

ZUR BIOSYNTHESE VON ADENOCARPIN IN *ADENOCARPUS VISOSUS*

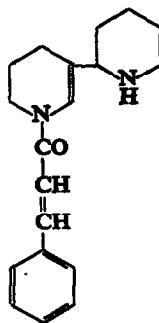
H. R. SCHÜTTE, K. L. KELLING, D. KNÖFEL und K. MOTHES

aus dem Institut für Biochemie der Pflanzen Halle/Saale der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

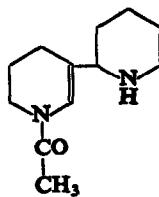
(Received 30 August 1963)

Abstract—Cadaverine-(1,5-¹⁴C) and Tetrahydroanabasine-(2,6,2',6'-¹⁴C) were incorporated with a high rate in the alkaloid Adenocarpin by *Adenocarpus viscosus*. Degradation experiments have shown that the whole activity was localized in the tetrahydroanabasine part of the alkaloid. A possible scheme of biogenesis is discussed.

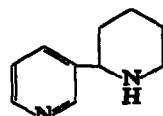
ADENOCARPIN (I) ist ein in verschiedenen *Adenocarpus*-Arten vorkommendes Alkaloid, das bei der Hydrolyse in Tetrahydroanabasin und Zimtsäure gespalten werden kann.¹



(I)



(II)



(III)

Das Adenocarpin ist nahe verwandt mit dem in der mittelasiatischen Leguminose, *Ammodendron conollyi* gefundenen Ammodendrin (II).² Letzteres enthält an Stelle der Zimtsäure eine Acetylgruppe. Dem Tetrahydroanabasin strukturell sehr ähnlich ist das Nicotiana-alkaloid Anabasin (III).³ Die Biosynthese des Anabasins verläuft in *Nicotiana glauca*⁴ und wahrscheinlich auch in der mittelasiatischen Chenopodiacee *Anabasis aphylla*,⁵ in der es mit Lupinenalkaloiden vergesellschaftet vorkommt, in der Weise, daß der Piperidinring dieses Alkaloids aus Cadaverin bzw. Lysin entsteht und der Pyridinring dieser Base aus Nicotinsäure stammt.

Extrakte aus Erbsen- bzw. Lupinenkeimlingen vermögen Anabasin aus Cadaverin zu bilden, wobei der Pyridinring und der Piperidinring aus dem Diamin gebildet werden.^{6,7}

¹ I. RIBAS, R. GUITIAN und P. TALADRID, *Anales real soc. españ. fis. y quím. B.* 47, 715 (1951); C.A. 1953, 2184.

² A. ORECHOW und N. PROSKURNINA, *Ber. deut. chem. Ges.* 68, 1807 (1935).

³ A. ORECHOW und G. MENSCHIKOW, *Ber. deut. chem. Ges.* 64, 266 (1931).

C. R. SMITH, *J. Am. Chem. Soc.* 57, 959 (1935).

⁴ E. LEETE, *J. Am. Chem. Soc.* 78, 3520 (1956); 80, 4393 (1958).

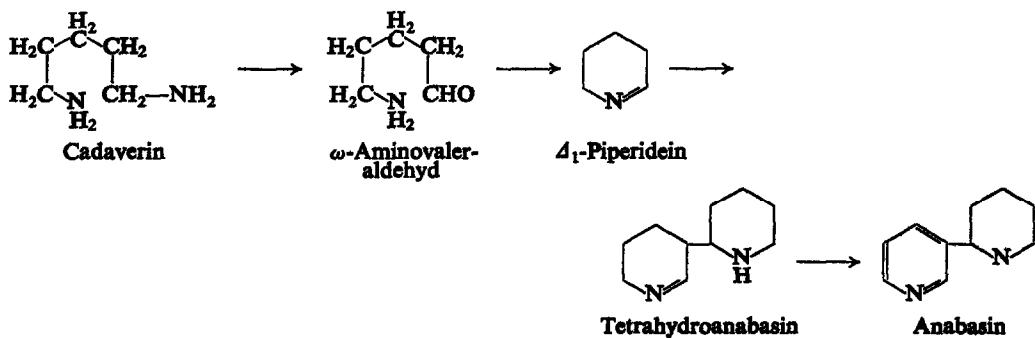
⁵ H. R. SCHÜTTE und K. MOTHES, unveröffentlicht.

