

Zum Vorkommen von Pulvinsäure-Derivaten in der Gattung *Scleroderma*

NORBERT ARNOLD, WOLFGANG STEGLICH

Institut für Organische Chemie der Universität München, Karlstr. 23, D - 80333 München

HELMUT BESL

Institut für Botanik der Universität Regensburg, D - 93040 Regensburg

Herrn Prof. Dr. A. Bresinsky zum 60. Geburtstag gewidmet

Eingegangen am 5.9.1995

Arnold, N., W. Steglich & H. Besl (1996) - Derivates of pulvinic acid in the genus *Scleroderma*. Z. Mykol. 62 (1): 69 - 73.

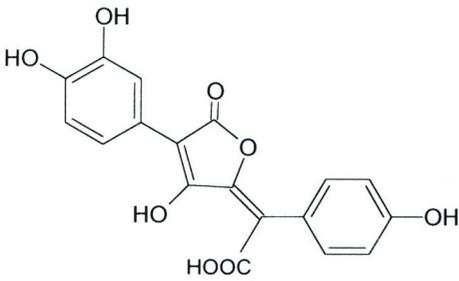
Key words: *Scleroderma sinnamariense*; *Scleroderma* spec.; Sclerodermatales; Gasteromycetes; pigments; methyl per-*O*-methylatromentate; methyl 2',5'-dichloro-4,4'-di-*O*-methylatromentate; chemotaxonomy.

Summary: Three pigments, i.e. methyl 4,4'-di-*O*-methylatromentate, methyl per-*O*-methylatromentate, and methyl 2',5'-dichloro-4,4'-di-*O*-methylatromentate were isolated from the tropical fungus *Scleroderma sinnamariense* (Sclerodermatales, Gasteromycetes) and a related species. The structures of the pigments were proven by spectroscopic methods. The occurrence of atromentic acid derivatives is a further hint for the inclusion of the genus *Scleroderma* in the Boletales.

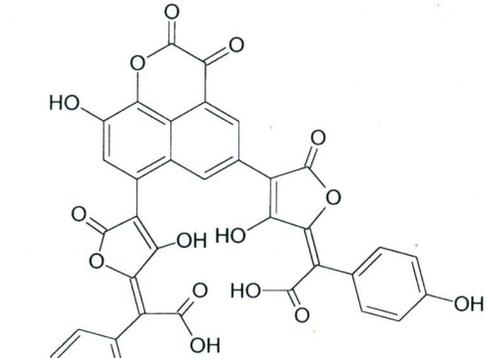
Zusammenfassung: Aus dem tropischen Pilz *Scleroderma sinnamariense* (Sclerodermatales, Gasteromycetes) und einer nahe verwandten Sippe wurden insgesamt drei Pulvinsäurederivate, i.e.S. 4,4'-Di-*O*-methylatromentinsäure-methylester, Permethylatromentinsäure-methylester und 2',5'-Dichlor-4,4'-di-*O*-methylatromentinsäure-methylester isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt. Das Vorkommen chlorierter und methylierter Atromentinsäuren kann als weiterer Hinweis auf die enge Verwandtschaft der Gattung *Scleroderma* mit den Boletales gewertet werden.

Einleitung

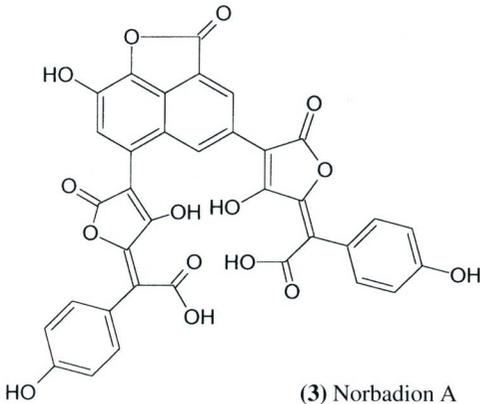
Einige Arten der Gattung *Scleroderma* (Gasteromycetes) sind durch gelbliche bis leuchtend gelbe Fruchtkörper gekennzeichnet. Untersuchungen zur Natur der in der Peridie enthaltenen Farbstoffe wurden von SCHMIDT (1990) an *Scleroderma citrinum* Pers. durchgeführt. Dabei konnten neben dem Pulvinsäurederivat Xerocomsäure (1) die durch Kondensation aus zwei Pulvinsäureeinheiten abzuleitenden Farbstoffe Badion A (2) und Norbadion A (3) nachgewie-



(1) Xerocomsäure



(2) Badion A



(3) Norbadion A

sen werden. Wir haben nun zwei weitere Vertreter der Gattung *Scleroderma* untersucht, deren gesamte Peridie leuchtend gelb gefärbt ist. Dabei konnten drei Pigmente identifiziert werden, die sämtlich für die Gattung *Scleroderma* als neu anzusehen sind.

