

Pilzpigmente, XXXV[1]

3-O-Methylvariegatsäure und verwandte Pulvinsäurederivate aus Kulturen von *Hygrophoropsis aurantiaca* (Boletales)

Pigments of Fungi, XXXV

3-O-Methylvariegatic Acid and Related Pulvinic Acid Derivatives from Cultures of *Hygrophoropsis aurantiaca* (Boletales)

Helmut Besl und Andreas Bresinsky

Lehrstuhl Botanik II, Fachbereich Biologie der Universität Regensburg

und

Lothar Kopanski und Wolfgang Steglich

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn

Z. Naturforsch. 33 c, 820–825 (1978); eingegangen am 19. September, 1978

Fungus Pigments, Pulvinic Acids, 3-O-Methyl Derivatives of Variegatic Acid, *Hygrophoropsis aurantiaca*, Boletales

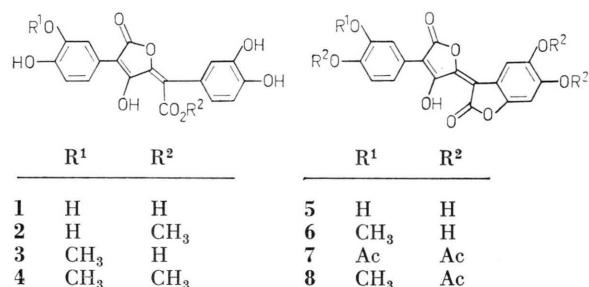
From cultures of *Hygrophoropsis aurantiaca* in addition to variegatic acid (**1**), methyl variegate (**2**) and variegatorubin (**5**), three new derivatives of pulvinic acid have been isolated. They were identified as 3-O-methylvariegatic acid (**3**), its methyl ester **4** and 3-O-methylvariegatorubin (**6**) by means of spectroscopy and comparison with synthetic samples.

1971 stellten Bresinsky und Bachmann [2] fest, daß der Falsche Pfifferling, *Hygrophoropsis aurantiaca*, in Mycelkulturen Variegatsäure (**1**) und weitere Pulvinsäuren bildet. Dieser Befund stützt die Eingliederung des Pilzes in die Ordnung Boletales. Edwards [3] konnte kürzlich aus Fruchtkörpern von *H. aurantiaca* neben **1** Variegatsäure-methylester (**2**) isolieren, ein bisher als Naturstoff noch nicht nachgewiesenes Pulvinsäurederivat. Im Zusammenhang mit Biosynthesestudien haben wir die Farbstoffbildung in Flüssigkulturen unter Zusatz von Fichtenspänen untersucht und dabei einige neue Verbindungen isoliert, über deren Konstitutionsermittlung berichtet wird.

Die Extraktion des Nährmediums mit Aceton und übliche Aufarbeitung lieferte ein Rohgemisch, in dem dünnsschichtchromatographisch im wesentlichen vier gelbe und zwei rote Farbstoffe nachzuweisen sind. Die Auftrennung der Verbindungen gelang durch Säulenchromatographie an Sephadex LH 20 und präparative DC. Dabei erwiesen sich drei Verbindungen als bekannt: Variegatsäure (**1**) [2, 4], Variegatsäure-methylester (**2**) [3, 4] und Variegatorubin (**5**) [5].

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. A. Bresinsky, Lehrstuhl Botanik II, Fachbereich Biologie der Universität Regensburg, Universitätsstr. 31, D-8400 Regensburg oder Prof. Dr. W. Steglich, Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn, Gerhard-Domagk-Straße 1, D-5300 Bonn 1.

Eine im DC oberhalb der Variegatsäure laufende gelbe Verbindung **3** ist nach dem Massenspektrum (*m/e*



368 = M⁺ – H₂O) und dem ¹H-NMR-Spektrum (Tab. 1) ein Monomethylether von **1**. Die Verbindung zeigt im MS neben der für 3,4-dihydroxylierte Pulvinsäuren typischen Fragmentierungssequenz 177 → 149 → 121 [6] eine um 14 ME höhere Reihe, woraus folgt, daß eine der phenolischen OH-Gruppen verethert sein muß. Da **3** durch K₃[Fe(CN)₆] nicht in ein blaues Hydroxychinonmethid-Anion überführbar ist [6, 7] und mit Cu/H₂O₂/AcOH ein dem Variegatorubin (**5**) entsprechendes rotes Oxidationsprodukt **6** bildet [7], befindet sich die Etherfunktion im Ring A. Versuche, die Lage der Methoxygruppe aus den chemischen Verschiebungen von **3** bzw. dessen Triacetyl-lacton **9** zu bestimmen [7], erwiesen sich als zu

