

HERBERT SCHINDLER

# Über den Nachweis der Diffractasäure in der Flechte *Usnea ceratina* ACH. aus dem Schwarzwald

## Kurzfassung

In der Flechte *Usnea ceratina* ACH. (zumeist aus dem Schwarzwald, Deutschland) wurde Diffractasäure durch Dünnschicht-Chromatographie nachgewiesen; Mikrokristall-Teste (ASAHINA) wurden zur Bestätigung der Ergebnisse der DC-Methode verwendet. Reine Diffractasäure als Vergleichssubstanz wurde aus der Flechte *Alectoria ochroleuca* (HOFFM.) MASSAL. isoliert. In allen untersuchten Belegen ist Diffractasäure vorhanden.

## Abstract

In the lichen *Usnea ceratina* ACH. (mostly from the Black Forest, Germany) diffractaic acid were identified by thin-layer chromatographic method; microcrystal tests (ASAHINA) were used to confirm the results of TLC. Pure diffractaic acid for comparison were extracted from the lichen *Alectoria ochroleuca* (HOFFM.) MASSAL. In all proved specimens diffractaic acid is present.

## Autor

Dr. HERBERT SCHINDLER, Landessammlungen für Naturkunde, Postfach 40 45, Erbprinzenstraße 13, D-7500 Karlsruhe 1

## 1. Einleitung

In *Usnea*-Arten wurden bisher nach den Angaben von CULBERSON (1970, 1977) zahlreiche Flechtensäuren gefunden. Alle enthalten immer Usninsäure, die die gelbe bis gelbgrüne Farbe des Thallus bedingt, die auch manchmal mehr blaugrün erscheinen kann und bei einigen Arten durch die Anwesenheit roter Pigmente überdeckt wird, wie z. B. bei *Usnea rubiginea* (MICHX.) MASSAL. u. a. Das Spektrum der anderen Flechtensäuren ist sehr vielseitig und mancher Flechtensstoff ist für die eine oder andere Art recht charakteristisch. So enthält die *Usnea ceratina* (Abb. 1) als bemerkenswertes Stoffwechselprodukt die Diffractasäure, ein p-Depsid der  $\beta$ -Orcinolreihe; sie wurde zuerst von ASAHINA & FUZIKAWA (2) aus der japanischen *Usnea diffracta* VAIN. isoliert.

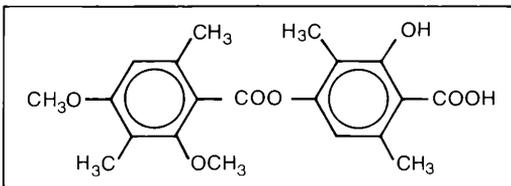


Abbildung 1. Diffractasäure.

Diffractasäure wurde übrigens früher öfter mit Barbatinsäure verwechselt, so z. B. von ZOPF; auch STENHOUSE & GROVES bezeichnen sie in *Usnea ceratina* gefundene Säure als Barbatinsäure, ebenso SCHULTE. Unsere Flechte (in Europa ein mitteleuropäisch-subatlantisch-mediteran-montanes Element) gehört im Schwarzwald

zu den seltenen Arten der Gattung (WIRTH 1980). Im Nordschwarzwald wurde sie bei Herrenwies, bei Bad Liebenzell (ssp. *incurvicens*) und in Freudenstadt gefunden. Zur Prüfung auf Diffractasäure wurden folgende Belege untersucht:

1. Schwarzwald. Bad Liebenzell: an *Abies alba* zwischen Schömberg und Zainen, 680 m, leg. H. SCHINDLER 1953
2. Schwarzwald. Bad Liebenzell, leg. A. HEESCHEN 1931, det. MOTYKA
3. Schwarzwald. Freudenstadt: an *Fagus silv.* im Kurpark, 730 m, leg. H. SCHINDLER 1980
4. Schwarzwald. Herrenwies, am Ölbach, leg. AHLES 1873, det. MOTYKA
5. Schwarzwald. Freiburg/Br.: an *Abies alba* bei Todtmoos-Schwarzenbach, 950 m, leg. H. SCHINDLER 1965
6. Württemberg. Oberschwaben: Mengen bei Saulgau, an *Abies*, leg. MILLER 1873, det. MOTYKA (ex herb. PUTZLER, jetzt in KR)
7. Hessen. Frankfurt: Isenburger Wald, leg. A. METZLER 1859 (als *Usnea barbata* var. *plicata*).

