

Note

Dünnschichtchromatographie von Guajanoliden des Unterstammes Centaureinae

GERARD NOWAK

Chair and Department of Medicinal Plants, Academy of Medicine, Mazowiecka 33, 60-623 Poznań (Poland)
(Eingegangen am 24. August 1989; geänderte Fassung am 30. November 1989)

Guajanolide gehören zu den häufigsten Sesquiterpenlaktonen der Pflanzen des Unterstammes Centaureinae, Familiae Compositae. Diese Inhaltsstoffe haben wesentliche Bedeutung bei Bestimmung der richtigen Pflanzenverwandtschaften und beweisen eine breite biologische Wirksamkeit.

Eine Vorbestimmung der Sesquiterpenlaktone wird mittels Dünnschichtchromatographie am Kieselgel durchgeführt. Als Nachweisreagens wird am häufigsten Schwefelsäure verwendet. Es wurde beobachtet, dass verschiedene Farben der Guajanolide von manchen strukturellen Einzelheiten abhängig sind. Diese Beobachtung bezieht sich auf 20 verschiedene Verbindungen von diesem Typ, u.a. aus *Centaurea bella* Trautv.^{1,2}, *Psephellus leucophyllus* MB.³, *Chartolepis pterocaula* (Trautv.) Czer.⁴ und *Leuzea carthamoides* DC⁵.

MATERIAL UND METHODEN

Das Untersuchungsmaterial bildeten Guajanolide, die vorher aus Pflanzen des Unterstammes Centaureinae isoliert wurden. Die Isolierungsmethoden sind in der Literatur zu finden¹⁻⁵. 15-Desoxyrepin und Linichlorin B stammten aus *Psephellus leucophyllus*³, Cynaropikrin aus *Leuzea carthamoides*⁵, Grossheimin und Pterocaulin aus *Chartolepis pterocaula*⁴, Centaurepentin, Repin, Chlorojanerin, Acroptilin, Janerin, Repdiolid, Cebellinen A, B, D^a, E, F, G, H, I, J aus *Centaurea bella*^{1,2}. Die genannten Sesquiterpenlaktone (Tabelle I) wurden mit chromatographischen, physikalischen (Schmelztemperatur) und spektralen (IR, MS, ¹H NMR) Methoden identifiziert¹⁻⁵.

Die chromatographischen Analysen wurden bei der Zimmertemperatur ($\approx 20^\circ\text{C}$) an 20 × 20 cm DC-Plastikfolien Kieselgel 60/Merck, Darmstadt, B.R.D.) geführt.

Die Guajanolide wurden in der Menge von 10–15 µg auf Folien aufgetragen. Bei geringerer Menge (6–8 µg) wurden die Fleckenfarben unbestimmbar.

^a Guajanolid früher als 8-Desacetylcentaurepentin-8-O(4-hydroxy)tiglinat beschrieben⁶.

Die Folien wurden in ungesättigten Kamern entwickelt. Folgende Fließmittel wurden verwendet:

(A) Chloroform–Hexan–Ethylacetat (1:1:1, v/v/v) für die Trennung von Sesquiterpenlaktone aus *Psephellus leucophyllus* und *Leuzea carthamoides*;

(B) Hexan–Ethylacetat (1:3, v/v) für die Trennung von Guajanoliden aus *Chartolepis pterocaula*;

(C) Hexan–Chloroform–Benzen–Ethylacetat (2:2:1:7, v/v) für die Trennung von Verbindungen aus *Centaurea bella*.

Die entwickelten und getrockneten Chromatogramme wurden mit konzentrierter H_2SO_4 besprüht und bei einer Temperatur von $100^\circ C$ binnen 1–2 min erhitzt. Die Fleckenfarben wurden in 15 min nach Besprühen des Chromatogramms bestimmt.

