

19-HYDROXYCORONARIDIN UND 19-HYDROXYIBOGAMIN, ZWEI ANTIBIOTISCH WIRKSAME ALKALOIDE VOM IBOGAMIN-TYP*

HANS ACHENBACH, BERND RAFFELSBERGER und GERT-ULF BRILLINGER

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i Br., West Germany

(Revised received 21 February 1980)

Key Word Index—*Tabernaemontana glandulosa*; Apocynaceae; ibogamine alkaloids; antibiotic activity; 19-hydroxycoronaridine; 19-hydroxyibogamine.

Abstract—During the separation of an extract from *Tabernaemontana glandulosa*, small amounts of a new alkaloid were obtained for which the structure 19-hydroxycoronaridine was deduced. This new alkaloid and 19-hydroxyibogamine, which can be obtained from it, show marked antibiotic activity in the agar plate diffusion test.

Bei der Auftrennung des Alkaloidgemisches aus dem Methanolextrakt von *Tabernaemontana glandulosa* Stapf (syn. *Gabunia glandulosa*) fiel in relativ geringer Menge ein Alkaloid an — Schmp. 138–142° (Zers.), $C_{21}H_{26}N_2O_3$, $[\alpha]_D^{20} - 68^\circ$ (CHCl₃) — dessen Strukturermittlung zu Formel 1 führte. Die gleiche Substanz erhält man auch als Produkt der bereits unter sehr milden Bedingungen erfolgenden Hydrolyse von 19-Ethoxycoronaridin (2) [1], einem anderen Alkaloid aus *T. glandulosa*, dessen genuines Vorkommen ausführlich diskutiert wurde [1]. Es muß daher die Frage offen bleiben, inwieweit 1 (partiell?) als Artefakt nach dem Sammeln des Pflanzenmaterials oder im Zuge von dessen Aufarbeitung entstanden ist.

Im Massenspektrum von 1 treten Ionen bei m/e 336, 337, 338 und 352 auf, die eine eindeutige Festlegung des Moleküliions nicht zulassen: Der MS-Fragmentierung sind offensichtlich thermische Prozesse überlagert, die zu einem Teil dieser Ionen und auch zu Ionen höherer Masse Anlaß geben. Im mittleren und unteren Massenbereich werden eine Reihe von Fragmenten beobachtet (m/e 122, 124, 168, 214) wie sie für Alkaloide vom Ibogamin-Typ und speziell das Coronaridin (4) [2] charakteristisch sind [3–5]. Das Elektronenspektrum von 1 ist in Übereinstimmung mit einem im Benzolring unsubstituierten Indol; im IR-Spektrum können Banden bei 3450 und 1725 cm^{-1} dem indolischen NH bzw. einer Ester-Gruppierung zugeordnet werden.

Reduktion von 1 mit NaBH₄ führt quantitativ zu nur einem Produkt, das als 4 identifiziert wurde.

Diese Befunde bestätigen für 1 die Grundstruktur des Coronaridins mit einem zusätzlichen, leicht reduzierbaren Substituenten. Daß diese Gruppe nur in den Positionen 7 oder 19 des Coronaridins (4) lokalisiert sein kann, zeigt die Bildung von Monodeutero-coronaridin nach Behandlung von 1 mit NaBD₄ und dessen

massenspektrometrische Analyse [6]. Dabei konnten wir uns auch auf ausführliche frühere Studien über den MS-Zerfall von Alkaloiden des Ibogamin-Typs stützen [3–5, 7, 8].

Man beobachtet den Einbau von Deuterium in das Moleküliion und in alle Schlüsselfragmente, die den alicyclischen Stickstoff enthalten sowie auch in das Schlüsselfragment a [7, 8], während das für den Indolteil typische Fragment b deuteriumfrei ist.

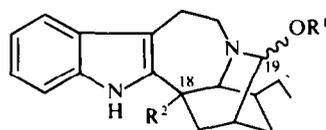
Aufgrund von Molekülgröße und Elementarzusammensetzung kommen damit für 1 nur noch die alternativen Strukturen eines 7- oder 19-Hydroxycoronaridins in Betracht.

