

## 150. Neue Alkaloide aus der saprophytischen Kultur des Mutterkornpilzes von *Pennisetum typhoideum* Rich.

42. Mitteilung über Mutterkornalkaloide<sup>1)</sup>

von A. Hofmann, R. Brunner, H. Kobel und A. Brack.

Herrn Prof. T. Reichstein zum 60. Geburtstag gewidmet.

(29. V. 57.)

In der 36. Mitteilung dieser Reihe<sup>2)</sup> wurde berichtet, dass ein Mutterkornpilz, den wir aus Sklerotien gezüchtet hatten, die auf der afrikanischen Kolbenhirse *Pennisetum typhoideum* Rich. gefunden worden waren, befähigt ist, bei der Züchtung *in vitro* Alkaloide zu bilden. Es konnten damals die zwei bereits bekannten Alkaloide Agroclavin und Elymoclavin, sowie ein neues Alkaloid, das wir Penniclavin nannten, aus Mycel und Filtrat von saprophytischen Kulturen dieses Pilzes isoliert werden.

Seither sind diese Untersuchungen fortgeführt worden. Dabei liess sich die Alkaloidausbeute wesentlich steigern. Ferner wurden vier neue Alkaloide gefunden, über deren Isolierung, Charakterisierung und Strukturaufklärung nachstehend berichtet wird<sup>3)</sup>.

Die aus verschiedenem Sklerotienmaterial afrikanischer Herkunft isolierten Pilzstämmen produzierten *in vitro* ganz unterschiedliche Mengen Alkaloide; sie waren offenbar genetisch nicht einheitlich. Wir führten daher unsere Infektionsversuche auf *Pennisetum*-Pflanzen im Gewächshaus fort, mit dem Erfolg, dass es gelang, den Pilz bis zum fertigen Sklerotienstadium auf der Wirtspflanze zu züchten. Das auf diese Weise erhaltene Sklerotien-Material erlaubte uns die Isolierung einer grösseren Anzahl von Pilzstämmen und gab uns die Möglichkeit einer Auswahl aus den verschiedenen Stammzüchtungen. Durch diese Auswahl kamen wir zu Stämmen, die bei der *in-vitro*-Kultur wesentlich höhere Alkaloidausbeuten lieferten.

Ferner wurden die Ernährungsbedingungen für die Kultur des Pilzes *in vitro* variiert, womit sich eine weitere Steigerung der Alkaloidproduktion erreichen liess. Während in den Versuchen, die in der 36. Mitteilung dieser Reihe beschrieben wurden, durchschnittliche Alkaloidausbeuten von ca. 50 mg/l Nährlösung und ca. 0,1% im Trockenmycel erzielt wurden, erhielten wir nun mit den neuen Pilzstämmen und der verbesserten Nährlösung bei grösseren Ansätzen

<sup>1)</sup> 41. Mitteilung, Helv. **39**, 1165 (1956).

<sup>2)</sup> A. Stoll, A. Brack, H. Kobel, A. Hofmann & R. Brunner, Helv. **37**, 1815 (1954).

<sup>3)</sup> Über einen Teil der Ergebnisse dieser Untersuchung wurde am 14. Internat. Kongress für reine und angewandte Chemie am 23. Juli 1955 in Zürich referiert. Ref. Bd. 14. Int. Chemie-Kongress Zürich, **1955**, 131.

regelmässig präparative Alkaloidausbeuten zwischen 1000 und 1500 mg/l Kulturfiltrat und bis 1,0% im Trockenmycel.

Im Laufe dieser Versuche zeigte sich ferner, dass die Bebrütung der Kulturen auf der Schüttelmaschine ungeeignet ist, da sie zu starker Schleimbildung führt, was die Isolierung der Alkaloide sehr erschwert. Standkulturen erwiesen sich vorteilhafter.

In der Tab. 1 sind die Alkaloid-Ausbeuten von 5 grösseren Standkultur-Ansätzen zusammengestellt.

Tabelle 1.

Ansatz	Stamm Nr.	Kulturfiltrat			Trockenmycel		
		Ernte- menge l	Präp. Ausbeute		Menge kg	Präp. Ausbeute	
			Gesamt- alkaloide g	mg/l		Gesamt- alkaloide g	% des Mycels
1	231	98	105,6	1077	1,92	12,6	0,65
2	231	100	159,5	1595	2,28	18,4	0,81
3	231	91	132,2	1454	2,54	27,4	1,08
4	233	86	120,8	1404	1,83	15,5	0,85
5	233	91,5	113,0	1234	1,60	15,0	0,94
Total der 5 Ansätze		466,5 l	631,1 g		10,17 kg	88,9 g	

Die Alkaloide wurden aus den Kulturansätzen auf die früher beschriebene Weise<sup>2)</sup> isoliert und aufgearbeitet. Nach der Abtrennung der Hauptmenge des Elymoclavins, das stets zusammen mit dem Agroclavin den überwiegenden Anteil der von unseren Pilzstämmen produzierten Alkaloide ausmacht, wurde das verbleibende Gemisch an der Aluminiumoxydsäule chromatographiert. Beginnend mit absolutem Chloroform, dem steigende Mengen Methanol zugesetzt wurden, liessen sich in der nachstehenden Reihenfolge einheitliche Alkaloidfraktionen eluieren.

Mit absolutem Chloroform wurde das von *M. Abe*<sup>4)</sup> in japanischem Grasmutterkorn entdeckte Agroclavin herausgelöst, dessen Vorkommen im *Pennisetum*-Mutterkorn wir bereits in der 36. Mitteilung dieser Reihe beschrieben haben.

Bei der Fortsetzung der Elution mit Chloroform, das 0,5% Methanol enthielt, zeigten sich zwei weitere Maxima, in denen zwei neue, ein Isomerenpaar bildende Alkaloide, die wir Isosetoclavin und Setoclavin genannt haben, enthalten waren.

Mit Chloroform/1% Methanol folgte ein bekanntes Alkaloid, das Elymoclavin, das von *M. Abe* und Mitarb.<sup>5)</sup> in japanischem Gras-

<sup>4)</sup> *M. Abe*, Ann. Rep. Takeda Res. Lab. **10**, 73 (1951); *M. Abe & S. Yamatodani*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **28**, 501 (1954).

<sup>5)</sup> *M. Abe, T. Yamano, Y. Kozu & M. Kusumoto*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **25**, 458 (1952); *M. Abe & S. Yamatodani*, ibid. **28**, 501 (1954); **29**, 346 (1955); *S. Yamatodani & M. Abe*, Bull. Agr. Chem. Soc. Japan **19**, 94 (1955).

mutterkorn gefunden wurde, und dessen Vorkommen im Mutterkornpilz der Kolbenhirse wir ebenfalls bereits beschrieben haben.

Anschliessend eluierte Chloroform, das 2% Methanol enthielt, wieder ein neues Alkaloid, dem wir den Namen Chanoclavin gegeben haben.

Schliesslich zeigten sich beim Eluieren mit Chloroform/3% Methanol wieder zwei Maxima, die zwei Alkaloiden entsprachen, die ein Isomerenpaar bilden. Das eine war neu. Es wurde als Isopenniclavine bezeichnet. Das andere war Penniclavine, dessen Isolierung schon in der 36. Mitteilung beschrieben wurde.

