

# FLECHTENINHALTSSTOFFE—XCVIII<sup>1</sup> STRUKTUR DES ASPICILINS<sup>a</sup>

S. HUNECK,\* und K. SCHREIBER

Institut für Biochemie der Pflanzen des Forschungszentrums für Molekularbiologie und Medizin der Akademie der Wissenschaften der DDR, DDR-401 Halle/Saale, Weinberg

und

W. STEGLICH

Organisch-Chemisches Institut der Technischen Universität Berlin, 1 Berlin 12

(Received in Germany 26 April 1973; Received in the UK for publication 13 July 1973)

**Abstract**—The structure of aspicilin, the first macrocyclic lactone from a lichen, *Aspicilia gibbosa* Körb., has been established as 4,5,6-trihydroxy-octadec-2-en-1:17-olide (1).

Hesse<sup>2</sup> isolierte bei seinen Untersuchungen über Flechtenstoffe aus *Aspicilia calcarea* Mudd. eine Verbindung vom Schmp. 178·5°, die er Aspicilin (1) nannte; später gab er für diese Verbindung aus *Aspicilia gibbosa* Körb. (syn. *Lecanora gibbosa* (Ach.) Nyl., *L. viridula* (Flk.) Hillm.) den Schmp. 150° an.<sup>3</sup> Der eine von uns<sup>4</sup> bestätigte das Vorliegen von Aspicilin in der auf Silikatgestein verbreiteten Kruste *A. gibbosa* aus der Familie der Lecanora-ceen und leitete aus der Elementaranalyse und dem Elektronenanlagerungsmassenspektrum (EA-MS) die Summenformel C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> ab. Später wurden weitere Vorkommen in Lecanora-ceen bekannt.<sup>5,6</sup> Wir haben uns erneut mit dieser Substanz

beschäftigt und deren Struktur aufgeklärt.

Das Elektronenstoßmassenspektrum (ES-MS) von 1 (Abb 1) liefert den Molmassenpeak bei *m/e* 328 und eine hochaufgelöste Messung ergibt die Summenformel C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub>.

1 zeigt im IR-Spektrum (in KBr) u.a. eine Carbonylbande bei 1704/cm und zwei intensive OH-Banden bei 3350 und 3500/cm, während es im UV (in MeOH) bei 211 nm ( $\epsilon = 12500$ ) absorbiert, entsprechend einer  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylverbindung. Das 90 MHz NMR-Spektrum (in CDCl<sub>3</sub> mit 5% CD<sub>3</sub>OD) von 1 (Abb 2) weist im niedrigen Feldbereich den AB-Teil eines ABX-Spektrums auf mit  $\delta_A = 6.89$  ppm<sup>†</sup> und  $\delta_B = 6.08$  ppm. Der zugehörige X-Teil erscheint bei 4.5 ppm als komplexes Signal aus 8 Linien, das jedoch in einem Doppelresonanzversuch nach Einstrahlung von  $f_2 = 317.7$  Hz (3.53 ppm) in ein Quartett mit  $\delta_X = 4.50$  ppm übergeht. Die entsprechenden Kop-

\*Herrn Prof. Dr. M. Steiner zum 70. Geburtstag gewidmet.

†Diese Angabe und alle weiteren beziehen sich auf die  $\delta$ -Skala.

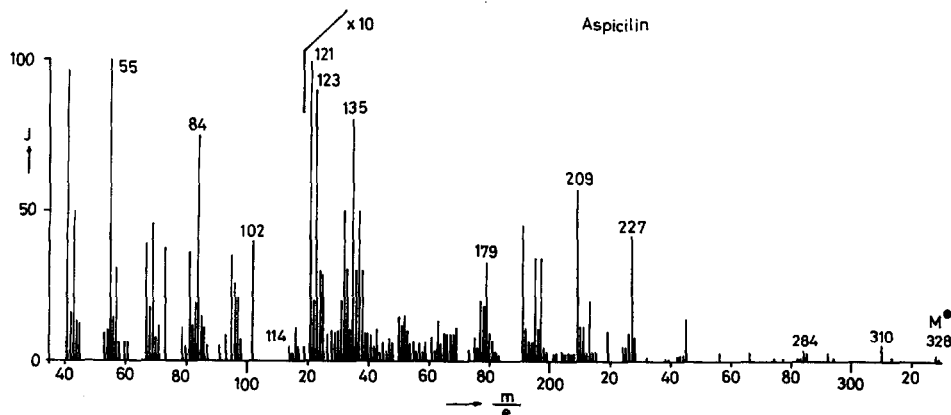


Abb 1. Elektronenstoßmassenspektrum von Aspicilin (1).