Alle Belege befinden sich im Herbar der Landessammlungen für Naturkunde in Karlsruhe (KR), Nr. 2 im Herbar DEGELIUS (Göteborg) und Nr. 7 im Herbar Frankfurt (FR)<sup>1)</sup>.

Die Untersuchung der Flechte auf Diffractasäure wurde mittels einiger Mikroteste nach den Angaben von ASAHINA sowie auf dünn-schichtchromatographischem Wege (CULBERSON 1979) erbracht. Die zur Chromatographie als Vergleichssubstanzen benötigten Säuren wurden aus der Flechte *Alectoria ochroleuca* isoliert. ASAHINA & HASHIMOTO hatten nachgewiesen, daß diese *Alectoria*-Art neben Usninsäure noch Diffractasäure enthält, dagegen fanden sie keine Barbatinsäure, wie ZOPF früher angenommen hatte. ASAHINA & FUZIKAWA erkannten Diffractasäure als Monomethyläther der Barbatinsäure, wodurch frühere Verwechslungen mit Barbatinsäure verständlich werden. Dieselben Autoren haben auch festgestellt, daß Diffractasäure mit der Dirhizoninsäure von HESSE identisch ist.

Obwohl die Flechte an dem schwach rosa gefärbten Mark („medulla crassa, roseola alba“ nach MOTYKA) zu erkennen ist, sollte der morphologische Befund (det. H. BIBINGER) durch den Nachweis der Diffractasäure erbracht werden, zumal von den einheimischen *Usnea*-

<sup>1)</sup> Ich danke Herrn Prof. G. DEGELIUS (Göteborg) und Herrn Dr. CONERT (Herb. Forschungsinstitut Senckenberg Frankfurt) für die liebenswürdige leihweise Überlassung der Belege.

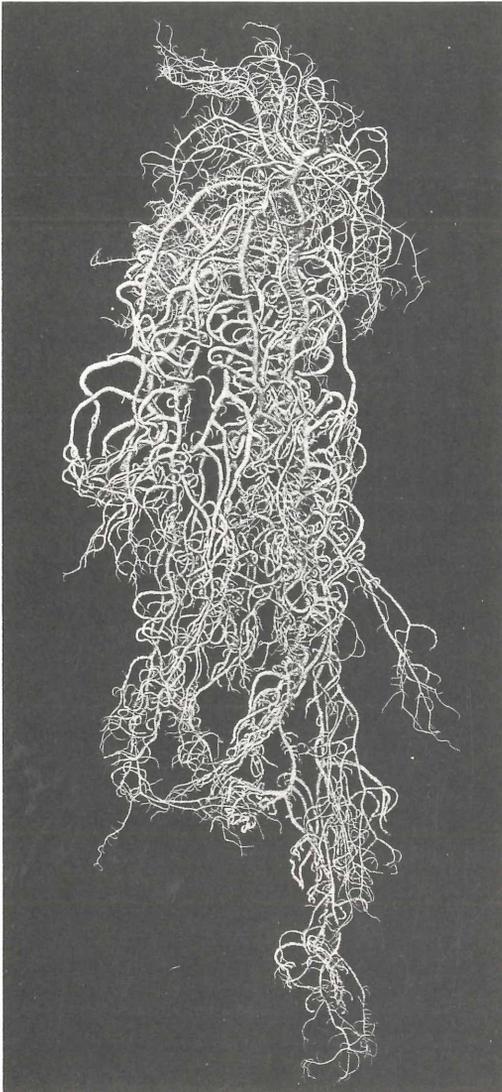


Abbildung 2. *Usnea ceratina* ACH. aus dem Schwarzwald.

Arten bisher nur *Usnea ceratina* als diffractasäurehaltig angegeben wird.

