

220. Zur Kenntnis des Polypeptidteils der Mutterkornalkaloide II (partielle alkalische Hydrolyse der Mutterkornalkaloide).

20. Mitteilung über Mutterkornalkaloide¹⁾

von A. Stoll und A. Hofmann.

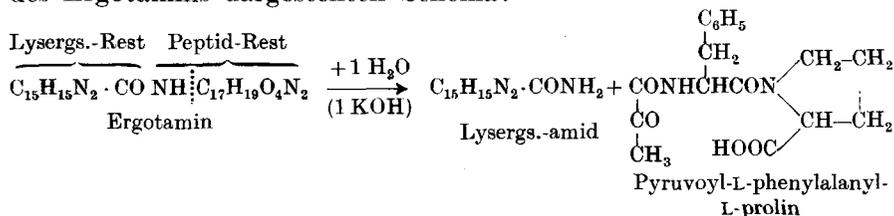
(24. VIII. 50.)

Die 16. Mitteilung dieser Reihe²⁾ beschreibt die Spaltung der Mutterkornalkaloide vom Polypeptidtypus mit Hydrazin. Der Peptidrest kann danach in seinem ursprünglichen Umfang als acyliertes Dipeptid gefasst werden. Durch das Hydrazin ist der eine der drei Bausteine, der bei der vollständigen alkalischen Hydrolyse als α -Ketosäure (Brenztraubensäure bzw. Dimethylbrenztraubensäure) auftritt, zur Fettsäure reduziert worden. So wurde z. B. aus Ergotamin Propionyl-L-phenyl-alanyl-L-prolin, aus Ergocornin Isovaleryl-L-valyl-L-prolin erhalten.

Es gelingt nun durch vorsichtige partielle Hydrolyse mit 1 Äquivalent wässrig-alkoholischer Kalilauge die Spaltung der Alkaloidmolekel so durchzuführen, dass der Peptidteil die Ketosäure enthält, während die Lysergsäure als Lysergsäure-amid anfällt. Es wurden so neben letzterem erhalten

aus Ergotamin: Pyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin,
aus Ergocristin: Dimethylpyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin,
aus Ergocornin: Dimethylpyruvoyl-L-valyl-L-prolin.

Die Alkaloidmolekel zerfällt also nach folgendem, am Beispiel des Ergotamins dargestellten Schema:



Diese Aufspaltung stellt demnach keine einfache Hydrolyse einer Ester- oder Säureamid-Gruppierung dar, sie beruht vielmehr auf dem Zerfall des Bausteins, der mit dem Lysergsäure-Rest direkt verbunden ist. Dieses labile Glied der Alkaloidmolekel geht dabei in den Brenztraubensäure- bzw. Dimethylbrenztraubensäure-Rest über, während seine Aminogruppe mit der Carboxylgruppe der Lysergsäure verbunden bleibt.

¹⁾ 19. Mitteilung, Helv. **33**, 375 (1950).

²⁾ Helv. **33**, 57 (1950).

In die vorliegende Untersuchung wurden Ergosin und Ergokryptin nicht einbezogen, weil der analoge Aufbau aller bisher bekannten natürlichen Mutterkornalkaloide vom Polypeptidtypus gesichert ist und sich daher die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse ohne weiteres auch auf Ergosin und Ergokryptin übertragen lassen.

Die unter milden Bedingungen glatt verlaufende Aufspaltung besonders der Alkaloide der Ergotoxingruppe in zwei grosse Spaltstücke, die noch alle Atome der Alkaloidmolekeln enthalten, beruht auf der Labilität des Zwischengliedes, das den Lysergsäure-Rest mit den beiden andern Aminosäuren verbindet. Dieser leichte Zerfall des Zwischengliedes erschwert andererseits die Untersuchung seiner Struktur und damit der Bindungsweise mit den benachbarten Gliedern des Alkaloidmolekels. Wir hoffen indessen, in absehbarer Zeit eine Abklärung der Konstitution dieses interessanten Zwischen-gliedes herbeizuführen und damit auch zeigen zu können, wie es sich in die Gesamtmolekel einordnet.

Experimenteller Teil.

