

FLECHTENINHALTSSTOFFE—XCIII¹ STRUKTUR DER (–)-PLACODIOLSÄURE

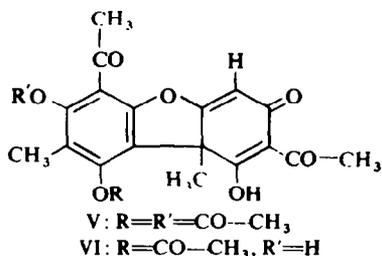
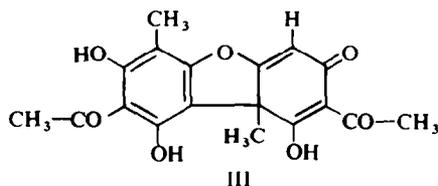
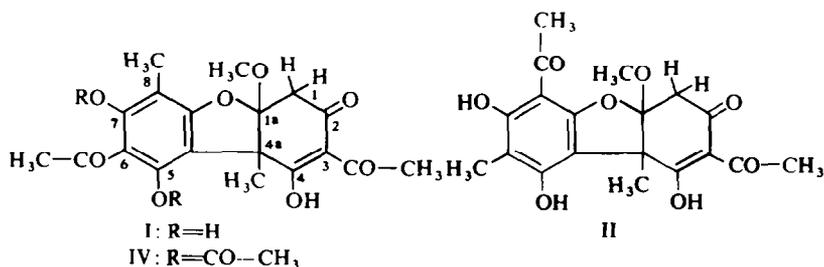
S. HUNECK

Institut für Biochemie der Pflanzen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin, DDR-401 Halle/Saale, Weinberg

(Received in Germany 6 March 1972; Received in UK for publication 10 April 1972)

Abstract—The structure of (–)-placodiolic acid, a new dibenzofurane derivative of the lichen *Lecanora rubina* (Vill.) Ach. has been established as (–)-isousnic acid isomethoxide (I).

ZOPF² fand bei seinen klassischen Arbeiten über Flechtenstoffe in der nitrophilen Krustenflechte *Lecanora rubina* (Vill.) Ach. (*Lecanoraceae*, subgen. *Placodium* (Pers.) Jatta), die in alpinen Regionen auf Vogelblöcken wächst, neben (–)-Usninsäure eine Verbindung vom Schmp. 156–157° und $[\alpha]_D^{17} - 238^\circ$ (CHCl₃), die er Placodiolsäure (I) nannte, und für die er aus Verbrennung und Molekulargewichtsbestimmung die Summenformel C₁₇H₁₈O₇ berechnete; er nahm ferner an, dass I mit Usninsäure verwandt ist. Bei meinen Untersuchungen über Flechteninhaltsstoffe habe ich mich erneut mit dieser Verbindung beschäftigt und deren Struktur aufgeklärt.



