

Mikrobiologische Umwandlungen nichtsteroider Strukturen, V¹⁾

Mikrobiologische Reaktionen von substituierten 1-Äthyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäuren

Klaus Kieslich *, Heinz Wieglepp, Georg-Alexander Hoyer und Douwe Rosenberg

Forschungslaboratorien der Schering AG, Berlin/Bergkamen,
D-1000 Berlin 10, Tegeler Weg 28–33

Eingegangen am 26. April 1973

1-Äthyl-7-methyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (**1**) wird durch *Streptomyces surinam* in den Methylester umgewandelt. *Penicillium adametzii* hydroxyliert das Substrat am 7-Methylsubstituenten, während bei der 1-Äthyl-8-methoxy-5-methyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (**4**) mit dem gleichen Pilz nur eine Phenolätherspaltung eintritt. 1-Äthyl-4-oxo-1,4,6,7,8,9-hexahydrobenzo[g]chinolin-3-carbonsäure (**6**) wird von *Penicillium adametzii* in 7- und 8-, von *Streptomyces achromogenes* in 7- (oder 8-) und 6- sowie von *Sporotrichum sulfurescens* in 6-Stellung hydroxyliert. 5-Äthyl-8-oxo-2,3,5,8-tetrahydrofuro[2,3-g]chinolin-7-carbonsäure (**10**) zeigt nur eine hydrolytische Spaltung des Dihydrofuranringes.

Microbiological Transformations of Nonsteroidal Structures, V¹⁾

Microbiological Reactions of Substituted 1-Ethyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acids

1-Ethyl-7-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (**1**) is transformed to the methyl ester by *Streptomyces surinam*. *Penicillium adametzii* hydroxylates the substrate at the 7-methyl substituent, whereas 1-ethyl-8-methoxy-5-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (**4**) is hydrolyzed to the free phenol by the same fungi. 1-Ethyl-4-oxo-1,4,6,7,8,9-hexahydrobenzo[g]quinoline-3-carboxylic acid (**6**) is hydroxylated in 7- and 8-position by *Penicillium adametzii*, in 6- and 7- (or 8-) position by *Streptomyces achromogenes* and in 6-position by *Sporotrichum sulfurescens*. 5-Ethyl-8-oxo-2,3,5,8-tetrahydrofuro[2,3-g]quinoline-7-carboxylic acid (**10**) undergoes only a hydrolytic cleavage of the dihydrofuranering.

Als Strukturanaloga von 1,8-Naphthyridinderivaten mit Nalidixinsäure²⁾ als bekanntem Marktpräparat besitzen auch 1-Äthyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäuren interessante antibakterielle Eigenschaften³⁾. Parallel zu weiteren chemischen Strukturvariationen sollte auf mikrobiologischem Wege eine Abwandlung dieser Substanzen erzielt werden. Mikrobiologische Umwandlungen der Nalidixinsäure wurden bereits von Hamilton et al.^{4,5)} beschrieben. Dabei beschränkte sich die Reak-

¹⁾ IV. Mitteil.: H. Wieglepp, G.-A. Hoyer und K. Kieslich, Chem. Ber. 106, 1303 (1973).

²⁾ G. Y. Lesher, E. J. Froelich, M. D. Gruett, J. H. Bayley und R. P. Brundage, J. Med. Pharm. Chem. 5, 1063 (1962).

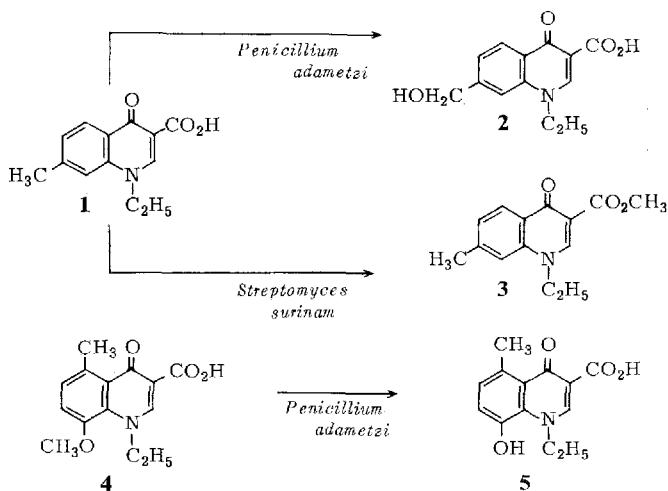
³⁾ D. Kaminsky und R. J. Meltzer, J. Med. Chem. 11, 160 (1968).