### Die neuen Alkaloide.

Setoclavin und Isosetoclavin. Die Werte der Elementaranalyse und der acidimetrischen Titration ergaben für beide Alkaloide die Bruttoformel  $C_{16}H_{18}ON_2$ . Beide besitzen eine  $C-CH_3$ -Gruppe und zwei aktive Wasserstoffatome. Die UV.-Spektren von Setoclavin und Isosetoclavin sind gleich und identisch mit dem der Lysergsäure und Isolysergsäure (Fig. 1). Die IR.-Spektren (Fig. 2), die durch starke Banden im Gebiet der Absorption der OH- und NH-Gruppe ( $2700$  bis  $3500\text{ cm}^{-1}$ ) gekennzeichnet sind, weisen gewisse Unterschiede auf,

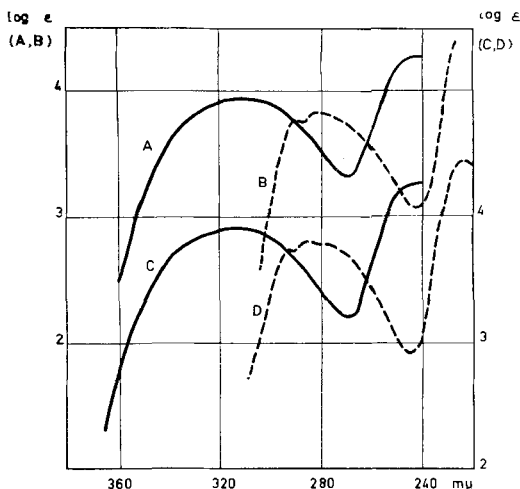


Fig. 1.

UV-Spektren in Äthanol.

A: Lysergsäure, Isolysergsäure.

B: Dihydro-lysergsäure.

C: Setoclavin, Isosetoclavin, Penniclavine, Isopenniclavine.

D: Chanoclavin.

wie sie zwischen Stereoisomeren beobachtet werden. Die beiden Alkaloide stimmen auch in den Farbreaktionen überein, die von denen der Lysergsäure-Derivate stark verschieden sind. Mit *Keller*-Reagens wird

eine grüne Färbung erhalten. Bei der Farbreaktion nach *Van Urk* entsteht eine blasse, grüngelbe Färbung. Charakteristisch ist die intensive, reinblaue Farbe, mit der sich die beiden Alkaloide in konz. Schwefelsäure auflösen. Setoclavin und Isosetoclavin sind sehr säureempfindlich. Mineralsäure Lösungen verfärben sich rasch unter Bildung dunkler Zersetzungsprodukte.

Setoclavin, das an der Aluminiumoxydsäule etwas stärker haftet als Isosetoclavin, kristallisiert leicht aus allen gebräuchlichen Lösungsmitteln, besonders schön aus Methanol oder Aceton, woraus es sich in dicken, kristalllösungsmittelfreien Prismen abscheidet. Es schmilzt unter Zersetzung bei 229–234°<sup>6)</sup> und besitzt in Pyridin ein spez. Drehvermögen  $[\alpha]_D^{20} = +174^\circ$ .

Isosetoclavin ist wie das Setoclavin sehr kristallisationsfreudig. Aus Methanol werden massive, kristalllösungsmittelfreie Polyeder erhalten, die bei 234–237° unter Zersetzung schmelzen. Das spez. Drehvermögen in Pyridin beträgt  $[\alpha]_D^{20} = +107^\circ$ .

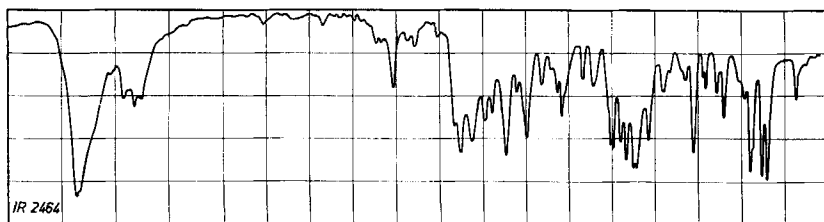
Dieses Alkaloid ist inzwischen von *M. Abe* und Mitarb.<sup>7)</sup> auch aus saprophytischen Kulturen eines Mutterkornpilzes isoliert worden, der auf *Agropyrum semicostatum* Nees, *Trisetum bifidum* Ohwi, *Festuca rubra* L. und anderen japanischen Gräsern wächst.

Chanoclavin. Dieses Alkaloid kristallisiert aus Methanol oder Aceton in dicken Prismen und Polyedern, die kein Kristalllösungsmittel enthalten, und die bei 220–222° unter Zersetzung schmelzen. Es besitzt die Bruttoformel  $C_{16}H_{20}ON_2$ . Das spez. Drehvermögen  $[\alpha]_D^{20} = -240^\circ$  (in Pyridin) ist höher als das der übrigen aus dem *Pennisetum*-Pilz isolierten Alkaloide. Chanoclavin zeigt bei der Bestimmung nach *Kuhn-Roth* 1 C-CH<sub>3</sub>-Gruppe an. Es ist stärker basisch als alle übrigen Mutterkornalkaloide ( $pK_b = 5,80$ ). Das UV.-Spektrum (Fig. 1) ist nahezu identisch mit dem der Dihydro-lysergsäure. Das IR.-Spektrum (Fig. 3) zeigt die charakteristische Absorption der Indolderivate bei 1600–1650 cm<sup>-1</sup> und starke Banden im Gebiet der OH- und NH-Absorption. Chanoclavin gibt bei der *Keller*'schen und der *Van Urk*'schen Farbreaktion die gleichen violettblauen Färbungen wie die Dihydro-lysergsäure und wie Agroclavin und Elymoclavin.

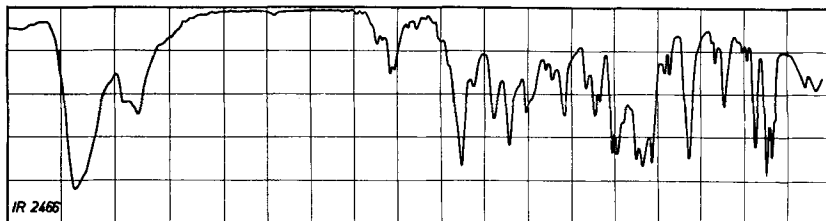
Isopenniclavin. Dieses Alkaloid, das an der Aluminiumoxydsäule etwas weniger stark haftet als Penniclavin, besitzt wie dieses die Bruttoformel  $C_{16}H_{18}O_2N_2$ . Es kristallisiert aus den üblichen organischen Lösungsmitteln, aber auch aus Wasser, aus dem es sich in 6-eckigen, kristalllösungsmittel-freien Platten abscheidet, die bei 163 bis 165° unter Zersetzung schmelzen. Der spez. Drehwert  $[\alpha]_D^{20}$  in Pyridin beträgt +146°. Das UV.-Spektrum des Isopenniclavins (Fig. 1) ist

<sup>6)</sup> Alle Smp. dieser Arbeit wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt.

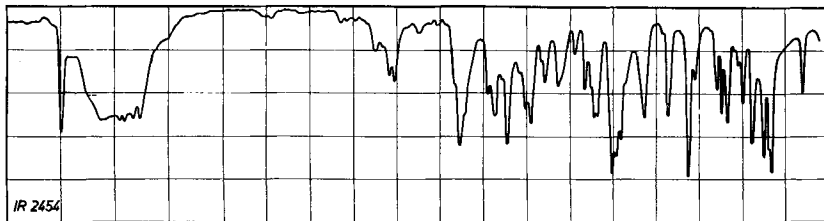
<sup>7)</sup> *M. Abe, S. Yamatodani, T. Yamano & M. Kusumoto*, Bull. Agr. Chem. Soc. Japan **20**, 59 (1956).



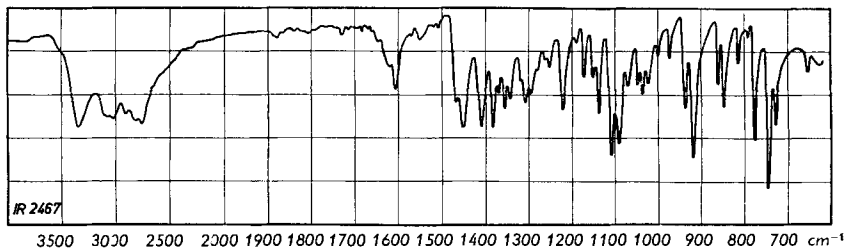
Penniclavine.



