

FLAVONOIDE AUS *SALIX ALBA*. DIE STRUKTUR DES TERNIFLORINS UND EINES WEITEREN ACYLFLOWNOIDES

CHRISTIAN KARL, GERHARD MÜLLER und PETER ALSTED PEDERSEN
Weleda AG, D-707 Schwäbisch Gmünd, Deutschland

(Received 10 January 1976)

Key Word Index: *Salix alba*; Salicaceae; acylflavonoids; apigenin; *p*-coumaric acid; apigenin 7-*O*-(*p*-coumaryl)- β -D-glucosides; terniflorin.

Abstract—Eight flavonoids were isolated from the leaves of *Salix alba*. One, apigenin 7-*O*-(4-*p*-coumarylglucoside), is a new natural compound; another, terniflorin, the 6-isomer, is an artefact. The others are quercetin 3-*O*-glucoside, quercetin 3-*O*-rutinoside, isorhamnetin 3-*O*-glucoside, isorhamnetin 3-*O*-rutinoside and quercetin 7,3'-dimethylether 3-*O*-glucoside.

In der kleinen Stoffgruppe der Acyl-*O*-Glykoside ist Apigenin als Aglykon unseres Wissens (vgl. z.B. Lit. [1,2]) nur mit drei Substanzen vertreten, darunter ein Apigenin-7-*O*-(*p*-cumaryl)- β -D-glucosid (Terniflorin), das 1964 von Aritomi [3] aus *Clematis terniflora* isoliert wurde, für das aber die Verknüpfungsstelle der *p*-Cumarsäure an die Glucose nicht geklärt wurde. In der vorliegende Arbeit möchten wir über die Isolierung und Strukturaufklärung dieser Substanz sowie eines weiteren Iso-meren aus den Blättern von *Salix alba* L. berichten. Ziel der Arbeit war außerdem zu prüfen, welche Flavonoide neben dem bereits isolierten Albosid [4] enthalten sind und ob die in anderen Salix-Arten gefundenen Proanthocyanidine [5] auch in *Salix alba* vorkommen.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Aus MeOH-Extrakten erhielten wir durch chromatographische Auftrennung die Flavonoide I-VIII und 6 blau fluoreszierende Verbindungen. Die Substanzen I und II bildeten bei der sauren Hydrolyse Apigenin, Glucose und 1-2 zunächst nicht identifizierte Bruchstücke, wogegen sie mit Glucosidasen nicht zu spalten waren. Auch die UV-, IR- und NMR-Spektren ließen sich nur z.T. unter Annahme eines Apigenin-7-*O*-glykosides erklären.

In den NMR-Spektren (vgl. Tab. 1) blieben etliche Signale übrig, die zu einem aromatischen System gehören müssten; mit Hilfe des IR-Spektrums, das auf einen Zimtsäureester hingewiesen hatte, konnten diese Signale des

NMR-Spektrums mit Hilfe von Einstrahl-Versuchen (vgl. Tab. 1) als *p*-Cumaryl- gedeutet werden. Daraufhin konnten durch schonende Hydrolyse *p*-Cumarsäure, Apigenin und Glucose, und durch Methanolysen *p*-Cumarsäuremethylester und Apigenin-7-*O*-glucosid nachgewiesen (Cochrom.) werden. Demnach waren I und II isomere Apigenin-(*p*-cumaryl)-glucoside; I erwies sich mit Terniflorin [3] (Cochrom. in 5 Systemen, Misch-Schmp.) identisch.

Ein Vergleich des NMR-Spektrums von I mit den Daten für die *p*-Cumarylglucosen [6] zeigte für das Proton, das mit der Ester-gruppe am gleichen C-Atom steht, nur mit dem 6-*p*-Cumaryl- Übereinstimmung. Folglich handelt es sich bei Terniflorin (I) um Apigenin-7-*O*-(6-*O*-*p*-cumarylglucosid).

Analog dazu sprach das NMR-Spektrum von II für eine Acylierung in 4"-Stellung. Weiter gestützt wurde diese Zuordnung dadurch, daß II im alkalischen sehr rasch, im neutralen Medium dagegen langsam in I umgewandelt wird, was nur durch eine Acylwanderung erklärt werden kann und mit dem Verhalten der 4-*p*-Cumarylglucose [7] übereinstimmt, wogegen bei 2- und 3-Acylglucosen nur im alkalischen Medium eine Wanderung stattfindet [8]. Folglich dürfte es sich bei II um

Apigenin-7-*O*-(4-*O*-*p*-cumarylglucosid) handeln. Da II in I umgebildet werden kann—während die umgekehrte Acylwanderung nicht bekannt ist [8]—und das Verhältnis zwischen I und II bei 2 Aufarbeitungen desselben Extrakt verschoben war, ist es naheliegend anzunehmen, daß I ein Artefakt ist.

