

ERGOCHROM BIOSYNTHESE AUS EMODIN UND EMODINANTRON

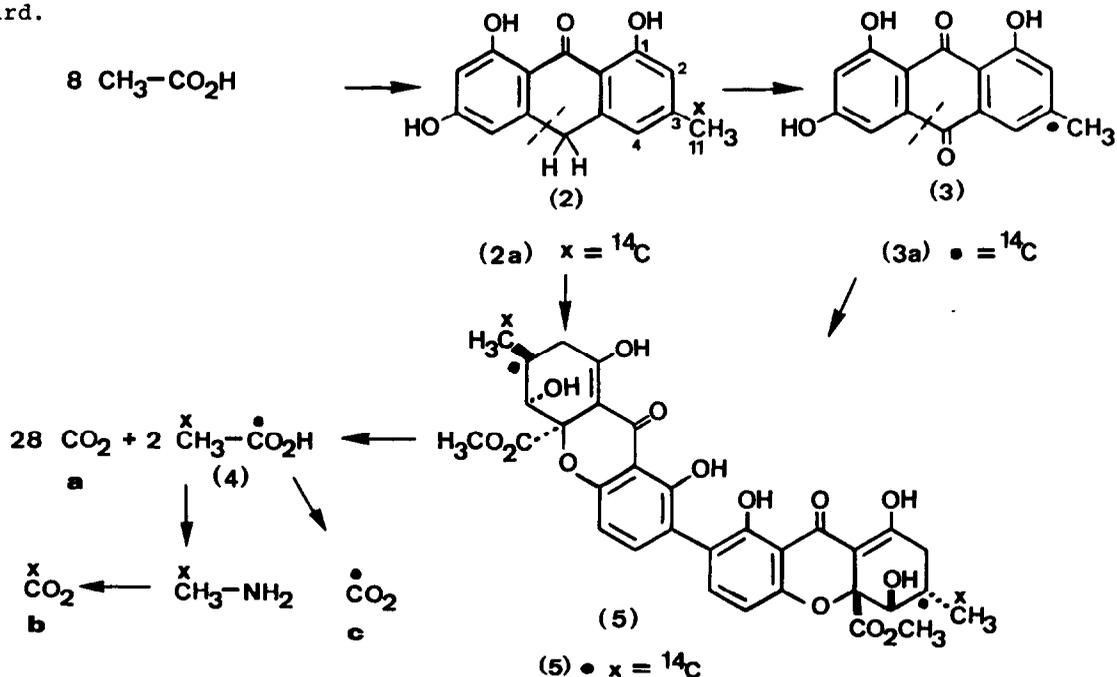
B. Franck*, H. Backhaus und M. Rolf

Institut für Organische Chemie der Universität Münster

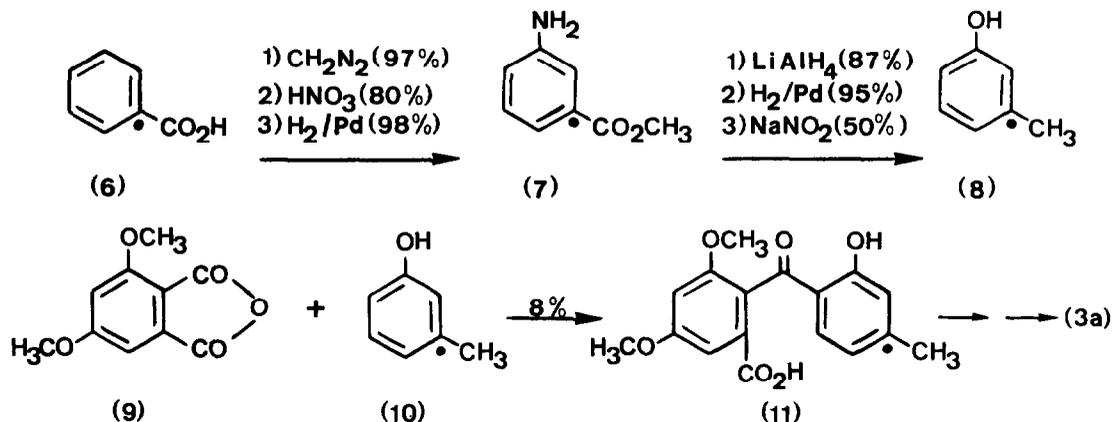
D-4400 Münster, Orleansring 23

Konkurrenz-Inkorporation von unterschiedlich ^{14}C -markiertem Emodin (3a) und Emodinanthron (2a) ergab, daß das reaktivere Emodinanthron die bevorzugte Biosynthese-Vorstufe der Ergochrome (z.B. 5) ist.

