

Untersuchungen an Stoffwechselprodukten von Mikroorganismen, XX¹⁾

Die Konstitutionen der Pigmente vom Flexirubin-Typ aus *Cytophaga johnsonae Cy j1*

Hans Achenbach^{*)}, Werner Kohl^{*)} und Hans Reichenbach^{**)}

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg,
Albertstr. 21, D-7800 Freiburg i. Br.^{*)}, und
Gesellschaft für Biotechnologische Forschung,
D-3300 Braunschweig-Stöckheim^{**)}

Eingegangen am 4. September 1978

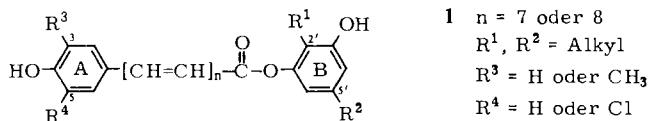
Das Gleitende Bakterium *Cytophaga johnsonae Cy j1* produziert neben wenig Carotinoiden mehr als 25 verschiedene Pigmente vom Flexirubin-Typ (**2a–h**, **3a–h**, **4a–h**, **5**), deren Trennung u.a. durch Hochdruckflüssigchromatographie gelang. Über die Konstitutionen dieser Pigmente wird berichtet. Mit **5** wurde erstmals in dieser Verbindungsklasse ein dichlorhaltiges Pigment aufgefunden.

Investigations on Metabolites of Microorganisms, XX¹⁾

The Structures of the Flexirubin-type Pigments from *Cytophaga johnsonae Cy j1*

Cytophaga johnsonae Cy j1 produces more than 25 different flexirubin-type pigments (**2a–h**, **3a–h**, **4a–h**, **5**) besides lower concentrations of carotenoids. These pigments could be separated using HPLC. Their structures have been elucidated. **5** is the first known member in this class of bacterial pigments containing two chlorine atoms.

Pigmente vom Flexirubin-Typ **1** wurden bisher in Gleitenden Bakterien der Gattungen *Flexibacter* und *Cytophaga* angetroffen^{2,3)}.



Diese neuartigen Farbstoffe liegen meist als Gemische zahlreicher homologer Verbindungen vor, deren Trennung Probleme aufwirft^{3,4)}.

Wir hatten kürzlich über die Untersuchung des Pigmentkomplexes aus *Cytophaga johnsonae Cy j1* berichtet^{4,5)}: Dabei fallen primär eine chlorhaltige Fraktion P9 und eine chlorfreie Fraktion P10 an. Beide Fraktionen ließen sich durch Chromatographie an Polyamid in Hexaene (Komponenten P9-A und P10-A), Heptaene (Komponenten P9-B und P10-B) sowie Octaene (Komponenten P9-C und P10-C) zerlegen.

Derivatisierungsexperimente und eingehende spektroskopische Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß jede der 6 Komponenten immer noch mindestens 3 homologe Pigmente des Typs **1**

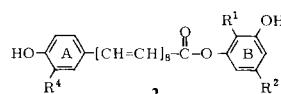
enthält. Aus den Spektren der Gemische waren u.a. Angaben über die Gesamtkettenlängen $R^1 + R^2$ (Formel 1) für die individuellen Pigmente möglich^{4,6)}.

Durch Hochdruckflüssigchromatographie der methylierten Komponenten gelang nunmehr die Isolierung dieser zunächst nur spektroskopisch nachgewiesenen 18 Pigmente, deren Untersuchung jetzt auch die Angabe der noch ausstehenden Konstitutionsdetails erlaubt.

Wir konnten uns bei diesen Arbeiten auf die Erfahrungen stützen, die an dem weniger kompliziert zusammengesetzten Pigmentgemisch aus *Cytophaga spec.* Stamm *Samoa* gesammelt worden waren, bei dem wir die Hochdruckflüssigchromatographie (= HPLC) erstmals eingesetzt hatten³⁾. Wie sich herausstellte, war nicht nur das dort bewährte HPLC-System ohne wesentliche Änderungen auf die Gemische aus *C. johnsonae* übertragbar, auch die spektroskopische und chemische Festlegung der Konstitutionen konnte in analoger Weise durchgeführt werden.

Erstes überraschendes Ergebnis war der Befund, daß die Komponenten P9-C und P10-C aus *C. johnsonae* 8 Pigmente mit den Konstitutionen **2a**–**h** (Tab. 1) enthalten, die mit den 8 in *C. spec.* Stamm *Samoa* nachgewiesenen Pigmenten identisch sind.

Tab. 1. Pigmente in den Farbstoffkomponenten P9-C und P10-C aus *C. johnsonae Cy j1*



	Pigment	R^1	R^2	R^4
a	P9-C-1	$C_{10}H_{21}$ ^{*)}	C_5H_{11} ^{*)}	Cl
b	P9-C-2-I	$[CH_2]_8CH(CH_3)_2$	$n-C_5H_{11}$	Cl
c	P9-C-2-II	$n-C_{10}H_{21}$	$[CH_2]_3CH(CH_3)_2$	Cl
d	P9-C-3	$[CH_2]_8CH(CH_3)_2$	$[CH_2]_3CH(CH_3)_2$	Cl
e	P10-C-1	$C_{10}H_{21}$ ^{*)}	C_5H_{11} ^{*)}	H
f	P10-C-2-I	$[CH_2]_8CH(CH_3)_2$	$n-C_5H_{11}$	H
g	P10-C-2-II	$n-C_{10}H_{21}$	$[CH_2]_3CH(CH_3)_2$	H
h	P10-C-3	$[CH_2]_8CH(CH_3)_2$	$[CH_2]_3CH(CH_3)_2$	H

^{*)} Ein Abbau zur Bestimmung von eventuellen Verzweigungen in den Alkylseitenketten war wegen der geringen Substanzmenge nicht möglich.

Auch bei *C. johnsonae* liegen in den Pigmenten P9-C-2 und P10-C-2 Isomerienpaare vor, deren Nachweis und Konstitutionsfestlegung erst nach reduktiver Spaltung der Estergruppierung und Trennung bzw. Identifizierung der anfallenden Dialkylresorcinmonomethylether durch Kapillar-GC gelang.

Die Ergebnisse bei den Komponenten P9-A und P9-B sowie P10-A und P10-B sind in Tab. 2 zusammengestellt.

Als Fazit der Tabellen 1 und 2 ist festzuhalten, daß von *C. johnsonae* in den Pigmentgemischen P9 und P10 insgesamt 24 individuelle Pigmente gebildet werden, die sich unterscheiden bei:

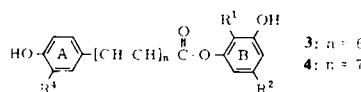
P9 und P10 – durch die Chlorierung an C-3 des Ringes A

A, B, C – durch die Länge des Polyens

1, 2, 3 – durch die Art der Alkylsubstituenten am Ring B bei unterschiedlicher Gesamtkettenlänge $R^1 + R^2$

2-I und 2-II – durch die Art der Alkylsubstituenten am Ring B bei gleicher Gesamtkettenlänge $R^1 + R^2$.

Tab. 2. Pigmente in den Farbstoffkomponenten P9-A, P9-B, P10-A und P10-B



	Pigment	R^1	R^2	R^4
3a	P9-A-1			
4a	P9-B-1	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}^{*)}$	$\text{C}_5\text{H}_{11}^{*)}$	Cl
3b	P9-A-2-I			
4b	P9-B-2-I	$[\text{CH}_2]_8\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{n-C}_5\text{H}_{11}$	Cl
3c	P9-A-2-II			
4c	P9-B-2-II	$\text{n-C}_{10}\text{H}_{21}$	$[\text{CH}_2]_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	Cl
3d	P9-A-3			
4d	P9-B-3	$[\text{CH}_2]_8\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$[\text{CH}_2]_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	Cl
3e	P10-A-1			
4e	P10-B-1	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}^{*)}$	$\text{C}_5\text{H}_{11}^{*)}$	H
3f	P10-A-2-I			
4f	P10-B-2-I	$[\text{CH}_2]_8\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{n-C}_5\text{H}_{11}$	H
3g	P10-A-2-II			
4g	P10-B-2-II	$\text{n-C}_{10}\text{H}_{21}$	$[\text{CH}_2]_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	H
3h	P10-A-3			
4h	P10-B-3	$[\text{CH}_2]_8\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$[\text{CH}_2]_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	H

^{*)} Ein Abbau zur Bestimmung von eventuellen Verzweigungen in den Alkylseitenketten war wegen der geringen Substanzmenge nicht möglich.

