

ÜBER DIE UMWANDLUNG VON ELYMOCLAVIN IN LYSERGSÄUREDERIVATE
DURCH MUTTERKORNPILZE (CLAVICEPS)

K. Mothes, K. Winkler, D. Gröger, H.G. Floss, U. Mothes und F. Weygand

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin

Institut für Biochemie der Pflanzen, Halle/Saale

und

Organisch-chem. Institut der Technischen Hochschule München

(Received 27 July 1962)

NEBEN den klassischen Mutterkornalkaloiden, die säureamidartige Derivate der Lysergsäure sind, kennt man seit 1951¹ eine zweite Gruppe von Alkaloiden, die man als Clavine bezeichnet. Die Clavin-Alkaloide sind einfacher substituierte Ergolinabkömmlinge, die zuerst in den Sklerotien fernöstlicher (Elymus-, Agropyrum-) und afrikanischer (Pennisetum-) Grasarten aufgefunden worden sind und auch aus saprophytischen Kulturen dieser Pilzstämme isoliert werden konnten. Verschiedene Arbeitskreise²⁻⁷ fanden dann, dass die zuerst als typische Inhaltsstoffe von Grasmutterkorn angesehenen Clavine auch im Roggenmutterkorn vorkommen und ein genereller Bestandteil desselben zu sein scheinen. Andererseits konnten Abe und Mitarb.⁸ zeigen, dass auch sapro-

¹ M. Abe, Ann. Rep. Takeda Res. Lab. 10, 145 (1951).

² M. Abe, T. Yamano, Y. Kozu und M. Kusumoto, J. Agric. Chem. Soc. (Japan) 29, 697 (1955).

³ H. Rochelmeyer, Pharmaz. Z. 103, 1269 (1958).

⁴ M. Semonský, M. Beran und K. Macek, Coll. Czech. Chem. Comm. 23, 1364 (1958).

⁵ R. Voigt, Naturwissenschaften 46, 401 (1959).

⁶ R. Voigt, Sci. Pharm. 28, 123 (1960).

⁷ H. Kobel, R. Brunner und A. Brack, Experientia 18, 140 (1962).

⁸ M. Abe, T. Yamano, Y. Kozu und M. Kusumoto, J. Agric. Chem. Soc. (Japan) 25, 458 (1952).

phytische Kulturen, welche von Elymus-Mutterkorn isoliert wurden, nicht allein Clavine, sondern auch Peptidalkaloide bilden können. Es konnte zudem von Yamatodani und Abe⁹ sowie von Schreier¹⁰ gezeigt werden, dass Elymoclavine und Agroclavine sterisch eindeutig mit der Reihe der Lysergsäurealkaloide verknüpft sind. Die Ringe C und D dieser Clavine weisen dieselbe trans-Verknüpfung auf wie die der D-Dihydrolysergsäurederivate. Damit taucht die Frage auf, ob biogenetische Beziehungen zwischen den beiden Alkaloidgruppen bestehen.

Die chemische Umwandlung von Clavinen ineinander ist in den Laboratorien von Abe^{11,9} und Stoll und Hofmann¹² untersucht worden. Dies sagt aber nichts darüber aus, ob in vivo ähnliche Reaktionen ablaufen können.

Aus der Analyse des Alkaloidspektrums in fortschreitenden Stadien der Entwicklung von Sklerotien und saprophytischen Kulturen^{6,13-17} hat man gefolgert, dass die Alkaloide vom Clavine-Typus ineinander umgewandelt werden können. Derartige Aussagen erhielten erstmalig eine gesicherte Grundlage durch Agurell und Ramstad¹⁸, die sich markierter Verbindungen bedienten und folgendes Reaktionsschema aufstellten: Agroclavine \rightarrow Elymoclavine \rightarrow Peniclavine.

In der Arbeit von Winkler und Mothes¹⁹ sind erstmals Hinweise gegeben,

- ⁹ S. Yamatodani und M. Abe, Bull. Agric. Chem. Soc. (Japan) 20, 95 (1956).
- ¹⁰ E. Schreier, Helv. Chim. Acta 41, 1984 (1958).
- ¹¹ S. Yamatodani und M. Abe, Bull. Agric. Chem. Soc. (Japan) 19, 94 (1955).
- ¹² A. Hofmann, R. Brunner, H. Kobel und A. Brack, Helv. Chim. Acta 40, 1358 (1957).
- ¹³ M. Abe, T. Yamano, M. Kusumoto, S. Yamatodani und Y. Kozu, Ann. Rep. Takeda Res. Lab. 18, 1 (1959).
- ¹⁴ R. Voigt und D. Wichmann, Pharmazie 16, 369 (1961).
- ¹⁵ H. Rochelmeyer, Dtsch. Apotheker-Z. 101, 1384 (1961).
- ¹⁶ R. Voigt, Pharmazie 17, 156 (1962).
- ¹⁷ A. Brack, R. Brunner und H. Kobel, Arch. Pharm. 295, 510 (1962).
- ¹⁸ S. Agurell und R. Ramstad, Tetrahedron Letters 501 (1961).
- ¹⁹ K. Winkler und K. Mothes, Planta Med. 10, 208 (1962).

dass auch eine Umwandlung von Clavinen in Lysergsäurederivate vom Ergotamin-Typ sowohl in Sklerotien als auch in saprophytisch kultivierten Myceldecken möglich ist. Dies sollte unter Verwendung von radioaktiven Clavinen überprüft werden.

