

Neue Untersuchung über Inhaltsstoffe der Kreuzdornrinde, IV [1]

Die Hauptanthraglykoside der Rinde von *Rhamnus catharticus* L.: Emodin-8-O- β -gentiobiosid, -glukosid und -primverosid

A New Investigation on the Composition of *Rhamni cathartici* Cortex, IV [1]

The Main Anthraglycosides of the Stem Bark of *Rhamnus catharticus* L.:
Emodin-8-O- β -gentiobioside, -glucoside and -primveroside

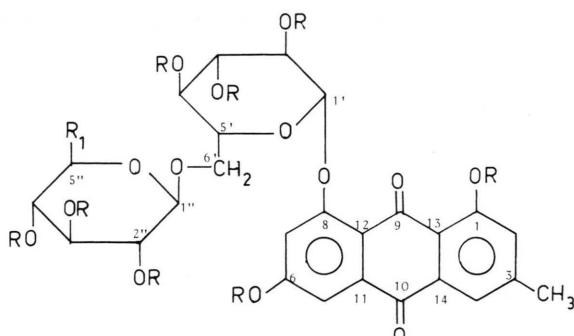
Hans-W. Rauwald

Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin,
Königin-Luisen-Str. 2 + 4, D-1000 Berlin 33

Z. Naturforsch. **38c**, 170–178 (1983); received October 22, 1982

Rhamnus catharticus L., Anthraquinone Glycosides, Emodin-8-O- β -glycosides,
 ^{13}C -NMR Structure Determination, DCCC-Isolation

From the stem bark of *Rhamnus catharticus* L. (purging buckthorn) the three main anthraquinone glycosides have been isolated by the new method of droplet-countercurrent-chromatography. Their structures were spectroscopically identified as emodin-8-O- β -gentiobioside, -glucoside and -primveroside. From these the primveroside is a new substance, the gentiobioside has been found for the second time in plant material. The structures were confirmed by ^{13}C NMR spectroscopy for the first time in O-glycosides of emodin type. Especially the differences in ^{13}C chemical shifts of the free resp. acetylated aglycones and glycosides are useful parameters for determining the position of O-glycosylation in the 1,8-dihydroxy-anthraquinone derivatives.



R, R_1 = H: Emodin-8-O- β -primverosid (**1**)
R = $-\text{COMe}$, R_1 = H: Emodin-8-O- β -primverosid-octaacetate (**1a**)
R = H, R_1 = $-\text{CH}_2\text{OH}$: Emodin-8-O- β -gentiobiosid (**2**)
R = $-\text{COMe}$, R_1 = $-\text{CH}_2\text{OCOMe}$: Emodin-8-O- β -gentiobiosid-nonaacetate (**2a**)

Hauptbestandteil der Phenolglykosidfraktion der Rinde des einheimischen Purgier-Kreuzdorns sind vier acetogene Naphthalidglykoside, über deren Isolierung, Konstitutionsermittlung und Leitstofffunktion wir kürzlich berichteten [1]. *Rhamni cathartici* cortex gilt im Europäischen Arzneibuch als Ver-

Sonderdruckanforderungen an Dr. H.-W. Rauwald.
0341-0382/83/0300-0170 \$ 01.30/0

wechselung oder Verfälschung der offizinellen *Fragulae* cortex und *Rhamni purshiani* cortex. Dies dürfte dem niedrigen Gehalt an Hydroxyanthracen-derivaten [2] und möglicherweise der Qualität des Anthraglykosidspektrums zuzuschreiben sein. Über die Anthraglykoside finden sich in der Literatur teilweise widersprüchliche Angaben, die mit einer ungenügenden Abtrennung der Anthra- von den Naphthalidglykosiden erklärbar sind und im folgenden eine detailliertere Literaturübersicht erforderlich machen: Die bisherige Kenntnis dieser Inhaltsstoffe geht hauptsächlich auf die Untersuchungen von Bridel und Charaux (1925) [3a–c] zurück. Sie isolierten als Kristallisat der wässrigen Extraktlösung (Glykosidkomplex „Rhamnartikosid“) das Rhamnicosid, das durch Säuren in Rhamnicogenol ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$), Glukose und Xylose und durch Enzyme in Rhamnicogenol und Primverose gespalten wird. Sie beschrieben die Bereitung des chinesischen Farbstoffs Lokao („Chinagrin“) aus Rhamnicosid, für welches sie Pentahydroxymethylanthranolprimverosidstruktur [3a] annahmen. Aus dem wasserlöslichen Glykosidkomplex erhielten sie nach Hydrolyse „Emodin, Primverose und ein anderes Hydroxymethylanthrachinon“ [3 b, c]. Allein diese Befunde veranlassen einige Autoren der heutigen einschlägigen Sekundärliteratur [4, 5], das Rhamni-



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 digitized 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.

cosid als Emodinprimverosid zu verstehen. Nach Hegnauer [6], der Rhamnocosid bei den „Polyphenolen“ und nicht den Anthrachinonen abhandelt, bleibt die genaue Struktur des Rhamnicogenols zu ermitteln; ebenso wie in ausführlichen Werken zur Rhamnaceen-Chemotaxonomie (z. B. Engler/Prantl [30]) wird Emodinprimverosid als Inhaltsstoff nicht erwähnt. In einer weiteren, älteren Untersuchung (1853) [7] wird das Vorkommen von Rhamnoxanthin (= Frangulin) in den Rinden von *Rh. frangula* und *Rh. catharticus* vermutet, aufgrund dessen „Frangulin“ in einigen Drogenmonographien [4, 8] als Inhaltsstoff der Kreuzdornrinde angegeben ist. Zudem besteht Unklarheit über ein etwaiges Vorkommen der Glukofranguline [8, 9 a, b]. Diese erheblichen Unklarheiten in den Literaturangaben veranlaßen die vorliegende Neuuntersuchung der Anthraglykoside. Im folgenden sind die Isolierung und Konstitutionsermittlung der drei Hauptanthrachinonglykoside der Kreuzdornrinde beschrieben. Nachdem wir kürzlich Anthron-C-Glykoside aus *Aloe* spec. mittels Droplet-Countercurrent-Chromatography (DCCC) aufgetrennt und isoliert haben [10], eröffnet auch in der vorliegenden Untersuchung die DCCC eine neue Trennmöglichkeit für Anthrachinon-O-Glykoside. Zur Strukturbestimmung wurde erstmalig für O-glykosidierte 1,8-Dihydroxyanthrachinonderivate die ¹³C-NMR-Spektroskopie herangezogen.