Die Pigmentgemische P9 und P10 fallen nebeneinander etwa im Mengenverhältnis 2:3 an. Angaben über ihre prozentuale Zusammensetzung aus den Komponenten A, B und C lassen sich anhand des Ergebnisses der chromatographischen Trennung an Polyamid machen (Tab. 3).

Tab. 3. Prozentualer Anteil der Komponenten A, B und C in den Pigmentgemischen P9 und P10

Komponente	Anteil	Komponente	Anteil
P9-A	ca. 2%	P10-A	ca. 3%
P9-B	73%	P10-B	67%
P9-C	25%	P10-C	30%

Man erkennt, daß die Relationen für P9 und P10 recht ähnlich sind. Sie erfahren auch keine deutliche Änderung, wenn man bei der Züchtung der Bakterien vom Kleinfermenter zu Großfermentern übergeht.

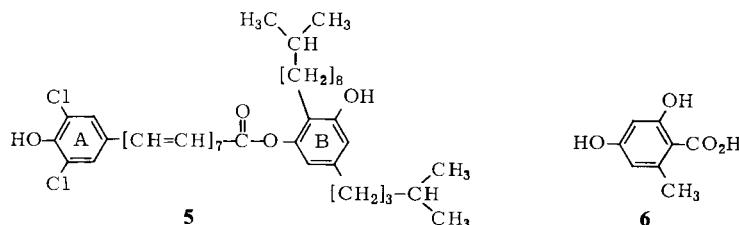
Anders liegt die Situation hinsichtlich der Zusammensetzung der Komponenten aus den jeweils 4 individuellen Pigmenten – 1, – 2-I, – 2-II und – 3. Quantitative Aussagen hierzu lassen sich aus den Massenspektren sowie den Peakflächen der HPLC gewinnen. Bei den Pigmenten – 2-I und – 2-II können außerdem die Kapillargas chromatogramme der Spaltprodukte herangezogen werden. Man findet interessanterweise die gleichen relativen Zusammensetzungen innerhalb der Komponenten A, B und C sowohl bei P9 als auch bei P10. Wie Tab. 4 zeigt, sind die Zahlenwerte aber offensichtlich erheblich von den Fermentationsbedingungen abhängig.

Tab. 4. Prozentualer Anteil individueller Pigmente mit gleichen Substituenten am Ring B innerhalb der Komponenten A, B und C der Pigmentgemische P9 und P10. (a): Fermentation im Kleinfermenter; (b): Fermentation im Großfermenter

individuelle Pigmente in: P9-A, P9-B, P9-C, P10-A, P10-B, P10-C	(a)	Anteil (b)
– 1	12 %	ca. 2 %
– 2-I	21 %	13 %
– 2-II	9 %	6 %
– 3	58 %	79 %

Im Zuge der Chromatographie des rohen Zellmaterials von *C. johnsonae* fällt der Komplex der Pigmente vom Flexirubin-Typ neben Carotinoiden an. Bei der Reinigung der Carotinoide (Hauptkomponente: *trans*-Zeaxanthin) erhält man eine Nebenfraktion P8, die bereits durch den reversiblen und bathochromen Farbumschlag mit Basen Interesse erweckte.

Wie die massenspektrometrische Analyse von methyliertem P8 zeigte, lag im wesentlichen eine dichlorhaltige Substanz vom Flexirubin-Typ vor neben geringen Beimengungen (< 20%) homologer dichlorierter Pigmente. Untersuchungen am gereinigten Pigment legen für diese Verbindung Formel 5 fest.



Mit 5 wurde erstmals ein dichloriertes Pigment vom Flexirubin-Typ aufgefunden.

Darüber hinaus bestätigen die 25 Pigmente aus *C. johnsonae* die Bandbreite konstitutioneller Variationen in dieser neuen Verbindungsklasse:

1. Die Länge des Polyens variiert vom Hexaen zum Octaen.
2. Ring A ist stets *para*-hydroxyliert und häufig chloriert; ein Methylsubstituent ist nicht essentiell.
3. Ring B ist stets *meta*-hydroxyliert und 2,5-dialkyliert; die Alkylseitenketten können linear oder endverzweigt sein (s.u.); ihre Gesamtkettenlänge variiert von $R^1 + R^2 = C_{13}H_{28}$ (im Flexirubin) bis $R^1 + R^2 = C_{17}H_{36}$ (in **3d**, **3h**, **4d**, **4h**).

Im Gegensatz zu Flexirubin und 5-Chlorflexirubin, den Pigmenten aus *Flexibacter elegans*²⁾, findet man unter den Pigmenten aus *C. johnsonae* (Tab. 1 und 2) und auch *C. spec. Samoa* keine Verbindungen, in denen die Benzolringe A oder B methyliert sind. Auf die chemotaxonomische und biosynthetische Bedeutung dieser Beobachtung hatten wir bereits früher hingewiesen³⁾.

Die ermittelten Konstitutionen bekräftigen auch unsere Vermutung eines unmittelbaren biogenetisch begründeten Zusammenhangs zwischen der Kohlenstoffanzahl und dem Auftreten einer Endverzweigung an den jeweiligen Alkylseitenketten des Benzolringes B: Für den Alkylsubstituenten in Position 2' ist eine Endverzweigung offensichtlich an eine ungerade Kohlenstoffanzahl gebunden, während für den Alkylsubstituenten in Position 5' Endverzweigungen nur bei gerader Kohlenstoffanzahl beobachtet werden. Diese Situation entspricht der Biosynthese des Ringes B aus zwei längeren Fettsäuren, die im Falle des Flexirubins (**1**, $R^2 = CH_3$) über eine biologische 3-Acylierung oder 3-Alkylierung von Orsellinsäure (**6**) denkbar ist. (Die Abspaltung der Carboxylgruppe wäre später durch Decarboxylierung möglich.)

Bei den Pigmenten aus *Cytophaga*, die ausnahmslos längere Alkylreste R^2 enthalten, könnten höhere Homologe der Orsellinsäure Zwischenstufen sein. Die Endverzweigung wäre durch die Beteiligung von Isovaleriansäure als Startereinheit für den Aufbau der Fettsäuren erklärbar⁷⁾.

Der 2,5-dialkylierte Resorcin-Ring B dürfte biologisch unabhängig von dem ω -Phenylpolyencarbonsäure-Teil gebildet werden. So jedenfalls lässt sich die Änderung in der Zusammensetzung des Pigmentgemisches nach einem Wechsel der Fermentationsbedingungen interpretieren: Man beobachtet eine deutliche Änderung der Pigmentanteile mit Unterschieden in den Alkylseitenketten des Ringes B (Tab. 4), während die anteilige Bildung von Hexaenen, Heptaenen und Octaenen nicht beeinflusst wird.