⁴⁾ P. B. Hamilton und D. Rosi, Appl. Microbiol. 17, 237 (1969).

⁵⁾ Sterling Drug Inc. (Erf. E. D. Nielson, P. B. Hamilton, D. Rosi und G. P. Peruzzotti) US Pat. 3 317 401 (1963) bzw. Franz. Pat. 1450424 [C. A. 66, 54 279 d (1967)].

tionsmöglichkeit auf die Hydroxylierung der Methylgruppe in 7-Stellung, was der Metabolisierung im menschlichen Organismus entspricht⁶⁾. Der am besten geeignete Pilz *Penicillium adametzi* oxidiert teilweise die Hydroxymethylgruppe zur Carbonylfunktion.

Bei Prüfung von 70 unterschiedlichen Mikroorganismen auf die Fähigkeit, die sehr ähnliche 1-Äthyl-7-methyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (**1**) anzugreifen, wurde die gleiche Umwandlung beobachtet, wobei ebenfalls *Penicillium adametzi* (ATCC 10 407) die beste Ausbeute an Hydroxymethylverbindung **2** ergab. *Streptomyces surinam* dagegen zeigte anstelle einer Hydroxylierung nur eine enzymatische Veresterung der 3-Carboxygruppe zum Methylester **3**. Keiner der untersuchten Mikroorganismen konnte jedoch eine 5-ständige Methylgruppe hydroxylieren. Die angebotene 1-Äthyl-8-methoxy-5-methyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (**4**) wurde zwar von *Penicillium adametzi* angegriffen, lieferte aber nur das Phenoläther-spaltprodukt **5**.



Die Konstitutionen der mikrobiologischen Unwandlungsprodukte lassen sich aus den spektroskopischen Daten, besonders den NMR-Spektren, leicht ableiten. **2** enthält nach dem IR-Spektrum neben der Carboxylgruppe (sehr breit, 3300–2200 cm⁻¹) eine zusätzliche Hydroxygruppe (3360 cm⁻¹). Deren Stellung folgt aus dem NMR-Spektrum, denn im Vergleich zur Ausgangsverbindung **1** ist nur die aromatische Methylgruppe verschwunden und dafür erscheint ein 2-Protonensingulett bei δ 4.71. Das zeigt das Vorliegen einer Hydroxymethyl- statt einer Methylgruppe in 7-Stellung an. Bei **3** ist die 3-Carboxygruppe von **1** in den Methylester übergeführt worden, wie die fehlende Absorption im HO-Gebiet und die Bande bei 1735 cm⁻¹ im IR, das Erscheinen einer CO₂CH₃-Gruppe bei δ 3.81 als Singulett im NMR und ein Massenspektrum mit der richtigen Mol.-Masse und den erwarteten Fragmentierungen beweisen. Bei **5**

⁶⁾ E. W. McChesney, E. J. Froelich, G. Y. Lesher, A. V. R. Crain und D. Rossi, Toxicol. Appl. Pharmacol. **6**, 292 (1964).

fehlt die aromatische Methoxygruppe des Ausgangsproduktes **4**, sonst ist keine Änderung eingetreten, wie aus den typischen Signallagen der anderen Protonen und ihren Aufspaltungen zu erkennen ist.

Nach den Vorstellungen von *Fonken*⁷⁾ und *Johnson*^{7, 7a)} muß beim Pilz *Sporotrichum sulfurescens* (ATCC 7159) der Abstand zwischen dem zu hydroxylierenden Kohlenstoffatom und einem Haftpunkt des Moleküls am Enzym, beispielsweise in Form einer Carbonylgruppe, ca. 5.5 Å betragen. Bei den hier mit *Penicillium adametzi* untersuchten Substraten ist die hydroxylierbare 7-ständige Methylgruppe von der als mögliche Enzymhaftstelle fungierenden 4-Ketogruppe ca. 5.5 Å entfernt, während die 5-Methylgruppe für eine Reaktion in einem zu geringen Abstand von 2 Å liegt.

Leider waren analoge Substrate mit Methylsubstituenten in 6- und 8-Stellung nicht zugänglich, so daß eine Hydroxylierung an diesen Zentren mit den entsprechenden Abständen von 4.5 bzw. 5.2 Å nicht geprüft werden konnte.

