

Pilzpigmente, XXII<sup>1</sup>**Grevillin D, der Hauptfarbstoff von  
*Suillus granulatus*, *S. luteus* und *S. placidus*  
(Boletales)**Pigments of Fungi, XXII<sup>1</sup>

Grevillin D, the Main Pigment of *Suillus granulatus*, *S. luteus* and *S. placidus* (Boletales)

Helmut Besl, Ilona Michler, Regina Preuß  
und Wolfgang Steglich

Organisch-Chemisches Institut der Technischen Universität  
Berlin

(Z. Naturforsch. **29 c**, 784–786 [1974]; eingegangen  
am 7. Juli 1974)

Grevillins, NMR Solvent Shift, *Suillus*, Boletales

The new pyrone derivative grevillin D (**3**) has been isolated from several *Suillus* species. Its structure has been established by spectral data, taking advantage of large pyridine solvent shifts in the <sup>1</sup>H-NMR spectrum. **3** may be derived biogenetically from grevillin B (**1**) via an oxidative rearrangement.

Die Lärchenröhrlinge *Suillus grevillei* und *S. tridentinus* verdanken ihre gelbe Farbe den Grevillinen A, B und C<sup>2</sup>. In einer sorgfältigen chemotaxonomischen Untersuchung konnte Bresinsky<sup>3</sup> zeigen, daß für *S. granulatus*, *S. luteus*, *S. placidus*, *S. flavidus* und *S. sibiricus* – sämtlich Angehörige der Sektion *Suillus* – ein weiteres mit konz. Schwefelsäure lila verfärbendes Pigment charakteristisch ist, das Grevillin D genannt werden soll.

Zur Isolierung des Farbstoffs wurden tiefgefrorene Fruchtkörper von *S. granulatus* (L. ex Fr.) O. Kuntze<sup>4</sup> unter Aceton zerkleinert, das etwas Salzsäure enthielt. Nach Einengen am Rotavapor schüttete man den wäßrigen Rückstand mit Essigester aus, trocknete die intensiv gelben Extrakte und dampfte sie ein. Zur Chromatographie wurde in Aceton aufgenommen, von ausgefallener Fumarsäure abfiltriert und auf eine Säule von MN-Polyamid SC 6-Ac (Macherey und Nagel, Düren) gegeben. Aceton eluierte nacheinander einen lipophilen Vorlauf. Fumarsäure und Grevillin B **1** (Ausbeute  $5 \cdot 10^{-4}\%$ ), in jeder Beziehung identisch mit dem authentischen Pigment<sup>2</sup>. Zum Ablösen der gelben Grevillin-D-Zone wurde dem Laufmittel etwas Methanol zugesetzt. Rechromatographie ergab reines Grevillin D (Ausbeute  $5 \cdot 10^{-3}\%$ ) in Form orangefarbener Kriställchen, die sich oberhalb von  $180^\circ$  ohne definierten Schmelzpunkt zersetzen. Auf die gleiche Weise wurde die Verbindung aus *S. luteus* (L. ex

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. W. Steglich, Organisch-Chemisches Institut der Technischen Universität Berlin, D-1000 Berlin 12, Straße des 17. Juni 135.

Fr.) S. F. Gray (neben Grevillin B) und *S. placidus* (Bon.) Sing. (neben Grevillin B und C) isoliert<sup>4</sup>.

Es empfiehlt sich, das so gewonnene Grevillin D ohne weitere Manipulationen für spektroskopische und chemische Untersuchungen einzusetzen, da es bereits beim Stehen in Lösungsmitteln oder beim Versuch der Umkristallisation in Folgeprodukte übergeht, von denen ein in Methanol schwerlösliches rotes Anhydroderivat näher charakterisiert wurde ( $M^+$ : *m/e* 338; UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}} = 282, 450$  nm; + Lauge  $\lambda_{\text{max}} = 584$  nm). Anhydrogrevillin D ist dünnenschichtchromatographisch schon im Pilzrohextrakt nachweisbar<sup>5</sup>. Es erschwert bei einigen Aufarbeitungen die chromatographische Reinigung von Grevillin D.

