

5. Yasuhiko Asahina und Susumu Nonomura: Untersuchungen über Flechtenstoffe, XVI. Mitteil.: Bestandteile der Ramalina-Arten mit besonderer Berücksichtigung der Sekikasäure.

[Aus d. Pharmazeut. Institut d. Universität Tokyo.]

(Eingegangen am 29. November 1932.)

Nakao¹⁾ hat in einer mandschurischen Droge „Shi-hoa“ (japanisch Seki-ka), angeblich *Ramalina dilacerata* var. *obtusata*, neben Usninsäure zwei Depside, die Obtusatsäure und Sekikasäure, aufgefunden. Erstere Säure ist schon von Asahina und Fuzikawa²⁾ näher untersucht worden. Zwecks Gewinnung der zweiten Säure haben wir zunächst eine stein-bewohnende Flechte *Ramalina pollinaria*, die im Habitus der Droge „Shi-hoa“ am nächsten steht, chemisch untersucht. Es hat sich aber gezeigt, daß diese Flechte (aus Japan, sowie aus der Mandschurei) neben Usninsäure Obtusatsäure und Everssäure enthält. Demgegenüber haben sowohl Zopf³⁾ als auch Hesse⁴⁾ aus europäischer *Ramalina pollinaria*, und zwar Zopf aus einer saxicolen und Hesse aus einer corticolen Sorte, neben Usninsäure Ramalsäure (Schmp. 180⁰) und Everssäure (Schmp. 169⁰) isoliert. Uns erscheint aber die Einheitlichkeit der Ramalsäure sehr zweifelhaft. Wir halten es für wahrscheinlich, daß die beiden Forscher ein mit Obtusatsäure verunreinigtes Everssäure-Präparat in den Händen gehabt haben. Denn nach unserer Erfahrung schmilzt ein solches Präparat etwas höher als reine Everssäure, und die Zerlegung des Gemisches in die beiden Komponenten ist mit Schwierigkeiten verknüpft. Die von Hesse angenommene Isomerie der Evers- und Ramalsäure beruht, wie schon Brieger⁵⁾ bemerkte, auf einem Irrtum.

Wir haben dann zwei andere rinden-bewohnende Flechten, *Ramalina geniculata* und eine Varietät der *Ramalina farinacea*, in den Kreis der Untersuchung gezogen, wobei es uns geglückt ist, die gesuchte Sekikasäure in den beiden Pflanzen aufzufinden.

Nach Nakao⁶⁾ wird die Sekikasäure, C₂₂H₂₆O₈, bei der Hydrolyse in Divaricatinsäure, C₁₁H₁₄O₄ und Oxy-divaricatinsäure, C₁₁H₁₄O₅, gespalten. Beim Kochen mit Jodwasserstoffsäure spaltet die letztere Kohlensäure und ein Methyl ab und geht in ein 3-wertiges Phenol, Oxy-divarin, über, das er als 3.4.5-Trioxo-1-propyl-benzol charakterisierte. Da die von ihm dargestellte Monoacetyl-oxy-divaricatinsäure noch eine tief violette Eisenchlorid-Reaktion gab, so sprach er der Oxy-divaricatinsäure die Konstitution I zu, wobei die Stellung des Methoxyls allerdings noch unsicher blieb.

In Bezug auf Löslichkeit und Farbenreaktion stimmt die von uns aus *Ramalina geniculata* und aus einer Varietät der *Ramalina farinacea* dargestellte Sekikasäure mit der Nakaoschen Beschreibung vollkommen überein. Die Angabe von Nakao, daß die Sekikasäure bei 137⁰ schmilzt, ist aber dahin zu berichtigen, daß ganz reine Sekikasäure sich erst bei 143 bis 144⁰ verflüssigt, was sich im übrigen auch bei dem Nakaoschen Originalpräparat konstatieren ließ.

¹⁾ Journ. pharmac. Soc. Japan **1923**, Nr. 496 (C. **1925**, II 1768).

²⁾ B. **65**, 580 [1932].

³⁾ A. **297**, 306.

