

DIE CUCURBITACINE IN *BRYONIA ALBA* UND *BRYONIA DIOICA*

JOACHIM POHLMANN

Arbeitsbereich Genetik, Institut für Allgemeine Botanik, Universität Hamburg,
2 Hamburg 36, Jungiusstraße 6, Germany F.R.

(Received 5 November 1974)

Key Word Index—*Bryonia alba*; *Bryonia dioica*; Cucurbitaceae; cucurbitacins; tetracyclic triterpenes; elaterase.

Abstract—The cucurbitacins in roots of *Bryonia dioica* and *B. alba* have been investigated. Both species contain the cucurbitacins E, B, I, D, J, K and L, the dihydrocucurbitacins E and B, and tetrahydrocucurbitacin I. The detection of certain cucurbitacin aglycones depends upon the date of harvest, the duration of storage and the methods used for extraction.

EINLEITUNG

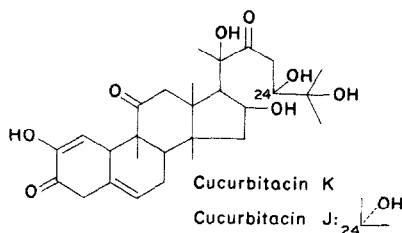
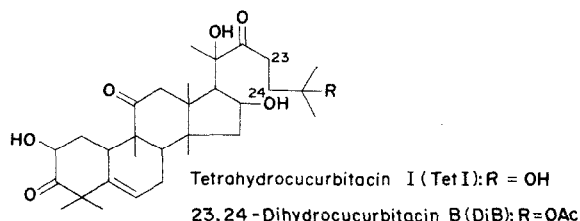
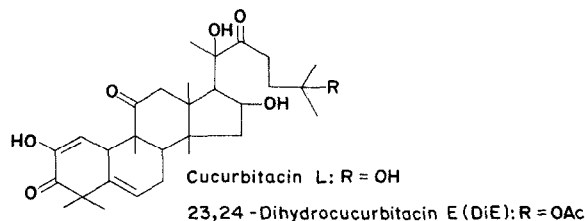
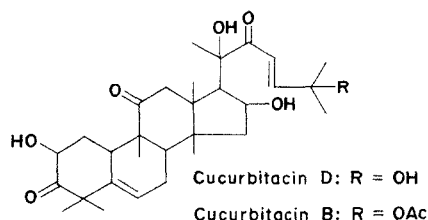
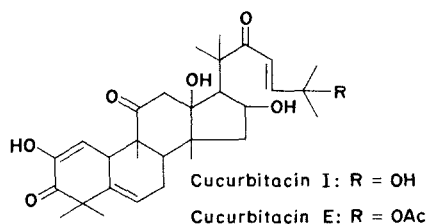
Bryonia enthält wie die meisten Cucurbitaceen mit Ausnahme der Kulturformen bittere und giftige Inhaltsstoffe [1], die Antitumorwirkung haben [2]. Enslin und Mitarbeiter haben von 1954 an die Bitterstoffe, die in den Cucurbitaceen vorkommen, genauer untersucht [3]. Sie bezeichnen die Bitterstoffe als Cucurbitacine, da sie in fast allen Arten der Familie vorkommen und bis 1962 auch in keiner anderen Familie aufgefunden wurden [4]. Vor allem die Arbeitskreise um Enslin [5] und Lavie [6] haben dann von 1956 an die chemische Konstitution der Cucurbitacine untersucht und weitgehend aufgeklärt. Inzwischen sind mehr als 16 natürliche Cucurbitacine bekannt. Es handelt sich bei den Cucurbitacinen um tetracyclische Triterpene, die in den Pflanzen häufig als Glykoside vorliegen, in vielen Fällen aber durch das pflanzeigene Enzym Elaterase in Zucker und Aglykon gespalten werden können [7]. Beim Vergleich der verschiedenen Literaturangaben über das Vorkommen der Cucurbitacine in den mitteleuropäischen *Bryonia*-Arten fallen einige Widersprüche und einige Unterschiede zwischen den Arten auf.

Hierbei ist zu berücksichtigen, daß Tunmann *et al.* [8] und Duncan *et al.* [9] nur einzelne Cucurbitacine isoliert und identifiziert haben. Es bleiben dann aber die Unterschiede zwischen den

Angaben von Rehm *et al.* [1] und Gmelin [10] für *B. dioica*. Außerdem unterscheiden sich *B. alba* und *B. dioica*, wenn man die Angaben von Gmelin [10] und die von Zielinsky *et al.* [11] betrachtet doch recht deutlich. Im Zusammenhang mit einer Untersuchung über die Wirkung der Cucurbitacine auf die Mitose [12] war eine genaue Bestimmung der Cucurbitacin-Garnituren erforderlich.

