

Pilzpigmente, XXVIII¹⁾

Hymenochinon, der rote Farbstoff von *Hymenochaete mougeotii* (Poriales)

Manfred Klaar und Wolfgang Steglich*

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn,
Max-Planck-Str. 1, D-5300 Bonn

Eingegangen am 11. Juni 1976

Aus Fruchtkörpern von *H. mougeotii* wurden das Styrylpyron Hymenochinon (1) und sein Leukoderivat 3 isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt.

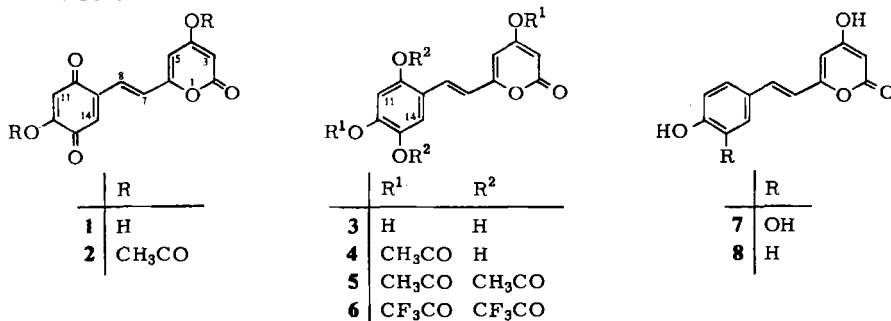
Fungus Pigments, XXVIII¹⁾

Hymenoquinone, the Red Pigment of *Hymenochaete mougeotii* (Poriales)

The isolation and structural elucidation of hymenoquinone (1) and its leuco derivative 3 from fruiting bodies of *H. mougeotii* are reported.

An abgestorbenen Ästen und Stämmen der Weißtanne findet man in den Alpen und höheren Lagen der Mittelgebirge gelegentlich oxsenblutfarbene Krusten, die Fruchtkörper des Blutroten Borstenscheiblings [*Hymenochaete mougeotii*] (Fr.) Cooke]. Über die Inhaltsstoffe dieses Baumpilzes ist bisher nichts bekannt.

Zur Isolierung der Farbstoffe wurden lufttrockene Fruchtkörper mit Petrolether von Lipoiden und einer Verbindung C₃₁H₄₈O₄ (Schmp. 202–204 °C) befreit und anschließend mit Aceton extrahiert. Chromatographie an acetyliertem Polyamid lieferte 0.46% Hymenochinon (1), das in weinroten bis bräunlich orangeroten Kristallen anfiel. Als weitere Fraktion wurden 0.12% hellgelbes Leukohymenochinon (3) erhalten, ausgezeichnet durch eine gelbgrüne Fluoreszenz im UV-Licht. Beide Verbindungen lassen sich leicht ineinander umwandeln: mit Natriumborhydrid oder Ascorbinsäure geht 1 in 3 über, mit Silbercarbonat auf Celite²⁾ 3 in 1.



¹⁾ XXVII. Mitteil.: M. Klaar und W. Steglich, Chem. Ber. 110, 1058 (1977), vorstehend.

²⁾ M. Fetizon und M. Golfier, C. R. Acad. Sci. 267, 900 (1968).

Die Leukoverbindung 3 besitzt die Summenformel $C_{13}H_{10}O_6$, enthält also ein Sauerstoffatom mehr als Hispidin (7), ein Styrylpyron, das bereits aus anderen Hymenochaetaceen isoliert worden ist^{1,3-6}). Beide Verbindungen stimmen im UV-Spektrum weitgehend miteinander überein, nur liegt in Methanol bei 3 das langwellige Absorptionsmaximum mit 395 nm um 30 nm weiter im roten Bereich. Im IR-Spektrum treten neben einer breiten OH-Absorption intensive Banden bei 1670 (C=O), 1640 und 1550 cm^{-1} (C=C) auf. Das ¹H-NMR-Spektrum (Tab.) zeigt neben den typischen Dubletts der Pyron- und Olefinprotonen zwei Aromatensingulets, von denen das von 11-H gegenüber dem entsprechenden Signal von 7 um ca. 0.4 ppm nach höherem Feld verschoben ist¹). Daraus folgt für 3 die Konstitution eines 14-Hydroxyhispidins.

