

Über die Ramalsäure

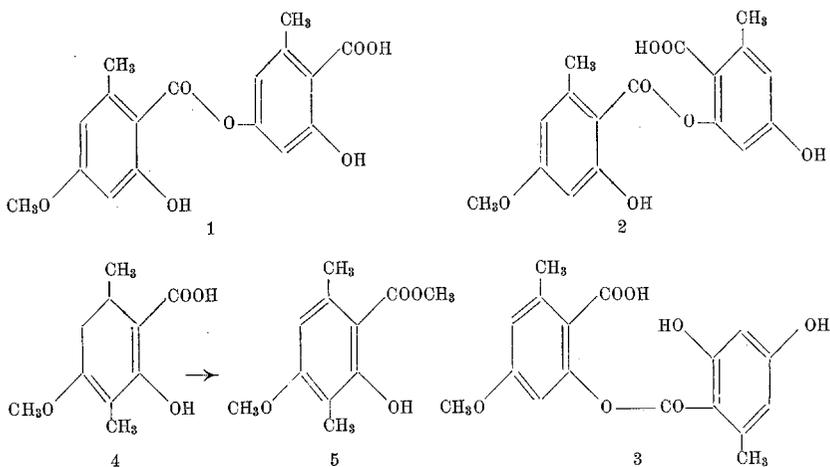
Von

GEORG KOLLER

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 7. Juli 1932)

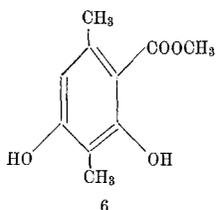
In der *Ramalina pollinaria* findet sich nach O. HESSE¹ und ZOPF² neben Usninsäure und Everssäure eine dritte Flechtensäure, die Ramalsäure, welche deshalb von allgemeinerem chemischen und pflanzenphysiologischen Interesse ist, weil sie isomer zur Everssäure, sich nach der Meinung obiger Untersucher von diesem Depside mit zur freien Karboxylgruppe paraständiger Depsidbindung, nur dadurch unterscheiden sollte, daß die Verknüpfung des Everssäurerestes mit dem Orsellinsäurekomplex im Ramalsäuremolekel durch eine zur freiliegenden Karboxylgruppe orthoständige Depsidbindung bewirkt werden soll. Der Ramalsäure konnten deshalb im Gegensatz zur Everssäure, für welche durch die bekannte Untersuchung E. FISCHERS³ einwandfrei Formelbild 1 bewiesen ist, nur zwei Formeln beigelegt werden, nämlich 2 oder 3.



¹ O. HESSE, Liebigs Ann. 117, 1861, S. 297; J. prakt. Chem. 57, 1898, S. 249.

² Liebigs Ann. 297, 1897, S. 301, 308.

³ Ber. D. ch. G. 47, 1914, S. 505.



Der Säure wurde übrigens auch von PERKIN in „The natural organic Colouring Matters“ (1918, 549 und 551) Erwähnung getan, des weiteren hat sich E. HIRST⁴ mit der Ramalsäure beschäftigt und den HESSESCHEM Befund, daß die Ramalsäure bei der Hydrolyse Everninsäure gibt, bestätigt.