Mit dem Strukturelement eines α -Hydroxy-amins in Übereinstimmung ist auch das Ergebnis von Oxidationsversuchen: Aus 1 entsteht nahezu quantitativ ein Lactam [$C_{21}H_{24}N_2O_3$; IR: 1725, 1660 cm^{-1} ; mit LiAlH₄ Reduktion zu Coronaridinol (5)]. Im Massenspektrum dieses Lactams beobachtet man ein sehr stabiles Moleküliion und eine MS-Fragmentierung, wie sie nur beim Vorliegen der 19-Oxostruktur 7 zu erwarten ist [7, 8]. Insbesondere spricht das Auftreten des Basisfragmentes $C_7H_{10}NO$ bei m/e 124 gegen das 7-Oxoisomere.

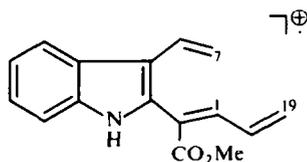
Das bei der Oxidation von 1 erhaltene Lactam ist denn auch identisch mit Coronaridinlactam (7), das durch Oxidation von Coronaridin nach bekannter Vorschrift zugänglich ist [9] und auch als Alkaloid in Pflanzen angetroffen wurde [10, 11]. Mit der daraus festgelegten Struktur des 19-Hydroxycoronaridins für 1 stimmen die ¹H-NMR-Daten gut überein: Man beobachtet für das Proton an C-19 zwei Signal-Gruppen bei δ 4.38 (d , $J = 6$ Hz, verschwindet nach Zugabe von D₂O) und 3.97 (d , $J = 2$ Hz) deren Integration insgesamt nur einem Proton entspricht. 1 liegt offensichtlich als Epimerengemisch vor; aus dem Integralverhältnis der genannten Signale findet man für die Epimeren ein Mengenverhältnis von etwa 2:1.

Carbinolamine vom 19-Hydroxyibogamin-Typ sind erst seit jüngster Zeit bekannt: Schmid *et al.* [6] beschrieben kürzlich die Isolierung von 19-Hydroxyisovoacangin aus *Gabunia eglandulosa*. In einer

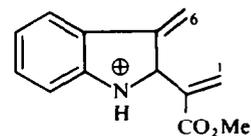
* Part 4 in the series "Constituents of West African Medicinal Plants", and Part 10 in the series "Alkaloids in *Tabernaemontana* Species". For Parts 3 and 9, respectively, see ref. [1].



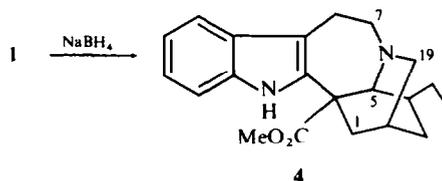
- 1 R¹ = H, R² = CO₂Me
 2 R¹ = Et, R² = CO₂Me
 3 R¹ = R² = H



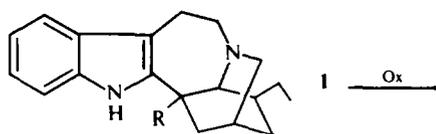
a



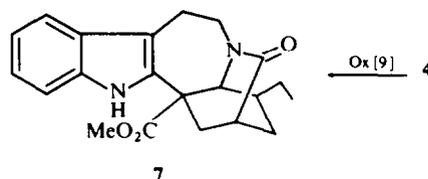
b



4



- 5 R = CH₂OH
 6 R = H



7

Gemischfraktion wurde in diesem Zusammenhang auch das Vorhandensein von 1 als Nebenkomponente nachgewiesen.

Es ist daran zu denken, daß 1 auch in *Ervatamia coronaria* vorkommt, und das in dieser Pflanze aufgefundene 19-(2-Oxopropyl)-coronaridin [10] durch Reaktion von 1 mit Aceton im Zuge der Aufarbeitung und Isolierung entstanden ist.

Nach [6] kann die Oxidation von Alkaloiden zu den entsprechenden Lactamen auf der Stufe von α -Hydroxyaminen angehalten werden, wenn man Iod als Oxidationsmittel in dem Zweiphasensystem Benzol-Wasser anwendet. Wir haben in Anlehnung an dieses Verfahren Coronaridin in ca 70% Ausbeute zu 1 umgesetzt.

Da entsprechende Versuche, 19-Hydroxyibogamin (3) durch Oxidation von Ibogamin (6) herzustellen, unbefriedigend verliefen, haben wir diese Base durch Esterhydrolyse und Decarboxylierung aus 1 gewonnen.