1. Partielle alkalische Hydrolyse von Dihydro-ergocristin.

a) Dimethylpyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin. 4,0 g Dihydro-ergocristin wurden mit 8 cm³ Alkohol und 5,0 cm³ 1,44-n. wässriger Kalilauge (entsprechend 1,1 Äquivalent bezogen auf das Alkaloid) unter Rückfluss gekocht. Nach 2 Minuten hatte sich das Alkaloid gelöst, und nach 5 Minuten begann das Dihydro-lysergsäure-amid auszukristallisieren, doch setzte man das Kochen nach Zusatz von 7 cm³ Wasser 1 Stunde fort. Nach dem Erkalten wurde das auskristallisierte Dihydro-lysergsäure-amid abgutscht (0,87 g) und mit 20-proz. Alkohol nachgewaschen. Zweimaliges Ausschütteln mit je 100 cm³ Chloroform entzog dem Filtrat noch mehr Amid. Die vereinigten, je zweimal mit 10 cm³ Wasser gewaschenen und mit Natriumsulfat getrockneten Chloroform-auszüge hinterliessen beim Abdampfen 1,34 g Rückstand, der zur Hauptsache aus Dihydro-lysergsäure-amid und nur wenig Dihydro-ergocristin bestand. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Methanol war das Dihydro-lysergsäure-amid analysenrein.

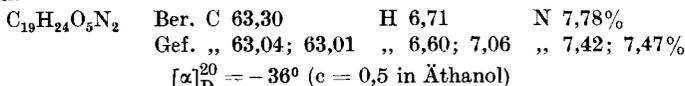
$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -125^{\circ} \quad (c = 0,2 \text{ in Pyridin})$$

C ₁₆ H ₁₉ ON ₃	Ber. C 71,33	H 7,11	N 15,61%
	Gef. „ 71,38	„ 7,04	„ 15,83%

Die alkalische, wässrige Mutterlauge wurde nun mit 2-n. Salzsäure auf deutlich kongosauer gestellt und einmal mit 100 cm³ und dann noch zweimal mit je 50 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Natriumsulfat getrocknete Chloroformlösung hinterliess beim Abdampfen im Vakuum 1,45 g rohes Dimethylpyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin als hellgelben Sirup; das sind rund 60% der Theorie.

Zur Entfernung von etwa vorhandenen kleineren, wasserlöslichen Spaltstücken wurde das Produkt in 10 cm³ Methanol gelöst, mit 20 cm³ Wasser verdünnt und durch Abdampfen des Methylalkohols und Konzentrieren der wässrigen Lösung im Vakuum bei 25° Badtemperatur auf ca. 10 cm³ das saure Peptid wieder ausgefällt. Nach kurzem Stehen bei 0° wurde das überstehende Wasser von der gummiartigen Säure dekantiert, worauf man das Umfällen aus Wasser noch einmal wiederholte. Eine weitere Reinigung bestand im Auflösen der bei Raumtemperatur im Hochvakuum getrockneten Substanz in 50 cm³ Äther, wobei Verunreinigungen als Trübung ungelöst blieben und durch Filtration durch eine Talknutsche beseitigt wurden. Beim Eindampfen des ätherischen Filtrats hinterblieb das Spaltprodukt als weisse, blättrige Masse, die nicht kristallisiert werden konnte. Das Dimethyl-pyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin ist in Wasser schwer,

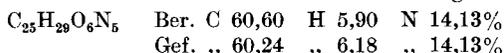
in den meisten organischen Lösungsmitteln sehr leicht löslich. Für die Analyse wurde die Substanz im Hochvakuum bei 20° getrocknet und unter Feuchtigkeitsausschluss eingewogen.



Titration: 50,5 mg Peptidsäure, gelöst in 1 cm³ 50-proz. Alkohol verbrauchten bis zum Umschlag von Phenolphthalein 2,75 cm³ 0,05-n. NaOH.

