

## TRIGLOCHININ IN ARACEEN\*

ADOLF NAHRSTEDT

Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Freiburg/Brsg., Germany

(Received 16 May 1975)

**Key Word Index**—*Anthurium hookeri*, *Arum maculatum*, *Dieffenbachia picta*, *Lasia spinosa*, *Pinellia tripartita*, Araceae, cyanogenic glycosides, triglochinin

**Abstract**—Five species of four subfamilies of the Araceae contain triglochinin as the only cyanogenic glucoside. The compound was identified by TLC, PC, IR, NMR and hydrolysis with a triglochinin-specific  $\beta$ -glucosidase.

Nach dem bisherigen Wissenstand sind einzelne Arten von fünf der insgesamt acht Unterfamilien der Araceen cyanogen [1]. Wir haben kürzlich Triglochinin bei den Colocasioideae (*Alocasia macrorrhiza* Schott) [2] und den Aroideae (*Arum maculatum* L.) [3] nachgewiesen. Es sollte nunmehr die Frage geklärt werden, ob Triglochinin in den übrigen Unterfamilien ebenfalls vorkommt. Wir verwendeten für die Untersuchungen Blätter von *Anthurium hookeri* Kth. (Pothoideae), *Lasia spinosa* Thw. (Lasioideae), *Dieffenbachia picta* cv. (Philodendroideae) und einer neuen cyanogenen Art *Pinellia tripartita* (Aroideae). Daneben untersuchten wir die reifen Früchte von *Arum maculatum* L. (Aroideae). Alle Arten stammen aus den Gewächshäusern und dem Botanischen Garten der Universität Freiburg. In den verbleibenden drei Unterfamilien der Monsteroideae, Calloideae und Pistioideae wurde Cyanogenese bisher nicht gefunden.

Die Reinigung erfolgte nach Gefriertrocknung der in flüssigem Stickstoff gesammelten jungen Blätter bzw. reifen Früchte im wesentlichen nach [2,4], mit dem Unterschied, daß nicht in der Siedehitze mit  $H_2O$ , sondern kalt mit MeOH extrahiert, und die positiven Cellulose-SG-Fraktionen nicht am Rotationsverdampfer, sondern durch Gefriertrocknung eingeengt wurden.

Die Identifizierung erfolgte durch vergleichende DC [4] und PC- [5], IR- [4], UV- [2,4] sowie

NMR-Spektroskopie der TMS-Aether der Glucoside [6], die Zuckerbestimmung im GC nach Hydrolyse mit  $\beta$ -Glucosidase (Serva) und 0,5 N HCl.

In sämtlichen untersuchten Arten wurde mit der Erfassungsgrenze unserer Methoden nur Triglochinin als cyanogene Substanz gefunden. Es wurde durch PC [5] gegen den in optischen Methoden ähnlichen Monomethylester des Triglochinin [5] abgegrenzt. Im NMR trat nach "kalter" Aufreinigung der Glucoside das in [2] nicht zuzuordnende Signal bei  $\delta$  2,85 nur noch sehr schwach in Erscheinung. Weiterhin waren die Protonen der Vinylgruppierung mit E-Konfiguration von Isotriglochinin [2,7] nicht mehr zu sehen. Wir nehmen deshalb an, daß Isotriglochinin sowie eine dem Triglochinin sehr ähnliche Substanz unter Wärmelastung als Artefakte entstehen können.

Einen zusätzlichen Strukturhinweis liefert die Messung der relativen Spaltungsgeschwindigkeiten bezogen auf 4-Nitrophenyl- $\beta$ -D-glucosid (4-NPGlc) durch Triglochinin-spezifische  $\beta$ -Glucosidase aus *Alocasia macrorrhiza* [8]. Danach ergaben sich relative Spaltungsgeschwindigkeiten von 1:4 bis 1:8 (4-NPGlc:Triglochinin) für die vorliegenden Glucosidpräparationen. Alle übrigen getesteten Cyanoglykoside (Dhurrin, Taxiphyllin, Sambunigrin, Prunasin, Holocalin, Amygdalin, Epilotaustralin, Lotaustralin, Linamarin, Heterodendrin) werden dagegen nicht oder nur schwach umgesetzt (Dhurrin 1:0,14, Sambunigrin 1:0,05) [8].

