

## Nichtverwertung von 5-Hydroxy-tryptophan für die Biosynthese von Strychnos-Alkaloiden

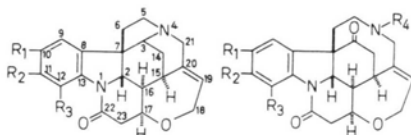
W. MAIER und D. GRÖGER

Institut für Biochemie der Pflanzen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, in Halle (Saale), Weinbergweg

(Z. Naturforsch. 25 b, 1192 [1970]; eingegangen am 13. Juli 1970)

Tryptophan bzw. Tryptamin sind Schlüsselbausteine für die Indolalkaloide. Bei einer Anzahl von Indolalkaloiden ist der Benzolring des Indolteils an einer oder mehreren Positionen durch OH- oder OCH<sub>3</sub>-Gruppen substituiert. Über den Zeitpunkt der Hydroxylierung im Verlauf der Biosynthesekette sowie deren Mechanismus ist wenig bekannt. In Submerskulturen von *Psilocybe cubensis* z. B. wird 4-OH-Tryptophan nicht in Psilocybin eingebaut<sup>1</sup>.

*Strychnos nux vomica* enthält Alkaloide, die an einer oder mehreren Positionen des Aromaten substituiert sind. Das dem Vomicin (*N*-Methyl-sec-pseudostrychnin-Typ) entsprechende Alkaloid der Strychnin-Reihe, das 12-OH-Strychnin, konnte kürzlich aus *Strychnos icaja* isoliert werden<sup>2</sup> (Schema 1). Entweder werden hydroxylierte Vorstufen in diese Alkaloide (Schema 1) inkorporiert oder aber die Einführung der Hydroxylgruppen in den Indolteil geschieht nach Bildung des Grundgerüsts. Für die Brucinbiosynthese wäre vorstellbar, daß 5-Hydroxytryptophan eine spezifische Vorstufe ist und zuerst  $\beta$ -Colubrin entsteht, welches durch nachfolgende Hydroxymethylierung zu Brucin umgesetzt wird. Durch Verfütterung von DL-5-Hydroxytryptophan-(methyl-<sup>14</sup>C) an junge *S. nux vomica*-Pflanzen sollte diese Frage geklärt werden. Die erzielten spezifischen Einbauraten (Strychnin 0,0002%;  $\beta$ -Colubrin 0,0002%; Brucin 0,003%) sind außerordentlich niedrig, so daß ein spezifischer Einbau von 5-OH-Tryptophan in Strychnos-Alkaloide mit großer Wahr-



R <sub>1</sub> =H, R <sub>2</sub> =OMe	$\alpha$ -Colubrin
R <sub>1</sub> =OMe, R <sub>2</sub> =H	$\beta$ -Colubrin
R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =OMe	Brucin
R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =OH	12-Hydroxystrychnin
R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =OH	Vomicin
R <sub>4</sub> =Me	
R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =OMe, R <sub>3</sub> =H	Novacin
R <sub>4</sub> =Me	
R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =OMe, R <sub>3</sub> =R <sub>4</sub> =H	Pseudobrucin

scheinlichkeit ausgeschlossen werden kann. In Parallel-Experimenten haben wir an gleichaltriges Pflanzenmaterial Glycin-(2-<sup>14</sup>C) sowie DL-Tryptophan-(ind-<sup>15</sup>N) appliziert, um zu sichern, daß tatsächlich während der Applikationszeit des 5-OH-Tryptophans eine Alkaloidsynthese stattfindet. Die spezifischen Einbauraten von Glycin-(2-<sup>14</sup>C) und DL-Tryptophan-(1-<sup>15</sup>N) in Strychnin betragen 0,17% bzw. 0,25 Prozent. Sie lagen also in der Größenordnung unserer früheren Ergebnisse<sup>3,4</sup>. Glycin-(2-<sup>14</sup>C) wird spezifisch in die Seitenkette des *Tryptamin*-Teils von Strychnin inkorporiert<sup>4</sup>. Man kann daher annehmen, daß die Einführung der OH-Gruppen bei einer Zwischenstufe erfolgt oder erst am Grundgerüst. Für die letztgenannte Möglichkeit sprechen unsere Befunde, daß bei verschiedenen Fütterungs-Experimenten (<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>, Glycin-(2-<sup>14</sup>C))<sup>5,6</sup> Strychnin wesentlich stärker markiert war als die im Aromaten substituierten Alkaloide. Strychnin wurde von uns daher als *Primäralkaloid* bezeichnet. Nach Applikation von Strychnin-(U-<sup>14</sup>C) an Sprosse von *S. nux vomica* ließ sich schwach markiertes Brucin isolieren<sup>5</sup>. Allerdings kann hier ein Alkaloidabbau und ein unspezifischer Einbau der Bruchstücke nicht völlig ausgeschlossen werden. Eine Hydroxylierung des Strychnins unter Bildung von 10-Hydroxystrychnin ist in Kaninchenleber-Schnitten nachgewiesen worden<sup>7</sup>.