Ber. Mol.-Gew. 360 Gef. Mol.-Gew. 367

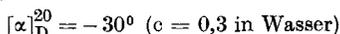
b) p-Nitro-phenylhydrazon von Dimethylpyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin. 0,30 g Dimethylpyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin und 0,30 g p-Nitro-phenylhydrazin wurden in 20 cm³ 50-proz. Alkohol gelöst und 5 Minuten auf 50° erwärmt. Die orangefarbene Lösung wurde hierauf im Vakuum eingeeengt, bis sie sich milchig trübte. Nach nochmaligem Erwärmen bis wieder Klärung eintrat und langsamem Abkühlen kristallisierte das p-Nitro-phenylhydrazon in gelben Nadeln aus. Es wog nach eintägigem Stehen im Eisschrank, Abnutschen und Nachwaschen mit 50-proz. Alkohol 0,35 g. Beim Umkristallisieren aus Essigester wurden haarfeine Nadeln vom Smp. 164° erhalten. Für die Analyse wurde die Substanz im Hochvakuum bei 80° getrocknet.



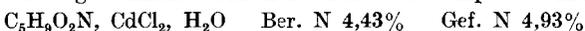
Titration: Das p-Nitro-phenylhydrazon ist selbst Indikator und lässt sich daher ohne Zusatz eines solchen mit Lauge titrieren; seine Lösung färbt sich beim Auftreten von freiem Alkali tiefrot. 205 mg Substanz, gelöst in 20 cm³ 70-proz. Alkohol, verbrauchten bis zum Umschlag von Gelb nach Tiefrot 4,15 cm³ 0,1-n. Natronlauge.

Ber. Mol.-Gew. 495 Gef. Mol.-Gew. 495

c) Saure Hydrolyse von Dimethylpyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin. Isolierung von L-Phenylalanin und L-Prolin. 0,2 g des sauren Peptids aus Ergocristin wurden 16 Stunden mit 50 cm³ konz. Salzsäure unter Rückfluss gekocht. Den Eindampfrückstand entchlorte man auf übliche Weise mit Silbercarbonat und zerlegte das Aminosäuregemisch durch Digerieren mit Alkohol. Ungelöst blieben 60 mg L-Phenylalanin, das beim Umkristallisieren aus wenig Wasser in viereckigen Blättchen vom Smp. 230° erhalten wurde.



Das in Alkohol leicht lösliche, teilweise racemisierte L-Prolin ($[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -20^{\circ}$ (c = 0,7 in Wasser)) wurde durch Überführen in das typische Cadmiumchlorid-Doppelsalz¹⁾ identifiziert, das aus wässrigem Alkohol in flachen Prismen vom Smp. 200—210° kristallisierte.



d) Der Nachweis der Dimethylbrenztraubensäure erfolgte, indem man 50 mg des sauren Peptids aus Dihydro-ergocristin mit 1,5 cm³ 0,5-n. Kalilauge 1 Stunde unter Rückfluss kochte, die abgespaltene Dimethylbrenztraubensäure aus der kongosauer gemachten Lösung mit Äther aufnahm und mit dem Ätherrückstand auf übliche Weise das Phenylhydrazon herstellte. Die durch Lösen in wenig Eisessig und Verdünnen mit Wasser umkristallisierte Verbindung bildete gelbe Nadeln vom Smp. 146° und zeigte im Mischschmelzpunkt mit dem Phenylhydrazon aus authentischer Dimethylbrenztraubensäure keine Depression.

2. Partielle alkalische Hydrolyse von Dihydro-ergocornin.

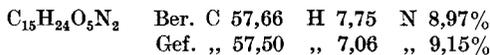
a) Dimethylpyruvoyl-L-valyl-L-prolin. Eine Suspension von 1,0 g Dihydro-ergocornin in 3 cm³ Alkohol wurde mit 1,40 cm³ 1,538-n. Kalilauge (entsprechend 1,2 Äquivalent KOH bezogen auf das Alkaloid) und 1,6 cm³ Wasser in Lösung gebracht.

¹⁾ A. Winterstein, Klein's Handbuch der Pflanzenanalyse 4, 70 (J. Springer, Wien 1933).

Man kochte 10 Minuten unter Rückfluss und impfte dann ohne abzukühlen mit Dihydro-lysergsäure-amid, das sogleich auszukristallisieren begann. Nach 15 Minuten weiterem Kochen fügte man 3 cm³ Wasser hinzu und kochte unter Rückfluss noch 1 Stunde. Die durch einstündiges Stehen bei 0° vervollständigte Kristallisation des Dihydro-lysergsäure-amids wurde abgenutscht und mit 20-proz. Alkohol nachgewaschen (0,42 g). Aus dem alkalischen Filtrat konnte durch Ausäthern noch etwas Dihydro-lysergsäure-amid gewonnen werden, so dass die Gesamtausbeute an diesem Spaltstück 0,46 g, entsprechend 96% der Theorie, betrug.

