

ISOLIERUNG UND STRUKTUR EINES GIBBERELLINGLUCOSIDS*

K. Schreiber, J. Weiland und G. Sembdner

Institut für Kulturpflanzenforschung der Deutschen Akademie
der Wissenschaften zu Berlin, Gatersleben,
Deutsche Demokratische Republik

(Received in Germany 4 August 1967)

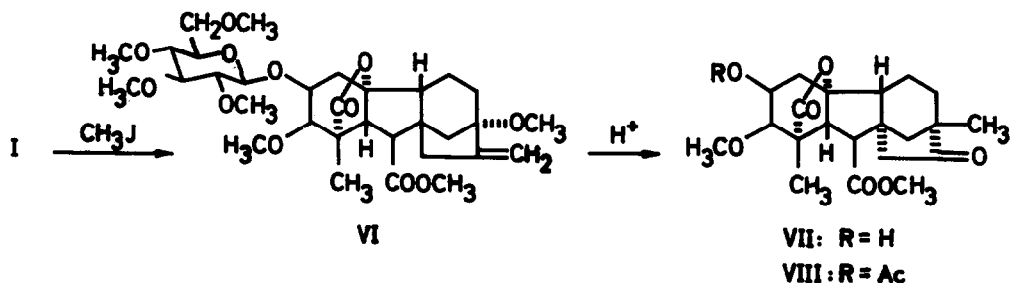
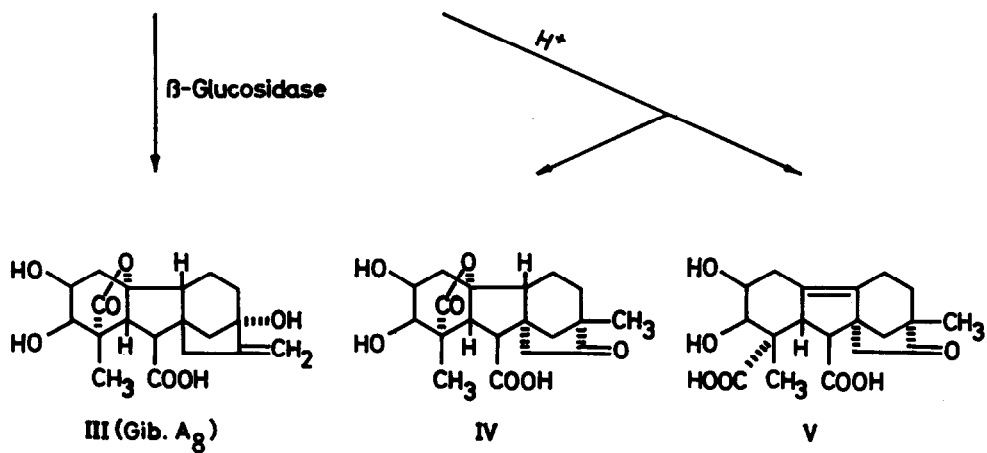
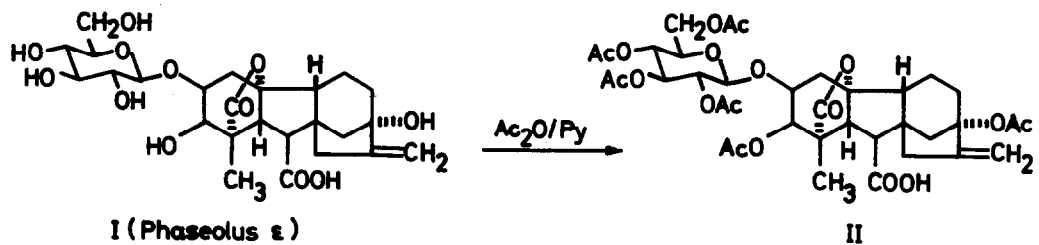
Im Rahmen orientierender Untersuchungen konnten wir in unreifen Früchten der Frunkbohne, Phaseolus coccineus L., außer Gibberellin A₁, A₃, A₅, A₆, A₈ und einigen weiteren, nicht näher charakterisierten Verbindungen eine stark polare, aus saurer wässriger Lösung mit Essigester nicht extrahierbare gibberellinwirksame Substanz nachweisen, die vorläufig als Phaseolus ε bezeichnet wurde (1). Im folgenden berichten wir über die präparative Isolierung dieser Verbindung sowie über die Aufklärung ihrer Struktur als Gibberellin-A₈-O(3)-β-D-glucopyranosid (I).

