

DIE VERBREITUNG DER BLAUSÄURE BEI DEN  
CORMOPHYTEN. 17. MITTHEILUNG<sup>1</sup>. TAXIPHYLLIN  
AUS *MAGNOLIA SPRENGERI* CV 'DIVA'

LUCIE H. FIKENSCHER und R. HEGNAUER

Laboratorium voor Experimentele Plantensystematiek,  
Schelpenkade 14a, 2313 ZT, Leiden (Netherlands)

ABSTRACT.—*Magnolia sprengeri* Pampanini cv 'Diva' (= var. *diva* Stapf) (*Magnoliaceae*) is a cyanogenetic taxon. There is polymorphism, however, with regard to cyanogenesis; of a total of 26 tested seedlings, 7 were acyanogenic, 11 moderately cyanogenic and 8 strongly cyanogenic. The cyanogenic principle was isolated from leaves and was shown to be taxiphyllin; it is not accompanied by triglochinin in leaves of two year old plants of *Magnolia sprengeri*.

Vor 8 Jahren sprach Hegnauer (1) die Vermutung aus, dass bei den *Polycarpicae* [Wettstein 1935 (2); entsprechen weitgehend den *Magnoliidae*+*Ranunculidae* von Takhtajan (3)] und den mutmasslich davon abstammenden Monokotylen [= *Liliopsida* (3)] nur die vom Tyrosin abgeleiteten cyanogenen Verbindungen Dhurrin, Taxiphyllin, Proteacin, *p*-Glucosyloxymandelnitril und Triglochinin vorkommen. In der Zwischenzeit haben Erb *et al.* (4) aus Blättern von 10 Tage alten Keimpflanzen von *Hordeum vulgare* L. cv 'Dura' Epiheterodendrin und Zinsmeister *et al.* (5) aus getrockneten Blättern von *Holcus mollis* L. Heterodendrin isoliert. Offensichtlich hat die hochspezialisierte Monokotylenfamilie der Gräser (= *Gramineae*), ähnlich wie manche Familien der Dikotylen (= *Magnoliopsida*), zusätzliche Möglichkeiten zur Bildung von cyanogenen Verbindungen entwickelt. Heterodendrin und Epiheterodendrin enthalten Cyanhydrine, welche mutmasslich von der Aminosäure Leucin abgeleitet sind. Ferner wurde aus der Liliaceen-Gattung *Chlorophytum* das biogenetisch vorläufig nicht klassifizierbare Glucosid Holocalin (= *m*-Hydroxyprunasin) erhalten (6). Im Grossen und Ganzen wurde jedoch Hegnauer's Annahme (1) bestätigt. Vom Tyrosin abgeleitete cyanogene Glucoside konnten nach 1973 für zahlreiche Gramineen-Gattungen (7,8), für die *Calycanthaceae* (9), *Trochodendraceae* (10) und für die Papaveraceen-Gattungen *Dicentra* und *Papaver* (11) nachgewiesen werden. Ausserdem wurde das 1973 (1) angenommene Vorkommen von Triglochinin bei den Ranunculaceen-Gattungen *Aquilegia*, *Leptopyrum* und *Ranunculus* (12), der Magnoliaceen-Gattung *Liriodendron* (9), der Papaveraceen-Gattung *Eschscholzia* (11) und bei den *Araceae* (13) bestätigt. Zweifellos verwenden die *Polycarpicae* und die *Liliopsida* zur Synthese von cyanogenen Glucosiden bevorzugt Tyrosin. Es muss aber zugegeben werden, dass diese Aussage in Falle der *Magnoliidae* vorläufig nur mit wenigen cyanogenen Arten begründet werden kann. Jede Möglichkeit, um die Kenntnisse zu vertiefen, sollte deshalb aufgegriffen werden. Wir berichten hier über den Nachweis von Taxiphyllin bei *Magnolia sprengeri* Pampanini cv 'Diva' (= var. *diva* Stapf).

