

Über die Konstitution der Pinastrinsäure

Von

GEORG KOLLER und GERHARD PFEIFFER

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 17. November 1932)

In der *Cetraria pinastri* und etwas reichlicher in der *Cetraria juniperina* findet sich neben Usninsäure und der giftigen Vulpinsäure eine tiefgelbe, sauer reagierende Verbindung, die Pinastrinsäure. Diese Flechtensäure wurde bereits von ZOPF und O. HESSE näher untersucht¹. Die Ergebnisse beider Forscher sind bezüglich der Schmelzpunktangaben und der elementaren Zusammensetzung nicht in Einklang zu bringen. So gibt O. HESSE einen Fließpunkt 196—198° an, während ZOPF den Schmelzpunkt der Säure höher findet, nämlich bei 200—203°. Die Elementaranalyse ergab nach ZOPF Werte, welche auf die Bruttoformel $C_{20}H_{16}O_6$ oder $C_{17}H_{14}O_5$ hinweisen, während O. HESSE die Bruttoformel $C_{19}H_{14}O_5$ errechnete. Von den weiteren Untersuchungsergebnissen HESSES ist besonders erwähnenswert, daß die Pinastrinsäure eine Methoxylgruppe enthalten soll, welche esterartig gebunden ist. Bei der Verseifung mit Baryt wurde von HESSE unter Abspaltung von Methylalkohol eine Karbonsäure gewonnen, für welche er die Bruttoformel $C_{18}H_{12}O_6$ vorschlägt. Diese Verbindung unterscheidet sich demnach nach O. HESSE von der aus der Vulpinsäure (I) durch Verseifen mit Baryt gewonnenen Pulvinsäure (II) nur durch den Mehrgehalt eines Sauerstoffatoms. Weiterhin führte er diese entmethylierte Verbindung durch Erhitzen mit Essigsäureanhydrid in ein Anhydrid über, welches beim Erwärmen mit Methylalkohol unter Alkohololyse eines Laktonringes Pinastrinsäure zurückgibt, bei längerem Erhitzen unter Aufspaltung eines zweiten Laktonringes in den Diester einer Dikarbonsäure übergeht. Diese Reaktionsweise erinnert sehr stark an das Verhalten der Pulvinsäure. HESSE zog denn auch den Schluß — allerdings ohne die Säure tiefergehend abgebaut zu haben —, daß in der Pinastrinsäure nichts

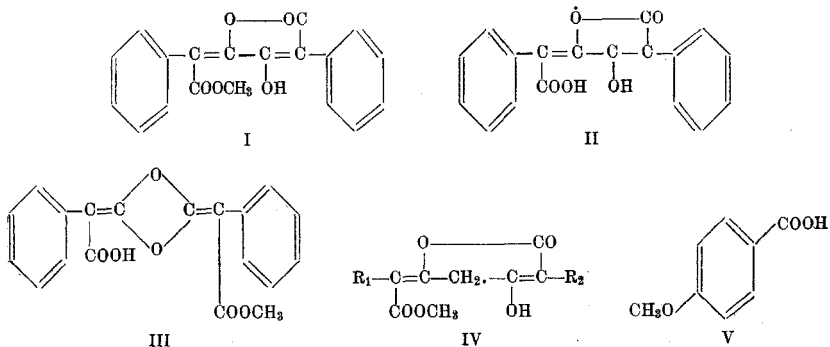
¹ Liebigs Ann. 117, 1861, S. 297. J. prakt. Chem. 57, 1898, S. 232; 62, 1900, S. 321. Liebigs Ann. 284, 1895, S. 107. Siehe Literaturzusammenstellung bei ZOPF „Die Flechtenstoffe“, 1907.

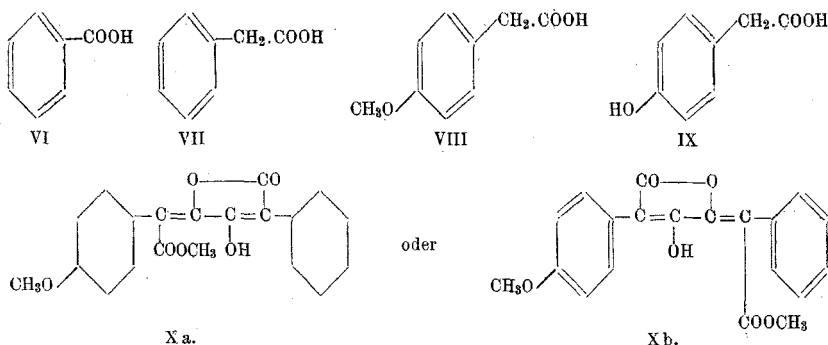
weiter vorliege als eine Oxy-Vulpinsäure und er erteilt der Säure die merkwürdige Formel (III).

