

## Changement du taux des triterpénoïdes dans *Helianthus annuus* L. pendant la période de végétation

K. STRUBY ET Z. KASPRZYK

*Institut de Biochimie, Université de Varsovie*

(Reçu: Novembre 23 1970.)

### Summary:

Käti Struby and Zofia Kasprzyk, Biochemistry Institute, University of Warsaw, Warszawa, al. Żwirki i Wigury 93, Poland

*Variations in the level of triterpenoids in Helianthus annuus during vegetation*

### Abstract:

The variations in the level of triterpenoids, i.e. methylsterols, sterols, triterpenic monols and diols as well as of oleanolic acid and echinocystic acid were investigated in different organs of *Helianthus annuus* plant during vegetation period till 120th day. It was found that all types of compounds investigated are present in considerable quantities in the whole plant during this period. The presence of 5 monols and of 5 diols with chromatographic properties of pentacyclic triterpenic alcohols identified previously in *Calendula officinalis* flowers was proved in the shoots of *H. annuus*. This fact indicates that the green tissues of *H. annuus* possess the capacity to biosynthesize the pentacyclic triterpenes of different types and to hydroxylate them, what results in formation of diols from monols and of echinocystic acid from oleanolic acid. The green tissues of the previously investigated *C. officinalis* can synthesize only the triterpenes of the  $\beta$ -amyrin type and the synthesis of triterpenes of other types and their hydroxylation proceeds only in the flowers of this plant.

### INTRODUCTION

Dans nos recherches précédentes sur la structure et les transformations des triterpénoïdes dans les plantes de la famille des Composées, on a démontré (Kasprzyk, Grzelczak, Pyrek 1965 et Kasprzyk, Kozierowska 1966) que les fleurs des 31 espèces appartenant à 11 tribes de la sous-famille des *Tubiflorae* contiennent les stérols et les monols triterpéniques, dans les fleurs des 12 espèces de la même sous-famille on a trouvé en plus les diols triterpéniques et dans celles des deux espèces (*Calendula officinalis* et *Helianthus annuus*), outre les alcools énumérés les acides triterpéniques.

En 1966 Skrzeczkowski a prouvé pour les fleurs des 7 espèces appartenant à la tribu des *Helianthae*, que les monols et les diols qui s'y trouvent forme des mélanges composés.

L'analyse détaillée de la structure des triterpénoïdes contenus dans les fleurs de souci (*Calendula officinalis*) (Zimmermann 1944; Stevenson 1961; Kasprzyk, Pyrek 1968) a démontré la présence des monols suivants de la groupe des triterpènes pentacyclique:  $\alpha$ -amyrine,  $\beta$ -amyrine,  $\psi$ -taraxastérol, taraxastérol et lupéol, de même que la présence des diols: bréine, érythrodiol, faradiol, arnidiol et calenduladiol, correspondant aux précédents par la structure du squelette. On a identifié les stérols suivants:  $\beta$ -sitostérol, stigmastérol (Kasprzyk, Pyrek 1967) et isofucostérol (Kasprzyk, Turowska 1969), de même que l'acide oléanolique lié dans les glycosides.

Les triterpénoïdes des fleurs de tournesol (*Helianthus annuus*) ont été analysés d'une façon moins détaillée. J. Skrzeczkowski, M. Zeidel et B. Chrostowska dans leur mémoires de diplôme (1966—1968) ont démontré, que celles-ci contiennent les monols triterpéniques, localisés sur les chromatogrames sur les couches minces au niveau des amyrynes, du  $\psi$ -taraxastérol, du taraxastérol et du lupéol ainsi que les diols aux propriétés chromatographiques de bréine, d'érythrodiol et de faradiol. Dans la groupe des stérols on a observé la présence des composés localisés au niveau de  $\beta$ -sitostérol et stigmastérol, (Zeidel 1967). Les composantes acides liées glycosidiquement ont été examinées par Kasprzyk et Jachymczyk en 1956, qui en 1962 ont identifiés un d'eux comme l'acide échinocystique de même que par Kasprzyk, Wojciechowski et Kuczevska-Jankowska qui en 1966 ont identifiés le deuxième comme l'acide oléanolique.

