

## Ein neues Kämpferolacylglycosid aus *Phyllitis scolopendrium*

A New Acylated Kaempferol Glycoside from *Phyllitis scolopendrium*

Christian Karl, Peter Alsted Pedersen und Gerhard Müller

Weleda AG, D-7070 Schwäbisch-Gmünd

Z. Naturforsch. **35 c**, 826–828 (1980);  
received June 19, 1980

*Phyllitis scolopendrium* (L.) Newm., Polypodiaceae, Kämpferol, 3-O- $\beta$ -{(4-O-caFFEYL-3-O- $\beta$ -glucosyl)-glucoside}-7-O-rhamnoside, Enzymatic Hydrolysis,  $^{13}\text{C}$ -NMR

From methanolic extracts of fresh aerial parts of *Phyllitis scolopendrium* (L.) Newm. a new flavonoid, kaempferol 3-O- $\beta$ -{(4-O-caFFEYL-3-O- $\beta$ -glucosyl)-glucoside}-7-O-rhamnoside, was isolated and the structure determined by means of spectroscopic methods including  $^{13}\text{C}$ -NMR, and enzymatic hydrolysis.

Bei Untersuchung der Flavonoidführung verschiedener Polypodiaceen konnten wir aus den Wedeln von *Phyllitis scolopendrium* (L.) Newm. ein Acylflavonoid isolieren und in seiner Struktur aufklären.

Das zu 0,5% bez. auf Frischmaterial isolierte Flavonoid (**1**) lieferte bei saurer Hydrolyse Kämpferol, Kaffeesäure, Rhamnose, Glucose sowie eine im UV blau fluoreszierende Verbindung, die sich im Alkalischen spalten ließ in Kaffeesäure und eine Diglucose, die nicht mit Sophorose, Gentiobiose oder Cellobiose identisch war.

Die UV-Spektren von (**1**) zeigten, daß das Aglykon in Stellung 3 und 7 substituiert war [1]. Das IR-Spektrum wies bei  $1690\text{ cm}^{-1}$  eine für aromatische Ester charakteristische Bande auf. Bei Hydrolyse mit Sojaremanase NOVO, einer Enzym-Mischung, die u. a.  $\alpha$ -Rhamnosidase-Aktivität besitzt [2], konnten wir Rhamnose abspalten. Das resultierende Kämpferolglycosid (**Z 1**) wies nach dem UV-Spektrum eine freie OH-Gruppe in 7-Stellung auf. Wurde **Z 1** durch alkalische Hydrolyse entacyliert und anschließend mit Rhamnodiastase hydrolysiert, so erhielt man neben Kämpferol die oben erwähnte Diglucose. Weiter konnte mit einer Cellulase aus **Z 1** Glucose abgespalten werden, was z. B. mit einer  $\beta$ -Glucosidase nicht möglich war. Das verbleibende

Flavonoidglykosid (**Z 2**) ergab nach alkalischer Verseifung neben Kaffeesäure Kämpferol-3-O- $\beta$ -glucosid, das sich mit  $\beta$ -Glucosidase spalten ließ.

Zur weiteren Absicherung wurden die Methylal-ditolacetate von **1**, von **Z 1** und von der Diglucose mittels GC-MS untersucht. Wir erhielten bei allen 3 Substanzen 1.5-Di-O-acetyl-2.3.4.6-tetra-O-methylglucit und 1.3.5-Tri-O-acetyl-2.4.6-tri-O-methylglucit, im Fall von **1** außerdem noch 1.5-Di-O-acetyl-2.3.4-tri-O-methylrhamnit. Damit war die  $1 \rightarrow 3$ -Verknüpfung der Glucosen bestätigt; das Ergebnis zeigte, daß die Kaffeesäure wie zu erwarten bei der Derivatisierung abgespalten wurde.