Die alkalische, mit Äther erschöpfend extrahierte wässrige Lösung wurde nun mit verdünnter Salzsäure deutlich kongosauer gemacht und daraus das saure Peptid durch dreimaliges Ausschütteln mit je 100 cm³ Äther aufgenommen. Die vereinigten, mit wenig Wasser gewaschenen Ätherauszüge hinterliessen beim Eindampfen im Vakuum 0,40 g nahezu reines Dimethylpyruvoyl-L-valyl-L-prolin als hellgelben, zähflüssigen Sirup, was einer Ausbeute von 73% der Theorie entsprach.

Für die Analyse wurde das Präparat noch gereinigt, indem man es zunächst in 40 cm³ trockenem Äther aufnahm und eine geringe Trübung mit wenig Tierkohle und Filtration durch Talk entfernte. Dann wurde die farblose Ätherlösung zur Beseitigung etwa noch vorhandener basischer Bestandteile 2mal mit je 10 cm³ 0,1-n. Salzsäure und dann noch viermal mit wenig Wasser ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand bildete eine farblose, blättrige Masse, die in Wasser schwer, in Alkohol, Äther oder Chloroform spielend löslich ist und bis jetzt nicht kristallisiert werden konnte. Für die Analyse wurde die Substanz im Hochvakuum bei 70° getrocknet.



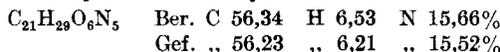
$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = - 65^{\circ} \quad (c = 0,5 \text{ in Alkohol})$$

Titration: 0,133 g Substanz, gelöst in 2 cm³ 50-proz. Alkohol, verbrauchten bis zum Umschlag von Phenolphthalein 4,20 cm³ 0,1-n. NaOH.

Ber. Mol.-Gew. 312 Gef. Mol.-Gew. 316

b) p-Nitro-phenylhydrazon von Dimethylpyruvoyl-L-valyl-L-prolin. Eine Lösung von 0,13 g des sauren Peptids aus Ergocornin in 1 cm³ 50-proz. Alkohol wurde mit 0,10 g p-Nitro-phenylhydrazin in 8 cm³ des gleichen Lösungsmittels versetzt. Aus der 5 Minuten bei 70° gehaltenen, orangefarbenen Lösung kristallisierte das p-Nitro-phenylhydrazon in gelben Nadeln, die nach dem Erkalten abgenutscht und mit 50-proz. Alkohol nachgewaschen wurden. Ausbeute: 0,09 g; diese liess sich durch Konzentrieren der Mutterlauge noch etwas verbessern.

Zur Reinigung wurde die Verbindung in Methanol-Essigester 1:1 unter Aufkochen gelöst und die filtrierte Lösung im Vakuum etwas eingeeengt, worauf das Dimethylpyruvoyl-L-valyl-L-prolin-p-nitro-phenylhydrazon in gelben Nadeln vom Smp. 232° auskristallisierte. Für die Analyse wurde das Hydrazon im Hochvakuum bei 120° getrocknet.



c) Saure Hydrolyse von Dimethylpyruvoyl-L-valyl-L-prolin; Isolierung von L-Valin und L-Prolin. 0,50 g des sauren Peptids aus Ergocornin wurden 15 Stunden mit 20 cm³ konzentrierter Salzsäure unter Rückfluss gekocht. Der nach dem Entchloren mit Silbercarbonat gewonnene Eindampfrückstand wurde mit 3 cm³ Alkohol digeriert, wobei 0,16 g Aminosäure ungelöst blieben. Beim Auflösen in kochendem 50-proz. Alkohol und Verdünnen mit abs. Alkohol kristallisierte das L-Valin in den typischen 6-eckigen, glitzernden Blättchen.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 25^{\circ} \quad (c = 0,4 \text{ in 20-proz. Salzsäure})$$

Die alkoholische Mutterlauge des Valins hinterliess beim Eindampfen 0,16 g L-Prolin als glasige, leichtlösliche Masse.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = - 32^{\circ} \quad (c = 0,7 \text{ in Wasser})$$

Zur Identifizierung wurde das Cadmiumchlorid-Doppelsalz hergestellt, das aus wässrigem Alkohol in langgestreckten, flachen Prismen vom Smp. 210° kristallisierte.