Material

Scleroderma sinnamariense Mont.: M 31/91, 9.4.1991, Hutan Lipur Bukit Mertajam bei Telok Bahang, Penang, Malaysia, leg. Arnold/Besl, det. Besl; *Scleroderma* spec.: M 9/94, 9.4.1994, Arboretum des Forest Research Institute Malaysia (FRIM), Kepong, Malaysia, leg. Arnold/Besl.

Das Pilzmaterial wurde während zweier botanischer Exkursionen*) der Universität Regensburg gesammelt und bei ca. 50 °C luftgetrocknet. Belege beider Aufsammlungen wurden im Herbarium des Institutes für Botanik der Universität Regensburg hinterlegt.

Scleroderma sinnamariense ist nach GUZMÁN (1970) die einzige *Scleroderma*-Art mit leuchtend gelb durchgefärbter Peridie. Die Art ist pantropisch verbreitet und mehrfach in Malaysia nachgewiesen worden (WATLING 1994, WATLING & LEE 1995, LEE, BESL & SALMIAH 1995). Unsere zweite untersuchte Sippe zeichnet sich durch Unterschiede in der äußeren Peridie und der Sporenornamentation aus.

*) Für die Organisation und Durchführung der Exkursionen danken wir den Herren Dr. habil. I. Nuß, Regensburg, und Dr. I. Turner, Singapore, sowie für die wohlwollende Unterstützung Herrn Prof. Dr. A. Bresinsky, Regensburg.

Isolierung und Identifikation der Pigmente

Peridien von *Scleroderma sinnamariense* wurden erschöpfend mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 extrahiert. Der Rohextrakt wurde durch Säulenchromatographie an Sephadex LH 20 (Pharmacia) mit Aceton als Eluent einer Vortrennung unterzogen. Die Feinreinigung der beiden Hauptpigmente **4** und **5** erfolgte durch mehrfache Chromatographie unter Mitteldruck- und Hochdruckbedingungen [MPLC: LiChrosorp RP-18 (Lobar-Säule, Merck), Laufmittel: Methanol/Wasser 3:1; HPLC: Nucleosil C₁₈ (7µm, Macherey & Nagel), Laufmittel A: Methanol/Wasser 1:9, Laufmittel B: Methanol/Wasser 9:1. Bei einem Fluß von 3 ml/min wurde ein Gradient von 100% A auf 100% B in 60 min durchlaufen].

Aus Peridien von *Scleroderma spec.* wurde nach Extraktion mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 ein gelber Extrakt erhalten. Wiederholte Chromatographie des Extraktes unter Mitteldruckbedingungen [LiChrosorp Diol (Lobarsäule, Merck), Laufmittel Petrolether/Ethylacetat 19:1] lieferte neben Verbindung **4** einen weiteren Farbstoff **6**.

Als DC-System wurden HPTLC-Fertigplatten Diol_{F 254 S} mit dem Laufmittel Petrolether/Ethylacetat 4:1 verwendet. Die Spektren wurden an folgenden Gerätetypen aufgenommen: Massenspektren: Finnigan MAT 90 und Finnigan MAT 95 Q; ¹H-NMR-Spektren: Bruker ARX 300 und Bruker AMX 600; alle Spektren in CDCl₃ mit TMS als innerem Standard; UV-Spektren: Hewlett-Packard 8452 A Diode Array Spektrometer; IR-Spektren: Perkin-Elmer 1420, Intensitätsangaben in Klammern: s = stark, m = mittel, w = schwach, br = breit; Schmelzpunkte: Heiztischmikroskop Reichert-Jung, nicht korrigiert.