Tab. I. ^1H -NMR-Spektren einiger Variegatsäuredederivate: **3** in $[\text{D}_6]$ Aceton, **7–13** in CDCl_3 ; TMS als innerer Standard, δ -Werte in ppm.

| | 2-H | 5-H | 6-H | 2'-H | 5'-H | 6'-H | CH_3O | Ac | OH |
|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------------------|------------------------|-------|
| 3 | 7,84 (a) | 6,91 (b) | 7,72 (c) | 6,94 (a) | 6,91 (b) | 6,78 (c) | 3,87 | — | — |
| 7 | 8,08 (a) | 7,31 (d) | 8,15 (e) | 7,76 (f) | 7,18 (f) | — | — | 2,30, 2,32, 2,34 [12H] | 12,50 |
| 8 | 7,91 (g) | 7,15 (h) | 7,86 (g) | 7,78 (f) | 7,20 (f) | — | 3,92 | 2,33, 2,34 [9H] | 12,44 |
| 9 | 7,69 (a) | 7,19 (i) | 7,69 (k) | 7,93 (g) | 7,38 (l) | 7,99 (g) | 3,93 | 2,31, 2,33 [9H] | — |
| 10 | 7,76 (a) | 7,07 (i) | 7,95 (k) | 7,89 (g) | 7,35 (l) | 7,95 (g) | 3,91 | 2,32, 2,34, 2,35 | — |
| 11 | 7,70 (a) | 7,19 (i) | 7,70 (k) | 7,70 (a) | 7,19 (i) | 7,70 (k) | 3,94 | 2,37 | — |
| 12 | 7,75 (a) | 7,06 (i) | 7,93 (k) | 7,75 (a) | 7,06 (i) | 7,93 (k) | 3,89 | 2,34 | — |
| 13 | 7,91 (g) | 7,37 (l) | 7,97 (g) | 7,91 (g) | 7,37 (l) | 7,97 (g) | — | 2,32, 2,34 | — |

(a) : d, $J=2$ Hz; (b) : $J=8,5$; (c) : dd, $J_1=8,5$, $J_2=2$; (d) : X-Teil eines ABX-Systems, z. T. von CDCl_3 -Signal überdeckt; (e) : dd, $J_1=8$, $J_2=2$; (f) : s; (g) : m; (h) : d, $J=8$; (i) : d, $J=9$; (k) : dd, $J_1=9$, $J_2=2$; (l) : d, $J=9$, mit Feinaufspaltung.

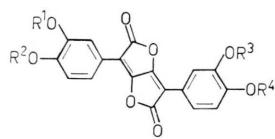
unsicher, so daß die Zuordnung durch Synthese der beiden möglichen Triacetyllactone **9** und **10** entschieden wurde.

(Abb. 1) sowie in allen sonstigen Eigenschaften mit dem aus der natürlichen Verbindung erhaltenen Derivat überein, so daß für **3** die Konstitution einer 3-O-Methylvariegatsäure bewiesen wird.

Die zweite rote Komponente aus der Pilzkultur erwies sich als identisch mit dem durch H_2O_2 -Oxidation von **3** erhaltenen Rubin, so daß hier 3-O-Methylvariegatorubin (**6**) vorliegt. Mit Acetanhydrid wird die Verbindung in ein rotes Triacetat **8** übergeführt.

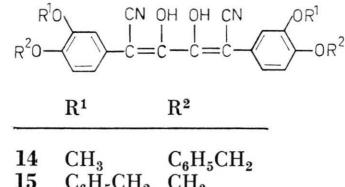
Die noch verbleibende gelbe Verbindung ist nach den spektroskopischen Daten 3-O-Methylvariegatsäure-methylester (**4**). Er liefert bei der sauren Verseifung die Säure **3**, die als Triacetyllacton **9** charakterisiert wurde.