3. Partielle alkalische Hydrolyse von Dihydro-ergotamin.

a) Pyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin. Eine Suspension von 1,0 g Dihydro-ergotamin in 3 cm³ Alkohol und 0,95 cm³ 1,44-n. wässriger Kalilauge (entsprechend 0,8 Äquivalent KOH bezogen auf das Alkaloid) wurde unter Rückfluss gekocht, wobei das Alkaloid sich in wenigen Minuten löste. Nach 30 Minuten wurden 3 cm³ Wasser zugeetzt und das Kochen wurde noch 15 Minuten fortgesetzt. Um die Abscheidung des Dihydro-lysergsäure-amids zu vervollständigen, setzte man nach dem Erkalten noch 8 cm³ Wasser zu und liess eine Stunde bei 0° stehen. Das auskristallisierte Dihydro-lysergsäure-amid, dem nur wenig unverändertes Ausgangsmaterial beigemischt war, wog 0,47 g.

$$[\alpha]_D^{20} = - 116^{\circ} \text{ (in Pyridin)}$$

Die wässrig-alkalische Mutterlauge wurde nun mit 50 cm³ und dann noch zweimal mit je 20 cm³ Chloroform ausgeschüttelt und jeder Chloroformauszug zweimal mit wenig Wasser gewaschen. Der Rückstand der vereinigten, eingedampften Chloroform-Auszüge wog 0,27 g. Beim Aufnehmen in 5 cm³ Wasser blieben davon 0,10 g ungelöst, die aus unverändertem Dihydro-ergotamin und aus Dihydro-lysergsäure-amid bestanden. Der Eindampfrückstand des wässrigen Filtrats (0,17 g) wurde als rac. Phenylalanyl-prolin-lactam, von dem die Brenztraubensäure abgespalten war, identifiziert. Dieses kristallisierte aus wenig Methanol beim Verdünnen mit Äther in sechseckigen Platten vom Smp. 149°.

$$\begin{array}{l} C_{14}H_{16}O_2N_2 \quad \text{Ber. C } 68,81 \quad H \ 6,61 \quad N \ 11,48\% \\ \text{Gef. } \ , \ 68,89 \quad \ , \ 6,71 \quad \ , \ 11,77\% \end{array}$$

Die alkalische, mit Chloroform ausgeschüttelte wässrige Lösung, die das saure Peptid enthielt, wurde nach dem Ansäuern mit Salzsäure bis kongosauer einmal mit 100 cm³ und dann noch zweimal mit je 50 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die zweimal mit wenig Wasser gewaschenen und getrockneten Chloroformauszüge hinterliessen beim Eindampfen im Vakuum 0,10 g des noch ziemlich verunreinigten Pyruvoyl-dipeptids. Aus der salzsauren wässrigen Mutterlauge konnte eine weitere Menge rac. Phenylalanyl-prolin-lactam gewonnen werden.

Das rohe Pyruvoyl-dipeptid suspendierte man in 1 cm³ Wasser, gab 0,1-n. Natronlauge bis zur phenolphthalein-alkalischen Reaktion zu (2,5 cm³) und filtrierte von einer ungelösten Verunreinigung ab. Aus der Lösung des Natriumsalzes fällte man nun das Pyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin durch fraktionierte Neutralisation mit 0,1-n. Salzsäure aus. Die beiden ersten Fällungen, insgesamt 24 mg, bestanden aus dihydro-lysergsäurehaltigen Verunreinigungen, worauf Farbreaktionen hinweisen, und wurden verworfen. Die folgenden Fällungen, insgesamt 70 mg, löste man zur weiteren Reinigung in 2 cm³ Methanol und verdünnte mit 12 cm³ Äther, wobei sich noch wenig hellbraune Verunreinigungen abschieden. Das farblose Filtrat hinterliess beim Eindampfen 55 mg analysenreines Pyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin als weissen, amorphen Rückstand, der in Alkohol sehr leicht, in Äther mässig, in Wasser schwerlöslich ist und sich nicht kristallisieren liess. Für die Analyse wurde die Substanz im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

$$\begin{array}{l} C_{17}H_{20}O_5N_2 \quad \text{Ber. C } 61,41 \quad H \ 6,07 \quad N \ 8,43\% \\ \text{Gef. } \ , \ 61,45 \quad \ , \ 6,03 \quad \ , \ 8,73\% \end{array}$$

$$[\alpha]_D^{20} = - 62^{\circ} (\pm 4^{\circ}) \text{ (c} = 0,4 \text{ in Alkohol)}$$