Dafür wurde ein Hexahydrobenzo[*g*]chinolin-Derivat (**6**) untersucht, dessen C-Atome in 7- und 8-Position wiederum den günstigen Abstand von 5 bis 6 Å aufweisen. Dieses Substrat wird erwartungsgemäß von *Penicillium adametzi* hydroxyliert, wobei ein Gemisch aus 8- und 7-Monohydroxy-Verbindung **7 + 8** anfiel.

Streptomyces achromogenes bildet **7** (oder **8**) und **9** im Verhältnis von ungefähr 7:3. Da sich die Verbindungen **7** und **8** im Dünnssichtchromatogramm kaum unterscheiden, ist bei den geringen Ausbeuten an Reinprodukt nicht auszuschließen, daß auch *Streptomyces achromogenes* das während der Reinigung eliminierte isomere Hydroxyprodukt gebildet hat.

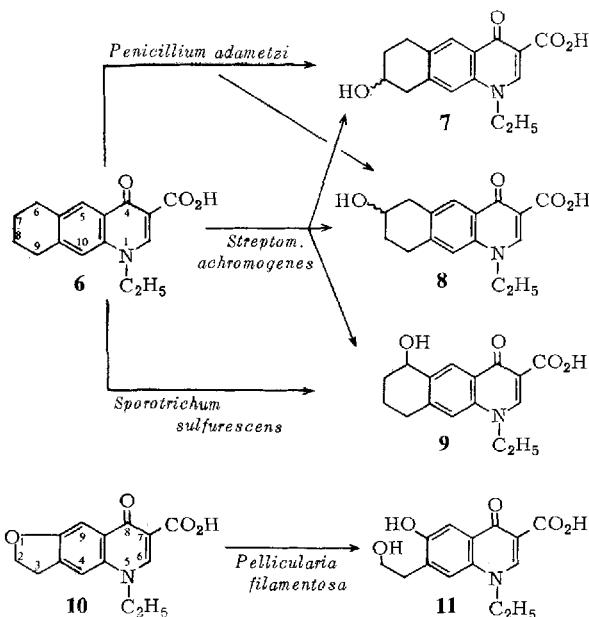
Dagegen hydroxyliert *Sporotrichum sulfurescens* (ATCC 7159) weitgehend selektiv in 6-Stellung. Das in 39 proz. Ausbeute erhaltene Reinprodukt **9** unterscheidet sich im Dünnssichtchromatogramm deutlich von den 7- und 8-Hydroxyprodukten. Obwohl der Abstand der 4-Carbonylfunktion zur 9-Methylengruppe 6 Å, zur 6-Methylengruppe jedoch nur ca. 4.5 Å beträgt, erfolgt ein Angriff auf die weniger begünstigte 6-Position.

Durch Vergleich der NMR-Daten von **1** und **6** ist eine eindeutige Zuordnung der beiden aromatischen Singulets von **6** möglich. Während bei **1** die Zuordnung der 3 Signale im aromatischen Bereich zu 5-H, 6-H und 8-H anhand des charakteristischen Aufspaltungsmusters ohne weiteres möglich ist, wird die Einführung eines zusätzlichen Alkylrestes in 6-Stellung eine Zuordnung über die gegenseitigen Aufspaltungen zwar verhindern, jedoch die Signallagen von 5-H und 8-H nur wenig beeinflussen. So können durch Vergleich der Signallagen die Zuordnungen getroffen werden (**1**: δ 5-H 7.85, δ 8-H 6.97; **6**: δ 5-H 7.72, δ 10-H 6.96). 5-H muß wegen der räumlich benachbarten Carbonylgruppe bei tieferem Feld erscheinen.

Sollte bei der mikrobiologischen Umwandlung von **6** eine Hydroxylierung in 6-Stellung erfolgen, so müßte das 5-H eine starke paramagnetische Verschiebung erleiden. Das ist tatsächlich bei **9** zu beobachten (Δ δ 5-H 0.42). Weiter deutet der starke Verschiebungsbetrag darauf hin, daß die Hydroxygruppe sehr wahrscheinlich

⁷⁾ G. S. Fonken, M. E. Herr, H. C. Murray und L. M. Reineke, J. Amer. Chem. Soc. **89**, 672 (1967).