Methylether von Hydroxypulvinsäuren sind bisher noch nicht aus Höheren Pilzen isoliert worden. Ihre Bildung durch *H. aurantiaca* könnte in Zusammenhang mit dem Vorhandensein von Fichtenholz im Nährmedium stehen [9]. Interessanterweise konnte Fukuzumi [10] aus Fichtenholz-Lignin enthaltenden Nährmedien, die durch *Poria subacida* zersetzt worden waren, 4-Hydroxy-3-methoxybrenztraubensäure isolieren – einen potentiellen biosynthetischen Vorläufer von **3**. Andererseits wurden 3-Methylether bisher nur im Falle des 3-O-Methyl-dopas in Höheren Pilzen gefunden [11]. Eine para-Methyltransferase wurde von Towers [12] bei *Lentinus lepidus* beschrieben. Es ist noch ungeklärt, ob das früher [2] auf Grund chromatographischer Daten postulierte Vorkommen von Atromentin- und Xerocomäsure möglicherweise auf das Fehlen einer Ligninquelle im Nährmedium zurückzuführen ist.

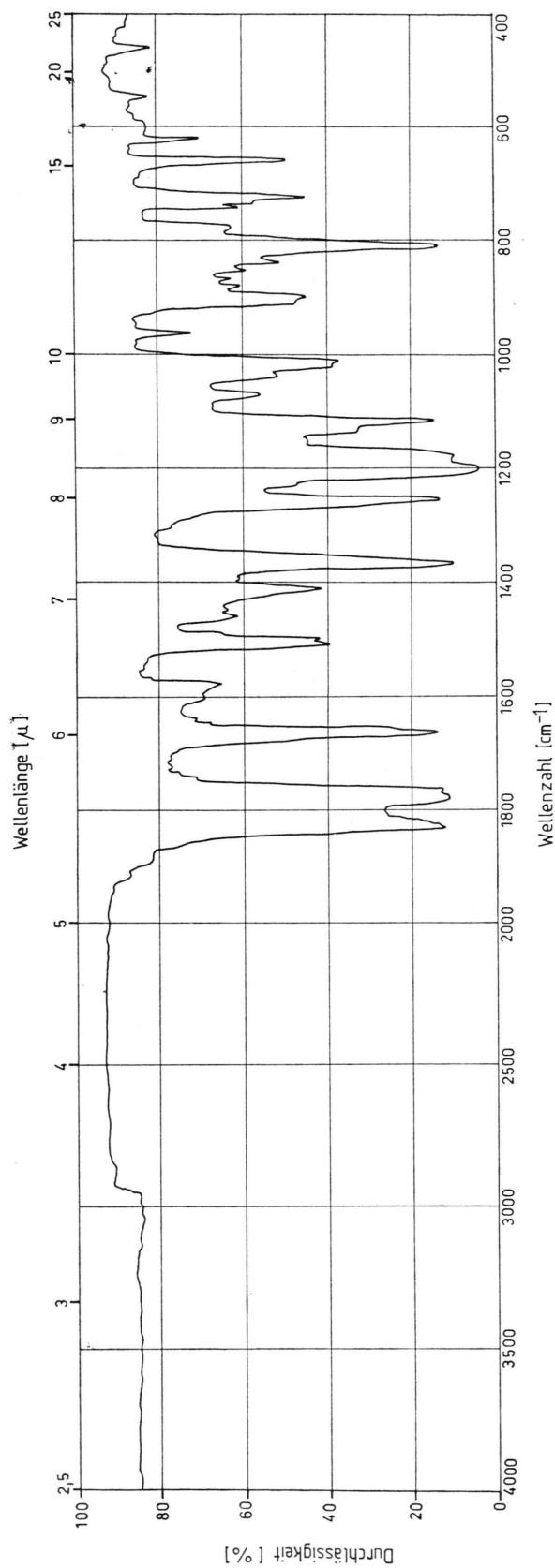


| | R ¹ | R ² | R ³ | R ⁴ |
|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 9 | CH ₃ | Ac | Ac | Ac |
| 10 | Ac | CH ₃ | Ac | Ac |
| 11 | CH ₃ | Ac | CH ₃ | Ac |
| 12 | Ac | CH ₃ | Ac | CH ₃ |
| 13 | Ac | Ac | Ac | Ac |

