

Zur Struktur der Kämpferol-Glycoside Leucosid und Leucovernid aus *Leucojum vernum* L., I¹⁾

Synthese von 3,4',5,7-Tetrahydroxyflavon-3-O-(2-O- α -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranosid)

V. Mohan Chari und Hildebert Wagner*

Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München,
D-8000 München 2, Karlstr. 29

Eingegangen am 4. Juni 1975

Zum Strukturbeweis des als Kämpferol-3-O-(2-O- α -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranosid) (1) identifizierten Leucosids aus *Leucojum vernum* L. wurde 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranose (5) durch Reaktion von α -Acetobrom-D-xylose mit 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranose nach einer modifizierten *Helferich*-Methode synthetisiert und dessen α -Acetobromderivat mit 4',7-Di-O-benzylkämpferol gekuppelt. Nach Entfernung der Schutzgruppen wurde 1 erhalten. Dieses zeigte jedoch keine Identität mit dem natürlichen Leucosid. NMR-Analysen und andere Methoden führten zu der Struktur Kämpferol-3-O- β -sambubiosid für Leucosid und Kämpferol-3-O- β -sambubiosid-7-O- β -D-glucopyranosid für Leucovernid.

**The Structure of Leucoside and Leucovernide,
two Kaempferol Glycosides from *Leucojum vernum* L., I¹⁾**

Synthesis of 3,4',5,7-Tetrahydroxyflavone 3-O-(2-O- α -D-Xylopyranosyl- β -D-glucopyranoside)

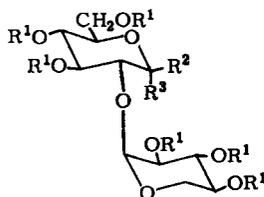
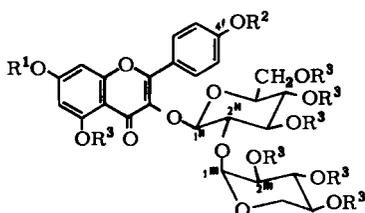
To confirm the structure of leucoside from *Leucojum vernum* L. (snow drop), to which the structure of kaempferol 3-O-(2-O- α -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranoside) (1) was assigned, 1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranose (5) has been synthesized by reaction of α -acetobromo-D-xylose with 1,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranose according to a modified *Helferich* method. Condensation of its α -acetobromo derivative with 4',7-di-O-benzylkaempferol and removal of the protecting groups yielded 1. This showed, however, no identity with the natural leucoside. By n.m.r. and other methods the structure of leucoside could be elucidated as kaempferol 3-O- β -sambubioside. Leucovernide is therefore kaempferol 3-O- β -sambubioside 7-O- β -D-glucopyranoside.

Im Jahre 1967 wurden in unserem Arbeitskreis²⁾ aus den Blüten von *Leucojum vernum* L. (Schneeglöckchen) zwei neue Kämpferolglycoside, Leucosid und Leucovernid, isoliert, die beide bei der sauren Hydrolyse neben dem Aglycon Kämpferol Xylose und Glucose lieferten. Für Leucosid wurde auf Grund der Ergebnisse der partiellen Hydrolyse

¹⁾ Auszugsweise vorgetragen auf dem IV. Hungarian Bioflavonoid Symposium in Keszthely, Ungarn, am 22. September 1973.

²⁾ L. Hörhammer, H. Wagner und K. Beck, Z. Naturforsch. 22B, 8, 988 (1967); K. Hein, Dissertation, Univ. München 1965.

die Struktur eines Kämpferol-3-*O*-(2-*O*- α -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranosids) (**1**) abgeleitet. Da Leucovernid bei der partiellen Hydrolyse neben Kämpferol-3-glucosid noch Kämpferol-7-*O*-glucosid ergab, sollte in ihm Kämpferol-3-*O*-(2-*O*- α -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranosid)-7-*O*- β -D-glucopyranosid (**2**) vorliegen.