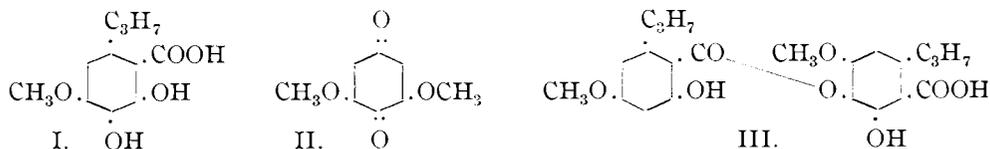
⁴⁾ Journ. prakt. Chem. [2] **57**, 253.

⁵⁾ Handbuch d. biolog. Arbeitsmethoden, Abt. I, Chem. Methoden Tl. 10, S. 413.

⁶⁾ loc. cit.

Sowohl die Oxy-divaricatinsäure als auch das decarboxylierte Derivat derselben gab mit Chlorkalk eine charakteristische, ultramarinblaue Reaktion. Unter den häufiger vorkommenden, mehrwertigen Phenolen zeigt Brenzcatechin fast die gleiche Färbung. Es liegt mithin nahe, die Oxy-divaricatinsäure als ein *o*-Dioxy-benzol-Derivat zu betrachten.

Wenn man nun Sekikasäure mit Diazo-methan vollständig methyliert, so erhält man einen Dimethyläther-methylester, der bei der Hydrolyse Methyläther-divaricatinsäure und Methyläther-oxydivaricatinsäure-methylester liefert; letzterer verhält sich gegen Eisenchlorid indifferent, besitzt aber noch ein freies Phenol-Hydroxyl. Die aus ihm durch Kohlensäure-Abspaltung erhaltene Substanz bildet ein farbloses Öl, das infolge Bildung eines bei 87–88° schmelzenden Acetyl-Derivats sicher als das 3,5-Dimethoxy-4-acetoxy-1-propyl-benzol⁷⁾ anzusprechen ist; dementsprechend liefert das Öl beim Oxydieren mit Chromsäure 3,5-Dimethoxy-chinon (II). Die Konstitution der Oxy-divaricatinsäure (I) und der Sekikasäure (III) ist somit aufgeklärt.



Beschreibung der Versuche.

Extraktion der *Ramalina geniculata*⁸⁾.

Die klein zerschnittenen Thalli werden mit Äther wochenlang bei Raumtemperatur maceriert; wird der ätherische Extrakt eingeeengt, so fallen aus der Lösung zunächst gelbe Blättchen (ca. 0.1 %) und dann bei weiterem Eindampfen weiße Nadeln (ca. 1 %) aus, die sich als identisch mit Sekikasäure erwiesen. Bei vollständigem Verdunsten der Mutterlauge bleibt eine mit Krystallen vermengte, sirupöse Masse zurück. Die daraus isolierte, rohe Sekikasäure ist mit einer Substanz verunreinigt, die sich mit Alkali purpurrot färbt, und der man auch beim Aufarbeiten einer Varietät von *Ramalina farinacea* begegnet (s. unten).

Usninsäure.

Die gelben Blättchen bilden beim Umkrystallisieren aus Benzol schmale Blättchen oder Nadeln vom Schmp. 202°. Die alkohol. Lösung wird durch Eisenchlorid rotbraun gefärbt. Analyse und Drehungsvermögen stimmen mit denen der *d*-Usninsäure überein.

0.0491 g Sbst.: 0.1133 g CO₂, 0.0220 g H₂O.

C₁₈H₁₆O₇. Ber. C 62.79, H 4.62. Gef. C 62.95, H 5.01.

0.5959 g Sbst. in 25 ccm Chloroform: α = +11.45° (1-dm-Rohr).

[α]_D = +480.4° (bei Raum-Temperatur).

⁷⁾ B. 11, 331 [1878]; Monatsh. Chem. 4, 491.

⁸⁾ Gesammelt in Wäldern an der pazifischen Küste Mittel-Japans.

Sekikasäure.