Kasprzyk et Fonberg-Broczek (1967) dans leur recherches sur les variations du taux des triterpénoïdes dans le souci durant la végétation, effectuées d'après la méthode colorimétrique, ont constaté que dans tous les organes de cette plante, pendant toute la période de végétation sont présent dans les quantités considérables les stérols et l'acide oléanolique ainsi que les traces des monols triterpéniques., tandis que dans les fleurs et dans la semence s'accumulent en grandes quantités les triterpénoïdes de tous les groupes c. à d. outre l'acide oléanolique et les stérols, les monols et les diols triterpéniques. Kasprzyk et Wojciechowski (1969) travaillant sur la biosynthèse des triterpénoïdes dans les pousses de souci par méthode isotopique, ont constaté que l'unique monol qui y est present en faible quantité c'est la  $\beta$ -amyrine. Ils y ont trouvé en plus des quantités encore plus faibles de l'érythrodiol et de l'aldéhyde oléanolique, intermédiaires biogénétiques entre la  $\beta$ -amyrine et l'acide oléanolique. Les monols et les diols des groupes autres que la  $\beta$ -amyrine ne sont donc présents que dans les fleurs et dans les semences de souci.

Les recherches de Kasprzyk, Śliwowski et Bolesławska-Kokosza (1970) sur les variations du taux des triterpénoïdes pendant la germination des semences de souci ont démontré que, au cours des deux premières semaines de développement de la jeune plantule, disparaissent les alcools triterpéniques de types autres que la  $\beta$ -amyrine, et commencent à s'y accumuler les stérols et les composés triterpéniques de ce dernier groupe.

L'examen de la présence et des variations du taux des composés triterpéniques dans tous les organes de tournesol (*Helianthus annuus* L.) a été l'objectif du présent travail.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel

**Plantes.** Les plantes de tournesol (*Helianthus annuus* var. Fregi) sont cultivées dans un phytotron, où elles sont illuminées 16 h. par jour avec des lampes fluorescentes, à l'intensité de 3000 lux. La température est réglée à 22° pendant le jour et à 15° pendant la nuit. Les conditions de la cultivation sont identiques à celles qui ont été appliquées pour la cultivation de souci (Kasprzyk, Fonberg-Broczek 1967).

**Préparation des échantillons.** On utilise des plantes de l'âge différent, de 10 jour à 4 mois, pour analyses quantitatives. Pour les jeunes plantes on analyse séparément les racines, les feuilles supérieures et les feuilles inférieures. Les inflorescences sont séparées en involucre, réceptacle, linguliflores, tubiflores et petites semences. Les échantillons sont prélevés le matin, toujours à la même heure. Les plantes sont pesées immédiatement, et ensuite homogénéisées avec un volume décuple de méthanol (V/P). Si l'échantillon n'est pas utilisé tout de suite, il est gardé à froid (— 15°). En même temps, un échantillon identique est préparé pour détermination du poids sec. Il est séché pendant 24 h. à température ordinaire, puis dans l'étuve à 105° jusqu'à l'obtention du poids constant.

**Hydrolyse et préparation des fractions.** On ajoute le même volume d'une solution méthanolique de KOH à 20% au matériel homogénéisé et on le chauffe au reflux pendant 3 h. On fixe le pH à 8 avec l'acide sulfurique. Le  $K_2SO_4$  précipité est filtré, on ajoute au filtrat la même quantité d'eau et on distille le méthanol. La solution est extraite avec de l'éther éthylique, ce qui permet de séparer la fraction insaponifiable, c. à d. les monols et les diols triterpéniques, les stérols et les méthylstérols. La fraction obtenue est lavée avec une solution aqueuse de KOH à 22%, en vue d'éliminer les restes de chlorophylle, et ensuite avec de l'eau. La phase aqueuse est acidifiée jusqu'au pH 3 et extraite à l'éther, ce qui permet de séparer les acides gras.

La fraction aqueuse est ensuite diluée avec du méthanol et de l'acide sulfurique concentré de façon à ce que la concentration de la solution finale soit de 70% pour le méthanol et de 5% pour l'acide. Chauffée pendant 3 h., la solution acide est ensuite alcalinisée avec du KOH jusque' au pH 3—4, le sel formée est séparé par filtration, le filtrat dilué avec la même quantité d'eau et le méthanol distillé. Les acides triterpéniques sont ensuite extraits à l'éther.

### Méthodes

**Chromatographie en couche mince.** La séparation et la purification des composés triterpéniques pour analyse colorimétrique est effectuée par chromatographie en couche mince.