	R ¹	R ²	R ³
1	H	H	H
2	β -D-Glucosyl	H	H
3	C ₆ H ₅ CH ₂	C ₆ H ₅ CH ₂	H
4	C ₆ H ₅ CH ₂	C ₆ H ₅ CH ₂	CH ₃ CO

	R ¹	R ²	R ³
5	CH ₃ CO	CH ₃ CO ₂	H
6	CH ₃ CO	H	Br
7	CH ₃ CO	CH ₃ O	H
8	CH ₃ CO	C ₆ H ₅ CH ₂ O	H
9	H	CH ₃ O	H

Das Disaccharid, das damals bei der partiellen Hydrolyse von Leucosid und Leucovernid erhalten wurde, verhielt sich bei der α -Glucosidase-Spaltung und Papierelektrophorese verschieden von 2-*O*- β -D-Xylopyranosyl- β -D-glucopyranose (Sambubiose) und 6-*O*- β -D-Xylopyranosyl- β -D-glucopyranose (Primverose). Aus diesem Grund wurde in dem Disaccharid das Vorliegen der isomeren bisher noch nicht beschriebenen 2-*O*- α -L-Xylopyranosyl- β -D-glucopyranose (Leucoverose) vermutet.

Zum Strukturbeweis von Leucosid versuchten wir dessen Synthese aus dem von uns bereits früher hergestellten 4',7-Di-*O*-benzylkämpferol³⁾ und dem α -Bromderivat der bisher noch nicht synthetisierten 1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranose (**5**).

Zur Darstellung von **5** kondensierten wir α -Acetobrom-D-xylose mit 1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranose in Nitromethan und in Gegenwart von Quecksilbercyanid und -bromid nach einer modifizierten Helferich-Methode⁴⁾. Das erhaltene sirupöse Produkt erwies sich erwartungsgemäß als ein 1- α -Heptaacetat-Gemisch von α - und β -verknüpften Disacchariden. Die Beweisführung erfolgte durch Entacetylierung des Reaktionsproduktes mit Natriummethylat und nachfolgende Reduktion mit Natriumborhydrid. Das in D₂O aufgenommene NMR-Spektrum des Gemisches der beiden Alditglycoside zeigte zwei Dubletts bei $\delta = 5.15$ ($J = 3$ Hz) und 4.6 ppm ($J = 8$ Hz) mit einem Integrationsverhältnis von 1 : 1.36. Diese stammen von den äquatorialen bzw. axialen interglycosidischen Protonen der beiden Alditglycoside⁵⁾.

Die GC-Analyse des Alditglycosidgemisches in Form der Trimethylsilyläther bestätigte das Vorliegen eines Gemisches der beiden α - und β -verknüpften Disaccharide. Da die

³⁾ H. Wagner, H. Danninger, O. Seligmann, M. Nogradi, L. Farkas und N. Farnsworth, Chem. Ber. **103**, 3678 (1970).

⁴⁾ B. Helferich und J. Zirner, Chem. Ber. **95**, 2604 (1962).

⁵⁾ J. M. Van der Veen, J. Org. Chem. **28**, 564 (1963).

1- β -Peracetate im allgemeinen ein besseres Kristallisationsvermögen als die 1- α -Peracetate zeigen, wurde das Reaktionsprodukt über die α -Acetobromzucker in das 1- β -Heptaacetatgemisch umgewandelt⁶⁾.

Aus äthanolischer Lösung wurde **5** in 15proz. Ausbeute kristallin erhalten. Die Kondensation von α -Acetobrom-D-xylose mit der von uns nach einer wesentlich verbesserten Methode hergestellten 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranose⁷⁾ anstelle des α -Anomeren erbrachte unter sonst gleichen Bedingungen eine Ausbeute an **5** von nur 7%.

