

**α -ACETYLSALAZINSÄURE (GALBINSÄURE) AUS
PARMELIA CARACCENSIS***

SIEGFRIED HUNECK und KLAUS SCHREIBER

Institut für Biochemie der Pflanzen des Forschungszentrums für Molekularbiologie und Medizin der Akademie
der Wissenschaften der DDR, DDR-401 Halle/Saale, Weinberg

(Received 11 August 1975)

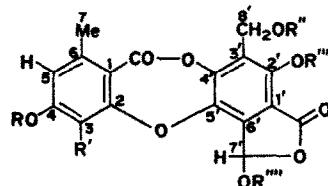
Key Word Index—*Parmelia caraccensis* Tayl.; Parmeliaceae; α -acetylsalazinic acid; depsidone; salazinic acid; norstictic acid; (+)-usnic acid.

Parmelia caraccensis Tayl. ist eine durch ihre gelbliche Oberseite sowie die dicht mit Rhizinen bedeckte schwarze Unterseite gekennzeichnete Laubflechte tropischer amerikanischer Gebirge, für die Hale und Kurokawa [1] Norstictinsäure und Usninsäure angeben. Prof. Dr. W. Steglich sammelte diese Parmeliacee in Venezuela und überließ sie uns freundlicherweise zur chemischen Untersuchung.

Die TLC Analyse zeigt das Vorliegen von Usninsäure, Salazinsäure, Norstictinsäure und einer weiteren *p*-Phenyldiaminpositiven Substanz (**1**), die keinem bekannten natürlich vorkommenden Flechtenstoff zugeordnet werden konnte. Diese Verbindung lässt sich nach Extraktion der Flechte mit Et_2O auf Grund ihrer guten Löslichkeit in Me_2CO von Salazinsäure und Norstictinsäure trennen und resultiert nach wiederholter Kristallisation aus Me_2CO und $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$ in farblosen bitter schmeckenden Nadeln vom Schmp. 205–206° (Zers.), die mit KOH eine gelbe, dann rotbraune und mit FeCl_3 (in EtOH) eine weinrote Färbung geben. Acetylierung dieser Verbindung mit $\text{Ac}_2\text{O}-\text{H}_2\text{SO}_4$ gibt ein Produkt, das in allen Eigenschaften mit Hexaacetyl salazinsäure (**2**) identisch ist. Aus dem NMR-Spektrum (60 MHz, DMSO-d_6 , TMS, diese und alle weiteren Angaben in ppm der δ -Skala) folgt, daß es sich bei **1** um α -Acetylsalazinsäure handelt: 2,00 (3 H, s, -OAc), 2,47 (3 H, s, 7-Me), 3,55 (bs, -OH, H_2O), 5,15 (2 H, s, -CH₂-OAc), 6,73 (1 H, s, C-7'-H), 6,76 (1 H, s, C-5-H), 10,32 (1 H, s, 8-CHO) und 11,88 (1 H, bs, -OH). Im Benzylalkohol liegt das Signal der benzylischen -CH₂-Gruppe bei 4,58, im Benzylacetat bei 5,08 [2]: durch die Acetylierung wird das -CH₂-Signal um 0,5 ppm nach tieferem Feld verschoben. Salazinsäure (**3**) zeigt die benzylischen Protonen als Singulett bei 4,61 (60 MHz, DMSO-d_6 , TMS), sodaß in diesem Falle die Verschiebung 0,54 ppm beträgt. Asahina und Takamoto [3] erhielten α -Acetylsalazinsäure aus Salazinsäure durch 30-min Kochen mit Eisessig und geben an, daß sich die Verbindung ab 220° verfärbt und bei 275–276° unter Gasentwicklung zersetzt. Wir fanden, daß das nach [3] erhaltene Acetylierungsprodukt laut TLC noch beträchtliche Mengen Salazinsäure enthält und die Hauptmenge von **1** in der Mutterlauge vorliegt. Nach wiederholter Kristallisation aus Me_2CO , MeOH und $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$ schmolz das synthetische Produkt bei 205–207° (Zers.) und war im Mischschmp., IR- und NMR-Spektrum mit dem aus *P. caraccensis* isolierten Naturstoff identisch. **1** ist im TLC ebenfalls mit der für

Parmelia galbina Ach. angegebenen Galbinsäure [4] identisch.

