

## VORKOMMEN UND VERBREITUNG VON GALACTINOL IN BLÄTTERN HÖHERER PFLANZEN

M. SENSER und O. KANDLER

Institut für Angewandte Botanik der Technischen Hochschule München

(Received 10 February 1967)

**Zusammenfassung**—Aus dem Extrakt von 2 kg Blättern von *Lamium maculatum* wurden durch Trennung an einer Kohle-Celite-Säule 1,72 g Galactinol isoliert und kristallisiert. Die quantitative Bestimmung des Galactinols und verschiedener Oligosaccharide zeigte, daß Galactinol in ähnlicher Menge in den Blättern vorkommt wie Raffinose und Stachyose. In den unterirdischen Pflanzenteilen tritt der Gehalt an Galactinol gegenüber dem der anderen Oligosaccharide zurück. Galactinol konnte in allen Pflanzen nachgewiesen werden, die Raffinose und Stachyose enthalten.

**Abstract**—Crystalline galactinol was obtained from an extract of leaves of *Lamium maculatum* (1.72 g/2 kg) after separation by a charcoal-celite column. The quantitative determination of galactinol and different oligosaccharides showed that galactinol occurs in the leaves in an amount similar to that of raffinose and stachyose. In the roots and rhizomes the amount of galactinol is decreased compared to the amount of the other oligosaccharides. Galactinol was found in all those plants which also contain raffinose and stachyose.

GALACTINOL wurde 1953 von Brown und Serro<sup>1</sup> erstmals aus Zuckerrübensaft isoliert und als Galactosid des myo-Inosits identifiziert. Kabat *et al.*<sup>2</sup> konnten dann zeigen, daß es sich um 1-O- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-D-myo-Inosit handelt (Abb. 1). Neuerdings fanden Petek *et al.*<sup>3</sup> auch in Samen von *Vicia sativa hyemalis* diese Verbindung, nachdem Frydman und Neufeld<sup>4</sup> schon 1963 in reifenden Erbsen ein Enzym nachweisen konnten, das aus UDPGal und myo-Inosit Galactinol synthetisiert.

Während bisher über die weitere Verbreitung von Galactinol und dessen Funktion keine Angaben vorliegen, konnten wir nunmehr zeigen, daß es bei zahlreichen Pflanzen vorkommt, einen sehr raschen Umsatz aufweist<sup>5</sup> und als Galactosyldonor der Biosynthese der Stachyose dient.<sup>6</sup> Im Folgenden soll seine Isolierung und Identifizierung aus Blättern sowie seine Verbreitung bei höheren Pflanzen beschrieben werden.

### GALACTINOL

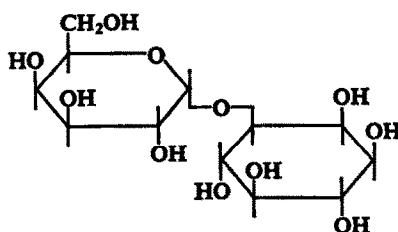


ABB. 1. STRUKTURFORMEL VON GALACTINOL: O- $\alpha$ -D-GALACTOPYRANOSYL-(1 $\rightarrow$ 1)-D-MYO-INOSIT.

<sup>1</sup> R. J. BROWN und R. F. SERRO, *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 1040 (1953).

<sup>2</sup> E. A. KABAT, D. L. McDONALD, C. E. BALLOU und H. O. FISCHER, *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 4507 (1953).

<sup>3</sup> F. PETEK, E. VILLARROYA und J. E. COURTOIS, *Compt. Rend.*, **263**, 195 (1966).

<sup>4</sup> R. B. FRYDMAN und E. F. NEUFELD, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **12**, 121 (1963).

<sup>5</sup> M. SENSER und O. KANDLER, *Z. Pflanzenphys.* **57** 376 (1967).

<sup>6</sup> W. TANNER und O. KANDLER, *Plant Physiol.* **41**, 1540 (1966).