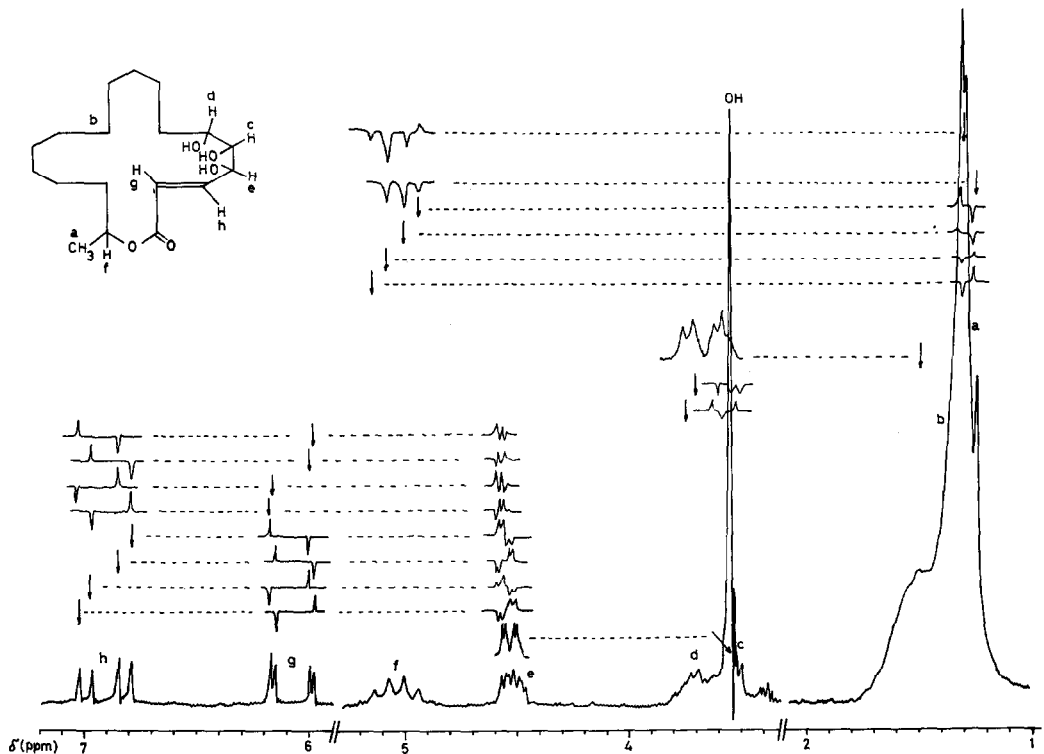
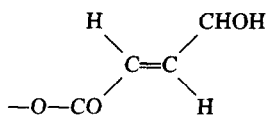
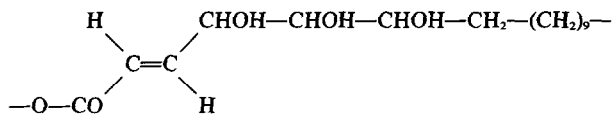


Abb 2. 90 MHz NMR-Spektrum von Aspicilin (1) (in  $\text{CDCl}_3$  mit 5%  $\text{CD}_3\text{OD}$  und TMS als innerem Standard).

plungskonstanten sind  $J_{AB} = 16$  Hz,  $J_{AX} = 5$  Hz und  $J_{BX} = 1.9$  Hz. Aus den chemischen Verschiebungen und dem hohen Wert von  $J_{AB}$  folgt daher die Partialstruktur (a) mit *trans*-ständigen olefinischen Protonen.



(a)



(b)

Diese Zuordnung wird mittels zweier INDOR-Experimente durch Einstrahlung folgender Serien von Frequenzen bestätigt: 1.  $f_1 = 633.9, 629.0, 618.4, 613.2, 556.2, 554.6, 540.4$  und  $538.9$  Hz und 2.  $f_1 = 409.9, 407.9, 407.4, 405.5, 402.9, 402.7, 402.3$  und  $400.2$  Hz. Aus den Intensitätsverhältnissen dieser INDOR-Signale lässt sich unter Berücksichtigung der Spinorientierungsmöglichkeiten ableiten, dass das relative Vorzeichen von  $J_{BX}$  entgegengesetzt dem von  $J_{AX}$  und  $J_{AB}$  ist (Abb 3).