Die weißen Krystalle lieferten beim Umkrystallisieren aus Benzol farblose Nadeln vom Schmp. 143—144⁰. Diese sind in Alkohol, Äther, Aceton leicht löslich; ihre alkohol. Lösung wird durch Eisenchlorid violett gefärbt, durch Chlorkalk nicht. In Bicarbonat-Lösung, sowie in Alkalilauge lösen sie sich farblos. Wird eine Probe im Probierröhrchen bis zum Schmelzen erhitzt, die Schmelze in Alkohol gelöst und mit Chlorkalk versetzt, so zeigt die Lösung eine schön ultramarinblaue Färbung; ebenso verhält sich die Sekikasäure von Nakao.

0.0491 g Sbst.: 0.1138 g CO₂, 0.0270 g H₂O. — 0.0375 g Sbst.: 0.0419 g AgJ (nach Zeisel). — 0.0992 g Sbst. neutralisiert. 2.36 ccm 0.1-n. KOH.

C₂₂H₂₆O₈. Ber. C 63.16, H 6.22, (CH₃O)₂ 14.83, Molgew. 418.
Gef. „ 63.23, „ 6.15, „ 14.73, „ 420.

Diacetyl-sekikasäure: 2 g Sekikasäure wurden in 20 g Essigsäure-anhydrid gelöst und mit 2 Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt. Nach 2-tägigem Stehen wurde das Gemisch in viel Wasser eingetragen, das ausgeschiedene Produkt nach gründlichem Waschen mit Wasser in Alkohol gelöst und bis zu beginnender Trübung mit Wasser verdünnt: Farblose Krystalle vom Schmp. 162—163⁰, deren alkohol. Lösung sich mit Eisenchlorid nicht färbt.

0.0540 g Sbst.: 0.1230 g CO₂, 0.0298 g H₂O. — 0.0562 g Sbst.: 0.1283 g CO₂, 0.0320 g H₂O. — 0.1223 g Sbst., gelöst in 50 ccm Aceton, neutralisiert. 2.44 ccm 0.1-n. KOH (Bromthymolblau).

C₂₆H₃₀O₁₀. Ber. C 62.12, H 6.02, Molgew. 502.2.
Gef. „ 62.14, 62.30, „ 6.18, 6.38, „ 500.5.

Acetyl-Bestimmung nach Freudenberg: 0.2729 g Sbst. verbraucht. 6.24 ccm 0.2-n. KOH = 19.66 % Acetyl; für Diacetyl-sekikasäure C₂₂H₂₄O₆(CH₃.CO)₂ ber. 17.13 %. Nakao erhitzte Sekikasäure mit Essigsäure-anhydrid + Natriumacetat auf 150⁰ und erhielt ein bei 153—154⁰ schmelzendes Diacetat; eine Acetyl-Bestimmung hat er aber nicht ausgeführt.

Sekikasäure-methylester: 1 g Sekikasäure wird in Äther gelöst und unter Eiskühlung mit soviel äther. Diazo-methan-Lösung versetzt, bis das Gemisch eine bleibende hellgelbe Farbe annimmt. Dann wird mit etwas Äther verdünnt und nacheinander mit Bicarbonat und Kalilauge (2-proz.) geschüttelt. Die Ätzkali-Lösung wird angesäuert und ausgeäthert. Beim Einengen der ätherischen Lösung scheidet sich der Methylester aus; farblose Krystalle aus Alkohol, Schmp. 124⁰. Die alkohol. Lösung wird von Spuren Eisenchlorid hellrot gefärbt.

C₂₃H₂₆O₈. Ber. C 63.86, H 6.52, 3(CH₃O) 21.51. Gef. C 64.13, H 6.87, 3(CH₃O) 21.27.

