

Gerold Aurnhammer, Hildebert Wagner, Ludwig Hörhammer und Lorand Farkas

Synthese des 7- β -Neohesperidosyl-4'- β -D-glucopyranosyl-naringenins, eines Flavanontriglykosids aus Citrusfrüchten

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

(Eingegangen am 19. Oktober 1970)

Das von Mizelle und Mitarbb.¹⁾ aus *Citrus paradisi* Macf. isolierte 7- β -Neohesperidosyl-4'- β -D-glucopyranosyl-naringenin (**3**) wurde durch Kondensation von Phloracetophenon-4- β -neohesperidosid (**1**) mit 4-Hydroxy-benzaldehyd-4- β -D-glucopyranosid (**2**) und Cyclisierung des entstandenen Chalkonglykosids synthetisiert. Durch Dehydrierung des Flavanontriglykosid-undecaacetats (**3a**) wurde nach Verseifen das 7- β -Neohesperidosyl-4'- β -D-glucopyranosyl-apigenin (**7**) als erstes synthetisches Apigenintriglykosid dargestellt.

Synthesis of 7- β -Neohesperidosyl-4'-(β -D-glucopyranosyl)naringenin, a Flavanone Triglycoside from Citrus Fruits

The glycoside 7- β -neohesperidosyl-4'-(β -D-glucopyranosyl)naringenin (**3**), isolated from the segments of *Citrus paradisi* Macf. by Mizelle et al.¹⁾, was synthesized by condensation of phloracetophenone 4- β -neohesperidoside (**1**) with 4-hydroxybenzaldehyde 4- β -D-glucopyranoside (**2**) and by cyclisation of the resulting chalcone glycoside. Dehydrogenation of the flavanone triglycoside undecaacetate and subsequent saponification leads to the formation of 7- β -neohesperidosyl-4'-(β -D-glucopyranosyl)apigenin (**7**), the first synthetic apigenin triglycoside.

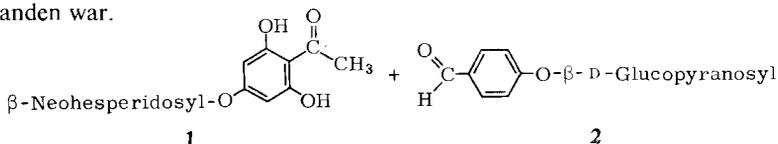
Aus der Grapefruit, *Citrus paradisi* Macf., Sorte „Texas Ruby Red“, wurden kürzlich von Mizelle und Mitarbb.¹⁾ neben Naringin (**5**) und dem damit isomeren Naringenin-7- β -rutinosid (Narirutin, **6**) zwei neue Glykoside in amorpher Form isoliert, bei denen es sich um die ersten bisher bekannten Flavanontriglykoside handelt. Das eine Glykosid, das 5.7.4'-Trihydroxy-flavanon-7-[6-O- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranosid]-4'- β -D-glucopyranosid (Narirutin-4'- β -D-glucopyranosid, **4**) wurde von uns kürzlich im Rahmen unserer Synthesearbeiten über Flavonoid-4'-glykoside dargestellt³⁾. Nunmehr berichten wir über die Synthese des zweiten Triglykosids, für das die Struktur eines 5.7.4'-Trihydroxy-flavanon-7-[2-O- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranosid]-4'- β -D-glucopyranosids (Naringin-4'- β -D-glucopyranosids, **3**) ermittelt wurde. **3** wurde auch in *Citrus grandis* (L.) Osbeck und *Citrus paradisi* \times *Citrus trifoliata* nachgewiesen^{1,2)}.

1) J. W. Mizelle, W. J. Dunlap und S. H. Wender, *Phytochemistry* **6**, 1305 (1967).