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an Asano und Kameda [8] ausgehend von 4-Benzylxyloxy-3-methoxybenzylcyanid bzw. 3-Benzylxyloxy-4-methoxybenzylcyanid. Kondensation mit Oxalsäurediethylster ergab die Ketipinsäuredederivate **14** bzw. **15**,



die durch Erhitzen mit HBr/Eisessig in ein Gemisch von **1** mit den entsprechenden Mono- und Dimethyl-ethern überführt wurde. Die chromatographische Auftrennung an Sephadex LH 20 und anschließendes Behandeln mit Acetanhydrid lieferte die Peracetyl-lactone **9** und **11** bzw. **10** und **12**. Synthetisches **9** stimmte im ^1H -NMR- (Tab. I) und IR-Spektrum



Experimenteller Teil

UV-Spektren: Beckman Modell 25. — IR-Spektren: Pye Unicam SP 1100 (Intensitätsangaben in Klammern: sst = sehr stark, st = stark, m = mittel, w = schwach, sh = Schulter). — Massenspektren: AEI MS-50 mit Datenverarbeitung (70 eV), AEI MS-9 und MS-30. NMR-Spektren: Bruker WH 90. — Schmelzpunkte (unkorrigiert): Reichert Schmelzpunktmiokroskop. — Dünnschichtchromatographie: Kieselgel-Fertigplatten 60 F₂₅₄ (Fa. Merck, Darmstadt); Laufmittel Benzol/HCO₂Et/HCO₂H (10:5:3 Vol.); Säulenchromatographie: Sephadex LH 20, Fa. Pharmacia, Uppsala, Schweden, und Polyamid SC 6-AC, Fa. Macherey, Nagel & Co., Düren.

Kultur von *Hygrophoropsis aurantiaca* und Isolierung der Farbstoffe

In 18 Fernbachkolben (je 1,8 l) wurden je 150 g Fichtenspäne und 400 ml Nährösung (Flüssigmedium Mb nach Moser [12]) gegeben. Nach Sterilisieren im Autoklaven (20 min, 121 °C) und Beimpfung mit vorkultiviertem Mycel von *H. aurantiaca* erfolgte die Ruhekultur bei Raumtemperatur und normalem Hell-Dunkel-Wechsel über 3,5 Monate.

Zur Gewinnung der Pigmente verrührte man den Inhalt der Kulturgefäße mehrmals mit schwach angeseuertem Aceton (insgesamt 15 l) und dampfte die abgetrennten Lösungen am Rotationsverdampfer auf ca. 2 l ein. Mehrmaliges Ausschütteln mit Essigester und Eindampfen der getrockneten organischen Phasen lieferte ein braunrotes Öl, das durch Säulenchromatographie an Sephadex LH 20 mit 70-proz. Methanol im wesentlichen in eine gelbe und eine rote Zone aufgetrennt werden konnte. Zur Feinauf trennung der gelben Fraktion wurde diese über eine Säule mit Polyamid SC 6-AC gegeben (Eluent: Aceton/Ethanol/HCO₂H [95:15:5 Vol.]). Die dabei erhaltenen vier gelben Fraktionen wurden durch mehrmalige Rechromatographie an acetyliertem Polyamid gereinigt (Eluent: Aceton).

3-O-Methylvariegatsäure-methylester (4): 2,53 g, harziges, stark verunreinigtes Rohprodukt. Rechromatographie von 0,1 g an Sephadex LH 20 (Eluent: Aceton/Methanol [4:1 Vol.]) führte zur weitgehenden Abtrennung der harzigen Begleitstoffe. — DC: R_F 0,50 (gelb). — ¹H-NMR ([D₆] Aceton):

Abb. 1. IR-Spektrum von 3,4,4'-Triacetoxy-3'-methoxypulvin-säurelacton (9) (in KBr).

$\delta = 3,84, 3,87$ (jeweils s, 6 H); 6,83 (d, $J = 8,5$ Hz, 5-H); 6,84 – 7,09 (m, 2'-, 5'-, 6'-H); 7,73 (dd, $J_1 = 8,5$, $J_2 = 2$ Hz, 6-H); 7,90 (d, $J = 2$ Hz, 2-H). – MS (Ionenquellentemp. 200 °C): M^+ m/e 400,0819 (13%, ber. für $C_{20}H_{16}O_9$ 400,0795), 368 (73, $C_{19}H_{12}O_8$), 312 (15), 256 (17).

