



Doctoral Thesis

## Taxonomische und phytochemische Untersuchungen in der Gattung *Betonica* L.

**Author(s):**

Jeker, Marianne

**Publication Date:**

1993

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001534546> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH ex. B

Diss. ETH Nr. 10312

**Taxonomische und phytochemische Untersuchungen  
in der Gattung *Betonica* L.**

ABHANDLUNG  
zur Erlangung des Titels eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

Marianne JEKER

Eidg. dipl Apothekerin  
geboren am 25. Februar 1958  
von Büsserach SO



Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. E. Landolt, Referent  
Prof. Dr. O. Sticher, Korreferent

1993

## ZUSAMMENFASSUNG

In Rahmen der Bearbeitung der Gattung *Betonica* L. wurden an Vertretern für die europäischen Arten der Gattung *Betonica* L. taxonomische und phytochemische Untersuchungen durchgeführt.

Das Untersuchungsmaterial (43 Populationen) wurde in Russland, Griechenland, Albanien, Jugoslawien (ehem.), Österreich, Italien, Frankreich, Spanien und der Schweiz gesammelt und in Kultur genommen.

### *Botanischer Teil*

Je 100 gepresste Blätter, Kelche und Kronen sowie Teilfrüchte aus den 43 kultivierten Populationen wurden einzeln ausgemessen. Das umfangreiche Datenmaterial wurde statistisch ausgewertet, wobei deskriptive, uni- und multivariate Analysen zur Anwendung kamen. Mithilfe der multivariaten Analyse konnten fünf klare Gruppen erarbeitet werden und zwar *B. officinalis* s.l., *B. alopecuroides* s.l., *B. scardica*, *B. hirsuta* und *B. grandiflora*. Univariate Analysen zeigten eine Aufgliederung von *B. officinalis* s.l. in die Sippen *B. officinalis* s.str., *B. haussknechtii*, *B. serotina* und *B. stricta*, *B. alopecuroides* s.l. in die Sippen *B. alopecuroides* s.str., *B. jacquinii* und *B. divulsa*. Zusätzliche morphologische Untersuchungen an umfangreichem Herbarmaterial dienten zur Erstellung von Diagnosen und Bestimmungsschlüssel.

Rund 1400 Kreuzungen wurden an morphologisch gut unterscheidbaren Taxa - *B. alopecuroides* s.l., *B. officinalis* s.str., *B. scardica*, *B. hirsuta* - durchgeführt. Die Resultate der Kreuzungsexperimente zeigen, dass die Arten kreuzbar sind. Es keimten bis jetzt nur insgesamt 1% der Aussaat.

### *Chemischer Teil*

Es wird in einem ersten Teil die Isolierung von Verbindungen aus *Herba Betonicae officinalis* mittels Craig-Verteilung, Gelchromatographie und RP-Mitteldruckchromatographie beschrieben. Der zweite Teil befasst sich mit der Strukturaufklärung der isolierten Verbindungen (UV/VIS-Spektroskopie mit Shiftreagenzien, Schmelzpunkt, IR, FAB-MS, NMR-Experimente: 1D-Experimente;  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR, 2D-Experimente;  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY und  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -COSY).

Folgende, bisher in der Literatur nicht beschriebene Substanzen wurden isoliert:

- ( $1\text{R}^*$ ,  $4\alpha\text{R}^*$ ,  $7\alpha\text{S}^*$ )-4-[( $\beta$ -D-Allopyranosyl)oxy]-1-[( $\beta$ -D-gluco-pyranosyl)oxy]-4 $\alpha$ ,6,7,7 $\alpha$ -tetrahydrocyclopenta[c]pyran-5(1H)-one  
(Allobetonosid, Hauptinhaltsstoff)
- 6-O-Acetylmiospyrosid
- Veratroyl-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl(1''-6')-O- $\beta$ -D-gluco-pyranosid

Zum ersten Mal aus *Herba Betonicae officinalis* wurden des weiteren isoliert und mittels spektroskopischer Methoden in ihrer Struktur aufgeklärt:

- die Iridoide Acetylharpagid und Reptosid
- die Phenylpropanoidglykoside Forsythosid B und Acteosid
- das Flavon Tricin-7-O-glucuronid
- die Aminosäure L-Tryptophan

Die Resultate der chemotaxonomischen Untersuchungen zeigen, dass das Inhaltsstoffspektrum - zumindest was die isolierten Substanzen betrifft - innerhalb der gesamten Gattung ziemlich konstant ist. Die Iridoide Allobetonosid, 6'-O-Acetylmiosporosid und Acetylharpagid werden für die meisten Arten nachgewiesen sowie die Phenylpropanoidglykoside Forsythosid B und Acteosid. Für die Unterschiede innerhalb *Betonica* müssen andere Kriterien als die chemischen herangezogen werden. Die HPLC-Analysen zeigen jedoch

sehr schön die grossen chemischen Unterschiede im Flavonoid- und Iridoid-Muster zur *Stachys recta*-Gruppe.