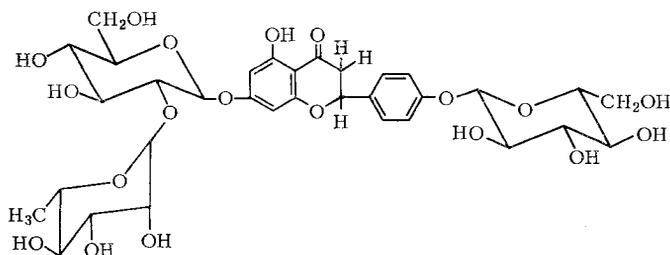
2) R. Albach und G. Redman, *Phytochemistry* **8**, 127 (1969).

3) G. Aurnhammer, H. Wagner, L. Hörhammer und L. Farkas, *Chem. Ber.* **103**, 1578 (1970).

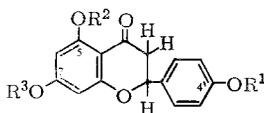
Ein zunächst durchgeführter Versuch, Phloracetophenon-4- β -neohesperidosid (**1**)⁴⁾ mit 4-Hydroxy-benzaldehyd-4- β -D-glucopyranosid (**2**)⁵⁾ zu kondensieren, ergab unter den üblichen Reaktionsbedingungen (60proz. Kalilauge) unbefriedigende Ergebnisse. Nach Cyclisierung des Kondensationsproduktes zeigten chromatographische Untersuchungen, daß statt des erwarteten Triglykosids **3** zum großen Teil Naringin (**5**) entstanden war.



\downarrow 1) 14proz. KOH
 2) Pyridin/H₂O



3, 7- β -Neohesperidosyl-4'- β -D-glucopyranosyl-naringenin



| | R ¹ | R ² | R ³ |
|-----------|--|--------------------|--------------------------------------|
| 3 | β -D-Glucopyranosyl | H | β -Neohesperidosyl |
| 3a | Tetraacetyl- β -D-glucopyranosyl | CH ₃ CO | Hexaacetyl- β -neohesperidosyl |
| 4 | β -D-Glucopyranosyl | H | β -Rutinosyl |
| 5 | H | H | β -Neohesperidosyl |
| 6 | H | H | β -Rutinosyl |

Dieses Ergebnis wird durch Versuche von *Reichel* und *Reichwald*⁶⁾ bestätigt, die berichten, daß **2** mit einem „dimeren Komplex aus 2 Mol Phloracetophenon-4-glucosid“ unter den verschiedensten Bedingungen nicht reagierte, während eine Kondensation des Phloracetophenonglucosids mit Benzaldehyd oder seinen Derivaten ohne weiteres gelang.

⁴⁾ H. Wagner, G. Aurnhammer, L. Hörhammer, L. Farkas und M. Nogradi, Chem. Ber. **102**, 785 (1969).

⁵⁾ F. Mauthner, J. prakt. Chem. **85**, 567 (1912); L. Reichel und R. Schickle, Liebigs Ann. Chem. **553**, 98 (1942).

⁶⁾ L. Reichel und W. Reichwald, Liebigs Ann. Chem. **729**, 217, 225 (1969).

Auch *Kamiya* und Mitarbb.⁷⁾ hatten vergeblich versucht, Phloracetophenon-4- β -D-glucosid und **1** mit **2** zu den entsprechenden Flavanon-7,4'-di-*O*-glykosiden zu kondensieren.

Nachdem die leichte Alkali-Spaltung von Phenolglucosiden, die an C-2 der Glucose ein in *trans*-Stellung zur benachbarten Aryloxygruppe stehendes Hydroxyl tragen, aus der Literatur bekannt ist⁸⁻¹⁰⁾, dürfte bei unseren Kondensationsversuchen das Naringin durch Abspaltung der an den 4-Hydroxy-benzaldehyd gebundenen Glucose im stark alkalischen Medium entstanden sein.

Die glykosidische Bindung zum Aglykon ist dagegen sehr alkalistabil, wenn, wie z. B. bei **1**, das C-2-Hydroxyl der Glucose mit einem weiteren Zucker verknüpft ist¹⁰⁾.