Variegatsäure-methylester (**2**): 0,58 g; DC: R_F 0,43 (gelb, mit $K_3[Fe(CN)_6]/NaHCO_3$ blau); durch Vergleich mit authentischer Verbindung identifiziert [3, 4].

3-O-Methylvariegatsäure (**3**): 0,15 g, orangebraunes Pulver, Schmp. 270 – 271 °C (Zers.); DC: R_F 0,34 (gelb). – UV-Spektrum (H_2O): $\lambda_{max} = 383$ (log $\varepsilon = 3,94$), 259 nm (4,24); (EtOH): 403 (3,93), 263 nm (4,18). – IR (KBr): 3460 – 2400 (st – m), 1755 (st), 1680 (m), 1605 (sst), 1520 (st), 1470 – 1440 (st), 1425 (st), 1365 (st), 1270 (sst), 1250 – 1200 (st), 1130 (st), 1070 (st), 1045 (m), 1010 (m), 905 (m), 870 (m), 825 (m), 800 (m), 775 (m), 740 cm^{-1} (m). – MS (Ionenquellentemp. 250 °C): $M^+ - H_2O$ m/e 368,0537 (100%, ber. für $C_{19}H_{12}O_8$ 368,0532), 342 (12, $C_{18}H_{14}O_7$), 340 (4), 312 (35), 284 (3), 256 (31,5), 241 (1,5), 213 (3), 191 (4), 177 (5), 163 (27, $C_9H_7O_3$), 149 (26), 135 (26), 121 (16).

Variegatsäure (**1**): 0,05 g; DC: R_F 0,23 (gelb, mit $K_3[Fe(CN)_6]/NaHCO_3$ blau); durch Vergleich mit authentischer Verbindung und Überführung in **13** identifiziert [4].

Die rote Fraktion (3,22 g, nach Redchromatographie an Sephadex LH 20, Eluent: 70-proz. Methanol) ließ sich säulenchromatographisch nur schlecht weiter reinigen, so daß von einem kleinen Teil (100 mg) durch präparative DC die beiden Rubine gewonnen wurden.

Variegatorubin (**5**): 38 mg; DC: R_F 0,46 (rot); durch Vergleich mit authentischer Verbindung identifiziert [5].

3-O-Methylvariegatorubin (**6**): 32 mg, braunviolette Kriställchen aus Acetonitril, Schmp. 262 – 265 °C; DC: R_F 0,56 (rot). – UV-Spektrum (EtOH und wenig HCl): $\lambda_{max} = 495$ (log $\varepsilon = 3,80$), 277 nm (3,96). – IR (KBr): 3440 – 3390 (st), 1800 (sh), 1780 (st), 1725 (st), 1700 (sst), 1645 (sst), 1615 (sst), 1525 (m), 1500 (sst), 1470 (m), 1415 (m), 1375 (sst), 1305 (sst), 1255 (sst), 1125 (sst), 1040 (sst), 945 (m), 865 (m), 820 (st), 790 (m), 695 cm^{-1} (m). – MS (Ionenquellentemp.

180 °C): M^+ m/e 384,0480 (33%, ber. für $C_{19}H_{12}O_9$ 384,0481), 300 (5), 254 (10).

2.5-(4-Benzylxyloxy-3-methoxyphenyl)-3,4-dioxoadiponitril (**14**):

6,8 g 4-Benzylxyloxy-3-methoxybenzylcyanid [14] wurden mit 2 g Oxalsäurediethylester in 13,6 ml einer Natriummethylenat-Lösung (1,2 g Na in 25 ml EtOH) 3 h auf 90 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen versetzte man mit 100 ml Wasser, filtrierte, schüttelte zweimal mit je 50 ml Essigester aus und säuerte die wäßrige Phase nach Zugabe von 300 ml Wasser mit Eisessig an. Der orangerote, voluminöse Niederschlag wurde abgesaugt und nacheinander mit Wasser, Methanol und Ether gewaschen. Nach Trocknen an der Ölspülung über P_4O_{10} bei 50 °C Ausbeute 5 g (66,5%), Schmp. 233 – 235 °C (unscharf unter Zers.). – UV-Spektrum (EtOH): $\lambda_{max} = 359$ (log $\varepsilon = 4,18$), 268 nm (4,36). $C_{34}H_{28}N_2O_6$ (560,6)

Ber. C 72,84 H 5,03 N 5,00
Gef. C 72,48 H 5,09 N 4,81

2.5-(3-Benzylxyloxy-4-methoxyphenyl)-3,4-dioxoadiponitril (**15**)