Tabelle 1. NMR-Daten der Flavonoidglykosid-TMSi-Aether [δ ppm (J_{Hz})]

Subst.	Aromatische Protonen				olef. H	Zuckerprotonen		Methoxy-
	A-Ring	B-Ring	H-3	Cumaryl-		H-1"	übrige	
I	6.57 d(2)*	7.63 d($8\frac{1}{2}$)*	6.23 s	7.15 d(8)*	7.41 d(16)	4.86 m	3.4-3.6, 4 H	
	6.27 d(2)*	6.71 d(8)*		6.58 d(8)*	6.13 d		4.6-3.8‡, 2 H	
II	6.73 d(3)	7.73 d($8\frac{1}{2}$)	6.41 s	7.40 d($8\frac{1}{2}$)	7.63 d(16)	4.89 2 H†	3.5, 5 H	
	6.35 d($2\frac{1}{2}$)	6.86 d($8\frac{1}{2}$)		6.73 d(8)	6.25 d			
VII	6.42 d(2)	7.72 d(2)				5.84 d(6)	3.61, 3.51	3.88 s
	6.13 d($2\frac{1}{2}$)	7.38 dd(2 + 8)					3.21	
		6.81 d($8\frac{1}{2}$)						

* Die Zuordnung der Signale erfolgte durch Einstrahlungsversuche. † Das Signal enthält das Signal für das Proton, das mit der Estergruppe am gleichen C-Atom steht. ‡ Vgl.† (es handelt sich hier um die Methylen-Protonen bei C-6").

Die Substanzen III–VIII wurden mit Hilfe von Hydrolysen, UV, NMR (vgl. Tab. 1) und z.T. Cochromatographie mit authentischen Substanzen als Rutin (III), Isoquercitrin (IV), Isorhamnetin-3-O-rutinosid (V), Isorhamnetin-3-O-glucosid (VI), Albosid [4] (VII) und Isorhamnetin (VIII) identifiziert. Die Hauptmenge machten V und VI aus.

Vom biogenetischen Standpunkt bilden die Substanzen III–VII eine interessante Reihe, bestehend aus den Glucosiden und Rhamnoglucosiden von Quercetin (IV, III) und dessen Mono- (VI, V) und Dimethyläther (VII); nur das Rutinosid des Dimethyläthers konnte nicht nachgewiesen werden.

Durch Cochromatographie der isolierten blau fluoreszierenden Verbindungen mit authentischen Substanzen und UV wurden Chlorogen-, Isochlorogen-, Ferula- und Gentisinsäure, sowie Äsculetin und Äsculin identifiziert. Aus Aceton-Extrakten wurden die folgenden Substanzen isoliert und durch Cochromatographic identifiziert: Catechin, Epicatechin (Hauptsubstanzen), die Proanthocyanidine B2, B4, neben wenig B1 und B3 (Struktur, siehe Lit. [5]). Dadurch unterscheidet sich *S. alba* von *S. caprea* und *S. viminalis*, die als Hauptsubstanzen die Proanthocyanidine B3 und C2 enthalten [5].

EXPERIMENTELLES

Das Pflanzenmaterial, das in der Nähe von Gmünd geerntet wurde, wurde von Dr. R. Müller, Weleda, auf seine Identität überprüft. Belegexemplare befinden sich bei uns. Die NMR-Spektren wurden von den TMS-Derivaten in CCl_4 auf einen Jeol JNM-C-60 HL Instrument (VI, VII) oder einen Bruker HFX 90 Gerät (I–III, V) mit TMS als innerem Standard aufgenommen. R_f -Werte wurden durch DC auf Cellulose mit $\text{CHCl}_3\text{-HOAc-H}_2\text{O}$ (55:45:10) als Fließmittel bestimmt.

Isolierung der Flavonoide. Die frischen Blätter (22 kg) wurden mit MeOH kalt extrahiert. Die eingedampften Extrakte wurden nach Aufnehmen in heißem H_2O durch Extraktion mit versch. Lsg.-Mittel in 4 Frakt. aufgeteilt. Diese Frakt. wurden durch präparative PC (HOAc 15%) in 14 Zonen aufgeteilt. Diese Zonen wurden nach Elution mit MeOH chromatographiert an Sephadex LH-20 (70% MeOH), wodurch u.a. I und II als reine Stoffe gewonnen werden konnten.

