sup> J. SHINODA u. M. KAWAGOE, J. pharmac. Soc. Japan [Yakugakuzasshi] **49**, 565 [1929], ref.: C. A. **23**, 4707 [1929].

<sup>2</sup> M. W. LINDNER, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **87**, 65 [1948].

<sup>3</sup> T. OMAKI, J. pharmac. Soc. Japan [Yakugakuzasshi] **55**, 816 [1935], C. A. **33**, 582 [1939].

<sup>4</sup> T. OMAKI, J. pharmac. Soc. Japan [Yakugakuzasshi] **56**, 982 [1936], C. A. **33**, 583 [1939].

<sup>5</sup> T. OMAKI, J. pharmac. Soc. Japan [Yakugakuzasshi] **57**, 22 [1937], C. A. **33**, 1716 [1939].

<sup>6</sup> T. OMAKI, J. pharmac. Soc. Japan [Yakugakuzasshi] **57**, 269 [1937], C. A. **31**, 5347 [1937].

<sup>7</sup> K. FREUDENBERG u. K. WEINGES, Tetrahedron [London] **15**, 115 [1961].

<sup>8</sup> O. HOFFMANN, in: A. ENGLER u. K. PRANTL, Die natürlichen Pflanzenfamilien, IV. Teil. 5. Abt., Wilh. Engelmann, Leipzig 1894.

\*\* Herrn Dr. DOMKE, Direktor des Botanischen Gartens und Museums Berlin-Dahlem, danken wir sehr für die freundlich erteilte Erlaubnis, Material für unsere Untersuchungen dem Botanischen Garten zu entnehmen. Unser Dank gilt auch Herrn Privatdozent Dr. WAGENITZ, Botanisches Museum Berlin-Dahlem, für anregende Diskussion und für seine Hilfe in nomenklatorischen Fragen.

|                                                                                                                                                                                                            | Von uns isolierte Substanzen                                        |                                                        | Literaturwerte                                         |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                            | Cnicussubstanz C<br>aus Früchten von<br><i>Cnicus benedictus</i> L. | Arctiin aus<br>Früchten von<br><i>Arctium lappa</i> L. | Arctiin aus<br>Früchten von<br><i>Arctium lappa</i> L. |
| Schmelzpunkte [°C]<br>Glykosid<br>Agykon                                                                                                                                                                   | 118<br>102                                                          | 118<br>102                                             | 112<br>102                                             |
| Zuckerkomponente                                                                                                                                                                                           | D-Glucose<br>$\beta$ -Stellung                                      | D-Glucose<br>$\beta$ -Stellung                         | D-Glucose                                              |
| Spezifische Drehung                                                                                                                                                                                        | $[\alpha]_D^{20} = -38,8^\circ$                                     | $[\alpha]_D^{20} = -38,7^\circ$                        | $[\alpha]_D^{18} = -38,8^\circ$                        |
| UV-Absorption<br>(in Methanol p. a.)<br>Maxima [m $\mu$ ]                                                                                                                                                  | 211<br>230<br>280                                                   | 211<br>230<br>280                                      | —<br>—<br>—                                            |
| Minima [m $\mu$ ]                                                                                                                                                                                          | 218<br>252                                                          | 218<br>252                                             | —<br>—                                                 |
| Papierchromatographie<br>Partridge-Gemisch<br>( $R_f$ -Werte)<br>15-proz. Essigsäure ( $R_f$ -Werte)<br>Farbreaktionen<br>konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub><br>SbCl <sub>3</sub> (i.CHCl <sub>3</sub> ) | 0,62<br>0,84<br><br>rotviolett<br>rotviolett                        | 0,62<br>0,84<br><br>rotviolett<br>rotviolett           | —<br>—<br><br>—<br>—                                   |

Tab. 1. Vergleich der Daten von Cnicussubstanz C und Arctiin.

## Ergebnisse

### Die Verbreitung in der Tribus Cynareae

#### a) Papierchromatographische Untersuchungen

In den Früchten der Subtribus Carduinae und Centaureinae konnte Arctiin bei Vertretern der meisten Gattungen nachgewiesen werden (*Arctium* L., *Cirsium* Mill. em. Scop., *Cousinia* Cass., *Cynara* L., *Jurinea* Cass., *Onopordum* L., *Saussurea* DC., *Cnicus* L., *Centaurea* L., *Serratula* L.). In einigen Arten fand sich neben dem Glykosid auch das Aglykon.

Um Aufschluß über die morphologische Verteilung zu gewinnen, untersuchten wir bei einer Anzahl zu Carduinae und Centaureinae gehörender Arten andere Pflanzenteile, vor allem Blätter und Stengel. In keinem Fall konnte Arctiin festgestellt werden, so daß sich das Vorkommen des Stoffes offensichtlich auf die Früchte beschränkt. Unter den geprüften Objekten befanden sich solche, deren Früchte Arctiin enthalten und andere, denen die Verbindung in den Früchten fehlt.

Von den Cynareae-Echinopsidinae und Cynareae-Carlininae konnten die Früchte von Arten aus 5 Gattungen geprüft werden. Damit wurde die Hälfte der Genera, die zu den beiden Subtribus gehören, in die Untersuchung einbezogen. Das Ergebnis der Tests war hier stets negativ.

#### b) Isolierung von Arctiin aus Früchten von *Arctium lappa* L. zu Vergleichszwecken und Neuisolierung aus Früchten von *Cnicus benedictus* L.