Die chemotaxonomische Bedeutung der Pigmente vom Flexirubin-Typ konnte an einem Pigmentgemisch demonstriert werden, das von einer französischen Arbeitsgruppe (Dr. N. Arpin, Dr. A. Moiroud, Lyon) aus einem psychrophilen, nicht näher identifizierbaren Bakterium gewonnen worden war: Die MS-Analyse dieses Gemisches in unserem Laboratorium zeigte eine sehr gute Übereinstimmung mit dem Pigmentmuster aus *C. johnsonae*. Eine erneute gezielte mikrobiologische Untersuchung bestätigte eindeutig die Zuordnung des Pigmentbildners zu den Gleitenden Bakterien der *Cytophaga*-Gruppe.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für Sachbeihilfen. Herrn Dr. W. Karl, Ingenieurabteilung Angewandte Physik, Fa. Bayer AG, Leverkusen, danken wir für die Aufnahme der Kapillarchromatogramme und für die Durchführung der Kapillar-GC/MS-Messungen. Dem Biotechnikum der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung danken wir für die Anzucht der Bakterien.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: Kofler-Heiztischmikroskop (Fa. Reichert), unkorrigiert. – IR-Spektren (KBr): Perkin-Elmer 457. – Elektronen-Spektren (Hexan, Uvasol, wenn nicht anders vermerkt): Spektralphotometer DMR 21 (Fa. Zeiss). – $^1\text{H-NMR}$ -Spektren: Wenn nicht anders vermerkt, FT-Kernresonanzspektrometer HX 180-R bzw. WH 90 (Fa. Bruker-Physik); Lösungsmittel (wenn nicht anders vermerkt) Deuteriochloroform; innerer Standard Tetramethylsilan.

Massenspektren: Massenspektrometer Typ SM 1 B (Fa. Varian-MAT) bei einer Auflösung von $M/\Delta M = 1000$; Ionquelle EH 1; Ionisierungsenergie 70 eV; Temp. der Ionquelle 180 °C; Einlaßsystem Schubstange: Probentemp. 110 – 200 °C. Angegeben sind die Daten im allgemeinen für $m/e > 100$ und, soweit es sich nicht um M^+ oder um wesentliche Schlüsselfragmente⁶⁾ handelt, für relat. Intensitäten > 5%. Hochauflöste Daten: SM 1 B, „Peak-matching“-Methode. Auflösung $M/\Delta M = 14000$ (10% Tal).

Gaschromatographie (GC): Gerät 5750 (Fa. Hewlett & Packard); Detektor WLD, 2-m-Säulen aus Glas (1/8") mit 2% SE 30 (soweit nicht anders vermerkt) auf Chromosorb W (AW-DMCS 60/80 mesh), Trägergas He (ca. 100 ml/min), Einspritzblock 230 °C, Detektor 300 °C. – Kapillar-GC: Modifiziertes Gerät 417 (Fa. Packard); Detektor FID; 60-m-Dünnfilmglaskapillare (Innendurchmesser 0.25 mm) mit OV 101; Trägergas He (ca. 3 bar); Ofentemp. 260 °C isotherm. – Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC): WATERS-Anlage mit Pumpe M 6000 A, Injektionsystem U6K und Photometer M 440, Nucleosil 10-C₁₈-Fertigsäule (4 mm × 30 cm; Fa. Macherey & Nagel, Durchfluß 2.5 ml/min, wenn nicht anders vermerkt, Detektion bei 280 oder 436 nm (je nach Problemstellung)). – Dünnenschichtchromatographie (DC): Platten mit Kieselgel H (Fa. Merck), Schichtdicke 0.25 mm. Nach Lufttrocknung erfolgte die Aktivierung bei 105 °C/30 min. Detektion mit Ioddampf bzw. Fluoreszenzindikator F₂₅₄ (Fa. Merck). Laufmittel, falls nicht anders vermerkt, Benzol/Essigester (90:10). – Präparative DC: Auf Kieselgel-P-Platten, Schichtdicke 1 mm (Fa. Merck).

Rohextraktion der Bakterien: Rohextrakte aus *Cytophaga johnsonae* Cy j wurden in beschriebener Weise⁴⁾ gewonnen. Die Züchtung der Bakterien erfolgte in gleich zusammengesetzten Kulturmedien in mehreren 10-l-Laborfermentern (= Ansatz (a)) oder in 200-l- bzw. 500-l-Großfermentern (= Ansätze (b)).

Pigmentgemische P9 und P10: Der Rohextrakt wurde – wie beschrieben⁴⁾ – zunächst an Al₂O₃ (neutral) in 8 Fraktionen zerlegt; aus Fraktion Nr. 6 fallen bei zweimaliger Rechromatographie an Kieselgel P9 und P10 an.

Auf trennung in die Komponenten A (= Hexaene), B (= Heptaene) und C (= Octaene): Die Trennung von P9 und P10 in die drei Komponenten P9-A, P9-B und P9-C sowie P10-A, P10-B und P10-C erfolgte durch Chromatographie an Polyamid wie beschrieben⁴⁾.

HPLC-Trennung der methylierten Komponenten: Die einzelnen Komponenten wurden nach Methylierung^{3,4)} durch Hochdruckflüssigchromatographie mit dem bereits früher erprobten System untersucht³⁾. Je 10 Injektionen (insgesamt ca. 2–3 mg Komponente in Aceton-Lösung) brachten die in Tab. 5 zusammengestellten Ausbeuten.

Die Pigmente der Komponenten P9-C und P10-C waren identisch (HPLC, UV/VIS, MS, Hexadecahydroprodukte und deren Spektren) mit den Pigmenten aus P15 bzw. P16 in *Cytophaga spec.* Stamm Samoa³⁾. Diese Identität bezieht sich auch auf das Vorliegen eines hochdruckflüssig-chromatographisch nicht mehr trennbaren Isomerengemisches aus I und II in den Fraktionen 2.

P9-A-1-Dimethylether = 13-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12-tridecahexaensäure-(2-decyl-3-methoxy-5-pentylphenylester) (3a-Dimethylether): MS: m/e (%) = 660 (8, M^+ für ^{37}Cl), 659 (8), 658 (16, M^+ für ^{35}Cl), 582 (4), 580 (8), 385 (20), 334 (50), 327 (5), 325 (15), 299 (5), 297 (10),

Tab. 5. HPLC der dimethylierten Komponenten A, B und C der Pigmentgemische P9 und P10 [Nucleosil 10-C₁₈ mit Aceton/THF/H₂O(74:9:17)]

Dimethylether von Komponente	Pigment	Menge (ca. mg)	t _R (min)	Durchfluß (ml/min)
P9-A	P9-A-1	0.1	8.52	2.5
	P9-A-2	0.3	9.31	
	P9-A-3	1.0	10.38	
P9-B	P9-B-1	0.1	10.02	2.5
	P9-B-2	0.5	11.10	
	P9-B-3	2.0	12.46	
P9-C	P9-C-1	0.1	11.17	2.5
	P9-C-2	0.5	11.74	
	P9-C-3	2.0	14.03	
P10-A	P10-A-1	0.1	7.84	3.0
	P10-A-2	0.5	8.45	
	P10-A-3	1.0	9.45	
P10-B	P10-B-1	0.1	9.66	3.0
	P10-B-2	0.5	10.67	
	P10-B-3	2.0	11.74	
P10-C	P10-C-1	0.1	10.24	3.0
	P10-C-2	0.5	11.17	
	P10-C-3	2.0	12.60	

278 (10), 208 (15), 207 (100), 157 (8), 155 (20), 137 (5), 135 (5), 121 (15), 107 (10). — UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 395, 412, 435 \text{ nm}$. — ¹H-NMR: $\delta = 7.6 - 6.2 (16 \pm 2 \text{ H}), 6.06 (1 \text{ H}, \text{d}, J = 15 \text{ Hz}), 3.90 (3 \text{ H}, \text{s}), 3.82 (3 \text{ H}, \text{s}), 2.5 (4 \text{ H}, \text{m}), 1.55 (\text{H}_2\text{O}), 1.4 - 1.2 (19 \pm 3 \text{ H}), 0.87 (6 \text{ H}, \text{m})$.