In einem weiteren INDOR-Versuch werden nacheinander folgende Frequenzen auf die Signale des C-4-H-Multipletts eingestrahlt:  $f_1 = 410.1, 408.3, 407.3, 405.7, 405.0, 403.2, 402.4$  und  $400.6$  Hz, wobei nur im Bereich des Quartetts um  $3.55$  ppm

Intensitätsänderungen beobachtet werden. Das Proton am C-4 koppelt also mit dem Proton einer weiteren an dieses C-Atom geknüpften CHOH-Gruppe (C-Atom 5). Das C-Atom 5 ist mit der letzten CHOH-Gruppe (C-Atom 6) verbunden, an die

sich eine Methylkette (C-7 bis C-16) anschließt: das Quartett des Protons am C-6 um  $3.68$  ppm geht in einem Doppelresonanzexperiment durch Einstrahlung von  $f_2 = 136.0$  Hz in ein Dublett über (Kopplung des C-6-H mit dem C-5-H). Damit kann die Partialstruktur von (a) zu (b) ergänzt werden. Im höheren Feldbereich zeigt das NMR-Spektrum zwischen  $1.1$  bis  $1.8$  ppm einen Methyleneberg, an dessen rechter Flanke bei  $1.27$  ppm ein Dublett mit  $J = 6$  Hz sitzt, das von einer  $\text{CH}_3\text{—C—H}$ -Gruppe herrührt, die einerseits an die Methylkette und andererseits auf Grund der chemischen Verschiebung an das Lacton-Sauerstoffatom geknüpft ist. Bolliger und Tamm<sup>7</sup> geben z.B. für das Signal der sekundären Methylgruppe in dem 14-gliedrigen

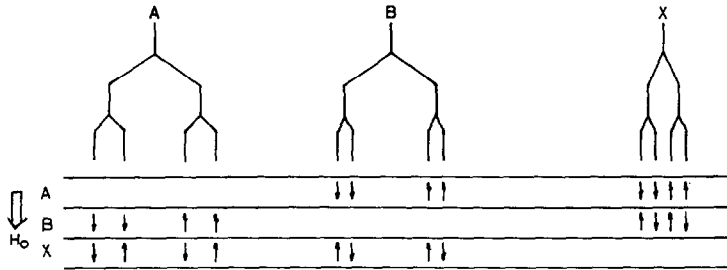
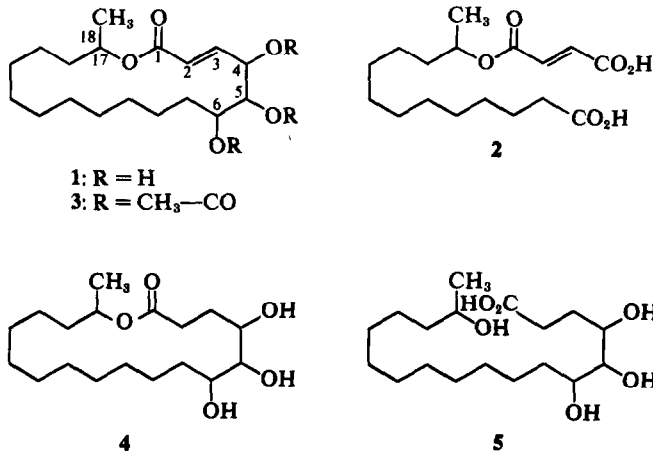


Abb 3. Spinorientierung im ABX-Teil des NMR-Spektrums vom Aspicilin (1).



Lacton Zearalenon  $\delta = 1.40$  ppm (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) an. Damit ergibt sich Struktur 1 für Aspicilin.

Diese Struktur wird durch Oxydation von 1 mit Jones'-Reagens bestätigt: dabei wird das C-Atom 5 herausoxydiert unter Bildung von Noraspicilindisäure (2), die im 100 MHz NMR-Spektrum (Aceton-d<sub>6</sub>, TMS) folgende Signale zeigt: d 1.25 (3H), J = 6 Hz: 18-CH<sub>3</sub>, breites s 1.30 (18H): 8-CH<sub>2</sub> bis 16-CH<sub>2</sub>, t 2.27 (2H): 7-CH<sub>2</sub>, m 5.00 (1H): C-17-H und s 6.77 (2H): C-2-H und C-3-H. Im ES-MS von 2 liegt der Peak mit dem höchsten *m/e*-Wert bei 310 (5.4%), entsprechend M-H<sub>2</sub>O (Anhydrid von 2). Die hochaufgelöste Messung ergibt *m/e* 310-173, in Übereinstimmung mit dem für C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub> berechneten Wert von *m/e* 310-178. 2 reagiert mit ätherischer Diazomethanlösung bei 20° unter Bildung eines Öles, das im EA-MS (Verdampfer-temp. 80°, Expositionszeit 10 s) einen Peak bei *m/e* 398 zeigt: danach werden nicht nur die beiden Carboxylgruppen methyliert, sondern es lagert sich ferner ein Molekül Diazomethan an die Doppelbindung an unter Bildung eines Pyrazolins.

Die Kopplung des Protons am C-Atom 17 von 1 (Multiplett bei 5.0 ppm) mit der 18-CH<sub>3</sub>-Gruppe wird durch zwei weitere INDOR-Experimente bewiesen: bei sukzessiver Einstrahlung mit  $f_1 = 461.9$ , 455.5, 450.2 und 444.1 Hz bei den Signalen des C-17-Protons werden Intensitätsänderungen der 18-

CH<sub>3</sub>-Signale und bei Einstrahlung mit  $f_1 = 109.9$  und 116.0 Hz beim 18-CH<sub>3</sub>-Dublett werden Intensitätsänderungen im Bereich des Multipletts vom C-17-H beobachtet.

