

Pilzfarbstoffe, ein Überblick aus chemischer Sicht mit besonderer Berücksichtigung der Russulae¹

Von C. H. Eugster²

Einleitung

Zur Charakterisierung einer Pilzspezies hat der Mykologe seit jeher den spezifischen Farbcharakter irgendeines Organes, sei es der Sporen, des Mycels, der Trama oder der Cutis, herangezogen. Zu diesem Zweck werden oft derart weitgehend differenzierte Farbbezeichnungen angewendet, daß zur Erzielung von Eindeutigkeit Hinweise auf normierte Farbtabelle notwendig geworden sind. Noch feinere Unterscheidungen sind mit modernen chemischen und physikalisch-chemischen Methoden möglich: so kann eine mit „Neapelgelb“ umschriebene Farbqualität auf strukturell recht verschiedene Inhaltsstoffe zurückgeführt werden. Gelingt demnach deren Differenzierung, z. B. durch chromatographische und spektroskopische Methoden, so besitzen wir damit eine verfeinerte und informationsreichere Charakterisierung der betrachteten Spezies als durch die bloße Farbbeschreibung.

Die Farberscheinungen der Pilze sind, soweit ich die Situation zu überblicken vermag, stets auf chemische Verbindungen zurückzuführen, deren chromophores System für die selektive Lichtabsorption verantwortlich ist. Physikalische Farberscheinungen, z. B. Beugungserscheinungen (Schmetterlingsflügel), sind meines Wissens bei Pilzen noch nicht bekannt geworden³.

Ein Pilzorganismus erzeugt im allgemeinen sehr viele und oft auch sehr verschiedenartige Inhaltsstoffe. Diese sind noch in keinem einzigen Fall auch nur annähernd vollständig bekannt geworden. In der Mehrzahl bestehen sie aus farblosen Verbindungen. Es ist deshalb Willkür, nur diejenigen Stoffe herauszugreifen, die wegen ihrer Farbigkeit dem menschlichen Auge auffallen. Von biogenetischen und strukturellen Gesichtspunkten her gesehen ist eine derartige Auswahl nicht sinnvoll. Am deutlichsten läßt sich diese Aussage durch ein typisches Beispiel belegen: Chinone sind wegen ihres π -Elektronensystems in der Lage, im Sichtbaren zu absorbieren (400–800 nm), sind also farbig. Ihre Reduktionsprodukte hingegen, in die sie leicht und reversibel übergehen, sind oft farblos. So enthält *Hydnellum (Hydnum) aurantiacum* die violette Telephorsäure (13), *Corticium caeruleum* jedoch ihr farbloses Hydrochinon (16) in Form des stabilen Methyläthers (R = CH₃) [1].

1 Nach einem Vortrag, gehalten an der Jubiläumstagung der Deutschen Gesellschaft für Pilzkunde, Regensburg 15.9.1972

2 Organisch-chemisches Institut der Universität, Rämistraße 76, CH-8001 Zürich.

3 Wenn Pilzhüte beim Austrocknen sich stark entfärben und dann im trockenen Zustand eine andere Farbe als im feuchten zeigen, nennt man sie *hygrophan*. Vielleicht hat dieses Phänomen mit Lichtbeugung oder -brechung etwas zu tun. Ich danke den Herren C. Furrer-Ziogas, Basel, und Prof. M. Moser, Innsbruck, für eine Diskussion.

Die Analyse der Pilzfarbstoffe, d. h. Isolierung und Strukturaufklärung, ist Aufgabe des Naturstoffchemikers. Alle daran sich anschließenden Fragen nach Sinn und Bedeutung der Farbstoffe gehen über die Zuständigkeit des Chemikers hinaus.

Berücksichtigt man Basidiomyceten, Ascomyceten und Deuteromyceten, so stellt man fest, daß bis heute (1972) über 300 verschiedene Farbstoffe isoliert und charakterisiert, d. h. in ihrer Struktur ganz oder weitgehend aufgeklärt worden sind. Um 1930 waren erst etwa 5 Pilzfarbstoffe strukturell geklärt (K ö g l , 1932). Die Farbstoffe umfassen jetzt den ganzen Spektralbereich vom hellsten Gelb bis zum markanten Blau. Am häufigsten kommen gelbe, orangefarbene und rote Farbstoffe⁴ vor. Einige hat man bisher nur in einer einzigen Art gefunden, andere, z. B. die Thelephorsäure (13), in gegen 50 Spezies nachgewiesen.

Für die Farberscheinung einer Art haben die Farbstoffe sehr unterschiedliche Bedeutung, wie folgende Beispiele verdeutlichen: in der Zinnobertramete (*Pycnoporus cinnabarinus*) kommen im wesentlichen nur 2 Farbstoffe vor (Cinnabarin (149) und Cinnabarinensäure (150); sie bedingen demnach die Farberscheinung. In *Amanita muscaria* hingegen liegt ein Gemisch von etwa 10, in *Russula sardonia* von ca. 15 und in *Penicillium islandicum* sogar von 27 Farbstoffen vor. Einige davon sind natürlich ausgesprochene Spurenverbindungen, die erst bei sehr genauer Analyse an viel Ausgangsmaterial zum Vorschein kommen, wie man sie etwa bei wirtschaftlich oder toxikologisch bedeutsamen Arten durchführt.

Noch andere Faktoren sind für die Farberscheinung wichtig: ich nenne neben der typischen und vom chromophoren System bestimmten Absorption die Farbstärke (Extinktion) der verschiedenen Farbstoffe, die in weitesten Grenzen variieren kann, die absolute Menge an Farbstoff, die ebenfalls sehr veränderlich ist – so enthält z. B. der Fruchtkörper von *Hapalopilus nidulans* (*Polyporus rutilans*), der zimtbraun und nicht besonders auffällig gefärbt ist, bis zu 23% Polyporsäure (10) und *Pyrenophora graminea* erzeugt in Kultur die beiden roten Farbstoffe Helminthosporin und Catenarin bis zu 30% des Mycelgewichtes, noch extremer ist *Aspergillus umbrosus*, der unter ausgesuchten Kulturbedingungen bis 70% seines Gewichtes an Physcion (36) und Erythroglaucon (38) erzeugt⁵ –, das Substrat, in dem sich der Farbstoff befindet – pH-Effekte, Chelierung mit Metallionen, Adsorption auf Zellmembranen und Verteilungsgrad können die Farberscheinung gegenüber der Lösung des reinen Stoffes stark modifizieren –, und schließlich Begleitstoffe, die die Farbnuance beeinflussen können⁶.

Alle diese Faktoren bestimmen Farbton, Sättigung und Helligkeit jedes Farbeindrucks. Die modernen und objektiveren Methoden der Farbmeterik sind an intakten Pilzen offenbar noch kaum angewendet worden.

4 Ich vermeide den Begriff „Pigment“ deshalb, weil er in der Farbstoffchemie auf solche Farbstoffe beschränkt ist, die in Wasser und in organischen Lösungsmitteln nicht oder äußerst schwer löslich sind und die deshalb nicht in echter Lösung, sondern in feinsten Dispersion appliziert werden.

5 Gehaltsangaben beziehen sich auf Trockengewicht.

6 Bei Blütenfarben unter dem Begriff „Kopigmentation“ zusammengefaßt, d. h. Beeinflussung durch Begleitstoffe, die an und für sich nur geringe Eigenfarbe aufweisen.

Die Pilzfarbstoffe

Um die Besonderheiten der Pilzfarbstoffe hervorzuheben, ist es nützlich, zuerst die Farbstoffe der autotrophen Pflanzen zu betrachten. Wir teilen die wichtigeren davon zweckmäßig in 3 Hauptgruppen ein (Tabelle 1). Plastidenfarbstoffe kommen bei Autotrophen ubiquitär vor. Da Pilze keine entsprechenden Organellen besitzen, finden wir gerade hier die größten Unterschiede: Chlorophyll und seine Derivate fehlen den Pilzen definitionsgemäß; überhaupt sind Pyrrol-derivate bisher in Pilzen erstaunlich selten nachgewiesen worden. Carotinoide hingegen kommen in mehreren Pilzgattungen reichlich vor.

Tabelle 1: Farbstoffklassen der Autotrophen

1. Plastidenfarbstoffe	<ul style="list-style-type: none"> – Chlorophylle – Phycobiline – Carotinoide – Plastochinone
2. Im Zellsaft gelöste (vakuoläre und cytoplasmatische) Farbstoffe	<ul style="list-style-type: none"> – Anthocyane – Flavonoide⁷, Xanthone – Betalaine – Verschiedene
3. In anderen Organen (Zellwänden, Harzkanälen, Rinde, Drüsen) abgelagerte Farbstoffe	<ul style="list-style-type: none"> – Chinone – Flavonoide⁷ – Verschiedene

Plastochinone spielen eine wichtige Rolle im Elektronentransport innerhalb der Atmungskette und kommen deshalb in grünen Pflanzen weitverbreitet vor. Sie fallen jedoch farblich nie auf. Bei Pilzen sind sie in einigen Vertretern von Ascomyceten und Deuteromyceten nachgewiesen worden.

Bei den vakuolären Farbstoffen finden wir folgende Verhältnisse: die in grünen Pflanzen so weitverbreiteten und für die Farberscheinung von Blüten wichtigen Anthocyane fehlen den Pilzen allgemein; von der großen Gruppe der Flavonoide ist erst vor kurzem ein etwas atypischer Vertreter in einer *Aspergillus*-Art gefunden worden; Betalaine, die typischen Farbstoffe von Centrospermen, sind vor kurzem in 2 Basidiomyceten nachgewiesen worden; Chinone schließlich sind bei Pilzen weitverbreitet.

Eine geordnete Besprechung der Pilzfarbstoffe erfolgt heute am besten anhand der Strukturmerkmale, womit gleichzeitig die wichtigsten chromophoren Systeme berücksichtigt werden können. Dort, wo allerdings erst wenige Vertreter bekannt geworden sind, soll eine übermäßige Unterteilung vermieden werden. Wir erhalten damit 9 Gruppen (Tabelle 2):

⁷ Umfassend Flavonole, Flavanole, Isoflavone, Chalkone, Aurone u. ä.

Tabelle 2: Einteilung der Pilzfarbstoffe

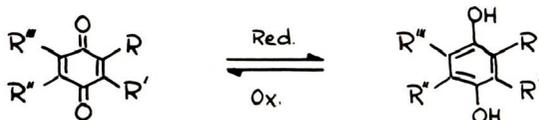
1. Chinoide Verbindungen
2. Pulvinsäuren
3. Pyrone incl. Chromone und Xanthone
4. Polyene incl. Carotinoide
5. Sesquiterpene
6. Phenalenone & Tropolone
7. Arylcarbonyl- und Cyclohexadienon-Verbindungen
8. Verschiedene N-haltige Verbindungen
9. Russulafarbstoffe⁸

Benutzte man andere, z. B. biogenetische Kriterien, so entstünde eine andersartige Einteilung.

1. Chinoide Verbindungen

a) Benzochinone

Heute sind etwa 40 strukturell verschiedene Benzochinone aus Ascomyceten, Deuteromyceten und Basidiomyceten bekannt. Die meisten stammen aus Kulturen, wenige aus natürlich gewachsenen Organismen. Chinone stehen zu ihren Hydrochinonen in einem Redoxgleichgewicht:



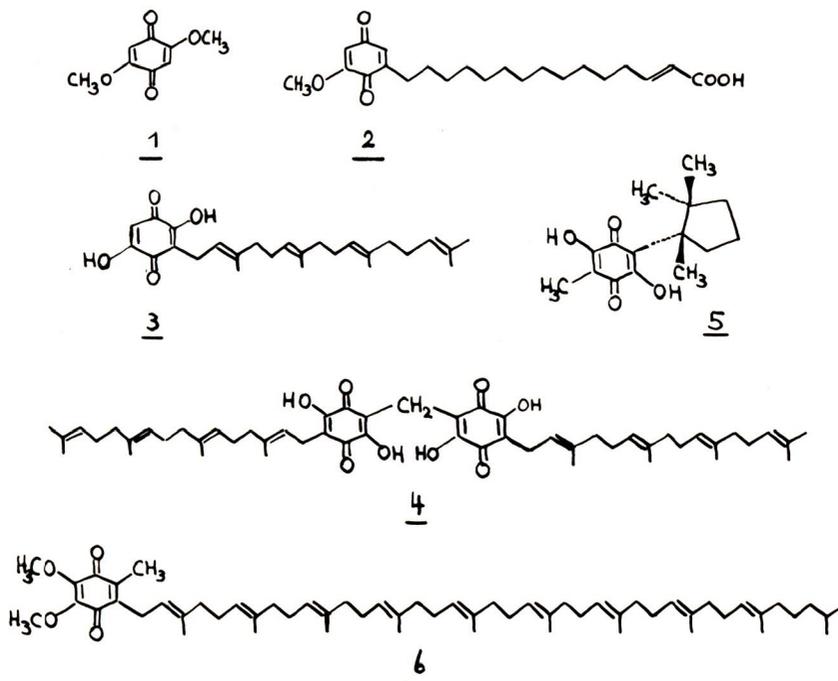
R = H, Alkyl, OH, OCH₃, Aryl

Durch Reduktion entsteht aus dem gefärbten Chinon (gelb, orange) das farblose Hydrochinon. 1 : 1-Gemische von Chinon und Hydrochinon sind die stark gefärbten Chinhydron (Charge-Transfer-Komplexe). Sie kommen auch in Kulturen vor, z. B. von *Penicillium urticae* (*P. patulum*) das violette Chinhydron von Gentsylchinon (R = CH₂ OH, R' = R'' = R''' = H). In einigen Fällen ist nachgewiesen, daß die Hydrochinone sich in Kulturen zuerst bilden und die Chinone daraus allmählich durch Oxydation entstehen. Niedersubstituierte Benzochinone sind reaktionsfähig. Sie reichern sich in Organismen selten in höheren Konzentrationen an. Zahlreiche Chinone weisen antibiotische Eigenschaften auf.

⁸ Von Gruppe 8 aus vortragstechnischen Gründen abgetrennt.

Die Strukturen der Benzochinone aus Pilzen zeigen große Variabilität, wie folgende Beispiele belegen (Schema 1):

Schema 1 Strukturen einkerniger Benzochinone

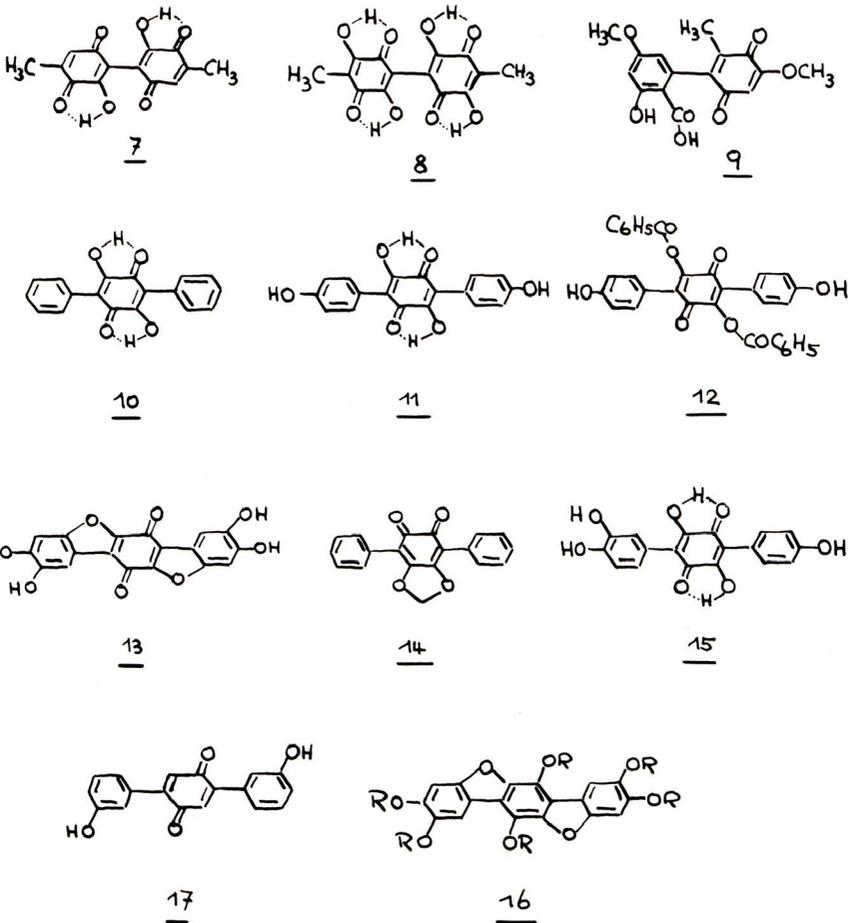


Das sehr einfach gebaute, gelbe⁹ 2,5-Dimethoxybenzochinon (1) ist aus Kulturen von *Bjerkandera (Polyporus) fumosa* isoliert worden. In vitro entsteht es leicht durch Anlagerung von 2 Molekülen Methanol an Benzochinon und nachfolgende Oxydation des intermediären Hydrochinons. Aus der gelben *Sarcodontia setosa*, einem holzzerstörenden Pilz, der gern auf alten Apfelbäumen parasitiert, wurde die gelbe Sarcodontsäure (2) isoliert. Die Seitenkette aus 15 C-Atomen deutet auf die Teilnahme einer höheren Fettsäure an der Biosynthese hin. Der Kuhröhrling, *Suillus bovinus*, enthält eine Mischung verschiedener Benzochinone, nämlich des orange-gefärbten Bovinon-4 (3), des gelborange-farbenen Amitenons (4) und des braunen, einen bronzenen Oberflächenglanz aufweisenden Atromentins (11), zusammen mit Variegatorubin (78) und Variegatsäure (76). 3 & 4 sollen die Ursache für die Rosafärbung sein, die beim Befeuchten des Pilzkörpers mit Alkohol auftritt, während 76 für die Blaufärbung verantwortlich ist, die beim Durchschneiden des Fruchtkörpers beobachtet wird (siehe Abschnitt 2). Bovinon-4 enthält die isoprenoide Geranyl-geranylseitenkette. Geranyl-geraniol ist auch Ausgangsprodukt der biologischen Diterpen- und Carotinoidsynthese. Es ist deshalb auffällig, daß für *Suillus bovinus* keine Carotinoide bezeugt sind, wie übrigens auch nicht für andere Vertreter der *Boletales*. In *Chroogomphus (Gomphidius) rutilus* ist das niedrigere Isoprenologe, Bovinon-3, gefunden worden; seine C-15-Seitenkette entspricht dem Famesylrest, einem

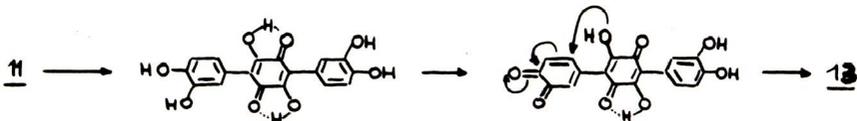
9 Farbangaben beziehen sich stets auf die kristallinen Reinstoffe.

biologischen Ausgangsmaterial für Sesquiterpen-, Triterpen- und Steroidsynthesen. In beiden Pilzarten sind auch höhermolekulare Chinone entdeckt worden, welche durch Verknüpfung der Monomeren mit einer C-1-Einheit (Formaldehyd) zustande kommen; ein Beispiel ist das erwähnte gelborange-gefärbte Amitenon (4). Ebenfalls isoprenoide Bau besitzt das orangefarbene Helicobasidin (5), welches aus dem gallertigen Basidiomycet *Helicobasidium mompa* isoliert worden ist. Verwandte Stoffe, die Lagopodine A und B, hat man aus der Hasenpfote, *Coprinus lagopus*, extrahieren können. Noch viel längere isoprenoide Seitenketten weisen die biologisch bedeutsamen Ubichinone auf, von denen die Struktur eines Vertreters, des X-Dihydro-ubichinons (6) wiedergegeben ist. Man fand diese Verbindung in Hefen, Aspergillen und Penicillien. Eine viel weitere Verbreitung solcher und ähnlicher Verbindungen im Pilzreich ist anzunehmen. Die lange aliphatische Seitenkette verleiht lipophilen Charakter, was eine Verankerung dieser Verbindungen in Lipoiden begünstigt oder das Eindringen des Chinon-teils überhaupt erst ermöglicht.

Schema 2: Strukturen mehrkerniger Benzochinone



Fruchtfleisches mit verdünnter Ammoniaklösung eintritt. Dieselbe Farbreaktion tritt auch beim Behandeln des reinen Farbstoffes mit Basen ein. Sie stellt die Überführung des Hydrochinons in das tieferfarbige Mono-anion dar. Eine ähnliche, wenn auch bedeutend schwächere Reaktion gibt auch Atromentin (11). Mit Hilfe dieser Farbreaktion konnte *Stahlschmidts* Pilzart später wieder identifiziert werden: *Hapalopilus nidulans* (*Phaeolus rutilans*). Polyporsäure hat man seither in *Lopharia papyracea*, *Peniophora filamentosa* sowie in Flechten aufgefunden. Mit der Polyporsäure verwandt sind die viel verbreiteteren Terphenylchinone Atromentin (11, dunkelbraun), Aurantiacin (12, dunkelrot), Thelephorsäure (13, schwarzviolett), Phlebiarubron (14, rot) und das braune Leucomelon (15). Sie kommen fast alle in Basidiomyceten, in zahlreichen Arten und Gattungen vor, Thelephorsäure beispielsweise in *Tomentella*, *Kneiffiella*, *Caldesiella*, *Thelephora*, *Hydnellum*, *Sarcodon*, *Boletopsis*, *Polyozellus*, *Lenzitopsis*, *Phellodon*, *Coriolus (Polystictus)*, *Bankera*, *Phlebia* und *Omphalotus (Clitocybe subilludens)* und zudem noch in Flechten [2]; merkwürdig ist der Befund, daß *Phlebia strigosozonata* in Fruchtkörpern Thelephorsäure liefert, in Mycelkultur hingegen das ortho-Chinon Phlebiarubron (14), das sich wegen der Methylenbrücke nicht mehr in das an und für sich stabilere para-Chinon umwandeln kann. Atromentin bedingt die braune Farbe von *Paxillus atrotomentosus*; das blasse Fleisch enthält das farblose Hydrochinon, welches bei der Extraktion und Aufarbeitung sich leicht zum Chinon 11 oxydiert. Auch Atromentin ist ein schon lange bekannter Naturstoff (Thörner 1878); die Ableitung der Strukturen von 10 und 11 ist das Verdienst von F. Kögl und Mitarbeitern (1924–1926). Aurantiacin (12) ist der bis-Benzoessäureester von Atromentin. Es ist vor allem in *Hydnellum*-Arten, meist begleitet von Thelephorsäure, gefunden worden. Diese entsteht offensichtlich aus Atromentin durch Hydroxylierung zu einem Brenzcatechinderivat, woraus nach Oxydation zum Orthochinon eine intramolekulare Addition der Hydroxylgruppen am p-Chinonkern stattfindet:



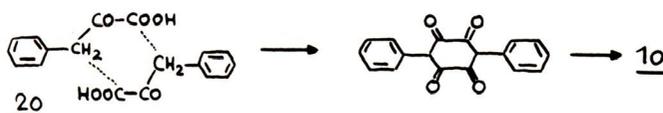
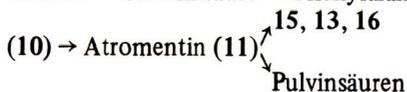
Leucomelon (15) ist bisher nur für den japanischen Speisepilz *Boletopsis leucomelas* (= *Polyporus leucomelas*) angegeben. Es könnte durchaus auch ein Zwischenprodukt der angegebenen Sequenz darstellen. Ausgehend von 15 ließe sich auch ein Produkt mit einem Furanring voraussehen, das aber noch nirgends aufgefunden worden ist. Deutlich verschieden von den genannten Terphenylchinonen ist Volucrisporin (17), das aus dem Deuteromycet *Volucrispora aurantiaca* (Kulturen) isoliert worden ist. Von den bisher genannten Terphenylchinonen unterscheidet es sich durch die meta-Hydroxylierung der Phenylsubstituenten und durch das Fehlen der sauren Chinon-hydroxyle. Die Leucoverbindung 16 aus *Corticium caeruleum* ist bereits in der Einleitung erwähnt worden.

