

RHAMNOCITRIN-3-GLUCURONID IN *VERBESINA MYRICEPHALA*

HILDEBERT WAGNER, M. APRAMEYA IYENGAR und O. SELIGMANN

Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, München, Germany

und

WERNER HERZ

Department of Chemistry, Florida State University, Tallahassee, FL 32306, U.S.A.

(Eingegangen 5. August 1973. Angenommen 20. August 1973)

Key Word Index—*Verbesina myricephala*; compositae; flavonoid; rhamnocitrin-3-glucuronide.

Abstract—The structure of a new flavonol-glycoside isolated from the herb of *Verbesina myricephala* Sch. Bip. has been established as the 3-O- β -D-glucopyranuronide of 3,5,4'-trihydroxy-7-methoxy-flavone (rhamnocitrin-3-glucuronide).

Aus dem methanolischen Extrakt der oberirdischen Teile von *Verbesina myricephala* wurde durch Lösungsmittelfraktionierung und Säulenchromatographie ein neues Flavonolglykosid isoliert, das bei 220–226° bzw. 173–174° schmolz und bei der sauren Hydrolyse ein Aglukon vom Schmp. 220° und als einzigen Zuckeranteil Glucuronsäure lieferte. Das NMR-Spektrum sprach für einen Monomethyläther des 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-flavons (Kämpferol). Die UV-Verschiebung in MeOH–NaOAc, Farbreaktionen und die erforderlichen Hydrolysebedingungen ergaben für die Methoxygruppe die C-7-Position und als Ort der Zuckerverknüpfung die C-3-OH-Gruppe. Die hieraus abgeleitete Struktur eines Rhamnocitrin-3-glucopyranuronides wurde durch das NMR-Spektrum des Glucuronido-3,6-lacton-tetraacetates und durch Vergleich der Massenspektren des permethylierten Glykosides mit dem des permethylierten Kämpferol-3-glucuronides¹ bestätigt. Die MS-Fragmentierung erfolgte in der für Phenol-O-glucuronide typischen Weise.² Die im Massen-Spektrum auftretenden extrem niedrigen Intensitäten für M⁺ und M-32 sind mit der Glykosidierung am C₃-OH in Übereinstimmung.³

EXPERIMENTELLES

Das Pflanzenmaterial wurde am 18. Dezember 1971, 6 Meilen nördlich von der Kreuzung des interamerikanischen Highways und der Straße nach Cerro Campana in der Provinz Panama, Panama von Mr. R. Lazor (Lazor Nr. 5808) gesammelt. Die UV-Spektren wurden mit einem Beckman DK-2A Ratio Recording Spectrometer, die IR-Spektren mit einem Beckman-IR-8 Infrarot-Spektrophotometer und die MS mit dem MS-30 der Firma AEI (70 eV, 200°) aufgenommen.

Isolierung des 7-O-Methyl-Kämpferol-3-O-glucuronids. Die oberirdischen Teile der Pflanze wurden zunächst mit CHCl₃ und anschließend mit MeOH erschöpfend extrahiert, der methanolische Extrakt in üblicher Weise vom Chlorophyll befreit und die wässrige Lösung mit Ät₂O und dann mit ÄtOAc extrahiert. Das aus ÄtOAc

¹ WAGNER, H., DANNINGER, H., SELIGMANN, O., NÓGRÁDI, M., FARKAS, L. und FARNSWORTH, N. (1970) *Chem. Ber.* **103**, 3678–3683.

² THOMPSON, R. M., GERBER, N., SEIBERT, R. A. und DESIDERIO, D. M. (1973) *Drug Metabol. Dispos.* **1**, 489.

³ WAGNER, H. und SELIGMANN, O. (1973) *Tetrahedron* **29**, 3029.