Die Signale des 90 MHz NMR-Spektrums von Triacetylaspicilin (3) (Abb 4), das aus 1 mit Acetanhydrid-Pyridin entsteht, können wie folgt zugeordnet werden: ABX-Spektrum der Protonen an den C-Atomen 2,3 und 4 mit dem A-Teil (C-3-H) bei 7.02, 6.94, 6.84 und 6.76 ppm, dem B-Teil (C-2-H) bei 6.17, 6.16, 6.00 und 5.99 ppm und dem X-Teil (C-4-H) bei 5.62 ppm. Diese Zuordnung wird mittels Doppelresonanz- und INDOR-Experimenten durch Einstrahlung mit  $f_2 = 615$ , 551, 506 und 468 Hz bzw.  $f_1 = 632$ , 624, 617, 608, 556, 555, 540 und 539 Hz bewiesen. Das Multiplett zwischen 4.9 und 5.3 ppm mit insgesamt 3 Protonen stammt laut Doppelresonanz- und INDOR-Experimenten (Einstrahlung mit  $f_2 = 468$  Hz bzw.  $f_1 = 511$ , 510, 509, 508, 503, 501, 475, 473, 468, 465, 460, 115 und 109 Hz) von den Protonen an den C-Atomen 5, 6 und 17. Bei 2.04, 2.05 und 2.10 ppm erscheinen die Singuletts der drei Acetylgruppen, zwischen 1.27 und 1.80 ppm liegt der Methylenberg und schliesslich bei 1.25 ppm das Dublett der 18-CH<sub>3</sub>-Gruppe.

Bei der katalytischen Hydrierung nimmt 1 ein Mol Wasserstoff auf und geht in Dihydroaspicilin

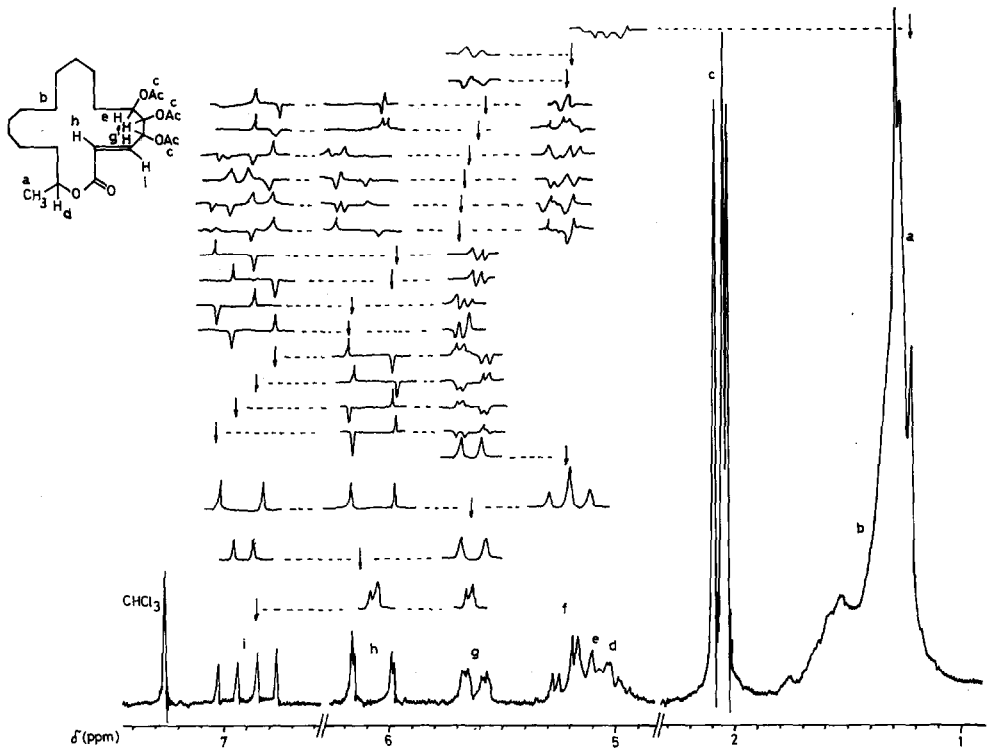


Abb 4. 90 MHz NMR-Spektrum von Triacetylaspicilin (3) (in  $\text{CDCl}_3$  mit TMS).

(4) über, das im ES-MS (Abb 5) den für  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_5$  geforderten Molmassenpeak bei  $m/e$  330 hat, im IR bei  $1700/\text{cm}$  eine Carbonylbande und im UV eine schwache Bande bei  $205 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 1200$ ) aufweist.

