

Phytoalexine mit Indolstruktur aus Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*)⁺

Indole Phytoalexins from the Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*)

Dieter Gross, Andrea Porzel und Jürgen Schmidt

Institut für Pflanzenbiochemie, Weinbergweg 3, D-06120 Halle/Saale,
Bundesrepublik Deutschland

Z. Naturforsch. **49c**, 281–285 (1994); eingegangen am 23. Dezember 1993

Phytoalexins, Kohlrabi, Cyclobrassinone, 1-Methoxyspirobrassinin, Spirobrassinin

UV-irradiation of sliced stem tubers of kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) followed by incubation for 4 days, resulted in the production of two new sulphur-containing indole phytoalexins, cyclobrassinone and 1-methoxyspirobrassinin, whose structures were elucidated on the basis of spectroscopic data. Three known indole phytoalexins, spirobrassinin, methoxybrassinin and methoxybrassinin, and several minor phytoalexin-like compounds not yet identified were also isolated. The accumulation of these indole phytoalexins was also induced by abiotic elicitation with CuCl₂.

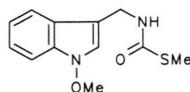
Feeding both of L-[β-¹⁴C]tryptophan and L-[¹⁴CH₃]methionine to UV-irradiated stem tuber tissue of kohlrabi indicated that the S-containing indole phytoalexins were biosynthesized from these amino acids.

Einführung

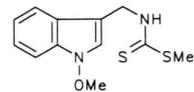
Phytoalexine sind *per definitionem* niedermolekulare antimikrobielle Sekundärstoffe, die in der Pflanze nach Pathogenbefall oder Streß bzw. nach Applikation eines geeigneten biotischen oder abiotischen Elicitors *de novo* gebildet und akkumuliert werden. Die im Pflanzenreich weit verbreitete Fähigkeit zur Phytoalexinbildung trägt als induzierbarer Abwehrmechanismus der Pflanze mit zu ihrer Resistenz gegen Pathogenbefall bei. Jede Pflanzenfamilie bildet bevorzugt Phytoalexine einer chemischen Grundstruktur, beispielsweise produzieren Solanaceen im wesentlichen sesquiterpenoide Phytoalexine, während Leguminosen vor allem Streßmetabolite mit Isoflavonoid- oder Pterocarpinstruktur akkumulieren.

Vor kurzem sind in pathogen-infiziertem Chinakohl, Weißkohl, Raps und einigen anderen Brassicaceen (Cruciferae) erstmals Phytoalexine aufgefunden worden, die als charakteristische Grundstruktur einen Indol- oder Oxindolring mit einem

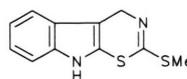
schwefelhaltigen Strukturelement aufweisen (Gross, 1993; Monde, 1992). So enthalten die Phytoalexine Methoxybrassinin (**1**) und Methoxybrassinin (**2**) beispielsweise am C-Atom 3 einen über eine Methylengruppe gebundenen Thio- bzw. Dithiocarbamatrest. Dieser schwefelhaltige Substituent kann unterschiedlich strukturiert sein und darüber hinaus verschiedenartige Cyclisierungen eingehen, wobei für Naturstoffe ungewöhnliche N- und S-haltige Ringsysteme entstehen, z. B. Cyclo-



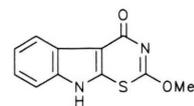
Methoxybrassinin (1)



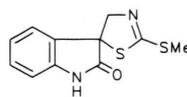
Methoxybrassinin (2)



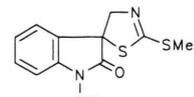
Cyclobrassinin (3)



Cyclobrassinone (4)



Spirobrassinin (5)



1-Methoxyspirobrassinin (6)

Phytoalexine mit Indolstruktur

⁺ Herrn Professor Dr. Horst-Robert Schütte, Halle/Saale, zur 65. Wiederkehr seines Geburtstages gewidmet.

