

the effect of a powerful anti-5HT substance on the experimental DMT-psychosis.

Among the 40 DMT-volunteers there were 15 who submitted themselves to a repeated experiment. The second time before the DMT they all received '1-methyl-D-Lysergic acid butanolamide' (UML-491), which is the most potent anti-5HT substance known yet. As demonstrated<sup>4</sup>, this has in itself no psychic effect at all. The UML was administered perorally (1–2 mg), or intramuscularly (0.5 mg). The time between the two drugs was 30–40 min when the UML was given perorally, but after i.m. administration only 10 min. Between the first and second experiment, 2–3 months elapsed. For 7 persons in the second experiment, the DMT dose was the same as in the first one (0.81–0.89 mg/kg); the other 8 received a reduced quantity of DMT, the second dose being from 50 to 80% of the first one.

**Results.** (1) From the 7 volunteers who obtained the equal doses of DMT in the first and the second experiment, 5 had a very intense aggravation of the symptoms: the hallucinations were more intense and agitated, the colours more brilliant; the loss of time and space perception was much deeper. The patients reported that, while the first time they were aware of the experimental situation, in the second experiment they lost all relation with the real world. 'The first time I have been here in this room all the time, but now I was not here, I was nowhere' said one of them. – The other 2 patients also

reported an intensification of the symptoms, but not in such marked degree.

(2) Those 4, who received 0.35–0.61 mg/kg DMT, which was 50–60% of the first experimental dose, reported a hallucinatory state which was not more accentuated than the first one. In one case, the second experiment was less pronounced. The presence of experimental psychosis at these doses is a very interesting fact, because the same low doses of DMT do not produce any symptom when administered without the UML pretreatment.

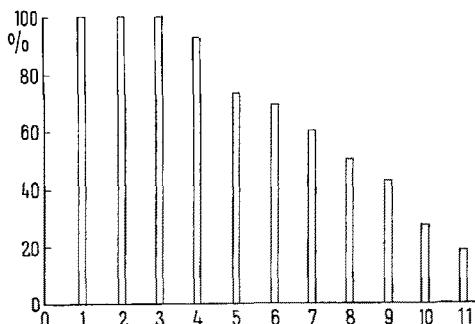
(3) Among those 4 volunteers who obtained the 65–80% of the first DMT dose, there was one who had approximately the same experience as the first time. The other 3 recorded an increase in the intensity of the symptoms. The administered DMT doses were in these cases, 0.66–0.75 mg/kg, which in themselves produce only a slight hallucinatory episode.

It can be stated, therefore, that UML-491 has a very strong potentiating effect on the experimental DMT-psychosis. As demonstrated by SZARA<sup>2</sup>, after administration of DMT not only the IAA, but the 5H-IAA excretion also increases in the urine, which is probably the sign of an increased 5HT metabolism. In the light of the above data, the conclusion may be drawn that the hallucinogenic effect of DMT is probably based, at least partly, on the 5HT antagonism in the central nervous system<sup>5</sup>.

**Zusammenfassung.** 40 normale Personen bekamen DMT; der resultierende psychotische Zustand wurde beobachtet und registriert. 15 von diesen Versuchspersonen wiederholten das Experiment nach Verabreichung von Antiserotonin (UML-491). Das Antiserotonin hatte eine stark potenzierende Wirkung auf die experimentelle Psychose. Dies könnte die bekannte Theorie unterstützen, wonach der psychomimetische Effekt der halluzinogenen Stoffe, wenigstens teilweise, auf Antiserotoninwirkungen beruhen soll.

A. SAI-HALÁSZ

Central Institute for Nervous and Mental Diseases, Budapest-Lipótmező (Hungary), September 14, 1961.



Percentual occurence of symptoms during DMT-psychosis: 1. Vegetative signs. 2. Hallucinations. 3. Trouble in time-perception. 4. Elevation of blood pressure. 5. Trouble in body-scheme. 6. Trouble in space-perception. 7. Euphoria. 8. Anxiety. 9. Delusions. 10. Polypopia. 11. Clouding of consciousness.

niere freizusetzen, wenn eine Durchströmung mit calciumfreier Lockelösung vorausgegangen ist.