Ergebnisse und Diskussion

Bei der DC gelagerter *Rhamni cathartici* cortex entsprechend der Ph. Eur.-Monographie der *Rhamnus*-Rinden sind drei rot-orange Fluoreszenzzonen zu beobachten: Fleck A mit R_f 0,60 sowie zwischen den blau fluoreszierenden Leitzonen der Naphthalidglukoside und -primveroside [1] zwei Flecken mit R_f 0,38 (B) und 0,30 (C)) (s. DC-Abb. im Komm. DAB7-DDR [9 a]). In neueren Arbeiten sind zur Isolierung von Anthrachinonglykosiden die Verfahren der Säulenchromatographie (Polyamid- und Kieselgel-SC [11], Trockensäulen-C und präparative HPLC an RP-18-Umkehrphase [12]) und der präparativen DC [11] beschrieben. Die Trennung der Kreuzdorn-Anthraglykoside erfolgte mittels DCCC in zwei modifizierten Arbeitsweisen: Anreicherung durch Polyamid-SC und Auftrennung durch ein- (Fleck A) bis zweimalige (Flecken B/C)

DCCC in einem ameisensauren System (pH 3–4) bei absteigender Betriebsart oder Direktisolierung aus dem Rohextrakt durch ausschließliche vier- bis fünfmalige DCCC im selben System bei variierendem Arbeitsmodus, d. h. organische und wäßrige Phase wurden abwechselnd als mobile Phase eingesetzt und die Anzahl der Säulen bei absteigender Betriebsart reduziert. Beide Verfahren führten zu etwa gleichen Ausbeuten an den besonders interessierenden Emodinprimverosid 1 (entspr. DC-Fleck B) und Emodingentiobiosid 2 (entspr. DC-Fleck C). Der Arbeitsgang mit der sc Polyamidvortrennung ergab eine selektivere und sauberere Glykosidfraktion infolge weitgehender Abtrennung von den Anthrachinonaglykonen und Naphthalidglykosiden und bietet – abgesehen von den Kosten des Adsorbens – den Vorteil einer erheblich verkürzten Gesamtisolierungsdauer. Abb. 1 zeigt die präparative DCCC-Trennung der beiden Emodinglykoside aus einer stark angereicherten Fraktion.

Fleck A: Die salzaure Hydrolyse lieferte Emodin und Glukose. Aufgrund der spektroskopischen Daten, des Schmp. und des dc-Vergleichs mit der Frangularinde [13] ist A mit dem aus verschiedenen Anthracendrogen [14] isolierten Emodin-8-O- β -

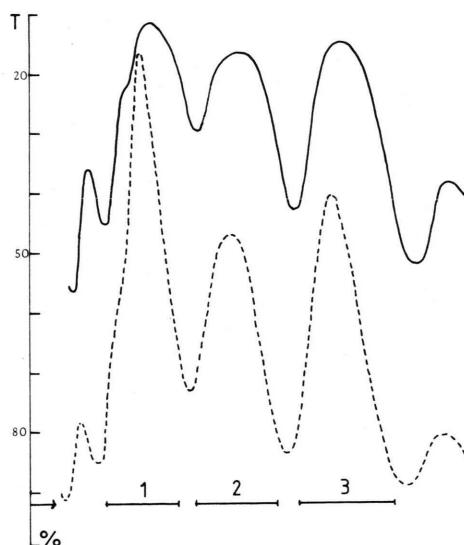


Abb. 1. DCCC-Trennung (Orig.-Elutionskurve) von Emodingentiobiosid (Peak 2) und Emodinprimverosid (Peak 3) aus 65 mg angereicherter Fraktion. (Peak 1 = Sorinin und 6-Methoxysorinin [1]). Mobile Phase: wäßrige Phase (\rightarrow Fließrichtung). Det.: UV λ 280 nm, --- Extinktion (Bereich: 0–1 E), — Transmission (%); Chart speed: 0,1 mm/min.

D-glukosid („Emodinglukosid B“) identisch. Die Position der Glukoseverknüpfung wurde insbesondere anhand des peracetylierten Glykosids nach dem ^1H -NMR-Verfahren der „Acetylierungsverschiebung“ [15] (s. Text) festgestellt.

Flecken B und C: Die den Zonen B und C entsprechenden Substanzen **1** und **2** resultierten aus MeOH in roten Kristallplättchen mit Schmp. von 230–232 °C (**1**) und 198–200 °C (**2**) [16]. Die saure Hydrolyse ergab für beide Substanzen Emodin; als Zuckerkomponenten konnten aus **1** Glukose und Xylose und aus **2** nur Glukose dc nachgewiesen werden. Das EI-MS der peracetylierten Verbindung **1a** zeigt ein sehr schwach intensives Molekülion bei m/z 900. Das Fragmention m/z 547 ist einer hexaacetylierten Disaccharidkomponente aus je 1 Mol Glukose und Xylose zuzuordnen, aus der das für eine endständige triacetylierte Pentopyranose charakteristische Ion der Masse 259 abspaltet [17]. Analog läßt sich aus dem ms-Zerfall in **2a** (M^+ : m/z 972) mit Ionen bei m/z 619 und 331 auf eine heptaacetylierte Diglukosidstruktur mit endständiger Tetraacetylglucose schließen [17]. In beiden peracetylierten Glykosiden deuten dementsprechend die Fragmente m/z 354, 312 und 270 (Agl.) auf eine diacetylierte Emodin-Aglykonkomponente hin. Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren bestätigen diese Ansicht. Die Kopplungskonstanten des H-1' (**1**: 5,05 ppm, J = 7,5 Hz; **2**: 5,07 ppm, J = 7,5 Hz) und des H-1'' (**1**: 4,19 ppm, J = 7,2 Hz; **2**: 4,25 ppm, J = 7,5 Hz) belegen für beide Zucker in **1** und **2** β -Konfiguration am C-1. Die Verschiebung des C-6' von **1** gegenüber Phenyl- β -D-glucopyranosid [18] um 6 ppm zu tieferem Feld zeigt, daß an dieser Stelle die Verknüpfung mit dem zweiten Zucker, der Xylose, vorliegt. Im übrigen sind die ^{13}C -Resonanzlagen der Zuckerkomponenten **1** (s. Tab. I) mit denjenigen von Phenyl- β -D-glukopyranosid und Methyl- β -D-xylopyranosid [18] identisch, so daß die als Hydrolyseprodukte von **1** nachgewiesenen Zucker Glukose und Xylose 1,6-verknüpft als β -Primverose vorliegen müssen. Die beiden Glukosemoleküle in **2** sind ebenfalls C-6'-C-1'' als β -Gentiobiose verknüpft, da das Signal des C-6' in **2a** gegenüber β -D-Glukopyranosepentaacetat [18] um 7 ppm tieffeldverschoben erscheint (s. Tab. I u. Abb. 2). Die Signallagen und -intensitäten der übrigen Ringprotonen bzw. -kohlenstoffe beider Bioside zeigen, daß die Monosen in der Pyranosidform vorliegen.

