

SHORT COMMUNICATION

LILAEA SCILLOIDES UND *JUNCUS BULBOSUS* ZWEI NEUE CYANOGENE PFLANZEN

R. HEGNAUER und H. W. L. RUIJGROK

Laboratorium voor Experimentele Plantensystematiek Universiteit Leiden, Holland

(Received 17 December 1970)

Abstract—*Lilaea subulata* (*L. scilloides*) contains a cyanogenic glycoside which is probably identical with triglochinin from *Triglochin maritima*. *Juncus bulbosus* contains another cyanogenic glycoside which seems to be identical with the taxiphyllin-like compound of *Juncus subnodulosus*. The taxonomic implications of these observations are discussed briefly.

Zusammenfassung—*Lilaea subulata* enthält ein cyanogenes Glucosid, das sich in allen geprüften Eigenschaften wie Triglochinin aus *Triglochin maritima* verhält. *Juncus bulbosus* enthält ein anderes cyanogenes Glucosid; es dürfte mit dem bereits früher für *Juncus subnodulosus* nachgewiesenen taxiphyllinähnlichen Glucosid identisch sein. Die systematische Bedeutung der beschriebenen Befunde wird kurz besprochen.

DIE GATTUNG *Lilaea* ist monotypisch. Ihre einzige Art, *L. scilloides* (Poir.) Haum. (= *L. subulata* Humb. et Bonpl.), ist eine Sumpfpflanze, welche im westlichen Teil von Amerika von Californien bis Chile stark disjunkt vorkommt. Es handelt sich um eine binsenartige, an *Heleocharis* erinnernde, 5–20 (–35) cm hohe Pflanze, welche zu den eigenartigsten Gewächsen gehört, welche die Evolution hervorgebracht hat. Die extrem reduzierten Blüten werden in einer Vierzahl von Typen gebildet. In den durch einen langen Schaft getragenen ährigen Blütenständen befinden sich unten oft einige rein weibliche, in der Mitte zwittrige und an der Spitze oft einige männliche Blüten. Die Ersteren bestehen ausschliesslich aus einem einfährigen Fruchtknoten mit einer Samenanlage. Die zwittrigen Blüten haben ein Staubblatt, einen Fruchtknoten und ein blattartiges Gebilde, das sehr unterschiedlich (Deckblatt, Perianthblatt, verbreitetes Konnektivanhängsel) gedeutet wird. Die männlichen Blüten haben das blattartige Gebilde und ein Staubblatt. Zusätzlich erzeugt die Pflanze stark abweichende grundständige weibliche Blüten, welche ausschliesslich durch den Fruchtknoten mit sehr langem (bis 20 cm) Griffel und pinselförmiger Narbe gebildet werden. Die einsamigen Nussfrüchte der Ährenblüten und der grundständigen Blüten sind morphologisch deutlich verschieden. Die endospermlosen Samen enthalten reichlich Stärke. Genaue blütenbiologische Beobachtungen fehlen; es wird angenommen, dass die Bestäubung durch den Wind oder durch Erschütterungen der Pflanzen zu Stande gebracht wird.

Die Klassifikation von Pflanzen mit stark reduzierten Blüten ist stets problematisch. Früher wurde *Lilaea* allgemein zu den Juncaginaceae (= Scheuchzeriaceae sensu Wettstein¹) gerechnet. Später^{2–5} hat sich Aufgliederung dieser Sippe in der nachfolgenden Weise eingebürgert:

Juncaginaceae Rich.: *Triglochin*, (inkl. *Cynogeton*), *Maundia*, *Tetroncium*.

¹ R. WETTSTEIN, *Handbuch der systematischen Botanik*, 4. Aufl., F. Deuticke, Leipzig-Wien (1935).

² A. TAKHTAJAN, *Die Evolution der Angiospermen*, VEB Gustav Fischer, Jena (1959).

³ PH. A. MUNZ und D. D. KECK, *A California Flora*, University of California Press, Berkeley, Los Angeles (1959).

⁴ J. HUTCHINSON, *The Families of Flowering Plants, Vol. II Monocotyledons*, Clarendon Press, Oxford (1959).

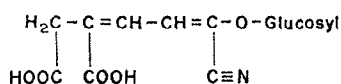
⁵ L. EMBERGER, *Les Végétaux Vasculaires* in M. CHADEFAUD et L. EMBERGER, *Traité de Botanique Systématique*, Tome II, p. 1012 Masson, Paris (1960).

