

Thus, it appears certain that fungal cultures do not have an amount of endogenous hydrogen peroxide high enough at any moment to cause a color with syringaldazine through peroxidase action that would simulate a positive test for laccase^{38, 39}.

Zusammenfassung

Das Syringaaldehyd-azin ist eine hellgelbe, kristalline und leicht zu synthetisierende Verbindung, die in verdünnter alkoholischer Lösung von Laccase + Luft-sauerstoff bzw. von Peroxydase + H₂O₂ unter Bildung eines intensiv purpurnen Pigments rasch oxydiert wird. Diese hochempfindliche Reaktion ist als Tüpfelprobe leicht anzuwenden und ergibt einen sehr spezifischen Nachweis dieser Phenoloxidasen in Pilzkulturen: Trägt man einige Tropfen verdünnter Azinlösung auf eine Pilzkultur auf, bildet sich an der Luft bei Anwesenheit von Laccase ein purpurner Fleck. Ist nur wenig Laccase vorhanden, wird die Probe nur rosa bis rot; bleibt sie farblos, ist keine Laccase vorhanden. Im letzteren Fall kann man verdünnte H₂O₂-Lösung an

derselben Stelle auftropfen, um Peroxydase nachzuweisen. Färbt sich der Fleck dann lila rot, ist eine Peroxydase vorhanden. Der Nachweis von Peroxydase ist bei Anwesenheit von Laccase nicht möglich. Ist keine Laccase vorhanden, kann man eine Furoguajacin-Lösung (bzw. frisch hergestellte Guajaktinktur) an einer anderen Stelle der Kultur auftragen, um Tyrosinase nachzuweisen. Die Tyrosinase oxydiert das Azin überhaupt nicht. Mit Hilfe dieser eindeutigen und schnellen Nachweismethoden wird man den Zusammenhang zwischen der Bildung der verschiedenen Phenoloxidasen durch holz-zerstörende Pilze und deren Abbau von Holz und von Lignin besser untersuchen können.

³⁸ Acknowledgments: We thank Drs. T. K. KIRK and W. E. ESLYN for the donation of cultures 1-11, F. F. LOMBARD for cultures 12-41 and 49 and for performing the BAVENDAMM tests, and Dr. M. J. LARSEN for cultures 42-48. We also acknowledge gratefully the assistance of F. F. LOMBARD, Dr. M. J. LARSEN and Dr. H. H. BURDSALL in naming the cultures.

³⁹ Mention of trade names and products is solely for identification and does not imply endorsement by the USDA Forest Service.

SPECIALIA

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces brèves communications. – Für die Kurzmitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed in the authors' brief reports. – Ответственность за короткие сообщения несёт исключительно автор. – El responsable de los informes reducidos, está el autor.

Configuration absolue de l'acide bongkrélique*

L'acide bongkrélique, antibiotique toxique produit par *Pseudomonas cocovenenans*, a la structure **1**¹. Toutefois les configurations absolues des deux centres asymétriques présents dans la molécule n'avaient pu être établies de manière certaine.

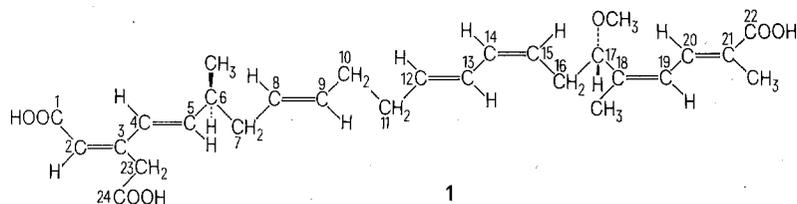
Pour déterminer la chiralité des centres C-6 et C-17 de la molécule, nous l'avons scindée par ozonisation réductrice², isolé les fragments C-5 à C-8 et C-15 à C-18 contenant ces deux centres asymétriques et synthétisé ces fragments à partir de précurseurs optiquement actifs de configuration connue.

L'action de l'ozone sur une solution méthanolique d'acide bongkrélique à 0° pendant 3 h conduit, après traitement par NaBH₄, à un mélange d'hydroxy-acides et de diols. La fraction neutre est composée du méthyl-2 butanediol-1,4 **2a**, du dihydroxy-1,4 méthoxy-3 pentane

3a, les deux fragments recherchés, ainsi que du butanediol-1,4 et de l'éthylène-glycol.

