

- [10] J. Kraut & H. J. Reed, Acta cryst. 15, 747 (1962).
[11] P. J. Wheatley, Acta cryst. 13, 80 (1960).
[12] W. R. Krigbaum, Yozo Chatani & P. G. Barber, Acta cryst. B26, 97 (1970).
[13] L. Pauling & R. B. Corey, Arch. Biochemistry Biophysics 65, 164 (1956).
[14] M. Spencer, Acta cryst. 12, 59 (1959).
[15] I. L. Karle & J. Karle, Acta Cryst. B24, 81 (1968).
[16] G. C. Pimentel & A. L. McClellan, «The Hydrogen Bond», Freeman & Co., San Francisco und London 1960.

210. Zur Biogenese des Antibioticums Phomin.

1. Teil: Die Grundbausteine

von M. Binder, J.-R. Kiechel und Ch. Tamm

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(2. IX. 70)

Summary. A number of potential ^{14}C - and ^3H -labelled precursors were fed to growing cultures of *Phoma spec.* (Strain S 298), after the rate of formation of phomine (cytochalasin B; $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{NO}_5$) had been determined. By chemical degradation of [^{14}C]-phomine and [^3H , ^{14}C]-phomine the distribution of the radioactivity originating from the incorporated precursors was determined. The results demonstrate that the building blocks of phomine are 1 unit of phenylalanine, 9 units of acetate or malonate respectively, and 2 units of methionine. Acetate acts as a starter and malonate as a propagator of a C_{16} - or C_{18} -chain. A possible combination of these elements leading to phomine and to 5-dehydrophomine is suggested.

Phomin und 5-Dehydrophomin sind cytostatisch wirksame Stoffwechselprodukte des Mikroorganismus *Phoma* (Stamm S298), über deren Strukturaufklärung kürzlich Rothweiler & Tamm [1] berichteten. Unabhängig davon isolierten Aldridge *et al.* [2] aus Kulturen von *Helminthosporium dematioideum* zwei Metabolite, Cytochalasin A und B, die sich als mit 5-Dehydrophomin bzw. Phomin identisch erwiesen.

Aus der Struktur von Phomin (1) geht die Verwandtschaft des Antibioticums mit den Makrolid-Antibiotica hervor, weist doch Phomin einen 14-gliedrigen Lactonring auf, der z. B. dem von Erythromycin entspricht. Der γ -Lactam-Teil der Molekel deutet auf einen Zusammenhang mit Produkten des Sekundärmetabolismus, die sich von α -Aminosäuren herleiten, hin. Der komplexe Bau der Molekel lässt eine Reihe von Verbindungen als mutmassliche biogenetische Vorläufer erwarten. So könnten im Lacton-Teil Acetat bzw. Malonat und C_1 -Spender wie Methionin und Formiat, oder Acetat und Propionat¹⁾, im γ -Lactam-Teil die α -Aminosäure Phenylalanin und Acetat mögliche Vorläufersubstanzen sein. Diese Einheiten lassen sich auf verschiedene Arten zum Grundgerüst von Phomin kombinieren (vgl. Fig. 1).

Eine über diese Grundeinheiten hinausgehende Vorstufe könnte eine C_{16} - oder C_{18} -Einheit, d. h. ein Octa- bzw. Nonaketid oder eine entsprechende gesättigte oder ungesättigte Fettsäure sein, wobei wir die letztere Variante für wahrscheinlicher halten (vgl. Fig. 2).

¹⁾ Im allgemeinen erfolgt ein Einbau von Propionat nur in Sekundärmetabolite, die von Actinomyceten stammen. Er kann jedoch in unserem Falle nicht *a priori* ausgeschlossen werden.

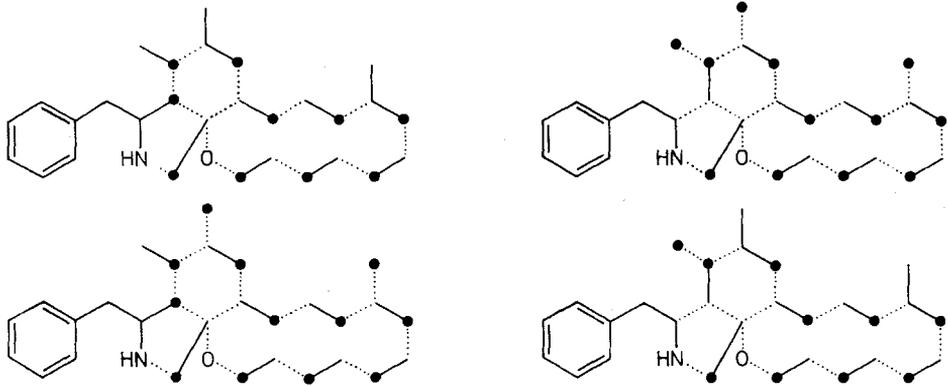
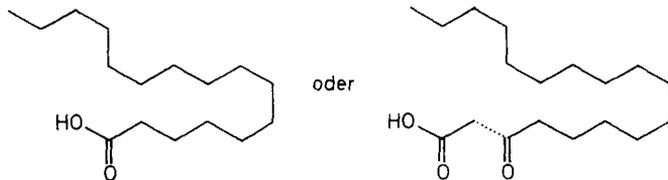


Fig. 1. Mögliche Kombinationen von Grundeinheiten zum Gerüst von Phomycin

Fig. 2. C_{16} - oder C_{18} -Einheit

Verknüpfung dieser grösseren Einheit mit Phenylalanin führt dann zum Grundgerüst von Phomycin, wobei im Fall einer C_{16} -Zwischenstufe eine weitere Acetat-Einheit benötigt würde, während im Fall der C_{18} -Zwischenstufe der Sauerstoff des Lactonringes nachträglich eingeführt werden müsste.

Die zusätzlichen Methyl- bzw. Methylen-Gruppen können von Propionat oder als C_2 - C_1 -Einheit von Acetat und einem C_1 -Spender stammen.

Um diese Fragen zu klären, haben wir eine Anzahl potentieller ^{14}C - und 3H -markierter Bausteine zu wachsenden Kulturen der *Phoma spec.* (Stamm S298) gegeben, das Phomycin isoliert und bei Vorliegen einer signifikanten Radioaktivität mit Hilfe eines gezielten chemischen Abbaus deren Verteilung in der Molekel bestimmt.

Die Züchtung des Mikroorganismus *Phoma* (Stamm S298) erfolgte in Standkulturen auf einem Medium aus Glucose, Malz- und Hefe-Extrakt, Pepton, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ und KH_2PO_4 bei $pH = 4,8$. Nach 11-tägiger Inkubation bei $18-20^\circ$ wurden Kulturfiltrat und Mycel mit Essigester extrahiert und das gebildete Phomycin durch Chromatographie an Kieselgel isoliert. Die Bildung des Antibioticums setzt am 4.-5. Tag der Wachstumsperiode ein, steigt bis zum 9. Tag rasch an und kommt nach 10-11 Tagen zum Stillstand (vgl. Fig. 3).

Um den günstigsten Zeitpunkt für die Zugabe markierter biogenetischer Vorläufer festzustellen, wurde ein Vorversuch mit $[2-^{14}C]$ -Na-Propionat durchgeführt. Die Einbaurrate erreicht ein Maximum, wenn der Vorläufer am 6. Tag der Wachstumsperiode zugegeben wird, ist aber nur um einen Faktor von 2 grösser als bei Zugabe zu Beginn der Züchtung des Mikroorganismus. Bei allen Inkorporationsversuchen wurden die markierten Bausteine deshalb der Nährlösung vor dem Sterilisieren zugesetzt.

Als biogenetische Vorläufer wurden $[1-^{14}\text{C}]$ -DL- und L-Phenylalanin, $[2-^{14}\text{C}]$ -DL-Phenylalanin, $[\text{ubiqu. } ^{14}\text{C}, 4'\text{-T}]$ -L-Phenylalanin, $[\text{Methyl-}^{14}\text{C}]$ -Methionin, $[1-^{14}\text{C}]$ -Na-Acetat, $[1-^{14}\text{C}]$ -Na-Malonat, $[2-^{14}\text{C}]$ -Na-Malonat, $[1-^{14}\text{C}]$ -Na-Propionat, $[2-^{14}\text{C}]$ -Na-Propionat und $[2-^{14}\text{C}]$ -Na-Mevalonat eingesetzt; Ergebnisse s. Tab.1.

