

DIE FLAVONOLGLYKOSIDE VON *EQUISETUM SILVATICUM*

HASSAN-FAHMI ALY* und HANS GEIGER

Abteilung Organische Chemie der Universität Hohenheim (L.H.) D-7000 Stuttgart-70

und

URSULA SCHÜCKER, HUGH WALDRUM, GEORGE VANDER VELDE und TOM J. MABRY

Cell Research Institute and Department of Botany, University of Texas at Austin, TX 78712, U.S.A.

(Eingegangen 2 Januar 1975)

Key Word Index—*Equisetum silvaticum* L.; Equisetaceae; flavonoids; kaempferol glycosides; quercetin glycosides.

Abstract—Ten glycosides of kaempferol and quercetin, including the hitherto unknown kaempferol and quercetin 3-rutinoside-7-rhamnosides, have been isolated from *Equisetum silvaticum* L.

In Fortführung früherer Arbeiten über Flavonolglykoside in Equisetaceen [1], haben wir die Flavonoidausstattung von *Equisetum silvaticum* L. untersucht. Eine Untersuchung über *E. silvaticum* nordamerikanischer Herkunft, die während der Durchführung der vorliegenden Arbeit veröffentlicht wurde [2] führte zu stark abweichenden Resultaten. Ob dies auf das Vorkommen verschiedener chemischer Rassen zurückzuführen ist, muss dahin gestellt bleiben, da uns nur Material europäischer Herkunft zur Verfügung stand. Unsere Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Von den in Tabelle 1 aufgeführten Glycosiden waren die beiden 3-Rutinoside-7-rhamnoside **1** und **7** bislang unbekannt [3], ihre Konstitution ergibt sich aus folgenden Befunden: (a) Die totale Säurehydrolyse von **1** und **7** liefert neben den Aglykonen **6** und **12** jeweils Glucose und Rhamnose im Verhältnis 1:2 (b) Bei der partiellen Säurehydrolyse [4] von **1** und **7** wird die Bildung der 7-Rhamnoside **5** und **11** beobachtet. (c) Die alkalische Hydrolyse [5] von **1** und **7** liefert die 3-Rutinoside **3** und **9**. (d) Die unter verschiedenen Bedingungen aufgenommenen UV-Spektren [6]

zeigen, dass beide Glykoside keine freien OH-Gruppen in 3- und 7-Stellung besitzen, und dass die OH-Gruppen in 4'-Stellung und bei **7** auch in 3'-Stellung frei sind. (e) Die NMR-Spektren der Per-trimethylsilyläther [6] von **1** und **7** stehen im Einklang mit deren Konstitution als 3-Rutinoside-7-rhamnoside (Tabelle 2). Nach anfänglichen Schwierigkeiten wurden von den Hydraten von **1** und **7** auch einwandfreie Elementaranalysenwerte erhalten. Nach dem Trocknen liefern die beiden Glykoside dagegen Elementaranalysen, die vermuten lassen, daß die beim Entwässern entstehenden Lücken im Kristallgitter teilweise von Sauerstoffmolekülen besetzt werden können.

Die beiden 3-Glucosid-7-rhamnoside **2** und **8** sind schon mehrfach in Pflanzen aufgefunden worden [7–10]. Da kein authentisches Material zum unmittelbaren Vergleich zur Verfügung stand, wurde die Identität dieser beiden Glykoside auf chemischem und spektroskopischem Weg bewiesen (vgl. Tabelle 2). Die Spektren von **8** konnten unmittelbar mit publizierten Spektren verglichen werden [6].

Die Identität der übrigen Glykoside wurde durch unmittelbaren Vergleich mit authentischem Material bewiesen. Bei der Betrachtung der Ergebnisse fällt auf, daß die Glykoside **2–5** und **8–11** weiter nichts sind als biosynthetische

* Aus der Dissertation von H.-F. Aly, Hohenheim, 1973.
Neue Anschrift von H.-F. A.: Fa. Sanol-Arzneimittel, Dr. Schwarz G.m.b.H. D-4019 Monheim.

Tabelle 1. Ausbeuten, Wesentliche Abbauprodukte und R_f -Werte der Glykoside aus *Equisetum silvaticum*

	Aus- beute (mg/kg)	Wesentliche Abbauprodukte		2% NaCl	5% HAc	10% HAc	$R_f \times 100$		20% HAc	TBA	BEW
		(a) Sauer	(b) Alka- lisch				15% HAc	5% HAc			
Kämpferol-3-rutinosid-7-rhamnosid (1)	361	5, 6	3	40	61	64	76	79	54	37	
Kämpferol-3-glucosid-7-rhamnosid (2)	296	5, 6	4	28	48	55	67	70	65	52	
Kämpferol-3-rutinosid (3)	29	6		20	37	45	57	63	69	60	
Kämpferol-3-glucosid (4)	99	6		09	21	37	44	49	79	73	
Kämpferol-7-rhamnosid (5)	53	6	6	02	04	05	11	19	79	84	
Kämpferol (6)	< 10			00	00	01	03	08	87	98	
Quercetin-3-rutinosid-7-rhamnosid (7)	163	11, 12	9	30	51	56	67	70	37	28	
Quercetin-3-glucosid-7-rhamnosid (8)	131	11, 12	10	28	37	44	57	62	50	41	
Quercetin-3-rutinosid (9)	122	12		27	32	40	51	56	56	43	
Quercetin-3-glucosid (10)	202	12		05	15	19	30	37	63	56	
Quercetin-7-rhamnosid (11)	< 10	12	12	00	01	02	06	13		65	
Quercetin (12)	< 10			00	00	00	01	03		66	

