

In entsprechender Weise wurden die in der Tab. 2 zusammengestellten Thioäther ozonisiert. Die Zeit-Umsatzwerte sind der Dissertation von H. SCHAEFER¹⁾ zu entnehmen.

Thionyl-diglykolsäure: Beim Einleiten eines Ozon-Stromes von 25.4 mMol/Stde. in eine wäßrige Lösung von 20 mMol (3.0 g) *Thio-diglykolsäure* bei 0° ist nach 180 Min. die dem Sulfoxyd entsprechende Menge an O₃ absorbiert. Die Reaktionslösung hinterläßt nach dem Eindampfen i. Vak. 3.1 g (94% d. Th.) reine *Thionyl-diglykolsäure* vom Schmp. 119–121°. Die Reinheit dieser Verbindung wurde durch jodometrische Titration bestätigt.

Das Na-Salz der Thio-diglykolsäure ist unter den oben angegebenen Reaktionsbedingungen bereits nach 84 Min. vollständig zum Sulfoxyd oxydiert.

Ozonisation von Disulfiden

Benzylthiosulfonsäure-benzylester: Eine Lösung von 10 mMol *Dibenzyl-disulfid* in 100 ccm Äthylchlorid hat nach ca. 80 Min. 2 Moll. Ozon absorbiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels und Umkristallisieren schmilzt das Thiosulfonat bei 105–107°; Lit.: Schmp. 108°. Ausb. 2.3 g (82% d. Th.).

Benzolthiosulfonsäure-phenylester: *Diphenyl-disulfid*, entsprechend wie *Dibenzyl-disulfid* mit Ozon behandelt, liefert nur 0.5 g (23% d. Th.) an Thiosulfonat.

Das Reaktionsprodukt des Di-n-butyl-disulfids mit Ozon zersetzt sich bei der Destillation.

HANS BROCKMANN und HEINRICH EGGERS

Partialsynthese von Proto-hypericin und Hypericin aus Penicilliospin

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen
(Eingegangen am 9. Oktober 1957)

Es wird gezeigt, daß die beiden Emodin-anthron-(9)-Reste des *Penicilliospines* an den C-Atomen 8 und 8' verknüpft sind und *Penicilliospin* demnach Di-emodin-anthron-(9.9')-yl-(8.8') ist. *Penicilliospin* läßt sich durch Chromsäureoxydation in *Skyrin* und durch Dehydrierung mit Luftsauerstoff in Proto-hypericin überführen. Es wird ein Verfahren beschrieben, mit dem aus *Penicilliospin* in einem Arbeitsgang *Hypericin* gewonnen werden kann.

Vor siebzig Jahren hat J. REINKE¹⁾ mitgeteilt, daß der gelbe Alkoholextrakt aus dem Mycel des Schimmelpilzes *Penicilliospis clavariaeformis* im Licht unter Entwicklung roter Fluoreszenz rot wird und dann ein ähnliches Absorptionsspektrum zeigt wie Porphyrine. Den für dieses Spektrum verantwortlichen, kristallin aus der Lösung abgetrennten Farbstoff nannte REINKE daher, ohne ihn näher zu untersuchen, „*Mykorporphyrin*“. Nachdem dann viele Jahre später H. FISCHER und Mitarbb.^{2,3)} zeigen

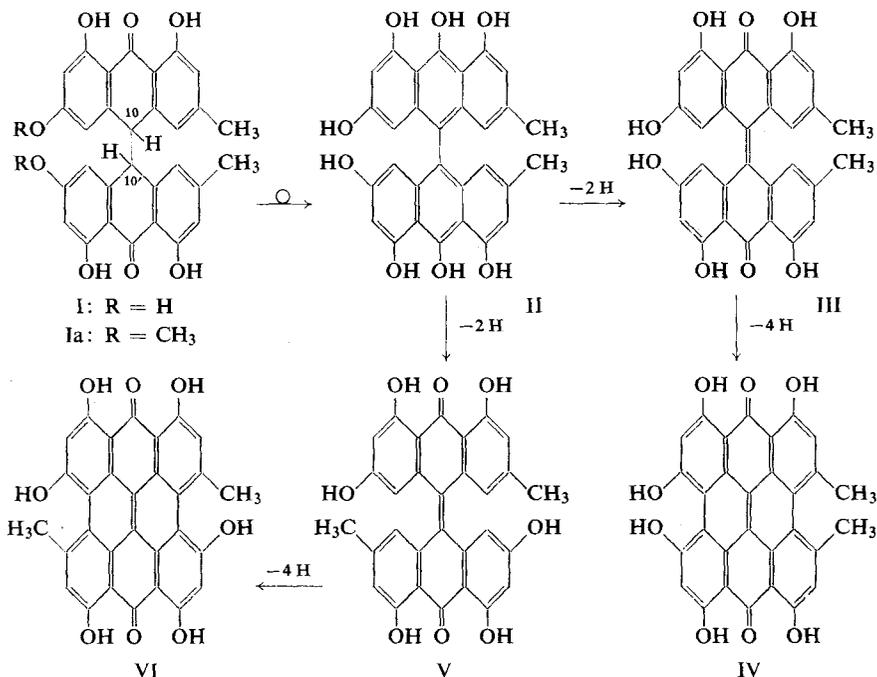
¹⁾ Ann. Jardin botan. Buitenzorg 6, 73 [1887].

²⁾ H. FISCHER und G. NIEMANN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 146, 215 [1925].

³⁾ H. FISCHER und R. HESS, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 187, 136 [1930].

konnten, daß dieses Produkt kein Porphyrin ist, sondern spektroskopisch dem roten, photodynamisch wirksamen *Hypericin* aus *Hypericum perforatum* gleicht, haben sich erst in neuerer Zeit A. E. OXFORD und H. RAISTRICK⁴⁾ wieder mit dem REINKESCHEN Farbstoff beschäftigt. Sie isolierten aus dem Mycel von *Penicillium clavariaeformis* eine kristallisierte, gelbe Verbindung $C_{30}H_{24}O_8$, die sie *Penicilliosin* nannten und als ein aus zwei Emodin-anthron-(9)-Resten aufgebautes „Polyhydroxyderivat eines reduzierten *meso*-Dimethyl-dianthrone“ ansahen. Luftoxydation in piperidinhaltigem Pyridin verwandelte *Penicilliosin* unter Aufnahme von 1.5 Moll. O_2 in rotes, amorphes „Oxy*penicilliosin*“ $C_{30}H_{20}O_9$, das beim Belichten in Methanol in eine dunkelbraune, kristallisierte Verbindung $C_{30}H_{20}O_9$ mit dem charakteristischen Absorptionsspektrum des „Mykoporphyrins“ überging. Ein Vergleich dieses „belichteten Oxy*penicilliosins*“ mit einem chromatographisch gereinigten *Hypericin*präparat aus *Hypericum perforatum* führte OXFORD und RAISTRICK zu dem Schluß, daß beide Farbstoffe zwar sehr ähnlich, aber nicht identisch seien.

Für uns gewannen diese Befunde besonderes Interesse, als für *Hypericin* Formel IV bewiesen wurde⁵⁾. Denn nahm man für *Penicilliosin* die Konstitution I und für seine Enolform II an — was mit den Analysen und sonstigen Befunden von OXFORD



und RAISTRICK durchaus vereinbar schien —, so kamen für „Oxy*penicilliosin*“ die Formeln III bzw. V in Betracht, und „belichtetes Oxy*penicilliosin*“ konnte entweder

⁴⁾ Biochem. J. **34**, 790 [1940].

⁵⁾ H. BROCKMANN, E. H. v. FALKENHAUSEN, R. NEEFF, A. DORLARS und G. BUDDÉ, Naturwissenschaften **37**, 540 [1950]; Chem. Ber. **84**, 865 [1951].

Hypericin (IV), „Iso-hypericin“ (VI) oder ein Gemisch aus beiden sein. Um zu sehen, ob diese Überlegung richtig ist, hat R. NEEFF⁶⁾ die Luftdehydrierung des Penicillio-psins erneut untersucht.

Da in alkalischer Lösung Nebenreaktionen an den phenolischen Hydroxygruppen zu befürchten waren, wurde versucht, die Dehydrierung in saurem Milieu durchzuführen. Das gelang durch Erhitzen des Penicillio-psins mit Pyridiniumchlorid auf 160–170°. Aus dem belichteten Reaktionsprodukt ließ sich chromatographisch in sehr geringer Ausbeute eine dunkelviolette, amorphe Fraktion abtrennen, die in ihren Farbreaktionen und Absorptionsspektren mit Hypericin (IV) übereinstimmte⁷⁾.

Damit schien die Penicillio-psin-Formel I gesichert, und als nächstes galt es, aus Penicillio-psin eine für Kristallisationsversuche ausreichende Menge Hypericin zu gewinnen. Bevor wir diese Aufgabe in Angriff nahmen, haben wir das Penicillio-psin selbst etwas eingehender untersucht. Was dabei gefunden wurde, sei zunächst erörtert.

DIE KONSTITUTION DES PENICILLIOPSINS

An Derivaten des Penicillio-psins waren zu Beginn unserer Arbeit bekannt: 1) Ein durch Kochen mit Acetanhydrid gewonnenes, kristallisiertes Diacetat⁴⁾ und 2) ein mit Diazomethan bereiteter Methyläther, bei dem die in üblicher Weise durchgeführte ZEISEL-Bestimmung versagte⁴⁾. Seinen C,H-Werten nach schien er ein Tetramethyläther zu sein. Nacharbeitung der Methylierung in methanolhaltiger, ätherischer Diazomethanlösung lieferte uns eine in hellgelben, gelb fluoreszierenden Nadeln kristallisierende Verbindung mit nur zwei Methoxygruppen⁸⁾. Wie ihre Unlöslichkeit in wäßrigem Alkali zeigte, waren die beiden β -Hydroxygruppen methyliert worden⁹⁾.

Nach I müßte Penicillio-psin — als *meso*-Dianthron-Derivat — zum Dianthronol-Derivat II enolisierbar sein und als solches fluoreszierende Ester bilden. Tatsächlich konnten wir Penicillio-psin mit Acetanhydrid-Natriumacetat zu einem hellgelben, kristallisierten Oktaacetat vom Schmp. 228–229° und mit Benzoylchlorid-Pyridin zu einem gelben, kristallisierten Oktabenzoat vom Schmp. 207–208° verestern. Beide fluoreszieren in festem Zustand hellgrün und in Pyridin-Piperidin blau. Während diese Befunde noch mit Formel I bzw. II in Einklang zu bringen sind, gilt das, wie im folgenden gezeigt, nicht mehr für das Verhalten des Penicillio-psins gegenüber Reduktions- und Oxydationsmitteln.

