

Ein natürliches Flavanonol-Acetat im Knospenöl von Pappelarten

A Natural Flavanonol Acetate in Bud Excretion of *Populus*-species

Eckhard Wollenweber

Fachbereich Biologie, Botanik, Technische Hochschule Darmstadt
und

Michèle Chadenson und Marcelle Hauteville

Laboratoire de Chimie Biologique II, Université de Lyon

(Z. Naturforsch. **28 c**, 638—640 [1973]; eingegangen am 3. September 1973)

Populus, bud excretion, pinobanksinacetate

A novel flavonoid, the natural 3-acetyl-derivative of pinobanksin, has been isolated from the lipophilic bud excretion of poplar. The structure of pinobanksin is proved by chemical properties and spectral analysis (UV, IR, NMR, MS). The presence in several species of *Populus* is demonstrated.

Aus dem Knospenöl der Pappel haben wir bereits eine beachtliche Zahl von Flavonen, Flavonolen und Flavanonen isoliert¹ und zuletzt auch über das Vorkommen zweier Chalkone berichtet². Als zwanzigstes Flavonoid aus diesem Exkret („P 20“) konnten wir ein Flavanonol identifizieren, das überraschenderweise als Monoacetat vorliegt. Das war zunächst so unwahrscheinlich, daß wir dieses Ergebnis sehr skeptisch beurteilten. Die Substanz existiert jedoch tatsächlich im nativen Pappelöl in dieser Form, was wir durch Cochromatographie des reinen Produkts mit frischem gewebefreiem Knospenöl sowie durch Vergleich der UV-Spektren des mittels präparativer DC — unter Ausschluß von Essigsäure — gewonnenen Materials beweisen konnten.

Material und Methode

Das im Frühjahr geerntete Knospenmaterial wurde in Aceton eingelegt, die erhaltene Lösung im Vakuum eingengt und, wie früher beschrieben, über Kieselgel- und Polyamidsäulen fraktioniert (vgl. ³). Zur Dünnschichtchromatographie verwendeten wir Polyamid (Laufmittel: Benzol/Petroläther/Methyläthylketon/Methanol 60:26:7:7), Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Äthylformiat/Ameisensäure 5:4:1 bzw. Benzol/Äthylacetat 8:2) und Cellulose (2-proz. Essigsäure als Laufmittel). Die Prü-

fung der verschiedenen Pappelarten auf diese Substanz erfolgte mit Polyamidplatten, die im langwelligen UV-Licht vor und nach Sprühen mit „Naturstoffreagenz A“ ausgewertet wurden.

Die NMR-Spektren wurden bei 60 MHz aufgenommen. — Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

Alkalische Verseifung: Einige mg P 20 in 1/2 ml Alkohol werden mit 1/2 ml 2 N Sodalösung versetzt und erhitzt, wobei sich die Lösung intensiv gelb färbt. Nach Abkühlen und Ansäuern auf pH 6 wird mit Äthylacetat ausgeschüttelt, die Lösung eingengt und in Methanol aufgenommen. Es bilden sich einige Kriställchen vom Schmelzpunkt 179—180 °C. Identifizierung durch Chromatographie und IR-Spektrum. Saure Spaltung: 1 mg P 20 wird mit Alkohol/4 N HCl (1:1) erhitzt und die Reaktionslösung ebenfalls mit Äthylacetat extrahiert. Identifizierung des Reaktionsproduktes durch Chromatographie.