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

## (1) Isolierung und Identifizierung

In unseren Versuchen über die Verteilung von  $^{14}\text{CO}_2$  in Blättern höherer Pflanzen nach Photosynthese in  $^{14}\text{CO}_2$  fiel bei allen Chromatogrammen, in denen auch Raffinose und Stachyose enthalten war, eine uns zunächst unbekannte Verbindung auf, die ähnliche  $R_f$ -Werte aufwies wie die Galactoside der Raffinosefamilie (Abb. 2). Nach dem Besprühen mit alkalischer Silbernitratlösung und Behandlung mit Dampf zeigte der Fleck die für Zucker und andere hydroxylierten Verbindungen typische Braunfärbung. Durch die Verwendung weiterer Zuckernachweisreagentien (Trichloressigsäure-Benzidin-Reagenz nach Bacon<sup>7</sup> und Diphenyl-Harnstoff-Reagenz nach Bailey<sup>8</sup>) konnten wir auf einen nicht-reduzierenden Zucker schließen.

Die Hydrolyse der Verbindung lieferte Galactose und myo-Inosit, die beide durch Papierchromatographie in verschiedenen Lösungsmitteln (Nr. 1, 2, 3 der Tabelle 1) bestimmt wurden. Die quantitative enzymatische Bestimmung der beiden Komponenten ergab ein Molverhältnis von 1:1.

TABELLE 1.  $R_f$ -WERTE VON GALACTINOL UND VERSCHIEDENER ZUCKER

Lösungs- mittel	Galactinol	myo-Inosit	Raffinose	Stachyose	Melibiose	Galactose
1	0,14	0,18	0,28	0,16	0,25	0,38
2	0,03	0,07	0,03	0,01	0,05	0,12
3	0,05	0,10	0,09	0,03	0,11	0,28
4	0,25	0,31	0,27	0,19	0,29	0,41
5	0,04	0,10	0,07	0,02	0,09	0,24
6	0,18	0,24	0,29	0,19	0,30	0,41
7	0,51	0,51	0,67	0,58	0,61	0,68

(1) Phenol:Wasser:Eisessig:1 m EDTA=1680:320:20:2 (v/v); (2) *n*-Butanol-Wasser (Lsg. 1):Propionsäure-Wasser (Lsg. 2)=1:1, Lsg. 1:*n*-Butanol:Wasser=750:50 (v/v), Lsg. 2:Propionsäure:Wasser=352:448 (v/v); (3) *n*-Butanol:Pyridin:Wasser:Eisessig=60:40:30:3 (v/v); (4) *n*-Butanol:Äthylacetat:Eisessig:Wasser=4:3:2,5:4 (v/v); (5) *n*-Propanol:Äthylacetat:Wasser=7:1:2 (v/v); (6) Äthylacetat:Pyridin:Wasser=10:6:5 (v/v); (7) iso-Propanol:Methyläthylketon:Dimethylformamid:Wasser=50:25:10:20 (v/v).

Um zu prüfen, ob die Verbindung mit dem eingangs erwähnten Galactinol identisch ist, wurde sie zunächst mit authentischem Galactinol der Firma California Biochemical Corporation in den in Tabelle 1 angeführten sieben Lösungsmitteln cochromatographiert. In allen Fällen ergab sich Übereinstimmung. Auch bei der Elektrophorese in Boratpuffer wanderten beide Verbindungen gleich.

Da bisher in der Literatur keine  $R_f$ -Werte für Galactinol vorliegen, sind sie für 7 Lösungsmittel zusammen mit denen anderer Galactoside und Galactose in Tabelle 1 zusammen-

<sup>7</sup> J. S. D. BACON and J. EDELMAN, *Biochem. J.* **48**, 114 (1951).

<sup>8</sup> R. W. BAILEY, *J. Chromatog.* **8**, 57 (1962).