Der rote Farbstoff des Fliegenpilzes, das sog. „Muscarufin“, ist seit einer bekannten Arbeit von Kögl und Exleben während Jahrzehnten mit unter den Terphenylchinonen aufgeführt worden. Aus mehreren Gründen ist dem Strukturvorschlag in neuerer Zeit wachsende Skepsis entgegengebracht worden. Es steht heute mit Sicherheit fest, daß ein „Muscarufin“ im Sinn von Kögl und Exleben nicht existiert; die Fliegenpilzfarbstoffe haben völlig andere Strukturen (siehe Abschnitt 8).

Auch die Struktur der Thelephorsäure (13) hat eine wechselvolle Geschichte. Entdeckt wurde die Verbindung vom Botaniker W. Zopf (1889). Ein erster Strukturvorschlag von Kögl und Erxleben (1930) beruhte auf einer phantasievollen Phenanthrenchinonstruktur; die korrekte Formulierung im Sinn von 13 wurde von Gripenberg erbracht (1960).

Terphenylchinone haben in neuerer Zeit wieder großes Interesse erweckt: 1.) dem Atromentin wurde eine stimulierende Wirkung auf die glatte Muskulatur sowie eine parenteral und in vitro nachweisbare antikoagulierende Wirkung auf Blut nachgesagt [3]; 2.) sie sind Vorläufer der in Pilzen und Flechten verbreiteten Pulvinsäuren (Abschnitt 2); 3.) sie sind, da leicht nachweisbar und stabil, für chemotaxonomische Zwecke in Betracht gezogen worden. Dazu ist allerdings ein großes Fragezeichen zu setzen (vgl. auch [2a]), da das Vorkommen doch relativ unspezifisch* ist und zudem Leukoverbindungen, z. B. 16, vermutlich bisher übersehen worden sind.

Die Biosynthese der Terphenylchinone verläuft wahrscheinlich über den sog. Shikimisäureweg, einen fundamentalen Prozeß zum Aufbau vieler aromatischer Verbindungen: Glucose → Shikimisäure → Phenylalanin → Phenylbrenztraubensäure (20) → Polyporsäure



Phenylalanin und Phenylbrenztraubensäure nennt man $\text{C}_6\text{-C}_3$ – oder Phenylpropankörper. Demnach sind auch die Terphenylchinone aus Pilzen Phenylpropan-derivate.

Die Terphenylchinone sind allem Anschein nach die einzigen Chinone, die in Pilzen auf dem Shikimisäureweg entstehen. Alle übrigen sind auf Polyketide zurückzuführen. Dies betrifft auch die Orsellinsäure (18), welche als Vorläufer für die zweikernigen Chinone 7 und 8 erwähnt worden ist.

Durch das Gesagte wird die besondere Stellung der Terphenylchinone deutlich. Da sie, sofern die entsprechenden Enzyme vorhanden sind, leicht in andere Verbindungen umgewandelt werden, ist ihre Stationärkonzentration in Pilzorganismen oft so klein, daß sie sich einem einfachen Nachweis leicht entziehen können.

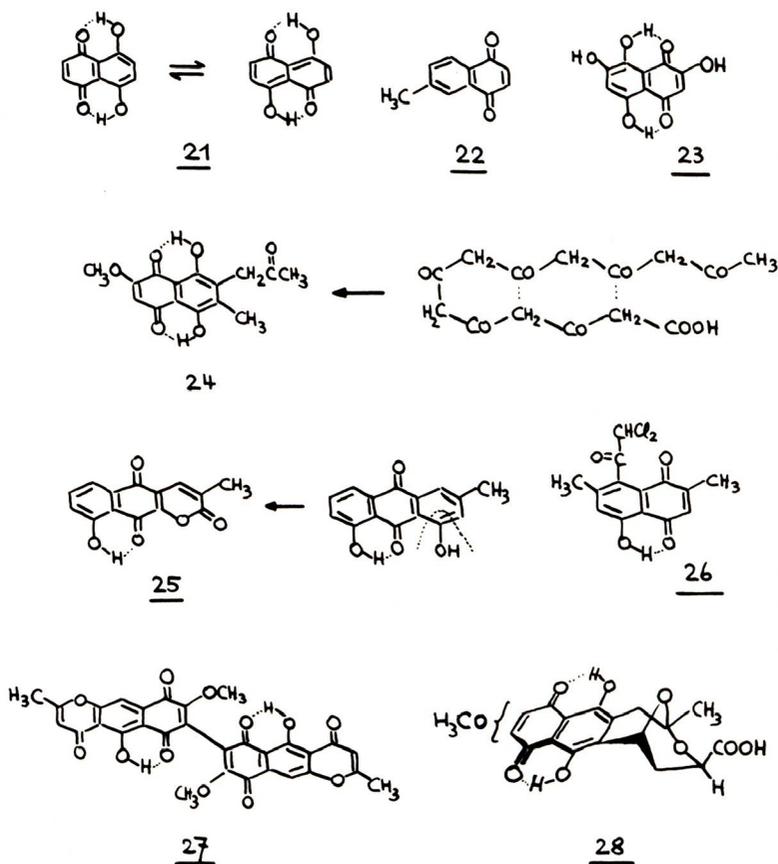
Chromophores System aller Benzochinone ist der Chinokern. Sein eigentümliches System von π -Elektronen – es hat nicht aromatischen Charakter – läßt sich durch sichtbares Licht leicht anregen. Diese Übergänge führen aber zu schwachen Absorptionsbanden im blauen Teil des Spektrums und geben damit zur gelben Farbe der Verbindungen Anlaß. Durch Substitution mit Elektronendonatoren (OH, OCH_3) werden intensivere und längerwellige Banden möglich. Sie sind stets flach und breit. Benzochinone besitzen in Lösung deshalb meist „warme“ und „gedämpfte“ Farbtöne, die meist im Gelben und Orangefarbenen, seltener im Bräunlichen liegen. Die violette Thelephorsäure fällt wegen ihres heterocyclischen, konjugierten π -Elektronensystems etwas aus diesem Rahmen.

* siehe Nachtrag

b) Naphthochinone

Das unsubstituierte para-Naphthochinon ist hellgelb gefärbt. Es läßt sich jedoch durch geeignete Substituenten so stark polarisieren, daß rote Farbstoffe entstehen. Besonders intensiv und langwellig absorbieren die perihydroxylierten Derivate (Naphthazarine 21), da diese in tautomere Formen mit besonders ausgedehntem chromophorem System übergehen können (Schema 3).

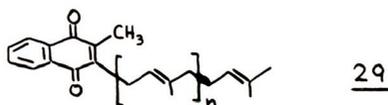
Schema 3: Strukturen von Naphthochinonen



In Basidiomyceten sind bisher erst zwei Vertreter der Naphthochinone aufgefunden worden, nämlich das goldgelbe 6-Methyl-1,4-naphthochinon (22) aus einer Kultur von *Marasmius graminum* und das rote Mompain (23), welches das Helicobasidin (5) im Mycel von *Helicobasidium mompa* begleitet. Die Synthese zweier strukturell so verschiedener Farbstoffe in ein und demselben Organismus ist bemerkenswert, dazu kommt, daß 23 auch in Stacheln von Seeigeln (*Echinoidea*) aufgefunden werden konnte.

Die übrigen Naphthochinone kommen vor allem in Deuteromyceten vor. Etliche sind bei der Suche nach Antibiotica entdeckt worden. Am eingehendsten sind die Fusarien

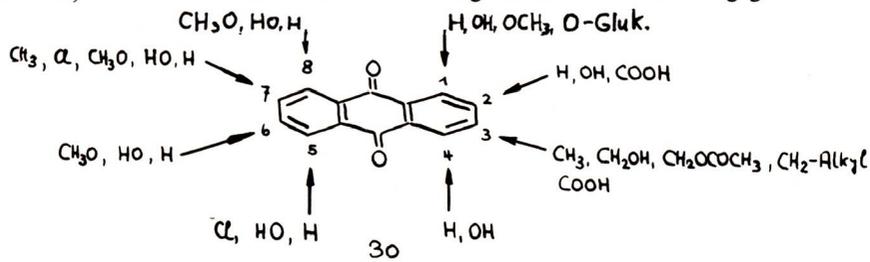
untersucht worden. Einige Beispiele zeigen die bedeutende Strukturvariabilität: das rote Javanicin (24) kommt neben verwandten Naphthochinonen in mehreren *Fusarium*-Arten vor. Biogenetisch kann es als Heptaacetat aufgefaßt werden. Das orangefarbene Lambertellin (25) aus *Lambertella*-Arten könnte als Naphto- α -pyronderivat ebensogut in Abschnitt 3 aufgeführt werden. Vielleicht ist es ein modifiziertes Anthrachinon. Eine überraschende Struktur hat das gelbe Mollisin (26), welches bei Kulturen von *Mollisia*-Arten auf Malz-agar kristallisiert ausgeschieden wird, sowie das gelbe Aurofusarin (27) und die roten Marticine (28). Aurofusarin ist schon seit 1937 bekannt; die definitive Strukturermittlung erfolgte ab 1966. Es kommt in *Fusarium*-, *Hypomyces*- und *Dactylium*-Arten vor. Der kondensierte γ -Pyronring entsteht aus einer C_4 -Seitenkette durch Ringschluß mit einem kernständigen Hydroxyl. Die Dimerisierung dürfte auf der Hydrochinonstufe durch „Phenoloxydation“ geschehen sein. Solche Dimere sind meist viel weniger löslich als die Monomeren. Die Strukturen der stereoisomeren Marticine (z. B. 28) sind noch nicht vollständig aufgeklärt. Neu unter den bisher besprochenen Strukturen ist das Vollketal, das durch Addition zweier Hydroxylgruppen an die Acetylseitenkette (vergleiche 24) und nachfolgende Wasserabspaltung zustande kommt. Verwandten Strukturen werden wir bei gewissen Anthrachinonen begegnen. Es erstaunt, daß in Pilzen bisher keine isoprenoiden Naphthochinone vom Typus des Vitamins K (29)



aufgefunden worden sind.

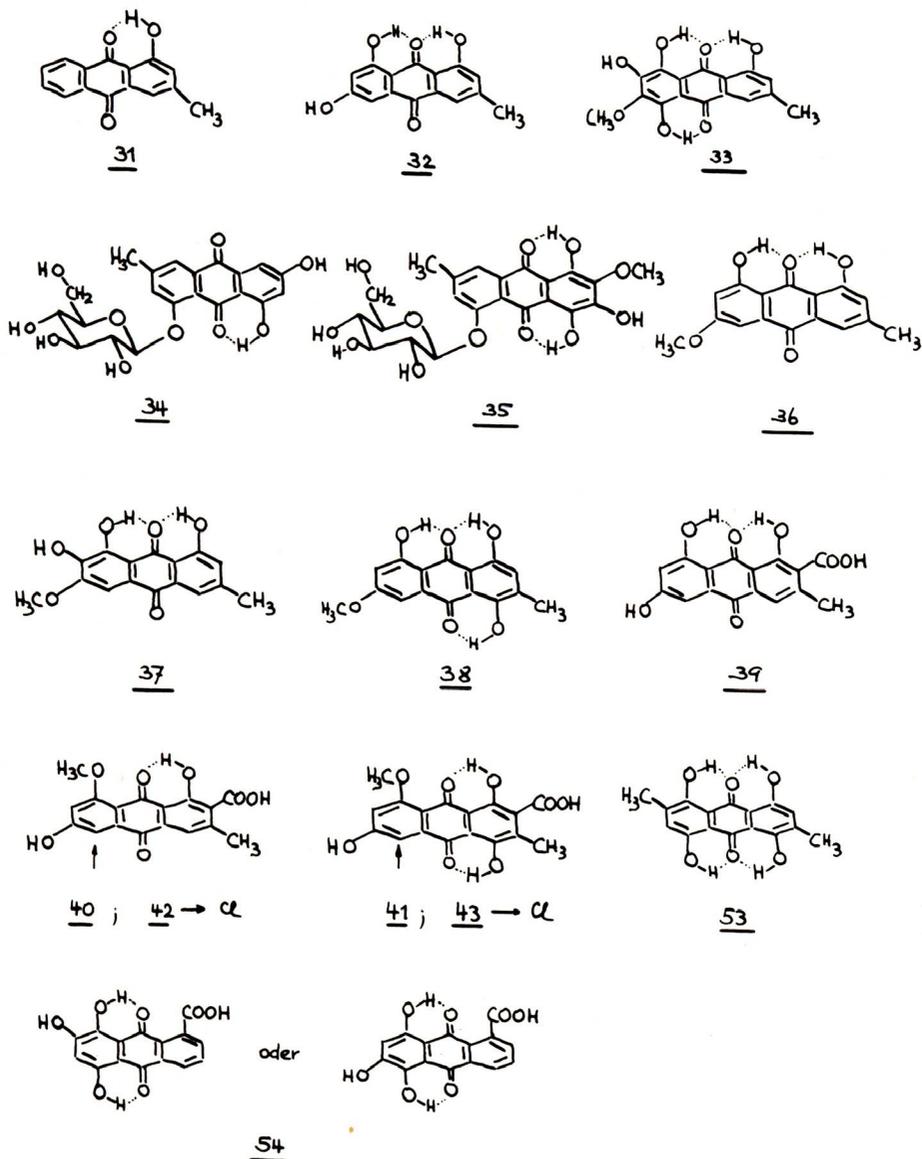
c) Anthrachinone

Anthrachinone und ihre Vorstufen sind im Pflanzenreich weitverbreitet. Da etliche von ihnen auch medizinisch verwertbare physiologische Aktivitäten besitzen („Anthrachinondrogen“), sind viele chemische Untersuchungen durchgeführt worden. Die Anthrachinone gehören deshalb mit zu den bestuntersuchten Naturstoffen. Im Pilzreich wurden die ersten Anthrachinone, nämlich das rotgelbe Emodin (32) und das rote Dermocybin (33) 1925 durch K ö g l und P o s t o w s k y im blutroten Hautkopf, *Dermocybe sanguinea*, entdeckt. Seither ist die Zahl der Pilzanthrachinone auf >80 gestiegen. Sie verteilen sich auf etwa 130 Deuteromyceten-, 30 Ascomyceten- und 80 Basidiomyceten-Spezies (Stand Ende 1972). Die Strukturvariationen sind in der generellen Formel 30 angegeben¹⁰:



¹⁰ Anthrachinone nach Faltungsschema 47 nicht berücksichtigt.

Schema 4: Einkernige Anthrachinone



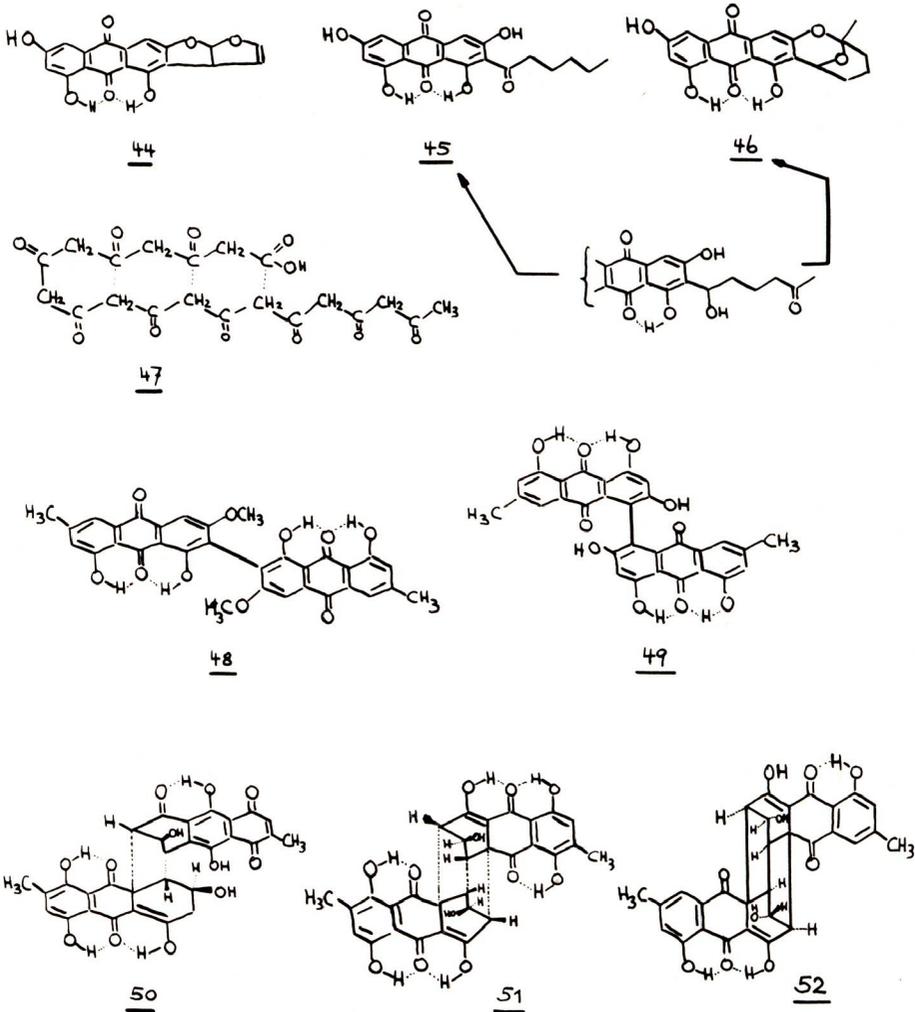
O-Methylierung ist ein häufig vorkommender metabolischer Prozeß; die Verbindungen 36 und 38 sind deshalb im Schema an Emodin angeschlossen worden.

Das Beispiel illustriert bestens die Bedeutung einer möglichst vollständigen Analyse der Inhaltsstoffe. Ein für das Verständnis der Reaktionsfolge wesentliches Zwischenglied liegt gerade dann, wenn es aktiv metabolisiert wird, in oft sehr geringer Stationärkonzentration vor. Wenn man nicht die Möglichkeit hat, mit Mutanten zu arbeiten oder mit Hemmstoffen in den Stoffkreislauf einzugreifen, bleibt nur die minutiöse Analyse der Spurenstoffe

des zu untersuchenden Organismus oder eine auf die nächsten Verwandten ausgedehnte vergleichende Untersuchung übrig. Die hierauf zum Beweis der aus den Ergebnissen sich ergebenden Hypothese folgende Verwendung von isoton markierten Verbindungen wird damit wesentlich erleichtert und zielsicherer.

Beispiele für komplizierter gebaute Anthrachinone sind: das gelborangegefärbte Versicolorin A (44), die rote Norsolorinsäure (45) und das orangefarbene Averufin (46), alle aus dem erstaunlichen *Aspergillus versicolor* (Deuterom).

Schema 5: Komplizierter gebaute Anthrachinone



Averufin ist ein Cycloketal und strukturell mit Norsolorinsäure nahe verwandt. Norsolorinsäure ist ein Bindeglied zwischen Flechten- und Pilzfarbstoffen; sie kommt auch unter den Farbstoffen der *Solorina crocea* vor. Für 45 und 46 ist das Cyclisationschema 30 für die Herkunft der Anthrachinone vermutlich durch ein anderes zu ersetzen (47).

Damit tritt formell eine Vertauschung von C-2 und C-3 etc. ein. Die Herkunft von Versicolorin A (44) ist noch nicht ganz klar. Möglicherweise ist es aus einer tetracyclischen Verbindung gebildet worden.

Dimerisationen von Anthrachinonen kommen häufig vor. Sie sind auf die „Phenoloxydation“, das ist eine oxydative, radikalische Dimerisierung, oder auf sehr eigenartige und in der gesamten Naturstoffchemie bisher ohne Analogien dastehende Additionsprozesse zurückzuführen. Beispiele für die erste Art sind Biphysson (48) aus *Tricholoma equestre* und *Dermocybe cinnamomeolutea* (entstanden aus einem Vorläufer) [10] und das dunkelorange gefärbte Skyrin (49) aus *Penicillium*-, *Penicillioopsis*-, *Endothia*-, *Sepedonium*-, *Preussia*- und *Hypomyces*-Arten. Diese beiden Verbindungen zeigen konformative Chiralität (Atropisomerie), d. h. die Rotation um die C-7-C-7'- bzw. C-5-C-5'-Bindung ist bei Raumtemperatur derart erschwert, daß Spiegelbildisomerie auftritt. 48 aus *D. cinnamomeolutea* ist die (-)-Form.