Wie wir schließlich fanden, läßt sich die Abspaltung der an den Aldehyd gebundenen Glucose vermeiden, wenn man die Kondensation von **1** mit **2** unter milden Reaktionsbedingungen (14proz. Kaliumhydroxid in 55proz. Äthanol) durchführt. Wir erhielten bei einer Reaktionsdauer von über 140 Stdn. ein nicht kristallisierbares Chalkonglykosid, das in wäßrigem Pyridin zum Flavanontriglykosid **3** cyclisierte. Nach Polyamid-Säulenchromatographie kristallisierte reines **3** in farblosen Nadeln vom Schmp. 239°. Die Ausbeute betrug 30%.

3 unterscheidet sich somit vom isomeren 7- β -Rutinosyl-4'- β -D-glucopyranosyl-naringenin (**4**), das bisher auch durch Synthese nicht kristallin erhalten werden konnte. Im Unterschied zum Rutinosid **4** schmeckt das Neohesperidosid **3** schwach bitter. Der Bitterwert des Naringins (**5**) liegt etwa 30mal höher.

Da eine natürliche Substanz zum Vergleich nicht erhältlich war und auch ein IR-Spektrum von natürlichem **3** nicht existierte, mußte sich eine Identitätsprüfung der Substanzen auf spektroskopische und chromatographische Vergleiche beschränken. Die IR-Spektren von synthet. **3** und **4** zeigen große Ähnlichkeit, doch sind geringe Unterschiede im Bereich von 660–900/cm erkennbar. Die bei natürlichem und synthetischem **3** gleichen UV-Verschiebungsspektren nach Natriumacetat-, Natriumäthylat- und Aluminiumchlorid-Zusatz sprechen für identische, in 7- und 4'-Stellung glykosidierte Aglykone (siehe exper. Teil). Eine Identität der Zucker kann aus dem gleichen chromatographischen Verhalten von natürlichem und synthetischem **3** im Vergleich zu **4** und den Diglykosiden **5** und **6**^{1,2,11)} gefolgert werden. Auf Celluloseplatten wandern die Neohesperidoside **3** und **5** jeweils knapp vor den Rutinosiden **4** und **6**, während umgekehrt auf Polyamidplatten die Rutinoside einen etwas höheren R_f -Wert als die isomeren Glykoside zeigen (siehe exper. Teil).

Im synthet. **3** liegt das Aglykon als Racemat vor. Enzymatische Hydrolyse ergab ein optisch inaktives Naringenin. Auch aus natürlichem, in Citrusfrüchten vorkommendem Naringin (**5**) wurde optisch inaktives Naringenin gewonnen¹²⁾. Lediglich ein von *Gaffield* und *Waiss*¹³⁾ untersuchtes Naringin unbekannter Herkunft enthielt

7) *S. Kamiya, S. Esaki und M. Hama*, Agric. biol. Chem. [Tokyo] **31**, 402 (1967).

8) *C. Ballou*, Advances Carbohydrate Chem. **9**, 59 (1954).

9) *C. McCloskey und G. Coleman*, J. org. Chemistry **10**, 184 (1955).

10) *R. M. Horowitz und B. Gentili*, Tetrahedron [London] **19**, 773 (1963).

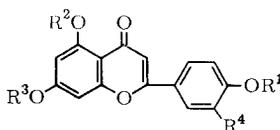
11) *G. Aurnhammer*, Dissertation, Univ. München 1968.

12) *R. M. Horowitz*, Biochemistry of Phenolic Compounds, Edit. *J. R. Harborne*, S. 546, Academic Press, New York 1964.

13) *W. Gaffield und A. C. Waiss jr.*, Chem. Commun. **1968**, 29.

ein rechtsdrehendes Aglykon der 2(*R*)-Konfiguration. Wir nehmen an, daß natürliches **3**, das vermutlich ein Metabolit von **5** in Citrusfrüchten ist¹⁾, wie synthet. **3** ein optisch inaktives, racemisches Aglykon besitzt.