Isopenniclavine.



Setoclavine.



Isoetoclavine.

Fig. 2.

IR.-Spektren in KBr.

wie das des Penniclavins identisch mit dem der Lysergsäure und Isolysergsäure. Im IR.-Spektrum (Fig. 2), das durch starke Banden im Gebiet der OH- und NH-Absorption charakterisiert ist, stimmt das Isopenniclavine weitgehend mit dem Penniclavine überein. Isopenniclavine gibt die gleichen Farbreaktionen wie das Penniclavine, wie sie weiter oben beim Setoclavine und Isoetoclavine beschrieben wurden, und die von denen der Lysergsäure- und Dihydro-lysergsäure-Derivate stark verschieden sind.

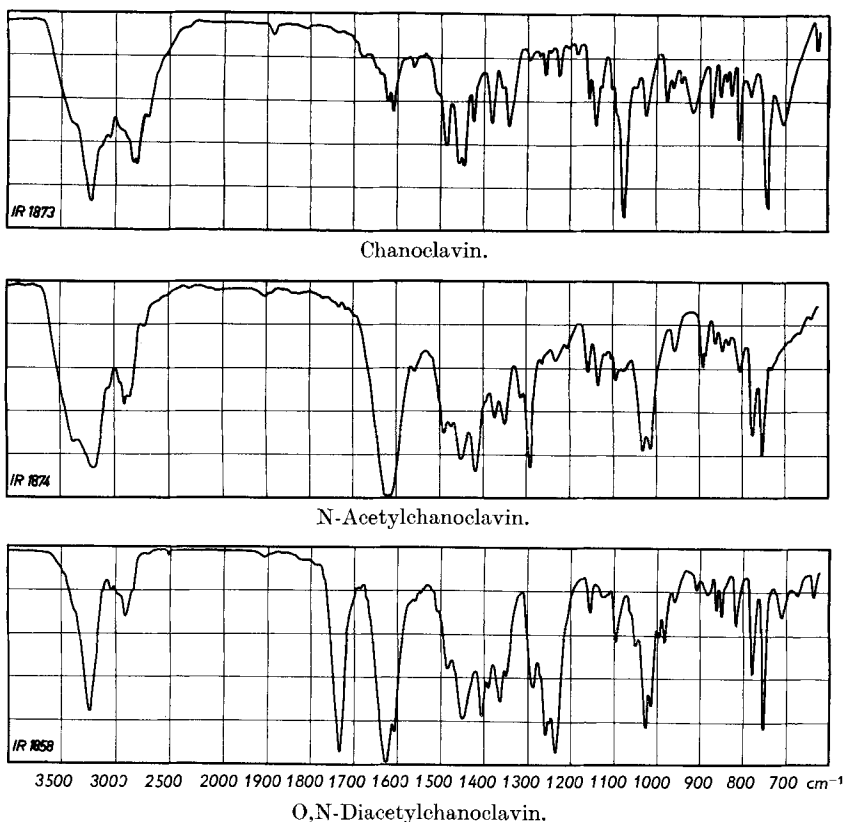


Fig. 3.

IR.-Spektren in KBr.

In der Tab. 2 sind die wichtigsten Daten der 4 neuen Alkaloide mit denen der bereits früher beschriebenen, aus dem *Pennisetum*-Pilz isolierten Alkaloide zusammengestellt.

**Tabelle 2.**

Alkaloide aus der saprophytischen Kultur des Mutterkornpilzes von  
*Pennisetum typhoideum* Rich.

Name	Bruttoformel	Smp. <sup>6)</sup> (unter Zers.)	$[\alpha]_D^{20}$ (Pyridin)	Keller'sche Farbreaktion
Agroclavin . . .	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2$	210–212°	– 183°	violettblau
Elymoclavin . .	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ON}_2$	245–247°	– 152°	violettblau
Chanoclavin . .	$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{ON}_2$	220–222°	– 240°	violettblau
Setoclavin . . .	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ON}_2$	229–234°	+ 174°	gelbgrün
Isoetoclavin . .	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ON}_2$	234–237°	+ 107°	gelbgrün
Penniclavin . .	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_2$	222–225°	+ 153°	gelbgrün
Isopenniclavin .	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_2$	163–165°	+ 146°	gelbgrün

Die Strukturen von Agroclavin und Elymoclavine sind von *M. Abe et al.*<sup>4)5)</sup> aufgeklärt worden. Sie werden durch die Formeln I und II wiedergegeben.

Die Konstitution von Setoclavin, Iso-setoclavin,  
Penniclavine und Isopenniclavine.

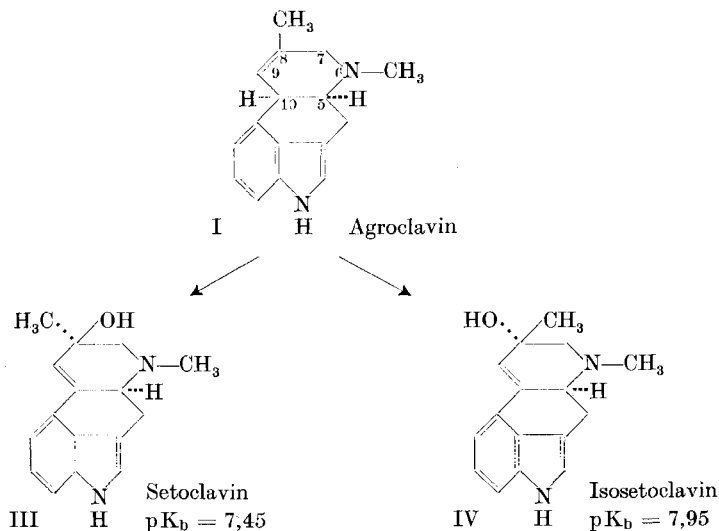
Aus den UV.-Spektren dieser 4 Alkaloide (Fig. 1), die alle gleich und identisch mit dem der Lysergsäure und Isolysergsäure sind, konnte geschlossen werden, dass diesen Alkaloiden das gleiche chromophore System, das  $\Delta^{9,10}$ -Ergolen, zugrunde liegt. Die Bruttoformeln, die alle die gleiche Anzahl Kohlenstoffatome wie die Lysergsäure aufweisen, deuteten darauf hin, dass das Ergolen-Ringsystem in diesen zwei Alkaloidpaaren, gleich wie in der Lysergsäure, in Stellung 6 am Stickstoff eine Methylgruppe trägt, und dass auch das dem Carboxyl der Lysergsäure entsprechende C-Atom in Stellung 8 noch vorhanden ist. Auch die biogenetische Verwandtschaft dieser Substanzen rechtfertigte eine solche Annahme.

Die Natur des Sauerstoffatoms im Setoclavin und Iso-setoclavin liess sich aus der Anzahl der aktiven Wasserstoffatome ableiten. Es wurden zwei aktive H-Atome gefunden, von denen eines auf die NH-Gruppe des Indols entfällt, das andere somit als alkoholisches Hydroxyl vorliegen muss. Damit stimmt die starke IR.-Absorption im Gebiet der OH-Frequenz überein (Fig. 2). Diese Hydroxylgruppe lässt sich nicht acetylieren. Sie wird offenbar sehr leicht abgespalten, unter Ausbildung einer zweiten Kohlenstoffdoppelbindung im Ring D des Ergolensystems. Solche Verbindungen sind aber nicht stabil; sie zersetzen sich zu dunklen Produkten<sup>8)</sup>. Die oben erwähnte grosse Säureempfindlichkeit dieses Alkaloidpaares ist auf die leichte Abspaltbarkeit des Hydroxyls zurückzuführen, das damit als tertiäre OH-Gruppe charakterisiert ist. Im  $\Delta^{9,10}$ -Ergolen, das in 8-Stellung substituiert ist, kann aber ein tertiäres Hydroxyl nur am C-8 plaziert werden. Daraus ergeben sich für Setoclavin und Iso-setoclavin die Strukturformeln III und IV.

