

## Die Cytochalasane, eine neue Klasse biologisch aktiver Metabolite von Mikroorganismen

Von Michael Binder und Christoph Tamm<sup>[\*]</sup>

In den letzten Jahren ist aus Mikroorganismen eine Reihe cytostatisch wirksamer Metabolite isoliert worden. Diese chemisch eng miteinander verwandten Verbindungen gehören einem neuartigen Strukturtypus an. Eine hochsubstituierte hydrierte Isoindolon-Einheit ist mit einem 11- bis 14-gliedrigen Makrocyclus verknüpft. Der große Ring kann carbocyclisch oder heterocyclisch (Lacton oder Kohlensäurediester) sein. Bei zwei Cytochalasanen (Phomin und einem Cytochalasin-D-Derivat) wurde die absolute Konfiguration durch eine Röntgen-Strukturanalyse aufgeklärt. Die Biogenese von Phomin (Cytochalasin B) ist in ihren Grundzügen bekannt, ein gemeinsames Biogeneschema aller Cytochalasane ist wahrscheinlich. Alle Verbindungen dieser Klasse zeigen eine mehr oder minder ausgeprägte spezifisch cytostatische Wirkung.

### 1. Einleitung und Nomenklatur

Kürzlich erschien unter dem Titel „Die Cytochalasine als Hilfsmittel bei cytologischen Untersuchungen“ eine von Carter<sup>[1]</sup> verfaßte Übersicht über die biologischen Wirkungen einer erst seit 1966 bekannten Stoffklasse, der Cytochalasane. Bisher sind zehn Vertreter dieser Gruppe isoliert worden, und es erschien uns angemessen, sozusagen als Komplement zu dem oben genannten Artikel die chemischen Fakten der Cytochalasane, Strukturaufklärung, Stereochemie und Biogenese in Form dieses Fortschrittberichts zusammenzustellen. Die biologischen Eigenschaften der Cytochalasane werden im letzten Abschnitt summarisch zusammengefaßt. Für detaillierte Information verweisen wir den interessierten Leser auf den zitierten Übersichtsartikel.

Alle Cytochalasane sind Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, z. T. von Schimmelpilzen. Anlaß zur Isolierung

dieser Verbindungen war die Beobachtung, daß Kulturfiltrate gewisser Mikroorganismen eine cytostatische Wirkung auf Zellkulturen in vitro ausüben<sup>[2]</sup>.

Die Isolierung und Strukturaufklärung der beiden ersten Vertreter dieser Substanzklasse gelang etwa gleichzeitig unabhängig voneinander in Basel<sup>[3]</sup> und durch Aldridge et al.<sup>[4]</sup> in den Forschungslaboratorien der ICI Ltd. in England.

Die in Basel aus Kulturfiltraten des Mikroorganismus *Phoma*, Stamm S 298, isolierten Verbindungen erhielten die Namen Phomin (2) und Dehydrophomin (3) in Analogie zum Namen des Mikroorganismus, die bei der ICI aus Kulturen von *Helminthosporium dematioides* gewonnenen die Namen Cytochalasin A (3) und B (2). Die Benennung bezieht sich hier auf die biologische Wirksamkeit der beiden Metabolite, sie leitet sich ab von κύτος, Zelle und χάλασις, Erschlaffung. Ein direkter Vergleich zeigte die Identität von Phomin (2) mit Cytochalasin B und von Dehydrophomin (3) mit Cytochalasin A.

Wenig später berichtete die englische Forschergruppe über die Strukturaufklärung zweier weiterer Cytochala-

[\*] Dr. M. Binder und Prof. Dr. Ch. Tamm  
Institut für Organische Chemie der Universität Basel  
St. Johannisring 19  
CH-4056 Basel (Schweiz)

sane, die aus Kulturen von *Metarrhizium anisopliae* isoliert worden waren<sup>[5]</sup>. Unglücklicherweise wurden auch diese beiden Verbindungen, die zwar chemisch eng verwandt mit den Cytochalasinen A (3) und B (2) sind, aber einem anderen Grundtypus der Cytochalasane angehören, nach der biologischen Wirkung Cytochalasin C (4) und D (5) benannt.

Genau wie im Fall von Phomin (2) wurde auch die Struktur von Cytochalasin D (5) ein zweites Mal aufgeklärt. Minato et al.<sup>[6]</sup> beschrieben nämlich ein in den Forschungslaboratorien der Shionogi & Co. Ltd., Japan, aus Kulturen von *Zygosporium masonii* isoliertes neues Antibiotikum, das nach dem Mikroorganismus Zygosporin A (5) genannt wurde. Aufgrund von noch vor Aufklärung der Struktur veröffentlichten Daten von Zygosporin A (5) schlossen Aldridge und Turner<sup>[7]</sup>, daß die Verbindung mit Cytochalasin D (5) identisch war, was zunächst von der japanischen Gruppe bestritten, später aber, nach unabhängig erfolgter Strukturaufklärung<sup>[8]</sup>, bestätigt wurde.

Aus den Fermentationen von *Zygosporium masonii* wurden außerdem einige in geringer Menge gebildete Metabolite, die Zygosporine D (6), E (7), F (8) und G (9), isoliert, die alle Varianten von Cytochalasin D (5) sind<sup>[9]</sup>.

1972 veröffentlichten Aldridge et al.<sup>[10]</sup> die Strukturen der beiden bislang letzten Cytochalasane. Cytochalasin F (1), aus Kulturen von *Helminthosporium dematioides* erhalten, ist ein Doppelbindungsisomeres von Phomin (2). Cytochalasin E (10), ein Stoffwechselprodukt von *Rosellinia necatrix*, ist der erste Vertreter des dritten Grundtypus der Cytochalasane.

So unterschiedlich wie die Benennung der Cytochalasane war auch die Bezifferung der Grundgerüste. Um die somit vollkommene Verwirrung aufzulösen, haben wir vor kurzem mit den beiden anderen Gruppen zusammen ein einheitliches, systematisches Nomenklatorsystem für alle Cytochalasane vorgeschlagen<sup>[11]</sup>, welches erlaubt, die drei Typen und ihre Derivate zwanglos als Abkömmlinge eines einzigen Grundtypus zu bezeichnen. Die der neuen Benennung zugrunde liegenden Regeln sollen kurz erläutert werden:

(I) Das hydrierte Isoindol inklusive Makrocyclus und Kohlenstoff-Substituenten am Isoindol mit Ausnahme des Phenylrings erhält den Namen Cytochalan. Diese von Cytochalasin abgeleitete Bezeichnung erschien uns günstiger als das äquivalente von Phomin abgeleitete Phoman, das aus historischen Gründen Priorität gehabt hätte, da in den biologisch orientierten Publikationen mehrheitlich der Name Cytochalasin B verwendet wird. (II) Die Größe des Makrocyclus wird durch die Zahl seiner Ringglieder, in eckigen Klammern unmittelbar vorangestellt, angegeben. (III) Die Stereochemie der Ringverknüpfungsstellen liegt fest. Sie ist bei allen Cytochalasanen die gleiche und wird deshalb nicht gesondert gekennzeichnet. Das gilt weitgehend auch für die Kohlenstoff-Substituenten des Isoindol-Teils. (IV) Insetierte Heteroatome, mit Ausnahme des Isoindol-Stickstoffs, werden durch die entsprechenden Präfixe bezeichnet. Im übrigen (weitere Substituenten, Doppelbindungen, absolute Konfiguration) wird nach den üblichen Regeln verfahren. Das neue System hat den Vorteil, daß sich nur in den Teilen des Moleküls, die sich

chemisch voneinander unterscheiden, andere Bezifferungen ergeben.

In Tabelle 1 sind die zehn bisher isolierten Cytochalasane mit ihren Trivialnamen, den systematischen Namen und den Mikroorganismen, aus deren Kulturen sie isoliert wurden, zusammengestellt.

Wegen des Umfangs der systematischen Namen, die im wesentlichen nur für den Spezialisten von Bedeutung sind, verwenden wir im Text dennoch, wenn es sich um ein spezifisches Cytochalan handelt, den in Tabelle 1 aufgeführten Trivialnamen. Bei denjenigen Cytochalasanen, für die mehr als ein Trivialname geprägt wurde, benutzen wir den in der Tabelle kursiv gesetzten, chronologisch früheren, ohne daß dieser Präferenz irgendeine Bedeutung zukommt.

Um Vergleiche zwischen den verschiedenen Cytochalasanen zu erleichtern, wird ausschließlich die neue einheitliche Numerierung verwendet. Diese Bezifferung entsprechend<sup>[11]</sup> stimmt nicht mit der in den bisherigen Publikationen<sup>[3-10, 12-14, 16-21]</sup> verwendeten überein und darf also nicht auf diese Arbeiten übertragen werden.

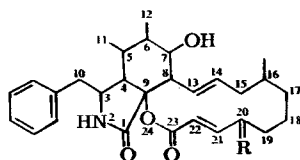
## 2. Aufklärung der Strukturen

### 2.1. Phomin (2), Dehydrophomin (3) und Cytochalasin F (1)

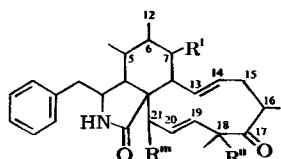
Die im Rahmen der Strukturaufklärung von Phomin (2) von den beiden Arbeitsgruppen durchgeführten Reaktionen sind in Abbildung 1 zusammengefaßt. In beiden Fällen wurden Molekulargewicht und Summenformel von Phomin (2) massenspektrometrisch ermittelt. Aus den Spektraldaten folgte das Vorhandensein eines Fünfring-Lactams, einer Estergruppe, zweier Hydroxygruppen, zweier *trans*-disubstituierter olefinischer Doppelbindungen und einer exocyclischen Methylengruppe. Das Basissignal im Massenspektrum bei *m/e* 91 ist charakteristisch für eine Benzylgruppe (Tropylium-Ion).