Da bisher auch ein Apigenin triglykosid noch nicht synthetisch dargestellt worden war, wurde das Naringin-4'- β -D-glucopyranosid-undecaacetat (**3a**) nach einer modifizierten Methode von Mahesh und Seshadri^{14,15)} mit Jod dehydriert. Nachfolgende Verseifung führte zum 7- β -Neohesperidosyl-4'- β -D-glucopyranosyl-apigenin (Rhoifolin-4'- β -D-glucopyranosid, **7**), das nach chromatographischer Abtrennung von nicht umgesetztem **3** in 22proz. Ausbeute kristallin erhalten wurde. **7** lieferte ein kristallines Undecaacetat (**7a**).



| | R ¹ | R ² | R ³ | R ⁴ |
|-----------|--|--------------------|--------------------------------------|----------------|
| 7 | β -D-Glucopyranosyl | H | β -Neohesperidosyl | H |
| 7a | Tetraacetyl- β -D-glucopyranosyl | CH ₃ CO | Hexaacetyl- β -neohesperidosyl | H |
| 8 | β -D-Glucopyranosyl | H | β -Rutinosyl | OH |

Rhoifolin-4'- β -D-glucopyranosid (**7**) ist zwar bisher nicht im Pflanzenreich aufgefunden worden, doch ist bereits ein erster Vertreter dieses Flavontyps bekannt. Aus dem Kraut der Artischoke wurde Cynarotriosid, ein Luteolin-7- β -rutinosid-4'- β -D-glucopyranosid (**8**) isoliert¹⁶⁾. Über die Synthese dieses Glykosids soll später berichtet werden.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemie danken wir für Sachbeihilfen.

Beschreibung der Versuche¹⁷⁾

Synthet. Naringin-4'- β -D-glucopyranosid, 5,7,4'-Trihydroxy-flavanon-7-(2-O- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranosid)-4'- β -D-glucopyranosid, 7- β -Neohesperidosyl-4'- β -D-glucopyranosyl-naringenin (**3**): Zu 2.65 g Phloracetophenon-4- β -neohesperidosid (**1**)⁴⁾ in 12 ccm Äthanol gab man unter Eiskühlung 10 ccm 30proz. wäßrige Kalilauge. Unter Stickstoff wurden 4.0 g kristallines 4-Hydroxy-benzaldehyd-4- β -D-glucopyranosid (**2**)⁵⁾ (Schmp. 156–158°) dazugeben. Nach 140 Stdn. Schütteln bei Raumtemp. wurde unter Kühlung die rotbraune Suspension in einem Becherglas mit Wasser auf 50 ccm verdünnt und die klare rotbraune Lösung mit eiskalter 3 *n* HCl auf pH 6 gebracht; der entstandene orangegelbe Niederschlag wurde abgesaugt und dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, Chloroform/Methanol 3 : 1) unter-

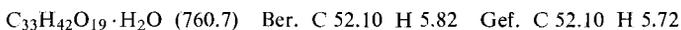
¹⁴⁾ H. Wagner, L. Hörhammer, G. Aurnhammer und L. Farkas, Chem. Ber. **101**, 445 (1968).

¹⁵⁾ V. Mahesh und T. R. Seshadri, J. sci. ind. Res. [New Delhi] Sekt. A **148**, 608 (1955).

¹⁶⁾ L. Dranik und V. Chernobai, chim. prirodnich. Soedinenij, Akad. Nauk. Uz. SSR **2**, 16 (1966), C. A. **65**, 3947f. (1966).

¹⁷⁾ Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Die NMR-Spektren wurden mit einem Varian A 60 aufgenommen.