Nach SHINODA und KAWAGOE<sup>1</sup>, die die Verbindung als erste aus Früchten von *Arctium lappa* L. isolierten, kristallisiert Arctiin beim Einengen aus der wäßrigen Phase, wenn störende Begleitstoffe zuvor durch Bleiacetat ausgefällt werden und das Filtrat in der üblichen Weise durch Einleiten von H<sub>2</sub>S von Pb<sup>2+</sup> befreit wird. Es gelang uns, die unbequeme Bleifällung durch präparative Chromatographie an Polyamid zu umgehen. Das Glykosid läßt sich leicht mit 50-proz. Methanol eluieren, während störende Begleitstoffe an der Säule adsorbiert bleiben. In einer Ausbeute von 650 mg (= 0,065% bezogen auf die luftgetrockneten Früchte) erhielten wir eine Substanz, die in den geprüften Eigenschaften

| Tribus        | Subtribus       | Gattung und Art                                          | Arctiin                                          |   |
|---------------|-----------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---|
| Vernonieae    | Vernoninae      | <i>Ethulia conyzoides</i> L.                             | —                                                |   |
|               |                 | <i>Stokesia laevis</i> (Hill) Greene                     | —                                                |   |
|               |                 | <i>Vernonia noveboracensis</i> (L.) Michx.               | —                                                |   |
| Eupatorieae   | Ageratinae      | <i>Ageratum houstonianum</i> Mill.                       | —                                                |   |
|               | Adenostylinae   | <i>Eupatorium aromaticum</i> L.                          | —                                                |   |
|               |                 | <i>Adenostyles glabra</i> (Mill.) DC.                    | —                                                |   |
| Astereae      | Solidagininae   | <i>Liatris spicata</i> (L.) Willd.                       | —                                                |   |
|               |                 | <i>Grindelia squarrosa</i> (Pursh.) Dun.                 | —                                                |   |
|               | Asterinae       | <i>Solidago virgaurea</i> L.                             | —                                                |   |
|               |                 | <i>Aster alpinus</i> L.                                  | —                                                |   |
| Inuleae       | Conyzinae       | <i>Callistephus chinensis</i> Nees                       | —                                                |   |
|               | Filagininae     | <i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronq.                    | —                                                |   |
|               |                 | Gnaphalinae                                              | <i>Filago germanica</i> L.                       | — |
|               | Inulinae        |                                                          | <i>Ammobium alatum</i> R. Br.                    | — |
| Buphthalminae |                 | <i>Gnaphalium silvaticum</i> L.                          | —                                                |   |
|               | Heliantheae     | Melampodinae                                             | <i>Helichrysum bracteatum</i> Willd. gelbe Sorte | — |
| Ambrosiinae   |                 | <i>Pulicaria dysenterica</i> (L.) Gaertn.                | —                                                |   |
| Zinninae      |                 | <i>Buphthalmum salicifolium</i> L.                       | —                                                |   |
|               |                 | <i>Melampodium perfoliatum</i> H. B. K.                  | —                                                |   |
| Verbesininae  |                 | <i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.                        | —                                                |   |
|               |                 | <i>Heliopsis scabra</i> Dun.                             | —                                                |   |
| Coreopsidinae |                 | <i>Zinnia elegans</i> Jacq.                              | —                                                |   |
|               |                 | <i>Rudbeckia amplexicaulis</i> Vahl.                     | —                                                |   |
| Helenieae     |                 | Galinsoginae                                             | <i>Spilanthes oleracea</i> Jacq.                 | — |
|               |                 |                                                          | <i>Verbesina helianthoides</i> Michx.            | — |
|               | Madinae         | <i>Bidens tripartitus</i> L.                             | —                                                |   |
|               |                 | <i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.                            | —                                                |   |
| Anthemideae   | Anthemidinae    | <i>Guizotia abyssinica</i> (L. fil.) Cass.               | —                                                |   |
|               |                 | <i>Galinsoga ciliata</i> (Raf.) Blake                    | —                                                |   |
|               | Tagetinae       | <i>Madia elegans</i> D. Don.                             | —                                                |   |
| Senecioneae   | Senecioninae    | <i>Baeria maritima</i> Gray                              | —                                                |   |
|               |                 | <i>Flaveria trinervia</i> (Spr.) C. Mohr                 | —                                                |   |
|               | Chrysantheminae | <i>Lasthenia glabrata</i> Lindl.                         | —                                                |   |
|               |                 | <i>Tagetes patula</i> L.                                 | —                                                |   |
| Calenduleae   | Arctotidinae    | <i>Achillea ptarmica</i> L.                              | —                                                |   |
|               |                 | <i>Anacyclus pyrethrum</i> (L.) DC.                      | —                                                |   |
|               | Echinopsidinae  | <i>Anthemis nobilis</i> L.                               | —                                                |   |
|               |                 | <i>Artemisia absinthium</i> L.                           | —                                                |   |
| Arctotideae   | Gorterinae      | <i>Chrysanthemum leucanthemum</i> L.                     | —                                                |   |
|               |                 | <i>Matricaria chamomilla</i> L.                          | —                                                |   |
|               | Echinopsidinae  | <i>Arnica chamissonis</i> Less.                          | —                                                |   |
|               |                 | <i>Erechthites hieracifolia</i> (L.) Raf.                | —                                                |   |
| Cynareae      | Echinopsidinae  | <i>Ligularia hodgsoni</i> Hook. fil.                     | —                                                |   |
|               |                 | <i>Senecio nemorensis</i> L. subsp. fuchsii (Gmel.) Dur. | —                                                |   |
|               | Echinopsidinae  | <i>Calendula officinalis</i> L.                          | —                                                |   |
|               |                 | <i>Calendula stellata</i> Cav.                           | —                                                |   |
| Cynareae      | Echinopsidinae  | <i>Dimorphotheca pluvialis</i> (L.) Moench               | —                                                |   |
|               |                 | <i>Arctotis stoechadifolia</i> Berg.                     | —                                                |   |
|               | Echinopsidinae  | <i>Ursinia anthemoides</i> (L.) Benth. et Hook.          | —                                                |   |
|               |                 | <i>Gazania rigens</i> (L.) R. Br.                        | —                                                |   |
| Cynareae      | Echinopsidinae  | <i>Echinops banaticus</i> Rochel                         | —                                                |   |
|               |                 | <i>Echinops cornigerus</i> DC.                           | —                                                |   |
|               | Echinopsidinae  | <i>Echinops dahuricus</i> Fisch.                         | —                                                |   |
|               |                 | <i>Echinops exaltatus</i> Schrad.                        | —                                                |   |
| Cynareae      | Echinopsidinae  | <i>Echinops gmelinii</i> Turcz.                          | —                                                |   |
|               |                 | <i>Echinops horridus</i> Desf.                           | —                                                |   |
|               | Echinopsidinae  | <i>Echinops niveus</i> Wall. ex DC.                      | —                                                |   |
|               |                 | <i>Echinops platylepis</i> Trautv.                       | —                                                |   |
| Cynareae      | Echinopsidinae  | <i>Echinops pungens</i> Trautv.                          | —                                                |   |
|               |                 | <i>Echinops sphaerocephalus</i> L.                       | —                                                |   |
|               | Echinopsidinae  | <i>Echinops spinosus</i> L. subsp. bovei (Boiss.)        | —                                                |   |
|               |                 | <i>Murb. var. font-queri</i> (Pau) Maire                 | —                                                |   |
| Cynareae      | Echinopsidinae  | <i>Echinops strigosus</i> L.                             | —                                                |   |

