

MONOPRENYLIERTE ACYLPHLOROGLUCINE*

FRIEDRICH DRAWERT und JOHANNES BEIER

Institut für Lebensmitteltechnologie und Analytische Chemie, Lehrstuhl für Chemisch-technische Analyse und chemische Lebensmitteltechnologie der Technischen Universität München, D-8050 Freising-Weihenstephan, Germany

(Received 26 April 1976)

Key Word Index—*Humulus lupulus*; hop bitter compounds; biosynthesis.

Abstract—The incorporation of labeled precursors into hop bitter compounds is presented and a scheme for the biosynthesis of these substances via 1-acyl-3-prenyl phloroglucinols is proposed.

EINLEITUNG

Die Incorporation von Isobuttersäure bzw. Isovaleriansäure spezifisch in Desoxycohumulon, Cohumulon und Colupulon bzw. Desoxyhumulon, Humulon und Lupulon zeigt, daß die Acylseitenketten der Bitterstoffe des Hopfens aus der entsprechenden Carbonsäure entstehen [1]. Einbaustudien mit ^{14}C markierter Essigsäure weisen darauf in, daß der Sechsring der Bitterstoffe aus Acetateinheiten aufgebaut wird [2]; weiterhin läßt sich aus dem Auftreten von radioaktiv markierter Isobutyrylessigsäure bei Applikation von ^{14}C markierter Isobuttersäure bzw. Essigsäure ableiten, daß die Biosynthese der Hopfenbitterstoffe mit der Kondensation der die Acylseitenkette bildenden Carbonsäure mit Essigsäure beginnt. Aufgrund des Einbaues von radioaktiv markiertem Mevalonsäurelacton in Desoxycohumulon, Desoxyhumulon, Humulon, Colupulon und Lupulon nehmen wir an, daß diese Verbindung als Vorstufe der terpenoiden 3,3-Dimethylallylgruppe der Bitterstoffe dient [3].

In der vorliegenden Arbeit werden wir unsere Vorstellungen bezüglich der Biosynthese der Bitterstoffe des Hopfens darlegen und insbesondere auf die Identität der 1-Acyl-3-prenyl-phloroglucine CoX und X eingehen, sowie ihre Rolle bei der Biosynthese der Bitterstoffe beleuchten.

ERGEBNISSE

Durch Applikation von mutmaßlichen ^{14}C -markierten Vorstufen in Hopfentriebe, Exposition und Aufarbeitung des Pflanzenmaterials sowie Bestimmung des Einbaues mittels Reaktions-Radio-Gaschromatographie erhielten wir die in Tabelle 1 zusammengefaßten Ergebnisse; die hierfür angewandte Methodik, die außer den oben genannten Verfahren noch aus Vortrennung, Derivatisierung und Gaschromatographie besteht, ist von uns bereits eingehend beschrieben worden [4].

Wie ersichtlich, wird Isobuttersäure bzw. Isovaleriansäure in relativ hohem Maße spezifisch in Verbindung CoX bzw. X incorporiert. Aufgrund von gaschromatographischen Retentionsvergleichen von CoX mit Desoxy-

Tabelle 1. In Hopfeninhaltsstoffe eingebaute radioaktiv markierte Vorstufen

	Iso- butter- säure	Isova- lerian- säure	Essig- säure	Mevalon- säure- lacton
Isobutyrylessig- säure	+	—	+	—
CoX	+	—	+	+
X	—	+	—	+
Desoxycohumulon	+	—	+	+
Desoxyhumulon	—	+	+	+
Cohumulon	+	—	—	—
Humulon	—	+	+	+
Colupulon	+	—	+	+
Lupulon	—	+	+	+

+ Einbau nachweisbar, — Einbau nicht nachweisbar.

