

AUCUBINARTIGE GLUCOSIDE (PSEUDOINDIKANE) UND VERWANDTE HETEROSIDE ALS SYSTEMATISCHE MERKMALE

J. H. WIEFFERING

Laboratorium voor experimentele plantensystematiek, Universität Leiden, Holland

(Eingegangen 11 Mai 1966)

Zusammenfassung—Ein Feldtest zum Nachweis und eine papierchromatographische methode zur Identifizierung aucubinartiger Glucoside werden beschrieben. Beide lassen sich auf Frischpflanzen und auf Herbariummaterial anwenden. Bei *Galeopsis tetrahit* und *Cardanthera triflora* wurden neue aucubinartige Verbindungen beobachtet. *Callitriche*-Arten enthalten Aucubin und Catalpol. Bei den Cornaceen kommt Cornin ebenfalls im Genus *Corokia* vor und im Genus *Mastixia* tritt Loganin in der Rinde auf. Die meisten untersuchten Labiatae enthalten Harpagid und Acetylharpagid. Bei den Scrophylariaceen und nächstverwandten Sippen (Globulariaceae, Lentibulariaceae) scheint Aucubin in vielen Fällen von Catalpol und weiteren aucubinartigen Stoffen begleitet oder durch solche ersetzt zu sein. Auf die taxonomische Bedeutung der mitgeteilten Beobachtungen wird kurz hingewiesen.

Abstract—A field test and a paper chromatographic method for the detection and identification of aucubin-like glycosides are described. Both methods can be applied to fresh plants as well as to herbarium specimens. New aucubin-like substances have been detected in *Galeopsis tetrahit* and in *Cardanthera triflora*. *Callitriche* species contain both aucubin and catalpol. In Cornaceae, cornin also occurs in *Corokia*, and *Mastixia* contains loganin in the bark. Most Labiatae investigated contain harpagide and its acetylated derivative. In Scrophylariaceae and related families (e.g. Globulariaceae, Lentibulariaceae) aucubin seems most often to be accompanied or replaced by catalpol and other aucubin-like glycosides. Some taxonomic implications of the observations reported are discussed briefly.

1. EINLEITUNG

DIE IRIDOIDEN Pflanzenstoffe stellen vermutlich eine homologe, d.h. biogenetisch einheitliche, Reihe von Stoffwechselprodukten dar. Wenn dies tatsächlich der Fall ist, dann weist ihr Auftreten in bestimmten Pflanzengruppen auf prinzipiell ähnliche Stoffwechseleigenarten der betreffenden Sippen hin. Zu dieser Kategorie von Verbindungen rechnen wir Aetherisch-Oel-Bestandteile vom Typus Iridodials und Nepetalactons (Abb. 1, I, II), die Enollactol-glucoside mit C₈-, C₉- oder C₁₀-Aglykon (III–VIII, Plumierid rechnen wir zu den C₁₀-Heterosiden), die gentopikrinartigen Glucoside (XII–XIV) und die alkaloidartigen Verbindungen vom Typus des Tecomanins und Actinidins (IX–XI).^{1–3} Ausserdem stammt der Nicht-Amin-Anteil der Alkaloide vom Typus des Emetins (XVIII), des Tubulosins (XVII) und der komplexen Indolbasen (XVI) aus dem gleichen Stoffwechselbereich.⁴

Dieses mannigfaltige Spektrum homologer Pflanzenstoffe, die sich von cyclopentanoiden Monoterpenen ableiten lassen,^{1–4} verdient Beachtung durch die Pflanzensystematik. Nach bisherigen Erfahrungen treten iridoide Stoffe (abgesehen von ihrem Vorkommen bei Ameisen)

¹ R. THOMAS, *Tetrahedron Letters* 544 (1961).

² H. C. BEYERMAN, L. A. VAN DIJK, J. LEVISALLES, A. MELERA und W. L. C. VEER, *Bull. Soc. Chim. Franc.* 1812 (1961).

³ R. HEGNAUER, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Vol. 3, p. 29. Birkhäuser, Basel (1964).

⁴ A. R. BATTERSBY, R. T. BROWN, R. S. KAPIL, A. O. PLUNCCKETT und J. B. TAYLOR, *Chem. Commun.* 46 (1966).