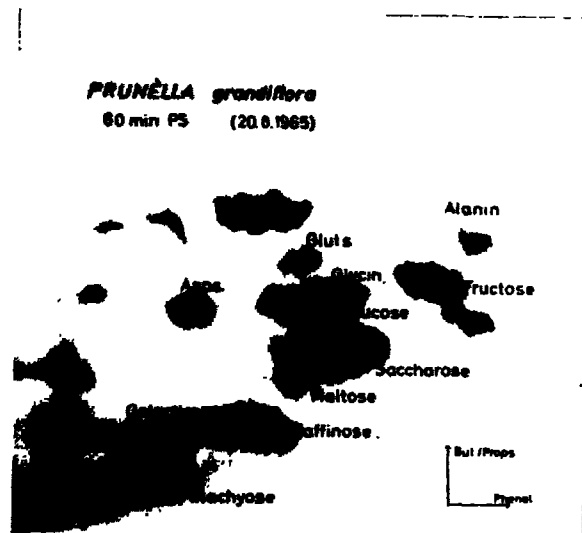


ABB. 2. AUTORADIOGRAMM EINES 2-DIMENSIONALEN PAPIERCHROMATOGRAMMS DES BLAITEXTRAKTES VON *Prunella grandiflora* NACH 1 STD. PHOTOSYNTHESE IN  $^{14}\text{CO}_2$ .

gestellt. In einigen Lösungsmitteln (Nr. 1 und 6) verhält sich Galactinol recht ähnlich wie Stachyose, in anderen (Nr. 2 und 4) wie Raffinose. Das ist wohl der Grund, warum bei den früheren, relativ häufigen Untersuchungen über die Oligosaccharide der Pflanzen Galactinol nicht erfasst wurde, obwohl es, wie die Tabelle 2 zeigt, in relativ großen Mengen vorkommt.

TABELLE 2. QUANTITATIVE BESTIMMUNG DER GALAKTOSEHALTIGEN ZUCKER UND DER SACCHAROSE IN MG/G FRISCHGEWICHT

		Raffinose	Galactinol	Stachyose	Verbascose	Saccharose
<b>Bignoniaceae</b>						
<i>Catalpa bignonioides</i>	(13.9.66)					
junges Blatt		0,29	1,24	0,55	—	2,58
altes Blatt		0,86	2,32	3,61	—	5,67
<b>Buddlejaceae</b>						
<i>Buddleja davidii</i>	(25.8.66)					
Blatt		0,22	0,18	0,16	—	3,68
<b>Ericaceae</b>						
<i>Andromeda japonica</i>	(12.10.66)					
Blatt		0,55	0,34	1,16	—	2,26
Stengel		0,64	0,28	2,76	—	2,69
<b>Lamiaceae</b>						
<i>Lamium maculatum</i>	(25.8.66)					
Blatt		0,66	0,48	0,68	—	1,15
unterirdischer Ausläufer + Wurzeln		0,89	0,99	9,62	1,36	2,07
<i>Lycopus europaeus</i>	(12.10.66)					
Blatt		2,49	2,81	2,12	0,82	3,43
Wurzeln		3,27	2,12	7,70	5,50	3,60
<i>Marrubium vulgare</i>	(12.10.66)					
Blatt		0,65	0,57	1,34	—	2,00
Wurzeln + Wurzelhals		0,33	0,22	1,84	0,62	2,65
<i>Origanum vulgare</i>	(12.10.66)					
Blatt		0,78	0,97	1,40	—	8,28
unterirdischer Ausläufer + Wurzeln		0,87	0,88	1,67	0,92	4,86
<i>Prunella grandiflora</i>	(12.10.66)					
Blatt		0,52	0,72	1,88	—	2,47
unterirdischer Ausläufer + Wurzeln		0,93	0,68	2,78	1,42	3,20
<b>Onagraceae</b>						
<i>Oenothera pumila</i>	(25.8.66)					
Blatt		0,42	0,88	0,87	—	4,75
Stengel		0,23	0,10	0,15	—	7,32

Weiterhin wurde Galactinol im präparativen Maßstab durch Chromatographie an einer Kohle-Celite-Säule unter Verwendung eines Alkoholgradienten gewonnen und aus wässrigem Äthylalkohol kristallisiert. Als Ausgangsmaterial benützten wir 2 kg Blätter von *Lamium maculatum*, von denen wir rund 1,7 g kristallisiertes Galactinol erhielten. Zur Lokalisierung des Galactinols in der Elutionsfolge setzten wir zunächst einer kleinen Probe Blattextrakt markiertes Galactinol aus einem Photosyntheseversuch mit  $^{14}\text{C}$  zu und bestimmten in den

verschiedenen Fraktionen sowohl den Zuckergehalt unter Verwendung des Anthron-Reagenzes als auch die Radioaktivität. Wie die Abb. 3 zeigt, wird Galactinol kurz vor Saccharose bei einem Alkoholgehalt von rund 5% eluiert.