P9-A-2-Dimethylether = 13-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12-tridecahexaensäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-pentylphenylester] bzw. -[2-decyl-3-methoxy-5-(4-methylpentyl)phenylester] (Dimethylether von **3b** + **3c**): MS: $m/e(\%) = 674$ (3, M⁺ für ³⁷Cl), 672 (6, M⁺ für ³⁵Cl), 596 (1), 594 (3), 349 (14), 348 (51), 327 (1), 325 (3), 299 (1), 297 (4), 292 (14), 278 (4), 249 (3), 247 (6), 221 (6), 207 (100), 157 (4), 155 (7), 137 (7), 135 (9), 123 (6), 121 (13). — Hochaufgelöste MS-Daten: $m/e = 672.3944$ ($\text{C}_{43}\text{H}_{57}\text{ClO}_4$, M⁺ für ³⁵Cl). — UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 395, 412, 435 \text{ nm}$. — ¹H-NMR: $\delta = 7.6 - 6.2 (16 \pm 2 \text{ H}), 6.06 (1 \text{ H}, \text{d}, J = 15 \text{ Hz}), 3.90 (3 \text{ H}, \text{s}), 3.82 (3 \text{ H}, \text{s}), 2.5 (4 \text{ H}, \text{m}), 1.55 (\text{H}_2\text{O}), 1.4 - 1.2 (20 \pm 3 \text{ H}), 0.87 (9 \text{ H}, \text{m})$.

P9-A-3-Dimethylether = 13-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12-tridecahexaensäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester] (**3d**-Dimethylether): MS: $m/e(\%) = 688$ (10, M⁺ für ³⁷Cl), 687 (11), 686 (20, M⁺ für ³⁵Cl), 610 (5), 608 (10), 363 (40), 362 (75), 327 (6), 326 (7), 325 (15), 299 (5), 297 (10), 292 (15), 249 (13), 247 (30), 222 (15), 221 (100), 157 (6), 155 (12), 137 (5), 135 (7), 121 (10). — Hochaufgelöste MS-Daten: $m/e = 686.4103$ ($\text{C}_{44}\text{H}_{59}\text{ClO}_4$, M⁺ für ³⁵Cl). — UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 395, 412, 435 \text{ nm}$. — ¹H-NMR: $\delta = 7.6 - 6.2 (16 \pm 2 \text{ H}), 6.06 (1 \text{ H}, \text{d}, J = 15 \text{ Hz}), 3.90 (3 \text{ H}, \text{s}), 3.82 (3 \text{ H}, \text{s}), 2.5 (4 \text{ H}, \text{m}), 1.55 (\text{H}_2\text{O}), 1.4 - 1.2 (20 \pm 3 \text{ H}), 0.88 (\text{d}, J = 6 \text{ Hz}) \text{ u. } 0.85 (\text{d}, J = 6 \text{ Hz})$ (insgesamt 12 H).

P10-A-1-Dimethylether = 13-(4-Methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12-tridecahexaensäure-(2-decyl-3-methoxy-5-pentylphenylester) (**3e**-Dimethylether): MS: $m/e(\%) = 624$ (22, M⁺), 546 (11), 335 (18), 334 (28), 292 (22), 291 (50), 290 (22), 278 (23), 263 (17), 262 (11), 207 (38), 185 (14), 151 (19), 122 (11), 121 (100), 107 (11), 105 (17). — UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 396, 415, 437 \text{ nm}$. — ¹H-NMR: $\delta = 7.5 - 6.2 (17 \pm 2 \text{ H}), 6.05 (1 \text{ H}, \text{d}, J = 15 \text{ Hz}), 3.83 (6 \text{ H}, \text{s}), 2.5 (4 \text{ H}, \text{m}), 1.55 (\text{H}_2\text{O}), 1.4 - 1.2 (19 \pm 3 \text{ H}), 0.87 (6 \text{ H}, \text{m})$.

P 10-A-2-Dimethylether = 13-(4-Methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12-tridecahexaensäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-pentylphenylester] bzw. -[2-decyl-3-methoxy-5-(4-methylpentyl)phenylester] (Dimethylether von **3f** + **3g**): MS: *m/e*(%) = 638 (17, M⁺), 560 (9), 349 (22), 348 (33), 292 (22), 291 (67), 290 (25), 278 (4), 263 (7), 262 (33), 261 (4), 222 (11), 221 (40), 214 (27), 213 (56), 207 (67), 185 (67), 151 (22), 121 (100), 107 (22), 105 (44). – Hochaufgelöste MS-Daten: *m/e* = 638.4331 (C₄₃H₅₈O₄, M⁺). – UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 396, 415, 437 \text{ nm}$. – ¹H-NMR: $\delta = 7.5 - 6.2 (17 \pm 2 \text{ H})$, 6.05 (1H, d, *J* = 15 Hz), 3.83 (6H, s), 2.5 (4H, m), 1.55 (H₂O), 1.4 – 1.2 (20 ± 3H), 0.87 (9H, m).

P 10-A-3-Dimethylether = 13-(4-Methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12-tridecahexaensäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester] (**3h**-Dimethylether): MS: *m/e*(%) = 652 (33, M⁺), 574 (17), 363 (33), 362 (50), 292 (33), 291 (83), 290 (34), 264 (8), 263 (39), 262 (28), 222 (22), 221 (100), 214 (28), 213 (50), 185 (17), 151 (17), 131 (28), 121 (100), 107 (17), 105 (33). – Hochaufgelöste MS-Daten: *m/e* = 652.4493 (C₄₄H₆₀O₄, M⁺). – UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 396, 415, 437 \text{ nm}$. – ¹H-NMR: $\delta = 7.5 - 6.2 (17 \pm 2 \text{ H})$, 6.05 (1H, d, *J* = 15 Hz), 3.83 (6H, s), 2.5 (4H, m), 1.55 (H₂O), 1.4 – 1.2 (20 ± 3H), 0.88 (d, *J* = 6 Hz) u. 0.85 (d, *J* = 6 Hz) (insgesamt 12 H).

P 9-B-1-Dimethylether = 15-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12,14-pentadecaheptaensäure-(2-decyl-3-methoxy-5-pentylphenylester) (**4a**-Dimethylether): MS: *m/e*(%) = 686 (3, M⁺ für ³⁷Cl), 684 (7, M⁺ für ³⁵Cl), 608 (3), 606 (7), 353 (5), 351 (11), 348 (40), 325 (4), 323 (5), 278 (20), 275 (7), 273 (16), 208 (13), 207 (100), 157 (7), 155 (13), 137 (13), 135 (27), 123 (7), 121 (13). – UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 408, 428, 454 \text{ nm}$. – ¹H-NMR: $\delta = 7.6 - 6.2 (18 \pm 2 \text{ H})$, 6.06 (1H, d, *J* = 15 Hz), 3.90 (3H, s), 3.82 (3H, s), 2.5 (4H, m), 1.55 (H₂O), 1.4 – 1.2 (19 ± 3H), 0.87 (6H, m).

P 9-B-2-Dimethylether = 15-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12,14-pentadecaheptaensäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-pentylphenylester] (Dimethylether von **4b** + **4c**): MS: *m/e*(%) = 700 (2, M⁺ für ³⁷Cl), 698 (5, M⁺ für ³⁵Cl), 622 (1), 620 (3), 353 (14), 351 (34), 349 (17), 348 (57), 325 (6), 321 (11), 292 (14), 278 (6), 273 (14), 222 (11), 221 (57), 207 (100), 157 (6), 155 (9), 135 (6), 123 (6), 121 (14). – Hochaufgelöste MS-Daten: *m/e* = 698.4104 (C₄₅H₅₉ClO₄, M⁺ für ³⁵Cl). – UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 408, 428, 454 \text{ nm}$. – ¹H-NMR: $\delta = 7.6 - 6.2 (18 \pm 2 \text{ H})$, 6.06 (1H, d, *J* = 15 Hz), 3.90 (3H, s), 3.82 (3H, s), 2.5 (4H, m), 1.55 (H₂O), 1.4 – 1.2 (20 ± 3H), 0.87 (9H, m).