Tab.: ¹H-NMR-Spektren von Hymenochinon (1), Leukohymenochinon (3) und den Verbindungen 2, 4, 5 und 6 (100 MHz; δ -Werte, $\delta_{TMS} = 0.0$ ppm)

	1 ^{a)}	1 ^{b)}	2 ^{c)}	3 ^{d)}	4 ^{a)}	5 ^{a)}	6 ^{e)}
3-H	d 5.50	d 5.45	d 6.16	d 5.27 ^{f)}	d 5.95	d 6.08	d 6.54 ^{g)}
5-H	d 6.35	d 6.37	d 6.54	d 5.99	d 6.23	d 6.40	d 6.60 ^{g)}
7-H	„s“ 7.34	d 7.34 ^{g)}	„s“ 7.36 ^{h)}	d 6.53	d 6.80	d 6.93	d 6.90
8-H	„s“ 7.34	d 7.27 ^{g)}	„s“ 7.36 ^{h)}	d 7.53	d 7.68	d 7.41	d 7.63
11-H	s 6.04	s 6.01	s 6.69	s 6.43	s 6.58	s 7.17	s 7.57
14-H	s 7.08	s 7.15	s 7.14	s 6.91	s 7.27	s 7.65	s 7.82
CH ₃ CO	—	—	2.30 [6 H]	—	2.23 [3 H] 2.29 [3 H]	2.26 [3 H] 2.27 [3 H] 2.28 [3 H] 2.36 [3 H]	—

Kopplungskonstanten: $J_{3,5} = 2$ Hz; $J_{7,8} = 16$; 14-H-Singulett breiter als von 11-H.

^{a)} In $[D_6]$ Aceton.

^{b)} In $[D_6]$ DMSO.

^{c)} In $[D_6]$ Aceton bei 60°C.

^{d)} In $[D_6]$ DMSO/ $CDCl_3$ (7:3); OH-Signal bei $\delta = 9.20$ ppm.

^{e)} In $(CF_3CO)_2O$.

^{f)} Tauscht in CD_3OD rasch aus!

^{g)} Zuordnung unsicher.

^{h)} In $[D_6]$ Aceton/ C_6D_6 (1:1) bei 80°C: $\delta = 7.17, 7.21$ ppm (AB-System, $J = 16$ Hz).

Die zusätzliche Hydroxygruppe beeinflusst das Zerfallsverhalten unter Elektronenbeschuß. Während Styrylpyrone wie 7 und Bismorynangonin (8) ein intensives Molekül-Ion ergeben^{7,8}), beträgt dessen relative Intensität bei 3 nur 1%. Abweichend von den genannten Styrylpyronen führt bei 3 der Verlust von CO_2 ($m/e = 218$; 51%) und Ketten zum Basis-Ion $m/e = 176$ ⁹⁾. Diese Zerfallsreihe dürfte durch eine Isomerisierung unter Beteiligung der 10-OH-Gruppe eingeleitet werden:

³⁾ R. L. Edwards, D. G. Lewis und D. V. Wilson, J. Chem. Soc. 1961, 4995.

⁴⁾ J. D. Bu'Lock, P. R. Leeming und H. G. Smith, J. Chem. Soc. 1962, 2085.

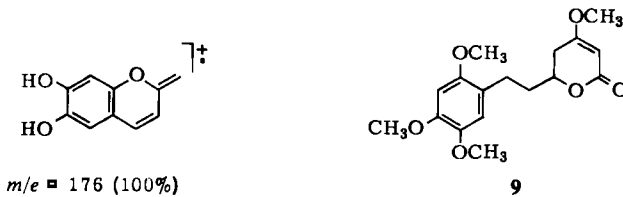
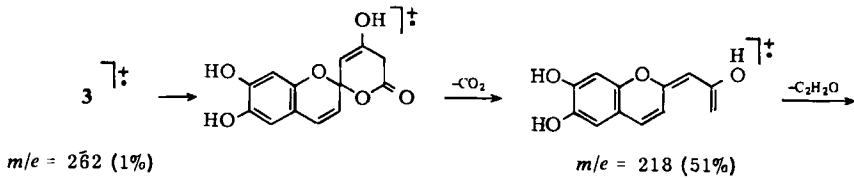
⁵⁾ A. Ueno, S. Fukushima, Y. Saiki und T. Harada, Chem. Pharm. Bull. 12, 376 (1964).