Aus biogenetischen Gründen durfte angenommen werden, dass Setoclavin und Iso-setoclavin am C-5 die gleiche Konfiguration besitzen, denn alle bisher aufgefundenen Mutterkornalkaloide stimmen konfiguratив an diesem Asymmetriezentrum überein. Es war daher wahrscheinlich, dass sich Setoclavin und Iso-setoclavin am anderen asymmetrischen C-Atom unterscheiden, also Epimere am C-8 sind wie Lysergsäure und Isolysergsäure. Das liess sich beweisen, als es gelang Agroclavin (I), an dem die Konfiguration am C-5 stabil und gleich wie in der Lysergsäure ist, durch oxydative Hydroxylierung in ein Gemisch von Setoclavin und Iso-setoclavin überzuführen.

<sup>8)</sup> A. Stoll, A. Hofmann & F. Troxler, *Helv.* **32**, 506 (1949).

*S. Yamatodani & M. Abe*<sup>9)</sup> erhielten bei der Oxydation von Agroclavin mit Kaliumdichromat in verdünnter Schwefelsäure eine Substanz, die mit Triseclavin identisch war, einem Alkaloid, das *M. Abe et al*<sup>10)</sup> im Mutterkorn von japanischen Gräsern, wie *Elymus mollis* Trin., *Trisetum bifidum* Ohwi, und in daraus bereiteten saprophytischen Kulturen gefunden hatten. Wir haben diese Oxydation, zu der die japanischen Autoren keine experimentellen Angaben machen,



wiederholt und haben dabei aus reinstem Agroclavin ein Alkaloidgemisch, bestehend aus Setoclavin und Isosetoclavin, erhalten, aus dem sich die reinen, kristallisierten Komponenten mit einer Gesamtausbeute von 60 % abtrennen liessen. *M. Abe et al.* geben für Triseclavin, dem sie die gleiche Struktur zuschrieben, wie wir sie für Setoclavin und Isosetoclavin vorgeschlagen haben, die spez. Drehung  $[\alpha]_D^{18} = +137^\circ$  in Pyridin an. Dieser Wert liegt ziemlich genau in der Mitte von dem des Setoclavins und Isosetoclavins, so dass vermutet werden muss, dass es sich bei dem als Triseclavin beschriebenen Alkaloid um ein Mischkristallisat von Setoclavin und Isosetoclavin gehandelt hat.

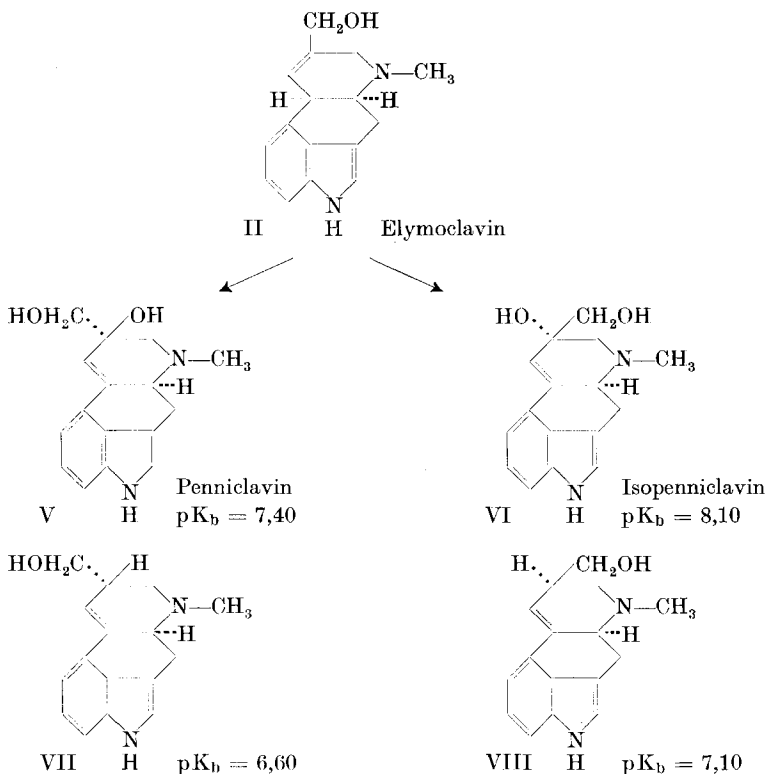
Beim Penniclavin und Isopenniclavin, die zwei Sauerstoffatome enthalten, führte die Oxydation mit Perjodat zur Aufklärung ihrer Struktur. Beide Isomere spalten mit diesem Reagens Formaldehyd ab, womit die Gruppierung  $-\text{CHOH}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$  nachgewiesen ist. Eine Glykolgruppierung mit einem primären Hydroxyl lässt sich aber an dem für Penniclavin und Isopenniclavin postulierten Ergolen-Gerüst nur

<sup>9)</sup> Bull. Agr. Chem. Soc. Japan **19**, 94 (1955).

<sup>10)</sup> *M. Abe, S. Yamatodani, T. Yamano & M. Kusumoto*, Bull. Agr. Chem. Soc. Japan **19**, 92 (1955).



in 8-Stellung anbringen. Damit ergeben sich für dieses Isomerenpaar die Strukturformeln V und VI.



Diese wurden bestätigt, als es *S. Yamatodani & M. Abe*<sup>9)</sup> gelang, Elymoclavin durch Oxydation mit Dichromat in Penniclavine überzuführen. Bei der Nacharbeitung dieses Versuches erhielten wir aus Elymoclavin, allerdings nur in sehr geringer Ausbeute, ein Gemisch von Penniclavine und Isopenniclavine, aus dem die beiden Isomeren in reiner Form gewonnen werden konnten.

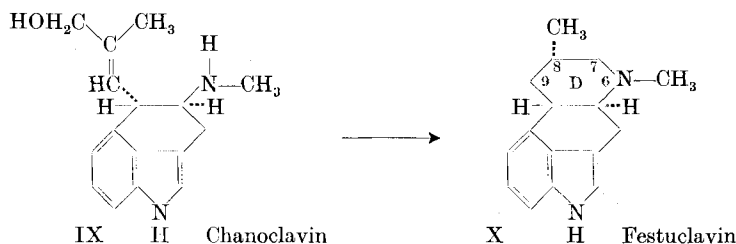
Das den beiden Isomerenpaaren Setoclavin-Isosetoclavin und Penniclavine-Isopenniclavine gemeinsame Strukturmerkmal, durch das sich diese Alkaloide von den übrigen bisher bekannten Mutterkornalkaloiden unterscheiden, ist die tertiäre Hydroxylgruppe am C-8. Diese ist für die grosse Säureempfindlichkeit, für die unterschiedlichen Farbreaktionen und die für Mutterkornalkaloide ungewohnten Drehwerte verantwortlich.

Durch den Eintritt einer Hydroxylgruppe an Stelle eines H-Atoms am asymmetrischen C-Atom 8, wird dieses ursprünglich sehr ungleichmässig belastete Asymmetriezentrum besser ausgewogen, was zur Folge hat, dass nun beide Epimere ähnliche Drehwerte aufweisen.

Man konnte daher bei diesen Alkaloidpaaren die konfigurative Zuordnung nicht mehr allein an Hand des Drehwertes (schwach positiver oder negativer Drehwert = D-Lysergsäure-Reihe, hoher positiver Drehwert = D-Isolysergsäure-Reihe) treffen. Es wurden daher noch andere geeignete Kriterien herangezogen. Aus dem Vergleich der  $pK_b$ -Werte und des adsorptiven Verhaltens der neuen Alkaloidpaarlinge mit den strukturell sehr nahestehenden Alkoholen D-Lysergol (VII) und D-Isolysergol (VIII), die aus D-Lysergsäure bzw. D-Isolysergsäure leicht zugänglich sind<sup>11)</sup>, ergab sich die in den Bezeichnungen der Epimeren vorweggenommene konfigurative Zuordnung. D-Lysergol, Setoclavin und Penniclavin sind stärker basisch und haften an der Aluminiumoxydsäule besser als die entsprechenden Isoverbindungen.