Das wiederholt umkristallisierte Produkt wies einen Schmelzpunkt zwischen 222 und 226° auf, was gut mit dem von Brown u. Serro<sup>1</sup> angegebenen Wert von 220–222° und dem von uns an authentischem Material ermitteltem Wert von 218–226° übereinstimmt.

Schließlich wurde noch das IR-Spektrum unseres Materials mit authentischem Galactinol verglichen. Es ergab sich völlige Übereinstimmung.

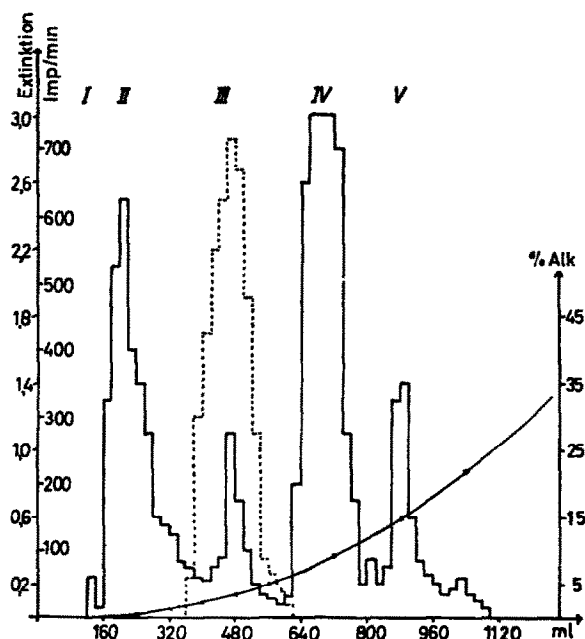


ABB. 3. DIAGRAMM DES SÄULENCHROMATOGRAMMS DES BLATTEXTRAKTES VON *Lamium maculatum* MIT ZUSATZ VON GALACTINOL-<sup>14</sup>C: — = EXTINKTION; ---- = RADIOAKTIVITÄT.

I = Inosit; II = Fructose + Glucose; III = Galactinol; IV = Saccharose; V = Raffinose + Stachyose.

## (2) Die Absolutmenge an Galactinol

Um eine Vorstellung von den in Blättern und anderen Pflanzenteilen enthaltenen Absolutmengen an Galactinol und deren Verhältnis zur Menge anderer Galactoside und der Saccharose zu erhalten, wurden bei einigen Pflanzen quantitative Bestimmungen durchgeführt. Dazu wurden die Blätter bzw. Stengel und Wurzeln mit 70% Alkohol extrahiert, die Extrakte papierchromatographisch getrennt (Lösungsmittel 3 der Tabelle 1) und die entsprechenden Zonen eluiert. Nach enzymatischer Hydrolyse mit einer zuckerfreien, melibiasehaltigen Invertase wurden Galactose, Inosit und Glucose enzymatisch bestimmt.

Die Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die gefundenen Werte. Das Datum des Extraktionstages ist jeweils angegeben, da der Gehalt an Zuckern sehr entwicklungs- und damit auch jahreszeitabhängig ist. Die Pflanzen wurden jeweils zur gleichen Tageszeit (10 und 11 Uhr vormittags) gesammelt, da auch im Verlauf des Tages große Unterschiede im Zuckergehalt auftreten.

In den Blättern ist die Menge des Galactinols allgemein mit der der Raffinose und selbst

der der Stachyose vergleichbar. Bei *Origanum*, *Oenothera* und *Catalpa* liegt sie sogar darüber.

In den unterirdischen Organen sind die Oligogalactoside im Vergleich zur Saccharose deutlich mehr und übersteigen diese vielfach. Dies gilt aber nicht für Galactinol, das im Verhältnis zu den Gliedern der Raffinosefamilie zurücktritt.

