

Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, 172¹⁾

Isolierung des Antibioticums *semi-Vioxanthin* aus *Penicillium citreo-viride* und Synthese des Xanthomegnins

Axel Zeeck^{*)}*, Peter Ruß, Hartmut Laatsch, Wolfgang Loeffler^{**)},
Herbert Wehrle, Hans Zähler und Hartwig Holst^{***)}

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen,
Tammannstr. 2, D-3400 Göttingen^{*)},

Institut für Biologie II der Universität Tübingen^{**)} und
Institut für Phytopathologie der Universität Gießen^{***)}

Eingegangen am 29. Mai 1978

Neben Xanthomegnin (**16b**), 3,4-Dehydroxanthomegnin (**29a**), Viomellein (**23**) und Vioxanthin (**3**) wurde aus *Penicillium citreo-viride* unter veränderten Kulturbedingungen *semi-Vioxanthin* (**7**) isoliert. Konstitution **7** folgt aus den Spektren und dem Befund, daß mit Fremy-Salz 3,4,6,9-Tetrahydro-10-hydroxy-7-methoxy-3-methyl-1,6,9-trioxo-1*H*-naphtho[2.3-*c*]pyran (**9a** = *semi-Xanthomegnin*) entsteht. — Das durch Entmethylierung von **9a** zugängliche **9c** ließ sich mit Kaliumpersulfat/Natriumhydroxid zu **16a** dimerisieren, das zu **16b** methyliert wurde. Synthetisches **16b** war mit nativem Xanthomegnin identisch, was die von Höfle und Röser⁹⁾ revidierte Konstitution bestätigt und beweist, daß die Farbstoffe der Xanthomegnin-Reihe biogenetisch einheitlich sind. — Die Stoffwechselprodukte des Stammes hemmen das Wachstum von Bakterien. **16b** und **23** wirken ferner gegen Insekten.

Metabolic Products of Microorganism, 172¹⁾

Isolation of the Antibiotic *semi-Vioxanthin* from *Penicillium citreo-viride* and Synthesis of Xanthomegnin

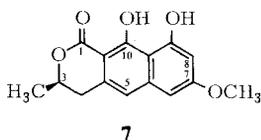
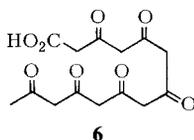
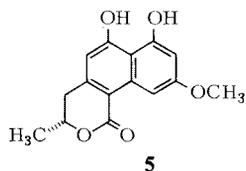
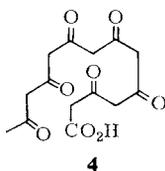
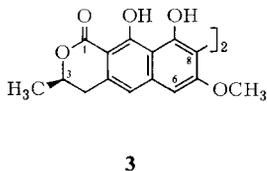
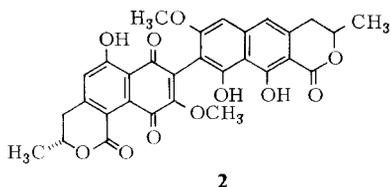
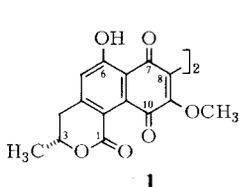
Besides xanthomegnin (**16b**), 3,4-dehydroxanthomegnin (**29a**), viomellein (**23**) and vioxanthin (**3**) from *Penicillium citreo-viride* under different culture conditions *semi-vioxanthin* (**7**) was isolated. Structure **7** has been established by its spectra and the fact that oxidation with Fremy's salt gives 3,4,6,9-tetrahydro-10-hydroxy-7-methoxy-3-methyl-1,6,9-trioxo-1*H*-naphtho[2.3-*c*]pyran (**9a** = *semi-xanthomegnin*). — **9c**, prepared by demethylation of **9a**, was dimerized by potassium peroxydisulfate/sodium hydroxide and methylated, giving **16b**. Synthetic **16b** and authentic xanthomegnin were identical, which verifies the structure revised by Höfle and Röser⁹⁾ and shows, that the dyes of the xanthomegnin series are biogenetically homogenous. — The metabolic products of the strain inhibit the growth of bacteria. **16b** and **26** furthermore have an effect against insects.

Der Pilzstamm Tü 553 (*Penicillium citreo-viride*) produziert ein Gemisch gelber und gelbroter Farbstoffe, die antibiotische Aktivität zeigen und auf Insekten fraßhemmend wirken. Das fettfreie Farbstoff-Rohprodukt, das durch Aceton-Extraktion des Mycels und Petrolether-Fällung des öligen Eindampfrückstandes gewonnen wurde, trennte sich beim wiederholten Chromatographieren an Oxalsäure-Kieselgel in sechs Komponenten

(Tab. 1), von denen sich drei durch ihre Spektren als Xanthomegnin, Viomellein bzw. Vioxanthin identifizieren ließen.

Die Hauptkomponente Xanthomegnin ist als Stoffwechselprodukt verschiedener *Trichophyton*-Stämme²⁻⁴) und von *Microsporium cookii*⁵) schon länger bekannt und wurde kürzlich auch aus *Aspergillus*-Stämmen⁶) isoliert. Die Konstitution **1**⁷) basiert auf chemischen und spektroskopischen Daten, auch eine eingehende Analyse der ¹³C-NMR-Spektren im Zusammenhang mit Biosynthese-Untersuchungen liegt vor⁸).

Viomellein wird von unserem Stamm in wesentlich geringerer Menge produziert (Tab. 1). Es kommt als Begleiter des Xanthomegnins auch in *Aspergillus*-Arten vor⁶), ihm wurde Formel **2** zugeschrieben^{6,8}). Vioxanthin (**3**) ist eine Nebenkomponekte und wurde erstmals aus *Trichophyton violaceum* isoliert⁴).



Unter der Annahme, daß die Dimeren **1**, **2** bzw. **3** bei der Biosynthese aus entsprechenden monomeren Vorstufen (**5** bzw. **7**) gebildet werden, muß der Stamm Bausteine bereitstellen, denen unterschiedlich gefaltete C₁₄-Polyketidketten (**4** bzw. **6**) zugrundeliegen⁸). Die Parallelsynthese linear bzw. angular anellierter Ringsysteme mit gleichem Substituentenmuster wäre eine Besonderheit der untersuchten Produzenten-Stämme. Da Viomellein stärker antibakteriell wirkt als Xanthomegnin, hatten wir die Absicht, das Produktverhältnis Xanthomegnin/Viomellein von 5:1 zugunsten des Viomelleins zu verschieben. Dies liefe auf eine Beeinflussung der Biosynthese von **5** bzw. **7** hinaus und sollte unter der Annahme, daß für unterschiedlich anellierte Ringsysteme verschiedene Enzymsysteme benötigt werden, durch Änderung der Kulturbedingungen möglich sein.

Reihenversuche zeigten, daß sich das Produktverhältnis Xanthomegnin/Viomellein nicht signifikant beeinflussen ließ. In einem Fall produzierte unser Stamm auffallend wenig dimere Stoffwechselprodukte, daneben jedoch einen der denkbaren monomeren

Bausteine, das *semi-Vioxanthin* (7), in großer Menge (Tab. 1). Von der „Hilfssubstanz“ 7 ausgehend konnten wir beweisen, daß die bislang angenommenen Strukturformeln 1 für Xanthomegnin und 2 für Viomellein zu korrigieren sind. Zu diesem Ergebnis kamen vor uns bereits Höfle und Röser⁹⁾ aufgrund einer sorgfältigen Analyse der ¹³C-NMR-Daten.

Tab. 1. R_F -Werte, Anteil (% des fettfreien Rohproduktes) und Ausbeute (mg pro Liter Kulturlösung) der Farbstoffe aus *Penicillium citreo-viride* unter verschiedenen Kulturbedingungen

Substanz	R_F ^{a)}	Medium 1		Medium 2	
		Anteil (%)	Ausb. (mg/l)	Anteil (%)	Ausb. (mg/l)
<i>semi-Vioxanthin</i> (7)	0.61	—		40	120
Vioxanthin (3)	0.54	1	2.5	<1	
A-2	0.46	<1			
Viomellein (23)	0.40	8	20	1	3
B-2	0.35	<1			
C-1 = 3,4-Dehydro-xanthomegnin (29a)	0.31	<1			
Xanthomegnin (16b)	0.27	45	115	5	15

a) Kieselgel-DC-Folien (Merck) mit 0.5 N Oxalsäure imprägniert, Chloroform/5% Aceton als Laufmittel.

semi-Vioxanthin (7)

Der untersuchte *Penicillium*-Stamm Tü 553 wurde zunächst in einem Malzextrakt/Glucose/Hefeextrakt-Nährboden (Medium 1, 200 l Luft/min) submers gezogen, die Zusammensetzung des fettfreien Rohproduktes (250 mg/l) zeigt Tab. 1. Bei Versuchen, das Produktverhältnis Xanthomegnin/Viomellein über die Kulturbedingungen zu verändern, erhielten wir in einem Mannit/Glutaminsäure/Ammoniumsulfat-Nährboden (Medium 2) bei gedrosselter Luftzufuhr (100 l/min) ein Farbstoff-Rohprodukt (300 mg/l), das im Dünnschichtchromatogramm eine grüne Hauptzone bildete, die schneller als Vioxanthin (3) wanderte (Tab. 1). Bei der säulenchromatographischen Trennung an Oxalsäure-Kieselgel im System Chloroform/10% Aceton ließ sich aus der grünen Zone eine Substanz eluieren, die in festem Zustand nur blaß grünlich gefärbt war und aus Chloroform/Ethanol kristallisierte. Wie die Strukturuntersuchungen ergaben, handelt es sich um *semi-Vioxanthin* (7), für das eine intensive Grünfärbung mit Eisen(III)-chlorid charakteristisch ist.

semi-Vioxanthin hat die durch Analysenzahlen und Massenspektrum gesicherte Summenformel $C_{15}H_{14}O_5$ und ist damit nur halb so groß wie die anderen vom Stamm produzierten Komponenten. Es besitzt eine Methoxy- und zwei acetylierbare phenolische Hydroxygruppen, von denen eine mit einer Carbonylgruppe stark cheliiert ist ($\delta = 13.79$, Tab. 2). Die Konstitution 7 ergibt sich im Vergleich zum Vioxanthin (3)⁴⁾ aus folgenden Daten:

1. Die Elektronenspektren in verschiedenen Lösungsmitteln sind im Verlauf gleich, die Hauptmaxima von 7 sind bei etwa halber Extinktion um 8–12 nm hypsochrom verschoben (Tab. 3).

Tab. 2. ¹H-NMR-Daten (δ -Werte bezogen auf TMS, CDCl₃) von *semi-Vioxanthin* (7) und seinen Derivaten **8a–d**; *semi-Xanthomegnin* (9a) und seinen Derivaten **9c**, **12b**, **17a** und **17c**; *Vioxanthin* (3), *Xanthomegnin* (16b), 3,4-Dehydroxanthomegnin (29a), seinem Diacetat **29b** und *Viomellein* (23)

Verbin- dung	3-CH ₂ d, J = 6,5 Hz	3-H mc	4-H ₂ mc ^{b)}	5-H s	6-H 8-H s s	7-OCH ₃ s	9-OH s	10-OH s	OR ^{a)} s
7	1.53	4.72	2.93	6.83	6.49/6.53 ^{c)}	3.85	9.43	13.79	—
8a	1.43	4.51	2.83	7.31	6.81/6.89 ^{c)}	3.83	—	—	2.38/2.46
8b	1.50	4.61	2.95	7.19	6.55/6.59 ^{c)}	3.86	9.86	—	4.11
8c	1.46	4.52	2.91	7.23	6.79/6.90 ^{c)}	3.86	—	—	2.36/3.98
8d	1.53	4.72	2.97	6.92	6.76/6.88 ^{c)}	3.89	—	12.94	2.37
9a	1.52	4.66	2.99	7.45	— 6.14	3.91	—	13.28	—
9c	1.55	4.66	3.02	7.53	— 6.38	—	—	13.43	—
12b	1.51	4.70	3.00	7.37	— 6.85	3.97	—	13.04	5.86/2.36
17a	1.55	4.74	3.00	7.26	— 6.66	3.96	9.43	13.91	3.84
17c	1.48	4.70	2.97	7.26	— 6.63	3.94	—	13.22	5.55/3.98
3^{d)}	1.55	4.75	3.00	6.95	6.71 —	3.83	9.73	13.87	—
16b^{d)}	1.54	4.66	3.03	7.50	— —	4.15	—	13.15/13.13	—
29a^{e)}	2.33 ^{f)}	—	6.36 ^{g)}	7.52	— —	4.17	—	13.66	—
29a^{h)}	1.55	4.67	3.03	7.50	— —	4.17	—	13.15/13.13	—
29b^{e)}	2.30 ^{f)}	—	6.38 ^{g)}	7.34	— —	4.07	—	—	2.39
29b^{h)}	1.53	4.60	3.06	7.93	— —	4.07	—	—	2.45
23ⁱ⁾	1.54	4.72	3.01	6.97	6.66 —	3.85	9.81	13.83	—
23^{h)}	1.54	4.72	3.01	7.51	— —	3.92	—	13.39	—

a) R = H, Me oder Ac. — b) AB-Teil eines ABX-Systems, $\delta_A - \delta_B < 0.1$ Hz, Signalanalyse bleibt offen. — c) AB-Signal: J = 2.0 Hz. — d) Signale für beide Molekühlälften. — e) Dehydro-Molekühlälften. — f) 3H-Singulett. — g) 1H-Singulett. — h) 9a-analoge Molekühlälften. — i) 7-analoge Molekühlälften.