Le mélange est tritylé puis chromatographié sur colonne de gel de silice ce qui a permis d'isoler le composé monotritylé **3b** et le composé ditritylé **2b** optiquement actifs.

Composé **2b**. Le composé **2b**, obtenu de la manière indiquée, n'est pas pur mais accompagné du dérivé ditritylé du butanediol **4b** (F. 182-184°). La faible quantité de produits récupérés n'a pas permis une sépa-



* Dédié au Professeur E. LEDERER en l'honneur de son 65^e anniversaire.

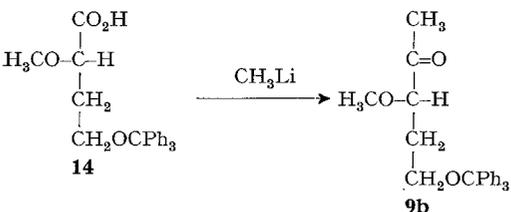
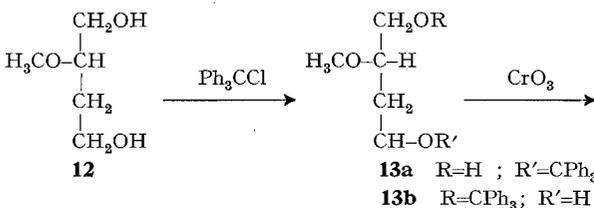
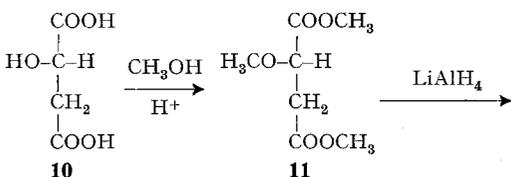
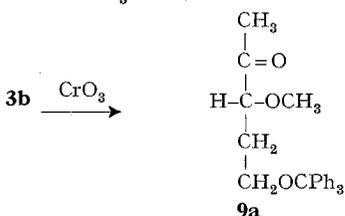
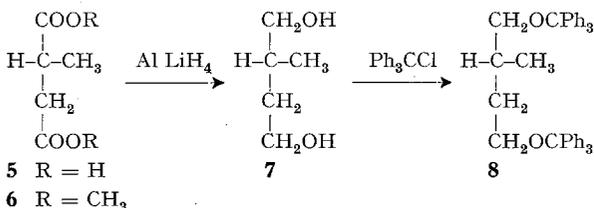
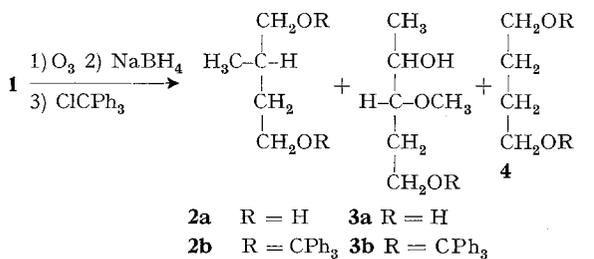
¹ J. DE BRUIJN, D. J. FROST, D. H. NUGTEREN, A. GAUDEMER, G. W. M. LIJMBACH, H. C. COX et W. BERENDS, *Tetrahedron*, sous presse (1973).

² D. G. M. DIAPER et D. L. MITCHELL, *Can. J. Chem.* 38, 1976 (1960).

ration complète de ces deux composés qui ont des comportements très voisins en chromatographie. Les spectres de RMN et de masse du mélange ont permis d'établir que ce mélange cristallisé F 141–161° contient 60% du composé **2b**. Ce mélange a un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = +6,2^\circ$ ($c = 0,77$, CHCl_3) ce qui correspond pour le composé **2b** à un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D = +10,7^\circ$. Le spectre de RMN présente 4 groupes de pics à: $\delta = 0,82$ ppm (doublet, $\text{CH}_3\text{-CH}$), 1,60 ppm (multiplet, $-\text{CH}-\text{CH}_2-$), 2,95 ppm (multiplet, $-\text{CH}_2-\text{O}$ -trityle) et 7,25 ppm (multiplets, H aromatiques).

Le trityle **2b** a été par ailleurs synthétisé à partir de l'acide R (+)-méthylsuccinique **5** $[\alpha]_D = +14,5^\circ$ ($c = 3,25$, éthanol) [lit.³, $[\alpha]_D = +13,11^\circ$ ($c = 4,42$, éthanol)].

