

Über Trametenolsäure.

[Aus *Trametes odorata* (Wulf.) Fr.]

Von

W. Gruber und G. Proske.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 27. März 1950. Vorgelegt in der Sitzung am 27. April 1950.)

Der in Österreich in den Nadelwaldbeständen verbreitete Baumschwamm *Trametes odorata* (Wulf.) Fr., zu deutsch Fenchel-Porling, wächst auf alten Stümpfen von Tannen und Fichten. Sein Vorkommen beschränkt sich demgemäß auf die weniger kultivierten Waldbestände, er wird daher selten in der Umgebung Wiens, häufiger aber in den Alpentälern gefunden.

Das Ausgangsmaterial wurde von uns in der Umgebung von Bischofs-hofen (Land Salzburg) sowohl im Frühjahr als auch im Spätsommer gesammelt. Die Veranlassung, gerade in diesem Material nach Inhaltsstoffen zu suchen, war durch den Geruch und die auffallenden gelben bis tiefbraunen Farbstoffe gegeben. Der markante Geruch, der schon von einiger Entfernung wahrnehmbar ist, trägt diesem Baumschwamm nicht nur den Namen „*Trametes odorata*“ ein, er wird auch in einschlägigen elementaren Büchern^{1, 2} mit Fenchel-, Anis- oder Honigkuchenduft verglichen.

Unser Material wurde von Herrn Dozenten Dr. K. Lohwag (Hochschule für Bodenkultur in Wien) bestimmt³, so daß die Einheitlichkeit durch die charakteristischen Merkmale unbedingt gewährleistet ist.

Über Inhaltsstoffe von Baumschwämmen liegen bisher einige wenige Arbeiten vor, unter denen die von J. Zellner (Mh. Chem., 1919—1932) be-

¹ H. Jahn, Pilze rundum, S. 141. Hamburg: Parkverlag. 1949.

² A. Ricken, Vademeccum für Pilzfreunde, S. 162. Leipzig: Verlag Quelle und Meyer. 1918.

³ Wir gestatten uns auch an dieser Stelle, Herrn Doz. Dr. K. Lohwag für seine Bemühungen unseren herzlichsten Dank auszusprechen.

sonders genannt seien. *J. Zellner* und Mitarbeiter⁴ fanden in Materialien, die sie untersuchten, hauptsächlich Zucker, Fettsäuren, Gerbstoffe, Phlobaphene, Ergosterin und ähnliche Substanzen, die sie nicht näher definierten und mit dem Sammelnamen Pilzsterine belegten.

Standardwerke^{5, 6} und die oben erwähnten Pilzbücher^{1, 2} beschreiben *Trametes odorata* (*Wulf.*) *Fr.* wie folgt: Fruchtkörper anfangs rundlich birnenförmig, knollig erweitert, hinten sehr dick, bis 8 cm vom Holz abstehend, bis 15 cm breit, oberseitig höckerig und (konzentrisch) gefurcht, oft mehrere zu dicken Massen zusammengewachsen. Vorkommen auf alten Stümpfen von Tannen und Fichten (mehrjährig), zerstreut.

Substanz: erst rotfuchsig, zottig, dann braun bis schwarzbraun mit fuchsigem Rand, weichkorkig.

Porenschicht unterseitig gelbbraun bis zimtfuchsig, mittelweich, rund bis länglich, ziemlich tief (5 bis 6 mm). Geruch süßlich, nach Fenchel oder Anis, er ist noch jahrelang an aufbewahrten Stücken wahrnehmbar.