Die aus Abb 6 ersichtliche Zuordnung der Signale im NMR-Spektrum von 4 wurde durch Doppelresonanz- und INDOR-Experimente abgesichert.

Bei der Verseifung mit methanolischer Kalilauge geht 4 unter Öffnung des Lactonringes in Dihydroaspicilolsäure (5) über (ES-MS siehe Abb 7).

Die Fragmentierungen (Schema 1, Abb. 5 und 7) von 1, 4 und 5 bei der Massenspektrometrie unterstützen die jeweiligen Strukturen, wobei im Falle von 1 die Zuordnung der Fragmentionen a bis h durch hochauflösende Messungen bestätigt wird.

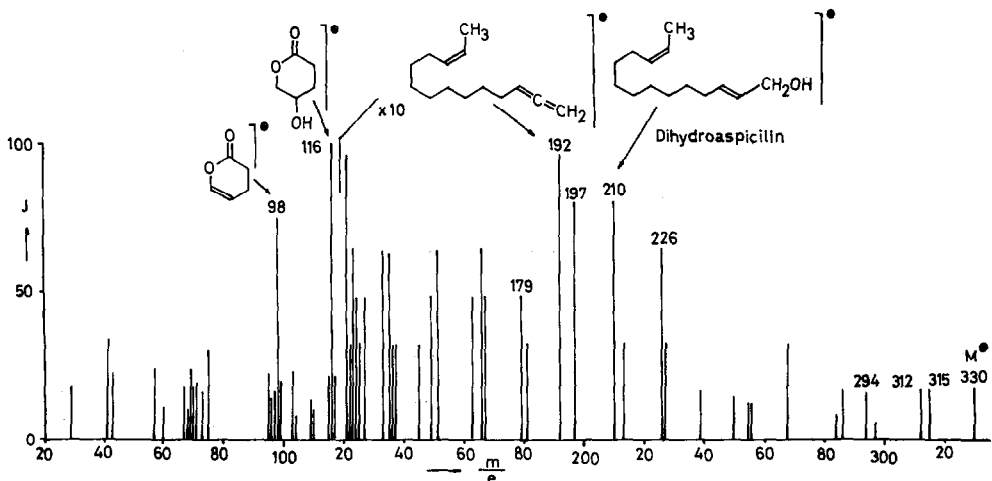


Abb 5. Elektronenstoßmassenspektrum von Dihydroaspicilin (4).

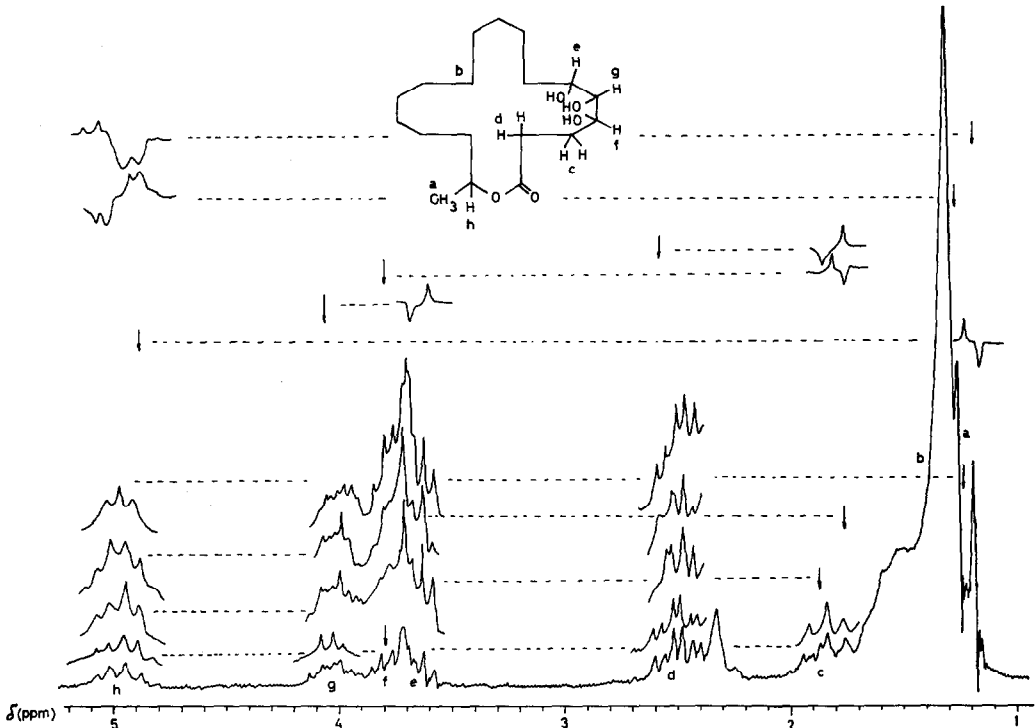
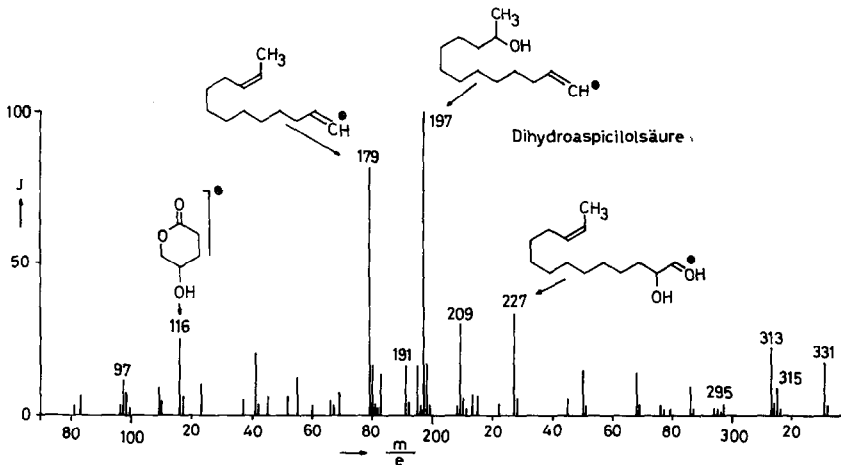
Abb 6. 90 NMR-Spektrum von Dihydroaspicilin (4) (in CDCl<sub>3</sub> mit TMS).