Scheuchzeriaceae Rudolphi: *Scheuchzeria*.

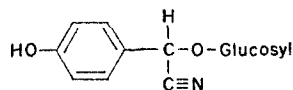
Lilaeaceae Dum. (= *Heterostylaceae* Hutch.): *Lilaea*.

In neuester Zeit⁶⁻⁸ wird aufgrund von embryologischen,⁹ blütenmorphologischen¹⁰ und cytotaxonomischen¹¹ Untersuchungen *Lilaea* oft wiederum den Juncaginaceen einge-reiht, während die Scheuchzeriaceen ausgegliedert bleiben. Ganz allgemein werden die erwähnten Sippen in den Verwandtschaftskreis der Helobiae^{1,2,5,6} gestellt und ihnen eine vermittelnde Stellung zwischen den sich um die Alismataceen gruppierenden und den sich um die Potamogetonaceen gruppierenden Sippen zugekannt. Für *Lilaea* werden einerseits die Ähnlichkeit mit *Triglochin*^{4,6-8} und anderseits die starken Anklänge an die Potamogetonales⁵ betont.

Da seit langem bekannt ist, dass *Triglochin* und *Scheuchzeria* beträchtliche Mengen von Blausäure abgeben können¹²⁻¹⁴ und ausserdem die cyanogene Verbindung von *Triglochin maritima* und *T. palustris* durch Eyjolfsson¹⁵ isoliert und strukturell geklärt wurde, schienen uns vergleichende Untersuchungen von *Triglochin* und *Lilaea* in systematischer Hinsicht interessant. Das Triglochinin (I) stellt ein gänzlich neuartiges cyanogenes Glucosid dar. Abklärung der Verhältnisse bei *Lilaea* verspricht deshalb zusätzliche Hinweise für die tatsächlichen Verwandtschaftsverhältnisse dieser morphologisch so merkwürdigen Sippe. Derartige Untersuchungen schienen uns umso mehr erwünscht, als Cyanogenese ebenfalls von einigen *Juncus*-Arten bekannt ist.¹⁶ Die Juncaceen erinnern in der Morphologie der Blüten stark an die Liliaceen, in gewisser Hinsicht jedoch ebenfalls an *Scheuchzeria* und im binsenförmigen Habitus vieler *Juncus*-Arten gleichfalls an *Lilaea*. Hutchinson⁴ spricht die Vermutung aus, dass sich Liliaceen und Juncaginaceen aus gemeinsamen Vorfahren entwickelt haben (S.549), und dass die Juncaceen aus den Liliaceen hervorgegangen sind (S.526). *Juncus subnodulosus* enthält nicht Triglochinin, sondern Taxiphyllin (II) (oder Dhurrien).¹⁷ Die angedeuteten Verhältnisse liessen es erwünscht erscheinen, eine weitere cyanogene *Juncus*-Art in die vergleichenden Untersuchungen einzubeziehen.



I Triglochinin



II Taxiphyllin und Dhurrien

Keimpflanzen, Jungpflanzen und blühende und fruchttragende Pflanzen von *Lilaea scilloides* erwiesen sich als deutlich cyanogen. Damit wurde eine frühere Beobachtung von Hegnauer¹⁸ bestätigt. Es konnte papierchromatographisch nur ein cyanogenes Glykosid nachgewiesen werden; dieses stimmte in allen geprüften Eigenschaften mit Triglochinin

⁶ TH. ECKARDT, Helobiae in *A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien* (12. Aufl. herausgegeben von H. MELCHIOR), Bd. II, Bornträger, Berlin (1964).

⁷ A. TAKHTAJAN, *Flowering Plants; Origin and Dispersal*, Oliver-Boyd, Edinburgh (1969).

⁸ A. CRONQUIST, *The Evolution and Classification of Flowering Plants*, Houghton Mifflin Comp., Boston (1968).

⁹ J. S. AGRAWAL, The embryology of *Lilaea subulata*, *Phytomorphology* 2, 15 (1952).

¹⁰ V. SINGH, *Proc. Indian Acad. Sci., Sec. B.*, 61, 316 (1965)

¹¹ K. LARSEN, *Botan. Not.* 119, 496 (1966).