Das PMR-Spektrum des TMS-Ethers von **Z 2** zeigte bei  $\delta 5,93$  das Dublett des anomeren Protons – mit einem 3-O-Glucosid übereinstimmend – und bei  $\delta 5,07$  ein Triplett für das H-C-O-Acyl. Vergleicht man letztere Daten mit den Angaben [3] für *p*-Cumarylglucosen, so scheidet neben der Substitution in 3'' auch die in 6'' aus. Berücksichtigt man ferner, daß unsere Signale der olefinischen Protone um  $0,20\text{--}0,24\text{ ppm}$  tiefer verschoben sind als in den Vergleichsspektren [3], so ergibt sich Übereinstimmung mit der Angabe für 4'' ( $\delta 4,79$ ), während der Unterschied zu 2'' ( $\delta 4,69$ ) zu groß sein dürfte. Ausgeschlossen werden konnte die 2''-Substitution durch die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren von **1** und **Z 4**, da die Acylierung im C-2 der Glucose zu einer Verschiebung des C-1 um  $4,5\text{ ppm}$  nach hohem Feld führt [4], d. h. in diesem Fall  $93\text{--}97\text{ ppm}$ , wo kein Signal zu sehen ist. Mit Hilfe der Spektren der 3-O-Glucosylglucosen [5] kann weiter festgestellt werden, daß **Z 4** ein  $\beta$ -Laminaribiosid ist, da die C-3-Signale der übrigen 3-O-Glucosylglucosen alle unter  $84,2\text{ ppm}$  liegen; für  $\beta$ -Laminaribiose wird  $86,7\text{ ppm}$  angegeben [5], in Übereinstimmung mit unserem Wert von  $87,1\text{ ppm}$ . Damit ist auch die Zuordnung der übrigen Signale so weit möglich (Tabelle I), daß die Verschiebung am C-O-Acyl (C-4'') mit etwa  $0,3$  nach tiefem Feld und die am C-3'' mit etwa  $4$  nach hohem Feld angegeben werden kann, Werte, die nicht wesentlich von den entsprechenden bei C-2-Substitution [5] abweichen.

Somit konnte nicht nur ein neues Flavonoid in seiner Struktur aufgeklärt und einige seiner Abbau-produkte, die auch nicht bekannt waren (**Z 1–Z 4**), charakterisiert werden, sondern auch ein Beitrag zur Entwicklung der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie für die Strukturaufklärung der Flavonoidglykoside geleistet werden.

Sonderdruckanforderungen an Dr. C. Karl.

0341-0382/80/0900-0826 \$ 01.00/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Tabelle I. Zuordnung der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten der Zuckerteile der Kämpferoltriglykoside ( $\delta$  ppm. rel. zu TMS).

Glykosid	*	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
K-7-O-Rha-3-O-Glu(O-kaffeyl) (3-1)Glu	3	98,4	73,2	83,2	70,0	76,4	60,5 <sup>a</sup>
	3''	103,2	72,8	76,8 <sup>c</sup>	70,0	77,2 <sup>c</sup>	61,0 <sup>a</sup>
	7	98,4	70,0	71,6	72,4	68,5	17,9
K-7-O-Rha-3-O-Glu(3-1)Glu	3	99,9 <sup>b</sup>	73,8	87,1	69,7	77,0 <sup>c</sup>	60,5 <sup>a</sup>
	3''	103,8	73,8	76,1 <sup>c</sup>	70,1	77,0 <sup>c</sup>	61,0 <sup>a</sup>
	7	98,4 <sup>b</sup>	70,1	71,9	73,0	68,2	17,8

a, b, c Zuordnungen mit denselben Buchstaben sind austauschbar.

\* Die Zahl gibt die Haftstelle des Zuckers an.

## Experimentelles

PMR: 60 MHz, Gerät Varian T-60 A. Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden auf einem Jeol FX 90 Q in DMSO- $d_6$  bei 22,53 MHz mit TMS als innerem Standard aufgenommen. Methoden im übrigen wie früher beschrieben [6].

**Isolierung:** 9,8 kg frische Wedel aus Anbau in Süddeutschland wurden mit MeOH mazeriert. Das Mazerat wurde zur Sirupdicke eingengt und mit heißem  $\text{H}_2\text{O}$  verdünnt. Dabei fiel das Flavonoid teilweise zusammen mit Chlorophyll aus. Der Niederschlag wurde getrocknet und durch Soxhlet-Extraktion mit Diethylether weitgehend vom Chlorophyll befreit. Dieses Rohprodukt wurde vereinigt mit den polaren Extrakten des wäßrigen Auszuges, die ebenfalls fast nur das Flavonoid enthielten. Ein Teil dieses Rohflavonoids wurde durch mehrfache SC an Sephadex LH 20 mit  $\text{CHCl}_3$ -MeOH-Gemischen gereinigt.

**Hydrolysen:** Die Enzymgemische und die Durchführung werden anderswo beschrieben [2].

**Chromatographie (DC):** I: Cellulose,  $\text{CHCl}_3$ :HOAc:  $\text{H}_2\text{O}$  55:45:10; II: Cellulose, HOAc 60%; III: Kieselgel, EtOAc:HCOOH: $\text{H}_2\text{O}$  70:14:21.