Beispiele für die zweite Art sind die von Shibata et al. [11] aufgeklärten Verbindungen (-)-Rubroskyrin (50, dunkelrot, aus *Penicillium islandicum*), (-)-Luteoskyrin (51, gelb, aus *P. islandicum*) und (+)-Rugulosin (52, gelb, aus *Penicillium*-, *Myrothecium*-, *Endothia*- und *Sepedonium*-Arten. 52 unterscheidet sich von 51 nur durch den Mindergehalt zweier OH-Gruppen und Spiegelbildlichkeit. Ähnliche Verbindungen sind aus autotrophen Pflanzen bisher nicht bekannt geworden. Sie sind nur noch dem C-Gerüst nach Anthrachinone, haben aber durch die Additionsreaktionen den charakteristischen Chromophor verloren. Luteoskyrin verursacht Leberzirrhose und in schweren Fällen Leberkrebs. Der Pilz kann gelegentlich auf Lebensmitteln vorkommen (verschimmelter Reis). Auch Rugulosin ist toxisch. Alle 3 Verbindungen haben ausgeprägte antifungische Wirksamkeit. Über Purpurogenon (69) vgl. Unterabschnitt d). Wie bereits erwähnt worden ist, besitzen alle Anthrachinone aus Pilzen an C-2 bzw. C-3 einen C-Substituenten mit Ausnahme von 53 und 54.

Die rote Verbindung 53 * (1,4,5,8-Tetrahydroxy-3,7-dimethylantrachinon) ist aus Kulturen von *Curvularia*-Arten isoliert worden, von denen einige industriell zur biologischen Hydroxylierung von Steroiden dienen, ferner auch aus *Cochliobolus=Helminthosporium*-Arten. Man nimmt an, daß die zusätzliche Methylgruppe an C-7 durch einen Methylierungsschritt auf einer Vorstufe des Anthrachinons eingetreten ist.

Ein anderer Pilzfarbstoff, der einige Berühmtheit erlangt hat, ist das sog. „Boletol“ (54) * von Kögler. Es wurde für die Blaufärbung verantwortlich gemacht, die bei Verletzung des Fruchtfleisches von verschiedenen Boleten auftritt und die mit einer enzymatischen Oxydation des roten Boletols zum blauen Dichinon erklärt wurde. Biogenetisch paßt „Boletol“ (54) nicht in das diskutierte Schema. Eindeutige Synthesen und neue Isolierungsversuche haben nun definitiv gezeigt, daß „Boletol“ als Pilzfarbstoff nicht existiert. Die Ursache der Blaufärbung wird in Abschnitt 2 erläutert; sie hat andere Gründe.

Anthrachinone können durch Substitution durch Elektronendonatoren (OH- und OCH₃-Gruppen) bis Orange und Dunkelrot polarisiert werden, in technisch verwendeten Textilfarbstoffen (Amino-Substituenten) sogar bis Blau und Grün. Die Farbstärke der Anthrachinone ist im allgemeinen größer als die der Benzo- und Naphtochinone. Ihre Farbnuancen sind „warm“. Das bekannteste „Anthrachinon-Genus“ unter den Agaricales ist das der Hautköpfe. Es ist in neuerer Zeit recht eingehend untersucht worden [4], [5],

* s. Formelschema 4

[6], [7], [8], [9]. Überblickt man die Resultate, so fällt es nicht leicht, bestimmte Strukturtypen als eigentümlich für eine systematische Gruppe zu bezeichnen. Nicht einmal die sehr kompliziert gebauten Dimeren sind es: Rugulosin (52) und Skyrin (49) kommen auch in Flechten vor! Dazu kommt, daß etliche der in Pilzen aufgefundenen Anthrachinone auch von Angiospermen erzeugt werden: so Pachybasin (31) in *Tectona grandis* (*Verbenaceae*) und *Digitalis* sp. (*Scrophulariaceae*); Emodin (32) und Physcion (36) sind sogar weitverbreitet in Autotrophen, und ähnliches gilt für andere Anthrachinone. Wegen des generellen Biogeneseschemas (Acetatweg) sind eben auch zahlreiche strukturelle Konvergenzen zu erwarten. Typisch für ein Taxon ist wohl nur das Gesamtspektrum der vorhandenen Anthrachinone.

d) Polycyclische Chinone und Methylenchinone

Es handelt sich um zwei Gruppen von Farbstoffen, deren ausgedehntes System von π -Elektronen fähig ist, sehr langwelliges Licht zu absorbieren. Wir finden deshalb unter ihnen rot bis blaugrün gefärbte Stoffe. Die erste Gruppe umfaßt die polycyclischen Chinone, d.h. solche, bei denen die beiden Chinoncarbonylgruppen verschiedenen Ringen angehören und damit durch mehr als 2 konjugierte Kohlenstoffdoppelbindungen voneinander getrennt sind. Sie sind oft schwerlösliche Verbindungen, so daß Reindarstellung und vor allem bequeme Auftrennung von Nebenkomponenten, nicht immer befriedigend durchgeführt werden kann.

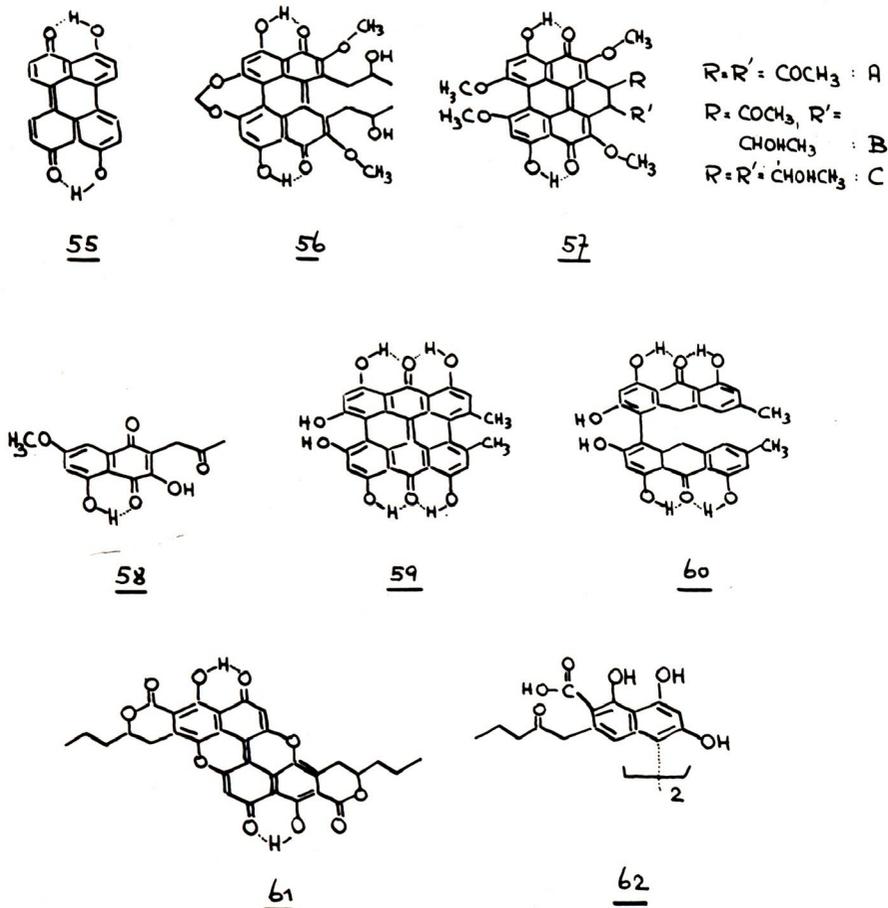
Der einfachste Vertreter dieser Verbindungsgruppe (siehe Schema 6) ist Verbindung 55, gefunden in den Stromata von *Daldinia concentrica*, einem verhältnismäßig großen Ascomycet, der mit Vorliebe auf gefällttem Laubholz, z. B. Esche, wächst. Die chemische Bezeichnung für 55 lautet 4,9-Dihydroxyperylen-3,10-chinon. Der Pilz ist recht eingehend untersucht worden, und man hat unter den verschiedenen Metaboliten auch Vorstufen von 55 identifiziert. Danach entsteht 55 aus Naphtholen durch oxydative Dimerisation und anschließende Dehydrierung. Die schwärzliche Farbe der Stromata ist wahrscheinlich auf unlösliche Polymere von 55 oder Vorstufen zurückzuführen. Ebenfalls ein Perylenchinon-derivat ist das dunkelrote Cercosporin (56) aus dem Deuteromycet *Cercospora kikuchii*, bekannt als Erreger einer Purpurfleckenkrankheit von Soyabohnen [12]. Dasselbe chromophore System enthalten die Elsinochrome (57), dunkelrote Farbstoffe aus den phytopathogenen Organismen *Elsinoe anonae*, *E. phaseoli* etc., Verursacher der „cane-spot“-Krankheit auf *Rubus*.

Durch den zusätzlichen Ringschluß in den Elsinochromen liegt nun das C-Gerüst des 1,12-Benzperylens vor. Die einzelnen Verbindungen unterscheiden sich im Oxydationszustand der beiden Seitenketten. Das Isomer D ist ein Tautomer und enthält zudem eine Methylendioxygruppe. Wahrscheinlich entstehen auch die Elsinochrome aus substituierten Naphtholen durch Dimerisation. Das korrekte C-Gerüst eines möglichen Vorläufers zeigt z. B. das orangefarbene Naphthochinon 58, das aus einer *Cylindrocarpon* sp. (Deuterom.) isoliert worden ist [13]. Die Acetylseitenkette ist recht verbreitet; wir haben sie früher in Javanicin (24) und Marticin (28) angetroffen.

Noch mehr kondensierte Ringe als 57 enthält das dunkelrote Hypericin (59), welches als photodynamischer Farbstoff der Johanniskräuter (*Hypericum* sp.) schon lange bekannt ist. Es soll laut einer schwerzugänglichen japanischen Arbeit in *Coriolus (Polystictus) versicolor* (Basidiomycetes) enthalten sein.* Biogenetischer Vorläufer solcher Stoffe sind

* siehe Nachtrag

Schema 6: Polycyclische Chinone



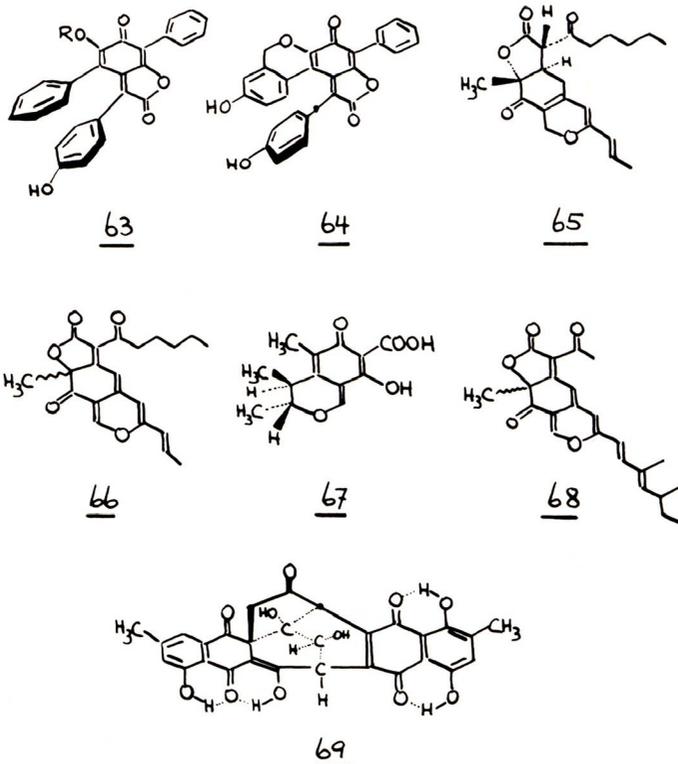
Anthrachinonvorstufen, vor allem Anthrone, welche einerseits durch Oxydation in Anthrachinone und andererseits durch oxydative, radikalische Dimerisierung („Phenol-oxydation“) in Dimere übergehen, aus denen durch weitere Dehydrierungen schließlich das C-Gerüst des Hypericins entsteht. Dieses Schema ist angedeutet in Skyrin (49) und vor allem im bis-Anthron Penicilliopsin (60), welches in *Penicillium clavariaeformis* (Ascomyc.) neben Emodin (32) und Skyrin (49) aufgefunden worden ist.

Ein ungewöhnlicher Farbstoff ist das blaugrüne Xylindein (61). Es verursacht die bekannte Grünfärbung von Eichen- und Buchenholz, wenn dieses von *Chlorociboria aeruginosa* befallen ist. Dieser eigenartige Farbstoff ist seit den Anfängen der neueren Chemie immer wieder beachtet und bearbeitet worden, z. B. vom Chemiker D ö b e r e i n e r (1813), der durch seine „Zündmaschine“ und seine Beziehungen zu G o e t h e bekannt geblieben ist, dann von L i e b e r m a n n (1874), dem zusammen mit G r a e b e Strukturaufklärung und erste Synthese des Alizarins gelang, und von K ö g l (1925, 1930), der die erste systematische chemische Untersuchung vorgenommen hat.

Korrekte Summenformel und die Strukturaufklärung stammen von Todd et al. und Edwards und Kale (1962–1965). Die Struktur **61** ist vor allem wegen der Anwesenheit zweier Pyranringe merkwürdig. Sie sind für die sehr langwellige Absorption der Molekel verantwortlich; vgl. auch dazu die Thelephorsäure (**13**). Man kann die Entstehung des Xylindeins auf ein Octaketid zurückführen, das nach Cyclisation das Naphtol **62** ergibt, welches nach Dimerisation in leicht verständlicher Art zum Xylindein führen dürfte. Neben *Chlorociboria* sind noch andere Pilze bekannt geworden, welche *in vitro* und *in vivo* Xylindein und verwandte Stoffe erzeugen. Diese sind, da die analytischen Verfahren noch nicht genügend entwickelt worden sind, strukturell noch unbekannt.

Mit den Farbstoffen von *Peniophora sanguinea*, einem holzbewohnenden Basidiomycet, kommen wir zu Strukturen, die man bereits der zweiten Gruppe, den Methylenchinonen, zurechnen darf. Darunter versteht man Stoffe, die ein ähnliches π -Elektronensystem aufweisen wie die Chinone, bei denen jedoch ein Carbonylsauerstoff durch ein ungesättigtes C-Atom ersetzt ist. Solche Methylenchinone zeigen auch Redoxverhalten, sie sind aber sehr viel reaktiver als die eigentlichen Chinone. Eine bedeutende Stabilisation tritt ein, wenn das π -Elektronensystem durch einen Äthersauerstoff abgeschlossen wird. Pilzfarbstoffe dieses Typs werden gelegentlich „Azaphilone“ genannt, da sie leicht mit Ammoniak und Aminen in Reaktion treten, wodurch neue, stickstoffhaltige Farbstoffe entstehen.

Schema 7: Methylenchinone



Peniophora-farbstoffe sind das schwarzrote Xylerythrin (63, R = H), sein O-Methyläther (63, R = CH₃) und das Peniophorinin (64), das mit Formaldehyd einen zusätzlichen Ringschluß erlitten hat. Sie sind strukturell mit dem in Abschnitt 2 besprochenen Pulvinsäurederivaten verwandt. Dort wird auch auf eine mögliche Biogenese hingewiesen werden. Ganz andere Methylenchinone sind das gelbe Monascin (65) und das orangerote Rubropunctatin (66), die für die Farbe des „gelben Reis“. einer in Ostasien geschätzten Delikatesse, verantwortlich sind. Er wird durch Inokulation mit *Monascus*-Arten hergestellt. Auch *Penicillium*-Arten haben mehrere Methylenchinone geliefert, z. B. das gelbe, antibiotisch wirkende Citrinin (67) und das rote Rotiorin (68). Das scharlachrote Purpurogenon aus *P.purpurogenum* wurde bis vor kurzem auch zu dieser Gruppe von Farbstoffen gezählt. Es erwies sich aber neuerdings [14] als modifiziertes dimeres Anthrachinon (69). Es gehört strukturell in die Nähe von Rubroskyrin (50), Luteoskyrin (51) und Rugulosin (52), hat aber auf noch ungedeutete Art und Weise ein C-Atom verloren und einen neuen Ringschluß erfahren.

Man ist noch weit davon entfernt, die überraschende Vielfalt der Strukturen dieser Stoffgruppe auf ein übersichtliches Schema zurückzuführen. Dies rührt nicht zuletzt davon her, daß die Gruppe biogenetisch uneinheitlich ist.

2. Pulvinsäurederivate

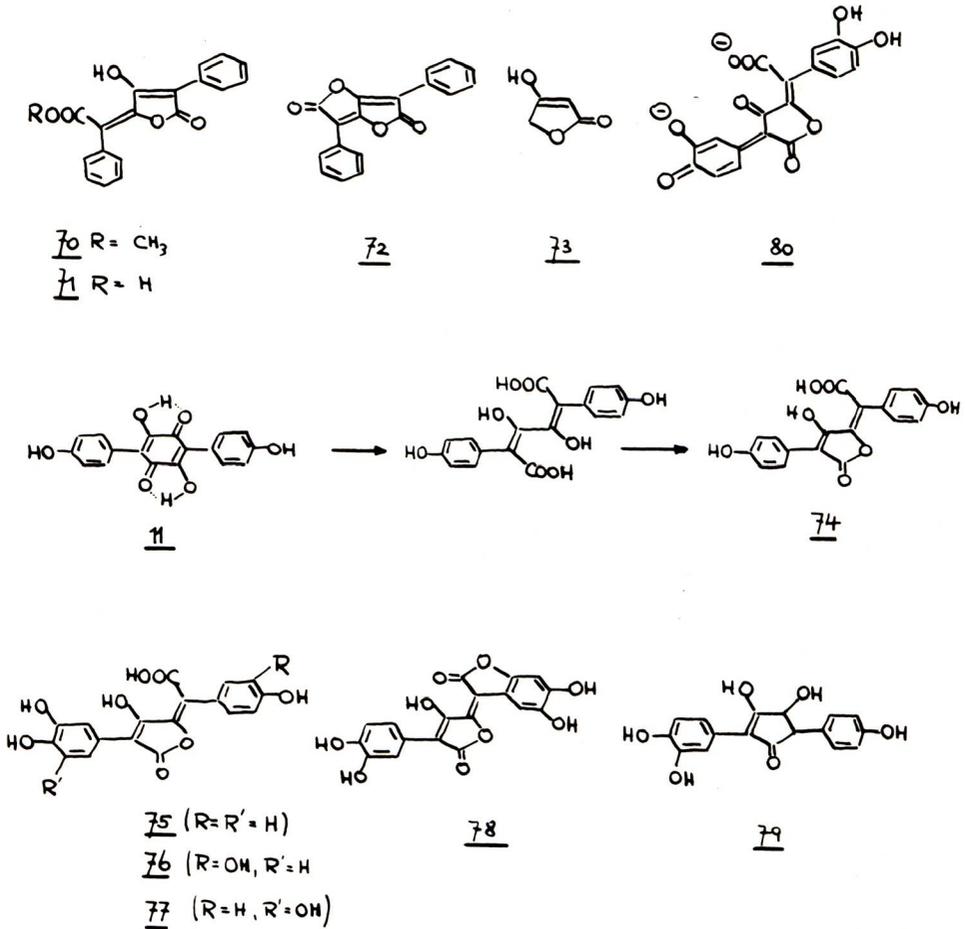
Zur Nomenklatur: Die in der auffällig gelb gefärbten Flechte *Letharia (Cetraria) vulpina* vorkommende gelbe Verbindung heißt Vulpinsäure (70). Durch Verseifen läßt sich daraus die Pulvinsäure (71) darstellen, die dann durch Erhitzen in das Dilacton, das sog. Pulvinsäurelacton (72), übergeht. (Bebert 1832; Spiegel 1882). Alle Verbindungen kommen natürlich vor. Sie können auch als Derivate der Tetronsäure (73) betrachtet werden, weshalb man oft auch diese Basis zur Benennung benutzt.

Bisher sind aus Pilzen 4 Strukturvariationen bekannt geworden, die sich ausschließlich auf Agaricales verteilen (ca. 50 Spezies). In Flechten kommen noch weitere Vertreter vor. Es handelt sich um Atromentinsäure (74), Xerocomsäure (75)¹¹, Variegatsäure (76), Gomphidsäure (77)¹¹; Variegatorubin (78) ist ein Dilacton, das sich aus dem ortho-Chinon von 76 bildet; Involutin (79)¹¹ aus *Paxillus involutus* ist eine nahverwandte Verbindung, anstelle des Lactonringes ist unter Verlust eines C-Atoms ein Cyclopentadion-(1,3)-ring entstanden. Die Überführung einer Pulvinsäure in ein 2,5-Diphenylcyclopentan-1,3,5-trion kann chemisch leicht durchgeführt werden. Falls ein solcher Weg in der Biogenese beschritten wird, muß sich eine stereospezifische Reduktion einer Carboxylgruppe anschließen, da Involutin optisch aktiv ist. Die Pulvinsäuren sind in reinem Zustand sattgelb bis orange gefärbt. Darauf beruht z. B. die schöne gelbe Farbe der Stielbasen von *Gomphidium glutinosus* oder die mattgrünlichgelbe der Röhren von *Xerocomus badius* etc. Das Dilacton 78 ist hingegen weinrot; es bedingt z. B. die rosa verfärbten Stiele und Fraßstellen von *Boletus luridus* und die Rotfärbung der Stielrinde von *B. rhodoxanthus*.

Durch Oxydation läßt sich Variegatsäure leicht in ein tiefblaues Anion eines para-Methylenchinons (80) überführen. Dies ist die heute gültige Erklärung für die Blauverfärbung, die viele Boleten bei Verletzung des Fruchtfleisches zeigen. Für das Auftreten einer Blaufärbung ist das gleichzeitige Vorhandensein eines Pulvinsäurederivates und einer

¹¹ Bzw. Formel mit vertauschten Arylresten.

Schema 8: Pulvinsäurederivate



Phenoloxydase notwendig*. Es gibt pulvinsäurehaltige Boleten, die nicht bläuen. Ihnen fehlt das oxydierende Enzym, oder es ist aus irgendeinem Grund nicht aktiv. Damit ist allerdings nicht gesagt, daß jede Blaufärbung eines Pilzes auf die Anwesenheit einer Pulvinsäure zurückzuführen wäre; jeder einzelne Fall muß sorgfältig überprüft werden. Alle früheren Angaben über „Boletol“ und „Pseudoboletol“ sind durch die neuen Ergebnisse zu ersetzen. Die von Gabriel [5] benutzten Bezeichnungen sind durch Variegatsäure bzw. Xerocomsäure zu ersetzen. Bei der recht sorgfältig charakterisierten Luridussäure von Böhm (1885) aus *Boletus luridus* hat es sich um die Verbindung gehandelt, welche heute Variegatsäure genannt wird.

Alle oben aufgeführten Angaben beziehen sich auf Vorkommen in Fruchtkörpern. Bei Mycelkulturen können andere Verhältnisse eintreten: so fand man in Fruchtkörpern von *Clitocybe illudens* Atromentin (11), in Kultur hingegen Atromentinsäure (74)[15]; bei *Paxillus involutus* in Kultur Atromentin [2a], im Fruchtkörper Involutin.