Nach dreijähriger Sammeltätigkeit war es uns nun gelungen, eine derartige Menge von *Cetraria pinastri* und *Cetraria juniperina* zu sammeln, daß uns etliche Gramme der Verbindung zu Gebote standen. Die Flechten wurden von uns zum Teil auf dem Raxplateau, zum Teil in Mitterndorf (steirisches Salzkammergut) gesammelt. Des weiteren erhielten wir von Herrn Dr. MAXIMILIAN STEINER (Botanisches Institut der Technischen Hochschule in Stuttgart) eine Beihilfe an *Cetraria pinastri*, welche aus der Silvretta-Gruppe stammte, wofür wir auch an dieser Stelle unserem Dank Ausdruck verleihen möchten. Die von uns isolierte Pinastrinsäure schmolz bei 203° und ergab Verbrennungswerte, welche analog den Angaben ZOFFS auf die Bruttoformel $C_{20}H_{16}O_6$ oder $C_{17}H_{14}O_5$ hinwiesen. Demnach konnte die Pinastrinsäure eventuell eine Homo-oxy-vulpinsäure vorstellen. Die zweite mögliche Formel $C_{17}H_{14}O_5$ wurde — es sei hier vorweggenommen auf Grund der bei der Barytspaltung auftretenden Bruchstücke — als unmöglich erkannt. Das Pinastrinsäureproblem lief demnach darauf hinaus, die Funktion des sechsten Sauerstoffatoms und die Stellung einer CH_2 -Gruppe festzulegen. Wir waren nun anfangs geneigt, die CH_2 -Gruppe in das Oxyvulpinsäure-Molekül derart einzuschieben, daß sie in der Seitenkette als Kern eines Malonylrestes aufscheint (IV). Die Pinastrinsäure wurde deshalb auf ihre Kondensationsfähigkeit gegen Benzaldehyd in Gegenwart verschiedener Kondensationsmittel, wie Salzsäure usw., untersucht, mit allerdings negativem Befund. Die Lage der CH_2 -Gruppe war daher in die aromatischen Reste der Pinastrinsäure zu verlegen. Weitere Klärung in dieser Frage brachte die Methylierung der Pinastrinsäure und die Oxydation der methylierten Verbindung. Wir haben, bevor wir uns mit dem Verhalten der Pinastrinsäure gegen Diazomethan beschäftigten, die Vulpinsäure der Einwirkung dieses Alkylierungsmittels ausgesetzt. Es wurde so glatt die saure enolische Hydroxylgruppe mit Methylalkohol veräthert, eine Addition von Diazomethan an die konjugierten Doppelbindungen war nicht wahrzunehmen. Die Pinastrinsäure gab nun wie die Vulpinsäure einen Monomethyläther $C_{21}H_{18}O_6$, der jedoch zu unserer Überraschung nicht zwei, sondern drei Methoxylgruppen enthielt. Da auch die Bestimmung des aktiven Wasserstoffes in der Pinastrinsäure selbst nur eine Hydroxylgruppe erkennen ließ, haben wir die Pinastrinsäure selbst auf ihren

Alkoxygehalt untersucht. Wir fanden im Gegensatz zu O. HESSE zwei Alkoxyreste, welche weiterhin durch Auffangen des beim Erhitzen mit Jodwasserstoffsäure auftretenden Jodalkyls mit Dimethylanilin in Form des bei 211° schmelzenden Trimethylphenylammoniumjodides sicher als Methoxyreste erkannt wurden. Die fragliche CH₂-Gruppe lag demnach in Form eines Methoxyrestes vor. Über die Stellung dieser Methoxygruppe gewannen wir folgenden Aufschluß. Wird der Pinastrinsäure-monomethyläther oxydiert, so werden Anissäure (V) und Benzoesäure gewonnen (VI). Auch Pinastrinsäure selbst gibt bei der Oxydation Anissäure und Benzoesäure, so daß es als gesichert erscheint, daß die vom Diazomethan verätherte Hydroxylgruppe in der Seitenkette zu suchen ist und das in der Anissäure auftretende Methoxyl sich in der ursprünglichen Flechtensäure als paraständiges Methoxyl vorfindet.

