

Eine geeignete Methode zur Synthese der *p*-Hydroxy- β -[carboxymethyl]-zimtsäure (Sphagnumsäure)

A Convenient Synthesis of *p*-Hydroxy- β -[carboxymethyl]-cinnamic Acid (Sphagnum Acid)

Doris Wächter* und Hansjörg Rudolph

Botanisches Institut der Universität, Olshausenstr. 40,
D-2300 Kiel

Z. Naturforsch. **39c**, 311–312 (1984);
received January 9, 1984

Sphagnum Acid, Secondary Plant Product, *p*-Hydroxy- β -[carboxymethyl]-cinnamic Acid, 3-[4-Hydroxyphenyl]-pentadisäure, Synthesis

Sphagnum acid is a cinnamic acid which up to now has only been traced in the cell walls of Sphagna. This plants contain this substance up to the quantity of 100 µg per 100 mg dry weight. *p*-Hydroxy- β -[carboxymethyl]-cinnamic acid can be produced synthetically by condensation of phenol and acetonedicarboxylic acid.

Problemstellung

Der Cellulosenachweis mit Chlorzinkjod fällt an Zellwänden von Sphagnen negativ aus. Für die Maskierung der Cellulose ist *p*-Hydroxy- β -[carboxymethyl]-zimtsäure verantwortlich. Sie ist die phenolische Substanz, die in einem ethanolischen Extrakt in Hauptmenge auftritt [1]. Die Sphagnumsäure kommt in allen bisher untersuchten Sphagnumarten vor [2]. In anderen Pflanzen konnte sie bisher nicht nachgewiesen werden. Die Sphagnumsäure wurde zuerst aus *Sphagnum magellanicum* isoliert und charakterisiert [3] (Fig. 1). Sie liegt in der Zellwand als native, nicht glykosidisch gebundene Komponente vor. Verschiedene Befunde sprechen dafür, daß die Biosynthese über den Shikimatweg erfolgt. Glyphosatgaben haben eine Hemmung der Sphagnumsäurebildung zur Folge, die durch Phenyl-

alanin revertierbar ist [4]. Als sekundäres Stoffwechselprodukt unterliegt die Sphagnumsäure einem Metabolismus, wie die jahreszeitlichen Schwankungen der Gehalte in Sphagnen zeigen [5].

Voraussetzung für Untersuchungen zur Beantwortung der Frage nach einer möglichen biologischen Bedeutung der Sphagnumsäure und der Analyse des Umsatzmechanismus dieser Zimtsäure *in vitro* und *in vivo* ist das Vorhandensein von ausreichenden Mengen an kristalliner Substanz. Der Naturstoff liegt in Sphagnen nach bisherigen Untersuchungen in einer Konzentration bis zu 0,1% des Trockengewichts vor, er läßt sich allerdings nur sehr aufwendig in präparativem Maßstab isolieren.

Nach Dixit (1931) [6] soll „ β -4-Hydroxyphenylglutaconic acid“ aus Phenol und Citronensäure bzw. Acetondicarbonsäure in saurem Medium synthetisch zugängig sein. Nach der von ihm gegebenen Arbeitsvorschrift ist das Produkt jedoch nicht zu isolieren. Kreher *et al.* [7] konnten nach einem modifizierten Aufarbeitungsgang, bedingt reproduzierbar, geringe Mengen an Sphagnumsäure gewinnen, die den spektroskopischen Beweis der Identität von Naturstoff und synthetischer Substanz ermöglichten [1]. Butte [8] erhielt nach Angaben von Dixit ein Reaktionsprodukt, das nicht mit den spektroskopischen Eigenschaften der beschriebenen Substanz übereinstimmte.

Im folgenden wird ein Syntheseweg beschrieben, der es ermöglicht, Sphagnumsäure herzustellen.