Sonderdruckanforderungen an Dr. D. Gross.

0939-5075/94/0500-0281 \$ 03.00

© Verlag der Zeitschrift für Naturforschung,
D-72072 Tübingen



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

brassinin (**3**) oder die Spiroverbindung **5**. Diese neuartigen heterocyclisch gebauten Phytoalexine weisen somit eine relativ hohe Strukturmannigfaltigkeit auf. Gegenwärtig sind etwa 15 Phytoalexine dieses Strukturtyps bekannt.

Wir haben abiotisch gestreßte Stengelknollen von Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) auf das Vorkommen von Phytoalexinen untersucht und beschreiben erste Ergebnisse zu ihrer Isolierung und Identifizierung.

Ergebnisse und Diskussion

Zur Familie der Brassicaceae gehörende Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) sind bisher nicht auf ihr Phytoalexinbildungsvermögen untersucht worden. Aus diesem Grund wurden Stengelknollenscheiben von Kohlrabi kurzzeitig mit UV-Licht bestrahlt oder in Einzelfällen als abiotischer Elicitor eine wäßrige Kupferchlorid- oder Quecksilberacetat-Lösung appliziert. In beiden Fällen zeigte sich, daß im abiotisch gestreßten Knollengewebe nach zwei bis drei Tagen mehrere fungitoxische Streßmetabolite auftreten, die in unbehandelten Stengelknollen sowie in Blatt und Wurzel nicht nachzuweisen waren.

Durch Biosyntheseversuche an *Brassica campestris* ssp. *rapa* war bereits bekannt, daß isotop markiertes Tryptophan in die Phytoalexine Brassinin, Cyclobrassinin (**3**) und Spirobrassinin (**5**) eingebaut wird und daß die O- und S-Methylgruppen von Methionin übertragen werden, während die Schwefelatome aus Methionin bzw. Cystein stammen (Monde and Takasugi, 1990, 1991, 1992). Da wir bei gestreßtem Kohlrabi ebenfalls die Bildung und Akkumulation von Phytoalexinen mit Indolstruktur vermutet haben, wurde den Stengelknollenscheiben vor der UV-Bestrahlung radioaktiv markiertes L-Tryptophan (Versuch A) bzw. L-Methionin (Versuch B) als interner Biosynthesemarker verabreicht. Dieses Verfahren erwies sich als günstig, da durch den hohen Einbau des ¹⁴C-markierten Präkursors die fungitoxischen Streßmetabolite zusätzlich radioaktiv markiert waren und somit auf Grund ihrer Fungitoxizität und Radioaktivität leichter nachgewiesen, isoliert und gereinigt werden konnten.

Das kurzzeitig UV-bestrahlte und nach 4-tägiger Versuchszeit lyophilisierte Pflanzenmaterial

wurde mit wäßrigem Methanol extrahiert, die nach Abdampfen des Methanols verbleibende wäßrige Phase mit Chloroform extrahiert und dieser Extrakt dünnstichtchromatographisch aufgetrennt. Es konnten mindestens 7 Banden (1, 1a, 2, 2a, 3, 4, 5) nachgewiesen werden, die sich im DC-Plattenbiotest mit dem Indikatorpilz *Cladosporium cucumerinum* (Gross *et al.*, 1984) als fungitoxisch erwiesen und eine signifikante Hemmung des Myzelwachstums bewirkten und deren RF-Werte mit den Radioaktivitätspeaks des Scannogramms übereinstimmen. Die Banden 1, 4 und 5 zeigten die stärkste Fungitoxizität und im Versuch A gleichzeitig die höchste Radioaktivität. Im Versuch B wiesen die Banden 2a und 5 den größten ¹⁴C-Gehalt auf.

Das Ausgangsmaterial enthielt keine im Biotest mit dem Pilz *Cladosporium cucumerinum* nachweisbaren fungitoxischen Inhaltsstoffe (Versuch C). In unbestrahlten und zeitgleich als Kontrolle mitgeführten Knollenscheiben (Versuch D) ließen sich Phytoalexin-ähnliche Substanzen nur in Spuren nachweisen, wobei deren Bildung offensichtlich durch den Wundstreß induziert wird.