Nach I wäre Penicillio-psin ein naher Verwandter des von STOLL und Mitarbb.¹⁰⁾ isolierten, in seiner Konstitution aufgeklärten Sennidins (IX), und der mit Diazomethan gewonnene Penicillio-psin-dimethyläther müßte mit dem aus „Chrysarobin“

6) Dissertat., Univ. Göttingen 1951.

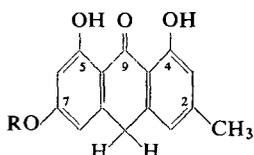
7) H. BROCKMANN und R. NEEFF, Naturwissenschaften 38, 47 [1951].

8) Verseift durch 8 stdg. Erhitzen mit HJ im Einschlußkölbchen.

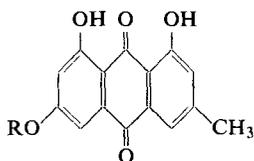
9) Trotz des Methanolzusatzes war somit eine Methylierung der α -Hydroxygruppen ausgeblieben. Vgl. dazu A. SCHÖNBERG und A. MUSTAFA, J. chem. Soc. [London] 1946, 747.

10) A. STOLL, B. BECKER und A. HELFENSTEIN, Helv. chim. Acta 33, 313 [1950].

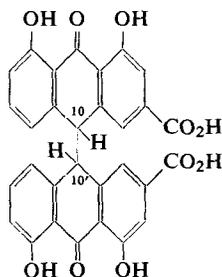
isolierten „Dehydro-emodinanthranol-methyläther“⁽¹¹⁾ (Ia) identisch sein. In Ia wie in IX läßt sich die C-10, C-10'-Bindung oxydativ und reaktiv aufsprengen. Reduktion mit Zinkstaub-Eisessig spaltet den „Dehydro-emodinanthranol-methyläther“ (Ia) in zwei Moll. Emodin-anthron-(9)-7-monomethyläther (VIIa) und Sennidin in zwei Moll. Rhein-anthron-(9) (X), während Oxydationsmittel den „Dehydro-emodinanthranol-methyläther“ (Ia) zu Emodin-monomethyläther (VIIIa) und Sennidin zu Rhein (XI) abbauen.



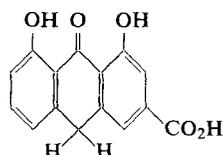
VII: R = H
VIIa: R = CH₃
VIIb: R = CH₃CO



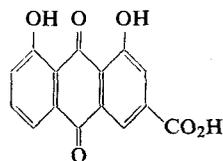
VIII: R = H
VIIIa: R = CH₃
VIIIb: R = CH₃CO



IX



X



XI

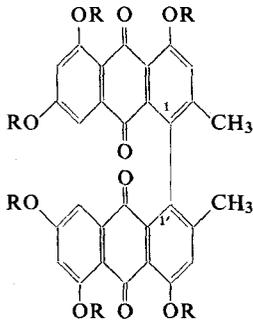
Diesen Befunden entsprechend sollte sich ein Penicilliospin der Formel I reaktiv zu Emodin-anthron-(9) (VII) und oxydativ zu Emodin (VIII) aufspalten lassen. Um beide Reaktionen in Eisessig durchführen zu können, haben wir statt Penicilliospin sein in Eisessig besser lösliches Diacetat verwendet.

Auch nach mehrstündigem Kochen mit Zinkstaub kristallisierte aus der Reaktionslösung unverändertes Penicilliospin-diacetat aus, und der Verdampfungsrückstand der Mutterlauge gab, i. Hochvak. bis 200° erhitzt, kein Sublimat. Bei reduktiver Spaltung zu erwartendes 4,5-Dihydroxy-7-acetoxy-2-methyl-anthron-(9) (VIIb) war im Mutterlauge rückstand demnach nicht vorhanden, denn diese Verbindung sublimiert i. Hochvak. bereits bei 170–180°. Im Gegensatz zu Ia ist Penicilliospin somit gegen Zinkstaub-Eisessig beständig.

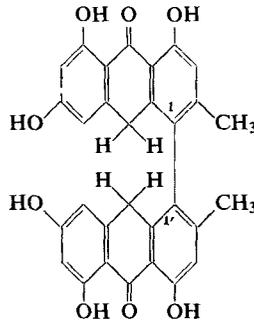
Um zu sehen, ob man Penicilliospin-diacetat oxydativ spalten kann, wurde es in Eisessig mit einer 2,3 Moll. O₂ entsprechenden Menge Chrom(VI)-oxyd 1 Stde. auf 50° erwärmt. Das Oxydationsprodukt gab, i. Hochvak. bis 200° erhitzt, kein Sublimat und enthielt demnach weder Emodin (VIII) noch Emodin-7-acetat (VIIIb), denn beide sublimieren i. Hochvak. bei 170–180°.

Chromatographische Adsorption des Oxydationsproduktes aus Dioxan an Gips lieferte eine kristallisierte, rote, ab 260° unscharf unter Zersetzung schmelzende Fraktion, deren anfangs rote Lösung in konz. Schwefelsäure innerhalb von 1–2 Min. grün wurde. Dieses Abbauprodukt wird im nächsten Abschnitt näher beschrieben.

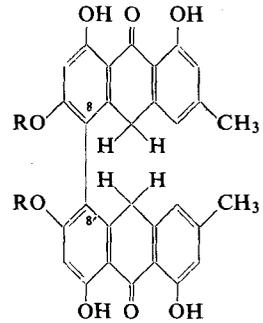
¹¹⁾ R. EDER und F. HAUSER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 263, 436 [1925].



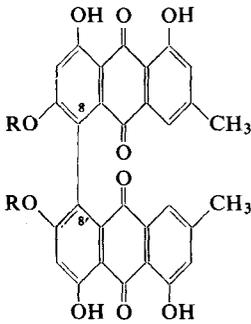
XII: R = CH₃
XIIa: R = H



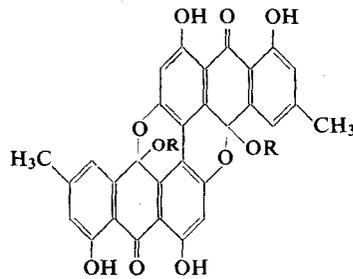
XIII



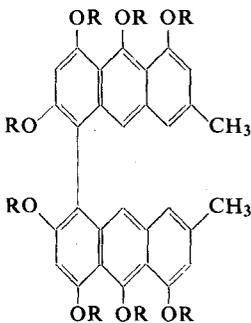
XIV: R = H
XIVa: R = CH₃CO
XIVb: R = CH₃



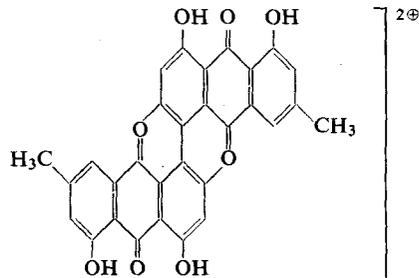
XV: R = H
XVa: R = CH₃
XVb: R, H = CH₃CO



XVI: R = H
XVIa: R = CH₃



XVII: R = H
XVIIa: R = CH₃CO
XVIIb: R = C₆H₅CO



XVIII

Aus den vorstehenden Befunden ging eindeutig hervor, daß die beiden Emodin-anthron-(9)-Reste des Penicillipsins nicht über C-10, C-10' miteinander verbunden sein können. Da sich andererseits Penicillipsin in Hypericin überführen läßt, kamen nunmehr als Verknüpfungsstellen nur noch C-1, C-1' oder C-8, C-8' und demgemäß als Penicillipsin-Formeln nur noch XIII oder XIV in Betracht. Die Entscheidung zwischen ihnen brachte die Darstellung von XIII. Ausgangsmaterial war dabei der Di-emodinylnyl-(1.1')-hexamethyläther (XII), ein Zwischenprodukt der Hypericin-Synthese¹²⁾. Seine Entmethylierung mit Pyridiniumchlorid gab das Di-emodinylnyl-(1.1') (XIIa) und dessen Zinn(II)-chlorid-Reduktion eine kristallisierte Verbindung $C_{30}H_{22}O_8$. Ihr darf, da Emodin (VIII) unter den gleichen Reduktionsbedingungen nur die nicht chelierte Carbonylgruppe verliert, Formel XIII zugeschrieben werden. Übereinstimmend damit zeigt das Reduktionsprodukt die für chelierte Carbonylgruppen typische langwellige Lage (6.15μ) der IR-Carbonylbande und liefert bei Luftyoxydation in alkalischer Lösung Hypericin.

Der Vergleich von XIII mit Penicillipsin hat gezeigt: Beide unterscheiden sich im IR-Spektrum sowie dadurch, daß die anfangs gelbe Lösung von XIII in Pyridin-Piperidin nach einiger Zeit gelbrot, die von Penicillipsin dagegen violett wird. Damit ist für Penicillipsin die Konstitution XIV und für seine Enolform die Struktur XVII bewiesen, und dem oben beschriebenen Penicillipsin-oktaacetat und Penicillipsin-oktabenzoat kommen demnach die Formeln XVIIa bzw. XVIIb zu.

ÜBERFÜHRUNG VON PENICILLIPSIN IN SKYRIN

Der neuen Formel XIV nach sollte sich Penicillipsin zum Di-emodinylnyl-(8.8') (XV) oxydieren lassen, eine Folgerung, die uns experimenteller Prüfung wert erschien. Um Nebenreaktionen an den Hydroxygruppen des Penicillipsins zu vermeiden, gingen wir von seinem Oktaacetat (XVIIa) aus und setzten es in Eisessig bei 50° mit einer 2.3 Moll. O_2 entsprechenden Menge Chrom(VI)-oxyd um. Dabei entstand in 75-proz. Ausbeute ein kristallisiertes Hexaacetat $C_{30}H_{12}O_{10}(CH_3CO)_6$, dessen Formel zeigt, daß bei der Oxydation zwei Acetoxygruppen abgespalten und zwei Sauerstoffatome aufgenommen werden.

Aus dem mit *n* Alkalihydroxyd gewonnenen Verseifungsprodukt des Hexaacetates konnten wir durch Chromatographie aus Dioxan an Gips zwei durch rote und gelbe Farbe ihrer Zonen unterschiedene Produkte abtrennen. Jedes lieferte beim Einengen seiner Methanollösung Fraktionen aus roten sowie Fraktionen aus gelben Kristallen; daneben solche, die beide Kristallarten enthielten. Die roten Fraktionen waren, einerlei aus welcher Chromatogrammzone sie stammten, identisch, und das gleiche galt für die gelben. Im folgenden ist daher nur noch von der „gelben“ bzw. „roten Fraktion“ die Rede.