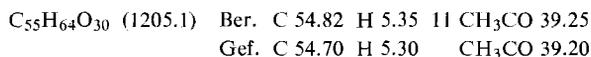
sucht. Da ein Gemisch aus Chalkon- und Flavanon-Glykosid vorlag und das Chalkonglykosid durch Umkristallisieren nicht rein erhältlich war, wurde es durch mehrstdg. Stehenlassen der Mischung in *Pyridin*/Wasser (1 : 9) völlig zu **3** cyclisiert. Nach Einengen i. Vak. wurde der Rückstand zur Abtrennung von nicht umgesetztem Phloracetophenonglykosid über eine kurze Polyamidsäule mit Wasser filtriert. Aus dem eingeeengten wäßrigen Eluat schieden sich farblose Nadeln vom Schmp. 239° ab. Ausb. 1.08 g (30%). Das Glykosid verliert bei 135°/12–15 Torr über P₄O₁₀ 2 Mol Wasser. Nach Trocknung i. Hochvak. bei 135° behält es noch 1 Mol Kristallwasser. $[\alpha]_D^{25}$: -89.3° (*c* = 1.26 in *Pyridin*).



UV (Methanol p. a.): λ_{max} (lg ϵ) 283.5 (4.21), Schulter 330 m μ (3.40) (Lit.¹⁾: 283, 330 m μ). Keine Natriumacetatverschiebung. Natriumäthylatverschiebung: 330 nach 358 m μ (nach 30 Min. gemessen). AlCl₃-Verschiebung: 283 nach 305 m μ (Lit.¹⁾: Angaben analog).

Polyamid-DC (Macharey und Nagel, Nitromethan/Methanol 65 : 30): Naringin-4'-glucosid *R_F* 0.24; zum Vergleich: Narirutin-4'-glucosid *R_F* 0.27; Naringin 0.29; Narirutin 0.33. — Zellulose-DC (Macharey und Nagel, Butanol/Eisessig/Wasser 6 : 1 : 2): Naringin-4'-glucosid *R_F* 0.36; Narirutin-4'-glucosid 0.33; Naringin 0.64; Narirutin 0.60. — Kieselgel-DC (Merck, Chloroform/Methanol 1 : 1): Naringin-4'-glucosid *R_F* 0.34; Narirutin-4'-glucosid 0.37; Naringin 0.46; Narirutin 0.49.

7.4'-Dihydroxy-5-acetoxy-flavanon-7-[hexa-O-acetyl-2-O-*l*-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranosid]-4'-[tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid], Naringin-4'- β -D-glucosid-undecaacetat (**3a**): 0.25 g **3** wurden mit 2.5 ccm *Acetanhydrid* und 2.5 ccm *Pyridin* über Nacht bei Raumtemp. acetyliert. Nach Absaugen des im Eiswasser ausgefallenen Niederschlages 0.35 g **3a** (93%), aus absol. Äthanol lange farblose Nadeln vom Schmp. 199–202°. FeCl₃-Reaktion negativ. $[\alpha]_D^{25}$: -32.3° (*c* = 1.57 in Chloroform).



Kieselgel-DC (Benzol/Äthanol 85 : 15): Naringin-4'-glucosid-undecaacetat *R_F* 0.65; Narirutin-4'-glucosid-undecaacetat 0.60.

NMR (CDCl₃, int. TMS): Aglykon: 5-OAc δ 3.36 (3 H); 3-H 2.75–3.05 (2 H); 2-H 5.55 (q); 6-H 6.38 (d, *J* = 2.5 Hz); 8-H 6.60 (d, *J* = 2.5 Hz); 3'-H, 5'-H 7.0–7.2; 2'-H, 6'-H 7.34 (d, *J* = 9 Hz). Zucker: Ac δ 1.8–2.25 (30 H); Rhamnose-6-H 1.22 (d, *J* = 6 Hz); Glucose-2.5.6.6-H, Rhamnose-5-H und Glucose-5'.6'.6'-H 3.8–4.4 (8 H); Glucose-1.3.4-H, Rhamnose-1.2.3.4-H und Glucose-1'.2'.3'.4'-H 4.95–5.45 (11 H).