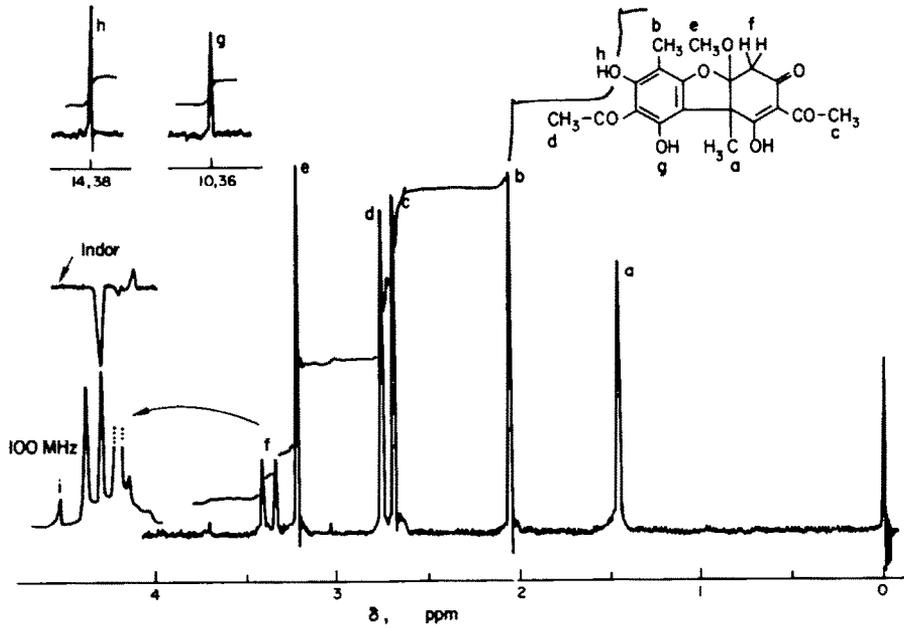


ABB 1. 60 MHz NMR-Spektrum von (-)-Placodiolsäure (I) und 100 MHz INDOR-Spektrum der 1-CH₂-Gruppe (in CDCl₃ mit TMS als innerem Standard; alle Werte in ppm der δ-Skala).

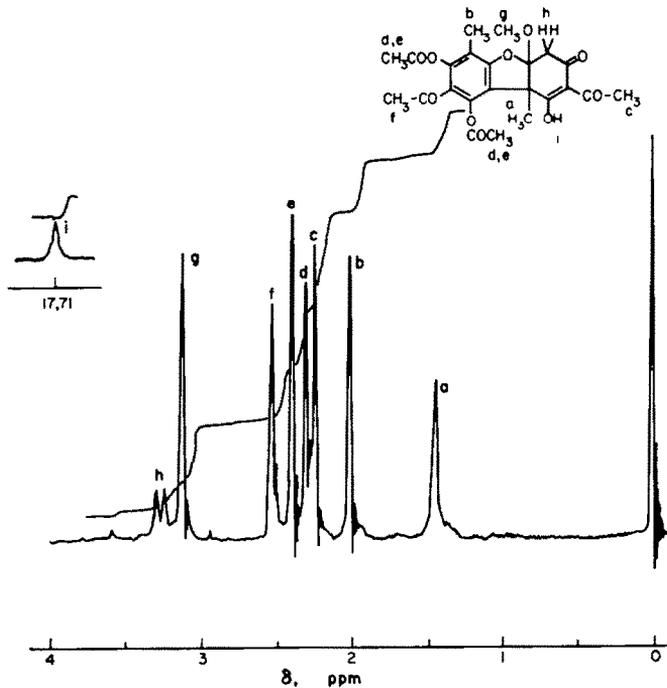


ABB 2. 60 MHz NMR-Spektrum von (-)-Diacetylplacodiolsäure (IV) (in CDCl₃ mit TMS als innerem Standard; alle Werte in ppm der δ-Skala).

TABELLE 1. LAGE DER 60 MHz NMR-SIGNALE (IN CDCl_3 MIT TMS ALS INNEREM STANDARD; ALLE WERTE IN PPM DER δ -SKALA) VON (–)-PLACODIOLSÄURE (I), (–)-USNINSÄURE-ISO-METHOXID (II) UND (–)-DIACETYLPACODIOLSÄURE (IV)

Zuordnung der Signale	Substanz		
	I	II	IV
4a- CH_3	1.46 s	1.63 s	1.44 s
8- CH_3	2.05 s	–	2.00 s
6- CH_3	–	2.03 s	–
3-CO- CH_3	2.69 s	2.55 s	2.23 s
6-CO- CH_3	2.76 s	–	2.52 s
8-CO- CH_3	–	2.59 s	–
1a- OCH_3	3.23 s	3.54 s	3.11 s
1- CH_2	3.37 q $J = 18 \text{ Hz}$	3.24 q $J = 12.5 \text{ Hz}$	3.27 q $J = 18 \text{ Hz}$
5-OH	10.36 s	9.85 s	–
7-OH	14.38 s	13.30 s	–
5-OCO- CH_3	–	–	2.30 s
7-OCO- CH_3	–	–	2.38 s
4-OH	–	18.00 s	17.71 s