Wir extrahierten das zerriebene lufttrockene Material mit Äther und anschließend mit Äthanol. Die Äthanolfraktion enthielt nach qualitativer Probe nur Gerbstoffe und Phlobaphene und war tiefdunkelbraun gefärbt. Der rohe Ätherextrakt enthielt ein weißes amorphes Pulver und die „fuchsig-farbig“ Anteile. Die Aufarbeitung des Ätherextraktes gestaltete sich äußerst schwierig, da Gallerten die übliche Trennung in saure und neutrale Anteile verhinderten. Unter Vernachlässigung aller anderen Inhaltsstoffe wurden daher vorläufig diese weißen amorphen Anteile durch Umlösen gereinigt. Der Schmp. war innerhalb von 20° unscharf (230 bis 250°), ließ noch nicht Rückschlüsse auf Einheitlichkeit zu, doch gelang es durch öfteres Umlösen aus Alkohol, die Substanz kristallin zu erhalten. Bis zu den ersten 10 bis 15 Fraktionen haftete ein gelblicher Farbstoff zäh an der Substanz. Erst unter Tierkohlezusatz konnte dieser beim Umkristallisieren entfernt werden. Nach mehrmaliger Umkristallisation konnten aus Alkohol farblose Nadeln erhalten werden. Der Schmp. von 259 bis 261° ließ sich auch durch weiteres Umkristallisieren nicht mehr erhöhen. Die Drehung war auch auf einen konstanten Wert von $[\alpha]_D = + 47,27$ (Methanol) angestiegen. Die langen, seidigen Nadeln ließen sich, wie wir später feststellten, auch sehr langsam im Hochvakuum unzersetzt sublimieren. Sie gaben eine umgekehrte *Salkowskische* Sterinreaktion (Rotfärbung der Schwefelsäure) und aus den Analysenwerten ließ sich ein hydroaromatisches System vermuten, das auf die Summenformel $C_{30}H_{48}O_3$ (\pm einer CH_2 -Gruppe, deren Wert in der Analysenfehlergrenze liegt) stimmt.

⁴ *N. Fröschl* und *J. Zellner*, Zur Kenntnis der Pilzharze. *Mh. Chem.* **53/54**, 146 (1929).

⁵ *E. Fries*, *Hymenomycetes Europaei*, S. 582 (unveränderter Nachdruck der Auflage 1874). Leipzig: Verlag Dr. Werner Klinkhardt. 1937.

⁶ *A. Pilat*, *Poliporaceae I.*, Administration Musée national Prague 1936, S. 331. Der Autor nennt in seiner Nomenklatur den Schwamm *Anisomyces odorata* (*Wulf.*) *Pilat*.

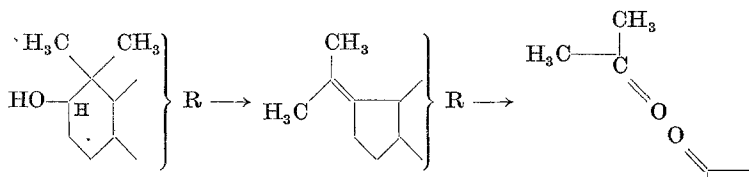
Die Verbindung ruft beim Aufarbeiten die entstehenden Gallerten hauptsächlich selbst hervor und verhält sich äußerst hydrophob. Sie läßt sich mit Diazomethan methylieren und liefert einen analytisch nachgewiesenen Monomethylester, der sich gut umkristallisieren läßt und durch Verseifung zur freien Säure zurückführt. Die dadurch wahrscheinlich gemachte Carboxylgruppe läßt sich titrieren und liefert so ein Äquivalentgewicht, welches die Größe des Moleküls bestätigt.

Damit sind 2 Sauerstoffatome im Molekül festgelegt. Decarboxylierungsversuche und Abbaumethoden, die vom Säurechlorid ausgehen, führten vorläufig zu keinem Erfolg.

Das dritte Sauerstoffatom liegt in Form einer Hydroxylgruppe vor, wie wir im folgenden beweisen konnten. Unter Annahme eines hydroaromatischen Systems des Naturstoffes war von vornherein eine phenolische OH-Gruppe auszuschließen. Durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin erhielten wir ein Monoacetylprodukt, welches die erwarteten Acetylwerte brachte. Durch Verseifung erhielten wir das Ausgangsmaterial unverändert zurück.

Als nächste Frage stand die Stelle der OH-Gruppe zur Diskussion. Durch Oxydation des Methylesters mit Chromsäure erhielten wir eine Carbonylverbindung, die in Form ihres Oxims charakterisiert wurde, da sich die Analysenwerte von der Hydroxylverbindung und des Oxydationsproduktes zu wenig unterscheiden. Durch Verseifung des Carbonylcarbonsäuremethylesters erhielten wir die freie Carbonylcarbonsäure. Nachdem wir bei der Chromsäureoxydation keine Dicarbonsäure erhielten, halten wir auf dieser Stufe der Untersuchungen die Carbonylverbindung für ein Keton, die OH-Gruppe also für sekundär.

Bei bekannten Triterpenverbindungen, bei denen sich in Nachbarschaft zu dem sekundären Hydroxyl ein quarternäres Kohlenstoffatom mit zwei Methylgruppen befindet, erhält man mit Phosphorpentachlorid in Petroläther unter Wasserabspaltung eine Ringverengung, die als Retropinakolinumlagerung angesehen wird. Hierfür liefern *Ruzicka* und Mitarbeiter⁷ einen strengen Beweis.



