

ÜBER DIE FLAVONOIDE UND FLAVONOID-GLYKOSIDE AUS DEN RHIZOMEN VON *LOPHOPHYTUM LEANDRI* EICHL.¹

KLAUS WEINGES und ROGER KOLB

Organisch-Chemisches Institut der Universität Heidelberg, 6900 Heidelberg, Tiergartenstraße 14,
West Germany

und

PETER KLOSS

Forschungslaboratorium der Firma Dr. Willmar Schwabe GmbH, 7500 Karlsruhe-Durlach,
Dr. Willmar Schwabe-Straße, West Germany

(Received 18 May 1970)

Zusammenfassung—Der alkoholische Extrakt der getrockneten Rhizome von *Lophophytum leandri* Eichl. besteht zu ca. 50 Prozent aus polymeren Procyanidinen. In geringen Mengen konnten (±)-Eriodictyol, (+)-Taxifolin und (–)-Epicatechin sowie Glucoside von Eriodictyol, Naringenin, Quercetin und Epicatechin als Peracetate kristallin isoliert werden.

Abstract—The alcoholic extract of dried rhizomes of *Lophophytum leandri* Eichl. is composed of ca. 50 per cent polymeric procyanidins. (±)-Eriodictoyl, (+)-taxifolin and (–)-epicatechin, as well as glucosides of eriodictyol, naringenin, quercetin and epicatechin, could be isolated in lesser yield as crystalline peracetates.

Lophophytum leandri Eichl. (Fam. *Balanophoraceae*) ist ein chlorophyllfreier Parasit, der auf Wurzeln verschiedener Baumarten in tropischen und subtropischen Wäldern Mittel- und Südamerikas wächst. Die vegetativen Teile dieses Wurzelparasiten sind stark reduziert und bestehen lediglich aus einem etwa faustgroßen, mit Schuppen bedeckten Rhizom. Blätter oder blattartige Organe sind nicht vorhanden.

Das fleischige Rhizom sitzt direkt der Nährwurzel auf, deren Rindengewebe an der Berührungsstelle zerstört wird, so daß die Gefäßbündel der Wirtspflanze in den Grund der Knolle eintreten können. Auf diese Weise gelingt es dem Parasiten, einen engen Kontakt zwischen seinem Gefäßsystem und dem der Wirtspflanze herzustellen.

Ihren Namen verdanken die *Lophophytum*-Arten der auffälligen Gestalt ihres Blütenstandes (λόφος = Haarschopf). Exogen entstehende, knollenartige Auszweigungen des Rhizoms gehen allmählich in den bis zu 30 cm langen, aus dem Boden hervortretenden Blütenstand über. Er ist in seinem oberen Teil von zahlreichen gelben männlichen Blütenköpfchen besetzt, während man im unteren, oft vom Laub verborgenen Teil die in kleinerer Zahl auftretenden chromgelb bis rötlich gefärbten weiblichen Blüten findet.

Die *Lophophytoideae* wurden bisher weder chemisch noch pharmakologisch untersucht². *Lophophytum leandri*, eine der vier Arten des Genus *Lophophytum*, darf als typischer

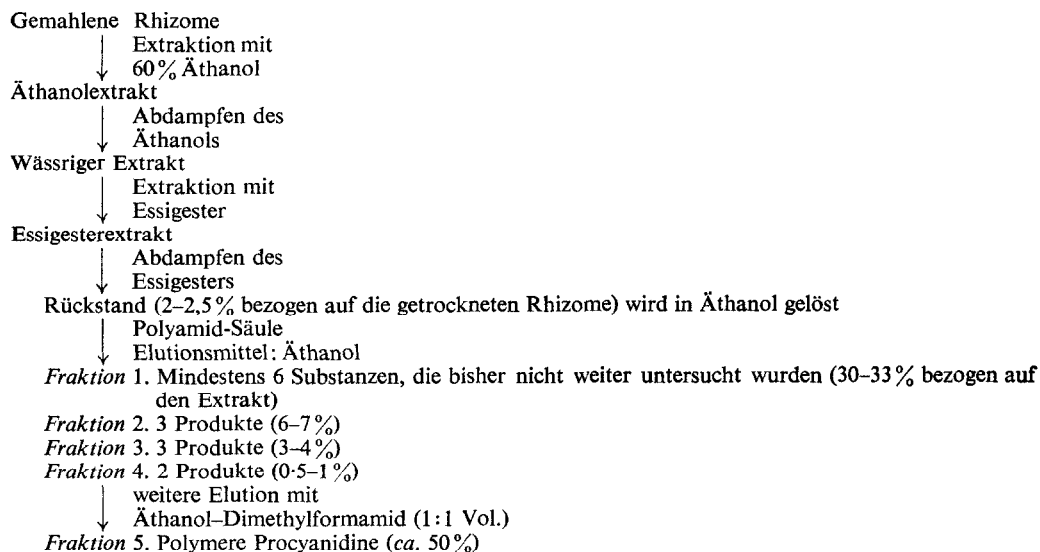
¹ XIV. Mitteilung 'Phenolische Naturstoffe'; XIII. Mitteilung: K. WEINGES, R. MÜLLER, P. KLOSS und H. JAGGY, *Liebigs Ann. Chem.* **736**, 170 (1970).