Santamour und Treese (14) und Santamour (15) überprüften die Gattung *Magnolia* auf Cyanogenese. Gesamthaft wurden 18 Arten und eine Reihe von Cultivars und Hybriden getestet. Nur die aus China stammende Problemsippe (16,17) *Magnolia sprengeri* cv 'Diva' und einzelne ihrer Bastarde erwiesen sich als cyanogen (tabelle 1). Da aus Samen gezogene Nachkommen von *M. sprengeri* cv 'Diva' morphologisch vielförmig sind (16,17) und ebenfalls nicht durchwegs cyanogen sind (14) (tabelle 1), handelt es sich bei diesem zum Teil durch Pfropfung und zum Teil durch Samen weitverbreiteten Cultivar, das auf einen einzigen Baum in England zurückgeht (16,17), höchstwahrscheinlich um einen stark heterozygoten Hybriden undefinierter Abstammung.

<sup>1</sup>16. Mitteilung siehe [23].

TABLE 1. Cyanogenese bei nachkommen von *Magnolia sprengeri* Pamp. cv 'Diva' (14, 15, 16).

Ploidie-Niveau <sup>1</sup>	Geprüftes Pflanzenmaterial	Zahl der Pflanzen	
		cyanogen	nicht cyanogen
hexaploid	Nachkommen von 'Diva' <sup>2</sup> (mutmasslich Selbstbestäubung)	1	2
diploid x hexaploid	<i>M. kobus</i> DC. x 'Diva' x <i>M. loebneri</i> <sup>3</sup> x 'Diva'	1 1	1 —
tetraploid x hexaploid	<i>M. quinquepeta</i> (Buch'hoz) Dandy cv 'Nigra' x 'Diva' (= <i>M. liliflora</i> Desr. cv 'Nigra')	11	8
	<i>M. acuminata</i> L. x 'Diva'	2	8
hexaploid x hexaploid	'Diva' x <i>M. heptapeta</i> (Buch'hoz) Dandy (= <i>M. denudata</i> Desr.)	3	3
	[x <i>M. veitchii</i> <sup>4</sup> x <i>M. heptapeta</i> ] x 'Diva'	6	4
	<i>M. grandiflora</i> L. cv 'Madison' x 'Diva'	0	8

<sup>1</sup>In der gattung *Magnolia* ist  $x=19$  ( $2x, 4x, 6x=38, 76, 114$ ).

<sup>2</sup>'Diva' = *Magnolia sprengeri* Pamp. cv 'Diva' = var. *diva* Stapf.

<sup>3</sup>x *M. loebneri* Kache = *M. kobus* x *M. stellata* (S. et Z.) Maxim.

<sup>4</sup>x *M. veitchii* Bean = *M. campbellii* Hook. et Thoms. x *M. heptapeta*.

Wir gelangten dank freundlichen Bemühungen von Dr. Frank S. Santamour in den Besitz von Samen des cyanogenen 'Diva'-Baumes des U. S. National Arboretum, Washington, D.C. Die Samen wurden in Herbst 1978 in Töpfen gesät; sie keimten unregelmässig ab Mitte November 1978. Ab März 1979 wurden regelmässig Blätter von Keimpflanzen und später von nichtblühenden, 10–30 cm hohen Jungpflanzen auf Abgabe von HCN geprüft. Anfänglich wurde die Feigl-Anger-Mirande-Probe (18) verwendet. Dabei wurde beobachtet, dass die Blätter einzelner Keim- und Jungpflanzen eine falsch-positive Reaktion gaben; das Reagenzpapier wurde schnell (5–20 Minuten) blau bis grünblau angefärbt, um anschliessend innerhalb von einigen Stunden über grün nach gelb zu verblassen. Deshalb wurde später nur noch der Guignard-Test verwendet. Im Ganzen wurden 26 Jungpflanzen auf Cyanogenese geprüft. Bei Verwendung von 0.5–2.5 g Frischblatt pro Probe wurden mit dem Guignard-Mirande-Test (18) bei Zufügung von Emulsin folgende Ergebnisse (Blätter der zweiten Vegetationsperiode) erhalten:

7 Pflanzen negativ

11 Pflanzen positiv (3–7.5 µg HCN)

8 Pflanzen stark positiv (> 15 µg HCN)

Zur Charakterisierung der cyanogenen Blattbestandteile wurden im Sommer 1980 Blätter von 7 der stark cyanogenen Exemplare geerntet. Gesamthaft konnten 34 g Frischblatt extrahiert werden. Sie lieferten einen Alkoholextrakt, der nach Konzentrierung und Zufügung von Emulsin Blausäure abspaltete. Triglochininase (7a,19) spaltete die vorhandenen cyanogenen Bestandteile nicht. Papierchromatographische Kontrolle liess ein einziges cyanogenes Glykosid erwarten. Chromatographische Reinigung (Kieselgelsäule) lieferte 194 mg cyanogenes Rohglucosid, in welchem nur eine cyanogene Komponente nachweisbar war. Weitere Reinigung von 120 mg Rohglucosid auf präparativen Dünnschichtplatten lieferte 40 mg Blattglucosid, für welches Identität mit Taxiphyllin (Rf-Werte; Spaltung durch Emulsin, aber nicht durch Triglochininase; Spaltprodukte Glucose, HCN und *p*-Hydroxybenzaldehyd [Dinitrophenylhydrazon, Schiff' sehe Base]) nachgewiesen wurde.

Damit ist gezeigt, dass auch *Magnolia sprengeri* cv 'Diva' den Tyrosinweg

zur Synthese ihres cyanogenen Inhaltstoffes verwendet. Auffallend ist die Tatsache, dass in den Blättern von zweijährigen Jungpflanzen nur Taxiphyllin nachweisbar war. Blätter von vieljährigen Bäumen von *Liriodendron tulipifera* L. enthalten Triglochinin als Hauptglucosid und Taxiphyllin als Nebenglucosid (9). Die Frage, ob erwachsene Exemplare von *Magnolia sprengeri* cv 'Diva' ebenfalls Triglochinin bilden, muss vorläufig unbeantwortet bleiben.

### MATERIAL UND METHODEN

**VERSUCHSPFLANZEN.**—Keimpflanzen und Jungpflanzen aus Samen gezogen. Aussaat am 26.9.1978; Keimung ab 17.11.1978. Keine auffälligen morphologischen Unterschiede bei den verfügbaren 26 Jungpflanzen feststellbar. Belege: LEP 27608, coll. 8.8.1979; Gartenummer 78-330.

**VERGLEICHSSUBSTANZ.**—Taxiphyllin isoliert aus *Taxus media* Rehder var. *hicksii* Rehder. Dhurrin isoliert aus Fruchtsielen von *Platanus*-Sippen (21).

**VERWENDETE LAUFMITTEL.**—(a) EtOAc-MeOH-H<sub>2</sub>O=79:11:10; (b) CHCl<sub>3</sub> (wassergesättigt)-MeOH=2:1; (c) MeCOEt-EtOAc-HCOOH-H<sub>2</sub>O=5:3:2:1; (d) Me<sub>2</sub>CO-H<sub>2</sub>O=8:2; (e) MeOH-H<sub>2</sub>O=9:1; (f) Ligroin (88-108°, B.D.H.)-EtOAc=67:33.

**REINIGUNG DER ROHEXTRAKTE.**—Säulenchromatographie: 50 g Kieselgel 60 (0.063-0.2 mm) (Merck); Säule 34.5x2 cm; (a); Fraktionen von 50 ml. Fraktion 1 enthielt freien *p*-OH-Benzaldehyd (Dinitrophenylhydrazon); Fraktionen 2 und 3 waren cyanogen (mit Emulsin); Fraktionen 4-11 waren nicht cyanogen. Präparative Dünnschichtchromatographie: Kieselgel 60 PF<sub>254-365</sub> (Merck); Schichtdicke 0.8 mm; (b), 17 cm.