Einen ersten Hinweis auf eine Zuckerbindung am C-8-Hydroxyl des Emodins liefert die Differenz der chemischen Verschiebungen ($\Delta\delta$) der aromatischen H der freien Glykoside **1/2** und des Emodins bei der Aufnahme in DMSO-d₆ [26]; dafür sprechen die $\Delta\delta$ = 0,53 (H-7) und 0,16 (H-5) sowie $\Delta\delta$ = 0 der A-Ringprotonen bei Berücksichtigung der drei Positionen O-1, 6, 8.

Nach dem von Steglich und Lösel [15] beschriebenen Verfahren der „Acylierungs-Verschiebungen“ gestattet der Vergleich der ^1H -chemischen Verschiebungen der aromatischen Protonen im pertrimethylsilylierten Frangula-Emodin mit den entsprechenden Verschiebungen in den Peracetylglykosiden **1a** und **2a** eine Festlegung der Stellung des Glykosylsubstituenten an C-8. Die $\Delta'\text{Ac}$ -Werte für H-2 und H-4 korrelieren mit den Aglykonwerten, während H-7 einen um ca. 0,2 ppm größeren Betrag als H-5 aufweist.

Zur Verifizierung dieser Strukturaussage wurden die ^{13}C -NMR-Daten der Glykoside herangezogen. In der Literatur liegen keine Angaben zur ^{13}C -NMR-Spektroskopie von O-Glykosiden des 1,8-Dihydroxyanthrachinontyps vor. Daher sollte anhand der freien Ausgangsverbindung und des Peracetyl-derivats im Vergleich mit den entsprechenden Aglykonformen geprüft werden, ob die Glykosidierungsposition über beide Formen feststellbar ist und in welcher der beiden Formen eine entsprechende Zuordnung deutlicher abgesichert erscheint. Dazu wurden die Spektren des Emodinprimverosids (**1**) und des Emodingentiobiosid-nonaacetats (**2a**) aufgenommen und die ^{13}C -Resonanzlagen denen des Emodins [19] bzw. des Emodintriacetats gegenübergestellt. Die Ergebnisse der Messungen sind in Tab. I zusammengefaßt. Die angegebenen Multiplicitäten ergaben sich aus dem Off-Resonance-Spektrum. Grundlage für die Zuordnung der Signale in **1** war das Spektrum des Emodins, das aufgrund der ^{13}C - ^1H -Kopplungskonstanten und von Entkopplungsexperimenten eindeutig bestimmt ist [19]. Der Zuordnung des nicht beschriebenen Emodintriacetat-Spektrums liegen die von Höfle [20] und Berger *et al.* [21] ermittelten ^{13}C -Resonanzlagen des Physciondiacetats (für Ring A) und des 1,3-Diacetoxyanthrachinons (für Ring C) zugrunde. Zu diesem Vorgehen berechtigen die Untersuchungen von Höfle [20], wonach in Anthrachinonen die Substituenten des einen aromatischen Ringes sich kaum auf die Resonanzlagen der aromatischen

Tab. I. Zuordnung der ^{13}C -NMR-Verschiebungen für **1** und **2a**.

	Frangula- Emodin ^a [19]	Emodin-8- β - primverosid ^a (1)	Triacetyl- Emodin ^b	Emodin-8- β - gentiobiosidnonaacetat ^b (2a)
C-1	161,19	161,16 s ^c	150,73	149,99 s
C-2	123,88	124,21 d	131,19	130,45 d
C-3	148,04	146,96 s	146,57	145,41 s
C-4	120,22	119,30 d	126,28	125,25 d
C-5	108,68	108,78 ^d d	118,46	114,75 ^d d
C-6	165,40	164,60 s	155,11	154,78 s
C-7	107,71	108,70 ^d d	123,61	116,09 ^d d
C-8	164,32	161,91 s	151,90	157,96 s
C-9	189,44	186,59 s	180,20	179,27 s
C-10	180,92	182,36 s	181,84	181,69 s
C-11	134,77	136,65 s	136,08	135,55 s
C-12	108,68	114,05	123,24 ^g	121,12 s
C-13	112,99	114,63 s	123,00 ^g	123,90 s
C-14	132,51	132,28 s	134,52	133,68 s
C-1'		101,13 d		99,70 d
C-2'		73,37 ^e d		70,68 ^d d
C-3'		76,31 ^f d		71,76 ^e d
C-4'		69,50		68,60 ^f
C-5'		76,31 ^f d		72,38 ^e
C-6'		69,56		68,31 t
C-1''		104,02 d		100,65 d
C-2''		73,30 ^e d		70,24 ^d d
C-3''		76,00 ^f d		72,38
C-4''		68,14 d		68,13 ^f
C-5''		65,54 t		73,23 ^e
C-6''				61,45 t
Übrige Signale	CH ₃ : 21,44	CH ₃ : 21,22 q	Ar-CH ₃ : 21,68 3×CH ₃ : 21,06 3×Acetyl-CO: 169,59, 169,19 168,14	10×CH ₃ : 19,94, 20,17 (2×), 20,20 (2×), 20,29, 20,38, 20,70, 20,85, 21,21, 9×Ac. – CO: 168,31, 169,14, 169,36 169,50, 169,53, 169,95 (2×), 170,05, 170,42

^a $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$; δ in ppm/TMS.^b CDCl_3 ; δ in ppm/TMS.^c Off-Resonance-Multiplizitäten. Bei fehlender Angabe Signalüberlagerung.^{d–f} entsprechend austauschbare Zuordnungen.^g C-12/C-13: zu Intensitätsschwach. C-12: aus 1,3,6,8-Tetraacetoxyanthrachinon [21]; C-13: aus Physciondiacetat [20].