⁶⁾ T. K. Kirk, L. F. Lorenz und M. J. Larsen, Phytochemistry 14, 281 (1975).

⁷⁾ G. M. Hatfield und L. R. Brady, Lloydia 31, 225 (1968); 34, 260 (1971).

⁸⁾ M.-P. Dangy-Caye und N. Arpin, Travaux mycologiques dédiés à R. Kühner, Bull. Soc. Linnéenne de Lyon 1974, 109.

⁹⁾ Ein unter gleichen Bedingungen aufgenommenes Vergleichsspektrum des Hispidins (7) ergab $M^+ m/e = 246$ (100%), 202 (62) und 160 (6); vgl. experimentellen Teil.



Im IR-Spektrum von Hymenochinon (1) ist der Chinonring an einer intensiven Bande bei 1655 cm^{-1} zu erkennen. Die Wechselwirkung zwischen Chinon- und Styrylpyron-Chromophor führt zu einer sehr breiten, wenig strukturierten Absorption im UV-Spektrum (Abb.). Die Signale der *trans*-Olefinprotonen fallen in Aceton im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zu einem „Singulett“ zusammen, das aber in DMSO deutlich zum erwarteten AB-System aufgelöst wird (Tab.).

1 liefert mit Acetanhydrid ein hellrotes Diacetat 2, das mit Ascorbinsäure zum Leukoacetat 4 reduziert werden kann. Die Acetylierung von 3 ergibt das Leukotetraacetat 5, die Umsetzung mit Trifluoressigsäureanhydrid das ölige Leuko-tetrakis(trifluoracetat) 6.

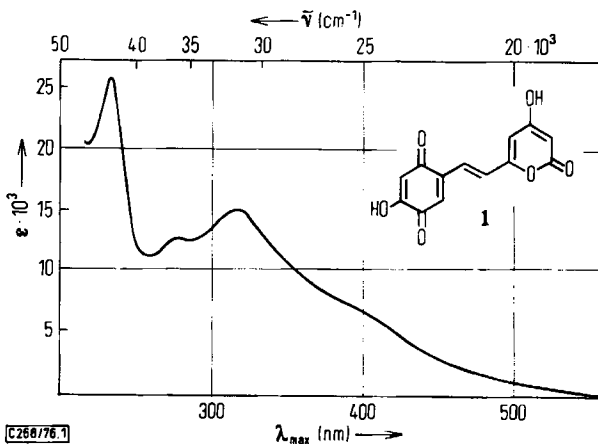


Abb.: UV-Spektrum von Hymenochinon (1) in Methanol

Im Einklang mit dem postulierten Zerfallsmechanismus zeigt 4 im MS nur einen schwachen Molekülpeak $m/e = 346 \text{ (1\%)}$, von dem zwei Ketenabspaltungen zu $m/e = 304 \text{ (1\%)}$ und 262 (3\%) ausgehen. Intensiver sind Fragment-Ionen, die sich um 44 Masseneinheiten unterscheiden: $m/e = 302 \text{ (3\%)}$, 260 (18\%) und 218 (20\%) . Bei 5 sind alle Hydroxygruppen

durch Acetatreste blockiert, so daß die im Zerfallsschema angegebene Nachbargruppenbeteiligung der 10-OH-Gruppe nur eine untergeordnete Rolle spielt. Neben einem relativ intensiven Molekül-Ion $m/e = 430$ (10%) sind alle vier Ketenspaltungen durch intensive Ionen bei $m/e = 388$ (35%), 346 (50%), 304 (35%) und 262 (30%) vertreten. Im Leukotetrakis(trifluoracetat) **6** ist das Molekül-Ion der Basispeak.

Hydrierung von **1** mit Palladium/Kohle und anschließende Methylierung des Rohproduktes mit Diazomethan führt in geringer Ausbeute zum Tetrahydroleukohymenochinontetramethylether (**9**), der im Massenspektrum ein intensives Trimethoxybenzyl-Ion $m/e = 181$ aufweist.