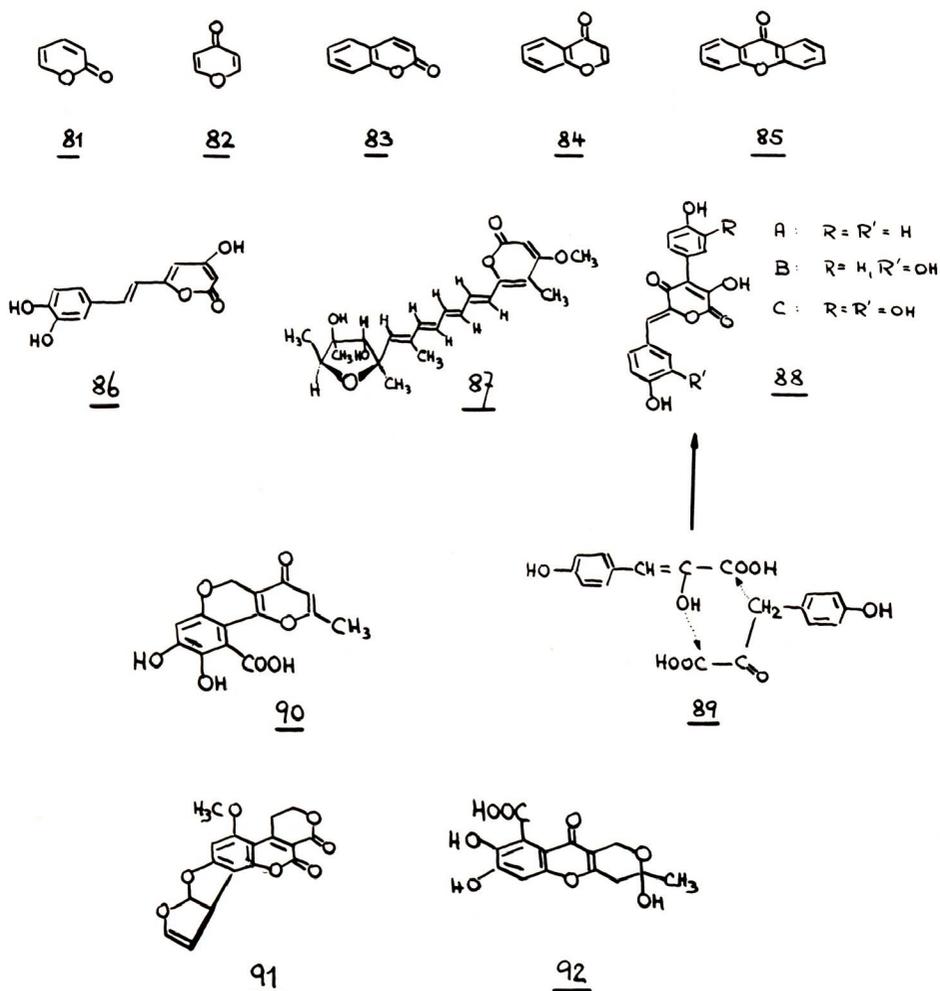
* siehe Nachtrag

Diese Angaben zeigen, daß offenbar ein enger Zusammenhang zwischen Terphenylchinonen und Pulvinsäurederivaten besteht. Er ist *in vitro* leicht zu demonstrieren, besonders elegant gelingt die Überführung z. B. von Atromentin in Atromentinsäure mit Dimethylsulfoxid-Essigsäureanhydrid [16]. Die spezifische Oxydation *in vivo* ist von Neish et al. genau untersucht worden [17].

Pulvinsäuren haben in neuerer Zeit für taxonomische Zwecke viel Beachtung gefunden, und es sind ausführliche Arbeiten darüber publiziert worden [5] [18] [19] [20]. Nicht in allen Fällen sind übereinstimmende Resultate erhalten worden. Die Untersuchungen zeigen aber klar die weite Verbreitung der Pulvinsäurederivate in *Boletales*.

3. Pyrone, Chromone, Xanthone

Schema 9: Verbindungen mit Pyronkern



In dieser Gruppe fassen wir Derivate des α -Pyrons (81), γ -Pyrons (82) und des Cumarins (83), Chromons (84) und Xanthonen (85) zusammen. Diese Grundkörper sind alle farblos; erst Derivate mit ausgedehnterem ungesättigtem System sind gelb. In Pilzen sind solche Stoffe verhältnismäßig oft aufgefunden worden, jedoch nicht annähernd so viele wie bei grünen Pflanzen, wo sie eine große Bedeutung haben.

Ein Beispiel für ein α -Pyron ist das Hispidin (86), der gelbbraune Farbstoff aus dem Fruchtkörper von *Inonotus hispidus*, ein auf Laubhölzern parasitierender und Lignin abbauender Basidiomycet. Auch *Phaeolus schweinitzii* erzeugt Hispidin in großer Menge. In den Fruchtkörpern von *Pholiota squarrosa-adiposa* überwiegt das mono-Hydroxyphenyl-analoge. Hispidin ist wahrscheinlich ein Phenylpropanderivat. Ein Zusammenhang mit dem Substrat Lignin, das ebenfalls aus Phenylpropan-einheiten aufgebaut ist, drängt sich auf, ist aber wohl nur scheinbar, da Hispidin auch von *Ph. schweinitzii* in Kultur gebildet wird. Hispidin polymerisiert sich offenbar im Fruchtkörper und macht diesen beim Altern fester und widerstandsfähiger. Man hat in diesem Zusammenhang von einem „Pilzlignin“ gesprochen.

Ein anderes α -Pyron ist das gelbe Citreoviridin (87). Es wurde aus auf Reis gewachsenem Mycel von *Penicillium pulvillorum*, *P. toxicarium*, *P. citreoviride* und *P. ochrosalmoneum* isoliert. An der Biosynthese sind neben 9 Acetateinheiten nicht weniger als 5 C_1 -Einheiten beteiligt [21]. Es kann auch als Polyen (Abschnitt 4) betrachtet werden. Citreoviridin ist ein Neurotoxin und als solches ein weiteres Beispiel für die wachsende Reihe von toxischen Metaboliten aus verschimmelten Lebensmitteln.

α -Pyrone anderer Art sind die von Steglich und Mitarbeitern [22] in den gelben Farbstoffen von *Suillus grevillei* (Goldröhrling) und *S. tridentinus* entdeckten Grevilline A, B und C (Formeln 88). Vermutlich kommen sie auch in *S. sibiricus*, *S. granulatus*, *S. collinitus*, *S. luteus*, *S. placidus*, *S. aeruginascens* var. *bresadolae* vor [2a][18]. In Dünnschichtchromatogrammen lassen sie sich von den ebenfalls gelben und sehr ähnlichen Pulvinsäuren durch Besprühen mit Schwefelsäure unterscheiden, da sie damit eine violette Farbreaktion zeigen.

In jungen Exemplaren von *S. aeruginascens* ist Nebeneinander von Variegatsäure und Grevillinen angegeben [2a], und in Kultur bilden *S. grevillei* und *S. tridentinus* Xerocomsäure [22b], womit gleichzeitig ein biogenetischer Zusammenhang gegeben ist [22a]; das früher erwähnte Schema (Formel 20) ist dazu etwas zu modifizieren: in 89 nimmt eine Enolform an der Cyclisation teil. Allerdings kann eine Bildung aus einem Terphenylchinon durch eine Retroclaisen-spaltung nicht ausgeschlossen werden; diese würde eine Variante der Spaltung zu den Pulvinsäuren bedeuten. Aufgrund papierchromatographischer Befunde wurde früher [19] das Vorkommen von Variegat- und Xerocomsäure für *S. granulatus*, *collinitus* und *grevillei* angegeben. Das Beispiel zeigt deutlich die Gefahren einer allzu schematischen Anwendung der Papierchromatographie.

Zu den γ -Pyronen gehört das zitronengelbe Citromycetin (90) aus *Penicillium spinulosum* und anderen *P.*-Arten.

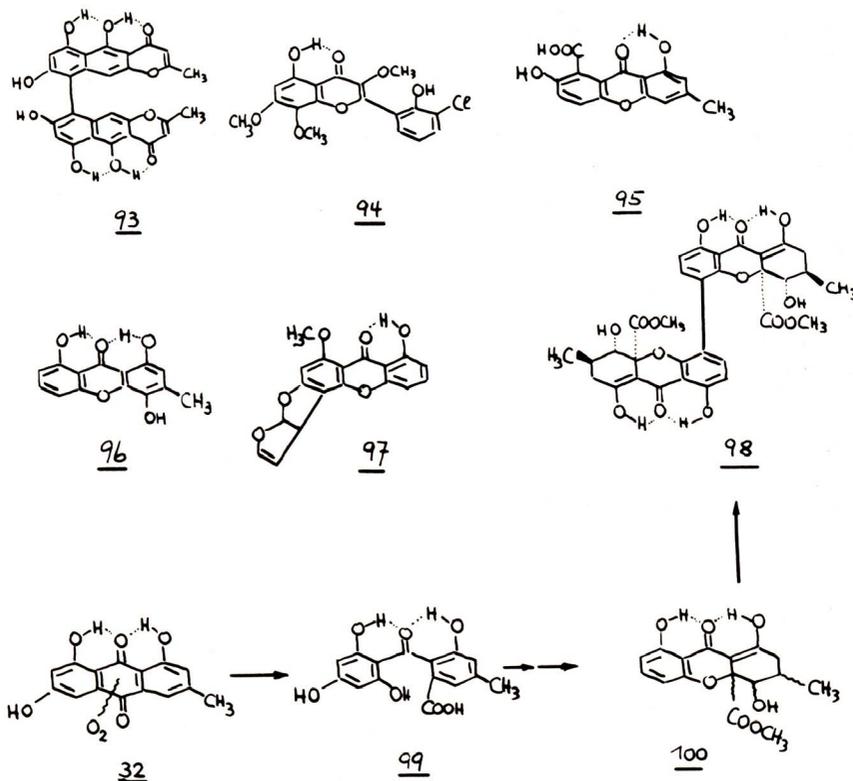
Derivate des Cumarins (83) fluoreszieren meist intensiv im langwelligen UV-Licht, sind im Tageslicht aber höchstens blaßgelb. Als Pilzfarbstoffe kommen sie kaum in Betracht. Erwähnt sei das Aflatoxin G_1 (91) aus *Aspergillus flavus* etc.

Solche Verbindungen sind aus verschimmelten Lebensmitteln, z. B. Erdnüssen, isoliert worden und haben wegen ihrer Toxizität (Erzeugung von Leberkrebs) sehr großes Interesse erweckt.

Stärker gefärbt sind die Chromone (Benzo- γ -pyrone) und die Naphthopyrone, von denen die gelbe Fulvinsäure (92) aus *Penicillium brefeldianum* und das tiefrote Ustilaginoidin A (93, Schema 10), isoliert aus von *Ustilago virens* infizierten Reisähren, genannt seien. Die 2-Phenylchromone, die sog. Flavonoide, besitzen bei grünen Pflanzen außerordentlich weite Verbreitung. Es ist, wie schon in der Einleitung betont worden ist, sehr auffällig, daß erst in neuester Zeit ein Vertreter dieser Stoffklasse in einem Pilz entdeckt werden konnte. Es handelt sich um das gelbe Chlorflavonin (94) aus Kulturen von *Aspergillus candidus* [23].

Es ist nichts darüber bekannt geworden, ob dieser Stoff auch unter natürlichen Bedingungen gebildet wird. Flavonoide sind gemischt-biogenetischer Herkunft: eine Phenylpropaneinheit (Shikimisäureweg) kondensiert sich mit 3 Acetat-Einheiten zum Flavongerüst. Beide Wege, d. h. der Shikimisäure- und der Polyacetat-Weg, sind bei Pilzen mit zahllosen Beispielen belegt. Daß prinzipiell auch die Bildung von Flavonoiden möglich ist, zeigt nun das Vorkommen von Chlorflavonin (94). Weshalb es trotzdem nicht häufiger zur Bildung von Flavonoiden kommt, ist ein Rätsel, dem nachzugehen zweifellos

Schema 10: Pyronderivate (Fortsetzung)



lohnend wäre. Über die physiologische Bedeutung der Flavonoide für die Pflanze ist trotz der außerordentlichen Verbreitung auch noch nicht viel in Erfahrung gebracht worden. Falls sie von Bedeutung für irgendeinen Schritt der Fotosynthese wären, würde ihr Fehlen

bei Heterotrophen eher verständlich werden. Etwas häufiger als Chromone sind Xanthone in Pilzen verbreitet, z. B. das gelbe Pinselin (95) aus *Penicillium amarum*, das ebenfalls gelbe Ravenelin (96) in *Gibberella zeae* und die gelblichen Sterigmatocystine, z. B. 97, welche von *Aspergillus versicolor* und *A. flavus* neben Anthrachinonen und Aflatoxinen in großer Zahl erzeugt werden. Es existieren offensichtlich biogenetische Beziehungen zwischen den genannten Stoffgruppen.

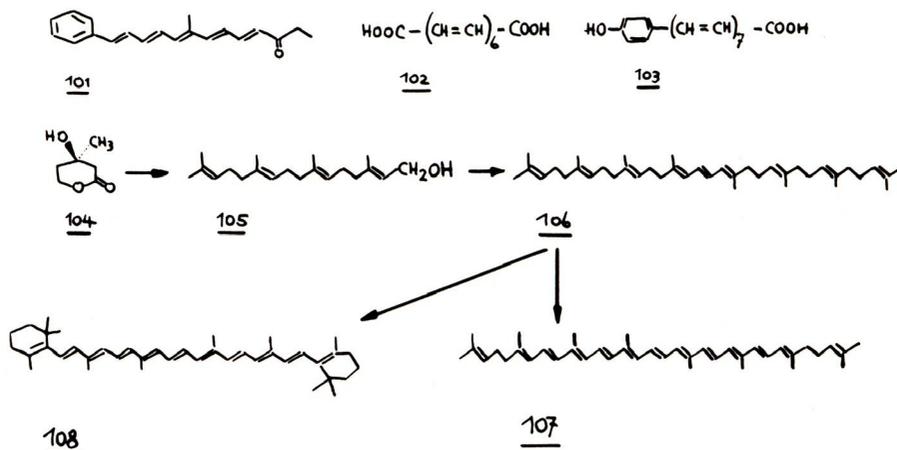
Sehr spannend ist die Geschichte der Erforschung der Mutterkornfarbstoffe verlaufen. Zwar war schon lange bekannt, daß Mutterkorn, das sind die Sklerotien von *Claviceps purpurea*, gelbe Farbstoffe enthält (D r a g e n d o r f f 1877), doch ist es erst in neuester Zeit gelungen, rationelle Verfahren zur Trennung des komplexen Gemisches zu entwickeln und die Strukturen der Einzelkomponenten aufzuklären. Mutterkorn enthält etwa 10 dimere Farbstoffe. Man bezeichnet sie heute als Ergochrome und gibt mit Buchstaben die zugrunde liegenden Molekülhälften (A, B, C, D) und mit Ziffern die Verknüpfungsstellen an. So heißt die Secalonsäure (98) heute Ergochrom AA-(4,4'). Sie ist also aus zwei gleichartig gebauten Monomeren (A-Typ) aufgebaut. Inzwischen hat sich gezeigt, daß auch andere Pilze Ergochrome aufzubauen imstande sind, so *Penicillium ochraceus* Ergochrom AC-(2,2') und *Penicillium oxalicum* das Enantiomere (Spiegelbild) von 98. Die Ergochrome sind Umwandlungsprodukte von Anthrachinonen, speziell von Emodin (32) und Endocrocin (39). Letzteres ist übrigens in geringer Menge auch im Mutterkorn enthalten. Die Umwandlung von 32 durch Oxydation zu 99 und dann zu 100 und 98 ist im einzelnen recht kompliziert.

Mit diesem Hinweis tritt die sehr große Bedeutung der Anthrachinone als Inhaltsstoffe von Pilzen noch deutlicher hervor.

4. Polyene und Carotinoide

Zahlreiche Pilze haben die Fähigkeit, ungesättigte Kohlenstoffketten aufzubauen, doch sind viele davon farblos, da sie entweder die Doppelbindungen nicht in Konjugation enthalten oder weil die Anzahl der konjugierten Doppel- oder Dreifachbindungen zu klein

Schema 11: Polyene, Carotinoide



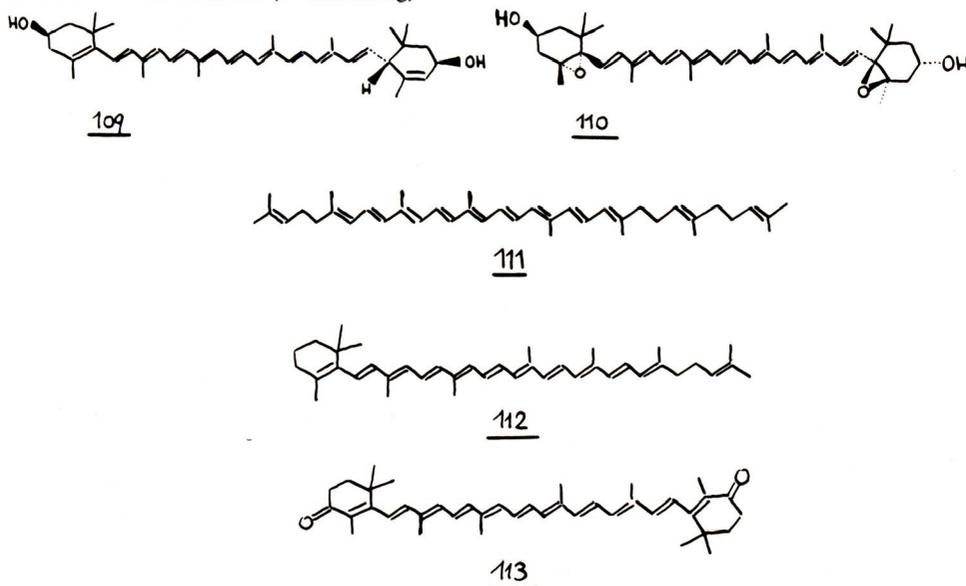
ist, um im Sichtbaren Lichtenergie aufzunehmen. Die verschiedenen Azetylenverbindungen (Poly-ine), die auch in Basidiomyceten häufig gefunden worden sind (z. B. in *Coprinus*- und *Pleurotus*-Arten), sind alle farblos.

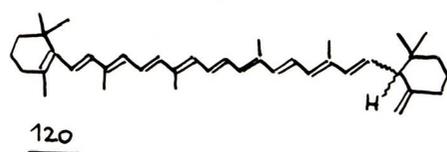
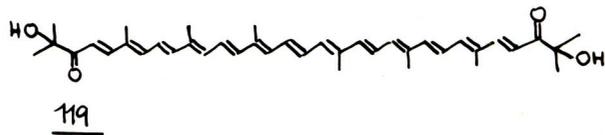
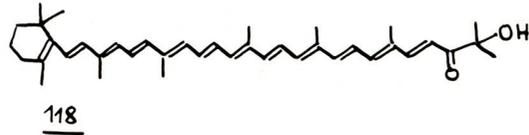
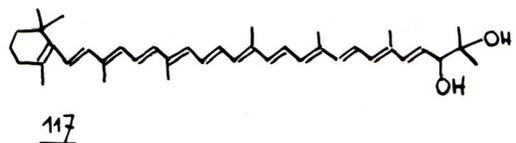
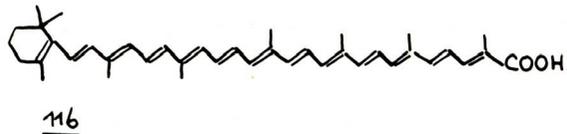
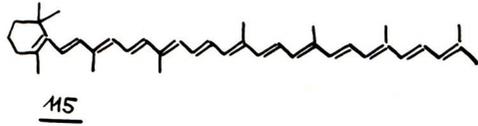
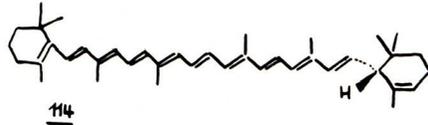
Farbig sind konjugierte Polyene vom Typus des Asperenons (**101**, gelb) aus *Aspergillus awamori* und das gelbe Corticrocin (**102**) und das violettrote Cortisalin (**103**). **102** wurde zu 4% aus dem Mycel von *Corticium croceum* (auf *Vaccinium vitis idaea*) und **103** zu 0,5% aus den Fruchtkörperchen von *C. salicinum* isoliert.

Umfangreicheres Vorkommen besitzen die Carotinoide, das sind Tetraterpene (C_{40} -Körper), die in regelmäßiger Art und Weise aus Isopreneinheiten aufgebaut sind – charakteristisch sind die methylsubstituierten Polyenkettten. Alle Terpenverbindungen entstehen aus Mevalonsäure (**104**), wobei zunächst eine C_{20} -Kette aufgebaut wird (Geranylgeraniol), die dann in sehr überraschender Art und Weise dimerisiert wird. Die ersten C_{40} -Körper sind Lycopersen [24] und cis- oder trans-Phytoin (**106**). Diese werden hierauf stufenweise von der Mitte her dehydriert. Ein bekanntes, tiefschwarzrot bis schwärzlichviolett gefärbtes Carotin ist der Tomatenfarbstoff Lycopin (**107**), ein anderes das schwarzrote β -Carotin (**108**), der Farbstoff der Karotten. Heute sind gegen 300 strukturell verschiedene Carotinoide aus natürlichen Quellen bekannt geworden. Sie unterscheiden sich nicht nur im Grad der Dehydrierung, sondern auch in den Ringschlüssen und vor allem durch die zusätzliche Substitution durch Sauerstoff; Beispiele dafür sind die in grünen Pflanzen weitverbreiteten Carotine Xanthophyll (= Lutein, **109**), ein Derivat des Kohlenwasserstoffs α -Carotin (**114**) und das Violaxanthin (**110**), ein oxydiertes β -Carotin (**108**). Gerade diese zuletzt genannten sind in Pilzen noch nie gefunden worden, worauf am Schluß des Abschnittes eingegangen wird.

In Pilzen hat man bis heute etwa 30 verschiedene Carotinoide entdeckt. Eine genauere Zahl kann deshalb nicht angegeben werden, weil Trennung von Carotinoidegemischen und Identifizierung der Komponenten viel experimentelles Können und Kritik verlangen und ältere Arbeiten sehr oft revisionsbedürftig sind. Je nach Anzahl der konjugierten

Schema 12: Carotinoide (Fortsetzung)





Doppelbindungen erscheinen Lösungen von Carotinen orangerot bis rot oder blautichig rot. Die Lösungsfarben sind sehr leuchtend und meist deutlich brillanter als die von Chinonfarbstoffen. Die Farbstärken sind sehr hoch, so daß Spuren von Carotinoiden Lösungen und Gewebe noch kräftig anfärben. Im Pilzreich ist die Verteilung auffällig unregelmäßig: in einzelnen Familien oder Gattungen sind überhaupt noch nie Carotinoide festgestellt worden, in anderen sind sie sogar die dominierenden Farbstoffe. Sehr wenig untersucht sind die farblosen Vorstufen.