## 2. Isolierung der Diffractasäure, $C_{20}H_{22}O_7$ und der Usninsäure, $C_{10}H_{16}O_7$ aus *Alectoria ochroleuca* (HOFFM.) MASSAL.<sup>2)</sup>

2,85 g getrocknete ( $H_2O$  2,3%) und zerkleinerte Flechte wurden mit Äther bei Zimmertemperatur unter ständi-

<sup>2)</sup> Gesammelt in Österreich. Tirol, Stubai Alpen, Steinach: auf dem Schröffelkogel auf Erde (an Windkanten), 2150 m, leg. M. STEINER & H. SCHINDLER 1977.

gem Rühren zwei Tage lang extrahiert und vom Rückstand abfiltriert. Beim Einengen des Filtrates fällt Usninsäure in Form gelber Kristalle aus, F 203–204 °C (Ausbeute 3,83%). Nach deren Abtrennung wurde der Ätherextrakt auf ein kleines Volumen eingeeengt, mehrmals mit gesättigter Natriumcarbonat-Lösung ausgeschüttelt, mit Wasser gegengeschüttelt und dann mit Natriumsulfat getrocknet. Am Rotationsverdampfer wurde der Ätherextrakt zur Trockne gebracht und in heißem Benzol aufgenommen. Beim Abkühlen der Lösung bei Zimmertemperatur kristallisiert die Diffractasäure innerhalb kurzer Zeit aus, F 190 °C (Ausbeute 0,53%, also auffallend wenig). Mit verd. Eisen(III)-chlorid-Lösung ergibt Diffractasäure eine blauviolette Färbung.

Eine zweite Isolierung der Flechtensäuren mit einem anderen Muster vom gleichen Fundort ergab etwas höhere Säurewerte. Diesmal wurden 4,7% Usninsäure und 0,84% Diffractasäure gefunden.

Die beiden isolierten Säuren dienten für die dünn-schichtchromatographische Untersuchung von *Usnea ceratina*. Mit der reinen Diffractasäure wurden zuvor einige Mikroreaktionen durchgeführt.

## 3. Mikroteste nach ASAHINA

a) Beim Umkristallisieren aus heißem Glycerin-Eisessig-Gemisch 3:1 (sog. GE-Lösung) entstehen hakenförmig gekrümmte, verschiedenartig verzweigte, oft schneekristallartige Gebilde (Abb. 3).

b) Bei Behandlung mit heißer Natriumcarbonat-Lösung (10%) bilden sich sichelförmig gebogene Kristallaggregate (Abb. 4).

c) Sehr charakteristisch ist das Umkristallisieren mit einem heißen Gemisch von Glycerin-Wasser-Pyridin 1:3:1 (GWPY-Lösung). Es entstehen nach etwa 10 Minuten prismenförmige Kristalle, deren breitere Seitenflächen einen stumpfen Winkel aufweisen (110°) und die sich auch manchmal zu Kristallsternen vereinigen (Abb. 5).

Die bei a–c gewonnenen Kristallbilder entsprechen auch genau den von ASAHINA angegebenen Abbildungen.

## 4. DC-Nachweis der Diffractasäure in *Usnea ceratina* ACH.

Zur Untersuchung gelangten Acetonextrakte der Thalusstücke, die strichförmig auf Kieselgelplatten Merck F 254 aufgetragen wurden. Die Platten waren vorher 24 Stunden lang in einem mit  $CaCl_2$  und NaOH-Rotuli beschickten Exsikkator vorbehandelt, aber nicht aktiviert. Als Fließmittel erwies sich das Gemisch aus Toluol-Dioxan-Eisessig 90:25:4 (CULBERSON 1979) am zweckmäßigsten. Die Laufhöhe betrug 10 cm. Als Vergleichslösungen dienten die aus *Alectoria ochroleuca* gewonnenen Usnin- und Diffractasäuren. Die Chromatographie wurde bei Kammerfüllung durchgeführt.

Beim Betrachten im UV-Licht bei 365 nm zeigt die Dif-



Abbildung 3. Diffractasäure-Kristalle aus GE-Lösung.

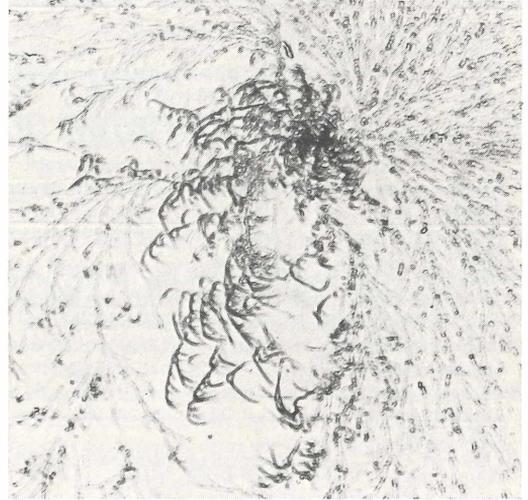


Abbildung 4. Kristalle von diffractasäurem Natrium.

fractasäure eine blauviolette, Usninsäure keine Fluoreszenz; bei 254 nm zeigen beide Säuren Fluoreszenzminderung.