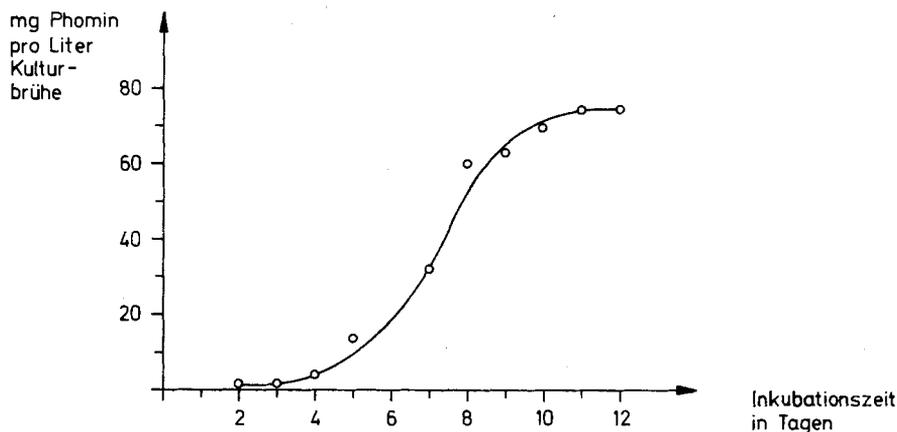


Fig. 3. *Bildungskurve von Phomin*

Ausser $[2-^{14}\text{C}]$ -Na-Mevalonat wurden alle Vorläufer mit guten Einbauarten inkorporiert.

Aus jedem Einbauversuch standen 300–400 mg Phomin zur Verfügung, die zur Bestimmung der Radioaktivitätsverteilung chemisch abgebaut wurden. Soweit es die Zählraten erlaubten, verdünnten wir die radioaktiven Phominmuster mit inaktivem Phomin²⁾.

Die von uns benutzten Abbaureaktionen sind im wesentlichen bereits bei der Aufklärung der Struktur von Phomin [1] verwendet worden.

Katalytische Hydrierung von Phomin (1) mit PtO_2 in Eisessig führte zu Dodecahydrophomin (3), aus welchem durch Oxydation mit CrO_3 in H_2SO_4 nach *Kuhn-Roth* [3] drei Essigsäure-Einheiten (4) gewonnen wurden (C-Atompaare Nr. 9 und 20, 15 und 21 und 16 und 22). Die Essigsäure (4) wurde weiter nach *Schmidt* [4] [5] mit NaN_3 in Polyphosphorsäure zu Methylamin (5) und CO_2 (7) abgebaut, die als Methylaminpikrat (6) bzw. BaCO_3 (8) aufgefangen wurden (vgl. Formelschema 1).

Ozonolyse von Di-O-Acetylphomin (2) in Essigester bei 20° und Spaltung der Ozonide mit H_2/Pd [6] lieferte das C-Atom Nr. 21 als Formaldehyd (9), der als Dimedon-Derivat 10 isoliert wurde.

Wurde die Ozonisierung von 2 in Methanol bei -70° mit anschliessender Aufarbeitung der Ozonide mit NaBH_4 durchgeführt, liessen sich drei definierte Spaltprodukte isolieren, das Trihydroxy- γ -Lactam 11 mit intakter exocyclischer Methylengruppe und das Tetrahydroxy- γ -Lactam 12, hier kurz γ -Lactam I und II genannt, ferner 3-Methyloctan-1,7,8-triol (13), kurz Octantriol genannt. Das vierte Spaltprodukt, Glykol (14), konnte nicht gefasst werden.

²⁾ Wir danken Herrn Dr. W. B. Turner, *Imperial Chemical Industries, Ltd.*, Macclesfield/England, für die Überlassung von 10 g inaktivem Phomin.

Tabelle 1. Daten der biogenetischen Vorläufer und des aus den jeweiligen Kulturansätzen gewonnenen Phomins

Biogenetischer Vorläufer			Phomin				
Bezeichnung	Aktivität		Menge in mg	Aktivität		Absolute Einbau- rate in %	Spezi- fische Ein- baurate 10^5
	ge- samte in mCi	spezifi- sche in mCi/ mMol		in dpm/mg	in dpm/mMol 10^5		
[1- 14 C]-DL-Phenylalanin	0,1	44,2	341	31 830	152	4,9	15,2
[2- 14 C]-DL-Phenylalanin	0,1	14,7	330	44 800	214,5	6,7	66
[U- 14 C]-L-Phenylalanin +	0,1	15,3	575	40 166	192	10,4	56,7
[4'-T]-L-Phenylalanin	1,0	6,05	575	431 333	2065	–	–
[1- 14 C]-Na-Propionat	0,1	25,8	423	1 510	7,3	0,296	1,263
[2- 14 C]-Na-Propionat	0,1	9,9	357	2 460	11,78	0,405	5,36
[1- 14 C]-Na-Malonat	0,1	14,5	311	2 000	9,57	0,333	1,78
[2- 14 C]-Na-Malonat	0,1	10,3	435	5 323	25,5	1,04	11,2
[1- 14 C]-Na-Acetat	1,0	0,87	1 300	2 100	10,05	0,123	52
[Methyl- 14 C]-L-Methionin	0,1	25,0	387	10 966	52,5	1,965	9,47
[2- 14 C]-Mevalonat	0,25	5,03	1 300	33	0,1578	0,00773	0,0142

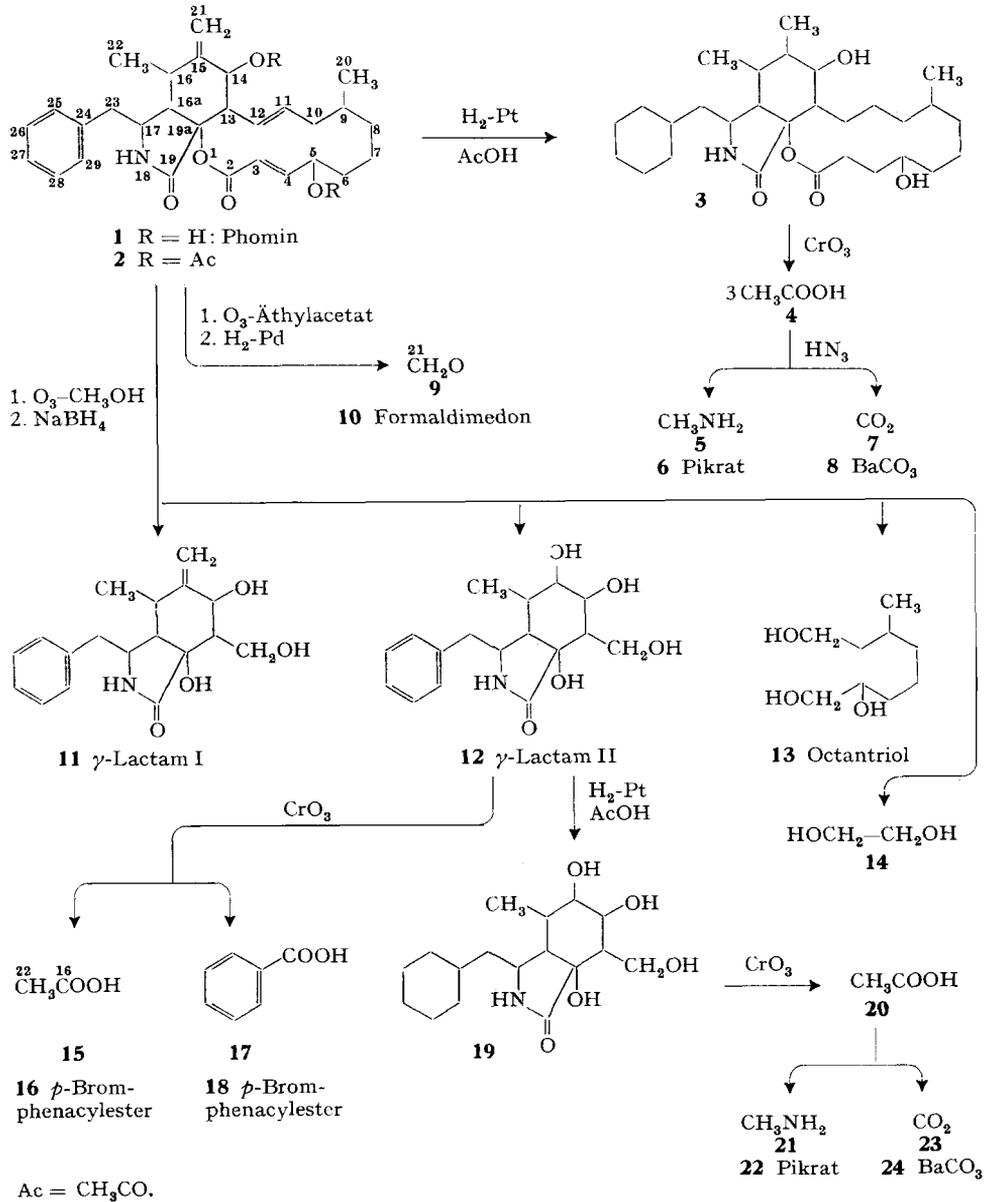
Oxydation von γ -Lactam II (**12**) nach *Kuhn-Roth* unter speziell ausgearbeiteten Bedingungen ergab je ein Äquivalent Essigsäure (**15**) (C-Atome Nr. 22 und 16) und Benzoesäure (**17**) (C-Atome Nr. 23–29), die in die *p*-Bromphenacylester **16** bzw. **18** übergeführt und durch präparative Dünnschichtchromatographie getrennt wurden.