Im ersten Fall<sup>[3, 12]</sup> wurde Phomin einer Ozonolyse mit reduktiver Aufarbeitung (NaBH<sub>4</sub>) unterworfen, wobei die beiden  $\gamma$ -Lactame (11) und (12) sowie das aliphatische Triol (14) isoliert werden konnten. Letzteres reagierte mit Perjodat und besaß demnach eine Glykolgruppierung. Aus dem Massenspektrum und dem NMR-Spektrum folgte die Struktur dieses Bruchstücks als 6-Methyloctan-1,2,8-triol (14), was durch Abbau zur (3*R*)-3-Methylpimelinsäure (17) bewiesen wurde. Diese substituierte Pimelinsäure konnte auch aus (+)-Pulegon (18) synthetisiert werden<sup>[13]</sup> und war mit dem Abbauprodukt identisch. Da bei (+)-Pulegon (18) die absolute Konfiguration des chiralen Zentrums bekannt ist, war somit die Stereochemie an C(16) in Phomin (2) ebenfalls festgelegt.

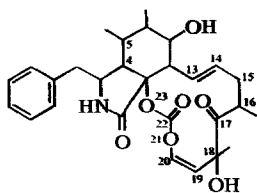
Die Strukturen der beiden  $\gamma$ -Lactame (11) und (12) wurden im wesentlichen durch Doppelresonanzversuche ermittelt. Das Lactam (11) reagierte mit Perjodat, woraus folgt, daß die Hydroxygruppe im sechsgliedrigen Ring  $\alpha$ -ständig zur exocyclischen Methylengruppe angeordnet war.



- (1),  $\Delta^{4,5}$ ; R = H, OH  
 (2),  $\Delta^{6,12}$ ; R = H, OH  
 (3),  $\Delta^{6,12}$ ; R = O



- (4),  $\Delta^{5,6}$ ; R' = R'' = OH; R''' = OAc  
 (5),  $\Delta^{6,12}$ ; R' = R'' = OH; R''' = OAc  
 (6),  $\Delta^{6,12}$ ; R' = R'' = R''' = OH  
 (7),  $\Delta^{6,12}$ ; R' = OH; R'' = H; R''' = OAc  
 (8),  $\Delta^{6,12}$ ; R' = R''' = OAc; R'' = OH  
 (9),  $\Delta^{6,7}$ ; R' = H; R'' = OH; R''' = OAc



(10),  $\Delta^{4,5}$

Die Atome Nr. 22 und 23 des Phomins (2) sind weder in (12) noch in (14) enthalten. Das postulierte Spaltprodukt, wahrscheinlich Glykolsäure (15), konnte nicht gefaßt werden.

In Dehydrophomin (3) ist eine der beiden Hydroxygruppen von Phomin (2) durch eine Ketogruppe ersetzt. Aus den Kernresonanzspektren ging eindeutig hervor, daß es sich dabei um die C(20)-Hydroxygruppe handelte. Das En-dion, die Partialsequenz C(20)-C(23), zeigt im UV-Spektrum eine charakteristische Absorption. Dehydrophomin (3) konnte schließlich aus Phomin (2) durch Behandeln mit  $\text{CrO}_3$ /Pyridin hergestellt werden. Die Verbindung isomerisiert unter Lichteinwirkung zu 21-*cis*-Dehydrophomin, das mit der *trans*-Form im Gleichgewicht steht.

Das eindeutige Zusammenfügen der Teilstrukturen zur Formel (2) für Phomin gelang wiederum aufgrund von Kernresonanzdaten und Einstrahlungsversuchen.

Im zweiten Fall<sup>[14]</sup> stand sehr viel mehr Material zur Verfügung, so daß auch drastische Abbaumethoden angewendet werden konnten.

Heftige Oxidation von Phomin (2) mit Salpetersäure lieferte u. a. ebenfalls 3-Methylpimelinsäure. Mit  $\text{NaBH}_4$  ließ sich Phomin (2) in das 21,22-Dihydroderivat (13) überführen, aus dem hydrolytisch die durch Öffnung des Makrocyclus gebildete Hydroxysäure oder deren Lacton mit der 20-Hydroxygruppe (16) erhalten wurde. Hieraus wurde geschlossen, daß eine der beiden *trans*-disubstituierten Doppelbindungen Teil des großen Ringes gewesen sein mußte. Die andere dieser beiden Doppelbindungen ließ sich durch Ozonolyse des Lactons (16) lokalisieren. Aus dem mit  $\text{H}_2$ /Pd aufgearbeiteten Ozonolysengemisch

Tabelle 1. Zusammenstellung der natürlichen Cytochalasane.

Verb.	Trivialname	Systematischer Name	Mikroorganismus	Lit.
(1)	Cytochalasin F	24-Oxa-[14]cytochalasane (7R,16R,20R)-7,20-Dihydroxy-16-methyl-10-phenyl-24-oxa-[14]cytochalasa-4(5),13',21'-trien-1,23-dion	<i>Helminthosporium dematioides</i>	[10]
(2)	Phomin = Cytochalasin B	(7S,16R,20R)-7,20-Dihydroxy-16-methyl-10-phenyl-24-oxa-[14]cytochalasa-6(12),13',21'-trien-1,23-dion	<i>Helminthosporium dematioides</i> , <i>Phoma spec.</i> S. 298	[3, 4, 12, 14]
(3)	Dehydrophomin = Cytochalasin A	(7S,16R)-7-Hydroxy-16-methyl-10-phenyl-24-oxa-[14]cytochalasa-6(12),13',21'-trien-1,20,23-trion	<i>Helminthosporium dematioides</i> , <i>Phoma spec.</i> S. 298	[3, 4, 12, 14]
(4)	Cytochalasin C	[11]Cytochalasane (7S,16S,18R,21R)-21-Acetoxy-7,18-dihydroxy-16,18-dimethyl-10-phenyl-[11]cytochalasa-5(6),13',19'-trien-1,17-dion	<i>Metarrhizium anisopliae</i>	[5]
(5)	Cytochalasin D = Zygosporin A	(7S,16S,18R,21R)-21-Acetoxy-7,18-dihydroxy-16,18-dimethyl-10-phenyl-[11]cytochalasa-6(12),13',19'-trien-1,17-dion	<i>Metarrhizium anisopliae</i> , <i>Zygosporium masonii</i>	[5, 6, 8]
(6)	Zygosporin D	(7S,16S,18R,21R)-7,18,21-Trihydroxy-16,18-dimethyl-10-phenyl-[11]cytochalasa-6(12),13',19'-trien-1,17-dion	<i>Zygosporium masonii</i>	[9]
(7)	Zygosporin E	(7S,16S,18R)-21-Acetoxy-7-hydroxy-16,18-dimethyl-10-phenyl-[11]cytochalasa-6(12),13',19'-trien-1,17-dion	<i>Zygosporium masonii</i>	[9]
(8)	Zygosporin F	(7S,16S,18R,21R)-7,21-Diacetoxy-18-hydroxy-16,18-dimethyl-10-phenyl-[11]cytochalasa-6(12),13',19'-trien-1,17-dion	<i>Zygosporium masonii</i>	[9]
(9)	Zygosporin G	(16S,18R,21R)-21-Acetoxy-18-hydroxy-16,18-dimethyl-10-phenyl-[11]cytochalasa-6(7),13',19'-trien-1,17-dion	<i>Zygosporium masonii</i>	[9]
(10)	Cytochalasin E	21,23-Dioxa-[13]cytochalasan 7,18-Dihydroxy-16,18-dimethyl-10-phenyl-21,23-dioxa-[13]cytochalasa-4(5),13',19'-trien-1,17,22-trion	<i>Rosellinia necatrix</i>	[10]

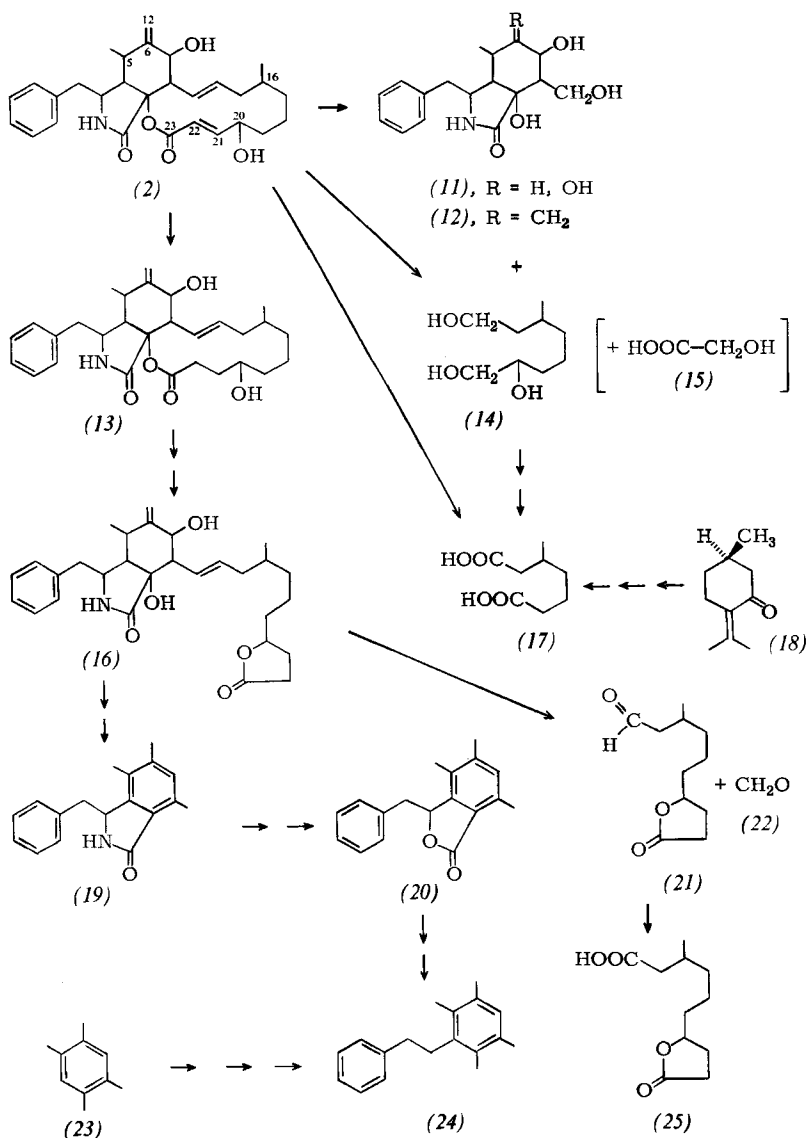


Abb. 1. Reaktionssequenzen zur Aufklärung der Struktur von Phomin (2).

konnten zwei Produkte, das Aldehydlacton (21) und Formaldehyd (22) (aus C(12)), jedoch kein den Lactamen (11) oder (12) entsprechendes Bruchstück isoliert werden. Die Struktur des Aldehydlactons (21), das zur Carbonsäure (25) oxidiert werden konnte, folgte eindeutig aus Massen- und Kernresonanzspektren.