Im Sommer 1931 gelangte nun eine bescheidene Menge *Ramalina pollinaria* in meine Hände. Die Flechte wurde in Mitterndorf (steirisches Salzkammergut) an der nach Osten gerichteten Holz wand eines Heustadels gesammelt. Sie war nach Untersuchungen des Herrn Hofrates K. KEISSLER und des Herrn Hofrates ZAHLBRUCKNER, welchen ich auch an dieser Stelle ergebenst meinen Dank für diese Bestimmung aussprechen möchte, einheitlich und mit *Ramalina pollinaria* identisch. Die Extraktion der Flechte ergab nun inso weit eine Überraschung, als neben geringen Mengen Usninsäure und einer bedeutenderen Ausbeute an Evernsäure, welche übrigens einen Schmelzpunkt von 179° zeigte, also den Schmelzpunkt, welchen die Entdecker der Ramalsäure dieser Säure zugeschrieben haben, durch Umfällen der Rohsäuren aus Azeton und Wasser eine Fraktion gewonnen werden konnte, welche einen bedeutend höheren Zersetzungspunkt aufwies als die Ramalsäure von HESSE und ZOPF, nämlich 188°. Der Methoxygehalt entsprach wohl ungefähr einer Flechtensäure von der Zusammensetzung der Evernsäure, die Kohlenstoffwerte lagen jedoch immer um etliche Prozente zu hoch. Bei der kalten Hydrolyse dieser Fraktion mit Lauge konnten drei Säuren als Spaltstück festgestellt werden, nämlich Orsellinsäure, Everninsäure und die bereits von ST. PFAU⁵ in ihrer Konstitution erkannte β -Orzinhälfätherkarbonsäure, die sogenannte Rhizoninsäure (4). Die Flechtensäurefraktion 188° konnte daher entweder ein Tetradeptid vorstellen, eine Annahme, welche geringe Wahrscheinlichkeit besaß, oder es lag ein Gemenge zweier methoxylhaltiger, nahe verwandter Dideptide vor. Durch Umlösen aus Alkohol ließ sich nun tatsächlich ein Dideptid der Brutto-

⁴ Journ. Chem. Soc. London, 1927, S. 2493.

⁵ Helv. chim. Acta 11, 1928, S. 864.

formel $C_{18}H_{18}O_7$ isolieren, das einen Schmelzpunkt 209° zeigte. Zur Sicherheit wurde noch eine *Ramalina pollinaria*, welche von einem anderen Substrate, nämlich von Buntsandstein stammte, und durch das Entgegenkommen des Herrn Dr. MAXIMILIAN STEINER bei Dahn in der Rheinpfalz gesammelt worden war, in Untersuchung gezogen. Die Inhaltsstoffe waren aber dieselben, wie bei der in Mitterndorf gesammelten Flechte. Die Mutterlaugen nach dem Didepsid 209° wurden in vier Fraktionen zerlegt, welche alle Schmelzpunkte aufwiesen, welche zwischen 175 — 179° lagen. Jede Fraktion wurde für sich der Azetylierung unterworfen und diese Azetylsäuren mit Diazomethan in die klar schmelzenden Azetylmethylester übergeführt. Alle vier Fraktionen gaben hiebei einwandfrei den bei 128° schmelzenden Diazetyl-evernsäure-methylester⁶, so daß ein Zweifel an der Identität mit Evernsäure ausgeschlossen erscheint. Auch die Mutterlauge nach den vier Fraktionen wurde derart behandelt, so daß höchstens etliche Hundertstel Gramm der genauen Untersuchung entgingen. Es konnte nur Evernsäure festgestellt werden. Obwohl das Nichtauffinden einer Substanz nicht unbedingt gegen ihre Existenz spricht, glaube ich doch auf Grund dieser sorgfältigen Untersuchung der Meinung Ausdruck geben zu dürfen, daß eine Ramalsäure, welche in ihrem Bau der HESSESCHEM Ramalsäure entspreche, nicht vorkommt und HESSE und ZOPF entweder nichts anderes in Händen hatten als vollständig reine Evernsäure, welche, wie erwähnt, aus *Evernia prunastri* gewonnen, denselben Schmelzpunkt zeigt, wie die sogenannte Ramalsäure, oder ein Gemenge der Evernsäure mit der bei 209° sich zersetzenden Verbindung.

Die Sauerstofffunktionen des Didepsids, Schmelzpunkt 209° , für welches wohl am bequemsten der Name Ramalsäure beibehalten wird, konnten durch Azetylierung mit Pyridin und Essigsäureanhydrid, welche zu einer Diazetylverbindung $C_{22}H_{22}O_9$ führte und durch folgende Methylierung mit Diazomethan, welche einen Diazetyl-ramalsäure-methylester ergab, festgelegt werden.