^{7a)} R. A. Johnson, M. E. Herr, H. C. Murray und G. S. Fonken, J. Org. Chem. **33**, 3217 (1968).



äquatorial steht. Auch das Verhältnis der Protonen 7-H und 8-H zu 9-H von 4:2 weist auf eine Hydroxylierung in benzylischer Stellung hin. Das Proton neben der Hydroxygruppe ist wegen der Nähe zum HOD-Signal nicht klar erkennbar. Eine Hydroxylierung in 7- oder 8-Stellung sollte zu NMR-Daten führen, die einander sehr ähnlich sind. Das Hydroxylierungsprodukt von **6** mit *Penicillium adametzi* ist offenbar ein Gemisch aus **7** und **8**, denn es sind sowohl für 5-H als auch für 10-H zwei dicht beieinanderliegende Singulets (δ 5-H 7.72 bzw. 7.74; δ 10-H 7.00 bzw. 7.04) vorhanden, deren Signallagen vom Ausgangsprodukt **6** (s. oben) nur wenig abweichen. Das Proton neben der Hydroxygruppe wird durch die *N*-Methylengruppe verdeckt, während die anderen Protonen der Tetramethylengruppe ein komplexes Signal ergeben. Die Hydroxylierung von **6** mit *Streptomyces achromogenes* führt zu einem Gemisch aus **9** und **7** (oder **8**), wie aus dem NMR-Spektrum leicht zu ersehen ist. Bei allen Hydroxylierungsprodukten ist neben der breiten CO_2H -Gruppe ($3200 - 2200 \text{ cm}^{-1}$) die Hydroxygruppe bei $3440 - 3505 \text{ cm}^{-1}$ im IR klar sichtbar.

Ungeklärt ist demgegenüber die überraschende Resistenz der 5-Äthyl-8-oxo-2,3,5,8-tetrahydrofuro[2,3-*g*]chinolin-7-carbonsäure (**10**), deren 3-Methylengruppe nach den untersuchten Bedingungen nicht hydroxyliert wurde. In Analogie zu einer beim Organstoffwechsel von *DiCarlo*⁸⁾ beschriebenen Spaltung eines 6,7-Methylenedioxy-chinolin-Derivates zur freien 6,7-Diphenolstruktur, entstand nur mit dem Pilz *Pellicularia filamentosa* das Produkt **11**, dessen Dihydrofuranring enzymatisch durch Hydrolyse geöffnet war. Die Eigenschaften dieser Verbindung, die in enger Strukturbeziehung zur bekannten Oxolonsäure mit 6-Hydroxy-7-methoxy-Substitution steht, werden an anderer Stelle beschrieben.

⁸⁾ F. J. DiCarlo, M. C. Crew und R. C. Greenough, Arch. Biochem. Biophys. **127**, 503 (1968).

Die Konstitution von **11** folgt aus den charakteristischen Signallagen und Aufspaltungen im NMR, der sehr intensiven und breiten Bande im OH-Bereich (3500 bis 2300 cm⁻¹) im IR und besonders dem Massenspektrum mit der richtigen Mol.-Masse und den erwarteten Fragmentierungen.

Herrn Dr. Rudolf Albrecht danken wir für die Überlassung der Ausgangssubstrate und Frau Marianne Scharping für präparative Mitarbeit.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden im Apparat nach Tottoli bestimmt und sind unkorrigiert. Zur Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgel-Fertigplatten (Fa. Merck AG, Darmstadt) verwendet. Wenn nicht anders angegeben, wurde im System Chloroform/Methanol/Eisessig (90 + 9 + 1) aufsteigend entwickelt. Zur Anfärbung wurde mit einem Reagenz aus 1 ml konz. Schwefelsäure und 9 ml 95proz. Äthanol angesprüht, 10 min bei 120°C getrocknet und im UV-Licht betrachtet. Für die Säulenchromatographien diente Kieselgel G. Die NMR-Spektren wurden im Varian A 60 und HA 100, die Massenspektren im Varian MAT CH 4 und die IR-Spektren mit einem Perkin-Elmer-Modell 621 aufgenommen. Bei den MS-Daten werden die charakteristischen Fragmentionen mit einer Erklärung ihrer Entstehung angegeben. Die Basispeaks sind jeweils kursiv gedruckt. Die Mikroanalysen wurden in unserem Kontrollaboratorium unter Leitung von Dipl.-Ing. J. Huber durchgeführt.