Katalytische Hydrierung von γ -Lactam II (**12**) in Eisessig mit PtO_2 führte zu Hexahydro- γ -Lactam II (**19**), aus dem sich durch Oxydation nach *Kuhn-Roth* nur ein Äquivalent Essigsäure (**20**) gewinnen liess, welches nach *Schmidt* zu Methylamin (**21**) und CO_2 (**23**) abgebaut wurde. Die Abbauprodukte wurden in das Pikrat **22** bzw. in BaCO_3 (**24**) übergeführt (vgl. Formelschema 1).

Das dritte Spaltprodukt, 3-Methyloctan-1,7,8-triol (**13**), lieferte beim Behandeln mit Perjodsäure Formaldehyd (**25**), der als das Dimedonderivat **26** isoliert wurde (C-Atom Nr. 4), und 5-Methyl-7-hydroxy-heptanal (**28**).

Der Hydroxyaldehyd **28** liess sich mit CrO_3 und H_2SO_4 in Aceton zu (+)-3-Methylpimelinsäure (**29**) oxydieren, deren Di-*p*-Bromphenacylester **30** bereitet wurde. Abbau

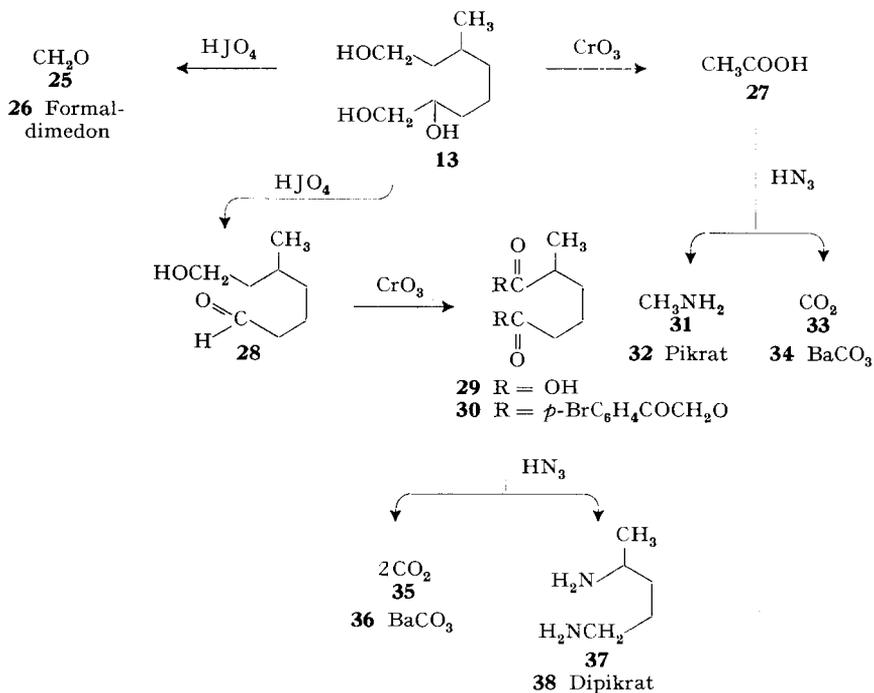
Formelschema 1. Abbaureaktionen von Phomin (**1**)



von **29** mit NaN_3 und Polyphosphorsäure nach *Schmidt* lieferte CO_2 (**35**) (C-Atome Nr.5 und 11) und 2-Methylpentan-1,5-diamin (**37**), die als BaCO_3 (**36**) bzw. als Dipikrat **38** isoliert wurden.

Die Oxydation von Octantriol **13** nach *Kuhn-Roth* ergab ein Äquivalent Essigsäure (**27**) (C-Atome Nr.20 und 9), welche nach *Schmidt* zu Methylamin (**31**) und CO_2 (**33**) abgebaut wurde, die dann in das Pikrat **32** und das Ba-Salz **34** übergeführt wurden (vgl. Formelschema 2).

Formelschema 2. Abbaureaktionen von 3-Methyloctan-1,7,8-triol (**13**)



Zusammenfassung der Abbaureaktionen: Einzelnen sind damit die C-Atome Nr. 4, 9, 16, 20, 21 und 22 erfasst worden, gemeinsam die C-Atome Nr. 5 und 11, als Differenz C-Atome Nr. 15 und Nr. 1 und 2 (Glykol (**14**)), ferner die C-Atome Nr. 23–29 als Benzoesäure (**17**) (vgl. Fig. 4).

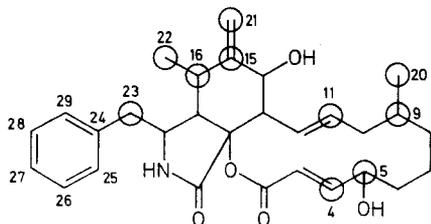


Fig. 4. Durch den Abbau bestimmte C-Atome

Auf Grund der geringen für Abbauprobieren zur Verfügung stehenden Substanzmengen gelang es bisher nicht, weitere Atome aus der Molekel zu isolieren. Die volle Abbausequenz wurde nicht auf alle radioaktiven Phominpräparate angewendet. Bei den bei Verabreichung von [1-¹⁴C]-DL- und L-Phenylalanin und [2-¹⁴C]-DL-Phenylalanin erhaltenen Phominproben verzichteten wir auf einen Abbau, da es nicht möglich war, die Atome, an denen wir Aktivität erwarteten, zu erfassen. Bei dem mit [Methyl-¹⁴C]-Methionin als Vorläufer gewonnenen Phomin beschränkte sich der Abbau auf das Erfassen der beiden Methylgruppen und der exocyclischen Methylengruppe (C-Atome Nr. 20, 22 und 21).

Die Radioaktivitäten wurden mittels Flüssigkeitsszintillation [7] gemessen³⁾.

Die in den Tabellen 2–7 (vgl. Exper. Teil) enthaltenen Werte sind korrigierte Mittelwerte von Dreifach-Bestimmungen.

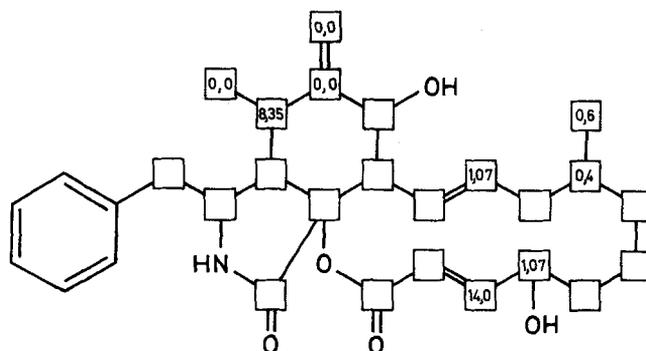


Fig. 5. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von [2-¹⁴C]-Na-Acetat⁴⁾ (vgl. Tab. 2)

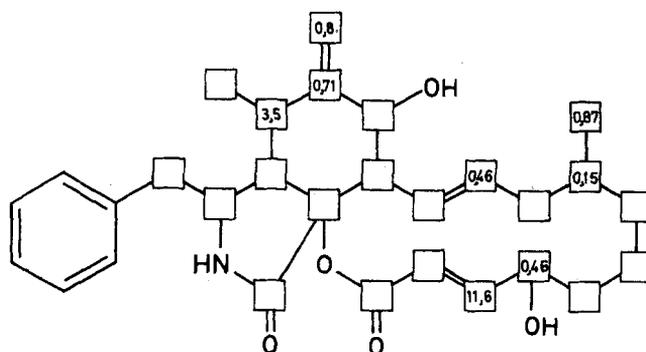


Fig. 6. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von [1-¹⁴C]-Na-Malonat⁴⁾ (vgl. Tab. 3)

³⁾ Die Durchführung der Radioaktivitätsmessungen verdanken wir Herrn Dr. F. Kalberer, Pharmazeutische Forschungslaboratorien der Sandoz AG, Basel.