Adsorbants: silica-gel H prod. Merck et le même silica-gel additionné de  $\text{AgNO}_3$  à 10%.

Systèmes développants: I. Ether de pétrole, chloroform, méthanol — 20 : 10 : 1 (deux fois) pour séparer les composantes de la fraction insaponifiable c. à d. les monols triterpéniques, les méthylstérols, les stérols et les diols triterpéniques ainsi que pour séparer l'acide oléanolique de l'acide échinocystique. II. benzène, ensuite chloroforme, pour séparer sur les plaques imprégnées de  $\text{AgNO}_3$  les monols particuliers et les acétates des diols triterpéniques.

Révéléateur: acide sulfurique à 50%.

Substances étalons: acide oléanolique, acide échinocystique, faradiol,  $\beta$ -sitostérol, lanostérol,  $\alpha$ -amyrine,  $\beta$ -amyrine,  $\psi$ -taraxastérol, taraxastérol, lupéol, acétates de bréine, d'érythrodiol, de faradiol (ce dernier inséparable de l'acetate d'arnidiol sur chromatogrammes) et de calenduladiol. Le  $\beta$ -sitostérol est le produit de la BDH, l'acide échinocystique fut isolé des fleurs de tonnesol et toutes les autres substances des fleurs de souci.

On prépare les plaques en utilisant 6 g d'adsorbent pour une plaque de 18 cm.  $\times$  18 cm. Avant emploi on les active en les chauffant pendant 1/2 h. dans l'étuve à 110°. Les extraits de la fraction insaponifiable et des acides triterpéniques sont appliqués en ligne; aux deux extrémités de la plaque, on applique un mélange de substances étalons. Celles-ci sont révélées et les bandes des substances séparées, raclées avec une lame de rasoir et éluées avec un mélange méthanol, éther éthylique (1 : 1 v/v) sur un entonnoir à verre fritté Gooch.

**Préparation des dérivés des substances isolées.** L'acétylation des diols est faite dans un mélange pyridine, anhydride acétique — 1 : 1 pendant 48 h. à température ordinaire. Oxidation avec  $\text{SeO}_2$ . On dissout le mélange  $\alpha$ -amyrine et  $\beta$ -amyrine dans un mélange: acide acétique glacial, benzène — 1 : 2, on ajoute 10 fois autant (p/p) de  $\text{SeO}_2$  purifié préalablement par sublimation et on chauffe le tout pendant 1 h. au bain-marie.

Déterminations colorimétriques des composés triterpéniques. Les échantillons élués des chromatogrames servent à des déterminations quantitatives effectuées par méthode colorimétrique. On emploie la réaction avec  $\text{CoCl}_2$  décrite par Fonberg et Kasprzyk (1965). Les courbes d'étalons sont établies avec  $\psi$ -taraxastérol pour les monols triterpéniques, avec lanostérol pour les méthylstérols, avec  $\beta$ -sitostérol pour les stérols et avec acide oléanolique et échinocystique.

### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats des déterminations colorimétriques sont présentés dans les tableaux 1 et 2 et sur la fig. 1.

On constate que les composés triterpéniques appartenant à tous les groupes sont présents déjà dans la semence et que le taux des acides triterpéniques y est très élevé. La concentration de l'acide échinocystique est de 25 mg par g de poids sec pour semences mûres, celle de l'acide oléanolique est env. 3 fois plus basse. Le taux des stérols et des diols est aussi élevé, proche de celui de l'acide oléanolique. Seuls, les monols triterpéniques sont présents en quantités assez faibles.

Table 1

Le taux des triterpénoïdes dans les semences de *Helianthus annuus*

Stade de développement	% de poids sec	mg/g de poids sec					
		MS	S	M	D	AO	AE
Toute jeunes	12.8	0.9	4.2	1.2	1.0	2.1	3.3
Mûrissantes	32.7	1.4	4.2	1.7	2.3	1.7	4.5
Mûres	96.0	6.6	9.0	1.2	6.6	8.0	25.0

Explications comme sous la Table 2.

En comparant ces résultats avec ceux obtenus par Kasprzyk, Śliwowski et Bolesławska-Kokosza (1970) pour les semences mûres de souci (stérols 2.13 mg, monols 0.79 mg, diols 0.56 mg et acide oléanolique 2.62 mg par g de poids sec) on observe que la concentration des triterpénoïdes et surtout celle des diols et des acides est dix fois plus élevée pour les semences de tournesol.