Tab. 2.

| Tribus     | Subtribus      | Gattung und Art                                                     | Arctiin |
|------------|----------------|---------------------------------------------------------------------|---------|
|            | Carlininae     | <i>Atractylis gummifera</i> L.                                      | —       |
|            |                | <i>Carlina acanthifolia</i> All.                                    | —       |
|            |                | <i>Carlina acaulis</i> L.                                           | —       |
|            |                | <i>Carlina onopordifolia</i> Bess.                                  | —       |
|            |                | <i>Carlina stricta</i> (Roux) Fritsch                               | —       |
|            |                | <i>Carlina xeranthemoides</i> L. fil.                               | —       |
|            |                | <i>Chardinia orientalis</i> (L.) O. Ktze.                           | —       |
|            |                | <i>Xeranthemum annuum</i> L.                                        | —       |
|            |                | <i>Xeranthemum cylindraceum</i> Sibth. et Sm.                       | —       |
|            |                | <i>Xeranthemum inapertum</i> (L.) Willd.                            | —       |
|            | Carduinae      | <i>Arctium lappa</i> L.                                             | +       |
|            |                | <i>Arctium minus</i> (Hill) Bernh.                                  | +       |
|            |                | <i>Arctium tomentosum</i> Mill.                                     | +       |
|            |                | <i>Carduus cernuus</i> (L.) Bertol.                                 | —       |
|            |                | <i>Carduus nutans</i> L.                                            | —       |
|            |                | <i>Carduus personata</i> (L.) Jacq.                                 | —       |
|            |                | <i>Cirsium acaule</i> (L.) Scop.                                    | —       |
|            |                | <i>Cirsium canum</i> (L.) All.                                      | +       |
|            |                | <i>Cirsium diacanthum</i> (Labill.) DC.                             | —       |
|            |                | <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.                                  | +       |
|            |                | <i>Cousinia hystrix</i> C. A. Mey.                                  | +       |
|            |                | <i>Cynara cardunculus</i> L. s. l.                                  | +       |
|            | Centaureinae   | <i>Jurinea alata</i> (Desf.) Cass.                                  | +       |
|            |                | <i>Onopordum acanthium</i> L.                                       | +       |
|            |                | <i>Onopordum acaule</i> L.                                          | +       |
|            |                | <i>Onopordum illyricum</i> L.                                       | +       |
|            |                | <i>Saussurea candicans</i> C. B. Cl.                                | +       |
|            |                | <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.                                | —       |
|            |                | <i>Silybum eburneum</i> Coss. et Dur.                               | —       |
|            |                | <i>Carthamus tinctorius</i> L.                                      | —       |
|            |                | <i>Centaurea bella</i> Trautv.                                      | +       |
|            |                | <i>Centaurea calcitrapa</i> L.                                      | +       |
|            |                | <i>Centaurea cyanus</i> L.                                          | +       |
|            |                | <i>Centaurea cynaroides</i> (Less.) O. Hoffm.                       | +       |
|            |                | <i>Centaurea dealbata</i> Willd.                                    | +       |
|            |                | <i>Centaurea maculosa</i> Lam. subsp. <i>rhenana</i> (Boreau) Gugl. | +       |
|            |                | <i>Centaurea ruthenica</i> Lam.                                     | +       |
|            |                | <i>Centaurea scabiosa</i> L.                                        | +       |
|            |                | <i>Cnicus benedictus</i> L.                                         | +       |
|            |                | <i>Serratula coronata</i> L.                                        | —       |
|            |                | <i>Serratula quinquefolia</i> M. Bieb.                              | +       |
|            |                | <i>Serratula radiata</i> M. Bieb.                                   | +       |
| Mutisieae  | Mutisinae      | <i>Gerbera nivea</i> (DC.) Sch. Bip.                                | —       |
|            |                | <i>Mutisia speciosa</i> Ait.                                        | —       |
|            | Nassauvinae    | <i>Moschardia pinnatifida</i> R. et P.                              | —       |
|            |                | <i>Perezia multiflora</i> Less.                                     | —       |
| Cichorieae | Scolyminae     | <i>Scolymus hispanicus</i> L.                                       | —       |
|            |                | <i>Cichorium intybus</i> L.                                         | —       |
|            | Cichorinae     | <i>Lapsana communis</i> L.                                          | —       |
|            |                | <i>Tolpis barbata</i> (L.) Gaertn.                                  | —       |
|            | Leontodontinae | <i>Hypochoeris aetnensis</i> Benth. et Hook.                        | —       |
|            |                | <i>Picris echioides</i> L.                                          | —       |
|            |                | <i>Scorzonera hispanica</i> L.                                      | —       |
|            |                | <i>Tragopogon pratensis</i> L.                                      | —       |
|            | Crepidinae     | <i>Hieracium umbellatum</i> L.                                      | —       |
|            |                | <i>Crepis biennis</i> L.                                            | —       |
|            |                | <i>Reichardia tingitana</i> (L.) Roth.                              | —       |
|            |                | <i>Sonchus paluster</i> L.                                          | —       |
|            |                | <i>Taraxacum officinale</i> Web.                                    | —       |