Die einzelnen Banden aus Versuch A und B wurden durch Rechromatographie in unterschiedlichen Laufmittelsystemen und durch nachfolgende HPLC gereinigt. Dabei konnten die Banden 3 und 5 jeweils in zwei Komponenten aufgetrennt werden. Die den Banden 1, 3/1, 3/2, 4 und 5/2 entsprechenden Verbindungen haben wir in mg-Mengen isoliert und in ihrer Struktur aufgeklärt, wobei im wesentlichen spektroskopische Verfahren wie Massenspektroskopie und NMR eingesetzt wurden.

Bei Bande 3/1 handelt es sich um ein neuartiges S-haltiges Phytoalexin mit einem Indolring, das nach der IUPAC-Nomenklatur als 2-Methoxy-1,3-thiazino[6,5-b]indol-4-on zu bezeichnen ist und für das wir den Namen Cyclobrassinon (**4**) vorschlagen. Seine Struktur wurde im wesentlichen aus Daten der hochauflösenden Massenspektroskopie abgeleitet. Das massenspektrometrische Verhalten von Cyclobrassinon ist durch einen retro-Diels-Alder-Zerfall des Moleküls (m/z 232, C₁₁H₈N₂O₂S) charakterisiert, der zum Schlüsselbruchstück bei m/z 175 führt. Die Abspaltung von CH₃OCN beweist die Gegenwart einer Methoxygruppe am C-Atom 2. Nachfolgender Verlust von CO führt zum Ion m/z 147 (vgl. Material und Me-

thoden). Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Cyclobrassinon (**4**) zeigt neben dem NH-Signal bei 8.56 ppm die vier aromatischen Signale im Bereich von 8.3–7.3 ppm und das Signal der Methoxygruppe bei 3.55 ppm.

In seiner Grundstruktur entspricht Cyclobrassinon dem bereits aus *Brassica campestris* spp. *pekinensis* (Takasugi *et al.*, 1988) und einigen anderen Brassica-Arten (Dahiya und Rimmer, 1988, 1989; Devis *et al.*, 1990; Monde *et al.*, 1990, 1991; Rouxel *et al.*, 1991) nach Bakterieninfektion isolierten Cyclobrassinin (**3**), es weist jedoch im Ring C eine zusätzliche Sauerstofffunktion auf und enthält anstelle der S-Methylgruppe des Cyclobrassinins in gleicher Position eine Methoxygruppe.

Die als Bande 3/2 isolierte Substanz wurde als 1-Methoxyspirobrassinin identifiziert (**6**), das unseres Wissens bisher nicht bekannt war und ein neues schwefelhaltiges Phytoalexin mit Oxindolstruktur darstellt. Im Massenspektrum wird die Gegenwart von zwei S-Atomen durch das Isotopenmuster am M^+ - bzw. $[\text{M} + 2]^+$ -Peak angezeigt. Die massenspektrometrische Fragmentierung von 1-Methoxyspirobrassinin ist durch Bindungsspaltungen im Spiroring charakterisiert, was zu den Schlüsselbruchstücken bei m/z 176 (1-Methoxy-2-oxo-indolyl-Fragment), m/z 87 ($\text{CH}_3\text{SCNCH}_2^+$) und m/z 72 ($^+\text{CH}_2\text{SCN}$) führt. Es besitzt ein Asymmetriezentrum und zeigt optische Aktivität, die Absolutkonfiguration konnte jedoch bisher nicht zugeordnet werden.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 1-Methoxyspirobrassinin (**6**) weist gegenüber dem Spektrum des Spirobrassinins (**5**) ein zusätzliches Methylsingulett bei 4.05 ppm auf, das der 1-Methoxygruppe zugeordnet werden kann. Aufgrund der Substitution an N-1 zeigen die $^1\text{H-NMR}$ -Signale der aromatischen Protonen in **6** eine etwas andere chemische Verschiebung als die von **5**.