A. Versuche an Sklerotien

Reines Elymoclavin-(I) isolierten wir durch Chromatographie an Aluminiumoxydsäulen aus Nährlösungen emerser Kulturen des Clavin-Alkaloide bildenden Stammes SD/58, denen L-Tryptophan-(I) oder Indol-(I) angeboten worden war.

Nach der von uns angegebenen Methodik¹⁹ applizierten wir das gelöste radioaktive Elymoclavin halbierten, von Roggen isolierten, nicht ausgereiften Sklerotien, während auf die Kontrollhälften entsprechende Mengen Wasser gegeben wurden. Für diese Untersuchungen wurde ein Ergotaminstamm bulgarischer Herkunft verwendet.¹⁹

Von den zur Auftrennung der extrahierten Alkaloide verwendeten Dünnschichtplatten erfolgte die Isolierung des Ergotamins durch Elution mit 2-proz. Weinsäure und nachfolgender Ausschüttelung der Alkaloidbase, während Elymoclavin mit Methanol unter Zusatz von Essigsäure isoliert wurde. Die für die Umwandlungsversuche verwendeten Sklerotien erhielten wir durch Kultur im Warmhaus.

Wir verabreichten das Elymoclavin-(I) an fünf aufeinander folgenden Tagen und nach weiteren fünf Tagen wurde der Versuch abgebrochen. Elymoclavin war im Versuch 1 nicht, im Versuch 2 nur in Spuren nachweisbar (Tabelle 1). Der Alkaloidextrakt von Versuch 3 enthielt noch 24 µg Elymoclavin. Der in den Versuchen 2 und 3 nach der Fett- und Alkaloidextraktion im Sklerotium verbleibende Hauptanteil der Radioaktivität liess sich mit 70-proz. Athanol extrahieren.

TABELLE 1

Einbau von Elymoclavin-(T) in Ergotamin im Sklerotium

Vers. Nr.	Alter der Sklerotien Tage	Appl. Elymoclavin-(T)		Gesamtalkaloid (μg)	isoliertes Ergotamin		Spez. Einbau-rate (%)
		(μg)	spez. Akt. (Ipm/mM)		(μg)	spez. Akt. (Ipm/mM)	
1	30	32	$1,25 \cdot 10^8$	98	95	$9,3 \cdot 10^7$	74
2	45	160	$6,30 \cdot 10^7$	46	40	$3,5 \cdot 10^7$	55
3	45	340	$2,54 \cdot 10^7$	258	198	$5,9 \cdot 10^6$	23

B. Saprophytische Versuche

Tryptophan-(β - ^{14}C) und Tryptophan-(T) wurden an den Stamm SD/58 verfüttert. Die gebildeten Alkaloide wurden, wie unter A angegeben, isoliert. Das so erhaltene radioaktive Elymoclavin wurde durch Umkristallisieren gereinigt und durch Schmelzpunkt, I.R.-Spektrum und sein chromatographisches Verhalten identifiziert. Es wurde in 0.5-proz. Bernsteinsäure gelöst und Submerskulturen (modifiziertes Medium nach Arcamone *et al.*²⁰) von *Claviceps paspali*, Stamm Li 189, am 2. Tage nach der Beimpfung steril zugegeben. Nach 9-tägiger Fermentationsdauer wurde das gebildete Lysergsäureamid isoliert und durch wiederholte Dünnschichtchromatographie gereinigt. Ferner wurde ein Teil des Amids mit 5-proz. methanolischer Kalilauge hydrolysiert. Hierbei wurden Lysergsäure und Isolysergsäure erhalten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Der Einbau von Tritium bzw. ^{14}C in das gebildete Lysergsäureamid könnte ausser durch direkten Übergang des markierten Elymoclavins in das Lysergsäurederivat auch durch Abbau des Clavins in Bruchstücke, die einer

²⁰ F. Arcamone, C. Bonino, E.B. Chain, A. Ferretti, P. Pennella, A. Tonolo und L. Vero, *Nature, Lond.* 187, 238 (1960).

TABELLE 2

Einbau von Elymoclavin-(^{14}C) (spez. Akt. $3,61 \cdot 10^6$ Ipm/mMol) und Elymoclavin-(T) (spez. Akt. $4,3 \cdot 10^8$ Ipm/mMol) in Lysergsäureamid durch Submerskultur von *Claviceps paspali*, Stamm Li 189

Vers. Nr.	Elymoclavin appliziert (mg)	Gesamtalkaloid im Medium (mg)	Elymoclavin im Medium nicht umgesetzt (mg)	Lysergsäureamid spez. Akt. (Ipm/mM)	Spez. Einbaurrate (%)
1	4,0 ^{14}C -mark.	7,5	2,5	$2,68 \cdot 10^5$	7,4
2	5,8 " "	7,9	3,5	$4,35 \cdot 10^5$	12,0
3	2,3 T-mark.	3,7	1,5	$9,5 \cdot 10^7$	22,0
4	2,5 " "	3,8	1,2	$1,3 \cdot 10^8$	30,0
5	3,4 " "	3,9	1,7	$1,15 \cdot 10^8$	26,5

Ergolinsynthese wieder zugänglich sind, erfolgen. Für einen solchen komplizierten Prozess fehlen bisher alle Anhaltspunkte. Gegen ihn spricht die zum Teil sehr hohe spez. Einbaurrate, bei deren Bewertung berücksichtigt werden muss, dass bereits Alkaloid vor der Zugabe radioaktiven Elymoclavins vorhanden ist.

Wir sind daher der Meinung, dass diese Versuche die direkte Überführung der Clavine in Derivate der Lysergsäure durch den Mutterkornpilz sehr wahrscheinlich machen. Möglicherweise geht die natürliche Biosynthese immer diesen Weg.