Bei Basidiomyceten sind bisher nur aus folgenden Spezies Carotinoide isoliert worden; *A g a r i c a l e s*: in *Clitocybe infundibuliformis* nach einer älteren Angabe Neurosporin (111), neben einer Spur Lycopin (107) und in *Gerronema (Clitocybe) venustissimum* β -Carotin (108) und γ -Carotin (112) im Verhältnis 1:9; *A p h y l l o p h o r a l e s*: in *Cantharellus cinnabarinus* das seltene Canthaxanthin (113), in *C. lutescens* und *C. tubaeformis* Neurosporin und andere; *D a c r y m y c e t a l e s*: im orangeroten Schönhorn (*Calocera viscosa*) nach älterer und zu überprüfender Angabe ein Gemisch von β -Carotin und Cryptoxanthin, in der ähnlich gefärbten Gallerträne (*Dacrymyces stillatus*) β -Carotin, α -Carotin (114), Torulin (115) sowie Cryptoxanthin und Zeaxanthin – die korrekte Identifikation der letzten beiden muß bezweifelt werden; *U r e d i n a l e s*: in *Puccinia coronifera* Torularhodin (116) und in *Coelosporium senecionis* Rubixanthin – eine ebenfalls zu überprüfende Angabe.

Kryptoxanthin, Zeaxanthin und Rubixanthin sind Hydroxycarotinoide, die in neueren Arbeiten nie mehr aufgetaucht sind.

Moderne Carotinoidarbeiten befassen sich hauptsächlich mit Ascomyceten, die viel reicher an Carotinoiden sind als die Basidiomyceten. Hier sind auch tatsächlich eine Reihe von neuartigen Carotinoid-Kohlenwasserstoffen und Hydroxycarotinoiden gefunden und identifiziert worden. Sie verursachen die leuchtende Farbe der Fruchtkörper, z. B. der jedem Pilzfreund bekannten Apothecien von *Plectania coccinea* (s. *Sarcoscypha coccinea*) oder von *Aleuria aurantia*. Der erstgenannte Pilz enthält Plectanixanthin (117) neben Dehydroplectanixanthin (118) und β -Carotin (108); der letztere viel β -Carotin, γ -Carotin (112) und das strukturell noch nicht gesicherte Aleuriaxanthin. *Scutellinia*-Arten zeichnen sich durch hohen γ -Carotingehalt aus. *Phillipsia carminea* erzeugt Lycopin (107), Phillipsiaxanthin (119) und Dehydroplectanixanthin (118). *Caloscypha fulgens* enthält viel β , γ -Carotin (= P-444, 120). Schließlich seien noch die roten Hefen (roter Brotschimmel) *Neurospora crassa* und *N. sitophila* erwähnt, welche ein Gemisch von etwa 10 Carotinoiden, hauptsächlich aus Kohlenwasserstoffen bestehend, erzeugen, wobei die ganze Reihe, beginnend mit 5 konjugierten Doppelbindungen (Phytoflavin) und endend mit 13 (3,4-Dehydrolycopin) nachgewiesen wurde.

Versucht man, die vorliegenden Fakten zu gruppieren und zu Schlüssen zu benutzen, so ergeben sich etwa folgende Regelmäßigkeiten:

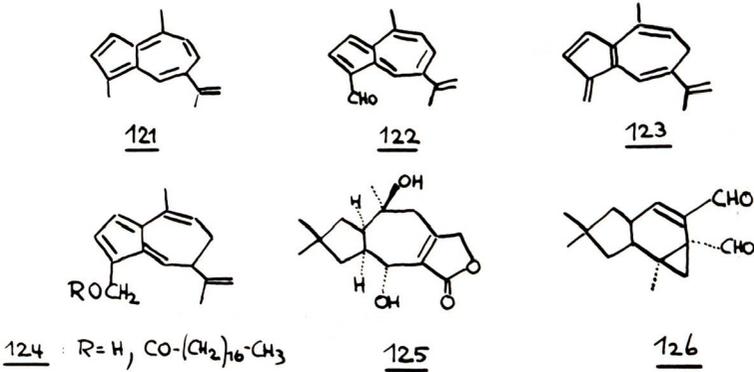
- In Pilzen überwiegen acyclische und monocyclische Carotinoide (z. B. γ -Carotin).
- Hydroxylierte Bicyclen vom Typus des Zeaxanthins, Xanthophylls etc. sind nicht mit Sicherheit nachgewiesen.
- Epoxide fehlen ganz.
- Oxydationsmuster sind deutlich verschieden von denen von Carotinoiden in grünen Pflanzen (C-4-Ketone, endständige Hydroxylierungen, gehäuftes Vorkommen von Carbonsäuren).

Da Carotinoide eng mit photosynthetischen Prozessen verknüpft sind (Schutzfunktionen, Energieübertragung und Energietransformation) sind von vornherein große Unterschiede im Carotinoidspektrum von Autotrophen und Heterotrophen zu erwarten. Im Grunde wundert man sich, daß Pilze überhaupt in der Lage sind, Carotinoide zu synthetisieren. Es würde sich lohnen, ihrer physiologischen Bedeutung für Pilzorganismen vermehrt nachzugehen. Geht mit der Höherentwicklung ein Verlust der Fähigkeit zur Carotinoidsynthese einher?

5. Sesquiterpene (Azulene)

Sesquiterpene sind Stoffe, die aus 3 Isopreneinheiten aufgebaut sind. Sie kommen in Pilzen, im Gegensatz zu den Monoterpenen, ziemlich verbreitet vor. Allerdings sind nur ganz wenige von ihnen so stark dehydriert, daß sie als Farbstoffe in Erscheinung treten. Helicobasidin (5), welches unter den Benzochinonen aufgeführt worden ist, gehört aufgrund seiner Biogenese dazu, ferner einige Farbstoffe aus *Lactarius deliciosus*, dem Edelreizker. Er enthält einen auffällig rot bis ziegelrot gefärbten Milchsaft, der bei der geringsten Verletzung in Erscheinung tritt. Er ist sehr oxydationsempfindlich, die Verfärbung nach Grünlich ist wohlbekannt. Dabei handelt es sich um Oxydations- und Eliminationsprozesse, welche die genuinen Farbstoffe verändern und in stabilere überführen. Man hat aus solchen Produkten in älteren Arbeiten blaues Lactarazulen (121), rotviolett Lactaroviolin (122) und grünes Verdazulen (strukturell nicht geklärt) isoliert.

Schema 13: Stoffe aus Lactarien



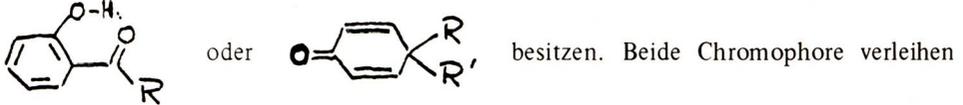
Bei schonender Aufarbeitung wurde hauptsächlich ein orangeroter Vorläufer (ein sog. Fulven) gefunden, dem Struktur 123 zugewiesen wird (Lactarofulven). Eine andere Untersuchung [25] hat noch einen anderen Vorläufer ergeben, nämlich den sehr labilen Alkohol 124 (R = H) und seinen Stearinsäureester (R = CO (CH₂)₁₆ CH₃), neben Spuren von Lactaroviolin und Lactarofulven.

Die Farbstoffe der Lactarien sind noch ungenügend untersucht. Das sog. Lactarorufin A aus *Lactarius rufus* ist farblos und hat Struktur 125 [26]. Sein C-Gerüst ist von dem der Azulene und seiner Vorstufen verschieden. Man betrachtet es als ein Humulen-derivat. Wieder ein anderes Ringgerüst besitzt Velleral, ein scharfschmeckender Stoff aus *Lactarius vellereus* (126) [27]. Es bestehen jedoch biogenetische Zusammenhänge zwischen allen genannten Verbindungen. 125 und 126 sind allerdings auch keine Farbstoffe.

wird zu **136** kernmethyliert und dann durch Oxydation in ein Cyclohexadienon-glykol (**137**) umgewandelt, an dem die Erweiterung vom 6- zum 7-gliedrigen Ring eintritt. Der Anhydridring entsteht durch Oxydation der zweiten Methylgruppe bis zur Carbonsäure.

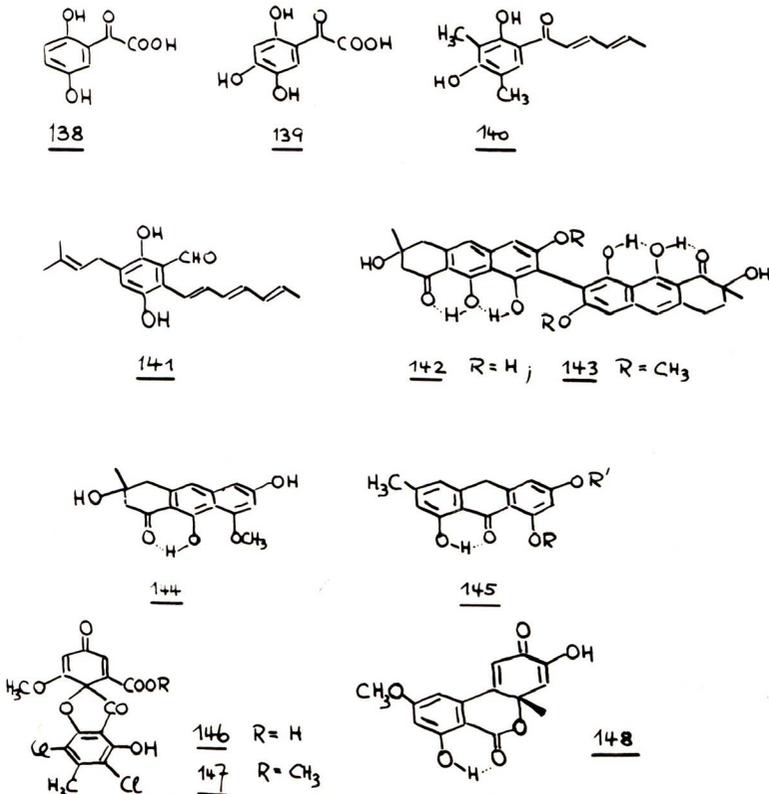
7. Arylcarbonylverbindungen (Acylphenole) und Cyclohexadienone

In diesem Abschnitt sollen einige Verbindungen besprochen werden, die als gemeinsames Strukturelement die Gruppierung



einem Molekül gelbe Farbe. Einfache Beispiele sind die gelbe 2,5-Dihydroxy-phenylglyoxyssäure (**138**) und die hellrote 2,4,5-Trihydroxy-phenylglyoxyssäure (**139**), welche neben ähnlichen Verbindungen von *Polyporus tumulosus* in Kultur gebildet werden. Es sind Benzohydrochinone, die wegen des orthoständigen Acylrestes zur Lichtabsorption im Sichtbaren fähig sind und wegen dieser Gruppe unter biologischen Bedingungen kaum zu Chinonen oxydiert werden können. Es ist nachgewiesen, daß sie aus Glucose auf dem Shikimisäure-weg über Phenylpropan-verbindungen entstehen. Andere Beispiele sind das orangegefärbte Sorbicillin (**140**) aus *Penicillium notatum* (es wurde als Verunreinigung in Penicillin entdeckt) und das orangerote Auroglaucin (**141**) aus *Aspergillus glaucus*. Das

Schema 15: Acylphenole und Cyclohexadienone



früher erwähnte orangegefärbte Penicilliosin (**60**) und andere Anthrone gehören in bezug auf ihren Chromophor auch in diese Gruppe wie auch das leuchtend gelbe Flavomannin (**142**), das in *Penicillium wortmanni* neben Skyrin (**49**) und Rugulosin (**52**) gefunden wurde.

Penicilliosin hat eine merkwürdige Geschichte: es wurde von S o l m s - L a u b a c h in *Penicilliosis clavariaeformis*, der in Java auf abgefallenen Früchten von *Diospyros macrophylla* wächst und schwefelgelbe Fruchtkörper bildet, entdeckt. Wegen der stark orangefarbenen Fluoreszenz wurde es für ein Porphyrinderivat gehalten, was aber von Hans F i s c h e r widerlegt werden konnte. Schon den ersten Bearbeitern (DHERE; OXFORD und RAISTRICK) fiel die Fotolabilität auf (Ringschlußreaktion!).

In den Basidiomyceten *Dermocybe uliginosa*, *D. cinnamomeolutea*, *D. palustris* var. *sphagneti* und *Tricholoma flavovirens* haben S t e g l i c h und Mitarbeiter [30] den Dimethyläther **143** entdeckt. Das Monomer ist auch bekannt: es heißt Asperflavin (**144**), ist gelb und wird vom vielseitigen *Aspergillus flavus* neben dem Anthron **145** ($R' = H$, $R = CH_3$) gebildet [31]. Ein Isomer von **145** ($R' = CH_3$, $R = H$) kennt man aus *A. glaucus*.

Höchst eigenartige Spiro-cyclohexadienone werden von einigen Deuteromyceten erzeugt. Es handelt sich um gelbe Stoffe, die teilweise starke antibiotische (antifungische) Eigenschaften besitzen. Die Verbindungen Erdin (**146**) und Geodin (**147**) gehören übrigens zu den ersten bekanntgewordenen halogensubstituierten Pflanzenprodukten. Sie wurden in *Aspergillus terreus* aufgefunden. Das Dehydroaltenusin (**148**) stammt aus *Alternaria tenuis*. In der Biogenese dieser Verbindungen spielt der schon mehrfach erwähnte Prozeß der „Phenoloxydation“ eine Rolle.

8. N-haltige Farbstoffe

Da erst wenige gefärbte N-Heterocyclusen aus Pilzen bekannt geworden sind, sollen sie hier in einem Abschnitt zusammengefaßt werden, obwohl es sich strukturell und biogenetisch um ganz verschiedene Typen handelt.

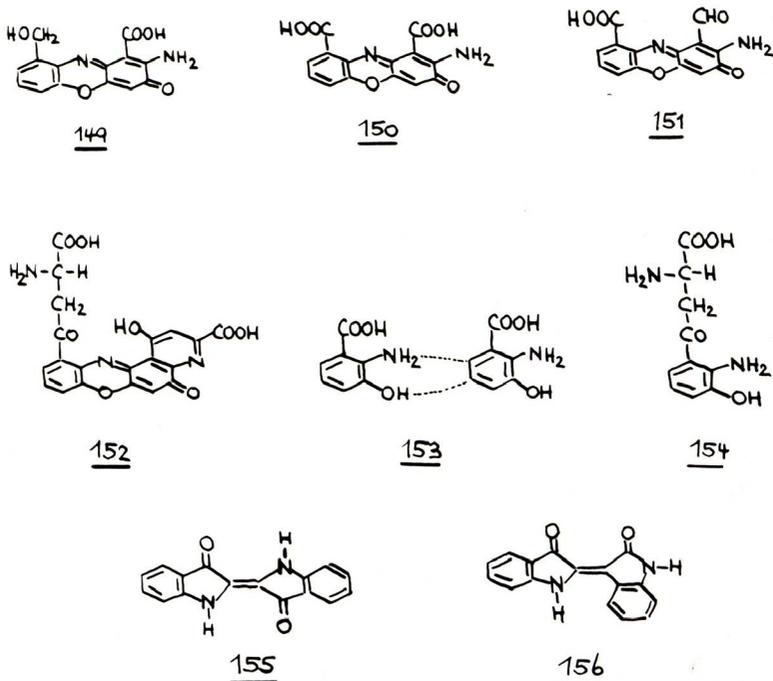
a) Phenoxazone

Die sehr auffällig orange bis scharlachrot gefärbte Zinnobertramete, *Pycnoporus* (*Trametes*, *Coriolus* etc.) *cinnabarinus* und *sanguineus*, erzeugt in bedeutender Menge das leuchtend zinnoberrote Cinnabarin (**149**), neben Cinnabarinensäure (**150**) und Tramesanguin (**151**) [32]. Grundgerüst dieser farbstarken Verbindungen ist der Heterocycclus P h e n o x a z o n .

Er ist als Chromophor seit langem bekannt und in technisch verwendbaren Farbstoffen enthalten, z. B. in den Gallocyaninen (K ö c h l i n 1881). Es bedeutete deshalb keine geringe Überraschung, daß diese Substanzgruppe auch unter den Naturprodukten Vertreter besitzt: zu den Phenoxazonen gehören die von Streptomyceten synthetisierten Actinomycine, die aus Flechten der Genera *Roccella* und *Lecanora* hergestellten Orseillefarbstoffe incl. Lackmusfarbstoffe und die in Insekten und Schmetterlingen verbreiteten Ommochrome, wie z. B. Xanthommatin (**152**) aus *Vanessa urticae*.

Alle diese Phenoxazonderivate dürften durch oxydative Dimerisierung von 3-Hydroxyanthranilsäure, einem Abbauprodukt aus der Aminosäure Tryptophan, etwa nach dem

Schema 16: Stickstoffhaltige Farbstoffe



in Formel **153** angedeuteten Schema entstehen; die Ommochrome analog aus 3-Hydroxykynurenin (**154**), das ebenfalls ein Derivat des Tryptophans ist.

Es ist sehr auffallend, daß nicht noch weitere Phenoxazonfarbstoffe aus Pilzen bekannt geworden sind – das Vorkommen in *Pycnoporus cinnabarinus* ist singulär –, besonders da Tryptophan eine auch in Pilzen verbreitet vorkommende Aminosäure ist. Hat man bisher zu wenig auf Phenoxazone geachtet oder fehlen die zum Abbau des Tryptophans spezifischen Enzyme?

b) Indigotin

Indigo, der „König“ der klassischen blauen Farbstoffe, der heute in den „blue jeans“ wieder augenfällig die Szene beherrscht, ist wissenschaftlich, historisch und kulturgeschichtlich einer der faszinierendsten Farbstoffe überhaupt. Er ist sicher in keinem Organismus genuin vorhanden. Die farblosen Vorstufen oxydieren sich jedoch äußerst leicht zum blauen Indigotin (**155**). Indigotin ist heute einwandfrei auch in zwei Agaricales nachgewiesen worden, nämlich in *Schizophyllum commune* und in einer Submerskultur von *Agaricus campester*. Daneben kommt wahrscheinlich auch Indirubin (**156**), allerdings nur in Spuren, vor. Bereits früher wurde Indigotin auch in einigen Bakterienkulturen festgestellt.

Über die Bildungsweise von Indigotin in Pilzen kann man erst Vermutungen anstellen. Indigotin hat extreme Löslichkeitseigenschaften: in Wasser und in den üblichen Lösungsmitteln löst es sich überhaupt nicht; drastisch ausgedrückt: man steht im Prinzip vor der

Aufgabe, Indigo aus einem Fetzen einer blue-jeans-Hose zu extrahieren. Vielleicht hat man einfach aus diesem Grunde eine durchaus mögliche weitere Verbreitung in Pilzen noch nicht erkannt.

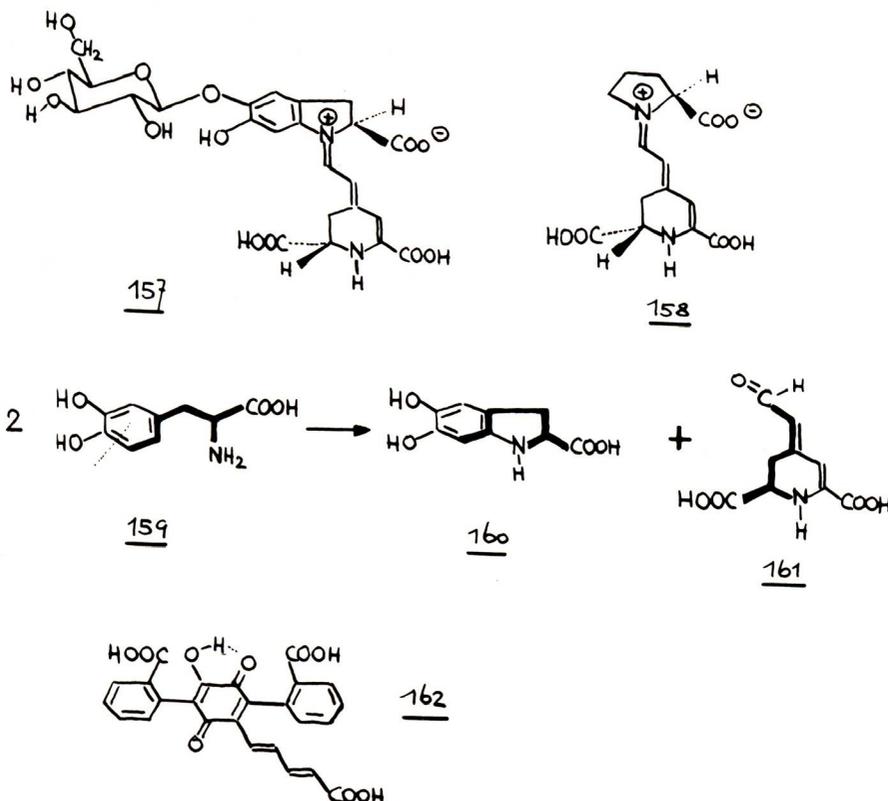
Farbstoffe lassen sich aus Pilzgewebe sehr verschieden leicht extrahieren. Erschwerte Extrahierbarkeit kann ihren Grund entweder in einer starken Bindung von Farbstoffmolekül und Substrat (Zellwände), in erschwerter Diffusion oder (und) Unlöslichkeit des Farbstoffes im verwendeten Extraktionsmittel haben. So konnte Cortisalin (103) nur durch 2 Wochen dauernde kontinuierliche Extraktion der Fruchtkörper mit Aceton im Soxhlet gewonnen werden. Heute stehen neuartige Lösungsmittel mit hohem Lösungsvermögen auch für sehr polare und stark haftende Farbstoffe zur Verfügung.

