

# Flavon C-Glykoside aus *Metzgeria furcata* (Hepaticae)

Flavone C-Glycosides from *Metzgeria furcata* (Hepaticae)

R. Theodor, R. Mues und H. D. Zinsmeister

FB 16, Botanik, Universität des Saarlandes, D-6600 Saarbrücken

und K. R. Markham

DSIR, Chemistry Division, Private Bag, Petone, New Zealand

Z. Naturforsch. **38c**, 165–169 (1983); eingegangen am 29. September 1982

*Metzgeria*, Metzgeriaceae, Hepaticae, Apigenin-, Luteolin-, Tricetin Di-C-Glycosides

From *Metzgeria furcata* (L.) Dum. and *M. furcata* var. *ulvula* Nees. 12 different flavone C-glycosides were isolated and identified; 4 of them are common to both varieties. The detected compounds are three tricetin 6,8-di-C-glycosides, one of them 6-C- $\beta$ -D-glucopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyltricetin being a new compound, three luteolin C-glycosides and 6 apigenin C-glycosides. The occurrence of these flavone C-glycosides in *M. furcata* is discussed in relation to earlier work on flavonoids in Metzgeriaceae.

Im Rahmen chemotaxonomischer Untersuchungen an Metzgeriaceen haben wir bereits über Isolierung und Strukturaufklärung von Flavon C-Glykosiden aus *Apometzgeria pubescens* (Schrank) Kuwah. [1, 2], *Metzgeria conjugata* Lindb. und *M. leptoneura* Spruce [3] berichtet. In der Zwischenzeit stellte sich bei Überprüfung von *M. leptoneura* durch Dr. H. Inoue (Tokyo) heraus, daß es sich bei dem untersuchten Pflanzenmaterial nicht um diese Art sondern um *M. chilensis* Steph. handelte.

Es liegen bisher nur wenige phytochemische Untersuchungen an *M. furcata* vor. So erhielt Czappek [4] mit frischem Pflanzenmaterial eine sehr schwache direkte Zellulosereaktion, die nach vorherigem Kochen mit Natronlauge sehr stark ausfiel, sowie eine schwache Millonsche Reaktion. Lohmann [5] untersuchte Aschen-, Rohfett-, Rohfaser- und Gesamteiweißgehalt und bestimmte mit Hilfe der Wasserdampfdestillation die Menge an ätherischem Öl (0,01%, bezogen auf Trockenmasse). Ein Nachweis auf Alkaloide verlief negativ. Der in Lebermoosen weit verbreitete Wachstumsregulator Lunularsäure und dessen Decarboxylierungsprodukt Lunularin wurden von Gorham [6] nachgewiesen. In der vorliegenden Arbeit wird nun über die Flavonoide von *M. furcata* (Typusvarietät) und *M. furcata* var. *ulvula* berichtet.

## Ergebnisse

Alle aus den beiden Varietäten von *M. furcata* identifizierten Flavonoide sind in Tab. I zusammengestellt. Von den zwölf Flavonen wurden in der Varietät *ulvula* neun gefunden, vier davon auch in der Typusvarietät, während dort drei Flavone nachgewiesen wurden, die der Varietät *ulvula* zu fehlen scheinen. Ein weiteres Flavonglykosid, möglicherweise mit Glukuronsäureanteil, wurde nur in Spuren aus beiden Varietäten isoliert, so daß eine nähere Charakterisierung nicht möglich war. Im folgenden werden die einzelnen Substanzen und ihre Strukturaufklärung besprochen. Tabelle II enthält die chromatographischen und Tab. III die massenspektroskopischen Daten der Verbindungen, soweit sie nicht in früheren Arbeiten [1, 7] bereits publiziert sind. UV-Spektren finden sich in [1, 7, 9].

