

Ecdyson als Begleitsubstanz des Ecdysterons in *Polyodium vulgare* L.

Seitdem durch die Arbeiten von T. TAKEMOTO et al.¹ und K. NAKANISHI et al.² bekannt wurde, dass Ecdysteron und ähnlich gebaute Steroide mit Häutungshormonaktivität in Pflanzen vorkommen³⁻⁷, sind diese Stoffe leicht zugänglich geworden. Besonders der Wurzelstock des Tüpfelfarns (Engelsüss, *Polyodium vulgare* L.) bildet, wie V. HEROUT und Mitarbeiter kürzlich berichteten⁸, infolge seines hohen Gehaltes an Ecdysteron eine reiche Quelle für die Gewinnung dieses Häutungshormones.

Da wir im Rahmen unserer Untersuchungen eine grössere Menge des Hormons benötigten, aber nähere Angaben über die Aufarbeitung des Farns noch nicht veröffentlicht sind, mussten wir einen eigenen Arbeitsgang wählen. Als Ausgangsmaterial diente die im Handel erhältliche Droge Rhizoma Polypodii depur. conc. Diese enthält neben Ecdysteron auch eine geringe Menge Ecdyson, wie wir im Laufe der Aufarbeitung feststellten. Damit konnte erstmals das Vorkommen dieses zuerst von A. BUTENANDT und P. KARLSON beschriebenen Häutungshormones⁹ in pflanzlichem Material nachgewiesen werden.

Ecdyson aus *P. vulgare* ergab mit synthetischem Ecdyson¹⁰ keine Schmelzpunktsdepression, IR- und UV-Spektren des Pflanzenproduktes sind identisch mit den früher beschriebenen Spektren¹¹. Im biologischen Test an Calliphora-Larven entsprechen 0,01 µg einer Calliphora-Einheit. Die Wirksamkeit ist die gleiche, wie sie für Ecdyson aus *Bombyx mori*-Puppen gefunden wurde¹¹.

Der Gehalt der von uns aufgearbeiteten handelsüblichen Droge an Ecdysteron bzw. Ecdyson betrug 0,07% bzw. 0,002%. Der Ecdysterongehalt blieb damit erheblich unter dem von J. JIZBA et al.⁸ gefundenen Wert von über 1% Ecdysteron, bezogen auf die getrockneten Rhizomen. Diese Abweichung wird in der verschiedenen Vorgeschichte der Ausgangsmaterialien zu suchen sein.

Isolierung der Hormone. (a) *Ecdyson*. 1,5 kg der geschnittenen Droge wurden 75 h mit 10 l Äthanol ausgeführt, die flüssige Phase vom Festkörper getrennt und der alkoholische Extrakt nach dem Eindicken in zwei Anteilen an je 1 kg Aluminiumoxid «Woelm», Aktivitätsstufe I, chromatographiert (Elutionsmittel: Äthanol; Säulendurchmesser: 6 cm). Die jeweils ersten 6 l der Eluate wurden vereinigt und ergaben nach dem Eindampfen 54 g eines ölichen Rückstandes, der anschliessend dreimal mit je 75 ml Äthanol extrahiert wurde. Die eingedampften und vereinigten Äthanolauszüge enthielten die Gesamtmenge des Ecdysons und Ecdysterons und wurden durch Chromatographie an 0,5 kg Kieselgel (Korngrösse: 0,2–0,5 mm) im System Dichlormethan-Aceton-Äthanol 80:20:10 weiter gereinigt (Säulendurchmesser: 6 cm). Die ersten 8 l des Eluats enthielten den Hauptanteil der Begleitstoffe und wurden verworfen, während die noch auf der Säule verbliebenen Hormone mit 12 l Äthanol herausgewaschen wurden. Das Äthanolelat ergab nach dem Verdampfen des Lösungsmittels 11 g eines zähen braunen Rückstandes, der anschliessend an 200 g Aluminiumoxid «Woelm», Aktivitätsstufe I, im System Aceton-Dichlormethan-Wasser 62,5:15:10 aufgetrennt wurde (Säulendurchmesser: 25 mm). Die ersten beiden Fraktionen zu je 200 ml, die das Ecdyson und den Hauptanteil des Ecdysterons enthielten, wurden vereinigt und ergaben nach dem Einengen 1,9 g Rückstand. Die Fraktionen 3 und 4, je 300 ml, enthielten die restlichen Anteile des Ecdysterons, wurden jedoch aus dem weiteren Aufarbeitungsgang herausgenommen.