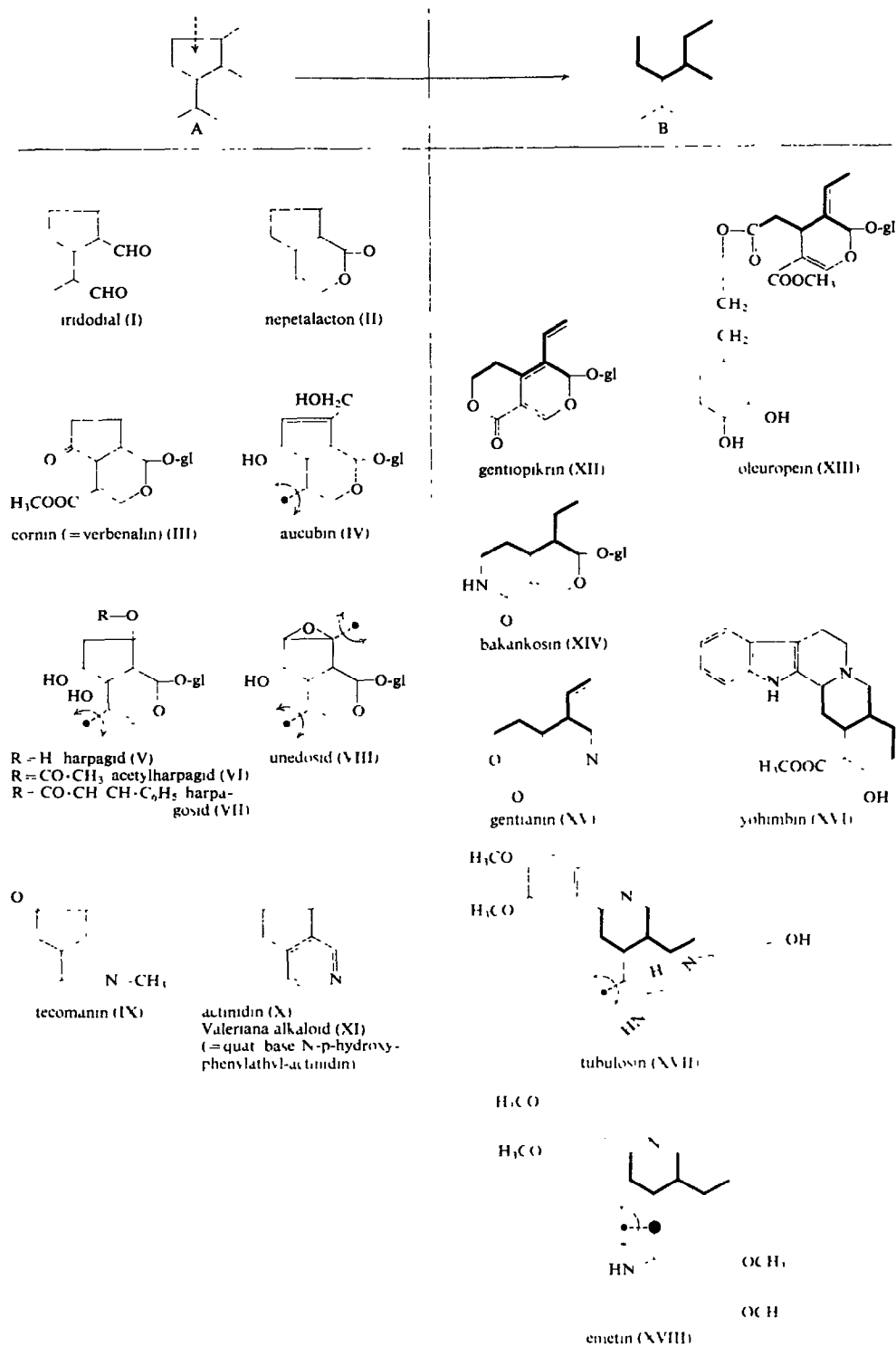


ABB. 1. VERTRETER DER HOMOLOGEN REIHE, DER VON CYCLOPENTANOIDEN MONOTERPENEN ABLEITBAREN PFLANZENSTOFFE.

vor allem bei einigen Vertretern der Polypetalen und weitverbreitet bei den Sympetalen auf (Tabelle 1). Wir glauben, dass das Studium der Verbreitung der einzelnen Vertreter dieser Verbindungsklasse für die Pflanzensystematik in verschiedener Hinsicht gewinnbringend sein wird. Einerseits dürften sich wertvolle Anhaltspunkte für die Gliederung von Arten in Genera und von Genera in Familien gewinnen lassen und andererseits sind von dem Merkmal neue Argumente für die Einreihung von zweifelhaften Sippen ins System der Angiospermen zu erwarten.

TABELLE 1. BEKANNTE VORKOMMISSE IRIDOIDER VERBINDUNGEN UND DAVON ABLEITBARER PFLANZENSTOFFE BEI DEN DIKOTYLEDONEN

Familie*	Genera oder Tribus	Verbindungs-Typus†
<u>Archichlamydeae—Apetalae</u>		
Eucommiaceae	<i>Eucommia</i>	Aucubin IV‡
<u>Archichlamydeae—Polypetalae</u>		
Actinidiaceae	<i>Actinidia</i>	Matatabilacton und verwandte Stoffe I, II; Actinidin X
Hamamelidaceae	<i>Liquidambar</i>	Monotropein III
Saxifragaceae	<i>Deutzia</i>	Deutziosid (?) ⁷
	<i>Escallonia</i>	Asperulin III ⁸
	<i>Hydrangea</i>	Loganin III ⁹
Daphniphyllaceae	<i>Daphniphyllum</i>	Asperulin III
Icacinaceae	<i>Cassinopsis</i>	Desoxytubulosin XVII
Hippuridaceae	<i>Hippuris</i>	Aucubin IV
Alangiaceae	<i>Alangium</i>	Emetin, Tubulosin und verwandte Basen XVII, XVIII
Cornaceae	<i>Aucuba</i>	Aucubin IV
	<i>Cornus</i>	Cornin (= Verbenalin) III
Garryaceae	<i>Garrya</i>	Aucubin IV
<u>Sympetalae</u>		
Pyrolaceae	<i>Chimaphila</i> , <i>Monotropa</i> , <i>Monotropastrum</i> , <i>Pyrola</i>	Monotropein III
Ericaceae	<i>Arbutus</i>	Unedosid VIII ¹¹
Oleaceae	<i>Olea</i>	Oleuropein XIII
Loganiaceae	<i>Strychnaeae</i>	Loganin III; Bakankosin XIV, Indolbasen
	<i>Potalieae</i>	Swertiamarin XII; Gentianin§ XV
Gentianaceae	Die meisten Genera	Gentiopikrin und Swertiamarin XII; Gentianin§
Menyanthaceae	<i>Menyanthes</i>	Loganin III; Gentianin XV
Apocynaceae	<i>Plumeria</i>	Plumierid III, Plumericin, Fulvoplumericin
	<i>Skytanthus</i>	Skytanthin IX
	Viele Genera	Indolbasen
Rubiaceae	<i>Genipa</i>	Genipin
	Viele Genera	Asperulin III
	Viele Genera	Indolbasen
Fouquieriaceae	<i>Fouquieria</i>	Asperocotillin III
Verbenaceae	<i>Verbena</i>	Cornin III
	<i>Vitex</i>	Aucubin und Agnusid IV
Labiatae	<i>Melittis</i>	Harpagid V, Acetylharpagid VI ¹²
	<i>Nepeta</i>	Nepetalacton und verwandte Stoffe II
Buddlejaceae	<i>Buddleja</i>	Aucubin, Catalpol und Methylcatalpol IV
Scrophulariaceae	Viele Genera	Aucubin IV
	<i>Pedicularis</i>	Daneben Plantagonin und Indicain X**