Die Identifizierung der Farbstoffe von *H. mougeotii* als Styrylpyrone belegt erneut, daß diese Verbindungen als Leitpigmente der Hymenochaetaceen angesehen werden können. Farbstoffe dieses Typs wurden bisher aus den Gattungen *Inonotus*^{3,4)}, *Phaeolus*⁵⁾ und *Phellinus*^{1,6,10)} isoliert.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die großzügige Förderung dieser Arbeit. Herrn Dr. G. Höfle, Berlin, sei für die Aufnahme von NMR-Spektren, Herrn G. Bieshalski für die Massenspektren herzlich gedankt.

Experimenteller Teil

Elektronenspektren: Beckman DK 2A und Cary 17. — IR-Spektren: Beckman IR 9 (Intensitätsangaben in Klammern: sst = sehr stark, st = stark, m = mittel, w = schwach, sh = Schulter). — ¹H-NMR-Spektren: Varian XL 100. — ¹³C-NMR-Spektren: Varian CFT 20. Massenspektren: Varian MAT-711 mit Datenverarbeitung (Direkteinlaß, 70 eV). Für die Säulenchromatographie wurde MN-Polyamid 6-AC (Fa. Macherey, Nagel & Co., Düren) verwendet.

H. mougeotii wurde im September 1974 in der Leutasch, Tirol, gesammelt.

Isolierung der Farbstoffe: 220 g lufttrockene, sorgfältig verlesene Fruchtkörper wurden mit 5 Liter Petrolether (30–70°C) 14 Tage stengelassen. Man filtrierte ab, ließ erneut 2 Tage mit 3 Liter Petrolether stehen und trocknete nach Abfiltrieren den Rückstand an der Luft. Nun wurden die Fruchtkörper dreimal mit je 2 Liter und einmal mit 1 Liter Aceton kräftig durchgeschüttelt und die rotbraunen Extrakte jeweils ohne Einengen auf zwei Chromatographiesäulen gegeben (55 cm × 5 cm). Bei der Elution mit Aceton wanderte langsam eine orangebraune Zone von **1**, die sich nach und nach über die ganze Säule ausbreitete, während am Start das zitronengelbe **3** zurückblieb. Nach Abnahme eines Vorlaufs wurden die **1**-Fraktionen schnell eingedampft und an der Ölpumpe getrocknet.

Anschließend wurde mit Methanol **3** von der Säule eluiert. Die Lösungen ergaben beim Eindampfen einen bräunlichgrünen schmierigen Rückstand, der in 50 ml Methanol erneut gelöst und auf eine Säule gegeben wurde (85 cm × 3 cm, Polyamid mit Aceton angesetzt). Mit Aceton konnte ein reichlicher Vorlauf abgetrennt werden, mit Aceton/Methanol (8:2 Vol.) wurde **3** eluiert und nochmals in gleicher Weise rechromatographiert. Dabei wurde bei Aufgabe der Lösung auf die Säule eine Spatelspitze Ascorbinsäure zugesetzt. Schnelles Einengen der Hauptfraktion und Trocknen an der Ölpumpe lieferte reines **3**.

Hymenochinon (1): 1.013 g (0.46%); je nach Charge dunkel weinrotes bis orangerotes Pulver, das oft bräunlich verfärbt erscheint. In Aceton und Methanol wenig, in Essigester sehr wenig

¹⁰⁾ J.-L. Fiasson, persönliche Mitteilung.

löslich und in anderen gebräuchlichen Lösungsmitteln fast unlöslich; Schmp. 228–232°C (Zers.). – UV (Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 390 (sh; 3.89), 345 (sh; 4.09), 315 (4.18), 277 (4.10), 233 nm (4.41). – IR (KBr): 3500–2700 (st), 1700 (sh, st), 1655 (sst), 1600 (st), 1570 (st), 1555 (st), 1440 (m), 1400 (m), 1310 (m), 1260 (m), 1210 (st), 1170 (st), 1020 (w), 980 (w), 880 (w), 840 cm^{-1} (w). – MS: $M^+ m/e$ = 260 (8%, $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_6$), 218 (24, $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_4$), 203 (37, $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{O}_4$), 177 (16, $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_3$), 176 (57, $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$), 150 (10, $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3$), 148 (14, $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$), 126 (16, $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$).

