

Über die Methylierung des Cytisins in der jungen Goldregenpflanze*

Von

M. Pöhm

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 29. Dezember 1958)

Die Methylierung des Cytisins, die während der Entwicklung der jungen Goldregenpflanze in den oberirdischen Organen stattfindet, wird als „Entgiftung“ gedeutet.

In unseren früheren Arbeiten über die Alkaloide im Goldregen (*Cytisus laburnum*, *Laburnum anagyroides*) konnten wir zeigen, daß die Methylierung des Cytisins mit meristematischen Vorgängen parallel verläuft^{1,2}. Nunmehr versuchten wir festzustellen, in welchen Teilen eines Keimpflänzchens die Methylierung stattfindet und was diese für die Pflanze bedeutet. Voraussetzung für diese Untersuchungen war die Ausarbeitung einer expeditiven Methode zur möglichst genauen Bestimmung geringer Mengen Cytisin und N-Methylcytisin (s. exper. Teil).

Wir hofften der Lösung unserer Probleme näherzukommen, indem wir das Schicksal des Cytisins in Keimlingen verfolgten, die ohne Cotyledonen aus ruhenden Samen herausoperiert worden waren. Zunächst stellten wir fest, daß sich diese ihrer natürlichen Nährquelle und des Hauptvorrates an Cytisin beraubten Keimlinge in einer geeigneten Nährlösung ebenso rasch entwickelten wie vollständige Pflänzchen aus normal gekeimten Samen. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind in der Tabelle zusammengestellt.

* Herrn Prof. Dr. *Leopold Fuchs* zum 60. Geburtstag gewidmet.

¹ *M. Pöhm*, Abhandl. Dtsch. Akad. Wiss. Berlin, Kl. f. Chem., Geol. u. Botan. **1956**, Nr. 7, S. 88.

² *M. Pöhm*, Mh. Chem. **88**, 597 (1957).

Untersuchtes Material	1 Stück enthält	
	γ Cytisin	γ N-Methylcytisin
Same	312	9
Keimling ohne Cotyledonen	38	0,5
Keimpflänzchen aus Keimling ohne Cotyledonen, 2 Tage alt	24	7
Keimpflänzchen (w. o.), 5 Tage		
a) Hypocotyl	15	10
b) Wurzel	3	1
Keimpflänzchen (w. o.), 7 Tage		
a) Hypocotyl	12	10,5
b) Wurzel	4	1,5
Keimpflänzchen (w. o.), 10 Tage		
a) Hypocotyl	5,5	13
b) Wurzel	6	3
Keimpflänzchen (w. o.), 14 Tage		
a) Hypocotyl	3,5	14
b) Wurzel	5	2,5
Keimpflänzchen (w. o.), 19 Tage		
a) Sproß (Hypo- und Epicotyl)	2,5	15
b) Wurzel	4	2
Keimpflänzchen (w. o.), 4 Wochen		
a) Epicotyl mit Blättchen	0,05	4
b) Hypocotyl	2,2	11
c) Wurzel	3	2
Keimpflänzchen (w. o.), 3 Wochen 0,2% N-Methylcytisin in der Nährlösung		
a) Sproß	15	91
b) Wurzel	18	73
Keimpflänzchen (w. o.), 4 Wochen 0,1% Cytisin ab 8. Tag in der Nährlösung		
a) Epicotyl	0,5	4
b) Hypocotyl	47	20
c) Wurzel	51	4
Keimpflänzchen aus Same, 4 Wochen		
a) Epicotyl mit Blättchen	0,2	6,1
b) Hypocotyl	7	18
c) Cotyledonen (beide zusammen)	48	154
d) Wurzel	16	7

Man sieht, daß die Methylierung des Cytisins vor allem im Sproßteil, bei vollständigen Pflänzchen in den Cotyledonen vor sich geht. Eine Neubildung von Cytisin in der Wurzel scheint in den ersten Wochen nicht stattzufinden, denn die Summe der beiden Alkaloide in einem Pflänzchen

nimmt allmählich ab. Auch konnten wir in den Wurzelspitzen, sowohl der Haupt- wie der Nebenwurzeln, bestehend aus Wurzelhaube, Meristem und anschließendem Gewebe (bis zum Beginn des diarchen Gefäßbündels), keine Alkaloide nachweisen.