Titration: 30,0 mg Peptidsäure, gelöst in 1 cm³ 50-proz. Alkohol, verbrauchten bis zum Umschlag von Phenolphthalein 0,90 cm³ 0,1-n. NaOH.

$$\text{Ber. Mol.-Gew. } 332 \quad \text{Gef. Mol.-Gew. } 333$$

b) p-Nitro-phenylhydrazon von Pyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin. Eine Lösung von 56 mg des sauren Peptids aus Dihydro-ergotamin und 26 mg p-Nitro-phenylhydrazin in 2 cm³ 95-proz. Alkohol wurde 20 Minuten auf 60° erwärmt. Da weder beim Erkalten noch beim Konzentrieren der tief orangefarbigten Lösung eine Ausscheidung

erfolgte, dampfte man die Lösung im Vakuum zur Trockne ein und fällte den Rückstand zur Entfernung von unverändertem Ausgangsmaterial aus wenig Eisessig durch Verdünnen mit Wasser um. Das so vorgereinigte Produkt schied sich aus Alkohol beim Verdünnen mit Wasser vorerst ölig ab, kristallisierte dann aber beim Aufbewahren im Eisschrank. Die Verbindung ist sehr zersetzlich, so dass beim weiteren Umkristallisieren grosse Verluste eintraten, ohne dass man zu einem reinen Produkt gelangt wäre, wie der unscharfe Smp. von 110–150⁰ und die Analyse zeigen.

$C_{23}H_{25}O_6N_5$	Ber. C 59,07	H 5,39	N 14,99%
	Gef. „ 59,54	„ 5,93	„ 15,85%

Zusammenfassung.

Durch partielle alkalische Hydrolyse liessen sich die Mutterkornalkaloide vom Polypeptidtypus bzw. ihre Dihydroderivate derart aufspalten, dass einerseits Lysergsäure-amid bzw. Dihydro-lysergsäure-amid, andererseits der Peptidteil als dreigliedriges, saures Spaltstück erhalten wurden. Aus Dihydro-ergotamin wurde Pyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin, aus Dihydro-ergocristin Dimethylpyruvoyl-L-phenylalanyl-L-prolin und aus Dihydro-ergocornin Dimethylpyruvoyl-L-valyl-L-prolin abgespalten. Von den neuen Spaltstücken, die an und für sich nicht kristallisieren, liessen sich kristallisierte p-Nitrophenylhydrazone herstellen.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium *Sandoz*, Basel.

221. Oxydation von Acetessigester, Benzoylessigsäure-äthylester und Dibenzoylmethan durch Persäuren

von P. Karrer, J. Kehrle und R. M. Thakkar.

(24. VIII. 50.)

Die Einwirkung von Persäuren auf β -Ketocarbonsäuren und β -Diketone haben *J. Böeseken & J. Jacobs*¹⁾ untersucht. Sie zeigten dabei, dass diese Verbindungen mit Persäuren wahrscheinlich in ihren Enolformen reagieren. Dies ergibt sich einerseits aus den Endprodukten der Reaktion, andererseits daraus, dass sich β -Ketosäuren bzw. β -Diketone, die an der zwischen den beiden CO-Gruppen liegenden Methylengruppe monoalkyliert sind, mit Persäuren langsam, wenn sie dialkyliert sind, überhaupt nicht umsetzen.

Beispielsweise sind die Endprodukte der Oxydation von Acetessigester mit Peressigsäure Äthylalkohol und Oxalsäure-monoäthylester. Als an Stelle von Peressigsäure Perbenzoesäure verwendet wurde, gelang es *Böeseken & Jacobs*, ein Zwischenprodukt des Abbaus

¹⁾ R. 55, 804 (1936).