Salazinsäure gibt beim Kochen mit Ac_2O eine Triacetylverbindung [5], in der nach Asahina und Shibata [6] die phenolischen Hydroxylgruppen an den C-Atomen 4 und 2' acetyliert sein sollen. Das 60 MHz NMR-Spektrum (DMSO-d_6 , TMS) der nach [5] hergestellten Verbindung (2 Stdn. bei 130° i.Vac. getrocknet) zeigt 9 Signale, die wie folgt zugeordnet werden: 1,92 (3 H, s, -OAc), 2,15 (3 H, s, -OAc), 2,36 (3 H, s, -OAc), 2,46 (3 H, s, 7-Me), 3,50 (bs, -OH), 5,15 (2 H, s, -CH₂-OAc), 6,79 (1 H, s, C-5-H), 7,47 (1 H, s, C-7'-H) und 10,08 (1 H, s, 8-CHO). In der Triacetylverbindung (**4**) sind demnach die 4-OH, die 8'-CH₂OH und die C-7'-OH-Gruppe des Lactolringes acetyliert. Wäre die 2'-OH-Gruppe an Stelle der C-7'-OH-Gruppe acetyliert, so sollte in Analogie zum NMR-Spektrum (60 MHz, DMSO-d_6 , TMS) der Hexaacetyl salazinsäure (**2**) mit Signalen bei 1,92, 2,02, 2,10, 2,17, 2,33, 2,36 (je 3 H, s, 6 × -OAc), 2,48 (3 H, s, 7-Me), AB-System mit δ_A 5,00 und δ_B 5,28 (2 H, q, J_{AB} 12 Hz), 7,15 (1 H, s, C-5-H), 7,58 (1 H, s, C-7'-H) und 7,75 (1 H, s, 8-CH(OAc)₂) das Signal der benzylischen Protonen ebenfalls als AB-System in Erscheinung treten, was aber nicht der Fall ist. Offenbar wird durch die Substitution des phenolischen Protons am C-2' durch den Acetyl-Rest die freie Drehbarkeit der benzylischen -CH₂-Gruppe eingeschränkt, sodaß die beiden Protonen dieser Gruppe nun nicht mehr äquivalent sind.



- (1) $R = R'' = R''' = H$, $R' = \text{CHO}$, $R'' = \text{Ac}$
- (2) $R = R'' = R''' = \text{Ac}$, $R' = \text{CH}(\text{OAc})_2$
- (3) $R = R'' = R''' = H$, $R' = \text{CHO}$
- (4) $R = R'' = R''' = \text{Ac}$, $R' = \text{CHO}$, $R''' = H$

EXPERIMENTELLES

Aufarbeitung von *P. caraccensis*. 30 g lufttrockene und gemahlene Flechte (Venezuela, Paramo Mucabaji, 3700 m ü.M., leg. W. Steglich, 4.1.1973, det. M. E. Hale, 4.9.1973; Belegexemplare befinden sich im Herbar des einen Verfassers [S.H.]) werden 3 × 8 Stdn. mit Et_2O extrahiert, das im Extrakt ausgeschiedene Produkt (A) abgesaugt, das Filtrat eingedampft und der Rückstand aus CHCl_3 -EtOH umkristallisiert: 0,27 g (0,9%) (+)-Usninsäure in gelben Prismen vom

* Mitt. 109 "Flechteninhaltsstoffe". Mitt. 108: Misra, G., Huneck, S. und Hale, M. E., Philippia (im Druck).

Schmp. 202–204° und $[\alpha]_D^{25} + 490^\circ$ (c 1,0, CHCl₃). Das in Äther schwerlösliche Produkt A wird in 100 ml Me₂CO unter Erwärmen auf 50° aufgenommen, der ungelöste Anteil (B) abgesaugt, das Filtrat mit Aktivkohle behandelt und bis zur Kristallisation eingeeengt. Das resultierende Material wird abgesaugt, mit CHCl₃ gewaschen um wenig Usninsäure wegzulösen und erneut 2 x aus Me₂CO bzw. MeOH–H₂O umkristallisiert: 1,5 g (4,9%) α -Acetyl salazinsäure (1) in Nadelchen vom Schmp. 195–197° (Zers.); eine durch langsames Ein-dunsten einer acetonischen Lösung erhaltene Probe schmilzt bei 205–207° (Zers.). R_f 0,55 (Kodak Chromagram 6061, AcOH–Toluol–Et₂O = 0,5:3:6, *p*-Phenyldiamin → gelb). C₂₀H₁₄O₁₁ (430,3); gef. C, 55,82; H 3,28; ber. C, 55,71; H, 3,20. IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 715, 750, 790, 810, 864, 885, 900, 916, 990, 1010, 1050, 1090, 1136, 1156, 1175, 1200, 1220, 1240, 1278, 1316, 1330, 1362, 1442, 1480, 1565, 1640, 1740, 1770, 3000 und 3500 cm⁻¹.

Acetylierung von 0,25 g 1 mit 1,5 ml eines Gemisches aus 5 ml Ac₂O und 1 Tropfen konz. H₂SO₄ in 3 Stdn. bei 20° gibt nach zweimaliger Kristallisation aus Aceton 0,15 g Prismen vom Schmp. 176–178°, im Mischschmp., IR- und NMR-Spektrum identisch mit Hexaacetyl salazinsäure (2).

Der in Me₂CO schwer lösliche Anteil B liefert nach Kristallisation aus Me₂CO–H₂O 0,6 g (1,9%) Salazinsäure in Nadelchen, die sich ab 240° zersetzen. In der Mutterlauge lässt sich mittels TLC Norstictinsäure nachweisen.