Abb 7. Elektronenstoßmassenspektrum von Dihydroaspicilolensäure (5).

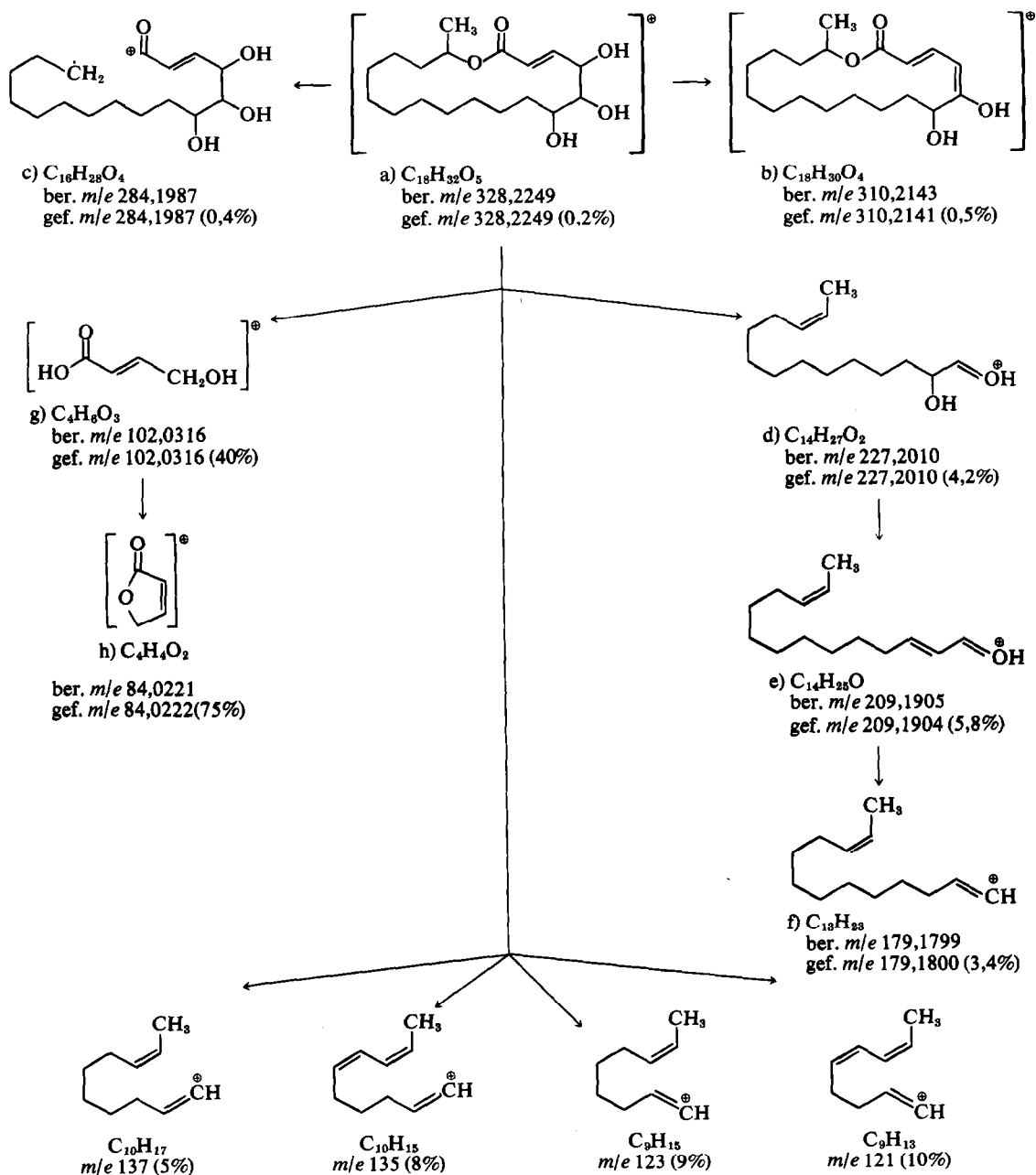
Aspicilin ist das erste makrocyclische Lacton aus Flechten und konnte bisher nur in Lecanoraceen nachgewiesen werden.