NaCl = wässrige NaCl-Lösung; HAc = wässrige Essigsäure; TBA = tert. Butanol-Essigsäure-Wasser (3:1:1); BEW = n-Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:5)

Vorstufen und/oder Abbauprodukte von 1 und 7. 1 und 7 sind die eigentlichen charakteristischen Glykoside von *E. silvaticum*. Die charakteristischen Glykoside von *E. silvaticum* nordamerikanischer Herkunft wären dem gegenüber Kämpferol-3,7-diglucosid und Quercetin-3-diglucosid-7-glucosid.

EXPERIMENTELLES

Das Pflanzenmaterial, sterile und ergrünte fertile Sprosse von *Equisetum silvaticum* L., wurde im Juni und Juli 1970 bei Oppenweiler/Krs. Backnang gesammelt und von einem von uns (H.G.) identifiziert. Ein Belegexemplar befindet sich im Herbarium der Universität Hohenheim (Nr. H. G.-1)

Die spektroskopischen Messungen und die G-C-Bestimmung der Zucker wurden wie loc. cit. [6] beschrieben durchgeführt. Die partielle saure Hydrolyse der Glykoside erfolgte wie loc. cit. [4] beschrieben. Die partielle alkalische Hydrolyse wurde wie loc. cit. [5] beschrieben ausgeführt.

Die Isolierung der Glykoside erfolgte in Anlehnung an früher veröffentlichte Methoden [11]. Zur Extraktion der Glykoside wurde das mit CH_2Cl_2 vorextrahierte, lufttrockene Material mit $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ (9:1) erschöpfend perkoliert. Bei der SC an Polyamid-6 mit H_2O , dem steigende Mengen ÄtOH (0–90%) zugefügt wurden, als Eluens ist die Reihenfolge der Elution 1 + 7, 2 + 8, 3 + 9, 4 + 10, 5 + 11 und 6 + 12. Die

an Polyamid-6 nicht trennbaren Paare einander entsprechender Kämpferol- und Quercetin-glykoside lassen sich an vernetztem Polyvinylpyrrolidon mit $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ -Gemischen (z. B. 1:1 für 1/7 und 9:1 für 5/11) als Eluens trennen, wobei stets das Kämpferolglykosid schneller als das entsprechende Quercetinglykosid eluiert wird. Zur Feinreinigung wurden zum Schluss die schon chromatographisch einheitlichen Glykoside noch über Sephadex LH20 mit $\text{Me}_2\text{CO-MeOH-H}_2\text{O}$ (2:1:1) als Eluens chromatographiert. Zur Analyse wurden die Glykoside aus den weiter oben genannten Gründen über einer viel Bodenkörper enthaltenden Lösung von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ in H_2O getrocknet, was einer Konditionierung bei ca 55% rel. Luftfeuchte entspricht.

Im einzelnen wurden erhalten: Kämpferol-3-rutinosid-7-rhamnosid (1). Aus $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ hellgelbe, feine seidenglanzende Nadeln vom Schmp. 194–195°. $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{19} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (866,8) Ber.: C 45,73; H 6,28 Aglykon 32,98; glc: rha 1:2; Gef.: C 45,78, H 6,44; Aglykon 32,32; glc: rha 1:1, 98. Kämpferol-3-glucosid-7-rhamnosid (2) Aus $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ Büschel von feinen gelben Nadelchen, Schmp. 252–253° (Lit.: 248–249° [8]) $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (648,6) Ber.: C 50,00; H 5,59; Aglykon 44,14; glc: rha 1:1, Gef.: C 49,80; H 5,77; Aglykon 43,53; glc: rha 1:1. Kämpferol-3-rutinosid (3). Aus $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ gelbe, kugelige Aggregate. Schmp. und Misch-Schmp. mit einem Präparat aus *Ginkgo biloba* L. 185–190° [12]. Auch chromatographisch sind beide Präparate identisch. Kämpferol-3-glucosid (4). Gelbe Nadelchen aus $\text{MeOH-H}_2\text{O}$. Schmp. und Misch-Schmp. mit einem Präparat aus *Aesculus hippocastanum* L. 178° [13]. Auch chromatographisch sind beide Präparate identisch. Kämpferol-7-rhamnosid (5). Aus $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ derbe

Tabelle 2. NMR-Daten der Glykoside 1, 2, 7 und 8. Angegeben sind jeweils die Schwerpunkte der Multipletts ppm bezogen auf TMS als Standard