² R. HEGNAUER, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Band 3, pp. 224–227, Birkhäuser-Verlag, Stuttgart (1964).

Vertreter der gesamten Familie angesehen werden. Für die chemischen Untersuchungen standen uns getrocknete, dunkelbraune Rhizome zur Verfügung.

Das Schema 1 gibt eine Übersicht über die von uns ausgeführte Extraktion der gemahlten Rhizome und Trennung des Extraktes.

SCHEMA 1. EXTRAKTION DER GEMAHLENE RHIZOME UND TRENNUNG DES EXTRAKTES.



Den Hauptanteil (ca. 50%) des Extraktes bildet Fraktion 5, die polymere Procyanidine enthält. Sie entstehen sehr wahrscheinlich durch säurekatalysierte Selbstkondensation eines 5,7,3',4'-Tetrahydroxy-flavan-3,4-diols (Leucocyanidins), deren Reaktionsmechanismus von uns aufgeklärt wurde³. Wenn wir das monomolekulare Leucocyanidin nicht haben isolieren können, so liegt das daran, daß es durch die Trocknung vollständig in die höhermolekularen Produkte übergeführt wurde.

TABELLE 1. PHYSIKALISCHE KONSTANTEN DER PERACETYLIERTEN FLAVONOIDE UND FLAVONOID-GLUCOSIDE AUS *Lophophytum leandri* EICHL.

Fraktion	R_f^*	Schmp.	$[\alpha]_{578}^{20\dagger}$	Identifiziert als
2	0,48	141–142°	—	Tetraacetyl-(±)-eriodictyol
2	0,40	152–154°	–19,9°	Hexaacetyl-naringenin-7-glucosid
2	0,35	164–166°	–21,0°	Heptaacetyl-eriodictyol-7-glucosid
3	0,47	147–148°	+13,6°	Pentaacetyl-(+)-taxifolin
3	0,28	213–215°	–82,5°	Octaacetyl-quercetin-7-glucosid
4	0,40	150–151°	–12,9°	Pentaacetyl-(–)-epicatechin
4	0,29	165–166°	–13,8°	Octaacetyl-epicatechin-(5 oder 7)-glucosid

* DC-Fertigplatten der Fa. Merck, Darmstadt. Fließmittel: Benzol–Aceton (8:2 Vol.).

† c=1 in absol. Aceton.

³ K. WEINGES, W. BÄHR, W. EBERT, K. GÖRITZ und H.-D. MARX, *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe* (hrsg. v. L. ZECHMEISTER), Band 27, p. 201, Springer-Verlag, Wien (1969).

Die Fraktion 1, die vor allem aus öligen Substanzen besteht, wurde bisher nicht weiter untersucht. Die Fraktionen 2–4 (ca. 10–12%) enthalten 3 Flavonoide und 4 Flavonoid-Glucoside, deren R_f -Werte sehr nahe beieinander liegen. Aus diesem Grunde wurden die einzelnen Fraktionen mit Acetanhydrid/absol. Pyridin bei Raumtemperatur acetyliert und die Acetatgemische an einer Kieselsäure/Celite-Säule getrennt. Alle chromatographisch reinen Peracetate sind kristallin.

