

Hildebert Wagner, Gerold Aurnhammer, Ludwig Hörhammer und Lorand Farkas

Synthese und Strukturbeweis von Narirutin, einem 5.7.4'-Trihydroxy-flavanon-7-rutinosid aus *Citrus sinensis* (L.) Osb.¹⁾

Aus dem Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München und der Forschungsgruppe für Alkaloidchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

(Eingegangen am 17. Dezember 1968)

Bei der direkten Kupplung von Naringenin mit α -Acetobromrutinose wird Naringenin-7-rutinosid (**1b**) erhalten, womit dessen Struktur als 5.7.4'-Trihydroxy-flavanon-7- β -[6-O- α -L-rhamnopyranosyl-D-glucopyranosid] bewiesen ist.

Während das bitter schmeckende Naringenin-7-neohesperidosid, Naringin (**1a**), schon im Jahre 1875²⁾ erstmals im Pflanzenreich (*Citrus decumana* L.) aufgefunden wurde, konnte das mit diesem strukturisomere, aber geschmacklose Rutinosid (**1b**) erst kürzlich von Gentili und Horowitz³⁾ aus Navel- und Valencia-Orangen (*Citrus sinensis* (L.) Osb.) sowie von Mizelle und Mitarbb.⁴⁾ aus der Grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) isoliert werden. Es war den Autoren nicht gelungen, das Glykosid in kristalliner Form zu erhalten. Die Struktur des Disaccharids als 6-O- α -L-Rhamnopyranosyl-D-glucopyranose (Rutinose) wurde durch Permethylierung des Glykosids, Methanolyse und Identifizierung der Methylzucker bewiesen.

Wie wir in einer Kurzmitteilung¹⁾ bereits berichteten, stellten wir neben dem Isosakuranetin-7-rutinosid (**2a**) (Didymin)⁵⁾ und einigen anderen Rhamnoglucosiden auch dieses Glykosid synthetisch dar. Als Modell kuppelten wir zunächst α -Acetobromcellobiose mit einem geringen Überschuß Naringenin (**1**) in einem Chloroform-Chinolin-Gemisch mit Silbercarbonat als Katalysator. Unter diesen Bedingungen gelang es, die C-7-Hydroxylgruppe im Naringenin selektiv zu glykosidieren. Nach chromatographischer Abtrennung des nicht umgesetzten Naringenins erhielten wir

¹⁾ Vorläufige Mitteil.: H. Wagner, G. Aurnhammer, L. Hörhammer, L. Farkas und M. Nógrádi, Tetrahedron Letters [London] 1968, 1635.

²⁾ E. Hoffmann, Ber. dtsh. chem. Ges. 9, 690 (1876).

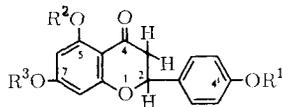
³⁾ B. Gentili und R. M. Horowitz, Bull. nat. Inst. Sci. India 31, 78 (1965).

⁴⁾ J. Mizelle, W. Dunlap, R. Hagen, S. Wender, B. Lime, R. Albach und F. Griffiths, Anal. Biochem. 12, 316 (1965).

⁵⁾ H. Wagner, L. Hörhammer, G. Aurnhammer und L. Farkas, Chem. Ber. 101, 445 (1968).

Naringenin-7- β -cellobiosid-heptaacetat (**1c**) in nahezu 50proz. Ausbeute. Verseifung mit Natriummethylat lieferte ein kristallines Naringenin-7- β -cellobiosid (**1d**) vom Schmp. 213–216°.

Die Glykosidierung des Naringenins (**1**) mit α -Acetobromrutinose führten wir unter gleichen Bedingungen durch. Nach Abtrennung des unveränderten Naringenins über eine Kieselgelsäule erhielten wir in 58proz. Ausbeute Naringenin-7-rutinosid-hexaacetat (**1e**) und hieraus durch nochmalige Acetylierung das entsprechende Octaacetat (**1f**). Die Entacetylierung von **1e** mit Natriummethylat lieferte nach chromatographischer Reinigung über eine Polyamid- und Kieselgelsäule aus absol. Äthanol **1b** in gelblichen Plättchen vom Schmp. 160–165°. UV-, IR- und NMR-Spektren sprechen für die Struktur eines 5,7,4'-Trihydroxy-flavanon-7- β -[6-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-D-glucopyranosides] (**1b**). Wir schlagen für das zum Unterschied von Naringin geschmacklose Glykosid den Namen *Narirutin* vor.



