

DIE GAMONE AUS BLAKESLEA TRISPORA

Zur Struktur der Sexualstoffe aus Mucoraceen. I.Mitt.\*)

Till Reschke

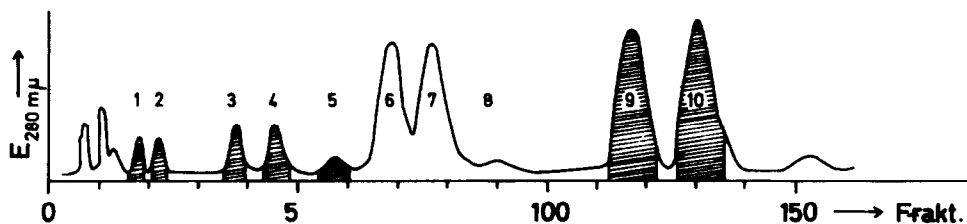
Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität  
Göttingen

(Received in Germany 15 July 1969; received in UK for publication 21 July 1969)

Eine kürzlich erschienene Veröffentlichung <sup>1)</sup> veranlaßt mich zur Mitteilung der folgenden Ergebnisse.

Die Gamone der Mucoracea Blakeslea trispora <sup>2-6)</sup> sind z.T. identisch mit den Trisporensäuren desselben Organismus <sup>1,7-10)</sup>. Sie lassen sich aus der filtrierten Lösung von Submers-( $\pm$ )-Kulturen des Pilzes durch Methylenchlorid-Extraktion bei pH 1-2 abtrennen. Durch Ionenaustausch-Chromatographie an Dowex 1 x 8 (Formiatform) im linearen Ameisensäure-Gradienten (0-9n HCOOH) gewinnt man aus dem Extrakt-Rückstand ein ( $\pm$ )-Rohgamon (UV:  $\lambda_{\max}$  325 m $\mu$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) als bernsteingelbes saures Harz <sup>7)</sup>.

Für die weitere Auftrennung ist bedeutsam, daß die durch Behandeln von Rohgamon mit äther. Diazomethan entstehende Mischung der Gamon-methylester im Agar-Plattentest gegen (+)- und (-)-Mycel von Mucor mucedo als Testorganismus noch voll sexualaktiv ist. Die Ester lassen sich durch Säulen-Chromatographie an Kieselgel H (E.Merck AG; 3 h bei 130° aktiviert) bei +10° aus Methylenchlorid auftrennen((Figur 1). von den so erhaltenen Zonen sind 1,2,3,4,9 und 10 nur gegen Testplatten des (-)-Mycel von Mucor muc. sexual aktiv; 5 ist nur schwach aktiv gegen (-)-Mycel (eventl. mit 4 verunreinigt), dagegen stark aktiv gegen das (+)-Mycel. - Damit ist erstmals präparativ



Figur 1: Chromatogramm des methylierten ( $\pm$ )-Rohgamons bei +10° an Kieselgel H aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

bestätigt, daß für das (+)- und das (-)-Mycel von Mucor muc. verschiedene Sexualstoffe existieren (vergl. <sup>6)</sup>).