### *Biologische Tests*

Im auffälligen Gegensatz zu heute erfreute sich *Betonica officinalis* L., Wurzel und Spross, einstmals eines hohen Ansehens als Heilpflanze. Im letzten Teil dieser Arbeit wurden biologische Experimente durchgeführt, um die isolierten Leitsubstanzen und den Rohextrakt bezüglich biologischer Aktivität zu charakterisieren. Es wurde keine sedative Wirkung festgestellt. Hingegen konnte eine schwache calciumantagonistische und antibakterielle Aktivität des Rohextraktes nachgewiesen werden.

## SUMMARY

In the present study, taxonomical and phytochemical investigations were carried out on the European species *Betonica* L.

Plant material (43 populations) was collected in Russia, Greece, Albania, former Yugoslavia, Austria, Italy, France, Spain, and Switzerland and cultivated in Switzerland.

### *Botany*

Of each of the 43 cultivated populations, 100 leaves, calyces, corollae, as well as nutlets were pressed and measured. The great amount of recorded data was evaluated statistically, whereby descriptive, uni- and multivariate statistics were applied. Five distinct groups can be separated by means of multivariate analysis: *B. officinalis* s.l., *B. alopecuros* s.l., *B. scardica*, *B. hirsuta*, and *B. grandiflora*.

The univariate analysis gives evidence for division of the taxon *B. officinalis* s.l. into *B. officinalis* s.str., *B. haussknechtii*, *B. serotina*, and *B. stricta*; and the taxon *B. alopecuros* s.l. into *B. alopecuros* s.str., *B. jacquinii*, and *B. divulsa*. Additional morphological investigations of a great number of voucher specimens were useful for diagnosis and a synoptic key.

About 1400 crossing experiments were carried out with the morphologically well defined taxa, *B. alopecuros* s.l., *B. officinalis* s.str., *B. scardica*, and *B. hirsuta*. The results of the crossing experiments showed that the species investigated are crossable. Only 1% of the seeds have germinated so far.

### *Chemistry*

The first section describes the isolation of compounds from Herba *Betonicae officinalis* by Craig distribution, gel-chromatography, and middle-pressure reversed-phase chromatography. The second section deals with the structure elucidation of the isolated compounds (UV/VIS-spectroscopy with Shift reagent, melting point, IR, FAB-MS, and NMR spectroscopy; 1D-experiments; <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR, 2D-experiments, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY and <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-COSY).

The following compounds are new to literature:

- (1R\*,4αR\*,7αS\*)-4-[(β-D-Allopyranosyl)oxy]-1-[(β-D-glucopyranosyl)oxy]-4α,6,7,7α-tetrahydrocyclopenta[c]pyran-5(1H)-one (allobetonoside, main compound)
- 6-O-acetylmiospyroside,
- Veratroyl-O-β-D-apiofuranosyl(1''-6')-O-β-D-glucopyranoside

Other compounds isolated and elucidated by spectroscopic methods from Herba *Betonicae officinalis* for the first time are:

- the iridoids acetylharpagide and reptoside

- the phenylpropanoidglycosides, forsythoside B and acteoside, and
- the amino acid, L-tryptophane

According to our chemotaxonomical investigations, the group of *Betonica officinalis* shows a homogeneous, chromatographic pattern. In most of the species, the iridoids, allobetonicoside, 6'-O-acetylmiosporoside, and acetylharpagide, and the cinnamoic acid derivatives forsythoside B and acteoside can be detected. For differentiation within the group of *Betonica* other criteria than chemical ones must be considered. The HPLC analyses however, show considerable chemical differences in the flavonoid and iridoid pattern to the *Stachys recta*-group.

#### *Botanical tests*

In conspicuous contrast to present days, the roots and shoots of *B. officinalis* L., once enjoyed a high medicinal reputation. In the last section of the present study, biological experiments are described which were carried out in order to characterize the biological activity of the crude extract. There was no sedative effect. A slight calcium-antagonistic activity and antibacterial effects, however, were detected.