Alkoholyse der Sekikasäure: 2 g der Säure wurden nach Nakao mit 20 ccm absol. Alkohol im Rohr 1 Stde. auf 125—130⁰ erhitzt; dann wurde der Inhalt verdampft, der Rückstand in Äther gelöst und die Lösung nacheinander mit Bicarbonat-(A), Carbonat-(B) und Ätzkali-Lösung (C) geschüttelt. Beim Ansäuern von (A) schied sich eine Säure ab, die in Äther aufgenommen und dann aus Benzol umkrystallisiert wurde: Farblose Nadeln vom Schmp. 158⁰; leicht löslich in Alkohol, Äther, Aceton und heißem Benzol, sehr schwer löslich in Petroläther. Die alkohol. Lösung gibt mit Eisenchlorid eine schwärzlichblaue, mit Chlorkalk zunächst eine tief ultramarinblaue Färbung, die allmählich über rot verblaßt. Wirft man eine kleine Probe in

Barytlösung ein, so färbt sie sich gelbgrün, und die Lösung wird blau. Alle diese Eigenschaften stimmen mit denen der Oxy-divaricatinsäure von Nakao überein, auch der Misch-Schmp. beider Präparate liegt bei 158°.

Die aus der Carbonat-Lösung (B) durch Ansäuern abgeschiedene Substanz erwies sich als identisch mit Sekikasäure, die unangegriffen geblieben war. Die Ätzkali-Lösung (C) lieferte beim Ansäuern und Ausäthern eine ölige Substanz, die beim Stehen farblose, lange Nadeln vom Schmp. 45° bildete (Divaricatinsäure-äthylester schmilzt bei 48°). Beim Verseifen mit alkohol. Kali lieferte der Ester farblose Krystalle vom Schmp. 148°; auch eine Mischprobe mit Divaricatinsäure schmolz bei dieser Temperatur.

Dimethyläther-sekikasäure-methylester: Je 1 g Sekikasäure wird mit ätherischer Diazo-methan-Lösung (aus 7 ccm Nitroso-methylurethan) versetzt und wochenlang stehengelassen. Beim Einengen der Lösung erhält man eine farblose, krystallinische Substanz, die nach dem Umkrystallisieren aus Methanol derbe Prismen vom Schmp. 80–81° bildet. Diese lösen sich leicht in den meisten organischen Solvenzien; ihre alkohol. Lösung wird von Eisenchlorid nicht gefärbt.

$C_{27}H_{32}O_8$. Ber. C 65.22, H 6.95, 5(CH₃O) 33.69. Gef. C 65.07, H 6.69, 5(CH₃O) 33.50.

Alkali-Spaltung: 2 g Dimethyläther-sekikasäure-methylester werden in 30 ccm 5-proz. alkohol. Kalilauge eingetragen und etwa 1 Stde. auf dem Wasserbade gekocht. Die klare, hellgelbe Lösung wird von Alkohol befreit, mit Wasser verdünnt und unter Kühlung mit Eis angesäuert. Die Fällung wird in Äther aufgenommen und die ätherische Lösung nacheinander mit Bicarbonat (A) und Kalilauge (10-proz.) (B) geschüttelt. Die Bicarbonat-Lösung (A) wurde angesäuert und mit Äther extrahiert. Da der Extrakt schwer krystallisierbar war und ein Säure-Gemisch zu sein schien, wurde er in ca. 30 ccm Methanol gelöst, mit Salzsäuregas gesättigt, mit viel Wasser verdünnt, ausgeäthert und die ätherische Lösung nach dem Waschen zuerst mit Bicarbonat-Lösung, dann mit 5-proz. Kalilauge verdampft. Der ölige Rückstand lieferte beim Verseifen mit Kalilauge eine Säure, die, aus Petroläther umkrystallisiert, bei 63.5° schmolz; eine Mischprobe mit Methyläther-divaricatinsäure aus *Evernia mesomorpha* var. *esorediosa* zeigte keine Schmp.-Depression.

Die Waschlauge lieferte beim Ansäuern einen Pherol-carbonsäure-ester, aus dem sich beim Verseifen die unten beschriebene Methyläther-oxy-divaricatinsäure gewinnen ließ.

Monomethyläther - oxy - divaricatinsäure - methylester: Als der oben erwähnte alkalische Extrakt (B) angesäuert und ausgeäthert und der Extrakt eingedampft wurde, hinterblieb eine krystallinische Substanz, die nach dem Umlösen aus Petroläther-Benzol bei 88° schmolz. Sie löste sich nicht in Bicarbonat, wohl aber in Alkalilauge. Die alkohol. Lösung färbte sich mit Eisenchlorid schwach gelblich.