TABELLE 1—continued

Familie*	Genera oder Tribus	Verbindungs-Typus†
Globulariaceae	<i>Globularia</i>	Aucubin IV
Bignoniaceae	<i>Catalpa</i>	Catalpin (= Catalposid) IV; Catalpinosid (?)
	<i>Paulownia</i>	Catalpinosid (?)
	<i>Tecoma</i>	Tecomannin und verwandte Basen IX
Pedaliaceae	<i>Harpagophytum</i>	Harpagid V, Harpagosid VII
Lentibulariaceae	<i>Utricularia</i>	Aucubin IV
Myoporaceae	<i>Myoporum</i>	Indodial I, Methylather des entsprechenden Enollactols III ¹
Plantaginaceae	<i>Plantago</i>	Aucubin und Catalpin IV; Plantagonin und Indican X ²
Caprifoliaceae	<i>Lonicera</i>	Loganin III
Valerianaceae	<i>Valeriana</i>	Alkaloid XI ³
Dipsacaceae	Viele Genera	Cephalariosid (?) Gentianin XV

* Nach Engler's Syllabus (12. Aufl. 1964) geordnet.

† Für Übersichten über Eigenschaften, Struktur und Verbreitung iridoider Stoffe vgl. 1–3. Nur Verbindungen und Vorkommnisse, die in den genannten Übersichten nicht erwähnt sind, werden durch Literaturzitate belegt.

‡ Römische Ziffern verweisen nach Formeln in Abbildung 1. Diese Formeln dienen zur Illustration der verschiedenen Strukturtypen (z.B. Asperulin, Monotropin und Loganin sind Heteroside mit Aglykonen mit C₁₀-Gerüst; sie werden zum Typus III (Cornin) gerechnet).

§ Gentianin entsteht während der Isolation bei Verwendung von Ammoniak aus Swertiamarin (oder Gentiopikrin). Ob andere Gentianinvorkommnisse (und eventuell einzelne Basen vom Typus X) ebenfalls Artefakte darstellen bleibt zu ermitteln.

** Die kürzlich für diese Basen vorgeschlagenen Strukturen (C. 1, 64, 3620 [1966]) lassen vermuten, dass es sich hier tatsächlich um Alkaloide von Typus X handelt.

Aus den erwähnten Gründen interessieren wir uns seit längerer Zeit für Fragen des Nachweises iridoider Verbindungen in Pflanzenmaterial. Für den Taxonomen ist es wichtig, dass die verwendeten Merkmale sich auch an Herbariummaterial beobachten lassen. Wir suchten deshalb nach Wegen, die es uns ermöglichen sollen, Vorliegen solcher Verbindungen in Frisch- und Herbarpflanzen festzustellen. Vorläufig haben wir uns auf die Gruppe der oft sehr labilen aucubinartigen Glucoside (= Pseudoindikane im weiteren Sinne: Verbindungen vom Typus III–VIII) beschränkt und uns bemüht sie sowohl im Laboratorium (Frischpflanzen, Herbarpflanzen) als auch direkt im Felde erfassen zu können.

2. DER NACHWEIS AUCUBINARTIGER GLUCOSIDE

Da viele Vertreter dieser Heterosidgruppe sehr instabile Aglykone besitzen, ist darauf zu achten, dass bei der Trocknung und bei der Verarbeitung des pflanzlichen Materials

⁵ E. C. BAILE-SMITH und T. SWAIN, *Comparative Phytochemistry* (Edited by T. SWAIN), p. 159. Academic Press, New York (1966).

⁶ R. HEGNAUER, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Vol. 3 and 4 (Acanthaceae-Lythraceae). Birkhäuser, Basel (1964, 1966).

⁷ V. PLOUVIER, *Compt. Rend.* **261**, 4268 (1965).

⁸ V. PLOUVIER, *Compt. Rend.* **242**, 1643 (1956).

⁹ V. PLOUVIER, *Compt. Rend.* **258**, 3919 (1964).

¹⁰ H. MONTEIRO, H. BUDZIKIEWICZ und C. DJFRASSI, *Chem. Commun.* 317 (1965).

¹¹ T. A. GEISSMAN, W. F. KNAACK und J. O. KNIGHT, *Tetrahedron Letters* 1245 (1966).

¹² M. L. SCARPATI, M. GUIGO und L. PANIZZI, *Tetrahedron Letters* 3439 (1965).

¹³ S. A. ACHMAD und G. W. K. CAVILL, *Australian J. Chem.* **18**, 1989 (1965).

¹⁴ K. TORSSELL und K. WAHLENBERG, *Tetrahedron Letters* 445 (1966).

Glucosidspaltung weitgehend unterbleibt. Schnelles Trocknen, Unterbindung von Enzymwirkung während der Extraktion und Vermeidung stark saurer Reaktion, wenn erwärmt werden muss, sind Voraussetzung für richtige Resultate. Auch gegen alkalische Reaktion sind einzelne Vertreter, im besondern Asperulin und einige weitere Esterglucoside sehr empfindlich.