Emodin (3), das in der Natur aus acht Molekülen Essigsäure über Acetyl- und Malonyl-Coenzym A hervorgeht, ist ein Schlüsselbaustein¹⁾ für die Biosynthese zahlreicher Anthrachinon-Naturstoffe²⁾. Außer Emodin (3) kommt dessen reaktivere Vorstufe Emodinanthron (2) als Biosynthesebaustein in Betracht, jedoch erlaubten bisherige Untersuchungen wegen schwankender Einbauraten keine eindeutige Präferenz Aussage³⁾. Für die Mycotoxine vom Ergochrom-Typ, wie z.B. (5), ist bekannt, daß sie auch durch oxidative Ringöffnung des Emodins (3) entstehen und daher Seco-anthrachinone sind^{4,5)}. Um festzustellen, ob Emodin (3) oder Emodinanthron (2) bevorzugte Biosynthesevorstufe der Ergochrome ist, wurden vergleichende Inkorporationsversuche durchgeführt, über die nachstehend berichtet wird.



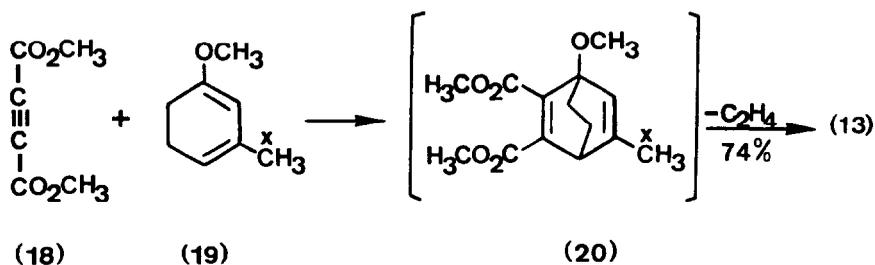
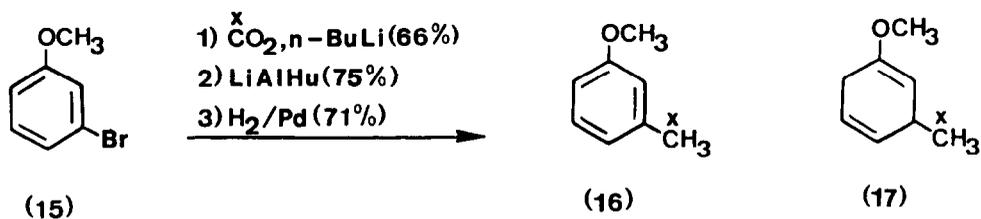
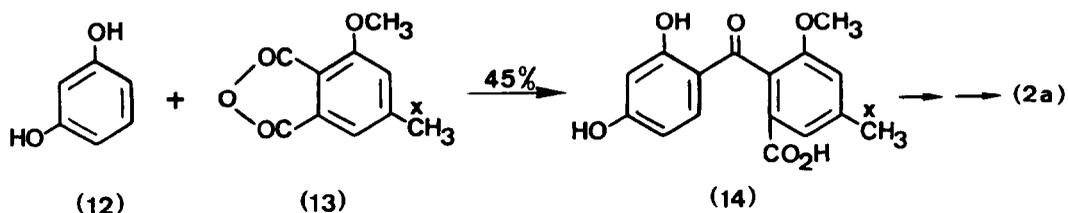
Hierzu stellten wir unterschiedlich ^{14}C -markiertes Emodin (3a) und Emodinanthron (2a) totalsynthetisch dar und "verfütterten" sie als Gemisch in einem Versuchsansatz. Durch diese Konkurrenz-Inkorporation sollten sich auch geringe Unterschiede der Einbauraten, unbeeinflusst von Wachstumsschwankungen verschiedener Versuchsansätze zuverlässig bestimmen lassen. Die Markierungspositionen von (3a) und (2a) waren so gewählt, daß sich deren Radioaktivität aus dem Biosyntheseprodukt Secalonsäure D (5a) durch Kuhn-Roth-Oxidation als Essigsäure (4) herauspalten und einzeln (**b** und **c**) bestimmen läßt⁶⁾.



Die Synthese des $[3-^{14}\text{C}]$ Emodins (3a) erfolgte durch Friedel-Crafts-Kondensation von 3,5-Dimethoxyphthalsäureanhydrid mit $[3-^{14}\text{C}]$ m-Kresol (8), das aus $[1-^{14}\text{C}]$ Benzoessäure (6) über 6 Reaktionsschritte mit 31 % Gesamtausbeute erhältlich war. Da das markierte m-Kresol (8) bei der Friedel-Crafts-Reaktion, nicht im Überschuß eingesetzt werden konnte, mußte eine Ausbeute von nur 8 % in Kauf genommen werden. Die weiteren Schritte folgten bekannten Verfahren^{7,8)}.

Bei der Synthese des $[11-^{14}\text{C}]$ Emodinanthrons (2a) wurde die Friedel-Crafts-Kondensation zur Erzielung einer besseren Ausbeute (45 %) in umgekehrter Form durchgeführt, d.h. mit der Radioaktivität im Phthalsäureanhydrid (13). Das aus m-Bromanisol (15) und $^{14}\text{CO}_2$ in drei Markierungsschritten (35 % Gesamtausbeute) gewonnene $[\text{CH}_3-^{14}\text{C}]$ m-Methylanisol (16) bildete nach Birch-Reduktion 3,6-Dihydro-3-methylanisol (17), das bei 200°C unter Isomerisierung zu (19) der Cycloaddition mit Acetylendicarbonsäure-dimethylester (18) unterworfen wurde. Simultane Ethylenspaltung ergab $[\text{CH}_3-^{14}\text{C}]$ 3-Methoxy-5-methylphthalsäureester (13), der sich in das Anhydrid und durch Friedel-Crafts-Reaktion sowie weitere beschriebene Reaktionsweisen⁷⁾ in (2a) überführen ließ⁸⁾.