Glykosid	2', 6'	Aromatische Protonen				Zuckerprotonen			
		3', 5'	5'	6	8	H-1 (7-O -rham)	H-1 (3-O -glc)	H-1 von Ruti- nose)	Me (rham)
Kämpferol-3-rutinosid-7-rhamnosid (1)	7-8	6-85		6-35	6-75	5-2	5-85	4-25	1-2
Kämpferol-3-glucosid-7-rhamnosid (2)	7-6	6-80		6-35	6-75	5-2	5-85		1-2
Quercetin-3-rutinosid-7-rhamnosid (7)	7-4		6-75	6-35	6-85	5-2	5-8	4-25	1-2
Quercetin-3-glucosid-7-rhamnosid (8)	7-5		6-75	6-35	6-85	5-25	5-8		1-2

gelbe Nadeln vom Schmp. 228–230° (Lit.: 230° [14]). Chromatographisch identisch mit dem Produkt der partiellen sauren Hydrolyse von Robinin. *Quercetin-3-rutinosid-7-rhamnosid* (7) Büschel von gelben Nadelchen aus MeOH–H₂O. Schmp. 196–198°. C₃₃H₄₀O₂₀ · 9H₂O (918,8) Ber.: C 43,14; H 6,36; Aglykon 32,89; glc: rha 1:2; Gef.: C 43,04; H 6,50; Aglykon 32,67; glc: rha 1:1,96. *Quercetin-3-glucosid-7-rhamnosid* (8) Aus MeOH–H₂O lange gelbe Nadeln vom Schmp. 190–192° (Lit.: 188–190° [10]. C₂₇H₃₀O₁₆ · 5H₂O (700,6) Ber.: C 45,14; H 5,61; Aglykon 42,93; glc: rha 1:1 Gef.: 45,20; H 5,68 Aglykon 42,17; glc: rha 1:0,99. *Quercetin-3-rutinosid* (9) Aus MeOH–H₂O Drusen von gelben Nadelchen. Schmp. und Misch-Schmp. mit einem Präparat aus *Ginkgo biloba* L. 190–192° [12]); auch chromatographisch sind beide Präparate identisch. *Quercetin-3-glucosid* (10). Kleine, gelbe Nadelchen aus MeOH–H₂O. Schmp. und Misch-Schmp. mit einem Präparat aus *Fagus silvatica* L. [15] 220–222°; auch chromatographisch sind beide Präparate identisch. *Quercetin-7-rhamnosid* (11). Aus MeOH–H₂O gelbe Nadelchen vom Schmp. 274° (zers.) (Lit.: 274–276° [9]); chromatographisch identisch mit dem Produkt der partiellen sauren Hydrolyse von 7 und 8.

Anmerkung—Dem Fonds der Chemischen Industrie dankt H.G. für die Gewährung von Sachmitteln. T.J.M. dankt der Robert A. Welch Foundation (Grant F-130) und der National Science Foundation (Grant G. B. 29576-X) für die Unterstützung der Arbeit. Herrn Prof. L. Hörhammer danken wir für die Überlassung einer Vergleichssubstanz. Herrn Gerhard Schwinger sei für seine geschickte Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche gedankt.

LITERATUR

1. Beckmann, S. und Geiger, H. (1963) *Phytochemistry* **2**, 281.
2. Saleh, N. A. M., Majack, W. und Towers, G. H. N. (1972) *Phytochemistry* **11**, 1095.
3. Vor längerer Zeit ist einmal der *R_f*-Wert eines angeblichen Quercetin-3-rhamnoglucosid-7-rhamnosids publiziert worden, weitere Angaben wurden jedoch nicht gemacht (vgl. Egger, K. (1961) *Z. Anal. Chem.* **182**, 161.
4. Harborne, J. B. (1965) *Phytochemistry* **4**, 107.
5. Litvinenko, V. I. und Makarov, V. A. (1969) *Khim. Prirodn. Soedin.* **5**, 366.
6. Mabry, T. J., Markham, K. R. und Thomas, M. B. (1970) *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verl., Berlin, Heidelberg, New York.
7. Hörhammer, L., Stich, L. und Wagner, H. (1961) *Arch. Pharm.* **294/66**, 685.
8. Olechnowicz-Stepien, W. (1968) *Dissertationes Pharm.* **20**, 73.
9. Kagan, J. (1968) *Phytochemistry* **7**, 1205.
10. Kowalewski, Z. und Wierzbicka, K. (1971) *Planta Med.* **20**, 328.
11. Beckmann, S. und Geiger, H. (1968) *Phytochemistry* **7**, 1667.
12. Geiger, H. und Beckmann, S. (1965) *Z. Naturforsch.* **20b**, 1139.
13. Hörhammer, L., Gehrmann, H. J. und Endres, L. (1959) *Arch. Pharm.* **292/64**, 113.
14. Zemplen, G. und Gerecs, A. (1935) *Ber. Deut. Chem. Ges.* **68**, 2054.
15. Dietrichs, H. H. und Schaich, E. (1959) *Naturwissenschaften* **50**, 478; Schühle, H. unveröffentlicht.