Les changements de la concentration des triterpénoïdes dans les parties vertes et dans les racines sont présentés sur la fig. 1. On y réunit sur un même diagramme les composés rapprochés au point de vue de biogenèse, c. à d. les stérols avec les méthylstérols (y inclus le phytol), les monols triterpéniques avec les diols triterpéniques, l'acide oléanolique avec l'acide échinocystique.

Pour comparer les taux des différents triterpénoïdes pendant les dif-

férents stades de végétation il faut tenir compte des changements du poids sec.

L'abaissement du poids sec des pousses (de 7,7% à 5,9%) et des racines (de 3,2% à 2,3%) des plantes âgées de 10 et de 25 jours est du à une

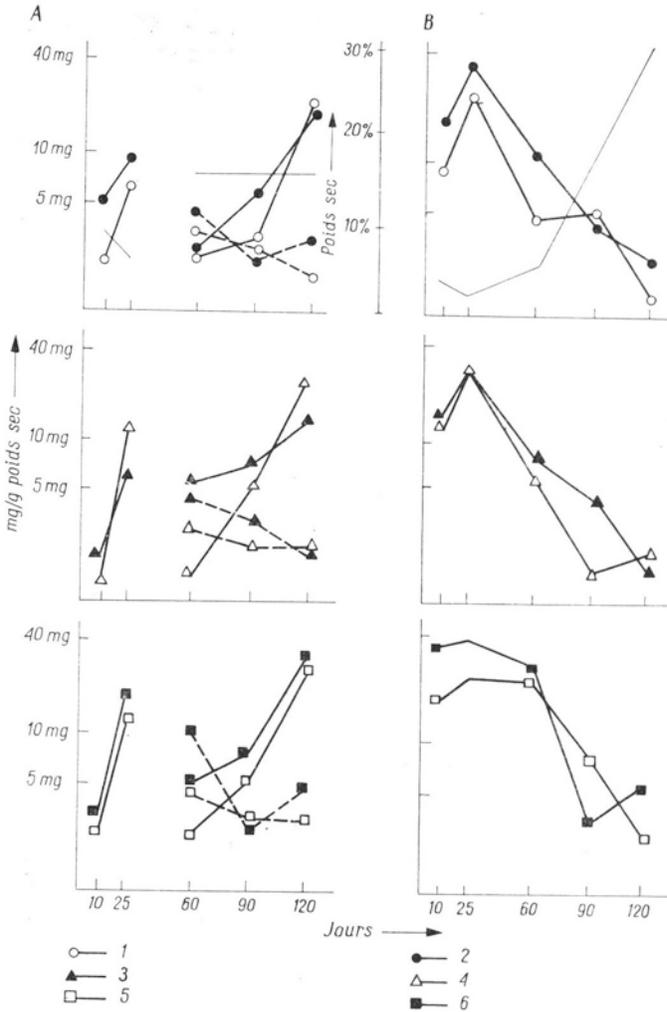


Fig. 1. Le taux des terterpénoides dans A — les parties verts et B — les racines de *Helianthus annuus* pendant la végétation. Le poids sec en % de poids frais

les pousses et les feuilles supérieures ———; les feuilles inférieures - - - -  
 1 — les méthylstéroïls; 2 — les stéroïls; 3 — les monols triterpéniques; 4 — les diols triterpéniques;  
 5 — l'acide oléanolique; 6 — l'acide échinocystique

grande absorption de l'eau par la plante pendant cette période. La concentration des composés triterpéniques augmente aussi bien dans les pousses que dans les racines, ce qui fait supposer leur biosynthèse intense. La diminution de poids sec, 30% pour les pousses et 40% pour les racines,

est accompagnée de l'augmentation, de 2 à 3 fois plus grande, du taux des stérols et des méthylstérols. La concentration des triterpénoïdes dans les racines est très élevée déjà dans une plante de 10 jours et elle n'augmente pas de beaucoup jusqu'au 25e jour, tandis que dans les pousses pendant la même période elle augmente de 5 à 10 fois, surtout pour les diols et l'acide échinocystique.