Bande 1 erwies sich auf Grund von Literaturbefunden und eigener physikalisch-chemischer Daten als identisch mit Spirobrassinin (**5**), das als Phytoalexin bereits aus *Raphanus sativus* var. *hortensis* (Takasugi *et al.*, 1987), *B. oleracea* var. *capitata* (Monde *et al.*, 1990) und *B. juncea* (Pedras und Seguin-Swartz, 1992) nach Infektion mit *Pseudomonas cichorii* bzw. *Leptosphaeria maculans* sowie aus *B. campestris* ssp. *rapa* (Monde *et al.*, 1991) nach UV-Bestrahlung isoliert worden ist. Die Banden 4 und 5/2 wurden auf der Basis spek-

trokopischer Daten als Methoxybrassinin (**1**) bzw. Methoxybrassinin (**2**) identifiziert. Diese beiden Verbindungen sind als Streßmetabolite in *B. campestris* ssp. *pekinensis*, *B. napus* und einigen anderen Brassicaceen nach Bakterieninfektion bzw. UV-Bestrahlung bereits bekannt (Dahiya und Rimmer, 1988, 1989; Monde *et al.*, 1990, 1991; Pedras und Seguin-Swartz, 1992; Takasugi *et al.*, 1987, 1988; Rouxel *et al.*, 1991).

Einige weitere von uns aus UV-bestrahlten Stengelknollengewebe von Kohlrabi isolierte und chromatographisch nachgewiesene antifungale Streßmetabolite kommen nur in niedrigen Konzentrationen vor und konnten bisher noch nicht identifiziert werden. Nach unseren derzeitig vorliegenden Befunden scheinen sie aber mit bisher strukturbekanntem Phytoalexinen nicht identisch zu sein.

Die spezifischen Einbauraten von L- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$ -Tryptophan und L- $[\text{CH}_3\text{-}^{14}\text{C}]$ -Methionin lagen um 10%. Diese relativ hohe Inkorporation ist dadurch zu erklären, daß zu Versuchsbeginn im unbestrahlten Pflanzengewebe keine Phytoalexine wie Cyclobrassinon (**4**) oder Spirobrassinin (**5**) vorhanden sind. Ihre Biosynthese wird erst durch UV-Bestrahlung oder die Applikation geeigneter Elicitoren induziert, so daß die angebotenen biogenetischen Vorstufen somit direkt eingebaut werden können und als spezifische Präkursoren der in Kohlrabi gebildeten Phytoalexine mit Indolstruktur anzusehen sind. Der detaillierte Ablauf der Biosynthesefolge der unterschiedlich strukturierten Streßmetabolite ist noch weitgehend unbekannt. Inwieweit die in Kohlrabi nach Elicitierung gefundenen, relativ stark fungitoxischen Phytoalexine als chemische Abwehrstoffe am Resistenzgeschehen gegen phytopathogene Mikroorganismen beteiligt sind, muß an geeigneten Wirt-Parasitensystemen untersucht werden.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Es wurden jeweils 5–10 Scheiben von Stengelknollen von *B. oleracea* var. *gongyloides* cv. Olmia oder cv. Deli weiß (3 cm Durchmesser; 0,5 cm Dicke; 20–35 g Frischgewicht) eingesetzt, denen beidseitig je 100 μl einer wäßrigen Lösung von 0,5 mg L-Tryptophan- $(\beta\text{-}^{14}\text{C})$ (1×10^7 Zerfälle/min)

(Versuch A) bzw. 0,5 mg L-Methionin-(^{14}C) ($0,9 \times 10^7$ Zerfälle/min) (Versuch B) verabreicht wurden. Anschließend wurden die Scheiben beidseitig je 10–15 min mit UV-Licht bestrahlt, anschließend für 3–4 Tage im Dunkeln bei 20 °C inkubiert und nachfolgend lyophilisiert. In Einzelfällen wurde der UV-Streß durch eine beidseitige Applikation von je 100 μl wäßriger CuCl_2 -Lösung ersetzt. In allen Versuchen dienten unbehandelte Knollenscheiben als Kontrollen.