Aus 3-Benzylxyloxy-4-methoxybenzylcyanid [15] und Oxalsäurediethylester wie bei **14** beschrieben. Ausbeute 67%, orangerotes Pulver, Schmp. 213 – 215 °C (Zers.). – UV-Spektrum (EtOH): $\lambda_{max} = 359$ (log $\varepsilon = 4,22$), 267 nm (4,39). $C_{34}H_{28}N_2O_6$ (560,6)

Ber. C 72,84 H 5,03 N 5,00
Gef. C 72,41 H 5,07 N 4,95

Verseifung von **14** und Darstellung der Peracetyllactone **9**, **11** und **13**

1,4 g **14** wurden mit 30 ml Eisessig und 10 ml 48-proz. wäßriger HBr 75 min am Rückfluß erhitzt. Man verdünnte mit Wasser auf 850 ml und setzte bis zur schwach basischen Reaktion festes Natriumhydrogencarbonat zu. Nun wurde sofort zweimal mit je 200 ml Essigester ausgeschüttelt und die wäßrige Phase anschließend mit konz. HCl angehäutet. Man extrahierte erschöpfend mit Essigester, trocknete die organischen Phasen über Magnesiumsulfat, dampfte ein, nahm den Rückstand in wenig Aceton/Methanol (4:1 Vol.) auf und chromatographierte an Sephadex LH 20 mit den gleichen Solventien. Die drei gelben Hauptfraktionen wurden eingedampft und mit Acetanhydrid unter Zusatz

eines Tropfens konz. H_2SO_4 bei 80 °C acetyliert. Die nach dem Abkühlen ausgefallenen Produkte wurden abgesaugt, gut mit Eisessig ausgekocht, mit Ether gewaschen und getrocknet.

4.4'-Diacetoxy-3,3'-dimethoxypulvinsäurelacton
(11): 45,2 mg, leuchtend gelbe Nadelchen, Schmp. 267 – 269 °C (Zers.). – UV-Spektrum (Aceton): $\lambda_{\max} = 396 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4,30$). – IR (KBr): 1830 (sst), 1770(sst), 1665(sst), 1515(st), 1365(sst), 1260(sst), 1205(sst), 1140(sst), 830 cm⁻¹ (sst).

$\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ (466,4)
 Ber. C 61,81 H 3,89
 Gef. C 61,87 H 3,69

3.4.4'-Triacetoxy-3'-methoxypulvinsäurelacton
(9): 71 mg, leuchtend gelbe Nadelchen, Schmp. 247 – 248 °C. – UV-Spektrum (Aceton): $\lambda_{\max} = 386 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4,51$). – IR (KBr, Abb. 1): 1830(sst), 1780(sst), 1770(sh), 1665(sst), 1510(m), 1500 (m), 1410(m), 1365(sst), 1255(sst), 1200(sst), 1190(sst), 1120(sst), 1035(sh, m), 1020(m), 920(sh), 900(m), 880(w), 870(w), 855(w), 840(w), 810 cm⁻¹ (sst).

$\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$ (494,4)
 Ber. C 60,73 H 3,67
 Gef. C 60,92 H 3,56

Das durch Acetylierung von natürlichem **3** gewonnene Lacton **9** erwies sich nach Schmp., Mischschmp., UV, IR, ¹H-NMR und MS als identisch mit der synthetischen Verbindung.

3.3'.4.4'-Tetraacetoxy-pulvinsäurelacton (**13**): 85 mg, Schmp. 280 – 281 °C (Zers.), Lit. [4] 282 °C (Zers.).

Verseifung von **15** und Darstellung der Peracetylactone **10**, **12** und **13**

2,2 g **15** wurden analog dem vorhergehenden Beispiel mit 60 ml Eisessig und 20 ml konz. 48-proz. wäßriger HBr 70 min am Rückfluß erhitzt. Die Auftrennung, Reinigung und Acetylierung erfolgte wie beschrieben.

3.3'-Diacetoxy-4.4'-dimethoxypulvinsäurelacton
(12): 100 mg, leuchtend gelbe Kristalle, Schmp.