Für Farbstoffe mit hochpolymerer Natur – es handelt sich meist um unspezifisch braun oder schwärzlich gefärbte – hat man noch kaum geeignete Methoden zur Hand. Sie sind deshalb bei Pilzen noch wenig untersucht. Erwähnt wurde die Polymerisation von Hispidin (86) und des Perylenchinons 55 in Fruchtkörpern von *Inonotus (Polyporus) hispidus* und *Daldinia concentrica*.

c) Betalaine

Es handelt sich um leuchtend gelbe (Betaxanthine) und blaurote (Betacyane) Farbstoffe, die in etwa 8 Angiospermenfamilien (Centrospermen) vorkommen. Sie besitzen große

Schema 17: Betalaine



Farbstärke und ausgesprochene Brillanz. Der Chromophor ist ein Polyen, mit starken Elektronendonatoren bzw. Elektronenacceptoren an den Enden. Man nennt ein solches System einen Cyaninfarbstoff. Solche Chromophore werden auch technisch verwendet, vor allem als Sensibilisatoren für Schwarzweiß- und Farbenfotografie. Als Naturfarbstoffe sind sie erst in neuer Zeit erkannt worden (A. D r e i d i n g 1962).

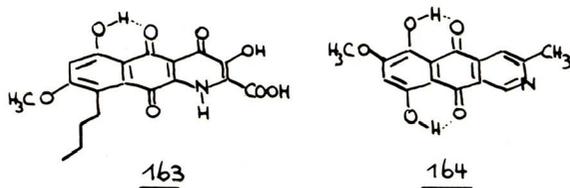
Als Beispiel für ein Betacyanin sei das rote Betanin (157), der Farbstoff der roten Bete (Rande) genannt: ein Betaxanthin ist das gelbe Indicaxanthin (158) aus der gelben Frucht von *Opuntia ficus indica*: die Farben von Portulakblüten, Kermesbeeren, Kaktusblüten usw. sind auf Betalaine zurückzuführen. Die Biogenese dieser Stoffe vollzieht sich aus der Aminosäure Dihydroxyphenyl-alanin (159, DOPA). Durch oxydative Cyclisation entsteht aus ihr Cyclo-dopa 160 und durch Spaltung an der punktierten Stelle Betalaminsäure (161). Diese kondensiert mit sekundären Aminen, z. B. mit Cyclo-dopa (160) zu Betacyanen, mit der Aminosäure Prolin zu Indicaxanthin (158). Der skizzierte Mechanismus ist durch eingehende Studien mit radioaktiven Ausgangsmaterialien belegt [33]. Die Bildung von Betalainen setzt also den Besitz von DOPA und die Fähigkeit zu seiner Umwandlung in Cyclo-DOPA und Betalaminsäure voraus.

Es muß als große Überraschung gewertet werden, daß die Farbstoffe von *Amanita muscaria* und *A. caesarea* sich als Betalaine erwiesen haben [34]. Der Fliegenpilz enthält 1 gelben, 7 orangegefärbte, 1 rotbraunen und 1 rotvioletten Farbstoff in einem schwer trennbaren Gemisch. Es handelt sich zudem um sehr empfindliche Verbindungen. Die gelbe Komponente ist nahe verwandt mit Betalaminsäure (161), die Struktur der übrigen steht noch aus.

Ein Farbstoff „Muscarufin“ mit der von K ö g l und E r x l e b e n aufgestellten bizarren Struktur 162 existiert, wie mehrere Untersuchungen gezeigt haben, nicht.

d) Azaanthrachinone

Ein sehr merkwürdiger Pilzfarbstoff ist das orangegefärbte Phomazarin (163), das von *Phoma terrestris* und *Pyrenochaeta terrestris*, dem Verursacher einer Zwiebfäule, erzeugt wird.



Phomazarin ist besonders eingehend von K ö g l und Mitarbeitern untersucht worden; die endgültige Struktur stammt von B i r c h et al. (1961). Ein weiteres Azaanthrachinon ist das rotbraune Bostrycoidin (164) aus *Fusarium bostrycoides* und einem Stamm von *F. solani*. Biogenetisch ist es mit dem Naphthochinon Javanicin (24) verwandt. Es besitzt antibiotische Eigenschaften.

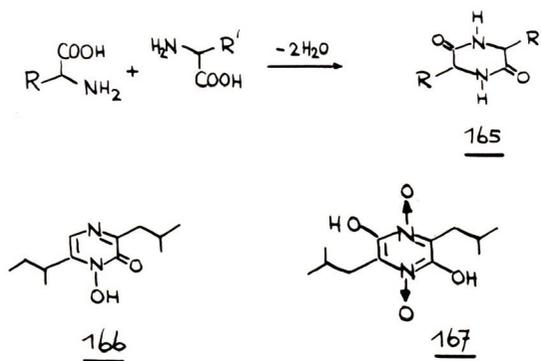
e) Pyrazine

α -Aminocarbonsäuren können unter verschiedenen Umständen leicht zu „dimeren“ Diketopiperazinen kondensieren (Schema 18). Solche sind in verschiedenen Pilzen

aufgefunden worden, z. B. in *Entoloma hastii* Verbindung **165** mit $R = \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5$

$R' = \text{CH}_3$ zu 1,3% [35]. Diketopiperazine mit Struktur **165** sind stets farblos. Farbige Stoffe entstehen jedoch durch Oxydation zu N-Oxiden, bzw. cyclischen Hydroxamsäuren.

Schema 18



Genannt seien die gelbe Aspergillsäure (**166**) aus *Aspergillus flavus* und die Pulcherriminsäure (**167**) aus *Candida pulcherrima*, welche schöne rote Komplexe mit Eisen³⁺-Salzen bildet. In Basidiomyceten hat man bisher keine oxydierten Diketopiperazine vom Typus **166** oder **167** aufgefunden.

9. Russulafarbstoffe

Kaum ein anderes Genus der *Agaricales* umfaßt so viele auffällig und verschieden gefärbte Arten wie das der Täublinge. Deshalb spielen Farbangaben für botanische Bestimmungen eine bedeutende Rolle. Die Natur der Farbstoffe ist aber bis heute unbekannt geblieben. Von *Russula*-spezialisten werden zur Artendifferenzierung neben morphologischen Merkmalen auch chemische Reaktionen in bedeutendem Umfang benutzt, z. B. Reaktionen mit Formalin, Vanillin, Phenolen, Anilin, NH₃, Eisensalzen usw. [36], [37]. Es würde sich lohnen, einzelne dieser Farbreaktionen näher zu untersuchen, da sie das Vorhandensein bestimmter Stoffgruppen anzeigen. Auch die Gerüche (Geruch nach „Hering“, „Katzen-dreck“, „Mirabellenmarmelade“ etc.) deuten auf die Produktion von flüchtigen Stoffen.

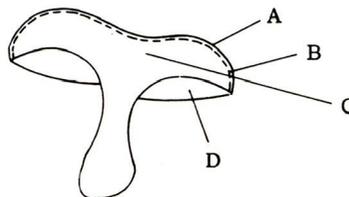
Von Kennern wurde klar ausgesprochen, daß die oft schwierigen Differenzierungsprobleme durch eine vertiefte Kenntnis der Chemie besser gelöst werden könnten; so schreibt R o m a g n e s i [36]: „... nous ne croyons pas qu'on puisse pousser beaucoup plus loin l'observation et l'utilisation taxonomique et spécifique des caractères microscopiques chez les Russules, ni même les caractères microchimiques, du moins avec les réactifs actuellement utilisés en „Russulogie“... l'analyse chimique des pigments nous paraît avoir le plus grand avenir, et c'est probablement d'elle que viendra le prochain bond en avant“.

Es hat natürlich nicht an Versuchen gefehlt, die Natur der Farbstoffe aufzuklären, doch haben ihre ungewöhnlichen Eigenschaften eine vollständige Strukturaufklärung bis heute verhindert.

a) Kurzer Überblick über die Resultate früherer Arbeiten¹²

J. Schröter (1872) und A. Weiss beschrieben erstmals die Wasserlöslichkeit der Farbstoffe und die starke Fluoreszenz von Extrakten aus verschiedenen roten *Russula*-Arten im Tageslicht. 1886 veröffentlichte E. Bachmann einen Bericht über seine Untersuchungen an den roten Farbstoffen in der „wissenschaftlichen Beilage zum Programm des Gymnasiums und Realgymnasiums zu Plauen i. Vogtland“ – eine Schrift, die heute offenbar kaum mehr zugänglich ist und die wir nicht im Original einsehen konnten. Eine Zusammenfassung ist in [40] [41] und bei Zopf (s. Literaturverzeichnis a)) erhältlich. Bachmann erkannte, daß die meisten roten Farbstoffe von gelben begleitet werden, und fand die Anfärbarkeit von Zellulosefasern. Er charakterisierte sein „Russularot“ durch Löslichkeitsangaben, Stabilitätsangaben (Instabilität in Basen und Säuren) und unternahm bereits auch Versuche zur spektralen Charakterisierung mit den damals zugänglichen Mitteln.

Mit langwelligem UV-Licht zeigen Schnittflächen von Täublingen Fluoreszenzerscheinungen, die nach Josserrand und Nétién [42] eine Differenzierung einzelner Arten erlaubt. Insbesondere fiel diesen Autoren eine sehr stark fluoreszierende Zone direkt unter der Cuticula auf.



- A: Farbstoffschicht zeigt keine Fluoreszenz, aber starke Absorption.
- B: Zone direkt unter der Farbstoffschicht (ca. 0,5 mm), intensiv blaue Fluoreszenz.
- C, D: Hut, Lamellen und Stiel zeigen eine intensiv gelbe Fluoreszenz.

Bild 1: Schnitt durch einen Fruchtkörper von *R. emetica* mit Angabe der fluoreszierenden Schichten nach [44].

Eine ähnliche vergleichende Studie stammt von Deysson [43]. Er bestätigte die besonders intensive Fluoreszenz von Täublingen.

Die erste größere chemische Arbeit nach Bachmann veröffentlichte Balenović [44]. Als neue Trennverfahren wurden Papierchromatographie und Papierelektrophorese angewendet. An *Russula emetica* konnten damit 1 roter („Russularhodin“) und 6 fluoreszierende Stoffe nachgewiesen werden. Versuche zur Reindarstellung des roten Farbstoffes werden unternommen. Das Präparat war in Übereinstimmung mit den Angaben von Bachmann sehr leicht löslich in Wasser, unlöslich in Alkoholen und anderen organischen Lösungsmitteln. Es ließ sich durch Reduktionsmittel leicht entfärben; die Hydrolyse mit 1 n HCl wurde wiederholt und die Hydrolyseprodukte ohne Erfolg auf Zucker und Aminosäuren geprüft – eine Angabe, die heute in bezug auf den Zucker revidiert werden muß. Eine Einordnung des Farbstoffs in eine bestimmte Stoffklasse und die Erkennung des chromophoren Systems gelang nicht.

¹² Ausführliche Darstellung in [38] [39]

Trennversuche an farbigen und farblosen, fluoreszierenden *Russula*-Stoffen haben später auch B o n n e t [45] und Pauline W a t s o n [46] unternommen. B o n n e t benutzte wieder Papier, das sich wegen der Substantivität der roten Farbstoffe nur beschränkt eignet. Einen intensiv blau fluoreszierenden Fleck fand er bei *R. caerulea*, *fragilis*, *lepida*, *pseudoviolaacea*, *ochroleuca*, *sardonica*, nur schwach fluoreszierende Flecke bei *R. albom nigra*, *cyanoxantha*, *foetens* und *nigricans*. Diese Resultate stimmen mit den makroskopischen Beobachtungen von J o s s e r a n d und N é t i e n gut überein: die Spezies mit stark fluoreszierenden Flecken auf dem Chromatogramm besitzen auch eine stark fluoreszierende Schicht unter der Cuticula. W a t s o n benutzte die Dünnschichtchromatographie mit Kieselgel-Phenol-Wasser-Gemisch und erzielte damit erstmals eine gewisse Auftrennung der roten, gelben und blauen Farbstoffe. In 26 untersuchten *Russula*-Arten wurden insgesamt 3 rote, 7 gelbe und 3 blaue Zonen unterschieden. Die UV -aktiven, fluoreszierenden Stoffe gingen auf Kieselgel wegen mangelnder Fluoreszenz verloren¹³. Da die Uneinheitlichkeit des „Russularots“ oder „Russularhodins“ damit erwiesen war, wurden diese Namen nicht mehr verwendet. In *R. fellea*, *foetens*, *sororia*, *nigricans* und *virescens* konnten keine Farbstoffe entdeckt werden. Die übrigen Arten wurden in die Gruppen „Rot-Blau“, „Gelb“, „Indigorosa“ eingeteilt.

Neuere Arbeiten stammen von G l u c h o f f - L e b r e t o n [47] und B r e g a n t - T u r c [48]. Die erste [47 a] ist sehr umfangreich, die zweite [48] eine Kurznotiz. In beiden wird mit neuen, verbesserten Methoden, worauf später noch eingegangen wird, die Gemischnatur der Farbstoffe erhärtet. G l u c h o f f hat umfangreiche Arbeiten zur Reindarstellung und spektralen Charakterisierung ausgeführt und die Ergebnisse in taxonomischer Hinsicht ausgewertet. Die Abbauversuche an einem roten Farbstoffgemisch ergaben das wichtige Resultat, daß Glykoside (Riboside oder Glukoside) vorliegen. Eine Strukturzuordnung gelang jedoch nicht; die Vermutung, daß es sich um Farbstoffe vom Phycobilitypus handle [47 b], ist überholt, eine vorgeschlagene (falsche) Summenformel nimmt auf die Glykosidnatur keine Rücksicht.

Die sog. „kristallisierten Russularhodine“ A, B und C von B r e g a n t und T u r c [48] sind Anorganika, die mit wenig organischem Farbstoff (< 5%) angefärbt sind; nichts desto trotz ist die erzielte Auftrennung bemerkenswert.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß die *Russula*-Farbstoffe Isolierungs- und Strukturprobleme besonderer Art bieten, die mit den üblichen, in der Chemie der niedermolekularen Pflanzenstoffe gebräuchlichen Methoden nicht zu lösen sind. Die Ergebnisse meiner Mitarbeiter E. F. F r a u e n f e l d e r [38] [49], Renée R i e k e r [39], H. K o c h [50], P. I t e n [51] [52], Dr. Sh. A r i h a r a [52] und Regine M ü l l e r¹⁴ zeigen, wie man diese Schwierigkeiten überwinden kann. Sie geben auch erstmals Einblick in die Strukturen einzelner Farbstoffe und lassen damit eine Klassifizierung zu. Da es sich zum Teil um ganz neuartige Strukturen handelt, die unmittelbar an kein bekanntes System angeschlossen werden konnten, sind die Schwierigkeiten früherer Bearbeiter verständlich. Unsere Resultate sind im folgenden zusammenfassend dargestellt.

13 Bei der Verwendung der Fluoreszenz als Nachweismethode für organische Verbindungen wird oft nicht beachtet, daß sie pH-abhängig und durch Begleitstoffe („Fluoreszenzlöcher“) zum Verschwinden gebracht werden kann.

14 Ich möchte meinen Mitarbeitern für ihren Fleiß und ihr Geschick bei der Bearbeitung der chronisch schwierigen Russulafarbstoffe Anerkennung und Dank aussprechen.

b) Das Extraktionsproblem

Nach Angaben von Romagnesi [36] sind die Farbstoffe der meisten Täublinge in Wasser leicht löslich, mit Ausnahme der in den *Foetentinae* und einem großen Teil der *Ingratae* enthaltenen. Bei diesen zeigt die wässrige Lösung, selbst nach Aufkochen, nur ein schwaches Gelb. Man darf nun aber schwierige Extrahierbarkeit nicht mit Schwerlöslichkeit gleichsetzen. Tatsächlich sind alle roten Farbstoffe, die wir bis heute erhalten haben, in Wasser mehr oder weniger leicht löslich. Sie haften jedoch verschieden stark in den Pilzhäuten, möglicherweise wegen verschiedenartiger Einlagerung der Farbstoffe in die Zellmembranen oder wegen Komplexierung, so daß die Extraktion gelegentlich sehr langsam vor sich geht. Balenović et al. [44] hatten abgezogene Häute von *R. emetica* durch wiederholtes Einlegen in Alkohol extrahiert – ein Verfahren, daß sich wahrscheinlich nicht auf alle *Russula*-arten übertragen läßt; Watson [46] benutzte für 26 verschiedene Arten ein Picolin-Wasser (1:1)-Gemisch. Dies ist eines der wirkungsvollsten Lösungsmittelgemische – leider sind vor allem rote Farbstoffe darin nicht stabil und werden abgebaut: Gluchoff [47a] verwendete wässrigen Alkohol oder Pyridin-Wassergemisch (1:1), mit dem in allen Fällen bis 95% der Farbstoffe herausgelöst werden können. Ein sehr gutes Lösungsmittel ist auch Dimethylsulfoxid (DMSO), in dem aber einige Verbindungen instabil sind; zudem kommt es für große Mengen nicht in Frage. Wir benutzten meist Methanol-2% wässrige Essigsäure (1:1) während 12 Stunden bei 35° unter 3–4maliger Wiederholung. Extrakte wurden im Dunkeln aufbewahrt und eingedampft.

Die roten (und blauen?) Farbstoffe besitzen eine Eigenschaft, welche der Farbstoffchemiker mit dem Begriff „Substantivität“ kennzeichnet. Man versteht darunter die Fähigkeit eines wasserlöslichen Farbstoffes auf Cellulosefasern waschecht aufzuziehen. Vor der Entdeckung der substantiven Textilfarbstoffe war die Färbung von Baumwolle nur mit Hilfe von „Beizen“ möglich. Aus dem Pflanzenreich waren nur wenige Farbstoffe mit deutlich ausgeprägter Substantivität bekannt, so der Orléan-Farbstoff und das Safflorrot. Man kann also die *Russula*-Farbstoffe mit dazuzählen. Eine praktische Bedeutung kommt diesen natürlichen Farbstoffen aus verschiedenen Gründen nicht mehr zu.

Mit dieser Deutung ergibt sich nun eine zwanglose Erklärung für den in mykologischen Werken beschriebenen Farbumschlag von Rot nach Violett, welcher beim Kochen von Häuten von *R. atropurpurea* etc. eintritt: nach Herauslösen der gelben und leichter löslichen roten Farbstoffe kommen die stärker haftenden roten und blauen erst zum Vorschein.

c) Das Trennproblem

Einige Trennverfahren sind unter a) bereits erwähnt worden. Keines ist auch nur annähernd imstande, das komplexe Gemisch befriedigend aufzutrennen, einzelne müssen geradezu als unbrauchbar bezeichnet werden. Recht gute Trennungen für vorgereinigte rote Farbstoffe bringt das von Bregant und Turc [48] verwendete System mit Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel G „Merck“-Butylacetat-Pyridin-15proz. NH₃ (6:9:5). Da jedoch NH₃ einzelne Farbstoffe rasch abbaut, kommt dieser Methode nur analytische Bedeutung zu. Gluchoff [47a] verwendete verschiedene Systeme, wodurch eine wesentlich verbesserte Differenzierung erreicht wurde, so (auf Zellulose) 40proz. Essigsäure oder Butanol-Pyridin-Wasser (13:20:20) und Kieselgel mit Phenol-Wasser. Es gelang ihr, in ca. 40 *Russula*-Arten insgesamt 4 rote („Russularhodine“), 3 blaue

(„Russulacyanine“) und 7 gelbe („Russula-xanthine“) Farbstoffe dünn-schichtchromatographisch nachzuweisen und sie teilweise auch spektroskopisch zu charakterisieren. Mit diesen Ergebnissen wurde eine systematische Gliederung der *Russulae* versucht. Weitere Lösungsmittelsysteme sind in [49] angegeben.

Verbesserte analytische Trennungen erreicht man mit der Methode der isoelektrischen Fokussierung (IEF) in einem Saccharose-pH-Gradienten (Ampholin, pH 3-10). Die meisten gelben, blauen und roten Farbstoffe haben Ampholyteigenschaften. Die IEF ist heute in der Proteinchemie allgemein gebräuchlich. Zu Beginn eines Versuches ist der Farbstoffextrakt gleichmäßig in der ganzen Säule verteilt. Nach Anlegen eines elektrischen Feldes wandern die Ampholytmoleküle entsprechend ihrer Ladung in den pH-Bereich, wo die Entladung stattfindet. Dort werden sie gesammelt (fokussiert). Ein Molekül, das ursprünglich im tiefen pH-Bereich enthalten war, also in protonierter Form vorlag, muß als Kation gegen die Kathode wandern, ein anderes, im hohen pH-Bereich gelegen, also deprotoniert, muß zur Anode wandern. Übergang in die neutrale Molekel (Gesamtladung Null) tritt beim isoelektrischen Punkt (pI-Wert) ein. Mit der IEF können alle Moleküle mit genügend großen pI-Werten getrennt werden. Stoffe, die keine Ampholyte sind (mindestens nicht im verwendeten pH-Bereich), verteilen sich mehr oder weniger diffus in der Trennsäule. Das trägerfreie Medium bietet gerade bei den meist stark haftenden roten und blauen Farbstoffen große Vorteile.

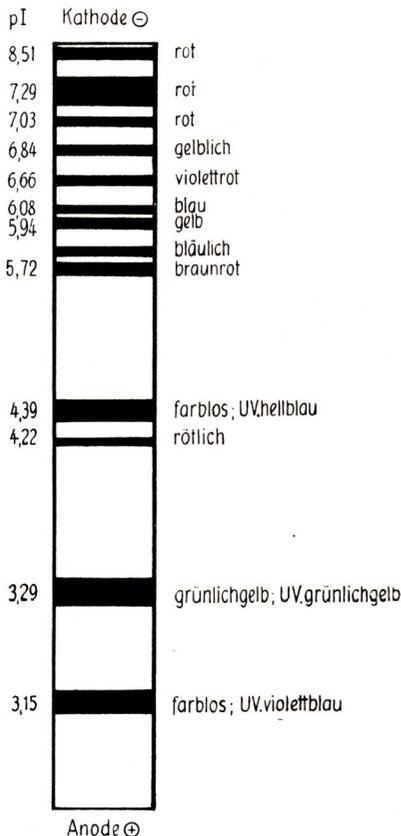


Bild 2: Schematische Darstellung der isoelektrischen Fokussierung eines Gesamt-extraktes aus der Huthaut von *R. sardonia* in einem Saccharose-pH-Gradienten (Ampholin pH 3–10) nach 65 Stunden Laufzeit [49].

Apparat: Uniphor 7900 (LKB).

In Bild 2 sind also 5 rote, 1 violetter, 2 blaue und 3 gelbe Farbstoffe, nebst einigen farblosen, fluoreszierenden Zonen zu erkennen. *Watson* [46] stellte an der gleichen Spezies fest: 3 rote, 1 blauer, 1 gelber und *Gluchoff* [47a]: 4 rote, 2 blaue, 3 gelbe Farbstoffe. Da einzelne Zonen des IEF mehr als einen Farbstoff enthalten und nicht alle Komponenten fokussiert werden, ist die Zusammensetzung in Wirklichkeit noch komplexer.