Die „rote Fraktion“, bereits in kaltem wäßrigem Alkali mit violetter Farbe löslich, gab Analysenzahlen, die auf ein Di-emodinylnyl $C_{30}H_{18}O_{10}$ paßten. Ihre anfangs rote Lösung in konz. Schwefelsäure wurde innerhalb weniger Min. tiefgrün.

Die „gelbe Fraktion“, i. Hochvak. ab 260° unzersetzt sublimierbar und in wäßrigem Alkali erst beim Erwärmen mit violetter Farbe löslich, färbte konz. Schwefel-

¹²⁾ H. BROCKMANN, F. KLUGE und H. MUXFELDT, Chem. Ber. **90**, 2302 [1957].

säure von Anfang an tiefgrün. Ihre Analysenzahlen paßten auf einen Dimethyläther $C_{30}H_{16}O_8(OCH_3)_2$. Brachte man sie durch Erwärmen mit wäßrigem Alkali in Lösung und säuerte an, so fiel ein Niederschlag aus, der in konz. Schwefelsäure den für die rote Fraktion charakteristischen Farbumschlag von Rot nach Grün zeigte.

Die rote Fraktion lieferte beim Kochen mit Acetanhydrid-Natriumacetat ein bei 248–249° schmelzendes Acetat, das identisch war mit dem oben erwähnten, durch Oxydation von Penicillioepsin-oktaacetat (XVIIa) erhaltenen Hexaacetat, dem Ausgangsmaterial unseres „roten“ und „gelben Produktes“. Damit ist bewiesen, daß bei dieser Oxydation keine Hydroxygruppe in die Molekel eingeführt wird. Dann aber kommt für die beiden bei der Oxydation aufgenommenen Sauerstoffatome nur eine chinoide Bindung in Frage, d. h., das Oxydationsprodukt des Penicillioepsin-oktaacetates muß das Hexaacetat XVb des Di-emodinylnyl-(8.8') und die daraus durch Verseifung entstehende „rote Fraktion“ $C_{30}H_{18}O_{10}$ muß das Di-emodinylnyl-(8.8') (XV) sein.

Di-emodinylnyl-(8.8') (XV) ist sozusagen das Gegenstück zum oben erwähnten Di-emodinylnyl-(1.1') (XIIa), von dem es sich u. a. durch folgende Reaktionen unterscheidet: 1) Die rote Farbe von XIIa in konz. Schwefelsäure ist beständig, die von XV dagegen schlägt, wie schon erwähnt, in kürzester Zeit nach Grün um. 2) XV bildet beim Kochen mit Methanol einen mit Alkali leicht verseifbaren Dimethyläther, XIIa dagegen nicht.

Wenn unser rotes Produkt die Konstitution XV hat, muß es mit dem von B. H. HOWARD und H. RAISTRICK¹³⁾ aus dem Mycel von *Penicillium islandicum* Sopp isolierten und als Di-emodinylnyl erkannten *Skyrin* identisch sein, denn für dieses haben O. TANAKA und C. KANEKO¹⁴⁾ durch Synthese des *Skyrin*- β,β' -dimethyläthers die Konstitution XV bewiesen.

Das in wäßrigem Alkali mit violetter Farbe lösliche *Skyrin* kristallisiert in zwei verschiedenen Formen, einer gelbroten und einer gelben¹³⁾. Die gelbrote färbt konz. Schwefelsäure zunächst rot, worauf die Farbe in 1–2 Min. nach Grün umschlägt; die gelbe Form dagegen löst sich in konz. Schwefelsäure von vorneherein mit grüner Farbe.

Skyrin bildet zwei Dimethyläther, den einen mit Diazomethan, den anderen beim Erwärmen mit Methanol. Der mit Diazomethan gewonnene ist gegen Alkali beständig, der mit Methanol erhaltene wird durch Alkali leicht verseift.

Die Bildung eines mit Alkali leicht verseifbaren Dimethyläthers sowie die Existenz von zwei in Farbe und Kristallform verschiedenen Formen des *Skyrins* erklären S. SHIBATA, O. TANAKA und J. KITAGAWA¹⁵⁾ durch die Annahme, daß die 7.7'-Hydroxygruppen mit den ihnen räumlich zugänglichen Chinoncarbonylgruppen so wie bei der Bildung eines Halbacetals reagieren, wobei das Pyranolderivat XVI (gelbe Form des *Skyrins*) und in Methanol dessen Methyläther entstehen. Der mit Diazomethan bereitete Dimethyläther dagegen ist nach XVa zu formulieren.

Auch die auffällige Farbe des *Skyrins* und seiner Derivate in konz. Schwefelsäure läßt sich — was die japanischen Autoren allerdings nicht erwähnen — durch Formel XVI erklären. Denn in konz. Schwefelsäure sollte ein Pyranol XVI und sein Methyl-

¹³⁾ Biochem. J. 56, 56 [1954]. · ¹⁴⁾ Pharmac. Bull. [Tokyo] 3, 284 [1955].

¹⁵⁾ Pharmac. Bull. [Tokyo] 3, 278 [1955].

äther XVIa sofort in das zweifach positiv geladene Pyryliumkation XVIII übergehen. Daß eine Verbindung dieser Konstitution grün ist, überrascht nicht. Und ebenso wenig überrascht, daß sich Skyrin selber in konz. Schwefelsäure zunächst rot löst, d. h. mit der gleichen Farbe wie das isomere XIIa. In dem Maße, wie sich dann aus XV durch Ringschluß das Pyryliumkation XVIII bildet, wird die Lösung grün. Da aus XIIa kein Pyryliumkation XVIII entstehen kann, bleibt seine Farbe in konz. Schwefelsäure rot, und das gleiche gilt für den Skyrin- β,β' -dimethyläther (XVa).

Alle diese für Skyrin charakteristischen Reaktionen zeigt nun, wie nicht anders zu erwarten, auch unsere „rote Fraktion“. Lediglich im Schmp. des Hexaacetates besteht keine Übereinstimmung. Skyrin-hexaacetat schmilzt nach B. H. HOWARD und H. RAISTRICK¹³⁾ bei 295–296°, unser Hexaacetat dagegen bei 248–249° (BERL-Block). Wegen dieser Differenz hatten wir zunächst Bedenken, beide als identisch anzusehen¹⁶⁾. Diese Bedenken entfallen jedoch, seit SHIBATA und Mitarbb.¹⁷⁾ festgestellt haben, daß der Schmp. des Hexaacetates schlecht reproduzierbar und daher zur Identifizierung ungeeignet ist.

Im einzelnen mag noch auf folgendes hingewiesen werden. Verseift man das durch Oxydation aus Penicillioleucin-oktaacetat gewonnene Hexaacetat XVb, so entsteht zweifellos zunächst *nur* Skyrin (XV). Beim Aufarbeiten lagert es sich jedoch z. T. in XVI um, das sich bei Chromatographie des Verseifungsproduktes als gelbe, schneller wandernde Zone von der roten des Skyrins abtrennt. Eluiert man mit Methanol, so stellt sich in den Eluaten beider Zonen ein Gleichgewicht zwischen Skyrin und XVIa ein. Es überrascht daher nicht, daß sich aus beiden Eluaten beim fraktionierten Eindampfen sowohl die roten Kristalle des Skyrins („rotes Produkt“) als auch die gelben des Dimethyläthers XVIa („gelbes Produkt“) ausscheiden.

Bringt man den in konz. Schwefelsäure sofort mit grüner Farbe löslichen Dimethyläther XVIa durch Erwärmen in wäßriges Alkali, so wird er unter Verseifung und Aufspaltung des Heteroringes in Skyrin (XV) verwandelt, was verständlich macht, daß der beim Ansäuern ausfallende Niederschlag im Gegensatz zum Dimethyläther XVIa mit konz. Schwefelsäure den Farbumschlag von Rot nach Grün zeigt.

Wie B. H. HOWARD und H. RAISTRICK¹³⁾ fanden, wird die 8.8'-Bindung des Skyrins durch Natriumdithionit leicht unter Bildung von Emodin aufgespalten. Vorbedingung für einen solchen Abbau ist eine zur Verknüpfungsstelle der beiden Ringsysteme *ortho*-ständige Hydroxygruppe¹⁵⁾. So ließen sich 2.4.2'.4'-Tetrahydroxy-dianthrachinonyl-(1.1') und 2.2'-Dihydroxy-dianthrachinonyl-(1.1') zu den entsprechenden Hydroxy-anthrachinonen aufspalten; nicht dagegen das 4.4'-Dihydroxy-dianthrachinonyl-(1.1'). Beim 2.2'-Dihydroxy-dianthrachinonyl-(1.1') haben auch wir die Dithionit-Spaltung untersucht und können die Angaben der japanischen Autoren bestätigen.

Schließlich sei noch erwähnt, daß sich aus dem rohen Chromsäure-Oxydationsprodukt des Penicillioleucin-diacetates neben Skyrin und seiner Pyranolform XVI eine Fraktion abtrennen ließ, die zur Hauptsache aus Proto-hypericin bestand. Auch bei der Chromsäureoxydation kommt es demnach in geringem Umfang zu einer Ringverknüpfung an C-10, C-10'.

¹⁶⁾ H. BROCKMANN und H. EGGERS, *Angew. Chem.* **67**, 706 [1955].

¹⁷⁾ S. SHIBATA, T. MURAKAMI, O. TANAKA, G. CHIHARA und M. SUMIMOTO, *Pharmac. Bull. [Tokyo]* **3**, 276 [1955].

ÜBERFÜHRUNG VON PENICILLIOPSIN IN PROTO-HYPERICIN UND HYPERICIN

Anthranol kann in alkalischer Lösung als Anion XIX durch Luftsauerstoff zu Dianthron (XX) und über dessen Enolform, das Dianthranol (XXI), zu *meso*-Dehydro-dianthron (XXII)¹⁸⁾ dehydriert werden. In Analogie dazu durfte man erwarten, daß sich Penicilliopsin, der neuen Formel XIV entsprechend, in alkalischem Milieu als Anion XXIII der Enolform XVII über die Zwischenprodukte XXIV und XXV zum Helianthron-Derivat XXVI dehydrieren lassen würde. Statt die oben erwähnte, ohnehin sehr unergiebigende Dehydrierung in Pyridiniumchlorid⁷⁾ weiter zu verfolgen, schien es daher geraten, erneut die Luftoxydation des Penicilliopsins zu untersuchen, wobei es galt, Bedingungen zu finden, unter denen eine Oxydation zu Skyrin sowie eine Phenoloxydation an den 4.5.4'.5'- und 7.7'-Hydroxygruppen zugunsten der verknüpfenden Dehydrierung an C-10, C-10' nach Möglichkeit hintangehalten wird.