Die Darstellung des α -Acetobromzuckers von **5** wurde in üblicher Weise mit HBr in Eisessig durchgeführt. Der erhaltene α -Acetobromzucker **6** war nicht kristallisierbar, erwies sich aber nach DC und NMR-Spektrum als einheitlich. Zum Strukturbeweis wurde aus **6** nach einer von Schroeder und Green⁸⁾ modifizierten Königs-Knorr-Reaktion mit Methanol in Gegenwart von HgO und HgBr₂ Methyl-3,4,6-tri-O-acetyl-2-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranosid (**7**) hergestellt. Entacetylierung nach Zemlén⁹⁾ ergab Methyl-2-O- α -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranosid (**9**). Dessen NMR-Spektrum in D₂O sprach auf Grund der Kopplungskonstanten $J = 8$ und 3 Hz für die beiden Dubletts der Anomerenprotonen für die α -Konfiguration der zwischenglycosidischen Bindung. Die Werte der Kopplungskonstanten sind außerdem für die Pyranoseform der beiden Monosen beweisend. Die 1 \rightarrow 2-Verknüpfung im Disaccharid wurde durch vergleichende GC der aus **9** erhaltenen partiell methylierten Alditacetate bewiesen¹⁰⁾.

Die Kupplung von **6** mit 4',7-Di-O-benzylkämpferol erfolgte in Pyridin und in Gegenwart von Silbercarbonat und Drierite. Das Reaktionsprodukt wurde entacetyliert, wobei 4',7-Di-O-benzylkämpferol-3-O-(2-O- α -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranosid) (**3**) erhalten wurde. Beweisend für die β -glycosidische Verknüpfung in **4** war das Erscheinen des Dubletts des Anomerenprotons bei $\delta = 5.88$ ppm mit einer Kopplungskonstante von 7 Hz. Katalytische Entbenzylierung von **3** gab Kämpferol-3-O-(2-O- α -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranosid) (**1**) vom Schmp. 201–203°C. Ein Vergleich des synthetischen Glycosids mit dem isolierten Naturstoff zeigte keine Übereinstimmung. Die Schmelzpunktsdifferenz betrug 12°C. Im Misch-Schmelzpunkt mit dem natürlichen Glycosid entstand eine Depression von etwa 7°C. Dünnschichtchromatographisch hatten beide Glycoside unterschiedliche Laufgeschwindigkeit. Auf Zellulose mit 15proz. Essigsäure gab das synthetische Produkt einen R_F -Wert von 0.51, das natürliche Glycosid von 0.65. Verschieden waren auch die CD-Kurven. Synthetisches Glycosid zeigte bei 251 nm einen $\Theta \times 10^3$ -Wert von +11.19. Beim natürlichen betrug dieser nur +1.53. Es lag daher der Verdacht nahe, daß es sich bei der Xylosylglucose des natürlichen Leucosids doch um die Sambubiose mit β -verknüpften Zuckern handelte.

Wir führten daher eine Nachisolierung von Leucosid in größerem Maßstab durch. Der Pertrimethylsilyläther des natürlichen Leucosids lieferte im NMR-Spektrum u. a. ein breites Signal bei $\delta = 5.45$ ppm mit einer Kopplungskonstante von ca. 8 Hz für das 1-Proton der Xylose und ein Dublett bei $\delta = 6.1$ ppm mit einer Kopplungskonstante von

⁶⁾ M. L. Wolfrom und A. Thomson, Methods in Carbohydrate Chemistry, ed. by R. L. Whistler und M. L. Wolfrom, Vol. 2, S. 21, Academic Press, New York 1963.

⁷⁾ V. M. Chari und H. Wagner, Veröffentlichung in Vorbereitung.

⁸⁾ L. R. Schroeder und J. W. Green, J. Chem. Soc. C 1966, 530.

⁹⁾ G. Zemlén und E. Pacsu, Ber. Deut. Chem. Ges. 62, 1613 (1929).

¹⁰⁾ H. Björndal, C. G. Hellergvist, B. Lindberg und S. Svensson, Angew. Chem. 82, 643 (1970); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 9, 610 (1970).

ebenfalls 8 Hz für das 1-Proton der Glucose. Übereinstimmend damit findet man bei pertrimethylsilylierten Flavonoidbiosiden mit β -verknüpften Zuckern ein breites Signal bei ungefähr $\delta = 5.4$ ppm mit $J = 7-9$ Hz für das interglycosidische Anomeren-Proton¹¹⁾.