Kohlenstoffatome jenseits der Carbonylgruppen bemerkbar machen.

Der Tab. I und Abb. 2 läßt sich für **1** und **2a** entnehmen, daß die Resonanzlagen der aromatischen Kohlenstoffatome 1–4 und 14 nahezu identisch sind mit den entsprechenden Aglykon-Signalen. Die chemischen Verschiebungen der übrigen C-Atome, insbesondere die des C-Ringes und des C-9 Carbonyls, sind dagegen unterschiedlich. Die bei einer C-8-O-Glykosidierung des Emodins bzw. des Triacetylemodins zu beobachtenden Verschiebungseffekte $\Delta\delta$ sind in Tab. II wiedergegeben.

Für die Gruppe der freien Phenole sind in Tab. II die aus den Literaturangaben einiger Modellverbindungen berechneten Substituentenparameter $\Delta\delta$

bzw. bekannte Verschiebungseffekte der Flavonoid- und Cumaringlykosidierung den Emodin-Werten korrelat gegenübergestellt, wobei in drei Beispielen mangels geeigneterer Modellsubstanzen die Glykosidierung formal als Alkylierung (OCH_3 -Inkrement) in die Berechnung einbezogen wurde. Im Emodinprimverosid (**1**) erscheinen die Hochfeldverschiebungen von 2,4 ppm an der Glykosidverknüpfungsstelle und von 3 ppm der benachbarten Carbonylresonanz C-9 sowie die 5,1 bzw. 1,8 ppm Tieffeldverschiebung der Brückenkopfatome C-12 (α') bzw. C-11 (α') als signifikante Kenngrößen. Denn diese Befunde entsprechen den Effekten einer 8-O-Methylierung des 6,8-Dihydroxyanthrachinons (Beispiel 1) und den Angaben für 5,7-Dihydroxy-

Tab. II. Korrelation ^{13}C -Chemischer Verschiebungseffekte $\Delta\delta$ (ppm) für freies (**1**) und acetyliertes (**2a**) Emodin-8-O- β -glykosid.

Übergang -OH ^c bzw. -OAc ^d → -O- β -Glykos. bzw. -OCH ₃	C-ipso (α)	C-o	C-m	C-p	C-o' C-12 ^a	C-m' C-11 ^a	C=O C-9 ^a	C=O C-10 ^a	C-13 ^a
8-Hydroxy-6-methoxy-AC ^b [21] → 6,8-Dimethoxy-AC [23]	- 2	- 2	-0,9	-3,3	+5	+2,2	-4,8	+1,8	+5
7-Hydroxycumarin → 7- β -D-Glucosyloxycumarin [27]	- 1,3	+ 0,9 (C8)		+1,9	+0,5 (C6)				
5,7-Dihydroxyflavonoid → a) 7-O- β -glucosid [22, 28, 31] b) 5-O- β -glucosid [28, 31]	- 1,6 ^e - 2,7	+ 1 ^e + 4,4	-3 (C7) (C8)	+1,7 +3,2	+1 ^e +4,3 (C10)		-6		
6,8-Dihydroxy-7-hydroxymethyl-AC ^b (Lucidin) → L-6-Ö- β -primverosid [29]	- 1,5	+ 3,4 (C7) - 1,4 (C5)	-1,5 (C8)	+1,7 (C12)	s. C-o		+1		
Frangula-Emodin → Emodin-8-O- β -primverosid (1)	- 2,4	+ 1	-0,8	+0,1	+5,3	+1,8	-3	+1,4	+1,7
Phenylacetat → Anisol [24]	+ 8	- 9		-6					
Phenylacetat → Phenyl- β -D-glucopyranosid [18]	+ 2	- 3,1	+2	-1,8					
6,8-Diacetoxy-AC → 8-Methoxy-6-acetoxy-AC [21]	+10	-11	+0,8	-5,7	-2,3	+0,5			+1
1,6,8-Triacetyl-Emodin → Emodin-8-O- β -gentiobiosid-nonaacetat	+ 6	- 7,4		-3,5	-2,1	-0,5	-1		+0,9

^a Numerierung entspr. Anthrachinon.^b AC = Anthrachinon; A-Ring-Numerierung auf Ring C übertragen.^c Meßwerte aus $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$; angegebene $\Delta\delta \geq 0,5$ ppm.^d Meßwerte aus CDCl_3 ; angegebene $\Delta\delta \geq 0,5$ ppm.^e Mittelwerte.

flavonoide (Beisp. 3), in denen eine 5-O-Glykosidierung bei aufgehobener Wasserstoffbrückenbindung zum C-4-Carbonylkohlenstoff sehr ähnliche Verschiebungen hervorruft (vgl. [31]). Die für C-7 (o) und C-6 (m) gefundenen $\Delta\delta$ sind mit den entsprechenden Unterschieden bei einer 7-O-Glykosidierung der Flavonoid- und Cumarinbeispiele vergleichbar. Die kaum veränderte Resonanzlage des p-Kohlenstoffatoms 5 überrascht, da der p-Effekt u.a. für Flavonoide [31] signifikant ist. Eine denkbare Glykosylierung am C-6-Hydroxyl ergibt insgesamt eine weniger sinnvolle Zuordnung der Meßwerte und insbesondere gegenüber der 8-O-Glykosidbindung deutlich andere Verschiebungseffekte, wie das hierfür einzig beschriebene Beispiel 4 des Lucidin-3 (resp. 6)-O- β -primverosids belegt. Im vorliegenden Falle der 8-O-Glykosidierung in Anthrachinonen des Emodintyps sind demnach die Resonanzlagen der C-Atome der Glykosidierungsposition, des o'-Brückenkopfs 12 und der Carbonylgruppe 9 in besonderem Maße zur Iden-

tifizierung der Verknüpfungsstelle in Betracht zu ziehen.