Tetraacetyl-(±)-eriodictyol, Pentaacetyl-(+)-taxifolin und Pentaacetyl-(–)-epicatechin wurden mit authentischen Proben verglichen. Heptaacetyl-eriodictyol-7-glucosid und Octaacetyl-quercetin-7-glucosid wurden durch ihre Analysen, NMR-Spektren und durch die in der Literatur^{4,5} angegebenen Schmelzpunkte identifiziert. Bei Hexaacetyl-naringenin-glucosid und Octaacetyl-epicatechin-glucosid muß auf Grund der NMR- und Massenspektren die Glucose mit der Hydroxylgruppe an C-Atom 5 oder 7 verknüpft sein (s. Tabelle I.).

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunkte wurden mit der Apparatur nach Dr. Tottoli der Fa. Büchi (Flawil, Schweiz) bestimmt und sind unkorrigiert. Die DC-Fertigplatten mit Kieselgelschicht der Fa. Merck (Darmstadt, Westdeutschland) wurden mit konz. $H_2SO_4/40\%$ HCHO-Lösung (9:1) besprüht und bei 120° entwickelt. Die säulen-chromatographischen Trennungen wurden an Polyamid-Säulen eigener Herstellung und Kieselsäure–Celite-Säulen (5:1) der Fa. Roth (Karlsruhe, Westdeutschland) durchgeführt. Die Massenspektren wurden mit einem Massenspektrometer CH-4 der Fa. Atlas (Bremen, Westdeutschland) und einem doppelfokussierenden Massenspektrometer (Bell & Howell CEC 21-110, hochauflösend, U.S.A.) aufgenommen. Die Drehwerte wurden mit dem Polarimeter 141 der Fa. Perkin-Elmer gemessen.

Extraktion der Rhizome

1,7 kg der braunen, luftgetrockneten und grob gemahlenen Pflanzenknollen werden mit 6 l. 60% ÄtOH aufgeschlämmt und unter mehrmaligem Umschütteln 24 Stdn. stehengelassen. Man filtriert zunächst durch Faltenfilter, preßt dann die Filtrerrückstände in einem Leinensack aus und behandelt sie nochmals in der beschriebenen Weise mit 60% ÄtOH. Von den vereinigten Filtraten und Preßflüssigkeiten (ca. 12 l.) wird bei 12 Torr und maximal 50° das ÄtOH abgezogen. Die zurückbleibende rotbraune wässrige Lösung wird so oft mit Essigester ausgeschüttelt, bis die organische Phase nur noch schwach gelb gefärbt ist. Man erhält etwa 3 l. tiefroten Essigesterextrakt, der über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet wird. Anschließend destilliert man den Essigester bei 12 Torr und 40° vollständig ab. Es verbleiben ca. 40–44 g eines Phenol-Gemisches, das in 100 ccm ÄtOH gelöst und mit einer Perlon-Säule zunächst grob getrennt wird.

Bereitung der Perlon-Säule

Das erforderliche Perlonpulver wird nach der von Weinges *et al.*⁶ angegebenen Vorschrift hergestellt; durch Sieben trennt man daraus die Anteile mit der erwünschten Korngröße ab.

In eine Glassäule (5,5 cm Ø; 150 cm Länge), die unten mit einer G3-Glasfritte und einem Hahn versehen ist, gibt man zunächst 30 g grobkörniges (Siebmaschenzahl: 400–3600 Maschen/cm²), in ÄtOH aufgeschlämmtes Perlonpulver, das man gut absitzen läßt. Danach beschickt man die Säule mit 750 g in ÄtOH aufgeschlämmtem feinerem Perlonpulver (Siebmaschenzahl: 3600–16,900 Maschen/cm²) und eluiert so lange mit ÄtOH, bis sich das Pulver fest abgesetzt hat. Um später ein leichteres Einziehen des Extraktes zu ermöglichen, werden darüber noch 30 g des gröberen Perlonpulvers geschichtet. Anschließend wäscht man die Säule 24 Stdn. mit ÄtOH monomerenfrei.

Auftrennung des Extraktes

100 cm³ des äthanolischen Extraktes, der ca. 40 g Phenol-Gemisch enthält, läßt man langsam in die Säule einziehen. Zur weiteren Eluierung wird ÄtOH verwendet. Mit einem Fraktionssammler werden pro Reagenzglas 15–20 cm³ aufgefangen. Jedes 5. Glas wird dünnschichtchromatographisch untersucht (Laufmittel: Benzol–Essigester–Eisessig, 3:4:3 Vol.). Auf Grund der Dünnschichtchromatogramme teilt man das

⁴ L. HÖRHAMMER, H. WAGNER, H. KRÄMER und L. FARKAS, *Tetrahedron Letters* 5133 (1966).