¹² M. GRESHOFF, *Pharm. Weekbl.* 45, 1165 (1908).

¹³ J. J. BLANKSMA, *Pharm. Weekbl.* 50, 1295 (1913).

¹⁴ W. C. MUENSCHER, *Poisonous Plants of the United States*, Revised edition, MacMillan, New York (1951).

¹⁵ R. EYJOLFSSON, *Phytochem.* 9, 845 (1970).

¹⁶ BAMRUNG TANTISEWIE, H. W. L. RUIJGROK und R. HEGNAUER, *Pharm. Weekbl.* 104, 1341 (1969)

¹⁷ R. HEGNAUER und H. W. L. RUIJGROK, *Pharm. Weekbl.* 106, 263 (1971).

¹⁸ R. HEGNAUER, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Bd. 2, S.494 Birkhauser Verlag, Basel (1963).

TABELLE 1. R_f -WERTE FÜR DIE CYANOGENEN GLYKOSIDE IN UNGEREINIGTEN EXTRAKTEN

Extrakt aus	R_f in Fließmittel*										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L
<i>Juncus bulbosus</i>	0,66	0,85	0,53	0,61	0,47	0,75	0,53	0,51	0,53	0,71	0,71
<i>Lilaea scilloides</i>	0,08	0,31	0,20	0,05	0,17	0,44	0,17	0,28	0,33	0,67	0,55
		0,51									
<i>Triglochin maritima</i>	0,12	0,36	0,21	0,06	0,21	0,50	0,31	0,26	0,37	0,67	0,73
		0,52									

* A = 90% MeOH; B = 70% ÄtOH; C = Ät₂O–Ameisensäure–H₂O 10:4:1; D = Äthylacetat–Ameisensäure–H₂O 10:2:3; E = Butylformiat–Ameisensäure–H₂O 10:4:1; F = BuOH–Ameisensäure–H₂O 4:2:4; G = BuOH–Benzylalkohol–Ameisensäure–H₂O 7:7:1:2; H = Methyläthylketon–Äthylacetat–Ameisensäure–H₂O 5:3:2:1; I = Pentanol–Ameisensäure–H₂O 20:20:1; K = 60% Essigsäure; L = 1% HCl. H absteigend, die restlichen Laufmittel aufsteigend verwendet.

überein (Tabelle 1). *Lilaea* steht dementsprechend ebenfalls im Merkmal der Cyanogenese *Triglochin* sehr nahe.

Juncus bulbosus L. war stark cyanogen. Die untersuchten Pflanzen enthielten nur ein cyanogenes Glykosid; es stimmte in allen geprüften Eigenschaften mit dem Glucosid von *J. subnodulosus* überein und war vom *Lilaea*-Glykosid deutlich verschieden. Vermutlich sind die *Junci septati* hinsichtlich der Cyanogenese einheitlich. Gleichzeitig ist nachgewiesen, dass sich die Juncaginaceen von den Juncaceen im Merkmale der Cyanogenese stark unterscheiden.

EXPERIMENTELLER TEIL

Pflanzenmaterial

Lilaea scilloides (Poir.) Haum. Zur Verfügung standen Keimpflanzen, Jungpflanzen und blühende und fruchttragende Pflanzen, welche in Genf und Leiden aus Samen, welche aus Californien stammten, gezogen worden waren.¹⁹ Dokumentation LEP 17624.

Juncus bulbosus L. Frischpflanzen im frühen Fruchtstadium; gesammelt auf Terschelling. Dokumentation LEP 20331.

Triglochin maritima L. Frischpflanzen im frühen Fruchtstadium; gesammelt auf Terschelling. Dokumentation LEP 20330.

Orientierende Prüfung auf Cyanogenese

Guignard-Mirande- und Feigl-Anger-Probe.¹⁶

Extraktbereitung

Blühende und fruchttragende Frischpflanzen von *Lilaea scilloides* (50 g) wurden in 250 ml kochendem H₂O stabilisiert und anschliessend nach Homogenisierung erneut mit 200 ml H₂O ausgekocht. Die vereinigten Extrakte wurden konzentriert, in MeOH (90%) aufgenommen und die MeOH Lösung nach Filtration auf 5 ml eingeengt (1 ml Extrakt = 10 g Frischpflanze). Dieser Extrakt wurde zur enzymatischen und chromatographischen Charakterisierung der cyanogenen Verbindungen verwendet. Entsprechende Extrakte wurden aus *Triglochin maritima* und *Juncus bulbosus* bereitet.