Das NMR-Spektrum des Leucosid-nonaacetats in Gegenwart von $\text{Eu}(\text{fod})_3$ brachte den Beweis für die β -Verknüpfung zwischen Glucose und Xylose. Ohne Verschiebungsreagens erschien das Signal des 1"-Protons bei $\delta = 5.9$ ppm (d, $J = 8$ Hz). Das Signal des 1"-Protons war unter denen der anderen Zuckerprotonen verborgen. Durch Zugabe von $\text{Eu}(\text{fod})_3$ verschoben sich die Signale der beiden anomeren Protonen nach $\delta = 6.17$ (d, $J = 8$ Hz) und 5.65 ppm (d, $J = 8$ Hz). Die hohen Kopplungskonstanten der beiden Dubletts bestätigten die β -Konfiguration der beiden glycosidischen O-Bindungen und außerdem die Pyranosestruktur der beiden Zucker⁵⁾. Aus permethyliertem Leucosid wurden die partiell methylierten, deuterierten Alditacetate hergestellt und zur Bestätigung der 1 \rightarrow 2-Verknüpfung durch kombinierte GLC-Massen-Spektrometrie analysiert. Die Ergebnisse beweisen, daß Leucosid tatsächlich die Struktur Kämpferol-3-O- β -sambubiosid und Leuconernid die Struktur Kämpferol-3-O- β -sambubiosid-7-O- β -D-glucopyranosid besitzt. Die Synthese von Leucosid ist im Gange.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemie danken wir für Sachbeihilfen. V. M. Chari dankt der Alexander-von-Humboldt-Stiftung für ein Forschungsstipendium (1968–1970). Für die Aufnahme der CD-Kurven von Leucosid und synthetischem Glycosid danken wir herzlichst Herrn Prof. Dr. G. Snatzke, Universität Bochum. Für die GLC-massenspektrometrische Analyse von Leucosid-permethylyäther sind wir Herrn Prof. B. Lindberg, Universität Stockholm, zu Dank verpflichtet.

Experimenteller Teil

Alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert. – NMR: Varian 60 MHz mit TMS als innerem Standard, wenn nicht anders angegeben. – GC: Perkin-Elmer 900 und Packard 7500. – DC: Kieselgel F₂₅₄-Fertigplatten (Merck), Schichtdicke 0.25 mm.

1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranose (5)

a) Eine Lösung von 5.5 g (16 mmol) 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranose, 2.7 g (11 mmol) Quecksilbercyanid und 3.8 g (10 mmol) Quecksilberbromid in 60 ml Nitromethan wurde mit 5.8 g (17 mmol) 2,3,4-Tri-O-acetyl- α -D-xylopyranosylbromid und 10 g Drierite bei Raumtemp. unter Feuchtigkeitsausschluß 6 h geschüttelt. Die Lösung wurde filtriert, zur sirupösen Konsistenz eingengt und in 100 ml Chloroform aufgenommen. Die filtrierte Chloroform-Lösung wurde zweimal mit 50 ml wäbr. 1 M KBr-Lösung, anschließend mit 50 ml Wasser gewaschen und mit CaCl_2 getrocknet. Nach erneutem Filtrieren wurde zu einem Sirup eingengt, der nicht zum Kristallisieren gebracht werden konnte. Ausb. nach Konstanttrocknung 9.8 g.

0.6 g des Rückstandes wurden in 20 ml absol. Methanol gelöst und mit 3 Tropfen einer 2proz. methanolischen Natriummethylatlösung versetzt. Nach Neutralisieren mit Eisessig wurde nach Zugabe von 0.1 g NaBH_4 2 h stehengelassen. Die gebildete Borsäure wurde durch Destillation mit wasserfreiem Methanol (3 mal 50 ml) entfernt.