Die Detektion des Chromatogramms erfolgte mit äthanolischer Schwefelsäure (10%) und anschließendem Erhitzen auf 110 °C (10 Min.). Unter diesen Bedingungen erscheint die Usninsäure als gelber Fleck bei  $R_f$  0,56 und die Diffractasäure als gelber Fleck (mit grauem Rand, wie von CULBERSON 1979 angegeben) bei  $R_f$  0,37. Bei allen untersuchten Belegen konnte auf diese Weise Usnin- und Diffractasäure einwandfrei nachgewiesen werden.

Es sei noch bemerkt, daß die Flechte – wie wohl alle *Usnea*-Arten – noch Calciumoxalat enthält (Nachweis mit Schwefelsäure), wie schon früher SCHULTE berichtet hat, auch SCHADE hat sich bekanntlich viel mit dem Vorkommen von Calcium in den Usneen beschäftigt.

Verfolgt man die Literatur, so hat es den Anschein, als ob von *Usnea ceratina* verschiedene Chemovarietäten vorkommen. BRINER et al. z. B. fanden in australischem Material<sup>3)</sup> keine Diffractasäure, dafür neben Usninsäure noch Norstictinsäure und Salazinsäure. Frühere Untersucher geben Barbatinsäure und sogar Psoromsäure an (BRIEGER). Vielleicht ist Diffractasäure ein Bestandteil der Flechte im europäisch-nordamerikanischen Raum; so fand DUVIGNEAUD in westeuropäischem Material Diffractasäure, ebenso HAWKSWORTH in englischen Flechten, daneben aber noch Barbatinsäure! Auch in Nordamerika wurde Diffractasäure in *Usnea ceratina* festgestellt (TAYLOR). Ein Nebeneinander von Diffractasäure und Barbatinsäure hat übrigens ASAHINA (1958) – 22 Jahre nach seiner ersten Untersuchung – auch gefunden. Hier soll Barbatinsäure in wechselnden Mengen die Diffractasäure begleiten, bei unserer *Usnea ceratina* könnten ähnliche Verhältnisse vorliegen, worauf noch zu prüfen wäre. Auf jeden Fall stellen Usnin- und Dif-

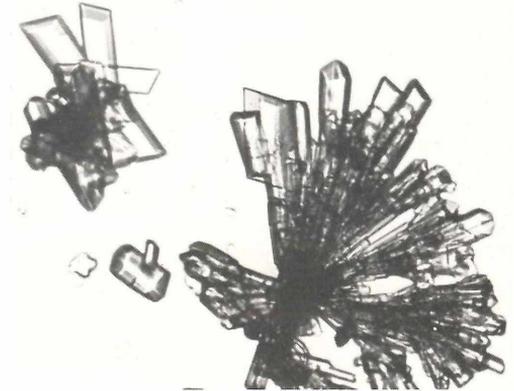


Abbildung 5. Kristalle von diffractasäurem Pyridin.

fractasäure, nach der Größe der Flecken auf dem Chromatogramm zu urteilen, bei den untersuchten Belegen die Hauptsäuren dar. Die z. T. unterschiedliche Zusammensetzung des Säurespektrums wirft natürlich die Frage auf, ob z. B. die australische Flechte noch zu *Usnea ceratina* gerechnet werden kann oder evtl. ein anderes Taxon darstellt.

#### Literatur

ASAHINA, Y. (1936, 1937, 1958): Mikrochemischer Nachweis der Flechtenstoffe. 2. Mitt.-J. Jap. Botany, **12** (1936): 859–872; 4. Mitt. ebenda **13** (1937): 855–861; Lichenologische Notizen 143. Über die chemischen Bestandteile von *Usnea diffracta* VAIN.-J. Jap. Botany, **33** (1958): 225–226; ref. Ber. wiss. Biol., **135** (1959): 280.

<sup>3)</sup> Es ist fraglich, ob in Australien *U. ceratina* vorkommt, vielleicht liegt doch eine Fehlbestimmung vor. MOTYKA erwähnt diese Art nur von Europa und Nordamerika.