Sowohl die UV- und IR-Spektren als auch die intensiv lila Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure sprechen dafür, daß Grevillin D ein 6-Benzyliden-3-(oder 5)-hydroxy-dihydropyran-2,5-(oder 2,3)-dion-System erhält<sup>2,6</sup>. Nach dem Massenspektrum des Pentaacetates ( $M^+$ : *m/e* 566)<sup>8</sup> besitzt der Farbstoff die Summenformel  $C_{18}H_{12}O_8$ , ist also mit Grevillin C (**2**)<sup>2</sup> isomer. Fünf konsekutive Keten-Abspaltungen (*m/e* 566 → 524 → 482 → 440 → 398 → 356) zeigen das Vorliegen von fünf phenolischen oder enolischen Hydroxygruppen an. Wichtig ist eine weitere Ionenfolge (*m/e* 464, 422, 380, 338), die nach Verlust von zwei Ketenmolekülen aus dem Molekülion beginnt und jeweils um 18 Masseneinheiten tiefer liegt als die Hauptserie. Diese Ionen fehlen beim Grevillin-C-pentaacetat<sup>2</sup> und deuten darauf hin, daß zwei räumlich benachbarte OH-Gruppen unter Wasserabspaltung miteinander reagieren. Dies ist in Übereinstimmung mit der leichten Bildung einer Anhydroverbindung und dem Auftreten des ( $M - H_2O$ )-Ions als höchstem Peak im Massenspektrum von Grevillin D<sup>9</sup>.

Das Substitutionsmuster der beiden Benzolkerne wird durch die <sup>1</sup>NMR-Spektren geklärt (Tab. I). In  $D_4$ -Methanol sind die Signale eines 3,4-Dihydroxybenzyliden-Restes zu erkennen, die drei Aromatenprotonen des Ringes A ergeben ein enges Multiplett bei  $\delta = 6,60 - 6,75$ , das keine Interpretation zuläßt. Ihre Anordnung wird erhellt, wenn man das Spektrum in  $D_5$ -Pyridin aufnimmt (Abb. 1). Neben den Signalen des 3,4-Dihydroxybenzyliden-Restes erscheint ein 2,8-Hz-Dublett bei  $\delta = 7,92$ , das nach Entkoppelungsexperimenten mit  $H_B$  eines AB-Systems ( $\delta H_B = 7,11$ ,  $\delta H_A = 7,22$ ,  $J_{AB} = 9$  Hz) gekoppelt ist. Danach muß Ring A 1,2,5-trisubstituiert sein. Ein Blick auf die Spektren von Grevillin B und C lehrt, daß in Pyridin stets das zum elektronenziehenden Substituenten *ortho*-ständige Proton am stärksten nach niederem Feld verschoben wird, ganz besonders



Tab. I.  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der Grevilline B, C und D (**1**, **2** und **3**)<sup>10</sup>.

Verbindung	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'	H-6'	H-a	H-2''	H-5''	H-6''
In $\text{D}_6$ -Aceton (für <b>1</b> , <b>2</b> ) oder $\text{D}_4$ -Methanol (für <b>3</b> ):									
Grevillin B <b>1</b>	7,45 a	6,88 a	—	6,88 a	7,45 a	6,94	7,61 b	6,91 a	7,28 c
Grevillin C <b>2</b>	7,11 b	—	—	6,84 a	6,98 c	6,93	7,60 b	6,91 a	7,26 c
Grevillin D <b>3</b>	—	—	6,60 – 6,75 d	—	—	6,94	7,51 b	6,83 a	7,24 c
In $\text{D}_5$ -Pyridin:									
Grevillin B <b>1</b>	7,95 a	7,25 a	—	7,25 a	7,95 a	7,41	8,18 b	7,22 a	7,47 c
Grevillin C <b>2</b>	7,85 b	—	—	7,19 a	7,43 c	7,36	8,14 b	7,27 a	7,49 c
Grevillin D <b>3</b>	—	7,22 e	7,11 f	—	7,92 g	7,40	8,13 b	7,24 a	7,47 c

a d,  $J=8$  Hz; b d,  $J=2$  Hz; c d d,  $J_1=8$  Hz,  $J_2=2$  Hz; d Multiplett; e A-Teil eines AB-Systems,  $J=9$  Hz; f B-Teil eines AB-Systems,  $J_1=9$  Hz, durch  $J_2=2,8$  Hz verdoppelt; g d,  $J=2,8$  Hz.