### Flavonoide aus *M. furcata* var. *ulvula*

#### Verbindungen 1–3 (Tricetin di-C-Glykoside)

Die Substanzen **1** und **3** erwiesen sich in ihren chromatographischen, UV-spektroskopischen und MS-Daten identisch mit zwei Tricetin di-C-Glykosiden aus *Apometzgeria pubescens* [2]. Co- und Vergleichschromatographie der Ausgangssubstanzen und ihrer permethylierten (PM) und perdeuteromethylierten (PDM) Derivate mit diesen Glykosiden ergab in allen Fließmitteln (s. Material u. Methoden) Übereinstimmung. Daraus ließen sich für **1** und **3** die in Tab. I angegebenen Strukturen ermitteln.

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. D. Zinsmeister.  
0341-0382/83/0300-0165 \$ 01.30/0



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.

Tab. I. Flavon C-Glykoside aus *M. furcata* var. *ulvula* (A) und *M. furcata* (B).

Substanz	Struktur
1	Tricetin 6,8-di-C- $\beta$ -D-glukopyranosid (A, B)
2	Tricetin 6-C- $\beta$ -D-glukopyranosid-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosid (A)
	Tricetin 6-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosid-8-C- $\beta$ -D-glukopyranosid (A)
4	Luteolin 6,8-di-C- $\beta$ -D-glukopyranosid (= Lucenin-2) (A)
5	Luteolin 6-C-arabinosid-8-C-hexosid (B)
6	Luteolin 6-C-hexosid (B)
7	Apigenin 6,8-di-C- $\beta$ -D-glukopyranosid (= Vicenin-2) (A, B)
8	Apigenin 6-C- $\beta$ -D-glukopyranosid-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosid (= Schaftosid) (A, B)
9	Apigenin 6-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosid-8-C- $\beta$ -D-glukopyranosid (= Isoschaftosid) (A, B)
10	Apigenin 6-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosid-8-C- $\beta$ -D-(2-O-ferulyl)-glukopyranosid (= Ferulylisoschaftosid) (A)
11	Apigenin 6-C-xylosid-8-C-hexosid (B)
12	Apigenin 6-C- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid-7-O- $\beta$ -D-glukopyranosid (= Isofurcain 7-O- $\beta$ -D-glukopyranosid) (A)

Verbindung **2** unterscheidet sich von **1** und **3** hauptsächlich durch den hRf-Wert. Im Massenspektrum sind auch die Molekularionen für PM- und PDM-Derivate die gleichen wie für **3**. Unterschiedlich sind dagegen die Intensitäten der Hexose- (PM:  $M^+ - 163$ ,  $-175$ ; PDM:  $M^+ - 173$ ,  $-184$ ) und Pentosefragmente (PM:  $M^+ - 119$ ,  $-131$ ,  $-145$ ; PDM:  $M^+ - 126$ ,  $-137$ ,  $-154$ ). Die Hexosefragmente von **2** sind höher als die Pentosefragmente, folglich befindet sich bei **2** nach Bouillant *et al.* [10] die Hexose an C-6 Position und die Pentose am C-8. Cochromatographie mit PM 6-C- $\beta$ -D-glukopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyltricin war in allen Fließmitteln identisch, so daß daraus für **2** die in Tab. I angegebene Struktur abgeleitet werden konnte.

#### Verbindung **4** (Luteolin di-C-Glykosid)

Aufgrund der chromatographischen Daten und UV-Spektren war von diesem Glykosid ebenfalls anzunehmen, daß es zumindest eine ortho-Dihydroxygruppe im B-Ring besitzt. Die Massenspektren der PM- und PDM-Derivate entsprechen einem 6,8-di-C-hexosylluteolin. Cochromatographie mit authentischem Lucenin-2 und dessen PM- und PDM-Derivaten ergab keine Unterschiede im chro-

matographischen Verhalten beider Substanzen. Dies ließ den Schluß zu, daß **4** die in Tab. I angegebene Struktur besitzt.