ERGEBNISSE

Die DC-Trennung der *Bryonia* Extrakte ergab im Gegensatz zu den bisherigen Angaben in allen drei verwendeten Laufmitteln die gleiche qualitative Cucurbitacin-Zusammensetzung, wenn die beiden Arten jeweils zum gleichen Zeitpunkt geerntet und extrahiert wurden und wenn für beide das gleiche Extraktionsverfahren angewendet wurde. Wurden die Rüben zwischen Mai und Juli geerntet und unter Zugabe von 96%igem Äthanol sofort zerkleinert, so traten die Aglykone Cucurbitacin E, B, I, D, J und K auf. Wurden die Rüben dagegen in a.dest. zerkleinert und blieb der wäßrige Brei unter Toluol zur Autolyse stehen, so traten zusätzlich die Aglykone Dihydrocucurbitacin E und B, Tetrahydrocucurbitacin I und Cucurbitacin L auf. Die gleiche Zusammensetzung der Cucurbitacin-Aglykone wie nach der



Autolyse ergab sich auch bei der alkoholischen Extraktion, wenn die Rüben zwischen Dezember und Februar geerntet oder wenn sie mehr als ein halbes Jahr eingefroren wurden. Unter diesen Umständen waren dann aber die Aglykone Cucurbitacin E, B, I und D meist nur noch in Spuren vorhanden. Für das Auftreten zusätzlicher Cucurbitacin-Aglykone nach der Autolyse, der Winterernte und der langen Lagerung sind zwei Ursachen möglich. Zum einen können sie durch

Hydrierung in der Seitenkette mit Hilfe entsprechender Enzyme wie z.B. der Cucurbitacin B Δ^{23} -reductase [13] aus den vorher vorhandenen Aglykonen entstehen. Zum anderen können die in der Seitenkette hydrierten Cucurbitacine bereits bei der Sommerernte als Glykoside vorliegen, die dann durch entsprechende Enzyme in Aglykon und Zucker gespalten werden. Das Vorliegen hydrierter Cucurbitacine als Glykoside konnte durch Glykosidspaltung mit Elaterase, bei

Tabelle 1. Bisher in der Gattung *Bryonia* gefundene Cucurbitacine

Rehm <i>et al.</i> [1]	Bryonia dioica			Rehm <i>et al.</i> [1]	Bryonia alba	
	Tunmann <i>et al.</i> [8]	Gmelin [10]	Duncan <i>et al.</i> [9]		Konopa <i>et al.</i> [2]	Zielinsky <i>et al.</i> [11]
—	—	Di E	—	—	—	—
E	—	—	—	E	E	E
—	—	Di B	Di B	—	—	—
B	—	—	—	B	B	B
I	—	—	—	I	I	I
—	L	L	L	—	L	L
D	—	—	—	D	D	D
—	—	Tet I	Tet I	—	—	Tet I
—	—	J	—	—	—	J
—	—	K	—	—	—	K

Tabelle 2. Absorptionsmaxima, hRf-Werte und Farbreaktionen der gefundenen Cucurbitacine

Cucurbitacin	λ_{\max}	LM I	LM II	LM III	FeCl ₃	Vanillin-Phosphorsäure
Di E	272	48	60	46	braun	gelb
E	233 + 268	46	58	45	braun	violett
Di B	280	44	53	40		gelb
B	230	40	50	38		violett
I	234 + 269	25	46	33	braun	violett
L	268	25	40	29	braun	gelb
D	230	19	34	35		violett
J	271	13	29	21	braun	violett
Tet I	274	19	28	21		gelb
K	270	09	21	15	braun	violett

der die 10 Cucurbitacin-Aglykone auftraten, nachgewiesen werden. Die Hydrierung der Seitenkette erfolgt also bereits im Sommer, zunächst aber vor allem an glykosidisch gebundenen Cucurbitacinen. Die Abnahme der Aglykone Cucurbitacin E, B, I und D im Winter bzw. bei langer Lagerung zeigt, daß dies die zunächst synthetisierten Cucurbitacine sind, die dann nicht mehr neu gebildet werden, aber noch durch Hydrierung in die übrigen überführt werden, bis sie schließlich fast vollständig umgewandelt sind. Gleichzeitig damit werden die Zucker abgespalten, wie sich aus dem Verschwinden der Cucurbitacin-Glykoside ergibt.