Die Struktur des Lactamteils von Phomin wurde durch Alkalischemelze des Lactons (16) aufgeklärt. Das dabei erhaltene Phthalimidderivat (19) wurde über das Phthalid (20) in mehreren Stufen in das pentasubstituierte Benzolderivat (24) umgewandelt, dessen Struktur durch Synthese aus 1,2,4,5-Tetramethylbenzol (23) bewiesen wurde.

Auch hier wurde die richtige Anordnung der Teilstruktur aufgrund von Kernresonanzdaten erkannt.

Cytochalasin F (1)<sup>[10]</sup> ist nach dem Kernresonanzspektrum, in dem an die Stelle des Signals der exocyclischen Methylengruppe das Signal einer vinylicischen Methylengruppe getreten ist, ein Doppelbindungsisomeres von Phomin (2). Aus der Vereinfachung des Signals des

C(3)-Protons wurde geschlossen, daß die Doppelbindung sich in 4(5)-Stellung befindet. Mit Säure läßt sich Cytochalasin F (1) über das  $\Delta^{5(6)}$ -Isomere in Phomin (2) überführen. Diese Isomerisierungen sind irreversibel.

## 2.2. Cytochalasin D (5)

Wie schon erwähnt, wurden zwei voneinander unabhängige Wege zur Aufklärung der Struktur von Cytochalasin D (5) beschriftet, deren wichtigste Stufen in Abbildung 2 zusammengefaßt sind.

Bei der alkalischen Hydrolyse von Cytochalasin D (5) wurde in einem Fall<sup>[5]</sup> die Säure (30) erhalten, deren Struktur durch Vergleich mit den NMR-Spektren von Phomin (2) geklärt werden konnte. Diese Säure entspricht, mit Ausnahme der fehlenden Hydroxygruppe an C(9), der Partialsequenz der Atome Nr. 1–16 in Phomin (2). Die Beweise für den restlichen Teil des Moleküls sind indirekt, da kein weiteres Hydrolysenbruchstück gefaßt werden konnte. Die fehlende Sequenz C(18)–C(21) wurde

durch den Vergleich der Kernresonanzspektren der Säure (30) und des intakten Moleküls Cytochalasin D (5) sowie durch Doppelresonanzversuche ermittelt. Diese Teilstruktur ließ sich aufgrund der Kernresonanzdaten und eines weiteren Abbauersuchs eindeutig in die Struktur (5) einfügen. Das Dodekahydroderivat von Cytochalasin D (5) wurde mit  $\text{NaBH}_4$  in das 17-Hydroxy-Produkt (26) übergeführt, aus dem mit Perjodat der Ketoaldehyd (28)

erhalten wurde. Die Entstehung dieses Methylketons schließt eine umgekehrte Einordnung der Sequenz C(18) bis C(21) aus, da ein solches Molekül einen Dialdehyd ergeben müßte.

Für die japanische Forschergruppe war die Aufklärung der Struktur von Cytochalasin D (5)<sup>18)</sup> schwieriger. Sie verfügte weder über die Erfahrungen aus der Strukturauf-

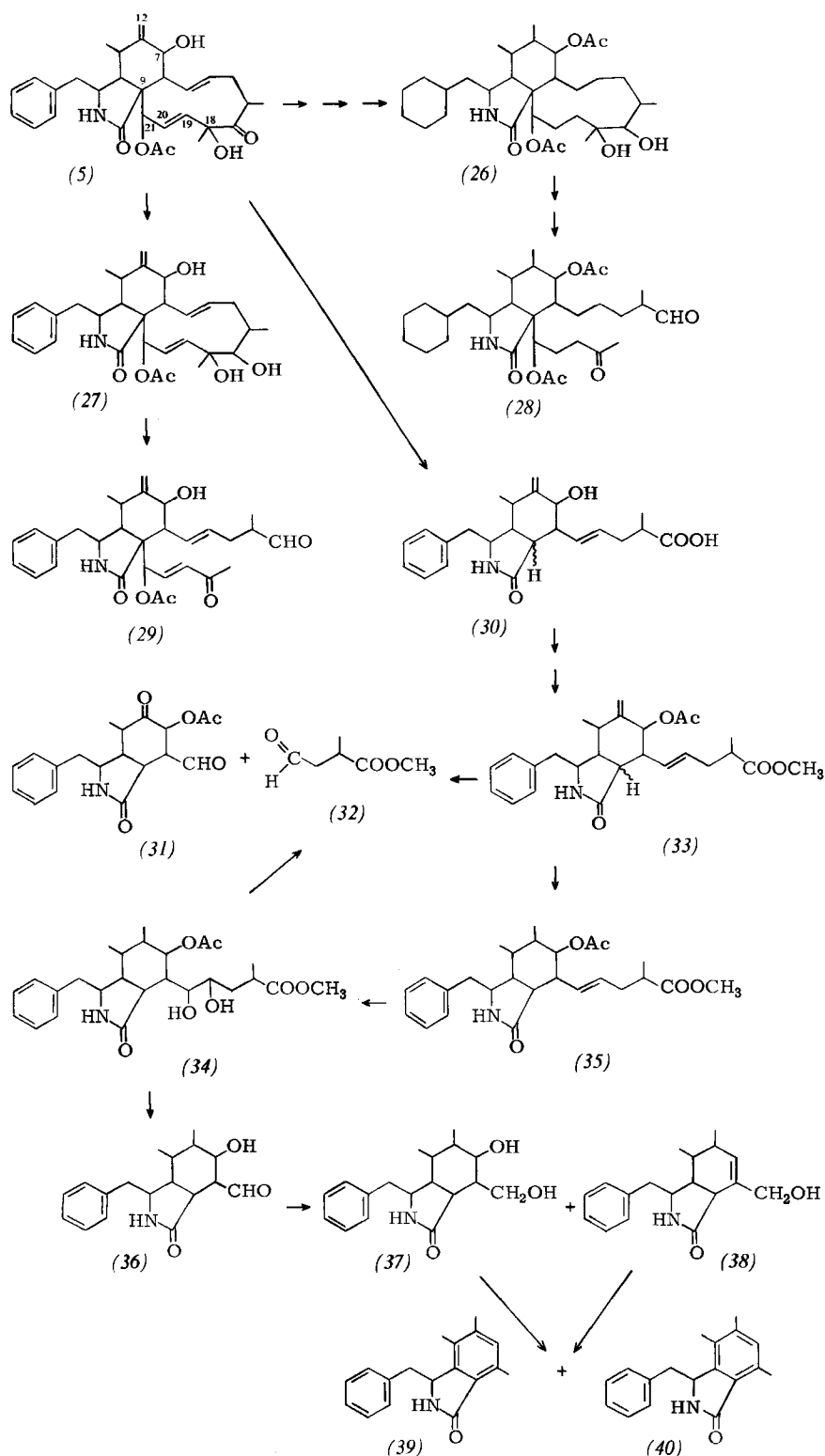


Abb. 2. Reaktionssequenzen zur Aufklärung der Struktur von Cytochalasin D (5).

klärung von Phomin (2) noch war ein Vergleich mit den Spektren der 24-Oxa-[14]cytochalasane möglich. Molekulargewicht und Summenformel wurden, wie übrigens auch im erstgenannten Fall, massenspektrometrisch ermittelt. Acetylierungen und Entacetylierungen gaben Auskunft über Stellung und Charakter der Hydroxygruppen von Cytochalasin D (5). Die Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$  führte zum 17-Hydroxyderivat (27), aus dem mit Perjodat der Ketoaldehyd (29), das ungesättigte Analogon von (28), erhalten wurde. Aus den Kernresonanzspektren von (29) ließ sich die Struktur der Sequenz C(18)–C(21) ableiten. Die Oxidation von Cytochalasin D (5) führte zum 7-Oxo-derivat, einem  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Keton, womit die  $\alpha$ -Stellung der 7-Hydroxygruppe zur exocyclischen Methylengruppe C(12) in (5) bewiesen war.

Die alkalische Hydrolyse von Cytochalasin D (5) erfolgte hier unter milderen Bedingungen als bei<sup>[14]</sup> und führte deshalb zum thermodynamisch kontrollierten Gemisch zweier an C(9) epimerer Säuren (30). Eine der beiden Säuren (die Stereochemie an C(9) wurde nicht diskutiert) wurde in den Methyl ester übergeführt und an der C(7)-Hydroxygruppe acetyliert. Die Ozonolyse der resultierenden Verbindung (33) lieferte zwei Aldehyde. Dem einen kommt nach den NMR-Daten seines Semicarbazons die Struktur des Methyl-3-formyl-2-methylpropionats (32) zu, dem anderen die Struktur (31). Es gelang, im Ester (33) die exocyclische Methylengruppe selektiv zu hydrieren. Dieses Dihydroderivat (35) wurde mit Osmiumtetroxid in das Diol (34) überführt und mit Perjodat zu den Aldehyden (32) und (36) gespalten. Die Struktur des Aldehyds (32) war bereits bekannt. Die Reduktion des Aldehyds (36) mit  $\text{NaBH}_4$  ergab zwei Produkte, das Diol (37) und den durch Eliminierung von Wasser gebildeten Allylalkohol (38). Aus (37) ebenso wie aus (38) entstanden beim Erhitzen auf  $300^\circ\text{C}$  über Pd/C die beiden aromatischen Derivate (39) und (40), die mit authentischen Präparaten (von Aldridge et al.<sup>[14]</sup>) identisch waren.