Die Ergebnisse der chromatographischen Kontrolle wurden in Tabelle I dargestellt.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Flecken der analysierten Guajanolide (Tabelle II) wurden vorwiegend grün (Centaurepensin, Chlorojanerin, Cebellin D, E, I, J und Pterocaulin), dunkelblau (15-Desoxyrepin, Linichlorin B, Cynaropikrin und Cebellin F), braun (Repin, Acroptilin und Janerin) und schwarz (Cebellin A, B und Repdiolid) gefärbt.

TABELLE I

AUFGABEN ÜBER AUFTRETEN UND CHROMATOGRAPHIE DER ANALYSIERTEN GUAJANOLIDE

Guajanolid	Gewonnen aus	Fließmittel	R_F	Farbe in konzentrierter H_2SO_4
15-Desoxyrepin	<i>Psephellus leucophyllus</i>	A	0.71	Dunkelblau
Linichlorin B			0.60	Dunkelblau
Cynaropikrin	<i>Leuzea carthamoides</i>	A	0.43	Dunkelblau
Grossheimin	<i>Chartolepis pterocaula</i>	B	0.68	Orange
Pterocaulin			0.33	Grün
Centaurepensin	<i>Centaurea bella</i>	C	0.74	Grün
Cebellin A			0.67	Schwarz
Repin			0.63	Braun
Cebellin B			0.61	Schwarz
Chlorojanerin			0.57	Grün
Acroptilin			0.54	Braun
Cebellin D			0.51	Grün
Cebellin E			0.44	Grün
Janerin			0.41	Braun
Cebellin F			0.38	Dunkelblau
Cebellin G			0.28	Grau
Repdiolid			0.26	Schwarz
Cebellin H			0.24	Grau
Cebellin I	0.17	Grün		
Cebellin J	0.08	Grün		

TABELLE II

AUFTEILUNG VON MANCHEN GUAJANOLIDEN AUS DEM UNTERSTAMM CENTAURE-
INAE NACH IHRER FLEBKENFARBE IN H₂SO₄

<i>Guajanolid</i>	<i>Strukturformel^a</i>	<i>Farbenbestimmende Substituenten</i>
	Braun	
Repin		
Acroptilin		
Janerin		
	Dunkelblau	
15-Desoxyrepin		
Linichlorin B		
Cynaropikrin		
Cebellin F		

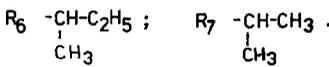
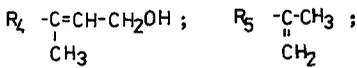
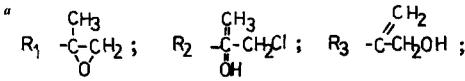
(Fortsetzung S. 420)

TABELLE II (Fortsetzung)

<i>Guajanolid</i>	<i>Strukturformel^a</i>	<i>Farbenbestimmende Substituenten</i>
	Schwarz	
Cebellin A		
Cebellin B		
Repdiolid		
	Grün	
Centaurepsin		
Chlorojanerin		
Cebellin D		
Cebellin E		
Cebellin I		

TABELLE II (Fortsetzung)

Guajanolid	Strukturformel ^a	Farbenbestimmende Substituenten
Pterocaulin		
Cebellin J		
Grau		
Cebellin G		
Cebellin H		
Orange		
Grossheimin		



Für die Farbveränderungen sind Substituenten am fünfgliedrigen Guajanolidring verantwortlich. Das erweist sich aus dem Strukturvergleich z.B. von Linichlorin B, Acroptilin und Centaurepensin, die sich in der Farbe und nur mit Substituenten an C-4 voneinander unterscheiden (Tabelle II).

Es scheint, dass die braune Farbe des Guajanolidflecks vom Epoxid an C-4 und von der OH-Gruppe an C-3 bedingt ist. An C-15 fehlt hingegen der Sauerstoff — beim Übergang des Epoxids in Exomethylen werden also die Flecken dunkelblau gefärbt. Demnach ergibt Repin auf Chromatogrammen braune und 15-Desoxyrepin dunkelblau Farbe. Analog wird Acroptilin braun und Linichlorin B (15-Desoxyacroptilin) dunkelblau. Derselbe Zusammenhang tritt bei Janerin und Cynaropikrin (15-Desoxyjanerin) auf.

