

ZUR BIOSYNTHESE VON GRAMIN

D. Gross, H. Lehmann und H.R. Schütte

(Received in Germany 22 July 1971; received in UK for publication 28 September 1971)

Institut für Biochemie der Pflanzen des Forschungszentrums für Molekularbiologie und Medizin der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
Halle (Saale)

Die Bildung des Gramins [3-(N,N-Dimethylaminomethyl)indol] aus Tryptophan ist bereits eingehend untersucht worden (vgl. 1,2). Es ist bekannt, daß der Indolring mit dem β -C-Atom des Tryptophans intakt in Gramin eingebaut wird (3). Der aliphatische Seitenkettenstickstoff entstammt der Aminogruppe des Tryptophans (4). Das α -C-Atom des Tryptophans wird eliminiert und geht nicht mit in die Graminbiosynthese ein (5).

Darüber hinaus haben O'Donovan und Leete mit Tryptophan-(β - $^{14}\text{CT}_2$) nachgewiesen, daß die an dem β -C-Atom gebundenen H-Atome während der Alkaloidbildung nicht abgespalten werden (6). Diese Aussage ist für die Vorstellung des Reaktionsablaufes von Bedeutung. Wir haben analoge Versuche durchgeführt (Tab. 1); als Pflanzenmaterial verwendeten wir Blattscheiben 6 Tage alter Keimlinge von *Hordeum distichon* L. (Fütterungsmethode und Isolierung des Gramins vgl. (7), Abbau vgl. (8,9)). Die erhaltenen Ergebnisse sprechen ebenfalls dafür, daß bei der Graminbildung die Methylengruppe des Tryptophans unverändert eingebaut wird.

Das Isotopenverhältnis T/ ^{14}C zeigte für Gramin einen geringen T-Verlust. Das könnte für einen Einbau von nur einem H-Atom unter Berücksichtigung des T-Isotopieeffektes sprechen oder durch Meßfehler bedingt sein. Da Deuterium

Tab. 1: Einbau von Tryptophan-($^{14}\text{CT}_2$) (dargestellt aus Formaldehyd-(T) über Gramin). 350 g Blattscheiben wurden mit 49,4 mg Tryptophan- ($^{14}\text{CT}_2$) 20 Stunden inkubiert.

	spezif. Radioakt. Zerf/min/mMol		Isotopenverhältnis T : ^{14}C
	T	^{14}C	
Tryptophan- $^{14}\text{CT}_2$	$2,34 \cdot 10^8$	$8,6 \cdot 10^7$	2,72 : 1
Gramin	$6,96 \cdot 10^5$	$3,01 \cdot 10^5$	2,32 : 1
3-Methoxymethylindol	$6,48 \cdot 10^5$	$3,04 \cdot 10^5$	2,13 : 1
Trimethylamin	-		
Indol	-		

gegenüber Tritium wesentlich geringere Isotopieeffekte aufweist, haben wir vergleichende Versuche mit Tryptophan-(CD_2) und Tryptophan-($^{14}\text{CD}_2$) vorgenommen. Nach Verabreichung von Tryptophan-(CD_2) und massenspektrometrischer Bestimmung des D-Gehaltes und seiner Abbauprodukte ergab sich, daß die beiden Deuteriumatome der Methylengruppe im Alkaloid erhalten bleiben. Entsprechende Versuche mit Tryptophan-($^{14}\text{CD}_2$) zeigten in Übereinstimmung zu dem Tritiumexperiment ebenfalls einen intakten Einbau der Methylengruppe (Tab. 2).

Das Verhältnis D/ ^{14}C von Precursor, Gramin und dem Abbauprodukt 3-Methoxymethylindol blieb weitgehend konstant. Somit werden die beiden Wasserstoffatome ohne zwischenzeitliche Abspaltung mit dem β -C-Atom in Gramin eingebaut.

Der Reaktionsmechanismus der Graminbiosynthese ist noch nicht endgültig geklärt. Die experimentellen Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit der Annahme von Wenkert (10), wonach die evtl. pyridoxal-abhängige (11) Seitenkettenverkürzung unter Erhalt der CH_2 -Gruppe verläuft. Möglicherweise ist dafür ein Multienzymkomplex zu diskutieren.

Tab. 2: Einbau von Tryptophan-($^{14}\text{CD}_2$). An 80 g Blattscheiben wurden 24,3 mg Tryptophan-($^{14}\text{CD}_2$) verfüttert. Die Inkubationszeit betrug 20 Stunden.

	Spezif. Radioakt. Zerf/min/mMol ^{14}C	Atom % D	$\frac{\text{Atom\% D} \cdot 10^6}{\text{spez. RA } ^{14}\text{C}}$
Tryptophan- $^{14}\text{CD}_2$	$8,75 \cdot 10^7$	91,4	1,04
Gramin	$5,2 \cdot 10^5$	0,59	1,14
3-Methoxymethylindol	$5,4 \cdot 10^5$	0,55	1,02
Trimethylamin	-	-	-

Die Radioaktivitätsmessung erfolgte mit dem Flüssigkeitsspektrometer Modell 3365 der Fa. Packard Instruments. Die Deuteriumanalysen wurden massenspektrometrisch im Zentralinstitut für Isotopen- und Strahlentechnik der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin in Leipzig vorgenommen. Herrn Dr. M. Herrmann danken wir für die Aufnahme und Diskussion der Massenspektren.

Literaturverzeichnis

- (1) Boit, H.-G., Ergebnisse der Alkaloid-Chemie bis 1960. Akademie Verlag, Berlin 1961, S. 478
- (2) Gross, D., in: K. Mothes und H. R. Schütte, Biosynthese der Alkaloide, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1969, S. 446
- (3) Leete, E., und I. Marion, Canad.J.Chem. 31, 1195 (1953)
- (4) Gross, D., A. Nemeckova und H. R. Schütte, Z.Pflanzenphysiol. 57, 60 (1967)
- (5) Gross, D., H. Lehmann und H. R. Schütte, Biochem.Physiol.Pflanzen, 1971, im Druck
- (6) O'Donovan, D., und E. Leete, J.Amer.chem.Soc. 85, 461 (1963)
- (7) Gross, D., H. Lehmann und H.R. Schütte, Z.Pflanzenphysiol. 63, 1 (1970)

- (8) Madinaveitia, J., J.chem.Soc. (London) 1937, 1927
- (9) Bowden, K., und L. Marion, Canad.J.Chem. 29, 1037 (1951)
- (10) Wenkert, E., J.Amer.chem.Soc. 84, 98 (1962)
- (11) Breccia, A., und A.M. Crespi, Z.Naturforsch. 21b, 832 (1966)