

L-Leucanthemit als Inhaltsstoff von Gymnospermae

Von

H. Kindl, G. J. Kremlicka und O. Hoffmann-Ostenhof

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 26. September 1966)

Die Bildung und das Vorkommen von Cycliten in *Thuja occidentalis* wurden mit Hilfe der Methode der Photoassimilation in einer Atmosphäre von $^{14}\text{CO}_2$ untersucht. Neben *myo*-Inosit, Sequoyit, *D-chiro*-Inosit und *D*-Pinit wurde auch L-Leucanthemit (L-1,2,4/3-Cyclohexentetrol), ein Cyclit, der bisher nur als Inhaltsstoff mehrerer Angiospermae bekannt ist, nachgewiesen. Das Vorkommen von L-Leucanthemit konnte auch in *Pinus austriaca* sichergestellt werden. Methoden zur Isolierung von L-Leucanthemit aus *Thuja occidentalis* wurden ausgearbeitet.

The formation and the occurrence of cyclitols in *Thuja occidentalis* has been studied, using the method of photoassimilation in an atmosphere of $^{14}\text{CO}_2$. Besides *myo*-inositol, sequoyitol, *D-chiro*-inositol, and *D*-pinitol, also L-leucanthemitol (L-1,2,4/3-cyclohexentetrol), a cyclitol which so far has only been found in Angiospermae, was identified. The occurrence of L-leucanthemitol could also be established in *Pinus austriaca*. Methods have been elaborated which permit the isolation of L-leucanthemitol from *Thuja occidentalis*.

In der Natur wurden bisher nur zwei Cyclohexentetrole aufgefunden. Der schon seit langem bekannte Condurit (1,4/2,3-Cyclohexentetrol) (1) wurde erstmalig aus der Rinde von *Marsdenia condurango*, der Condurangerinde, isoliert¹ und findet sich nach den vorliegenden Befunden nur in der Familie der Aselepiadaceae².

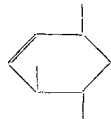
1962 konnte Plowier³ aus *Chrysanthemum leucanthemum* einen Cyclit isolieren, den er als Isomeres des Condurits erkannte und dem er den Namen Leucanthemit gab. Es handelt sich um eine optisch aktive Ver-

¹ V. Kubler, Arch. Pharmazie **245**, 623, 645 (1908).

² H. Kindl und O. Hoffmann-Ostenhof, Fortschr. Chem. organ. Naturst. **24**, 149 (1966).

³ V. Plowier, C. r. hebdomad. Sé. Acad. Sci. Paris **225**, 360 (1962).

bindung, der die Formel eines L-1,2,4/3-Cyclohexentetrols (2) zukommt. L-Leucanthemit ist, wie besonders aus Arbeiten aus unserem Laboratorium hervorgeht², in höheren Pflanzen viel weiter verbreitet als Condurit, kommt aber meist nur in sehr geringen Konzentrationen vor. Die bisherigen Befunde über die Auffindung von L-Leucanthemit beschränken sich auf Angiospermae; in der vorliegenden Arbeit wird das erste Mal über Vorkommen und Bildung in zwei Arten der Gymnospermae berichtet.



Condurit

(1)



L-Leucanthemit

(2)

Bei der Untersuchung der Cyclitbildung in *Thuja occidentalis* bedienten wir uns der Methode der Photoassimilation in einer ¹⁴CO₂-Atmosphäre hoher spezifischer Aktivität, welche es erlaubt, die Entstehung auch sehr geringer Mengen von Naturstoffen festzustellen. Dabei wurden nach der papierchromatographischen Auftrennung neben aktiven Fraktionen, die als *myo*-Inosit, Sequoyit, *D-chiro*-Inosit und *D*-Pinit (Verhältnis der Radioaktivitäten 4:4:1:10) identifiziert wurden, noch weitere Aktivitätsspitzen gefunden. Verbindungen, welche sich nach der Elution vom Papier unzersetzt im Vakuum sublimieren ließen, wurden eingehender untersucht.