### 2.3. Cytochalasin C (4) und die Zygosporine D (6), E (7), F (8) und G (9)

Cytochalasin C (4)<sup>[14]</sup> ist ein Doppelbindungsisomeres von Cytochalasin D (5). Im Kernresonanzspektrum sind die Signale zweier vinylicher Methylgruppen an die Stelle des Signals der exocyclischen Methylengruppe und des Dubletts der C(11)-Protonen getreten, woraus geschlossen werden kann, daß sich die Doppelbindung in 5(6)-Stellung befindet. Diese Annahme wird gestützt durch die Identität der hydrierten Derivate von Cytochalasin C (4) und D (5). Eine Isomerisierung von Cytochalasin C (4) zu Cytochalasin D (5), analog der bei Cytochalasin F (1) durchgeführten, gelang nicht.

Zygosporin D (6) ist 21-Desacetylcytochalasin D, was leicht durch Entacetylierung von Cytochalasin D (5) gezeigt werden konnte.

Zygosporin E (7) ist 18-Desoxycytochalasin D. Der Beweis erfolgte durch Behandeln des 7-O-Acetylderivats von Cytochalasin D (5) mit  $\text{SOCl}_2$  in Pyridin. Das 18-Chlorderivat wurde mit Zink in Eisessig enthalogeniert. Dieses Produkt war mit 7-Acetylzygosporin E identisch.

Zygosporin F (8) ist 7-O-Acetylcytochalasin D.

Zygosporin G (9) zeigt im NMR-Spektrum das Signal einer vinylichen Methylgruppe, zwei Methyl dubletts (C(11) und C(16)-Methyl) und ein Methylsingulett (C(18)). Das Signal der exocyclischen Methylengruppe ist verschwunden, ebenso das der Hydroxygruppe an C(7). Hieraus folgt, daß es sich bei Zygosporin G (9) um 7-Desoxy- $\Delta^{6,7}$ -cytochalasin D handelt. Der Beweis dafür wurde durch Oxidation von Cytochalasin D (5) zum 7-Oxoderivat und dessen Reduktion mit Äthandithiol und Raney-Nickel zu Zygosporin G (9) und 6,7-Dihydrozygosporin G erbracht.

### 2.4. Cytochalasin E (10)

Ein Vergleich der Kernresonanzspektren von Cytochalasin E (10) und Cytochalasin F (1) zeigt die Identität der Partialstrukturen bis zum C-Atom Nr. 16. Die laut massenspektrometrisch ermittelte Summenformel fehlende  $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_5$ -Einheit enthält nach NMR-Daten eine tertiäre Methylgruppe, eine tertiäre Hydroxygruppe und eine *cis*-disubstituierte Doppelbindung<sup>[10]</sup>. Aus dem IR-Spektrum folgt weiter das Vorhandensein einer Carbonylgruppe und eines Vinylcarbonat-Rests. Die Reduktion der 19(20)-Doppelbindung liefert den gesättigten Kohlensäurediester (42). Die alkalische Hydrolyse von Cytochalasin E (10) führt zum Aldehyd (43); mit  $\text{LiAlH}_4$  werden aus (10) der Alkohol (41) und das Lactol (44) erhalten. Die Struktur (10) für Cytochalasin E ist mit diesen Daten im Einklang. Die Reaktionen sind in Abbildung 3 zusammengefaßt.

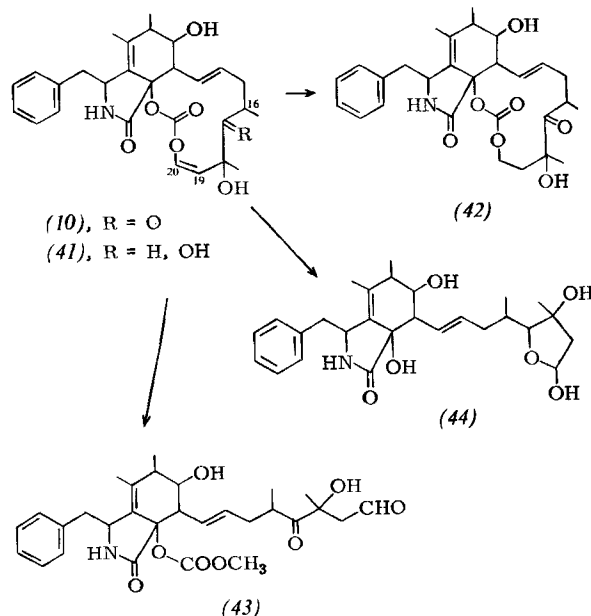
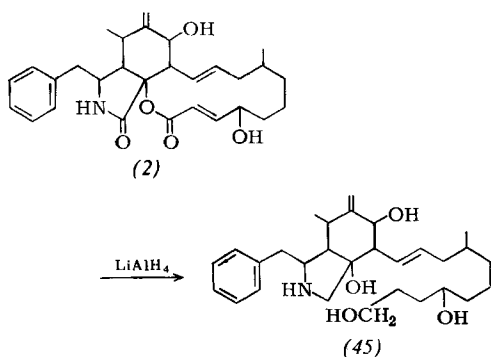


Abb. 3. Reaktionen von Cytochalasin E (10).

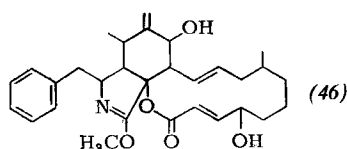
### 3. Weitere Reaktionen der Cytochalasane, insbesondere des Phomins (2)

In diesem Absatz soll ein kurzer Überblick über einige weitere Reaktionen der Cytochalasane, die nicht im Rahmen der Strukturaufklärung erwähnt worden sind, gegeben werden.

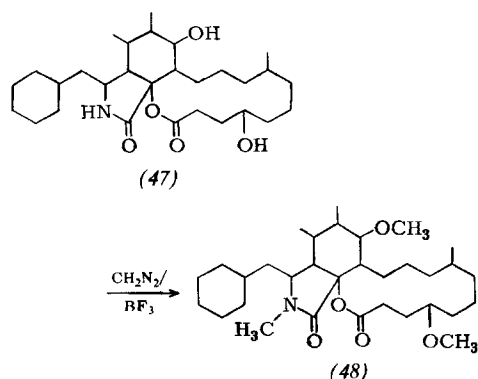
Phomin (2) liefert beim Behandeln mit  $\text{LiAlH}_4$  zunächst das bekannte Lacton (16), bei großem Überschuß an Reagens und längerer Reaktionszeit das Amin (45)<sup>[12]</sup>.



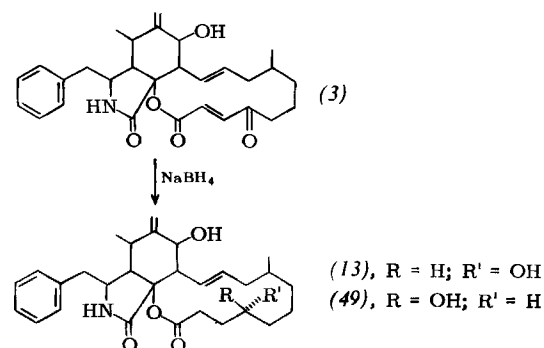
Beim Versuch, die Hydroxygruppen von Phomin (2) mit  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{J}$  in Dimethylformamid zu methylieren, wurde als Hauptprodukt der Phomin-iminomethyläther (46)<sup>[15]</sup> erhalten.



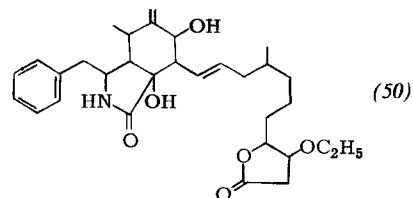
Das Dodekahydroderivat (47) des Phomins (2) ließ sich mit Diazomethan/ $\text{BF}_3$  in das *N*-Methyl-di-*O*-methyl-dodekahydrophomin (48) überführen<sup>[15]</sup>.



Das an C(20) Epimere (49) von Dihydrophomin (13) konnte neben (13) beim Behandeln von Dehydrophomin (3) mit  $\text{NaBH}_4$  erhalten werden<sup>[15]</sup>.



Bei der Hydrolyse von Phomin (2) mit äthanolisch-wäßrigem Alkali bildet sich unter Addition an die 21(22)-Doppelbindung das Produkt (50)<sup>[14]</sup>.



Phomin (2) läßt sich je nach Katalysator zu Hexahydrophomin (nur die olefinischen Doppelbindungen sind reduziert worden) oder zu Dodekahydrophomin (47) hydrieren. Analoge Reaktionen findet man auch bei den anderen Cytochalasenen.

#### 4. Stereochemie der Cytochalasane

Phomin (2) und Cytochalsin E (10) enthalten je acht chirale Kohlenstoffatome, Cytochalsin D (5) sogar deren neun, von denen sechs in der hydrierten Isoindoleinheit und zwei bzw. drei im Makrocyclus liegen. Damit sind – werden nur die sechs Chiralitätszentren der Isoindoleinheit berücksichtigt – jeweils 32 Diastereomerenpaare denkbar, für jedes dieser Paare wieder vier Konformationen, da der sechsgliedrige Ring als Sessel, Wanne, inverser Sessel und inverse Wanne vorliegen kann. Das ergibt insgesamt 128 mögliche räumliche Anordnungen. Nimmt man die zwei bzw. drei Asymmetriezentren des Makrocyclus hinzu, vervierfacht bzw. verachtfacht sich diese Zahl.

Die Kernresonanzdaten von Phomin (2) erlaubten eine erste Annäherung an die Lösung dieses Problems<sup>[3, 12]</sup>.

Eine konsequente, mit der nötigen Vorsicht durchgeführte, quantitative Anwendung der von Karplus gefundenen Beziehung zwischen Diederwinkel und NMR-Kopplungskonstante vicinaler Protonen<sup>[16]</sup> auf das bei der Strukturauklärung von Phomin (2) erhaltene  $\gamma$ -Lactam (12) ermöglichte es, die 32 Diastereomerenpaare auf vier zu reduzieren, wobei zusätzlich drei der vier denkbaren Konformationen ausgeschlossen werden konnten. Zwischen diesen vier in Abbildung 4 dargestellten möglichen Konfigurationen war aufgrund der Kernresonanzspektren allein nicht mehr zu unterscheiden.