⁴⁾ Die Werte in den Fig. 5–9 sind Prozente der Gesamtaktivität des jeweiligen Phominpräparats.

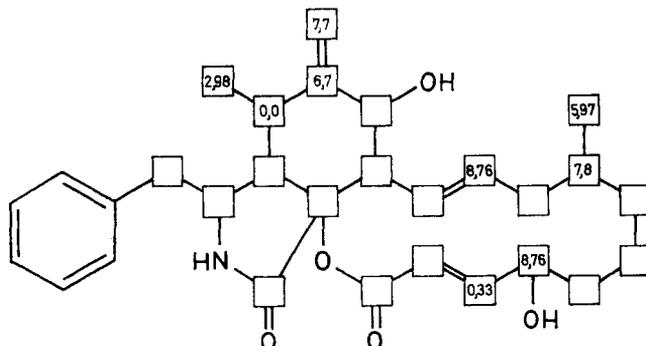


Fig. 7. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von $[2-^{14}\text{C}]\text{-Na-Malonat}^4)$
(vgl. Tab.4)

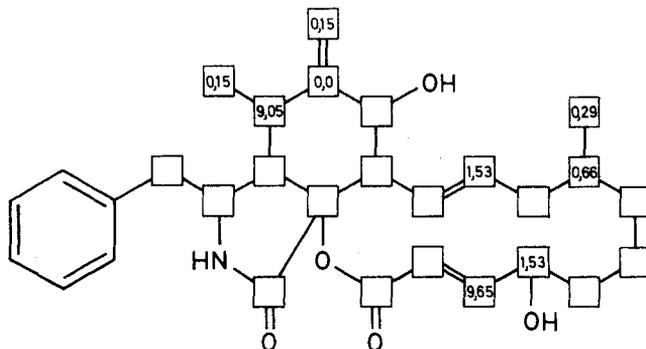


Fig. 8. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von $[2-^{14}\text{C}]\text{-Na-Propionat}^4)$
(vgl. Tab.6)

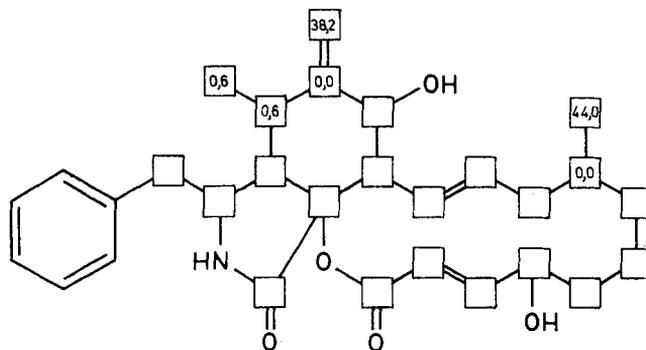


Fig. 9. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von $[\text{Methyl-}^{14}\text{C}]\text{-L-Methionin}^4)$
(vgl. Tab.7)

Diskussion der Resultate. – Die hohen absoluten Einbauraten der beiden racemischen Phenylalanine (in 1- bzw. 2-Stellung ^{14}C -markiert) von 4,9 bzw. 6,7% weisen auf einen direkten Einbau ohne Verlust der Carboxyl-Gruppe hin. Da Phomin am C-Atom Nr.17 die S-Konfiguration aufweist [8], vermuteten wir, dass L-Phenylalanin

besser als das Racemat eingebaut werden müsse, was jedoch nicht der Fall war. Beide Formen sind anscheinend für den Mikroorganismus äquivalent.

Um einen partiellen Verlust der Carboxylgruppe des Phenylalanins völlig auszuschliessen, haben wir in einem Versuch doppelt markiertes [$U\text{-}^{14}\text{C}, 4'\text{-T}$]-L-Phenylalanin verabreicht. Das so erhaltene Phomin (**1**) wurde wie oben erwähnt abgebaut und die C-Atom-Sequenz Nr. 23–29 als Benzoesäure-*p*-Bromphenacylester (**18**) isoliert. Die ^{14}C -Aktivität von **18** betrug 79% der Gesamtaktivität, was $\frac{7}{9}$ der Aktivität von Phomin (7 der 9 C-Atome von Phenylalanin) entsprach (berechnet 77,8%). Die T-Aktivität wurde zu 100% in **18** gefunden. Das Verhältnis der T/ ^{14}C -Aktivität im Vorläufer betrug 10,55, in Phomin 10,7 (ber. 10,55) und in **18** 12,9 (ber. 12,8). Es scheint damit bewiesen zu sein, dass Phenylalanin ohne Verlust der Carboxylgruppe und sehr wahrscheinlich ohne Gerüstumlagerungen in Phomin eingebaut wird.

Der wegen der Unspezifität des Vorläufers geringe Einbau von Acetat zeigt eine alternierende Verteilung der Aktivität in Phomin (vgl. Fig. 5). Wenn insgesamt 9 Essigsäure-Einheiten für Phomin benötigt werden, sollte die Aktivität auf γ -Lactam I (**11**), Octantriol **13** und Glykol (**14**) im Verhältnis 4:4:1 verteilt sein. Die gefundenen Werte von **11**:**13**:**14** = 46,7%:47,7%:5,6% liegen etwa in dieser Grössenordnung, wobei berücksichtigt werden muss, dass alle Atome durch Verschmierung eine Aktivität von etwa 1% der Gesamtaktivität zeigen, sich dabei aber doch deutlich von «echt» markierten Atomen (etwa 10% der Gesamtaktivität) unterscheiden. Dieselbe Verteilung der Radioaktivität zeigt der Einbau von [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-Malonat (vgl. Fig. 6), das ja das eigentliche Kettenverlängerungs-Agens der Fettsäure-Biogenese ist. Merklich geringer ist die Aktivität in den C-Atomen Nr. 16 und 22, was sehr gut verständlich ist, wenn sie die Rolle der Startereinheit übernommen haben. Die Malonsäure geht dabei in Essigsäure über und wird durch bereits vorhandenes «Acetat» verdünnt. Doppelt so hoch ist die Einbaurate von [$2\text{-}^{14}\text{C}$]-Malonat, geht doch bei [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-Malonat die Hälfte der Aktivität durch Decarboxylierung verloren. Auch hier entspricht die alternierende Verteilung der Aktivität (vgl. Fig. 7) derjenigen eines hypothetischen Polyketids bzw. einer gesättigten bzw. ungesättigten Fettsäure. Interessant ist, dass die C-Atome Nr. 20 und 21 (Methyl- und Methylen-Gruppe) eine beträchtliche Aktivität von 6,0 bzw. 7,7% der Gesamtaktivität zeigen, also vom mittleren C-Atom der Malonsäure abgeleitet sind. Bei [$1\text{-}^{14}\text{C}$]-Malonat ist die Verteilung der Aktivität auf **12**, **13** und **14** 35,6, 48,8 und 15,8%. Die theoretischen Werte sollten 3:4:1 also 37,5, 50 und 12,5% der Gesamtaktivität sein, da der γ -Lactam-Teil nur 3 Malonsäure-Einheiten enthält. Bei [$2\text{-}^{14}\text{C}$]-Malonat ist die Verteilung **12**:**13**:**14** = 32,6:48,8:10,9%. Subtrahiert man von **13** die Aktivität von 6,0% für C-Atom Nr. 20, liegen die Werte bei 32,6:42,8:10,9% und entsprechen recht gut den theoretischen Erwartungen.