In Übereinstimmung mit Zopf² fand ich für I, die nach den Angaben Zopf's aus *Lecanora rubina* (Vill.) Ach. isolierte wurde, den Schmp. 157–158° und den Drehwert $[\alpha]_D^{21} - 231^\circ$ (CHCl_3). Das UV-Spektrum von I mit λ_{max} 230 ($\log \epsilon$ 4.30), 282 ($\log \epsilon$ 4.45) und 337 nm ($\log \epsilon$ 3.47) lässt auf ein Dibenzofuranderivat vom Usninsäure- bzw. Isousninsäuretyp schließen, während das hochaufgelöste Massenspektrum die Summenformel $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (376) liefert, was formal einer Anlagerung von CH_3OH an Usninsäure bzw. Isousninsäure entspricht. Eine derartige Anlagerung sollte zu Usninsäure-isomethoxid (II) bzw. Isousninsäure-isomethoxid führen, wovon II nach Takahashi^{3,4} aus (+)-Diacetylusninsäure durch Umsetzung mit Methanol in Gegenwart von HCl und nachfolgende Hydrolyse mit Schwefelsäure zugänglich ist, bei 92° (Z.) schmilzt, den Drehwert $[\alpha]_D^{25} - 44.2^\circ$ (CHCl_3) hat und offenbar mit (–)-Placodiolsäure nicht identisch ist. Wird I mit methanolischer HCl bei Raumtemperatur behandelt, so lassen sich aus dem Reaktionsgemisch gelbe Prismen vom Schmp. 151–152° und $[\alpha]_D^{22} - 516^\circ$ (CHCl_3) isolieren, die im Mischschmp., DC and IR Spektrum mit (–)-Isousninsäure (III) identisch sind; damit ist die Identität von (–)-Placodiolsäure mit (–)-Isousninsäureisomethoxid (I) bewiesen.

Die NMR Spektren von I, II und (–)-Diacetylplacodiolsäure (IV), die aus I durch Umsetzung mit Acetanhydrid-Schwefelsäure zugänglich ist, bestätigen die getroffene Zuordnung: Abb. 1 und 2 sowie Tab. 1.

Dass es sich bei den 4 Signalen um $\delta = 3.37$ ppm bei I tatsächlich um das AB-Quartett der 1- CH_2 -Gruppe handelt, wird durch ein 100 MHz INDOR-Experiment bewiesen: durch Einstrahlung bei δ (Abb. 1) werden vom Quartett nur die beiden nach höherem Feld zu gelegenen Signale beobachtet.

IV gibt mit methanolischer HCl ebenfalls III.