4,4'-Di-O-methylatromentinsäure-methylester (4): orangefarbene Nadeln vom Schmp. 165 °C (aus MeOH/CH₂Cl₂), 168 °C (MARUMOTO, KILPERT & STEGLICH 1986); Rf=0.38, orange Fluoreszenz bei 366 nm; UV (MeOH) λ_{Max}: 206, 232, 258, 308, 380 nm; MS (220 °C): m/z (%) = 382.1 (49.9, M⁺), 350 (100, M⁺-CH₃OH), 322 (7), 294 (56), 267 (4), 238 (31), 175 (7), 147 (21), 135 (6), 119 (18), 76 (3); ¹H-NMR (600 MHz): δ 3.82 (s, 4- und 4'-OCH₃), 3.86 (s, CO₂CH₃), 6.91, 8.10 (d, AA'BB'-System, 3,5- bzw. 2,6-H, J=9 Hz), 6.94, 7.18 (d, AA'BB'-System, 3',5'- bzw. 2',6'-H, J=8.6 Hz); IR (KBr, ν in cm⁻¹): 3460 (br, w), 2980 (w), 2940 (w), 1775 (st), 1680 (st), 1610 (st), 1515 (st), 1445 (m), 1420 (w), 1370 (w), 1310 (st), 1280 (st), 1260 (st), 1190 (m), 1165 (w), 1110 (w), 1080 (st), 1040 (m), 970 (w), 910 (w), 830 (w).

Aus Lage und Aufspaltung der ¹H-NMR-Signale ergibt sich für Verbindung **4** eine Atromentinsäure-Substitution (STEGLICH, BESL & ZIPFEL 1974). Nach dem Massenspektrum müssen alle phenolischen Hydroxygruppen methyliert sein (STEGLICH, FURTNER & PROX 1968), während die Hydroxygruppe am Tetronsäurering wegen des fehlenden Moleküliions und des intensiven M⁺-OCH₃-Peaks frei vorliegen muß. Damit handelt es sich bei Verbindung **4** um 4,4'-Di-O-methylatromentinsäure-methylester (MARUMOTO, KILPERT & STEGLICH 1986).

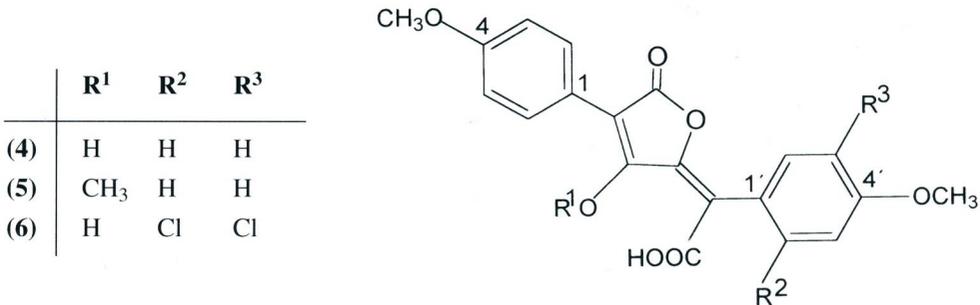
Permethylatromentinsäure-methylester (5): grünelbe Nadeln vom Schmp. 187 °C (aus MeOH/CH₂Cl₂), 167 °C (aus Eisessig, KÖGL & BECKER 1928); Rf=0.29, grünelbe Fluoreszenz bei 366 nm; UV (MeOH): λ_{Max}: 237, 354 nm; MS (220 C): m/z (%) = 396.0658 (100, M⁺, berechnet für C₂₂H₂₀O₇ 396.1780), 365 (2.5), 337 (60.2), 309 (15.3), 281 (25.6), 249 (2.6), 147 (4.3), 119 (7), 76 (1.2); ¹H-NMR (600 MHz): δ 3.71 (s, 4-OCH₃), 3.78 (s, 4'-OCH₃ und CH₃O), 3.84 (s, CO₂CH₃), 6.87, 7.59 (d, AA'BB'-System, 3,5-H bzw. 2,6-H, J= 8.8 Hz), 6.90, 7.44 (d, AA'BB'-System, 3',5'-H bzw. 2',6'-H, J=8.7 Hz); IR (KBr, ν in cm⁻¹): 2945 (w),

2930 (w), 2835 (w), 1765 (st), 1725 (st), 1625 (m), 1590 (st), 1510 (st), 1455 (m), 1420 (w), 1365 (m), 1330 (w), 1310 (m), 1285 (st), 1250 (st), 1190 (m), 1160 (st), 1125 (w), 1105 (w), 1045 (st), 1030 (st), 975 (w), 960 (w), 940 (m), 920 (m), 840 (m).