[$1\text{-}^{14}\text{C}$]-Propionat bewirkte nicht die erwarteten Markierungen in 14- und 8-Stellung. Die Aktivität ist ausschliesslich auf den γ -Lactam-Teil der Molekel konzentriert und konnte nicht lokalisiert werden. Somit scheint Propionsäure keine Alternative für Acetat + C_1 -Einheit zu sein. [$2\text{-}^{14}\text{C}$]-Propionat dagegen führte zu der von Acetat- und Malonat bekannten alternierenden Aktivitätsverteilung (vgl. Fig. 8), wurde also wie Acetat als C_2 -Einheit inkorporiert, wobei C-Atom Nr. 2 der Propionsäure die Rolle der Carboxylgruppe der Essigsäure übernommen hat. Ein solcher Übergang von Propionsäure *via* Milchsäure in Essigsäure ist bekannt (vgl. [9]).

Einen hohen absoluten Einbau zeigte [Methyl- ^{14}C]-Methionin. Die Aktivität konnte in den C-Atomen Nr. 20 und 21 mit 44 bzw. 38% der Gesamtaktivität des Phomins lokalisiert werden (vgl. Fig. 9). Die Methylgruppe (C-Atom Nr. 22) trägt keine Aktivität. Auf eine Lokalisierung der restlichen 18% der Gesamtaktivität wurde verzichtet.

Die Resultate der Einbauversuche stützen unsere Annahme, dass Phomin aus Phenylalanin und einem hypothetischen Octaketid und einer Acetat-Einheit bzw. einem Nonaketid oder, was noch wahrscheinlicher ist, aus einer gesättigten oder ungesättigten C_{16} - oder C_{18} -Fettsäure, die vermutlich noch Carbonylgruppen enthält, aufgebaut wird. Als Starter dient Essigsäure bzw. Acetyl-Coenzym A, als Kettenverlängerungs-Agens Malonyl-Coenzym A und Essigsäure (nach biologischer Carboxylierung). Die 21-Methylen-Gruppe und die 20-Methyl-Gruppe leiten sich von Methionin oder Malonsäure ab, wobei andere C_1 -Lieferanten nicht ausgeschlossen werden können. Propionat ist keine Alternative für Acetat + C_1 -Einheit. Dieses Bauprinzip dürfte ebenfalls für 5-Dehydrophomin gelten, welches ja auch ein natürlicher Metabolit der *Phoma spec.* (Stamm S298) ist (vgl. Fig. 10).

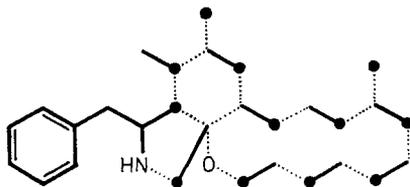


Fig. 10. Die Grundbausteine von Phomin und 5-Dehydrophomin

Über weitere biogenetische Zwischenstufen und die Reaktionsmechanismen, nach denen sie sich zu Phomin und 5-Dehydrophomin zusammenfügen, sowie über die biogenetischen Beziehungen dieser beiden mikrobiellen Stoffwechselprodukte zu den carbocyclischen Cytochalasinen werden wir in einer folgenden Mitteilung berichten.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekte Nr. 3945 und 2.48.68) sowie der SANDOZ AG, Basel, für die gewährte Unterstützung.

Experimenteller Teil

1. Allgemeines. – Die Smp. wurden auf dem Kofler-Block im Dunkelfeld bestimmt und sind korrigiert (Fehler $\pm 2^\circ$).

Substanzproben für Mikroanalysen und Radioaktivitätsbestimmungen wurden mindestens 2 Std. bei 0,005 Torr/30° getrocknet. BaCO_3 -Proben wurden 2 Std. unter einer IR.-Lampe getrocknet. Zur Säulenchromatographie (SC.) dienten «Kieselgel 0,05–0,2 mm» der Fa. E. Merck AG, Darmstadt, und neutrales Al_2O_3 (M. Woelm, Eschwege). Für die präparative Dünnschichtchromatographie (PDC.) benutzten wir «Kieselgel PF 254» (E. Merck) und für die Dünnschichtchromatographie (DC.) «Kieselgel G nach Stahl» (E. Merck) unter Zusatz von Zinksilicat als Fluoreszenzindikator. Zur Sichtbarmachung von Substanzen auf PDC. wurden UV.-Licht, auf DC. UV.-Licht, J_2 -Dämpfe oder spezifische Sprühreagentien verwendet.

2. Isolierung von Phomin (1). – *Phoma spec.* (Stamm S 298) wurde in Standkulturen zu je 100 ml Nährlösung gezüchtet. 5 l Nährlösung, die pro l 20 g Glucose, 2 g Pepton, 2 g Hefe-Extrakt, 2 g Malz-Extrakt, 2 g KH_2PO_4 , 2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ und entionisiertes Wasser enthielt, wurden auf 50 500-ml-Erlenmeyer-Kolben verteilt. Bei Inkorporationsversuchen wurde die wässrige Lösung des radioaktiven Vorläufers vor dem Verteilen zugegeben. Das Nährmedium wurde im Druckautoklaven sterilisiert, nach dem Abkühlen mit einer Suspension von *Phoma*-Sporen angeimpft und 11–12 Tage bei 18–22° inkubiert.

Die Kulturbrühe wurde vom Mycel abfiltriert und 4mal mit je 4 l Essigester ausgerührt, die dann jeweils 3mal mit je 1 l Waschwasser des Mycels gewaschen wurden. Das Mycel wurde in einem Mixer 2mal mit je 2 l Essigester zermahlen, dieser Mycel-Extrakt mit dem Kulturfiltrat-Extrakt vereinigt, filtriert und im Vakuum auf 500 ml eingengt. Trocknen über Na_2SO_4 und Abdampfen im Vakuum bei 70° lieferte etwa 2 g harzigen dunkelbraunen Roh-Extrakt, der in Methylenchlorid-Methanol-(9:1) gelöst und über 25 g Al_2O_3 (Aktivitätsstufe II) filtriert wurde. Der so erhaltene Extrakt wurde an der 100-fachen Menge Kieselgel chromatographiert. Da Phomin in Methylenchlorid-Methanol-(98:2) schlecht löslich ist, wurde der Extrakt an 10% der Kieselgelmenge adsorbiert und so auf die Säule gebracht. Elution mit Methylenchlorid-Methanol-(98:2) ergab in den Fraktionen 6 und 7 fast das gesamte Phomin, welches durch Umkristallisieren aus Aceton weiter gereinigt wurde: Ausbeute 60–120 mg/l Kulturbrühe. Das so isolierte Phomin war DC.-einheitlich (Methylenchlorid-Methanol-(95:5)). Smp. $220\text{--}221^\circ$ (Zers.).

3. Abbau von Phomin (1). – 3.1. *Dodecahydrophomin (3) aus Phomin (1)*. Eine Lösung von 30 mg (0,0625 mMol) Phomin in 10 ml Eisessig wurde 6 Std. über 100 mg PtO_2 hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde eingedampft, der Rückstand in Chloroform gelöst und die Lösung mit 10-proz. KHCO_3 und Wasser gewaschen und eingedampft. Umkristallisieren aus Chloroform-Petroläther lieferte 30,5 mg (0,0625 mMol, 99% d. Th.) Dodecahydrophomin (3). Smp. $185\text{--}188^\circ$, nach DC. und Misch-Smp. mit authent. Material identisch.

3.1.1. *Kuhn-Roth-Abbau von Dodecahydrophomin (3)*. 32 mg (0,065 mMol) 3 wurden mit 5 ml Oxydationslösung nach *Kuhn-Roth* [3] (100 g CrO_3 , 150 ml H_2SO_4 konz., 600 ml H_2O) im Bombenrohr 2 Std. auf $120\text{--}140^\circ$ erhitzt. Das Gemisch wurde mit Wasserdampf destilliert und das Destillat zur Entfernung von CO_2 kurz aufgekocht. Die im Destillat enthaltene Essigsäure (4) wurde gegen Phenolphthalein mit 0,01N NaOH-Lösung (Verbrauch 15,00 ml, 0,150 mMol) titriert. Ausbeute 76%. Nach Eindampfen im Vakuum resultierten 12 mg Na-Acetat (4a).