In der vorliegenden Arbeit haben wir den Einfluss von Calcium auf die Brenzcatechinaminfreisetzung aus der isoliert durchströmten Rindernebenniere und aus isolierten Nebennierenmarkgranula, den hormonspeichernden Organellen der chromaffinen Zellen, untersucht.

**Methoden.** (1) *Durchströmung isolierter Rindernebennieren:* Frisch vom Schlachthof erhaltene Rindernebennieren wurden, wie schon beschrieben (HAAG, PHILIPPU und SCHÜMANN<sup>1</sup>) retrograd bei 37°C mit Tyrodelösung bzw. calciumfreier Tyrodelösung durchströmt. Die Perfusionen wurden je 3 min lang in HClO<sub>4</sub>-haltigen Messzylin-

<sup>1</sup> H. W. HAAG, A. PHILIPPU und H. J. SCHÜMANN, Exper. 17, 187 (1961).

<sup>2</sup> W. W. DOUGLAS und R. P. RUBIN, J. Physiol. 159, 40 (1961).

## Der Einfluss von Calcium auf die Brenzcatechinarminfreisetzung

Es ist bekannt, dass Acetylcholin bei Erregung des Nervus splanchnicus im Nebennierenmark als der physiologische Überträgerstoff die Freisetzung der Markhormone – Adrenalin und Noradrenalin – verursacht. Aus der isoliert durchströmten Rindernebenniere vermögen neben Acetylcholin auch die 'indirekt' wirkenden Sympathicomimetica  $\beta$ -Phenyläthylamin und Tyramin die beiden Brenzcatechinamine freizusetzen (HAAG, PHILIPPU und SCHÜMANN<sup>1</sup>). In Versuchen an isoliert durchströmten Katzennebennieren konnten DOUGLAS und RUBIN<sup>2</sup> nachweisen, dass Acetylcholin nur in Gegenwart von Calcium Brenzcatechinamine freisetzt und ferner, dass Calcium selbst in der Lage ist, Brenzcatechinamine aus der Neben-

dern gesammelt. Die Brenzcatechinamin freisetzen Substanzen wurden in 0,4 ml Tyrode gelöst und innerhalb von 6 sec injiziert. (2) *Präparation und Inkubation isolierter Nebennierenmarkgranula*: Aus Rindernebenmark wurden die Granula, wie früher beschrieben (SCHÜMANN und WEIGMANN<sup>3</sup>), präpariert und in isotonischer Saccharoselösung (0,3 M, mit NaOH auf pH 6,8 eingestellt) bei 37°C unter Schütteln inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Granula vom Überstand durch Zentrifugieren mit 12000 g abgetrennt und mit 0,4 n HClO<sub>4</sub> extrahiert. (3) *Bestimmung der Brenzcatechinamine*: Die Perfusate und Granulaextrakte wurden mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> auf pH 5,0 gebracht, vom ausgefallenen KClO<sub>4</sub> abzentrifugiert und im Überstand der Brenzcatechinamingehalt nach der kolorimetrischen Methode von v. EULER und HAMBERG<sup>4</sup> bestimmt.

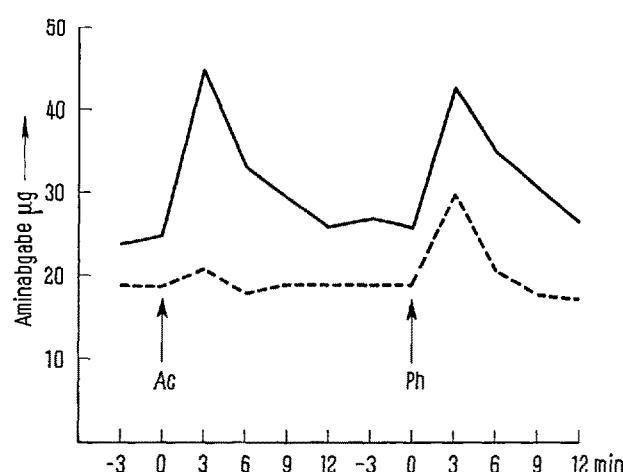


Fig. 1. Freisetzung von Brenzcatechinaminen aus isoliert durchströmten Rinder-Nebennieren. — Durchströmung mit Tyrodelösung. --- Durchströmung mit calciumfreier Tyrodelösung. → Injektion von 0,03  $\mu\text{M}$  Acetylcholin (Ac) bzw. von 16,5  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Phenyläthylamin (Ph).