Bei der kalten Spaltung mit Lauge konnten Orsellinsäure, welche über Sparassol identifiziert wurde und Rhizoninsäure (4) gewonnen werden, welche letztere durch Methylierung an der Karboxylgruppe in den Rhizoninsäure-methylester (5), Schmelzpunkt 104° , übergeführt werden konnte, welcher auch aus einem Spaltstück des Atranorins, dem β -Orcin-karbonsäure-methylester, durch

⁶ Monatsh. Chem. 61, 1932, S. 147, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 141, 1932, S. 515.

Methylieren an der zur Karbomethoxygruppe paraständigen phenolischen Hydroxylgruppe mit Hilfe von Diazomethan erhalten wurde (6).

Infolge Materialmangels ist es bisher nicht möglich gewesen, auf die Verhängungsart der Orsellinsäure mit der Rhizoninsäure einzugehen. Es wäre jedoch nicht unmöglich, daß die Ramalsäure mit einem Depsid, welches vor Jahren von ZOPF aus einer anderen Ramalina, nämlich *Ramalina obtusata*⁷ isoliert wurde, der Obtusatsäure identisch wäre. Diese Säure wurde übrigens auch von NAKAO⁸ in einer mandschurischen Droge, welche *Ramalina calicaris* Röhl. enthielt, aufgefunden. Endlich hat ASAHINA die Konstitution der Obtusatsäure⁹ sichergestellt. Es wird notwendig sein, neues Material zu beschaffen, um eventuell den Nachweis zu führen, daß die Ramalsäure mit der um einige Grade tiefer schmelzenden Obtusatsäure identisch ist.

Versuche.

109 g *Ramalina pollinaria* wurden in feinverteiltem Zustande mit Äther erschöpfend extrahiert. Die Ätherauszüge, welche eine weiße, schwer lösliche Substanz abgeschieden hatten, wurden mit Äther auf vier Liter aufgefüllt, wobei nach längerem Schütteln bis auf eine Trübung alles in Lösung ging. Diese Lösung wurde nun mit einer starken Lösung von Bikarbonat geschüttelt und die nach kurzem auftretende kristallinische Fällung eines Salzes abgesaugt und mit Äther nachgewaschen. Dieses Absaugen ist deshalb zweckmäßig, weil sonst sehr viel Wasser notwendig ist, um das Salz in Lösung zu bringen. Der Äther wird dann noch mehrmals mit Bikarbonat ausgezogen und das abgesaugte Salz mit den Bikarbonatauszügen vereint angesäuert. Die sich abscheidenden, nunmehr sicher atranorinfreien Flechtensäuren wogen 6.2 g. Der Zersetzungspunkt lag im evakuierten Röhrchen bei 175°. Nach dreimaligem Umlösen aus Alkohol wurde der Zersetzungspunkt bei 209° (evakuiertes Röhrchen) konstant. Ausbeute 0.8 g.

3.626 mg Substanz gaben (nach PREGL) 8.310 mg CO₂, 1.831 mg H₂O

0.0848 g „ „ (nach ZEISEL) 0.0577 g AgJ.

C₁₈H₁₈O₇. Ber. C 62.41, H 5.22, OCH₃ 8.96%.

Gef. C 62.50, H 5.64, OCH₃ 8.98%.

Die Mutterlaugen nach der Ramalsäure wurden mit Wasser vollständig gefällt und das Ausfallende abgesaugt. Es wurden

⁷ Liebigs Ann. 352, S. 23.

⁸ Journ. pharmac. Soc. Japan 496, 1923.

⁹ Ber. D. ch. G. 65, 1932, S. 580.

durch Umlösen aus Alkohol vier Fraktionen erzielt, welche sich über den Diazetylevernsäure-methylester mit Evernsäure identisch erwiesen.

Diazetyl-ramalsäure.