Pour les plantes plus âgées c. à d. du 60<sup>e</sup> à 120<sup>e</sup> jour de végétation, le poids sec des racines augmente plus de 10 fois (de 2,3% à 28,6%). Pendant la même période, le taux de tous les composés triterpéniques baisse plus de 10 fois pour méthylstérols, stérols, monols et diols et moins de 10 fois pour acides triterpéniques. Pour les méthylstérols entre le 60<sup>e</sup> et le 90<sup>e</sup> jour ainsi que pour les diols et l'acide échinocystique entre le 90<sup>e</sup> et 120<sup>e</sup> jour on observe une légère augmentation du taux. Par conséquent, la diminution du taux des triterpénoïdes entre le 25<sup>e</sup> et le 120<sup>e</sup> jour de végétation est proportionnelle à l'augmentation du poids sec.

Pour les feuilles supérieures, le poids sec reste constant (environ 15%) du 60<sup>e</sup> au 120<sup>e</sup> jour, tandis que dans les feuilles inférieures il augmente de 15% à 100%. Dans les feuilles supérieures le taux de tous les composés augmente environ 10 fois, à l'exception des monols dont la concentration augmente seulement 3 fois. Dans les feuilles inférieures on observe une légère baisse du taux de tous les triterpénoïdes.

Table 2

Le taux des triterpénoïdes dans les inflorescences de *Helianthus annuus*

Age	% de poids sec	mg/g de poids sec					
		MS	S	M	D	AO	AE
84 j., Boutons	13.3	2.4	4.5	3.1	3.9	4.9	7.2
90 j., Fleurs jeunes							
Linguliflores	12.6	5.7	7.7	5.7	23.0	11.3	13.4
Tubiflores	18.4	2.7	3.7	1.5	2.1	2.8	4.4
Involucre	11.7	0.9	2.1	1.6	0.6	1.5	8.5
Récépacle	9.1	0.3	2.9	1.0	1.2	1.6	1.6
120 j., Fleurs fanées							
Linguliflores	100.0	11.0	7.0	8.0	28.0	9.0	25.0
Tubiflores	39.2	3.9	6.5	4.3	6.3	6.7	9.0
Involucre	16.6	2.3	2.2	3.1	2.6	2.0	8.1
Récépacle	14.8	1.1	2.2	1.2	1.9	2.4	4.9

MS — Méthylstérols, S — Stérols, M — Monols triterpéniques, D — Diols triterpéniques, AO — Acide oléanolique, AE — Acide échinocystique.

Les variations du taux des composés triterpéniques des fleurs sont présentées dans le table 2. La première analyse a été effectuée pour les inflorescences non-développées des plantes âgées de 84 jours; plus tard on

analysé les parties des inflorescences en plein développement (90 jours) et les inflorescences déflorissantes (120 jours). On constate l'augmentation de tous les composés (sauf les méthylstérols) surtout dans les linguliflores. L'augmentation des diols et de l'acide échinocystique est la plus considérable. Dans le table 1 on a présenté les résultats de la détermination des triterpénoïdes dans les semences mûrissantes. On y observe, en même temps que l'accroissement du poids sec, l'accumulation des tous les triterpénoïdes et surtout de l'acide échinocystique.

En comparant les résultats des déterminations colorimétriques du taux des triterpénoïdes dans le tournesol pendant la végétation avec ceux de Kasprzyk et Fonberg-Broczek (1967) obtenus pour le souci, on voit que le caractère général des variations est assez concordant, sans être identique, pour les deux plantes. En effet le maximum de concentration de tous les triterpénoïdes dans les racines a lieu plus tôt pour le tournesol (25<sup>e</sup> jour, petite plante) que pour le souci (96<sup>e</sup> jour, plante florissante). Cette différence peut être liée au changement du poids sec, très élevé pour le tournesol, plus faible pour le souci.

Dans les feuilles inférieures le taux des composés triterpéniques est toujours moins élevé que dans les feuilles supérieurs pour les deux plantes; toutefois, pour les feuilles supérieures de souci ce taux augmente jusqu'au stade de floraison pour diminuer ensuite, tandis que dans le tournesol il augmente jusqu'au stade de vieillissement. La concentration des stérols et de l'acide oléanolique est légèrement plus élevée dans les parties vertes de tournesol et reste pratiquement sur le même niveau dans les fleurs des deux plantes. La plus importante différence entre elles consiste dans le taux des alcools triterpéniques c. à d. monols et diols, qui se trouve dans les parties vertes et dans les racines de souci en quantités très faibles, tandis que dans le tournesol leur taux dans ces organes est comparable à celui des acides triterpéniques.

