

2,5-Diarylcyclopentan-1,3-dione aus *Chamonixia caespitosa* (Basidiomycetes)Pigments of Fungi, 29<sup>1</sup>2,5-Diarylcyclopentane-1,3-diones from *Chamonixia caespitosa* (Basidiomycetes)

W. Steglich und A. Thilmann

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn

und

H. Besl und A. Bresinsky

Institut für Botanik der Universität Regensburg

(Z. Naturforsch. **32 c**, 46—48 [1977]; eingegangen am 22. November 1976)

Chamonixin, 2,5-Diarylcyclopentane-1,3-diones, Fungus Pigments, Chemotaxonomy

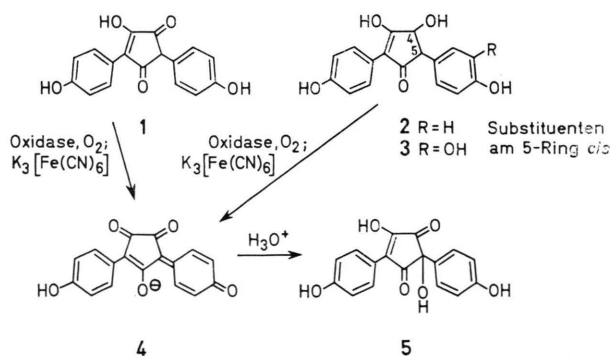
From sporophores of *Chamonixia caespitosa* the 2,5-diarylcyclopentane-1,3-diones gyrocyanin (1), chamonixin (2) and gyroporin (5) have been isolated, the first two being responsible for the blueing of the fruiting bodies. This result suggests a close relation of *Chamonixia* to the order Boletales.

Die weißen, unterirdisch wachsenden, mehr oder weniger kugeligen und gasteroiden Fruchtkörper von *Chamonixia caespitosa* Rolland kommen als Seltenheit in Fichtenwäldern vor<sup>2</sup>. Vergleichende morphologisch-anatomische Untersuchungen junger Entwicklungsstadien weisen verblüffende Ähnlichkeiten mit *Gyroporus cyanescens*, dem oberirdisch wachsenden Kornblumenröhrling, nach<sup>3</sup>. Bei Verletzung oder Druck laufen die Fruchtkörper sofort indigoblau an. Voruntersuchungen ergaben, daß sich der blaue Farbstoff wie das Oxidationsprodukt 4 von Gyrocyanin (1) verhält: er läßt sich aus wäßrigen Lösungen nach Zusatz von Kochsalz mit Essig-

ester ausschütteln<sup>4</sup>. Danach scheint der Pilz das gleiche blauende System zu enthalten wie *Gyroporus cyanescens*<sup>4</sup>. Um diesen chemotaxonomisch wichtigen Befund abzusichern, wurden die blauenden Komponenten von *Chamonixia* näher untersucht.

Gefriergetrocknete Fruchtkörper wurden unter Aceton zerkleinert, dem zur Vermeidung der Oxidation etwas Ascorbinsäure und Salzsäure zugesetzt worden war. Die Extrakte wurden eingedampft und der Rückstand zwischen Wasser und Essigester verteilt. Nach dem Dünnschichtchromatogramm enthielt die organische Phase neben Gyrocyanin (1) und Gyroporin (5) eine farblose Verbindung mit niedrigerem  $R_F$ -Wert, die sich nach Besprühen der Platte mit wäßrigem  $K_3[Fe(CN)_6]/NaHCO_3$  wie 1 intensiv blau färbte<sup>5</sup>. Zur Isolierung dieser von uns Chamonixin genannten Verbindung wurde der Extrakt an Sephadex LH-20 aufgetrennt. 70-proz. Methanol eluierte nach einem Vorlauf 0,5% Chamonixin und 0,05% 1, das sich mit authentischem Gyrocyanin<sup>4</sup> als identisch erwies.

Chamonixin kristallisiert aus Wasser in blaß cremefarbenen Nadeln vom Schmelzpunkt 176—181 °C, die nach der Elementaranalyse ein Mol Kristallwasser enthalten. Im Massenspektrum treten neben dem wenig intensiven Molekülion  $m/e$  298 prominente Fragmentationen  $m/e$  280 ( $M^+ \cdot H_2O$ ,  $C_{17}H_{12}O_4$ ), 147 ( $C_9H_7O_2$ ) und 134 ( $C_8H_6O_2$ ) auf. Daß Chamonixin ein dem Involutin (3)<sup>6</sup> analoges



Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. W. Steglich, Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn, Max-Planck-Str. 1, D-5300 Bonn.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Dihydroderivat **2** des Gyrocyanins ist, wird durch das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bewiesen (in Aceton- $\text{d}_6$ ). Der zur Doppelbindung konjugierte *p*-Hydroxyphenyl-Rest liefert zwei AA'BB'-Dubletts bei  $\delta = 6,87$  und  $7,93$  ppm, während der weniger abgeschirmte Arylrest entsprechende Signale bei  $\delta = 6,80$  und  $7,00$  ergibt<sup>4</sup>. Die *cis*-Stellung von 4-H und 5-H am Cyclopentanring ist an der Kopplungskonstante  $J = 7$  Hz zu erkennen, die mit der des Involutins (**3**) übereinstimmt<sup>6</sup>. **3** ist optisch aktiv,  $[\alpha]_D^{20} = +72^\circ$ , und besitzt nach dem CD-Spektrum (Abb. 1) die umgekehrte absolute Konfiguration wie das von Edwards und Mitarb.<sup>6</sup> aus *Paxillus involutus* isolierte **3**<sup>7</sup>.