Zur Konkurrenzinkorporation (s. Tabelle 2) wurde ein Gemisch aus $[3-^{14}\text{C}]$ Emodin (3a) und $[11-^{14}\text{C}]$ Emodinanthron (2a) an 8 Tage alte Oberflächenkulturen von Penicillium oxalicum (ATCC 10476) auf Czapek-Dox-Medium appliziert. Die nach



weiteren 35 Tagen Wachstum isolierte, durch Schichtchromatographie und Umkristallisation bis zur konstanten Radioaktivität gereinigte Secalonsäure D (5a) unterwarf man der Kuhn-Roth-Oxidation. Schmidt-Abbau der neben CO_2 (a) erhaltenen Essigsäure (4) ergab das CO_2 (c) und Methylamin, das durch KMnO_4 -Oxidation in das CO_2 (b) übergeführt wurde. Tabelle 1 faßt die spezifischen Radioaktivitäten der einzeln und in Gruppen bestimmten C-Atome von (5a) zusammen. Tabelle 2 gibt die aus den Radioaktivitäten der Vorstufen (3a, 2a) und aus den anteiligen Radioaktivitäten der C-Atome der Kuhn-Roth-Essigsäure berechneten spezifischen Einbauraten.

Aus der Konkurrenz-Inkorporation mit ihren signifikanten Einbauraten geht somit eindeutig hervor, daß Emodinanthron (2) das Emodin (3) als Biosynthese-Vorstufe der Ergochrome (5) mit einer 4.5 mal höheren Einbaurate erheblich übertrifft. In erstaunlicher Übereinstimmung mit diesem Befund hatten chemische Modellversuche zur oxidativen Ringöffnung von Anthrachinonen nur über entsprechende Anthron-Derivate zum Erfolg geführt⁹⁾.

Tabelle 1. Kuhn-Roth-Abbau der nach Konkurrenz-Inkorporation von [3-¹⁴C]Emodin (3a) und [11-¹⁴C]Emodinanthon (2a) erhaltenen ¹⁴C-markierten Secalonsäure D (5a).

| | Spezif. Radioaktivität (dpm/mmol) | Radioaktivitätsanteil (%) |
|----------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| Secalonsäure D (5a) | 628 000 | 100 |
| CH ₃ -CO ₂ H (4) | 302 000 | 96.2 |
| CO ₂ (a) | 608 | 2.7 |
| CO ₂ (b) | 19 200 | 6.1 |
| CO ₂ (c) | 280 000 | 89.2 |

Tabelle 2. Konkurrenz-Inkorporation von [3-¹⁴C]Emodin (3a) und [11-¹⁴C]Emodinanthon (2a) in Secalonsäure D (5a).

| | [3- ¹⁴ C]Emodin (3a) | [11- ¹⁴ C]Emodinanthon (2a) |
|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------|
| Substanzmenge (Ca. 0.1 mmol) | 27.36 mg | 25.59 mg |
| Spezif. Radioaktivität (dpm/mmol) | 79 100 000 | 1 220 000 |
| Anteilige spezif. Radioaktivität in der Kuhn-Roth-Essigsäure (4) (dpm/mmol) | 280 000 | 19 200 |
| Spezif. Einbaurate (%) | 0.35 | 1.57 |

Wir danken dem Landesamt für Forschung in Nordrhein-Westfalen und dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Förderung dieser Untersuchung.

Literatur und Anmerkungen

- 1) B. Franck, *Angew. Chem.* **91**, 453 (1979); *Angew. Chem. Int. Ed.* **18**, 429 (1979).
- 2) R.H. Thomson, "Naturally Occurring Quinones", Academic Press, New York, 1971, S. 5.
- 3) U. Sankawa, Y. Ebizuka und S. Shibata, *Tetrahedron Letters* **1973**, 2125.
- 4) B. Franck, *Angew. Chem.* **81**, 269 (1969); *Angew. Chem. Int. Ed.* **8**, 251, (1969).
- 5) B. Franck und H. Flasch, *Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe* **30**, 151 (1973).
- 6) ¹³C-Markierung mit anschließender NMR-spektroskopischer Positionsbestimmung kam im Hinblick auf die für (2) und (3) erreichbaren Einbauraten nicht in Betracht.
- 7) H. Brockmann, F. Kluge und H. Muxfeldt, *Chem. Ber.* **90**, 2302 (1957).
- 8) Alle ¹⁴C-markierten Verbindungen wurden mit authentischen, inaktiven Substanzen identifiziert.
- 9) B. Franck und B. Berger-Lohr, *Angew. Chem.* **87**, 845 (1975).

(Received in Germany 16 January 1980)