Tab. 2. Papierchromatographische Untersuchungen. Auf Arctiin geprüfte Früchte (Tribus und Subtribus nach Hoffmann).  
(— = Arctiin nicht nachweisbar, + = Arctiin vorhanden)

|                                          | Pflanzen-<br>teil | Arcti-<br>in |
|------------------------------------------|-------------------|--------------|
| <b>Cynareae — Carduinae</b>              |                   |              |
| <i>Arctium lappa</i> L.                  | B, S, W           | —            |
| <i>Carduus personata</i> (L.) Jacq.      | B, S, W           | —            |
| <i>Cirsium acaule</i> (L.) Scop.         | B, W              | —            |
| <i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.        | B, S              | —            |
| <i>Cirsium bulbosum</i> DC.              | B                 | —            |
| <i>Cirsium canum</i> (L.) All.           | B                 | —            |
| <i>Cirsium diacanthium</i> (Labill.) DC. | B                 | —            |
| <i>Cirsium erisithales</i> (Jacq.) Scop. | B, S              | —            |
| <i>Cirsium eriophorum</i> (L.) Scop.     | B                 | —            |
| <i>Cirsium heterophyllum</i> (L.) Hill   | B                 | —            |
| <i>Cirsium oleraceum</i> (L.) Scop.      | B                 | —            |
| <i>Cirsium palustre</i> (L.) Scop.       | B, S              | —            |
| <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.       | B                 | —            |
| <i>Cynara cardunculus</i> L.s.l.         | B, W              | —            |
| <b>Cynareae — Centaureinae</b>           |                   |              |
| <i>Centaurea nigrescens</i> Willd.       | B, S              | —            |
| <i>Centaurea scabiosa</i> L.             | B, S              | —            |
| <i>Centaurea triumphetti</i> All.        | B, S              | —            |
| <i>Cnicus benedictus</i> L.              | B, S, Bl          | —            |
| <i>Serratula tinctoria</i> L.            | B, S              | —            |

Tab. 3. Papierchromatographische Untersuchungen. Verschiedene auf Arctiin geprüfte Pflanzenteile (B = Blätter, S = Stengel, Bl = Blüten, W = unterirdische Teile). (— = Arctiin nicht nachweisbar)

mit den von den japanischen Autoren angegebenen Werten übereinstimmt. Nach der gleichen Methode wurde von uns aus *Cnicus benedictus* L. die gleiche Substanz isoliert.

#### Die Verbreitung in den übrigen Tribus der Compositae

Es wurden die Früchte von Vertretern aus allen übrigen 12 Tribus geprüft (Arten von 66 Gattungen, die 30 Subtribus angehören). Die Verbindung ließ sich in keinem Falle nachweisen. Offensichtlich ist Arctiin in den Tribus außerhalb der Cynareae nicht vorhanden.

#### Taxonomische Bedeutung des Arctiin-Merkmals

Das Arctiin-Vorkommen beschränkt sich nach unseren Untersuchungsergebnissen auf die Cynareae, wobei die Verbindung nur in zwei Subtribus (Carduinae und Centaureinae) — dort aber sehr verbreitet — auftritt. Von diesem chemischen Merkmal her gesehen bestehen engere Beziehungen zwischen den Carduinae und Centaureinae als zwischen ihnen und den Echinopsidinae bzw. Carlininae.

Hinsichtlich der Systematik der Cynareae werden von den Botanikern unterschiedliche Auffassungen vertreten. HOFFMANN<sup>8</sup> stellt Echinopsidinae und Car-

lininae als erste zwei Subtribus zu den Cynareae. Die enge Verwandtschaft zwischen Carduinae und Centaureinae drückt sich in ihrer Anordnung als dritte und vierte Subtribus aus. Allerdings wird in diesem System keine stärkere Zäsur zwischen diesen und den ersten beiden Taxa vorgenommen.