Tab. 3. Elektronenspektren von *semi*-Vioxanthin (**7**), Vioxanthin (**3**), *semi*-Xanthomegnin (**9a**), Xanthomegnin (**16b**) und Viomellein (**23**) in verschiedenen Lösungsmitteln

Verbindung	Lösungsmittel ^{a)}	λ_{\max} ($\epsilon \cdot 10^{-2}$) in nm ^{b)}		
7	A	371 (101)	308 (36)	260 (479)
	B	376 (101), 361 (102), 342 sh, 308 (39), 297 sh, 262 (551)		
	C	376 (122)	330 (40)	261 (408)
3	A	379 (175)	310 sh	267 (612)
	B	385 (157), 368 (137), 350 sh, 310 sh		
	C	388 (227), 372 sh	332 (60)	267 (491)
9a	A	412 (47)		287 (86) 226 (296)
	D	415 (50)		287 (107) 227 (302)
	C	540 (62)	353 (13), 287 (127)	228 (303)
16b	A	395 (105)		275 (249)
	D	393 (108)		288 (177) 227 (537)
	C	540 (99), 392 (60)		280 (253)
23	A	383 (184), 370 sh		293 sh, 263 (471)
	D	410 sh, 372 (154), 355 (141)		293 sh, 261 (629) 219 (389)
	C	532 (81), 383 (158), 370 sh	330 (65), 295 sh, 264 (432)	

^{a)} A: Methanol, B: Cyclohexan/5% Dioxan, C: 0.1 N methanol. NaOH, D: Dioxan.

^{b)} sh = Schulter.

2. Die IR-Spektren beider Verbindungen zeigen bei 1640 cm^{-1} die Lacton-CO-Bande, die im *semi*-Vioxanthin-diacetat (**8a**) auf 1715 cm^{-1} verschoben ist, analog wie im Vioxanthin-tetraacetat ⁴⁾.

3. Die ¹H-NMR-Spektren beider Verbindungen sind sehr ähnlich (Tab. 2). Im Bereich für aromatische H-Atome zeigt **3** zwei Singulets ($\delta = 6.71$ und 6.95), während **7** ein Singulett ($\delta = 6.83$) und ein AB-Signal ($\delta = 6.49/6.53$ mit $J = 2.0$ Hz) für *meta*-ständige H-Atome liefert. Damit ist in **7** eine Kernstelle am Naphthalingerüst mehr frei als in den Molekülhälften von **3**, die über C-8 verknüpft sind. Im dimeren Naturstoff sind die ¹H-NMR-Signale jeweils geringfügig paramagnetisch verschoben, in sich jedoch scharf, weil **3** symmetrisch gebaut und optisch einheitlich ist.

4. Die ¹³C-NMR-Signale von **7** (breitband- und teilentkoppelt) entsprechen denen der nicht-chinoiden Molekülhälfte des Viomelleins (Tab. 4)⁸⁾.

Die *peri*-Stellung der phenolischen Hydroxygruppen in **7** folgt u. a. aus ihrer chemischen Verschiebung ($\delta = 9.43/13.79$) und der Art, wie sich die Signale beeinflussen lassen. Im *semi*-Vioxanthin-methylether (**8b**), der aus **7** mit Diazomethan leicht zugänglich ist, verändert die weniger stark chelierte Hydroxygruppe ihre Lage auf $\delta = 9.86$. Dagegen ist im Monoacetat **8d**, das von **8b** ausgehend über **8c** und dessen vorsichtige Entmethylierung mit Aluminium(III)-bromid in Chloroform entsteht, die stark chelierte Hydroxygruppe um 0.85 ppm diamagnetisch auf $\delta = 12.94$ verschoben. Die Acetoxygruppe in **8d** beeinflusst außerdem nur die beiden *meta*-ständigen Aromat-H ($\delta = 6.76/6.88$ gegenüber $6.49/6.53$ in **7**), damit grenzt der zugehörige Aromatring, der auch die Methoxygruppe trägt, nicht an den Lactonring.

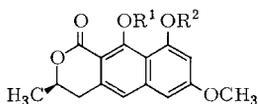
Die entscheidende Frage nach der Anellierung der Ringe (linear wie in **7** oder angular) ließ sich über das gelbrote Chinon $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$ klären, das bei der Fremy-Salz-Oxidation ¹⁰⁾

Tab. 4. ^{13}C -NMR-Daten (δ -Werte bezogen auf TMS) von *semi*-Vioxanthin (**7**) und *semi*-Xanthomegnin (**9a**) im Vergleich mit Xanthomegnin (**16b**)⁵⁾ und Viomellein (**23**)⁸⁾

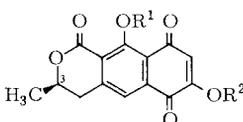
	7 [D ₆]DMSO	23 ^{a)} CDCl ₃	9a CDCl ₃	16b CDCl ₃	23 ^{b)} CDCl ₃
C-1	170.5	171.2	161.8	162.2	162.4
C-3	76.0 d	76.5 d	74.2 d	74.4 d	74.1 d
C-4	33.8 t	34.6 t	36.1 t	36.1 t	36.3 t
C-4a	134.0	134.0	148.1	148.1	147.9
C-5	115.4 d	116.0 d	116.7 d	116.8 d	116.4 d
C-5a	140.3	140.5	133.9	134.7	134.5
C-6	100.9 d	97.8 d	178.7	179.8	180.1
C-7	161.9	160.1	160.1	157.9	158.2
C-8	99.1 d	105.1	110.3 d	123.0	123.6
C-9	161.7	161.3	188.7	186.0	188.3
C-9a	99.4	99.9	114.4	114.8	114.8
C-10	157.6	155.3	162.6	162.7	162.8
C-10a	107.9	107.9	117.8	117.5	117.6
3-CH ₃	20.3 q	20.7	20.6 q	20.6 q	20.7 q
7-OCH ₃	55.3 q	55.9 q	56.8 q	61.4 q	60.3 q

a) 7-analoge Molekülhälfte. — b) 9a-analoge Molekülhälfte.

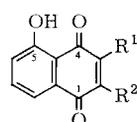
von *semi*-Vioxanthin in 75proz. Ausbeute entsteht. Es zeigt ein dem 5-Hydroxy-2-methoxy-1,4-naphthochinon (**10a**) ähnliches Elektronenspektrum und enthält eine acetylierbare, phenolische Hydroxygruppe, die stark cheliert ist ($\delta = 13.28$, vgl. Tab. 2). Das Chinon besitzt die Konstitution **9a**, was sich wie folgt belegen läßt.



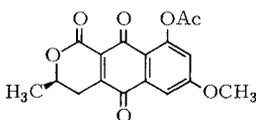
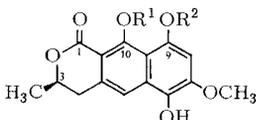
8	R ¹	R ²
a	Ac	Ac
b	Me	H
c	Me	Ac
d	H	Ac



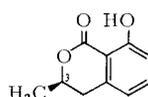
9	R ¹	R ²
a	H	Me
b	Ac	Me
c	H	H



10	R ¹	R ²
a	H	OMe
b	H	OH
c	OH	H

**11**

12	R ¹	R ²
a	Ac	H
b	H	Ac

**13**

Da die IR-Bande der Lacton-Carbonylgruppe bei **9a** und seinem Monoacetat **9b** unverändert liegt (1730 cm^{-1}), steht die Hydroxygruppe zu einer der beiden Chinon-Carbonylgruppen (IR-Banden um 1680 und 1618 cm^{-1}) in *peri*-Stellung und bildet die Wasserstoffbrücke zu diesem aus. Aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **9a** (Tab. 2) folgt, daß der die Methoxygruppe tragende Aromatring in **7** zum Chinonring wurde, denn eines der *meta*-ständigen H-Atome von **7** fehlt. Sichtbar sind im entsprechenden Bereich nur noch zwei 1H-Singulets, von denen das bei $\delta = 6.14$ im Bereich für Chinon-H liegt, dem eine Methoxygruppe benachbart steht. **10a** zeigt das Signal für 3-H bei $\delta = 6.09^{11}$. Das zweite Singulett ($\delta = 7.45$) ist gegenüber dem entsprechenden Signal für **7** um 0.62 ppm paramagnetisch verschoben, was auf die *peri*-Stellung dieses Aromat-H zu einer der neugebildeten Chinon-Carbonylgruppen hindeutet. Aus diesen Befunden folgt die lineare Anellierung für **9a** und ebenso für *semi*-Vioxanthin (**7**) und seine Derivate **8a–8d**.

9a läßt sich mit Aluminium(III)-chlorid in Chloroform leicht entmethylieren. Das Reaktionsprodukt **9c**, eine vinyloge Säure, gibt sich durch typische langwellige UV-Banden in alkalischem Methanol als Derivat des 2,5-Dihydroxy-1,4-naphthochinons (**10b**) zu erkennen¹². Dafür spricht auch, daß sich die Entmethylierung auf das $^1\text{H-NMR}$ -Signal der chelierten Hydroxygruppe wenig auswirkt (paramagnetische Verschiebung um 0.15 ppm), während im Fall eines **10c**-Derivates eine diamagnetische Verschiebung von 0.6 ppm zu erwarten wäre¹¹.

Für das Reaktionsverhalten von **7** ist bemerkenswert, daß Diazomethan bevorzugt die stark chelierte Hydroxygruppe methyliert (**7** \rightarrow **8b**) und daß Fremy-Salz sowie andere Oxidationsmittel (z. B. Thallium(III)-salze¹³) nur den äußeren Ring angreifen (**7** \rightarrow **9a**). Versuche, von **8d** ausgehend **11** zu erhalten, schlugen bislang fehl. Bei der Reduktion von **9b** mit Natriumdithionit wurde das Hydrochinon **12a** erwartet. Das IR-Spektrum (CO-Lacton bei 1650 cm^{-1}) und das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in CDCl_3 ($\delta = 13.04$ und 5.86 für zwei phenolische Hydroxygruppen) zeigen jedoch an, daß eine der Hydroxygruppen mit der Lacton-Carbonylgruppe cheliert ist und somit **12b** vorliegt. **12b** entsteht durch Acylwanderung¹⁴ aus **12a** und ist wegen der Chelierung von 10-OH thermodynamisch begünstigt.