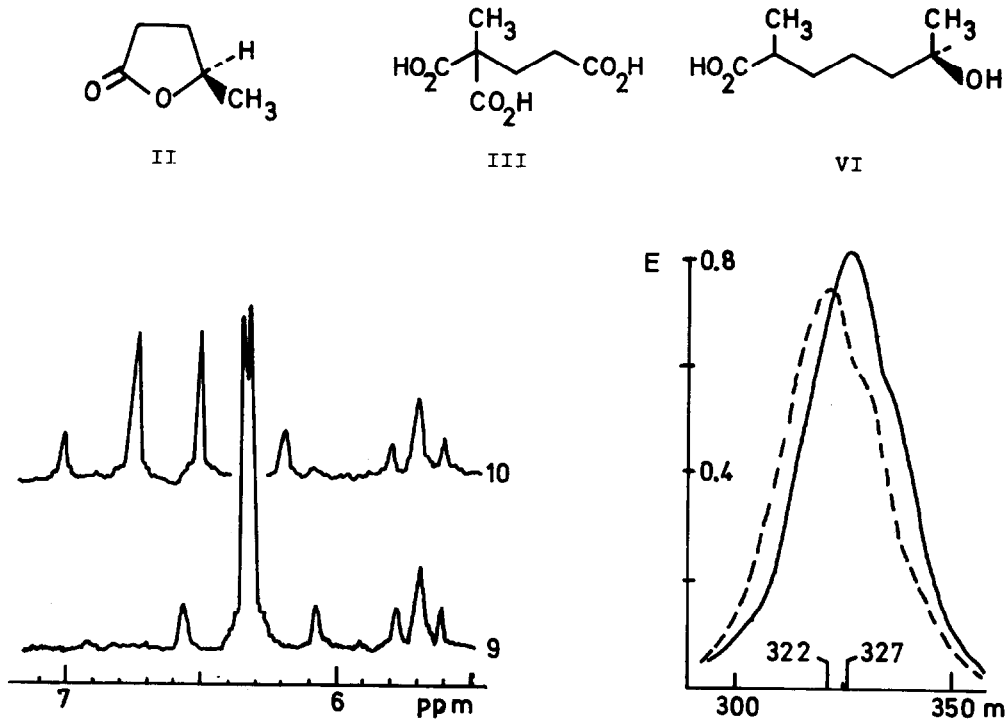
Die Charakterisierung der Hauptsubstanzen aus 9 und 10 ergab, daß es sich bei beiden um einen Monomethylester der Trisporsäure C (Ia) <sup>8,9)</sup> handelt: Summenformeln  $C_{19}H_{28}O_4$  (320) und Massenspektren stimmen überein. Beide verbrauchen bei katalytischer Hydrierung an Platin-Kontakt in Eisessig 3 Mol Wasserstoff. Nach Ozonolyse und oxydat. Aufarbeitung geben beide  $\gamma$ -Valerolacton (II) sowie Butan-1.1.3-tricarbonensäure (III), Essigsäure (IV; 1.7 Mol) und wenig Brenztraubensäure (V), deren Methylester gaschromatographisch getrennt und mittels NMR- und IR-Spektren charakterisiert wurden. Unvollständige Hydrierung von 9 bzw. 10 an Pd/Aktivkohle in Methanol gab Dihydro-Derivate von 9 bzw. 10, deren Ozonolyse III, IV (nur 1 Mol) und eine neue Säure lieferte, die in Form ihres Methylesters als 5-Hydroxy-1-methyl-hexan-1-carbonsäure (VI) charakterisiert werden konnte: identisches NMR-Spektrum mit authentischem VI, hergestellt aus 5-Keto-1-methyl-hexan-1-carbonsäure <sup>11)</sup>. Die weitere Zuordnung von 9 und 10 ermöglichte der NMR-spektroskopische Vergleich der Tetrahydro- und Hexahydro-Derivate mit den Daten von Tetrahydro- bzw. Hexahydro-trisporsäure-methylester C <sup>8)</sup>.

9 und 10 unterscheiden sich jedoch in ihren NMR-Spektren im Bereich von  $\delta = 5 - 7.5$  ppm (Figur 2) und in der Lage ihrer UV-Maxima (322  $\mu$  bzw. 327  $\mu$ , Figur 3) in Methylenchlorid. Auf Zusatz von Jod verschoben beide Lösungen im Licht ihr Maximum nach 325  $\mu$ , (9 unter geringem Extinktionsanstieg). Rechromatographie der mit Jod behandelten Lösungen zeigt für beide eine nahezu 1:1 Mischung von 9 und 10. - Demnach sind 9 und 10 die Methylester der cis/trans-isomeren Trisporsäuren C.

Die Strukturen der Substanzen aus 3 und 4 erwiesen sich als die gleicherweise cis/trans-isomeren Monomethylester der Trisporsäuren B (Ib) <sup>8)</sup>. Die in Summenformeln  $C_{19}H_{26}O_4$  (318) und Massenspektren gleichen Substanzen addieren 3 Mol Wasserstoff, absorbieren bei 322/327  $\mu$  ( $CH_2Cl_2$ ) und zeigen im NMR-Spektrum ebensolche Unterschiede wie 9/10, außerdem das Signal einer  $\alpha$ -Methylketon-Gruppierung (2.11 ppm, Singulet) statt der Methyl-carbinol-Gruppe (1.2 ppm, Dublett). Sie geben mit Jod Isomerisierung und bei der Ozonolyse Lävulinsäure (VIII) anstelle von II.