**CHROMATOGRAPHISCHE ANALYSE DER GLUCOSIDPRÄPARATE.**—Papierchromatographie: Whatman 20; (c), (d), (e). Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck): (a), (b).

Entwicklung der Chromatogramme nach Sandwich-Technik durch Besprühung mit Emulsinlösung und Verwendung von alkalischem Pikratpapier (20). Lokalisation von freigesetztem *p*-OH-Benzaldehyd (nicht flüchtig) auf den Chromatogrammen mit Dinitrophenylhydrazin-Reagenz (6) oder mit Benzidin-Trichloressigsäure-Reagenz (gelbe Schiff'sche Base) (22).

**CHROMATOGRAPHISCHE ANALYSE DER DINITROPHENYLHYDRAZONE.**—Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck): (f).

### DANKSAGUNG

Herrn Dr. Frank S. Santamour, Jr., U. S. National Arboretum, Washington D.C. 20002, danken wir für Sonderdrucke und für die Samenprobe von *Magnolia sprengeri* 'Diva' und Frau Els Schlattmann sind wir für Anzucht und sorgfältige Wartung der Versuchspflanzen verpflichtet.

Received 27 April 1981

### ERWÄHNT LITERATUR

1. R. Hegnauer, *Biochemical Systematics* **1**, 191-197 (1973).
2. R. Wettstein, "Handbuch der systematischen Botanik", 4. Aufl., Franz Deuticke, Leipzig und Wien (1935).
3. A. Takhtajan, "Outline of the classification of flowering plants", *Botan. Review*, **46**, 225-359 (1980).
4. N. Erb, H. D. Zinsmeister, G. Lehmann und A. Nahrstedt, *Phytochemistry*, **18**, 1515 (1979).
5. H. D. Zinsmeister *et al.*, *Z. Naturforsch.*, **36c**, 336 (1981).
6. F. van Valen, *Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch.*, **81C**, 132 (1978).
7. L. A. Tjon Sie Fat, *Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch.*, **80C**, 227 (1977) (a); **81C** 204, 347 (1978) (b); **82C**, 165 (1979) (c).
8. U. Schwarzmaier, *Chem. Ber.*, **109**, 3379 (1976); *Phytochemistry*, **16**, 1599 (1977).
9. F. van Valen, *Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch.*, **81C**, 355 (1978).
10. F. van Valen, *Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch.*, **81C**, 198 (1978).
11. F. van Valen, *Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch.*, **81C**, 492 (1978).
12. L. A. Tjon Sie Fat, *Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch.*, **82C**, 197 (1979).
13. A. Nahrstedt, *Phytochemistry*, **14**, 1339, 1870, 2627 (1975).
14. F. S. Santamour, Jr. and J. S. Treese, *The Morris Arboretum Bulletin*, **22**, 58-59 (1971).
15. F. S. Santamour, Jr., *Newsletter of the American Magnolia Society*, **11**, Number 2, 5-7 (1975).
16. Ph. J. Savage, Jr., "The Goddess of Changyang Hsien", *Newsletter of the American Magnolia Society*, **6**, Number 2, 1-5 (1969).
17. N. G. Treseder, "Magnolias", Faber and Faber Ltd., London and Boston (1978).
18. Lucie H. Fikenscher und R. Hegnauer, *Pharm. Weekblad*, **112**, 11 (1977).
19. W. Hösel und A. Nahrstedt, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **356**, 1265 (1975).
20. Bamrung Tantisewie, H. W. L. Ruijgrok und R. Hegnauer, *Pharm. Weekblad*, **104**, 1341 (1969).
21. Lucie H. Fikenscher und H. W. L. Ruijgrok, *Planta Medica*, **31**, 290 (1977).
22. R. Hegnauer und H. W. L. Ruijgrok, *Pharm. Weekblad*, **106**, 263 (1971).
23. Lucie H. Fikenscher und R. Hegnauer, *J. Nat. Prod.*, **44**, 705 (1981).