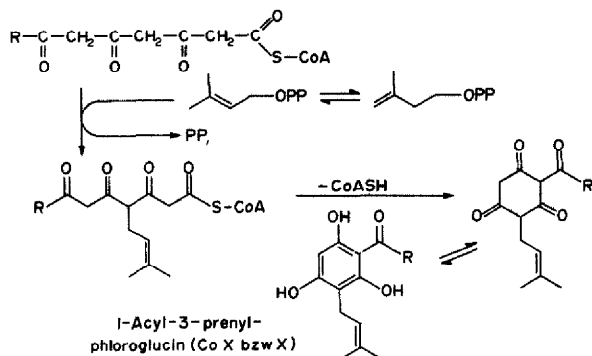
cohumulon und Colupulon schlossen wir, daß CoX das um eine Prenylgruppe ärmere Desoxycohumulon (1-Isobutyryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucin) sein könnte. Entsprechend vermuteten wir, daß es sich bei Verbindung X um Deprenyl-desoxyhumulon (1-Isovaleryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucin) handeln könnte.

Um die Identität von CoX und X abzusichern, synthetisierten wir 1-Isobutyryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucin und 1-Isovaleryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucin nach einer Vorschrift von Hübner [5] bzw. Riedl [6]. Durch Gaschromatographie der Trimethylsilylderivate der beiden Verbindungen und Retentionsvergleich sowie durch Zusatzversuche zu den radioaktiven Proben und Reaktions-Radio-Gaschromatographie wurde bestätigt, daß Verbindung CoX mit 1-Isobutyryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucin und Verbindung X mit 1-Isovaleryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucin identisch sind.

DISKUSSION

Wir schlagen vor, daß die Biosynthese der Hopfenbitterstoffe durch Kondensation der die Acylseitenkette bildenden Carbonsäure mit Acetateinheiten beginnt (Schema 1). Diese im Sinne einer Polyketid-Bildung verlaufende Reaktion erfolgt nach Lynen [7] stets über energiereiche Verbindungen. Als Acylierungskomponente in Pflanzen kommt neben einer Acyl-CoA-Verbindung [7–10] die Bindung des Acylrestes an ACP in Frage

* 8. Mitteilung in der Serie "Über die Biosynthese der Hopfenbitterstoffe". 7. Mitteilung Drawert, F. und Beier, J. (1976) *Phytochemistry* 15, 1693.



Schema 1. Reaktionsschema für die Biosynthese der 1-Acyl-3-prenyl-phloroglucine.

[11–14]. Es ist ungeklärt, welche der beiden Möglichkeiten bei der Biosynthese der Hopfenbitterstoffe vorliegt, so daß wir in Schema 1 die CoA-Verbindung stellvertretend für einen bestimmten Thioester ansehen müssen.

Demnach würde Acyl-CoA (Isobutyryl-CoA führt zu den Co-Verbindungen und Isovaleryl-CoA zu den Stammverbindungen der Hopfenbitterstoffe) als Starter der Polyketid-Biosynthese mit aus Acetyl-CoA gebildetem Malonyl-CoA zu 2-Acyl-acetyl-CoA kondensieren. Durch weitere Ankondensation von 2 Molekülen Malonyl-CoA an diese-Verbindung entsteht 6-Acyl-3,5-

diketo-capronyl-CoA. Die Einführung der 3,3-Dimethylallylgruppe in 4-Stellung der Triketosäure erfolgt anscheinend ohne vorherige Abspaltung der Ketosäure vom Enzym, da wir kein Acylphloroglucin nachweisen konnten. Die Cyclisierung von 6-Acyl-4-prenyl-3,5-diketo-capronyl-CoA liefert über das intermediär anzunehmende Cyclohexantrion-Produkt 1-Acyl-3-prenylphloroglucin. Ausgehend von Isobuttersäure haben wir hiermit Verbindung CoX vor uns, während mit Isovaleriansäure Verbindung X entsteht. Aufgrund der geringen stationären Konzentration von 1-Isobutyryl und 1-Isovaleryl-3-prenylphloroglucin in der Hopfenpflanze (ableitbar aus der GC-Analyse) und des hohen Einbaues von Isobutter- bzw. Isovaleriansäure in CoX bzw. X schließen wir, daß die genannten Verbindungen Zwischenprodukte bei der Biosynthese der Co- bzw. Stammverbindungen der Hopfenbitterstoffe sind. Anhand von Schema 2 läßt sich die weitere Biosynthese der Hopfenbitterstoffe verfolgen. Die Monoprenylierung der 1-Acyl-3-prenylphloroglucine führt zu den Desoxyhumulonen, aus denen einerseits durch nochmalige Prenylierung die Lupulone entstehen und andererseits durch Hydroxylierung die Humulone hervorgehen.