Reihenversuche, bei denen man Lösungsmittel und Base variierte, haben gezeigt, daß die verknüpfende Dehydrierung mit Luftsauerstoff am besten bei 50° in wäßrigem, Natriumhydrogencarbonat enthaltendem Methanol gelingt. Aus dem dabei anfallenden Oxydationsprodukt konnten wir in 58-proz. Ausbeute eine dunkelviolette, kristallisierte Verbindung C₃₀H₁₈O₈ abtrennen, die sich mit Benzoylchlorid-Pyridin zu einem kristallisierten, gelben Hexabenzooat vom Schmp. 218° verestern ließ. Das violette Oxydationsprodukt enthält demnach ebensoviele Sauerstoffatome und Hydroxygruppen wie Penicilliopsin.

Reduzierend acetyliert, gab die neue Verbindung ein kristallisiertes, dunkelviolettes Hexaacetat C₃₀H₁₄O₆(CH₃CO)₆, das sich durch Absorptionsspektrum und ungewöhnliche Lichtempfindlichkeit — seine roten Lösungen wurden in wenigen Min. gelb — als Derivat des Helianthrens¹⁹⁾ (XXVIIa) zu erkennen gab²⁰⁾. Damit war unser Oxydationsprodukt als das erwartete Helianthron-Derivat XXVI, d. h. als 4.6.7.9.3'.6''-Hexahydroxy-5'.4''-dimethyl-[dibenzo-1'.2':1.2; 1''.2'':11.12-perylen]-chinon-(3.10) oder 2.4.5.2'.4'.5''-Hexahydroxy-7.7'-dimethyl-helianthron identifiziert.

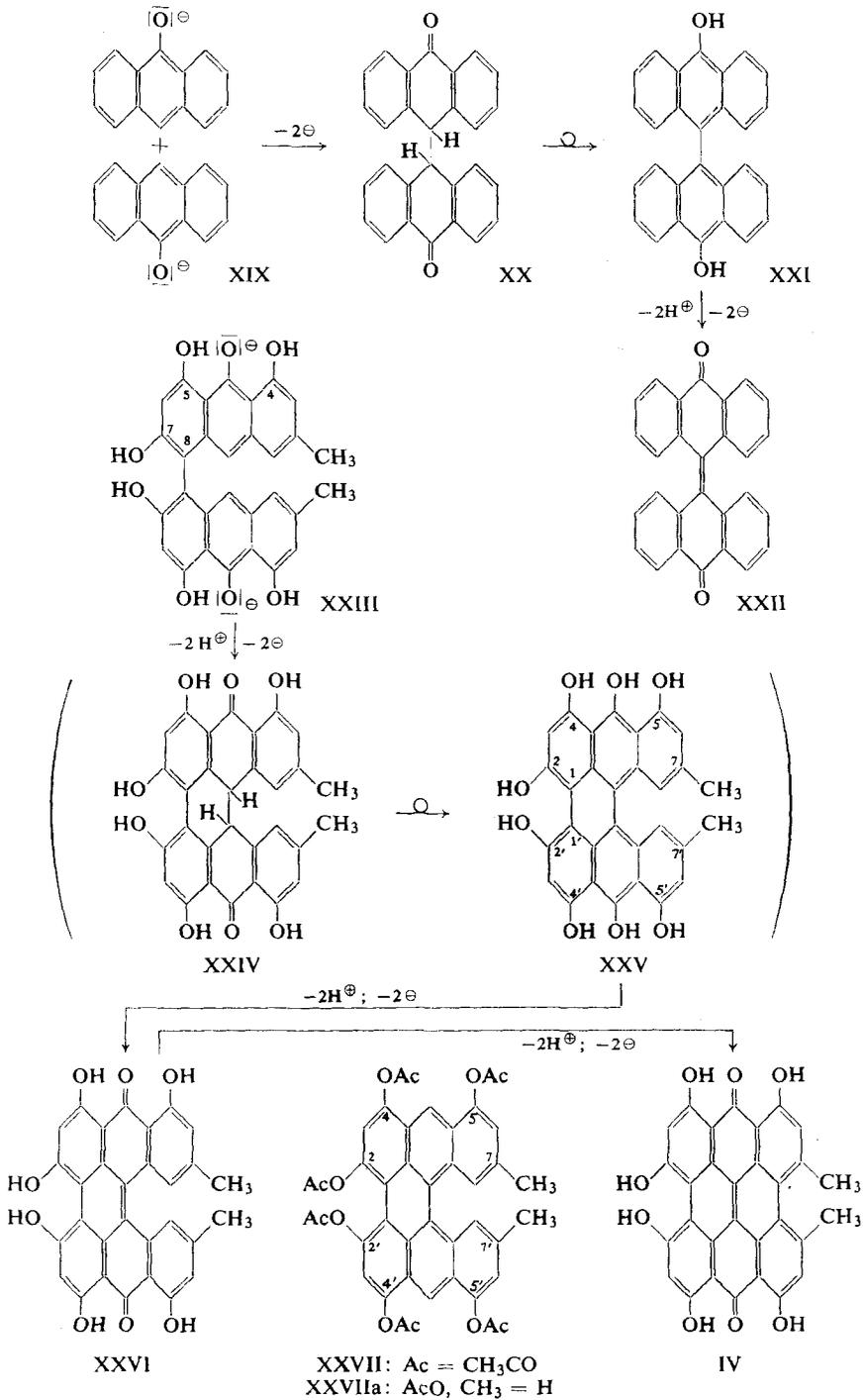
XXVI verliert bei der reduzierenden Acetylierung, wie die Formel C₃₀H₁₄O₆(CH₃CO)₆ des dabei entstehenden roten Helianthron-Derivates zeigt, zwei Sauerstoffatome. Da unter den angewandten Bedingungen erfahrungsgemäß nur Chinon-Sauerstoffatome wegreduziert werden, kann man dem Helianthron-Derivat die Konstitutionsformel XXVII zuschreiben.

Die langwelligen Maxima von XXVII (Abbild. 3) sind weniger ausgeprägt als die seines Stammkohlenwasserstoffes Helianthron, was auf die Acetoxygruppen zurückzuführen ist; die gleiche Erscheinung findet man beim Anthracen und seinen Acetoxyderivaten²⁰⁾. Und

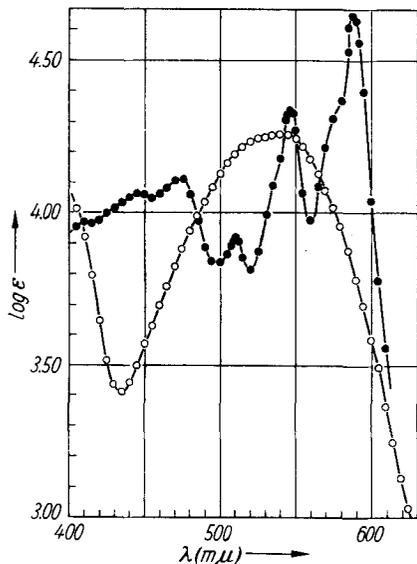
¹⁸⁾ Zur Nomenklatur vgl.: G. KORTÜM, W. THEILACKER, H. ZEININGER und H. ELLIENHAUSEN, Chem. Ber. **86**, 294 [1953].

¹⁹⁾ H. BROCKMANN und R. MÜHLMANN, Chem. Ber. **81**, 467 [1948].

²⁰⁾ Zur spektroskopischen Identifizierung des Stammkohlenwasserstoffes mehrkerniger Hydroxy-chinone vgl.: H. BROCKMANN und G. BUDE, Chem. Ber. **86**, 432 [1952].

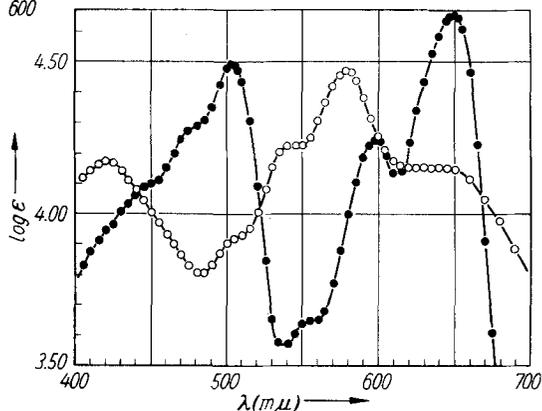


ebenso muß man die Acetoxygruppen dafür verantwortlich machen, daß die Maxima von XXVII längerwellig sind als die von XXVIIa²¹⁾.



Abbild. 1
Absorptionskurven von
Proto-hypericin (XXVI) (—○—○—)
und Hypericin (IV) (—●—●—)
in Methanol

Abbild. 2
Absorptionskurven von
Proto-hypericin (XXVI) (—○—○—)
und Hypericin (IV) (—●—●—)
in konz. Schwefelsäure



Beim Belichten in Aceton, Pyridin oder konz. Schwefelsäure wurde das Helianthron-Derivat XXVI schnell zum Hypericin (IV) cyclodehydriert, das wir durch Analyse, Absorptionsspektrum, IR-Spektrum, Farbreaktionen, Schmp. und Misch-Schmp. seines gelben Hexabenzooates, reduzierende Acetylierung zum blauen 4.5.7.4'.5'.7'-Hexaacetoxy-2.2'-dimethyl-*meso*-naphthodianthren⁵⁾ und das bei der Zinkstaubschmelze entstehende Anthrodianthren⁵⁾ identifizierten.

²¹⁾ Die Helianthrenkurve der Abbild. 3 ist von E. CLAR gemessen worden und seinem Buch „Aromatische Kohlenwasserstoffe, Polycyclische Systeme“, J. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 2. Aufl. 1952, S. 298, entnommen. Im Prismenspektroskop fanden wir die Maxima des Helianthrens in Benzol bei 566 und 523 mμ, Werte, die auch E. CLAR in der 1. Aufl. seines Buches angegeben hat. Um diese Abweichungen zu erklären, soll die Absorptionskurve des Helianthrens erneut vermessen werden.

Da die Photodehydrierung schnell verläuft, muß man bei Darstellung und Reinigung von XXVI Licht nach Möglichkeit ausschließen und bei Vermessung der Absorptionskurven in Kauf nehmen, daß geringe Mengen XXVI in Hypericin übergehen.

