

Flüchtige Terpene aus *Ceratocystis fimbriata*

Volatile Terpenes from *Ceratocystis fimbriata*

Hans-Peter Hanssen und Ewald Sprecher

Lehrstuhl für Pharmakognosie der Universität Hamburg,
Bundesstr. 43, D-2000 Hamburg 13

Z. Naturforsch. **36 c**, 1075–1076 (1981);
received September 28, 1981

Ceratocystis fimbriata, Ascomycetes, Volatile Metabolites,
Monoterpenes, Strain Specificity

The volatile metabolites of three strains of *Ceratocystis fimbriata* (Ascomycetes) have been investigated. In the steam distillates of Strain 835 C several monoterpene hydrocarbons and alcohols as well as other metabolites could be identified. Mycelial growth and accumulation of the main components have been analyzed throughout the culture period on a defined synthetic cultural medium.

Einleitung

Zahlreiche der etwa 50 Arten, die zur Ascomyceten-Gattung *Ceratocystis* gehören, sind als wichtige Pflanzen- bzw. Holzschädlinge von wirtschaftlichem Interesse. Aus diesem Grund wurden viele von ihnen bereits früher hinsichtlich ihrer anatomischen und physiologischen Eigenschaften intensiver untersucht. Dabei fiel bei vielen Stämmen der „süßlich-fruchtige“ Geruch von Reinkulturen auf, der häufig an Bananenöl erinnerte [1]. In sehr vielen Fällen war diese Duftnote auf die Bildung von niederen Alkoholen und deren Ester zurückzuführen, in einzelnen Fällen konnten jedoch auch Terpene aus Kulturen dieser Stämme isoliert werden [2–4]. Die Akkumulation bestimmter flüchtiger Metabolite ist gelegentlich, jedoch nicht immer, eine konstante Eigenschaft einer Art. Häufig sind nur einige Stämme zu entsprechenden Stoffwechselleistungen befähigt [5].

Erstmals konnten jetzt niedere Terpene auch aus Kulturen von *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst. identifiziert werden. Gleichzeitig wurden innerhalb dieser Art ausgeprägte stammesspezifische Unterschiede bei der Akkumulation flüchtiger Stoffwechselprodukte erkannt.

Ergebnisse und Diskussion

Drei Stämme des Ascomyceten *C. fimbriata*, die von unterschiedlichem Substrat isoliert worden waren, wurden auf einem definierten synthetischen Nährmedium kultiviert. Das Wachstum und die

Akkumulation flüchtiger Metabolite wurden über die gesamte Kulturdauer verfolgt. Während in den Wasserdampfdestillaten von zwei Stämmen (865 und Pe-4 a) lediglich einige niedere Alkohole und Ester, sog. „Gärungsprodukte“ nachgewiesen werden konnten, produzierte der Stamm 835 C zusätzlich Monoterpene in erheblicher Menge. Das Wachstum dieses Stammes und die Gesamtmenge flüchtiger Stoffwechselprodukte sind in Abb. 1 dargestellt.

Das Maximum der Akkumulation flüchtiger Metabolite fällt mit dem Ende der linearen Wachstumsphase (15 Kulturtage) zusammen, danach ist ihre Bildung stark rückläufig, obwohl sich auch nach längerer Kulturdauer noch Restzucker- und -amino-säuremengen im Nährmedium nachweisen lassen.

Das Wasserdampfdestillat von *C. fimbriata* 835 C setzt sich aus etwa 70 Einzelkomponenten zusammen. Neben „Gärungsprodukten“ (niedere Alkohole und deren Essigsäureester), deren Identifizierung bereits früher beschrieben wurde [6], konnten durch chromatographische und spektrometrische Methoden mehrere Monoterpenkohlenwasserstoffe, -alkohole und deren Acetate nachgewiesen werden (Tab. I).

Die durch modifizierte Trockensäulen-Chromatographie [7] erhaltene apolare Fraktion enthält etwa 20 Komponenten, deren Anteil am Gesamtöl zu allen Kulturzeitpunkten jeweils weniger als 1% beträgt. In dieser Fraktion konnten die Monoterpenkohlenwasserstoffe Limonen, *cis*- und *trans*-Ocimen sowie Terpinolen identifiziert werden. Das Vorkommen von α - und β -Pinen konnte wahrscheinlich gemacht werden.

Hauptkomponenten der Terpenalkohol-Fraktion sind die acyclischen Verbindungen Linalool, Citro-

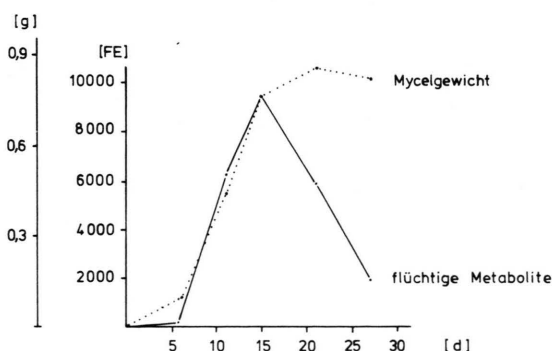


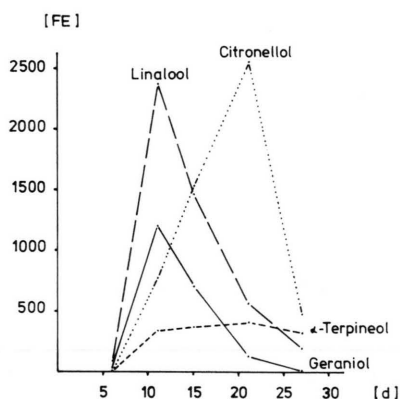
Abb. 1. Mycelgewichte und Gesamtmenge flüchtiger Verbindungen (in unkorrigierten Flächeneinheiten (FE)) von jeweils 10 Kulturen des *Ceratocystis fimbriata*-Stammes 835 C nach unterschiedlich langer Kulturdauer.