$C_{13}H_{18}O_5$. Ber. C 61.38, H 7.13, (CH₃O)₃ 36.61. Gef. C 61.41, H 7.15, (CH₃O)₃ 36.11.

Monomethyläther - oxy - divaricatinsäure: 0.4 g dieses Esters wurden mit 10 ccm 10-proz. Kalilauge ca. 1 Stde. zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wurde angesäuert, ausgeäthert, die ätherische Lösung mit Bicarbonat geschüttelt, der Auszug angesäuert und ausgeäthert. Beim Verdampfen der scharf entwässerten ätherischen Lösung blieb eine krystallinische Substanz zurück, die, aus Benzol umgelöst, farblose Krystalle vom

Schmp. 119—120° bildete. Die alkohol. Lösung wird durch Eisenchlorid nicht gefärbt.

0.0546 g Sbst.: 0.1194 g CO₂, 0.0331 g H₂O. — 0.0421 g Sbst.: 0.0823 g AgJ (nach Zeisel). — 0.0988 g Sbst., in Aceton gelöst, neutralisiert. 4.15 ccm 0.1-n. KOH (Bromthymolblau).

C₁₂H₁₆O₅. Ber. C 59.97, H 6.71, (CH₃O)₂ 25.82, Molgew. 240.1.
Gef. „ 59.60, „ 6.78, „ 25.77, „ 237.7.

Decarboxylierung der Methyläther-oxy-divaricatsinsäure zum 3,5-Dimethoxy-4-oxy-1-propyl-benzol.

Wird die Methyläther-oxy-divaricatsinsäure mit 10-proz. Salzsäure einige Zeit auf dem Drahtnetz gekocht, so zersetzt sie sich unter Aufbrausen und Bildung eines farblosen, zähen Öls. Eine kleine Probe dieses Öls, mit Essigsäure-anhydrid und Natriumacetat erhitzt, ergab ein farbloses Acetat, das, aus Alkohol umkrystallisiert, bei 87—88° schmolz. Das von A. W. Hofmann beschriebene 3,5-Dimethoxy-4-acetoxy-1-propyl-benzol schmilzt bei 87°.

Das decarboxylierte Produkt aus 0.5 g Methyläther-oxy-divaricatsinsäure wurde unter Zusatz von 1.2 g Kaliumbichromat in 12 ccm 10-proz. Schwefelsäure eingetragen und über Nacht stehengelassen; dann wurde das Produkt mit Wasser verdünnt, mit Chloroform geschüttelt und die gelbe Chloroform-Lösung eingedampft. Die hierbei abgeschiedenen gelben Nadeln wurden zunächst aus Eisessig umkrystallisiert und dann sublimiert. Die so gereinigte Substanz löste sich in konz. Schwefelsäure mit carminroter Farbe und schmolz bei 249°; eine Mischprobe mit dem 3,5-Dimethoxy-chinon aus Syringasäure zeigte keine Schmp.-Depression.

Extraktion einer Varietät der *Ramalina farinacea*.

Die uns zur Verfügung gestellte Flechte wird häufig in den wärmeren Küstengebieten Japans gefunden; sie wächst an Zweigen und Stämmen, besonders der Coniferen. Äußerlich ist sie kaum von der europäischen *R. farinacea* zu unterscheiden. Tüpfelt man aber den Thallus der japanischen Flechte mit Alkali, so bemerkt man nach einigen Minuten purpurrote Färbung im Markgewebe, eine charakteristische Eigenschaft, die bei der europäischen *R. farinacea* nicht beobachtet wird. 100 g klein zerschnittene Thalli der Flechte wurden mit heißem Äther erschöpfend extrahiert und die gelbgefärbte Lösung zur Sirup-Konsistenz eingedampft. Der Rückstand wurde unter Zusatz von etwas Benzol umgerührt und stehengelassen, wobei sich fast farblose Krystalle (1.2 g) abschieden. Die Mutterlauge lieferte beim Einengen, eventuell durch Überführen in das Kaliumsalz und Wiederabscheiden noch weitere 0.6 g derselben Säure. Nach 4-maligem Umkrystallisieren aus Benzol bildete die Substanz farblose Krystalle vom Schmp. 143—144°, die mit Eisenchlorid, sowie mit Chlorkalk dieselbe Farbenreaktion wie Sekikasäure zeigten, auch eine Mischprobe mit der letzteren schmolz bei derselben Temperatur.