P 9-B-3-Dimethylether = 15-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12,14-pentadecaheptaensäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester] (**4d**-Dimethylether): MS: *m/e*(%) = 714 (3, M⁺ für ³⁷Cl), 712 (6, M⁺ für ³⁵Cl), 636 (3), 634 (5), 363 (27), 362 (63), 352 (5), 351 (11), 325 (3), 323 (5), 292 (20), 275 (7), 273 (17), 222 (20), 221 (100), 157 (7), 155 (20), 137 (10), 135 (20), 123 (10), 121 (13). – Hochaufgelöste MS-Daten: *m/e* = 712.4257 (C₄₆H₆₁ClO₄, M⁺ für ³⁵Cl). – UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 408, 428, 454 \text{ nm}$. – ¹H-NMR: $\delta = 7.6 - 6.2 (18 \pm 2 \text{ H})$, 6.06 (1H, d, *J* = 15 Hz), 3.90 (3H, s), 3.82 (3H, s), 2.5 (4H, m), 1.55 (H₂O), 1.4 – 1.2 (20 ± 3H), 0.88 (d, *J* = 6 Hz), u. 0.85 (d, *J* = 6 Hz) (insgesamt 12 H).

P 10-B-1-Dimethylether = 15-(4-Methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12,14-pentadecaheptaensäure-(2-decyl-3-methoxy-5-pentylphenylester) (**4e**-Dimethylether): MS: *m/e*(%) = 650 (12, M⁺), 572 (12), 335 (8), 334 (17), 318 (6), 317 (17), 316 (16), 289 (10), 288 (6), 278 (17), 240 (21), 239 (45), 207 (42), 151 (10), 131 (17), 122 (10), 121 (100), 105 (17). – Hochaufgelöste MS-Daten: *m/e* = 650.4338 (C₄₄H₅₈O₄, M⁺). – UV/VIS: $\lambda_{\text{max}} = 412, 432, 460 \text{ nm}$. – ¹H-NMR: $\delta = 7.5 - 6.2 (19 \pm 2 \text{ H})$, 6.05 (1H, d, *J* = 15 Hz), 3.83 (6H, s), 2.5 (4H, m), 1.55 (H₂O), 1.4 – 1.2 (19 ± 3H), 0.87 (6H, m).

P 10-B-2-Dimethylether = 15-(4-Methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12,14-pentadecaheptaensäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-pentylphenylester] bzw. -[2-decyl-3-methoxy-5-(4-methylpentyl)phenylester] (Dimethylether von **4f** + **4g**): MS: *m/e*(%) = 664 (20, M⁺), 586 (20), 349 (38), 348 (50), 318 (10), 317 (36), 316 (20), 293 (16), 292 (50), 291 (20), 289 (8), 278 (10), 240 (14), 239 (100), 238 (16), 222 (6), 221 (24), 208 (12), 207 (44), 151 (7), 131 (30), 122 (8), 121 (80). – Hochaufgelöste

MS-Daten: $m/e = 664.4493$ ($C_{45}H_{60}O_4$, M^+). — UV/VIS: $\lambda_{\max} = 412, 432, 460$ nm. — 1H -NMR: $\delta = 7.5 - 6.2$ (19 ± 3 H), 6.05 (1 H, d, $J = 15$ Hz), 3.83 (6 H, s), 2.5 (4 H, m), 1.55 (H_2O), 1.4 – 1.2 (20 ± 3 H), 0.87 (9 H, m).

P 10-B-3-Dimethylether = 15-(4-Methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12,14-pentadecaheptaensäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester] (4h-Dimethylether): MS: m/e (%) = 678 (4, M^+), 600 (3), 363 (15), 362 (33), 318 (8), 317 (25), 315 (11), 292 (9), 289 (6), 265 (4), 240 (9), 239 (44), 222 (14), 221 (100), 151 (8), 131 (8), 121 (31). — Hochauflöste MS-Daten: $m/e = 678.4646$ ($C_{46}H_{62}O_4$, M^+). — UV/VIS: $\lambda_{\max} = 412, 432, 460$ nm. — 1H -NMR: $\delta = 7.5 - 6.2$ (19 ± 3 H), 6.05 (1 H, d, $J = 15$ Hz), 3.83 (6 H, s), 2.5 (4 H, m), 1.55 (H_2O), 1.4 – 1.2 (20 ± 3 H), 0.88 (d, $J = 6$ Hz), u. 0.85 (d, $J = 6$ Hz) (insgesamt 12 H).

Katalytische Hydrierung: Die methylierten Komponenten P9-A, P9-B und P9-C sowie P10-A, P10-B und P10-C wurden in Essigester an Pd/C bei Raumtemp. unter Normaldruck hydriert, bis keine Wasserstoffaufnahme mehr zu beobachten war (ca. 30 min). Die Aufarbeitung erfolgte durch Filtrieren und Einengen. Die Produkte waren DC-rein. Eingesetzt wurden folgende Mengen: P9-A 3 mg, P9-B 30 mg, P9-C 15 mg, P10-A 4 mg, P10-B 30 mg, P10-C 20 mg (jeweils als Dimethylether). Die Ausbeuten lagen zwischen 92 und 98%.

Massenspektrometrisch ermittelte man in den Hydrierungsprodukten folgende Molekül-Ionen:

	M^+
Dodecahydro-P9-A-dimethylether	698/700
Tetradecahydro-P9-B-dimethylether	726/28
Hexadecahydro-P9-C-dimethylether	754/56
Dodecahydro-P10-A-dimethylether	664
Tetradecahydro-P10-B-dimethylether	692
Hexadecahydro-P10-C-dimethylether	720
	684/86
	712/14
	740/42
	650
	678
	706
	670/72
	698/700
	726/28
	636
	664
	692

HPLC-Trennung der hydrierten Dimethylether: Die vorstehend erhaltenen methylierten und hydrierten Komponenten wurden hochdruckflüssigchromatographisch getrennt. Die Ergebnisse mehrfacher Injektionen sind in Tab. 6 zusammengestellt.

Die hydrierten Pigmente der Komponenten P9-C und P10-C waren identisch (HPLC, MS, UV, 1H -NMR) mit den entsprechenden Verbindungen aus P15 bzw. P16 von *C. spec. Stamm Samoa*³⁾.

Dodecahydro-P9-A-1-dimethylether = 13-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)tridecansäure-(2-decyl-3-methoxy-5-pentylphenylester) (Dodecahydro-3a-dimethylether): MS: m/e (%) = 672 (4, M^+ für ^{37}Cl), 670 (9, M^+ für ^{35}Cl), 338 (4), 336 (9), 335 (26), 334 (100), 310 (4), 308 (10), 278 (10), 208 (6), 207 (40), 157 (4), 155 (11), 121 (7). — 1H -NMR: $\delta = 7.18$ (1 H, d, $J_m = 2$ Hz), 7.02 (1 H, dd, $J_o = 8$, $J_m = 2$ Hz), 6.83 (1 H, d, $J_o = 8$ Hz), 6.55 (1 H, d, $J_m = 1$ Hz), 6.46 (1 H, d, $J_m = 1$ Hz), 3.87 (3 H, s), 3.80 (3 H, s), 2.5 (8 H, m), 1.54 (H_2O), 1.4 – 1.2 (42 ± 4 H), 0.87 (6 H, m).

Dodecahydro-P9-A-2-dimethylether (Dodecahydromethylether von 3b + 3c): MS: m/e (%) = 686 (4, M^+ für ^{37}Cl), 684 (10, M^+ für ^{35}Cl), 349 (27), 348 (100), 338 (7), 336 (17), 310 (10), 308 (27), 292 (34), 278 (14), 221 (14), 207 (36), 157 (4), 155 (14), 121 (10). — 1H -NMR: $\delta = 7.18$ (1 H, d, $J_m = 2$ Hz), 7.02 (1 H, dd, $J_o = 8$, $J_m = 2$ Hz), 6.83 (1 H, d, $J_o = 8$ Hz), 6.55 (1 H, d, $J_m = 1$ Hz), 6.46 (1 H, d, $J_m = 1$ Hz), 3.87 (3 H, s), 3.80 (3 H, s), 2.5 (8 H, m), 1.54 (H_2O), 1.4 – 1.2 (42 ± 4 H), 0.87 (9 H, m).

