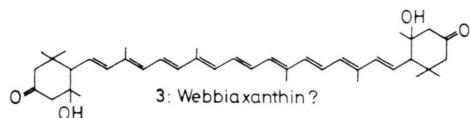


entsteht (polarer als Neoxanthin), die sich nun alle zweifach acetylieren und anschließend noch zweifach silanieren lassen. Es scheint sich also um Isomere zu handeln, die bei der Reduktion erst entstehen, d. h. die neu entstehenden OH-Gruppen scheinen zu den schon vorhandenen tertiären nun verschiedenen Positionen einnehmen zu können, was die Dreizahl der Isomeren erklären würde (*cis-cis*, *cis-trans*, *trans-trans*). Diese Reaktionen und Eigenschaften lassen sich in eine allerdings noch hypothetische Struktur-

formel fassen, die als Grundlage für weitere Analysen dienen kann:



Unter den Nebenpigmenten finden sich weitere z. T. labile Ketopigmente.

<sup>1</sup> T. W. Goodwin, Biochem. J. **51**, 458 [1952].

<sup>2</sup> K. Egger, Planta **58**, 664 [1962].

<sup>3</sup> P. Karrer u. U. Solmsen, Helv. chim. Acta **18**, 477 [1935].

## Isochrysophanol-8-methyläther und 5-Hydroxydigitolutein, zwei neue Anthrachinone aus *Digitalis viridiflora* \*

Isochrysophanol-8-methyl-ether and 5-Hydroxydigitolutein, Two New Anthraquinones from *Digitalis viridiflora* \*

Sedat Imre

Pharmazeutische Fakultät der Universität Istanbul, Türkei

(Z. Natufrorsch. **28 c**, 436–439 [1973]; eingegangen am 3. April 1973).

*Digitalis viridiflora*, Scrophulariaceae, anthraquinones

Digitolutein and two new anthraquinones were isolated from the roots of *Digitalis viridiflora*. The chemical structure of the new anthraquinones ( $V_7$ ,  $V_8$ ) was established to be isochrysophanol-8-methyl-ether and 5-hydroxydigitolutein by IR, NMR and mass spectra and by comparison with synthetic sample ( $V_7$ ). The drug contains ten minor pigments besides these major pigments.

Über die Anthrachinon-Farbstoffe aus den Blättern von *Digitalis viridiflora* haben wir in früheren Mitteilungen berichtet<sup>1–3</sup>. Es wurde nachträglich festgestellt, daß auch die Wurzeln der Pflanze Anthrachinon-Pigmente enthalten, die sich sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht von den Blattfarbstoffen unterscheiden. Nachfolgend berichten wir über die Isolierung und Identifizierung von drei Hauptpigmenten der Wurzeln, bei denen es sich um Digitolutein und zwei bisher unbekannte natürliche Anthrachinone handelt.

### Ergebnisse

Nach einer Vortrennung des methanolischen Wurzelextraktes an Kieselgel, wurden in den Fraktionen

Sonderdruckanforderungen an Dozent Dr. S. Imre, Pharmazeutische Fakultät der Universität Istanbul, Beyazit-İstanbul, Türkei.

\* VI. Mitt. über Flavon- und Anthrachinon-Farbstoffe der *Digitalis*-Arten.

durch Polyamid-DC insgesamt 13 Anthrachinon-Pigmente nachgewiesen, die gruppenweise aufgetrennt waren. Sie wurden mit den Laborbezeichnungen von  $V_1$  bis  $V_{13}$  gekennzeichnet. Drei von denen,  $V_7$ ,  $V_8$  und  $V_{11}$  sind die Hauptpigmente, die übrigen zehn Farbstoffe sind in Spurenmengen vorhanden (Nebenpigmente), so daß sie zum Teil chromatographisch, ohne eine Vortrennung schwer oder nicht zu erkennen sind. Die Hauptpigmente wurden aus den entsprechenden Fraktionen, die mehr oder weniger Nebenpigmente enthielten, durch präparative Dünnenschicht- und Säulen-Chromatographie in reiner und kristalliner Form isoliert. Bei der chromatographischen Kontrolle zeigten die Substanzen  $V_7$  und  $V_8$  keine Ähnlichkeit mit den bekannten *Digitalis*-Anthrachinonen. Das  $V_{11}$  verhielt sich dagegen wie das Digitolutein.