#### Verbindungen **7–10** (Apigenin di-C-Glykoside)

Diese Verbindungen zeigen gegenüber den Substanzen **1–4** ein ganz unterschiedliches Farb- und Fluoreszenzverhalten auf der DC-Platte und auch unterschiedliche UV-Spektren. Zusammengenommen sind diese Daten charakteristisch für Apigenin-Derivate. Nach den hRf-Werten sind es Glykoside. Allerdings läßt sich nach salzsaurer Hydrolyse kein Apigenin als Aglykon nachweisen, so daß anzunehmen war, daß es sich auch bei diesen Substanzen um C-Glykoside handelt. Dies wurde durch die Massenspektren der PM- und PDM-Derivate bestätigt: für **7** ließ sich die Masse eines Apigenin di-C-hexosids, für **8** und **9** eines Apigenin pentosid-hexosids berechnen. Dabei konnte aus den relativen Intensitäten der Pentose- und Hexosefragmentpeaks von **8** und **9** geschlossen werden, daß bei **8** die Pentose am C-8 und bei **9** am C-6 gebunden ist und die C-6 gebundene Pentose von Substanz **9** Arabinose ist [10]. Auch für diese Glykoside ließen sich nach Co- und Vergleichschromatographie mit authent-

Tab. II. Chromatographische Daten der Flavone **2**, **4**, **7** und **8** aus *Metzgeria furcata*<sup>a</sup>.

	Substanz			
	2	4	7	8
Fluoreszenz (254 u. 350 nm):				
UV	v	v	v	v
UV/NH <sub>3</sub>	ggr	ggr	ol	ol
UV/NA	or	or	gr	gr
UV/BR	—	—	ol	ol
hRf-Werte:				
Sorbens: Cellulose				
15% HOAc	23	21	37	42
40% HOAc	41	44	62	72
BAW	12	16	31	32
BAW 27%	21	23	47	46
Sorbens: Polyamid				
80% MeOH	37	47	73	70
H <sub>2</sub> O-MeCOEt-MeOH-2,4-Pentandion	49	68	71	71

<sup>a</sup> Chromatographische Daten für **1**, **3**, **9** und **10** siehe [1]; **5**, **6** und **11** lagen nur als PM- und/oder PDM-Derivate vor. v = violett; ggr = gelbgrün; ol = oliv; or = orange; gr = grün; NA = Naturstoffreagenz A; BR = Benedicts Reagenz [1].

Tab. III. Massenspektroskopische Daten der PM- und/oder PDM-Derivate der Flavone **2**, **5**, **6**, **8** und **11** aus *Metzgeria furcata*<sup>a</sup>.

	Substanz				
	2	5	6	8	11
M <sup>+</sup>	764 (800)	(767)	(584)	704 (734)	704 (734)
Fragmente	Relative Intensität in % des Basispeaks				
M <sup>+</sup>	17 (48)	(20)	(2)	16 (43)	12 (23)
M <sup>+</sup> - 15 (18)	28 (38)	(27)	(13)	26 (23)	23 (25)
M <sup>+</sup> - 31 (34)	100 (100)	(100)	(53)	100 (97)	100 (100)
M <sup>+</sup> - 47 (52)	9 (16)	(11)	(21)	8 (18)	18 (9)
M <sup>+</sup> - 59 (64)	— (—)	(19)	(—)	— (—)	6 (6)
M <sup>+</sup> - 103 (109)	14 (25)	(—)	(21)	14 (33)	— (—)
M <sup>+</sup> - 119 (126)	4 (17)	(34)	(—)	3 (8)	21 (21)
M <sup>+</sup> - 131 (137)	15 (29)	(49)	(—)	10 (21)	13 (13)
M <sup>+</sup> - 145 (154)	3 (10)	(16)	(—)	5 (2)	7 (7)
M <sup>+</sup> - 163 (173)	42 (33)	(11)	(11)	31 (59)	11 (10)
M <sup>+</sup> - 175 (184)	59 (58)	(24)	(100)	95 (100)	17 (12)
M <sup>+</sup> - 189 (201)	9 (14)	(—)	(34)	10 (19)	— (—)

<sup>a</sup> MS-Daten für **1**, **3**, **9** und **10** siehe [1], für **4** und **7** siehe [7], für **12** siehe [9]. Werte in Klammern: PDM-Derivate.

tischen Testsubstanzen eindeutig die in Tab. I angegebenen Strukturen ermitteln.