Dodecahydro-P9-A-3-dimethylether = 13-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)tridecansäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester] (Dodecahydro-3d-dimethylether): MS: m/e (%)

Tab. 6. HPLC der dimethylierten und hydrierten Komponenten A, B und C der Pigmentgemische P9 und P10 (Nucleosil 10-C₁₈ mit Laufmittel (1) MeOH/THF/H₂O (81:15:4) bzw. (2) MeOH/THF/H₂O (79:17:4)

Hydrierte Dimethylether von Komponente	Pigment	Menge (ca. mg)	t _R (min)	Laufmittel
P9-A	P9-A-1	0.1	9.02	1
	P9-A-2	0.5	9.81	
	P9-A-3	2.0	10.59	
P9-B	P9-B-1	0.3	10.24	2
	P9-B-2	3.0	11.02	
	P9-B-3	9.0	11.88	
P9-C	P9-C-1	0.3	12.70	2
	P9-C-2	2.0	13.50	
	P9-C-3	6.0	14.81	
P10-A	P10-A-1	0.2	7.87	1
	P10-A-2	0.7	8.52	
	P10-A-3	3.0	9.16	
P10-B	P10-B-1	0.2	10.31	1
	P10-B-2	3.0	11.10	
	P10-B-3	8.0	11.88	
P10-C	P10-C-1	0.2	13.17	2
	P10-C-2	2.0	11.10	
	P10-C-3	6.0	15.46	

= 700 (4, M⁺ für ³⁷Cl), 698 (8, M⁺ für ³⁵Cl), 363 (31), 362 (100), 338 (2), 336 (3), 310 (3), 308 (6), 292 (8), 222 (7), 221 (52), 157 (4), 155 (14), 121 (7). – ¹H-NMR: δ = 7.18 (1H, d, J_m = 2 Hz), 7.02 (1H, dd, J_e = 8, J_m = 2 Hz), 6.83 (1H, d, J_e = 8 Hz), 6.55 (1H, d, J_m = 1 Hz), 6.46 (1H, d, J_m = 1 Hz), 3.87 (3H, s), 3.80 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (42 ± 4H), 0.88 (d, J = 6 Hz), u. 0.85 (d, J = 6 Hz) (insgesamt 12H).

Dodecahydro-P10-A-1-dimethylether = 13-(4-Methoxyphenyl)tridecansäure-(2-decyt-3-methoxy-5-pentylphenylester) (Dodecahydro-3e-dimethylether): MS: m/e (%) = 636 (15, M⁺), 335 (27), 334 (100), 303 (4), 302 (4), 278 (8), 274 (4), 208 (6), 207 (25), 151 (8), 121 (37), 107 (6). – ¹H-NMR: δ = 7.10 (2H, AA', J_e = 8 Hz), 6.85 (2H, BB', J_e = 8 Hz), 6.56 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 6.47 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 3.80 (3H, s), 3.79 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (42 ± 4H), 0.87 (6 H, m).

Dodecahydro-P10-A-2-dimethylether (Dodecahydro-dimethylether von **3f** + **3g**): MS: m/e(%) = 650 (11, M⁺), 349 (15), 348 (100), 303 (3), 302 (3), 292 (7), 278 (3), 274 (2), 222 (4), 221 (22), 208 (7), 207 (49), 151 (6), 121 (33). – ¹H-NMR: δ = 7.10 (2H, AA', J_e = 8 Hz), 6.85 (2H, BB', J_e = 8 Hz), 6.56 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 6.47 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 3.80 (3H, s), 3.79 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (42 ± 4H), 0.87 (9H, m).

Dodecahydro-P10-A-3-dimethylether = 13-(4-Methoxyphenyl)tridecansäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester] (Dodecahydro-**3b**-dimethylether): MS: m/e(%) = 664 (17, M⁺), 363 (26), 362 (100), 303 (3), 302 (3), 292 (7), 222 (8), 221 (50), 151 (5), 121 (30). – ¹H-NMR: δ = 7.10 (2H, AA', J_e = 8 Hz), 6.85 (2H, BB', J_e = 8 Hz), 6.56 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 6.47 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 3.80 (3H, s), 3.79 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (42 ± 4H), 0.88 (d, J = 6 Hz), u. 0.85 (d, J = 6 Hz) (insgesamt 12H).

Tetradecahydro-P9-B-1-dimethylether = 15-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)pentadecansäure-(2-decyl-3-methoxy-5-pentylphenylester) (Tetradecahydro-**4a**-dimethylether): MS: m/e(%) = 700

(2, M⁺ für ³⁷Cl), 698 (4, M⁺ für ³⁵Cl), 366 (3), 364 (4), 336 (9), 335 (30), 334 (100), 278 (8), 208 (5), 207 (38), 157 (4), 155 (13), 121 (12). — ¹H-NMR: δ = 7.18 (1H, d, J_m = 2 Hz), 7.02 (1H, dd, J_o = 8, J_m = 2 Hz), 6.83 (1H, d, J_o = 8 Hz), 6.55 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 6.46 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 3.87 (3H, s), 3.80 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (43 ± 4H), 0.87 (6H, m).

Tetradecahydro-P9-B-2-dimethylether (Tetradecahydro-dimethylether von **4b + 4c**): MS: m/e(%) = 714 (5, M⁺ für ³⁷Cl), 712 (11, M⁺ für ³⁵Cl), 366 (7), 364 (18), 349 (27), 348 (100), 338 (14), 336 (27), 292 (34), 278 (14), 221 (14), 207 (35), 157 (4), 155 (14), 121 (15). — ¹H-NMR: δ = 7.18 (1H, d, J_m = 2 Hz), 7.02 (1H, dd, J_o = 8, J_m = 2 Hz), 6.82 (1H, d, J_o = 8 Hz), 6.55 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 6.46 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 3.87 (3H, s), 3.80 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (43 ± 4H), 0.87 (9H, m).

Tetradecahydro-P9-B-3-dimethylether = 15-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)pentadecansäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester] (Tetradecahydro-**4d**-dimethylether): MS: m/e(%) = 728 (4, M⁺ für ³⁷Cl), 726 (8, M⁺ für ³⁵Cl), 366 (2), 364 (3), 363 (31), 362 (100), 338 (3), 336 (5), 292 (7), 222 (7), 221 (52), 157 (7), 155 (13), 121 (6). — ¹H-NMR: δ = 7.18 (1H, d, J_m = 2 Hz), 7.02 (1H, dd, J_o = 8, J_m = 2 Hz), 6.83 (1H, d, J_o = 8 Hz), 6.55 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 6.46 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 3.87 (3H, s), 3.80 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (43 ± 4H), 0.88 (d, J = 6 Hz) u. 0.85 (d, J = 6 Hz) (insgesamt 12H).

Tetradecahydro-P10-B-1-dimethylether = 15-(4-Methoxyphenyl)pentadecansäure-(2-decyl-3-methoxy-5-pentylphenylester) (Tetradecahydro-**4e**-dimethylether): MS: m/e(%) = 664 (19, M⁺), 335 (26), 334 (100), 331 (4), 330 (4), 302 (5), 278 (7), 208 (5), 207 (44), 151 (11), 122 (9), 121 (44). — ¹H-NMR: δ = 7.10 (2H, AA', J_o = 8 Hz), 6.85 (2H, BB', J_o = 8 Hz), 6.56 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 6.47 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 3.80 (3H, s), 3.79 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (43 ± 4H), 0.87 (6H, m).