NMR (D_2O , int. DSS, 70°C): $\delta = 5.15$ ppm (d, 1H, 1'-H des 2-O- α -D-Xylosyl-glucits, $J = 3$ Hz), 4.60 (d, 1H, 1'-H des 2-O- β -D-Xylosyl-glucits, $J = 8$ Hz) (Integration 1 : 1.36). – Die TMS-Äther

¹¹⁾ T. J. Mabry, K. R. Markham und M. B. Thomas, The Systematic Identification of Flavonoids, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1970.

des 2-*O*-(α,β)-Xylosyl-glucit-Gemisches, hergestellt nach Sweeley und Mitarbb.¹²⁾, wurden durch GC auf einer 1% SE-30 Säule (180 × 0.2 cm) auf HP Chromosorb WAW-DMCS (100–120 mesh) aufgetrennt. Retentionszeiten, bezogen auf Sucrose-octakis(trimethylsilyl)äther ($T_s = 1$): $T_s = 1.05$ und 1.17.

b) 25 ml getrocknete und gewaschene CHCl_3 -Lösung von a) wurden mit 40proz. HBr in 20 ml Eisessig bei Raumtemp. 20 min behandelt, die Lösung mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen, mit CaCl_2 getrocknet und bei 30°C zum Sirup eingengt. Dieser wurde in 25 ml Eisessig gelöst, 2 h bei Raumtemp. mit 4 g (12.6 mmol) Quecksilberacetat umgesetzt, die Lösung anschließend mit 30 ml CHCl_3 verdünnt, mehrmals mit Wasser gewaschen und mit CaCl_2 getrocknet. Die CHCl_3 -Lösung wurde eingengt und der Rückstand aus Äthanol kristallisiert. 1.43 g (15%) **5**, farblose Kristalle vom Schmp. 178–179°C, $[\alpha]_D^{24} = +104^\circ$ ($c = 0.474$ in CHCl_3). – NMR (CDCl_3): $\delta = 2.05\text{--}2.18$ ppm (21 H, 7 CH_3CO); 3.5–5.25 (12 H, Zuckerprotonen); 5.7 (d, 1 H, $J = 8$ Hz, 1-H).

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_{17}$ (606.5) Ber. C 49.51 H 5.65 7 CH_3CO 49.65

Gef. C 49.45 H 5.61 CH_3CO 49.96

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -*D*-xylopyranosyl)- α -*D*-glucopyranosylbromid (**6**): Eine Lösung von 1.0 g **5** in 10 ml trockenem Dichlormethan wurde bei 0°C mit 40proz. HBr in 10 ml Eisessig versetzt und 2 h bei dieser Temp. stehengelassen. Die Lösung wurde dann mit 30 ml Dichlormethan verdünnt, 2 mal mit je 30 ml Eiswasser, anschließend mit gesätt. wäbr. NaHCO_3 -Lösung und schließlich mit Wasser gewaschen, mit CaCl_2 getrocknet und bei 30°C zu einem Sirup eingengt. Dieser (1.0 g, 97%) konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden. DC (Toluol/Äthylacetat 1:1) zeigte nur einen Fleck bei R_f 0.4. – NMR (CDCl_3): $\delta = 1.9\text{--}2.1$ ppm (18 H, 6 CH_3CO); 3.6–5.6 (12 H, Zuckerprotonen); 6.45 (d, 1 H, $J = 4$ Hz, 1-H).

Methyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -*D*-xylopyranosyl)- β -*D*-glucopyranosid (**7**)

a) 1.4 g des sirupösen Acetobromzuckers **6** in 10 ml trockenem Dichlormethan wurden mit 20 ml absol. Methanol, 1.5 g gelbem Quecksilberoxid, 0.1 g Quecksilberbromid und 5 g Drierite, vor Feuchtigkeit geschützt, 12 h geschüttelt. Es wurde filtriert und das Filtrat zu einem Sirup eingengt. Aus Methanol farblose Nadeln, 0.70 g (52%), Schmp. 146–147°C, $[\alpha]_D^{24} = +106^\circ$ ($c = 1.06$, in CHCl_3). – NMR (CDCl_3): $\delta = 2.1$ ppm (18 H, 6 CH_3CO); 3.5 (s, 3 H, CH_3O); 3.6 bis 5.52 (13 H, Zuckerprotonen).