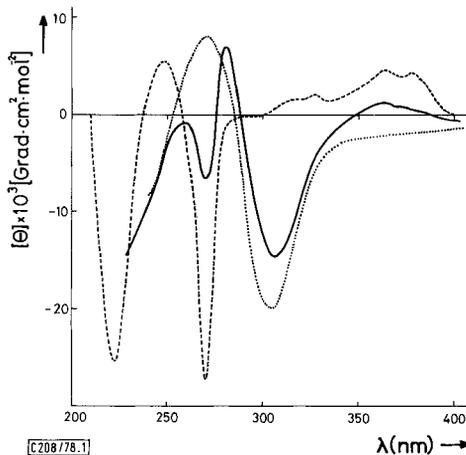


Abb. 1. CD-Spektren (Dioxan) von *semi*-Vioxanthin (**7**) [---], *semi*-Xanthomegnin (**9a**) [.....] und Viomellein (**23**) [—]

Die CD-Kurve von *semi*-Vioxanthin (**7**) zeigt negative Cotton-Effekte bei 270 und 222 nm, positive im langwelligen Bereich und bei 247 nm (Abb. 1). Der Übergang bei 270 nm ($n \rightarrow \pi^*$ für CO-Lacton am Naphthalingerüst) entspricht dem des (*R*)-Melleins (**13**) bei 257 nm¹⁵). Das negative Vorzeichen dokumentiert *R*-Konfiguration für C-3 in **7**. Im Chinon **9a** ist der entsprechende Übergang als Folge des veränderten Chromophors in der Umgebung der Lacton-Carbonylgruppe auf 305 nm verschoben (Abb. 1).

Synthese von Xanthomegnin (**16b**)

Vom *semi*-Vioxanthin (**7**) ausgehend planten wir die Dimerisierung zum Vioxanthin (**3**, 8,8'-Verknüpfung) bzw. symmetrischen oder unsymmetrischen *iso*-Vioxanthin (**14**, 6,6'-Verknüpfung; **15**, 6,8'-Verknüpfung) durch Phenol-Oxidation¹⁶). Ein Angriff an C-5 erschien nach den Erfahrungen bei der Fremy-Salz-Oxidation unwahrscheinlich und ließe sich durch Schützen der 10-Hydroxygruppe vermeiden. In Versuchen mit Kupfer(II)-acetat/Methanol, Silber(I)-oxid/Chloroform und Cer(IV)-ammoniumnitrat/wäbr. Dioxan¹⁷) blieb *semi*-Vioxanthin (**7**) unverändert, mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon/Chloroform, Kupfer(II)-acetat/Weinsäure/Alkalihydroxid in Methanol/Wasser, Kupfer(II)-nitrat/1-Phenylethylamin¹⁸), Hexacyanoferrat(III)/wäbr. Alkalihydroxid und Eisen(III)-chlorid in verschiedenen Lösungsmitteln wurden keine Produkte erhalten, deren Isolierung lohnend war.

Nach den Erfolgen bei der Synthese dimerer 5-Hydroxy-1,4-naphthochinone und ihrer 2- bzw. 7-Methylderivate¹⁹⁻²¹) gingen wir in weiteren Versuchen vom Chinon **9a** aus, dessen Hydrochinon-monoether **17a** sich an C-8 oxidativ kuppeln lassen sollte. Wir erwarteten **16b**. Wie sich herausstellte, behindert jedoch die Methoxygruppe an C-7 diese Reaktion.

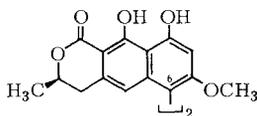
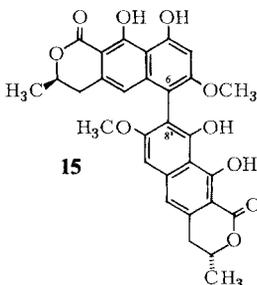
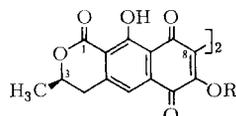
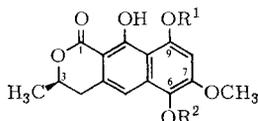
Während 1,4,5-Trihydroxynaphthalin (**18a**) unter sauren Bedingungen überwiegend an 1-OH methyliert wird¹⁹), reagiert das Hydrochinon **17b** analog wie 1,4-Dihydroxy-2-methoxynaphthalin (**18c**)²²) mit Methanol/Chlorwasserstoff ausschließlich an der Hydroxygruppe in *m*-Position zur Methoxygruppe. Es entsteht der moosgrüne Ether **17c**, dessen Oxidation mit Silber(I)-oxid oder alkalischer Hexacyanoferrat(III)-Lösung **9a** als einziges Produkt gab. Das gesuchte **17a** erhielten wir schließlich bei der Methylierung von **17b** mit Dimethylsulfat/wäbr. Natriumhydroxid frei von **17c**.

17a kristallisiert aus Methanol in blaßgelben Nadeln und hat an Kieselgel einen größeren R_f -Wert als der isomere Ether **17c**. Beide Ether unterscheiden sich charakteristisch in den ¹H-NMR-Signalen für die phenolischen Hydroxygruppen (Tab. 2). Während **17a** ($\delta = 13.91/9.43$) anzeigt, daß beide Hydroxygruppen – wenn auch unterschiedlich stark – cheliiert sind und denen des *semi*-Vioxanthins (**7**) entsprechen, gibt sich bei **17c** ($\delta = 13.22/5.55$) wie bei **12b** ein normales Phenol-OH zu erkennen.

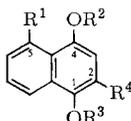
Verbindungen vom Typ **18b** lassen sich leicht dimerisieren¹⁹⁻²¹), **17a** reagierte jedoch nur langsam mit Silber(I)-oxid zu einem Chinon bislang unbekannter Struktur, ein Dimeres mit der erwarteten Summenformel C₃₀H₂₂O₁₂ entstand mit weniger als 2% Ausbeute. Das zum Vergleich synthetisierte 4-Hydroxy-1,2-dimethoxynaphthalin (**18d**) reagierte mit Silber(I)-oxid ebenfalls atypisch: Als Hauptprodukt isolierten wir 2-Methoxy-1,4-naphthochinon, während **19** nur zu 4% entstand.

Die Dimerisierung von **9a** gelang schließlich glatt über das Hydroxychinon **9c**, das sich mit Kaliumpersulfat in wäßrigem Alkalihydroxid²³) zu 70% in kristallisiertes **16a** überführen ließ. **16a** ist tiefer gelbrot als **9c** und unterscheidet sich von diesem deutlich

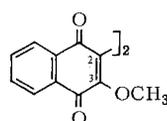
in den spektroskopischen Daten. Die Elektronenspektren sind im Kurvenverlauf ähnlich und mit dem für 2,5-Dihydroxy-1,4-naphthochinon (**10b**) vergleichbar^{1,2)}, die Hauptmaxima von **16a** haben jedoch etwa die doppelten ϵ -Werte verglichen mit **9c**. Das ¹H-NMR-Spektrum von **16a** in [D₆]Aceton zeigt im Bereich der Aromat/Olefin-Protonen nur ein Singulett ($\delta = 7.60$), das von den *peri*-ständigen 5-H/5'-H stammt. Es fehlt das Chinon-H von **9c** ($\delta = 6.38$). Die Signale sind bei gegebener Aufspaltung scharf, was nur bei einem symmetrischen Dimeren zu erwarten ist.

**14****15****16a**: R = H
b: R = Me

17	R ¹	R ²
a	H	Me
b	H	H
c	Me	H



18	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
a	OH	H	H	H
b	H	H	Me	H
c	H	H	H	OMe
d	H	H	Me	OMe

**19**

Mit Diazomethan in Aceton reagierte **16a** quantitativ zum Dimethylether **16b**, der aus Chloroform/Tetrachlorkohlenstoff kristallisiert, aufgrund von Analysenzahlen und hochaufgelöstem Massenspektrum die Summenformel C₃₀H₂₂O₁₂ besitzt und ein Methoxylsingulett für 6H bei $\delta = 4.15$ gibt. Der R_F-Wert von **16b** entsprach dem von authentischem Xanthomegnin, zu unserer Überraschung stimmten jedoch auch die ¹H-NMR-Spektren in CDCl₃ bis auf einen kleinen Unterschied in der relativen Intensität der OH-Signale ($\delta = 13.15/13.13$) überein. Dieses OH-Doppelsignal ist ein Hinweis auf Diastereomere, die wegen der behinderten Rotation um die 8,8'-Bindung in **16b** stabil sind⁶⁾. Beim Vergleich der IR-Spektren (Abb. 2) zeigten synthetisches **16b** und Xanthomegnin für einzelne Banden deutliche Intensitätsunterschiede. Die IR-Spektren beider Präparate stimmten jedoch in allen Details überein, nachdem natives Xanthomegnin zwei Stunden in Toluol erhitzt worden war. Aufgrund unserer Befunde muß die alte Formel **1** für Xanthomegnin in **16b** korrigiert werden.

Die spektroskopischen Daten des Chinons **9a**, das aus *semi*-Vioxanthin (**7**) hervorgeht und somit das *semi*-Xanthomegnin ist, stehen in ähnlicher Beziehung wie die Daten von **7** und Vioxanthin (**3**) (Tab. 2–4). In Umkehrung der Synthese haben wir natives Xanthomegnin mit Aluminium(III)-chlorid in Chloroform entmethyliert. Aus dem Reaktions-

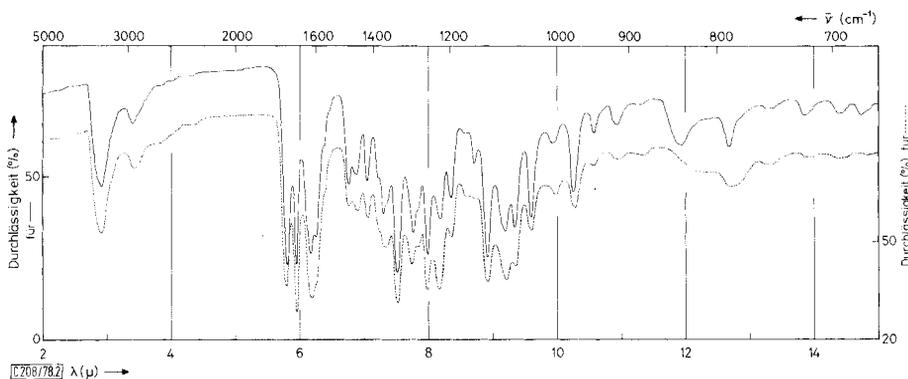
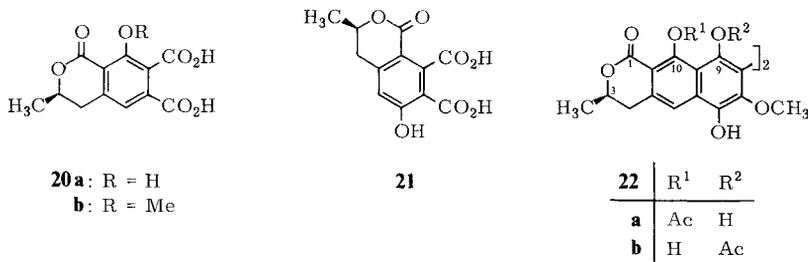


Abb. 2. IR-Spektren (KBr) von nativem Xanthomegnin (**16b**) [—] und synthetischem **16b** [----]

gemisch ließ sich unverändertes Ausgangsprodukt, 7-Desmethylxanthomegnin und zu 60% 7,7'-Didesmethylxanthomegnin (**16a**) chromatographisch abtrennen, das in R_F -Wert und IR-Spektrum mit dem aus **9c** gewonnenen **16a** übereinstimmte und damit auch auf dieser Stufe den Strukturbeweis bestätigte.

Ausgehend von **16b** müssen ältere, zum Strukturbeweis herangezogene Daten korrigiert werden.

1. Die beim oxidativen Abbau des Xanthomegnins entstehende Abbau-dicarbonsäure hat die Konstitution **20a**, die früher angenommene Formel **21** wurde nicht eindeutig belegt^{6, 7a)}. 2. Die im ^{13}C -NMR-Spektrum des Xanthomegnins beobachtete 5-Hz-Kopplung des C-Atoms der nicht-chelierten Chinon-Carbonylgruppe ($\delta = 179.8$)⁸⁾ geht vom einzigen kernständigen Aromat-H aus und ist in **16b** eine übliche $^3J_{\text{C-H}}$ -Kopplung^{9, 24)}. 3. Die beim Tetrahydroxanthomegnin beobachtete Verschiebung der IR-Bande für die Lacton-Carbonylgruppe von 1730 auf 1660 cm^{-1} wird verständlich, wenn nicht **22a**, sondern **22b** gilt. Diese Deutung steht mit dem Befund beim Übergang **9b** \rightarrow **12b** im Einklang.