- ASAHINA, Y & FUZIKAWA, F. (1932, 1933): Untersuchungen über Flechtenstoffe. IX. Mitt. Über Diffractasäure, eine Methyläther-Barbatinsäure. Ber. chem. Ges., **65**: (1932) 175–178; Über die Identität der Diffractasäure mit der HESSEschen Dirhizoninsäure. – Ebenda, **65** (1933); 1668.
- ASAHINA, Y & HASHIMOTO, A. (1933): Untersuchungen über Flechtenstoffe, XIX. Mitteilung über Alectoronsäure, einen neuen Bestandteil aus den hellfarbigen *Alectoria*-Arten. Ber. chem. Ges., **66** (1933); 641–649 (*Alectoria ochroleuca* S. 648).
- ASAHINA, Y. & SHIBATA, S. (1954): Chemistry of lichen substances. – 240 S.; Ueno, Tokyo.
- BRIEGER, W. (1923): Synthetische Versuche auf dem Gebiet der Flechtenstoffe und ihrer Bausteine. – In: E. ABDERHALDEN (ed.), Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Abt. I. Chemische Methoden, Teil 10: 205–438; Urban und Schwarzenberg, Berlin.
- BRINER, G. P., GREAM, CE. & RIGGS, N. V. (1960): Chemistry of Australian lichens. I. – Austral. J. Chem., **13**: 277–284 (*U. ceratina* S. 283).
- CULBERSON, CH. F. (1969): Chemical and botanical guide to lichen products. – 628 S., North Carolina, Chapel Hill.
- CULBERSON, CH. F. (1970): Supplement. – The Bryologist, **73**: 177–377
- CULBERSON, CH. F., CULBERSON, W. & JOHNSON, A. (1977): Second supplement to „Chemical and Botanical Guide to Lichen Products“ – Missouri Botanical Garden, 400 S.; St. Louis.
- CULBERSON, CH. F. (1979): Improved conditions and new data for the identification of lichen products by standardized thin-layer chromatography. – J. Chromatogr., **72**: 113–125.
- CULBERSON, CH., F. & AMMANN, K. (1979): Standardmethode zur Dünnschichtchromatographie von Flechtensubstanzen. – Herzogia, **5**: 1–24; Braunschweig.
- DUVIGNEAUD, J. (1947): Etudes sur le genre *Usnea*. I. Remarques sur le chimisme des *Usnea* de l'Europe occidentale. – Bull. Soc. roy. Botan. Belg., **79**: 141–147; Bruxelles.
- HAWKSWORTH, D. L. (1972): The nature history of Slapton Ley Nature Reserve. IV. Lichens. – Field Stud. **3**: 535–578; London.
- HESSE, O. (1905): Beiträge zur Kenntnis der Flechten und ihrer charakteristischen Bestandteile. 10. Mitteilung. – J. prakt. Chem., **73**: 113–176.
- MOTYKA, J. (1936–38): Lichenum generis *Usnea* studium monographicum. Pars systematica. – Leopoli 1936–1938 (*U. ceratina* S. 365).
- MOTYKA, J. (1962): Flora Polska V. Porosty (Lichenes). – Warszawa (*U. ceratina* S. 295–297).
- SCHADE, A. (1975): Über das Vorkommen der Calcium-Exkrete bei den Usneaceen (Lichenes) usw. – Nova Hedwigia, **26**: 45–82, Lehre.
- SCHULTE, F. (1905): Zur Anatomie der Flechtengattung *Usnea*. – Beih. Botan. Zbl; **10**: 1–22.
- STENHOUSE, J. & GROVES, C. E. (1880): Beiträge zur Geschichte der Orcine. Betorcinol und einige seiner Derivate. – Ann. Chem., **203**: 285–305.
- TAYLOR, C. J. (1968): Lichens of Ohio, Teil II. – Ohio Surv., Biol. Notes Nr. 3, Ohio State Univ., Columbus Ohio 1968 (S. 221).
- WIRTH, V. (1980): Flechtenflora. – 552 S., Stuttgart.
- ZOPF, W. (1907): Die Flechtenstoffe. – 449 S., Jena.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Andrias](#)

Jahr/Year: 1983

Band/Volume: [2](#)

Autor(en)/Author(s): Schindler Herbert

Artikel/Article: [Über den Nachweis der Diffractasäure in der Flechte Usnea ceratina ACH. aus dem Schwarzwald 5-8](#)