\* 3 Mittlg. über die Cyanogenese der Araceen

Diese Ergebnisse sichern Triglochinin als verbreitete cyanogene Substanz der Araceen. Nach [9] erfolgt die Biogenese des Aglykongerustes von Triglochinin aus der Aminosäure Tyrosin. Das Vorkommen von Triglochinin in allen cyanogenen Unterfamilien der Araceae stellt somit eine weitere Stütze für die taxonomisch bedeutsame These von Hegnauer dar, daß Liliatae und Magnoliidae darin übereinstimmen, Cyanglykoside nur aus Tyrosin aufbauen zu können [10].

#### EXPERIMENTELLES

Reinigung und Charakterisierung wurden in [2,4,7] dargestellt. Die relativen Spaltungsgeschwindigkeiten der Glykoside gegenüber 4-NPGlc wurden wie folgt ermittelt: ca 50 µg Triglochinin in 1,8 ml H<sub>2</sub>O und 0,1 ml Phosphat-Citrat-Puffer pH 5,5 (E ca 0,8–0,9) wurden mit 0,1 ml einer Lösung von Alocasia β-Glucosidase [8] 1:200 entsprechend 0,115 µg Protein versetzt und die Abnahme der Extinktion bei 275 nm und 304 gegen eine Triglochinin-freie Vergleichslösung verfolgt. Die Anfangsgeschwindigkeit über 2 min wurde extrapoliert und die dem ΔE entsprechende Triglochinin-Menge einer Eichkurve entnommen. Als Bezugswert wurden 0,1 ml einer Lösung von 3 mg 4-NPGlc in 1 ml H<sub>2</sub>O mit 0,2 ml H<sub>2</sub>O, 0,1 ml Phosphat-Citrat-Puffer pH 5,5 und 0,1 ml oben genannter Enzymlösung 30 min bei 30° inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 2,0 ml 1 M Natriumcarbonat-Lösung gestoppt, die Extinktion bei 400 nm gemessen und der

Gehalt an 4-Nitrophenol einer Eichkurve entnommen. Die ermittelten spezifischen Aktivitäten (µmol min<sup>-1</sup> mg Prot<sup>-1</sup>) wurden errechnet und daraus die relativen Spaltungsgeschwindigkeiten ermittelt.

Anmerkung: Ich danke Fraulein H. Eggs für die Pflege der untersuchten Pflanzen, Frau G. Siudzinski für technische Hilfe, Herrn Dr. W. Hansel für Aufnahme und Diskussion der NMR-Spektren, Herrn Prof. Weber (Mainz) und Herrn Bogner (München) für die Überlassung von *Pinellia* spec. und Herrn Prof. Vogellehner für Bestimmungshilfen.

#### LITERATUR

- 1 Hegnauer R (1963) *Chemotaxonomie der Pflanzen* Bd II. Birkhäuser, Basel.
- 2 Nahrstedt, A. (1975) *Phytochemistry* **14**, 1339.
- 3 Nahrstedt, A. (1975) *Phytochemistry* **14**, 1870.
- 4 Eyjolsson R. (1970) *Phytochemistry* **9**, 845.
- 5 Sharples D, Spring, M S und Stoker, J R (1972) *Phytochemistry* **11**, 3069.
- 6 Mabry, T J, Markham, K R und Thomas, M B (1970) *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer, New York.
- 7 Ettlinger, M. und Eyjolsson, R. (1972) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 572.
- 8 Hosel, W. und Nahrstedt, A. (1975) *Hoppe-Seylers Z.* **356**, 1265.
- 9 Sharples D, Spring, M S und Stoker J R (1972) *Phytochemistry* **11**, 2999.
- 10 Hegnauer, R. (1973) *Biochem. Systematics* **1**, 191.