Zur weiteren Stütze der Konstitution schien es wesentlich, die Pinastrinsäure selbst der Barytspaltung zuzuführen, welche bei Vulpinsäurederivaten bekanntlich unter Säurespaltung zu Phenylelessigsäure und Oxalsäure führt. Wir hatten hier insoweit Schwierigkeiten, da wir neben Oxalsäure, Phenylelessigsäure (VII), *p*-Methoxyphenylelessigsäure (VIII), auch geringe Mengen von *p*-Oxyphenylelessigsäure (IX), welche wir aus dem Estergemisch der Spaltsäuren auf Grund der Laugenlöslichkeit ihres Esters abscheiden konnten, auffanden. Die Erklärung hiefür ist darin zu suchen, daß das *p*-ständige Methoxyl im *p*-Methoxyphenylrest durch die Einwirkung der starken Barytlösung eine geringfügige Verseifung erfährt. Das Auftreten obiger Spaltstücke sichert die Bruttoformel der Pinastrinsäure vollends, so daß Formel (X a, b) für die Pinastrinsäure gesichert erscheint. Synthetische Versuche zum Aufbau der Säure sind im Gange.





Experimenteller Teil.

Die Extraktion der Flechten wurde mit Äther vorgenommen und die Pinastrinsäure aus einem großen Äthervolumen sich ab-scheiden gelassen. Wird das ätherische Extrakt zu sehr ein-geengt, so scheidet sich reichlich Usninsäure mit der Pinastrin-säure ab, welche zum Teile durch Umlösen aus Alkohol von der begleitenden Usninsäure getrennt werden kann. Es bleibt hie-bei jedoch immer eine reichliche Fraktion, welche aus einem Ge-menge beider Flechtensäuren besteht und weder durch Umlösen noch durch Überführen der Usninsäure in das schwer lösliche Kalzium-Usneat in die Komponenten zerlegt werden konnte. Diese Gemische schmelzen relativ hoch, und eine derartige Mischung, welche unter dem Mikroskop deutlich die hellgelben Nadeln der Usninsäure und die orangegelben Nadeln der Pinastrinsäure er-kennen läßt, dürfte O. HESSE in Händen gehabt haben. Der Schmelzpunkt der Säure lag nach zweimaligem Umlösen aus Äthylalkohol im evakuierten Röhrchen konstant bei 203—204° unter leichter Gasentwicklung.

4·593 mg Substanz (nach PREGL) gaben 11·544 mg CO₂, 1·931 mg H₂O
 4·814 mg " " " " " 12·093 mg CO₂, 2·110 mg H₂O
 0·1160 g " " " " " 0·1495 g AgJ
 0·0872 g " " " " " 0·1117 g AgJ
 0·2034 g " " " " " ZEREWITINOFF) gaben 5 cm³ Methan (in der Kälte)
 (20°, 752 mm).

C₂₀H₁₆O₆. Ber. C 68·21, H 4·52, OCH₃ (2) 17·62, OH 4·82%.
 Gef. C 68·43, H 4·68, OCH₃ (2) 17·02, OH 1·73%.
 Gef. C 68·50, H 4·90, OCH₃ (2) 16·92%.

Pinastrinsäure-monomethyläther.

0·2 g der Flechtensäure wurde mit einer Diazomethan-lösung, welche aus 2 cm³ Nitrosomethylurethan bereitet war,

übergossen und zwei Tage stehen gelassen. Unter sofortiger Stickstoffentwicklung geht die Pinastrinsäure in eine gelbgrünliche Verbindung über, welche nach dem Abdestillieren des überschüssigen Methylierungsmittels aus Alkohol umgelöst wurde. Der Stoff schießt in grüngelben Nadeln an und schmilzt bei 153°.

3·974 mg	Substanz	(nach PREGL)	gaben	10·007 mg	CO ₂ ,	1·814 mg	H ₂ O
3·697 mg	"	"	"	9·285 mg	CO ₂ ,	1·745 mg	H ₂ O
0·0349 g	"	"	ZEISEL)	"	0·0675 g	AgJ	
0·0970 g	"	"	"	"	0·1859 g	AgJ	
0·0076 g	"	"	RAST)	"	in 0·0824 g	Kampfer	9° Depression
0·1100 g	"	"	BECKMANN)	in	14·7395 g	Benzol	gaben 0·12 Depression.
	C ₂₁ H ₁₈ O ₆ .	Ber.	C 68·82,	H 4·95,	OCH ₃ 25·41 %,	M.-G. = 366·14.	
		Gef.	C 68·64,	H 5·10,	OCH ₃ 25·55 %,	M.-G. = 315·05.	
		Gef.	C 68·56,	H 5·28,	OCH ₃ 25·32 %,	M.-G. = 310·9.	