3.1.2. *Schmidt-Abbau von Na-Acetat (4a)*. 14 mg (0,175 mMol) 4a wurden in einer verschlossenen Spezialapparatur [5] bei 14 Torr mit 50 mg NaN_3 (0,77 mMol) und 1 g Polyphosphorsäure-Wasser-(95:5) 1,5 Std. auf 85° erwärmt. Das CO_2 (7) wurde in 15 ml wässriger $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Lösung (48 g $\text{Ba}(\text{OH})_2$ und 18 g BaCl_2/l) aufgefangen und das BaCO_3 (8) unter N_2 abzentrifugiert, mit Methanol-Wasser-(1:1) gewaschen und getrocknet: 29,5 mg (0,149 mMol, 85%) BaCO_3 (8). Die phosphorsaure Lösung von Methylamin (5) wurde mit 15 ml H_2O verdünnt und in einer geschlossenen Wasserdampfdestillations-Apparatur mit 5 ml 30-proz. NaOH-Lösung basisch gestellt. Dann wurden mit H_2O -Dampf 200 ml destilliert, die in einer Lösung von 100 mg Pikrinsäure in 2 ml Methanol und 20 ml H_2O aufgefangen wurden. Das Wasser wurde im Vakuum abdestilliert, der trockene Rückstand durch Aufkochen mit Benzol von Pikrinsäure befreit und das Pikrat 6 aus Äthanol umkristallisiert: 32,2 mg (0,124 mMol, 70,8%) reines Methylaminpikrat (6) vom Smp. $206\text{--}209^\circ$ (Zers.), welches nach Misch-Smp. mit einem authent. Präparat identisch war.

3.2. *Ozonolyse von Di-O-acetylphomin (2) mit reduktiver Spaltung der Ozonide mit H_2 -Pd.* – 3.2.1. *Di-O-acetylphomin (2) aus Phomin (1)*. Eine Lösung von 577 mg (1,21 mMol) Phomin in 10 ml abs. Pyridin und 3 ml Acetanhydrid wurde 44 Std. bei 23° stehengelassen. Mehrmaliges Abdampfen mit Benzol und Methylenchlorid im Vakuum ergab 680 mg rohes 2, das an 50 g Kieselgel mit Methylenchlorid-Methanol-(99:1) chromatographiert wurde. Aus den Fraktionen (je 50 ml) 7–10 resultierten 667 mg (1,18 mMol, 98%) Di-O-acetylphomin (2). Das DC.-einheitliche Produkt konnte nicht kristallisiert werden.

3.2.2. *Ozonolyse von Di-O-acetylphomin (2). Isolierung von Formaldehyd (9)*. Durch eine Lösung von 255 mg (0,454 mMol) 2 in 25 ml Essigester wurde bei -70° während 3 Min. 40 Sek. ein O_2/O_3 -Strom geleitet (200 ml $\text{O}_2/\text{Min.}$, O_3 -Gehalt 0,4 mMol/Min.). Die hellblaue Lösung der Ozonide wurde über 57 mg Pd- CaCO_3 hydriert, wobei wegen der Erwärmung der Lösung die H_2 -Aufnahme nicht bestimmt werden konnte. Der gebildete Formaldehyd (9) wurde nach Abfiltrieren des Katalysators durch 5maliges Extrahieren der Essigester-Lösung mit je 5 ml H_2O als wässrige Lösung isoliert, welche während 20 Min. mit H_2O -Dampf destilliert wurde. Das in einer Lösung von 80 mg Dimedon in 1 ml Methanol und 3 Tropfen Piperidin aufgefangene Destillat (200 ml) wurde auf 80° erwärmt, mit 2N H_2SO_4 auf pH 4 gestellt und stehengelassen, wobei sich einige Kristalle von Formaldimedon (10) abschieden. Nach Umkristallisieren aus Methanol-Wasser resultierten 14 mg Formaldimedon (10) vom Smp. $189\text{--}190^\circ$ (10,5%), welches nach DC., IR.-Spektrum und Misch-Smp. mit authent. Formaldimedon identisch war.

3.3. *Ozonolyse von Di-O-acetylphomin (2) mit reduktiver Spaltung der Ozonide mit NaBH₄.* –
 3.3.1. *Ozonolyse.* Durch eine Lösung von 667 mg (1,18 mMol) **2** in 100 ml Methanol wurde bei –75° während 11 Min. ein O₃/O₂-Strom geleitet (O₃-Gehalt 0,4 mMol/Min.). Die kalte Lösung wurde mit 1,25 g NaBH₄ in kleinen Portionen unter Rühren versetzt. Nach 1 Std. hatte sich die Lösung auf Raumtemp. erwärmt und enthielt keine Ozonide mehr. Sie wurde mit 40 ml 2N H₂SO₄ und 30 ml H₂O versetzt und im Vakuum auf 60 ml eingengt. Extraktion im *Kutscher-Stuedel*-Flüssigkeits-Extraktor während 72 Std., Trocknen des Extrakts über Na₂SO₄ und Eindampfen lieferte 756 mg Ozonolysengemisch als fast farbloses Harz, welches im DC. (Methylenchlorid-Methanol-(4:1)) im wesentlichen 3 Flecke zeigte.

3.3.2. *Trennung des Ozonolysengemisches.* Eine Lösung von 756 mg Ozonolysengemisch in 10 ml abs. Pyridin und 5 ml Acetanhydrid wurde 48 Std. bei 60° stehengelassen, wobei sich die Lösung dunkel färbte. Abdampfen mit Benzol und Methylenchlorid lieferte 836 mg acetylierte Ozonolysenprodukte als hellbraunes Harz. Dieses Gemisch wurde an 50 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(99,5:0,5) eluierten Fraktionen 4 und 5 (je 120 ml) enthielten 355 mg Triacetylderivat des Octantriols **13**; die mit Methylenchlorid-Methanol-(99:1) eluierten Fraktionen 9–13 enthielten das Tetra-acetylderivat von γ -Lactam II (**12**) und Spuren des Triacetylderivats von γ -Lactam I (**11**) (zusammen 397 mg). Das rohe Triacetylderivat des Octantriols **13** wurde im Kugelrohr bei 0,005 Torr/130° destilliert. Das farblose Produkt (270 mg, 77,3%, $n_D^{25} = 1,4412$) war nach DC. und IR.-Spektrum mit einem authent. Muster identisch. Eine Lösung von 270 mg (0,895 mMol) Tri-O-acetyl-**13** in 25 ml abs. Äther wurde mit 0,5 g LiAlH₄ (13,2 mMol) 1,5 Std. unter Rückfluss gekocht, worauf das überschüssige LiAlH₄ mit Wasser und 2N H₂SO₄ unter Eiskühlung zersetzt wurde. Der Äther wurde im N₂-Strom entfernt und die wässrige Lösung von 3-Methyl-1,7,8-octantriol (**13**) im *Kutscher-Stuedel*-Apparat 62 Std. mit Methylenchlorid extrahiert. Die über Na₂SO₄ getrocknete Lösung lieferte nach dem Eindampfen 155 mg (98%) **13** als farbloses viskoses Öl.

Das Tetra-O-acetylderivat von γ -Lactam II (**12**) wurde durch PDC. (Methylenchlorid-Methanol-(95:5)) gereinigt. Eine Lösung dieses Produktes in 45 ml Methanol und 20 ml 2N Na₂CO₃-Lösung wurde 4 Std. bei 22° gerührt. Die Lösung wurde mit 2N HCl neutral gestellt, das Methanol abgedampft und die restliche wässrige Phase im *Kutscher-Stuedel*-Apparat 72 Std. mit Methylenchlorid extrahiert. Es resultierten 265 mg γ -Lactam II (**12**), welches erneut durch mehrfache PDC. (Methylenchlorid-Methanol-(8:2)) gereinigt wurde.

3.4. *Kuhn-Roth-Abbau von γ -Lactam II (12).* 28 mg (0,087 mMol) γ -Lactam II wurden mit 6 ml verdünnter Oxydationslösung (vgl. 3.1.2., aber 900 ml H₂O) nach *Kuhn-Roth* im Bombenrohr 1 Std. auf 130° erhitzt. Die dabei entstandenen Essigsäure (**15**) und Benzoesäure (**17**) wurden mit Wasserdampf überdestilliert und wie beschrieben mit 0,0054N NaOH-Lösung titriert. Die Natriumsalze **15a** und **17a** der beiden Säuren wurden isoliert und in 0,75 ml H₂O und 0,75 ml Methanol bei pH 5–6 mit 90 mg *p*-Bromphenacylbromid (0,33 mMol) 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde abgedampft. Der Rückstand (110 mg), mittels PDC. (Cyclohexan-Benzol-(3:7)) getrennt, ergab 18 mg Essigsäure-*p*-Bromphenacylester (**16**) (0,0685 mMol, 79%) und 15 mg Benzoesäure-*p*-Bromphenacylester (**18**) (0,047 mMol, 55%). **16** und **18** waren nach DC. und Misch-Smp. mit authent. Präparaten identisch.