$\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_6$ (260.1) Ber. C 60.01 H 3.10 Gef. C 60.03 H 3.10

Leukohymenochinon (3): 0.265 g (0.12%); grünlich zitronengelbes Pulver, das in Methanol gut (46 g/Liter) und in Aceton wenig löslich ist; Schmp. 228–230°C (Zers.). – UV (Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 395 (4.23), 340 (3.98), 220 nm (4.33). – IR (KBr): 3500–2700 (st), 1700 (sh), 1670 (st), 1640 (st), 1550 (sst), 1460 (st), 1380 (m), 1320 (st), 1265 (st), 1170 (m), 1130 (m), 1090 (w), 980 (w), 880 cm^{-1} (m). – ^{13}C -NMR (CD_3OH): δ = 89.08 (C-3), 100.19, 103.86, 113.78, 114.28, 115.27, 132.43, 139.21, 149.28, 151.68, 162.36, 167.42, 173.05 ppm. – MS (AEI MS 30, 70 eV, Ionenquellentemperatur 150°C): m/e = 262 (1%, $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_6$), 260 (1), 246 (3, $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_5$), 245 (5, $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{O}_5$), 244 (4, $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_5$), 218 (51, $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_4$), 203 (64), 177 (33, $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_3$), 176 (100, $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$), 175 (14, $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3$), 148 (29, $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$), 126 (67, $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$)¹¹⁾.

$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_6$ (262.1) Ber. C 59.55 H 3.84 Gef. C 59.51 H 3.97

Einengen der Petrolietherextrakte und Umkristallisieren des Rückstandes aus CCl_4 /Aceton lieferte 2.20 g (1%) schuppige Kristalle vom Schmp. 202–204°C.

$\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_4$ (484.4) Ber. C 76.81 H 9.99 Gef. C 76.85 H 10.19

Reduktion von 1: 50 mg 1 wurden in 15 ml Ethanol unter Rühren portionsweise mit NaBH_4 versetzt, bis die rotbraune Lösung eine hellgelbe Farbe angenommen hatte. Die Lösung begann sich nach ca. 3 min erneut dunkel zu färben und wurde jetzt an acetyliertem Polyamid mit Aceton chromatographiert: Ausb. 20 mg 1 und 18 mg 3. Analog gelang die Reduktion mit Ascorbinsäure. 1 geht bereits beim Stehenlassen in Methanol teilweise in 3 über.

Oxidation von 3: Zu 50 mg 3 in 120 ml Aceton wurde bei 40–45°C in kleinen Portionen Ag_2CO_3 /Celite²⁾ gegeben. Man rührte noch 10 min, filtrierte, engte das Filtrat auf 25 ml ein und arbeitete wie üblich auf: Ausb. 16 mg 1.

Hymenochinon-diacetat (2): 100 mg 1 wurden mit 15 ml Acetanhydrid und 1 Tropfen konz. Schwefelsäure 30 min bei 60–70°C gerührt, wobei klare Lösung eintrat. Man ließ noch 20 min ohne Heizung rühren, schüttelte die Lösung dann mit 70 ml Eiswasser und extrahierte dreimal mit je 80 ml Essigester. Trocknen und Eindampfen der Extrakte ergab 109 mg Rückstand. Aus Aceton 66 mg (50%) orangefarbene, glitzernde Plättchen vom Schmp. 158–160°C (Zers.). Chromatographie der Mutterlauge ergab noch 4 mg 4. – UV (Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 340 (4.25), 250 nm (4.19). – IR (KBr): 1770 (st), 1720 (sst), 1665 (st), 1640 (m), 1600 (st), 1570 (m), 1530 (m), 1405 (m), 1375 (m), 1240 (st), 1210 (st), 1140 (sst), 1020 (st), 925 cm^{-1} (m). – MS: m/e = 346 (3%), 344 (2, M^+), 304 (4), 302 (30), 286 (3), 262 (5), 260 (60), 244 (30), 232 (8), 218 (70), 203 (100), 200 (8), 192 (8), 178 (8), 177 (30), 176 (60), 163 (8), 153 (30), 150 (85), 111 (85).