### Die Konstitution des Chanoclavins.

Dieses Alkaloid wurde so benannt, weil in ihm der Ring D des Ergolensystems zu einer offenen Kette aufgespalten ist. Während allen bisher bekannten Mutterkornalkaloiden das tetrazyklische Ergolen- oder Ergolin-Gerüst zugrunde liegt, leitet sich das Chanoclavin vom trizyklischen 1,3,4,5-Tetrahydro-benz(c,d)indol ab.



Chanoclavin lässt sich zum Unterschied von den Alkaloiden der Setoclavin-Penniclavin-Gruppe sehr leicht mit Essigsäureanhydrid in Pyridin acetylieren. Dabei treten zwei Acetylgruppen in die Molekel ein. Diacetyl-chanoclavin ist nicht mehr basisch, was zeigt, dass das basische Stickstoffatom des Chanoclavins acetylierbar, also primär oder sekundär ist. Die zweite Acetylgruppe sitzt an einer leicht veresterbaren, also primären Hydroxylgruppe. Im IR.-Spektrum des Diacetyl-chanoclavins (Fig. 3) ist bei  $1630\text{ cm}^{-1}$  die ausgeprägte Bande der Säureamid-Gruppe, bei  $1740\text{ cm}^{-1}$  die charakteristische Absorption der Acetoxy-Gruppe sichtbar. Diese lässt sich alkalisch leicht verseifen, wobei man das Monoacetyl-chanoclavin erhält, in dem, wie aus dem IR.-Spektrum (Fig. 3) ersichtlich, die Acetamid-Gruppe noch vorhanden ist. Die Hydrolyse dieser Gruppe erfordert sehr energische Bedingungen, unter denen der grösste Teil der Substanz zerstört wird, wobei Chanoclavin nur in sehr geringer Ausbeute zurückgewonnen werden kann.

<sup>11)</sup> A. Stoll, A. Hofmann & W. Schlientz, *Helv.* **32**, 1947 (1949).

Chanoclavin besitzt die gleiche Anzahl C-Atome wie die Lysergsäure und die übrigen *Pennisetum*-Alkaloide, was gegen eine Formulierung als 6-Nor-Verbindung mit intaktem Ring D spricht. Als andere mögliche Variante mit acetylierbarem Stickstoff bleibt nur noch eine Formel, in welcher der Ring D des Ergolinsystems zwischen dem Stickstoff und dem C-Atom 7 geöffnet ist<sup>12</sup>). Die Bruttoformel des Chanoclavins verlangt bei geöffnetem Ring D in der Kohlenstoffseitenkette eine Doppelbindung. Diese darf, wie das UV.-Spektrum zeigt, nicht mit dem Indolssystem konjugiert sein. Es kommt somit nur die 7-8- oder die 8-9-Stellung in Frage. Da Chanoclavin eine C-CH<sub>3</sub>-Gruppe aufweist, bleibt für die isolierte Kohlenstoffdoppelbindung nur noch die  $\Delta^{8,9}$ -Lage übrig. Alle diese Befunde werden durch die Strukturformel IX des Chanoclavins zum Ausdruck gebracht.

Auch die Konfiguration an den beiden asymmetrischen C-Atomen 5 und 10 des Chanoclavins liess sich abklären. Beim Versuch, die isolierte Doppelbindung des Chanoclavins selektiv zu hydrieren, wurde in geringer Menge Festuclavin<sup>13</sup>) (X) gebildet, das konfiguratativ mit der Dihydro-lysergsäure-Reihe verknüpft ist. Dem Chanoclavin kommt also die im Formelbild IX zum Ausdruck gebrachte Konfiguration der Dihydro-lysergsäure(I)-Reihe<sup>14</sup>) zu. Die Substituenten an den beiden Asymmetriezentren sind in Trans-Stellung angeordnet.

### Experimenteller Teil<sup>6</sup>).

1. Beispiel eines Züchtungsansatzes (Ansatz 2, Tab. I). Es wurde eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung verwendet: Saccharose 100,0 g, Ammoniumsuccinat 10,1 g, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 1,0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,25 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,25 g, KCl 0,125 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 8,34 mg, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 3,44 mg, Leitungswasser ad 1000 cm<sup>3</sup>. 122 l dieser Nährlösung mit dem pH = 5,2 wurden in 500-cm<sup>3</sup>-Portionen in 1,6-l-Fernbach-Kolben abgefüllt, im Autoklaven sterilisiert und auf gleiche Art und Weise mit einer Sporensuspension des Pilzstammes Nr. 231 beimpft und bebrütet wie früher<sup>2</sup>) beschrieben.

Nach 27 Tagen erntete man die Kulturen ab. Es resultierten 100 l Kulturfiltrat mit einem Alkaloidgehalt von 1680 mg/l und 2,28 kg Trockenmycel mit einem Alkaloidgehalt von 1,08% (Gehaltsbestimmungen kolorimetrisch, auf Mol.-Gew. 250 berechnet<sup>2</sup>).

2. Isolierung der Alkaloide. Als Beispiel für die Aufarbeitung unserer Züchtungsansätze beschreiben wir nachstehend die Extraktion und chromatographische Aufteilung der Alkaloide aus dem Kulturfiltrat des unter 1. beschriebenen Versuches.

100 l Kulturfiltrat wurden nach Zusatz von 1 kg Soda einmal mit 50 l, dann noch fünfmal mit je 30 l Chloroform/Isopropylalkohol 3:1 ausgerührt. Die vereinigten Extrakte lieferten nach dem Eindampfen im Vakuum 248 g dunklen, öligen Rückstand.

Aus diesem kristallisierten nach dem Aufnehmen in 1,2 l Methanol 75,2 g rohes Alkaloid, aus dem durch Umkristallisieren aus Methanol 65,1 g reines Elymoclavin mit den früher beschriebenen Eigenschaften<sup>2</sup>) erhalten wurden.

<sup>12</sup>) An dieser Stelle wird der Ring D geöffnet, wenn die Lysergsäure oder die Dihydro-lysergsäure mit Essigsäureanhydrid erhitzt wird (A. Stoll, A. Hofmann & F. Troxler, *Helv.* **32**, 506 (1949)).

<sup>13</sup>) S. Yamatodani & M. Abe, *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan* **20**, 95 (1956).

<sup>14</sup>) A. Stoll, Th. Petrzilka, J. Rutschmann, A. Hofmann & Hs. H. Günthard, *Helv.* **37**, 2039 (1954).

Der Eindampfrückstand der vereinigten Elymoclavine-Mutterlaugen wurde in abs. Chloroform gelöst und an einer Säule aus 10 kg Aluminiumoxyd (*Brockmann*) chromatographiert. Beim Entwickeln mit dem gleichen Lösungsmittel wurden zuerst 42 g alkaloidfreies Öl und anschliessend 70,7 g Agroclavin eluiert. Durch Umkristallisieren aus Essigester erhielt man 69,4 g reines Alkaloid mit den früher angegebenen Daten<sup>2</sup>).

Mit Chloroform/0,5% Methanol liessen sich hierauf 7,0 g eines Alkaloidgemisches eluieren, das nochmals an der 100fachen Menge Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Dabei zeigten sich im Durchlaufchromatogramm beim Entwickeln mit Chloroform/0,5% Methanol zwei Maxima. Aus dem leichter eluierbaren Anteil (2,5 g) liessen sich durch Umkristallisieren aus Methanol 1,9 g reines Isoetoclavine gewinnen. Die Eluatrückstände der langsamer wandernden Zone wogen 2,9 g. Daraus wurden durch Umkristallisieren, zuerst aus Aceton, dann aus Methanol, 2,1 g reines Setoclavine erhalten.