Die einzelnen Zonen lassen sich aus der Säule eluieren und spektroskopisch etc. charakterisieren. Die Methode hat aber auch Nachteile: – die Apparatur ist aufwendig¹⁵, – die Versuche dauern ca. 75 Stunden, – Stoffe mit sehr ähnlichem pI-Wert werden nicht getrennt, – Überladung mit Farbstoff führt zu unscharfen Zonen; damit wird es schwierig, Nebenkomponten, die in geringer Konzentration vorkommen, zu erkennen. Am besten arbeitet das Verfahren mit säulenchromatographisch vorgereinigtem Material.

Präparative Auftrennungen erlaubt die Chromatographie an Säulen mit Sephadex G-25, an dem die Farbstoffe weniger stark haften als an Cellulose und deshalb selektiver abgelöst werden können. Mit Wasser werden die farblosen, fluoreszierenden Stoffe leicht ausgewaschen; die gelben kommen etwas langsamer heraus; bei einzelnen ist gelegentlich bereits eine Aufspaltung ersichtlich; die blauen und roten Farbstoffe haften stark (bei einzelnen Arten, z. B. *mustelina*, *ochroleuca* und *aeruginea* auch ein gelber Farbstoff). Die Entwicklung dieser Farbstoffe erfolgt mit 1proz. Pyridin im Wasser.

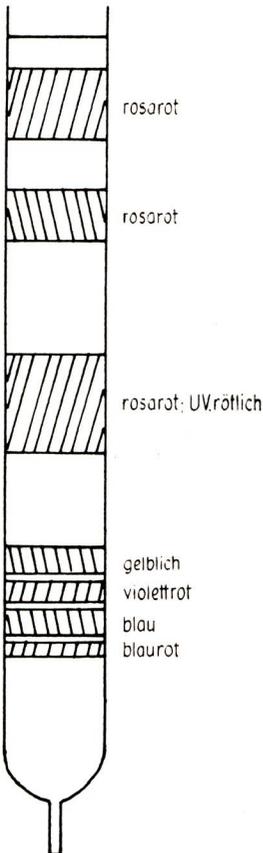
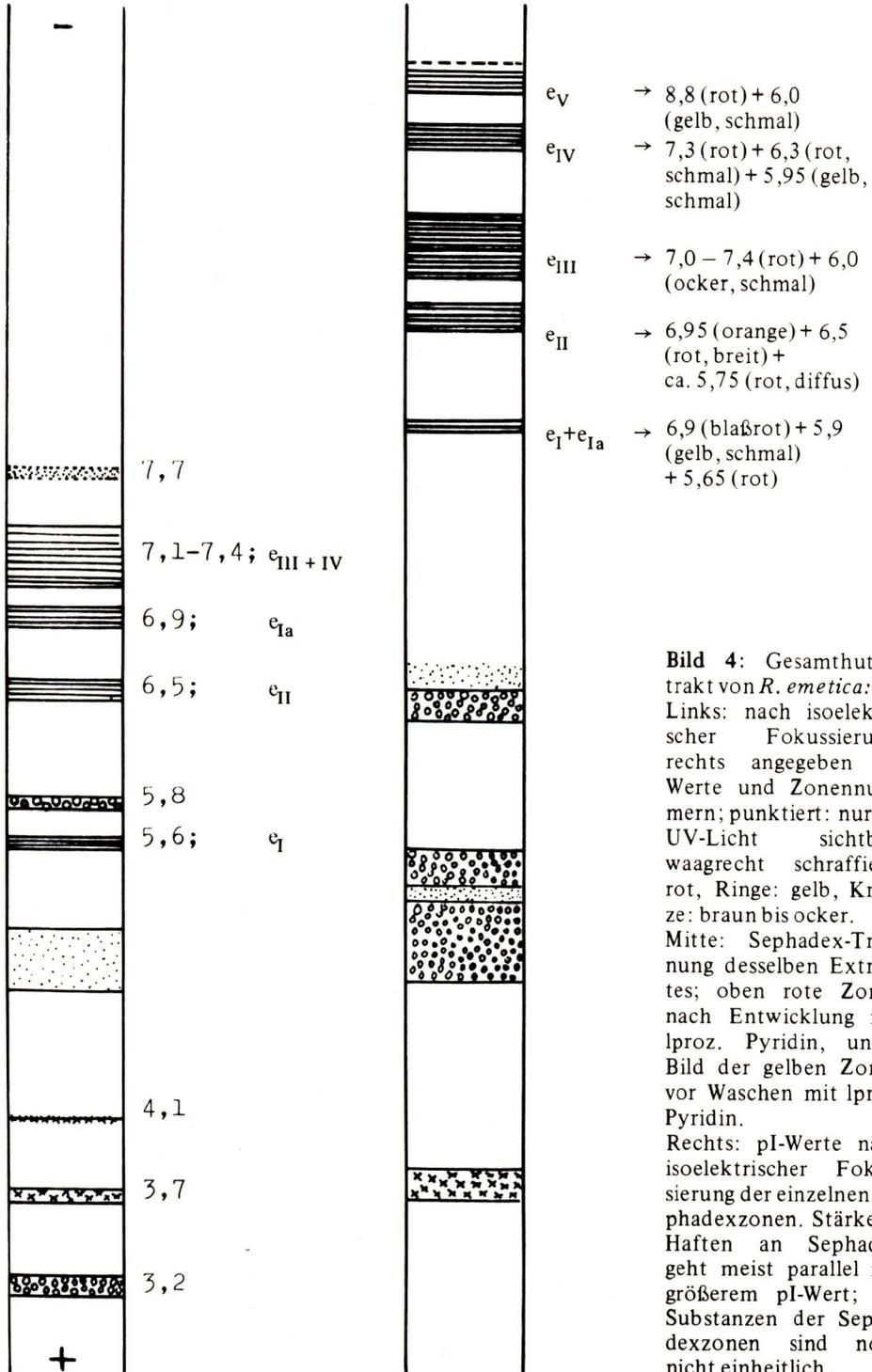


Bild 3: Schematische Darstellung der Trennung eines Gesamtextraktes aus *R. sardonia* an Sephadex G-25 (Säule 20 x 100 cm, 7 kg Sephadex); Zonenbild nach Auswaschen der farblosen, fluoreszierenden und gelben Stoffe und Entwicklung mit 1proz. Pyridin in Wasser [49].

¹⁵ Verwendet wurde der LKB Uniphor 7900



Der Vergleich von Bild 3 mit Bild 2 zeigt, daß die IEF eine bessere Trennung ergibt. Einzelne Sephadexzonen enthalten noch keine einheitlichen Farbstoffe. Trotzdem ist dieses Verfahren für präparative Zwecke bisher unentbehrlich zur Anreicherung. Eine Analyse derselben Spezies mit den genannten Methoden (IEF, Säulenchromatographie, DC auf Cellulose und Kieselgel) ist in Bild 4 dargestellt.

Ein grüner Farbstoff konnte bisher, in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Gluchoff, nicht nachgewiesen werden. Zwar sind die Farbstoffe mit pI 3,1 (Gelb_I und Gelb_{II}) grünstichig gelb und durch eine starke grünlichgelbe Fluoreszenz ausgezeichnet, doch dürfte die grüne Hutfarbe einzelner Russulaarten, z. B. von *R. virescens*, von einer Mischung herrühren.

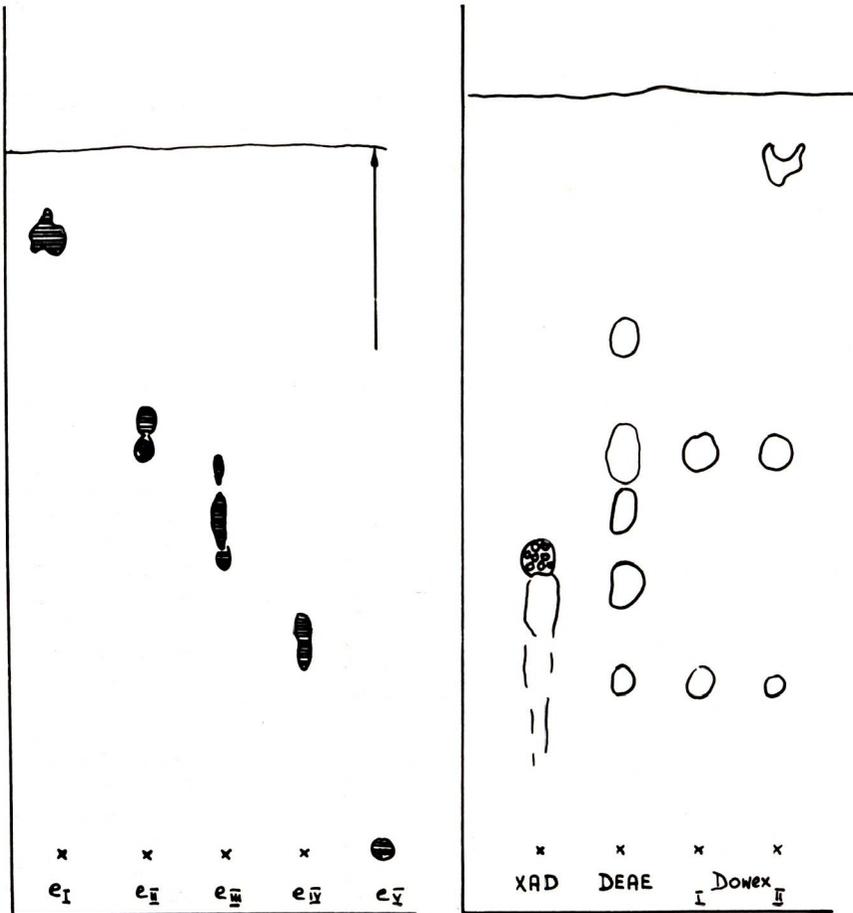
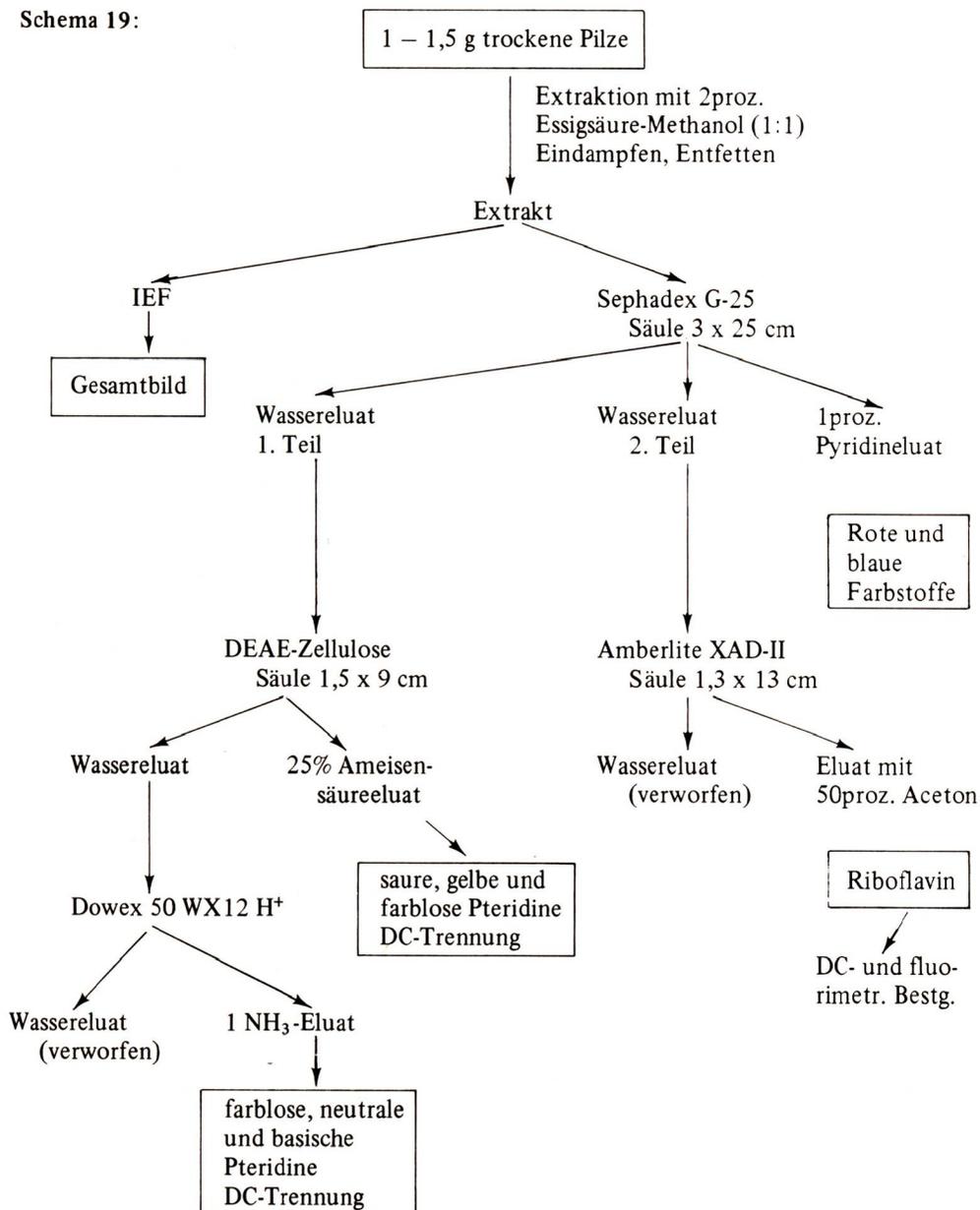


Bild 5: links: dünnstichtchromatographische Überprüfung der einzelnen Zonen des Sephadex-Chromatogrammes von *R. emetica* mit 9proz. Pyridin auf Cellulose (man beachte die Parallelität des Verhaltens auf DC, Sephadex und IEF); rechts: Substanzen aus der Auftrennung nach Schema 19 auf Cellulosedünnsticht mit 4proz. Natriumcitrat. Die XAD-Fraktion enthält das gelbe Riboflavin, die übrigen Flecke sind farblos, fluoreszieren jedoch im UV-Licht stark blau.

Für die vollständige Auftrennung aller Russulafarbstoffe in einem Schritt ist bisher noch keine Methode gefunden worden. Zwischen den einzelnen Farbstoffen besteht, wie in d) gezeigt wird, ein genetischer Zusammenhang. Aus diesem Grund haben wir ein Trennschema ausgearbeitet, das eine weitgehende Trennung erlaubt; siehe Schema 19. Es hat sich bis jetzt an etwa 20 verschiedenen Arten bewährt. In Ausnahmefällen kann ein typischer gelber Farbstoff auch unter den roten und blauen auftreten. Eine Analyse von *R. emetica* nach Trennschema 19 ist in den Bildern 4 und 5 wiedergegeben.

Schema 19:



d) Zur Struktur der Russulafarbstoffe

Präparativ haben wir vor allem mit *R. sardonina* und *R. emetica* gearbeitet, wobei etliche 100 kg Frischpilze aufgearbeitet wurden. 2 Säulen à 7 kg Sephadex waren während Monaten in Dauerbetrieb.

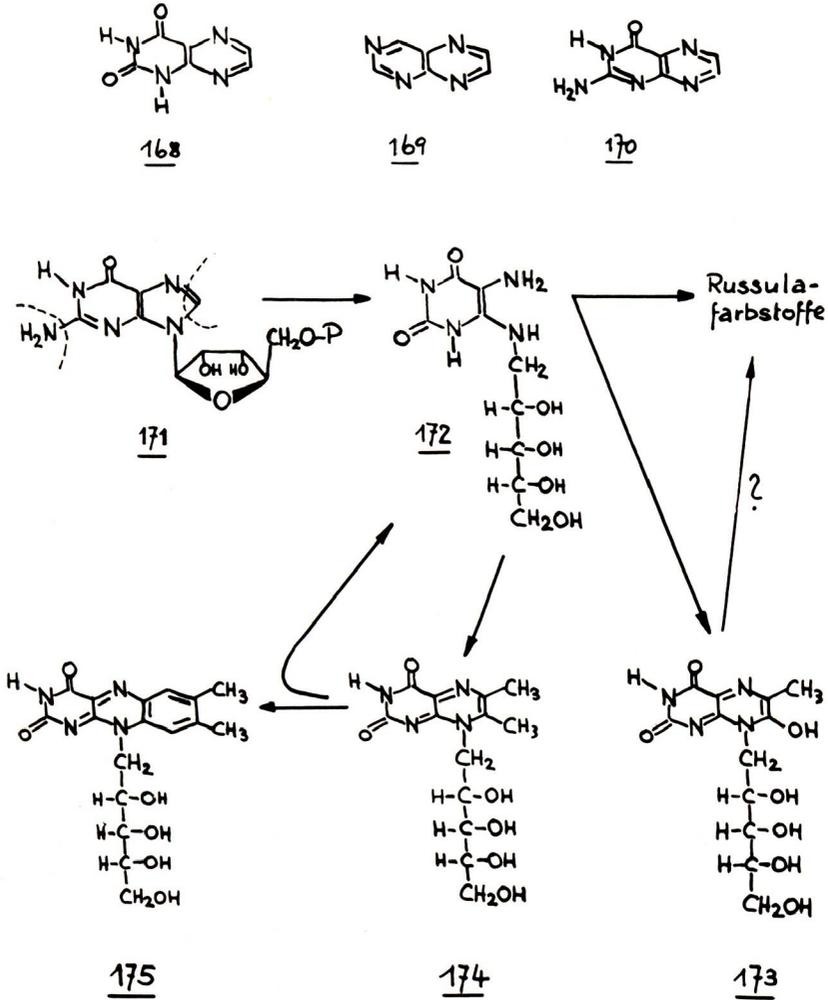
Die farblosen Verbindungen gehören teilweise dem Lumazintypus an (Schema 20), d. h. es handelt sich um Derivate von 1, 2, 3, 4-Tetrahydro-2, 4-dioxo-pteridin (168); Pteridin hat Struktur 169, Pterin 170. Identifiziert wurde 6-Methyl-7-oxo-8-ribitylumazin, die sog. V-Compound (173), eine intensiv blauviolett fluoreszierende Verbindung, die damit zum erstenmal in einem Basidiomycet nachgewiesen worden ist. Entdeckt wurde sie ursprünglich in den Riboflavin-produzierenden Ascomyceten *Eremothecium ashbyi* [53] sowie *Pseudomonas ovalis* [54]. Auch der biogenetische Vorläufer von 173, das 5-Amino-6-ribitylamino-uracil (172) konnte durch eine Abfangreaktion mit Diacetyl aus einer angereicherten Sephadexfraktion nachgewiesen werden. Von den gelben Verbindungen konnten bisher 3 kristallisiert erhalten werden. Eine stark gelborange gefärbte erwies sich als Riboflavin (175), die beiden anderen (Gelb_I und Gelb_{II}) sind strukturell noch nicht aufgeklärt. Sie sind Ampholyte und fokussieren, wie bereits erwähnt, bei pI 3,1. Riboflavin läßt sich in dem verwendeten pH-Bereich schlecht nachweisen, da es nur eine diffuse Zone bildet. Hingegen läßt es sich nach Schema 19 einwandfrei isolieren und durch Fluorimetrie quantitativ bestimmen. Riboflavin ist die prothetische Gruppe von verschiedenen, weitverbreiteten Enzymen, die mit Redoxvorgängen in Zellen verknüpft sind. Wir haben einige Russulaarten nach dem im Schema 19 angegebenen Weg auf ihren Riboflavinegehalt quantitativ untersucht und fanden in: *sardonina* 77 ppm¹⁶, *ochroleuca* 60, *emetica* 26, *densifolia* 48, *xerampelina* 92, *aeruginea* 45 ppm; 0 in *mustelina* und *atrorubens*, wo es durch einen anderen, sehr ähnlichen Farbstoff ersetzt ist. Zum Vergleich seien Zahlen aus der Literatur genannt: Spinat 1–30, Tomaten 4–8, Bäckerhefe 39–75, Bierhefe 36–42, *Torula (Candida) utilis* 26–62, *Penicillium chrysogenum* 40–48 ppm. Außerordentliche Werte zeigen ausgesuchte Stämme von *Ashbya gossypii* und *E. ashbyi*, die unter günstigen Kulturbedingungen bis 6000 ppm, d. h. 6 g pro Liter Kulturflüssigkeit produzieren. Man kann also sagen, daß verschiedene *Russula*-Arten relativ reich an Riboflavin sind. Speisepilze sind in bezug auf ihren Vitamingehalt verschiedentlich untersucht worden; wir stellen befriedigende Übereinstimmung mit den neuen, an Gesamtextrakten gemessenen fluorimetrischen Messungen von Riboflavinegehalten von Shiwrina und Koryakina [55] fest. Diese Autoren geben für *R. adusta* 60, *decolorans* 61, *grisea* 44, *vesca* 52, *virescens* 27, *xerampelina* 126 und *paludosa* 264 ppm an. Wie weit Riboflavin durch andere gelbe, fluoreszierende Verbindungen vorgetäuscht werden kann, ist noch abzuklären.

Die Biosynthese des Riboflavin verläuft, wie man heute weiß, aus Guanosinphosphat (171) über das farblose Uracilderivat 172, wobei 171 an den bezeichneten Stellen gespalten wird und der Ribosylrest eine Reduktion erfährt. Aus 172 entsteht durch Kondensation mit einer C₄-Verbindung die gelbe, sog. G-Compound (174) – wir haben sie bisher in *Russulae* nicht aufgefunden. Aus 2 Molekülen 174 wird darauf in einer eigenartigen Reaktion 1 Molekül Riboflavin und 1 Molekül 172 gebildet.

Die beiden anderen erwähnten kristallisierten, gelben Verbindungen mit pI ca. 3,1, provisorisch als Gelb_I und Gelb_{II} benannt, sind strukturell noch nicht aufgeklärt. Sie wurden präparativ aus *R. obscura* und *paludosa* isoliert.

¹⁶ Die Angaben beziehen sich auf das Trockengewicht.