L'analyse chromatographique, sur les plaques de silica-gel imprégnées avec du  $\text{AgNO}_3$ , des monols et des diols triterpéniques extraites des pousses et des feuilles de tournesol a démontré la présence des 4 taches des monols, localisés au niveau des: amyrynes,  $\psi$ -taraxastérol, taraxastérol et lupéol. L'oxydation des amyrynes avec  $\text{SeO}_2$  a permis de constater la présence de deux composés dont l'un se localisait sur les chromatogrammes au niveau de produit de l'oxydation de la  $\beta$ -amyryne et l'autre restait non-oxydé, ce qui permis de l'identifier en tant que  $\alpha$ -amyryne. Les diols extraits du même matériel ont été, après acétylation, séparés dans les mêmes conditions. On a trouvé 4 taches localisées au niveau des acetates de bréine, d'érythrodiol, de faradiol (inséparable de l'arnidiol dans ces conditions) et de calanduladiol. Il résulte de ces constatations que les parties vertes de tournesol contiennent les mêmes monols et diols que ceux qui ont été trouvés auparavant dans les fleurs de cette plante ainsi que dans les fleurs et dans les semences de souci.

En conclusion, les parties vertes de tournesol, contrairement à celles de souci possèdent la capacité de synthétiser les squelettes triterpéniques de différents types; en outre, cette plante possède dans les parties vertes les systèmes enzymatiques capables d'introduire des groupes hydroxylés additionnels. A la suite de la réaction de l'hydroxylation des monols triterpéniques se forment les diols et de l'acide oléanolique, l'acide échinocystique.

## BIBLIOGRAPHIE

- Chrostowska B., 1963, Charakterystyka dwualkoholi trójtterpenowych w kwiatach *Helianthus annuus*, Praca magisterska wykonana w Katedrze Biochemii Uniwersytetu Warszawskiego pod kier. prof. dr. Z. Kasprzyk.
- Fonberg M., Kasprzyk Z., 1965, Porównanie kolorymetrycznych metod oznaczania związków trójtterpenowych jako kompleksów z chlorkami kobaltu, antymonu i żelaza, *Chemia Analityczna*, 10: 1181—1188.
- Jachymczyk W., Kasprzyk Z., 1962, Saponiny trójtterpenowe roślin rodziny *Compositae*. III. Kwas echinocystowy, aglikon saponiny kwiatów słonecznika, *Roczniki Chemii* 36, 1615—1624.
- Kasprzyk Z., Fonberg-Broczek M., 1967, The Changes of the Level of Triterpenoids in *Calendula officinalis* during Vegetation, *Physiol. Plantarum*, 20, 321—329.
- Kasprzyk Z., Grzelczak J., Pyrek J., 1965, Thin-layer Chromatographic Characterisation of Ether-soluble Terpenic Compounds in Plants of the *Compositae* Family, *Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. sci. biol.* 13: 661—665.
- Kasprzykówna Z., Jachymczyk W., 1965, Saponiny trójtterpenowe Roślin Rodziny *Compositae*, *Acta Biochim. Pol.* 3: 299—308.
- Kasprzyk Z., Kozierowska T., 1966, Distribution of Sterols and Triterpenic Alcohols in Plants of the *Compositae* Family, *Bull. Acad. Pol. Sci., Ser. sci. biol.* 14: 645—649.
- Kasprzyk Z., Pyrek J., 1967, Sterole Pięciu roślin Rodziny *Compositae*, *Roczniki Chemii* 41; 201—208.
- Kasprzyk Z., Pyrek J., 1968, Triterpenic Alcohols of *Calendula officinalis* Flowers, *Phytochem.* 7: 1631—1939.
- Kasprzyk Z., Sliwowski J., Bolesławska-Kokosza D., 1970, The Variations of Triterpenoids in Germinating Seeds of *Calendula officinalis*, *Acta Biochim. Polon.* 17: 11—18.
- Kasprzyk Z., Turowska G., 1969, Structure of Sterol Glycosides from the Flowers of *Calendula officinalis*, *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. sci. chim.* 17: 397—398.
- Kasprzyk Z., Wojciechowski Z., 1969, Incorporation of 1-<sup>14</sup>C- Acetate into Triterpenoids in *Calendula officinalis*, *Phytochem.* 8: 1921—1926.
- Kasprzyk Z., Wojciechowski Z., Kuczevska-Jankowska I., 1966, The Glycosides of Triterpenic Acids from *Helianthus annuus* L. Flowers, *Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. sci. biol.* 14: 747—749.
- Skrzeczkowski J., 1966, Rozmieszczenie Związków Trójtterpenoidowych w Wybranych Przedstawicielach Plemienia *Helianthae*, praca magisterska wykonana w Katedrze Systematyki Rzoślin UW pod kierunkiem prof. dr A. Skirgiełło oraz w Katedrze Biochemii UW pod kierunkiem prof. dr Z. Kasprzyk, 30 str.
- Stevenson R., 1961, Some Constituents of *Calendula officinalis*, *J. Organic Chem.* 26: 5228—5230.
- Winterstein A., Stein. G., 1931, Über das Guajacsaponin und ein Saponin aus *Calendula officinalis*, *Z. Physiol. Chem.* 199; 64—68.