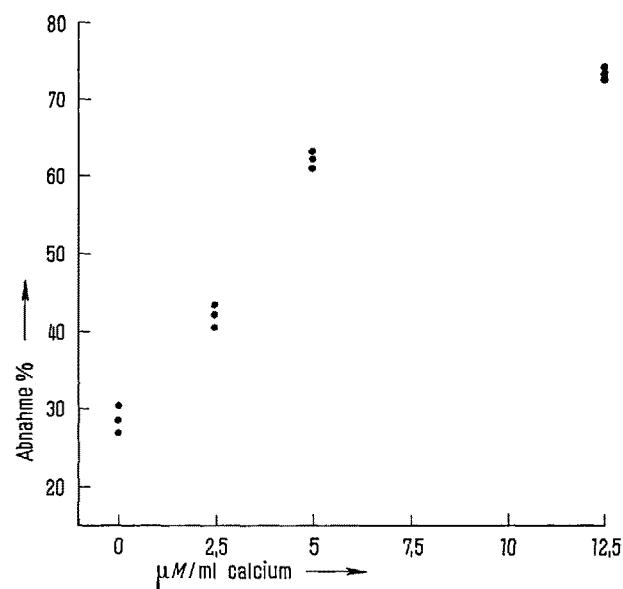


Fig. 2. Freisetzung von Brenzcatechinaminen aus isolierten Granula durch Calcium. Inkubation: 60 min bei 37°C.

**Versuche.** Bei der Durchströmung der isolierten Nebenniere mit Tyrodelösung kommt es spontan zu einer Freisetzung von Brenzcatechinaminen. Diese wird durch Injektion von Acetylcholin um 84%, von  $\beta$ -Phenyläthylamin um 62% erhöht (Figur 1). Durchströmt man die Nebenniere mit calciumfreier Tyrodelösung, dann ist Acetylcholin wirkungslos,  $\beta$ -Phenyläthylamin dagegen verursacht eine Freisetzung von 58%. Demnach ist die  $\beta$ -Phenyläthylaminwirkung im Gegensatz zur Acetylcholinwirkung unabhängig von Calcium.

Auch bei der Inkubation isolierter *Nebennierenmarkgranula* in isotonischer Saccharoselösung kommt es spontan zu einer Brenzcatechinaminfreisetzung, die nach 60 min (Figur 2) zu einer 28%igen Abnahme des Brenzcatechinamingehaltes der Granula führt. Durch Zugabe von Calcium wird eine dosisabhängige Steigerung der Brenzcatechinaminfreisetzung erzielt (Figur 2). Schon 2,5  $\mu\text{M}/\text{ml}$  Calcium, die physiologische Calciumkonzentration des Blutplasmas, verursachen eine Erhöhung der spontanen Freisetzung um 52%, 5  $\mu\text{M}/\text{ml}$  Calcium um 125%. Die Tatsache, dass HILLARP<sup>5</sup> in seinen Versuchen an isolierten Granula keine sichere Wirkung des Calciums auf die Brenzcatechinaminfreisetzung beobachten konnte, ist unseres Erachtens auf die zu geringe Konzentration von Calcium (1  $\mu\text{M}/\text{ml}$ ) zurückzuführen.

