

SHORT COMMUNICATION

NACHWEIS VON HARMIN IN GEWEBEKULTUREN VON *PEGANUM HARMALA*

E. REINHARD, G. CORDUAN, and O. H. VOLK

Institut für Pharmakognosie, Universität Würzburg

Zusammenfassung—In Gewebekulturen von *Peganum harmala* wurde das Alkaloid Harmin nachgewiesen. Die Kulturen waren aus Peganum Pflanzen angelegt worden, die als Hauptalkaloid Vasicin enthielten.

Abstract—The alkaloid harmin was identified in tissue cultures of *Peganum harmala*. The tissue cultures were obtained from Peganum plants, which contained vasicin as main alkaloid.

PEGANUM HARMALA, die Steppenraute, enthält Alkaloide vom Typus des Harmans, Harmalin, Harmin Harmalol und dergl., sowie das Chinazolinalkaloid Vasicin. 1965 wurden an unserem Institut Gewebekulturen von *Peganum harmala* angelegt. 1–2 cm lange Stengelstücke wurden durch kurzes Einstauchen in Alkohol und 10 min. Behandeln mit Chlorkalklösung äußerlich keimfrei gemacht. Sodann wurden die Stengelstücke mit steriles Wasser gewaschen und auf ein Agarmedium in Kulturröhrchen übertragen. Als Kulturmedium diente White-Tabakmedium¹ dem 7 Prozent Kokosmilch zugefügt wurde. An den Stengelstücken entwickelte sich ein Wundkallus, von dem Teile auf neues Medium übertragen und seither als Passagenkulturen erhalten wurden. Die Kulturen wurden in Klimakammern bei 25° in schwachem Dauerlicht gehalten. Sie bestehen aus einem hellen, lockeren, sehr raschwüchsigen Gewebe. Stellenweise entwickeln sich an diesem durch Harmalarot gefärbte Stellen, vornehmlich in der Nähe von Wurzeldifferenzierungen. Auf Alkaloide untersucht wurden der Primärkallus, die Gewebe der 1 und 1½ jährigen Passagenkulturen, sowie zum Vergleich die grünen Sprosse der Ausgangspflanzen, von denen die Kulturen angelegt worden waren.

Vor der Extraktion wurden die Gewebe über P_2O_5 im Vacuum getrocknet und anschließend feinst gepulvert. Das Pulver, pro Analyse 300–500 mg, wurde mit 20 ml Chloroform und 0,5 ml konz. NH_4OH befeuchtet und 24 Std. in einem gut verschlossenen Gefäß mazeriert. Danach wurde das Extraktionsmittel abgesaugt, eingeengt und im Messkolben auf 5 ml aufgefüllt. Mit dieser Lösung wurden Dünnenschichtchromatographische Trennungen ausgeführt. Als Trennschicht diente Kieselgel G (Merck), als Laufmittel das Gemisch Chloroform/Aceton/Diaethylamin (50/40/10).

Die Alkaloide wurden auf Grund ihrer Fluoreszens im u.v.-Licht bei 350 nm sowie durch Besprühen mit Jodplateat nachgewiesen. Des weiteren wurden Vergleichs- und Co-Chromatogramme mit authentischen Alkaloiden ausgeführt. Von Harmin wurden zusätzlich Fluoreszenz- und u.v.-Spektren bestimmt.

In den oberirdischen Teilen der Pflanzen, aus denen die Gewebekulturen angelegt wurden, konnten die Alkaloide Vasicin, Harmin und ein weiteres, nicht identifiziertes Alkaloid, das

¹ P. R. WHITE, *Ann. Rev. Biochem.* **11**, 615 (1942).

nahe der Lösungsmittelfront wandert, nachgewiesen werden. Vasicin ist von den drei Alkaloiden in höchster Konzentration enthalten.

In den Primärkalli und in den Gewebekulturen konnte chromatographisch nur ein Alkaloid nachgewiesen werden, das als Harmin identifiziert wurde. Mit Hilfe einer Eichkurve, die mit authentischem Harmin auf Grund der u.v.-Absorption bei 320 nm aufgestellt wurde, wurde der Gehalt der Gewebekulturen an Harmin bestimmt. Die gefundenen Werte liegen bei 0,14 Prozent Harmin und damit etwa um das 6-fache höher als im Ausgangsmaterial.

Es ist bemerkenswert, dass Vasicin, das Hauptalkaloid der Ausgangspflanzen, in den Kulturen nicht nachzuweisen ist, und das Harmin in den Kulturen erheblich höherer Konzentration als im Ausgangsmaterial vorliegt. Die Biosynthese der Alkalioide von *Peganum harmala* ist jedoch stark von entwicklungsphysiologischen und ökologischen Faktoren abhängig.^{2, 3} Dies gilt natürlich auch für die Gewebekulturen. Es ist nicht ausgeschlossen, dass unter anderen Kulturbedingungen und mit dem Alter der Kulturen die Alkaloidzusammensetzung verändert wird. Untersuchungen hierüber sind im Gange.

² D. GRÖGER, *Planta Med.* 7, 461 (1959).

³ A. SCHIPPER, Dissertation, Würzburg (1960).