Weitere Farbstoffe der Xanthomegnin-Reihe

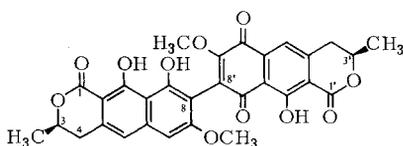
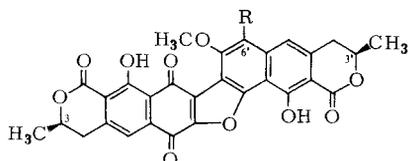
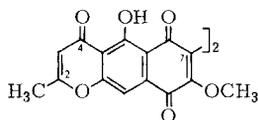
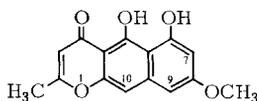
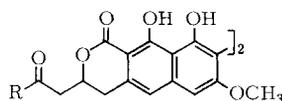
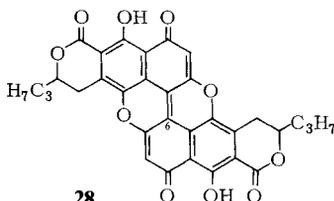
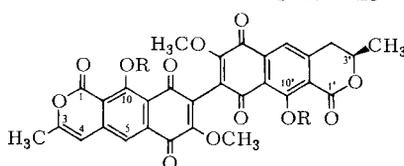
Vom Xanthomegnin (**16b**) ausgehend läßt sich die Konstitution der anderen Farbstoffe, die begleitend auftreten⁶⁾, korrigieren⁹⁾. Zu nennen sind Viomellein (**2** korrigiert in **23**), Rubrosulfon (**24a**) und Viopurpurin (**24b**), das mit Trichopurpurin²⁵⁾ identisch ist. Diese Verbindungen sind über die Abbausäuren **20a** bzw. **20b** (korrigierte Struktur) mit **16b** und untereinander verbunden⁶⁾. Ferner läßt sich **23** in Aceton/Kaliumcarbonat in **24a** überführen⁶⁾ und durch Fremy-Salz-Oxidation in **16b**.

Alle Farbstoffe der Xanthomegnin-Reihe haben ebenso wie Floccosin²⁶⁾ *semi*-Vioxanthin (**7**) oder ein 7-Derivat als Vorläufer und sind von daher biogenetisch einheitlich.

Ähnliches findet man bei den Fusarium-Stoffwechselprodukten Aurofusarin (**25**) und Fuscofusarin, die sich von Rubrofusarin (**26**) ableiten²⁷⁾. Analog der Synthese $7 \rightarrow 16b$ lassen sich **26**- in **25**-Derivate überführen²⁸⁾.

Ausgehend von **26**-Derivaten realisiert die Natur nicht nur die 7,7'-Verknüpfung wie in **25**, sondern auch die 9,9'- und 7,10'-Verknüpfung (Ustilaginoidine, Cephalochromine, Aurosporon A)^{27, 29)}. Bei 7-Derivaten überwiegt die 8,8'-Verknüpfung, wie sie außer in der Xanthomegnin-Reihe auch beim Viriditoxin³⁰⁾ (**27a**, identisch mit SC-28762³¹⁾) und SC-30532 (**27b**)³²⁾ auftritt. Lediglich Xylindein (**28**)³³⁾ ist – abgesehen von den Etherbrücken – ein Beispiel für die 6,6'-Verknüpfung.

Bei der Trennung des Farbstoff-Rohproduktes aus Medium 1 isolierten wir in geringer Menge die Begleitfarbstoffe A-2, B-2 und C-1 (Tab. 1). Während sich die beiden ersten Komponenten mit den vorliegenden Daten noch nicht zuordnen lassen, wurde C-1 als 3,4-Dehydroxanthomegnin (**29a**) identifiziert, die massenspektrometrisch gesicherte

**23****24a**: R = H**b**: R = OH**25****26****27a**: R = OMe**b**: R = Me**28****29a**: R = H**b**: R = Ac

Summenformel $C_{30}H_{20}O_{12}$ besitzt zwei H-Atome weniger als die von **16b**. Im Carbonylbereich des IR-Spektrums unterscheidet sich **29a** an zwei Stellen von **16b**. Die Bande um 1730 cm^{-1} ist stark verbreitert und bei 1648 cm^{-1} tritt eine Absorption neu hervor. Insgesamt sind alle Banden bei **29a** schlechter aufgelöst. Aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Tab. 2) wird deutlich, daß nur eine Molekülhälfte **16b** bzw. **9a** entspricht. Daneben gibt es eine zweite Gruppe von Signalen, zu denen ein Olefin-H ($\delta = 6.36$) und eine olefinische Methylgruppe ($\delta = 2.33$) gehören, sie zeigen die Dehydrierung in einem der Lactonringe an. Als Folge ist das Signal der 10-Hydroxygruppe ($\delta = 13.66$) stark verschoben, während 5-H ($\delta = 7.52$) nur wenig und das Methoxysignal ($\delta = 4.17$ für 7-OCH₃) nicht von den Signalen der anderen Molekülhälfte abweicht. Im leicht zugänglichen Diacetat **29b** unterscheiden sich die Aromat-H-Signale der beiden Molekülhälften wesentlich deutlicher ($\delta = 7.34$ für 5-H und $\delta = 7.93$ für 5'-H).

Die Farbstoffe der Xanthomegnin-Reihe haben an C-3 (bzw. C-3') wie *semi*-Vioxanthin (**7**) *R*-Konfiguration. Dies ergibt sich wie folgt: 1. Xanthomegnin (**16b**) wird aus optisch einheitlichem **7** synthetisiert. Die CD-Spektren von nativem und synthetischem Präparat zeigen dem *semi*-Xanthomegnin (**9a**) vergleichbare Cotton-Effekte. 2. Das CD-Spektrum des Viomelleins (**23**, Abb. 1) setzt sich aus den Einzelspektren für **7** bzw. **9a** zusammen, die Chiralitätszentren der Molekülhälften sind somit gleich konfiguriert. 3. Rubrosulfon (**24a**) geht aus Viomellein (**23**) hervor⁶⁾, beim Viopurpurin (**24b**) steht die stereochemische Verknüpfung für C-3' noch aus. C-3 in **24a** und **24b** ist über die Abbausäuren **20a** bzw. **20b** mit **16b** korreliert⁶⁾. 4. Vioxanthin (**3**) stimmt im langwelligen Bereich des CD-Spektrums (330–400 nm) mit **7** überein.

Eine axiale Chiralität ließ sich bislang nur bei **3** eindeutig nachweisen^{7b)}. Sein CD-Spektrum weist zwei ausgeprägte Cotton-Effekte mit entgegengesetztem Vorzeichen bei 261 nm ($[\Theta]^{25} = -207000$) und 279 nm (+172000) auf. Der Nulldurchgang bei 271 nm stimmt mit der Lage des negativen Cotton-Effektes von **7** (270 nm; –27000) überein. Aufgrund des Vorzeichenwechsels der Cotton-Effekte in Abhängigkeit von der Wellenlänge vermuten wir, daß **3** *S*-Konfiguration besitzt³⁴⁾. Da seine ¹H-NMR-Signale scharf sind, sollte es optisch einheitlich sein.

Beim Xanthomegnin (**16b**) und Viomellein (**23**) fehlen entsprechend ausgeprägte Maxima im CD-Spektrum, d. h. die Präparate sind Diastereomeren-Gemische. Im Einklang damit ist das ¹H-NMR-Signal der chelierten phenolischen Hydroxygruppe deutlich aufgespalten⁶⁾. Sofern die Mikroorganismen optisch einheitliches **16b** bzw. **23** produzieren, müßte bei der Isolierung der Farbstoffe Racemisierung eingetreten sein. Je nach Arbeitsbedingungen sollte der Anteil der Diastereomeren in den Präparaten schwanken. Hinweise dafür ergeben sich daraus, daß synthetisches **16b** im CD-Spektrum schwächere Cotton-Effekte bei 310 und 270 nm zeigt als natives **16b** und daß die IR-Spektren der Präparate erst übereinstimmen, wenn natives **16b** in Toluol gekocht wurde. Bemerkenswert ist ferner, daß auch nach der Äquilibration in Toluol die Signale der chelierten Hydroxygruppen unterschiedliche Intensität aufweisen, sich die **16b**-Diastereomeren somit offenbar in ihrem Energieinhalt unterscheiden.

Das mit **16b** vergleichbare Aurofusarin (**25**)²⁷⁾ ist optisch inaktiv, die Ustilaginoidine dagegen sind aktiv³⁵⁾, ebenso SC-30532 (**27b**)³²⁾. Letzteres ist aufgrund seiner Cotton-Effekte im CD-Spektrum bezüglich der axialen Chiralität jedoch enantiomer zu **3**. Insgesamt fällt auf, daß die Behinderung der Rotation bei Bichinon-Derivaten deutlich schwächer ist als bei vergleichbaren Biaryl-Derivaten.

Zur biologischen Aktivität

Die Verbindungen der Xanthomegnin-Reihe hemmen das Wachstum von gram-positiven und gram-negativen Bakterien (Tabb. 5 und 6). Es fällt im Verdünnungsreihen-Hemmtest die geringe Empfindlichkeit des anaeroben Keims auf und die stark verminderte Wirksamkeit der Monomeren **7** und **9a** gegen *E. coli* und *S. aureus*. Vioxanthin (**3**) erreicht von den untersuchten Verbindungen die kleinsten MIC-Werte. Im Plattendiffusionstest werden die Ergebnisse stark vom Diffusionsverhalten der Substanzen bestimmt, dadurch ergeben sich in der Wirkhöhe andere Abstufungen. Bei Verwendung von chemisch definierten statt komplexen Nährböden für die Testkeime ändern sich die Werte nicht. Dies steht mit dem Befund in Einklang, daß Xanthomegnin (**16b**) die oxidative Phosphorylierung in Rattenleber-Mitochondrien beeinflusst³⁶⁾. Synthetisches und natives **16b** sind im Plattendiffusionstest gleich aktiv.

Tab. 5. Antimikrobielle Wirkung im Verdünnungsreihen-Hemmtest (minimale Hemmkonzentration = MIC in µg/ml)

	<i>B. subt.</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Clostr. past.</i>	<i>Candida albicans</i>
Vioxanthin (3)	0.1–0.03	0.3–0.1	0.1–0.03	10	> 10
Viomellein (23)	1–0.7	1–0.7	1–0.3	7–5	> 10
semi-Vioxanthin (7)	1–0.7	10–7	> 10	> 10	> 10
semi-Xanthomegnin (9a)	0.3–0.1	3–1	7–3	> 10	> 10

Tab. 6. Hemmhofdurchmesser (mm) im Plattendiffusionstest bei verschiedenen Testkeimen ($c_1 = 1$ mg/ml, $c_2 = 0.1$ mg/ml)

	<i>B. subtilis</i>		<i>E. coli</i>	
	c_1	c_2	c_1	c_2
Vioxanthin (3)	22	18	18	16
Xanthomegnin (16b)	20	17	16	13
Viomellein (23)	24	23	17	16
semi-Vioxanthin (7)	15	13	14	13
semi-Xanthomegnin (9a)	24	17	25	17

Einige der Verbindungen wurden auch an Arthropoden getestet. Bei Spinnmilben (*Tetranychus urticae* KOCH) und Blattläusen (*Aphis fabae* SCOP.) konnte keine Beeinflussung der Lebensdauer und Vermehrung nachgewiesen werden. Xanthomegnin (16b) und Viomellein (23) ließen in Versuchen mit dem Mexikanischen Bohnenkäfer (*Eplilachna varivestis* MULS.) fraßhemmende Wirkung erkennen. Ferner wurde die Entwicklung und Vermehrung dieser Käfer stark gehemmt bzw. vermindert³⁷⁾. semi-Vioxanthin (7) zeigte diese Wirkung nicht mehr.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Förderung unserer Arbeiten.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden in offener Kapillare bestimmt (Berl-Block) und sind nicht korrigiert. – IR-Spektren: Perkin-Elmer, Modell 21 (KBr-Preßlinge, angegeben sind nur CO- und C=C-Valenzschwingungsbanden im Bereich $1800–1550\text{ cm}^{-1}$); UV-Spektren: Zeiss DMR 21; ¹H-NMR-Spektren: Varian HA 100 (Tetramethylsilan als interner Standard); ¹³C-NMR-Spektren: Varian XL 100; Massenspektren: Varian MAT 731 (70 eV, Hochauflösung mit Perfluorokerosin als Vergleichssubstanz); CD-Spektren: Varian Cary 61. – Dünnschichtchromatographie (DC): DC-Alufolien (Kieselgel 60 F 254, Merck), die zuvor in 0.5 N Oxalsäure getaucht, getrocknet und 2 h bei 105°C aktiviert wurden. Absolutwerte (Tab. 1) bestimmte man an 10 × 20-cm-Platten bei einer Laufstrecke des Lösungsmittelsystems von 12 cm. Präparative Schichtchromatographie (PDC): 55 g Kieselgel P/UV₂₅₄ (Macherey Nagel) rührte man in 120 ml Wasser oder 0.5 N Oxalsäure auf, goß mit der blasenfreien Suspension eine 20 × 40-cm-Glasplatte, ließ über Nacht an der Luft trocknen und aktivierte 3 h bei 105°C. Säulenchromatographie (SC): Kieselgel 60 (unter 0.063 mm, Merck); Oxalsäure-Kieselgel (Kieselgel 60 mit Oxalsäure imprägniert, unter 0.07 mm, Macherey Nagel).