Aufarbeitung

Die gefriergetrockneten Knollenscheiben aus Versuch A und B, entsprechendes Ausgangspflanzenmaterial (Versuch C) und parallel mitgeführte unbehandelte Kontrollscheiben (Versuch D) wurden jeweils erschöpfend mit wäßrigem Methanol (80:20) extrahiert. Die Methanolextrakte wurden schonend bis zur wäßrigen Phase eingengt und diese mit Chloroform ausgeschüttelt.

Die eingengten Chloroformextrakte wurden dünn-schichtchromatographisch aufgetrennt (MERCK Silicagel 60 HF_{254} ; $2 \times$ in Benzen-Ether 40:9). In den Experimenten A und B mit zugesetztem radioaktiven Tryptophan bzw. Methionin wurden die entwickelten DC-Platten gescannt und das Radioaktivitätsprofil ermittelt (Dünnschichtscanner II, LB 2723, Fi. Berthold). Alle DC-Platten aus den Versuchen A–D wurden zum Nachweis fungitoxischer Banden einem Plattenbiotest unterworfen, indem sie mit dem Myzelhomogenat des Indikatorpilzes *Cladosporium cucumerinum* besprüht und für 2 Tage inkubiert wurden (Gottstein *et al.*, 1984). Banden mit antifungaler Aktivität waren als weiße Zonen auf dunkelgrauem Untergrund zu erkennen. Insgesamt waren 7 antifungale Banden sichtbar: Bande 1 (Rf 0,2); 1a (Rf 0,3); 2 (Rf 0,5); 2a (Rf 0,56); 3 (Rf 0,65); 4 (Rf 0,8); 5 (Rf 0,9). Die fungitoxischen und gleichzeitig radioaktiven Banden aus Versuch A und B wurden mit Methanol eluiert und rechromatographiert. Die Bande 5 ließ sich durch zweimaliges Entwickeln in Benzen als Laufmittel in zwei Komponenten 5/1 (Rf 0,03) und 5/2 (Rf 0,6) auftrennen. Die dünn-schichtchromatographisch getrennten Substanzen wurden anschließend durch HPLC an MERCK LiChrospher 100 RP 18 (5 μm Korndurchmesser, Säule 125×4 mm, Temperatur 20 °C, Elution mit Methanol:Wasser 50:50, Geschwindigkeit 1 ml/

min, Detektion bei 210 nm) weiter gereinigt. Dabei gelang die Auftrennung der Bande 3 in 3/1 und 3/2.

Chemische Charakterisierung

Die Identifizierung der isolierten Verbindungen erfolgte im wesentlichen aus spektroskopischen Daten [Massenspektrometrie (70 eV EIMS) sowie $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz)].

Cyclobrassinon (**4**) (Bande 3/1), $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$, MS, m/z (rel. Int., %): m/z 232.0328 (M^+ , ber. 232.0306 für $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$, 37), 175.0089 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{OCN}$, ber. 175.0092 für $\text{C}_9\text{H}_5\text{NOS}$, 100), 147.0195 (m/z 175–CO, ber. 147.0143 für $\text{C}_8\text{H}_5\text{NS}$, 37), 120.0040 (m/z 147–HCN, ber. 120.0034 für $\text{C}_7\text{H}_4\text{S}$, 30). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 8,56 br s (1H), 8,31 m (1H), 7,41 m (1H), 7,37–7,32 m (2H), 3,55 s (3H).