Der gelbe Farbstoff  $V_7$  ist in Sodalösung unlöslich und schmolz bei 190–192 °C. Sein IR-Spek-



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

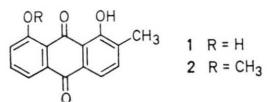
Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

trum zeigt eine freie und eine chelierte Carbonylbande. Im NMR-Spektrum erkennt man eine C-Methyl- und eine O-Methylgruppe, eine Hydroxylgruppe und fünf aromatische Protonen. Demnach hat V<sub>7</sub> die Struktur eines  $\alpha$ -Monohydroxy-monomethoxy-methylanthrachinons. Das massenspektroskopisch ermittelte Molgewicht (*m/e* 268) stimmt mit dem für diese Grundstruktur berechneten überein.

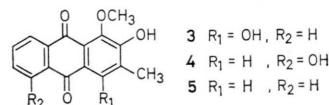
Um festzustellen, ob es sich bei V<sub>7</sub> um einen Monomethyläther eines bekannten Dihydroxy-methylanthrachinons handelt, entmethylierten wir V<sub>7</sub> in Benzol mit Aluminiumchlorid und verglichen chromatographisch mit den Dihydroxy-methylanthrachinonen, die bereits in *Digitalis*-Arten aufgefunden sind. Dabei stellten wir fest, daß das Entmethyl-V<sub>7</sub> sowohl auf Kieselgel als auch auf Polyamid gleiche *R<sub>f</sub>*-Werte und Farbnuancen wie das Isochrysophanol (1) zeigt. Wir verglichen dann unseren Naturstoff mit dem kürzlich von Brew und Thomson<sup>4</sup> synthetisierten Isochrysophanol-8-methyläther (2) durch Mischschmelzpunkt, Cochromatographie, UV- und IR-Spektroskopie. Die beiden Verbindungen erwiesen sich vollkommen identisch.



Der orange Farbstoff V<sub>8</sub> löst sich in wäßriger Sodalösung und schmolz bei 234–236 °C. Da im IR-Spektrum eine freie und eine chelierte Carbonylbande auftreten, muß V<sub>8</sub> eine  $\alpha$ - und eine  $\beta$ -ständige Hydroxylgruppe enthalten. Das NMR-Spektrum zeigt die Signale einer C-Methyl- und einer O-Methylgruppe, die in Lage und Form mit dem Spektrum von Digitolutein weitgehend übereinstimmen. Zwei Signale als Singulets bei  $\delta = 6,80$  und bei  $\delta = 12,66$ , die durch D<sub>2</sub>O-Austausch verschwinden, bestätigen die  $\alpha, \beta$ -Dihydroxysubstitution. Die Integration des aromatischen Bereiches liefert vier Protonen. Das Massenspektrum hat das Molekülion bei *m/e* 284. Demnach handelt es sich bei V<sub>8</sub> um ein  $\alpha, \beta$ -Dihydroxy-monomethoxy-methylanthrachinon.

Um etwas näheres über die Position der O-Methylgruppe zu erfahren, entmethylierten wir V<sub>8</sub> und erhielten das Entmethylprodukt nach Umkristallisieren in reiner Form. Im Gegensatz zu V<sub>8</sub> ergab Entmethyl-V<sub>8</sub> positive Zirkoniumtests und in seinem IR-Spektrum erscheint nur eine chelierte Carbonylbande. Nach diesen Befunden kommen für V<sub>8</sub> nur die Struk-

turen (3) und (4) in Frage. Da aber ein Vergleich mit authentischem 4-Hydroxydigitolutein (3) durch Mischschmelzpunkt, Cochromatographie, UV- und IR-Spektroskopie keine Identität brachte, muß dem Farbstoff V<sub>8</sub> die Struktur (4) zukommen. Ein Anthrachinon-Farbstoff von dieser Konstitution wurde erstmals aus der Natur isoliert und wir nennen ihn 5-Hydroxydigitolutein.



V<sub>11</sub> besteht aus gelben Nadeln vom Schmp. 221–222 °C. Seine Identität mit Digitolutein (5) wurde durch den Vergleich mit authentischer Substanz festgelegt.