Während Coronaridin (4) und Ibogamin (6) antibiotisch inaktiv sind, zeigen 19-Hydroxycoronaridin (1) und 19-Hydroxyibogamin (3) im Diffusionsplattentest eine ausgeprägte antibiotische Wirkung, die den Anstoß zu einer eingehenderen mikrobiologischen Untersuchung dieser Substanzen gab [12].

EXPERIMENTELLES

Schmelzpunkte: unkorrigiert. IR-Spektren: CHCl₃, falls nicht anders vermerkt. Elektronen-Spektren: MeOH p.a. [α]_D²⁰-Werte (CHCl₃): Automatischer Polarimeter 141 (Fa. Perkin-Elmer) Schichtdicke 10 cm. CD-Messungen (MeOH p.a.): Cary 60 (Fa. Varian), Schichtdicke 1 cm, Konzentration 2–4 mg/100 ml; im Experimentellen ist jeweils der molare Circular dichroismus ($\Delta\epsilon$) (l/mol·cm) angegeben. ¹H-NMR-Spektren: Lösungsmittel Deuteriochloroform; innerer Standard TMS. Massenspektren: Massenspektrometer Typ SM 1 B (Fa. Varian-MAT) bei einer

Auflösung von $M/\Delta M = 1000$; Ionenquelle EH 1; Ionisierungsenergie 70 eV; Temperatur der Ionenquelle 180°; Einlaßsystem Schubstange; Probestemp. 110–200°. Angegeben sind die Daten im allgemeinen für $m/e > 100$ und für relat. Intensitäten $> 5\%$. Hocho aufgelöste Daten: SM 1 B, 'Peak-matching'-Methode, Auflösung $M/\Delta M = 14000$ (10% Tal). Gaschromatographie (GC): Gaschromatograph 5750 (Fa. Hewlett-Packard); Glassäule 2 m 1/8" (inn. Durchm.) gepackt mit 2% SE 30 auf Chromosorb W (AW-DMCS, 60/80 mesh); Detektor: WLD; Trägergas: He (ca 100 ml/min); Temperaturen: Einspritzblock 240°; Detektor 300°; Temperaturprogramm 10°/min. Dünnschichtchromatographie (DC): Kieselgel H (Fa. Merck), Schichtdicke 0.25 mm; nach Lufttrocknung erfolgte die Aktivierung bei 105° (30 min); Detektion: Ioddampf; Cer-IV-ammoniumsulfat (1%) in 85% iger Phosphorsäure (Reagens Nr. 39 nach Stahl [13]; Fluoreszenzindikator F₂₅₄ (Fa. Merck)-UV-Licht (366 nm). Präparative DC: Kieselgel P (Fa. Merck), Schichtdicke 0.5 mm; vor der Aktivierung wurden die Platten in MeOH und CHCl₃-MeOH (9:1) gewaschen.

Isolierung von 19-Hydroxycoronaridin (1) aus dem Pflanzenmaterial. Reinigung der Fraktion D 10–12 [1] durch präparative DC ergab neben 60 mg 19-Ethoxycoronaridin ca 5 mg 1 als farbloses Öl. DC (CHCl₃-MeOH, 9:1); R_f 0.36. Ce^{IV}: blau-grau; [α]_D²⁰ – 68° (Cl proz.). MS m/e (%): 353 (12), 352 (34), 339 (25), 338 (100), 337 (46), 336 (73), 335 (15), 323 (22), 307 (13), 279 (13), 277 (23), 253 (10), 249 (15), 239 (15), 238 (11), 229 (12), 228 (12), 215 (11), 214 (19), 208 (14), 207 (11), 206 (10), 197 (12), 195 (13), 194 (12), 193 (10), 182 (11), 180 (17), 169 (19), 168 (21), 167 (20), 154 (22), 143 (10), 136 (43), 135 (15), 130 (13), 124 (36), 122 (29), außerdem Ionen bei höheren Massen in Abhängigkeit von den Aufnahmebedingungen. Hocho aufgelöste MS-Daten: $m/e = 352.1796$ C₂₁H₂₄N₂O₃; 338.2001 C₂₁H₂₆N₂O₂; 336.1845 C₂₁H₂₄N₂O₂. UV λ_{max} (log ϵ) nm: 292 (3.86), 285 (3.90), 228 (4.41). CD $\lambda(\Delta\epsilon)$ nm: 285 (–0.025), 245 (0.020) ($c = 0.03$ mg/ml). IR (KBr) cm^{–1}: 3450 (NH), 1725 (C=O). ¹H-NMR (Bruker HX180R): δ 7.78 (1 H, s, breit, verschwindet mit D₂O), 7.43 (1 H, dd, J₀ = 7.5, J_m \approx 2 Hz), 7.26–6.98 (3 H, m), 4.38 (ca 0.6 H, d breit, J = 6 Hz, Kopplung verschwindet nach Behandlung mit