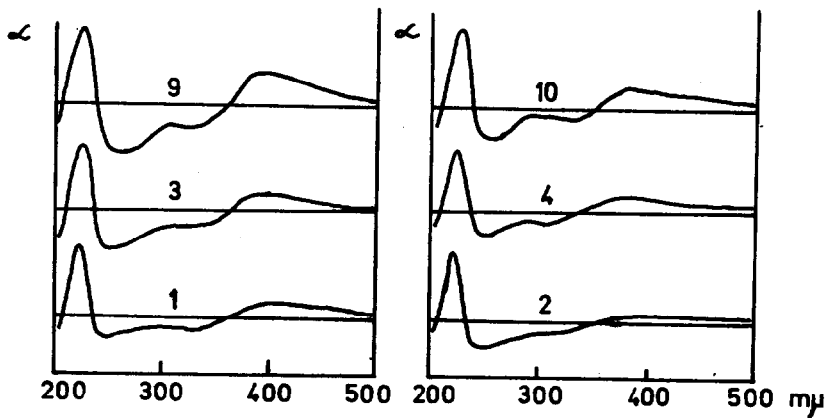
Ebenfalls cis/trans-isomere Substanzen sind 1 und 2: Summenformeln  $C_{19}H_{26}O_3$ , Massenspektren ( $M^+$ -Peak 302), Verbrauch von 4 Mol Wasserstoff und Ozonolyse zu III, IV (3 Mol) und Malonsäure (IX) statt II erweisen sie als die bisher nicht beschriebenen  $\Delta^{12}$ -Anhydro-trisporsäure C-methylester (X), deren UV-Maxima bei Jod-Isomerisierung von 322  $\mu$  bzw. 325  $\mu$  nach 324  $\mu$  verschoben.

Substanz 5, das (-)-Gamon, ließ sich wegen zu geringer Mengen bisher nur vorläufig spektroskopisch charakterisieren. Sein UV-Maximum bei 327  $\mu$  läßt auf den gleichen Chromophor wie in den Trisporsäuren schließen. Massenspektren



Figur 2: NMR-Spektren von 9 und 10 in  $\text{CDCl}_3$  im Bereich  $\delta = 5.5 - 7$  ppm

Figur 3: UV-Absorptionskurven von 9 (---) und 10 (—) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$



Figur 4: ORD-Kurven der (+)-Gamone in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

zeigen einen Molekülpeak 334 entsprechend der Formel  $C_{19}H_{26}O_5$ . - Die Zonen 6 und 7 enthalten Trisporsäure-Abbauprodukte, über die später berichtet werden soll.

#### ZUR STEREOCHEMIE DER TRISPORSÄUREN

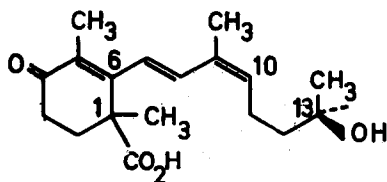
ORD-Messungen von 1,2,3,4,9 und 10 in Methylenchlorid geben für diese Substanzen gleiche Kurvenbilder (Figur 4); die sechs (+)-Gamone haben somit die gleiche Konfiguration an C-1. - 9 und 10 besitzen ein zweites Asymmetriezentrum an C-13. Das aus 10 erhaltene  $\gamma$ -Valerolacton (II) dreht das polarisierte Licht um  $[\alpha]_D^{25} = +7.5^\circ$  ( $CH_2Cl_2$ ), nicht ganz reines II aus 9 ebenso rechts. 9 und 10 haben demnach beide an C-13 gleiche Konfiguration wie D(-)- $\gamma$ -Hydroxyvaleriansäure (XI), welche R-konfiguriert ist.<sup>12,13)</sup>

Bleibt zu klären, an welcher Doppelbindung die cis/trans-Paare isomer sind. Die  $\Delta^5$ -Bindung ist durch den Cyclohexenring fixiert. Die  $\Delta^7$ -Bindung läßt sich ausschließen: Im Kalottenmodell ist die Konstruktion einer  $\Delta^7$ -cis-Bindung nur möglich, wenn alle Doppelbindungen des konjugierten Systems Winkel von nahezu  $90^\circ$  zueinander bilden. Dem widersprechen die spektroskopischen Befunde:

- 1) Die ORD-Kurven der cis- und trans-Verbindungen sind gleich;
- 2) der berechnete Wert für ein lineares "all-trans-Trienon" mit entsprechenden Substituenten stimmt mit  $325 \text{ m}\mu$ <sup>14)</sup> sehr gut mit den gefundenen Werten  $322 \text{ m}\mu$  bzw.  $327 \text{ m}\mu$  überein; außerdem ist der Unterschied von  $5 \text{ m}\mu$  und der geringe Extinktionsunterschied von 9 und 10 dafür zu klein;
- 3) die Kopplungskonstanten der AB-Protonen-Systeme  $H_7-H_8$  (Figur 2) sind mit  $J = 14 \text{ Hz}$  für 9 und  $J = 17 \text{ Hz}$  für 10 für eine cis-Substitution zu groß. Die Isomerie ist folglich auf die Stellung der aliphatischen  $C_4$ -Reste an C-10 der im Chromophor endständigen  $\Delta^9$ -Bindung beschränkt. Das erklärt auch, warum statt der denkbaren vier nur jeweils zwei Isomere auftreten.

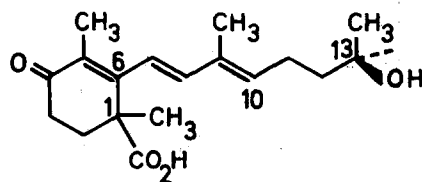
Somit ergibt sich für 9 die Formel des  $\Delta^9$ -cis-13R-Trisporsäure C-methylesters (XIIa) und für 10 die eines  $\Delta^9$ -trans-13R-Trisporsäure C-methylesters (XIIIa), in denen nur die Konfigurationsbestimmung an C-1 aussteht.

Dem entsprechend haben die Trisporsäure B-methylester 3 und 4 die Formeln XIIb bzw. XIIIb, während für die Anhydro-trisporsäure C-methylester 1 und 2 die Formeln XIV bzw. XV gelten.



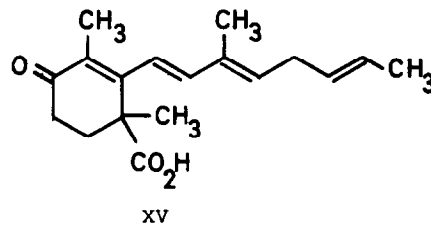
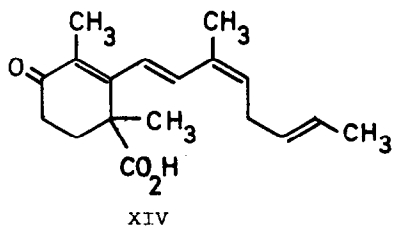
XIIa

b: C=O statt CHOH an C-13



XIIIa

b: C=O statt CHOH an C-13



#### REFERENZEN

- \*) Nach einem Vortrag auf dem Symposium für Molekularbiologie am 23. Sept. 1968 im Institut der Gesellschaft für Molekularbiologische Forschung mbH Braunschweig-Stöckheim.
- 1) H.v.d. Ende, J.Bacteriology **96**, 1298 (1968)
  - 2) H. Burgeff, M. Plempel, Naturwissenschaften **43**, 473 (1956)
  - 3) M. Plempel, G. Braunitzer, Z.f.Naturforsch. **13b**, 302 (1958)
  - 4) M. Plempel, Naturwissenschaften **47**, 472 (1960)
  - 5) M. Plempel, Planta **59**, 492 (1963)
  - 6) M. Plempel, Planta **65**, 225 (1965)
  - 7) M. Plempel, W. Frommer, K.H. Dahm, T. Reschke, Z.f.Naturforsch. (1969), im Druck.
  - 8) L. Caglioti et al., Tetrahedron Supplement **7**, 175 (1966)
  - 9) G. Cainelli et al., Chim.Ind.(Milan) **49**, 628 (1967)
  - 10) D.M. Thomas, T.W. Goodwin, Phytochemistry **6**, 355 (1967)
  - 11) L. Ruzicka, D.R. Kohlhaas, A.H. Wind, Helv.Chim.Acta **XIV**, 1165 (1931)
  - 12) P.A. Levene, H.L. Haller, J.Biol.Chem. **72**, 591 (1927)
  - 13) W.v.E. Doering, R.W. Joung, J.Amer.Chem.Soc. **74**, 2998 (1952)
  - 14) H.H. Jaffè, M. Orchin, Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy, J. Wiley and Sons, Inc. New York, London 1962.

Für die Unterstützung dieser Arbeit danke ich dem Direktor dieses Institutes, Herrn Prof. Dr. H.Brockmann, sowie den Farbenfabriken Bayer AG, Werk Elberfeld, insbesondere Herrn Dr. M.Plempel.