

**N-METHYLORNITHIN ALS VORSTUFE DES PYRROLIDINRINGS
IN TROPAN-ALKALOIDEN**

D. Neumann und H.-B. Schröter

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

(Received 24 January 1966)

Precursoren für den Pyrrolidinring in den Tropan-Alkaloiden sind Ornithin oder Putrescin (1). LEETE (2) konnte den asymmetrischen Einbau von Ornithin-2-¹⁴C in das Atropin beweisen. Versuche mit ¹⁵N-markiertem Ornithin, bei denen die Verwendung der Aminogruppen geklärt werden sollte, zeigten für die Tropan-Alkaloide keine so eindeutigen Ergebnisse(3) wie für das Nicotin (4).

Gut untersucht ist in vielen Fällen die Herkunft der N-Methylgruppe (5)(6). Wann die CH₃-Gruppe im Laufe der Synthese in die Verbindung eingeführt wird, ist zumeist unbekannt. Ist die Methylgruppe Voraussetzung für den Ringschluß oder wird sie erst nach der Cyclisierung eingeführt? Dieses Problem, welches von prinzipieller Bedeutung für die Aufklärung der Alkaloid-Biosynthese ist, hat MOTHEES mehrfach diskutiert. Aus einem von ihm inaugurierten Versuchs-Programm teilen wir erste experimentelle Daten mit:

Wenn methylierte Vorstufen spezifisch in die Alkaloide eingebaut werden, müßten Monomethylputrescin oder -ornithin Vorstufen des Pyrrolidinringes der Tropan-Alkaloide sein. Wir benutzten daher DL- α -Methylornithin-(N-¹⁴CH₃) und DL- δ -Methylornithin-(N-¹⁴CH₃) (7) als Precursoren. Über

die Resultate mit $^{14}\text{C}/^{15}\text{N}$ -markierten Ornithinen berichten wir in einer gesonderten Mitteilung.

Die markierten Vorstufen wurden an 3 Monate alte *Datura stramonium*-Pflanzen über das Wurzelsystem gefüttert. Nach etwa 2 Stunden hatten die Versuchspflanzen die Lösung aufgenommen. Der Versuch wurde nach 4 Tagen abgebrochen, die Pflanzen wurden geerntet und getrocknet. Die Precursoren wurden außerdem an sterile Kulturen isolierter Wurzeln von *Datura metel* gefüttert. Versuchsdauer: 8 Tage. Während dieser Zeit wurden die Wurzeln in einer Nährlösung nach WHITE mit halbem Stickstoffgehalt kultiviert. Das trockene Pflanzenmaterial wurde nach Alkalisieren mit Äther extrahiert, und die Alkaloide wurden mit 10%iger HCl ausgeschüttelt. Die vereinigten HCl-Extrakte wurden zur Trockne eingedampft und dann mit Ammoniak aufgenommen. Die Alkaloide wurden mit Chloroform extrahiert, papierchromatographisch getrennt (Laufmittel: n-Butanol : Eisessig = 10:1, mit Wasser gesättigt) und als Pikrate gefällt. Hauptalkaloide waren Atropin und Scopolamin. Zur Hydrolyse der Ester wurde mit 30%iger NaOH 3 Stunden lang am Rückfluß gekocht. Die alkalische Lösung wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, und die abgedampften Chloroformextrakte wurden auf Dünnschichtplatten chromatographiert (Laufmittel: Benzol : Methanol = 4 : 1). Das aus dem Kieselgel eluierte Tropin und Scopolin wurde mit jeweils 50 mg inaktiver Substanz verdünnt, mit der berechneten Menge Pikrinsäure gefällt und bis zur konstanten spezifischen Radioaktivität umkristallisiert. Die Messung erfolgte in einem Methandurchflußzähler, die quantitative Bestimmung durch Vergleich der Fleckengröße auf Papierchromatogrammen.