$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_8$ (344.2) Ber. C 59.31 H 3.51 Gef. C 59.34 H 3.84

Leukohymenochinon-diacetat (4): 55 mg 2 wurden in Aceton bei 50°C mit einer Spatelspitze Ascorbinsäure versetzt. Die Farbe der Lösung schlug nach kurzem Rühren von orange nach

¹¹⁾ Vergleichsspektrum des Hispidins (7) unter identischen Aufnahmebedingungen: $M^+ m/e$ = 246 (100%), 229 (10), 228 (20), 218 (10), 204 (17), 203 (30), 202 (62), 200 (17), 187 (23), 177 (33), 176 (66), 164 (47), 160 (6).

gelbgrün um. Nach üblicher Aufarbeitung 53 mg (96%), gelbe Kristalle vom Schmp. 185–187°C (Zers.). — IR (KBr): 3500–2850 (m), 1780 (st), 1740 (sh), 1715 (sst), 1620 (st), 1545 (sst), 1460 (m), 1415 (m), 1375 (st), 1310 (st), 1235 (st), 1220 (sst), 1190 (sst), 1140 (sst), 1030 cm^{-1} (st). — MS: M^+ $m/e = 346$ (1%), 344 (1), 304 (1), 302 (3), 262 (3), 260 (18), 220 (5), 218 (20), 203 (100), 180 (5), 178 (15), 177 (12), 176 (18), 168 (5), 163 (7), 150 (7).

$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_8 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (355.3) Ber. C 57.43 H 4.22 Gef. C 57.54 H 4.53

Leukohymenochinon-tetraacetat (5)

Aus 1: 30 mg 1 wurden mit 10 ml Acetanhydrid, 5 Tropfen Eisessig und einer Spatelspitze Zinkstaub 10 min bei 60°C gerührt. Man gab 10 mg wasserfreies Natriumacetat zu und rührte noch 3 h bei 60°C. Die gelbgrüne Lösung wurde mit 50 ml Eiswasser geschüttelt und nach Zugabe von 20 ml Ether filtriert. Dreimalige Extraktion des Filtrats mit Ether, Eindampfen der getrockneten Extrakte und Chromatographie (Eluent: Essigester) ergab 45 mg gelbes Öl, das aus Aceton/Essigester kristallisierte. Ausb. 38 mg (79%); große sternförmige, hellgelbe Kristalle vom Schmp. 156–157°C.

Aus 3: 50 mg 3 wurden mit 6 ml Acetanhydrid und einem Tropfen konz. Schwefelsäure 45 min bei 60–70°C gerührt. Man arbeitete wie vorstehend beschrieben auf. Ausb. 62 mg (75%).

IR (KBr): 1775 (sst), 1715 (st), 1645 (w), 1615 (w), 1550 (st), 1500 (m), 1405 (m), 1370 (st), 1290 (m), 1200 (sst), 1160 cm^{-1} (sst). — MS: M^+ $m/e = 430$ (10%), 388 (35), 346 (50), 304 (35), 286 (10), 264 (10), 262 (30), 246 (10), 244 (100), 218 (15), 203 (30), 176 (20), 150 (20), 139 (20), 111 (20).

$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ (430.2) Ber. C 58.61 H 4.22 Gef. C 58.53 H 4.36

Tetrahydroleukohymenochinon-tetramethylether (9): 200 mg 3 wurden in 300 ml Essigester mit 250 mg 10proz. Pd/A-Kohle versetzt und 11 h unter H_2 gerührt. Man filtrierte, dampfte das Filtrat ein, nahm den Rückstand in 25 ml Ether/Methanol (1:1 Vol.) auf und gab 25 mg frisch bereitete etherische Diazomethanlösung hinzu. Nach Stehenlassen über Nacht filtrierte man den schleimigen Niederschlag ab und engte ein. Der hellgelbe ölige Rückstand wurde an acetyliertem Polyamid mit Benzol chromatographiert. Rechromatographie an Kieselgel mit Essigester ergab 17 mg (7%) öliges Produkt.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.8$ – 2.9 (m) [6]; 3.72, 3.80, 3.83, 3.88, jeweils (s) [3]; ≈ 4.3 (m) [1]; 5.13 (verbr. s) [1]; 6.51 (s) [1]; 6.74 ppm (s) [1]. — MS: M^+ $m/e = 322.1439$ (100%, ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 322.1417); 181 (46, $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_3$).

Leukohymenochinon-tetrakis(trifluoracetat) (6): 30 mg 3 wurden mit 5 ml Trifluoressigsäureanhydrid und 3 Tropfen Trifluoressigsäure über Nacht gerührt. Nach Einengen der klaren Lösung blieb ein gelbes Öl zurück. Ausb. 45 mg (61%). — MS: M^+ $m/e = 646$ (100%), 618 (20), 550 (5), 534 (10), 465 (8).

[268/76]