Die hRf-Werte von Substanz **10** waren in allen Fließmitteln auf Zellulose ebenso ungewöhnlich hoch wie die des Ferulylisoschaftosids aus *Apometzgeria pubescens* [1]. Als alkalische Hydrolyseprodukte ließen sich Ferulasäure und Isoschaftosid nachweisen. Auch die MS-Daten von **10** waren mit denen von Ferulylisoschaftosid identisch. Den letzten Beweis für die Identität dieser Substanz ergab wiederum die Co- und Vergleichschromatographie vor und nach Permethylierung und Perdeuteromethylierung, so daß für **10** in Tab. I die entsprechende Struktur angegeben werden konnte.

#### Verbindung **12**

Über die Strukturaufklärung dieser Verbindung wurde in einer gesonderten Arbeit berichtet [9]. Da das 6-C-rhamnosylapigenin zum ersten Mal eindeutig als natürlich vorkommende Verbindung nachgewiesen werden konnte, bekam es gemäß den Nomenklaturregeln für C-Glykoside den Namen Isofurcatain 7-O- $\beta$ -D-glukosid.

#### Flavonoide aus *M. furcata* (Typusvarietät)

Die Flavone **1**, **7**, **8** und **9** aus der Varietät *ulvula* konnten auch in der Typusvarietät nachgewiesen

werden. Die im folgenden besprochenen Substanzen wurden dagegen nur aus der Typusvarietät isoliert.

#### Verbindung **5**, **6** (Luteolin C-Glykoside)

Wegen der geringen Menge an extrahiertem Pflanzenmaterial war eine Reinisolierung dieser beiden Verbindungen nicht möglich. Vielmehr wurden die beiden Substanzen nach Vorfraktionierung angereichert und dann perdeuteromethyliert. Diese Produkte wurden isoliert (s. Material und Methoden) und die Massenspektren aufgenommen. Diese sind wiederum charakteristisch für Flavon C-Glykoside. Der Molekularpeak von **5** liegt bei  $m/z = 767$ . Da Pentose- und Hexosefragmentationen auftreten, kann es sich demnach nur um ein Luteolin mit C-gebundener Pentose und Hexose handeln. Die relativen Intensitäten dieser Fragmente lassen nach [10] ein 6-C-arabinosyl-8-C-hexosylluteolin erwarten. Eine nähere Charakterisierung dieser Verbindung war wegen zu geringer Ausbeute nicht möglich, doch ist aufgrund der übrigen aus *M. furcata* isolierten Flavonglykoside Glukose als Zucker am C-8 anzunehmen.

Das Molekularion für **6** (PDM) liegt im Vergleich zu allen übrigen Verbindungen mit  $m/z = 584$  wesentlich niedriger. Da keine Pentosefragmente beobachtet wurden, wohl aber deutliche Hexosefragmente (Basispeak bei  $M^+ - 184$ ), da weiterhin

das Molekularion nur 2% relative Intensität besitzt und die  $M^+ - 18$ -,  $M^+ - 34$ - und  $M^+ - 52$ -Fragmente mit Intensitäten zwischen 13 und 53% auftreten, die bei PDM 8-C-hexosylflavonen fehlen, entspricht dieses Spektrum genau dem eines PDM 6-C-hexosylluteolins [10].