	R ¹	R ²	R ³
1	H	H	H
1a	H	H	β -Neohesperidosyl
1b	H	H	β -Rutinosyl
1c	H	H	β -Cellobiosyl-heptaacetat
1d	H	H	β -Cellobiosyl
1e	H	H	β -Rutinosyl-hexaacetat
1f	CH ₃ CO	CH ₃ CO	β -Rutinosyl-hexaacetat
2a	CH ₃	H	β -Rutinosyl
2b	CH ₃	H	β -Rutinosyl-hexaacetat

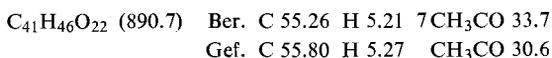
Um sicherzustellen, daß die Glykosidierung tatsächlich am C-7-Hydroxyl stattgefunden hatte, methylierten wir Narirutin in Form seines Hexaacetates (**1e**) mit Diazomethan zum entsprechenden Isosakuranetin-7-rutinosid-acetat (**2b**). Nach Entacetylierung und präparativer Papierchromatographie erhielten wir das natürlich vorkommende und von uns bereits früher synthetisierte Isosakuranetin-7-rutinosid (Didymin) (**2a**).

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemie danken wir für die großzügige Förderung dieser Arbeit durch Sachbeihilfen.

Beschreibung der Versuche⁶⁾

5.7.4'-Trihydroxy-flavanon-7- β -[4-O- β -D-glucopyranosyl-D-glucopyranosid-heptaacetat], *Naringenin-7- β -[cellobiosid-heptaacetat]* (**1c**): 0.69 g *Naringenin* (**1**) wurden in einer Mischung aus 1 ccm Chloroform und 6 ccm frisch dest. Chinolin mit 0.8 g Silbercarbonat und 0.5 g Drierite 30 Min. geschüttelt. Nach Zugabe von 1.72 g α -Acetobromcellobiose wurde weitere 2 Stdn. geschüttelt. Die Reaktionsmischung wurde mit 10 ccm Chloroform verdünnt und von Silbersalzen abzentrifugiert. Die vom Chloroform befreite Lösung wurde in 100 ccm 10proz. Essigsäure getropft. Nach Filtration wurde der Rückstand in Aceton gelöst, mit 10 ccm Eisessig versetzt und auf Eis gegeben. Der ausgefallene Niederschlag wurde abgesaugt und im Vakuumexsikkator getrocknet.

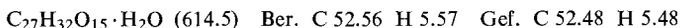
Chromatographie an einer Silicagelsäule (40 \times 6 cm) mit Äther/Benzol (3 : 8) ergab in der ersten gefärbten Fraktion unverändertes *Naringenin*, in den folgenden Fraktionen das gewünschte **1c**. Ausb. 1.08 g (49.1%). Nadeln aus absol. Äthanol; Schmp. 132–135°.



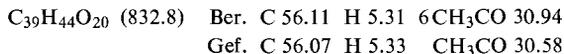
Chromatographie: Kieselgelplatte, Äther/Toluol (1 : 1); R_F 0.12 (*Naringenin* 0.42). Schwarzfärbung mit H_2SO_4 bei 150°.

5.7.4'-Trihydroxy-flavanon-7- β -[4-O- β -D-glucopyranosyl-D-glucopyranosid], *Naringenin-7- β -cellobiosid* (**1d**): 0.9 g **1c** wurden bei 0° mit einer Lösung von 0.45 g *Natrium* in 100 ccm *Methanol* 15 Min. entacetyliert. Nach Neutralisation mit Eisessig wurde das Glykosid aus verd. *Methanol* kristallisiert. Schmp. 213–216°. Ausb. 0.47 g (78%).

Das bei 120° i. Hochvak. getrocknete Glykosid enthält nach *Karl Fischer* 1 Mol. Kristallwasser (ber. 2.93%, gef. 3.58%). $[\alpha]_D^{25}$: -46.37° ($c = 1.07$, in Pyridin).



5.7.4'-Trihydroxy-flavanon-7- β -[6-O- α -L-rhamnopyranosyl-D-glucopyranosid-hexaacetat], *Naringenin-7- β -[rutinosid-hexaacetat]* (**1e**): Eine Lösung von 0.32 g **1** in einer Mischung aus 0.5 ccm Chloroform und 4 ccm Chinolin wurde nach Zugabe von 0.42 g Silbercarbonat und 0.25 g Drierite 25 Min. geschüttelt. Dann wurden 0.80 g α -Acetobromrutinose zugegeben. Nach 2stdg. Schütteln unter Lichtabschluß wurde die Mischung wie bei **1c** aufgearbeitet. Chromatographie auf 2 Silicagelsäulen (4 \times 40 cm) mit Äther/Benzol (3 : 8) ergab in den ersten gefärbten Fraktionen unverändertes **1**, in den folgenden Fraktionen das gewünschte *Naringenin-7- β -[rutinosid-hexaacetat]* (**1e**) und in den darauf folgenden Fraktionen eine geringe Menge eines Kupplungsproduktes, vermutlich das *Naringenin-4'-[rutinosid-hexaacetat]*. Ausb. an **1e**: 0.57 g (57.8%). Farbloses amorphes Pulver vom Schmp. 123–126°. $[\alpha]_D^{25}$: -49.9° ($c = 1.02$, in Chloroform).



NMR (CDCl_3 , int. TMS): Aglykon: H-6, H-8: $\delta = 6.1$ – 6.25 ppm; H-2', H-6': 7.25–7.45; H-3', H-5': 6.92 (d, $J = 9$ Hz); offs. 500 Hz in DMSO: C-5-Hydroxyl: 12.0; C-4'-Hydroxyl: 0.53.