Tetradecahydro-P10-B-2-dimethylether (Tetradecahydro-dimethylether von **4f + 4g**): MS: m/e(%) = 678 (11, M⁺), 349 (28), 348 (100), 331 (3), 330 (2), 302 (5), 292 (5), 278 (1), 221 (15), 207 (31), 151 (3), 121 (38), 107 (5). — ¹H-NMR: δ = 7.10 (2H, AA', J_o = 8 Hz), 6.85 (2H, BB', J_o = 8 Hz), 6.56 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 6.47 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 3.80 (3H, s), 3.79 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (43 ± 4H), 0.87 (9H, m).

Tetradecahydro-P10-B-3-dimethylether = 15-(4-Methoxyphenyl)pentadecansäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester] (Tetradecahydro-**4h**-dimethylether): MS: m/e(%) = 692 (10, M⁺), 362 (29), 362 (100), 331 (3), 330 (1), 302 (3) 292 (6), 222 (8), 221 (49), 151 (3), 121 (26). — ¹H-NMR: δ = 7.10 (2H, AA', J_o = 8 Hz), 6.85 (2H, BB', J_o = 8 Hz), 6.56 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 6.47 (1H, d, J_m ≈ 1 Hz), 3.80 (3H, s), 3.79 (3H, s), 2.5 (8H, m), 1.54 (H₂O), 1.4–1.2 (43 ± 4H), 0.88 (d, J = 6 Hz) u. 0.85 (d, J = 6 Hz) (insgesamt 12H).

Spaltung von Pigmenten aus den methylierten und hydrierten Komponenten von P9 und P10: Die Pigmente 2 und 3 der hydrierten Dimethylether von P9-A, P9-B, P9-C, P10-A, P10-B und P10-C wurden mit Lithiumaluminiumhydrid wie in Lit.²⁾ gespalten. Die Produkte haben wir durch präparative DC getrennt (Tab. 7).

Chloralkohol A = 13-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)-1-tridecanol: DC: R_F 0.2. — GC: T_D = 282°C. — MS: m/e(%) = 342 (42, M⁺ für ³⁷Cl), 341 (30), 340 (100, M⁺ für ³⁵Cl), 157 (32), 156 (10), 155 (90), 121 (10). — Hochaufgelöste MS-Daten: m/e = 340.2167 (C₂₀H₃₃ClO₂, M⁺ für ³⁵Cl). — UV: λ_{max} = 288.5, 279.5 nm.

Chloralkohol B = 15-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)-1-pentadecanol: DC: R_F 0.2. — GC: T_D = 290°C. — MS: m/e(%) = 370 (37, M⁺ für ³⁷Cl), 369 (29), 368 (95, M⁺ für ³⁵Cl), 157 (38), 156 (13), 155 (100), 121 (7). — Hochaufgelöste MS-Daten: m/e = 368.2480 (C₂₂H₃₇ClO₂, M⁺ für ³⁵Cl). — UV: λ_{max} = 289, 279 nm. — ¹H-NMR: δ = 7.17 (1H, d, J_m = 2 Hz), 7.01 (1H, dd,

Tab. 7. Spaltung der Estergruppen an den Pigmenten 2 und 3 der hydrierten Dimethylester von P9-A, P9-B, P9-C, P10-A, P10-B und P10-C; Produkte, eingesetzte Mengen und Ausbeuten

Hydrierter Dimethylether von	Produkte	
	Alkohol	Phenol
P9-A-2 (0.5 mg)	Chloralkohol A (0.1 mg)	Gemisch (0.1 mg) aus Phenol 2-I + Phenol 2-II
P9-A-3 (1.5 mg)	Chloralkohol A (0.3 mg)	Phenol 3 (0.4 mg)
P9-B-2 (2.0 mg)	Chloralkohol B (0.5 mg)	Gemisch (0.5 mg) aus Phenol 2-I + Phenol 2-II
P9-B-3 (6.0 mg)	Chloralkohol B (2.5 mg)	Phenol 3 (2.3 mg)
P9-C-2 (1.5 mg)	Chloralkohol C (0.2 mg)	Gemisch (0.3 mg) aus Phenol 2-I + Phenol 2-II
P9-C-3 (5.0 mg)	Chloralkohol C (1.5 mg)	Phenol 3 (2.3 mg)
P10-A-2 (0.5 mg)	Alkohol A (0.1 mg)	Gemisch (0.1 mg) aus Phenol 2-I + Phenol 2-II
P10-A-3 (2.5 mg)	Alkohol A (0.6 mg)	Phenol 3 (0.8 mg)
P10-B-2 (2.5 mg)	Alkohol B (0.5 mg)	Gemisch (0.7 mg) aus Phenol 2-I + Phenol 2-II
P10-B-3 (6.0 mg)	Alkohol B (2.5 mg)	Phenol 3 (2.6 mg)
P10-C-2 (1.5 mg)	Alkohol C (0.2 mg)	Gemisch (0.4 mg) aus Phenol 2-I + Phenol 2-II
P10-C-3 (4.0 mg)	Alkohol C (1.6 mg)	Phenol 3 (1.8 mg)

$J_o = 8$, $J_m = 2$ Hz), 6.82 (1 H, d, $J_o = 8$ Hz), 3.86 (3 H, s), 3.64 (2 H, t, $H = 6$ Hz), 2.51 (2 H, t, $J = 6$ Hz), 1.55 (H_2O), 1.4–1.2 (24 ± 3 H).

Chloralkohol C (= C_{24} -Alkohol³⁾) = 17-(3-Chlor-4-methoxyphenyl)-1-heptadecanol: DC: R_F 0.2. – GC: T_D = 300 °C. – MS: m/e (%) = 398 (25, M^+ für ^{37}Cl), 397 (23), 396 (59, M^+ für ^{35}Cl), 157 (38), 156 (14), 155 (100), 83 (13), 69 (29). – Hochaufgelöste MS-Daten: m/e = 396.2788 ($C_{24}H_{41}ClO_2$, M^+ für ^{35}Cl). – UV: λ_{max} = 288.5, 274 (sh), 278 nm. – 1H -NMR: δ = 7.16 (1 H, d, $J_m = 2$ Hz), 7.00 (1 H, dd, $J_o = 8$, $J_m = 2$ Hz), 6.81 (1 H, d, $J_o = 8$ Hz), 3.86 (3 H, s), 3.64 (2 H, t, $J = 6$ Hz), 2.52 (2 H, t, $J = 6$ Hz), 1.4–1.2 (26 ± 3 H).

Alkohol A = 13-(4-Methoxyphenyl)-1-tridecanol: DC: R_F 0.2. – GC: T_D = 250 °C. – MS: m/e (%) = 306 (82, M^+), 122 (14), 121 (100). – Hochaufgelöste MS-Daten: m/e = 306.2557 ($C_{20}H_{34}O_2$, M^+). – UV: λ_{max} = 284.5, 278 nm.

Alkohol B = 15-(4-Methoxyphenyl)-1-pentadecanol: DC: R_F 0.2. – GC: T_D = 262 °C. – MS: m/e (%) = 334 (68, M^+), 122 (10), 121 (100). – Hochaufgelöste MS-Daten: m/e = 334.2870 ($C_{22}H_{38}O_2$, M^+). – UV: λ_{max} = 285, 278 nm. – 1H -NMR: δ = 7.09 (2 H, AA', $J_o = 8$ Hz), 6.83 (2 H, BB', $J_o = 8$ Hz), 3.79 (3 H, s), 3.65 (2 H, t, $J = 6$ Hz), 2.54 (2 H, t, $J = 6$ Hz), 1.55 (H_2O), 1.4–1.2 (23 ± 3 H).