In den Versuchen an isolierten Nebennierenmarkgranula, die bisher nur in calciumfreien Medien durchgeführt wurden, hatte Acetylcholin keinen Einfluss auf die Brenzcatechinaminfreisetzung (BLASCHKO, HAGEN und WELCH<sup>6</sup>; SCHÜMANN und WEIGMANN<sup>3</sup>). Um auszuschliessen, dass das Ausbleiben der Acetylcholinwirkung auf einem Calciummangel beruht, haben wir Versuche an isolierten Granula in calciumhaltiger Saccharoselösung durchgeführt (Tabelle). Nach 60 min Inkubation ist Acetylcholin in Gegenwart wie in Abwesenheit von Calcium ohne Einfluss auf die Brenzcatechinaminfreisetzung, während Calcium die vorher beschriebene Aminfreisetzung verursacht, die

Der Einfluss von Calcium (5  $\mu\text{M}/\text{ml}$ ) und Acetylcholin (3  $\mu\text{M}/\text{ml}$ ) auf die Brenzcatechinaminfreisetzung aus isolierten Nebennierenmarkgranula. Inkubation bei 37°C in Saccharoselösung, pH 6,8. Die Zahlen bedeuten Mittelwerte von je 3 Ansätzen.

Zeit in min	ohne Calcium		mit Calcium	
	Brenzcatechinamin- Gehalt $\mu\text{g}$	Abnahme %	+ Acetylcholin Brenzcatechinamin- Gehalt $\mu\text{g}$	Abnahme %
0	522	—	538	—
60	410	21	398	26
Zeit in min	ohne Calcium		mit Calcium	
	Brenzcatechinamin- Gehalt $\mu\text{g}$	Abnahme %	+ Acetylcholin Brenzcatechinamin- Gehalt $\mu\text{g}$	Abnahme %
0	450	—	467	—
60	226	50	230	49

<sup>3</sup> H. J. SCHÜMANN und E. WEIGMANN, Arch. exp. Path. Pharmak. 240, 275 (1960).

<sup>4</sup> U. S. v. EULER und U. HAMBERG, Acta physiol. scand. 19, 74 (1949).

<sup>5</sup> N. A. HILLARP, Acta physiol. scand. 43, 292 (1958).

<sup>6</sup> B. BLASCHKO, P. HAGEN und A. D. WELCH, J. Physiol. 129, 27 (1955).

auch bei den 0-Minuten-Ansätzen sichtbar wird. Aus unseren Versuchen geht hervor, dass Calcium, wie Phenyläthylamin und Tyramin (SCHÜMANN und WEIGMANN<sup>3</sup>), in der Lage ist, aus den isolierten Nebennierenmarkgranula Brenzcatechaminen freizusetzen, während Acetylcholin keinen Einfluss hat.

**Summary.** (1) Experiments on isolated perfused suprarenals of cattle have shown that the acetylcholine-induced release of catechol amines, but not that of phenylethylamine, is dependent on calcium, since a perfusion with calcium-free Tyrode's solution abolishes the action of acetylcholine and not that of phenylethylamine. (2) In incubation experiments with isolated chromaffin granules, calcium produces a dose-dependent, significant release of

catechol amines even in physiological concentrations (2.5 mM). (3) Acetylcholine does not release catechol amines from isolated granules, either in the presence or in the absence of calcium.

A. PHILIPP<sup>7</sup> und H. J. SCHÜMANN<sup>8</sup>

Pharmakologisches Institut der Universität Frankfurt am Main (Deutschland), 12. Dezember 1961.

<sup>7</sup> Forschungs-Stipendiat der A. von Humboldt-Stiftung.

<sup>8</sup> Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

### Vergleich der Alkaloidbildung von *Claviceps purpurea* in parasitischer und saprophytischer Kultur<sup>1</sup>

Wir züchteten Stämme von *Claviceps purpurea* einerseits auf diploidem Petkuserroggen, andererseits als Oberflächenkultur auf Nährösung und verglichen die Mengen und die Art der dabei gebildeten Alkaloide.

**Ausgangsmaterial.** Wir verwendeten je einen mit Mikromanipulator aus Konidien isolierten Einsporstamm von Ergotamin-reichem und Ergocornin-Ergokryptin-reichem Mutterkorn sowie eine durch UV-Bestrahlung erzeugte alkaloidreiche Mutante eines Ergocornin/Ergokryptin-Stammes (Tabelle I). Als Impfstoff wurden Konidienschwemmungen von 20 Tage alten Bierwürzeagarkulturen hergestellt.