D₂O), 3.97 (*ca* 0.35 H, *d*, *J* ≈ 2 Hz), 3.83–3.69 (1 H, *m*), 3.65 (3 H, *s* verbreitert), 3.62–1.20 (13 ± 1 H), 0.91 (*t*, *J* = 7 Hz) und 0.89 (*t*, *J* = 7 Hz) (insgesamt 3 H).

I durch Hydrolyse von 19-Ethoxycoronaridin. 40 mg 19-Ethoxycoronaridin [1] wurden in 100 ml CHCl₃ gelöst und mit 2 ml 2 N HCl versetzt. Nach 2 hr Rühren bei Raumtemp. wurde der Ansatz, in dem durch DC nur noch **I** nachweisbar war, mit einer wäbr. Lösung von Na₂CO₃ behandelt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Einengen i. Vak. ergab 35 mg **I** als öligen, DC-einheitlichen Rückstand; aus methanolischer Lösung kristallisierten nach mehreren Wochen im Kühlschrank farblose Nadeln vom Schmp. 138–142° (Zers.). Für die weiteren Untersuchungen wurde sowohl aus Pflanzenmaterial isoliertes **I** als auch durch Hydrolyse von 19-Ethoxycoronaridin gewonnenes **I** eingesetzt.

Reduktion von I mit NaBH₄ zu Coronaridin (4). 2 mg **I** wurden in 2 ml MeOH gelöst und nach Zugabe von 4 mg NaBH₄ 30 min bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit 2 N HCl angesäuert, mit konz. Ammoniak alkalisch gestellt und mit 10 ml Wasser verdünnt. Man extrahiert mit CHCl₃, trocknet und engt i. Vak. ein. Das Produkt wurde durch präparative DC (C₆H₆/EtOAc, 3:2) gereinigt und fällt als farbloses Öl (*ca* 1 mg) an. DC (*R_f* 0.80, GC: *T_d* 240° (Anfangstemperatur 200°), Ce^{IV}: blau-grau, [α]_D²⁰ – 55° (0.5 Proz.), MS *m/e* (%): 338 (100, M⁺), 337 (10), 323 (20), 253 (7), 214 (14), 208 (8), 195 (6), 169 (11), 168 (7), 167 (7), 154 (8), 148 (6), 137 (7), 136 (38), 135 (11), 130 (8), 124 (20), 122 (14). Hochoaufgelöste MS-Daten: *m/e* = 338.1999 C₂₁H₂₆N₂O₂ (M⁺), 253.1100 C₁₆H₁₅NO₂ (Schlüsselfragment **a**) 214.0873 C₁₃H₁₂NO₂ (Schlüsselfragment **b**). UV λ_{max} (log *e*) nm: 293 (3.89), 285 (3.90), 228 (4.52). IR (KBr) cm⁻¹: 3450 (NH), 1725 (C=O). ¹H-NMR (Bruker HX180R): δ 7.73 (1 H, *s* breit, verschwindet mit D₂O), 7.45 (1 H, *dd*, *J*₀ = 7.5, *J*_m ≈ 2 Hz), 7.25–6.98 (3 H, *m*), 3.69 (3 H, *s*), 3.53 (1 H, *s* verbreitert), 3.4–2.5 (8 ± 1 H, *m*), 0.89 (3 H, *t*, *J* = 7 Hz).

Reduktion von I mit NaBD₄ zu [19-D]Coronaridin. 2 mg **I** wurden in 2 ml MeOH: [D]ol gelöst und nach Zugabe von 4 mg NaBD₄ 30 min bei Raumtemp. gerührt. Aufarbeitung wie oben ergab 0.8 mg [19-D]Coronaridin als farbloses Öl. *R_f*, GC und UV Daten identisch mit **4**. MS *m/e* (%): 340 (27), 339 (100, M⁺ für [D₁] **4**), 338 (23, M⁺ für [D₀] **4**), 337 (8), 325 (6), 324 (19), 310 (5), 280 (6), 254 (7), 215 (5), 214 (12), 209 (7), 208 (5), 205 (5), 195 (5), 170 (5), 169.5 (9), 168 (6), 167 (6), 154 (9), 149 (6), 138 (6), 137 (29), 136 (10), 135 (5), 130 (6), 125 (18), 124 (6), 123 (11), 122 (5).