Produzentenstamm: Der Pilzstamm Tü 553 wurde aus einer afrikanischen Bodenprobe (Savanne in Guinea) isoliert und als *Penicillium citreo-viride* Biourge³⁸⁾ bestimmt. Der Pilz ließ sich auf

M-2-Agar (1% Malzextrakt, 0,4% Glucose, 0,4% Hefeextrakt, 2% Agar; 14 d bei 27°C) kultivieren. Konidien suspensionen (10^8 Keime pro ml 0,9proz. NaCl-Lösung) wurden bei -22°C aufbewahrt.

Fermentationen: a) Agar-Kulturen dienten zur Beimpfung von 1-l-Schüttelkolben mit je 150 ml Nährlösung (Medium 1: 1% Malzextrakt, 0,4% Glucose, 0,4% Hefeextrakt). Mit 10–15 Schüttelkolben wurden nach 3–4 d 120 l Nährlösung (Medium 1) beimpft, die zusätzlich 150 ml Antischaummittel (Niax-Polyol PG 2025, Union Carbide) enthielten. Unter Rühren und starker Belüftung (200 l/min) setzte starke Mycelbildung ein. Die Farbe wechselte innerhalb von 70 h von Gelbbraun nach Rotviolett. Der pH-Wert der Kultur fiel zunächst stark ab (pH 5, eingestellt auf pH 6,5 mit NaOH) und stieg am letzten Tag bis pH 7,3. Im Plattendiffusionstest gegen *B. subtilis* war am Ende ein Hemmhof von 14–15 mm Durchmesser sichtbar.

b) In einer veränderten Nährlösung (Medium 2: 6% Mannit, 1,5% Glutaminsäure, 0,75% Ammoniumsulfat, 0,9% NaCl, 0,6% K_2HPO_4 , 0,3% $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$, 0,12% $CaCl_2$, 0,006% $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$, 0,003% $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$) wurde der Stamm von 1-l-Schüttelkolben über 20-l-Fermenter im 200-l-Maßstab durch Überimpfen angezogen. Im 200-l-Fermenter (Giovanola Freres, Typ B 200, Umwurfssystem) wurde bei 800 Upm mit 100 l/min belüftet und 70 h bei 27°C (pH 6,6, konstant) kultiviert. Als Antischaummittel diente bei Bedarf Silikonöl (mit 10% Polypropylenglycol).

Aufarbeitung: a) Die mit HCl auf pH 4,5 eingestellte Kultur (Medium 1) versetzte man mit 5 kg Hyflo-Celite und trennte die festen Bestandteile in einer Filterpresse vom Kulturfiltrat, das verworfen wurde. Den rotvioioletten Mycelkuchen extrahierte man mit 90 l Aceton, engte den rotbraunen Extrakt auf ca. 3 l ein und extrahierte das wäßrige Konzentrat erschöpfend mit Chloroform. Die getrocknete organische Phase hinterließ einen dunklen, öligen Verdampfungsrückstand, der beim Übergießen mit 12 l Petrolether fest wurde. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Seesand verrieben und 48 h mit Petrolether im Kreisprozeß entfettet. Die Farbstoffe wurden mit Chloroform reextrahiert und fielen nach Verdampfen des Lösungsmittels als rotbraunes Pulver an. Ausb. 32 g Rohprodukt.

b) Die mit HCl angesäuerte Kultur (Medium 2, pH 4–5) wurde mit einer Filterpresse in Kulturfiltrat und Mycel getrennt. Aus dem Filtrat reicherte man die gefärbten Inhaltsstoffe durch Adsorption an Amberlite XAD-2 (Säule 100 × 20 cm), Waschen mit 240 l Wasser und Elution mit 20 l Aceton an. Das feuchte Mycel wurde viermal mit Aceton (25 l, dann dreimal 10 l) extrahiert, der Extrakt mit dem Säuleneluat (s. o.) vereinigt und i. Vak. eingengt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie unter a). Ausb. 62 g schwarzbraunes, pulvriges Rohprodukt.

Bestimmung der biologischen Aktivität: a) Für den Verdünnungsreihen-Hemmtest ging man von einer Stammlösung der Substanzen in Dimethylsulfoxid aus und prüfte im Bereich 0,03 bis 10 µg/ml. Das Lösungsmittel hemmte in der höchsten Konzentration keinen der Testkeime. – *Escherichia coli* (K-12) und *Bacillus subtilis* (ATCC 6051) wurden in einem Medium nach Davis und Mingioli, verändert nach Thein³⁹⁾, 16 h bei 37°C gezogen. *Staphylococcus aureus* (Z 2070) wuchs in folgendem Nährboden: 1% Oxoid 'Lab-Lemco' Fleischextrakt, 1% Difco Bacto-Peptone, 0,5% NaCl 5, pH 7,2 mit NaOH eingestellt, 16 h bei 37°C. *Clostridium pasteurianum* (Winogradsky-ATCC 6013), Nährlösungen und Testverfahren nach Santo⁴⁰⁾. *Candida albicans* (Stamm Tü 565) wuchs in 0,4% Difco Hefeextrakt, 1% Difco Malzextrakt, 0,4% Glucose (37°C, 16 h).

b) Für den Plattendiffusionstest wurden die Substanzen in Chloroform gelöst und mit dem Lösungsmittel weiter verdünnt. 9-mm-Filter-Plättchen (Schleicher & Schüll) wurden mit der Testlösung gut angefeuchtet, an der Luft getrocknet und auf den Agar der Testplatte aufgelegt. *Bacillus subtilis* und *Escherichia coli* wuchsen auf synthetischem Agar der folgenden Zusammensetzung: 8% Glucose, 0,4% Ammoniumnitrat, 0,5% NaCl, 0,1% $MgSO_4$, 0,2% K_2HPO_4 , 0,02% $CaCl_2$, $MnSO_4$ (10 mg/l), Ferrioxamin (20 mg/l), 2% Agar, pH 7.

Grobtrennung: 20 g Rohprodukt von Medium 1 chromatographierte man an 1 kg Oxalsäure-Kieselgel (Säule 40 × 8.0 cm) im System Chloroform/10% Aceton (mit Oxalsäure gesättigt). Bei einem Durchfluß von 80 ml/h bildeten sich drei Zonen, die nicht scharf getrennt waren und nacheinander eluiert wurden: A) blaßgrüne Vorzone, 300 mg graugrünes Pulver; B) rotbraun, 2 g dunkelrotbraunes Pulver; C) rote bis dunkelrote Hauptzone, 11 g dunkelrotes Pulver. Weitere unterschiedlich gefärbte Zonen am Kopf der Säule wurden nicht eluiert.

Vioxanthin (3): 300 mg Substanz aus Zone A wurden an einer 65 × 2.2-cm-Säule aus Oxalsäure-Kieselgel mit Chloroform/5% Aceton nachgetrennt, dabei bildeten sich zwei Zonen (von unten gezählt): 1. blaßgrün, 2. rotbraun. Das aus Zone 1 eluierte **3** fällt man durch Eintropfen einer konzentrierten Chloroformlösung in n-Pentan und erhielt ein gelbgrünes Pulver, das sich ab 250 °C unter Dunkelfärbung zersetzt. **3** färbt sich mit Eisen(III)-chloridlösung intensiv grün. Ausb. 165 mg. – IR: 1637, 1582 cm⁻¹. – UV: s. Tab. 3. – ¹H-NMR: s. Tab. 2. – CD-Spektrum (Cyclohexan/5% Dioxan): λ_{max} ([Θ]²⁵) = 388 (+28000), 372 (+22000), 334 (+10000), 279 (+172000), 261 (-207000), 231 (-18000), 223 nm (-30000).

C₃₀H₂₆O₁₀ Molmasse Ber. 546.1526 Gef. 546.1526 (MS)

Die aus Zone 2 eluierte rotbraune Substanz (A-2) gibt mit Eisen(III)-chloridlösung eine Farbvertiefung nach Rot. A-2 löst sich mäßig in Chloroform. Ausb. 70 mg. – IR (CO): 1770, 1695 (sh), 1658, 1613 (sh), 1605 (sh) cm⁻¹.

Viomellein (23): 2 g Substanz aus Zone B wurden an Oxalsäure-Kieselgel (Säule 65 × 3.2 cm) mit Chloroform/5% Aceton chromatographiert. Es bildete sich eine rotbraune Vorzone (A-2 enthaltend), eine rotbraune Hauptzone sowie eine lachsrote Nachzone. Das aus der Hauptzone eluierte **23** kristallisierte aus Chloroform/Petrolether (1:1) beim Einengen. Gelbrote Mikrokristalle, die sich ab 250 °C unter Dunkelfärbung zersetzen. Ausb. 1.8 g. **23** färbt sich mit Eisen(III)-chloridlösung rot. Zur Analyse wurde 48 h bei 70 °C i. Hochvak. getrocknet. [α]_D²⁰ = -12.6° (c = 1.0, Chloroform). – IR: 1733, 1675, 1634, 1592 (sh) cm⁻¹. – UV: s. Tab. 3. – ¹H-NMR: s. Tab. 2. – CD-Spektrum (Dioxan, vgl. Abb. 1): λ_{max} ([Θ]²⁵) = 363 (+1300), 306 (-14400), 280 (+7000), 270 (-6600), 260 nm (-1000). – MS: m/e = 562 (M + 2); Ber. 562.1475 Gef. 562.1475 (Hochauflösung).

C₃₀H₂₄O₁₁ (560.5) Ber. C 64.28 H 4.32 2 CH₃O 11.07 Gef. C 63.93 H 4.53 CH₃O 11.00

Die aus der Nachzone eluierte Substanz (B-2) wurde nicht näher untersucht. Ausb. 50 mg. – IR: 1730, 1681, 1639, 1621 (sh) cm⁻¹.

3,4-Dehydroxanthomegnin (29a): 5.5 g Substanz aus Zone C wurden an Oxalsäure-Kieselgel (Säule 65 × 4.2 cm) mit Chloroform/5% Aceton chromatographiert. Es bildete sich eine lachsrote Vorzone (C-1 = **29a**) sowie eine rote Hauptzone (C-2 = **16b**). Das aus der Vorzone eluierte **29a** wurde unter denselben Bedingungen weiter gereinigt und dann aus einer konzentrierten Chloroformlösung mit n-Pentan ausgefällt. Dunkelrotes, amorphes Pulver, ab 150 °C Zers. (Dunkelfärbung). Ausb. 45 mg. **29a** ist in Chloroform mäßig, in Benzol oder Methanol schwer löslich, mit Eisen(III)-chloridlösung färbt es sich tiefrot. – IR: 1733, 1675, 1648, 1610, 1585 (sh) cm⁻¹. – UV (Methanol): λ_{max} (ε) = 434 (sh, 7600), 390 (9100), 276 (sh, 20200), 246 nm (sh, 35100); 0.1 N methanol. NaOH: λ_{max} (ε) = 552 (9500), 365 (5400), 300 (sh), 280 (sh), 253 nm (28100). – ¹H-NMR: s. Tab. 2.