Schema 20: Pteridine und Biosynthese von Riboflavin



Unter den roten Farbstoffen überwiegt in *R. emetica* und *sardonica* der in Sephadexsäulen in der drittobersten Zone enthaltene; ihm entspricht die Farbstoffzone mit pI 7,2–7,3. Wir nennen ihn, da er als Pterinderivat (Lumazin) erkannt worden ist, Russu-
 pteridin-s_{III}¹⁷. Zur Reinigung genügt die Sephadexchromatographie nicht; sie muß
 mit Säulenchromatographie an Cellulose verbunden werden. Man erhält etwa 0,93 g aus
 150 kg frischen *R. obscura*, 0,2 g aus 32 kg *R. paludosa* und 0,25 g aus 38 kg *R. emetica*.
 Gereinigtes Russu-pteridin-s_{III} ist ein schwarzrotes, amorphes Pulver mit Metallglanz. In
 Wasser ist es gut, in organischen Lösungsmitteln kaum löslich. Die Substanz ist sehr polar.
 Ihr Molekulargewicht konnte wegen Unlöslichkeit und starker Neigung zu Assoziation
 bisher nicht bestimmt werden. Es dürfte um 650 herum liegen. Sie ist sehr stickstoffreich

17 Die Nomenklatur hat vorläufigen Charakter.

(ca. 20%). Die schon von B a c h m a n n u. a. festgestellte Labilität gegenüber Reduktionsmitteln und Basen, etwas weniger gegen Säuren, konnte bestätigt werden. Der Farbstoff bindet leicht Metallionen. Unsere ersten Präparate waren rückstandshaltig mit auffällig viel Cu, K, Ca, Fe, Zn. Teilweise sind sie wohl während der Aufarbeitung eingeschleppt worden, doch enthalten frische Häute von *R. sardonica* relativ viel Cu und Zn. Eine vorläufige Analyse hat etwa 40 ppm Cu und 120 ppm Zn im Trockengewicht ergeben. Bei der Extraktion mit wassergesättigtem Phenol geht das Cu mit dem Farbstoff (mindestens teilweise) mit, was auf eine Versalzung oder Komplexbildung deutet. Es scheint lohnend, das Genus *Russula* genauer auf seine eventuelle Fähigkeit zur Kupfer-akkumulation zu untersuchen.

Die Elektronenspektren von Russupteridin sind sehr charakteristisch, vgl. Bild 5.

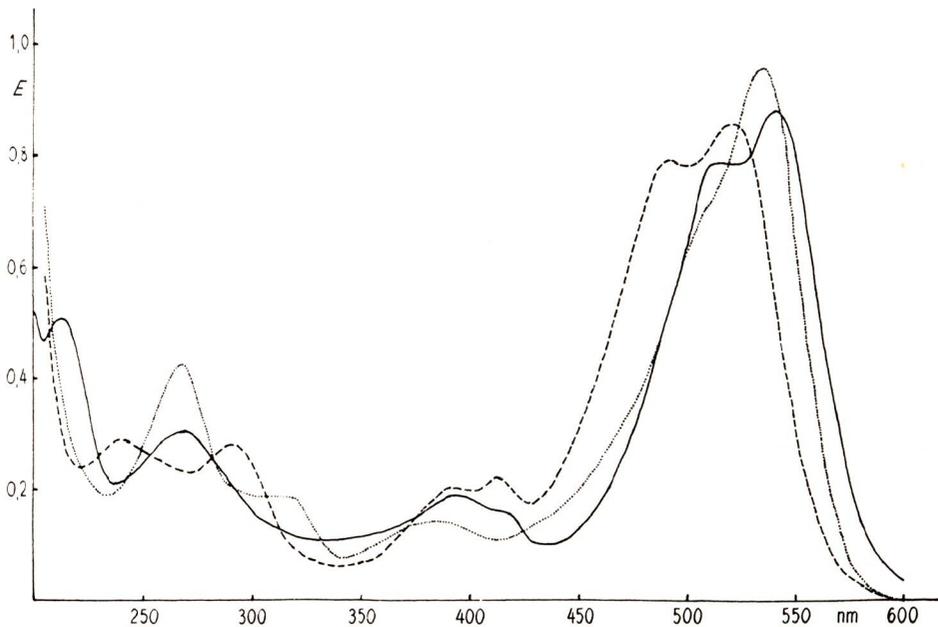


Bild 5: Elektronenspektrum von Russupteridin-s_{III}

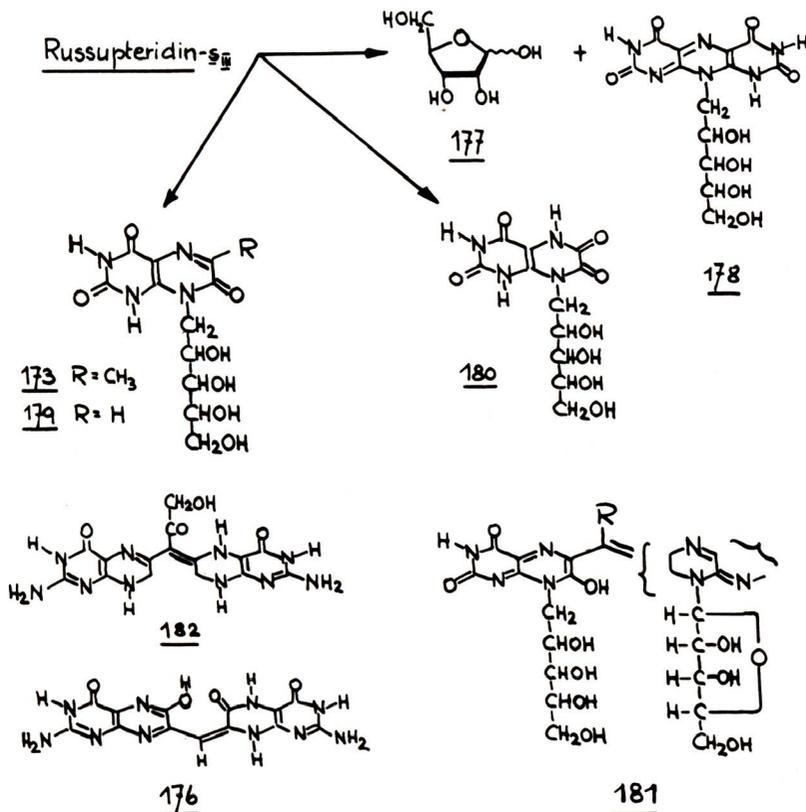
- pH 2 (HCl-KCl-Puffer)
 - pH 8,6 (NaOH-H₃BO₃-Puffer)
 - H₂SO₄ conc.
- (c = 1,72 · 10⁻³%)

Vor allem fällt eine ausgeprägte Ähnlichkeit mit dem „dimeren“¹⁸ Pterin R h o d o p t e r i n (= Pterorhodin) (176) in die Augen. Das ist ein zuerst synthetisch erhaltener, tieferer Stoff, der später auch in Flügeln von Schmetterlingen aufgefunden werden konnte. Dieser erste Hinweis auf den Chromophor erwies sich als bedeutsam. Durch

18 Der in der Literatur verwendete Begriff „dimeres Pteridin“ ist nicht korrekt. Er ließe sich allenfalls auf ein direkt verknüpftes, zweikerniges Pteridin anwenden, nicht aber auf ein bis-Pteridinyll-methan-derivat des Typus 176, 181, 182.

Erwärmen mit verdünnter Säure läßt sich Russupteridin in zahlreiche farblose, z. T. stark fluoreszierende und einige gelbe Bruchstücke zerlegen. Unter diesen haben wir zuerst *R i b o s e* (177) entdeckt und die gelbe Verbindung 178. [52].

Schema 21: dimere Pteridine



Sie stellt ein Rekombinationsprodukt aus 2 Molekülen 172 dar. Unter Luftabschluß durchgeführte Hydrolysen ergaben schließlich die Lumazine 173 (V-Compound), 179 und 180. Eine größere Zahl von Spaltstücken – alle in sehr geringer Menge erhalten – harret noch der Aufklärung. Damit ist ein erster Einblick in die Struktur des roten Hauptfarbstoffes von *R. emetica* etc. gegeben: Bruchstücke 173, 178, 179, 180 definieren den „linken“ Molekülteil, legen Russupteridin als Lumazinderivat fest und schaffen einen genetischen Zusammenhang mit Riboflavin. Die Ribose – es wurde ca. 1 Mol auf 1 Mol Farbstoff gefunden – muß dem „rechten“ Molekülteil entsprechen. Er ist in den Details noch nicht geklärt. Möglicherweise hat er auch Pteridinnatur. Zu deuten bleibt auch die Basizität der Molekel (pI-Wert > 7). Die Resultate sind in der Partialformel 181 zusammengefaßt [52]. Das Vorkommen einer N-Ribityl- neben einer N-Ribosylgruppe in ein und derselben Molekel ist derart auffällig, daß man die Möglichkeit, unser Russupteridin-s_{III} sei trotz aller Reinigungsoperationen immer noch ein Gemisch, nicht außer acht lassen darf. Es müßte sich dann allerdings um ein äußerst schwer trennbares ca. 1:1-Gemisch eines bis-N-Ribosides mit einer bis-N-Ribitylverbindung handeln.

„Dimere“ Lumazine sind als Naturprodukte noch nicht bekannt geworden. Am nächsten verwandt sind das bereits erwähnte Rhodopterin (176) und Drosopterin (182) ein roter Farbstoff aus Insektenaugen [56]. Beides sind Stoffe, deren Isolierung und Strukturaufklärung sehr große Schwierigkeiten bereitet hat. In den Russupteridinen sind diese Schwierigkeiten durch die Anwesenheit von Zuckerresten noch gesteigert. Es dürfte noch viel Arbeit aufzuwenden sein, bis die Strukturprobleme endgültig gelöst sind.

Die blauen Farbstoffe haben wir noch nicht näher untersucht. Nach vorläufigen Erfahrungen handelt es sich um recht labile Stoffe, die sich beim Aufbewahren leicht zersetzen. Die Vermutung, daß es sich ebenfalls um Pteridinderivate handelt, stützt sich auf die Absorptionsspektren, welche, abgesehen von einer kräftigen langwelligen Verschiebung, denen der roten Farbstoffe sehr ähnlich sind.

e) Zusammenfassung

Das Genus *Russula* ist in bezug auf seine Inhaltsstoffe zweifellos sehr eigentümlich. Es gehört zu den reichsten Pteridinquellen in der Natur. Da die Farbstoffe einem neuen Typus angehören, sind sie chemisch-strukturell a priori interessant und einer eingehenden Bearbeitung wert. Durch den wahrscheinlichen Zusammenhang mit der Riboflavingenese gewinnen sie eine zusätzliche Bedeutung. Sie sind möglicherweise für das Genus eigentümlich und deshalb auch für taxonomische Fragen wertvoll. Ich bin überzeugt, daß die eingangs des Abschnittes 9. zitierte Voraussage von Romagnesi in Erfüllung gehen wird.

Nachtrag zur chemosystematischen Bedeutung von Terphenylchinonen (siehe S. 53).

Die Konzentrierung des Merkmals Thelephorsäure in den Thelephoraceen mit den Gattungen *Tomentella*, *Kneiffiella*, *Caldesiella*, *Thelephora*, *Hydnellum*, *Sarcodon*, *Boletopsis*, *Polyozellus*, *Lenzitopsis* und in den äußerst nahe verwandten Bankeraceen mit den Gattungen *Bankera* und *Phellodon* gegenüber dem offensichtlich sehr zerstreuten Vorkommen in wenigen Gattungen (teils zu überprüfender systematischer Stellung) außerhalb dieser beiden genannten Familien zeigt, daß das hauptsächlich auf Grund mikroskopischer Merkmale gewonnene Familienkonzept durch das genannte Farbstoffmerkmal weiterhin bestätigt wird. Im übrigen sind viele Familien der *Poriales* so nah miteinander verwandt, daß Übereinstimmungen oder Ähnlichkeiten – wie sie durch das Vorkommen von Leukoverbindungen und durch Verbreitungsunschärfen der Farbstoffe unterstrichen werden – eigentlich sogar zu erwarten sind.

(Mitteilung von A. Bresinsky, München, 16.3.1973)

Nachtrag zum Vorkommen von Hypericin in *Coriolus (Polystictus) versicolor* (siehe S. 60)

Nach einer japanischen Arbeit ist in *Coriolus (Polystictus) versicolor* auch Emodin nachgewiesen worden. Ein chromatographischer Vergleich von *Coriolus*-Extrakt mit Isohypericin ergab keine Anhaltspunkte für ein Vorkommen von Hypericin im genannten Pilz.

(Mitteilung von A. Bresinsky, München, 16.3.1973)

Nachtrag zur Blaufärbung der Boleten (siehe S. 64)

Xerocomsäure aus *Xerocomus chrysenteron* und *Gomphidius glutinosus* besitzt Struktur 75. Die isomere Verbindung, welche vertauschte Arylringe besitzt („Isoxerocomsäure“), konnte aus getrocknetem *Leccinium chromapes* isoliert werden. Sie färbt sich nicht blau. Auch Atromentinsäure zeigt mit Phenoloxidasen/O₂ oder Ferricyanid keine Blaufärbung; Gomphidsäure (77) färbt sich höchstens braun. Typische Blaufärbung zeigen nur Variegatsäure (76) und Xerocomsäure (75). Der Kornblumenröhrling, *Gyroporus cyane-scens*, enthält das hellgelbe Gyrocyanin, das eine ähnliche Struktur wie Involutin (79), jedoch mit einem Cyclopentendionring aufweist. Es geht bei der Oxydation auch in eine blaue Verbindung über.

(Privatmitteilung von Prof. W. Steglich, Berlin, 23.1.1973)

Literatur

a) Zusammenfassungen

W. ZOPF, Die Pilze, Trewendt, Breslau 1890

F. KÖGL, Pilz- und Bakterienfarbstoffe in G. Klein (Ed.), Handbuch der Pflanzenanalyse, Vol. 3, II, 1410 (1932)

H. RAISTRICK, Biochemistry of the lower Fungi, Ann. Rev. Biochem. 9, 571 (1940)

R. HEIM, Les Pigments des Champignons dans leur rapport avec la Systématique, Bull. soc. chim. biol. 24, 48 (1942)

I. A. PASTAC, Les Matières colorantes des Champignons, Rev. Mycol. (Mémoire hors-série No. 2) 1942

b) Stoffverzeichnisse

W. KARRER, Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe, Birkhäuser 1958

M. W. MILLER, Pfizer Handbook of Microbial Metabolites, McGraw-Hill 1961

SHIBATA, NATORI, UDAGAWA, List of fungal Products, Univ. of Tokyo Press 1964

W. B. TURNER, Fungal Metabolites, Academic Press 1971

R. H. THOMSON, Naturally occurring Quinones, Academic Press 1971

c) Spezielle Literaturzitate

[1] K. WEISGRABER, U. WEISS, G. W. A. MILNE & J. V. Silverton, Phytochem. 11, 2585 (1972)

[2] a) A. BRESINSKY & A. RENNSCHMID, Ber. Dtsch. Bot. Ges. 84, 313 (1971);

b) THOMSON l. c.

c) SHIBATA l. c.

d) G. SULLIVAN, R. D. GARRETT & R. F. LENEHAN, J. pharm. Sci. 60, 1727 (1971), ref. Chem. Abstr. 76, 23 800 (1972);

e) Maki SAWADA, Nippon Ringaku Kaishi 40, 195 (1958), ref. Chem. Abstr. 52, 18638 (1958)

[3] G. SULLIVAN & W. L. GUESS, Lloydia 32, 72 (1969)

[4] W. STEGLICH & W. LÖSEL, Chem. Ber. 105, 2928 (1972)

[5] M. GABRIEL, Bull. Soc. Mycol. France 76, 208 (1960); Ann. Univ. Lyon, Sect. C 11–12, 67 (1959–1960); ref. Chem. Abstr. 53, 3389 (1959)

- [6] I. GRUBER, Z. Pilzk. **36** 95 (1970)
- [7] W. REININGER, W. STEGLICH & M. MOSER, Z. Naturf. **27b**, 1009 (1972)
- [8] W. STEGLICH, W. LÖSEL & V. AUSTEL, Chem. Ber. **102**, 4104 (1969)
- [9] W. STEGLICH & W. REININGER, Chem. Ber. **105**, 2922 (1972); W. STEGLICH, R. ARNOLD, W. LÖSEL & W. REININGER, Chem. Commun. **1972**, 102
- [10] W. STEGLICH, E. TÖPFER-PETERSEN, W. Reininger, K. GLUCHOFF & N. ARPIN, Phytochem. **11**, 3299 (1972); K. GLUCHOFF, N. ARPIN, M.-P. DANGY-CAYE, P. LEBRETON, W. STEGLICH, E. TÖPFER, H. POURRAT, F. REGERAT & D. DERUAZ, Compt. rend. Acad. Sci. Paris **274**, 1739 (1972)
- [11] S. SHIBATA, Pure and Applied Chem. **33** 109 (1973)
- [12] R. J. J. Ch. LOUSBERG, U. WEISS, C. A. SALEMINK, A. ARNONE, L. MERLINI & G. NASINI, Chem. Commun. **1971**, 1463
- [13] R. G. COOMBE, H. I. C. LOWE & T. R. WATSON, Austr. J. Chem. **25** 875, 881, (1972)
- [14] J. C. ROBERTS & D. J. THOMPSON, J. chem. Soc. (C) **1971**, 3488
- [15] P. SINGH & M. ANCHEL, Phytochem. **10**, 3259 (1971)
- [16] R. J. WIKHOLM & H. W. MOORE, J. amer. chem. Soc. **94**, 6152 (1972)
- [17] W. S. G. MAASS & A. C. NEISH, Can. J. Botany **45**, 59 (1967)
- [18] A. BRESINSKY & P. ORENDI, Z. Pilzk. **36**, 135 (1970)
- [19] J. A. SCHMIDT, Z. Pilzk. **36**, 77 (1970)
- [20] R. J. MEAD & W. SEGAL, Biochem. J. **121**, 26 P (1971)
- [21] D. W. NAGEL, P. S. STEYN & N. P. FERREIRA, Phytochem. **11**, 3215 (1972)
- [22a] W. STEGLICH, H. BESL & A. PROX, Tetrahedron Letters **1972**, 4895
- [22b] A. BRESINSKY in [22a]
- [23] A. E. BIRD & A. C. MARSHALL, J. chem. Soc. (C) **1969**, 2418
- [24] A. A. QURESHI, F. J. BARNES & J. W. PORTER, J. biol. Chem. **247**, 6730 (1972)
- [25] K. VOKÁČ, Z. SAMEK, V. HEROUT & F. ŠORM, Coll. czech. chem. Comm. **35**, 1296 (1970)
- [26] W. M. DANIEWSKI & M. KOCÓR, Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. chim. **19**, 553 (1971), **20**, 313 (1972)
- [27] G. MAGNUSSON, S. THORÉN & B. WICKBERG, Tetrahedron Letters **1972**, 1105
- [28] G. W. van EIJK, Phytochem. **10**, 3263 (1971)
- [29] A. I. SCOTT & K. J. WIESNER, Chem. Comm. **1972**, 1075
- [30] W. STEGLICH, E. TÖPFER-PETERSEN, W. REININGER, K. GLUCHOFF & N. ARPIN, Tetrahedron Letters **1972**, 3299
- [31] J. F. GROVE, J. chem. Soc. Perkin I **1972**, 2400, 2406
- [32] J. GRIPENBERG, Acta chem. Scand. **17**, 703 (1963)
- [33] N. FISCHER & A. S. DREIDING, Helv. chim. Acta **55**, 649 (1972) und frühere Arbeiten
- [34] H. DÖPP, W. GROB & H. MUSSO, Naturwissensch. **58**, 566 (1971)

- [35] E. P. WHITE, New Zeal. J. Sci. **15**, 178 (1972); ref. Chem. Abstr. **77**, 98731 (1972)
- [36] H. ROMAGNESI, Les Russules d'Europe et d'Afrique du Nord, Bordas, Paris 1967
- [37] J. SCHAEFFER, Die Russulae, 2. Aufl. 1952, Nachdruck 1970, Cramer, Lehre
- [38] E. F. FRAUENFELDER, Russulafarbstoffe, Inauguraldissertation, Universität Zürich 1970
- [39] Renée RIEKER, Isolierung und Charakterisierung eines neuen dimeren Pteridin-ribosids aus *Russula emetica*, Diplomarbeit, Universität Zürich 1970
- [40] E. BACHMANN, Ber. dtsh. bot. Ges. **4**, 68 (1886)
- [41] F. BACHMANN, Ber. dtsh. bot. Ges. **56**, Anhang 125 (1938)
- [42] M. JOSSERAND & G. NÉTIEN, Bull. mens. Soc. linnéenne Lyon **7**, 283 (1938), **8**, 14 (1939)
- [43] G. DEYSSON, Bull. soc. Mycol. France **74**, 207 (1958)
- [44] K. BALENOVIĆ, D. CERAR, Z. PUČAR & V. ŠKARIĆ, Arhiv za Kemiju **27**, 15 (1955)
- [45] J. L. BONNET, Bull. Soc. mycol. France **75**, 215 (1959)
- [46] Pauline WATSON, Trans. brit. mycol. Soc. **49**, 11 (1966)
- [47] a) Katia GLUCHOFF, Etude chimiotaxinomique des pigments des Russules, Thèse (3^e cycle), Université de Lyon, Faculté des Sciences, 1969
b) K. GLUCHOFF & M. LEBRETON, Compt. rend. Acad. Sci. Paris **270**, D, 213 (1970)
- [48] N. BREGANT & Z. TURC, Bull. scient. Yougosl. Sect. A. **15**, 158 (1970)
- [49] C. H. EUGSTER, E. F. FRAUENFELDER & H. KOCH, Helv. chim. acta **53**, 131 (1970)
- [50] a) H. KOCH, Trennung von *Russula*-Farbstoffen mit isoelektrischer Fokussierung in einem natürlichen pH und Dichtegradienten, Diplomarbeit, Universität Zürich, 1970
b) H. KOCH, Dissertation in Vorbereitung
- [51] Dissertation in Vorbereitung
- [52] P. ITEN, Sh. ARIHARA & C. H. EUGSTER, Helv. chim. acta **56**, 302 (1973)
- [53] T. MASUDA, T. KISHI & M. ASAI, Chem. pharmaceut. Bull. Tokyo **6**, 291 (1958)
- [54] A. SUZUKI, T. MIYAGAWA & M. GOTO, Bull. chem. Soc. Japan **45**, 2198 (1972)
- [55] A. N. SHIWRINA & L. N. KORYAKINA, Prod. Bios. Vyssh. Gribov Ikh. Ispol'z, **45**, Akad. Nauk, Moskau 1966
- [56] H. SCHLOBACH & W. PFLEIDERER, Helv. chim. acta **55**, 2518 (1972)

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Pilzkunde](#)

Jahr/Year: 1973

Band/Volume: [39_1973](#)

Autor(en)/Author(s): Eugster C. H.

Artikel/Article: [Pilzfarbstoffe, ein Überblick aus chemischer Sicht mit besonderer Berücksichtigung der Russulae 45-96](#)