Abb. 2 zeigt vergleichsweise die ^{13}C -NMR-Spektren des Triacetylemodins und des Emodin-8-O- β -gentiobiosid-nonaacetats. Die im zweiten Teil der Tab. II angegebenen Daten für die Peracetyldeivate zeigen gute korrelative Übereinstimmungen der $\Delta\delta$ in den aufgeführten Beispielen. Die Verschiebungseffekte selbst erscheinen ausgeprägter als in den freien Glykosiden. Eine Glykosylierung an O-8 hat auf die C-Atome desselben Ringes die erwarteten Verschiebungen nach tieferem (C-8) bzw. höherem Feld (o, o', p) zur Folge. Auffällig dabei ist, daß die Hochfeldverschiebungen der o-Positionen auf der dem Chinonring abgewandten Seite größer als auf der zugewandten Seite sind. Dies steht im Einklang mit dem umgekehrten Effekt beim Übergang von 1-Hydroxy- zu 1-Acetoxyanthrachinon [20]. Eine C-6-O-Glykosidierung ergäbe insgesamt keine sinnvolle Signalzuordnung; insbesondere widersprechen die gefundenen m, m'-effekte aufgrund der in

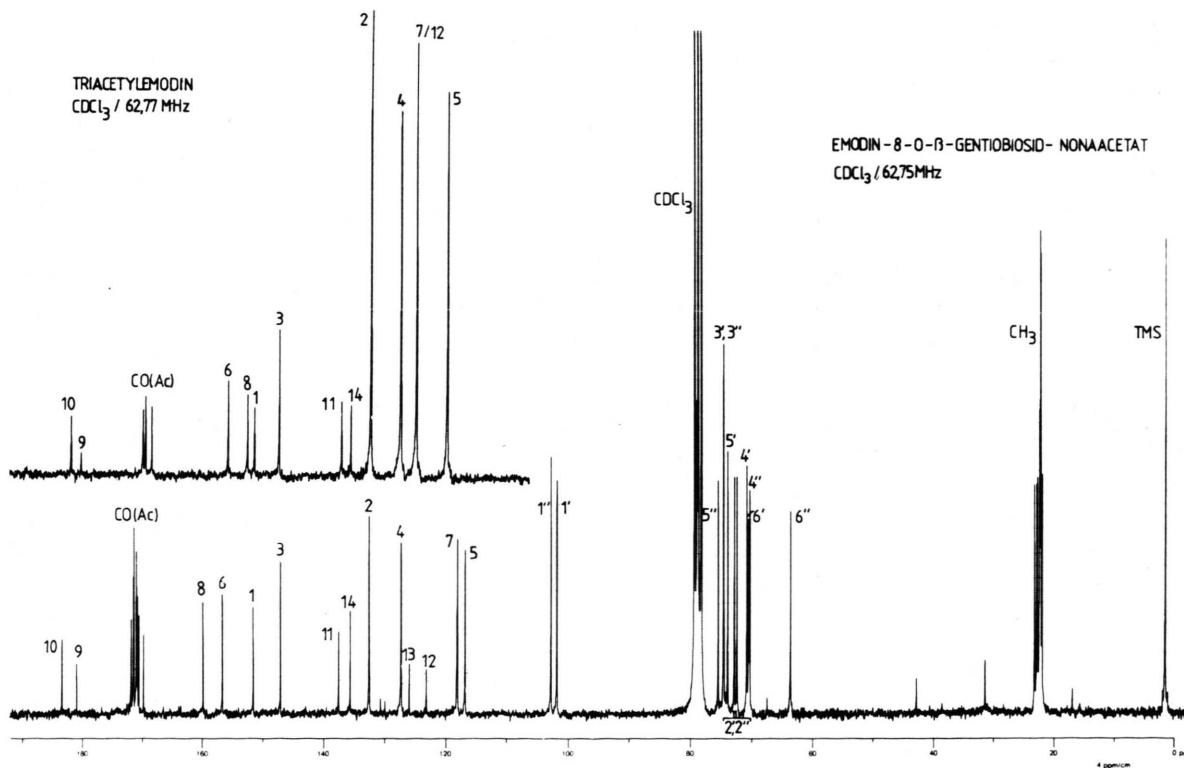


Abb. 2. Darstellung des Glykosidierungseffekts anhand der ^{13}C -NMR-Spektren des Triacetylemodins (Ausschnitt oben links; ohne DH_3 -Signale) und des Emodin-8-O- β -gentiobiosid-nonaacetats.

Tab. II wiedergegebenen Beispiele sowie vergleichbarer Literaturangaben [21].

Die für **1** und **2a** ermittelten ^{13}C -Daten sind zweifellos nur mit einer C-8-O-Zuckerverknüpfung vereinbar. Verallgemeinernde Schlußfolgerungen zur Bestimmung der Glykosidierungsstelle in 1,8-Dihydroxyanthrachinonderivaten mit Hilfe von ^{13}C -NMR-Parametern bleiben einer systematischen Untersuchung, ähnlich den Flavonoidglykosiden [22, 28, 31] vorbehalten. Zu diesem Zweck bevorzugen die hier erzielten Ergebnisse die peracetylierte Anthraglykosidform als Untersuchungsobjekt.