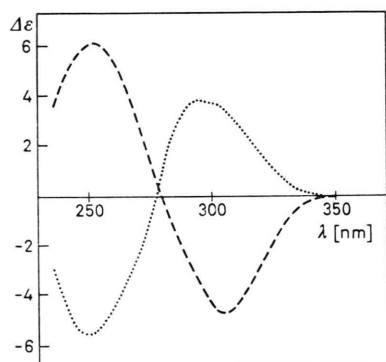


Abb. 1. CD-Spektren von **2** (— — —) und **3** (.....) in Methanol.

Wird **2** in wäßriger Lösung mit  $\text{K}_3[\text{Me}(\text{CN})_6]$  oxidiert, so entsteht das gleiche blaue Anion **4** wie aus **1**, und nach Ansäuern kann im DC **5** nachgewiesen werden<sup>4</sup>. Ascorbinsäure reduziert **4** zum Gyrocyanin **1**. Dieses liefert mit Natriumboratan in Ethanol ein Dihydroderivat, das im DC von authentischem **2** nicht zu unterscheiden ist. Schüttelt man einen gefriergetrockneten Fruchtkörper mit einer Lösung von **2** in Wasser, so färbt er sich nach kurzer Zeit tiefblau<sup>8</sup>. Demnach ist Chamonixin an der Blaufärbung der Fruchtkörper unmittelbar beteiligt.

Das Vorkommen von 2.5-Diarylcyclopentan-1.3-dion-Derivaten in *Ch. caespitosa* ist ein starkes chemotaxonomisches Argument für die Eingliederung der Gattung *Chamonixia* in die Boletales. Verbindungen des gleichen Typs wurden bisher nur aus *Gyroporus*<sup>4</sup>, *Leccinum*<sup>9,10</sup> und *Paxillus*<sup>6</sup> isoliert.

## Beschreibung der Versuche

UV-Spektren: Varian Cary 17;  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren: Bruker WH 90 (chemische Verschiebungen in  $\delta$  gegen TMS,  $\delta = 0,00$ ); Massenspektren: AEI MS 9 (Direkteinlaß, 70 eV, Ionenquellentemperatur 160 °C); CD-Spektren: Dichrographie Jouan-Roussel III bei 20 °C. Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. Die Fruchtkörper von *Ch. caespitosa* wurden im August 1973 im Mertinger Gemeindewald bei Donauwörth gesammelt und nach zweijähriger Aufbewahrung in der Tiefkühltruhe gefriergetrocknet. Die Kenntnis des Fundortes verdanken wir Herrn J. Stangl, Augsburg. Herbarbelege der untersuchten Pilzproben befinden sich im Staatsherbarium München.

## Isolierung der Inhaltsstoffe

20 g gefriergetrocknete Fruchtkörper von *Ch. caespitosa* werden 2 Tage zum Entfetten in Petrolether (50–70 °C) gelegt und anschließend in einem Mixer unter Aceton nach Zugabe von etwas Ascorbinsäure\* und einigen Tropfen konz. Salzsäure zerkleinert. Man saugt ab, wäscht gut nach und dampft die Extrakte ein. Der Rückstand wird mit 30 ml Wasser versetzt und dreimal mit je 100 ml Essigester ausgeschüttelt. Nach Eindampfen der getrockneten Extrakte wird der Rückstand auf eine Säule mit Sephadex LH-20 gegeben und mit 70-prozentigem Methanol eluiert. Man fängt 5 ml-Fractionen auf, deren Inhalt durch DC kontrolliert wird. Die Fractionen 10–12 enthalten reines **2**, 13–18 ein Gemisch von **2**, **5** und **1** und 19–21 10 mg **1**.

**2**, aus Wasser 105 mg (0,5%), blaß cremefarbene Nadeln vom Schmelzpunkt 176–181 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +72^\circ$  ( $c = 1$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ); UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}} = 275$  nm (sh,  $\epsilon = 16000$ ), 252 (23400), 225 (22800); CD (Methanol, 20 °C):  $[\theta]_{350} = 0$ ;  $[\theta]_{305} - 15440$ ;  $[\theta]_{280} = 0$ ;  $[\theta]_{253} + 20590$ . **3**:  $[\theta]_{343} = 0$ ;  $[\theta]_{283} + 12610$ ;  $[\theta]_{278} = 0$ ;  $[\theta]_{250} - 18250$ ;  $M^+ m/e$  298 (7%); 296 (14); 282 (17); 280,0728 (84, ber. für  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_4$  280,0736); 254 (3,  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$ ); 252 (3,  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_3$ ); 224 (7,  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_2$ ); 223 (8,  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_2$ ); 147 (100,  $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2$ ); 134 (49,  $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2$ ); 44.