279 – 281 °C (Zers.). – UV-Spektrum (Aceton): $\lambda_{\max} = 413 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4,47$). – IR (KBr): 1830 (sst), 1770(sst), 1670(sst), 1610(sst), 1515(sst), 1370(sst), 1305(st), 1280(sst), 1260(sst), 1135 (sst), 830(sst), 620 cm⁻¹ (sst).

$\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ (466,4)
 Ber. C 61,81 H 3,89
 Gef. C 61,59 H 3,98

3.3'.4 Triacetoxy-4'-methoxypulvinsäurelacton
(10): 168 mg, leuchtend gelbe Kristalle, Schmp. 256 – 258 °C (Zers.). – UV-Spektrum (Aceton): $\lambda_{\max} = 400 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4,41$). – IR (KBr): 1830 (sst), 1785(sst), 1665(sst), 1610(st), 1515(st), 1370(sst), 1280(st), 1260(st), 1210 – 1200(st), 1120(st), 1020(m), 875(st), 820 cm⁻¹ (sst).

$\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$ (494,4)
 Ber. C 60,73 H 3,67
 Gef. C 60,55 H 3,57

Überführung von **4** in das Peracetylacton **9**

100 mg leicht verunreinigtes **4** wurden in 10 ml Eisessig mit 1 ml konz. HCl 2 h unter Rückfluß gekocht (DC-Kontrolle). Nach dem Abkühlen verdünnte man mit 50 ml Wasser und extrahierte die Säure **3** mit Essigester. Ausschütteln der organischen Phase mit NaHCO₃-Lösung und Ansäuern der wäßrigen Phase mit HCl lieferte nach Ausschütteln mit Essigester und Eindampfen der getrockneten organischen Phase rohes **3**, welches über Sephadex LH20 gereinigt wurde (Eluent: Aceton/Methanol [4:1 Vol.]). Das nach üblicher Acetylierung erhaltene Peracetylacton erwies sich nach IR, MS und ¹H-NMR als identisch mit der synthetischen Verbindung **9**.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung dieser Arbeit. Herrn Dr. G. Eckhardt danken wir für die Aufnahme der MS-Spektren, Herrn C. Schmidt und Frau R. Leven für die NMR-Spektren, Frau A. Scholz für die Elementaranalysen und Fräulein M. Andreß für technische Mitarbeit.

- [1] XXXIV. Mitt.: H. Besl, R. Halbauer u. W. Steglich, Z. Naturforsch. **33c**, 294 (1978).
- [2] A. Bresinsky u. R. Bachmann, Z. Naturforsch. **26b**, 1086 (1971).
- [3] R. L. Edwards, J. Chem. Res. **1977**, 276.
- [4] R. L. Edwards u. G. C. Elsworth, Chem. Comm. **1967**, 373; P. C. Beaumont, R. L. Edwards u. G. C. Elsworth, J. Chem. Soc. C, **1968**, 2968.
- [5] W. Steglich, W. Furtner u. A. Prox, Z. Naturforsch. **25b**, 557 (1970).
- [6] W. Steglich, W. Furtner u. A. Prox, Z. Naturforsch. **23b**, 1044 (1968).
- [7] W. Steglich, H. Besl u. K. Zipfel, Z. Naturforsch. **29b**, 96 (1974).
- [8] M. Asano u. Y. Kameda, Ber. Dtsch. Chem. Ges. **67b**, 1522 (1934).

- [9] Nach orientierenden Versuchen hängt die Ausbeute an 3-O-Methylderivaten von der Menge der zugesetzten Fichtenspäne ab; H. Besl und A. Bresinsky, unveröffentlicht.
- [10] T. Fukuzumi, Bull. Agr. Chem. Soc. Japan **24**, 728 (1960).
- [11] G. Dardenne, M. Marlier u. A. Welter, Phytochemistry **16**, 1822 (1977).
- [12] C.-K. Wat u. G. H. N. Towers, Phytochemistry **14**, 663 (1975).
- [13] M. Moser, Die Gattung Phlegmacium. Verlag Julius Klinkhardt, Bad Heilbrunn (1960).
- [14] I. T. Strukov, Zhur. Obshchei Khim. **31**, 2709 (1961); F. Benington u. R. D. Morin, J. Org. Chem. **32**, 1050 (1967).
- [15] E. Wong, Tetrahedron Lett. **1963**, 159; I. Baxter, L. T. Allan u. G. A. Swan, J. Chem. Soc. **1965**, 3645.