### (3) Die Verbreitung des Galactinols bei den Angiospermen

Wie bereits früher beschrieben,<sup>9, 10</sup> haben wir bei einer größeren Zahl von Pflanzen nach Photosynthese in  $^{14}\text{CO}_2$  aus den Blattextrakten Chromatogramme angefertigt. Aus einer Auswahl dieser Chromatogrammsammlung wurden die Flecke, die wir auf Grund ihrer Lage als Galactinol ansprachen, eluiert, das Eluat hydrolysiert und zum Nachweis von Galactose und Inosit erneut chromatographiert.

Die Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die Pflanzen, bei denen wir bisher eindeutig Galactinol nachweisen konnten. Gleichzeitig ist auch der Prozentsatz der Radioaktivität angegeben, der sich in den aufgeführten Galactosiden bzw. in Inosit und Saccharose befand. Dabei ist die Summe des Gehalts an  $^{14}\text{C}$  der aufgeführten Verbindungen als 100 % gesetzt. Da die Photosyntheszeiten von 30 min bzw. 1 Std. nicht genügend sind, um gleiche spezifische Aktivität aller Verbindungen zu gewährleisten, geben die Prozentzahlen nicht die Mengenverhältnisse wieder. Sie vermitteln aber einen Eindruck davon, ob Galactinol und die Galactoside einen wesentlichen oder nur einen geringen Anteil am Zuckerumsatz der Blätter haben.

Allgemein kann bemerkt werden, daß in allen Pflanzen, in denen Raffinose und Stachyose nachweisbar war, auch Galactinol auftrat. Umgekehrt fanden wir keine Pflanze, die Stachyose, aber kein Galactinol enthielt. Dagegen kann trotz der Anwesenheit von Raffinose und Galactinol die Stachyose fehlen, wie es bei allen 3 Vertretern der Papaveraceae und bei einzelnen Vertretern einiger anderer Familien der Fall ist.

Die gelegentlichen negativen Befunde für Inosit erklären sich wohl daraus, daß diese Verbindung nur sehr langsam mit  $^{14}\text{C}$  markiert wird<sup>5</sup> und in vielen Pflanzen auch nur in recht geringer Konzentration vorliegt.

Für eine chemotaxonomische Auswertung ist das vorliegende Material noch zu gering. Es läßt aber erkennen, daß die Beteiligung der Galactoside am Zuckerstoffwechsel der Blätter nicht zufallsmäßig von Art zu Art schwankt, sondern deutliche Schwerpunkte bei bestimmten Familien hat. Bei unserer Art der Darstellung ist dies am besten an dem Anteil der Saccharose zu erkennen. Bei den Lamiales liegt er in allen Fällen unter 80 %, teilweise sogar unter 50 %, während andererseits die Rosales, Papaverales und Rutales in allen Fällen mehr als 90 % des  $^{14}\text{C}$  in Saccharose aufweisen, also nur wenig Galactoside bilden. Andere Familien fanden wir frei von Galactosiden. Dies gilt für die Caryophyllaceae (14 Arten), Chenopodiaceae (4 Arten), Boraginaceae (3 Arten), Solanaceae (4 Arten).

Positive und negative Befunde bei Arten ein- und derselben Familie liegen bisher nur bei den Scrophulariaceen vor. Während bei *Verbascum* und *Wulfenia* Galactinol gefunden wurde, konnte bei *Anthirinum*, *Digitalis* und *Veronica* bisher weder Galactinol noch Raffinose oder Stachyose nachgewiesen werden.

Das Fehlen von Galactinol in den Blättern bedeutet nicht, daß es nicht in anderen Teilen der Pflanze vorkommen kann. So sind sowohl die Vertreter der Raffinosefamilie als auch

<sup>9</sup> O. KANDLER, *Ber. Deut. Botan. Ges.* 77, 62 (1964).

<sup>10</sup> H. VAN SCHERPENBERG, W. GRÖBNER und O. KANDLER, In *Beiträge zur Biochemie und Physiologie von Naturstoffen*, Jena (1965).