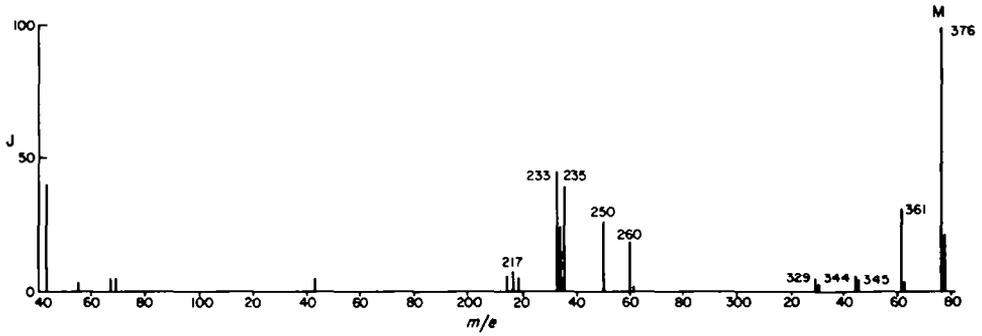
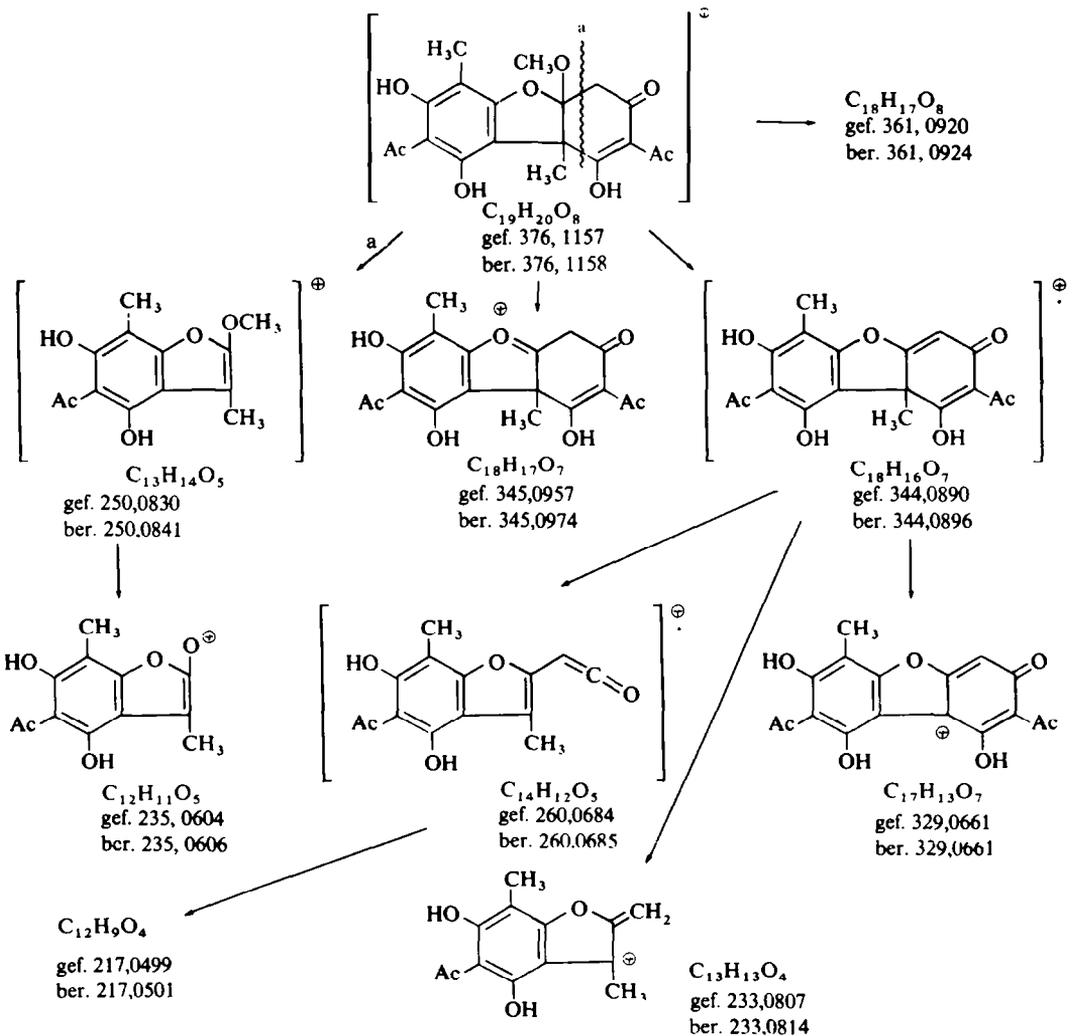


ABB 3. Elektronenstoßmassenspektrum von Placodiolsäure (I).



Schema 1. Fragmentierung von Placodiolsäure (I) bei Elektronenstoß.

Das Elektronenstossmassenspektrum von I (Abb 3) ist wie das der Usninsäure⁵ relativ linienarm; der Molmassenpeak bei m/e 376 ist zugleich Hauptpeak. Schema 1 zeigt die wichtigsten Fragmentierungsschritte, wobei die Zusammensetzung der Fragmentionen durch hochaufgelöste Messungen kontrolliert wurde.

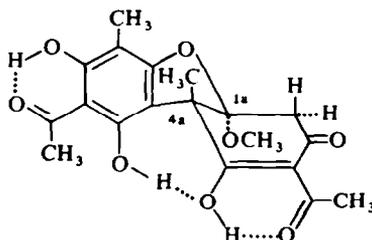


ABB 4. Stereochemie der Placodiolsäure (I).

Placodiolsäure hat wahrscheinlich die in Abb 4 dargestellte Stereochemie mit trans-ständiger angularer $-\text{CH}_3-$ und $-\text{OCH}_3-$ Gruppe. Modellbetrachtungen zeigen, dass die 1a-4a-cis-Konfiguration sterisch ungünstiger ist.

Placodiolsäure stellt sozusagen ein "missing link" in der Biosynthese der Isousninsäure dar, wobei die Zwischenstufe des Isousninsäurehydrates durch Methylierung der 1a-OH-Gruppe der Umwandlung in III entzogen wird.

Beim Versuch, I aus (-)-Diacetylousninsäure durch Umsetzung mit methanolischer HCl zu erhalten, wurde lediglich (-)-Isousninsäure zurückerhalten, während Reaktion von I mit Bortribromid in Methylenechlorid in geringer Ausbeute zu einem gelben Produkt vom Schmp. 251–252° führt, das aus Substanzmangel bisher nicht näher untersucht werden konnte.