Versuchsergebnisse

90 g Acetondicarbonsäure werden mit 300 ml, auf -10°C im Solebad vorgekühlter, 95prozentiger Schwefelsäure versetzt und dem Ansatz anschließend 60 g Phenol zugegeben. Nach 24-stündigem Rühren bei $+7^{\circ}\text{C}$ wird das Gemisch auf -10°C abgekühlt und langsam unter ständigem Rühren mit 400 ml Eis versetzt. Die Temperatur darf dabei 0°C nicht übersteigen; der Ansatz wird milchig trüb. Beim Aufbewahren im Kühlschrank bei $+5^{\circ}\text{C}$ fällt ein bräunlicher Niederschlag aus, der über eine G4-Fritte abgetrennt wird. Der Niederschlag löst sich langsam in 300–400 ml $75\text{--}85^{\circ}\text{C}$ heißem Wasser. Nach dem Aufbewahren im Kühlschrank fallen gelblich-weiße Kristalle aus, die durch zweimaliges Umkristallisieren aus $\text{H}_2\text{O}/\text{Ethanol}$ (99:1) gereinigt werden. Die so gewonnene Kristallfraktion wird erneut in H_2O gelöst und die wäßrige Phase zwei-

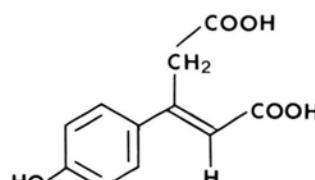


Fig. 1. Sphagnumsäure (*p*-Hydroxy- β -[carboxymethyl]-zimtsäure).

* Sonderdruckanforderungen an D. Wächter.

0341-0382/84/0300-0311 \$ 01.30/0



mal mit 200 ml Chloroform ausgeschüttelt. Nach Einengen der Epiphase fallen im Kühlschrank farblose bis schwach gelbliche Kristalle aus, die sich dünnsschichtchromatographisch als einheitlich erweisen. Die Kristalle schmelzen, wie der Naturstoff, unter Gasentwicklung bei 181 °C. Aus dem Massenspektrum ergibt sich das Molekulargewicht mit 222. Das Fragmentierungsmuster m/e 204, 178, 160 und 134 ist mit dem des Naturstoffs identisch und ist durch Wasser- sowie CO₂-Abspaltung sowie durch anschließende Wasser- und CO₂-Eliminierung aus dem Ion m/e 178 verständlich. Aus der Elementaranalyse ergibt sich bei einem Molekulargewicht von 222 die Summenformel C₁₁H₁₀O₅. Die IR- und UV-Spektren sind ebenfalls mit denen des von Tutschek *et al.* [1] und Tutschek [3] isolierten Natur-

stoff identisch. Die Ausbeute an Sphagnumsäure beträgt 10%.

Da Sphagnumsäure somit synthetisch zugängig ist, sind Wege eröffnet, die Aufschluß über eine mögliche biologische Bedeutung dieser Substanz bringen können.

So fällt beim Betrachten der lebenden, grünen Sphagnumdecke auf, daß sie weitgehend von Bakterien- und Pilzbefall verschont bleibt. Für zahlreiche phenolische Substanzen anderer Pflanzenarten konnten bereits antimikrobielle Eigenschaften nachgewiesen werden [9]. Darüber hinaus ermöglicht synthetische Sphagnumsäure *in vitro*-Abbauversuche, die Aufschluß über die Identität und Bedeutung von Abbauprodukten *in vivo* geben können.

- [1] R. Tutschek, H. Rudolph, P. H. Wagner u. R. Kreher, Biochem. Physiol. Pflanzen **164**, 461 (1973).
- [2] H. Rudolph, Manuskript abgeschlossen.
- [3] R. Tutschek, Z. Pflanzenphysiol. **76**, 353 (1975).
- [4] H. Rudolph, Manuskript abgeschlossen.
- [5] R. Tutschek, Z. Pflanzenphysiol. **94**, 317 (1979).
- [6] V. M. Dixit, J. Indian Chem. Soc. **8**, 787 (1931).
- [7] R. Kreher u. U. Frank, Forschungsarbeit, unveröffentlicht.
- [8] W. Butte, Diplomarbeit Universität Kiel (1973).
- [9] J. B. Harborne u. F. Friend, in Recent Advances in Phytochemistry, Vol. 12, Biochemistry of Plant Phenolics, Plenum Press, New York and London 1979.