Den Hauptanthraglykosiden der Kreuzdornrinde kommen somit die Strukturen des Emodin-8-O- β -primverosids (**1**), des Emodin-8-O- β -gentiobiosids (**2**) und des Emodin-8-O- β -glukosids zu. Emodin-8- β -gentiobiosid ist bisher einmal, und zwar als Inhaltsstoff der offizinellen Faulbaumrinde, Frangulae cortex beschrieben [11]. Emodin-8- β -primverosid wurde bisher nicht isoliert (vgl. Einleitung) und stellt eine neue Emodinglykosid-Konstitution dar. Die in einigen Monographien von *Rhamni cathartici* cortex aufgeführten, für die Faulbaumrinde charakteristischen Anthraverbindungen, die Franguline und Glukofranguline, waren nicht nachweisbar (vgl. Einleitung). Als Nebenglykoside finden sich Dignykoside des Chrysophanols und Physcions [32]. Als Zuckerkomponenten der Anthra- und Naphthalidglykosidfraktion kommen nur Glukose und Xylose – diese in Form der β -Primveroze – vor. Die in der Frangula-Droge neben Glukose vorherrschenden Zucker Rhamnose und Apiose wurden nicht aufgefunden. Die Minderwertigkeit der Kreuzdornrinde als Anthracendroge gegenüber *Rhamnus frangula* zeigt sich nicht nur in der Qualität des Hydroxyanthracenspektrums, indem die für den Wirkwert der Faulbaumrinde verantwortlichen Glukofranguline fehlen. Vielmehr liegen erhebliche quantitative Unterschiede im Gehalt an Hydroxyanthracenderivaten zwischen beiden Rinden vor [2]: die Gehaltsbestimmung der Kreuzdornrinde nach der Vorschrift der Ph. Eur. II ergibt einen Gehalt von ca. 1% (ber. als Glukofrangulin A), während für die Faulbaumrinde ein Mindestgehalt von 6% verlangt wird.

Bei dem eingangs erläuterten Kristallisat „Rhamnitosid“ dürfte es sich nach dem beschriebenen Aufarbeitungsverfahren eigentlich um eine Glykosidfraktion handeln, die vorwiegend aus den Naphthalidprimverosiden Sorinin und 6-Methoxy-

sorinin [1] besteht. Diese ergeben, wie für Rhamnitosid beschrieben, nach Behandeln mit KOH nach einigen Stunden eine graugrüne Färbung.

Experimenteller Teil

Pflanzenmaterial

S. [1]; Belegexemplare der Rinde von *R.c.* werden im Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der FU Berlin aufbewahrt.

Verwendete Geräte

DCCC: DCC-A der Fa. Tokyo Rikakikai Co. (Zinsser Analytic GmbH, Frankfurt), 300 Säulen (40 cm × 2 mm I.D.). Detekt.: UV λ 280 nm/Uvicord S 2138/Uvicord 2210-2-Kanal-Flachbettenschreiber, 100 mV, Chart: 0,1 mm/Min. IR: Leitz-Unicam-Spektralphotometer SP 1050. UV-VIS: Zeiss PMQII. ^1H - und ^{13}C -NMR: Bruker WM 250. EI-MS: Varian CH-7. Optische Drehung: Perkin Elmer 141. Schmp.: Kofler Heiztischmikroskop.

Extraktion und Chromatographie

1 kg gepulverte Droge wurden mit insgesamt 4 l MeOH mit dem Ultra-Turrax extrahiert, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeengt. Rohextrakt ca. 100 g. a) 30 g Rohextrakt wurden sc an 300 g Polyamid (Divergan SZ 9010) mit 30prozentigem MeOH und MeOH vortrennt. Die nach den Naphthalidglykosiden [1] eluierte Anthraglykosidfraktion (1,5–2 g) wurde mittels DCCC im System $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O-HCOOH}$ (70:130:80:1) aufgetrennt. Emodinglukosid (15 mg) resultierte aus der DCCC bei absteigender Betriebsart (organische Phase = mobile Phase); Elutionsdauer bei Einsatz von 300 Säulen: 24 h. Fraktionen: 18 ml/h. Detektion: UV 280 nm. Die Reindarstellung der angereicherten Emodinglykoside gelang im selben DCCC-System mit einmal wäßriger (300 Säulen) und einmal organischer Phase (200 Säulen) als mobile Phasen: Emodinprimverosid (**1**) 25 mg, Emodingentiobiosid (**2**) 35 mg. b) Ausschließliche DCCC: Aus je 5 g MeOH-Extrakt wurde durch DCCC bei aufsteigendem Modus eine Phenolglykosidfraktion mit **1**, **2**, Sorinin, 6-Methoxysorinin und deren Glukosiden erhalten. Die weitere Auftrennung erfolgte durch wiederholte DCCC, einmal nach aufsteigender (Trenndauer: 18 h) und zwei- bis

dreimal nach absteigender Betriebsart (hier Säulenanzahl bis auf 200 reduziert; Trenndauer: 2–3 d; Fraktionierung und Detekt.: s.o.).

DC: Kieselgel 60-Alufolien Merck: FM n. Ph. Eur. AcOEt-MeOH-H₂O (100:17:13); *R*_f: E.-glukosid 0,60; E.-primverosid 0,38; E.-gentiobiosid 0,30. Polyamid-Folien: FM MeOH; E.-Glukosid 0,25, E.-gentiobiosid und -primverosid 0,4. Det.: methanol. KOH: orange-rote Fluoreszenzen im UV λ 360 nm.

Identifizierung

Hydrolyse: Je 2–3 mg der isolierten Glykoside wurden 1 h in 2 N HCl (50% MeOH) auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt; anschließend wurde mit BaCO₃ neutralisiert und nach Entfernen des MeOH i.V. Mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Die CHCl₃-Phasen enthielten Emodin (DC/Kieselgel: Petrolether-Ethylacetat-Eisessig 90:5:5; Emodin-Vergleichssubstanz; *R*_f 0,43), die wäßrigen Phasen Glukose und Xylose (nur in **1**). DC/Kieselgel: *n*-Propanol-Ethylacetat-H₂O 7:1:2; Glukose: *R*_f 0,4; Xylose *R*_f 0,6.

Emodin-8-O- β -glukosid (Fleck A): gelborange Kristalle, Schmp. 194–195 °C (CHCl₃) (Lit. [14] 190–191 °C, [13] 191–193 °C). UV-VIS (MeOH): λ_{max} 224, 282, 420 nm. – IR (KBr): 3410, 1677, 1625 (freies und chelatis. CO). – *Emodin-8-O- β -glukosid-hexaacetat*: Acetylierung mit Pyridin/Acetanhydrid (1:1). – ¹H-NMR (60 MHz/CDCl₃): Daten entspr. Lit. [15].