Oxidation von I zu Coronaridinlactam (7). 2 mg **I** wurden in Anlehnung an [6] in einem Gemisch von 2 ml Benzol und 1 ml einer 5 Proz. wäbr. NaHCO₃-Lösung gelöst. Nach Zugabe von 3 mg Iod rührt man 3 hr bei Raumtemp. Dann wird die benzolische Phase abgetrennt und die wäbr. Phase mit CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen haben wir mit NaHCO₃-Lösung und anschließend mit Na₂S₂O₃-Lösung gewaschen. Nach Trocknung wurde i. Vak. eingeeengt und der Rückstand durch präparative DC (CHCl₃-MeOH, 9:1) gereinigt. Das Produkt (*ca* 1 mg) war in allen spektroskopischen und chromatographischen Eigenschaften identisch mit Coronaridinlactam, das nach Lit. [9] aus Coronaridin hergestellt worden ist. DC (CHCl₃/MeOH, 9:1): *R_f* 0.55. Ce^{IV}: blau-grau, [α]_D²⁰ – 65° (0.8 Proz.) (Lit. [10] [α]_D²⁰ – 67°). MS *m/e* (%): 352 (100, M⁺), 351 (7), 337 (7), 293 (7), 229 (12), 228 (12), 227 (6), 216 (8), 215 (8), 214 (7), 197 (17), 196 (6), 195 (9), 176 (7), 168 (8), 167 (8), 154 (10), 143 (8), 138 (8), 125 (13), 124 (38). Hochoaufgelöste MS-Daten: *m/e* = 352.1794 C₂₁H₂₄N₂O₃ (M⁺). UV: λ_{max} (log *e*) nm: 293 (3.84), 285 (3.90), 225 (4.50). IR (NH) cm⁻¹: 3450 (NH), 1725 (C=O), 1660 (C=O). ¹H-NMR (Bruker WH90): δ 8.02 (1 H, *s* breit, verschwindet mit D₂O), 7.50 (1 H, *m*), 7.3–7.0 (3 H, *m*), 4.8–4.3 (*ca* 1 H, *m*), 4.52 (1 H, *s* verbreitert), 3.75 (3 H, *s*), 3.4–3.1 (*ca* 3 H, *m*), 2.7–1.2 (*ca* 8 H, *m*), 1.01 (3 H, *t*, *J* = 7 Hz).

Reduktion von 7 mit LiAlH₄ zu 5. 2 mg **7**, das durch Oxidation von **I** gewonnen worden war, haben wir in 1 ml absol. Et₂O mit 10 mg LiAlH₄ bei Raumtemp. 30 min lang behandelt. Anschließend wurde überschüssiges Reduktionsmittel mit Essigester zerstört, dann mit 10 ml Wasser versetzt und mit CHCl₃ extrahiert. Der CHCl₃-Extrakt wurde nach Trocknen i. Vak. eingedampft, und der Rückstand durch präparative DC (CHCl₃-MeOH, 9:1) gereinigt. Das Produkt fiel als farbloses Öl (1.5 mg) an. DC *R_f* 0.24. Ce^{IV}: blau-grau, [α]_D²⁰ – 10° (0.6 Proz.). MS *m/e* (%): 310 (100, M⁺), 309 (14), 295 (20), 293 (8), 281 (7), 279 (8), 225 (7), 186 (11), 180 (9), 168 (10), 167 (8), 162 (8), 155 (7), 144 (7), 136 (28), 135 (16), 130 (8), 124 (16), 122 (14). Hochoaufgelöste MS-Daten: *m/e* = 310.2051 C₂₀H₂₆N₂O (M⁺). UV λ_{max} nm: 293, 285, 228. IR cm⁻¹: 3600 (OH), 3450 (NH).