Unsere Substanz spaltet mit Phosphorpentachlorid Wasser ab, was der ersten Stufe der oben beschriebenen Reaktion entsprechen würde. Aus Substanzmangel konnten wir derzeit den exakten Beweis einer

⁷ *L. Ruzicka, O. Jeger und E. Voli, Helv. chim. Acta 18, 767 (1945).*

Ringverengung durch oxydativen Abbau nicht erbringen, werden aber zur gegebenen Zeit darauf zurückkommen.

Die Methoden zur Prüfung des Sättigungszustandes im Terpengebiet sind mit großer Vorsicht aufzunehmen⁸. Wir haben das Molekül katalytisch in Alkohol hydriert und fanden eine Aufnahme von 1,5 bis 1,75 Mol Wasserstoff; damit läßt sich aber auf alle Fälle an dem Molekül ein ungesättigter Charakter feststellen. Mit Tetranitromethan in Chloroform tritt eine deutliche Gelbfärbung ein, die auf eine Doppelbindung hinweist.

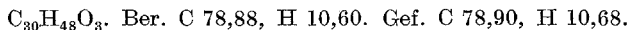
Wenn man die Isoprenregel auch in ihrer Gültigkeit auf unsere Substanz ausdehnt, können wir unser Molekül $(C_5H_8)_6O_3$ aus sechs Isoprenresten mit drei Sauerstoffatomen aufgebaut darstellen. Die drei Sauerstoffatome sind in Form einer Carboxylgruppe und einer sec. Alkoholgruppe vorhanden. Das Molekül fällt somit einwandfrei in die von *L. Ruzicka* bearbeitete Klasse der Triterpene und stimmt in seinen Daten mit keiner der bisher bekannten Oxytriterpencarbonsäuren überein.

Wir schlagen daher für den von uns gefundenen Naturstoff den Namen Trametenolsäure vor.

Experimenteller Teil.

Die in einer Mühle zu Erbsenkorngroße zerkleinerten Schwämme wurden in einem Extraktor mit Äther 14 Tage extrahiert. Eingesetzt: 750 g. Ausbeute an Trockenrückstand: 5 g, das sind 0,75%. Die Äthanolextraktion, durchgeführt bei einer halben Atmosphäre, brachte aus der gleichen mit Äther vorextrahierten Menge 2,5 g eines dunklen sandigen Pulvers, dessen wasserlösliche und nichtwasserlösliche Anteile mit $FeCl_3$ eine grüne Färbung gaben, die beim Erhitzen in eine dunkelbraune Fällung überging.

Der Trockenrückstand der Ätherextraktion wurde mit 350 ccm Äther digeriert und abgesaugt, der Rückstand 2mal mit je 150 ccm Äthanol kurz kalt geschüttelt und aufs Filter gebracht. Aus der abgesaugten ätherischen und äthanolischen Lösung lassen sich durch abwechselndes Einengen und Behandeln mit denselben Lösungsmitteln noch wesentliche Mengen eines fast weißen amorphen Pulvers gewinnen. Es wurde in heißem Methanol gelöst und unter Tierkohlezusatz öfters umkristallisiert. Die meisten harzartigen, öligen und rostfarbenen Produkte, somit der Großteil aller Fremdstoffe, von denen ein Teil das Gallertigwerden der Substanz beeinflußt, sind auf diesem Wege aus der Mutterlauge der Trametenolsäure entfernt worden. Durch sorgfältige Fraktionierung gelang es auch, die letzten Spuren von Verunreinigungen, vor allem einen gelben Farbstoff, der ziemlich zäh anhaftet, gänzlich abzutrennen. Dadurch erhielten wir farblose seidige Nadeln vom Schmp. 259 bis 261°. Dieses Produkt läßt sich sehr langsam unzersetzt sublimieren (0,005 Torr, 200 bis 220° Luftbadtemp.). $[\alpha]_D = +47,27$ in Methanol (Mittelwert aus 6 Bestimmungen).



⁸ *L. Ruzicka, H. Huyser, M. Pfeiffer* und *C. F. Seidel*, Liebigs Ann. Chem. 471, 22 (1929).

Äquivalentgewicht.