C₃₀H₂₀O₁₂ Molmasse Ber. 572.0955 Gef. 572.0955 (MS)

3,4-Dehydroxanthomegnin-diacetat (29b): 57 mg (0.1 mmol) **29a** acetylierte man in 4 ml Acetanhydrid/1 ml Pyridin 15 h bei Raumtemp., hydrolysierte mit 30 ml Eiswasser und saugte den ausgefallenen braunen Niederschlag ab. Das Reaktionsprodukt wurde an Kieselgel (Säule 20 × 1.5 cm) mit Benzol/Ether/Aceton (10:10:1) chromatographiert. Aus der rasch wandernden gelben Haupt-

zone eluierte man 30 mg (45%) **29b**, das zur Aufnahme der Spektren diente. – IR: 1779, 1739, 1681, 1653, 1605 cm^{-1} . – $^1\text{H-NMR}$: s. Tab. 2.

$\text{C}_{34}\text{H}_{24}\text{O}_{14}$ Molmasse Ber. 656.1166 Gef. 656.1167 (MS)

Xanthomegnin (16b): Das aus der roten Hauptzone von Fraktion C eluierte **16b** (= C-2) kristallisierte aus Chloroform bei Zugabe von Tetrachlorkohlenstoff (bis zur Trübung) in gelbroten Plättchen, die sich ab 264 °C zersetzten (Dunkelfärbung). Ausb. 5 g. Zur Analyse wurde 72 h bei 140 °C i. Hochvak. getrocknet. – IR (vgl. Abb. 2): 1718, 1681, 1618, 1595 cm^{-1} . – UV: s. Tab. 3. – $^1\text{H-NMR}$: s. Tab. 2. – CD-Spektrum (Dioxan): $\lambda_{\text{max}}([\Theta]^{25}) = 310 (-26800), 272 \text{ nm} (+11600)$.

$\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$ (574.5) Ber. C 62.71 H 3.86 O 33.44 2 CH_3O 10.80

Gef. C 62.95 H 3.93 O 32.90 CH_3O 10.67

3,4-Dihydro-9,10-dihydroxy-7-methoxy-3-methyl-1-oxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (7, semi-Vioxanthin): 20 g Rohprodukt von Medium 2 wurde an 1 kg Oxalsäure-Kieselgel (Säule 40 × 8.0 cm) mit Chloroform/10% Aceton chromatographiert. Das aus der rasch wandernden grünen Hauptzone eluierte **7** kristallisierte aus Chloroform/Ethanol (1:1) beim Einengen in blaßgrünen, faserigen Nadeln vom Schmp. 185 °C. Ausb. 8 g. **7** ist in Benzol, Chloroform oder Tetrahydrofuran gut, in Aceton oder Ethanol mäßig löslich, in Wasser unlöslich. Im DC (Kieselgel) fluoresziert es bei 366 nm hellgrün und färbt sich mit Eisen(III)-chloridlösung intensiv grün. Zur Analyse wurde 48 h bei 70 °C i. Hochvak. getrocknet. – IR: 1644, 1587 cm^{-1} . – UV: s. Tab. 3. – $^1\text{H-NMR}$: s. Tab. 2. – $^{13}\text{C-NMR}$: s. Tab. 4. – CD-Spektrum (Cyclohexan/5% Dioxan): $\lambda_{\text{max}}([\Theta]^{25}) = 378 (+4300), 363 (+4500), 327 (+2000), 270 (-27000), 248 (+5500), 222 \text{ nm} (-26000)$. – MS (70 eV): $m/e = 274 (100\%, \text{M}^+), 256 (47\%, \text{M} - \text{H}_2\text{O})$.

$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$ (274.3) Ber. C 65.67 H 5.15 1 CH_3O 11.31 Gef. C 65.76 H 5.11 CH_3O 11.42

Von der dunkel gefärbten Säule wurden nach **7** noch 200 mg Viomellein (**23**) und 1 g Xanthomegnin (**16b**) eluiert, die, chromatographisch gereinigt (s. o.), im IR-Spektrum mit authentischen Präparaten von Medium 1 übereinstimmen.

9,10-Diacetoxy-3,4-dihydro-7-methoxy-3-methyl-1-oxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (8a, semi-Vioxanthin-diacetat): Eine Lösung von 100 mg (0.36 mmol) **7** in 4 ml Pyridin/12 ml Acetanhydrid rührte man 15 min bei 60 °C, dann 15 h bei Raumtemp. und hydrolysierte überschüss. Acetanhydrid mit 30 ml Eiswasser. Der ausgeflockte farblose Niederschlag wurde abgesaugt, über KOH getrocknet und an Kieselgel (Säule 20 × 2.5 cm) mit Chloroform/10% Methanol chromatographiert. Das aus der farblosen, im UV-Licht blau fluoreszierenden Hauptzone eluierte **8a** kristallisierte in farblosen Nadeln (Chloroform/Petrolether-Zugabe bis zur ersten Trübung) vom Schmp. 204 °C. Ausb. 110 mg (85%). – IR: 1767, 1715, 1631, 1572 cm^{-1} . – UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}}(\epsilon) = 316 (7800), 254 \text{ nm} (42000)$. – $^1\text{H-NMR}$: s. Tab. 2.

$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$ Molmasse Ber. 358.1052 Gef. 358.1053 (MS)

3,4-Dihydro-9-hydroxy-7,10-dimethoxy-3-methyl-1-oxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (8b, semi-Vioxanthin-methylester): Zu einer Lösung von 100 mg (0.36 mmol) **7** in Chloroform tropfte man bei 0 °C 1 ml 0.4 M ether. Diazomethanlösung und brachte nach 30 min i. Vak. zur Trockene. Der Verdampfungsrückstand wurde an Kieselgel (Säule 20 × 2.5 cm) mit Chloroform/5% Methanol chromatographiert. Dicht hinter unumgesetztem **7** wanderte **8b**, das aus der Hauptzone als farblose Substanz mit Schmp. 146 °C eluiert wurde. **8b** fluoresziert im UV-Licht hellblau. – IR: 1712, 1637, 1575 cm^{-1} . – UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}}(\epsilon) = 357 (6000), 298 (\text{sh}), 242 \text{ nm} (43900)$. – $^1\text{H-NMR}$: s. Tab. 2.

$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$ (288.3) Ber. C 66.66 H 5.59 Molmasse 288.0998

Gef. C 66.35 H 5.39 288.0998 (MS)

9-Acetoxy-3,4-dihydro-7,10-dimethoxy-3-methyl-1-oxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (8c): 100 mg (0.35 mmol) **8b** löste man in 2 ml Pyridin/6 ml Acetanhydrid, rührte 15 h bei Raumtemp. und hydrolysierte mit 20 ml Eiswasser. Der farblose Niederschlag wurde abgesaugt und an Kieselgel (PDC, 2 Platten) mit Chloroform/10% Methanol chromatographiert. Aus der Hauptzone (im UV-Licht als Schatten sichtbar) eluierte man mit Methanol farbloses **8c**, das aus Chloroform nach Zugabe von Petrolether (bis zur Trübung) kristallisierte. Schmp. 217°C. Ausb. 105 mg (90%). – IR: 1767, 1631, 1575 cm⁻¹. – UV (Methanol): λ_{max} (ε) = 294 (7500), 235 nm (53 600). – ¹H-NMR: s. Tab. 2.

C₁₈H₁₈O₆ (330.3) Ber. C 65.45 H 5.49 Molmasse 330.1103
Gef. C 65.72 H 5.48 330.1103 (MS)

9-Acetoxy-3,4-dihydro-10-hydroxy-7-methoxy-3-methyl-1-oxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (8d, semi-Vioxanthin-monoacetat): Eine Lösung von 50 mg (0.15 mmol) **8c** in 4 ml Chloroform wurde mit 135 mg wasserfreiem Aluminium(III)-bromid (suspendiert in 2 ml Chloroform) versetzt und bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung färbte sich tiefgelb und zeigte eine am Tageslicht erkennbare grüne Fluoreszenz. Nach 10 min schüttelte man mit 20 ml eisgekühlter 1 N HCl und extrahierte die gelb gewordene wäßrige Phase in den nächsten 15 min viermal mit je 20 ml Chloroform. Die gereinigten Chloroformextrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand trennte sich an Kieselgel (PDC, Chloroform/10% Methanol) in drei Zonen, von denen die beiden langsamen **8c** und **7** enthielten (R_F-Wert-Vergleich), während aus der rasch wandernden Hauptzone farbloses **8d** eluiert wurde. Schmp. 191°C. Ausb. 19 mg (40%). – IR: 1773, 1639, 1623 (sh), 1585 cm⁻¹. – UV (Methanol): λ_{max} (ε) = 352 (6300), 319 (sh), 305 (5500), 261 nm (494 000). – ¹H-NMR: s. Tab. 2.

C₁₇H₁₆O₆ Molmasse Ber. 316.0947 Gef. 316.0947 (MS)

3,4,6,9-Tetrahydro-10-hydroxy-7-methoxy-3-methyl-1,6,9-trioxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (9a, semi-Xanthomegnin): Zu einer Suspension von 1.0 g *semi-Vioxanthin* (**7**) in 50 ml Aceton gab man portionsweise eine Lösung von 5.0 g Fremy-Salz in 150 ml 0.1 M Phosphatpuffer (pH 5.6) und rührte 2.5 h bei Raumtemp. Die Festsubstanz im Reaktionsgemisch färbte sich über Gelb nach Dunkelbraun und wurde am Ende mit Chloroform (viermal je 100 ml) extrahiert. Die gereinigten organischen Phasen wurden mit reichlich Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Der rote Rückstand (900 mg) trennte sich an Oxalsäure-Kieselgel (PDC, 6 Platten, Chloroform/10% Aceton) in drei Zonen (nach steigendem R_F-Wert beziffert): 1. blaßgelb, im UV-Licht gelb fluoreszierend, 2. lachsfarben, 3. gelb, Hauptzone. Das aus Zone 3 eluierte **9a** kristallisierte aus Chloroform bei Aceton-Zugabe bis zur Trübung in orangeroten Nadeln, ab 226°C Zers. Ausb. 790 mg (75%). Zur Analyse wurde 20 h bei 70°C i. Hochvak. getrocknet. – IR: 1730, 1690, 1672, 1618, 1600 cm⁻¹ (sh). – UV: s. Tab. 3. – ¹H-NMR: s. Tab. 2. – ¹³C-NMR: s. Tab. 4. – CD-Spektrum (Dioxan, s. Abb. 1): λ_{max} ([Θ]²⁵) = 305 (–20 000), 270 nm (+8000).

C₁₅H₁₂O₆ (288.3) Ber. C 62.48 H 4.20 1 CH₃O 10.76 Gef. C 62.40 H 4.20 CH₃O 10.51

10-Acetoxy-3,4,6,9-tetrahydro-7-methoxy-3-methyl-1,6,9-trioxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (9b): 50 mg (0.17 mmol) **9a** löste man in 2 ml Pyridin/6 ml Acetanhydrid, rührte 15 min bei 60°C, dann 15 h bei Raumtemp. und hydrolysierte mit 30 ml Eiswasser. Der ausgefallene gelbliche Niederschlag wurde abgesaugt, über KOH getrocknet und an Oxalsäure-Kieselgel (PDC, Chloroform/10% Aceton) chromatographiert. Aus der Hauptzone eluierte man mit Aceton hellgelbes **9b**. Ausb. 46 mg (80%). – IR: 1776, 1730, 1689, 1653, 1621, 1605 cm⁻¹. – ¹H-NMR: s. Tab. 2. – MS (70 eV): m/e = 332 (4%, M + 2), 330 (1%, M⁺), 290 (45%, M + 2 – 42), 288 (70%, M – 42), 272 (17%), 244 (66%).