Ergebnis

Die Substanz „P 20“ kristallisiert aus Äthanol in farblosen Nadeln oder Blättchen, die, nach einem ersten Sintern zwischen 90 und 100 °C, bei 160—163 °C schmelzen. Bei Chromatographie in verschiedenen Systemen erweist sie sich als homogen. Auf Polyamid erscheint der Fleck im UV-Licht absorbierend, reagiert nicht mit Zirkonoxichlorid, wird gelblich-braun mit „Naturstoffreagens A“. Diazotiertes Benziden färbt den Fleck intensiv rot. Das Verhalten der Substanz bei Reduktion mit Mg/HCl — sofortige Gelbfärbung und Übergang in intensives Orange — zeigt die Flavonoidnatur; die Reaktion

Sonderdruckanforderungen an Dr. E. Wollenweber, Fachbereich Biologie (10), Botanik, Technische Hochschule D-6100 Darmstadt, Schnittspahnstr. 3—5, oder an Dr. M. Chadenson, Laboratoire de Chimie Biologique II de l'Université de Lyon, F-69 Villeurbanne, 43 Boul. du 11 Novembre 1918.

mit Zn/HCl – sofortige, schnell schwindende Gelbfärbung – deutet auf ein Flavanon. Auch die UV- und IR-Spektren entsprechen der Flavanon-Struktur: $\lambda_{\max}$ in Äthanol bei 293 nm, Schulter bei 335 nm; nach Zusatz von AlCl_3 Maximum bei 312 nm; mit Na-acetat bei 333 nm. Die bathochrome Verschiebung des Maximums mit AlCl_3 (19 nm) und die Lage der Carbonylbande im IR-Spektrum bei 1635 cm^{-1} sprechen für eine freie Hydroxylgruppe in Stellung 5. Der bathochrome Effekt mit Na-acetat (40 nm) zeigt eine freie Hydroxylgruppe in Stellung 7 an.

Die zweite Carbonylbande im IR-Spektrum bei 1740 cm^{-1} entspricht einer Esterfunktion. Sowohl alkalische als auch saure Behandlung der Substanz ergeben das 5.7-Dihydroxyflavanonol Pinobanksin, was durch chromatographischen und spektralen Vergleich mit authentischem Material bewiesen wurde.

Unser „P 20“ ist also ein Ester des Pinobanksins. Lokalisation der Esterfunktion ermöglicht das Kernresonanzspektrum.

NMR-Spektrum von P 20 – TMS in CCl_4 .

	$\delta \cdot 10^{-6}$	
C-3 OCOCH_3	1,98 s	3 H
C-2 H	5,30 d	1 H
-3 H	5,74 d	1 H
-6 H	5,91 d	1 H
-8 H	6,00 d	5 H
-2'.3'.4'.5'-H	7,41 s	5 H

Kopplungskonstanten: J_{2-3} 12 Hz; J_{6-8} 2 Hz.

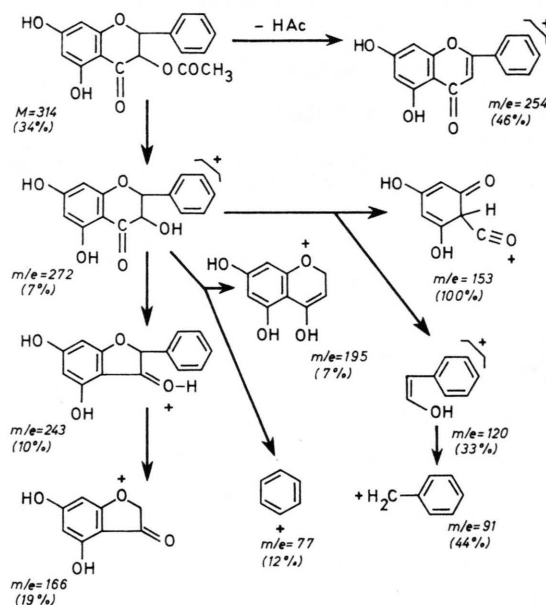
NMR-Spektrum von P 20 in CDCl_3 .

	$\delta \cdot 10^{-6}$	
C-3 OCOCH_3	2,02 s	3 H
-2 H	5,36 d	1 H
-3 H	5,87 d	1 H
-6,8 H	6,06 s	2 H
-7 OH	6,57 s	1 H
-2'.3'.4'.5'-H	7,47 s	5 H
-5 OH	11,15 s	1 H

Kopplungskonstante: J_{2-3} 12 Hz.