$\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_{16}$ (578.5) Ber. C 49.82 H 5.88 1 CH_3O 5.36 6 CH_3CO 45.56

Gef. C 49.31 H 5.68 CH_3O 5.52 CH_3CO 44.66

b) Zur Strukturanalyse wurden 0.5 g **7** mit Natriummethylat in üblicher Weise zu **9** entacetyliert. Die Methanollösung wurde nach Behandlung mit dem Ionenaustauscher Dowex® (H^\oplus -Form) zur Sirupdicke eingengt. – NMR (D_2O mit $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{D}$ -Zusatz, int. DSS): $\delta = 4.53$ ppm (d, 1 H, $J = 8$ Hz, 1-H); 5.32 (d, 1 H, $J = 3$ Hz, 1'-H).

Das Methylbrosid wurde nach Hakomori¹³⁾ permethyliert. Die Hydrolyse des Permethylierungsproduktes erfolgte durch 2stdg. Erhitzen bei 100°C mit Kiliani-Mischung (Eisessig/Salzsäure/Wasser = 35:10:35). Die gebildeten partiellen Methyläther wurden in üblicher Weise in die Alditacetate übergeführt.

Die GC-Trennung der partiell methylierten Alditacetate erfolgte bei einer Gasflußrate von 30 ml/min (Helium) auf einer 3proz. ECNSS-M-Säule (180 × 0.2 cm) auf Gaschrom Q (100 bis 200 mesh) bei 180°C. Retentionszeiten, bezogen auf 1,5-Di-*O*-acetyl-2,3,4,6-tetra-*O*-methyl-*D*-glucit ($T_G = 1.0$), für 1,5-Di-*O*-acetyl-2,3,4-tri-*O*-methyl-*D*-xylyl $T_G = 0.65$, für 1,2,5-Tri-*O*-acetyl-3,4,6-tri-*O*-methyl-*D*-glucit $T_G = 1.97$.

¹²⁾ C. C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita und W. W. Wells, J. Amer. Chem. Soc. **85**, 2495 (1963).

¹³⁾ S. Hakomori, J. Biochem. (Tokyo) **55**, 205 (1964).

Benzyl-3,4,6-tri-O-acetyl-2-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranose (8): 1.36 g **6** in 10 ml trockenem Dichlormethan wurden mit 10 ml frisch dest. Benzylalkohol, 1.5 g gelbem Quecksilberoxid, 0.1 g Quecksilberbromid und 5 g Drierite unter Feuchtigkeitsausschluß 24 h geschüttelt. Anschließend wurde mit 50 ml CHCl_3 verdünnt, vom Quecksilberoxid und Drierite abfiltriert und mit 10proz. wäßr. KBr-Lösung gewaschen. Die eingeeengte CHCl_3 -Lösung wurde zur Entfernung des überschüss. Benzylalkohols mit Wasserdampf destilliert. Das zurückbleibende Produkt wurde abfiltriert. Aus Äthanol kristallisierten 0.78 g (55%) farblose Nadeln vom Schmp. 124–126°C. $[\alpha]_D^{24} = +50.4^\circ$ ($c = 0.405$ in CHCl_3). – NMR (CDCl_3): $\delta = 1.9$ – 2.2 ppm (18H, $6\text{CH}_3\text{CO}$); 3.6–5.6 (15H, Zuckerprotonen); 7.4 (s, 5H, Phenylprotonen).

$\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_{16}$ (654.6) Ber. C 55.04 H 5.85 Gef. C 54.90 H 5.64