Die unterschiedlichen Literaturangaben stimmen mit diesen Umwandlungen überein. Sie beruhen auf unterschiedlichen Extraktionsverfahren und unterschiedlichen Lagerzeiten der geernteten Rüben.

EXPERIMENTELLES

Material. Extrahiert wurden aus Samen gezogene zweijährige Rüben von *Bryonia alba* L. und *Bryonia dioica* Jacq. (Belegexemplare: HBG, Pohlmann 1, 2 und 3). Die Samen waren durch Selbstung einer *B. alba* Pflanze bzw. durch kontrollierte Bestäubung aus *B. dioica* Pflanzen im Botanischen Garten Hamburg gewonnen worden.

Extraktion. Die mit Wasser gesäuberten Rüben wurden in kleine Stücke geschnitten und in einem Mixer entweder mit a.dest. oder mit 96%igem EtOH (jeweils 1 ml/g Rübenfrischgewicht) zerkleinert. Der alkoholische Brei wurde sofort abfiltriert. Der wäßrige Brei wurde entweder sofort abfiltriert oder 24 h unter Toluol zur Autolyse stehen gelassen [10]. Das wäßrige Filtrat wurde mit 96% igem EtOH versetzt (1:1) und nochmals filtriert. Diese Lösungen wurden dann, ebenso wie direkt gewonnene alkoholische dreimal mit CHCl₃ (1:1)

ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformphasen eines Extrakts wurden am Rotationsverdampfer zur Trockne eingedampft und mit 2–10 ml EtOH-CHCl₃ (1:1) aufgenommen. Die Elaterase-Gewinnung und die Glykosid-Spaltung erfolgte entsprechend den Vorschriften von Enslin *et al.* [7].

Identifizierung. Zur Identifizierung wurden die Cucurbitacine auf DC-Alufolien Kieselgel 60 F254 (Merck) getrennt. Die verwendeten Laufmittel waren: LM I = CHCl₃-EtOH (19:1) [10]; LM II = *i*-Pr₂O-Me₂CO (5:2) [11]; LM III = Trichloräthylen-PrOH (10:1) [11]. Die entwickelten Chromatogramme wurden, nachdem sie getrocknet waren, mit einer 5% igen alkoholischen FeCl₃-Lösung und anschließend mit Vanillin-Phosphorsäure-Reagenz (2 Teile 84%ige Phosphorsäure und 8 Teile 2%ige äthanolische Vanillinlösung) besprüht und 5–10 min auf 120° erhitzt. Für die Bestimmung von λ_{\max} wurden die entsprechenden Bereiche, nach vorhergehender Markierung im UV-Licht, von mehreren Platten abgekratzt und mit 96%igem EtOH eluiert.

LITERATUR

1. Rehm, S., Enslin, P. R., Meeuse, A. D. J. und Wessels, J. H. (1957) *J. Sci. Food Agr.* **8**, 679.
2. Konopa, J., Jereczek-Morawska, E., Matuszkiewicz, A. und Nazarewicz, T. (1966) *Neoplasma* **3/66**, 335.
3. Rehm, S. (1960) *Ergebn. Biol.* **22**, 108.
4. Bredenbergh, J. B. und Gmelin, R. (1962) *Acta Chem. Scand.* **16**, 1802.
5. De Kock, W. T., Enslin, P. R., Norton, K. B., Barton, D. H., Sklar, B. und Bothner-By, A. A. (1963) *J. Chem. Soc.* 3828.
6. Lavie, D., Shvo, Y., Gottlieb, O. R. und Glotter, E. (1961) *Tetrahedron Letters* 615.
7. Enslin, P. R., Joubert, F. J. und Rehm, S. (1956) *J. Sci. Food Agr.* **7**, 646.
8. Tunmann, P. und Wienecke, H. (1960) *Arch. Pharm.* **293/65**, 195.
9. Duncan, G. R., Levi, D. D. und Pyttel, R. (1968) *Planta Med.* **16**, 224.
10. Gmelin, R. (1964) *Arzneimittel-Forsch.* **14**, 1021.
11. Zielinsky, J. und Konopa, J. (1968) *J. Chromatog.* **36**, 540.
12. Pohlmann, J. (1971) *Planta* **100**, 31.
13. Schabert, J. C. und Potgieter, D. J. J. (1967) *J. Chromatog.* **31**, 235.