a) Vorversuche zur Auswahl geeigneter Mikroorganismen

Die Bedingungen wurden bereits an anderer Stelle beschrieben⁹⁾. Nährösung = Medium 99. Pro Kolben wurden 0.2 ml einer sterilisierten Lösung von 20 mg des jeweiligen Substrates in 1 ml Dimethylsulfoxid eingesetzt. Inkubationszeit 80 h.

b) Präparative Fermentationen in Schüttelkolben und

c) in Versuchsfermentern

Unter den bereits beschriebenen Versuchsbedingungen⁹⁾ unter Verwendung von Medium 99 und mit einem Substrateinsatz von 200 mg/Liter wurden Rohprodukte erhalten, die ausschließlich durch fraktionierte Kristallisation gereinigt wurden.

1-Äthyl-7-hydroxymethyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (2): In fünfzehn 2-Liter-Schüttelkolben (Bedingungen b) mit je 500 ml Medium wurden je 10 ml einer Lösung von 1.5 g des gleichen Substrates **1** in 150 ml Dimethylsulfoxid zu einer 6 h alten Kulturbrühe von *Penicillium adametzii* (ATCC 10 407) gegeben und 140 h fermentiert. Der Methylisobutylketon-Extrakt lieferte 1.7 g Rohprodukt. Durch fraktionierte Kristallisation aus Essigester und Methanol wurden 403 mg (25.6%) Reinprodukt **2** erhalten. — Schmp. 250—251°C. DC-R_F = 0.21.

NMR (D₂O + NaOD): δ 1.39 ppm (3 H, t, J = 7.0 Hz, CH₃), 4.15 (2 H, q, J = 7.0 Hz, N—CH₂), 4.71 (2 H, s, Ar—CH₂OH), 7.29 (1 H, d, J = 8.0 Hz, 6-H), 7.39 (1 H, s, 8-H), 8.09 (1 H, d, J = 8.0 Hz, 5-H), 8.43 (1 H, s, 2-H). — IR (KBr): 3360 (HO), 3300—2200 (CO₂H), 1700 (CO₂H), 1615 (C=O) und 1525 cm⁻¹ (C=C).

C₁₃H₁₃NO₄ (247.3) Ber. C 63.16 H 5.30 N 5.66 O 25.88
Gef. C 63.35 H 5.55 N 5.88 O 25.45

1-Äthyl-7-methyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-methylester (3): In einem 20-Liter-Fermenter (Bedingungen c) wurden 3.0 g **1** in 300 ml Dimethylsulfoxid zu 15 Liter einer 12 h alten Kulturbrühe von *Streptomyces surinam* (Scheringstamm 317) gegeben und

⁹⁾ G. Siewert, K. Kieslich, G.-A. Hoyer und D. Rosenberg, Chem. Ber. **106**, 1290 (1973).

100 h fermentiert. Aus dem Methylisobutylketon-Extrakt wurden 2.1 g Rohprodukt erhalten. Nach fraktionierter Kristallisation aus Essigester erhielt man ein Reinprodukt **3** von 500 mg (16%). Schmp. 163–164°C. DC- R_F = 0.77.

NMR ([D₅]Pyridin): δ 1.28 ppm (3 H, t, J = 7.0 Hz, CH₃), 2.34 (3 H, s, Ar – CH₃), 3.81 (3 H, s, CO₂CH₃), 4.18 (2 H, q, J = 7.0 Hz, N – CH₂), 7.14 (1 H, d, J = 8.0 Hz, 6-H), 7.35 (1 H, s, 8-H), 8.61 (1 H, d, J = 8.0 Hz, 5-H), 8.70 (1 H, s, 2-H). — IR (KBr): 1735 (CO₂CH₃), 1615 (C=O), 1595 und 1548 cm⁻¹ (C=C). — MS (70 eV): *m/e* 245 (M⁺), 214 (M⁺ – OCH₃), 187 (M⁺ – CO₂CH₃ + H), 172 (187 – CH₃), 159 (187 – CO), 158 (187 – C₂H₅), 144 (187 – CO – CH₃), 130 (158 – CO), 118¹⁰⁾, 115¹¹⁾, 103 (130 – HCN), 91 (Tropyliumkation), 77 (Phenyl), 65, 51, 39.