Der Nährlösung, mit der wir unsere „Keimlinge ohne Cotyledonen“ aufzogen, setzten wir in einigen Versuchsreihen auch Cytisin und N-Methyleytisin in Konzentrationen von 0,01 bis 1% zu. In den Cytisin-Lösungen konnten sich die Keimlinge nicht entwickeln; nur wenn die Keimpflänzchen erst später in Cytisinlösung „umgepflanzt“ wurden, konnten sie gedeihen, und zwar 4 Tage alte Pflänzchen in Cytisin-Konzentrationen bis 0,02%, 8 Tage alte bis 0,2%. Zunächst entwickelten sich diese Pflänzchen normal, nach einigen Wochen zeigte sich aber eine merkbare Hemmung des Wachstums des Epicotyls mit den Blättchen; diese Hemmung konnte noch deutlicher durch Betupfen mit einer 0,1-proz. Lösung von Cytisin in Wasser erzielt werden. Das Epicotyl beginnt sich erst dann rasch zu entwickeln, wenn im Sproß das Cytisin zum größten Teil methyliert ist (bei vollständigen Pflänzchen auch in den Cotyledonen); das Epicotyl enthält dann fast nur mehr N-Methyleytisin (ebenso wie die Spitzen der Wurzelschößlinge im April). Die Leistungsfähigkeit des Sprosses hinsichtlich der Methylierung des Cytisins scheint aber begrenzt zu sein; ein Zusatz von Methionin zur Nährlösung erwies sich als bedeutungslos.

Die Beigabe von N-Methyleytisin zur Nährlösung hatte auf die Entwicklung der Keimlinge keinen deutlichen Einfluß, obwohl das reichlich aufgenommene Alkaloid die Methylierung des vorhandenen Cytisins hintanzuhalten, vielleicht sogar überflüssig zu machen scheint. N-Methyleytisin zeigte bei lokaler Anwendung keine Wirkung auf die Entwicklung des Epicotyls.

Unsere Untersuchungen führten zu dem Schluß, daß Cytisin gewisse, die Entwicklung der jungen Goldregenpflanze hemmende Eigenschaften aufweist, das N-Methyleytisin dagegen nicht; die Methylierung bedeutet in vorliegendem Fall also eine Art von Entgiftung. Ob dem N-Methyleytisin auch eine aktive Rolle bei den Wachstumsvorgängen, vielleicht als Antagonist des Cytisins, zukommt, oder ob es nur physiologisch neutral ist, kann noch nicht entschieden werden.

Experimenteller Teil

a) Nährlösung: 1 Teil *Knopsche* Lösung + 4 Teile H₂O. In 100 ml dieser Flüssigkeit wurden 1 g Glucose und 0,5 g Glycin aufgelöst.

b) Extraktion der Alkaloide: Je 20 entsprechende Teile gleichaltriger Pflänzchen wurden mit einem Plätzchen NaOH und etwas Sand zerrieben. Die Extraktion dieses Pulvers erfolgte in einem Mikroextraktor mit Chloroform. Der Extrakt wurde im Vak. eingedampft und getrocknet.

c) Quantitative Bestimmung der Alkaloide: Obiger Trockenextrakt wird in einer genau gemessenen Menge Chloroform gelöst. Ein aliquoter Teil dieser Lösung (10—80%) wird am Startpunkt eines Papierchromatogramms aufgetragen. Die Chromatographie erfolgt wie früher beschrieben³ mit dem System Methyl-isobutylketon : Pyridin : Wasser (2:1:2); das lufttrockene Chromatogramm wird über P_2O_5 vollständig getrocknet und von Spuren von Pyridin befreit. Durch Entwickeln eines Kontrollstreifens mittels äther. Eisenchloridlösung³ wird die Lage der Alkaloide am Papier ermittelt. Die entsprechenden Zonen des Chromatogramms werden 30 Minuten in eine 2-proz. Lösung von Eisen(III)-chlorid in Äther getaucht, wobei sich am Papier die Eisenkomplexe der Alkaloide bilden; das überschüssige Eisenchlorid wird nun mit Äther vollständig extrahiert, ohne daß die Papierstückchen mit Luft in Berührung kommen. Die Eisenkomplexe werden mit 2-proz. Salzsäure zerstört und das Eisen als Berlinerblau (Zeiss-Pulfrich-Photometer, Filter S 75) bestimmt. Blind- und Testwerte müssen bei jeder Bestimmung neu ermittelt werden. Diese Arbeitsweise ermöglicht die Bestimmung von 10 γ Cytisin oder N-Methyleytisin mit einer Genauigkeit von $\pm 5\%$.

³ M. Pöhm und F. Galinovsky, Mh. Chem. **84**, 1197 (1953).