Anteile dieser durch mehrfache Chromatographie und Sublimation im Vakuum gereinigten Substanzen wurden mit *D*-Bornesit, L-Quebrachit, Dambonit, L-Viburnit und L(+)-Quercit vermischt und die Mischungen 4 bis 6mal umkristallisiert. Bei all diesen Versuchen sank aber die spezifische Aktivität der Kristallisate stark ab, womit bewiesen werden konnte, daß die genannten Verbindungen in *Thuja occidentalis* — wenn überhaupt — höchstens in einer Konzentration, die 10⁵mal geringer ist als diejenige des *D*-Pinit, gebildet werden.

Eine der im ersten Chromatogramm erhaltenen Aktivitätsspitzen zeigte aber in verschiedenen Lösungsmittelgemischen den gleichen *R_f*-Wert wie L-Leucanthemit⁴. Um den sich aus diesem Befund ergebenden Schluß sicherzustellen, ließen wir *Thuja occidentalis* in einer ¹⁴CO₂-Atmosphäre sehr hoher spezifischer Aktivität (0,16 mC/mg BaCO₃) und hoher Gesamtaktivität (4,8 mC) 10 Tage lang photoassimilieren. Bei der Aufarbeitung wurde sofort mit L-Leucanthemit verdünnt. Nach chemischer Anreicherung und mehrfacher papierchromatographischer Auftrennung wurde die L-Leucanthemit enthaltende Fraktion im Vakuum

⁴ H. Kindl und O. Hoffmann-Ostenhof, *Phytochem.* **5**, 1091 (1966); *Mh. Chem.* **97**, 1771, 1778 (1966).

sublimiert. Das anfangs ölige Produkt kristallisierte bald durch und zeigte nach zweimaligem Umkristallisieren eine geringe, etwa 5proz. Steigerung der spezifischen Aktivität; Schmp. = 132°. Die Aktivität betrug 0,5 μC , d. h. etwa 0,01% der beim Photoassimilationsversuch eingesetzten Aktivität. Als Vergleichssubstanz diente ein aus *Chrysanthemum leucanthemum* isoliertes Präparat von L-Leucanthevit. Durch Hydrierung der aus *Thuja occidentalis* gewonnenen L-Leucanthevit-Präparation wurde 1,2,4/3-Cyclohexantetrol (Schmp. 160°) gleicher spezif. Aktivität erhalten.

In gleicher Weise ließ sich auch durch Photoassimilation in $^{14}\text{CO}_2$ -Atmosphäre die Bildung von L-Leucanthevit in *Pinus austriaca* nachweisen; hier wurden 0,003% der eingesetzten Aktivität in L-Leucanthevit wiedergefunden.

Durch Umkristallisieren der Eluate aus den entsprechenden Zonen der Papierchromatogramme mit Proben von aus *Marsdenia condurango* gewonnenem Condurit (1) wurde gezeigt, daß sowohl in *Thuja occidentalis* als auch in *Pinus austriaca* Condurit — wenn überhaupt — nur höchstens in einer Konzentration, die 100fach geringer ist als diejenige des L-Leucanthevits, gebildet wird.

Die vorliegenden Befunde wurden schließlich durch direkte Isolierung von L-Leucanthevit aus *Thuja occidentalis* gesichert. Dabei wurde der Rohextrakt mit Hilfe von Sephadex G 10 aufgetrennt; als Elutionsmittel eigneten sich sowohl Wasser als auch 0,1 *m*-Boratlösung von pH 9,5. Die weitere Reinigung des Produktes erfolgte durch Papierchromatographie und fraktionierte Hochvakuumsublimation.

Mit diesen Ergebnissen wird gezeigt, daß L-Leucanthevit, der bisher als häufiger, wenn auch nur in geringen Mengen vorkommender Inhaltsstoff von Angiospermae erkannt worden war, auch in Gymnospermae zu finden ist. Man kann annehmen, daß L-Leucanthevit allgemein in höheren Pflanzen weit verbreitet ist.