C₁₇H₁₄O₇ Molmasse Ber. 330.07395 Gef. 330.07396 (MS)

3,4,6,9-Tetrahydro-7,10-dihydroxy-3-methyl-1,6,9-trioxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (9c): Zu einer Suspension von 5.0 g wasserfreiem Aluminium(III)-chlorid in 100 ml Chloroform gab man eine

Lösung von 200 mg (0.7 mmol) **9a** in 20 ml Chloroform und erhitzte 5 min unter Rückfluß. Die Reaktionsmischung verfärbte sich rot und es flockte ein rotbrauner Niederschlag aus, der sich bei Zugabe von 100 ml eisgekühlter 1 N HCl in der wäßrigen Phase rotbraun löste. Das zweiphasige Reaktionsgemisch wurde kurz auf 60°C erwärmt und nach dem Abkühlen kräftig geschüttelt. Nach Trennung der Phasen extrahierte man die wäßrige noch mehrfach mit Chloroform, vereinigte alle organischen Phasen und befreite i. Vak. vom Lösungsmittel. Der Rückstand (190 mg) wurde an Oxalsäure-Kieselgel (PDC, Chloroform/10% Aceton) chromatographiert. Aus der gelben Hauptzone eluierte man 170 mg (90%) einheitliches **9c**, das aus Chloroform (mit wenig Eisessig versetzt) in dunkelgelben Nadeln kristallisierte, die sich ab 215°C zersetzten. **9c** ist in Chloroform, Aceton oder Methanol nur mäßig löslich. Zur Analyse wurde 18 h bei 80°C i. Hochvak. getrocknet. — IR: 1724 (sh), 1704, 1684, 1621, 1605 (sh), 1592 cm⁻¹. — UV (Methanol): λ_{max} (ε): 490 (2100), 378 (2800), 274 (17200), 233 nm (12200); (Methanol/HCl): λ_{max} (ε) = 418 (3000), 390 (sh), 289 (7000), 225 nm (21000); (Methanol/NaOH): λ_{max} (ε) = 525 (2300), 450 (1900), 390 (1800), 300 (sh), 269 (15100), 245 nm (sh). — ¹H-NMR: s. Tab. 2. — MS (70 eV): m/e = 276 (11%, M + 2), 274 (64%, M⁺), 230 (100%), 202 (19%), 146 (8%).

C₁₄H₁₀O₆ (274.2) Ber. C 61.32 H 3.68 Gef. C 61.48 H 3.69

9-Acetoxy-3,4-dihydro-6,10-dihydroxy-7-methoxy-3-methyl-1-oxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (12b): Eine Lösung von 40 mg **9b** in 0.5 ml Chloroform verdünnte man mit 10 ml Diethylether, versetzte im Scheidetrichter mit 30 ml gesättigter, wäßriger Natriumdithionitlösung, schüttelte 10 min kräftig durch und extrahierte die wäßrige Phase dreimal mit je 30 ml Ether. Die blaßgrüne organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und hinterließ einen blaß gelbgrünen Verdampfungsrückstand, der im Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel, Chloroform/5% Methanol) einheitlich war und im UV-Licht intensiv blau fluoreszierte. Für die Aufnahme von Spektren wurde das Präparat nicht weiter gereinigt. — IR: 1761, 1667 (sh), 1650, 1631 (sh) cm⁻¹. — ¹H-NMR: s. Tab. 2.

3,4-Dihydro-6,9,10-trihydroxy-7-methoxy-3-methyl-1-oxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (17b): Eine Lösung von 400 mg **9a** in 2 ml Chloroform und 30 ml Ether schüttelte man 5 min mit 30 ml frisch bereiteter 5proz. wäßriger Natriumdithionitlösung. Die mit Wasser gewaschene, hellgelbe, blau fluoreszierende organische Phase gab beim Eindampfen 380 mg blaßgelbes **17b**, das aus Chloroform/Tetrachlorkohlenstoff (5:1) beim Einengen in kurzen Nadeln kristallisierte, ab 176°C Zers. (Dunkelfärbung). — IR (CO, C=C): 1661 (sh), 1639, 1594 cm⁻¹.

3,4-Dihydro-6,10-dihydroxy-7,9-dimethoxy-3-methyl-1-oxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (17c): In eine Lösung von 340 mg rohem **17b** in 40 ml Methanol leitete man bei 50°C 30 min trockenen Chlorwasserstoff ein und befreite die dann dunkelgelbe Lösung i. Vak. vom Lösungsmittel. Der Rückstand wurde an Oxalsäure-Kieselgel (PDC, 3 Platten, Chloroform/3% Methanol) chromatographiert. Von schwarzer Substanz am Start trennten sich zwei gelbe Zonen: Die schneller wandernde (gelbgrün fluoreszierend) enthielt 130 mg unverändertes **17b** (R_F-Wert, IR-Spektrum), das aus der langsamer wandernden (blaugrün fluoreszierend) eluierte **17c** kristallisierte aus Chloroform/Methanol (5:1) beim Einengen in moosgrünen Nadeln vom Schmp. 165°C (Zers.). Ausb. 160 mg (72%, bezogen auf umgesetztes **17b**). — IR: 1629, 1592 (sh) cm⁻¹. — ¹H-NMR: s. Tab. 2. — MS: m/e = 305 (19%, M + 1), 304 (100%, M⁺), 289 (25%, M - CH₃), 243 (22%), 242 (28%).

C₁₆H₁₆O₆ (304.3) Ber. C 63.15 H 5.30 Molmasse 304.0947

Gef. C 63.07 H 5.37 304.0950 (MS)

Silber(I)-oxid in Chloroform oder Hexacyanoferrat(III) in 0.1 N wäßr. Natriumhydroxid oxidieren **17c** zu **9a** (R_F-Wert, IR-Spektrum).

3,4-Dihydro-9,10-dihydroxy-6,7-dimethoxy-3-methyl-1-oxo-1H-naphtho[2,3-c]pyran (17a): Eine Lösung von 130 mg **17b** in 5 ml Dioxan schüttelte man bei Raumtemp. unter N₂ mit 3 ml Di-

methylsulfat und 50 ml 2 N NaOH bis zur völligen Hydrolyse des Methylierungsmittels, dabei änderte sich die Farbe der Reaktionslösung von Dunkelgelb nach Rotbraun. Die nach dem Ansäuern (2 N HCl) mit Chloroform extrahierbaren Reaktionsprodukte trennte man an Oxalsäure-Kieselgel (PDC, Chloroform/2% Methanol) in zwei gelbe Hauptzonen, von denen die langsamere 26 mg unumgesetztes **17b** enthielt, die schnellere 29 mg (26%) **17a**, das aus Methanol in blaßgelben Nadeln kristallisierte. Schmp. 146°C. $R_F = 0.48$ (Oxalsäure-Kieselgel, Chloroform/1% Methanol); **17c**: $R_F = 0.22$. — IR (CO, C=C): 1656 (sh), 1639, 1587 cm^{-1} . — $^1\text{H-NMR}$:

s. Tab. 2. $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_6$ (304.3) Ber. C 63.15 H 5.30 Molmasse 304.0947
Gef. C 63.21 H 5.29 304.0945 (MS)

Dimerisierung von 17a: 10 mg **17a** in 20 ml Chloroform rührte man mit 1 g Silber(I)-oxid, bis kein Ausgangsmaterial mehr chromatographisch nachweisbar war. Die Reaktionsprodukte (nach dem Filtrieren und Eindampfen) wurden an Oxalsäure-Kieselgel (PDC, Chloroform/5% Aceton) in drei gelbe Zonen getrennt (nach abnehmendem R_F -Wert numeriert): 1. 1.8 mg, MS und $^1\text{H-NMR}$ nicht interpretierbar; 2. 2.6 mg, aufgrund von R_F -Wert und MS mit **9a** identisch; 3. 0.4 mg, im R_F -Wert mit Xanthomegnin (**16b**) identisch, MS: $m/e = 574$ (M^+ , $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$ durch Hochoauflösung).

4-Hydroxy-1,2-dimethoxynaphthalin (18d): 6 g 1,4-Dihydroxy-2-methoxynaphthalin (**18c**) schüttelte man unter N_2 mit 20 g Dimethylsulfat und 200 ml 2 N NaOH (40–45°C). Nach beendeter Umsetzung wurde die braune Emulsion zweimal unter N_2 mit Chloroform extrahiert, um 1,2,4-Trimethoxynaphthalin⁴¹⁾ (2.1 g Rohprodukt) zu entfernen. Beim Ansäuern der wäßrigen Phase schied sich ein Kristallinat ab, das abgesaugt, getrocknet (3.7 g) und in Benzol digeriert wurde. Das Filtrat lieferte nach Verdampfen des Lösungsmittels 1.0 g (16%) 1-Hydroxy-2,4-dimethoxynaphthalin, das aus Cyclohexan kristallisierte. Schmp. 84°C (sublimiert i. Hochvak. bei 120°C; Lit.⁴²⁾ 77–82°C). $R_F = 0.41$ (Kieselgel, Chloroform/1% Methanol). Der Rückstand bestand aus nahezu einheitlichem **18d**, das aus Methanol/Chloroform (1:5) beim Einengen in sechseckigen Plättchen kristallisierte. Schmp. 159°C. Ausb. 2.7 g (42%). $R_F = 0.07$ (Kieselgel, Chloroform/1% Methanol). — IR: 1623, 1591, 1576 cm^{-1} . — $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{Aceton}$): $\delta = 3.84/3.88$ (2 s; 1-OCH₃ und 2-OCH₃), 6.83 (s; 3-H), 7.37 (mc, 2H), 8.08 (mc, 2H), 8.75 (s, breit; 4-OH). — MS: $m/e = 204$ (27%, M^+), 189 (30%, $\text{M} - \text{CH}_3$), 161 (18%), 101 (100%), 100 (68%).

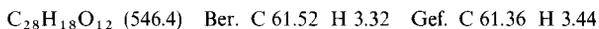
$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_3$ (204.2) Ber. C 70.57 H 5.92 Gef. C 70.42 H 5.92

3,3'-Dimethoxy-2,2'-binaphthyl-1,4,1',4'-dichinon (19): a) Eine Lösung von 500 mg **18d** in 30 ml Chloroform rührte man bei Raumtemp. unter Lichtausschluß mit 5 g Silber(I)-oxid, bis kein Ausgangsmaterial mehr nachzuweisen war (DC), filtrierte und brachte das Filtrat i. Vak. zur Trockene. Der Rückstand wurde an Kieselgel (PDC, 5 Platten) mit Chloroform chromatographiert. Die gelbe Hauptzone lieferte 2-Methoxy-1,4-naphthochinon (R_F , IR-Spektrum). Aus einer gelben Vorzone eluierte man 20 mg (4%) **19**, das aus Chloroform/Methanol (5:1) beim Einengen in blaßgelben Nadeln kristallisierte. Schmp. 174°C. — IR: 1678, 1600, 1575 cm^{-1} . — $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 4.12$ (s, 6H; 3-,3'-OCH₃), 7.76 (mc, 4H), 8.14 (mc, 4H). — MS: $m/e = 376$ (2.5%, $\text{M} + 2$), 375 (18%, $\text{M} + 1$), 374 (94%, M^+), 359 (100%, $\text{M} - \text{CH}_3$), 331 (30%, $\text{M} - \text{CH}_3 - \text{CO}$), 288 (28%).

$\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{O}_6$ (374.4) Ber. C 70.59 H 3.77 2 CH₃O 16.58 Molmasse 374.0790
Gef. C 70.53 H 3.80 CH₃O 16.85 374.0792 (MS)

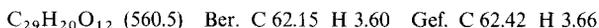
b) Eine Lösung von 100 mg 3,3'-Dihydroxy-2,2'-binaphthyl-1,4,1',4'-dichinon²³⁾ in 3 ml Aceton versetzte man bei 0°C mit überschüss. ether. Diazomethanlösung und brachte sogleich i. Vak. zur Trockne. Der Rückstand wurde an Kieselgel (PDC) aus Chloroform chromatographiert. Man erhielt aus der rasch wandernden, gelben Hauptzone 72 mg (67%) **19**, das in allen Eigenschaften mit dem nach a) gewonnenen Präparat übereinstimmte.