0.0570 g Sbst.: 0.1329 g CO₂, 0.0319 g H₂O.

C₂₂H₂₆O₈. Ber. C 63.16, H 6.22. Gef. C 63.55, H 6.25.

Beim Eindampfen der Mutterlauge blieb ein sirupöser Rückstand zurück, aus dem sich nach einigem Stehen kleine Mengen glänzend gelb gefärbter,

prismatischer Krystalle abschieden. Aus Mangel an Material konnten wir nicht feststellen, ob wir es mit Usninsäure zu tun hatten. Da der Sirup sich in Alkalilauge mit purpurroter Farbe löst, ist die Färbung des Thallus mit Alkali durch einen Gehalt an dieser Säure bedingt.

Extraktion von *Ramalina pollinaria*⁹⁾.

Die klein zerschnittenen Thalli wurden mit heißem Äther extrahiert; als die ätherische Lösung dann eingengt wurde, schieden sich zunächst weiße Krystalle (ca. 1 %) und dann gelbe (ca. 0.5 %) aus. Die ätherische Mutterlauge wurde nun mit Kaliumcarbonat-Lösung geschüttelt, die Carbonatlösung angesäuert und ausgeäthert. Beim Verdampfen der ätherischen Lösung wird eine krystallinische Substanz (ca. 0.5 %) erhalten.

Obtusatsäure: Die erste Krystallisation bildete nach wiederholtem Umkrystallisieren aus Aceton farblose Nadeln vom Schmp. 203⁰, deren alkohol. Lösung sich mit Eisenchlorid purpurrot, mit Chlorkalk hellgelb färbte. Die farblose Lösung in Alkalilauge färbt sich beim Kochen unter Zusatz von Chloroform rot und fluoresciert grün. Eine Mischprobe mit der Obtusatsäure¹⁰⁾ aus *Ramalina calicaris* schmolz ebenfalls bei 203⁰.

0.0453 g Sbst.: 0.1034 g CO₂, 0.0219 g H₂O.

C₁₈H₁₈O₇. Ber. C 62.43, H 5.20. Gef. C 62.27, H 5.40.

d-Usninsäure: Die gelben Krystalle bildeten nach dem Umlösen aus Benzol glänzende Blättchen vom Schmp. 195⁰.

0.2449 g Sbst. in 10 ccm Chloroform: $\alpha_D = + 11.96^0$; $[\alpha]_D = + 488.4^0$.

Everssäure: Die dritte Krystallisation, die erst durch Überführen in das Kaliumsalz und Wiederabscheiden erhalten worden war, bildete ein weißes, krystallinisches Pulver und schmolz unscharf gegen 160⁰. Zur Reinigung wurde sie zunächst mit Äther behandelt und die darin schwerer lösliche Beimengung beseitigt. Bei wiederholtem Umkrystallisieren des in Äther leichter löslichen Bestandteils aus Aceton oder Alkohol wurden farblose Krystalle erhalten, die bei 170⁰ schmolzen. Die alkohol. Lösung färbte sich mit Eisenchlorid violettrot, mit Chlorkalk vorübergehend gelblich. Eine Mischprobe mit Everssäure zeigte keine Schmp.-Depression.

0.0553 g Sbst.: 0.12485 g CO₂, 0.0254 g H₂O.

C₁₇H₁₆O₇. Ber. C 61.44, H 4.82. Gef. C 61.53, H 5.13.

⁹⁾ Das Untersuchungs-Material stammte teils aus Japan (Prov. Hitati), teils aus der Süd-Mandschurei.

¹⁰⁾ B. 65, 580 [1932].