#### Verbindung 11 (Apigenin di-C-Glykosid)

Auch dieses Glykosid konnte aus bereits genannten Gründen wie 5 und 6 nur nach Vorfraktionierung angereichert und dann permethyliert und perdeuteromethyliert werden. Die Molekularionen der beiden Derivate unterscheiden sich in ihrer Masse nicht von denen der entsprechenden Schaftosid- und Isoschaftosid-Derivate. Außerdem waren auch wie beim Isoschaftosid die Pentosefragmente höher als die Hexosefragmente, so daß von einer C-6 gebundenen Pentose ausgegangen werden konnte. Daß diese Verbindung aber nicht mit Isoschaftosid identisch ist, zeigen die relativen Intensitäten der drei Pentosefragmente:  $M^+ - 119$  ( $-126$ ) (a),  $M^+ - 131$  ( $-137$ ) (b) und  $M^+ - 145$  ( $-154$ ) (c). Das Intensitätsverhältnis ist  $a > b > c$  (Tab. III). Ein derartiges Verhältnis wird von Bouillant *et al.* [10] als charakteristisch für einen 6-C-xylosyl-Anteil angegeben. Folglich wurde für 11 als vorläufige Struktur 6-C-xylosyl-8-C-hexosylapigenin angenommen.

Die vorliegenden Ergebnisse haben gezeigt, daß es sich bei den aus *M. furcata* isolierten Flavonoiden ausschließlich um Flavon C-Glykoside handelt, nur im Fall von Substanz 12 ist noch zusätzlich eine O-Glykosidierung festzustellen. Die Substanzen 1, 3, 9 und 10 wurden auch in *Apometzgeria pubescens*, 7, 9 und 10 auch in *M. conjugata* nachgewiesen [1, 3]. Von den aus beiden *M. furcata*-Varietäten isolierten Flavonen sind Tricetin 6-C- $\beta$ -D-glukopyranosid-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosid (2) und Isofurcatain 7-O- $\beta$ -D-glukosid (12) neue Flavonoide. Allerdings wurde früher bereits aus *Plagiochila asplenioides* (L. *emend.* Tayl.) Dum. [11] eine Substanz mit ähnlicher Struktur wie 2 isoliert, letztere Verbindung konnte erst kürzlich auch in *Radula complanata* (L.) Dum. nachgewiesen werden [8]. Lucenin-2 (Substanz 4) ist inzwischen in Lebermoosen und Samenpflanzen als eins der am häufigsten vorkommenden Flavon di-C-Glykoside bestätigt worden. Substanz 8 (Schaftosid) ist ebenfalls ein inzwischen mehrfach nachgewiesenes Apigenin di-C-Glykosid in Höheren Pflanzen. Über seine Verbreitung in Lebermoosen wird in [8] berichtet.

Aufgrund der Flavonoidmuster der bisher untersuchten Metzgeriaceen kann mit der Einschränkung, daß noch zu wenige Populationen untersucht sind, davon ausgegangen werden, daß jede Art ihr spezifisches Flavonoidmuster besitzt. Diese gleichen Einschränkungen gelten auch für die unterschiedlichen Flavonoidmuster (vgl. Tab. I) der beiden Varietäten. *M. furcata* wird als eine variable Art beschrieben, so charakterisiert sie S. Arnell [12] wie folgt: „Varies considerably in colour, pilosity, breath and length“ und Kuwahara [13] bemerkt: „Apparently *M. furcata* of northwestern Europe is in an evolutionary state of considerable fluidity, both in vegetative and fruiting structure“. Folglich wäre es nicht überraschend, wenn auch das Flavonoidmuster weiterer Populationen aus Europa und anderen Kontinenten ähnlich variabel wäre. Es ist deshalb noch verfrüht, die unterschiedlichen Flavonoidmuster jeweils einer Population der untersuchten Varietäten als taxonspezifisch zu betrachten.

#### Material und Methoden

*M. furcata* var. *ulvula* wurde im März und im Mai 1979 von Baumrinden am Ufer der Lütschine bei Interlaken, Berner Oberland, Schweiz, gesammelt. Nach Reinigung und Lufttrocknung konnten 30 g extrahiert werden. *M. furcata* (Typusvarietät) wurde im Dezember 1979 von Felsen bei Stürzelbronn bei Bitche, Frankreich, gesammelt. Davon standen nach Reinigung und Lufttrocknung 3 g zur Verfügung. Belegexemplare befinden sich im Herbarium der Fachrichtung Botanik, Universität Saarbrücken. Die untersuchten Varietäten wurden von Dr. R. Grolle, Jena, bestimmt.