Bei der Weiterentwicklung des Hauptchromatogrammes mit Chloroform/1% Methanol wurden 5,1 g Alkaloid herausgelöst, aus dem sich durch Umkristallisieren aus Methanol 4,8 g reines Elymoclavine gewinnen liessen.

Nach der Erhöhung des Methanolgehaltes in Chloroform auf 2% wurde eine Alkaloidfraktion eluiert (3,3 g), welche vorerst nur schlecht kristallisierte. Sie wurde zur Reinigung in wässriger Weinsäure gelöst und nach der Vorextraktion dieser Lösung mit Äther, mit Soda wieder freigesetzt und in Äther aufgenommen. Der Ätherrückstand kristallisierte nun leicht aus Aceton. Durch Umkristallisieren aus diesem Lösungsmittel und anschliessend aus Methanol liessen sich 0,6 g reines Chanoclavine gewinnen.

Mit Chloroform/3% Methanol konnte schliesslich eine letzte Alkaloidfraktion herausgelöst werden (7,4 g), die erneut an einer Säule aus 740 g Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Beim Entwickeln mit Chloroform/3% Methanol bildeten sich zwei Hauptzonen. Die rascher wandernde enthielt 1,2 g einer Alkaloidfraktion, aus der sich durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Essigester schliesslich 0,11 g reines Isopenniclavine gewinnen liessen. Aus der besser haftenden Alkaloidfraktion (5,8 g) konnten durch mehrmaliges Umkristallisieren zuerst aus Aceton, dann aus Methanol 1,9 g reines Penniclavine abgetrennt werden.

*Zusammenfassung.* Ausbeute an kristallisierten, einheitlichen Alkaloiden aus dem Kulturfiltrat, Ansatz 2, Stamm Nr. 231:

Agroclavin . . . .	69,4 g	Chanoclavine . . .	0,6 g
Elymoclavine . . .	69,9 g	Isopenniclavine . .	0,1 g
Isoetoclavine . . .	1,9 g	Penniclavine . . .	<u>1,9 g</u>
Setoclavine . . . .	2,1 g	Total . . . . .	145,9 g

In den verschiedenen Kristallisationsmutterlaugen verblieben insgesamt 13,6 g amorphe Alkaloide, so dass die Totalausbeute an präparativ isolierten Alkaloiden 159,5 g beträgt, entsprechend 95% des kolorimetrisch im Kulturfiltrat ermittelten Gehaltes (168,0 g).

Aus dem Trockenmycel des Ansatzes 2 (2,28 kg) wurden die Alkaloide auf die früher beschriebene Weise<sup>2</sup>) extrahiert und, wie vorstehend beschrieben, an der Aluminiumoxydsäule chromatographiert. Dabei wurden folgende Ausbeuten erzielt:

Agroclavin kryst. . . . .	7,37 g
Agroclavin-Mutterlaugenrückstand . . . . .	0,86 g
Elymoclavine kryst. . . . .	7,29 g
Elymoclavine-Mutterlaugenrückstand . . . . .	0,70 g
Setoclavine/Isoetoclavine-Fraktion . . . . .	0,82 g
Penniclavine/Isopenniclavine-Fraktion . . . . .	1,26 g
Amorphe Restfraktion . . . . .	<u>0,15 g</u>
Total	18,45 g

Das entspricht einer Gesamtalkaloidausbeute von 0,81%. Es wurden die gleichen Alkaloide in annähernd dem gleichen Mengenverhältnis wie aus dem Kulturfiltrat isoliert.

Chanoclavin, das nur in sehr geringer Menge vorkommt, konnte in diesem verhältnismässig kleinen Ansatz nicht gefasst werden.

Auch die übrigen von uns gezüchteten Stämme des *Pennisetum*-Pilzes produzierten Alkaloidgemische ähnlicher Zusammensetzung. Agroclavin und Elymoclavin waren stets die Hauptalkaloide, während die Mengenverhältnisse der einzelnen Nebenalkaloide beträchtlich variierten.

3. Beschreibung der einzelnen Alkaloide. a) Setoclavin. Kristallisiert aus Aceton oder Methanol in massiven, kristalllösungsmittel-freien Prismen. Smp. 229—234°. Es löst sich bei Siedehitze in 40 Teilen der genannten Lösungsmittel, in 50 Teilen Essigester, in 40 Teilen Chloroform oder in 15 Teilen Dioxan. In Wasser ist das Alkaloid schwer löslich.  $[\alpha]_D^{20} = +174^\circ (\pm 2^\circ)$ ,  $[\alpha]_{5461}^{20} = +232^\circ (\pm 3^\circ)$  ( $c = 1,1$  in Pyridin);  $[\alpha]_D^{20} = +165^\circ (\pm 3^\circ)$  ( $c = 0,3$  in Äthanol). Beim Trocknen für die Analyse im Hochvakuum bei 100°<sup>15)</sup> trat kein Gewichtsverlust ein.

$C_{16}H_{18}ON_2$  Ber. C 75,56 H 7,14 O 6,28 N 11,02 2 „H“ 0,79 1(C)CH<sub>3</sub> 5,91%  
(254,32) Gef. „ 75,47 „ 7,27 „ 6,54 „ 11,21 „ 0,81 „ 6,44%

*Potentiometrische Titration:* 41,55 mg Substanz, gelöst in wässrigem Alkohol, verbrauchten 1,63 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl. Mol.-Gew. Ber. 254; Gef. 254.  $pK_b = 7,45$ .

*UV.-Spektrum:* Maxima bei 243 m $\mu$  ( $\log \epsilon_{\max} = 4,38$ ) und bei 313 m $\mu$  ( $\log \epsilon_{\max} = 4,04$ ) (vgl. Fig. 1). — *IR.-Spektrum:* siehe Fig. 2.

*Farbreaktionen:* Bei der Keller'schen und bei der Van Urk'schen Farbreaktion entsteht eine grüne Färbung, die sich nach gelbgrün verfärbt. Beim Auflösen einer Spur Setoclavin in konz. Schwefelsäure entsteht eine intensive, rein blaue Farbe, die mehrere Stunden beständig ist.

*Hydrochlorid:* Kristallisiert aus Wasser oder Alkohol in Nadeln, die sich ab 200° dunkel färben, ohne bis 300° zu schmelzen.

*Nitrat:* Aus Wasser Nadeln, die ab 125° dunkel werden, ohne bis 300° zu schmelzen.  $[\alpha]_D^{20} = +190^\circ$  ( $c = 0,5$  in 50-proz. Alkohol).

b) Iso-setoclavin: Aus Methanol kristalllösungsmittel-freie Polyeder. Smp. 234 bis 237°. Löst sich bei Siedehitze in 70 Teilen Methanol, 60 Teilen Aceton, 100 Teilen Essigester, 160 Teilen Chloroform und kristallisiert beim Erkalten aus allen diesen Lösungsmitteln.  $[\alpha]_D^{20} = +107^\circ (\pm 2^\circ)$ ,  $[\alpha]_{5461}^{20} = +147^\circ (\pm 3^\circ)$  ( $c = 0,5$  in Pyridin);  $[\alpha]_D^{20} = +129^\circ (\pm 2^\circ)$  ( $c = 0,4$  in Äthanol).

$C_{16}H_{18}ON_2$  Ber. C 75,75 H 7,14 O 6,28 N 11,02 2 „H“ 0,79 1(C)CH<sub>3</sub> 5,91%  
Gef. „ 75,65 „ 7,07 „ 6,52 „ 11,26 „ 0,79 „ 6,37%

*Potentiometrische Titration:* 36,2 mg Substanz, gelöst in wässrigem Alkohol, verbrauchten 1,41 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl. Mol.-Gew. Ber. 254; Gef. 256.  $pK_b = 7,95$ .