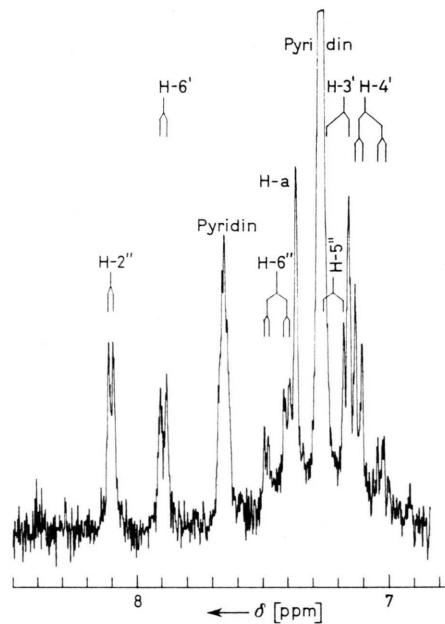
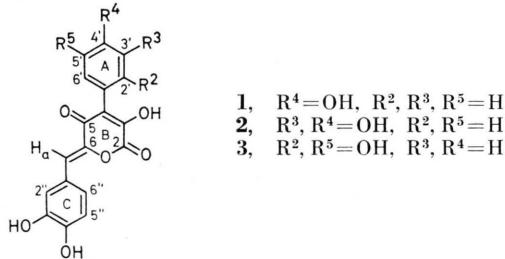


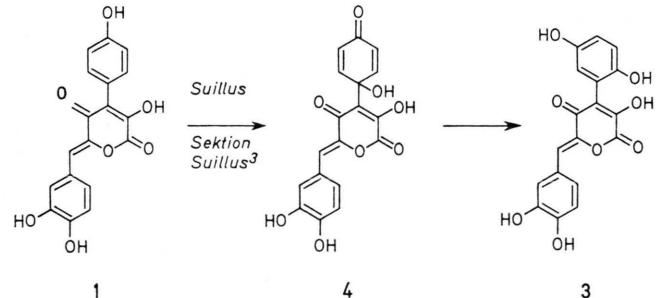
Abb. 1. Aromatenbereich des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von Grevillin D (**3**) in  $\text{D}_5$ -Pyridin nach Zusatz von  $\text{D}_2\text{O}$  (Varian XL-100).

dann, wenn es noch einer phenolischen OH-Gruppe



benachbart ist. Entsprechendes gilt für die im Anhang zusammengestellten Vergleichsverbindungen<sup>11</sup>. Die beiden Hydroxygruppen am Ring A müssen daher in 2,5-Stellung stehen, womit sich für Grevillin D die Konstitution **3** ergibt. Über die Tauto-

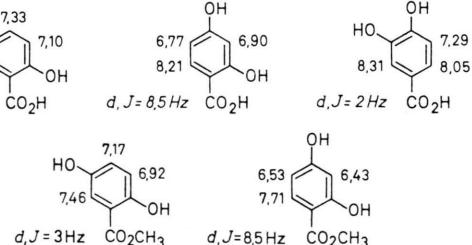
merieverhältnisse im Pyranring und die Konfiguration der exocyclischen Doppelbindung können noch keine sicheren Aussagen gemacht werden.



Grevillin D dürfte sich biogenetisch von Grevillin B (**1**) ableiten, mit dem es gemeinsam vorkommt. Die oxidative Umlagerung von **1** in **3** entspricht der Biosynthese von Homogentisinsäure aus *p*-Hydroxy-phenylbrenztraubensäure<sup>12</sup>. Möglicherweise tritt dabei das *p*-Chinol **4** als Zwischenstufe auf<sup>13</sup>.