Chromatographie: Kieselgelplatte, Benzol/Äthanol (85 : 15); *Narirutin-hexaacetat* (**1e**) R_F 0.42; *Narirutin-octaacetat* (**1f**) R_F 0.63. Schwarzfärbung mit H_2SO_4 bei 150°.

⁶⁾ Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Die NMR-Spektren wurden mit dem Varian A 60 aufgenommen.

Synthet. Narirutin, 5,7,4'-Trihydroxy-flavanon-7-β-[6-O-α-L-rhamnopyranosyl-D-glucopyranosid], Naringenin-7-β-rutinosid (1b): 0.9 g **1e** wurden mit 100 ccm 0.4proz. Natriummethylat-Lösung über Nacht entacetyliert. Nach Neutralisation mit Eisessig wurde das Glykosid vom Methanol befreit, in 60 ccm Wasser gelöst und durch 15maliges Ausschütteln mit je 100 ccm Äthylacetat gereinigt. Die organ. Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet, eingengt und auf 2 Säulen (40 × 6 cm) über Polyamid mit 10proz. Methanol chromatographiert. Man erhielt chromatographisch reines *Narirutin (1b)* als gelbes Pulver. Zur weiteren Reinigung wurde ein Teil nochmals auf einer Silicagelsäule mit Äthylacetat/Methanol/Wasser (80:14:10) chromatographiert. Kristallisation aus absol. Äthanol bei -20° lieferte gelbe Plättchen, Schmp. 160—165°. $[\alpha]_D^{25}$: -49.5° (*c* = 1.8, in Pyridin).

$C_{27}H_{32}O_{14} \cdot H_2O$ (598.5) Ber. C 54.18 H 5.72 Gef. C 53.84 H 5.86

UV (Methanol p. a.): λ_{max} (log ϵ) 283 (4.22); Inflex. 327—332 m μ (3.60).

Chromatographie: Polyamidplatte, Nitromethan/Methanol (65:30); *Narirutin* R_F = 0.57; *Naringin* R_F = 0.52.

5,7,4'-Trihydroxy-flavanon-7-β-[6-O-α-L-rhamnopyranosyl-D-glucopyranosid]-octaacetat, Narirutin-octaacetat (1f): 0.54 g **1e** wurden mit 2 ccm Pyridin und 2 ccm *Acetanhydrid* bei 25° 15 Stdn. acetyliert. Aus Äthanol 0.55 g (64.2%) farbloses **1f** vom Schmp. 121—124°. $[\alpha]_D^{20}$: -43.8° (*c* = 1.29, in Chloroform).

$C_{43}H_{48}O_{22}$ (916.9) Ber. C 56.33 H 5.28 8CH₃CO 37.6

Gef. C 56.53 H 5.36 CH₃CO 37.9

NMR (CDCl₃, int. TMS): Acetylgruppen: δ = 1.9—2.10 ppm (18 H); 2.3—2.45 (6 H). Aglykon: H-3: 2.75—3.00 (2 H); H-2: 5.6 (q); H-6: 6.35 (d, *J* = 2.5 Hz); H-8: 6.55 (d, *J* = 2.5 Hz); H-3', H-5': 7.15; H-2', H-6': 7.48 (d, *J* = 9 Hz). Rhamnoglucosyl: Rhamnose-CH₃: 1.2 (d, *J* = 6 Hz); Glucose-H-5, 6 und Rhamnose-H-5: 3.6—4.0 (4 H); Glucose-H-1, 2, 3, 4 und Rhamnose-H-2, 3, 4: 5.1—5.3 (7 H); Rhamnose-H-1: 4.7 (d, *J* = 1 Hz).

Chromatographie: Kieselgelplatte, Äther/Toluol (2:1); *Narirutin-octaacetat* R_F 0.46; *Naringin-octaacetat* R_F 0.49. Schwarzfärbung mit H₂SO₄ bei 150°.

Didymin (2a) aus Naringenin-7-β-[rutinosid-hexaacetat] (1e) durch partielle Methylierung: 0.2 g **1e** wurden in 5 ccm Methanol mit 10 ccm äther. *Diazomethan*-Lösung versetzt und 2 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach Abdestillieren des Äthers wurde mit 5 ccm 0.4proz. Natriummethylat-Lösung während 20 Min. bei 0° entacetyliert. Nach Neutralisation mit Essigsäure wurde die Lösung auf 4 Bögen Papier 2043 b (Schleicher & Schüll) mit 2proz. Essigsäure präparativ chromatographiert. Die getrockneten Papiere wurden unter dem UV-Licht betrachtet und die das Didymin enthaltenden Zonen ausgeschnitten. Die Papierstreifen wurden absteigend mit 75proz. Methanol chromatographiert. Aus der abtropfenden Flüssigkeit konnte **2a** kristallisiert werden. Der Schmp. lag nach Umkristallisieren bei 208—211°. Der Misch-Schmp. mit natürlichem Didymin war ohne Depression.

[571/68]