2.1. Feldtest

Für Beobachtungen im Felde verwenden wir die Reaktion von Trim und Hill¹⁵ in folgender Weise: Ein Gramm Frischpflanze wird mit einer Schere grob zerkleinert; die Blattfragmente lässt man unmittelbar in ein Reagenzglas mit 5 ml 1 % wässriger Salzsäure (Enzymhemmung) fallen. Nach 3 bis 6 stündiger Mazeration werden in einem zweiten Reagenzglas 1 ml Reagenz (Eisessig 10 ml, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,2 % in Wasser 1 ml, HCl conc. 0,5 ml) und 0,1 ml des Mazerates gemengt und anschliessend kurz über kleiner Flamme (wir verwenden einen Butangas-Bunsenbrenner) gekocht. Bei diesem Test reagieren nach unseren bisherigen Erfahrungen die folgenden aucubinartigen Verbindungen (d.h. die Pseudoindikane im engeren Sinne) positiv: Aucubin (blau); Asperulin (blau); Harpagid (rotviolett); Harpagosid (blaugrün → rotviolett); Monotropein (blau); ein noch unbekanntes Pseudoindikan aus *Galeopsis tetrahit* L. (blau); ein noch unbekanntes Pseudoindikan aus *Cardanthera triflora* Buch.-Ham. (= *Synnema triflorum*) (blau). Nicht angezeigt werden durch diesen Test Catalpin, Catalpol, Cornin (= Verbenalin), Loganin, Methylcatalpol, Plumierid und die Verbindungen vom Typus IX-XVIII.

Diesen Feldtest verwenden wir orientierungshalber ebenfalls im Laboratorium mit kleinen Fragmenten von Herbariumpflanzen.

2.2. Der Nachweis einzelner Vertreter der aucubinartigen Glucoside

Wir extrahieren in der Regel ein Gramm Frischpflanze oder 100 mg Herbariummaterial. In erster Linie orientierten wir uns über die Veränderungen, die durch die Trocknung der Pflanzen verursacht werden können. Blätter eines cultivars von *Buddleja davidii* Franch. und von *Aucuba japonica* L. wurden für diese Versuche verwendet. Es ergab sich, dass schnelles Trocknen (Blätter von *Aucuba* in Frostperioden geerntet oder aber vor dem Trocknen grob zerkleinert) in qualitativer Hinsicht keine nennenswerten Veränderungen bedingt. Diese Beobachtungen wurden mit Rinden von *Cornus florida* L. und *Vitex agnus-castus* L. bestätigt. Auch die Analyse von zahlreichen Herbarpflanzen überzeugte uns davon, dass aucubinartige Heteroside in trocknenden pflanzlichen Geweben in der Regel gut erhalten bleiben, wenn die Trocknung richtig geleitet wird. Auf Grund zahlreicher Versuche gelangten wir zu folgender Standardmethode für die Analyse von Herbarpflanzen.

Extraktion. 100 mg Pflanzenmaterial wird mit 100 mg Sand feingerieben und anschliessend während einer halben Stunde mit 10 ml einer zweiprocentigen wässrigen Lösung von basischem Bleiacetat ausgekocht (100 ml Kolben mit Steigrohr). Im Filtrat wird der Ueberschuss an Bleiionen mit Schwefelwasserstoff gefällt. Man zentrifugiert und filtriert in eine Petrischale. Nach zufügen von 50 mg Sand und 50 mg Kieselgur wird auf dem Wasserbad oder im Warmluftstrom (Föhn) zur Trockene eingedampft. Der verbleibende pulverige Rest wird in ein kleines Reagenzglas mit Glasstopfen gebracht und 6 Stunden unter maschinalem Schütteln mit 4 ml Aethanol (96 %; wenn störende Mengen Zucker vorhanden durch Propanol, Butanol, Aceton oder Aethylacetat-Aethanol-Mischungen ersetzen) und anschliessendem Stehenlassen über Nacht extrahiert. Nach kräftigem Schütteln wird zentrifugiert und das

¹⁵ A. R. TRIM und R. HILL, *Biochem. J.* **50**, 310 (1951).

dekantierte äthanolische Extrakt auf 0,1 ml eingedampft. Die erhaltene Lösung wird für den chromatographischen Nachweis aucubinartiger Glucoside verwendet.

Chromatographie. Wir verwenden in erster Linie Papierchromatographie. Als Standardfliessmittel für erste Orientation erwies sich die Epiphase des Partridge-Gemisches als gut geeignet. Daneben verwenden wir ebenfalls die in Tabelle 2 zusammengestellten Fliessmittel.

TABELLE 2. MITTLERE R_f -WERTE EINIGER AUCUBINARTIGER GLUCOSIDE (aufsteigende Chromatographie; Papier Schleicher und Schüll 2043^b mgl; Abmessung der Papiere 20 × 21 cm)

Verbindung	Fließmittel*				
	I	II	III	IV	V
Acetylharpagid†	0.47				
Agnusid†	0.72				
Asperulin	0.51	0.39	0.90	0.29	0.85
Aucubin	0.38	0.26	0.78	0.22	0.83
Catalpol	0.32	0.20	0.79	0.14	0.83
Catalpin	0.69	0.46	0.97	0.61	0.78
Cornin (= Verbenalin)	0.63	0.50	0.93	0.49	0.89
Harpagid	0.34	0.20			
Harpagosid	0.74	0.56			
Loganin	0.63	0.46	0.93	0.50	0.90
Methylcatalpol†	0.45		0.63		
Monotropein	0.33	0.22	0.70	0.05	0.88
Plumerid	0.64	0.46	0.95	0.56	0.87
Tetrahit-Pseudoindikan†	0.47				
Cardanthera-Pseudoindikan†	0.42	0.29			

* I: n-Butanol:Essigsäure:Wasser = 4/1/5 v/v.¹⁶ II: Isopentanol:Essigsäure:Wasser:n-Hexan = 3/3/1/3 v/v.¹⁷ III: Isopropanol:Wasser = 6,4 v/v.¹⁸ IV: n-Butanol; mit Wasser gesättigt. V: Methanol:Wasser = 5/5 v/v.¹⁸

† Keine Vergleichssubstanzen vorhanden. Die Angaben beruhen auf Beobachtungen an Extrakten aus folgenden Arten: Acetylharpagid: *Melittis melissophyllum* L.; Blatt. Agnusid: *Vitex agnus-castus* L.; Rinde, Holz. Methylcatalpol: *Buddleja davidii* Franch.; Blatt. Tetrahit-Pseudoindikan: *Galeopsis tetrahit* L.; Blatt. Cardanthera-Pseudoindikan: *Cardanthera triflora* Buch.-Ham.; Blatt.