#### EXPERIMENTELLES

Die IR-Spektren wurden mit einem Peye-Unicam SP 200, die UV-Spektren mit einem Hilger-Watts Ultrascan, die Massenspektren mit einem A.E.I. MS 9 (Direkteinlass,

70 eV) bzw. dem Dresdner Molekülmassenspektrographen und die NMR-Spektren mit einem Bruker 90 MHz bzw. einem Varian XL 100 aufgenommen.

*Aspicilin* (1) aus *Aspicilia gibbosa*. 184.0 g lufttrockene und gemahlene Flechte (im Juli 1970 auf Quarzporphyrfelsen des Kaiserkopfes bei Floh im Thüringer Wald in 516 m Höhe gesammelt) werden mit 200 ml Äther 12 Stdn. extrahiert. Der Extrakt wird mit 10 ml 1-proz. Natronlauge geschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird unter Erwärmen in 200 ml



SCHEMA 1. Fragmentierung von Aspicilin (1) bei Elektronenstoss.

Benzol gelöst und über 50 g Kieselgel chromatographiert: 500 ml Benzol eluieren 5 mg (0,003%) Wachs vom Schmp. 77–82°, 500 ml Benzol: Äther = 8:2 wenig grüneschwarzes Öl und 1000 ml Äther 0,35 g (0,19%) Aspicilin, das nach Kristallisation aus Äther-Hexan und Methanol in Plättchen vom Schmp. 153–154° und  $[\alpha]_D^{20} + 32^\circ$  (c 2,31, Chf.) resultiert.  $C_{18}H_{32}O_5$  (328,4). Ber.: C, 65,82; H, 9,82; Gef.: C, 65,80; H, 9,82.  $R_F = 0,55$  ( $Al_2O_3$ , Akt. II, neutral, Äther: MeOH = 9:1, thermische Zersetzung). IR,  $\nu_{max}^{KBr}$ : 710, 730, 762, 810, 890, 904, 922, 940, 955, 990, 1010, 1035,

1075, 1120, 1175, 1210, 1230, 1340, 1362, 1460, 1650, 1704 (CO), 2880, 2950 ( $CH_2$ ), 3350 (OH) und 3500/cm (OH). UV,  $\lambda_{max}^{MeOH}$  ( $\epsilon$ ): 211 nm (12500). ORD (in MeOH):  $[\alpha]_{400} + 181^\circ$ ,  $[\alpha]_{300} + 362^\circ$ ,  $[\alpha]_{270} + 272^\circ$ ,  $[\alpha]_{250} + 1363^\circ$  und  $[\alpha]_{210} + 2272^\circ$ . CD (in MeOH):  $\Delta\epsilon_{250} - 0,78$  und  $\Delta\epsilon_{217} - 3,32$ .

Der NaOH-Auszug liefert nach Ansäuern und Kristallisation aus Methylenechlorid-MeOH 38 mg (0,02%) Atranorin.

Noraspicilindisäure (2). 0,15 g 1 werden in 15 ml Aceton gelöst und bei 20° mit Jones'-Reagens innerhalb von

5 Min. oxydiert; danach wird überschüssiges  $\text{CrO}_3$  mit Oxalsäurelösung zerstört, mit 10 ml Wasser verdünnt und fünfmal mit je 20 ml Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherauszüge werden mit 2 ml Wasser gewaschen und mit 10-proz.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung in saure und neutrale Anteile getrennt. Der saure Anteil wird aus wenigen Tropfen Benzol umgelöst, das resultierende wachsartige Produkt auf einem Tonteller abgesaugt, aus Benzol und dann aus Äther umkristallisiert: 10 mg 2 in flachen Nadeln vom Schmp. 78–80°.  $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_6$  (328). IR,  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ : 680, 730, 790, 960, 1000, 1122, 1170, 1210, 1235, 1272, 1305, 1382, 1426, 1470, 1640, 1698 (CO), 2870, 2950 ( $\text{CH}_2$ ) und 3500/cm (OH). UV,  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  ( $\epsilon$ ): 213 (8200).