0.4 g der analysenreinen Ramalsäure wurden mit 5 g Pyridin und 3 g Azetanhydrid drei Tage sich selbst überlassen. Die gelbe Lösung wurde auf Eis gegossen und mit verdünnter Salzsäure die azetylierte Säure ausgefällt. Die Verbindung wurde lau in Azeton gelöst und Wasser hinzugesetzt. Die anfangs trübe Lösung klärt sich bald unter Abscheidung langer, weißer Nadeln, welche bei 175° im evakuierten Röhrchen unter Zersetzung schmelzen. Ausbeute 0.3 g.

5.251 mg Substanz gaben (nach PREGL) 11.866 mg CO₂, 2.551 mg H₂O
0.1337 g verbrauchen (nach FREUDENBERG) 3.15 cm³ NaOH (1 cm = 0.00812 g NaOH).

C₂₂H₂₂O₉. Ber. C 61.42, H 5.13, CO . CH₃ 19.91%.
Gef. C 61.62, H 5.42, CO . CH₃ 20.57%.

Diazetyl-ramalsäure-methylester.

0.15 g Diazetyl-ramalsäure wurden mit einer ätherischen Diazomethanolösung übergossen, welche aus 1 cm³ Nitrosomethylurethan bereitet war. Nach sechs Stunden wurde der Äther abgedunstet. Durch Lösen in Azeton und Fällen mit Wasser, farblose Nadeln, Schmelzpunkt 142°.

4.715 mg Substanz gaben (nach PREGL) 10.814 mg CO₂, 2.431 mg H₂O
0.0617 g „ „ (nach ZEISEL) 0.0639 g AgJ.

C₂₃H₂₄O₉. Ber. C 62.21, H 5.40, OCH₃ 13.96%.
Gef. C 62.54, H 5.76, OCH₃ 13.67%.

Die Molekelgewichtsbestimmung nach RAST bestätigte die Annahme, daß ein Didepsid vorliegt.

0.0103 g Substanz gaben (nach RAST) in 0.1338 g Kampfer 7° Depression.

C₂₃H₂₄O₉. Ber. M.-G. 444.1.
Gef. 439.0.

Spaltung der Ramalsäure.

0.2 g der reinen Säure wurden mit 8 cm³ einer 30%igen Natronlauge 72 Stunden im langsamen Wasserstoffstrom stehen gelassen. Die fast farblose Lösung wurde nun in 600 cm³ Wasser ausgegossen, mit verdünnter Salzsäure angesäuert und die auskristallisierende farblose Säure abgesaugt. Ausbeute 0.104 g, also

ungefähr die Hälfte des angewandten Depsids. Die Substanz wurde in 8 cm^3 Alkohol heiß gelöst und nach dem Erkalten von geringen Mengen eines flockigen Niederschlags filtriert. Es wurde hierauf mit Wasser versetzt, wobei sich eine in Nadeln kristallisierende Säure abschied. Die Verbindung schmilzt im evakuierten Röhrchen bei 210° unter Zersetzung und gab, in einem Sublimationsröhrchen über freier Flamme erhitzt, ein öliges Destillat, welches im Gegensatz zu Orzinhalbäther nach kurzer Zeit kristallinisch wurde. Diese entkarboxylierte Verbindung schmolz bei 67° und wies den typisch brennenden Geschmack der Phenolhalbäther auf. Der Stoff erwies sich fernerhin nach Mischschmelzpunkt identisch mit dem bei 67° schmelzenden β -Orzin-halfäther.

Der Spaltsäure kam also ein β -Orzinkern zu. Die Analyse der Säure wies auf die Bruttoformel $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$ hin.

4·612 mg Substanz gaben (nach PREGL) 10·378 mg CO_2 , 2·696 mg H_2O
 0·0523 g „ „ (nach ZEISEL) 0·0615 g AgJ.
 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$. Ber. C 61·19, H 6·16, OCH_3 15·82%.
 Gef. C 61·36, H 6·53, OCH_3 15·53%.