Die Dünnschichtchromatographie eignet sich ebenfalls ausgezeichnet zur Trennung aucubinartiger Glucoside und zu deren Abtrennung von den sie in den Extrakten begleitenden Zuckern. Wir verwenden sowohl Celluloseplatten in Verbindung mit den Fließmitteln I und IV als auch Kieselgelplatten nach den durch Koch, Plat, Le Men und Janot¹⁹ gemachten Angaben.

Lokalisation der Glucosidflecken. Neben den R_f -Werten ist für die Identifikation der einzelnen Glucoside ihr Verhalten gegenüber chromogenen Reagenzien sehr wichtig. Nach unseren Erfahrungen sind Betrachtung der unbehandelten Chromatogramme im kurzwelligen ultravioletten Lichte und Besprühung mit den folgenden Reagenzien wertvoll:

(a) 1 N Schwefelsäure in Methanol; (b) 15% SbCl_3 in Chloroform; (c) 5% Trichloressigsäure in Methanol; (d) 5% Anisaldehyd und 5% Schwefelsäure in Äthanol (95%)²⁰;

¹⁶ M. CHASLOT, *Sur l'aucuboside, chromogène glucosidique*. Thèse (Pharm.) Univ. Paris (1955).

¹⁷ P. DELAVEAU und R. R. PARIS, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **43**, 661 (1961).

¹⁸ E. WINDE, I. ECHAUST und R. HÄNSEL, *Arch. Pharm.* **294**, 220 (1961).

¹⁹ M. KOCH, M. PLAT, J. LE MEN und M. M. JANOT, *Bull. Soc. Chim. France* 403 (1964).

²⁰ G. BLUNDEN und S. B. CHALLEN, *Nature* **208**, 388 (1965).

(e) Das Benzidin-Trichloressigsäure-Reagenz²¹; (f) Das Ureum-Salzsäure-Reagenz in der durch Linskens²² beschriebenen Zusammensetzung; (g) Das Kedde-Reagenz²³. Vor dem Sprühen mengen wir gleiche Volumina 1 N methanolische Kalilauge und zweiprozentige methanolische 3,5-Dinitrobenzoesäure; nach dem Sprühen werden die Chromatogramme mit einem warmen Luftstrom erwärmt (Föhn); (h) Legal¹⁶. Wir besprühen die Chromatogramme nacheinander mit einer einprozentigen wässrigen Lösung von Nitroprussidnatrium, 1 N methanolischer Kalilauge und 30 prozentiger Essigsäure.

Die Reagenzien g und h reagieren nur mit Cornin. Sie sind zum Nachweis dieses Glucosides sehr geeignet (wir bevorzugen wegen der grösseren Empfindlichkeit g).

Die mit den übrigen Reagenzien beobachteten Reaktionen sind in den Tabellen 3 und 4 zusammengestellt.

Nach unsern Befunden lassen sich die einzelnen aucubinartigen Glucoside durch geschickte Kombination von Fließmitteln und der in den Tabellen 3 und 4 wiedergegebenen Reaktionen in den meisten Fällen gut identifizieren. Beim Cornin ist selbstverständlich zu beachten dass Cardenolide und andere Glykoside mit aktiven Methylengruppen (z.B. Ranunculin) mit den Reagenzien g und h in gleicher Weise reagieren.

Bei den Esterglucosiden lässt sich durch Alkalibehandlung der Extrakte leicht ein weiteres Argument für tatsächliche Identität der betreffenden Verbindungen beibringen. Wir fügen

TABELLE 3. FARBREAKTIONEN EINIGER AUCUBINARTIGER GLUCOSIDE AUF DEN CHROMATOGRAMMEN

Verbindung	UV 254 m μ	Reagenz*					
		b				d	
		Zimmertemp.		2 min 100°		Zimmertemp.	
		15 min	16 St			½–1 St	16 St
Agnusid	dunkel	—	—	Br	—	—	—
Acetylharpagid	0	R	—	V Br	R	B	B
Asperulin	dunkel	B	B	B	B	B	B
Aucubin	0	G Br	Br	Br	R V	Gr	—
Catalpin	dunkel	0	—	Br	—	—	—
Catalpol	0	0	Br	Br	0	G Br	—
Cornin	dunkel	0	0	schw. G	0	0	0
Harpagid	0	R	—	V Br	R	B	B
Harpagosid	dunkel	R	—	V Br	R	B	B
Loganin	dunkel	—	—	R	0	0	0
Methylcatalpol	—	—	—	—	—	—	—
Monotropein	dunkel	B	B	B	B	B	B
Plumierid	dunkel	0	0	G Br	—	—	Rosa
Tetrahit-Pseudoindikan	0	V R	V R	V Br	Br R	Gr	Gr
Cardanthera-Pseudoindikan	0	V	V	V B	—	—	—

0: bedeutet keine Reaktion. —: bedeutet keine Beobachtungen. B=blau; Br=braun; G=gelb; Gr=grau; Or=orange; R=rot; V=violett; schw.=schwach.