### Anhang

$^1\text{H}$ -NMR-Spektren von Dihydroxybenzoësäuren und ihren Methylestern in  $\text{D}_5$ -Pyridin<sup>10</sup>.



Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die großzügige Förderung dieser Arbeit. Herrn Prof. Dr. A. Bresinsky danken wir herzlich für seine Hilfe bei der Beschaffung der Pilze, Herrn Dr. G. Höfle für die Aufnahme der NMR-Spektren.

- <sup>1</sup> XXI. Mitt.: R. v. Ardenne, H. Döpp, H. Musso u. W. Steglich, Z. Naturforsch. **29c**, 637 [1974].
- <sup>2</sup> W. Steglich, H. Besl u. A. Prox, Tetrahedron Letters **1972**, 4895; vgl. auch l. c. <sup>7</sup>.
- <sup>3</sup> A. Bresinsky, Travaux mycologiques dédiés à R. Kühner, Numéro Spécial du Bull. de la Soc. Linnéenne de Lyon **43**, 61 [1974].
- <sup>4</sup> *S. granulatus* wurde im August 1973 bei Grafrath, Oberbayern, *S. luteus* bei Nassereith, Tirol, und *S. placidus* im Ötztal, Tirol und im Ebersberger Forst bei München gesammelt.
- <sup>5</sup> *Rf*-Werte auf DC-Fertigplatten Kieselgel 60 Merck, Darmstadt (Laufmittel: Benzol/Ameisensäure-äthylester/Ameisensäure=10:5:3 Vol.): Anhydrogrevillin D 0,30, orange, mit NH<sub>3</sub> blau, mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> karminrot; Grevillin B 0,24; Grevillin C 0,17; Grevillin D 0,12; alle Grevilline gelb, mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> lila.
- <sup>6</sup> IR (KBr): 3430–2810, 1740–1710, 1615, 1575, 1520, 1445, 1385, 1280, 1215, 1175, 1125, 1010, 915, 825 und 775 cm<sup>-1</sup>; UV(MeOH): 393, 282 nm. Unterschiede in der Lage der CO-Bande und UV-Maxima bei verschiedenen Messungen deuten darauf hin, daß möglicherweise Gemische der Tautomeren vorliegen. Auf diese Weise erklären Edwards und Gill <sup>7</sup> die unterschiedliche Carbonylschwingung von Grevillin B ( $\nu_{CO}$  1715–1705 cm<sup>-1</sup>) und ihrer Verbindung B<sub>1</sub> ( $\nu_{CO}$  1736 cm<sup>-1</sup>).
- <sup>7</sup> R. L. Edwards u. M. Gill, J. C. S. Perkin I **1973**, 1921.
- <sup>8</sup> Aus Grevillin D, Acetanhydrid und einer Spur konz. Schwefelsäure dargestellt. Als Nebenprodukt entsteht ein farbloses Pentaacetat, bei dem sich zusätzlich ein Molekül Essigsäure an die exocyclische Doppelbindung addiert hat (M<sup>+</sup>: m/e 626). Eine analoge Reaktion wurde bei der säurekatalysierten Acetylierung der Grevilline B und C beobachtet.
- <sup>9</sup> Typische Fragmente: m/e 310 (M-18-28) und 294 (M-18-44). In wechselnder Intensität ist ein Peak m/e 354 sichtbar, der von einem Oxidationsprodukt des Grevillin D stammen dürfte.
- <sup>10</sup> Aufgenommen mit einem Varian XL-100 mit Tetramethylsilan ( $\delta=0,0$ ) als innerem Standard.
- <sup>11</sup> Die Spektren der Dihydroxybenzoësäureester in CDCl<sub>3</sub> finden sich bei M. Zanger, Organic Magnetic Resonance **4**, 1 [1972].
- <sup>12</sup> Vgl. z. B. A. J. Waring, Advances in Alicyclic Chem., Vol. **1**, 238 [1966].
- <sup>13</sup> Zur Isolierung und Umlagerung eines natürlichen p-Chinols vgl. S. R. Jensen, A. Kjaer u. B. J. Nielsen, Acta Chem. Scand. **27**, 367 [1973].