Wird (+)-Diacetylusninsäure (V) bei Raumtemperatur mit der entsprechenden Menge 10-proz. methanolischer HCl geschüttelt, so geht V nach etwa 5 Min. in Lösung und gleichzeitig scheiden sich gelbe flache Nadeln ab, die bei 156–157° schmelzen, den Drehwert $[\alpha]_D^{24} + 288^\circ$ (CHCl_3) haben, laut Elektronenanlagerungsmassenspektrum (Molmassenpeak bei m/e 386) die Zusammensetzung $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_8$ haben und bis auf den Schmp., für den in der Literatur 180–181° angegeben wird,⁶ im IR-, UV- und NMR-Spektrum mit (+)-5-O-Acetylusninsäure (VI) identisch sind.

EXPERIMENTELLES

Aufarbeitung von *Lecanora rubina*

Getrocknete und gemahlene *L. rubina* (198.0 g: von Silikatsteinblöcken in etwa 2400 m ü.M. in den französischen Alpen, NNW von Briacon, Col de Granon; gesammelt und bestimmt von Ch. Leuckert und A. Mathey) werden je 10 Stdn. mit 200 ml Äther und dann mit 200 ml Aceton extrahiert. Der Ätherextrakt wird dreimal 10 Min. lang mit je 20 ml 10-proz. wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung und dann 1 Min. mit 50 ml 5-proz. Natronlauge ausgeschüttelt; die wässrigen Phasen werden mit 10-proz. Schwefelsäure angesäuert, ausgeäthert, die ätherischen Lösungen mit Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand vom Hydrogencarbonatauszug enthält die gesamte Placodiolsäure neben wenig Usninsäure und liefert nach dreimaliger Kristallisation aus Methanol 0.338 g (0.17%) (-)-Placodiolsäure, im Mischschmp. und IR Spektrum mit authentischem Material von Zopf identisch. Der Rückstand des Natronlaugeauszuges gibt nach zweimaliger Kristallisation aus Methylenechlorid-Methanol 0.81 g (0.41%) (-)-Usninsäure vom Schmp. 201–202° und $[\alpha]_D^{22} - 496^\circ$ (c 0.10, CHCl_3). Der Neutralanteil des Ätherextraktes liefert beim langsamen Eindunsten aus Essigester 2 mg farblose Plättchen

vom Schmp. 152–154°, vermutlich ein *Phytosterin*. Das im Acetonextrakt der Flechte ausgeschiedene Material wird abgesaugt, mit Aceton farblos gewaschen und gibt nach zweimaliger Kristallisation aus Äthanol 0·2 g (0·1 %) *D-Mannit* in Nadeln vom Schmp. 159–161°.

(–)-*Placodiolsäure* (I). Placodiolsäure kristallisiert aus Methanol in schwach gelblichen Tafeln vom Schmp. 156–158° und $[\alpha]_D^{21} = 231^\circ$ (c 0·785, CHCl_3). $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (376). Ber: C, 60·10; H, 5·36; Gef: C, 60·08; H, 5·35; NMR (100 MHz, in CDCl_3 mit TMS als innerem Standard: alle Werte in ppm der δ -Skala): 1·44 (s, 4a- CH_3), 2·00 (s, 8- CH_3), 2·64 (s, 3-CO- CH_3), 2·72 (s, 6-CO- CH_3), 3·17 (s, 1a-O CH_3) und 3·30 (AB-q, $J = 18$ Hz, 1- CH_2): IR, $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 466, 535, 555, 570, 605, 635, 674, 684, 752, 765, 775, 825, 892, 934, 955, 980, 996, 1008, 1075, 1094, 1134, 1150, 1195, 1275, 1360, 1378, 1414, 1535, 1630 (CO), 2925, 2975, 3150 und 3425/cm (OH); UV, $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (log ϵ): 230 (4·30), 282 (4·45) und 337 nm (3·47); CD, $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}}$ ($\Delta\epsilon$): 377 (–0·03), 332 (+0·63), 297 (–3·55), 277 (+2·40) und 232 (–7·20). ORD (in Dioxan): $[\alpha]_{400} = 680$, $[\alpha]_{310} = 2600$, $[\alpha]_{280} + 1600$, $[\alpha]_{250} - 7000$ und $[\alpha]_{230} - 2000^\circ$. $R_F = 0·17$ (DC, Kieselgel PF 254 + 366, Merck, mit 0·5 m Oxalsäure imprägniert, Benzol, Detektion im UV). I färbt sich mit Eisentrichlorid in Äthanol rotbraun und mit Natronlauge gelb; auf Zusatz steigender Mengen Natriumhypochlorit wird die Färbung intensiver, dann orange und schliesslich schwach gelb.