3,3',4,4',6,6',9,9'-Octahydro-7,7',10,10'-tetrahydroxy-3,3'-dimethyl-1,1',6,6',9,9'-hexaaxo-8,8'-bi(1*H*-naphtho[2,3-*c*]pyran) (**16a**, 7,7'-Didesmethyl-xanthomegnin): a) Eine Suspension von 100 mg (0.39 mmol) **9c** in 7 ml Wasser versetzte man mit 2.4 ml (0.39 mmol) 1 *N* NaOH, hielt 5 min im Ultraschallbad, erwärmte die rote Lösung auf 95 °C und tropfte innerhalb von 30 min eine Lösung von 106 mg (0.39 mmol) Kaliumpersulfat in 5 ml Wasser dazu. Es bildete sich ein braunes Gel, das bis zum Ende der Reaktionszeit (90 min/95 °C) in einen körnigen Niederschlag überging, der abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde. Das Präparat, das laut DC (Oxalsäure-Kieselgel, Chloroform/10% Aceton) aus nahezu einheitlichem **16a** bestand, wurde chromatographisch gereinigt (PDC, Bedingungen s. DC). **16a** kristallisiert aus Aceton (mit wenig Eisessig) in orangeroten Nadeln, die sich ab 260 °C zersetzen. Ausb. 73 mg (70%). Es ist in essigsäurem Chloroform oder Ethylacetat gut, in Aceton mäßig löslich. Zur Analyse wurde 15 h bei 80 °C i. Hochvak. getrocknet. – IR: 1724, 1681, 1610 cm⁻¹. – UV (methanol. HCl): λ_{max} (ε) = 393 (11200), 292 (16000), 230 nm (48600); (methanol. NaOH): λ_{max} (ε) = 525 (sh), 464 (4900), 390 (6500), 279 (36800), 236 nm (sh). – ¹H-NMR ([D₆]Aceton): δ = 1.49 (d, *J* = 6.2 Hz; 3-,3'-CH₃), 3.20 (AB-Teil eines ABX-Systems, Signalanalyse offen; 4-,4'-H₂), 4.86 (mc; 3-,3'-H), 6.0 (breit; 7-,7'-OH), 7.60 (s; 5-,5'-H), 13.3 (breit; 10-,10'-OH).



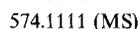
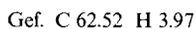
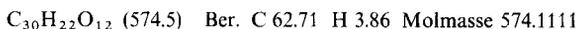
b) Eine Suspension von 5.0 g wasserfreiem Aluminium(III)-chlorid in 100 ml Chloroform versetzte man mit einer Lösung von 500 mg (0.87 mmol) nativem Xanthomegnin (**16b**) und kochte 5 min unter Rückfluß. Die violette Farbe der Reaktionsmischung schlug nach Braun um. Es wurde unter Schütteln mit 200 ml eisgekühlter 1 *N* HCl hydrolysiert, dabei löste sich der Farbstoff-Aluminium(III)-Komplex dunkelrot in der wäßrigen Phase. Das zweiphasige Reaktionsgemisch erwärmte man 10 min auf 50 °C, dabei wurde die wäßrige Phase dunkelgelb und die Farbstoffe ließen sich mit Chloroform und Ethylacetat extrahieren. Die vereinigten Extrakte trocknete man über Natriumsulfat und befreite i. Vak. vom Lösungsmittel. Der rotbraune Rückstand (480 mg) wurde an Oxalsäure-Kieselgel (PDC, 5 Platten, Chloroform/10% Aceton) aufgetrennt. Es bildeten sich drei gelbrote Zonen (nach abnehmendem *R_F*-Wert numeriert): 1. 20 mg Ausgangsprodukt **16b**, 2. 100 mg (20%) 7-Desmethylxanthomegnin, 3. 300 mg (60%) **16a**.

Das 7-Desmethylxanthomegnin aus Zone 2 kristallisierte aus Toluol/Aceton (1:1) beim Eindunsten in feinen gelben Nadeln, die sich ab 190 °C zersetzen. Zur Analyse wurde 8 h bei 70 °C i. Hochvak. getrocknet. – IR: 1724, 1681, 1610 cm⁻¹. – UV (methanol. HCl): λ_{max} (ε) = 397 (10700), 290 (15600), 228 nm (50000); (methanol. NaOH): λ_{max} (ε) = 524 (9200), 395 (sh), 274 (29200), 229 nm (sh). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.51 (d, verbreitert, *J* = 6.2 Hz; 3-,3'-CH₃), 3.01 (mc, AB-Teil eines ABX-Systems, nicht aufgelöst; 4-,4'-H₂), 4.11 (s, 3H; 7'-OCH₃), 4.76 (mc; 3-,3'-H), 7.45 (s, mit D₂O austauschbar; 7-OH), 7.47 (s; 3-H), 7.50 (s; 3'-H), 13.04 (s, mit D₂O austauschbar; 10-OH), 13.22 (s, verbreitert, mit D₂O austauschbar; 10'-OH).



Das aus Zone 3 gewonnene **16a** war im IR- und ¹H-NMR-Spektrum mit dem nach a) isolierten Präparat identisch.

Xanthomegnin (16b): a) aus **16a**: Eine Lösung von 20 mg (0.037 mmol) synthetischem **16a** versetzte man bei 0 °C mit 0.3 ml 0.4 *M* ether. Diazomethanlösung (ca. 0.1 mmol) und verdampfte nach 5 min das Lösungsmittel i. Vak. Der Rückstand (20 mg) wurde aus Chloroform/Tetrachlorkohlenstoff umkristallisiert. Man erhielt **16b** in gelbroten Plättchen. Es stimmte im IR-Spektrum (Abb. 2) und ¹H-NMR-Spektrum (Tab. 2) mit nativem **16b** überein, sofern dieses zuvor in Toluol erhitzt worden war. – CD-Spektrum (Dioxan): λ_{max} ([θ]²⁵) = 310 (–17000), 270 nm (+3000).



b) aus **23**: 20 mg Viomellein (**23**) in 5 ml Aceton versetzte man mit einer Lösung von 0,5 g Frey-Salz in 25 ml 0,1 M Phosphatpuffer (pH 6,5), rührte 2 h bei Raumtemp. und extrahierte die braune Reaktionslösung erschöpfend mit Chloroform. Die Extrakte lieferten einen rotbraunen Verdampfungsrückstand, der an Oxalsäure-Kieselgel (PDC, Chloroform/10% Aceton) getrennt wurde. Es bildeten sich zwei gelbrote Zonen, braune Produkte verblieben am Start. Die schneller wandernde Zone enthielt unumgesetztes **23** (R_F -Wert, IR-Spektrum), aus der langsameren wurden 3 mg gelbrotes **16b** eluiert (R_F -Wert vgl. Tab. 1, IR-Spektrum, MS: Hochauflösung).

Literatur

- ¹⁾ 171. Mittel.: W. A. König, K. P. Pfaff, W. Loeffler, D. Schanz und H. Zähler, Liebigs Ann. Chem. **1978**, 1289.
- ²⁾ J. G. Wirth, P. J. O'Brien, F. L. Schmidt und A. Sohler, J. Invest. Dermatol. **29**, 47 (1957); J. G. Wirth, T. E. Beesley und S. R. Amand, Phytochemistry **4**, 505 (1965).
- ³⁾ F. Blank, W. C. Day und G. Just, J. Invest. Dermatol. **40**, 133 (1963).
- ⁴⁾ F. Blank, A. S. Ng und G. Just, Can. J. Chem. **44**, 2873 (1966).
- ⁵⁾ Y. Ito, Y. Nozawa und T. Yoneya, J. Chromatogr. **35**, 573 (1968); Y. Nozawa und Y. Ito, Experientia **26**, 803 (1970).
- ⁶⁾ R. C. Durlley, J. MacMillan, T. J. Simpson, A. T. Glen und W. B. Turner, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 **1975**, 163.
- ⁷⁾ ^{7a)} G. Just, W. C. Day und F. Blank, Can. J. Chem. **41**, 74 (1963); ^{7b)} A. S. Ng, G. Just und F. Blank, ebenda **47**, 1223 (1969).
- ⁸⁾ T. J. Simpson, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 **1977**, 592.
- ⁹⁾ G. Höfle und K. Röser, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1978**, 611; und persönl. Mitteil. am 2. Februar 1978.
- ¹⁰⁾ H. J. Teuber und W. Rau, Chem. Ber. **86**, 1036 (1953); H. Zimmer, D. C. Lankin und S. W. Horgan, Chem. Rev. **71**, 229 (1971); H. Ishii, T. Hanaoka, T. Asaka, Y. Harada und N. Ikeda, Tetrahedron **32**, 2693 (1976).
- ¹¹⁾ R. E. Moore und P. J. Scheuer, J. Org. Chem. **31**, 3272 (1966).
- ¹²⁾ J. Singh, R. T. Ogata, R. E. Moore, C. W. J. Chang und P. J. Scheuer, Tetrahedron **24**, 6053 (1968).
- ¹³⁾ A. McKillop, D. H. Perry und M. Edwards, J. Org. Chem. **41**, 282 (1976); G. K. Chip und J. S. Gossert, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 **1972**, 1629.
- ¹⁴⁾ L. V. Pavlova und F. Y. Rachinskii, Russ. Chem. Rev. **37**, 587 (1968).
- ¹⁵⁾ H. Arakawa, N. Torimoto und Y. Masui, Liebigs Ann. Chem. **728**, 152 (1969).
- ¹⁶⁾ H. Musso in Organic Substances of Natural Origin (ed. by W. I. Taylor und A. R. Battersby), Vol. 1, S. 1, M. Dekker, New York 1967.
- ¹⁷⁾ P. Jacob, P. S. Callery, A. T. Shulgin und N. Castagnoli jr., J. Org. Chem. **41**, 3627 (1976).
- ¹⁸⁾ B. Feringa und H. Wynberg, Tetrahedron Lett. **1977**, 4447.
- ¹⁹⁾ H. Laatsch, Tetrahedron Lett. **1976**, 3287.
- ²⁰⁾ B. C. Maiti, O. C. Musgrave und D. Skoyles, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1976**, 244.
- ²¹⁾ A. V. B. Sankaram und G. S. Sidhu, Indian J. Chem. **12**, 519 (1974).
- ²²⁾ H. Laatsch, in Vorbereitung.
- ²³⁾ K. Chandrasenan und R. H. Thomson, Tetrahedron **27**, 2529 (1971).
- ²⁴⁾ G. Höfle, Tetrahedron **33**, 1963 (1977).
- ²⁵⁾ H. Wollemann, T. N. Ganjoo und R. Pohloudek-Fabini, Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges. **300**, 492, 674 (1967).
- ²⁶⁾ F. Blank, C. Buxdorf, O. Chin, G. Just und J. L. Tudor, Can. J. Chem. **43**, 1561 (1969); F. Brisse, G. Just und F. Blank, Acta Cryst. B **34**, 557 (1978).
- ²⁷⁾ S. Shibata, Chem. Ber. **1967**, 110, und Zitate darin; W. B. Turner, Fungal Metabolites, Academic Press, London 1971.
- ²⁸⁾ E. Morishita, T. Takeda und S. Shibata, Chem. Pharm. Bull. **16**, 411 (1968).
- ²⁹⁾ M. Matsumoto, H. Minato, E. Kondo, T. Mitsugi und K. Katagiri, J. Antibiot. **28**, 602 (1975).
- ³⁰⁾ D. Weisleder und E. B. Lillehoj, Tetrahedron Lett. **1971**, 4705; E. B. Lillehoj und A. Ciegler, Can. J. Microbiol. **18**, 193 (1972).
- ³¹⁾ J. Jiu und S. Mizuba, J. Antibiot. **27**, 760 (1974).
- ³²⁾ S. Mizuba, C. Hsu und J. Jiu, J. Antibiot. **30**, 670 (1977).
- ³³⁾ G. M. Blackburn, D. E. U. Ekong, A. H. Neilson und Lord Todd, Chimia **19**, 208 (1965).

- ³⁴⁾ S. F. Mason, R. H. Seal und D. R. Roberts, *Tetrahedron* **30**, 1671 (1974); H. E. Harris, M. M. Harris, R. Z. Mazengo und S. Singh, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1974**, 1059.
- ³⁵⁾ S. Shibata und Y. Ogihara, *Tetrahedron Lett.* **1963**, 1777.
- ³⁶⁾ Y. Ito, K. Kawai und Y. Nozawa, *J. Biochem.* **74**, 805 (1973).
- ³⁷⁾ H. Holst, *Z. Angew. Entomol.* **82**, 165 (1976); **16b** identisch mit GT 13/75, **23** mit GT 12/75.
- ³⁸⁾ K. B. Raper, C. Thorn und D. I. Fennell, *A Manual of the Penicillia*, Williams und Wilkins, Baltimore 1949.
- ³⁹⁾ I. Thein, Dissertation, Univ. Tübingen 1977.
- ⁴⁰⁾ L. Santo, Dissertation, Univ. Tübingen 1976.
- ⁴¹⁾ O. Brunner und P. Hanke, *Monatsh. Chem.* **85**, 88 (1954).
- ⁴²⁾ J. E. Baldwin und H. H. Basson, *J. Org. Chem.* **34**, 2788 (1969).

[208/78]