Zur Bestimmung der Radioaktivität der N-ständigen CH_3 -Gruppe wurden die Pikrate durch einen Anionenaustauscher (Wofatit L 150) wieder in die Basen überführt und in der Apparatur nach SIROTENKO (8) mit Jodwasserstoffsäure erhitzt. Das

TABELLE 1Einbau von α -Methylornithin in Atropin und Scopolamin α -Methylornithin-(N- 14 CH $_3$): $1.02 \cdot 10^9$ Imp/min/mMol

	spez. Aktivität Imp/min/mMol	spez. Einbaurrate %	Anteil der CH $_3$ -Gruppe an d.Gesamt- aktivität(%)
Datura stramonium			
Atropin	$2.3 \cdot 10^7$	2.5	
Tropin	$2.3 \cdot 10^7$	2.5	
N-CH $_3$	$1.9 \cdot 10^7$		83
Scopolamin	$2.9 \cdot 10^6$	0.37	
Scopolin	$2.9 \cdot 10^6$	0.37	
N-CH $_3$	$2.3 \cdot 10^6$		97
Datura metel sterile Wurzeln			
Atropin	$1.25 \cdot 10^8$	12.3	
Tropin	$1.25 \cdot 10^8$	12.3	
N-CH $_3$	$1.05 \cdot 10^8$		84
Scopolamin	$9.9 \cdot 10^7$	9.8	
Scopolin	$9.9 \cdot 10^7$	9.8	
N-CH $_3$	$8.7 \cdot 10^7$		87

entstandene Methyljodid wurde in einem Stickstoffstrom in Trimethylaminlösung eingeleitet und das Tetramethylammoniumhydroxyd als Reineckat gefällt. Nach Umkristallisieren wurde die Radioaktivität bestimmt. Tabelle 1 und 2 zeigen die Ergebnisse eines typischen Versuches.

TABELLE 2Einbau von δ -Methylornithin in Atropin und Scopolamin δ -Methylornithin-(N - $^{14}CH_3$): $1.02 \cdot 10^9$ Imp/min/mMol

	spez. Aktivität Imp/min/mMol	spez. Einbaurrate %	Anteil der CH_3 -Gruppe an d. Gesamt- aktivität(%)
Datura stramonium			
Atropin	$3.5 \cdot 10^6$	0.37	
Tropin	$3.5 \cdot 10^6$	0.37	
N- CH_3	$1.43 \cdot 10^5$		4
Scopolamin	- ^{+))}	-	
Scopolin	-	-	
N- CH_3	$3.1 \cdot 10^5$		1
Datura metel sterile Wurzeln			
Atropin	$2.1 \cdot 10^7$	2.2	
Tropin	$2.1 \cdot 10^7$	2.2	
N- CH_3	-		-
Scopolamin	$2.92 \cdot 10^6$	0.32	
Scopolin	$2.92 \cdot 10^6$	0.32	
N- CH_3	-		-

+) nicht meßbar

In die Alkaloide wird nur das α -Methylornithin spezifisch inkorporiert. 83-97% der eingebauten Aktivität finden sich in der N- CH_3 -Gruppe wieder.

Ein so hoher Einbau in die Alkaloide durch Transmethylierung ist bei der großen Stoffwechselaktivität der CH_3 -Grup-

pe unwahrscheinlich. Für eine spezifische Inkorporation spricht außerdem, daß α -Methyllysin-(N- 14 CH $_3$) nicht in die Alkaloide eingebaut wird (Tab. 3).

TABELLE 3

Fütterung von α -Methyllysin
 α -Methyllysin-(N- 14 CH $_3$): $2.1 \cdot 10^9$ Imp/min/mMol

	spez. Aktivität Imp/min/mMol	spez. Einbaurrate %	Anteil der CH $_3$ -Gruppe an d.Gesamt- aktivität(%)
Datura stramonium			
Atropin	$3.0 \cdot 10^6$	0.14	
Tropin	$3.0 \cdot 10^6$	0.14	
N-CH $_3$	- ⁺⁾		-

+) nicht meßbar

Die beschriebenen Versuche beweisen, daß α -Methylornithin-(N-CH $_3$) eine direkte Vorstufe für den Pyrrolidinring der Tropan-Alkaloide sein kann.

L i t e r a t u r

1. LIEBISCH, H.W., H.R.SCHÜTTE und K.MOTHES
Liebigs Ann. Chem. 668, 139 (1963)
2. LEETE, E., J.Am.chem.Soc. 84, 55 (1962)
3. LEETE, E., 3. Internationales Symposium "Biochemie und
Physiologie der Alkaloide", Halle/S., (im
Druck)
4. LEETE, E., E.G.GROS und T.J.GILBERTSON, Tetrahedron
Letters No. 11, 587 (1964)
5. MOTHES, K., und H.-R.SCHÜTTE, Angew.Chem. 75, 265 (1963)
6. LADESIC, B., und T.C.TSO, Phytochem. 3, 541 (1964)
7. NEUMANN, D., und H.-B.SCHRÖTER, Z.Chem. 5, 385 (1965)
8. SIROTENKO, A.A., Mikrochim. Acta (Wien) 1955, 1.