erhaltene Mischkristallisat wurde an einer Kieselgelsäule mit dem Lösungsmittelgemisch EtOAc-MeOH-H₂O (100:16,5:13,5) chromatographiert. Aus den Fraktionen 50-60 (à 15 ml) wurde das Glykosid nach Umkristallisation aus MeOH als K-Salz kristallin erhalten (Schmp. = 220-226°). Durch 1stündige Behandlung des Glykosides mit 20% iger H₂SO₄ in der Kälte und Ausschütteln mit EtOAc bei pH = 3,0 wurde das freie Glucuronid vom Schmp. 173-174° erhalten. $[\alpha]_D^{25} = -52,5$ ($c = 0,24$, Pyridin-H₂O, 1:1). $R_f = 0,41$ in Bu-Ei-H₂O (6:1:2) auf Kieselgel-G. UV: λ_{\max} (MeOH) 266, 295 (Infl.) 348 nm. λ_{\max} (MeOH + NaOAc) 266, 298 (Infl.) 392 nm. λ_{\max} (MeOH + AlCl₃) 235 (Infl.) 270, 307, 352, 405 (Infl.) nm. IR: Säure-Carbonyl 1720 cm⁻¹. Flavonol-Carbonyl 1650 cm⁻¹. NMR: (CD₃)₂SO. TMS i.St. (ppm) $\delta = 8,10$ (d, J 9 Hz) H-2',6'; 6,93 (d, J 9) H-3',5'; 6,70 (d, J 2,0) H-8; 6,39 (d, J 2) H-6; 3,88 (s) OMe; 12,6 (s) OH-5. Zucker-Pr.: 5,54 (m, J 8 br.) H-1''; 3,0-4,1 (m) H-2'',3'',4'',5''.

Rhamnocitrin-3-glucopyranuronid-methylester-permethylläther. Die Permethylierung von 1 mg Glykosid mit NaH-Me J in DMF, nach Hakomori⁴ ausgeführt, ergab einen gelblichen Sirup, der mit dem Permethylierungsprodukt von Kämpferol-3-glucuronid identisch war. MS: $M^+ m/e$ 560 (rel. Int. 0,2%), 528 (0,3), 497 (0,8), 465 (2,3) Aglyk + H m/e 328 (100), 329 (16), 327 (7), 326 (10), 310 (9), 299 (9), 282 (30), 283 (7). Zucker m/e 201 (3), 169 (9), 141 (5), 135 (7), 101 (7), 85 (4), 75 (7), 45 (7).

Rhamnocitrin-3-β-D-glucopyranuronido-3,6-lacton-tetraacetat. Nach der Ac₂O-NaOAc Methode in üblicher Weise⁵ farblose Nadeln vom Schmp. 226-228° (aus EtOH-CHCl₃). $R_f = 0,48$ in Toluol-EtOAc 5:4 (auf Kieselgel-G). $[\alpha]_D^{25} = -94$ ($c = 0,499$, CHCl₃). IR: Lacton-Carbonyl 1810 cm⁻¹, Ester-Carbonyl 1740 cm⁻¹, Flavonol-Carbonyl 1620 cm⁻¹. NMR: (CDCl₃, TMS i.St.): $\delta = 7,94$ ppm (d, J 9,0 Hz) H-2',6'; 7,27 (d, J 9,0) H-3',5'; 6,82 (d, J 2,0) H-8; 6,60 (d, J 2,0) H-6; 3,90 (s) OMe; 2,41 (s) OAc-5; 2,32 (s) OAc-4'; Zucker-Pr.: 5,84 (s) H-1''; 5,55 (d, J 2,5) H-2''; 4,92 (m) H-3'',4''; 4,22 (d, J 3,0) H-5''; 2,10 (s) OAc; 2,14 (s) OAc.

Hydrolyse (Rhamnocitrin und Glucopyranuronsäure). Nach 1stündiger Behandlung des Glykosids mit 10% iger H₂SO₄ auf dem Dampfbad hellgelbe Nadeln vom Schmp. 220°. $R_f = 0,86$ in Bu-Ei-H₂O (6:1:2) auf Kieselgel-G. UV: λ_{\max} (MeOH) 253 (Infl.) 267, 322, 365 nm. λ_{\max} (MeOH + NaOAc) 261, 325 (Infl.) 405 nm. λ_{\max} (MeOH + AlCl₃) 230 (Infl.), 243, 259 (Infl.), 270, 304 (Infl.), 352, 423 nm; MS: $M^+ m/e$ 298 (rel. Int. 100%), 297 (11), 296 (10), 270 (6), 257 (7), 167 (2), 150 (6), 121 (10). Das Hydrolysat wurde mit Ba(OH)₂ neutralisiert und pc auf Glucuronsäure geprüft. $R_f = 0,32$ in Pyridin-ÄtOAc-Ei-H₂O (5:5:1:3) Detektion mit Anilinphtalat-lösung.

Anmerkungen—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken die Autoren für Sachbeihilfen. W. H. dankt dem National Cancer Institute des U.S. Public Health Service für die Förderung durch Research Grant CA-13121.

⁴ HAKOMORI, S. (1964) *J. Biochem.* **55**, 205.

⁵ WAGNER, H., DANNINGER, H., IYENGAR, M. A., SELIGMANN, O., FARKAS, L., SUBRAMANIAN, S. S. und NAIR, A. G. R. (1971) *Chem. Ber.* **104**, 2681-2687.