⁵ A. G. PERKIN, *J. Chem. Soc.* **95**, 2181 (1909).

⁶ K. WEINGES, W. KALTENHÄUSER, H.-D. MARX, E. NADER, F. NADER, J. PERNER und D. SEILER, *Liebigs Ann. Chem.* **711**, 184 (1968).

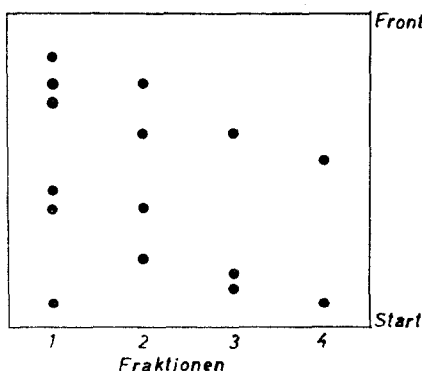


ABB. 1. SCHEMATISIERTES DÜNNSCSCHICHTCHROMATOGRAMM DER FRAKTIONEN 1–4
Laufmittel: Benzol–Essigester–Eisessig, 3:4:3, Vol.

Eluat in die in der Abb. 1 wiedergegebenen vier Fraktionen (1–4) ein. Wenn dünnschichtchromatographisch keine Produkte mehr im Äthanol-eluat nachzuweisen sind, wird mit ÄtOH–Dimethylformamid (1:1, Vol.) weiter eluiert. Nach einigen Stdn. erhält man eine gelb gefärbte Fraktion, die die polymeren Procyanidine enthält. Die polymeren Procyanidine und die Fraktion 1 wurden bisher nicht weiter untersucht.

Acetylierung der Fraktionen 2–4

Das Lösungsmittel der Fraktionen 2–4 wird im Vak. bei 40° Badtemperatur abdestilliert und der Rückstand im Vakuumexsiccator über P_2O_5 getrocknet. Die einzelnen Fraktionen werden mit Acetanhydrid-absol. Pyridin (5:4 Vol.) bei Raumtemperatur 12 Stdn. acetyliert. Die Acetylierungsgemische gießt man auf Eiswasser und knetet die ausgefallenen Produkte so lange mit einem Glasstab, bis sie fest geworden sind. Die festen Substanzen werden abgesaugt, mit kaltem Wasser gut ausgewaschen und an der Luft getrocknet.

Trennung der Acetat-Fractionen

Die Acetatgemische werden auf einer Kieselsäure–Celite-Säule (5:1) mit Benzol–Aceton (9:1) als Elutionsmittel getrennt.

Fraktion 2

(±)-Tetraacetyl-eriodictyol. Farblose Nadeln aus Äthanol. Schmp. 141–142°. $C_{23}H_{20}O_{10}$ (456,4); Ber. C 60,58 H 4,43 $COCH_3$ 37,71; Gef. C 60,31 H 4,40 $COCH_3$ 38,36%.

NMR-Spektrum. (60 MHz, in $CDCl_3$): τ = 2,75 (m, 3H), 3,38 (m, 2H), 4,57 (m, 1H), 6,74–7,40 (m, 2H), 7,65 (s, 3H), 7,75 (s, 9H).

Massenspektrum. MZ 414 (M^+ -42), 372, 330, 288. Das Produkt wurde mit authentischem (±)-Tetraacetyl-eriodictyol verglichen. Beide Produkte erwiesen sich in allen physikalischen Eigenschaften als identisch.

Hexaacetyl-naringenin-7-glucosid. Farblose Kristalle aus MeOH. Schmp. 152–154°; $[\alpha]_{578}^{20} = -19,9^\circ$ (c=1 in absol. Aceton) $C_{33}H_{34}O_{16}$ (686,6); Ber. C 57,73 H 4,96 $COCH_3$ 37,61; Gef. C 57,94 H 5,01 $COCH_3$ 38,05%.

NMR-Spektrum. (60 MHz, in $CDCl_3$): τ = 2,67 (m, 3H), 3,50 (m, 2H), 4,34–5,15 (m, 5H), 5,65–6,33 (m, 3H), 6,70–7,38 (m, 2H), 7,63 (s, 3H), 7,70 (s, 3H), 7,96 (s, 12H). Nach der Hydrolyse lassen sich Naringenin und Glucose chromatographisch nachweisen.