## RESUME

Le présent travail est consacré à l'étude de la position systématique du genre *Betonica* L. des représentants européens. A ce but des études taxonomiques et phytochimiques ont été effectuées. Les plantes (43 populations) ont été récoltées en Russie, en Grèce, en Albanie, en Yougoslavie, en Autriche, en Italie, en France, en Espagne et en Suisse et mises en culture.

#### *Partie botanique*

Pour chacune des 43 populations cultivées 100 feuilles, calices et couronnes ainsi que les particules de fruit ont été mesurées. Les données ont été traitées statistiquement au moyen d'analyses descriptives, uni- et multivariantes. A l'aide de l'analyse multivariante, cinq groupes nets ont pu être acquis, à savoir *B. officinalis* s.l., *B. alopecuros* s.l., *B. scardica*, *B. hirsuta* et *B. grandiflora*. L'analyse univariante a permis de distinguer chez *B. officinalis* s.l. les taxons *B. officinalis* s.str., *B. haussknechtii*, *B. serotina* et *B. stricta* et chez *B. alopecuros* s.l. *B. alopecuros* s.str., *B. jacquinii* et *B. divulsa*. Des recherches morphologiques supplémentaires à l'aide des exemplaires d'herbier volumineux ont servi à la contribution des diagnoses et de la clé de détermination.

Environ 1400 croisements ont été effectués avec des taxons morphologiquement bien distingués - *B. alopecuros* s.l., *B. officinalis* s.str., *B. scardica*, *B. hirsuta* - . Les résultats des expériences de croisement montrent que les taxons sont croisables. Jusqu'à présent seul 1% de la semaille a germé.

#### *Partie chimique*

La première partie décrit l'isolement des constituants d'Herba *Betonicae officinalis* à l'aide de la répartition de Craig, la chromatographie sur gel et RP-chromatographie à moyenne pression. La deuxième partie s'occupe de la détermination de la structure des constituants isolés (UV/VIS-spéctroscopie avec les réactifs de Shift, point de fusion, IR, FAB-MS, RMN-expériences: 1D-expériences; <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-RMN, 2D-expériences; <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY und <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-COSY).

Les constituants suivants, jamais décrits dans la littérature jusqu'à présent, ont été isolés:  
- (1R\*,4αR\*,7αS\*)-4-[(β-D-Allopyranosyl)oxy]-1-[(β-D-glucopyranosyl)oxy]-

*4 $\alpha$ ,6,7,7 $\alpha$ -tetrahydrocyclopenta[c]pyran-5(1H)-one* (allobetonicoside, constituant principal)

- 6-*O*-acetylmiospyroside
- *Veratroyl-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl(1''-6')-O- $\beta$ -D-glucopyranoside*

L'investigation phytochimique de *Herba Betonicae officinalis* a conduit pour la première fois à l'isolement et à la détermination de la structure:

- des iridoïdes suivants: acetylharpagide, reptoside
- des phénylpropanoïdeglycosides, à savoir le forsythoside B et l'actéoside
- du flavone tricetin-7-*O*-glucuronide
- de l'acide aminé L-tryptophane

Les résultats des études chémotaxonomiques montrent que le spectre de constituants - du moins en ce qui concerne les substances isolées - est assez constant dans le genre entier. Les iridoïdes allobetonicoside, 6'-*O*-acetylmiosporoside et acetylharpagide ont été trouvés chez la plupart des espèces ainsi que les phénylpropanoïdeglycosides forsythoside B et actéoside. Pour différencier les espèces du groupe *Betonica* on doit considérer d'autres critères que la composition chimique. Les analyses d'HPLC montrent cependant très bien que de grandes différences existent par rapport au groupe *Stachys recta* quant à la répartition des flavonoïdes et des iridoïdes.

#### *Tests biologiques*

Contrairement à ce qui est le cas aujourd'hui *Betonica officinalis* L., racine et pousse, fut réputée autrefois comme plante médicinale. Dans la dernière partie de ce travail des expériences biologiques ont été effectuées, pour caractériser l'activité biologique des constituants principaux et d'un extrait brut. Aucun effet sédatif n'a été constaté. En revanche il a été possible de montrer pour l'extrait brut une faible action comme antagoniste du Calcium et un léger effet antibactériel.