Terniflorin (I), Schmp. 267° (MeOH) (Lit. [3] $266\text{--}7^\circ$ (Zers.)). R_f 0,49. UV (MeOH), λ_{\max} nm: 269, 319; (NaOMe): 272, 305,

367; (MeOH-AlCl₃): 276, 301, 321, 381; (AlCl₃-HCl): 278, 300, 322, 375; (NaOAc): 268, 325, 383; (NaOAc-H₃BO₃): 269, 321. IR (KBr), ν_{\max} cm⁻¹: 1690 (O=C-(C=C)-OR) (Lit. [3] 1686).

Apigenin-7-O-(4-O-p-cumarylglucosid) (II). Schmp. 239–42° (MeOH). R_f 0,63. UV (MeOH), λ_{\max} nm: 268, 333; (NaOMe): 275, 327, 391; (MeOH-AlCl₃): 276, 303, 348, 384; (AlCl₃-HCl): 277, 301, 343, 382; (NaOAc): 276, 385; (NaOAc-H₃BO₃): 269, 344. IR (KBr), ν_{\max} cm⁻¹: 1690 (O=C-(C=C)-OR).

3',7-Dimethylquercetin-3-O-glucosid (Albosid) (VII). Schmp. 179–82° (MeOH) (Lit. [4] 178–80°). R_f 0,75.

Hydrolyse von I. 2 mg I wurden bei 100° mit 3 ml 1 N HCl (H_2O -MeOH (1:1)) 20 min. hydrolysiert.

Methanolysen von I. 5 mg I wurden bei Raumtemp. mit 4 ml 0,2% NaOMe-MeOH versetzt. Proben wurden ständig entnommen und DC untersucht.

Umbildung von II in I. 2 mg II wurden in 2 ml MeOH gelöst und bei Raumtemp. 4 Wochen stehengelassen. Zunächst täglich, dann wöchentlich wurden Proben entnommen und DC untersucht (nach 4 Wochen 50%ige Umbildung).

Anerkennungen—Wir danken Dr. M. Aritomi, Kumamoto (Japan), für eine Probe Terniflorin, Prof. L. Birkofe, Düsseldorf, für eine Probe 6-O-Cumarylglc, Prof. E. Haslam, Shefford, für Proben der Proanthocyanidine B1-B4 und Prof. H. Thieme, Leipzig, für eine Probe Albosid. Unserer besonderer Dank gilt dem Chemischen Laboratorium B der Dänischen Pharmazeutischen Hochschule, Kopenhagen, für die Aufnahme der NMR-Spektren.

LITERATUR

1. Harborne, J. B. and Williams, C. A. (1975) in *The Flavonoids* (Harborne, J. B., Mabry, T. J. and Mabry, H., eds), pp. 376–441. Chapman & Hall, London.
2. Wagner, H. (1974) *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **31**, 153.
3. Aritomi, M. (1963) *Chem. Pharm. Bull.* **11**, 1225.
4. Thieme, H. (1968) *Tetrahedron Letters* 2301.
5. Thompson, R. S., Jacques, D., Haslam, E. and Tanner, R. J. N. (1972) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1387.
6. Birkofe, L., Kaiser, C., Hilges, B. and Becker, F. (1969) *Justus Liebigs Ann. Chem.* **725**, 196.
7. Birkofe, L., Kaiser, C. and Thomas, U. (1968) *Z. Naturforsch.* **B23**, 1051.
8. Birkofe, L., Kaiser, C., Kosmol, H., Romussi, G., Donike, M. and Michaelis, G. (1966) *Justus Liebigs Ann. Chem.* **699**, 223.

Phytochemistry, 1976, Vol. 15, pp. 1085–1086. Pergamon Press. Printed in England.

NEW FLAVONOIDS FROM *FLOURENSIA CERNUA*

M. O. DILLON*, T. J. MABRY*, E. BESSON†, M. L. BOUILLANT† and J. CHOPIN†

*The Cell Research Institute and The Department of Botany The University of Texas at Austin, Austin, TX 78712, U.S.A.; †Laboratoire de Chimie Biologique, Faculté des Sciences de l'Université de Lyon, France

(Received 19 January 1976)

Key Word Index—*Florencea cernua*; Asteraceae; 6,8-di-C-glycosylflavones; 3-O-methylquercetin; 3,7-di-O-methylkaempferol.

In connection with a biosystematic investigation of the genus *Florencea*, five 6,8-di-C-glycosylflavones and two methoxylated flavonols have been isolated and identified from leaf material of *Florencea cernua* DC. In addition,

two previously reported [1] methoxylated flavones, cirsimarin and hispidulin were also characterized. *Florencea cernua* (commonly called tarbrush, black brush or ojasen) is a frequent member of the desert vegetation