⁶ K. HASSE und P. BERG, *Naturwissenschaften*, 44, 584 (1957); *Biochem. Z.* 331, 349 (1959).

⁷ K. MOTHES, H. R. SCHÜTTE, H. SIMON und F. WEYGAND, *Z. Naturforsch.* 14b, 49 (1959).

In diesen Extrakten wird das Cadaverin mit Hilfe einer Diaminoxydase zum entsprechenden ω -Aminovaleraldehyd oxydiert, der sich spontan zum Δ_1 -Piperidein cyclisiert (Schema 1).

Δ_1 -Piperidein dimerisiert sich unter zellmöglichen Bedingungen spontan zum Tetrahydroanabasin,⁸ das in den Erbsen- und Lupinenkeimlingextrakten durch einen niedermolekularen Mn-ionen abhängigen Faktor zu Anabasin dehydriert werden kann. Obwohl



SCHEMA 1

diese enzymatische Anabasinsynthese in anabasinführenden Pflanzen bisher nicht nachgewiesen werden konnte, vermuteten wir aus der Struktur der Alkaloide Adenocarpin und Ammodendrin, daß bei der Biosynthese dieser Basen möglicherweise der in Keimlingsextrakten von Erbsen und Lupinen eingeschlagene Weg zur Synthese von Tetrahydroanabasin realisiert ist. Dazu wurden 4-5 Monate alte Pflänzchen von *Adenocarpus viscosus* mit Cadaverin-[1,5-¹⁴C]⁹ und Tetrahydroanabasin-[2,6,2',6'-¹⁴C]¹⁰ inkubiert. Aus der Tabelle 1 sind die Einbauraten dieser beiden Basen in Adenocarpin und *Adenocarpus viscosus* zusammengefaßt.

TABELLE 1. SPEZIFISCHE EINBAURÄTEN VON TETRAHYDROANABASIN-[2,6,2',6'-¹⁴C] UND CADAVERIN-[1,5-¹⁴C] IN ADENOCARPIN BEI *Adenocarpus viscosus*

Verfütterte Substanz	Spez. Aktiv. (Imp/min/mMol $\times 10^{-7}$)		Einbau Rate %
	d. verabreichten Substanz	des isolierten Adenocarpins	
Tetrahydroanabasin-[2,6,2',6'- ¹⁴ C]	27	1,4	5,2
Cadaverin-[1,5- ¹⁴ C]	300	1,45	0,48

Die Werte zeigen, daß das Tetrahydroanabasin, das nach der Theorie auf dem Biosyntheseweg dem Adenocarpin näher liegt als das Cadaverin, eine höhere Einbaurate als letzteres aufweist. Zur Bestimmung der Aktivitätsverteilung wurde das Adenocarpin hydrolytisch in Tetrahydroanabasin und Zimtsäure gespalten. In Tabelle 2 sind die spezifischen Aktivitäten der Spaltprodukte zusammengefaßt.

⁸ CL. SCHÖPF, F. BRAUN und A. KOMZAK, *Chem. Ber.* 89, 1821 (1956).

⁹ H. R. SCHÜTTE, A. UNVERRICHT, J. LEHFELDT, N. EBERLE und U. FISCHER, *Z. Chem.* 2, 336 (1962).

¹⁰ H. R. SCHÜTTE, G. SANDKE und J. LEHFELDT, *Arch. Pharm.* im Druck.