#### Parasitische Züchtung:

Der Roggen wurde Anfang Mai mit Impfbrett in die schlüpfenden Ähren geimpft.

Für die Untersuchung wurde nur durch Primärinfektion gebildetes Sklerotienmaterial verwendet.

#### Saprophytische Züchtung:

Folgende Nährösung wurde nach Sterilisation (30 min, 110°C) mit Konidien dicht beimpft: Saccharose: 100 g, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: 1 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0,25 g, MgSO<sub>4</sub>: 0,25 g, KCl: 0,12 g,

Tab. I. Erntergebnisse bei parasitischer Züchtung

Stamm	Erntegewicht kg/Are	Alkaloidgehalt der Sklerotien <sup>b</sup>
I <sup>a</sup>	2,58	0,33%
II	2,27	0,70%
III	2,33	1,01%

<sup>a</sup> I Ergotaminstamm; II Ergocornin/Ergokryptin-Stamm; III Ergocornin/Ergokryptin-Mutante. <sup>b</sup> Kolorimetrisch nach Van Urk-Smith bestimmt und auf Molekulargewicht 600 bezogen.

Tab. II. Erntergebnisse bei saprophytischer Züchtung (nach ca. 60 Tagen)

Stamm	Erntemenge pro 1 Nährösung	Alkaloidgehalt <sup>b</sup>		
		Trockenmycel g	Filtrat ml	Trockenmycel %
I <sup>a</sup>	25	625	0,16	117
II	21,3	650	0,48	123
III	27,5	625	0,55	87

<sup>a</sup> <sup>b</sup> siehe Tabelle I.

<sup>1</sup> 53. Mitteilung über Mutterkornalkaloide. 52. Mitt. s. Helv. chim. Acta 45, 276 (1962).

Tab. III. Zusammensetzung des Alkaloidgemisches

Alkaloide	Stamm I <sup>a</sup>		Stamm II		Stamm III				
	Sklerotien 0,33%	Mycel 0,16%	Filtrat 117 mg/l	Sklerotien 0,70%	Mycel 0,48%	Filtrat 123 mg/l	Sklerotien 1,01%	Mycel 0,55%	Filtrat 87 mg/l
Ergotamin	76,0	44,4	2,4	1,7	—	—	0,6	0,2	—
Ergotaminin	12,1	28,5	6,5	0,3	—	—	—	—	—
Ergocornin	0,9	2,6	0,3	25,6	21,7	4,2	29,5	26,2	6,5
Ergokryptin				23,6	21,7	3,0	27,3	26,2	4,1
Ergocorninin +	0,9	5,3	1,4	14,0	27,8	7,8	15,1	35,0	16,1
Ergokryptinin									
Ergosin	—	—	—	17,1	3,0	1,8	13,0	3,1	2,8
Ergosinin	—	—	—	3,7	0,7	1,2	3,1	1,2	0,4
Ergobasin	8,2	5,9	28,5	11,5	4,5	18,7	9,2	3,5	21,6
Ergobasinin	0,9	5,3	14,5	1,4	3,5	21,7	0,7	1,4	12,9
Lysergsäureamid	0,4	1,3	0,7	0,3	—	1,8	0,4	0,3	3,5
Chanoclavin	0,3	5,8	32,2	0,3	1,5	15,6	0,5	1,9	18,4
Elymoclavin	—	—	—	3,0	6,0	—	0,7	2,3	
Agroclavin	0,3	0,7	0,7	—	12,6	9,6	—	—	0,4
Penniclavine	—	—	0,7	—	—	6,0	—	—	5,5
Andere Clavine	—	0,7	5,1	—	Spur	2,6	—	0,3	—
Unbekannte	—	—	7,0	0,5	—	Spur	0,6	—	5,5

Die Verteilung wird in Prozenten des Gesamtgehaltes angegeben. Der Berechnung wurde für alle Alkaloide das Molekulargewicht 600 zugrundegelegt. — \* Siehe Tabelle I.