Bei Phomin (2) war außerdem durch die Verknüpfung der beim Abbau erhaltenen 3-Methylpimelinsäure (17) mit (+)-Pulegon (18) die absolute Konfiguration an C(16) bekannt.

Ähnliche für Cytochalsin C (4) durchgeführte Überlegungen ergaben für die betreffende Partialstruktur zwei Konfigurationen, die den Möglichkeiten B und D bei Phomin (2) entsprachen<sup>[5]</sup>.

Eine Lösung des Stereochemieproblems war nur durch eine Röntgen-Strukturanalyse zu erwarten, und damit ergab sich die Notwendigkeit, geeignete, schweratomhaltige, kristalline Derivate der Cytochalasane herzustellen.

Das erste derartige Derivat war der 18-*p*-Brombenzoesäureester von 7-Acetyl-21-desacetyl-cytochalsin D

(51)<sup>[17]</sup> (vgl. Abb. 6), dessen Röntgen-Strukturanalyse aber nur die relative Konfiguration von Cytochalasin D

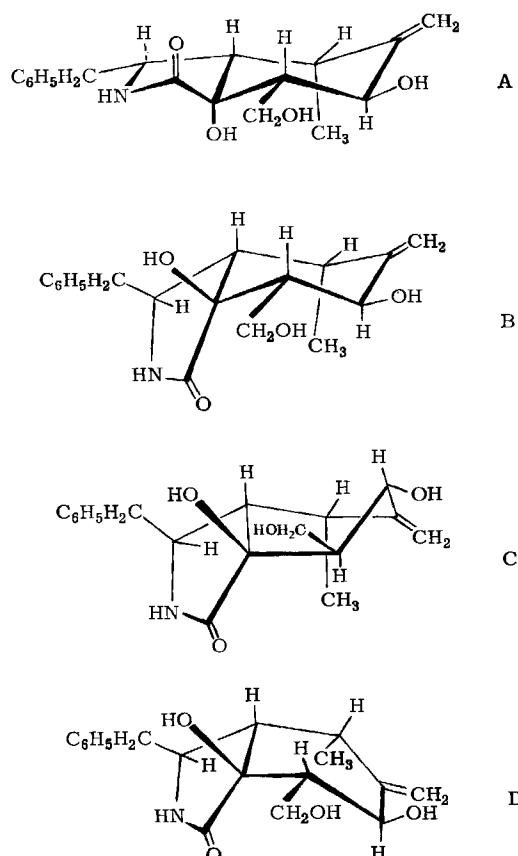


Abb. 4. Mögliche Konfiguration des  $\gamma$ -Lactams (12).

(5) lieferte – wie sich später herausstellte, das Spiegelbild der tatsächlich realisierten Konfiguration.

Das zweite Derivat war der Silbertetrafluorborat-Komplex von Phomin (2)<sup>[18]</sup>. In diesem Fall war es aufgrund

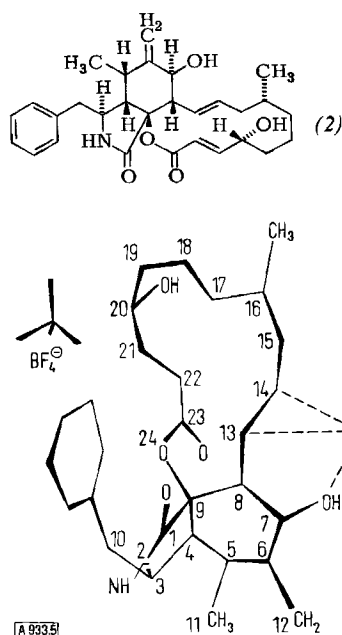


Abb. 5. Struktur des  $\text{AgBF}_4$ -Komplexes von Phomin (2) und absolute Konfiguration von Phomin (2).

der bekannten Stereochemie an C(16) möglich, sofort die richtige absolute Konfiguration von Phomin (2) anzugeben. Die räumliche Struktur des Komplexes sowie die Stereochemie von Phomin (2) sind in Abbildung 5 dargestellt.

Die wegen der Verknüpfung mit (+)-Pulegon getroffene Zuordnung der absoluten Konfiguration wurde auch unabhängig durch die Berechnungen bestätigt. Die so ermittelte Stereochemie entspricht der in Abbildung 4 dargestellten Möglichkeit D, womit die Korrektheit der spektroskopischen Betrachtungen gezeigt ist.

Ausführliche Berechnungen<sup>[19]</sup> ergaben schließlich auch für das Cytochalasin-D-Derivat (51) die richtige absolute Konfiguration. Die räumliche Struktur des Derivats (51) und die Stereochemie von Cytochalasin D (5) sind in Abbildung 6 dargestellt.

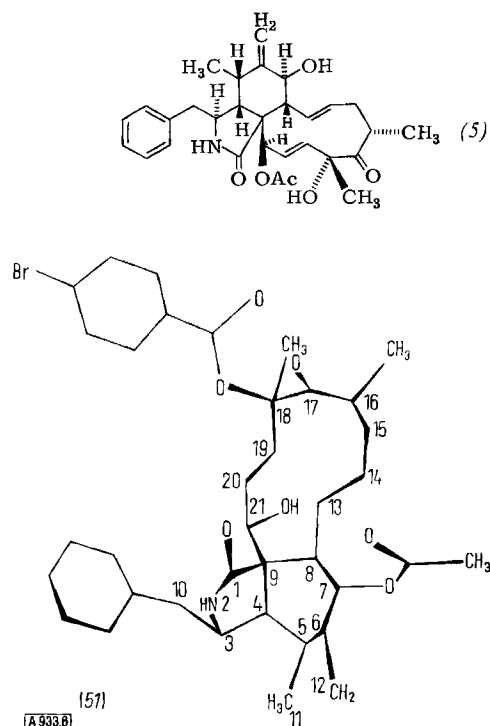


Abb. 6. Struktur des 18-*p*-Brombenzoats von 7-Acetyl-21-desacetylcytochalasin D (51) und absolute Konfiguration von Cytochalasin D (5).

In beiden Fällen sind der fünf- und der sechsgliedrige Ring des Isoindolteils des Moleküls *cis*-ständig verknüpft. Der sechsgliedrige Ring liegt als flexible Wanne vor, die für das bicyclische System zwei sich nur geringfügig unterscheidende, energetisch wahrscheinlich sehr ähnliche Konformationen erlaubt, deren eine im Kristall des  $\text{AgBF}_4$ -Addukts von Phomin (2), deren andere im Derivat (51) von Cytochalasin D (5) realisiert ist. Die NMR-Spektren einiger Phomin-Derivate legen nahe, daß diese beiden Konformeren in Lösung leicht ineinander übergehen können.

Bei Cytochalasin F (1) dürfte die gleiche Stereochemie wie bei Phomin (2) verwirklicht sein; eine Aussage über die Konfiguration des zusätzlichen Asymmetriezentrums C(6) kann nicht gemacht werden.

Ebenso ist es wahrscheinlich, daß auch in Cytochalasin E (10) der Isoindolteil des Moleküls in der Konfiguration

von Cytochalasin F (1) und Phomin (2) vorliegt. An den C-Atomen Nr. 16 und 18 bleibt die Zuordnung der Stereochemie offen; es wäre denkbar, daß sie derjenigen von Cytochalasin D (5) entspricht.

Wie aus den jeweiligen Strukturbeweisen hervorgeht, ist die Stereochemie von Cytochalasin C (4) und den Zygosporinen D (6), E (7), F (8) und G (9) mit der von Cytochalasin D (5) identisch. Die einzige Ausnahme ist C(18) bei Zygosporin E (7), für das keine Zuordnung der Konfiguration getroffen wurde. Die Konfiguration dieses Chiralitätszentrums läßt sich auch nicht aus der Reaktionssequenz ableiten, mit der Cytochalasin D (5) in Zygosporin E (7) übergeführt wurde.

## 5. Biogenese der Cytochalasane

Biosynthetische Untersuchungen sind in der Art, wie sie heute durchgeführt werden, typische „in-vitro“-Experimente. Die allgemeine Technik, Isolierung des Mikroorganismus, Züchtung auf synthetischen Medien und Inkubation mit speziellen, meist radioaktiv oder durch Isotopen markierten biogenetischen Vorläufern entspricht kaum den Bedingungen, die der betreffende Organismus in der

Natur vorfindet. Hinzu kommen die Probleme des Zeitpunkts der Inkubation mit dem Vorläufer, der Form, in der er verabreicht wird und der Fähigkeit der Zelle, ihn zu resorbieren. Die Optimierung solcher Probleme ist eine aufwendige Arbeit, und es ist beinahe erstaunlich, daß auch unter den möglicherweise stark verfälschten Bedingungen recht gute Ergebnisse erzielt werden. Es soll jedoch festgehalten werden, daß die Aussage einer biosynthetischen Untersuchung immer vorsichtig formuliert werden muß: Der Organismus X kann unter den von uns speziell gewählten Bedingungen das Molekül Y auch aus dem Vorläufer Z aufbauen, was nicht unbedingt bedeutet, daß er das in der Natur auch tut.

Experimentelle Daten zur Biogenese der Cytochalasane liegen bisher nur im Fall von Phomin (2)<sup>[20]</sup> vor. Untersuchungen mit Cytochalasin D (5)<sup>[21]</sup> sind im Gange.

Es wurde folgendermaßen vorgegangen: Die Nährlösungen des Mikroorganismus *Phoma* S 298 wurden mit dem jeweiligen vermuteten, radioaktiv markierten Vorläufer<sup>[\*]</sup> versetzt, sterilisiert, mit einer Sporensuspension des Pilzes beimpft und 12 Tage lang inkubiert. Dann wurden die

[\*] Da z. T. nur geringe Anteile des Vorläufers eingebaut wurden, verbot sich die Verwendung von [<sup>13</sup>C]-markierten Verbindungen.