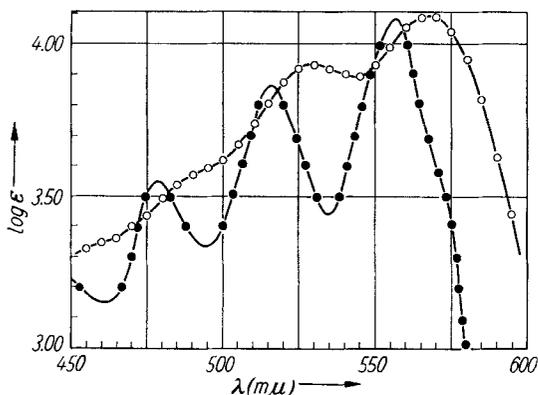


Abbildung 3. Absorptionskurven von Hexaacetoxy-7.7'-dimethyl-helianthren (XXVII) (—○—○—) und Helianthren (XXVIIa) (—•—•—) in Benzol

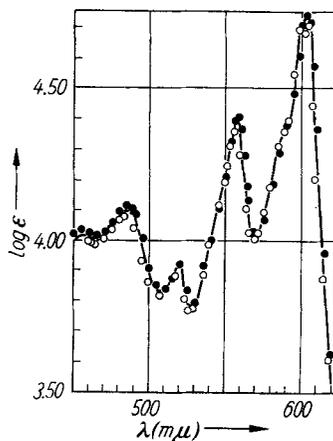


Abbildung 4. Absorptionskurven von Hypericin aus Penicillipsin (—•—•—) und Hypericin aus *Hypericum hirsutum* (—○—○—) in Pyridin

Wie bereits kurz mitgeteilt²²⁾, wurde das Helianthron-Derivat XXVI neben Hypericin aus den Blütenknospen von *Hypericum hirsutum* isoliert. Da es in der Pflanze zweifellos die Vorstufe des Hypericins ist, haben wir es *Proto-hypericin*²²⁾ genannt. Einige Reaktionen, durch die sich Proto-hypericin von Hypericin unterscheidet, sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tab. 1. Vergleich von Proto-hypericin mit Hypericin

Reagenz	Proto-hypericin	Hypericin
methanol. Alkali	blauviolett löslich	grün löslich
konz. Schwefelsäure	blau (λ_{\max} 579, 535 m μ)	grün, rote Fluoreszenz (λ_{\max} 651, 599 m μ)
Pyroboracetat 2 Min. gekocht	blau, rote Fluoreszenz (λ_{\max} 579, 535 m μ)	grün, rote Fluoreszenz (λ_{\max} 635, 582 m μ)
Benzoylchlorid Pyridin	gelbes Hexabenzolat, Schmp. 218°	gelbes Hexabenzolat, Schmp. 304—305°
reduzierende Acetylierung	rotes, lichtempfindliches Hexaacetoxy-7.7'-di- methyl-helianthren	blaues Hexaacetoxy- 2.2'-dimethyl-meso- naphthodianthren

Statt nach der Luftoxydation des Penicillipsins zunächst das Proto-hypericin zu isolieren und es dann durch Belichten in Hypericin umzuwandeln, kann man die Partialsynthese des Hypericins auch in *einem* Arbeitsgang durchführen. Dazu wird

²²⁾ H. BROCKMANN und W. SANNE, Naturwissenschaften 40, 509 [1953]; Chem. Ber. 90, 2480 [1957].

die schwach alkalische Reaktionslösung nach der Oxydation neutralisiert und unter Luftdurchleiten belichtet. Aus dem Reaktionsprodukt erhält man in Ausbeuten bis zu 50% (bezogen auf Penicillioopsin) kristallisiertes Hypericin.

Die Partialsynthese des Hypericins aus Penicillioopsin ist ein Beispiel dafür, daß Mikroorganismen auch als Lieferanten von Synthese-Zwischenprodukten von Interesse sein können.

Wie unsere Versuche zeigen, hatten OXFORD und RAISTRICK⁴⁾ recht, als sie vermuteten, „Oxyenicillioopsin“ sei ein Helianthron- und „belichtetes Oxyenicillioopsin“ ein Naphthodianthron-Derivat. Der zu hohe Sauerstoffgehalt ihrer Präparate ist beim „Oxyenicillioopsin“ wohl auf Verunreinigungen und beim „belichteten Oxyenicillioopsin“ wahrscheinlich auf hartnäckig festgehaltenes Lösungsmittel zurückzuführen, und die geringfügigen Farbbunterschiede, die „belichtetes Oxyenicillioopsin“ und Hypericin in wäßrigem Alkali und wäßrig-alkoholischem Methylamin zeigten, möchten wir dadurch erklären, daß: 1) Das „belichtete Oxyenicillioopsin“ kein reines Hypericin gewesen ist und 2) das zum Vergleich benutzte, aus *Hypericum perforatum* isolierte Hypericin zweifellos Pseudo-hypericin²³⁾ enthalten hat.

Bemerkenswert ist, daß Penicillioopsin-diacetat und Penicillioopsin-dimethyläther — unter den gleichen Bedingungen oxydiert wie Penicillioopsin — als Hauptprodukt Di-emodinyll-(8.8') (XV) bzw. dessen Dimethyläther XVa liefern. Hier kommt es demnach nicht oder nur in geringem Umfang zu einer C-10, C-10'-Verknüpfung.

Dem FONDS DER CHEMIE danken wir für die Unterstützung unserer Arbeit.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Penicillioopsin (XIV) aus Penicillioopsis clavariaeformis: 100 l der nach OXFORD und RAISTRICK⁴⁾ hergestellten Nährlösung wurden mit dem grob filtrierten Kochsaft von 40 südafrikanischen Apfelsinen versetzt, auf 100 P-Kolben verteilt und nach Sterilisieren mit einer Kultur von *Penicillioopsis clavariaeformis*²⁴⁾ beimpft. Nach 18 tägiger Bebrütung unter Lichtausschluß bei 25–27° wurde das gelbbraune Mycel abgetrennt, mit Wasser gewaschen und 24 Stdn. in 0.5 n HCl aufbewahrt. Nach Abpressen und Trocknen an der Luft extrahierte man das feingemahlene Mycel (970 g) erschöpfend mit Äther (60 Stdn.). Das aus der Ätherlösung ausgefallene, bräunliche Roh-Penicillioopsin wurde zunächst mit wenig Dioxan auf dem Dampfbad digeriert und dann aus siedendem Dioxan umkristallisiert. Das in gelben Prismen (Zers. ab 280°) erhaltene *Penicillioopsin* (27.6 g) löste sich in konz. Schwefelsäure gelb mit grüner Fluoreszenz und in Natronlauge mit gelbroter, später rot werdender Farbe. Die mit Pyroboracetat versetzte Acetanhydridlösung des Penicillioopsins war in der Kälte gelb mit hellgrüner Fluoreszenz und wurde beim Kochen dunkelrot mit grüner Fluoreszenz.

Penicillioopsin-dimethyläther (XIVb): Eine Lösung von 1 g *Penicillioopsin* in einer Mischung aus 90 ccm Dioxan und 10 ccm Methanol versetzte man mit einer aus 5 g Nitroso-methylharnstoff und 15 ccm 40-proz. Natronlauge bereiteten, destillierten, ätherischen *Diazomethan*-Lösung, saugte die ausgefallenen, gelben Kristalle nach 18 Stdn. ab und wusch sie mit Methanol. Ausb. 675 mg. Umkristallisieren aus Chloroform im Extraktionsapparat lieferte hellgelbe,

²³⁾ H. BRÖCKMANN und G. PAMPUS, *Naturwissenschaften* **41**, 86 [1954]. Die grüne Lösung des Pseudo-hypericins in wäßr. oder methanol. Alkali wird im Gegensatz zu der des Hypericins schnell braun.

^{*}) Alle Schmpp. sind korrigiert.

²⁴⁾ Bezogen vom Centralbüro für Schimmelpilzkulturen, Baarn, Holland.

orange-gelb fluoreszierende Nadeln, die sich ab 300° unter Bräunung zersetzen, i. Hochvak. jedoch bei 240–250° unzersetzt sublimierten.

Der Dimethyläther war unlöslich in verd. Natronlauge und schwer löslich in Pyridin; seine gelbe Lösung in piperidinhaltigem Pyridin wurde beim Belichten rot und zeigte dann rote Fluoreszenz. Kalte konz. Schwefelsäure löste gelb (grüne Fluoreszenz); beim Erwärmen wurde die Lösung grün (rote Fluoreszenz).

$C_{32}H_{26}O_8$ (538.5) Ber. C 71.36 H 4.87 CH_3O 11.5 Gef.*) C 71.39 H 5.12 CH_3O^{**}) 9.1

*) Getrocknet i. Hochvak. bei 180°.

**) 8 Stdn. im Einschlußkolben verseift.

Penicilliosin-oktaacetat (XVIIa): Eine Lösung von 1 g *Penicilliosin* und 1 g wasserfreiem Natriumacetat in 20 ccm *Acetanhydrid* wurde 20 Min. unter Stickstoff gekocht, auf 5 ccm eingengt, mit 10 ccm Eisessig verdünnt und unter Schütteln und Kühlung mit 60 ccm Wasser versetzt. Das ausgefallene, hellgelbe, getrocknete Oktaacetat wurde im Extraktionsapparat aus Toluol umkristallisiert (Dauer der Heißextraktion 30 Stdn.). Gelbe Nadeln, Schmp. 228–229° (BERL-Block, unter Braunfärbung), die sich bei längerem Aufbewahren zersetzen. Ausb. 490 mg. Unlöslich in verd. wäßrigem Alkali. Die farblose Lösung in Pyridin fluoreszierte blau, die orangefarbene Lösung in konz. Schwefelsäure grün. Die hellgelbe, blau fluoreszierende Lösung in piperidinhaltigem Pyridin wurde beim Belichten rot mit roter Fluoreszenz.

$C_{46}H_{38}O_{16}$ (846.8) Ber. C 65.25 H 4.53 8 CH_3CO 40.7
Gef.*) C 65.34 H 4.60 CH_3CO 40.0

*) Getrocknet bei 150° i. Hochvak.

Penicilliosin-oktabenzoat (XVIIb): Eine Lösung von 400 mg *Penicilliosin* in 15 ccm trockenem Pyridin wurde unter Kühlung mit 5 ccm frisch dest. *Benzoylchlorid* versetzt und nach 24 Stdn. unter Kühlung in eine Mischung von 90 ccm Methanol und 10 ccm konz. Salzsäure eingerührt. Den ausgefallenen, zweimal mit Methanol gewaschenen und dann getrockneten Niederschlag löste man in Benzol-Petroläther (2:1) und gab die Lösung durch eine Säule von aktiviertem Gips²⁵⁾. Die gelbe, hellblau fluoreszierende Zone des Oktabenzoates wurde mit Benzol-Petroläther (1:1) ausgewaschen, das Eluat eingengt und mit Petroläther angespritzt. Das in gelben, hellgrün fluoreszierenden Plättchen (285 mg) auskristallisierte Benzoat schmolz nach nochmaligem Umkristallisieren aus Benzol-Petroläther unter Bräunung bei 207.5–208° (BERL-Block) und zersetzte sich bei längerem Aufbewahren. Unlöslich in Pyridin und verd. wäßrigem Alkali, löslich in Pyridin-Piperidin und konz. Schwefelsäure mit gelber Farbe und grünlichblauer bzw. grüner Fluoreszenz.