TABELLE 3. PROZENTUALER ANTEIL VON VERSCHIEDENEN OLIGOSACCHARIDEN UND VON INOSIT AM  $^{14}\text{C}$ -GEHALT DER AUFGEFÜHRTEN VERBINDUNGEN NACH 30 BZW. 60 MIN PHOTOSYNTHESE VON BLÄTTERN IN  $^{14}\text{CO}_2$

	Raffinose	Galactinol	Stachyose	Inosit	Saccharose	Photo- synthese- zeit in $^{14}\text{CO}_2$ (min)	Datum
<b>Aristolochiales</b>							
<b>Aristolochiaceae</b>							
<i>Aristolochia clematis</i>	2,3	10,3	0,1	0,6	86,7	60	16.9.65
<i>Asarum europaeum</i>	0,1	1,3	—	0,1	98,5	30	15.9.64
<b>Celastrales</b>							
<b>Celastraceae</b>							
<i>Evonymus alatus</i>	4,8	18,5	11,8	0,3	64,6	30	22.9.64
<i>E. hamiltonianus</i>	6,3	5,4	7,2	0,1	81,0	30	23.8.64
<i>E. phellomanus</i>	6,9	31,2	11,0	0,2	50,7	30	22.9.64
<i>E. verrugineus</i>	2,5	13,2	6,6	0,1	77,6	30	11.6.64
<b>Cistales</b>							
<b>Violaceae</b>							
<i>Viola odorata</i>	2,0	2,3	0,2	0,1	95,4	60	21.4.65
<i>V. canadensis</i>	0,9	0,6	0,1	—	98,4	60	14.9.65
<b>Ericales</b>							
<b>Ericaceae</b>							
<i>Calluna vulgaris</i>	1,0	2,5	0,2	—	96,3	30	10.8.64
<i>Erica carnea</i>	6,7	21,0	1,2	0,2	70,9	60	13.4.65
<i>Rhododendron russatum</i>	4,2	6,7	0,6	0,6	87,9	30	26.4.64
<i>Vaccinium myrtillus</i>	1,4	0,8	0,2	0,1	97,5	30	15.9.64
<b>Gentianales</b>							
<b>Buddlejaceae</b>							
<i>Buddleja davidii</i>	5,6	25,4	10,1	0,3	58,6	60	26.9.64
<b>Oleaceae</b>							
<i>Forstiera neomexicana</i>	0,7	6,9	3,5	—	88,9	30	13.8.64
<i>Syringa villosa</i>	3,1	26,3	16,2	—	54,4	30	22.9.64
<b>Lamiales*</b>							
<b>Lamiaceae</b>							
<i>Ajuga reptans</i>	8,6	13,3	24,1	0,1	52,3	60	19.5.65
<i>Calamintha illyrica</i>	8,9	6,2	8,5	0,1	75,7	30	21.9.64
<i>C. vulgaris</i>	4,0	8,5	19,5	0,2	65,5	30	16.9.64
<i>Dracocephalum iberica</i>	6,9	6,3	7,4	0,2	78,8	60	20.8.65
<i>D. moldavica</i>	8,1	12,1	21,4	0,1	57,0	60	19.8.65
<i>D. sibiricum</i>	5,8	32,5	23,9	—	35,6	30	15.7.65
<i>Elscholtzia stauntonii</i>	6,8	13,5	2,2	0,1	77,2	30	21.9.64
<i>Galeopsis dubia</i>	19,5	10,9	20,4	0,2	47,5	60	19.8.65
<i>Hyssopus officinalis</i>	7,6	20,1	16,8	0,3	53,7	60	20.8.65
<i>Lamium album</i>	14,3	8,5	29,4	0,1	46,2	60	24.8.65
<i>L. maculatum</i>	11,0	6,9	22,6	0,6	55,6	60	26.6.65
<i>Lavendula latifolia</i>	13,2	13,8	2,0	0,6	70,4	60	7.7.65
<i>Lycopus europaeus</i>	9,9	4,9	12,0	—	73,2	30	7.9.64
<i>Marrubium vulgare</i>	4,0	8,5	19,5	0,2	65,5	30	16.9.64
<i>Mentha longifolia</i>	7,5	6,2	9,2	—	76,5	30	15.9.64
<i>Origanum vulgare</i>	7,7	8,4	5,4	0,3	77,8	30	21.9.64
<i>Phlomis tuberosa</i>	6,7	8,4	19,6	—	65,3	60	22.7.65
<i>Prunella grandiflora</i>	14,1	12,2	17,7	—	55,3	60	20.8.65
<i>Salvia crucea</i>	6,9	18,9	9,0	—	64,8	30	21.9.64