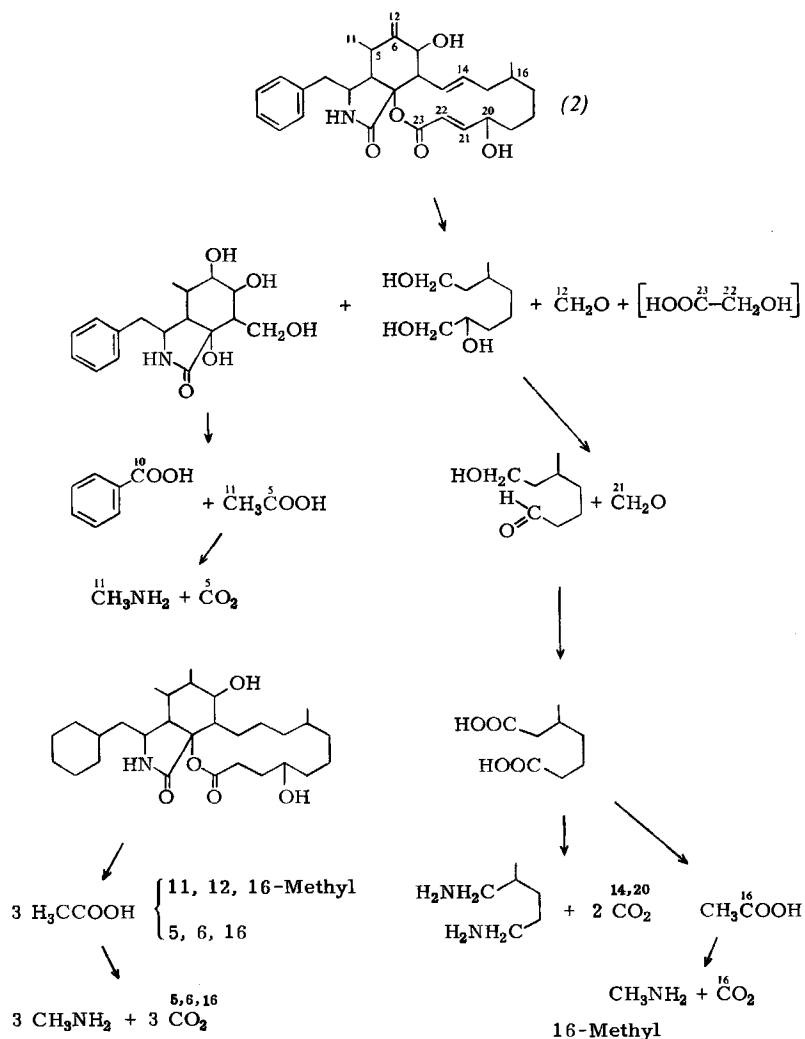


Abb. 7. Abbaureaktionen von Phomin (2) zur Lokalisierung der radioaktiven C-Atome.

Kulturen „geerntet“ und das in der Kulturbrühe vorhandene Phomin (2) isoliert. Die Auswahl der verwendeten Vorläufer erfolgte aufgrund einer Arbeitshypothese über den möglichen biogenetischen Aufbau von Phomin (2), die letztlich bestätigt wurde. In Tabelle 2 sind die Vorläufer, ihre Radioaktivität und die absoluten Einbauraten für die jeweiligen Phominpräparate zusammengestellt.

Tabelle 2. Daten der Vorläufer und absolute Einbaurate der betreffenden Phominpräparate.

Vorläufer	Aktivität [mCi]	absolute Einbaurate in Phomin [%]
[1- <sup>14</sup> C]-DL-Phenylalanin	0.1	4.9
[2- <sup>14</sup> C]-DL-Phenylalanin	0.1	6.7
[U- <sup>14</sup> C]-L-Phenylalanin	0.1	10.4
[4- <sup>14</sup> C]-L-Phenylalanin	1.0	10.4
[1- <sup>14</sup> C]-Na-Propionat	0.1	0.29
[2- <sup>14</sup> C]-Na-Propionat	0.1	0.4
[1- <sup>14</sup> C]-Na-Malonat	0.1	0.33
[2- <sup>14</sup> C]-Na-Malonat	0.1	1.04
[1- <sup>14</sup> C]-Na-Acetat	1.0	0.123
[Methyl- <sup>14</sup> C]-L-Methionin	0.1	1.96
[2- <sup>14</sup> C]-Mevalonat	0.25	0.007

Um die in das Molekül inkorporierten radioaktiven Atome zu lokalisieren, wurde Phomin (2) einem gezielten chemischen Abbau unterworfen, dessen Reaktionen schematisch in Abbildung 7 zusammengefaßt sind.

Der Abbau folgte zunächst Reaktionen, die bei der Aufklärung der Struktur von Phomin (2) durchgeführt worden waren<sup>[3, 12]</sup> und beschränkte sich dann auf Methoden wie Perjodat-Spaltungen, Oxidationen nach Kuhn-Roth und Abbau von Säuren nach Schmidt, die bei hohen Ausbeuten eindeutig verliefen. Limitierende Faktoren waren die geringe Menge radioaktiven Materials und geringe Einbauraten. In Abbildung 8 sind die durch den Abbau erfaßten Atome von Phomin (2) gekennzeichnet.

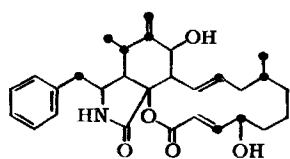


Abb. 8. Durch den Abbau erfaßte Atome von Phomin (2).

Die auf diesem Weg ermittelten Resultate sollen nicht im einzelnen dargestellt werden, sondern sind in Abbildung 9 zusammengefaßt.

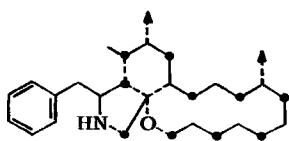


Abb. 9. Grundbausteine der Biogenese von Phomin (2) (Erklärung siehe Text).

Demnach erfolgt der biogenetische Aufbau von Phomin (2) aus einem Molekül Phenylalanin (einschließlich Carb-

oxygruppe!), neun Acetat-Einheiten oder einer Acetat- und acht Malonat-Einheiten und zwei C<sub>1</sub>-Resten, die aus Methionin stammen. Aus den Acetat- oder Malonat-Einheiten bildet sich wahrscheinlich zunächst ein Nonaketid<sup>[\*]</sup>, das dann, amidartig mit Phenylalanin verknüpft, zu einem carbocyclischen Vorläufer von Phomin (2) zusammengefügt werden könnte. Erst zu einem späteren Zeitpunkt würde aus dem großen carbocyclischen Ring durch Insertion eines Sauerstoffatoms im Sinn einer Baeyer-Villiger-Oxidation der Lactonring von Phomin (2) entstehen.

Es ist bekannt, daß anstelle des hypothetischen Polyketids auch eine gesättigte oder ungesättigte Fettsäure als direkter Vorläufer eines acetat-abgeleiteten Sekundärmetaboliten in Frage kommen kann<sup>[22]</sup>. Entsprechende

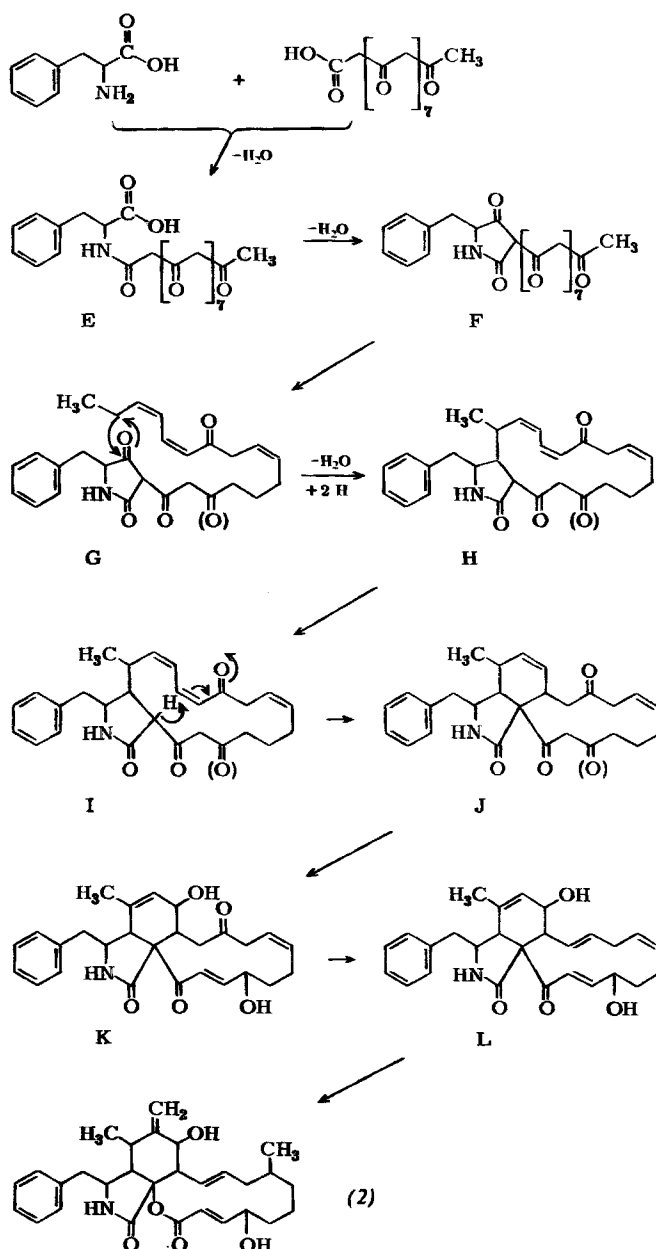


Abb. 10. Hypothetische Cyclisationsmechanismen bei der Biogenese von Phomin (2).

[\*] Als „Ketide“ werden hier Verbindungen mit β-Ketogruppen bezeichnet.