3.5. *Abbau von Hexahydro- γ -Lactam II (19).* – 3.5.1. *Hexahydro- γ -Lactam II (19).* Eine Lösung von 20 mg (0,062 mMol) γ -Lactam II (**12**) in 10 ml Eisessig wurde über 100 mg PtO₂ während 6 Std. hydriert. Vom Katalysator wurde abfiltriert, der Eindampfrückstand in Chloroform gelöst, durch Schütteln mit 10-proz. KHCO₃-Lösung und Wasser von Säureresten befreit und erneut eingedampft. Das Rohprodukt lieferte mittels PDC. (Chloroform-Methanol-(85:15)) 20 mg (0,061 mMol, 99%) **19**.

Bei der Mikrohydrierung verbrauchte eine Probe γ -Lactam II (**12**) 3 Äquivalente H₂. IR.-Spektrum (KBr) von **19**: u. a. Banden bei 3600–3000, breit (OH, NH assoz.); 2930; 2850; 1690 bis 1670 (C=O, γ -Lactam); 1450; 1040 breit (OH assoz.) cm⁻¹.



3.5.2. *Kuhn-Roth-Abbau von Hexahydro- γ -Lactam II (19).* 21 mg **19** wurden mit 5 ml Oxydationslösung wie bei 3.1.2. beschrieben behandelt. Aus der Titration mit 0,01N NaOH-Lösung ergab sich eine Ausbeute von 0,051 mMol (80%) Essigsäure (**20**), die als ihr Na-Salz **20a** isoliert und wie

in 3.1.3. beschrieben nach *Schmidt* zu Methylamin (**21**) und CO₂ (**23**) abgebaut wurde. **21** und **23** wurden als Pikrat **22** bzw. BaCO₃ (**24**) gefasst.

3.6. *Abbau von 3-Methyloctan-1,7,8-triol (13)*. – 3.6.1. *Perjodatspaltung*. 83,4 mg (0,473 mMol) **13** wurden mit einer Lösung von 130 mg H₅JO₈ (0,573 mMol) in 20 ml H₂O versetzt und unter Lichtausschluss 22 Std. bei 23° stehengelassen. 3maliges Extrahieren mit je 30 ml Äther lieferte nach Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen 59,5 mg 5-Methyl-7-hydroxy-heptanal (**28**) als farbloses viskoses Öl, welches im IR.-Spektrum (Methylenchlorid; 20 mg/ml) u. a. Banden bei 3620 (OH); 2930; 2870; 2850; 2820 und 2730 (*Fermi*-Banden); 1725 (C=O); 1460; 1380 und 1050 cm⁻¹ zeigte. Der Hydroxy-aldehyd **28** wurde wegen seiner Oxydationsempfindlichkeit sofort weiterverarbeitet.

Die wässrige Phase der Perjodatspaltung wurde während 20 Min. mit Wasserdampf destilliert, wobei das den entstandenen Formaldehyd (**25**) enthaltende Destillat in einer Lösung von 160 mg Dimedon in 30 ml Methanol, 80 ml H₂O und 3 Tropfen Piperidin aufgefangen wurde. Das sofort ausgefallene Formaldimedon (**26**) wurde abfiltriert und aus Methanol umkristallisiert: 95 mg **26** vom Smp. 191–192°, die nach DC., IR.-Spektrum und Misch-Smp. mit einer authent. Probe identisch waren.

3.6.2. *Oxydation von 5-Methyl-7-hydroxy-heptanal (28) zu (+)-3-Methylpimelinsäure (29)*. Eine Lösung von 128 mg (0,89 mMol) **28** in 5 ml über KMnO₄ dest. Aceton wurde tropfenweise mit CrO₃-Oxydationslösung in Aceton bis zur bleibenden Braunfärbung versetzt. Nach kurzem Erwärmen auf 50° wurde 30 Min. stehengelassen und der CrO₃-Überschuss durch Zugabe von 1 ml Methanol und erneutes Stehenlassen (30 Min.) zerstört. Die Lösung wurde mit 20 ml H₂O verdünnt und nach Entfernen des Acetons im Vakuum 3mal mit je 40 ml frischem Äther extrahiert. Durch Ausziehen der Äther-Lösung mit 10-proz. KHCO₃-Lösung, erneutes Sauerstellen und Extrahieren mit Äther wurden 110 mg (0,633 mMol, 71%) (+)-3-Methylpimelinsäure (**29**) als viskoses Öl erhalten. IR.-Spektrum identisch mit dem eines authent. Präparates.

Eine Lösung von 20,8 mg (0,119 mMol) **29** in 0,5 ml H₂O und 2 ml Äthanol wurde bei pH 5–6 mit 66 mg (0,237 mMol) *p*-Bromphenacylbromid 2 Std. unter Rückfluss gekocht, nach Abkühlen

Tabelle 2. *Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von [1-¹⁴C]-Na-Acetat*

Substanz Nr.	Bezeichnung	C-Atome Nr.	Aktivität		% der G.A.*)
			dpm/mg	dpm/mMol	
1	Phomin	1–29	2127	1018 000	100
3	Dodecahydro-Phomin	1–29	2070	1015 000	100
6	Methylaminpikrat	20, 21, 22	0	0	0
8	BaCO ₃	9, 15, 16	129	76 830	7,8
11	γ-Lactam I	12–19 21–29	1510	479 000	46,7
13	3-Methyloctan- 1,7,8-triol	4–11, 20	2760	486 000	47,7
16	Essigsäure- <i>p</i> -Brom- phenacylester	16, 22	330	84 800	8,35
18	Benzoessäure- <i>p</i> -Brom- phenacylester	23–29	50	16 000	1,59
26	Formaldimedon	4	490	143 000	14,0
30	(+)-3-Methylpimelin- säure-di- <i>p</i> -Brom- phenacylester	5–11, 20	604	343 000	33,7
30'	<i>dito</i> , verdünnt	5–11, 20	56	31 800	33,7
32	Methylaminpikrat	20	23	5 980	0,6
34	BaCO ₃	9	20	3 940	0,4
36	BaCO ₃	5, 11	5	984	1,07
38	2-Methylpentan-1,5- diamindipikrat	6–10, 20	52	29 900	31,6

*) G.A. = Gesamtaktivität.

Tabelle 3. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von [^{14}C]-*Na*-Malonat

Substanz Nr.	Bezeichnung	C-Atome Nr.	Aktivität		% der G.A. *)
			dpm/mg	dpm/mMol	
1	Phomin	1–29	1998	957 000	
1'	<i>dito</i> , verdünnt	1–29	810	388 000	100
6	Methylaminpikrat	20, 21, 22	8,3	2158	0,55
8	BaCO ₃	9, 15, 16	27	5320	1,36
12	γ -Lactam II	12–19 22–29	433	138 500	35,6
13	3-Methyloctan- 1, 7, 8-triol	4–11, 20	1073	188 900	48,8
16	Essigsäure- <i>p</i> -Brom- phenacylester	16, 22	64	16 500	4,2
18	Benzoessäure- <i>p</i> - Bromphenacylester	23–29	11,5	3680	0,85
22	Methylaminpikrat	22	0	0	0
24	BaCO ₃	16	64	12 600	3,5
26	Formaldimedon	4	154	44 900	11,6
30	(+)-3-Methylpimelin- säure-di- <i>p</i> -Brom- phenacylester	5–11, 20	254	144 000	37,2
32	Methylaminpikrat	20	13	3380	0,87
34	BaCO ₃	9	3	591	0,15
36	BaCO ₃	5, 11	9	1773	0,46
38	2-Methylpentan-1, 5- diamindipikrat	6–10, 20	241	138 300	35,6

Tabelle 4. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von [^{14}C]-*Na*-Malonat

Substanz Nr.	Bezeichnung	C-Atome Nr.	Aktivität		% der G.A. *)
			dpm/mg	dpm/mMol	
1	Phomin	1–29	5323	2550 000	
1'	<i>dito</i> , verdünnt	1–29	1663	795 000	100
6	Methylaminpikrat	20, 21, 22	170	44 200	5,55
8	BaCO ₃	9, 15, 16	196	38 400	4,77
12	γ -Lactam II	12–19 22–29	814	260 000	32,6
13	3-Methyloctan- 1, 7, 8-triol	4–11, 20	2205	388 130	48,8
16	Essigsäure- <i>p</i> -Brom- phenacylester	16, 22	95	25 000	3,12
18	Benzoessäure- <i>p</i> -Brom- phenacylester	23–29	21,5	6800	0,86
22	Methylaminpikrat	22	91	23 700	2,98
24	BaCO ₃	16	0	0	0
26	Formaldimedon	4	9	2630	0,33
30	(+)-3-Methylpimelin- säure-di- <i>p</i> -Brom- phenacylester	5–11, 20	678	385 500	48,4
32	Methylaminpikrat	20	183	47 500	5,97
34	BaCO ₃	9	315	62 000	7,8
36	BaCO ₃	5, 11	354	69 700	8,76
38	2-Methylpentan-1, 5- diamindipikrat	6–10, 20	385	221 000	27,8

*) G.A. = Gesamtaktivität.

mit 15 ml H₂O versetzt und mit Methylenchlorid extrahiert. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen wurden 73 mg Rohprodukt erhalten, welche mittels PDC. (Methylenchlorid-Methanol- (996:4)) 21 mg (0,37 mMol, 31%) (+)-3-Methylpimelinsäure-di-*p*-Bromphenacylester (**30**) vom Smp. 104–106° ergaben; nach DC., IR.-Spektrum und Misch-Smp. identisch mit einem authent. Präparat.