Die Verbindung **5** stimmt im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum weitgehend mit **4** überein, zeigt jedoch bei $\delta = 3.71$ eine zusätzliche Methoxygruppe. Damit kommt **5** die Konstitution einer permethylierten Atromentinsäure zu, was durch das Molekülions bei m/z 396 bestätigt wird.

2',5'-Dichlor-4,4'-di-O-methylatromentinsäure-methylester (6): gelbe Nadeln vom Schmp. 188 °C (aus MeOH/CH₂Cl₂); Rf=0.57, orange Fluoreszenz bei 366 nm; UV (MeOH): $\lambda_{\text{Max}} = 206, 294, 392$ nm; MS (150 °C): m/z (%) = 450.0257/452.0259 (50.7/24, M⁺, berechnet für C₂₁H₁₆Cl₂O₇ 450.0273/452.0244), 418/420 (100/62.9), 362/364 (40.9/27.7), 306/308 (25.6/16), 215/217 (11.7/2.5), 175 (11.9), 147 (40.1), 119 (28.4), 105 (7.9), 77 (2.9); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz): δ 3.78 (s, 4-OCH₃), 3.83 (s, 4'-OCH₃), 3.90 (s, CO₂CH₃), 6.90, 8.05 (d, AA'BB'-System, 3,5-H bzw. 2,6-H, $J=9.1$ Hz), 7.12 (s, 2'-H), 7.19 (s, 6'-H); IR (KBr, ν in cm⁻¹): 3450 (m, br), 2930 (m), 2850 (w), 2520 (w, br), 1770 (st), 1675 (st), 1620 (st), 1605 (st), 1515 (m), 1475 (st), 1440 (m), 1420 (w), 1370 (m), 1320 (st), 1310 (st), 1280 (m), 1260 (st), 1185 (m), 1165 (w), 1105 (w), 1080 (st), 1030 (m), 1010 (w), 990 (m), 950 (w), 910 (m), 870 (w), 835 (st), 810 (m).

Verbindung **6** unterscheidet im Massenspektrum von **4** durch eine zweifache Chlorsubstitution. Da im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum die Signale bei $\delta = 7.12$ und 7.19 jeweils als Singulett vorliegen, können sich die beiden Chloratome nur am C-2' und C-5' befinden, womit auch die Tieffeldverschiebung des Methoxysignals bei $\delta = 3.83$ im Einklang ist.



Diskussion

Pulvinsäure-Derivate konnten in fast allen bisher untersuchten Gattungen der Boletales nachgewiesen werden und stellen somit ein chemotaxonomisches Merkmal dieser Ordnung dar. Der Nachweis derartiger Farbstoffe in tropischen *Scleroderma*-Arten, aber auch in *Pisolithus arhizos* (Scop.: Pers.) S. Rauschert (GILL & LALLY 1985, GILL & WATLING 1986) legt eine engere Verwandtschaft der Sclerodermatales mit den Boletales nahe. Bisher konnten allerdings noch keine weiteren Hinweise auf eine Beziehung dieser beiden Ordnungen gefunden werden, will man von dem Befall mit Goldschimmel (*Sepedonium* spec.) absehen. Dieser wurde auch schon auf *Scleroderma*-Arten und auf *Pisolithus arhizos* nachgewiesen (siehe

HELPER 1991). Halogensubstituierte Pulvinsäurederivate sind bisher aus zwei Arten der Boletales bekannt geworden. Aus dem japanischen *Pulveroboletus auriflammeus* (Berk. & Curt.) Sing. wurden neben dem oben erwähnten 4,4'-Di-*O*-methylatromentinsäure-methylester (**4**) Methylderivate der Xerocomsäure sowie 3'-Chlor-4,4'-di-*O*-methylatromentinsäure-methylester, 2'-Chlor-3,4,4'-tri-*O*-methylxerocomsäure-methylester und Dichlor-tri-*O*-methylxerocomsäure-methylester isoliert (MARUMOTO, KILPERT & STEGLICH 1986). Bereits früher war aus *Xerocomus chrysenteron* (Bull.: St. Amans) Quél. eine Chlorxerocomsäure isoliert worden (STEGLICH, FURTNER & PROX 1968). Das Vorkommen von halogensubstituierten Verbindungen ist bei marinen Organismen nicht ungewöhnlich, bei terrestrischen Organismen jedoch bemerkenswert.