### Experimentelles

Die Versuche wurden im September 1969 durchgeführt. Die Vorstufen wurden an 2-jährige *Strychnos nux vomica*-Pflanzen im Gewächshaus appliziert. Die Versuchsdauer betrug 7 Tage. Appliziert wurden A) 8,18 mg DL-5-Hydroxytryptophan-(methyl-<sup>14</sup>C), Amersham. Spezif. Radioaktivität 3,57·10<sup>9</sup> Imp/mMol an 3 Pflanzen. B) 7,5 mg Glycin-(2-<sup>14</sup>C), Spezif. Radioaktivität 1,5·10<sup>9</sup> Imp/min. mMol. C) 50 mg DL-Tryptophan-(1-<sup>15</sup>N), <sup>15</sup>N-Überschuß 49,2% an 6 Pflanzen. Die Aufarbeitung des Pflanzenmaterials sowie die Auftrennung des Rohalkaloidgemisches erfolgte in der üblichen Weise<sup>5,6</sup>. Beim Versuch A resultierte 232 mg Rohalkaloidgemisch. Nach Reinigung durch präparative Schichtchromatographie (Kieselgel PF „Merck“, mobile Phase: Benzol:Äthylacetat:Diäthylamin (8:1:1)) und Umkristallisieren bis zur konstanten spezifischen Radioaktivität wurden 82 mg Strychnin, 16,0 mg Brucin sowie 6,9 mg  $\beta$ -Colubrin erhalten. Die Messung der Radioaktivität erfolgte mit dem Methandurchflußzählrohr (Frießecke und Hoepfner). Der <sup>15</sup>N-Überschuß wurde nach Trockenverbrennung auf spektroskopischem Wege nach MUNSCH<sup>8</sup> bestimmt.

Sonderdruckanforderungen an Doz. Dr. D. GRÖGER, DAW zu Berlin, Institut f. Biochemie d. Pflanzen, DDR-401 Halle (Saale), Weinberg, Postfach 250.

- 1 S. AGURELL u. J. L. G. NILSSON, Acta chem. scand. **22**, 1210 [1968].
- 2 F. SANDBERG, K. ROOS, K. J. RYRBERG u. K. KRISTIANSON, Acta pharmac. Suecica **6**, 103 [1969].
- 3 CH. SCHLATTER, E. E. WALDNER, H. SCHMID, W. MAIER u. D. GRÖGER, Helv. chim. Acta **52**, 776 [1969].

<sup>4</sup> D. GRÖGER, W. MAIER, P. SIMCHEN, Experientia [Basel] **26**, 820 [1970].

<sup>5</sup> D. GRÖGER u. W. MAIER, Abh. dtsh. Akad. Wiss. Berlin, 1970, im Druck.

<sup>6</sup> W. MAIER u. D. GRÖGER, Arch. Pharmaz., im Druck.

<sup>7</sup> H. TSUKAMOTO, K. OGURI, T. WATABE u. H. YOSHIMURA, J. Biochemistry [Tokyo] **55**, 394 [1964].

<sup>8</sup> D. MUNSCH, Isotopenpraxis **1**, 32 [1965].