Demgegenüber bezeichnet Poddubnaja-Arnoldi<sup>9</sup> nur Carduinae und Centaureinae als „echte Cynareae“. Ohne im Gegensatz zum System Hoffmanns zu stehen, fügen sich unsere Ergebnisse einer solchen engeren Fassung der Cynareae besonders gut ein und unterstützen sie auch von einem phytochemischen Merkmal her.

#### Versuchsteil

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Mikroskopheiztisch 350 der Fa. Leitz bestimmt.

Die Messung der UV-Absorption erfolgte mit dem Spektralphotometer PMQ II der Fa. Zeiss. Schichtdicke 1 cm, Lösungsmittel Methanol.

Die spezifische Drehung wurde mit dem Polarimeter nach Lippich und Lippich-Landolt (Fa. Schmidt und Haensch) gemessen.

Zur Papierchromatographie diente das Papier Schleicher & Schüll 2043 bM. Es wurden Bogen von 20·20 cm verwandt. Die Entwicklung erfolgte aufsteigend.

Laufmittel für Papierchromatographie: (1) BEW (n-Butanol—Eisessig—Wasser 4:1:5, v/v/v; Oberphase), (2) EW (Eisessig—Wasser 15:85, v/v), (3) BPW (n-Butanol—Pyridin—Wasser 6:4:3, v/v/v).

Zum Nachweis der Flecken im kurzwelligen UV wurde die Klein-UV-Analysenlampe PULA (Emissionsmaximum 260 mμ) benutzt.

Die Herstellung der Trägerplatten für die Dünnschichtchromatographie erfolgte nach der von E. Stahl angegebenen Arbeitstechnik (E. Stahl, Arbeitsvorschrift für das DESAGA-Streichgerät). Die Elementaranalysen wurden vom Analytischen Kontrollaboratorium der Fa. Schering AG Berlin ausgeführt.

#### 1. Phytochemisch-systematische Untersuchungen

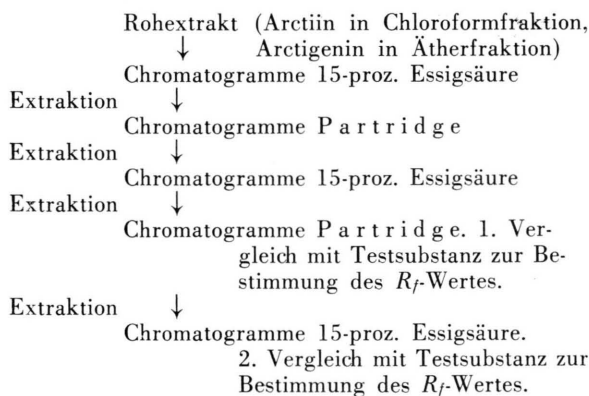
**Material und Aufbereitung.** Das Untersuchungsmaterial (Früchte) stammt zum größten Teil aus dem Botanischen Garten Berlin-Dahlem. Bei der Entnahme des Materials wurde jeweils eine Pflanze herbarisiert. Die Blütenköpfchen wurden getrocknet und die Früchte auf mechanischem Wege isoliert. Einen Teil der Früchte ließen wir uns aus verschiedenen europäischen Gärten zusenden. Andere Pflanzenteile stammen aus dem Botanischen Garten Berlin-Dahlem sowie von wildwachsenden Pflanzen aus Berlin und aus dem Tessin.

<sup>9</sup> W. Poddubnaja-Arnoldi, Beih. bot. Zbl., 2. Abt. 48, 141 [1931].

**Extraktion.** 1. Früchte. Ca. 3 g der zu untersuchenden Früchte wurden mit einer Handmühle pulverisiert. Die Extraktion erfolgte im Soxhlet-Apparat. Das Material wurde zunächst mit Petroläther entfettet, anschließend mit Äther und dann mit Chloroform ausgezogen. Die Extraktionsdauer betrug für die einzelnen Schritte jeweils 3 Stunden. Die Äther- und Chloroform-extrakte wurden auf ein gleiches Volumen (8 ml) eingeeengt. 2. Andere Pflanzenteile. Ca. 5 g der zu untersuchenden Teile wurden zerkleinert, im Soxhlet-Apparat mit Petroläther entfettet und 3 Stdn. mit Methanol extrahiert. Der Methanolextrakt wurde gleichfalls auf 8 ml eingeeengt. Unterirdische Pflanzenteile wurden wie Früchte behandelt.

**Papierchromatographie.** Auf die Startpunkte wurden jeweils 0,05 ml des Äther- und Chloroform- bzw. des Methanolextraktes aufgetragen. Als Laufmittel dienten (1) BEW und (2) EW.

Zur ersten orientierenden Untersuchung wurde mit beiden Laufmitteln sowohl eindimensional als auch zweidimensional [1. Dimension (1), 2. Dimension (2)] entwickelt. Wenn auf Arctiin hinweisende Flecken auftraten, wurden neue Chromatogramme [Laufmittel (2)] angefertigt, die den Flecken entsprechenden Partien der Chromatogramme ausgeschnitten und mit wenig Methanol auf dem Wasserbad 30 Min. extrahiert. Es wurde nun noch mehrmals mit den beiden Laufmitteln im Wechsel (eindimensional) chromatographiert und extrahiert, bis die Substanz genügend gereinigt war (s. Schema).



| $R_f$ -Werte        | Arctiin | Arctigenin |
|---------------------|---------|------------|
| Partridge           | 0,62    | 0,86       |
| 15-proz. Essigsäure | 0,84    | 0,70       |

Tab. 4.  $R_f$ -Werte von Arctiin und Arctigenin in den verwendeten Laufmittelsystemen (Papierchromatographie).