Vulpinsäure-monomethyläther.

Reine synthetische Vulpinsäure wurde mit analogen Mengen Diazomethan unter gleichen Bedingungen umgesetzt. Der Vulpinsäureäther stellt fast farblose Nadeln vor (aus Alkohol), welche bei 143—144° schmelzen.

4·552 mg	Substanz	(nach PREGL)	gaben	11·851 mg	CO ₂ ,	1·941 mg	H ₂ O
0·1274 g	"	"	ZEISEL)	"	0·1776 g	AgJ.	
	C ₂₀ H ₁₆ O ₅ .	Ber.	C 71·40,	H 4·79,	OCH ₃ (1) 18·46 %.		
		Gef.	C 71·00,	H 4·76,	OCH ₃ 18·41 %.		

Oxydation des Pinastrinsäure-monomethyläthers.

2 g Pinastrinsäure-methyläther wurden in einer Auflösung von 60 g KOH in 300 cm³ Wasser suspendiert und in kleinen Portionen eine Auflösung von 8 g Kaliumpermanganat in 2·4 l Wasser am kochenden Wasserbade hinzugefügt. Als die Lösung auch nach zweistündigem Erhitzen grün blieb, wurde die Oxydation unterbrochen, mit Natriumbisulfit versetzt und mit verdünnter Salzsäure eben angesäuert. Nach Lösung des Braunsteins wurde mit Pottasche alkalisch gemacht und die indifferenten Oxydationsprodukte durch mehrmaliges Ausäthern entfernt. Diese Ätherauszüge enthielten nur geringe Mengen einer öligen Substanz. Die karbonatalkalische Lösung wurde nun neuerlich mit Salzsäure angesäuert und erschöpfend mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther hinterließ beim Abdestillieren ein gelbliches Öl (Ausbeute 1 g), welches in ein Kugelrohr gebracht wurde. Bei 80°/0·04 mm geht eine kri-

stallinische Fraktion über, hierauf folgte ein grünliches Öl und sodann bis 140° eine in Nadeln sich abscheidende Substanz, welche stark mit öligen Bestandteilen behaftet war. Wir überzeugten uns stichprobenweise davon, daß diese Öle nichtsaurer Natur sind, wahrscheinlich Stoffe, welche durch Entkarboxylierung von Glyoxylsäuren entstanden waren. Die Versuche, diese Stoffe durch organische Lösungsmittel von den kristallisierten Säuren zu trennen, führten zu großen Substanzverlusten. Wir unterwarfen deshalb das gesamte Destillat einer Nachoxydation.

1 g der Substanz wurde mit einer verdünnten Pottaschelösung (100 cm³) am Wasserbade erhitzt und in kleinen Portionen eine Lösung von 2 g Kaliumpermanganat in 200 cm³ Wasser hinzugefügt. Anfangs tritt sofortige Entfärbung ein. Nach Zugabe von 150 cm³ obiger Oxydationsflüssigkeit blieb die Rotfärbung durch eine Stunde bestehen. Es wurde nun mit Bisulfit versetzt und angesäuert. Es fielen sofort farblose, feine Nadelchen aus, welche nach dem vollständigen Erkalten abgesaugt wurden. Ausbeute 0.08 g (Fraktion 1). Das wässrige Filtrat wurde ausgeäthert und so eine ölige Flüssigkeit gewonnen, welche sofort eisblumenartig kristallisierte. Ausbeute 0.5 g (Fraktion 2).

Die Fraktion 1 schmolz bei 175°. Zur weiteren Reinigung wurde die Verbindung aus kochendem Wasser umgelöst und hierauf im Hochvakuum sublimiert. Nach Verwerfen eines geringen Vorsublimates ging die Säure bei 120°/0.4 mm in prächtigen farblosen Nadeln über, welche scharf bei 184° schmolzen. Die Analyse zeigte, daß die Verbindung nach der Bruttoformel C₈H₈O₃ zusammengesetzt ist und eine Methoxylgruppe enthält. Der Mischschmelzpunkt mit Anissäure lag bei 184°. Es liegt demnach zweifellos Anissäure vor.

3.799 mg Substanz (nach PREGL) gaben 8.801 mg CO₂, 1.918 mg H₂O

4.012 mg „ „ „ ZEISEL-PREGL) gaben 6.194 mg AgJ.