Mit weiteren zwei neuen Pigmenten, die wir kürzlich aus den Wurzeln von *D. schischkinii* isoliert haben<sup>5</sup>, hat sich die Zahl der *Digitalis*-Anthrachinone auf 21 erhöht<sup>1–10</sup>. Unsere chromatographischen Untersuchungen mit Blättern und Wurzeln der verschiedenen *Digitalis*-Arten (*D. ferruginea*, *D. schischkinii*, *D. orientalis*, *D. trojana*, *D. grandiflora*) haben gezeigt, daß die Pflanze noch eine Reihe von unbekannten Anthrachinonen enthalten muß. Ihre Isolierung und Identifizierung ist sowohl in biosynthetischer als auch in chemotaxonomischer Hinsicht von großem Interesse.

## Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Für Kieselgel-DC und für präparative Trennungen wurde Kieselgel-G (Merck) verwendet. Als Lösungsmittel diente Petroläther/Äther (1 : 1). Für Polyamid-DC wurde MN-Polyamidpulver und als Lösungsmittel reines Methanol benutzt. Die *R<sub>f</sub>*-Werte wurden als *R<sub>f</sub>-1* (Kieselgel) und *R<sub>f</sub>-2* (Polyamid) bezeichnet. Für SC verwendeten wir Kieselgel (Merck), Korngröße 0,06–0,12 mm und ein Polyamidpulver von der Korngröße 30–80  $\mu$ , das aus Ultramid B3-BASF hergestellt worden war. Die UV-Spektren wurden mit einem Zeiss PMQ-II, die IR-Spektren mit dem Perkin Elmer 137, die NMR-Spektren mit dem Varian 100 A und die Massenspektren mit einem Varian MAT, CH 5 aufgenommen.

### 1. Extraktion und Vortrennung

1,2 kg grob gepulverte Wurzeln von *D. viridiflora*, gesammelt im Juli 1969 in der Gegend Demirköy/

Kirkclareli-Türkei, wurden mit Methanol erschöpfend perkoliert. Die vereinigte und im Vakuum bis auf 200 ml eingeengten Auszüge wurden noch warm mit 100 g Kieselgel vermischt, getrocknet und das trockene Pulver auf eine Kieselgelsäule (5 · 70 cm) gegeben. Die Entwicklung erfolgte mit Benzol und wir erhielten an einem Fraktionssammler insgesamt 500 Fraktionen à 15 ml. Laut Polyamid-DC enthielten die Fraktionen 1 – 49 keine Anthrachinone und die ab 50 bis 336 gruppenweise getrennten Nebenpigmente ( $V_1$ ,  $V_4$ ,  $V_6$ ,  $V_{10}$ ,  $V_{12}$ ). Sie wurden vorläufig nicht weiter verarbeitet.

### 2. Isolierung von Farbstoff-V<sub>7</sub>

Die Fraktionen 337 – 348 und 349 – 388, die hauptsächlich  $V_7$  und die Nebenpigmente ( $V_1$ ,  $V_{12}$ ) und ( $V_2$ ,  $V_{13}$ ) enthielten, wurden jeweils auf 10 ml eingeengt und auf 1 mm dicken Kieselgelplatten chromatographiert. Die abgekratzten Zonen von  $V_7$  wurden mit Methanol extrahiert und zu einem kleinen Volumen eingeengt. Nach einigen Tagen schieden sich gelbe nadelförmige Kristalle aus, Ausbeute 8 mg. Schmp. 190 – 192 °C (Lit.<sup>4</sup> Schmp. 192 – 193 °C).  $R_{f-1}$ : 0,46;  $R_{f-2}$ : 0,36.

UV-Spektrum (in Äthanol): nm (log ε) 256 (4,34), 275 sch (4,04), 282 sch (3,98), 402 sch (3,91), 419 (3,97), 442 sch (3,85).

IR-Spektrum (in KBr): C=O (frei) 1671 cm<sup>-1</sup>, C=O (chel.) 1636 cm<sup>-1</sup>, C=C 1593 cm<sup>-1</sup>.

NMR-Spektrum (in CDCl<sub>3</sub>): δ = 2,36 (3H, s, –CH<sub>3</sub>), δ = 4,07 (3H, s, –OCH<sub>3</sub>), δ = 7,15 – 8,10 (5 aromat. Protonen), δ = 13,26 (1H, s, C<sub>1</sub>–OH).

Massenspektrum: m/e 268 (100%) (M<sup>+</sup>) [ber. für C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>: 268, 272], 250 (90), 239 (22), 222 (45), 194 (22), 181 (24), 165 (26), 152 (30), 139 (23).