*UV.-Spektrum:* Maxima bei 242 m $\mu$  ( $\log \epsilon_{\max} = 4,42$ ) und bei 317 m $\mu$  ( $\log \epsilon_{\max} = 4,10$ ), siehe Fig. 1. — *IR.-Spektrum:* siehe Fig. 2.

*Farbreaktionen:* Wie Setoclavin.

*Hydrochlorid:* Kristallisiert aus Methanol beim Verdünnen mit Aceton in Rosetten. Ab 160° Dunkelfärbung, bis 300° noch nicht geschmolzen.

*Pikrat:* Aus Methanol orangegelbe Nadeln. Smp. 150—155°.

Die meisten Salze kristallisieren schlecht und zersetzen sich in Lösung sehr schnell.

c) Penniclavin. Ergänzung zu den früher mitgeteilten Daten<sup>2)</sup>:  $pK_b = 7,40$  (bestimmt durch potentiometrische Titration in wässrigem Alkohol mit 0,1-n. HCl).

*Penniclavin-di-p-toluy-l-tartrat:* Kristallisiert aus Methanol, worin das Salz ziemlich schwerlöslich ist, in groben Rhomben. Smp. 173° (Zers.).

d) Isopenniclavin. Kristallisiert aus Wasser, in dem es bei Siedehitze zu 1% löslich ist, in sechseckigen Platten, ohne Kristalllösungsmittel. In Methanol und Aceton

<sup>15)</sup> Alle Substanzen, bei denen nichts anderes erwähnt ist, wurden für die Analyse auf diese Weise getrocknet.

ist das Alkaloid sehr leicht, in Essigester leicht, in Chloroform mässig löslich. Smp. 163 bis 165°.  $[\alpha]_D^{20} = +146^\circ (\pm 2^\circ)$ ,  $[\alpha]_{5461}^{20} = +198^\circ (\pm 3^\circ)$  ( $c = 0,7$  in Pyridin);  $[\alpha]_D^{40} = +140^\circ (\pm 2^\circ)$  ( $c = 0,9$  in Äthanol).

$C_{16}H_{18}O_2N_2$	Ber. C 71,09	H 6,71	O 11,84	N 10,36%
(270,32)	Gef. „ 71,22	„ 6,71	„ 12,15	„ 10,06%

*Potentiometrische Titration:* 33,45 mg Substanz verbrauchten in wässrigem Alkohol 1,23 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl. Mol.-Gew. Ber. 270; Gef. 272.  $pK_b = 8,10$ .

*UV.-Spektrum* (siehe Fig. 1): Maxima bei 242 m $\mu$  ( $\log \epsilon_{\max} = 4,31$ ) und bei 313 m $\mu$  ( $\log \epsilon_{\max} = 3,94$ ). — *IR.-Spektrum:* siehe Fig. 2.

*Farbreaktionen:* Wie beim Setoclavin beschrieben.

*Di- $\alpha$ -naphthoyl-D-bitartrat:* Aus Methanol, worin das Salz schwerlöslich ist, in verdünnten Nadeln. Smp. 186° (Zers.).

e) Chanoclavin. Aus Aceton oder Methanol in dicken Prismen und Polyedern. Löst sich bei Siedehitze in 25 Teilen Methanol, 140 Teilen Aceton, 170 Teilen Essigester, 350 Teilen Chloroform. In Wasser sehr schwer löslich. Smp. 220—222°.  $[\alpha]_D^{20} = -240^\circ (\pm 3^\circ)$ ,  $[\alpha]_{5461}^{20} = -294^\circ (\pm 4^\circ)$  ( $c = 1,0$  in Pyridin);  $[\alpha]_D^{20} = -205^\circ (\pm 3^\circ)$  ( $c = 0,75$  in Alkohol).

$C_{16}H_{20}ON_2$	Ber. C 74,96	H 7,87	O 6,24	N 10,93	1(C)CH <sub>3</sub> 5,87%
(256,34)	Gef. „ 75,24	„ 8,11	„ 6,34	„ 10,97	„ 5,77%

*Potentiometrische Titration:* 42,1 mg Substanz verbrauchten in wässrigem Alkohol 1,65 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HCl. Mol.-Gew. Ber. 256; Gef. 255.  $pK_b = 5,80$ .

*UV.-Spektrum:* Maxima bei 225 m $\mu$  ( $\log \epsilon_{\max} = 4,44$ ), bei 284 m $\mu$  ( $\log \epsilon_{\max} = 3,82$ ) und bei 293 m $\mu$  ( $\log \epsilon_{\max} = 3,76$ ), siehe Fig. 1. — *IR.-Spektrum:* siehe Fig. 3.

*Farbreaktionen:* Violettblaue Färbung bei der Keller'schen und bei der Van Urk'schen Farbreaktion, gleich wie Dihydro-lysergsäure, Elymoclavin und Agroclavin.

*Biozalat:* Aus Wasser oder Methanol Nadeln. Smp. 195—197°.  $[\alpha]_D^{20} = -152^\circ$  ( $c = 0,5$  in 50-proz. Alkohol).

O,N-Diacetyl-chanoclavin: 512 mg Chanoclavin wurden in 10 cm<sup>3</sup> Pyridin und 2,0 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid 24 Std. bei Raumtemp. stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung lieferte 666 mg Diacetyl-Verbindung. Aus Benzol/Petroläther lanzettenförmige Nadeln. Smp. 174—175°. Die Kristalle halten 1 Mol Kristall-Benzol hartnäckig zurück, weshalb die Verbindung für die Analyse im Hochvakuum bei 180° sublimiert wurde.  $[\alpha]_D^{20} = -55^\circ$  ( $c = 0,9$  in Pyridin.)

$C_{20}H_{24}O_3N_2$	Ber. C 70,56	H 7,11	O 14,10	N 8,23%
(340,41)	Gef. „ 70,19	„ 7,24	„ 14,19	„ 8,20%

*IR.-Spektrum:* Starke Banden bei 1630 cm<sup>-1</sup> (Säureamid) und bei 1740 cm<sup>-1</sup> (Ester), siehe Fig. 3.

*Farbreaktionen:* Gleich wie Chanoclavin.

Die Verbindung ist neutral; sie blieb beim Ausschütteln der ätherischen Lösung mit wässriger Weinsäure in der organischen Phase.

N-Acetyl-chanoclavin: 340 mg Diacetyl-chanoclavin wurden in 7 cm<sup>3</sup> 2-n. 50-proz. wässrig-alkoholischer KOH 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Verdünnen mit Wasser wurde das neutrale Verseifungsprodukt mit Chloroform/Isopropylalkohol extrahiert und aus Methanol umkristallisiert. Ausbeute 245 mg. Massive Prismen. Smp. 226—228°.  $[\alpha]_D^{20} = -80^\circ$  ( $c = 0,5$  in Pyridin).

$C_{18}H_{22}O_3N_2$	Ber. C 72,45	H 7,43	O 10,72	N 9,39	2 „H <sup>+</sup> 0,68%
(298,37)	Gef. „ 72,59	„ 7,72	„ 10,94	„ 9,67	„ 0,76%

*Farbreaktionen:* Wie Chanoclavin.

*Verseifung von N-Acetyl-chanoclavin.* 150 mg N-Acetyl-chanoclavin wurden in 5 cm<sup>3</sup> 5-n. wässrig-alkoholischer KOH im Bombenrohr 2 Std. auf 170° erhitzt. Die dunkle Lösung extrahierte man mit Chloroform/Isopropylalkohol und chromatographierte den Rückstand an Aluminiumoxyd. Neben viel Zersetzungsprodukten wurden

28 mg einer Fraktion abgetrennt, die aus Aceton kristallisierte und 10 mg Chanoclavin lieferte.  $[\alpha]_D^{20} = -240^\circ$  (Pyridin). IR.-Spektrum identisch mit dem eines authentischen Präparates.