Der zunächst ölige Neutralanteil kristallisiert nach mehrtägigem Aufbewahren bei 20°, konnte aber aus Substanzmangel nicht weiter untersucht werden.

Das aus 2 mg 2 und ätherischer Diazomethanlösung bei 20° erhaltene Noraspicilindisäuredimethylesterpyrazolin ist ein Öl.

*Triacetylaspicilin* (3). Aus 60 mg 1 in 1 ml Pyridin mit 1 ml Acetanhydrid in 24 Stdn. bei 20°; nach Verdünnen mit Wasser wird das ausgeschiedene Produkt abgesaugt, bei Raumtemperatur getrocknet, zunächst aus Hexan und dann aus MeOH-Wasser umkristallisiert: 24 mg 3 in verfilzten Nadelchen vom Schmp. 118–119°.  $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_8$  (454.5). Ber.: C, 63.41; H, 8.43; Gef.: C, 63.40; H, 8.45. IR,  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ : 740, 760, 880, 920, 960, 980, 1004, 1030, 1060, 1122, 1142, 1190, 1230, 1250, 1370, 1440, 1650, 1700 (Lacton-CO), 1730 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2860 und 2950/cm ( $\text{CH}_2$ ).

*Dihydroaspicilin* (4). 60 mg 1 werden in 15 ml Äthanol mit Platin auf Aktivkohle (Brown's-Katalysator) unter Normalbedingungen hydriert. Nach 3 Stdn. wird der Katalysator durch Filtrieren über Super-Cel entfernt, das Filtrat eingedampft und der Rückstand aus MeOH umkristallisiert: 50 mg 4 in flachen Nadeln vom Schmp. 168°.  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_5$  (330.4). Ber.: C, 65.42; H, 10.37; Gef.: C, 65.45; H, 10.35. IR,  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ : 740, 810, 890, 950, 1012, 1040, 1060,

1090, 1130, 1180, 1235, 1300, 1340, 1380, 1420, 1430, 1555, 1700 (CO), 2850, 2920 ( $\text{CH}_2$ ), 3300 (OH) und 3400/cm (OH). UV,  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  ( $\epsilon$ ): 205 nm (1200). CD (in MeOH):  $\Delta\epsilon_{216} + 0.15$ .

*Dihydroaspicilolsäure* (5). 20 mg 4 werden in 3 ml MeOH mit 0.1 g KOH 2 Stdn. unter Rückfluss auf dem Wasserbad erhitzt; dann wird i.Vak. eingedampft, der Rückstand mit 10-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  angesäuert und der Niederschlag mit 300 ml Äther ausgeschüttelt. Die äther. Lösung wird mit Wasser gewaschen, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Der Rückstand liefert nach Kristallisation aus MeOH-Wasser 10 mg 5 in perlmuttgänzenden Plättchen vom Schmp. 116–117°.  $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_6$  (348.4). Ber.: C, 62.04; H, 10.41; Gef.: C 62.05; H, 10.43. IR,  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ : 700, 722, 760, 798, 810, 834, 860, 902, 925, 942, 990, 1010, 1030, 1070, 1100, 1130, 1202, 1250, 1300, 1370, 1430, 1370, 1430, 1462, 1670 (CO), 1695 (CO), 2850, 2920 ( $\text{CH}_2$ ), 3300 (OH) und 3450/cm (OH). CD (in MeOH):  $\Delta\epsilon_{215} - 0.09$ .

*Danksagung*—Fräulein Dr. Patricia M. Scopes, London, danken wir für die Aufnahme der ORD- und CD-Kurven und Herrn Dr. A. Zschunke, Halle, für Hinweise bei der Berechnung der NMR-Spektren. Besonderen Dank schulden wir den Herren Dr. A. Prox und Dr. A. Reuter, Biberach/Riss, für die NMR-Spektren und die Doppelresonanzexperimente.

## LITERATUR

- <sup>1</sup>Teil XCVII: S. Huneck, J. Redón und W. Quilhot, *J. Hatt. Bot. Lab.* 1973, im Druck  
<sup>2</sup>O. Hesse, *J. prakt. Chem.* 62, 430 (1900)  
<sup>3</sup>O. Hesse, *Ibid.* 70, 449 (1904)  
<sup>4</sup>S. Huneck, *Z. Naturforsch.* 21b, 888 (1966)  
<sup>5</sup>S. Huneck und G. Follmann, *Herzogia* 1, 41 (1968)  
<sup>6</sup>G. Follmann und S. Huneck, *Willdenowia* 5, 351 (1969)  
<sup>7</sup>G. Bolliger und Ch. Tamm, *Helv. chim. Acta* 55, 3031 (1972)