4',7-Di-O-benzylkämpferol-3-O-(2-O- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranosid (3): Eine Lösung von 2.5 g **6** und 1.4 g *4',7-Di-O-benzylkämpferol* in 15 ml Pyridin wurde nach Zugabe von 1.5 g Silbercarbonat und 5 g Drierite 6 h unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß geschüttelt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend mit 20 ml Methanol verdünnt und zur Entfernung der Silbersalze durch eine Schicht von Kieselgel abgesaugt. Das zu sirupöser Konsistenz eingeeengte orangebraune Filtrat wurde in 20 ml wasserfreiem Methanol aufgenommen, mit 2 ml 0.2 M methanolischer Natriummethylatlösung 20 min unter Rückfluß gekocht, mit methanolischem Eisessig angesäuert, das Ganze zu einer klebrigen Masse eingeeengt und kurz mit 20 ml Aceton erwärmt. Der gelbe nichtlösliche Rückstand lieferte aus Aceton/Methanol/Wasser (3 : 3 : 1) 0.59 g (26%) blaßgelbe Nadelchen vom Schmp. 217–219°C, $[\alpha]_D^{25} = +14.2^\circ$ ($c = 0.31$ in Pyridin).

$\text{C}_{40}\text{H}_{40}\text{O}_{15}$ (760.7) Ber. C 63.15 H 5.3 Gef. C 62.65 H 4.98

5-O-Acetyl-4',7-di-O-benzylkämpferol-3-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranosid (4): Eine Lösung von 0.10 g **3** in 5 ml Pyridin wurde mit 5 ml Acetanhydrid 1 h auf 100°C erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde in üblicher Weise aufgearbeitet. Das Heptaacetat fiel aus methanolisch-wäßriger Lösung als cremefarbener amorpher Niederschlag aus. Schmp. 113–115°C, $[\alpha]_D^{25} = +69.2^\circ$ ($c = 1.03$, in CHCl_3).

NMR (CDCl_3): $\delta = 1.82$ – 2.07 ppm (18H, $6\text{CH}_3\text{CO}$); 2.42 (s, 3H, CH_3CO , C-5); 5.15 (s, 4H, OCH_2Ph); 3.63–5.6 (13H, Zuckerprotonen); 5.88 (d, 1H, $J = 7$ Hz, 1-H der Glucose); 6.65 (d, 1H, $J = 3$ Hz, 6-H); 6.85 (d, 1H, $J = 3$ Hz, 8-H); 7.05 (d, 2H, $J = 9$ Hz, 3'-,5'-H); 7.38 (s, 10H, Phenylprotonen); 7.86 (d, 2H, $J = 9$ Hz, 2'-,6'-H).

$\text{C}_{54}\text{H}_{54}\text{O}_{22}$ (1055.0) Ber. C 61.47 H 5.15 Gef. C 61.05 H 4.97

Kämpferol-3-O-(2-O- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranosid (1): Eine Lösung von 0.39 g **3** in 60 ml absol. Methanol wurde unter Erwärmen (50–60°C) mit Pd-C als Katalysator 4 h hydriert. Die Reaktion, die mit DC verfolgt wurde, verlief quantitativ. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde die Lösung auf 10 ml eingeeengt. Bei Kühlschranktemp. fiel ein gelber amorpher Niederschlag aus. Kristallisation aus Äthanol (96proz.) lieferte 0.18 g (62%) würfelförmige Kristalle vom Schmp. 201–203°C; $[\alpha]_D^{26} = +31.8^\circ$ ($c = 1.45$, in Pyridin). DC (Zellulose, 15proz. Essigsäure): R_f 0.51.

NMR (CCl_4); TMS-Äther: $\delta = 3.5$ – 4.8 ppm (13H, Zuckerprotonen); 5.45 (d, 1H, $J = 3$ Hz, äq. 1''-H); 6.1 (d, 1H, $J = 8$ Hz, ax. 1''-H); 6.15 (d, 1H, $J = 3$ Hz, 6-H); 6.45 (d, 1H, $J = 3$ Hz, 8-H); 6.85 (d, 2H, $J = 9$ Hz, 3'-,5'-H); 7.9 (d, 2H, $J = 9$ Hz, 2'-,6'-H). – CD (Äthanol): $\lambda(\Theta \times 10^3) = 330$ nm (–2.06), 307 (+1.16), 289 (–0.85), 270 (–1.0), 251 (+11.19), 217 (–1.8).