Versuche mit  $[1-^{14}\text{C}]$ -Na-Linolenat und  $[16-^{14}\text{C}]$ -Na-Palmitat (als Äquivalent eines Oktaketids) verliefen allerdings negativ<sup>[23]</sup>. Der Abbau zeigte, daß die geringe inkorporierte Aktivität homogen über das Molekül verteilt war. Es ist demnach wahrscheinlicher, daß der Acetogenin-Teil von Phomin (2) sich von einer höheren Oxidationsstufe, also dem Polyketid oder einem biogenetischen Äquivalent, als von der weitgehend reduzierten Form, d. h. der Fettsäure, ableitet. Über Zwischenprodukte und Cyclisationsmechanismen bei der Biogenese von Phomin (2) sind gegenwärtig nur Spekulationen möglich.

Eine derartige Überlegung ist in Abbildung 10 dargestellt. Die einzelnen in ihrer Reihenfolge z. T. austauschbaren Schritte entsprechen durchweg bekannten Reaktionen.

Wie oben bereits kurz erwähnt, kann als Initialschritt die amidartige Verknüpfung des Nonaketids mit  $\epsilon$ -phenylalanin betrachtet werden. Die folgende Kondensation von E führt zum fünfgliedrigen Ring des Lactams F, dessen eine Carbonylgruppe mit dem vorletzten C-Atom des Ketids nach Reduktion zu G unter Ausbildung der 4,5-Bindung reagiert. Teilweise Reduktionen und Wasserabspaltungen liefern das Zwischenprodukt H, in welchem nach allylischer Oxidation an C(14) zu I durch Kondensation die Bindung C(8)—C(9) ausgebildet wird (J). Die Umlagerung

der Doppelbindung aus 6(7)-Stellung in 5(6)-Stellung, eine weitere allylische Oxidation an C(7) und (nach Reduktion und Wasserabspaltung) an C(20) führen zum Zwischenprodukt K, aus dem über L durch eine abermalige Reduktion mit Wasserabspaltung, zwei Methylierungen an C(6) und C(16), z. B. mit *S*-Adenosyl-methionin, und eine Sauerstoffinsertion im Sinn einer Baeyer-Villiger-Oxidation das Produkt, Phomin (2), entsteht. Es muß wohl nicht betont werden, daß alle diese Schritte hypothetisch sind.

Die Versuche mit Cytochalasin D (5)<sup>[21]</sup> zeigten bisher, daß die gleichen Vorläufer wie bei Phomin (2) in ähnlichem Ausmaß eingebaut worden sind.

Die große strukturelle Ähnlichkeit der drei Cytochalasin-Grundtypen, der 24-Oxa-[14]cytochalasane, [11]Cytochalasane und des 21,23-Dioxa-[13]cytochalasans erlaubt es, für alle Cytochalasane ein gemeinsames Biogeneschema zu postulieren, welches in Abbildung 11 dargestellt ist.

Die grundlegenden Einheiten der Biogenese der Cytochalasane sind die Primärmetaboliten Phenylalanin und ein Nona- oder Oktaketid oder deren biogenetische Äquivalente. Phenylalanin entsteht aus Shikimisäure, stammt letztlich also von Zuckern ab; das Nona- bzw. Oktaketid

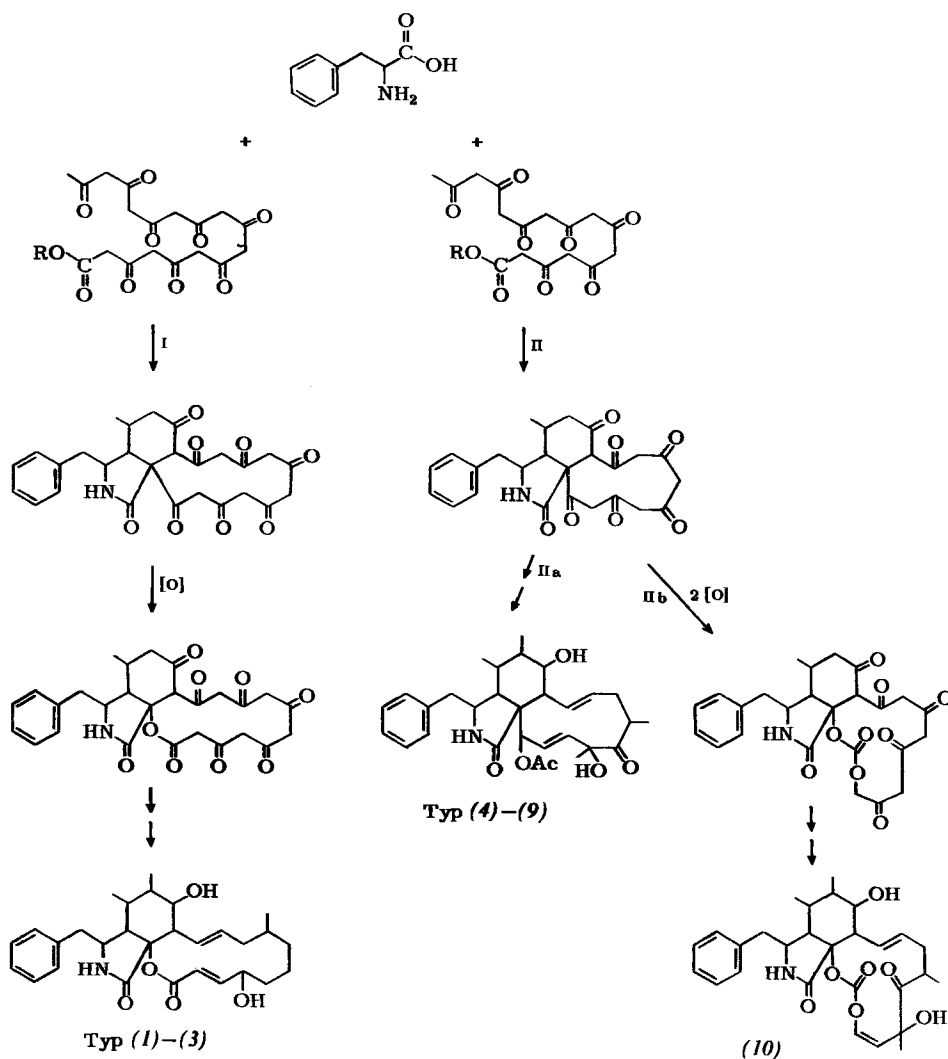


Abb. 11. Biogeneschema der Cytochalasane.

wird aus Acetat-Einheiten analog zur Fettsäuresynthese gebildet, wobei jedoch die Reduktionsschritte wegfallen.

Die Verknüpfung von Phenylalanin mit dem Nonaketid führt auf Weg I zu den 24-Oxa-[14]cytochalasanen, mit dem Oktaketid auf Weg II zu den [11]Cytochalasanen und den 21,23-Dioxa-[13]cytochalasanen. Die Reihenfolge der nächsten Schritte ist bereits diskutiert worden. An irgendeiner Stelle (hier willkürlich anders gewählt als in Abb. 10) könnte die oxidative Insertion von Sauerstoffatomen bei Weg I und Weg IIb erfolgen, womit einmal die Lactongruppe, einmal die Kohlensäurediestergruppe gebildet würde.

Damit wären wir nach den genannten weiteren Schritten bei den letztlich isolierten Strukturen, den Endprodukten der sekundärmetabolischen Reaktionssequenzen, angelangt.

Das vorgeschlagene Schema könnte durch die Aufklärung der Biogenese von Cytochalasin D (5) und Cytochalasin E (10) bestätigt werden.

Wir wagen es, aufgrund des Biogeneseschemas die Existenz weiterer Cytochalasan-Grundtypen, vielleicht bei Blockmutanten der genannten Mikroorganismen, zu postulieren. Vorstellbar wäre ein [13]Cytochalasan, d. h. Phomin (2) ohne den insertierten Sauerstoff<sup>[1]</sup> oder ein 22-Oxa-[12]-cytochalasan, d. h. Cytochalasin D (5) mit nur einem insertierten Sauerstoff.

Ebenfalls zu klären wäre die Frage, ob die carbocyclischen Cytochalasane direkte Vorläufer der heterocyclischen Cytochalasane sind.

## 6. Biologische Wirkungen der Cytochalasane

Alle Cytochalasane hemmen die Spaltung des Cytoplasmas in Säugetierzellkulturen, unterscheiden sich jedoch voneinander in der Stärke ihrer Wirkung.

In Gegenwart von Phomin (Cytochalasin B) (2) (1 µg/ml) findet bei Säugetierzellen eine normale Zellkernteilung statt, wobei die Cytokinese, die Spaltung des Zellplasmas, blockiert bleibt<sup>[2, 24]</sup>.

Längerer Kontakt mit Phomin (2) bewirkt das Entstehen großer multinuclearer Zellen. Interessant ist hier, daß sich die Zahl der Zellkerne pro Mitose nicht verdoppelt, sondern jeweils nur ein neuer Kern hinzukommt.

Hohe Konzentrationen von Phomin (2), etwa das 10- bis 20-fache der Menge, die zur Hemmung der Cytokinese benötigt wird, führen zur Ausstoßung des Zellkerns. Wenn dieser Prozeß noch nicht beendet ist, läßt er sich genau wie die Cytostase durch Entfernen des Cytochalasans umkehren; die Störungen sind reversibel.

Ein weiterer allgemeiner Effekt der Cytochalasane ist ihre Wirkung auf die Zellbewegung. Phomin (2) hemmt die Bewegung von L-Zellen. Die Zellränder werden ruhig, die Zelle nimmt schließlich die Form einer dünnen Scheibe an.

[\*] Anmerkung bei der Korrektur (22. Jan. 1973): Inzwischen ist es uns gelungen, das postulierte [13]Cytochalasan, Desoxaphomin, zu isolieren.

Im Fall von Cytochalasin E (10) erhalten die Zellen einen breiten gewellten Rand.

Der Bereich weiterer biologischer Aktivitäten der Cytochalasane ist beträchtlich. Phomin (2) blockiert die Ausbildung von Röhrendrüsen im Eierstock von Hühnern<sup>[25]</sup> und beeinflusst die Entstehung normaler Verzweigungen in der Speicheldrüse der Maus<sup>[26]</sup>.