Aus Tabelle 2 geht hervor, daß die Radioaktivität praktisch ausschließlich im Tetrahydroanabasin lokalisiert ist. Diese letzten Ergebnisse, sowie die Tatsache, daß Tetrahydroanabasin mit einer größeren Einbaurate inkorporiert wird als Cadaverin, und daß Tetrahydroanabasin nicht ohne weiteres in Δ_1 -Piperidein zurückverwandelt werden kann, machen einen Biosyntheseweg über Cadaverin \rightarrow Tetrahydroanabasin sehr wahrscheinlich.

Untersuchungen zur Bestimmung der Diaminoxydase in Homogenaten zeigten keine derartige Enzymaktivität. In diesem Zusammenhang sind jüngere Untersuchungen von Hasse u. Mitarb. von Interesse, die in verschiedenen Pflanzen eine Transaminase nachweisen

TABELLE 2

Verfütterte Substanz	Spez. Aktivität (Imp/min/mMol $\times 10^{-5}$)			
	des Adenocarpins	d. Zimtsäure (%)	d. Tetrahydroanabasin (%)	
Tetrahydroanabasin-[2,6,2',6'- ^{14}C]	1,83	0 (0)	2,05 (112)	
Cadaverin-[1,5- ^{14}C]	1,92	0,066 (3,4)	2,1 (109)	

konnten, die auch Amine, wie z.B. Cadaverin, zu transaminieren vermögen.¹¹ Möglicherweise sind entsprechende Syntheseschritte an der Bildung des Adenocarpins aus Cadaverin in *Adenocarpus viscosus* beteiligt. Entsprechende Versuche sind im Gange.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

In Analogie zu früheren Versuchen^{12, 13} wurden 3 Sprosse (4-5 Monate alt) von *Adenocarpus viscosus* mit 3,7 mg Cadaverin-(1,5- ^{14}C)⁹ und 3 Sprosse mit 4,5 mg Tetrahydroanabasin (2,6,2',6'- ^{14}C)-Dihydrobromid¹⁰ gefüttert. Die Inkubationszeit betrug 4 Tage. Zur Isolierung des Alkaloids wurden die bei 80° getrockneten Pflanzen mit Seesand fein zerrieben und mit Chloroform extrahiert. Der Chloroformextrakt wurde mit verdünnter Salzsäure ausgeschüttelt und diese wiederum nach Versetzen mit Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion mit Chloroform extrahiert. Nach papier-chromatographischer Trennung wurde die enthaltene Alkaloidmenge durch Vergleichschromatogramme bestimmt. Nach Verdünnung mit inaktivem Adenocarpin (38,7 mg im Tetrahydroanabasinversuch und 37,5 mg im Cadaverinversuch) wurde das Pikrat hergestellt und dieses bis zur konstanten spezifischen Radioaktivität aus Wasser umkristallisiert. Das Pikrat wurde mit dem Anionenaustauscher Wofatit L 150 gespalten und die freie Base durch Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure auf dem Wasserbad hydrolysiert. Durch Extraktion der sauren Lösung mit Chloroform wurde die Zimtsäure und durch alkalisches Ausschütteln mit Chloroform das Tetrahydroanabasin erhalten. Die Zimtsäure wurde durch mehrfaches Umkristallisieren

¹¹ K. HASSE und G. SCHMID, *Biochem. Z.* 337, 69 (1963).

¹² H. R. SCHÜTTE, *Arch. Pharm.* 293, 1006 (1960).

¹³ H. R. SCHÜTTE, *Atompraxis*, 7, 91 (1961).

und das Tetrahydrocanabasin durch wiederholtes Chromatografieren gereinigt. Alle Radioaktivitätsmessungen wurden mit dem Methandurchflusszähler der Firma Friescke und Höpfner durchgeführt. Die Bestimmung der Diaminoxydaseaktivität in *Adenocarpus viscosus* wurde nach Mann *et al.*¹⁴ bzw. nach Hasse *et al.*¹⁵ sowie analog früheren Versuchen^{7,9} durchgeführt.

¹⁴ P. J. G. MANN und W. R. SMITHIES, *Biochem. J.* 61, 89 (1955).

¹⁵ K. HASSE und H. MAISACK, *Biochem. Z.* 327, 296 (1955).