#### 4. Nachweis der Glykolgruppierung im Penniclavlin und Isopenniclavlin.

a) 27 mg Penniclavlin wurden in 3 cm<sup>3</sup> 0,1-n. HJO<sub>4</sub> + 7 cm<sup>3</sup> Wasser 1,5 Std. bei Raumtemp. stehengelassen. Dann destillierte man ca. 2/3 der Lösung in eine eisgekühlte Vorlage, versetzte das Destillat mit einigen Tropfen Natronlauge und 0,5 cm<sup>3</sup> einer 10-proz. alkoholischen Dimedon-Lösung und erhitzte 10 Min. auf 80°. Das nach Abkühlen und Ansäuern mit Essigsäure ausfallende Kondensationsprodukt wurde aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute 13 mg (45% d. Th.); Smp. 187°, Misch.-Smp. mit einem aus Formaldehyd und Dimedon hergestellten Vergleichspräparat ohne Depression.

C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	Ber. C 69,83	H 8,28	O 21,89%
(292,36)	Gef. „ 69,66	„ 8,26	„ 21,79%

b) 27 mg Isopenniclavlin lieferten unter den gleichen Bedingungen bei der Perjodat-Oxydation 18 mg (62%) des Formaldehyd-Dimedon-Kondensationsproduktes.

5. Oxydative Umwandlung von Elymoclavin in Penniclavlin und Isopenniclavlin. 6,5 g Elymoclavin wurden mit einem Äquivalent Schwefelsäure in 250 cm<sup>3</sup> 50-proz. wässrigem Aceton gelöst. Zu dieser auf 70° erwärmten Lösung wurde in einem Guss eine gleich temperierte Lösung von 7,5 g K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> in 250 cm<sup>3</sup> Wasser gegeben. Nach 1 Min. setzte man 13 cm<sup>3</sup> 2-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zu und hielt den Ansatz noch 15 Min. bei 70°. Nach dem Erkalten wurde von einem unlöslichen Rückstand (9,0 g) abfiltriert und das Filtrat mit Chloroform/Isopropylalkohol 3:1 ausgezogen. Der Extraktückstand (3,2 g) wurde an Aluminiumoxyd mit Chloroform und steigenden Zusätzen an Methanol chromatographiert. Mit Chloroform/3% Methanol liessen sich zwei Fraktionen eluieren. Die weniger gut haftende (0,2 g) gab mit Di- $\alpha$ -naphthoyl-D-weinsäure in geringer Ausbeute ein kristallisiertes Salz, das bei der Zerlegung 18 mg kristallisiertes, reines Isopenniclavlin lieferte. Smp. 160—162°.  $[\alpha]_D^{20} = +145^\circ$  (Pyridin).

Die besser haftende Fraktion (0,83 g) wurde über das Di-p-toluyll-L-tartrat gereinigt, das aus Methanol gut kristallisierte. Aus diesem Salz liessen sich 0,52 g Penniclavlin gewinnen. Smp. 215—225°.  $[\alpha]_D^{20} = +151^\circ$  (Pyridin).

6. Oxydative Umwandlung von Agroclavin in Setoclavin und Isosetoclavin. 4,76 g Agroclavin wurden, gleich wie beim Elymoclavin beschrieben, in schwefelsaurer Lösung mit Dichromat oxydiert.

Aus der filtrierten Oxydationslösung liessen sich nach dem Alkalisieren mit NaHCO<sub>3</sub> mit Chloroform/Isopropylalkohol 3,8 g eines Alkaloidgemisches extrahieren, aus dem beim Aufnehmen mit Methanol 2,7 g Setoclavin auskristallisierten. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton und Methanol wurden 2,0 g dieses Alkaloides mit den Daten der reinen Verbindung erhalten.

Aus dem Rückstand der Methanol-Mutterlauge des Setoclavins liessen sich durch Chromatographie an Aluminiumoxyd 0,65 g analysenreines Isosetoclavin (Smp. 234—237°,  $[\alpha]_D^{20} = +106^\circ$  (Pyridin)) und weitere 0,38 g Setoclavin (Smp. 225—230°,  $[\alpha]_D^{20} = +168^\circ$  (Pyridin)) gewinnen. Die Gesamtausbeute an krist. Setoclavin und Isosetoclavin beträgt 60% d. Th.

7. Reduktive Umwandlung von Chanoclavin in Festuclavin. Eine Lösung von 256 mg Chanoclavin (1 Millimol) und 128 mg Oxalsäure in 20 cm<sup>3</sup> 90-proz. Alkohol wurde zu 150 mg, im gleichen Lösungsmittel vorhydrierten Pd-Mohr gegeben und bei Raumtemp. in der Schüttelente hydriert, bis 1 Millimol H<sub>2</sub> aufgenommen worden war.

Das durch die übliche Aufarbeitung gewonnene Reduktionsprodukt (230 mg) wurde an der 100fachen Menge Aluminiumoxyd chromatographiert, wodurch es sich in drei Fraktionen zerlegen liess. Die am raschesten wandernde Substanz, die mit abs. Chloroform eluiert wurde, kristallisierte aus Aceton in Nadeln, Ausbeute: 38 mg, Smp. 242—244°,  $[\alpha]_D^{20} = -110^\circ$  (Pyridin). Sie war identisch mit Festuclavin<sup>13</sup>).

Eine Mittelfraktion, die mit Chloroform/0,5% Methanol eluiert wurde, war amorph und konnte nicht identifiziert werden. Mit Chloroform/2% Methanol wurde noch wenig unverändertes Chanoclavin herausgelöst.

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung Dr. W. Schöniger) ausgeführt. Die UV.- und IR.-Spektren wurden in unserer spektralanalytischen Abteilung (Leitung Dr. H. G. Leemann) aufgenommen.

#### SUMMARY.

By selection of certain strains of the ergot fungus found on *Pennisetum typhoideum* Rich. (a tropical millet) and modifying the substrate we succeeded in increasing the alkaloid yield in saprophytic cultures up to 1000–1500 mg alkaloids per liter of culture filtrate and increasing the alkaloid content of the mycelium to 1% of its dry weight.

From these *in vitro* cultures we succeeded in isolating four new ergot alkaloids besides the three previously obtained. The new alkaloids are *isopenniclavine* (formula VI), the isomer of penniclavine (formula V); *setoclavin* (formula III) and *isosetoclavin* (formula IV), an alkaloid pair; and *chanoclavin* (formula IX), a tricyclic secondary base. Chanoclavin is a new type of ergot alkaloid, containing an opened D ring. The complete structural formulas and configurations of the new alkaloids have been described.

Pharmazeutisch-Chemisches Laboratorium *Sandoz*, Basel.

---

## 151. Untersuchungen über den sterischen Verlauf säurekatalysierter Cyclisationen bei terpenoiden Polyenverbindungen.

1. Mitteilung.

### Cyclisation der 7, 11-Dimethyl-2(trans), 6(trans), 10-dodecatrien- und der 7, 11-Dimethyl-2(cis), 6(trans), 10-dodecatrien-säure

von P. A. Stadler<sup>1)</sup>, A. Nechvatal<sup>2)</sup>, A. J. Frey und A. Eschenmoser.

Herrn Prof. Dr. T. Reichstein zum 60. Geburtstag gewidmet.

(29. V. 57.)

#### A. Einleitung.

Die Fortschritte der Konstitutionsforschung auf dem Gebiete der alicyclischen Terpenverbindungen während der letzten Jahre und vor allem die überraschenden Ergebnisse der jüngsten experimentellen Forschung über die Biogenese von Vertretern dieser Naturstoffklasse haben nicht zuletzt auch ein erhöhtes Interesse an dem schon lange

<sup>1)</sup> Vgl. auch P. Stadler, Diss. ETH Zürich, 1957.

<sup>2)</sup> University of St. Andrews, Chemistry Department, Queens College, Dundee Angus (Scotland).