Zur weiteren Identifizierung wurde die Spaltsäure 210° durch Methylieren an der Karboxylgruppe mit Hilfe von Diazomethan in den entsprechenden β -Orzin-halfäther-ester (5) übergeführt.

0·05 g der Säure wurden so lange mit einer ätherischen Diazomethanlösung übergossen, bis die Lösung gelb blieb. Es blieb vier Stunden stehen, worauf das Diazomethan samt Äther abgedunstet wurde. Es schieden sich glänzende Kristallkrusten aus, welche bei 91 — 93° schmolzen. Durch Umlösen aus Alkohol konnte der Schmelzpunkt auf 104 — 105° gebracht werden. Dieselbe Verbindung, welche bereits von ST. PFAU, durch Methylieren von β -Orzinkarbonsäure-methylester, durch Methylieren der zur Estergruppe paraständigen phenolischen Hydroxylgruppe, die nach den Beobachtungen E. FISCHER^s bei Meta-dioxy-benzol-karbonsäuren besonders leicht methyliert wird, mit Hilfe von Dimethylsulfat gewonnen worden war, konnte auch durch Methylieren mit Hilfe von Diazomethan in reiner Form erhalten werden.

0·8 g des β -Orzin-karbonsäure-esters (Formel 6) wurden mit einer Diazomethanlösung aus 2 cm^3 Nitrosomethylurethan übergossen und vier Tage stehen gelassen. Es blieb nach Abdestillieren des Methylierungsmittels eine Kristallmasse, welche nicht einheitlicher Kristallform war. Es wurde in Äther gelöst und mit 5%iger Lauge so lange in kleinen Portionen ausgeschüttelt, bis die Aus-

züge beim Ansäuern klar blieben. Es wurde in die alkalischen Auszüge in raschen Tempo Kohlendioxyd eingeleitet und das in farblosen Kristallen ausfallende Phenol abgesaugt und getrocknet. Ausbeute 0·55 g. Schmelzpunkt 103—104°. Falls der Schmelzpunkt höher liegt, ist die Methylierung mit einer kleineren Menge Diazomethan zu wiederholen.

Durch Umlösen aus Alkohol konnte der Schmelzpunkt nicht mehr höher getrieben werden.

0·0752 g Substanz gaben (nach ZEISEL) 0·1659 g AgJ.

$C_{11}H_{14}O_4$. Ber. O. CH_3 29·53%.

Gef. 29·13%.

Die aus der Spaltsäure vom Schmelzpunkt 210° gewonnene methylierte Verbindung, Schmelzpunkt 104—105°, gab, mit der aus β -Orzin-karbonsäure-methylester gewonnenen Verbindung 104° gemengt, keine Depression des Schmelzpunktes. Die beiden Verbindungen sind demnach identisch und die bei 210° schmelzende Spaltsäure aus der Ramalsäure ist Rhizoninsäure (4).

Das 600 cm³ betragende Filtrat nach der Rhizoninsäure wurde mit Äther ausgeschüttelt, der Äther mit Natriumsulfat getrocknet und abdestilliert. Es blieb eine schwach gelb gefärbte Säure, die bei 174° im evakuierten Röhrchen schmolz und 0·108 g wog. Durch Umlösen aus verdünntem Alkohol stieg der Schmelzpunkt im evakuierten Röhrchen auf 190° unter Zersetzung. Sie gibt beim Erhitzen im Röhrchen Orzin.

Zur sicheren Identifizierung wurde die Verbindung mit Diazomethan methyliert. Es wurde hiebei so gearbeitet wie bei der Identifizierung der Orsellinsäure als Sparassol bei der Spaltung der Gyrophorsäure¹⁰. Es konnte Sparassol gewonnen werden, womit die Identität der zweiten Spaltsäure mit Orsellinsäure feststeht.

¹⁰ Monatsh. Chem. 61, 1932, S. 147, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (IIb) 141, 1932, S. 515.