* b, 15% SbCl₃ in CHCl₃; d, 5% Anisaldehyd und 5% H₂SO₄ in C₂H₅OH.²⁰

²¹ R. B. DUFF, J. S. D. BACON, C. M. MUNDIE, V. C. FARMER, J. D. RUSSELL und A. R. FORRESTER, *Biochem. J.* **96**, 1 (1965).

²² H. F. LINSKENS, *Papierchromatographie in der Botanik*, 2. Aufl. Springer-Verlag, Berlin (1959).

²³ M. L. LEWART, W. WEHRLI und T. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta* **46**, 505 (1963).

TABELLE 4. FARBREAKTIONEN EINIGER AUCUBINARTIGER GLUCOSIDE AUF DEN CHROMATOGRAMMEN

Verbindung	Reagenz§				
	<i>a</i>	<i>c</i>	100°		<i>f</i>
	2 min 100°	10 min 100°	1-2 min	5 min	5 min 100°
Agnusid	V Br	0	-	Br Gr	-
Acetylharpagid	V Br	Gr Br	B	Br	G ₂
Asperulin	B	0	0	0	0
Aucubin	V Br	B	Br	Br	G Br
Catalpin	G	0	Br	Or Br [‡]	G
Catalpol	G Br	0	Br	Or Br [‡]	schw. G Br
Cornin	0	0	0	schw. Br	0
Harpagid	V Br	V Br	B	Br	G ₂ [‡]
Harpagosid	V Br	V Br	B	Br	G ₂ [‡]
Loganin	R [‡]	0	0	0	0
Methylcatalpol	-	-	-	Or Br [†]	-
Monotropein	B	B-Grün	-	schw. Br	Br
Plumierid	G	0	0	0	0
Tetrahit-Pseudoindikan	V Br	-	R	Br	G ₂ [‡]
Cardanthera-Pseudoindikan	V Br	B	-	schw. Br	0

Abkürzungen vergl. Tabelle 3.

[‡] Schnell verblässende Flecken; erneutes Erwärmen bringt die Flecken wieder in Erscheinung.²⁴

[†] Fluoresziert im kurzwelligen UV-Licht (254 mμ) gelb.²¹

[‡] Auffallend citronengelb

§ *a* 1 N H₂SO₄ in CH₃OH; *c* 5% CF₃COOH in CH₃OH; *e* Benzidin-Trichloressigsäure-Reagenz²¹; *f*, Ureum-Salzsäure-Reagenz.²⁷

den Extrakten äthanolische Natronlauge bis zu einer Konzentration von 0.5% zu und lassen anschliessend bei Zimmertemperatur stehen. Harpagosid und Acetylharpagid werden über Nacht praktisch vollständig zu Harpagid verseift. Beim Cornin dauert die Verseifung ungefähr 2 Tage; die entstehende Säure (*R_f* 0.50 mit Fliessmittel I) lässt sich wie Cornin mit Reagenz *g* nachweisen. Catalpin und Loganin sind erst nach einer Woche vollständig verseift; ersteres liefert Catalpol und letzteres die Loganinsäure²⁴ mit einem *R_f*-Wert von 0.47 mit Fliessmittel I. Asperulin ist sehr alkaliempfindlich; nach sehr kurzer Einwirkung sind mit Fliessmittel I neben Asperulin 3 weitere Flecken nachweisbar; nach einer Nacht stehen ist der Asperulinfleck verschwunden; am intensivsten ist jetzt der Fleck mit *R_f* 0.40. Auch beim Bewahren äthanolischer Asperulinlösungen tritt langsam Zersetzung ein: einmonatige Lösungen enthalten regelmässig neben Asperulin zwei weitere Verbindungen; eines dieser Zersetzungsprodukte (*R_f* 0.69) tritt nach unsern Erfahrungen auch in Pflanzen auf. Mit den Reagenzien *b* und *d* reagieren alle beobachteten Zersetzungsprodukte wie Asperulin (vgl. Tabelle 3), doch sind die Farbtöne etwas anders. Vorläufig deuten wir die beobachteten Umsetzungsprodukte von Asperulin wie folgt an (*R_f*-Werte mit Fliessmittel I):

Asperulin A: *R_f* 0.69: entsteht beim Bewahren äthanolischer Lösungen.

Asperulin B: *R_f* 0.56: entsteht bei Alkalibehandlung.

²⁴ J. JAMINET, *Lejeunea* 15, 23 (1951).

Asperulin C: R_f 0,4; entsteht beim Bewahren äthanolischer Lösungen und bei Alkalibehandlung.

Asperulin D: R_f 0,31; entsteht bei Alkalibehandlung.

3. RESULTATE

Bisher wurden durch uns annähernd 100 Pflanzenmuster mit den beschriebenen Methoden auf das Vorkommen von aucubinartigen Glucosiden untersucht. Einige Arten wurden gewählt weil sie nach der Literatur solche Glucoside enthalten; sie dienten zur Kontrolle unserer Arbeitsweise. Andere Arten wurden gewählt weil ihre Untersuchung uns in taxonomischer Hinsicht als wertvoll erscheint.

Die wichtigsten Beobachtungen werden anschliessend geordnet nach dem System von Engler's Syllabus (12. Aufl. 1964) in folgender Weise mitgeteilt: *Art* (Herbariumnummer); *Organ* (frisch oder getrocknet); beobachtete Verbindungen; Ergebnis des Feldtestes. Unseres Wissens neue Beobachtungen sind mit * gekennzeichnet.

Rosales—Hamamelidaceae

Liquidambar styraciflua L. (EP. 7718): Rinde (frisch und getrocknet); Monotropein und vermutlich Asperulin*; Feldtest blau.

Myrtiflorae—Hippuridaceae

Hippuris vulgaris L. (EP. 5643): Kraut (frisch und getrocknet); Aucubin und Catalpol*; Feldtest blau.