### 3. Isolierung der Farbstoffe $V_8$ und $V_{11}$

Die Fraktionen 389 – 398 der Kieselgelsäule, die ebenfalls Nebenpigmente ( $V_2$ ,  $V_3$ ,  $V_5$ ,  $V_9$ ) enthielten, wurden auf Kieselgeldickschicht getrennt. Nach Polyamid-DC waren die Eluate der  $V_8$ -Zonen mit  $V_{11}$  und  $V_5$ , die von  $V_{11}$ -Zonen mit  $V_8$  verunreinigt. Durch Rechromatographie an Polyamidsäulen (2 · 20 cm) mit 70-proz. Methanol erhielten wir die beiden Farbstoffe in chromatographisch reiner

Form. Umkristallisieren aus Methanol ergab 12 mg  $V_8$  und 15 mg  $V_{11}$ .

$V_8$ : orange Nadeln vom Schmp. 234 – 236 °C.  $R_{f-1}$ : 0,43;  $R_{f-2}$ : 0,40.

UV-Spektrum (in Äthanol): nm (log ε) 254 sch (4,21), 272 sch (4,32), 280 (4,34), 412 (3,85).

IR-Spektrum (in KBr): C=O (frei) 1676 cm<sup>-1</sup>, C=O (chel.) 1647 cm<sup>-1</sup>, C=C 1598 cm<sup>-1</sup>.

NMR-Spektrum (in CDCl<sub>3</sub>): δ = 2,42 (3H, s, –CH<sub>3</sub>), δ = 4,02 (3H, s, –OCH<sub>3</sub>), δ = 6,80 (1H, s, C<sub>2</sub>–OH), δ = 7,10 – 8,05 (4 aromat. Protonen), δ = 12,66 (1H, s, C<sub>5</sub>–OH).

Massenspektrum: m/e 284 (100%) (M<sup>+</sup>) [ber. für C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>: 284, 272], 267 (23), 266 (95), 255 (12), 241 (18), 238 (86).

$V_{11}$ : gelbe Nadeln vom Schmp. 221 – 222 °C. Im Mischschmp. mit authentischem Digitolutein keine Depression und die IR-Überlagerungsspektren sind deckungsgleich.

### 4. Entmethylierung von $V_7$ und $V_8$

2 mg von  $V_7$  und 5 mg von  $V_8$  wurden jeweils in 5 ml Benzol gelöst, nach Zusatz von 0,1 g wasserfreiem AlCl<sub>3</sub> 10 min bei 100 °C unter Rückfluß gekocht und dann in 25 ml HCl (1 : 1) gegossen. Aus saueren Lösungen wurden die Entmethylprodukte mit Benzol ausgeschüttelt, die Ausschüttelungen mit Wasser säurefrei gewaschen und abgedampft. Wegen geringer Substanzmenge konnte das Entmethyl- $V_7$  nicht in kristalliner Form erhalten werden. Bei der DC-Überprüfung zeigte es gleiche  $R_f$ -Werte mit authentischem Isochrysophanol.  $R_{f-1}$ : 0,84;  $R_{f-2}$ : 0,31.

Entmethyl- $V_8$  kristallisierte sich aus Methanol als orange Nadeln vom Schmp. 266 – 267 °C.  $R_{f-1}$ : 0,80 (auf Kieselgel + 3% Oxalsäure);  $R_{f-2}$ : 0,14.

UV-Spektrum (in Äthanol): nm (log ε) 255 (4,32), 266 sch (4,27), 287 (4,10), 294 sch (4,08), 447 (3,79).

IR-Spektrum (in KBr): C=O (chel.) 1616 cm<sup>-1</sup>, C=C 1598 cm<sup>-1</sup>.

Für die Überlassung von Testsubstanzen bin ich den Herren Professoren R. H. Thomson und T. Furuya, für die Aufnahme der NMR-Spektren Herrn Prof. H. Wagner und für Massenspektren den Herren Professoren H. Oelschläger und H. Linde zu großem Dank verpflichtet.

<sup>1</sup> S. Imre, Phytochemistry 8, 315 [1969].

<sup>2</sup> S. Imre u. H. Wagner, Phytochemistry 8, 1601 [1969].

<sup>3</sup> S. Imre, Planta med. [Stuttgart] 21, 274 [1972].

<sup>4</sup> E. J. C. Brew u. R. H. Thomson, J. chem. Soc. [London] 1971, 2007.