(–)-*Diacetylplacodiolsäure* (II). 0·25 g I werden feinpulverisiert und mit 2 ml eines Gemisches aus 25 ml Acetanhydrid und 1 Tropfen konz. Schwefelsäure über Nacht bei Raumtemperatur aufbewahrt; dann wird mit Wasser verdünnt, wobei sich ein Harz ausscheidet, das nach eintägigem Aufbewahren fest wird. Das Reaktionsprodukt wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen, bei Raumtemperatur getrocknet und zweimal aus Methanol umkristallisiert; 0·1 g farblose Prismen vom Schmp. 184–185° und $[\alpha]_D^{24} = 229^\circ$ (c 0·524, CHCl_3). $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ (460). Ber: C, 59·99; H, 5·25; Gef: C, 59·98; H, 5·25; IR, $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 700, 723, 743, 760, 821, 842, 862, 895, 922, 970, 1000, 1018, 1062, 1080, 1123, 1190, 1270, 1330, 1370, 1435, 1540, 1610, 1680 (CO), 1750 (OAc), 2920 und 3420/cm (OH); UV, $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (log ϵ): 224 (4·36) und 278 nm (4·26). ORD (in Methanol): $[\alpha]_{400} = 760$, $[\alpha]_{326} = 1900$, $[\alpha]_{304} = 800$, $[\alpha]_{278} = 2860$, $[\alpha]_{260} + 7600$ und $[\alpha]_{200} + 19040^\circ$.

Umwandlung von (–)-*Placodiolsäure* (I) in (–)-*Isousninsäure* (III). Eine Lösung von 90 mg I in 10 ml 10-proz. methanolischer HCl wird 3 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt und dann mit Wasser verdünnt; der ausgefallene Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen, bei Raumtemperatur getrocknet und dreimal aus Methanol umkristallisiert; 9 mg gelbe Nadeln vom Schmp. 151–152° und $[\alpha]_D^{22} = 516^\circ$ (c, 0·252, CHCl_3), in Mischschmp., DC und IR Spektrum [$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 705, 780, 840, 850, 900, 935, 960, 970, 1015, 1030, 1084, 1102, 1150, 1170, 1265, 1340, 1360, 1390, 1422, 1455, 1540, 1620 (CO), 1675 (CO), 2950 und 3450/cm (OH)] mit (–)-*Isousninsäure* (III) identisch. ORD (in Methanol): $[\alpha]_{400} = 6000$, $[\alpha]_{345} = 1000$, $[\alpha]_{278} + 29000$ und $[\alpha]_{246} = 27500^\circ$.

Bei analoger Behandlung von 80 mg IV mit 3 ml 10-proz. methanolischer HCl werden 7 mg III vom Schmp. 151–152° erhalten.

Umsetzung von *Placodiolsäure* (I) mit *Bortribromid*. 0·2 g I in frisch destilliertem Methylenchlorid werden bei 0° mit 2 ml BBr_3 versetzt und 6 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt; dann wird der Ansatz i.Vak. eingedampft, der Rückstand mit Wasser verdünnt und ausgeäthert. Die ätherische Lösung wird mit Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft; der Rückstand liefert nach zweimaliger Kristallisation aus Methylenchlorid-Methanol 15 mg gelbe Nadeln vom Schmp. 251–252°, die mit Eisentrichlorid in Äthanol eine grüne Färbung zeigen. IR, $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 665, 770, 840, 880, 1000, 1025, 1100, 1140, 1160, 1260, 1355, 1390, 1430, 1620, 2940 und 3300/cm.