Umbelliflorae—Cornaceae

Cornus florida L. (EP. 2820): Rinde (frisch und getrocknet); Cornin; Feldtest negativ.

Corokia cotoneaster Raoul (EP. 5821): Beblätterte Zweige (frisch); Cornin*; Feldtest negativ.

Grieselinia littoralis Raoul (EP. 4085): Blätter (getrocknet); keine aucubinartigen Glucoside; Feldtest negativ.

Mastixia arborea (Wight) C. B. Clarke (EP. 5084): Rinde (Herbarpflanze); Loganin*; Feldtest negativ.

Ericales—Ericaceae

Arbutus unedo L. (EP. 6974 und 7062): Blätter (Herbarpflanzen); Unedosid nicht nachweisbar; Feldtest rosa (Leucoanthocyanreaktion).

Vaccinium myrtillus L. (EP. 4100 und 4279): Blätter (Herbarpflanzen); Monotropein* und Asperulin A*; Feldtest blau.

Vaccinium vitis-idaea L. (EP. 4635): Blätter (Herbarpflanze); keine Pseudoindikane nachweisbar; Feldtest rosa (Leucoanthocyanreaktion).

Ericales—Pyrolaceae

Chimaphila umbellata (L.) DC. (EP. 6902): Blätter (Herbarpflanze); unbekanntes Pseudoindikan*; Feldtest negativ.

Pyrola rotundifolia L. (EP. 5056): Blätter (Herbarpflanze); Monotropein und Chimaphila-pseudoindikan*; Feldtest blau.

Gentianales—Menyanthaceae

Menyanthes trifoliata L. (EP. 2531): Rhizome (frisch; getrocknet; Herbarpflanze); Loganin; Feldtest negativ.

Gentianales—Rubiaceae

Galium verum L. (EP. 5602): Kraut (Herbarpflanze); Monotropein* und Asperulin; Feldtest blau.

Tubiflorae—Fouquieriaceae

Fouquieria splendens Engelm. (EP. 2810): Blüten; Zweig (Herbarpflanze); Asperocotillin nicht nachweisbar; Feldtest negativ.

Tubiflorae—Boraginaceae

Symphytum tuberosum L. (EP. 5800): Kraut (Herbarpflanze); keine Pseudoindikane; Feldtest negativ.

Tubiflorae—Verbenaceae

Verbena officinalis L. (EP. 2816): Kraut (getrocknet); Cornin; Feldtest negativ.

Vitex agnus-castus L. (EP. 2435; 3019): Zweige (frisch und getrocknet); Aucubin, Agnusid; Feldtest blaugrau.

Tubiflorae—Callitrichaceae

Callitriche spec. (EP. 563): Kraut (frisch und getrocknet); Aucubin* und Catalpol*: Feldtest blau.

Tubiflorae—Labiatae

Ajuga reptans L. (EP. 5061): Kraut (Herbarpflanze); Harpagid* und Acetylharpagid*; Feldtest grauviolett.

Galeopsis bifida Bönningh. (EP. 7659): Blätter (Herbarpflanze); keine aucubinartigen Glucoside; Feldtest negativ.

Galeopsis ladanum L. subsp. *augustifolia* (Ehrh.) Gaud. (EP. 5025): Blätter (Herbarpflanze); Harpagid* und Acetylharpagid*; Feldtest grauviolett.

Galeopsis ladanum L. subsp. *ladanum* (=subsp. *intermedia* [Vill.] Briq.) (EP. 7658): Blätter (Herbarpflanze); wenig Harpagid*; Feldtest negativ.

Galeopsis pubescens Besser (EP. 234): Blätter (Herbarpflanze); Spuren Harpagid*; Feldtest negativ.

Galeopsis speciosa Mill. (EP. 237): Blätter (Herbarpflanze); Spuren Harpagid*; Feldtest negativ.

Galeopsis segetum Necker (EP. 2954): Blätter (Herbarpflanze); wenig Harpagid*; Feldtest praktisch negativ.

Galeopsis tetrahit L. (EP. 2955; 5018): Blätter (Herbarpflanzen); Harpagid*; das alkalistabile Tetrahit-Pseudoindikan* und in geringen Mengen ein drittes Pseudoindikan*; Feldtest blau.

Melittis melissophyllum L. (EP. 5494): Blätter (Herbarpflanze); Harpagid, Acetylharpagid und ein unbekanntes Pseudoindikan*; Feldtest grauviolett.

Stachys alopecurus (L.) Benth. (EP. 5495): Blätter (Herbarpflanze); Harpagid* und Acetylharpagid*; Feldtest grauviolett.

Stachys officinalis (L.) Trev. (EP. 5486): Blätter (Herbarpflanze); Harpagid* und Acetylharpagid*; Feldtest grauviolett.

Stachys recta L. (EP. 5497): Blätter (Herbarpflanze); Harpagid* und Acetylharpagid*; Feldtest grauviolett.

Teucrium montanum L. (EP. 5498): Kraut (Herbarpflanze); Harpagid* und Acetylharpagid*; Feldtest grauviolett.

Tubiflorae—Scrophulariaceae

Verbascum lychnitis L. (EP. 5118): Blatt (Herbarpflanze); Catalpol*; Feldtest negativ.

Veronica anagallis-aquatica L. (EP. 5612): Blatt (Herbarpflanze); Aucubin* (die Art wurde durch Chaslot¹⁶ untersucht; in seinem Material fehlte Aucubin), Catalpol* und vermutlich Catalpin*; Feldtest violettblau.

Veronica persica Poir. (EP. 4097): Blatt (Herbarpflanze); Aucubin*, Catalpol* und vermutlich Catalpin*; Feldtest violettblau.

Veronica serpyllifolia L. (EP. 4103): Kraut (Herbarpflanze); Aucubin*, viel Catalpol* und vermutlich Catalpin*; Feldtest schwach violettblau.