Heptaacetyl-eriodictyol-7-glucosid. Farblose, zu Büscheln vereinte Nadeln aus Äthanol. Schmp. 164–166° (Lit.⁴ Schmp. 164–166°) $[\alpha]_{578}^{20} = -21,0^\circ$ (c=1 in absol. Aceton). $C_{35}H_{36}O_{18}$ (744,6); Ber. C 56,50 H 4,87 $COCH_3$ 40,47; Gef. C 56,38 H 4,76 $COCH_3$ 39,21%.

NMR-Spektrum. (60 MHz, in $CDCl_3$): τ = 2,62 (m, 3H), 3,53 (m, 2H), 4,39–5,14 (m, 5H), 5,67–6,31 (m, 3H), 6,74–7,40 (m, 2H), 7,65 (s, 3H), 7,72 (s, 6H), 8,00 (s, 12H). Durch Hydrolyse erhält man Eriodictyol und Glucose.

Fraktion 3

Pentaacetyl-(+)-taxifolin. Farblose Nadeln aus Äthanol. Schmp. 147–148°; $[\alpha]_{578}^{20} = +13,6^\circ$ (c=1 in absol. Aceton). $C_{25}H_{22}O_{12}$ (514,4); Ber. C 58,41 H 4,31 $COCH_3$ 41,83; Gef. C 58,31 H 4,28 $COCH_3$ 42,01%.

Massenspektrum. M^+ 514. Fragmente: MZ 472 (M^+ -42), 430, 412, 388, 370, 346, 328, 286, 236, 208, 194, 166, 152, 124, 123.

NMR-Spektrum. (60 MHz, in CDCl_3) $\tau = 2,66$ (m, 3H), 3,29 (m, 2H), 4,17–4,73 (m, 2H), 7,63 (s, 3H), 7,73 (s, 9H), 7,97 (s, 3H).

Octaacetyl-quercetin-7-glucosid. Farblose Nadeln aus Äthanol. Schmp. 213–215° (Lit.⁵ Schmp. 215–216°); $[\alpha]_{578}^{20} = -82,5^\circ$ (c = 1, in absol. Aceton). $\text{C}_{37}\text{H}_{36}\text{O}_{20}$ (800,7); Ber. C 55,50 H 4,50 COCH_3 43,00; Gef. C 55,67 H 4,64 COCH_3 43,25%.

NMR-Spektrum. (60 MHz, in CDCl_3) $\tau = 2,20$ –2,78 (m, 3H), 3,16 (m, 2H), 4,57–5,08 (m, 4H), 5,68–6,21 (m, 3H), 7,60 (s, 3H), 7,70 (s, 9H), 7,94 (s, 12H). Die Hydrolyse liefert Quercetin und Glucose.

Fraktion 4

Pentaacetyl-(–)-epicatechin. Kristalle aus Äthanol. Schmp. 150–151°. $[\alpha]_{578}^{20} = -12,9^\circ$ (c=1, in absol. Aceton). Das Produkt wurde mit authentischem Pentaacetyl-(–)-epicatechin verglichen. Alle physikalischen Eigenschaften erwiesen sich als identisch.

Octaacetyl-epicatechin-(5 oder 7)-glucosid. Farblose Nadeln aus Äthanol. Schmp. 165–166°; $[\alpha]_{578}^{20} = -13,8^\circ$ (c=1,6 in absol. Aceton). Die Summenformel $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{O}_{19}$ (788,7) wurde durch 'peak matching' bestimmt.

Massenspektrum. M^+ 788. Fragmente: MZ 729 ($\text{M}^+ - 59$), 728 ($\text{M}^+ - 60$), 457 ($\text{M}^+ - 331$), 415, 397, 372, 355, 331, 313, 271, 229, 211, 169, 157, 145, 127, 126, 115, 103, 98, 73.

NMR-Spektrum. (60 MHz, in CDCl_3) $\tau = 2,72$ (m, 3H), 3,53 (m, 2H), 4,40–5,14 (m, 6H), 5,70–6,30 (m, 3H), 7,10 (m, 2H), 7,72 (s, 9H), 7,90–8,05 (m, 12H), 8,10 (s, 3H).