Literatur

- GILL, M. & D.A. LALLY (1985) - A naphthalenoid pulvinic acid derivative from the fungus *Pisolithus tinctorius*. *Phytochem.* **24**: 1351-1354.
- GILL, M. & R. WATLING (1986) - The relationships of *Pisolithus* (Sclerodermataceae) to other fleshy fungi with particular reference to the occurrence and taxonomic significance of hydroxylated pulvinic acids. *Plant. Syst. Evol.* **154**: 225-236.
- GUZMÁN, G. (1970) - Monografía del género *Scleroderma*. *Darwiniana* **16**: 233-407.
- HELPER, W. (1991) - Pilze auf Pilzfruchtkörpern. Untersuchungen zur Ökologie, Systematik und Chemie. *Libri Botanici* 1, 157 S.
- KÖGL, F. & H. BECKER (1928) - Untersuchungen über Pilzfarbstoffe. VI. Die Konstitution des Atromentins. *Liebigs Ann. Chem.* **465**: 211-242.
- LEE, S. S., H. BESL & U. SALMIAH (1995) - Some fungi of the Sungai Halong and surrounding areas, Temengor Forest Reserve, Hulu Perak, Malaysia. *Malay. Nat. J.* **48**: 147-155.
- MARUMOTO, R., C. KILPERT & W. STEGLICH (1986) - Neue Pulvinsäurederivate aus *Pulveroboletus*-Arten (Boletales). *Z. Naturforsch.* **41c**: 363-365.
- SCHMIDT, H. (1990) - Vergleichende Untersuchungen über das Vorkommen von Farbstoffen in Höheren Pilzen der Ordnungen Boletales und Gastromycetes. Dissertation, Universität Bonn.
- STEGLICH, W., H. BESL & K. ZIPFEL (1974) - Pilzpigmente, XIX. Festlegung der Struktur von Pulvinsäuren mit Hilfe der NMR-Spektroskopie. *Z. Naturforsch.* **29b**: 96-98.
- STEGLICH, W., W. FURTNER & A. PROX (1968) - Neue Pulvinsäure-Derivate aus *Xerocomus chrysenteron* (Bull. ex St. Amans) Quél. und Untersuchungen zur Frage des Vorkommens von Anthrachinonpigmenten bei Boletaceen. *Z. Naturforsch.* **23b**: 1044-1050.
- WATLING, R. (1994) - Taxonomic and floristic notes on some Malaysian larger fungi. I. *Malay. Nat. J.* **48**: 67-78.
- WATLING, R. & S. S. LEE (1995) - Ectomycorrhizal fungi associated with members of the Dipterocarpaceae in Peninsular Malaysia. I. *J. Trop. Forest Sci.* **7**: 657-669.



Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.
German Mycological Society

Dieses Werk stammt aus einer Publikation der **DGfM**.

www.dgfm-ev.de

Über [Zobodat](#) werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- **Zeitschrift für Mykologie**
Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- **Zeitschrift für Pilzkunde**
(Name der Hefreihe bis 1977)
- **DGfM-Mitteilungen**
Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- **Beihefte der Zeitschrift für Mykologie**
Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der [Creative Commons Namensnennung - Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz](#) (CC BY-ND 4.0).



- **Teilen:** Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- **Namensnennung:** Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw. Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- **Keine Bearbeitungen:** Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die [vollständigen Lizenzbedingungen](#), wovon eine [offizielle deutsche Übersetzung](#) existiert. Freigibiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society](#)

Jahr/Year: 1996

Band/Volume: [62_1996](#)

Autor(en)/Author(s): Arnold Norbert, Steglich Wolfgang, Besl Helmut

Artikel/Article: [Zum Vorkommen von Pulvinsäure-Derivaten in der Gattung Scleroderma 69-73](#)