Alkohol C (= C_{24} -Alkohol³⁾) = 17-(4-Methoxyphenyl)-1-heptadecanol: DC: R_F 0.2. – GC: T_D = 285 °C. – MS: m/e (%) = 362 (43, M^+), 122 (9), 121 (100), 83 (13), 69 (17). – Hochaufgelöste MS-Daten: m/e = 362.3185 ($C_{24}H_{42}O_2$, M^+). – UV: λ_{max} = 284.5, 278 nm. – 1H -NMR: δ = 7.09 (2 H, m), 6.82 (2 H, m), 3.79 (3 H, s), 3.66 (2 H, t, $J = 6$ Hz), 2.55 (2 H, t, $J = 6$ Hz), 1.4–1.2 (26 ± 3 H).

Phenol 3 = 3-Methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenol: DC: R_F 0.7. – GC: T_D = 265 °C. – Übereinstimmend in allen Eigenschaften mit 2-(9-Methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)resorcin-monomethylether^{1,3)}.

Gemisch aus Phenol 2-I (Hauptkomponente) und Phenol 2-II: DC: R_F 0.7. – GC: T_D = 264 °C. – MS: m/e (%) = 348 (90, M^+), 292 (11), 278 (4), 221 (31), 208 (14), 207 (100), 151 (12), 121 (5). – Hochaufgelöste MS-Daten: m/e = 348.3029 ($C_{23}H_{40}O_2$, M^+). – UV: λ_{max} = 270, 274 (sh), 278 nm. – 1H -NMR: δ = 6.28 (2 H, s), 4.60 (1 H, s), 3.80 (3 H, s), 2.5 (4 H, m), 1.55 (H_2O), 1.4–1.2 (20 ± 2 H), 0.86 (9 H, m). – Übereinstimmend in allen Eigenschaften mit einem 3:1-Gemisch aus

2-(9-Methyldecyl)-5-pentylresorcin-monomethylether und 2-Decyl-5-(4-methylpentyl)resorcin-monomethylether^{1,3)}.

Untersuchung des Gemisches durch Kapillar-GC und Kapillar-GC/MS: Die Trennung gelang an einer 60-m-Dünnfilmglaskapillare. Zur GC/MS-Kopplung wurde die gleiche Kapillare in einem Gaschromatographen vom Typ Varian 1700 verwendet in Kopplung mit einem einfach-fokussierenden Massenspektrometer vom Typ CH 7A (Fa. Varian-MAT); Ionenquelle EI/EID; Ionisierungsenergie 70 eV, Temperatur der Ionenquelle 100°C.

Phenol 2-I = 3-Methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-pentylphenol: Kapillar-GC: $t_R = 20.2$ min. Identisch mit 2-(9-Methyldecyl)-5-pentylresorcin-monomethylether^{1,3)}.

Phenol 2-II = 2-Decyl-3-methoxy-5-(4-methylpentyl)phenol: Kapillar-GC: $t_R = 19.8$ min. Identisch mit 2-Decyl-5-(4-methylpentyl)resorcin-monomethylether^{1,3)}.

Pigment P8: Die Fraktionen Nr. 4 und 5 der Auf trennung des Bakterienrohextraktes an Al_2O_3 (s.o.) enthalten hauptsächlich die Carotinoide. Bei der Rechromatographie der Fraktion Nr. 5 an Kieselgel mit Benzol/Essigester (90:10) fällt das Pigment P8 (ca. 30 mg Rohprodukt) an. Zur weiteren Reinigung wurde mit Methyljodid methyliert^{3,4)} und an Fractogel PVA 2000 (Fa. Merck) mit Petrolether/Chloroform (1:1) erneut chromatographiert. Man erhält 14 mg P8-Dimethylether (im Gemisch mit ca. 20% Homologen).

P8-Dimethylether (Hauptkomponente) = 15-(3,5-Dichlor-4-methoxyphenyl)-2,4,6,8,10,12,14-pentadecaheptaensäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester] (5-Dimethylether): Die Abtrennung der Homologen erfolgte durch HPLC mit Aceton/Wasser (85:15) (Durchfluß 2 ml/min; Detektion bei 436 nm; $t_R = 14.6$ min). – MS: $m/e(\%) = 748$ (2, M^+ für $^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$), 746 (2.5, M^+ für $^{35}\text{Cl}_2$), 670 (1), 668 (1.5), 387 (11), 386 (11), 385 (18), 384 (11), 363 (42), 362 (71), 309 (22), 308 (11), 307 (35), 292 (12), 281 (6), 280 (6), 279 (8), 278 (6), 244 (11), 222 (18), 221 (100), 215 (45), 214 (8), 213 (63), 207 (8), 205 (12), 191 (8), 189 (12), 151 (9), 131 (14), 105 (11). – Hochaufgelöste MS-Daten: $m/e = 746.3869$ ($\text{C}_{46}\text{H}_{60}\text{Cl}_2\text{O}_4$, M^+ für $^{35}\text{Cl}_2$). – UV/VIS: $\lambda_{\max} = 403, 424, 452$ nm. – IR: $\nu_{\text{C=O}} = 1713$ cm⁻¹. – ¹H-NMR (WH 270): $\delta = 7.50$ (1 H, dd, $J_1 = 16$, $J_2 = 15$ Hz), 7.31 (2 H, s), 6.9–6.3 (14 ± 2 H), 6.07 (1 H, d, $J = 15$ Hz), 3.90 (3 H, s), 3.81 (3 H, s), 2.5 (4 H, m), 1.4–1.2 (16 ± 2 H), 0.88 (d, $J = 6$ Hz), u. 0.86 (d, $J = 6$ Hz) (insgesamt 12 H).

Tetradecahydro-P8-dimethylether (Hauptkomponente) = 15-(3,5-Dichlor-4-methoxyphenyl)-pentadecansäure-[3-methoxy-2-(9-methyldecyl)-5-(4-methylpentyl)phenylester]: 5 mg des P8-Dimethylethers (im Gemisch mit ca. 20% Homologen) wurden unter Standardbedingungen katalytisch hydriert. Das Produkt haben wir durch HPLC mit Methanol (100%) gereinigt (Durchfluß 2 ml/min; Detektion bei 280 nm; $t_R = 20.4$ min). – MS: $m/e(\%) = 762$ (2.4, M^+ für $^{37}\text{Cl}^{35}\text{Cl}$), 760 (3, M^+ für $^{35}\text{Cl}_2$), 401 (0.5), 399 (0.7), 364 (5), 363 (29), 362 (100), 292 (8), 222 (7), 221 (53), 191 (3), 189 (5), 151 (7), 137 (5). – ¹H-NMR (WH 270): $\delta = 7.08$ (2 H, s), 6.54 (1 H, d, $J \approx 1$ Hz), 6.45 (1 H, d, $J \approx 1$ Hz), 3.87 (3 H, s), 3.81 (3 H, s), 2.5 (8 H, m), 1.4–1.2 (44 ± 3 H), 0.88 (d, $J = 6$ Hz) u. 0.86 (d, $J = 6$ Hz) (insgesamt 12 H).

Literatur

- ¹⁾ XIX. Mitteil.: H. Achenbach, W. Kohl und B. Kunze, Chem. Ber. **112**, 1841 (1979).
- ²⁾ H. Achenbach, W. Kohl und H. Reichenbach, Liebigs Ann. Chem. **1977**, 1, und dort zitierte Literatur.
- ³⁾ H. Achenbach, W. Kohl, S. Alexanian und H. Reichenbach, Chem. Ber. **112**, 196 (1979), und dort zitierte Literatur.
- ⁴⁾ H. Achenbach, W. Kohl, W. Wachter und H. Reichenbach, Arch. Microbiol. **117**, 253 (1978).
- ⁵⁾ H. Achenbach, W. Kohl und H. Reichenbach, Tetrahedron Lett. **1977**, 1061.
- ⁶⁾ H. Achenbach und W. Kohl, Chem. Ber. **112**, 209 (1979).
- ⁷⁾ K. Willecke und A. B. Pardee, J. Biol. Chem. **246**, 5264 (1971), und dort zitierte Literatur.