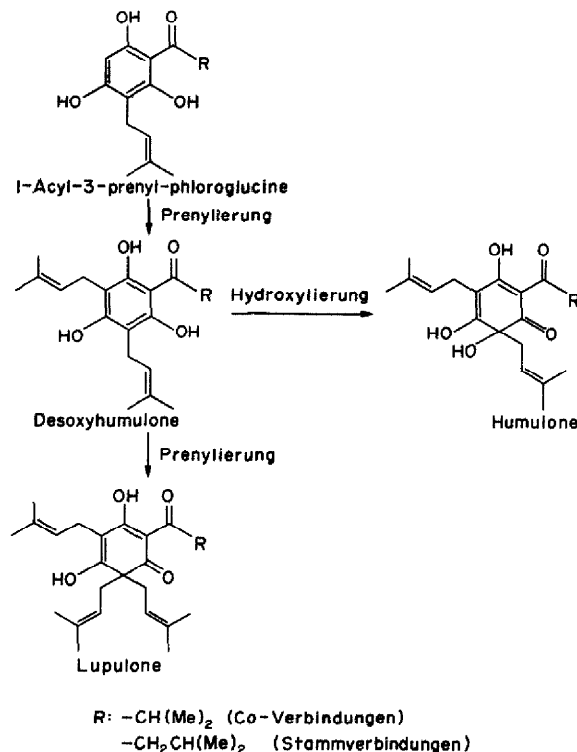
EXPERIMENTELLES

Isobutyryl- und Isovalerylphloroglucin wurden nach der von Riedl [15] beschriebenen Friedel-Crafts-Variante dargestellt. Die Darstellung von 1-Isobutyryl- und 1-Isovaleryl-3-prenylphloroglucin erfolgte nach der Vorschrift von Hübner [5] bzw. Riedl [6]. Die beiden letztgenannten Verbindungen wurden auch im Milligramm-Maßstab nach Riedl [6] dargestellt, wobei ein Gemisch entstand, das die Ausgangsverbindung, das Mono-, Di- und Triprenylprodukt im Verhältnis 30:60:10:1 enthielt.

Die Methoden der Trimethylsilylierung, Gaschromatographie und Reaktionsradiogaschromatographie wurden bereits veröffentlicht [4].

LITERATUR

1. Drawert, F. und Beier, J. (1974) *Phytochemistry* **13**, 2149.
2. Drawert, F. und Beier, J. (1974) *Phytochemistry* **13**, 2749.
3. Drawert, F. und Beier, J. (1976) *Phytochemistry* **15**, 1689.
4. Drawert, F. und Beier, J. (1974) *Chromatographia* **7**, 273.
5. Hübner, H. "4-Desoxyhumulon ein neuer Bitterstoff. Synthesen in der Reihe des Xanthohumols". Diss. München 1959.
6. Riedl, W. (1952) *Chem. Ber.* **85**, 692.
7. Lynen, F. (1965) *Angew. Chem.* **21**, 929.
8. Lisman, F., Kaplan, N. O., Novelli, G. D., Tuttle, L. C. und Guirard, B. M. (1947) *J. Biol. Chem.* **167**, 869.
9. Lipman, F. (1953) *Bact. Rev.* **17**, 1.
10. Jaenicke, L. und Lynen, F. (1960) *The Enzymes*, Bd. 3, 2. Aufl., S. 3. Academic Press, New York.
11. Goldman, P., Alberts, A. W. und Vagelos, P. R. (1963) *J. Biol. Chem.* **238**, 1255.
12. Overath, P. und Stumpf, P. K. (1964) *J. Biol. Chem.* **239**, 4103.
13. Brooks, J. L. und Stumpf, P. K. (1965) *Biochem. Biophys. Acta* **98**, 213.
14. Reed, L. J. und Cox, D. J. (1966) *Ann. Rev. Biochem.* **35**, 559.
15. Riedl, W. (1954) *Liebigs Ann. Chem.* **585**, 38.



Schema 2. Reaktionsschema für die Biosynthese der Desoxyhumulone, Humulone und Lupulone aus 1-Acyl-3-prenyl-phloroglucinen.