1-Methoxy Spirobrassinin (**6**) (Bande 3/2), $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$, MS, m/z (rel. Int., %): m/z 280 (M^+ , 95), 252 ($\text{M}^+ - \text{CO}$, 18), 249 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3$, 26), 233 ($\text{M}^+ - \text{SCH}_3$, 7), 221 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3 - \text{CO}$, 43), 206 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{SCNH}$, 8), 202 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3 - \text{SCH}_3$, 19), 176 ($[\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NO}_2]^+$, 1-Methoxy-2-oxo-indolyl-Fragment, 54), 148 (m/z 176–CO, 100), 144 (m/z 176– CH_3OH , 15), 116 (m/z 144–CO, 9), 87 (15), 72 (15). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7,37 d, $J = 7,4$ Hz (1H), 7,35 ddd, $J = 7,9/7,9/1,2$ (1H), 7,13 ddd, $J = 7,9/7,9/1,0$ (1H), 6,99 d, $J = 7,7$ (1H), 4,68 d, $J = 15,1$ (1H), 4,48 d, $J = 15,1$ (1H), 4,05 s (3H), 2,62 s (3H). $[\alpha]_{\text{D}} + 19,05^\circ$ (Methanol).

Spirobrassinin (**5**) (Bande 1), $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}_2$, MS, m/z (rel. Int., %): m/z 250 (M^+ , 27), 203 ($\text{M}^+ - \text{SCH}_3$, 37), 177 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{SCN}$, 56), 149 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{SCN} - \text{CO}$, 69), 145 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{S}_2\text{CN}$, 92), 144 ($[\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}]^+$, 2-Oxo-indolyl-Fragment, 90), 116 (m/z 144–CO, 76), 90 (81), 89 (m/z 144–CO–HCN, 100), 87 ($\text{CH}_3\text{SCNCH}_2^+$, 71), 72 ($^+\text{CH}_2\text{SCN}$, 77). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7,36 d, $J = 7,6$ Hz (1H), 7,26 ddd, $J = 7,7/7,7/1,3$ (1H), 7,09 ddd, $J = 7,7/7,7/0,8$ (1H), 6,88 d, $J = 6,8$ (1H), 4,68 d, $J = 15,2$ (1H), 4,51 d, $J = 15,2$ (1H), 2,63 s (3H). $[\alpha]_{\text{D}} - 14,99^\circ$ (Methanol).

Methoxybrassinin (**1**) (Bande 4), $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$, MS, m/z (rel. Int., %): m/z 250 (M^+ , 100), 219 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3$, 30), 202 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{SH}$, 25), 191 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3 - \text{CO}$, 17), 176 ($\text{M}^+ - \text{CO} - \text{S} = \text{CH}_2$, 29), 171 (23), 160 ($[\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NO}]^+$, 1-Methoxy-indolyl-Fragment, 83), 145 (35), 127 (31), 117 (31), 102 (16). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ 7,59 d,

$J=7,9$ Hz (1H), 7,39 d, $J=8,2$ (1H), 7,34 s (1H), 7,21 ddd, $J=8,1/8,1/0,9$ (1H), 7,06 ddd, $J=7,9/7,9/0,9$ (1H), 4,52 br s (2H), 4,06 s (3H), 2,30 s (3H); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7,61 d, $J=8,0$ Hz (1H), 7,43 d, $J=8,2$ (1H), 7,28 ddd, $J=7,9/7,9/0,6$ (1H), 7,16 ddd, $J=7,6/7,6/0,9$ (1H), 5,48 br s (1H), 4,64–4,61 m (1H), 4,08 s (3H), 2,39 s (3H).

Methoxybrassinin (2) (Bande 5/2), $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{OS}_2$, MS, m/z (rel. Int., %): m/z 266 (M^+ , 13), 235 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3$, 100), 218 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{SH}$, 13), 187 (14), 160 ($[\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NO}]^+$, 1-Methoxy-indolyl-

Fragment, 94), 145 (23), 129 (54), 117 (21), 102 (26), 91 ($^+\text{SCSCH}_3$, 34), 76 (CS_2^+ , 11). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7,61 d, $J=8,1$ Hz (1H), 7,46 d, $J=8,3$ (1H), 7,34 s (1H), 7,30 ddd, $J=8,1/8,1/0,7$ (1H), 7,17 dd, $J=7,8/7,8$ (1H), 5,4–5,01 m (2H), 4,10 s (3H), 2,65 s (3H).