$C_{86}H_{54}O_{16}$ (1343.3) Ber. C 76.88 H 4.05 8 C_6H_5CO 62.6
Gef.*) C 76.67 H 4.11 C_6H_5CO 62.6

*) Getrocknet 2 Stdn. bei 120° i. Hochvak.

Versuch zur reduktiven Spaltung von Penicilliosin-diacetat (XIVa): Eine Lösung von 200 mg Penicilliosin-diacetat (dargestellt nach OXFORD und RAISTRICK⁴⁾) durch Kochen von Penicilliosin mit Acetanhydrid in 20 ccm Eisessig wurde nach Zugabe von 2 g Zinkstaub 12 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Aus der heiß filtrierten Lösung saugte man am nächsten Tag die ausgefallenen Blättchen (91 mg) ab. Sie schmolzen unscharf ab 255° (Zers.) (BERL-Block); Vermischen mit Penicilliosin-diacetat änderte die Schmelztemperatur nicht.

Die Mutterlauge gab nach Zusatz von Wasser eine zweite, amorphe Fraktion (103 mg), ihren Farbreaktionen nach ebenfalls unverändertes Ausgangsmaterial. Beide Fraktionen lieferten, i. Hochvak. bis 200° erhitzt, kein Sublimat.

Versuch zur reduktiven Spaltung von Penicilliosin-dimethyläther (XIVb): Eine Lösung von 50 mg Penicilliosin-dimethyläther in 20 ccm Eisessig wurde 30 Min. unter Rückfluß gekocht

²⁵⁾ Naturgips der Firma BÖRGARDS, Walkenried (Harz); 2–3 Stdn. auf 160° erhitzt.

und dabei anteilweise mit insgesamt 500 mg Zinkstaub versetzt. Der aus der heiß vom Zink abdekantierten Lösung beim Erkalten ausfallende, amorphe Niederschlag war nach Waschen mit Wasser und Trocknen im Exsikkator (31 mg) ein gelbes Pulver, das, i. Hochvak. bis 200° erhitzt, kein Sublimat lieferte. Bei 240–250° sublimierten gelbe Nadeln, die sich ab 300° zersetzten. Das Sublimat gab die gleichen Farbreaktionen wie Penicillioipsin-dimethyläther.

Versuch zur oxydativen Spaltung von Penicillioipsin-diacetat (XIVa): Eine siedende Lösung von 100 mg Penicillioipsin-diacetat in 5 ccm Eisessig wurde während einer Stde. in Anteilen mit einer Lösung von 40 mg Chrom(VI)-oxyd in 5 ccm Eisessig und 0.5 ccm Wasser versetzt. Die anfangs gelbe, später orangefarbene Lösung goß man in 100 ccm Wasser, zentrifugierte das ausgefallene Oxydationsprodukt (getrocknet 68 mg) ab und erhitzte eine Probe i. Hochvak. auf 180–200°. Dabei entstand kein Sublimat.

Den Rest (60 mg) des Oxydationsproduktes löste man in 10 ccm Dioxan, gab die Lösung auf eine kleine Säule von Gips und wusch mit Dioxan nach. Dabei bildeten sich von oben nach unten folgende Zonen: 1. schmal, schmutzig-grün, 2. schmal, rötlichviolett, 3. breit, orange-gelb; beim Nachwaschen mit Dioxan ins Filtrat gehend.

Das i. Vak. auf 5 ccm eingeengte Eluat von Zone 3 verdünnte man mit 20 ccm Methanol, filtrierte nach 48 Stdn. den kristallinen Niederschlag (rote Bipyramiden, 15 mg) ab und goß die stark eingeengte Mutterlauge in 30 ccm Wasser, wobei noch 30 mg einer zweiten Fraktion ausfielen. Die Kristalle zersetzten sich im BERL-Block ab 260° unter Bräunung. Beide Fraktionen lösten sich in Pyridin orange, in piperidinhaltigem Pyridin und verd. wäßrigem Alkali rot. Die rote Lösung in konz. Schwefelsäure wurde nach einiger Zeit grün.

Versuch zur oxydativen Spaltung des Penicillioipsin-dimethyläthers (XIVb): Eine Lösung von 100 mg Penicillioipsin-dimethyläther in 8 ccm Eisessig wurde mit einer Lösung von 75 mg Chrom(VI)-oxyd in 2 ccm 90-proz. Essigsäure versetzt und 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Beim Abkühlen fiel aus der orangefarbenen Lösung ein gelber Niederschlag aus (42 mg, Frakt. 1). Verdünnen der Mutterlauge mit 40 ccm heißem Wasser gab ein rotes Pulver (25 mg, Frakt. 2). Beide Fraktionen lieferten, i. Hochvak. bis 200° erhitzt, kein Sublimat und zersetzten sich im BERL-Block ab 300° unter Braunfärbung.

Frakt. 1 bestand ihren Farbreaktionen nach aus unverändertem Penicillioipsin-dimethyläther. Frakt. 2 war ein Gemisch verschiedener Oxydationsprodukte, das sich in verd. wäßrigem Alkali und konz. Schwefelsäure rot löste.

Di-emodinanthron-(9.9')-yl-(1.1') (XIII): 375 mg *Di-emodinyl-(1.1')-hexamethyläther (XII)* erhitzte man in einem mit Steigrohr versehenen Kölbchen 5 Stdn. mit 4 g Pyridiniumchlorid auf 200°, zog die erkaltete Schmelze mehrmals mit Wasser aus und kochte das als rotes Pulver (290 mg) zurückbleibende *Di-emodinyl-(1.1') (XIIa)* in einer Mischung aus Eisessig und 5 ccm einer 40-proz. Lösung von Zinn(II)-chlorid in konz. Salzsäure solange unter Rückfluß (etwa 2 Stdn.), bis die Farbe der Lösung nur noch schwach rot war. Das beim Abkühlen ausgefallene, rote *Di-emodinanthron-(9.9')-yl-(1.1')* wurde getrocknet (Ausb. 246 mg) und zur Entfernung unvollständig entmethylierter Produkte 12 Stdn. im Kreisprozeß mit Chloroform extrahiert.

Den gelbgrünen Extraktionsrückstand (150 mg) behandelte man zweimal mit je 10 ccm siedendem Dioxan und gab den erkalteten Auszug durch eine Säule von aktiviertem Gips. Beim Nachwaschen mit Dioxan blieb eine schmale, schmutzig-rote Zone an der Säule, während eine breite, gelbe Zone ins Filtrat lief. Aus dem i. Vak. auf 10 ccm eingeengten Filtrat schied sich das *Di-emodinanthron-(9.9')-yl-(1.1')* in gelben Nadeln aus, die mit wenig kaltem Dioxan und Methanol gewaschen wurden. Ausb. 70 mg. Im BERL-Block: Zersetzung ab 285°.

Unlöslich in Methanol, löslich in Natronlauge (gelb), Pyridin (gelb, grüne Fluoreszenz), konz. Schwefelsäure (gelb, grüne Fluoreszenz). Die Lösung in Acetanhydrid, nach Zusatz von Pyroboracetat in der Kälte zunächst gelb mit hellgrüner Fluoreszenz, wurde beim Kochen rot mit grüner Fluoreszenz.

$C_{30}H_{22}O_8$ (510.5) Ber. C 70.58 H 4.34 Gef.*) C 69.43 H 4.59

*) Getrocknet 4 Stdn. bei 180° i. Hochvak.

Versuch zur Luftyxydation des Di-emodinanthron-(9.9')-yls-(1.1') (XIII) in basischer Lösung: Durch eine Lösung von 25 mg Di-emodinanthron-(9.9')-yl-(1.1') in 2 ccm Pyridin und 0.2 ccm Piperidin wurde bei 100° 10 Min. Luft geleitet. Dann goß man das Reaktionsgemisch in 50 ccm verd. Salzsäure, zentrifugierte den Niederschlag ab und gab die Lösung dieses zuvor getrockneten Rohproduktes (34 mg) in 10 ccm Dioxan durch eine Säule von aktiviertem Gips. Beim Nachwaschen mit Dioxan lief eine breite, gelbe Zone rasch ins Filtrat, während eine festhaftende rote Zone mit Methanol eluiert werden mußte.

Aus dem Eluat der gelben Zone fiel mit verd. Salzsäure ein Pulver aus, das die Farbreaktionen des Di-emodinyls-(1.1') zeigte, während das rote, rot fluoreszierende Eluat der roten Zone 3 mg einer Substanz lieferte, die in Farbreaktionen und Absorptionsbanden mit Hypericin übereinstimmte.

Di-emodinyl-(8.8')-hexaacetat (XVb): Eine Lösung von 800 mg *Penicilliosin-oktaacetat* in 30 ccm Eisessig wurde bei 50° teilweise mit einer Lösung von 350 mg Chrom(VI)-oxyd in 10 ccm 90-proz. Essigsäure versetzt und nach 50 Min. in 150 ccm Wasser gegossen. Den ausgefallenen, gelben Niederschlag löste man nach dem Trocknen in 50 ccm heißem Benzol, filtrierte und versetzte tropfenweise mit 50 ccm Petroläther. Es kristallisierten 556 mg gelbe Blättchen und Nadeln aus, die bei 238–244° (BERL-Block) schmolzen. Das Acetat war schwer löslich in Pyridin (gelb), unlöslich in kaltem und löslich in mit roter Farbe heißem, verd. wäßrigem Alkali. Die rote Lösung in konz. Schwefelsäure wurde nach kurzer Zeit tiefgrün. Pyridin-Piperidin nahm das Acetat mit roter Farbe auf.

$C_{42}H_{30}O_{16}$ (790.7) Ber. C 63.80 H 3.83 6 CH_3CO 32.7

Gef.*) C 64.15 H 4.01 CH_3CO 31.4

*) Getrocknet i. Hochvak. bei 150°.

Di-emodinyl-(8.8') (XV) (*Skyrin*): 500 mg kristallisiertes *Di-emodinyl-(8.8')-hexaacetat* wurden unter Stickstoff in 50 ccm (1:1) methanol. wäßrigem *n* NaOH (vorher 10 Min. im Stickstoffstrom zum Sieden erhitzt) 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Aus der heißen, violetten Lösung schieden sich auf Zusatz von 50 ccm 2 *n* HCl rote Flocken aus. Dieses Rohprodukt (getrocknet 300 mg) löste man in 60 ccm Dioxan und filtrierte die Lösung durch eine Säule von aktiviertem Gips. Beim Nachwaschen mit Dioxan bildeten sich drei breite Zonen aus (von oben nach unten): 1. violett, 2. rot und 3. gelb. Nach Durchwaschen der gelben Zone mit Dioxan zerschnitt man die Säule und eluierte die beiden anderen Zonen getrennt mit Methanol.