Emodin-8-O- β -primverosid (**1**): rotorange Plättchen, Schmp. 230–232 °C (MeOH). – UV-VIS (MeOH): λ_{max} 224, 245, 269, 281, 301 (sh), 415 nm; +NaOH: 415 → 489 nm (1 freie peri-OH [25]). – EI-MS (70 eV): *m/e* 270 (100%; Agl.). – ¹H-NMR (250 MHz/DMSO-d₆+CF₃COOD): 7,46 (d, *J* = 1 Hz, H-4), 7,29 (d, *J* = 2,3 Hz, H-5), 7,15 (d, verbr., H-2), 7,08 (d, *J* = 2,3 Hz, H-7), 5,05 (d, *J* = 7,5 Hz, H-1'), 4,19 (d, *J* = 7,2 Hz, H-1''), 4,08–3,00 (m, 11 H-Zuck.), 2,40 (s, Ar-CH₃); DMSO-d₆: 13,16 (s, C-1-OH), 5,21, 5,19 (m, 3 OH-Zuck.), 5,12 (d, *J* = 4,5 Hz, OH-Z.), 5,05 (d, *J* = 7,46 Hz, H-1'), 4,95 (d, verbr., *J* = 4,6 Hz, OH-Z.), 4,18 (d, *J* = 7,2 Hz, H-1''), 3,95 (d, verbr., *J* = 9,8 Hz, H-6' β), 3,71–3,59 (m, H-5', 5'' β , 6' α), 3,45–3,27 H₂O, überl. H), 3,08–2,96 (m, H-2'', 3'', 5'' α).

Emodin-8-O- β -primverosid-octaacetat (**1a**): Acetylierung mit Pyridin/Acetanhydrid (1:1); gelbe

Nadeln, Schmp. 217–219 °C (MeOH). – $(\alpha)^{\text{D}}_{\text{D}} = -85^\circ$ (*c* = 0,8; CHCl₃). – EI-MS (70 eV, 270 °C, DE): *m/z* 900 (M⁺, ca. 0,1%) f. C₄₂H₄₄O₂₂, 547 (Hexaacetylprimveros., 3,9%), 504 (547-CH₃CO, 0,4%), 487 (547-CH₃COOH, 0,3%), 444 (487-CH₃CO, 0,2%), 354 (Agl. + 2 Ac, 3,4%), 312 (Agl. + 1 Ac, 10,1%), 270 (Agl. 67,5%), 259 (Triacetylxylos., 82,3%), 199 (259-CH₃COOH, 52,1%), 157 (Zuck.ac.-Fragm. ([17] 54,5%), 139 ([17] 63%), 97 ([17] 46,2%), 43 (100%). – Ber. C 56% H 4,80% Gef.: C 55,4% H 4,9%. – ¹H-NMR (250 MHz/CDCl₃): 7,96 (s, verbr. H-4), 7,78 (d, *J* = 2,2 Hz, H-5), 7,21 (d, verbr., H-7), 7,17 (d, verbr., H-2), 5,49–4,84 (m, 7 H: H-1', 2', 2'', 3', 3'', 4', 4''), 4,48 (d, *J* = 6,86 Hz, H-1''), 4,14–3,33 (m, 5 H: H-5', 2 H-5'', 2 H-6'), 2,52, 2,48, 2,41 (s, je 3 H aus C-1/-6 OCOMe, C-3-Me), 2,08–2,03 (m, 15 H aus 5 COMe-Primver.), 1,82 (s, je 3 H aus COMe-Primver.).

Emodin-8-O- β -gentiobiosid (**2**): rote Kristallplättchen, Schmp. 198–200 °C (Lit. [11] 199–201 °C). – UV-VIS and IR: entspr. [11]. – ¹H-NMR (250 MHz/DMSO-d₆/CF₃COOD: 7,46 (s, verbr., H-4), 7,26 (d, *J* = 2,2 Hz, H-5), 7,15 (s, verbr., H-2), 7,09 (d, *J* = 2,2 Hz, H-7), 5,07 (d, *J* = 7,5 Hz, H-1'), 4,25 (d, *J* = 7,5 Hz, H-1''), 4,10–3,04 (m, ca. 12 Zuck.-H), 2,40 (s, Ar-CH₃); DMSO-d₆: 13,24 (s, C-1-OH), 5,21, 5,19 (m, 3OH-Zuck.), 5,11 (d, *J* = 3,8 Hz, OH-Zuck.), 5,07 (d, H-1'), 4,90 (m, 2OH-Zuck.), 3,99 (d, verbr., *J* = 9,7 Hz, H-6' β), 3,66 (m, H-5', 6' α , 6'' β).

Emodin-8-O- β -gentiobiosid-nonaacetat (**2a**): Acetylierung mit Pyridin/Acetanhydrid (1:1), gelbe Nadeln, Schmp. 201–202 °C (Lit. [11] 201–203 °C). – $(\alpha)^{\text{D}}_{\text{D}} = -42,5^\circ$ (*c* = 0,1; CHCl₃) ([11] –45,4 °C). – EI-MS (70 eV, 270 °C, DE): *m/z* 972 (M⁺, ca. 0,1%), 888 (M⁺-2COCH₂, 0,1%), 619 (Heptaacetylgentiob., 6%), 438 (2%), 396 (3%), 354 (Agl. + 2 Ac, 5%), 331 (Tetraacetylglucos., 39%), 312 (Agl. + 1 Ac, 14%), 288 (12%) 270 (Agl., 91%), 169 ([17] 100%), 109 (69%), 43 (> 100%). – Ber. C 55,5 H 4,9 gef. C 54,87 H 4,85 f. C₄₅H₄₈O₂₄. – ¹H-NMR (250 MHz/CDCl₃): 7,92 (s, verbr., H-4), 7,74 (d, *J* = 2,5 Hz, H-5), 7,24 (d, *J* = 2,5 Hz, H-7), 7,15 (s, verbr., H-2), 5,44–4,88 (m, 7 H: H-1', 2', 2'', 3', 3'', 4', 4''), 4,48 (d, *J* = 7 Hz, H-1''), 4,26–3,62 (m, 6 H: H-5', 5'', 2 H-6', 2 H-6''), 2,51, 2,48, 2,43 (s, je 3 H aus C-1/-6 OCOMe, C-3-Me), 2,08 (s, 9 H aus COMe-Gentiob.), 2,02, 2,04, 1,98 und 1,78 (s, je 3 H aus COMe-Gentiob.).