$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5 \times \text{H}_2\text{O}$  (316,3) Ber. C 64,54 H 4,46

Gef. C 64,77 H 4,67.

\* Eine Aufarbeitung ohne Ascorbinsäure-Zusatz lieferte ebenfalls **2**.

**1**, 10 mg (0,05%), nach DC, Farbreaktionen und MS identisch mit der aus *Gyroporus cyanescens*<sup>4</sup> isolierten Verbindung.

#### Darstellung und Reaktionen des blauen Anions **4**

2 mg **2** werden in 4 ml Leitungswasser mit einigen Tropfen  $K_3[Fe(CN)_6]$ -Lösung versetzt. Die Lösung färbt sich rasch violett, später dunkelblau. Nach Zugabe von Kochsalz wird das kornblumenblaue Anion **4** mit Essigester ausgeschüttelt. Es ist nach DC<sup>4</sup> und Absorptionsspektrum identisch mit der aus **1** hergestellten Verbindung. Schüttelt man die Lösung von **4** mit N HCl, so läßt sich im entfärbten Essigesterextrakt dünnschichtchromatographisch **5** nachweisen<sup>4, 5</sup>. Entsprechend gelingt der Nachweis von **1**, wenn die Essigesterlösung von **4** mit wäßriger Ascorbinsäure geschüttelt wird.

#### Reduktion von **1**

2 mg **1** werden in wenig Ethanol mit einer Spatelspitze Natriumborarat versetzt. Nach 5 min wird im Vakuum eingedampft und der Rückstand zwischen N HCl und Essigester verteilt. Die organische Phase zeigt im DC<sup>5</sup> nach Ansprühen der getrockneten Platte mit wäßriger  $K_3[Fe(CN)_6]/NaHCO_3$ -Lösung einen dunkelblauen Fleck, der in Farbe und  $R_F$  mit dem von oxidiertem **2** übereinstimmt.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Förderung dieser Arbeit. Herrn J. Stangl, Augsburg, sei für die Hilfe bei der Pilzbeschaffung und Herrn Dr. R. L. Edwards, Bradford, für eine Probe Involutin herzlich gedankt. Herrn Dr. G. Eckhardt, Bonn, danken wir für die Aufnahme der MS-Spektren und Herrn E. Kirmayer, Bonn, für die CD-Spektren.

<sup>1</sup> 28. Mitteilung: M. Klaar u. W. Steglich, Chem. Ber., im Druck.

<sup>2</sup> G. Groß, Z. f. Pilzkunde **39**, 203 [1974].

<sup>3</sup> K. Mader u. A. Mader, Z. f. Pilzkunde **41**, 175 [1975].

<sup>4</sup> H. Besl, A. Bresinsky, W. Steglich u. K. Zipfel, Chem. Ber. **106**, 3223 [1973].

<sup>5</sup> Kieselgel-Fertigplatten, Fa. Merck, Darmstadt (Laufmittel: Benzol/Ameisensäure-ethylester/Ameisensäure = 10:5:3 Vol.). **1**:  $R_F$  = 0,31 (+ wäßriges  $K_3[Fe(CN)_6]/NaHCO_3$ : blau); **5**:  $R_F$  0,27 (+ konz.  $H_2SO_4$ : blaugrün); **2**:  $R_F$  = 0,13 (+ wäßriges  $K_3[Fe(CN)_6]/NaHCO_3$ : dunkelblau, manchmal erst nach Erwärmen der Platte).

<sup>6</sup> R. L. Edwards, G. C. Elsworthy u. N. Kale, J. Chem. Soc., C **1967**, 405.

<sup>7</sup> Bei der Auftrennung der Inhaltsstoffe von *Paxillus involutus* an Sephadex LH-20 mit 70-prozentigem Methanol findet sich in einigen Fraktionen eine Verbindung, die nach  $R_F$ -Wert und Farbreaktionen mit Chamonixin identisch ist. Möglicherweise liegt hier die (–)-Form vor, die aber bisher nicht von **3** abgetrennt werden konnte.

<sup>8</sup> Besonders intensiv färbt sich die Außenhaut. Die wäßrige Lösung färbt sich anfangs violett, später rein blau. Extrakte von *Boletus erythropus* ergeben mit **2** keine Blaufärbung.

<sup>9</sup> A. Bresinsky, H. Besl u. W. Steglich, Phytochemistry **13**, 271 [1974].

<sup>10</sup> Die Oxidation **1** → **4** scheint auch für die Bläuung des Stielendes mancher Rotkappen (*Leccinum*) verantwortlich zu sein (W. Steglich u. A. Thilmann, unveröffentlicht).