Das Eluat der gelben und roten Zone engte man auf je 10 ccm ein und verdünnte mit Methanol auf 50 ccm.

Beim Aufbewahren im Eisschrank schieden sich aus beiden Lösungen allmählich Kristalle aus, die von Zeit zu Zeit abfiltriert wurden. Auf diese Weise ließen sich aus beiden Lösungen drei verschiedene Fraktionen gewinnen: 1. „Rote Fraktion“ (36 mg) von Di-emodinyl-(8.8'), 2. gelbe, orange-gelb fluoreszierende Rhomben (3 mg) des Pyranol-dimethyläthers (XVIa) und 3. 135 mg eines Gemisches beider Kristallformen.

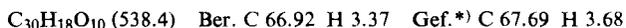
Aus dem Gemisch der roten und gelben Kristalle wurde das Di-emodinyl-(8.8') durch 15 Min. langes Schütteln mit 50 ccm verd. wäßr. Natriumcarbonatlösung extrahiert. Aus der

violetten Natriumcarbonatlösung fiel beim Eingießen in 50 ccm verd. Salzsäure das *Di-emodinyll-(8.8')* als roter Niederschlag (getrocknet 100 mg) aus.

Das restliche Kristallgemisch extrahierte man im Kreisprozeß mit 20 ccm Chloroform, schüttelte die orangerote Lösung zweimal mit je 20 ccm verd. wäßriger Natriumcarbonatlösung, wusch die Chloroformlösung mit Wasser, trocknete mit Calciumchlorid und spritzte mit Methanol an. Es kristallisierten gelbe, gelb fluoreszierende Nadeln (14 mg) des *Pyranol-dimethyläthers (XVIa)* aus.

Das Eluat aus der violetten 1. Zone des oben beschriebenen Chromatogrammes engte man auf 5 ccm ein und goß in 20 ccm angesäuertes Wasser. Der dabei ausfallende dunkelrote Niederschlag, in verd. wäßrigem Alkali bläuviolett und in konz. Schwefelsäure blaugrün löslich, bestand zum größten Teil aus Proto-hypericin.

Analyse der „roten Fraktion“:

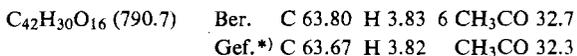


*) Getrocknet bei 200° i. Hochvak.

Die „gelbe Fraktion“ war identisch mit dem Pyranol-methyläther (XVIa), der, wie unten beschrieben, durch Luftoxydation von Penicilliolepin-diacetat gewonnen wurde.

Di-emodinyll-(8.8')-hexaacetat (XVb): Eine Lösung von 100 mg *Di-emodinyll-(8.8')* und 100 mg wasserfreiem Natriumacetat in 10 ccm *Acetanhydrid* kochte man 30 Min. unter Rückfluß, verdünnte die nunmehr hellgrüne Lösung mit 10 ccm Eisessig und goß sie unter Kühlung in 100 ccm Wasser. Der abzentrifugierte, hellgrüne Niederschlag (getrocknet 94 mg) wurde zweimal aus jeweils 5 ccm Eisessig umkristallisiert. Grünlichgelbe Nadeln (51 mg), Schmp. 248–249° (BERL-Block). Aus der Mutterlauge konnten durch Anspritzen mit Wasser weitere 14 mg gewonnen werden.

Das Acetat war unlöslich in kaltem, verd. wäßrigem Alkali; beim Erwärmen löste es sich violett. Die anfangs rote Lösung in konz. Schwefelsäure wurde in wenigen Sek. grün.



*) Getrocknet 2 Stdn. i. Hochvak. bei 150°.

Reduktive Spaltung des Di-emodinylls-(8.8') mit Natriumdithionit: Eine Lösung von 22 mg *Di-emodinyll-(8.8')* in 5 ccm warmem, 2 n Na_2CO_3 versetzte man nach Abkühlen mit einer Lösung von 0.5 g Natriumdithionit in 5 ccm Wasser und neutralisierte die blaßrot gewordene Lösung mit 5 ccm 2 n HCl. Den dabei ausfallenden, hellbraunen Niederschlag trocknete man, zog ihn im Extraktionsapparat mit heißem Methanol aus, engte die orangerote Lösung ein und verdünnte mit dem gleichen Volumen angesäuertem Wasser. Als der rotbraune, getrocknete Niederschlag i. Hochvak. auf 180° erhitzt wurde, entstand ein orange gelbes, kristallines Sublimat (6 mg), das aus Eisessig in gelben Nadeln vom Schmp. 254–255° (BERL-Block) kristallisierte. Im Gemisch mit *Emodin* trat keine Schmp.-Erniedrigung ein.

Versuch zur reduktiven Spaltung von Di-emodinyll-(8.8')-diacetat (XVb) mit Zink in Eisessig: Eine Lösung von 32 mg *Di-emodinyll-(8.8')*-diacetat in 5 ccm Eisessig kochte man nach Zugabe von 300 mg Zinkstaub 15 Min. unter Rückfluß, filtrierte die gelb gewordene Lösung und versetzte sie mit dem doppelten Volumen Wasser. Der mit Wasser gewaschene abzentrifugierte und getrocknete Niederschlag lieferte, i. Hochvak. auf 220° erhitzt, kein Sublimat.

Reduktive Spaltung des 2.2'-Dihydroxy-dianthrachinonylls-(1.1') mit Natriumdithionit: Eine heiß bereitete Lösung von 50 mg 2.2'-Dihydroxy-dianthrachinonyll-(1.1') in 5 ccm 2 n Na_2CO_3 versetzte man nach dem Abkühlen mit einer Lösung von 0.5 g Natriumdithionit in 5 ccm Wasser. Als nach 50 Min. die anfangs violette Lösung orange gelb geworden war, neutrali-

sierete man mit 5 ccm 2 *n* HCl und extrahierte den ausgefallenen, hellbraunen, getrockneten Niederschlag im Extraktionsapparat mit Methanol. Die rote Methanollösung wurde mit angesäuertem Wasser auf doppeltes Volumen verdünnt, der ausgefallene Niederschlag getrocknet und dann i. Hochvak. sublimiert. Bei 160–200° bildete sich ein hellgelbes, in konz. Schwefelsäure und wäßrigem Alkali orangerot lösliches Sublimat (5 mg). Zur Acetylierung kochte man es einige Zeit in 2 ccm Acetanhydrid, verdampfte das *Acetanhydrid* i. Vak. und kristallisierte den Rückstand aus 2 ccm Methanol um. Feine, hellgelbe Nadeln (3 mg), die im BERL-Block allein und im Gemisch mit 2-*Acetoxy-anthrachinon* bei 159° schmolzen.

Luftoxydation von Penicilliolepin-dimethyläther (XIVb) in alkalischer Lösung: Durch eine Lösung von 100 mg Penicilliolepin-dimethyläther in 25 ccm 1-proz. methanolischem Kaliumhydroxyd leitete man bei 20° Luft (30 Min.), wobei alles in Lösung ging. Eingießen in verd. Salzsäure gab einen Niederschlag, der nach Trocknen aus 30 ccm Chloroform an mit Säure vorbehandeltem Kieselgel chromatographiert wurde. Mit Chloroform, das 10% Aceton enthielt, ließ sich eine breite, rote Zone auswaschen, deren Eluat auf 10 ccm eingeeengt und dann noch heiß mit Methanol versetzt wurde. Der *Di-emodinylnyl-(8.8')-7.7'-dimethyläther (XVa)* fiel in gelbten Kristallen (50 mg) aus. Schwerlöslich in Methanol, löslich in Pyridin und Pyridin-Piperidin mit gelber, in konz. Schwefelsäure mit roter Farbe. Unlöslich in wäßrigem Alkali.

$C_{32}H_{22}O_{10}$ (566.5) Ber. C 67.84 H 3.91 2 CH₃O 11.0

Gef. C 66.36 H 4.16 CH₃O 10.0

Luftoxydation von Penicilliolepin-diacetat (XIVa) in wäßrig alkalischer Lösung: Durch eine Suspension von 500 mg Penicilliolepin-diacetat in 10 ccm Methanol und 4 ccm *n* NaHCO₃ leitete man bei 50° 1 Stde. lang Luft, wobei das Acetat allmählich in Lösung ging. Beim Eingießen der rotviolettten Lösung in 200 ccm Wasser, das mit einigen ccm verd. Salzsäure angesäuert worden war, fiel ein Niederschlag aus, den man nach Trocknen (365 mg) in 60 ccm Dioxan löste. Beim Filtrieren dieser Lösung durch eine Säule aus Gips und Nachwaschen mit Dioxan bildeten sich (von oben nach unten) folgende Zonen: 1. Schmal, violett, 2. breit, rot, 3. breit, gelb. Zone 2 und 3 eluierte man getrennt mit Dioxan, engte die Eluate auf 5 bzw. 10 ccm ein und verdünnte mit dem fünffachen Vol. Methanol.

Aus dem so behandelten Eluat von Zone 3 kristallisierten im Eisschrank rote Polyeder (68 mg), den Farbreaktionen nach *Di-emodinylnyl-(8.8')* (in konz. Schwefelsäure zuerst rot, dann grün; in wäßrigem Alkali violett löslich).

Aus der eingeeengten Mutterlauge wurden durch Verdünnen mit angesäuertem Wasser 11 mg eines orangefelben Pulvers gewonnen, das die gleichen Farbreaktionen zeigte, wie *Di-emodinylnyl-(8.8')*. Gesamtausbeute an *Di-emodinylnyl-(8.8')* 18% d. Th.

Aus dem roten Eluat von Zone 2 kristallisierten grüne, violettschillernde Blättchen (176 mg). Die eingeeengte Mutterlauge lieferte nach Verdünnen mit angesäuertem Wasser einen roten Niederschlag (41 mg), der die gleichen Farbreaktionen zeigte wie die grünen Kristalle. Zur Reinigung löste man 25 mg der Kristalle in 20 ccm Chloroform, schüttelte zweimal mit je 20 ccm verd. wäßrigem Natriumcarbonat und einmal mit 20 ccm Wasser durch, trocknete die Chloroformlösung mit Calciumchlorid und spritzte sie mit Methanol an. Es kristallisierten gelbe, gelb fluoreszierende Nadeln (Ausb. 13 mg); unlöslich in Methanol und verd. wäßrigem Alkali. Erwärmen mit wäßrigem Alkali gab eine rote Lösung. Konz. Schwefelsäure nahm die Verbindung sofort mit grüner Farbe auf.