**UV-Absorptionsspektrum.** Um das UV-Absorptionsspektrum aufnehmen zu können, wurden die Flecken aus den zuletzt entwickelten Chromatogrammen erneut extrahiert. Als Vergleichslösung diente ein nach der gleichen Methode angefertigter Extrakt aus substanzfreiem Papier der gleichen Chromatogramme. Die UV-Absorption wurde im Bereich von 210–290 m $\mu$  in

einem Abstand von 5 m $\mu$  gemessen. Maxima: 230 m $\mu$ , 280 m $\mu$ .

**Farbreaktionen.** 1. Behandlung mit konz. Schwefelsäure. Die Papierchromatogramme wurden auf einer Glasplatte liegend mit konz. Schwefelsäure überschichtet. Bei Vorhandensein von Arctiin bzw. Arctigenin ist eine klar umgrenzte Rotviolett-färbung der entsprechenden Flecken zu erkennen. Während der Beobachtungszeit tritt keine Braunfärbung des Papiers ein, sofern auf Wasserfreiheit geachtet wird. 2. Besprühen der Chromatogramme mit gesättigter Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform und anschließendes Erhitzen (10 Min.) im Trockenschrank bei 90°: Rotviolett-färbung.

2. Isolierung und Identifizierung von Cnicussubstanz C (Arctiin) aus *Cnicus benedictus* L. Isolierung von Arctiin aus *Arctium lappa* L.

**Isolierung von Cnicussubstanz C aus den Früchten von *Cnicus benedictus* L.** 1 kg der feingemahlten Früchte (Handelsware der Firma Bornträger) wurden im Soxhlet-Apparat nacheinander je 24 Stdn. mit Petroläther und Äther vorextrahiert. Dann wurde die Droge in dem gleichen Gerät 30 Stdn. lang mit 5 l Methanol erschöpfend ausgezogen, der Extrakt nach dem Erkalten filtriert und das Lösungsmittel nach Hinzufügen von 10 g Calciumcarbonat unter vermindertem Druck bei 60° abgezogen. Der Rückstand wurde 5-mal mit je 200 ml Wasser auf dem Wasserbad erwärmt. Beim Erkalten setzte sich eine kleine Menge einer braunen Masse ab, die durch Dekantieren und Filtration durch eine Mullschicht entfernt wurde. Zur weiteren Klärung wurde die Lösung zentrifugiert und anschließend im Vakuum auf ein Volumen von 300 ml eingeeengt. Die konzentrierte wäßrige Lösung wurde dann in einem Scheidetrichter 10-mal mit je 100 ml Äthylacetat quantitativ ausgeschüttelt. Die vereinigten Essigester-Fractionen wurden unter vermindertem Druck auf ein Volumen von 300 ml eingeeengt und mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach mehrtägigem Aufbewahren im Kühlschrank kristallisierte die Substanz in schmutzig-weißen Kristallaggregaten aus. Ausbeute: 740 mg Rohrkristallinat (d. s. 0,07%, bezogen auf die Ausgangsdroge).

**Reinigung der Cnicussubstanz C.** 1. Durch Umkristallisieren. Das Rohkristallinat wurde bei 60° in Essigester gelöst. Nach zweitägigem Aufbewahren bei –2° war die Substanz auskristallisiert. Sie wurde in heißem Methanol gelöst und der Lösung bis zur einsetzenden Trübung Wasser zugesetzt. Nach mehrtägigem Stehen bei Zimmertemperatur fiel die Substanz in Form von weißen Nadelaggregaten aus. Sie erwies sich papierchromatographisch als noch nicht einheitlich. 2. Durch Chromatographie an einer Polyamidsäule. Etwa 50 g Perlonpulver (Versuchsprodukt PP15 der Firma BASF) wurden mit etwas Wasser in eine Chromatographie-Säule eingeschlämmt. Die Säule wuschen wir mit etwa 250 ml dest. Wasser, bis das Eluat klar abtropfte. Nun wurde das in wenig Methanol gelöste



Rohkristallisat auf die Säule gebracht und anschließend mit etwa 250 ml Methanol (50-proz.) eluiert. Ein blau fluoreszierender Begleitstoff blieb an der Säule fixiert. Nach Filtrieren und Einengen des Eluats auf ein Volumen von 25 ml kristallisierte die Substanz in rein weißen Nadeln aus. Sie wurde 12 Stdn. bei 50° im Vakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknet. Schmelzpunkt: 118°.