Die Zusammenfassung der Familien zu Ordnungen erfolgte nach A. TAKHTAJAN, *Die Evolution der Angiospermen*, Jena (1959).

\* Fast alle Arten der Lamiales enthielten bis zu 3% Verbascose.

TABELLE 3.—Fortsetzung

	Raffinose	Galactinol	Stachyose	Inosit	Saccharose	Photo- synthese- zeit <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> (min)	Datum
<i>Salvia farinacea</i>	5,7	11,5	32,4	0,2	48,9	30	21.9.64
<i>Scutellaria alpina</i>	9,5	18,5	17,3	0,7	54,0	30	26.8.64
<i>S. baicalensis</i>	5,2	12,5	12,7	0,3	69,3	60	19.8.65
<i>Stachys officinalis</i>	6,4	16,6	17,1	0,3	58,2	60	20.8.65
<i>Thymus villosa</i>	9,4	20,6	14,1	0,3	54,3	60	7.7.65
<i>Teucrium montanum</i>	4,3	6,6	7,5	0,1	81,5	60	19.8.65
Verbenaceae							
<i>Verbena hybridum</i> var. <i>compactum</i>	9,4	7,0	21,3	1,0	60,1	30	21.9.64
Myrtales							
Onagraceae							
<i>Epilobium palustre</i>	14,9	7,1	7,4	0,2	70,4	30	7.9.64
<i>Jussieua elegans</i>	9,8	3,6	19,1	—	67,5	60	27.4.65
<i>Oenothera tetraptera</i>	4,7	1,4	0,2	—	93,7	30	7.9.64
Punicaceae							
<i>Punica granata</i>	4,5	11,0	19,1	—	65,4	30	12.5.63
Trapaceae							
<i>Trapa natans</i>							
Schwimmbblatt	0,3	0,8	0,1	0,1	98,7	30	30.7.64
untergetauchtes Blatt	0,2	0,1	0,1	—	99,6	30	30.7.64
Papaverales							
Papaveraceae							
<i>Dicentra spectabilis</i>	0,2	0,7	—	0,1	99,0	30	30.5.64
<i>Glaucium flavum</i>	0,4	1,1	—	0,3	98,2	30	22.9.64
<i>Papaver nudicaulis</i>	0,1	0,6	—	0,1	99,2	30	30.5.64
Passi florales							
Cucurbitaceae							
<i>Cucurbita pepo</i>	2,8	3,4	12,0	—	81,8	30	23.7.64
<i>C. sativus</i>	1,8	9,6	3,8	—	84,8	60	15.9.65
<i>Ecballium elaterum</i>	13,0	8,0	31,2	0,3	47,5	60	15.9.65
<i>Thladiantha dubia</i>	13,2	18,0	32,8	0,1	35,9	60	15.9.65
<i>Trichosanthes japonica</i>	9,2	13,5	18,5	—	58,8	60	15.9.65
Rosales							
Rosaceae							
<i>Agrimonia leucantha</i>	0,8	3,0	—	—	96,2	30	18.6.64
<i>Alchemilla mollis</i>	5,3	8,6	0,1	1,1	84,9	30	18.6.64
<i>Filipendula hexapetala</i>	3,0	2,2	0,1	0,5	94,2	60	21.6.65
<i>Fragaria vesca</i>	0,6	4,9	0,1	0,1	94,3	30	9.7.64
<i>Rosa fendleri</i>	1,3	6,6	0,1	1,5	90,5	30	9.7.64
Rutales							
Rutaceae							
<i>Citrus trifoliatus</i>	0,1	0,7	0,1	—	99,1	30	12.8.64
<i>Dictamnus alba</i>	2,7	2,6	2,0	—	92,7	30	12.8.64
<i>Ruta graveolens</i>	2,6	1,7	0,1	0,2	95,4	30	12.8.64
Scrophulariales							
Scrophulariaceae							
<i>Verbascum longifolium</i> † var. <i>pannosum</i>	1,5	13,7	4,1	0,9	79,8	30	26.8.64
<i>Wulfenia carinthiaca</i>	1,5	0,8	—	0,7	97,0	60	31.5.65