Cet acide a été méthylié par le diazométhane en diester méthylique **6** qui a été réduit en méthyl-2 butanediol-1,4



7. La tritylation de ce diol conduit au dérivé ditritylé **8** F. 114–115°, $[\alpha]_D = -9,7^\circ$ ($c = 4,07$, CHCl_3) qui présente le même Rf en chromatographie sur couche mince et le même spectre de RMN que le composé **2b**.

Ces résultats indiquent une configuration S pour le composé **2b** et par conséquent pour le centre C-17 de l'acide bongkrélique.

Composé 3b. Le composé **3b** contient deux carbones asymétriques mais seul le centre C-3 est également présent dans l'acide bongkrélique. Afin de supprimer l'asymétrie du centre C-4 qui est créée lors de la réduction de l'ozonide par NaBH_4 , le composé **3b** a été oxydé par le réactif de JONES⁴. On obtient le composé **9a** non cristallisé $[\alpha]_D = +24^\circ$ ($c = 1,07$, CHCl_3), qui présente un spectre de RMN en accord avec la structure proposée: $\delta = 1,86$ ppm (multi-

plet, 2H: CH_2 en C-2), 2,13 ppm (singulet, 3H: CH_3-C), 3,25 ppm (triplet, 2H: $-\text{CH}_2-\text{O}$ -trityle), 3,30 ppm (singulet, 3H: OCH_3), 3,83 ppm (quadruplet, 1H: $>\text{CH}-\text{OCH}_3$), 7,30 ppm (multiplet, 15H: H aromatiques).

Le composé **9** optiquement actif a été par ailleurs obtenu à partir de l'acide S (-)-malique au moyen de la séquence de réaction suivante. L'acide **10** a été transformé en O-méthyl malate de méthyle **11**⁵. La réduction de ce diester par LiAlH_4 dans l'éther anhydre fournit le méthoxy-2 butanediol-1,4 **12** $[\alpha]_D = -23,0^\circ$ ($c = 3,26$, acétone) (lit.⁵, $[\alpha]_D = -23,5^\circ$). Le diol est traité par un 1,1 équivalent de chlorure de trityle dans la pyridine anhydre ce qui fournit un mélange de deux dérivés monotritylés **13a** et **13b** dans lequel le monotrityl **13a** est le produit prépondérant. Ces deux isomères ont été séparés par chromatographie sur gel de silice. Le composé **13a** non cristallisé $[\alpha]_D = +2,30^\circ$ ($c = 3,07$, CHCl_3) a été oxydé par le réactif de JONES⁴ en acide **14** $[\alpha]_D = -15,6^\circ$ ($c = 4,23$, CHCl_3) qui se présente sous forme d'une huile incolore.

En traitant l'acide **14** par 3 équivalents de méthyllithium dans l'éther anhydre⁶, on obtient un mélange de produits dont le composant prépondérant est la méthyl cétone **9b** $[\alpha]_D = -23,7^\circ$ ($c = 1,8$, CHCl_3). Celle-ci présente le même Rf en chromatographie sur couche mince et le même spectre de RMN que le produit **9a** isolé à partir de l'acide bongkrélique. Le carbone C-6 de l'acide bongkrélique a par conséquent la configuration R, ce qui confirme l'assignation faite précédemment à partir de la courbe de dichroïsme circulaire de l'acide bongkrélique^{1,7}.

Summary. The chiralities of the two asymmetric centers of the toxic antibiotic bongkreic acid have been determined: the C-6 center has the R configuration and the C-17 center the S configuration.

J. ZYLBER, F. GAUDEMER et A. GAUDEMER

Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., F-91190 Gif-sur-Yvette (France), 24 Novembre 1972.

³ R. ROSSI, P. DIVERSI et G. INGROSSO, *Gazz. chim. ital.* **98**, 1391 (1968).

⁴ K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES et B. C. L. WEEDON, *J. chem. Soc.* **1946**, 39.

⁵ A. LARDON et T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **32**, 2003 (1949).

⁶ C. H. DE PUY, G. M. DAPPEN, K. L. EILERS and R. A. KLEIN, *J. org. Chem.* **29**, 2813 (1964).

⁷ Tous les composés préparés au cours de ce travail ont présenté des spectres de RMN (CDCl_3 , 60 MHz), de masse en accord avec leur structure.

⁸ Nous remercions sincèrement M. le Professeur E. LEDERER pour l'intérêt témoigné à ce travail, Mme A. KORNPBST pour la mesure de spectres de RMN⁷.