**Hydrolyse.** 1. Säurehydrolyse. 100 mg Substanz wurden in wenig Methanol gelöst, die Lösung bis zur einsetzenden Trübung mit Wasser verdünnt und dazu eine genau berechnete Menge Schwefelsäure gegeben, so daß eine 0,2-n Lösung resultierte. Zur Hydrolyse wurde die Lösung am Rückflußkühler eine Stde. auf dem Wasserbad erhitzt; die Badtemperatur betrug 80°. Das Aglykon, das nach dem Erkalten quantitativ ausgefallen war, wurde durch 10-maliges Ausschütteln mit Äther entfernt, die ätherische Lösung über geglühtem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Anschließend wurde das Aglykon mit kaltem Wasser säurefrei gewaschen, je zweimal aus Chloroform und Methanol umkristallisiert und im Vakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknet. Ausbeute: 66,84 mg. Schmelzpunkt: 102°. 2. Enzymatische Hydrolyse. 20 mg Substanz wurden bei 50° in 25 ml Pufferlösung (0,1-n. Natriumacetat-Essigsäure-Puffer,  $p_H$  5,6, potentiometrisch gemessen) gelöst, mit einigen mg  $\beta$ -Glucosidase (kristallin, Chem. Fabrik Buchs SG) versetzt und das Reaktionsgemisch bei 37° im Brutschrank aufbewahrt. Nach 24 Stdn. wurde das Aglykon durch 5-maliges Ausschütteln mit je 20 ml Äther entfernt und die Lösung über Natriumsulfat getrocknet. Nach Vertreiben des organischen Lösungsmittels wurde das Aglykon aus Methanol umkristallisiert. Nach dem Trocknen betrug der Schmelzpunkt 102°. Eine papierchromatographische Kontrolle bewies eine quantitative Spaltung. Als Blindprobe wurde ein zweiter Ansatz ohne  $\beta$ -Glucosidase den gleichen Bedingungen unterworfen. Es trat keine Hydrolyse ein.

**Papierchromatographie und Osazonbildung des Zuckeranteils.** Die Hydrolyseflüssigkeit wurde nach Neutralisation auf Zucker untersucht.

**Papierchromatographie:**

| $R_f$ -Werte |                                 | BPW  | BEW  |
|--------------|---------------------------------|------|------|
|              | Zuckeranteil von Cnicussubst. C | 0,36 | 0,21 |
|              | D-Glucose                       | 0,36 | 0,21 |

Tab. 5. Papierchromatographischer Vergleich des bei der Hydrolyse von Cnicussubstanz C entstehenden Zuckers mit D-Glucose.

**Sprühmittel:** Anilinphthalatlösung nach Partridge (1,66 g o-Phthalsäure + 0,93 g Anilin in 100 ml wassergesättigtem n-Butanol).

**Osazon.** Der Schmelzpunkt des Osozons betrug 208 bis 209°. Im Mischschmelzpunkt mit authentischem Glucoseosazon trat keine Depression ein.

**Spezifische Drehung:**  $[\alpha]_D^{20} = -38,8^\circ$  ( $c = 1,003$  g/l in Chloroform).

**Elementaranalyse.** Zur Analyse wurde das Glykosid 24 Stdn. im Hochvakuum bei 50° über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

$C_{27}H_{34}O_{11} \cdot H_2O$  (552,6)

Ber. C 58,69 H 6,57 O 34,75,

Gef. C 59,0 H 6,8 O 34,2.

Der Sauerstoff wurde direkt bestimmt. Gewichtsverlust beim Trocknen im Hochvakuum bei 80°: 3,84%; das entspricht einem Kristallwasserverlust von 1 Mol.

**Isolierung von Arctiin aus Früchten von *Arctium lappa* L. zu Vergleichszwecken**

Die Isolierung von Arctiin erfolgte nach der oben beschriebenen Methode für Cnicussubstanz C. Es wurden 1 kg Früchte (Handelsware der Firma Bornträger) verarbeitet. Ausbeute: 650 mg (= 0,065%). Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit Cnicussubstanz C betragen 118°.

**Säurehydrolyse des Arctiins aus *Arctium lappa* L.**

Die Hydrolyse des Arctiins erfolgte ebenfalls durch 0,2-n Schwefelsäure. Schmelzpunkt des Arctigenins und Mischschmelzpunkt mit dem Aglykon aus Cnicussubstanz C: 102°.

**Vergleichschromatographie der Cnicussubstanz C und des Arctiins aus *Arctium lappa* L.**

**Papierchromatographie**

|                  | $R_f$<br>BEW EW | Antimontrichlorid in Chloroform | Diazotierte Sulfanilsäure |
|------------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------|
| Cnicussubstanz C | 0,62 0,84       | rotviolett                      | —                         |
| Arctiin          | 0,62 0,84       | rotviolett                      | —                         |
| Cnicussubstanz C |                 |                                 |                           |
| Aglykon          | 0,86            | rotviolett                      | rot                       |
| Arctigenin       | 0,86            | rotviolett                      | rot                       |

Tab. 6. Papierchromatographischer Vergleich der Cnicussubstanz C und ihres Aglykons mit Arctiin und Arctigenin.

**Dünnschichtchromatographie.** Adsorbens: Kieselgel G (Merck) nach E. STAHL. Schichtdicke: 250  $\mu$ . Laufmittel: (1) Essigester—Methanol (95:5, v/v), (2) Cyclohexanol—Essigester (70:80, v/v).

|                  | $R_f$<br>(1) (2) | Antimontrichlorid in Chloroform | konz. Schwefelsäure |
|------------------|------------------|---------------------------------|---------------------|
| Cnicussubstanz C | 0,23 —           | rotviolett                      | rotviolett          |
| Arctiin          | 0,23 —           | rotviolett                      | rotviolett          |
| Cnicussubstanz C |                  |                                 |                     |
| Aglykon          | 0,77 0,64        | rotviolett                      | rotviolett          |
| Arctigenin       | 0,77 0,64        | rotviolett                      | rotviolett          |

Tab. 7. Dünnschichtchromatographischer Vergleich der Cnicussubstanz C und ihres Aglykons mit Arctiin und Arctigenin.