$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{15} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (598.5) Ber. C 52.17 H 5.05 Gef. C 51.88 H 4.77

Isolierung von Leucosid aus Leucosium vernum L.: 1 kg gefriergetrocknete Blüten wurden mit 3 Liter Methanol 48 h im Soxhlet und der braune Extrakt anschließend in einem Perforator stufenweise mit Petroläther (30 h), Äther (12 h) und n-Butanol (72 h) extrahiert. Der Butanol-

auszug, der Leucosid und Leucovernid enthielt, wurde zu einem rotorangefarbenen Sirup eingengt. Die Auftrennung der Glycoside des in 100 ml Äthanol gelösten Sirups erfolgt durch präparative DC auf 20×20 cm (0.25 mm)-Kieselgelplatten (Merck) im System Äthylacetat/Methanol/Wasser (100:16.5:7). Die Platten wurden zweimal entwickelt. Unter dem UV-Licht ergab das Chromatogramm zwei fluoreszierende Zonen: rötlichbraun (R_F 0.32) und gelblichbraun (R_F 0.22). Die obere rötlichbraune Zone hatte denselben R_F -Wert wie das authent. Leucosid, während die untere Zone sich wie Leucovernid verhielt. Die Leucosid-haltige Zone wurde in einem Soxhlet mit Methanol extrahiert. Die gelbe Lösung (20 ml) wurde durch eine Glasfritte abgenutscht und zur Trockene eingengt. Der gelbe Rückstand wurde aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 190–191°C.

CD (Äthanol): $\lambda(\Theta \times 10^3) = 340 \text{ nm} (-1.15), 307 (+0.42), 267 (+1.09), 251 (+1.53)$. – NMR (CCl_4); Leucosid-TMS-äther: $\delta = 3.55\text{--}4.8$ ppm (11H, Zuckerprotonen); 5.45 (breites Signal, 1H, 8 Hz, ax. 1''-H); 6.1 (d, 1H, $J = 8$ Hz, ax. 1''-H); 6.15 (d, 1H, $J = 3$ Hz, 6-H); 6.50 (d, 1H, $J = 3$ Hz, 8-H); 6.85 (d, 2H, $J = 9$ Hz, 3'-,5'-H); 8.1 (d, 2H, $J = 9$ Hz, 2'-,6'-H).

GLC-Massenspektrometrie der partiell methylierten, deuterierten Alditacetate: 1,5-Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-methyl-[1-D]xylyl: T_G 0.65; m/e (%): 162 (8), 161 (8), 118 (33), 117 (37), 102 (36), 101 (39), 45 (14), 44 (14), 43 (100). 1,2,5-Tri-O-acetyl-3,4,6-tri-O-methyl-[1-D]glucit: T_G 1.97; m/e (%): 205 (4), 190 (38), 161 (47), 145 (15), 130 (78), 129 (71), 101 (24), 100 (17), 88 (32), 87 (27), 45 (44), 44 (13), 43 (100).

Leucosid-nonaacetat: Das in üblicher Weise mit Acetanhydrid und Pyridin hergestellte Acetat fiel aus Äthanol (96%) amorph aus. Schmp. 148–150°C.

NMR (CDCl_3): $\delta = 1.85\text{--}2.6$ ppm (27H, $9\text{CH}_3\text{CO}$); 3.5–5.4 (12H, Zuckerprotonen); 5.9 (d, 1H, $J = 8$ Hz, ax. 1''-H); 6.9 (d, 1H, $J = 3$ Hz, 6-H); 7.2–7.4 (m, 3H, 8-,3'-,5'-H); 8.15 (d, 2H, 2'-,6'-H).

Vergleich physikalischer Daten von Leucosid und synthet. Glycosid

	DC-Zellulose (15proz. Essigsäure)	CD (Äthanol) 251 nm ($\Theta \times 10^3$)	NMR (CCl_4)	
			1''-H $\delta(J)$	TMS-Äther 1'''-H $\delta(J)$
Natürl. Leucosid	0.65	+ 1.53	6.1 ppm d (8 Hz)	5.45 ppm b (8 Hz)
Synthet. Glycosid	0.51	+ 11.19	6.1 ppm d (8 Hz)	5.40 ppm d (4 Hz)

[240/75]