$C_{32}H_{22}O_{10}$ (566.6) Ber. C 67.84 H 3.91 2 CH₃O 11.0

Gef. *) C 67.46 H 4.07 CH₃O 10.0

*) Getrocknet 2 Stdn. bei 150° i. Hochvak.

Proto-hypericin (XXVI) aus Penicilliospin: Durch eine Suspension von 1 g krist. *Penicilliospin* in 200 ccm Methanol und 8 ccm n NaHCO₃ wurde bei 50° 1 Stde. Luft geleitet, wobei sich das *Penicilliospin* allmählich löste. Beim Eingießen der violetten Reaktionslösung in 400 ccm mit verd. Salzsäure angesäuertes Wasser fielen 780 mg Rohprodukt aus. Zur Reinigung löste man es in 100 ccm Dioxan und gab die Lösung durch eine Säule von aktiviertem Gips. Beim Nachwaschen mit Dioxan bildeten sich (von oben nach unten) drei Zonen: 1. Schmal, rotbraun, 2. breit, violett, 3. schmal, gelb. Nach Durchwaschen der gelben Zone stieß man die Säule aus dem Chromatogrammrohr, eluierte die violette Zone mit Methanol und bewahrte das filtrierte Eluat 24 Stdn. im Eisschrank. Dabei kristallisierte *Proto-hypericin* in violetten Prismen (430 mg) aus. Einengen der Mutterlauge auf 30 ccm und Verdünnen mit Methanol auf das doppelte Vol. lieferte eine zweite Fraktion (95 mg). Aus der Mutterlauge fällte man den restlichen Farbstoff mit angesäuertem Wasser, kristallisierte ihn aus wenig Dioxan-Methanol um und erhielt so eine dritte Fraktion (52 mg). Gesamtausb. 58% d. Th. *Proto-hypericin* löst sich in Methanol und Pyridin mit violetter Farbe.

$C_{30}H_{18}O_8 \cdot C_4H_8O_2$ (594.5) Ber. C 68.68 H 4.44 O 26.91

Gef. *) C 68.73 H 4.21 O 26.71

*) Aus Dioxan-Methanol umkristallisiert, getrocknet i. Hochvak. bei 150°.

Das gleiche Präparat 8 Stdn. bei 200° i. Hochvak. getrocknet gab folgende Analysenwerte:

$C_{30}H_{18}O_8$ (506.4) Ber. C 71.14 H 3.58 Gef. C 70.89 H 3.22

Proto-hypericin-hexabenzoat: Zu einer Lösung von 150 mg *Proto-hypericin* in 6 ccm trockenem Pyridin gab man unter Kühlung tropfenweise 2 ccm frisch dest. *Benzoylchlorid* und goß nach 24 Stdn. das orangefarbene Reaktionsgemisch in 100 ccm Methanol, dem einige Tropfen konz. Salzsäure zugesetzt waren. Das ausgefallene, mit kaltem Methanol gewaschene Benzoat (getrocknet 285 mg) löste man in 100 ccm Benzol-Ligroin (1:1) und gab die Lösung durch eine Säule von aktiviertem Gips. Das beim Nachwaschen mit Benzol-Ligroin erhaltene, orangefarbene Eluat wurde filtriert, auf 20 ccm eingeeengt und noch heiß mit Hexan versetzt. Beim Abkühlen kristallisierte das Benzoat in gelben, zu Büscheln vereinigten Stäbchen. Schmp. 218° (BERL-Block). Ausb. 85 mg.

$C_{72}H_{42}O_{14}$ (1131.1) Ber. C 76.46 H 3.74 6 C₆H₅CO 55.8

Gef. *) C 75.95 H 3.62 C₆H₅CO 56.0

*) Getrocknet 2 Stdn. bei 160° i. Hochvak.

Reduktion von Proto-hypericin zum 2.4.5.2'.4'.5'.5'-Hexaacetoxy-7.7'-dimethyl-helianthren (XXVII): Eine Lösung von 100 mg *Proto-hypericin* und 100 mg wasserfreiem Natriumacetat in 15 ccm frisch über Natrium dest. *Acetanhydrid* kochte man 30 Min. unter Rückfluß und Lichtabschluß, gab 1 g Zinkstaub (i. Hochvak. bei 120° getrocknet) hinzu und hielt die Reaktionsmischung noch 30 Min. am Sieden. Die nur noch schwach rot gefärbte Lösung wurde heiß mit 15 ccm Eisessig verdünnt und durch eine Glasfritte in 100 ccm Wasser von 90° gesaugt. Den mit Wasser gewaschenen und getrockneten Niederschlag löste man in 15 ccm Benzol, gab 100 mg Chloranil hinzu, kochte 30 Min. unter Rückfluß und verwahrte die rote, rot fluoreszierende Lösung 48 Stdn. unter Lichtausschluß. Dabei kristallisierte die Hauptmenge des Reduktionsproduktes in langen, violetten Nadeln (74 mg). Aus der Mutterlauge erhielt man durch Chromatographie an aktiviertem Gips neben einer vorauslaufenden gelben Zone, die sich mit Benzol durchwaschen ließ, eine violette, die mit Benzol (2% Aceton enthaltend) eluiert wurde. Aus dem auf 5 ccm eingeeengten und heiß mit Hexan angespritzten Eluat schied sich noch 15 mg kristallisiertes Reduktionsprodukt ab.

$C_{42}H_{32}O_{12}$ (728.7) Ber. C 69.22 H 4.43 6 CH₃CO 35.4

Gef. *) C 69.05 H 4.69 CH₃CO 35.8

*) Getrocknet 2 Stdn. bei 160° i. Hochvak.

Hypericin aus Penicillipsin: Eine Suspension von 1 g kristallisiertem *Penicillipsin* in einer Mischung von 200 ccm Methanol und 8 ccm *n* NaHCO₃ wurde unter Durchleiten von Luft 1 Stde. auf 50° erwärmt. Die violette Reaktionslösung verdünnte man mit 1300 ccm Methanol und 200 ccm Dioxan, gab 0.5 ccm Eisessig hinzu und belichtete sie unter Durchleiten von Luft 8 Stdn. mit einer wassergekühlten Tauchlampe (Osram HQS 500). Dann engte man die rote, rot fluoreszierende Lösung auf 100 ccm ein und goß in 500 ccm mit Salzsäure angesäuertes Wasser. Das ausgefallene *Roh-Hypericin* (840 mg) war ein dunkelviolettes Pulver.

a) *Chromatographische Reinigung des Roh-Hypericins*: Eine Lösung von 120 mg Roh-Hypericin in 30 ccm heißem Dioxan filtrierte man nach Abkühlen durch eine Säule von aktiviertem Gips. Beim Nachwaschen mit Dioxan lief eine gelbe Zone schnell durch die Säule, während die breite, rote Hypericin-Zone eine schmale, violette Zone von Proto-hypericin vor sich herschob. Die Proto-hypericin-Zone wurde mit Dioxan-Methanol (10:1) ausgewaschen und anschließend das Hypericin mit Methanol eluiert. Aus dem roten, rot fluoreszierenden Eluat der Hypericin-Zone schieden sich feine, rote Nadeln von Hypericin ab (32 mg). Die eingengte Mutterlauge lieferte nach Eingießen in angesäuertes Wasser weitere 20 mg Hypericin.

b) *Reinigung von Roh-Hypericin durch Extraktion mit Dioxan*: 1 g Roh-Hypericin wurde unter Stickstoff im Extraktionsapparat solange mit Dioxan heiß extrahiert, bis die abfließende Lösung mit methanol. Alkali eine beständige, reingrüne Färbung gab. Den rotbraunen Extraktionsrückstand löste man in 10 ccm heißem Pyridin, engte die filtrierte Lösung auf die Hälfte ein und kühlte ab. Beim Animpfen oder Anreiben erhielt man 600 mg feine, dunkelrote Nadeln von reinem Hypericin.

C₃₀H₁₆O₈ (504.4) Ber. C 71.43 H 3.20 2 C-CH₃ 5.96

Gef.*) C 71.55 H 3.47 C-CH₃ 3.44

*) Getrocknet 4 Stdn. bei 200° i. Hochvak.

Hypericin-hexabenzoat: Das aus *Penicillipsin* gewonnene kristallisierte *Hypericin* wurde, wie früher beschrieben¹²⁾, mit *Benzoylchlorid*-Pyridin in das kristallisierte, gelbe *Hypericin-hexabenzoat* übergeführt, das bei 304–305° schmolz und im Gemisch mit *Hypericin-hexabenzoat* aus *Hypericum hirsutum* keine Schmp.-Erniedrigung zeigte.

C₇₂H₄₀O₁₄ (1129.1) Ber. C 76.59 H 3.57 6 C₆H₅CO 55.9

Gef.*) C 76.71 H 3.71 C₆H₅CO 56.4

*) Getrocknet bei 150° i. Hochvak.

Reduktion des aus Penicillipsin gewonnenen Hypericins zum 4.5.7.4'.5'.7'-Hexaacetoxy-2.2'-dimethyl-meso-naphthodianthren: Eine Lösung von 100 mg *Hypericin* und 100 mg wasserfreiem Natriumacetat in 15 ccm *Acetanhydrid* kochte man 30 Min., gab 2 g trockenen Zinkstaub hinzu und hielt noch 30 Min. am Sieden. Die fast farblose Lösung saugte man zur Entfernung des Zinks noch heiß durch eine Fritte in 100 ccm auf 90° erwärmtes Wasser und trocknete den ausgefallenen, mit Wasser gewaschenen Niederschlag über Kaliumhydroxyd. Die Lösung des Rohproduktes in 15 ccm trockenem Benzol wurde nach Zugabe von 100 mg Chloranil 30 Min. unter Rückfluß gekocht und 3 Stdn. im Dunkeln aufbewahrt.

Die tiefblaue Lösung gab man auf eine Säule von aktiviertem Gips und wusch das nicht umgesetzte Chloranil mit Benzol ins Filtrat. An der Säule entwickelten sich (von oben nach unten) drei Zonen: 1. Breit, braun, 2. breit, blau, 3. schmal, grün. Blaue und grüne Zone wurden getrennt mit Benzol (1% Aceton enthaltend) eluiert. Das filtrierte Eluat der blauen Zone engte man auf wenige ccm ein und spritzte heiß mit Petroläther an. Beim Aufbewahren im Eischrank kristallisierte das Naphthodianthren-Derivat in dunkelblauen Nadeln. Ausb. 23 mg.

C₄₂H₃₀O₁₂ (726.7) Ber. C 69.42 H 4.16 6 CH₃CO 35.5

Gef.*) C 69.85 H 4.47 CH₃CO 35.8

*) 2 Stdn. bei 160° i. Hochvak. getrocknet.