I durch Oxidation von **3**. 50 mg **4** wurden in Anlehnung an Lit. [6] in 25 ml C₆H₆ gelöst und mit 25 ml Wasser versetzt. Anschließend tropfte man unter Rühren bei 10° eine Lösung von 50 mg Iod in 25 ml C₆H₆ innerhalb von 1 hr zu und rührte dann noch bei Raumtemp. 8 hr lang. Nach Abtrennen der C₆H₆-Phase wurde die wäbr. Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert und der Extrakt mit der C₆H₆-Phase vereinigt. Die vereinigten organischen Phasen haben wir mit NaHCO₃-Lösung und anschließend mit Na₂S₂O₃-Lösung gewaschen, getrocknet und i. Vak. eingedampft. Reinigung des Rückstandes durch präparative DC (C₆H₆-EtOAc, 3:2) ergab 28 mg Hauptprodukt, das in allen geprüften Eigenschaften (*R_f*, MS, UV, IR) mit 1 aus Pflanzenmaterial oder durch Hydrolyse von 19-Ethoxycoronaridin übereinstimmte. Auch die ¹H-NMR-Daten sind übereinstimmend, wenn man berücksichtigt, daß die beiden 19-Epimeren im Syntheseprodukt in einem anderen Mengenverhältnis (etwa 1:1) vorlagen. Als Nebenkomponente wurden bei der präparativen DC *ca* 10 mg unverändertes Ausgangsmaterial **4** zurückgewonnen.

Verseifung und Decarboxylierung von 1 zu 19-Hydroxyibogamin (3). 2 mg **I** wurden in 2 ml konz. HCl 2 hr am Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen wurde mit Wasser verdünnt, mit Ammoniak schwach alkalisch gestellt und mit CHCl₃ extrahiert. Nach Trocknen und Einengen i. Vak. erfolgte die Reinigung des Produktes (*ca* 1 mg) durch präparative DC (CHCl₃/MeOH, 9:1). *R_f* 0.13. Ce^{IV}: blau-grau. MS *m/e* (%): 294 (3), 281 (13), 280 (52), 279 (33), 278 (100), 277 (11), 265 (8), 263 (5), 211 (3), 207 (4), 196 (4), 195 (12), 194 (4), 183 (8), 182 (4), 181 (5), 180 (5), 170 (4), 169 (7), 168 (10), 167 (8), 157 (3), 156 (7), 155 (4), 154 (5), 149 (11), 148 (4), 140 (5), 139 (4), 137 (4), 136 (29), 135 (19), 124 (3), 122 (7), außerdem Ionen bei höheren Massen in Abhängigkeit von den Aufnahmebedingungen. Hochoaufgelöste MS-Daten: *m/e* = 294.1736 C₁₉H₂₂N₂O. UV λ_{max} nm: 292, 286, 228. IR cm⁻¹: 3400 (NH).

Danksagungen – Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) und dem Fonds der Chemischen Industrie für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit. Unser besonderer Dank gilt Herrn Dr. G. U. Brillinger am Lehrstuhl für Mikrobiologie I der Universität Tübingen für die Durchführung der mikrobiologischen Untersuchungen.

LITERATUR

1. Achenbach, H. und Raffelsberger, B. (1980) *Phytochemistry* **19**, 716.
2. Gorman, M., Neuss, N., Cone, N. J. und Deyrup, J. A. (1960) *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 1142.
3. Biemann, K. und Friedmann-Spiteller, M. (1961) *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 4805.

4. Biemann, K. (1962) *Mass Spectrometry*, S.323. McGraw-Hill, New York.
5. Hesse, M. (1974) in *Fortschritte der Massenspektrometrie* (Herausgeber H. Budzikiewicz) Bd. 1. Verlag Chemie, Weinheim.
6. Agwada, V. C., Morita, Y., Renner, U., Hesse, M. und Schmid, H. (1975) *Helv. Chim. Acta* **58**, 1001.
7. Thomas, D. W. (1966) Thesis, MIT Cambridge, Mass., U.S.A.
8. Thomas, D. W. und Biemann, K. (1968) *Lloydia* **31**, 1.
9. Bartlett, M. F., Bickel, D. F. und Taylor, W. I. (1958) *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 126.
10. Delle Monache, G., D'Albuquerque, I. L., Delle Monache, F. und Marini-Bettolo, G. B. (1972) *Atti Accad. Naz. Lincei, Cl. Sci. Fis., Mat. Nat., Rend.* **52**, 375.
11. Schaller, E. (1976) Dissertation, Universität Freiburg.
12. Brillinger, G. U., Raffelsberger, B. und Achenbach, H. (1980) *Arch. Microbiol.*, in Vorbereitung.
13. Stahl, E. (1967) *Dünnschichtchromatographie*, 2. Aufl., S.820. Springer, Berlin.