C₈H₈O₃. Ber. C 63.08, H 5.30, OCH₃ 20.40%.

Gef. C 63.18, H 5.64, OCH₃ 20.38%.

Die Säure zeigte übrigens dieselbe Kristallform und denselben Sublimationspunkt im Hochvakuum wie reine Anissäure.

Fraktion 2 wurde in ein Kugelrohr gebracht und bei 0.5 mm Druck auf einer Temperatur von 75—80° gehalten. Es sublimieren farblose Kristalle, welche jedoch im Laufe der Sublimation immer mehr von einem grünen Öl (Phenylglyoxal?) behaftet sind. Der anfangs flüssige Sublimationsrückstand kristallisiert und läßt neuerlich Anissäure gewinnen. Das Sublimat enthält einen wohl-

riechenden Körper, der indifferenten Natur ist. Es wird mit wenig verdünnter Natriumbikarbonatlösung behandelt und das Unge- löste mit Äther aufgenommen. Beim Ansäuern der Bikarbonat- lösung scheidet sich eine Säure ab, welche bereits durch Kristall- form und Geruch stark an Benzoesäure erinnerte. Die Säure wurde nochmals bei 12 mm sublimiert. Sie schmolz bei 123—124° und gab, mit Benzoesäure vom Schmp. 124° gemengt, keine Depression des Schmelzpunktes.

5·816 mg Substanz (nach PREGL) gaben 14·595 mg CO₂, 2·586 mg H₂O.

C₇H₆O₂. Ber. C 68·43, H 4·91 %.

Gef. C 68·48, H 4·97 %.

Barytspaltung der Pinastrinsäure.

1 g analysenreiner Pinastrinsäure wurde mit 20 g Barium- hydroxyd in 50 cm³ Wasser zwei Stunden unter Rückfluß am Draht- netz gekocht. Am Beginne der Verkochung erleidet die Pinastrin- säure eine Veränderung. Sie wandelt sich in eine schwefelgelbe Masse um, die wahrscheinlich das Bariumsalz der *p*-Methoxy-pulvin- säure vorstellt. Dieses Salz geht dann langsam unter Verblässen der Flüssigkeit in Lösung. Die fast farblose Lösung wurde angesäuert, wobei ein weißer Niederschlag (Bariumkarbonat + Bariumoxalat) in Lösung geht. Es wurde nun einen Tag mit Äther extrahiert. Der Äther hinterließ beim Abdestillieren ein gelbliches Öl, welches bei längerem Stehen vollständig kristallinisch wurde. Es wurde in ein Kugelrohr gebracht und der Hochvakuumdestillation unter- worfen. Bei 0·3 mm ging zwischen 90 und 120° fast alles über. Ausbeute an rohem Säuregemisch 1·1 g. Zur Abscheidung der Oxalsäure wurde das Gemenge mit wenig Wasser behandelt, von Ungelöstem filtriert und das Filtrat mit einer Lösung von Chlor- kalzium versetzt. Es schied sich sofort ein feinkörniger Nieder- schlag ab, der unter dem Mikroskop die typischen Kriställchen des Kalzium-oxalates erkennen ließ. Es wurde abgesaugt und der Niederschlag mit verdünnter Salzsäure zersetzt und die Lösung ausgeäthert. Der Äther hinterließ eine kristallinische Sub- stanz, welche den Zersetzungspunkt der Oxalsäure aufwies. Zur sicheren Identifizierung wurde die Säure mit Diazomethan methy- liert und so ein Ester gewonnen, der sofort kristallisierte und nach einmaliger Destillation im Vakuum sofort bei 55° schmolz. Mit Oxalsäure-Dimethylester gemengt, ergab sich keine Depres- sion. Es handelt sich demnach bestimmt um Oxalsäure.

Das Filtrat nach dem oxalsauren Kalzium wurde ausgeäthert und der kristallinische Ätherrückstand mit der in Wasser unlöslichen Säurefraktion vereinigt. 1 g dieses Gemisches wurde mit 20 cm³ absolutem Methylalkohol übergossen und zwei Stunden am Wasserbade unter Einleiten von trockener Salzsäure verestert. Es wurde hierauf auf Eis und Kaliumbikarbonat gegossen und die gebildeten Ester mit wenig Äther aufgenommen. Der Äther hinterließ nach dem Trocknen mit Natriumsulfat 0.93 g aromatisch riechender Ester.