Die Extraktion und Isolierung der Substanzen aus *M. furcata* var. *ulvula* erfolgte wie in [11] beschrieben. Da von *M. furcata* (Typusvarietät) nur 3 g Pflanzenmaterial zur Verfügung stand, wurde der 80% MeOH Extrakt über Zellosoesäulen (Zellulose für die Säulenchromatographie, Merck) mit 3 oder/und 15% HOAc vorfraktioniert und die einzelnen Fraktionen permethyliert und/oder perdeuteromethyliert (nach Brimacombe *et al.* [14], verändert). Diese Produkte wurden wie in [1] beschrieben aufgetrennt und massenspektroskopisch untersucht.

Chromatographie und Hydrolysen wie in [1], UV-Spektroskopie nach den Bedingungen von Mabry *et al.* [15] durchgeführt. UV-Spektren der Substanzen 1, 3, 9 und 10 sind in [1], 2 und 8 in [8], 4 und 7 in

[7] zu finden. Massenspektrometer und MS-Bedingungen sind in [7] beschrieben.

#### Danksagung

Wir möchten vor allem Herrn Prof. Dr. K. Pfleger, Universität des Saarlandes, FB 3, für die Aufnahme der Massenspektren danken. Für die Überlassung von authentischen Substanzen Vicenin-2 (**1**), Lucenin-2 (**2**), Isoschaftosid (**3**) und Schaftosid (**4**)

danken wir Herrn Dr. B.-G. Österdahl (**1**), Universität Uppsala, Herrn Prof. Dr. J. Chopin (**2, 3**), Universität Claude Bernard, Lyon, und Herrn Prof. Dr. H. Wagner (**4**), Universität München. Herrn Dr. R. Grolle, Friedrich Schiller-Universität, Jena, danken wir für die Bestimmung der Moose. Frau M. Ewerling danken wir für ihre Mithilfe bei der Reinigung des Pflanzenmaterials und Frau E. Henn für ihre Hilfe bei der Erstellung des Manuskriptes.

- [1] R. Theodor, H. D. Zinsmeister, R. Mues u. K. R. Markham, *Phytochemistry* **19**, 1695 (1980).
- [2] R. Theodor, K. R. Markham, R. Mues u. H. D. Zinsmeister, *Phytochemistry* **20**, 1457 (1981).
- [3] R. Theodor, H. D. Zinsmeister, R. Mues u. K. R. Markham, *Phytochemistry* **20**, 1851 (1981).
- [4] F. Czapek, *Flora* **86**, 361 (1899).
- [5] C. E. J. Lohmann, *Beih. Bot. Centralbl.* **15**, 215 (1908).
- [6] J. Gorham, *Phytochemistry* **16**, 249 (1977).
- [7] R. Mues, *Journ. Hattori Bot. Lab.* **51**, 61 (1982).
- [8] R. Mues, *Symposiumsband 3. Bryologen – Treffen Mittel- und Osteuropäischer Bryologen in Prag, 1982*, im Druck.
- [9] K. R. Markham, R. Theodor, R. Mues u. H. D. Zinsmeister, *Z. Naturforsch.* **37c**, 562, 1982.
- [10] M.-L. Bouillant, J. Favre-Bonvin u. J. Chopin, *Phytochemistry* **14**, 2267 (1975).
- [11] R. Mues u. H. D. Zinsmeister, *Phytochemistry* **15**, 1757 (1976).
- [12] S. Arnell, *Illustrated Moss Flora of Fennoscandia, I. Hepaticae*, CWK Gleerup, Lund 1956.
- [13] Y. Kuwahara, *Journ. Hattori Bot. Lab.* **40**, 247 (1976).
- [14] J. S. Brimacombe, B. D. Jones, M. Stacey u. J. J. Willard, *Carbohydrate Res.* **2**, 167 (1966).
- [15] T. J. Mabry, K. R. Markham u. M. B. Thomas, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer, Berlin 1970.