**Kämpferol-3-O-[(4-O-kaffeyl-3-O-glucosyl)-glucosid]-7-O-rhamnosid (1).** Schmp. 209 °C. DC ( $R_f$ -Werte) I: 0,21; II: 0,80; III: 0,31. UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm: (MeOH): 267, 339; (NaOMe): 271, 385; (MeOH/ $\text{AlCl}_3$ ): 273, 304, 363; ( $\text{AlCl}_3$ /HCl): 278, 301, 341; (NaOAc): 265, 298, 388; (NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$ ): 265, 305, 355. IR  $\nu_{\text{max}}$   $\text{cm}^{-1}$  (KBr): 1710, 1655. Die MS-Daten der Methylal-ditolacetate stimmen mit denen der Literatur [7] überein.

**Kämpferol-3-O-(4-O-kaffeyl-3-O-glucosyl)-glucosid (Z 1).** Schmp. 208 °C. DC ( $R_f$ -Werte) I: 0,28; II:

0,81; III: 0,50. UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm: (MeOH): 266, 306, 344; (NaOMe): 274, 333, 388; (MeOH/ $\text{AlCl}_3$ ): 273, 306, 362; ( $\text{AlCl}_3$ /HCl): 278, 305, 341; (NaOAc): 275, 315, 385; (NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$ ): 266, 312, 357.

**Kämpferol-3-O-laminaribiosid-7-O-rhamnosid (Z 4):** Schmp. 212 °C. DC ( $R_f$ -Werte) I: 0,28; II: 0,79; III: 0,24. UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm: (MeOH): 267, 353; (NaOMe): 275, 360, 392; (MeOH/ $\text{AlCl}_3$ ): 276, 303, 358, 398; ( $\text{AlCl}_3$ /HCl): 276, 299, 352, 398; (NaOAc): 266, 401; (NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$ ): 267, 299, 356.

**Kämpferol-3-O-laminaribiosid (Z 3):** Schmp. 198 °C. DC ( $R_f$ -Werte) I: 0,29; II: 0,75; III: 0,40. UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm: (MeOH): 268, 307, 353; (NaOMe): 276, 330, 405; (MeOH/ $\text{AlCl}_3$ ): 275, 306, 357, 398; ( $\text{AlCl}_3$ /HCl): 276, 304, 351, 398; (NaOAc): 275, 319, 398; (NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$ ): 268, 357.

**Kämpferol-3-O-(4-O-kaffeyl-glucosid) (Z 2):** DC I  $R_f$  0,35; III  $R_f$  0,87. UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm: (MeOH): 267, 306, 336; (NaOMe): 274, 335, 390; (MeOH/ $\text{AlCl}_3$ ): 273, 306, 363; ( $\text{AlCl}_3$ /HCl): 279, 305, 341; (NaOAc): 275, 333, 389; (NaOAc/ $\text{H}_3\text{BO}_3$ ): 266, 310, 355. NMR, TMS-Ether in  $\text{CCl}_4$  (TMS als innerer Standard) ( $\delta$  ppm): 8,12 (2H, d,  $J = 8$  Hz), 7,74 (1H, d,  $J = 16$  Hz), 7,25–6,75 (5H, m), 6,53 (1H, d,  $J = 2$  Hz), 6,42 (1H, d,  $J = 16$  Hz), 6,19 (1H, d,  $J = 2$  Hz), 5,93 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 5,07 (1H, t,  $J = 8$  Hz), 4,1–3,0 (5H, m).

## Dank

Unser Dank gilt dem Chemischen Laboratorium II der Universität Kopenhagen für die Aufnahme der NMR-Spektren und Herrn Dipl.-Ing. E. Larsen und Herrn H. Egsgaard, AEK Risø, für die Aufnahme der Gaschromatogramme und Massenspektren.

- [1] T. J. Mabry, K. R. Markham u. M. B. Thomas, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1970.
- [2] C. Karl, P. A. Pedersen u. G. Müller, in Vorbereitung.
- [3] L. Birkhofer, C. Kaiser, B. Hillges u. F. Becker, *Ann. Chem.* **725**, 196 (1969).
- [4] K. R. Markham, B. Ternai, R. Stanley, H. Geiger u. T. J. Mabry, *Tetrahedron* **34**, 1389 (1978).
- [5] T. Usui, N. Yamaoka, K. Matsuda, K. Tuzimura, H. Sugiyama u. S. Seto, *J. Chem. Soc. Perkin I* **1973**, 2425.
- [6] C. Karl, G. Müller u. P. A. Pedersen, *Planta Med.*, im Druck.
- [7] P. E. Jansson, L. Kenne, H. Liedgren, B. Lindberg u. J. Lönnngren, *A Practical Guide to the Methylation Analysis of Carbohydrates*, No. 8, 74 S., Chem. Commun. Univ. Stockholm 1976.