Das Signal für 3 Protonen bei 1,98 für das Trimethylsilylderivat bzw. bei 2,02 für die freie Verbindung, ist einer alkoholischen, nicht einer phenolischen Acetylgruppe zuzuordnen. Die Acetylierung in Position 3 wird außerdem bestätigt durch die Verschiebung der Signale für die Protonen an 2 und 3 (vgl. ⁴⁻⁶) und auch die Singulett-Signale für die

Hydroxylprotonen in 5 und 7 entsprechen den Literaturangaben ⁷. Das Massenspektrum ist völlig in Einklang mit der Struktur des 5.7-Dihydroxy-3-acetoxyflavons, wie das Spaltungsschema zeigt:



Mit all diesen Daten ist die angegebene Struktur für unsere Verbindung P 20 schlüssig bewiesen.

Diskussion

Natürliche Acetylderivate der Flavonoide sind sehr selten, wenn man von Fällen absieht, wo, wie z. B. bei C-Glykosiden, die alkoholischen Hydroxylgruppen des Zuckers verestert sind (vgl. ^{8,9}). Ein direkt acetyliertes natürliches Flavonoid wurde unseres Wissens bisher nur einmal beschrieben. Gripenberg und Silander ¹⁰ isolierten aus den Samen von *Alpinia japonica* das Alpinon-3-acetat. Das ist der 7-Methyläther unserer Verbindung!

Wir prüften eine große Anzahl von Pappelarten und -Klonen auf das Vorkommen dieser Substanz im Knospenexkret und konnten feststellen, daß sie bei folgenden Arten gebildet wird: *Populus nigra*, *P. deltoides*, *P. euramericana*, *P. Sargentii*, *P. Wislicenii*, *P. violascens*, *P. acuminata*, *P. cathayana*, *P. koreana*, *P. laurifolia*, *P. Maximowiczii*, *P. Simonii*, *P. szechuanica*, *P. tacamahaca*, *P. candicans* und einigen Hybriden der genannten Arten. Sie fehlt bei *P. trichocarpa*, einigen Klonen von *P. euramericana* und *P. nigra* und natürlich bei *P. alba nivea* und *P. tremula* sowie Hybriden hiervon, deren spärliches

Knospenexkret ohnedies praktisch frei ist von Flavonoiden.

Eine ausführliche Darstellung dieser vergleichen-

den Untersuchungen mit den inzwischen mehr als zwanzig identifizierten Knospen-Flavonoiden wird an anderer Stelle erscheinen.

- ¹ E. Wollenweber u. K. Egger, *Phytochem.* **10**, 225 [1971].
- ² E. Wollenweber u. W. Weber, *Z. Pflanzenphysiol.* **66**, 125 [1973].
- ³ E. Wollenweber u. K. Egger, *Z. Pflanzenphysiol.* **65**, 427 [1971].
- ⁴ A. Stoessl, A. Toth, E. Hardegger u. H. Kern, *Phytochem.* **10**, 1972 [1971].
- ⁵ W. Clark-Lewis, L. M. Jackman u. T. M. Spotswood, *Austral. J. Chem.* **17**, 632 [1964].

- ⁶ W. Hers, S. Gibaja, S. V. Bhat u. A. Srinivana, *Phytochem.* **11**, 2859 [1972].
- ⁷ J. Massicot u. J. P. Marthe, *Bull. Soc. chim. France* **1962**, 1962.
- ⁸ T. R. Seshadri, A. R. Sood u. I. P. Varshney, *Indian J. Chem.* **10**, 26 [1972].
- ⁹ P. Oelrichs, J. T. B. Marshall u. D. H. Williams, *J. chem. Soc. [London]* **1968**, 941.
- ¹⁰ J. Gripenberg u. K. Silander, *Chem. and Ind.* **1955**, 443.