- <sup>5</sup> S. Imre, A. Öztün u. N. Büyüktimkin, Veröffentlichung in Vorbereitung.  
<sup>6</sup> A. R. Burnett u. R. H. Thomson, Phytochemistry 7, 1423 [1968].  
<sup>7</sup> S. Imre, R. Tulus u. I. Sengün, Tetrahedron Letters [London] 1971, 4681.  
<sup>8</sup> T. Furuya u. H. Kojima, Phytochemistry 10, 1607 [1971].  
<sup>9</sup> T. Furuya, H. Kojima u. T. Katsuta, Phytochemistry 11, 1073 [[1972].  
<sup>10</sup> A. G. Gonzales, R. Freire, J. Salazar u. E. Suarez, An. Quim. 68, 53 [1972].

## Der Verlauf der Lipochinon- und Pigmentsynthese bei einer experimentell induzierten Chloroplastendegeneration in grünen Keimlingen von *Hordeum vulgare* L.

Kinetic of Lipoquinone and Pigment Synthesis during an Experimentally Induced  
Chloroplast Degeneration in Green Seedlings of *Hordeum vulgare* L.

K. H. Grumbach und H. K. Lichtenthaler

Botanisches Institut, Universität Karlsruhe

(Z. Naturforsch. 28 c, 439–445 [1973]; eingegangen am 10. Mai 1973)

Chloroplast degeneration, prenyllipid synthesis

Within a dark period of 24 hours green *Hordeum* plants change their lipoquinone and carotenoid metabolism to that of etiolated plants. A longer darkness induces degeneration of chloroplasts with a concomitant destruction of pigments and lipoquinones which is similar to that of the natural chloroplast degeneration in leaves.

1. The chlorophyll and vitamin K<sub>1</sub> content is not augmented in the dark, but decreases. The concentration of the oxidized benzoquinones plastoquinone-9 and  $\alpha$ -tocoquinone decreases rapidly whereas the level of plastoquinone-9 is augmented until 24 hours darkness.  $\alpha$ -Tocopherol in turn is accumulated throughout the dark period.

2. Among the carotenoids  $\beta$ -carotene is considerably enriched only in the first 24 hours of the dark period. Xanthophylls are accumulated up to the 3 days. The successive increased appearance of single carotenoids during the dark period corresponds to their biogenetic sequence. During carotenoid breakdown (after the 3rd day) neoxanthin, as common oxidation product of all carotenoids appears as the main carotenoid component.

3. It is postulated that the accumulation of the reduced quinone forms ( $\alpha$ -tocopherol, plastoquinone-9) in the dark, which has been shown here, also occurs in the dark phase during natural day-night growth of plants and thus gives rise to the continuous accumulation of  $\alpha$ -tocopherol and plastoquinone-9 in chloroplasts, as described before<sup>4</sup>.

### Einleitung

Bringt man grüne, photosynthetisch aktive Pflanzen ins Dauer dunkel, so wird wegen fehlender Photosynthese die Stoffproduktion und damit die Entwicklung der Pflanze gestört. Da Licht über das Phytochromsystem auch die Photomorphogenese der Pflanze steuert<sup>1</sup>, reagiert die Pflanze unter Lichtausschluß mit speziellen formativen Veränderungen, die von im Dunkeln angezogenen Keimlingen als Erscheinungen des Etiolament gut bekannt sind. So findet man bei etiolierten Pflanzen allgemein eine Hemmung des Flächenwachstums der Blätter, während

das Streckungswachstum des Sprosses bzw. Hypokotyls (Dikotyledonen) oder das Längenwachstum des Primärblattes (Monokotyledonen) stark gefördert ist<sup>2</sup>. Licht stellt darüber hinaus den Stoffwechsel der Etioplasten von Dunkelkeimlingen in kurzer Zeit auf jenen des Chloroplasten um<sup>3</sup> und bewirkt unter anderem eine verstärkte Synthese von  $\beta$ -Carotin und Violaxanthin und bei den Lipochinonen eine erhöhte Bildung von Vitamin K<sub>1</sub> und Plastochinon-9.

Durch das Unterbinden der organischen Substratversorgung gehen die Pflanzen in ein Seneszenzstadium über, an das eine Degeneration der Blätter und Chloroplasten anschließt. Die Degeneration von Chloroplasten ist am Beispiel des herbstlichen Farbwechsels der Laubblätter gut untersucht<sup>4</sup>. Die hier-

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. K. Lichtenthaler, Botanisches Institut der Universität, II. Lehrstuhl, D-7500 Karlsruhe, Kaiserstr. 12.