Dank

Frau Monika Kummer danken wir für die exakte Versuchsdurchführung und Frau Gudrun Hahn für die präparative Trennungen mittels HPLC.

- Dahiya J. S. und Rimmer S. R. (1988), Phytoalexin accumulation in tissues of *Brassica napus* inoculated with *Leptosphaeria maculans*. *Phytochemistry* **27**, 3105–3107.
- Dahiya J. S. und Rimmer S. R. (1989), Phytoalexin accumulation in plant tissues of *Brassica* spp. in response to abiotic elicitors and infection with *Leptosphaeria maculans*. *Bot. Bull. Acad. Sin.* **30**, 107–115; *Chem. Abstr.* **111**, 130929.
- Devys M., Barbier M., Kollmann A., Rouxel T. und Bousquet J. F. (1990), Cyclobrassinin sulphoxide, a sulphur-containing phytoalexin from *Brassica juncea*. *Phytochemistry* **29**, 1087–1088.
- Gottstein D., Gross D. und Lehmann H. (1984), Mikrobiotest mit *Cladosporium cucumerinum* Ell. et Art. zum Nachweis fungitoxischer Verbindungen auf Dünnschichtplatten. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* **20**, 111–116.
- Gross D. (1993), Phytoalexins of the Brassicaceae. *J. Plant Dis. Prot.* **100**, 433–442.
- Monde K. (1992), Active defense mechanisms in plants-structure and biosynthesis of cruciferous phytoalexins. *Kagaku to Kogyo* **45**, 295–299; *Chem. Abstr.* **116**, 170069.
- Monde K. und Takasugi M. (1990), Biosynthetic studies on cruciferous phytoalexins. *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu* **32**, 276–282; *Chem. Abstr.* **114**, 225824 (1991).
- Monde K. und Takasugi M. (1991), Biosynthesis of cruciferous phytoalexins. Involvement of a molecular rearrangement in the biosynthesis of brassinin. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1582.
- Monde K. und Takasugi M. (1992), Biosynthesis of cruciferous phytoalexins. *IUPAC Symp. Chemistry of Natural Products*, Straßbourg (France), Abstr. p. 433–434.
- Monde K., Sasaki K., Shirata A. und Takasugi M. (1990), 4-Methoxybrassinin, a sulphur-containing phytoalexin from *Brassica oleracea*. *Phytochemistry* **29**, 1499–1500.
- Monde K., Takasugi M., Lewis A. J. und Fenwick G. R. (1991), Time-course studies of phytoalexins and glucosinolates in UV-irradiated turnip tissue. *Z. Naturforsch.* **46c**, 189–193.
- Pedras M. S. C. und Seguin-Swartz G. (1992), The blackleg fungus: phytotoxins and phytoalexins. *Can. J. Plant Pathol.* **14**, 67–75.
- Rouxel T., Kollmann A., Bouldard C. und Mithen R. (1991), Abiotic elicitation of indole phytoalexins and resistance to *Leptosphaeria maculans* within Brassicaceae. *Planta* **184**, 271–278.
- Takasugi M., Monde K., Katsui N. und Shirata A. (1987), Spirobrassinin, a novel sulfur-containing phytoalexin from the daikon *Raphanus sativus* L. var. *hortensis* (Cruciferae). *Chem. Lett.* 1631–1632.
- Takasugi M., Monde K., Katsui N. und Shirata A. (1988), Novel sulfur-containing phytoalexins from the Chinese cabbage *Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis* (Cruciferae). *Bull. Chem. Soc. Jap.* **61**, 285–289.