Die vorliegende Arbeit wurde durch einen Förderungsbeitrag der Ludwig Boltzmann-Gesellschaft, Wien, in großzügiger Weise unterstützt, wofür wir unseren Dank aussprechen.

Experimenteller Teil

Allgemeine Methoden. Die Durchführung der Photoassimilation in einer Atmosphäre von $^{14}\text{CO}_2$, die Isolierung der markierten Cyclite und die Messung der Radioaktivität wurden vor kurzem von uns ausführlich beschrieben⁴.

Isolierung von L-Leucanthevit aus Thuja occidentalis. 250 g Blätter von *Thuja occidentalis* wurden zerkleinert und darauf einmal mit Aceton und dreimal mit 0,01 *n*-HCl ausgekocht. Die Extrakte wurden eingeengt, mit Tierkohle behandelt und zentrifugiert. Die überstehende, schwach gefärbte Lösung wurde dann im Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft. Der Rück-

stand wurde in 10 ml Wasser gelöst, filtriert und auf eine Säule (1×27 cm), die mit Sephadex G 10 gefüllt war, aufgetragen. Zur Elution diente Wasser; nach 27 ml Eluat erschien eine schwach braun gefärbte Fraktion, die solange in Portionen zu je 1 ml aufgefangen wurde, bis Chlorionen nachweisbar waren. Die einzelnen Fraktionen wurden eingeengt und papierchromatographisch auf L-Leucanthevit untersucht. Dieser fand sich in den Fraktionen 6 bis 8, entsprechend einem R_f -Wert von 0,85 bis 0,80. Die vorhergehenden Fraktionen enthielten zuerst hochpolymere Farbstoffe, Disaccharide und Uronsäuren; unmittelbar vor L-Leucanthevit fanden sich im Eluat *myo*-Inosit, Sequoyit, D-Glucose, D-Fructose und D-Pinit. In den nach L-Leucanthevit folgenden Fraktionen waren Erythrit und Glycerin nachweisbar. Die Fraktionen mit L-Leucanthevit, die noch geringe Mengen von *myo*-Inosit enthielten, wurden vereinigt, eingeengt und schließlich auf einen Bogen Chromatographiepapier (25 cm Breite, Macherey, Nagel & Co., MN 847) aufgetragen. Als Laufmittel diente eine Mischung von *n*-Butanol—Pyridin—Wasser (10 : 3 : 3, *v/v/v*). Die dem L-Leucanthevit entsprechende Zone wurde eluiert und nach Einengen fraktioniert im Hochvak. sublimiert. Das Sublimat wurde aus Methanol—Benzol umkristallisiert und ergab 8 mg eines bei 131—132° schmelzenden Produktes, welches sich als völlig identisch mit einem aus *Chrysanthemum leucanthemum* isolierten Präparat von L-Leucanthevit erwies.

Die Roh-Leucanthevit-Fraktion konnte auch mit Vorteil auf eine Säule ($3,5 \times 18$ cm) aufgebracht werden, die mit Sephadex G 10, das in einer 0,1 *m*-Boratlösung (pH 9,5 durch Einstellung mit konz. NH_3) aufgeschlämmt wurde, beschickt war. Es wurde mit der gleichen Boratlösung eluiert; nach 80 ml wurde das Eluat in 5-ml-Portionen aufgefangen. In den ersten Fraktionen ließen sich nur Disaccharide und Uronsäuren nachweisen; die Fraktionen 5 und 6 enthielten *myo*-Inosit und Sequoyit. Erst nach starker Retention erschien L-Leucanthevit in den Fraktionen 7 und 8. Die Nachfraktionen enthielten Erythrit und Glycerin. Die weitere Aufarbeitung der L-Leucanthevit enthaltenden Fraktionen erfolgte wie oben beschrieben.