(–)-*Usninsäure-isomethoxid* (II). Aus (–)-*Monoacetylusninsäure-isomethoxid* nach der Vorschrift von Takahashi:³ aus Methanol schwach gelbliche Nadeln vom Schmp. 92–93°; IR, $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 770, 783, 823, 850, 870, 883, 940, 970, 1000, 1030, 1095, 1120, 1200, 1290, 1315, 1360, 1450, 1620, 2950 und 3450/cm. ORD (in Dioxan): $[\alpha]_{350} = 1060$, $[\alpha]_{310} + 600$, $[\alpha]_{280} + 22000$, $[\alpha]_{250} = 3000$ und $[\alpha]_{230} = 8000^\circ$.

(–)-*Diacetylusninsäure-isomethoxid*. Aus II und Acetanhydrid-Schwefelsäure in 12 Stdn. bei Raumtemperatur: nach Kristallisation aus Methanol gelbliche Nadeln vom Schmp. 162–163°; ORD (in Methanol): $[\alpha]_{400} = 86$, $[\alpha]_{336} = 1200$, $[\alpha]_{300} + 2580$, $[\alpha]_{286} + 1720$, $[\alpha]_{270} + 8600$, $[\alpha]_{222} = 9000$ und $[\alpha]_{200} + 13600^\circ$.

Umsetzung von (–)-*Diacetylusninsäure* mit methanolischer Salzsäure. 0·35 g (–)-*Diacetylusninsäure* vom Doppelschmp. 127–128° und 181–183° werden mit 20 ml 10-proz. methanolischer HCl 2 Stdn. auf dem Wasserbad unter Rückfluss erhitzt; dann wird der Ansatz i.Vak. eingedampft, mit Wasser versetzt, der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen, bei Raumtemperatur getrocknet und dreimal aus Methanol umkristallisiert; 24 mg (–)-*Isousninsäure* in gelben Nadeln vom Schmp. 149–150° und $[\alpha]_D^{25} = 523^\circ$ (c 0·250, CHCl_3).

Umsetzung von (+)-Diacetylsninsäure (V) mit methanolischer Salzsäure. 2.0 g feinpulverisierte V vom Schmp. 198° werden etwa 5 Min. lang mit 50 ml 10-proz. methanolischer HCl geschüttelt, wobei alles in Lösung geht: kurz darauf scheiden sich Kristalle aus, die abgesaugt und aus Methanol umkristallisiert werden: 1.2 g (+)-5-O-Acetylsninsäure (VI) in schwefelgelben flachen Nadeln vom Schmp. 156-157° und $[\alpha]_D^{25} + 288^\circ$ (c 1.076, CHCl₃). Acetylierung mit Acetanhydrid-Schwefelsäure gibt (+)-Diacetylsninsäure zurück.

Danksagung—Herrn Prof. Dr. Ch. Leuckert, Berlin, danke ich für die Aufsammlung von *Lecanora rubina*, den Herren Prof. Dr. G. Snatzke, Bonn, und Dr. R. W. A. Oliver, Salford, für die Aufnahme von Massenspektren, Herrn Prof. Dr. D. H. R. Barton, London, für die Aufnahme des 100 MHz NMR-Spektrums und die Durchführung des INDOR-Experimentes, Herrn Prof. Dr. G. Follmann, Kassel, für die Überlassung einer authentischen Probe von (-)-Placodiolsäure aus der Zopf'schen Sammlung Herrn Dr. habil. H. Ripperger, Halle, für die Aufnahme von ORD-Kurven und Herrn Dr. K. Takahashi, Kanazawa, für authentisches Material von (-)-Usninsäure-isomethoxid.

LITERATUR

- ¹ Teil XCII: S. Huneck u. K. Schreiber, *Phytochem.* im Druck
- ² W. Zopf, *Die Flechtenstoffe in chemischer, botanischer, pharmakologischer und technischer Beziehung* S. 119. Fischer Verlag, Jena (1907)
- ³ K. Takahashi, *Pharm. Bull. Japan* **1**, 36 (1953); *Chem. Abst.* **48**, 12072d (1954)
- ⁴ K. Takahashi, Y. Honda u. S. Miyashita, *Chem. Pharm. Bull. Japan* **11**, 1229 (1963)
- ⁵ S. Huneck, C. Djerassi, D. Becher, M. Barber, M. v. Ardenne, K. Steinfeld u. R. Tümmeler, *Tetrahedron* **24**, 2707 (1968)
- ⁶ Y. Asahina u. M. Yanagita, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **71**, 2260 (1938)