# Quantitative UV-Spektren der Cnicussubstanz C und des Arctiins

Die UV-Absorptionskurven (Bereich von 210 bis 290 m $\mu$ ) der Cnicussubstanz C und des Arctiins aus *Arctium lappa* L. stimmten nach Lage und Höhe der Banden überein. Die korrespondierenden Aglyka der

beiden Substanzen zeigten die gleichen Maxima. Cnicussubstanz C, Maxima:  $\lambda = 211 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4,20$ ),  $\lambda = 230 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4,18$ ),  $\lambda = 280 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,71$ ). Arctiin, Maxima:  $\lambda = 211 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4,24$ ),  $\lambda = 230 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4,20$ ),  $\lambda = 280 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,74$ ).

## Photosyntheseversuche in Tritiumwasser mit *Chlorella*

Von HELMUT SIMON, HANS-DIETER DORRER und ACHIM TREBST

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Z. Naturforschg. **19 b**, 734—744 [1964]; eingegangen am 31. März 1964)

The incorporation of tritium into carbohydrates during photosynthesis with *Chlorella* was investigated. The fixation of  $^{14}\text{C}$  and T was compared by providing  $^{14}\text{CO}_2$  and HOT simultaneously. The intramolecular distribution of T in hexose and glyceric acid was determined by degradation. The incorporation of T during the carboxydismutase, the aldolase and triosephosphate-isomerase reaction was studied in enzyme systems.

The results indicate that — in general — incorporation of T into the products of photosynthesis is due to isomerisation reactions. The influence of isotope effects at various stages of the photosynthetic cycle on the final T-content is discussed.

The intramolecular T-distribution in the glucose from starch is different from that of soluble glucose derivatives. To interpret this, it is assumed that the isomerisation of fructose-6-phosphate to glucose-6-phosphate firstly is completely intramolecular in intact *Chlorella* and secondly shows a large discrimination for tritium-containing (at C-1) molecules. Thirdly, it is proposed that the sequence of reactions from fructose-6-phosphate to starch occurs in a multienzyme system without exchange with free sugar phosphate-pools.

Die Photosynthese besteht in der Bildung von Kohlenhydraten und Sauerstoff aus Kohlendioxid und Wasser. Die Versuche von CALVIN mit  $^{14}\text{C}$  klärten den Weg des Kohlenstoffs auf<sup>1</sup>.

Untersuchungen mit einem Isotop des anderen Substrates (D oder T) trugen bisher wenig zum Verständnis der Kohlenhydrat-Biosynthese bei. Der Einbau von T während der Photosynthese in verschiedene Substanzgruppen, wie Chlorophylle, Carotine oder Plastochinon, wurde von VISHNIAC<sup>2</sup> studiert.

MOSES und CALVIN<sup>3</sup> zeigten, daß Tritium aus HOT\* nach kurzen Fixierungszeiten in *Chlorella* in den gleichen Substanzen auftritt wie  $^{14}\text{C}$  nach Gabe von  $^{14}\text{CO}_2$ . Besonders Glykolsäure und andere organische Säuren hatten jedoch eine überraschend hohe T-Aktivität. Der Einbau von T in Zuckerderi-

vate betrug im Dunkeln immer noch die Hälfte von dem im Licht.

ARONOFF und CHOI<sup>4</sup> ließen ein Sojabohnen-Blatt in einer HOT-haltigen Atmosphäre photosynthetisieren und verglichen die spez. Aktivität der gebildeten Zucker mit der des Wassers. Vor einigen Jahren boten wir<sup>5</sup> *Chlorella* und Chloroplasten aus Spinat gleichzeitig  $^{14}\text{CO}_2$  und HOT an und bestimmten den T-Einbau pro  $^{14}\text{C}$  in einigen Kohlenhydraten. GOLDSBY und BASSHAM<sup>6</sup> berichteten kürzlich über ähnliche Versuche des Einbaus von  $^{14}\text{C}$  und T in einige organische Säuren.

Über die Ergebnisse weiterer Versuche zur photosynthetischen Fixierung von T in *Chlorella*, insbesondere über die intramokeluläre Verteilung von T in Hexosen aus Hexosephosphaten, Stärke und Saccharose, soll hier berichtet werden. Zum Vergleich

<sup>1</sup> J. A. BASSHAM u. M. CALVIN, The Path of Carbon in Photo-Photosynthesis, Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.Y. 1957.

<sup>2</sup> W. VISHNIAC, Symposiumsvortrag V. Int. Kongreß f. Biochemie, Moskau 1961, Pergamon Press 1963.

<sup>3</sup> V. MOSES u. M. CALVIN, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **33**, 297 [1959].

\* Folgende Abkürzungen wurden benutzt: HOT = tritiumhaltiges Wasser; FdiP = Fructose-1,6-diphosphat; RudiP

= Ribulose-1,5-diphosphat; PGS = 3-Phosphoglycerinsäure; GAP = Glycerinaldehyd-3-phosphat; DHAP = Dihydroxyacetonphosphat; F-6-P = Fructose-6-phosphat; G-6-P = Glucose-6-phosphat; AeDTE = Äthylendiamintetraessigsäure; Tris = Trihydroxymethyl-aminomethan.

<sup>4</sup> S. ARONOFF u. I. C. S. CHOI, Arch. biochem. Biophysics **102**, 159 [1963].

<sup>5</sup> H. SIMON u. A. TREBST, Z. Naturforschg. **16 b**, 285 [1961].

<sup>6</sup> R. A. GOLDSBY u. J. A. BASSHAM, UCRL-9652, 139 [1962].