Phagocytose<sup>[27, 28]</sup>, Aggregation<sup>[29, 30]</sup> der Blutplättchen, Abbau von Blutgerinnseln<sup>[29-31]</sup>, Erzeugung von Strömung im Cytoplasma<sup>[32]</sup>, Rückbildung der Schwänze bei Larven von Tunicaten<sup>[33]</sup>, Herzmuskelkontraktion<sup>[32]</sup>, Schilddrüsensekretion<sup>[34]</sup> und die Ausschüttung von Wachstumshormonen<sup>[35]</sup> werden ebenfalls beeinflusst.

Aufgrund der starken ödem- und abszeß-hemmenden Eigenschaften von Cytochalasin D (5) an Ratten ließ sich die japanische Forschergruppe die Herstellung der Verbindung (aus dem genannten Mikroorganismus) und ihre Anwendung in der Therapie patentieren<sup>[36]</sup>. Eine humanmedizinische Applikation scheint nicht ausgeschlossen.

Abschließend läßt sich fragen, wie die Forschung über die Chemie der Cytochalasane sich weiterentwickeln wird.

Ungelöste Probleme sind die Biogenese der [11]Cytochalasane und der 21,23-Dioxa-[13]cytochalasane, ferner die Isolierung größerer Zwischenprodukte bei der Biogenese von Phomin (2). Von (freilich rein akademischem) Interesse wären totalsynthetische Versuche und nicht zuletzt das Auffinden weiterer neuer Cytochalasane, vielleicht mit den oben postulierten bisher nicht bekannten Grundgerüsten.

Eingegangen am 25. August 1972 [A 933]

- [1] S. B. Carter, *Endeavour* 113, 77 (1972).
- [2] S. B. Carter, *Nature* 213, 261 (1967).
- [3] W. Rothweiler u. Ch. Tamm, *Experientia* 22, 750 (1966).
- [4] D. C. Aldridge, J. J. Armstrong, R. N. Speake u. W. B. Turner, *Chem. Commun.* 1967, 26.
- [5] D. C. Aldridge u. W. B. Turner, *J. Chem. Soc. C* 1969, 923.
- [6] S. Hayakawa, T. Matsushima, T. Kimura, H. Minato u. K. Katagiri, *J. Antibiotics* 21, 523 (1968).
- [7] D. C. Aldridge u. W. B. Turner, *J. Antibiotics* 22, 170 (1969).
- [8] H. Minato u. M. Matsumoto, *J. Chem. Soc. C* 1970, 38.
- [9] H. Minato u. T. Katayama, *J. Chem. Soc. C* 1970, 45.
- [10] D. C. Aldridge, B. F. Burrows u. W. B. Turner, *Chem. Commun.* 1972, 148.
- [11] M. Binder, Ch. Tamm, W. B. Turner u. H. Minato, *J. C. S. Perkin I*, 1973, im Druck.
- [12] W. Rothweiler u. Ch. Tamm, *Helv. Chim. Acta* 53, 696 (1970).
- [13] a) J. L. Simonson u. L. N. Owen: *The Terpenes*. 2. Aufl., Bd. 1. Cambridge University Press, Cambridge 1953, S. 371; F. Nerdel, B. Gnauck u. G. Kresze, *Liebigs Ann. Chem.* 580, 35 (1953); H. Rupe, *ibid.* 459, 206 (1927); 436, 202 (1924); O. Wallach, *ibid.* 289, 339 (1896); b) A. Kötz u. L. Hesse, *ibid.* 342, 315 (1905).
- [14] D. C. Aldridge, J. J. Armstrong, R. N. Speake u. W. B. Turner, *J. Chem. Soc. C* 1967, 1667.
- [15] M. Binder u. Ch. Tamm, *Helv. Chim. Acta* 55, 2486 (1972).
- [16] M. Karplus, *J. Chem. Phys.* 30, 11 (1959); *J. Amer. Chem. Soc.* 85, 2870 (1963); vgl. S. Sternhell, *Quart. Rev.* 23, 236 (1969).
- [17] Y. Tsukuda, M. Matsumoto, H. Minato u. H. Koyama, *Chem. Commun.* 1969, 41.
- [18] G. M. McLaughlin, G. A. Sim. J. R. Kiechel u. Ch. Tamm, *Chem. Commun.* 1970, 1398.
- [19] Y. Tsukuda u. H. Koyama, *J. Chem. Soc. Perkin II* 1972, 739.
- [20] M. Binder, J. R. Kiechel u. Ch. Tamm, *Helv. Chim. Acta* 53, 1797 (1970).
- [21] C. R. Lebet u. Ch. Tamm, unpublizierte Versuche.
- [22] J. D. Bu'Lock u. P. T. Clay, *Chem. Commun.* 1969, 237.

- [23] M. Binder u. Ch. Tamm, unpublizierte Versuche.  
 [24] A. Krishan, J. Ultrastruct. Res. 36, 191 (1971).  
 [25] J. T. Wrenn u. N. K. Wessels, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 66, 904 (1970).  
 [26] B. S. Spooner u. N. K. Wessels, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 66, 360 (1970).  
 [27] A. T. Davies, R. D. Estensen u. P. G. Quie, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137, 161 (1971).  
 [28] C. A. Allison, P. Davies u. S. De Petries, Nature New Biol. 232, 153 (1971).  
 [29] R. J. Haslam, Biochem. J. 127, 34 P (1972).  
 [30] G. J. White: Roussel Conference on Platelet Aggregation. 4. März 1971. Masson, Paris 1971.  
 [31] D. Shepro, F. A. Belamarich, L. Robblee u. F. C. Chao, J. Cell Biol. 47, 544 (1970).  
 [32] N. K. Wessels, B. S. Spooner, J. F. Ash, M. O. Bradley, M. A. Luedena, E. L. Taylor, J. T. Wrenn u. K. M. Yamada, Science 171, 135 (1971).  
 [33] J. Lash, R. A. Cloney u. R. R. Minor, Biol. Bull. 139, 427 (1970).  
 [34] J. A. Williams u. J. Wolff, Biochem. Biophys. Res. Commun. 44, 422 (1971).  
 [35] J. G. Schofield, Nature New Biol. 234, 215 (1971).  
 [36] S. Hayakawa, T. Matsushima, H. Minato u. K. Hirose, Brit. Pat. 1 160 846 (1949).

## Mechanistische Analyse von Lösungsreaktionen durch nichtisotherme Kalorimetrie

Von Erhard Koch<sup>[\*]</sup>

Zur schnellen kinetischen und energetischen Analyse von Reaktionen in Lösung ( $\tau_{20^\circ\text{C}} > 10^{-4}$  s) durch Differential-Thermoanalyse (DTA) werden folgende Thermogramm-Kenngrößen definiert, die den Reaktionsbeginn charakterisieren: 1. Anfangstemperatur, 2. Aktivierungsenergie der Startreaktion. In Verbindung mit dem Formindex (Asymmetrie der DTA-Kurve) und der auf physikalische Standardbedingungen (Zellenkonstante, Aufheizgeschwindigkeit und Temperaturdifferenz) bezogenen Halbwertsbreite der DTA-Kurve erlauben diese Größen, in einfacher Weise zwischen Einstufenreaktionen erster und zweiter Ordnung und zusammengesetzten Reaktionen zu unterscheiden. Es läßt sich erkennen, ob Parallel-, Folge- oder Gleichgewichtsreaktionen oder deren Kombination vorliegen. Durch Messungen bei verschiedenen Konzentrationen und Aufheizgeschwindigkeiten und durch Diskussion der Enthalpiewerte kann der Reaktionsmechanismus in vielen Fällen geklärt werden. Das in diesem Fortschrittsbericht beschriebene abgekürzte Verfahren zur Auswertung der Thermogramme wurde mit Hilfe eines Analogrechners abgeleitet und experimentell überprüft.

### 1. Einleitung

Nichtisotherme thermische Meßverfahren haben gegenüber vielen anderen Untersuchungsmethoden den Vorteil universeller Anwendbarkeit. Sie erfassen schon in einer Messung sowohl die Energetik als auch die Kinetik jedes untersuchten Systems. Die nichtisotherme thermische Reaktionsanalyse ist daher im Prinzip eine ideale Ergänzung zu allen substanzanalytischen Methoden und ihr Meßergebnis, das Thermogramm, eine Art „reaktionsanalytische Visitenkarte“.

Bisher sind jedoch thermische Messungen in Lösung unter anderem deswegen seltener angewendet worden, weil die Zusammenhänge zwischen den Reaktionsparametern und der gemessenen Temperatur nicht einfach sind und daher der erzielbare Zeitgewinn durch die komplizierte Auswertung wieder verloren ging.

Die gebräuchlichste thermische Untersuchungsmethode ist die Differential-Thermoanalyse (DTA)<sup>[1]</sup>. Ihr Einsatz

zur exakten kinetischen Analyse von Lösungsreaktionen erfordert jedoch kalorimetrische Arbeitsbedingungen<sup>[2-4]</sup>:

1. Verdünnte Lösungen,
2. Rühren der Probe- und Vergleichslösung zur Vermeidung von Temperaturdifferenzen innerhalb der Lösungen,
3. Temperaturmessung in beiden Lösungen.

Unter diesen Aspekten konstruierte Apparaturen ergeben für Einstufenreaktionen Thermogramme, die einer von Borchardt und Daniels entwickelten Gleichung genügen<sup>[2,3]</sup>:

$$k = \left[ \frac{V|\Delta H|}{C_p} \right]^{n-1} \frac{c \cdot \theta + \frac{d\theta}{dt}}{\left[ c \int_0^\infty \theta dt - \theta \right]^n} \quad (1)$$

- k = Reaktionsgeschwindigkeitskonstante  
 n = Reaktionsordnung  
 V = Volumen der Probelösung  
 $\Delta H$  = molare Reaktionsenthalpie  
 $C_p$  = Wärmekapazität  
 $\theta$  = Temperaturdifferenz zwischen Probe- und Vergleichslösung  
 c = kinetische Zellenkonstante

[\*] Dr. E. Koch  
 Max-Planck-Institut für Kohlenforschung  
 Abteilung Strahlenchemie  
 433 Mülheim/Ruhr, Stiftstraße 34-36