Um die Ester vorhandener Phenol-karbonsäuren abzutrennen, wurde folgend verfahren.

Die Gesamtmenge an Estern wurde in 30 cm³ Äther gelöst und nun in rascher Folge mit eisgekühlter 5%iger Natronlauge ausgeschüttelt. Insgesamt wurden 30 cm³ obiger Lauge verwendet. Die alkalischen Auszüge wurden sofort unter Eiskühlung mit verdünnter Salzsäure angesäuert und der sich als Trübung abscheidende Ester mit wenig Äther wiederholt ausgeäthert. Der Äther hinterließ beim Abdestillieren 0.06 g eines gelben Öles, welches durch halbstündiges Erhitzen mit 4 cm³ Wasser und 0.4 g KOH zur Säure verseift wurde.

Das Verseifungsgemisch wurde zur Entfernung nichtsaurer Stoffe mit Äther ausgeschüttelt, die wässrige Phase angesäuert und neuerlich ausgeäthert. Es wurde so ein Öl gewonnen, welches im Vakuum fraktioniert wurde. Nach Verwerfen eines öligen Vorlaufes wurde bei 130°/0.25 mm eine in langen Nadeln sublimierende Säure gewonnen, welche nach zweimaliger Sublimation bei 149—150° schmolz und, mit *p*-Oxyphenylessigsäure, welche wir durch Verseifen von *p*-Oxybenzylcyanid² gewonnen hatten, gemengt, keine Depression des Schmelzpunktes gab. Ausbeute 2 mg.

Die nach der Abtrennung des *p*-Oxyphenyl-essigsäuremethylesters verbliebenen Ester wurden mit Lauge verseift und nach dem Ansäuern die Säuren durch Ausäthern zurückgewonnen.

Die Substanz erwies sich auf Grund ihrer Sublimationstemperatur als nicht einheitlich. Sie begann unter einem Drucke von 0.25 mm bei 85° reichlicher zu destillieren, die letzten Anteile gingen erst bei 120° über.

Es wurde von 85—120° in acht Fraktionen zerlegt. Die beiden ersten schmolzen bei 75—77° (Fraktion 1). Die Mittel-

² H. SALKOWSKY, Ber. D. ch. G. 17, 1884, S. 506.

fraktionen schmolzen um 50°, die bei 110—120° erhaltenen Anteile bei 83—85°. (Fraktion 2).

Die Mittelfraktion konnte neuerlich durch Hochvakuumdestillation in die bei 75° und in die bei 85° schmelzenden Anteile zerlegt werden, welche dann mit den gleichschmelzenden Fraktionen vereinigt wurden.

Fraktion 1 wurde neuerlich unter Verwerfen eines geringen Nachlaufes destilliert. Nach Umlösen aus Wasser und neuerlicher Destillation lag der Schmelzpunkt bei 77—78°. Der Mischschmelzpunkt mit Phenylelessigsäure, Schmp. 78°, gab keine Depression. Es lag demnach Phenylelessigsäure vor.

4·011 mg Substanz (nach PREGL) gaben 10·321 mg CO₂, 2·210 mg H₂O.
 C₈H₈O₂. Ber. C 70·54, H 5·92%.
 Gef. C 70·15, H 6·15%.

Fraktion 2. Die bei 83—86° schmelzenden Anteile wurden neuerlich von etwas tiefer schmelzenden und tiefer destillierenden Substanzen abgetrennt. Der Schmelzpunkt lag unverändert bei 86—87°. Die Analyse wies auf eine Säure C₉H₁₀O₃ hin.

5·012 mg Substanz (nach PREGL) gaben 11·933 CO₂, 2·745 mg H₂O
 0·0603 g „ („ ZEISEL) „ 0·0854 g AgJ.
 C₉H₁₀O₃. Ber. C 65·02, H 6·06, OCH₃ 18 67%.
 Gef. C 65·20, H 6·12, OCH₃ 18·70%.

Mit der bei 85—86° schmelzenden *p*-Methoxy-phenylelessigsäure³ gemengt, welche wir rasch durch Methylierung der *p*-Oxyphenylelessigsäure mit Dimethylsulfat und Lauge und Verseifung des *p*-Methoxy-phenyl-essigsäure-methylesters gewinnen konnten, ergab sich keine Veränderung des Schmelzpunktes. In der Abbau-säure, Schmp. 86—87°, liegt demnach *p*-Methoxy-phenyl-essigsäure vor.

³ CANNIZARO, Liebigs Ann. 117, 1861, S. 246.