Hierzu wurden insgesamt 3762 kg frischgeerntete, unreife Früchte von Phaseolus coccineus L. var. coccineus cv. 'Preisgewinner' mit ca. 5000 l 80-proz.Methanol extrahiert, der Auszug i. Vak. auf 510 l eingengt, mit HCl auf pH 2.8 angesäuert sowie mit 430 l Essigester und anschließend mit 365 l n-Butanol ausgeschüttelt. Der Rückstand des Butanolextrakts (5.65 kg) wurde mehrfach an Kieselgel chromatographiert. Von der Phaseolus ε enthaltenden Sammelfraktion (445 g) acetylierte man einen Teil (247 g) mit Acetanhydrid-Pyridin. Das durch Chromatographie und Kristallisation gereinigte Acetylderivat (1.11 g) lieferte nach Entacetylierung (2) 0.8 g ($3.8 \cdot 10^{-5}$ % des Frischgew.) Phaseolus ε (I, C₂₅H₃₄O₁₂, amorph, $[\alpha]_D^{17} +6.7^\circ$ in Methanol); die Hexaacetylverbindung II, C₃₇H₄₆O₁₈, kristallisierte aus Essigester-Petroläther in Nadeln vom Schmp. 247°, $[\alpha]_D^{18} +14.6^\circ$ in CHCl₃. Verbindung I

* Gibberelline, XIII. Mitteil.; XII. Mitteil.: K. Schreiber, G. Schneider und G. Sembdner, Tetrahedron, im Druck.

ergab mit β -Glucosidase (E.L. 33-36, Röhm und Haas, Darmstadt) in 0.5 m Acetatpuffer vom pH 5.0 quantitativ Gibberellin A₃ (III) und Glucose, wie durch dünnschichtchromatographische Untersuchung festgestellt wurde. Bei mineralisaurer Hydrolyse von I (n H₂SO₄, 6 Stdn. bei 100°) erhielt man neben 1 Mol. Glucose die durch präparative Schichtchromatographie getrennten Verbindungen IV und V, die im gleichen Mengenverhältnis von 5:1 auch aus Gibberellin A₃ (III) bei Säurebehandlung entstehen. Verbindung IV (Schmp. 261°, $[\alpha]_D^{17} +33.1^\circ$ in Methanol) erwies sich in allen Eigenschaften als identisch mit bereits früher (3) beschriebenem IV (Lit. (3): Schmp. 259-263°). Die Struktur der noch unbekanntenen Verbindung V (C₁₉H₂₄O₇, Schmp. 258°, $[\alpha]_D^{18} -62.8^\circ$ in Methanol) ergab sich auf Grund von UV- ($\lambda_{\max} = 295 \text{ nm}$, $\log \epsilon = 1.54$), IR- ($\nu_{\max} = 1691$ (Carboxyl), 1730 (5-Ring-Keton) und 3598 cm⁻¹ (Hydroxyl)), NMR- (u.a. $\delta = 1.03$ (s, 12-H₃), 1.29 ppm (s, 7-CH₃), keine Vinylprotonen) und Massenspektrum sowie nach dem Ergebnis der Dünnschichtelektrophorese ($\bar{U}_F = 0.73$, Dicarbonsäure; vgl. (4)).