18,3 mg Einwaage wurden in 15 ccm Gemisch Alkohol-Wasser (5 : 1) gelöst und gegen Phenolphthalein mit 1,61 ccm n/40-Lauge titriert. Daraus errechnet sich das Äquivalentgewicht zu 455 (Mittel aus 5 Bestimmungen).

Methylester.

Durch Übergießen der Trametenolsäure mit ätherischer Diazomethanlösung. Reinigung durch Umlösen aus Alkohol. Schmp. 127 bis 128°. $[\alpha]_D = + 58,79$ in Chloroform.

$C_{31}H_{50}O_3$. Ber. OCH_3 6,59. Gef. OCH_3 6,56.

Die Verseifung durch 10stündiges Kochen mit 5% wäβr. KOH ergab Trametenolsäure (Schmp., Mischprobe).

Acetyltrametenolsäure.

Durch Versetzen der Trametenolsäure mit Essigsäureanhydrid und Pyridin (2 : 1). Nach 24 Stdn. wurde aufgearbeitet und aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 209 bis 211°.

$C_{32}H_{50}O_4$. Ber. O-Acetyl 8,63. Gef. O-Acetyl 8,54.

Durch Verseifen erhielten wir die Trametenolsäure zurück (Mischprobe).

Acetyltrametenolsäuremethylester.

Der Methylester wurde, wie oben für die Trametenolsäure angegeben, acetyliert. Reinigung durch öfteres Umkristallisieren aus Alkohol. Schmp. 104 bis 106°.

$C_{33}H_{52}O_4$. Ber. C 77,28, H 10,23. Gef. C 77,34, H 10,41.

Auch hier lieferte die Verseifung wieder unveränderte Trametenolsäure.

Trametenonsäuremethylester.

Trametenonsäuremethylester, gelöst in über Chromsäure stabilisiertem Eisessig, wurde mit frisch dargestellter Chromsäure, in Eisessig gelöst (1,1 Mol), oxydiert. Nach längerem Stehen wurde die tiefgrüne Lösung ausgeäthert und zur Trockne gebracht. Der Rückstand in tiefsiedendem Benzin gelöst und über Aluminiumoxyd (*Brockmann*) filtriert. Dadurch erhielten wir eine Substanz vom Schmp. 105 bis 107°, die durch Verseifen mit 10% wäβr. KOH die Trametenonsäure vom Schmp. 204 bis 206° lieferte. Zur Charakterisierung stellten wir aus Trametenonsäuremethylester mit Hydroxylaminhydrochlorid und Natriumacetat in absol. Methanol das Oxim dar. Reinigung durch öfteres Umlösen aus Methanol bis zum konstanten Schmp. 178 bis 179°.

$C_{31}H_{49}O_3N$. Ber. C 76,96, H 10,22. Gef. C 76,82, H 10,15.

Wasserabspaltung. 800 mg Trametenonsäuremethylester wurden allmählich zu einer Suspension von 600 mg Phosphorpentachlorid in 50 ccm absol. Petroläther zugesetzt und 12 Stdn. geschüttelt; sodann haben wir mit Äther verdünnt und mit verd. KOH und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen wurde an Aluminiumoxyd (*Brockmann*) adsorbiert. Durch Elution mit Petroläther erhielten wir in den ersten Fraktionen 320 mg (41,6% d. Th.)

Rohsubstanz, die durch Umlösen aus Methanol bis zum konstanten Schmp. 122 bis 124° gereinigt wurde. $[\alpha]_D = +62,07$ in Chloroform.

$C_{31}H_{48}O_2$. Ber. C 82,23, H 10,69. Gef. C 82,30, H 10,66.

Katalytische Hydrierung. 393 mg Trametenolsäure in 70 ccm Alkohol nahmen innerhalb von 2 Stdn. 34,6 ccm Wasserstoff auf (20°, 760 mm), was einer Menge von 1,7 Mol entspricht. Damit war die Hydrierung zum Stillstand gekommen. Mit PtO_2 erhielten wir ungefähr denselben Verlauf. Nach Filtration vom Katalysator wurde der Alkohol im Vak. verdampft und der Rückstand chromatographiert. Nach Elution mit Benzol-Äther (1 : 1) erhielten wir in den ersten Fraktionen die Hauptmenge des hydrierten Produktes. Reinigung durch Umlösen aus Methanol. Schmp. 277 bis 281°.

Die Mikroelementaranalysen wurden von Herrn Dr. G. Kainz im Mikrolaboratorium des II. Chemischen Universitätslaboratoriums ausgeführt.