Zusätzlichen Sauerstoffgruppen an C-2, im Bereich des kleinen Guajanringes 15-Desoxyrepins und ähnlichen Verbindungen, verursachen schwarze Fleckenfarbe, wie es bei Cebellin A, B und Repdiolid der Fall ist.

Bei Strukturanalyse der grüngefärbten Guajanolide ist die Anwesenheit von mehreren Sauerstoffverbindungen und Chlor bemerkenswert. Bei jeder dieser Verbindungen erscheinen an C-15 Sauerstoff (Cebellin I), Hydroxyl (Pterocaulin, Cebellin J) oder Chlor (Centaurepensin, Chlorojanerin, Cebellin D, Cebellin E). Die meisten haben auch eine Hydroxylgruppe an C-4, Cebellin E und I enthalten das zusätzliche Hydroxyl an C-2 und C-1, was den beiden Verbindungen eine grössere Polarität verleiht, ähnlich wie die Hydroxylgruppe an C-15 anstelle von Chlors.

Die Blockierung der Hydroxylgruppe an C-15 verursacht, dass Flecken des Cebellins G und H (bei Erhaltung derselben chromatographischen Konzentration) auf dem mit H_2SO_4 entwickelten Chromatogramm wenig sichtbar sind und graue Farben detegierten.

Alle bisher analysierten Verbindungen enthalten eine Hydroxylgruppe an C-3, in dieser Hinsicht ist Grossheimin abweichend und ergibt eine orange Farbe.

TABELLE III

SUBSTITUENTE DER GUAJANOLIDE DES UNTERSTAMMS CENTAUREINAE NACH DER STEIGERNDEN POLARITÄT

C-4	C-8
$\begin{array}{c} \text{C}-\text{CH}_2\text{Cl} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{C}-\text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ -\text{C}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{CH}_3 \\ \\ -\text{C}-\text{CH}_2\text{Cl} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ -\text{C}-\text{CH}_2\text{OH} \\ \\ -\text{C}=\text{CHCH}_2\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

Wie bereits erwähnt, haben die Substituenten an C-8, die bei den meisten Guajanoliden des Unterstammes Centaureinae auftreten, keinen Einfluss auf ihre Farbe mit H_2SO_4 . Manche Schlussfolgerungen betreffend Esterbindungen an C-8 sind jedoch aus ihrer Polarität zu ziehen, was in Tabelle III illustriert wird.

Angaben aus den Tabellen II und III können zur Voridentifizierung der isolierten Sesquiterpenlaktone dienen.

Die Untersuchungen der Beziehungen zwischen Guajanolidstrukturen und -farben auf Chromatogrammen mit H_2SO_4 werden fortgesetzt, weil sie auch für andere Sorten Sesquiterpenlaktone interessant sind.

DANKSAGUNG

Die Arbeit wurde aus dem Zwischeressort-Problem CPBP 01.13 20 finanziert.

LITERATUR

- 1 G. Nowak, B. Drożdż, M. Holub, M. Buděšinský und D. Šaman, *Acta Soc. Bot. Pol.*, 55 (1986) 227.
- 2 G. Nowak, M. Holub und M. Buděšinský, *Acta Soc. Bot. Pol.*, 58 (1989) 97.
- 3 G. Nowak, B. Drożdż, M. Holub und A. Łagodzińska, *Acta Soc. Bot. Pol.*, 55 (1986) 629.
- 4 G. Nowak, B. Drożdż und M. Holub, *Acta Soc. Bot. Pol.*, 55 (1986) 233.
- 5 G. Nowak, M. Holub und M. Buděšinský, *Acta Soc. Bot. Pol.*, 57 (1988) 156.
- 6 A. Rustaiyan, Z. Sharif, A. Tajarodi, J. Ziesche und F. Bohlmann, *Planta Med.*, 2 (1984) 193.