Synth. Rhoifolin-4'- β -D-glucopyranosid, 5.7.4'-Trihydroxy-flavon-7-[2-O-*l*-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranosid]-4'- β -D-glucopyranosid, 7- β -Neohesperidosyl-4'- β -D-glucopyranosyl-apigenin (**7**): 1.5 g **3a** wurden in 15 ccm Eisessig mit 10 ccm *Acetanhydrid*, 1.5 g Kaliumacetat und 1 g *Jod* 20 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Die abgekühlte Lösung wurde in 200 ccm 0.5 proz. eisgekühlte Kaliumjodidlösung getropft und der gelbbraune Niederschlag aus Methanol durch Verdünnen mit Wasser umgefällt. Nach Trocknen des abgesaugten Acetats wurde mit 0.3 proz. *Natriummethylat*-Lösung bei 0° 15 Min. entacetyliert. Dabei entstand ein Niederschlag, der sich nach Ansäuern mit Eisessig (pH 5) wieder löste. Zur Abtrennung von nicht dehydriertem **3** wurde über eine Cellulosesäule (6 \times 50 cm) mit 2 proz. Essigsäure chromatographiert. Die ersten braunen Fraktionen enthielten kein Flavonoid und wurden verworfen. **3** wanderte wesentlich rascher als **7** durch die Säule und konnte quantitativ von **7** getrennt werden. Die **7** enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und i. Vak. zur Trockne eingeeengt. Aus Äthanol/Wasser kristallisierten 0.20 g gelbliche Nadeln von **7** (Ausb. 22%), Schmp. 212–214°. Das

Glykosid verliert über P_4O_{10} bei $120^\circ/12-15$ Torr 3 Mol Kristallwasser (Ber. 6.9%; Gef. 6.6%). $[\alpha]_D^{25}$: -98.5° ($c = 1.12$ in Pyridin).

$C_{33}H_{40}O_{19}$ (740.7) Ber. C 53.5 H 5.44 Gef. C 53.1 H 5.58

UV (Methanol p. a.): λ_{max} (lg ϵ) 269 (4.38), 316 m μ (4.34).

Polyamid-DC (Nitromethan/Methanol 65:30): Rhoifolin-4'-glucosid R_F 0.12. Zum Vergleich: Naringin-4'-glucosid R_F 0.24. — Kieselgel-DC (Chloroform/Methanol 1:1): Rhoifolin-4'-glucosid R_F 0.28; Naringin-4'-glucosid 0.34.

7,4'-Dihydroxy-5-acetoxy-flavon-7-[hexa-O-acetyl-2-O- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranosid]-4'-[tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid], *Rhoifolin-4'- β -D-glucosid-undecaacetat* (**7a**): 98 mg **7** wurden mit 1 ccm *Pyridin* und 1 ccm *Acetanhydrid* wie üblich acetyliert und aufgearbeitet. Wir erhielten 0.145 g (92%) reines *Undecaacetat*, farblose Nadeln (aus 96proz. Äthanol) vom Schmp. $217-220^\circ$. $FeCl_3$ -Reaktion negativ. $[\alpha]_D^{25}$: -45.2° ($c = 1.48$ in Chloroform).

$C_{55}H_{62}O_{30}$ (1203.1) Ber. C 55.49 H 5.09 Gef. C 55.40 H 5.02

Kieselgel-DC (Benzol/Äthanol 85:15): **7a** R_F 0.58; **3a** 0.65.

NMR ($CDCl_3$, int. TMS): Aglykon: 5-OAc δ 2.45 (3H); 3-H 6.58; 6-H 6.72 (d, $J = 2.5$ Hz); 8- und 3'-H, 5'-H 7.0—7.21; 2'-H, 6'-H 7.82 (d, $J = 9$ Hz). Zucker: Ac δ 1.9—2.25 (30H); Rhamnose-6-H 1.22 (d, $J = 6$ Hz); Glucose-2.5.6.6-H, Rhamnose-5-H und Glucose-5'.6'.6'-H 3.8—4.38 (8H); Glucose-1.3.4-H, Rhamnose-1.2.3.4-H und Glucose-1'.2'.3'.4'-H 5.0—5.45 (11H).

[361/70]