Danksagung

Herrn Dr. H.-D. Just, Institut für Pharmakognosie der FU, danke ich für seine Mithilfe bei den Isolierungsarbeiten, Frau G. Dreke, Inst. f. Pharmazie

für die sorgfältigen Aufnahmen der ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren und Herrn Prof. Dr. K.-H. Gensch, Institut für Pharmazie für die Möglichkeit, am DCC-Chromatographen arbeiten zu können.

- [1] H. W. Rauwald u. H. D. Just, Arch. Pharm. (Weinheim) (im Druck).
- [2] UV-VIS-Photometr.-Gehaltsbest. entspr. Frangulae cortex, Ph. Eur. II: 0,9–1% Anthraglykos. bez. auf Emodindiglykosid (unveröffentl.).
- [3] M. Bridel u. C. Charaux, a) Bull. Soc. Chim. Biol. **7**, 811 (1925); b) Compt. rend. **180**, 857 u. 1047 (1925). c) Ann. Chim. **10**, 4, 79 (1925). Übersichtsreferat: L. Rosenthaler, in G. Klein: Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. III/2, Spez. Anal. II, S. 1011, Verlag von J. Springer, Wien 1932.
- [4] Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, 4. Neuaufl., Bd. VI/B, S. 92, Springer, Berlin-Heidelberg 1979.
- [5] O. Gessner u. G. Orzechowski: Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa, 3. Aufl., S. 118, Verlag Winter, Heidelberg 1974.
- [6] R. Hegnauer: Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd. 6, S. 60, Verlag Birkhäuser, Basel und Stuttgart 1973.
- [7] A. Buchner, Liebigs Ann. Chem. **87**, 218 (1853); zitiert nach W. Karrer: Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe, 2. Aufl., S. 511, Verlag Birkhäuser, Basel und Stuttgart 1976.
- [8] H. A. Hoppe: Drogenkunde, 8. Aufl., Bd. 1, S. 916, de Gruyter, Berlin 1975.
- [9] a) M. Luckner, O. Bessler u. P. Schröder, im Kommentar DAB7-DDR zur Monographie „Cortex Frangulae“, 1969. b) M. Luckner: Prüfung von Drogen, S. 150, Fischer Verlag, Jena 1967.
- [10] a) H. W. Rauwald u. R. Voetig, Arch. Pharm. **315**, 477 (1982); b) H. W. Rauwald, Arch. Pharm. **315**, 769 (1982).
- [11] G. Demuth, H. Hinz, O. Seligmann u. H. Wagner, Planta Med. **33**, 53 (1978).
- [12] G. P. Demagos, W. Baltus u. G. Höfle, Z. Naturforsch. **36b**, 1180 (1981).
- [13] a) L. Hörhammer, H. Wagner u. H. P. Hörhammer, Dtsch. Apoth. Ztg. **107**, 563 (1967); b) K. Savonius, Farm. Aikak. **82**, 136 (1973).
- [14] R. H. Thomson: Naturally Occurring Quinones, S. 421, Academic Press, London 1971.
- [15] W. Steglich u. W. Lösel, Tetrahedron **25**, 4391 (1969).
- [16] H. D. Just, Dissertation, FU Berlin (1982).
- [17] K. Heyns u. D. Müller, Tetrahedron Lett. **48**, 6061 (1966); K. Biemann, D. C. De Jongh u. H. K. Schnoes, J. Am. Chem. Soc. **85**, 1763 (1963).
- [18] E. Breitmaier u. W. Voelter: ^{13}C -NMR Spectroscopy, Verlag Chemie, Weinheim 1974.
- [19] F. Toma, J. C. Bouhet, P. P. V. Chuong, P. Fromageot, W. Haar, H. Rüterjans u. W. Maurer, Org. Magn. Reson. **7**, 496 (1975).
- [20] G. Höfle, Tetrahedron **33**, 1963 (1977).
- [21] Y. Berger, A. Castonguay u. P. Brassard, Org. Magn. Reson. **14**, 103 (1980).
- [22] a) K. R. Markham u. B. Ternai, Tetrahedron **32**, 2607 (1976). b) V. M. Chari u. H. Wagner, in T. Swain, J. B. Harborne u. C. F. Van Sumere (Eds.): Biochemistry of Plant Phenolics, Vol. 12, p. 43, Plenum Press, New York 1979.
- [23] Y. Berger u. A. Castonguay, Org. Magn. Reson. **11**, 1375 (1978).
- [24] E. Breitmaier u. G. Bauer: ^{13}C -NMR-Spektroskopie, S. 61, G. Thieme, Stuttgart 1977.
- [25] H. Auterhoff u. K. Boehme, Arch. Pharm. **301**, 793 (1968).
- [26] H. J. Banks, D. W. Cameron u. M. J. Crossley, Austr. J. Chem. **29**, 2238 (1976).
- [27] N. J. Cussans u. T. N. Huckerby, Tetrahedron **31**, 2719 (1975).
- [28] K. R. Markham, B. Ternai, R. Stanley, H. Geiger u. T. J. Mabry, Tetrahedron **34**, 1389 (1978).
- [29] K. Inoue, Y. Shiobara, H. Nayashiro, H. Inouye, G. Wilson u. M. H. Zenk, J. Chem. Soc. Chem. Comm. **1979**, 957.
- [30] K. Suessenguth: Rhamnaceae, in A. Engler und K. Prantl: Die natürlichen Pflanzenfamilien, 2. Aufl., Bd. 20d, S. 24, Duncker und Humblot, Berlin 1953.
- [31] K. R. Markham u. V. M. Chari, in J. B. Harborne u. T. J. Mabry (Eds.): The Flavonoids: Advances in Research, p. 19, Chapman and Hall, London 1982.
- [32] In Vorbereitung.