† +0,2% Verbascose.



Galactinol in Bohnen und Erbsen und wahrscheinlich auch in anderen Samen von Leguminosen in großer Menge vorhanden,<sup>11</sup> während wir in Blättern von 10 Arten verschiedener Gattungen der Fabaceae diese Verbindungen nicht nachweisen konnten. Entsprechend konnte Galactinol zwar aus der Zuckerrübe isoliert werden,<sup>1</sup> aber in den Blättern der Chenopodiaceae fanden wir kein Galactinol.

#### MATERIAL UND METHODE

Das Pflanzenmaterial stammte entweder aus dem Botanischen Garten München, dem Staudengarten der Gartenbauschule Weißenstephan oder es wurde am natürlichen Standort in der Umgebung von München gesammelt.

Die Durchführung der Photosynthese in  $^{14}\text{CO}_2$  sowie die chromatographische Analyse erfolgte in der früher beschriebenen Weise.<sup>9,10</sup> Die quantitative Bestimmung der Glucose, Galactose und des Inosits erfolgte enzymatisch wie kürzlich näher beschrieben.<sup>11</sup> Die Verteilung der Radioaktivität auf die verschiedenen Verbindungen wurde durch Messung der Radioaktivität der Flecke auf den Chromatogrammen mit Hilfe eines Großflächen-Methandurchfluss-Zählrohrs bestimmt.

Isolierung und Kristallisation des Galactinols: Sofort nach dem Einsammeln der Pflanzen wurden die Blätter entfernt, gewaschen und im Mixer homogenisiert. Das Pflanzenmaterial wurde durch Übergießen mit kochendem Wasser abgetötet und mit 100 g  $\text{BaCO}_3$  1 Stunde am Rückflusskühler gekocht. Die Extraktion wurde noch 3 × wiederholt und die vereinigten Extrakte wurden unter Vakuum bei 40° eingedunstet. Die Proteinfällung erfolgte durch Zugabe von 96% Alkohol bis zu einer Endkonzentration von 80%. Anschließend wurde das Filtrat über "Merck Ionenaustauscher I (sauer) und II (schwach basisch) deionisiert. Das Eluat wurde unter Vakuum zu einem dünnflüssigen Sirup eingedunstet und dann an einer Kohle-Celite-Säule (1:1) absorbiert. Die Trennung erfolgte mit einem Alkoholgradienten im geschlossenen System. Nach dem Einengen der galactinolhaltigen Fraktionen wurde der Sirup in 25% wässrigem Äthylalkohol aufgenommen und nach Zugabe von abs. Äthylalkohol kristallisierte das Galactinol in der Kälte bei einer Alkoholkonzentration von ca. 75% aus. Die Rekristallisation wurde 4 × wiederholt. Ausbeute 1,72 g. Die Schmelzpunktbestimmung wurde mit der Apparatur nach Kofler durchgeführt. Für die Elektrophorese verwendeten wir 0,2 m Boratpuffer pH 9,7 nach Consden und Stanier.<sup>12</sup>

*Danksagung*—Das IR-Spektrum wurde von der Abteilung Strukturchemie der T. H. München, Leitung Prof. Kresze, aufgenommen. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung durch eine Sachbeihilfe.

<sup>11</sup> W. TANNER, H. SEIFFART und O. KANDLER, *Z. Pflanzenphys.* im Druck.

<sup>12</sup> R. CONSDEN und W. M. STANIER, *Nature* **169**, 783 (1952).