Tubiflorae—Globulariaceae

Globularia elongata Hegetschw. (= *Globularia willkommii* Nyman) (EP. 4611; 7677): Blätter (Herbarpflanzen); Monotropein*, Asperulin*, Asperulin A*, wenig Aucubin, Catalpol* und Spuren Catalpin* (einen Flecken mit dem R_f -Wert des Asperulins hat bereits Chaslot¹⁶ in *G. vulgaris* L. nachgewiesen); Feldtest blaugrün.

Globularia alypum L. (EP. 7673): Blätter (Herbarpflanze); viel Aucubin, Catalpol* und Catalpin*; daneben vermutlich wenig Monotropein* und Asperulin* (?); Feldtest violettblau.

Globularia nudicaulis L. (EP. 7679): Blätter (Herbarpflanze); Aucubin, Monotropein* und wenig Asperulin* (einen Flecken mit dem R_f -Wert des Asperulins hatte bereits Chaslot¹⁶ beobachtet); Feldtest blau.

Tubiflorae—Acanthaceae

Cardanthera triflora Buch.-Ham. (= *Synnema triflorum*) (EP. 4645): Blätter (frisch und getrocknet); unbekanntes alkalistabiles Pseudoindikan (= *Cardanthera-Pseudoindikan*)*; Feldtest blau.

Tubiflorae—Lentibulariaceae

Pinguicula vulgaris L. (EP. 4856): Blätter (Herbarpflanze); Catalpol*; Feldtest negativ.

4. DISKUSSION

Die beschriebenen Methoden eignen sich ausgezeichnet zur Untersuchung von Frisch- und Herbarpflanzen auf das Vorkommen von aucubinartigen Glucosiden. Bei den zur Kontrolle verwendeten Arten liessen sich in der Regel die für diese in der Literatur bereits beschriebenen Verbindungen leicht nachweisen (*Liquidambar*, *Cornus*, *Pyrola*, *Menyanthes*, *Galium*, *Verbena*, *Vitex*, *Melittis*, *Veronica*, *Globularia*); daneben wurden oft weitere Pseudoindikane, die bisher übersehen wurden, beobachtet. Nur im Falle von *Arbutus unedo* (Unedosid) und *Fouquieria splendens* (Asperocotillin) liessen sich mit unserem Material und unseren Methoden aucubinartige Glucoside nicht nachweisen. Hier sind weitere Untersuchungen mit frischem und getrocknetem Material angezeigt.

Gleich anderen Glucosiden kommen die aucubinartigen Heteroside in vielen Arten nicht solitär, sondern vergesellschaftet vor. *Globularia*-Arten wären vermutlich sehr geeignet, um die biogenetischen Zusammenhänge zwischen einzelnen aucubinartigen Glucosiden zu untersuchen.

In systematischer Hinsicht erscheinen uns vor allem unsere Beobachtungen bei den Cornaceae, Callitrichaceae und Labiatae von Interesse.

Cornaceae: Aucubinartige Glucoside treten nicht nur in den Genera *Aucuba* (Aucubin) und *Cornus* (Cornin) sondern ebenfalls bei *Corokia*-Arten (Cornin) und *Mastixia*-Arten (Loganin) auf. Hierin kann man ein weiteres Argument für die intermediäre Stellung der Familie zwischen den Saxifragaceae s.l. und den Rubiaceae erblicken. Der Befund bei *Mastixia* erscheint uns vor allem wichtig. Nach Takhtajan vermittelt *Mastixia* zwischen den Cornaceae und den Araliaceae. Biochemisch sind jedoch die Araliaceae und Umbelliferae von den Cornaceae grundverschieden, sodass kaum an nähere Beziehungen gedacht werden kann.²⁵ Das Vorkommen von Loganin bei *Mastixia* nähert diese Gattung eindeutig den Cornaceae und Saxifragaceae s.l. (wenigstens im Lichte unserer heutigen phytochemischen Kenntnisse) und schwächt die Auffassung von *Mastixia* als Bindeglied zwischen Cornaceae und Araliaceae ab.

Callitrichaceae: Das Vorkommen von Aucubin und Catalpol stimmt ausgezeichnet mit der der Familie im Syllabus (12. Aufl. 1964) zugewiesenen Stellung zwischen Verbenaceae und Labiatae überein. Man erhält den Eindruck, dass für diese viel diskutierte Sippe endlich der angemessene Platz in System gefunden ist.

Labiatae: Die durch Trim und Hill¹⁵ vorausgesagte weite Verbreitung aucubinartiger Verbindungen bei den Labiaten hat sich vollauf bestätigt. Damit treten auch die Labiaten in den Kreis derjenigen Familien der Tubiflorae, für welche Vorkommen derartiger Heteroside seit langem als auffallendes biochemisches Merkmal bekannt ist.

Anerkennungen—Für Ueberlassung von sehr wertvollen Vergleichssubstanzen sind wir den folgenden Herren zu grossem Danke verpflichtet: Herrn Dr. R. Gmelin, Schwaikheim; Herrn Dr. P. Kooiman, Delft; Herrn Dr. H. Licht, Sandoz A.G. Basel, Herrn Dr. V. Plouvier, Paris und Herrn Prof. Dr. H. Schmid, Zürich.

Meiner Kollegin Frä. Dr. L. H. Fikenscher danke ich für viele Ratschläge und tatkräftige Mitarbeiten bei den experimentellen Arbeiten.

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen eines Programmes von chemotaxonomischen Untersuchungen, das unter Leitung von Herrn Professor Hegnauer steht, ausgeführt.

²⁵ R. HIGNAULT, *Beiträge zur Biochemie und Physiologie von Naturstoffen* (Festschrift Kurt Mothes zum 65. Geburtstag), p. 235. VFB Fischer, Jena (1965).