C₁₄H₁₅NO₃ (245.3) Ber. C 68.55 H 6.17 N 5.72 O 19.56

Gef. C 68.30 H 6.40 N 5.91 O 19.94

1-Äthyl-8-hydroxy-5-methyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (5): Nach den Bedingungen c) wurden 3.0 g 1-Äthyl-8-methoxy-5-methyl-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (**4**) in 100 ml Dimethylformamid zu 15 Liter einer 12 h alten Kulturbrühe von *Penicillium adametzii* (ATCC 10 407) gegeben und 68 h fermentiert. Der Methylisobutylketon-Extrakt lieferte 3.1 g Rohprodukt, das durch fraktionierte Umkristallisation aus Äthanol 643 mg (22.7%) Reinprodukt **5** ergab. Schmp. 257/258–259°C. DC- R_F = 0.61.

NMR ([D₅]Pyridin): δ 1.44 ppm (3 H, t, J = 7.0 Hz, CH₃), 3.02 (3 H, s, Ar – CH₃), 4.86 (2 H, q, J = 7.0 Hz, N – CH₂), 7.11 (1 H, d, J = 8.0 Hz, 6-H), 7.35 (1 H, d, J = 8.0 Hz, 7-H), 8.87 (1 H, s, 2-H). — IR (KBr): 3300–2200 (HO und CO₂H), 1675 (CO₂H), 1620 (C=O), 1560 und 1535 cm⁻¹ (C=C).

C₁₃H₁₃NO₄ (247.3) Ber. C 63.16 H 5.30 N 5.66 O 25.88

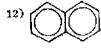
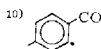
Gef. C 62.47 H 5.51 N 5.76 O 25.58

Gemisch aus 1-Äthyl-7-hydroxy-4-oxo- (8) und 1-Äthyl-8-hydroxy-4-oxo-1,4,6,7,8,9-hexahydrobenzo[g]chinolin-3-carbonsäure (7): Unter den Bedingungen c) wurde eine Lösung von 3.0 g 1-Äthyl-4-oxo-1,4,6,7,8,9-hexahydrobenzo[g]chinolin-3-carbonsäure (**6**), gelöst in 150 ml Dimethylformamid, zu einer 12 h alten Kulturbrühe von *Penicillium adametzii* (ATCC 10 407) gegeben und 132 h fermentiert. Aus dem Methylisobutylketon-Extrakt erhielt man 2.7 g Rohprodukt; nach fraktionierter Kristallisation aus Äthanol 148 mg Gemisch **7 + 8** (4.6%). Schmp. 271–273°C. DC- R_F = 0.15.

NMR (D₂O + NaOD): δ 1.35 ppm (3 H, t, J = 7.0 Hz, CH₃), 1.50–2.20 (2 H, m, 7-H und 8-H), 2.50–3.20 (4 H, m, 6-H und 9-H), ~3.99 (1 H, 7-H und 8-H), 4.00 (2 H, q, J = 7.0 Hz, N – CH₂), 7.00 bzw. 7.04 (1 H, s, 10-H), 7.72 bzw. 7.74 (1 H, s, 5-H), 8.37 (1 H, s, 2-H). — IR (KBr): 3440 (OH), 3200–2200 (CO₂H), 1710 (CO₂H), 1610 (C=O) und 1520 cm⁻¹ (C=C). — MS (70 eV): 287 (M⁺), 243 (M⁺ – CO₂), 228 (243 – CH₃), 225 (243 – H₂O), 200 (228 – CO), 128¹²⁾, 115¹³⁾, 91 (Tropyliumkation), 77 (Phenyl), 65, 51, 39.

C₁₆H₁₇NO₄ (287.3) Ber. C 66.89 H 5.96 N 4.88 O 22.27

Gef. C 66.72 H 5.79 N 4.76 O 22.02



*Gemisch aus 1-Äthyl-7-hydroxy-4-oxo- (8) oder -8-hydroxy-4-oxo-1,4,6,7,8,9-hexahydrobenzo[*g*]chinolin-3-carbonsäure (7) und 1-Äthyl-6-hydroxy-4-oxo-1,4,6,7,8,9-hexahydrobenzo[*g*]chinolin-3-carbonsäure (9):* Unter gleichen Bedingungen wurden 3 g des Substrates **6** mit *Streptomyces achromogenes* (ATCC 12 767) 69 h fermentiert. Als Rohprodukt wurden 1.3 g erhalten, das durch fraktionierte Kristallisation aus Äthanol 45 mg Gemisch ergab (1.5%). Schmp. 258–261°C. DC-*R_F* = 0.15.