Enzymatische Spaltbarkeit

In der bereits beschriebenen Weise¹⁶ wurden die drei Extrakte auf Blausäureabgabe nach Einwirkung von Emulsin, Gynocardase und Linamarase geprüft. Emulsin setzte aus allen drei Extrakten Blausäure frei. Gynocardase und Linamarase waren ohne Wirkung auf *Lilaea*- und *Triglochin*-Extrakte und spalteten andererseits das *Juncus*-Glykosid langsamer als Emulsin. Linamarase wirkte am langsamsten.

¹⁹ Herrn Professor Dr. H. GLOOR, Institut de Génétique, Université de Genève, danken wir für Samen und Frischpflanzen von *Lilaea scilloides*.

Papierchromatographie

Papier S.u.S. 2043b Mgl; aufsteigend (15 cm) und absteigend (38 cm); Nachweis der cyanogenen Glykoside mit Emulsin und Pikratpapier (Sandwich-Technik)¹⁶; Nachweis der freien und durch Emulsin freigesetzten Zucker mit Benzidin-Trichloressigsäure¹⁶; 11 Fliessmittel (Tabelle 1)

Reinigung der Extrakte

Alle Extrakte enthielten reichlich Zucker. Dies beeinträchtigte vor allem beim *Lilaea*-Extrakt, in welchem das Verhältnis Zucker: cyanogene Verbindung am ungünstigsten war, die ungestörte Chromatographie der cyanogenen Verbindung. Ausserdem lag das carboxylgruppenhaltige Triglochinin in unseren Extrakten mutmasslich zum Teil als Salz vor, was sich bei der Verwendung von neutralen Fliessmitteln störend auswirken dürfte (2 Flecken mit B). Deshalb wurden die *Lilaea*- und *Triglochin*-Extrakte in Anlehnung an Eyyolfsson¹⁵ mit Ionenaustauschern gereinigt. Nach entsprechender Verdünnung (*Lilaea* 2 Mal; *Triglochin* 5 Mal) mit Wasser wurden die Extrakte 2 Stunden mit einem sauren Austauscher (Amberlit IRC-50, H⁺; 1 resp. 2 g) geschüttelt und anschliessend auf Säulen mit einem schwach basischen Austauscher (Amberlit IR-45, OH⁻; 5 g) gebracht. Die Säulen wurden mit 150 ml H₂O (1 ml/3 min) nachgewaschen und anschliessend mit 100 ml 6 N Ameisensäure eluiert. Die ameisensauren Eluate wurden bei 25° im Rotavapor unter häufigem Zufügen von Alkohol eingedampft. Die ameisensaurefreien Reste wurden in 1 ml 50% ÄtOH gelöst und zur chromatographischen Prüfung verwendet. Diese Extrakte enthielten nur noch geringe Mengen von Zuckern und lieferten bei erneuter Chromatographie mit den Fliessmitteln B, F, G, H (auf- und absteigend) und L übereinstimmende *R_F*-Werte (Tabelle 1). Mit dem neutralen Fliessmittel B unterblieb ausserdem nach der Behandlung mit Ionenaustauschern die Auftrennung in 2 Flecken.

Weitere Hinweise für Identität der cyanogenen Verbindung von Lilaea mit Triglochinin

Co-chromatographie der zwei zuckerarmen Extrakte lieferte mit den genannten Fliessmitteln nur einen scharfen Fleck. Beide cyanogenen Glykoside werden durch Ioddämpfe angefärbt (Doppelbindungen). Gleiches Verhalten bei der Reinigung mit Ionenaustauschern.

Weiterer Hinweis für abweichende Natur des Juncus-Glykosides

Nach enzymatischer Spaltung und Verflüchtigung der Blausäure hinterbleiben auf dem Papier Glucose und *p*-Hydroxybenzaldehyd. Letzterer reagiert beim Nachweis des freigesetzten Zuckers mit dem Benzidin-Reagenz bereits in der Kälte unter Bildung einer intensiv gelb gefärbten Schiffchen Base.¹⁷ Nur die Extrakte von *Juncus bulbosus*, nicht aber *Triglochin*- und *Lilaea*-Extrakte, gaben diese Reaktion.