- Zeidel M., 1967, Monole Trójterpenowe, Sterole i Kwasy Tłuszczowe z Kwiatów Cśmju Roślin Plemienia *Helianthae*, praca magisterska wykonana w Katedrze Biochemii UW pod kierunkiem prof. dr. Zofii Kasprzyk, 42 str.
- Zimmermann J., 1944, Triterpene und Pigmente in Blüten und Früchten, *Helv. Chim. Acta* 332—336.

*Zmiany poziomu trójterpenoidów w Helianthus annuus L. w czasie wegetacji*

Streszczenie

Zbadano zmiany poziomu związków trójterpenoidowych, tj. metylosteroli, steroli, monoli i dioli trójterpenowych, kwasu oleanolowego i kwasu echinocystowego w korzeniach, pędach, kwiatostanach i nasionach słonecznika w czasie wegetacji do 120-go dnia. Do oznaczeń ilościowych związków rozdzielonych na chromatogramach cienkowarstwowych stosowano reakcję kolorymetryczną z  $\text{CoCl}_2$ . Wykazano, że wszystkie badane związki występują we wszystkich częściach rośliny w czasie całego okresu wegetacji w znacznych ilościach. Poziom ich w przeliczeniu na suchą masę rośliny stale w młodych częściach zielonych, tj. młodych pędach i liściach górnych pięt, a utrzymuje się bez większych zmian w liściach dolnych pięt. W korzeniach po początkowym wzroście obserwuje się stały spadek poziomu trójterpenoidów, co jest związane z odwrotnie zachodzącymi zmianami suchej masy korzenia, która początkowo spada, a następnie stale rośnie do 280% w roślinach 120-dniowych. W kwiatostanach w czasie ich rozwoju, a zwłaszcza w kwiatach języczkowych oraz w nasionach w czasie ich dojrzewania, nagromadzają się duże ilości wszystkich trójterpenoidów, a zwłaszcza dioli trójterpenowych i kwasu echinocystowego. Chromatografia monoli i dioli wyodrębnionych z pędów na żelu krzemionkowym impregnowanym azotanem srebra wykazała, że w skład monoli trójterpenowych wchodzi związek o własnościach chromatograficznych  $\alpha$ -amyryny,  $\beta$ -amyryny,  $\psi$ -taraksasterolu, taraksasterolu i lupeolu, a w skład dioli breina, erytrodiol, faradiol z arnidiolem i kalenduladiol. Wyniki te wskazują, że pędy słonecznika wykazują zdolność syntezy układów trójterpenowych różnych typów oraz ich hydroksylacji. W wyniku tej ostatniej reakcji powstają z monoli odpowiednie diole, a z kwasu oleanolowego kwas echinocystowy. Wyniki uzyskane dla słonecznika różnią się zasadniczo od uzyskanych uprzednio przez nas dla nagietka, w którym monole i diole różnych typów występują tylko w kwiatach i nasionach, natomiast w pędach i korzeniach nagietka oprócz znacznych ilości steroli i kwasu oleanolowego występują w drobnych ilościach jedynie biogenetyczne prekursorzy tego ostatniego  $\beta$ -amyryna i erytrodiol.