Die weitere Auftrennung des aus den ersten Fraktionen stammenden Rückstandes erfolgte in 2 Anteilen durch

eine 40-stufige Gegenstromverteilung (25 ml/25 ml) im System Essigester-Methanol-Wasser 4:1:4. Dabei fanden sich etwa 80% des Ecdysonanteils in den Elementen 1–9, während das Ecdyson neben dem Rest des Ecdysterons und anderen Begleitsubstanzen über die Elemente 10–21 verteilt war. Das aus diesen Elementen gewonnene Stoffgemisch (0,3 g) wurde einer weiteren Gegenstromverteilung unterworfen und der aus den Elementen 9–20 gewonnene Rückstand (0,07 g) zur weiteren Reinigung zunächst auf drei Dünnschichtplatten an Kieselgel HF₂₅₄ «Merck», Schichtdicke 0,5 mm, im System Dichlormethan-Aceton-Äthanol 80:20:25 chromatographiert. Die auf den einzelnen Platten im UV-Licht erkennbaren Banden beim Rf-Wert 0,32, die das Ecdyson und eine weitere, von uns nicht näher charakterisierte Substanz enthielten¹², wurden anschliessend mit Methanol eluiert und das nach dem Eindampfen anfallende gelbe Öl an Aluminiumoxid HF₂₅₄ «Merck», Schichtdicke 0,5 mm, im System Aceton-Dichlormethan-Wasser 62,5:15:10 nochmals dünnschichtchromatographisch aufgetrennt. Dabei war das Ecdyson im UV-Licht als Bande beim Rf-Wert 0,65 erkennbar, während die Begleitsubstanz in diesem System einen Rf-Wert von 0,63 aufwies. Nach der Extraktion der Ecdysonbande mit Methanol ergaben sich 26 mg unreines Ecdyson, das aus Wasser umkristallisiert wurde. Wir erhielten 12 mg reines, kristallwasserhaltiges Ecdyson.

(b) *Ecdysteron*. Die Ecdysteron-haltigen Fraktionen 1–9 bzw. 1–8 aus den Gegenstromverteilungen wurden vereinigt, eingedampft und der Rückstand (1,4 g) aus Essigester-Methanol umkristallisiert. Es ergab sich so eine erste Menge reines Ecdysteron von 0,8 g. Aus den Mutterlaugen und den noch hormonhaltigen Fraktionen 3 und 4 der Aluminiumoxid-Chromatographie (siehe unter (a)) wurden weitere 0,2 g Ecdysteron erhalten¹³.

Summary. Ecdysone, one of the moulting hormones of Arthropodes, was found for the first time in the plant kingdom too. From rhizomes of *Polyodium vulgare* L. we isolated 0.002% ecdysone and 0.07% ecdysterone.

G. HEINRICH¹⁴ und H. HOFFMEISTER

*I. Medizinische Universitätsklinik Hamburg
(Deutschland), 9. August 1967.*

- ¹ T. TAKEMOTO, S. OGAWA und N. NISHIMOTO, *J. Pharm. Soc. Japan* 87, 325 (1967).
- ² K. NAKANISHI, M. KOREEDA, S. SASAKI, M. L. CHANG und H. Y. HSU, *Chem. Commun.* 915 (1966).
- ³ M. N. GALBRAITH und D. H. S. HORN, *Chem. Commun.* 905 (1966).
- ⁴ H. RIMPLER und G. SCHULZ, *Tetrahedron Lett.* 22, 2033 (1967).
- ⁵ T. TAKEMOTO, S. OGAWA, N. NISHIMOTO, H. HIRAYAMA und S. TANIGUCHI, *J. Pharm. Soc. Japan*, im Druck.
- ⁶ T. TAKEMOTO, Y. HIKINO, K. NOMOTO und H. HIKINO, *Tetrahedron Lett.*, im Druck.
- ⁷ H. HOFFMEISTER, G. HEINRICH, G. B. STAAL und W. J. VAN DER BURG, *Naturwissenschaften*, im Druck.
- ⁸ J. JIZBA, V. HEROUT und F. SORM, *Tetrahedron Lett.* 18, 1689 (1967).
- ⁹ A. BUTENANDT und P. KARLSON, *Z. Naturf.* 9b, 389 (1954).
- ¹⁰ J. B. SIDDALL, A. D. CROSS und J. H. FRIED, *J. Am. chem. Soc.* 88, 862 (1966).
- ¹¹ P. KARLSON, H. HOFFMEISTER, W. HOPPE und R. HUBER, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 662, 1 (1963).
- ¹² Diese Substanz färbt sich beim Besprühen mit Vanillin-Schwefelsäure-Reagenz intensiv rot an und überdeckt damit die graublaue Färbung des Ecdysons, wenn im genannten System gearbeitet wird.
- ¹³ Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.
- ¹⁴ Teil der Dissertation von G. HEINRICH.