α -Acetyl salazinsäure (1) aus Salazinsäure. 0,5 g Salazinsäure werden mit 100 ml HOAc 1 Std. unter Rückfluß erhitzt; anschließend wird der Ansatz auf etwa 15 ml eingeeengt, das ausgechiedene Material abfiltriert und das Filtrat mit H₂O verdünnt. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit H₂O gewaschen, bei 20° getrocknet und dreimal aus Me₂CO, MeOH bzw. MeOH–H₂O umkristallisiert: 0,12 g 1 in Nadelchen vom Schmp. 205–206° (Zers.).

α -Acetyl salazinsäureanil. 0,2 g 1 werden in 15 ml siedendem EtOH gelöst und mit 0,5 ml frisch destilliertem Anilin versetzt, wobei sofort gelbe Plättchen ausfallen, die noch heiß abge-

saugt und mit EtOH gewaschen werden; Schmp. 260–262° (Zers.).

4,3',7'-Triacetyl salazinsäure. Aus 2,0 g Salazinsäure und 60 ml Ac₂O in 30 min unter Rückfluß nach [5]. Nach zweimaliger Kristallisation aus Me₂CO–MeOH Nadeln vom Schmp. 206–208° und dem R_f-Wert 0,76 (Kodak Chromagram 6061, AcOH–Toluol–Et₂O = 0,5:3:6, *p*-Phenyldiamin → gelb). Asahina und Asano [5] geben den Schmp. 205–206° an. IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 715, 750, 790, 810, 864, 885, 900, 916, 990, 1010, 1050, 1090, 1136, 1156, 1175, 1200, 1220, 1240, 1278, 1316, 1330, 1362, 1442, 1480, 1565, 1640, 1740, 1770, 3000 und 3500 cm⁻¹.

Anerkennung—Herrn Prof. Dr. W. Steglich, Bonn, danken wir für das Sammeln der Flechte und Herrn Prof. Dr. M. E. Hale, Washington, D. C., für deren Bestimmung sowie die Überlassung einer Probe von *P. galbina*.

LITERATUR

1. Hale, M. E. und Kurokawa, S. (1964) *Contrib. U.S. Natl. Herb.* **36**, 121.
2. Varian *NMR Spectra Catalog* (1962) Vol. I, No. 161; (1963) Vol. II, No. 530.
3. Asahina, Y. und Takamoto, T. (1934) *Ber. Deut. Chem. Ges.* **67**, 963.
4. Culberson, Ch. F. (1969) *Chemical and Botanical Guide to Lichen Products*, S. 154. The University of North Carolina Press, Chapel Hill.
5. Asahina, Y. und Asano, J. (1933) *Ber. Deut. Chem. Ges.* **66**, 689.
6. Asahina, Y. und Shibata, S. (1954) *Chemistry of Lichen Substances*, S. 131. Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo.

Phytochemistry. 1976, Vol. 15, pp. 438–439. Pergamon Press. Printed in England.

RARE METHOXY FLAVONOIDS FROM BUDS OF *BETULA NIGRA*

ECKHARD WOLLENWEBER

Botanisches Institut der TH, D-6100 Darmstadt, W. Germany

(Received 10 October 1975)

Key Word Index—*Betula nigra*: Betulaceae; bud excretion; methylated flavonoids; combretol; kaempferol 3,7,4'-trimethyl ether; retusin; apigenin 7,4'-dimethyl ether; pachypodol.

Plant. *Betula nigra* L. **Source.** Botanic Garden of TH Darmstadt. **Previous work.** Flavonoids from other species, common flavonoids from *B. nigra* [1]. **Present work.** Lipophilic material excreted by winter buds of *Betula nigra* was recovered by treatment with acetone at room temperature. After column chromatography on silica gel and on polyamide (both eluted with C₆H₆ and increasing quantities of MeCOEt and MeOH), followed by preparative TLC on polyamide, five flavonoid aglycones could be identified. Although buds of a whole tree have been worked up, only traces of compounds 1–5 could be isolated, the buds being very small and the excretion consisting mainly of terpenoids. TLC comparison was on polyamide (solvent A, petrol 60–80°–C₆H₆–MeCOEt–MeOH 70:20:8:2; solvent B, C₆H₆–petrol 100–140°–MeCOEt–MeOH 60:26:7:7; solvent C, HAc–

dioxan–DMF–H₂O 2:6:3:3) and on silica gel (solvent D, C₆H₆–Me₂CO 9:1). Numbering of compounds follows decreasing R_f on polyamide in the non-polar solvent A. If no other details are given, they have been identified by chromatographic comparison with authentic samples in the four solvent systems (see Table 1), UV spectra (comp.[2]), and by complete demethylation (treatment with pyr-HBr at 250° for 5 min. [3]).

Compound 1. Myricetin 3,7,3',4',5'-pentamethyl ether (combretol). Light yellow needles from MeOH, mp 144–146° (lit. 145–147°, [4]). MS 70 eV m/e (rel. int.): 388 M⁺ (base peak), 373 (M–Me, 85), 357 (M–OMe, 16), 345 (M–MeCO, 37). Compound 2. Kaempferol 3,7,4'-trimethyl ether; Compound 3. Quercetin 3,7,3',4'-tetramethyl ether (retusin); Compound 4. Apigenin 7,4'-dimethyl ether; Compound 5. Quercetin 3,7,3'-dimethyl