Sonderdruckanforderungen an Dr. H.-P. Hanssen.

0341-0382/81/1100-1075 \$01.00/0

Tab. I. Flüchtige Terpene aus *Ceratocystis fimbriata*.

Kohlenwasserstoffe	Alkohole
Limonen	Linalool
Terpinolen	α -Terpineol
<i>cis</i> -Ocimen	Citronellol
<i>trans</i> -Ocimen	Geraniol
α -Pinen?	
β -Pinen?	
Ester	sonst. Verbindungen
Citronellylacetat	2.2.6.-Trimethyl-6-vinyl-tetrahydropyran
Geranylacetat	

Abb. 2. Akkumulation von Monoterpenalkoholen (in unkorrigierten Flächeneinheiten) im Kulturmedium von jeweils 10 Kulturen des *Ceratocystis fimbriata*-Stammes 835 C nach unterschiedlich langer Kulturdauer.

nellol und Geraniol sowie der monocyclische Alkohol α -Terpineol. Die Akkumulation dieser Stoffwechselprodukte im Verlaufe der Kulturdauer ist in Abb. 2 dargestellt. Während zunächst die Bildung von Linalool und Geraniol überwiegt, lassen sich zu späteren Kulturzeitpunkten vor allem Citronellol und α -Terpineol nachweisen.

Die Acetate von Citronellol und Geraniol ließen sich auch in *C. fimbriata* nachweisen, nachdem sie bereits in Kulturen von *C. variispora* [2] und *C. coerulea* [3] identifiziert worden waren. Durch Verseifung ließen sie sich in die korrespondierenden Alkohole überführen. Ihr Anteil am Gesamtöl beträgt etwa 2%.

Als weiteres sauerstoffhaltiges Terpen konnte 2.2.6-Trimethyl-6-vinyl-tetrahydropyran identifiziert werden, eine Verbindung, die offensichtlich aus Linalool entsteht und deren Vorkommen bereits in *Ascoidea hylecoeti* beschrieben wurde [8].

Material und Methoden

Pilzstämme. Die *Ceratocystis fimbriata*-Stämme wurden von unterschiedlichen Substraten in den USA isoliert: 856 von Bergahorn, Mississippi; Pe-4 a von Pfirsich, Californien; 835 C von Espe, Colorado.

Kultivierung. Die Kultivierung erfolgte in 250-ml Erlenmeyer Standkulturen in einer Glucose (2%)-Asparagin (0,15%)-Mineralsalzlösung mit geringem Malzextrakt (0,2%)-Zusatz [9].

Analytik. Die flüchtigen Stoffwechselprodukte wurden aus jeweils 10 gleichalten Pilzkulturen durch Kreislauf-Wasserdampfdestillation [10] in 2 ml Pentan erhalten.

Nach Trennung in 5 Fraktionen unterschiedlicher Polarität durch modifizierte Trockensäulen-Chromatographie [7] erfolgte die GC-Analyse an einem Doppelsäulengerät Varian, Modell 2700, mit Temperaturprogrammer, FID und angeschlossenem Integrator Perkin-Elmer M 1. Als Trennsäulen wurden gepackte Stahlsäulen unterschiedlicher Polarität (Carbowax 20 M und OV 101) und unterschiedlicher Länge verwendet. Die GC-Analysenbedingungen sind [3] zu entnehmen. Der Vergleich von Retentionszeiten mit denen von authentischen Reinsubstanzen wurde auf den o. a. Trennsäulen durchgeführt. Die MS-Untersuchungen wurden an einer GC/MS-Kopplung Varian MAT 111 (Gnom) vorgenommen. Trennsäule: gepackte 3-m-Säule, 5% Carbowax 20 M; Säulentemperatur 70 °C–200 °C linear programmiert; 2 °C/min.; Elektronenquelle: 70 eV, Temperatur: 200 °C.

Danksagung

Wir danken Herrn Dr. R. W. Davidson, Fort Collins, Colorado, USA, für die Überlassung der Pilzstämme und Frau Prof. A. Käärik, Uppsala, Schweden, für deren exakte Bestimmung. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für eine Sachbeihilfe.

- [1] J. Hunt, Lloydia **19**, 1 (1956).
- [2] R. P. Collins u. A. F. Halim, Lloydia **33**, 481 (1970).
- [3] E. Sprecher, K.-H. Kubeczka u. M. Ratschko, Arch. Pharm. **308**, 843 (1975).
- [4] E. Lanza u. J. K. Palmer, Phytochemistry **16**, 1555 (1977).
- [5] E. Sprecher, Pharmaz. Ztg. **125**, 1008 (1980).

- [6] E. Sprecher, Ber. Dtsch. Bot. Ges. **77**, 150 (1964).
- [7] K.-H. Kubeczka, Chromatographia **6**, 106 (1973).
- [8] W. Francke u. B. Brümmer, Planta med. **34**, 426 (1978).
- [9] W. Sprecher, Planta **53**, 565 (1959).
- [10] E. Sprecher, Dtsch. Apotheker-Ztg. **103**, 213 (1963).