 Tabelle 5. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von [¹⁻¹⁴C]-*Na*-Propionat

Substanz Nr.	Bezeichnung	C-Atome Nr.	Aktivität		% der G.A. *)
			dpm/mg	dpm/mMol	
1	Phomin	1–29	1510	723000	
1'	<i>dito</i> , verdünnt	1–29	832	398000	100
6	Methylaminpikrat	20, 21, 22	0	0	0
8	BaCO ₃	9, 15, 16	0	0	0
11	γ -Lactam I	12–19 21–29	1130	358000	90
12	γ -Lactam II	12–19 22–29	1085	350000	88
13	3-Methyloctan- 1,7,8-triol	4–11, 20	23	4050	1,02
26	Formaldimedon	4	0	0	0
30	(+)-3-Methylpimelin- säure-di- <i>p</i> -Brom- phenacylester	5–11, 20	0	0	0
32	Methylaminpikrat	20	0	0	0
34	BaCO ₃	9	0	0	0
36	BaCO ₃	5, 11	0	0	0
38	2-Methylpentan-1,5- diamindipikrat	6–10, 20	0	0	0

 Tabelle 6. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von [²⁻¹⁴C]-*Na*-Propionat

Substanz Nr.	Bezeichnung	C-Atome Nr.	Aktivität		% der G.A. *)
			dpm/mg	dpm/mMol	
1	Phomin	1–29	2460	1178000	
1'	<i>dito</i> , verdünnt	1–29	929	445000	100
6	Methylaminpikrat	20, 21, 22	6,7	1720	1,0
8	BaCO ₃	9, 15, 16	63	38526	8,6
12	γ -Lactam II	12–19 22–29	545	174945	39,3
13	3-Methyloctan- 1,7,8-triol	4–11, 20	1090	192900	43,7
16	Essigsäure- <i>p</i> -Brom- phenacylester	16, 22	160	41000	9,2
18	Benzoessäure- <i>p</i> -Brom- phenacylester	23–29	13	4150	0,93
26	Formaldimedon	4	147	42900	9,65
30	(+)-3-Methylpimelin- säure-di- <i>p</i> -Brom- phenacylester	5–11, 20	264	150000	33,7
30'	<i>dito</i> , verdünnt	5–11, 20	85	47800	33,7
32	Methylaminpikrat	20	5	1300	0,29
34	BaCO ₃	9	15	2960	0,66
36	BaCO ₃	5, 11	11	2170	1,53
38	2-Methylpentan-1,5- diamindipikrat	6–10, 20	81	46500	32,8

Tabelle 7. Verteilung der Radioaktivität in Phomin nach Verabreichung von [Methyl-¹⁴C]-Methionin

Substanz Nr.	Bezeichnung	C-Atome Nr.	Aktivität		% der G.A. *)
			dpm/mg	dpm/mMol	
1	Phomin	1–29	10996	5250000	
1'	<i>ditto</i> , verdünnt	1–29	2063	990000	100
10	Formaldimedon	21	1295	378000	38,2
1''	Phomin, verdünnt	1–29	4720	2260000	100
32	Methylaminpikrat	20	3884	996000	44,0
34	BaCO ₃	9	8	1570	0,01
1'''	Phomin, verdünnt	1–29	1950	935000	100
3	Dodecahydrophomin	1–29	1906	935000	100
6	Methylaminpikrat	20, 21, 22	990	258000	82,8
8	BaCO ₃	9, 15, 16	0	0	0
16	Essigsäure- <i>p</i> -Bromphenacyl-ester	16, 22	42	11200	1,2

*) G.A. = Gesamtaktivität.

3.6.3. Schmidt-Abbau von (+)-3-Methylpimelinsäure (**29**). In der Spezialapparatur nach *Britt* (vgl. auch [5]) wurden 22,8 mg (0,131 mMol) (+)-3-Methylpimelinsäure (**29**) mit 50 mg (0,77 mMol) NaN₃ und 1 g Polyphosphorsäure-Wasser-(95:5) 1,5 Std. auf 85°/14 Torr erhitzt.

Das CO₂ (**35**) wurde wie beschrieben aufgefangen, wobei 37 mg (0,188 mMol, 71,5%) BaCO₃ (**36**) resultierten.

Die phosphorsaure Lösung des Diamins **37** wurde mit 5 ml 30-proz. NaOH-Lösung basisch gestellt und im *Kutscher-Steu-del*-Apparat während 24 Std. mit Äther extrahiert. Das in Äther schlecht lösliche Dipikrat **38** schied sich dabei in feinen gelben Nadeln ab. Der gelöste Teil von **38** wurde durch Eindampfen des Gesamtextraktes und Entfernen überschüssiger Pikrinsäure mit Propanol isoliert. Umkristallisieren aus H₂O lieferte 28,2 mg (0,049 mMol, 37,6%) 2-Methylpentan-1,5-diamin-dipikrat (**38**) vom Smp. 194–196° (Zers.). $[\alpha]_D^{23} = +2,7^\circ \pm 0,1^\circ$ ($c = 8,60$ in Methanol).

C₁₈H₂₂N₈O₁₄ (574) Ber. C 37,63 H 3,86 N 19,51% Gef. C 37,87 H 3,96 N 19,38%

3.7. Kuhn-Roth-Abbau von 3-Methyloctan-1,7,8-triol (**13**). 40,4 mg **13**, wie beschrieben (vgl. 3.1.2.) mit 10 ml Oxydationslösung behandelt, ergaben 0,175 mMol (77%) Essigsäure (**27**), deren Na-Salz **27a** nach *Schmidt* zu Methylamin (**31**) und CO₂ (**33**) abgebaut wurde, die als Pikrat **32** bzw. BaCO₃ (**34**) isoliert wurden.

4. Verteilung der Radioaktivität nach Verabreichung von [¹⁴C]-markierten Verbindungen zu wachsenden Kulturen von *Phoma spec.* (Stamm S298): Vgl. Tabellen 2–7.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *W. Rothweiler & Ch. Tamm*, *Experientia* 22, 750 (1966); *Helv.* 53, 696 (1970).
- [2] *D.C. Aldridge, J.J. Armstrong, R.N. Speake & W.B. Turner*, *Chem. Commun.* 1967, 26; *J. chem. Soc.* 1967 (C), 1667.
- [3] *R. Kuhn & F.L'Orsa*, *Angew. Chem.* 44, 847 (1931); *Pregl & Roth*, «Quantitative Organische Mikroanalyse», 7. Auflage, Springer-Verlag, Wien 1958.
- [4] *Organic Reactions*, 3, 307–336 (1947): The *Schmidt*-Reaction.
- [5] *J. J. Britt*, Diss. ETH, Nr. 2948, Zürich 1959.
- [6] *F.G. Fischer, H. Düll & L. Ertel*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 65, 1467 (1932).
- [7] *F. Kalberer & J. Rutschmann*, *Helv.* 44, 1956 (1961).
- [8] *G. M. McLaughlin, G. A. Sim, J.-R. Kiechel & Ch. Tamm*, *Chem. Commun.*, 1970, im Druck.
- [9] *H. R. Mahler*, in *K. S. Markley* (Edit.), «Fatty Acids», Interscience, New York 1964.