NMR ($D_2O + NaOD$): Nach den Signalen ein Gemisch aus 30% **9** und 70% **7** oder **8**. — **IR** (KBr): 3440 (HO), 3200–2200 (CO_2H), 1705 (CO_2H), 1610 ($C=O$) und 1520 cm^{-1} ($C=C$).

*1-Äthyl-6-hydroxy-4-oxo-1,4,6,7,8,9-hexahydrobenzo[*g*]chinolin-3-carbonsäure (9):* Unter den Bedingungen c) wurde eine Lösung von 2.4 g des gleichen Substrates **6** in 120 ml Dimethylformamid zu 12 Liter einer 6 h alten Kulturbrühe von *Sporotrichum sulfurescens* (ATCC 7159) gegeben und 190 h fermentiert. Der Methylisobutylketon-Extrakt ergab 2.5 g Rohprodukt, das durch fraktionierte Kristallisation gereinigt wurde. Reinprodukt **9** 990 mg (39%). Schmp. 271–272°C. DC-*R_F* = 0.16.

NMR ($D_2O + NaOD$): δ 1.35 (3 H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.88 (4 H, m, $W_{1/2} = 24$ Hz, 7-H und 8-H), 2.80 (2 H, m, $W_{1/2} = 16$ Hz, 9-H), 4.06 (2 H, q, $J = 7.0$ Hz, $N-CH_2$), 4.73 (1 H, m, 6-H), 7.10 (1 H, s, 10-H), 8.14 (1 H, s, 5-H), 8.33 (1 H, s, 2-H). — **IR** (KBr): 3505 (OH), 3200–2200 (CO_2H), 1705 (CO_2H), 1610 ($C=O$) und 1525 cm^{-1} ($C=C$).

$C_{16}H_{17}NO_4$ (287.3) Ber. C 66.89 H 5.96 N 4.88 O 22.27
Gef. C 66.82 H 6.18 N 4.80 O 22.55

1-Äthyl-6-hydroxy-7-(2-hydroxyäthyl)-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (11): In einem 20-Liter-Versuchsfermenter mit 11 Liter Kulturbrühe wurde eine Lösung von 2.25 g 5-Äthyl-8-oxo-2,3,5,8-tetrahydrofuro[2,3-*g*]chinolin-7-carbonsäure (**10**) in 120 ml 1 N NaOH zu einer 12 h alten Kulturbrühe von *Pellicularia filamentosa* (CBS 33 852) gegeben und 120 h fermentiert. Der Methylisobutylketon-Extrakt ergab 2.5 g Rohprodukt. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Äthanol wurden 198 mg (8.2% d. Th.) Reinprodukt **11** erhalten. Schmp. 266/268–270°C. DC-*R_F* = 0.21.

NMR ($D_2O + NaOD$): δ 1.37 (3 H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 2.97 (2 H, t, $J = 6.5$ Hz, Ar – CH_2), 3.84 (2 H, t, $J = 6.5$ Hz, $-CH_2OH$), 4.10 (2 H, q, $J = 7.0$ Hz, $N-CH_2$), 7.26 (1 H, s, 8-H), 7.30 (1 H, s, 5-H), 8.21 (1 H, s, 2-H). — **IR** (KBr): 3500–2300 (2 mal OH und CO_2H), 1690 (CO_2H), 1620 ($C=O$) und 1535 cm^{-1} ($C=C$). — **MS** (70 eV): 277 (M^+), 259 ($M^+ - H_2O$), 233 ($M^+ - CO_2$), 218 (233 – CH_3), 215 (233 – H_2O), 202 (233 – CH_2OH), 200 (233 – $CH_3 - H_2O$), 187 (215 – C_2H_4), 186 (215 – C_2H_5), 174 (202 – C_2H_4), 172 (200 – CO), 159 (187 – CO), 158 (186 – CO), 146 (174 – CO), 131 (159 – CO), 130 (158 – CO), 118 (146 – CO), 107.5 (215/2), 103¹⁴⁾, 91 (Tropyliumkation), 77 (Phenyl), 65, 51, 39, 31 (CH₂=OH).

$C_{14}H_{15}NO_5$ (277.3) Ber. C 60.65 H 5.45 N 5.05 O 28.85
Gef. C 60.14 H 5.87 N 5.08 O 29.25