Durch diese Befunde war bewiesen, daß es sich bei Phaseolus ϵ um ein Gibberellin-A₃-glucosid handelt; offen blieb lediglich, mit welcher der 3 OH-Gruppen an C-2, 3 und 7 der Glucoserest gebunden ist. Dies ließ sich wie folgt klären: Das Glucosid I überführte man durch Permethylierung (5) in den entsprechenden Hexamethoxy-methylester VI (amorph, $[\alpha]_D^{21} +10.0^\circ$ in Methanol, IR: keine OH-Absorption), der mit 5-proz. methanol. Salzsäure (2 Stdn. unter Rückfluß) behandelt wurde. Außer der Zuckerkomponente, die nach nochmaliger Hydrolyse mit wässr. Salzsäure dünnschichtchromatographisch als 2.3.4.6-Tetramethyl-D-glucose identifiziert wurde, isolierten wir in 70-proz. Ausbeute das Monohydroxyketon VII (Schmp. 185-186°, $[\alpha]_D^{17} +47.1^\circ$ in Methanol), das mit Acetanhydrid-Pyridin das Acetylderivat VIII lieferte (C₂₃H₃₀O₈, Schmp. 192-193°, $[\alpha]_D^{18} +35.9^\circ$ in Methanol, UV: $\lambda_{\max} = 295 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 1.72$), IR: $\nu_{\max} = 1260$ (Acetat), 1749 (5-Ring-Keton und 2 Ester-carbonyl), 1787 cm⁻¹ (γ -Lacton-carbonyl), keine OH-Absorption). Beweisend für die 3-Stellung der Acetoxygruppe erwies sich das NMR-Spektrum von VIII: Septett mit den relativen Bandenintensitäten 1:1:1:2:1:1:1 zentriert bei $\delta = 4.995 \text{ ppm}$ für das



axiale 3-Proton (Bandenbreite = 21 Hz).

Die β -glucosidische Verknüpfung in I ergab sich auf Grund der enzymatischen Spaltung durch β -Glucosidase, weiterhin aus dem NMR-Spektrum von II (Dublett bei $\delta = 4.47$ ppm, $J = 9$ Hz) und VI (Dublett bei $\delta = 4.25$ ppm, $J = 7.5$ Hz) sowie aus der molaren Rotationsdifferenz von I und III ($[\alpha]_D^{25} + 35.3^\circ - [\alpha]_D^{25} + 47.4^\circ = \Delta[\alpha]_D^{25} - 12.1^\circ$) nach der Regel von Klyne (6).

Beim O(3)- β -D-Glucopyranosyl-gibberellin-A₈ (I) handelt es sich um das erste in reiner Form isolierte und strukturell aufgeklärte Gibberellin-glykosid. Im Zwergerbse-Biotest (7) zeigt die Verbindung geringe Wirksamkeit in etwa gleicher Höhe wie Gibberellin A₈. Verschiedenartige Untersuchungen an mehreren Pflanzen ergaben, daß Gibberellin-glykoside offensichtlich weit verbreitet sind und möglicherweise desaktivierte Depot- und/oder Transportformen dieser Wachstumsregulatoren darstellen.

Literatur

- (1) G. Sembdner, G. Schneider, J. Weiland und K. Schreiber, Experientia 20, 89 (1964).
- (2) Zur Methodik vgl. G. Zemplén, Ber. dtsh. chem. Ges. 59, 1258 (1926); G. Zemplén und E. Pacsu, ebenda 62, 1613 (1929).
- (3) J. MacMillan, J.C. Scaton und P.J. Suter, Tetrahedron 18, 349 (1962).
- (4) G. Schneider, G. Sembdner und K. Schreiber, J. Chromatogr. 19, 358 (1965).
- (5) Zur Methodik vgl. R. Kuhn, H. Trischmann und I. Löw, Angew. Chem. 67, 32 (1955); K. Wallenfels, G. Bechtler, R. Kuhn, H. Trischmann und H. Egge, ebenda 72, 1014 (1963).
- (6) W. Klyne, Biochem. J. 47, xli (1950).
- (7) Zur Methodik vgl. G. Sembdner, G. Schneider und K. Schreiber, Planta 66, 65 (1965).