

Hildebert Wagner, Heinz Danninger, M. A. Iyengar, Otto Seligmann, Lorand Farkas\*), S. Sankara Subramanian und A. G. R. Nair

Synthese von Glucuroniden der Flavonoid-Reihe, III<sup>1,2)</sup>

## Isolierung von Apigenin-7- $\beta$ -D-glucuronid aus *Ruellia tuberosa* L. und seine Synthese

Aus dem Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München und dem Department of Chemistry, Jawaharlal Institute of Postgraduate Medical Education and Research, Pondicherry, Indien

(Eingegangen am 18. Mai 1971)

Aus den gelben Knospen von *Ruellia tuberosa* L. (*Acanthaceae*) wurde ein Flavonglykosid isoliert und als 5.7.4'-Trihydroxy-flavon(Apigenin)-7- $\beta$ -D-glucuronid (**3**) identifiziert. Der Strukturbeweis gelang durch Kupplung von 4'-O-Benzyl-apigenin mit  $\alpha$ -Acetobromglucuronsäure-methylester, Darstellung des Vollacetats, Entbenzylierung und Verseifung zu **3**.

Synthesis of Glucuronides in the Flavonoid-Series, III<sup>1,2)</sup>

Isolation of Apigenin-7- $\beta$ -D-glucuronide from *Ruellia tuberosa* L. and its Synthesis

From the yellow buds of *Ruellia tuberosa* L. (*Acanthaceae*) a flavone-glycoside was isolated which could be identified as 5.7.4'-trihydroxyflavone(apigenin)-7- $\beta$ -D-glucuronide (**3**). Its structure was confirmed by coupling 4'-O-benzylapigenin with methyl(tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide)uronate, followed by total acetylation, debenzoylation and saponification to **3**.

Apigenin-7-glucuronid wurde erstmals von Imai und Mayama<sup>3)</sup> in *Erigeron annuus* (L.) Pers. (*Asteraceae*) gefunden. Seikel<sup>4)</sup> isolierte es in Form des Acetats aus *Antirrhinum majus* L. (*Scrophulariaceae*). Beide Autoren geben nur Daten über die Hydrolyseprodukte bzw. über Methylierung und anschließende Hydrolyse an. In einer chemosystematischen Übersicht berichteten kürzlich Harborne und Mitarbb.<sup>5)</sup> über das Vorkommen dieses Glucuronids in *Leucanthemum*-Arten.

Vor einigen Jahren wurde im Rahmen einer Flavon-Untersuchung in der Acanthaceen-Familie über die Isolierung von Luteolin aus den blauen Blüten von *Ruellia*

\*) Ständige Adresse: Hungarian Academy of Science, Budapest (Hungary).

1) I. Mitteil.: H. Wagner, H. Danninger, O. Seligmann und L. Farkas, Chem. Ber. 103, 3674 (1970).

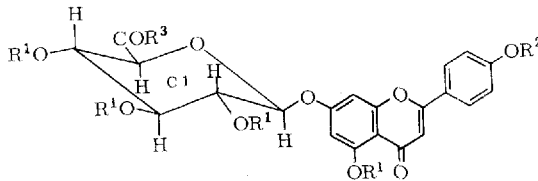
2) II. Mitteil.: H. Wagner, H. Danninger, O. Seligmann, M. Nogradi, L. Farkas und N. Farnsworth, Chem. Ber. 103, 3678 (1970).

3) K. Imai und T. Mayama, J. pharmac. Soc. Japan [Yakugakuzasshi] 73, 128 (1953).

4) M. K. Seikel, J. Amer. chem. Soc. 77, 5685 (1955).

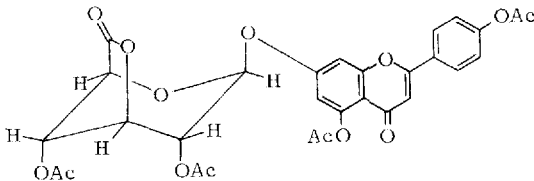
5) J. B. Harborne, V. H. Heywood und N. A. M. Sahel, Phytochemistry 9, 2011 (1970).

*tuberosa* L. berichtet<sup>6)</sup>. Bei einer erneuten Bearbeitung der Pflanze konnten wir aus den gelben Knospen durch Äthanol-Extraktion nach dem üblichen Aufarbeitungsschema aus den Äthylacetat- und Methyläthylketon-Ausschüttelungen eine einheitliche Substanz vom Zers.-P. 172–174° erhalten. Das Ergebnis der sauren Hydrolyse und das NMR-Spektrum ließen auf ein Apigenin-glykosid schließen. Das IR-Spektrum wies eine Säure- oder Esterbande bei 1720/cm auf. Da bei der Säure- und Enzym-Hydrolyse neben Apigenin nur Glucuronsäure als Spaltprodukt erhalten wurde, mußte diese C=O-Bande von der Carboxylgruppe der Glucuronsäure stammen. Da die kurzweilige Bande im UV-Spektrum im Methanol/Na-Acetat-Medium nicht verschoben wird und wegen der relativ schweren Hydrolysierbarkeit<sup>7)</sup> war eine 7-Stellung des Zuckers wahrscheinlich. Bei einer durch Nachisolierung erhaltenen Substanz, die jetzt den abweichenden Schmp. 234–236° hatte, war das Fehlen der Säurebande im IR-Spektrum auffallend. Eine Flammenprobe wies auf das Vorliegen eines Kaliumsalzes hin. Nach Säurebehandlung des Glykosids, Zugabe von *n* NaOH, Äthylacetat-Ausschüttelung und Umkristallisation aus Wasser konnte wieder die freie Glykosidsäure erhalten werden. Der endgültige Strukturbeweis von **3** gelang durch Synthese.



1-4

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
<b>1</b>	CH <sub>3</sub> CO	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>2</b>	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	OCH <sub>3</sub>
<b>3</b>	H	H	OH
<b>4</b>	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	OH



5

Wir kuppelten 4'-O-Benzyl-apigenin<sup>8)</sup> mit  $\alpha$ -Acetobromglucuronsäure-methylester<sup>9)</sup> nach einer von uns modifizierten Koenigs-Knorr-Methode<sup>10)</sup> in Chinolin und mit Silbercarbonat als Katalysator. Wir reinigten das Kupplungsprodukt an einer Kiesel-

<sup>6)</sup> A. G. R. Nair, S. Nagarajan und S. S. Subramanian, *Current Sci.* [Bangalore] **34**, 179 (1965).

<sup>7)</sup> J. B. Harborne, *Phytochemistry* **4**, 107 (1965).

<sup>8)</sup> R. Teoule, J. Chopin und C. Mentzer, *Bull. Soc. chim. France* **1960**, 2116.

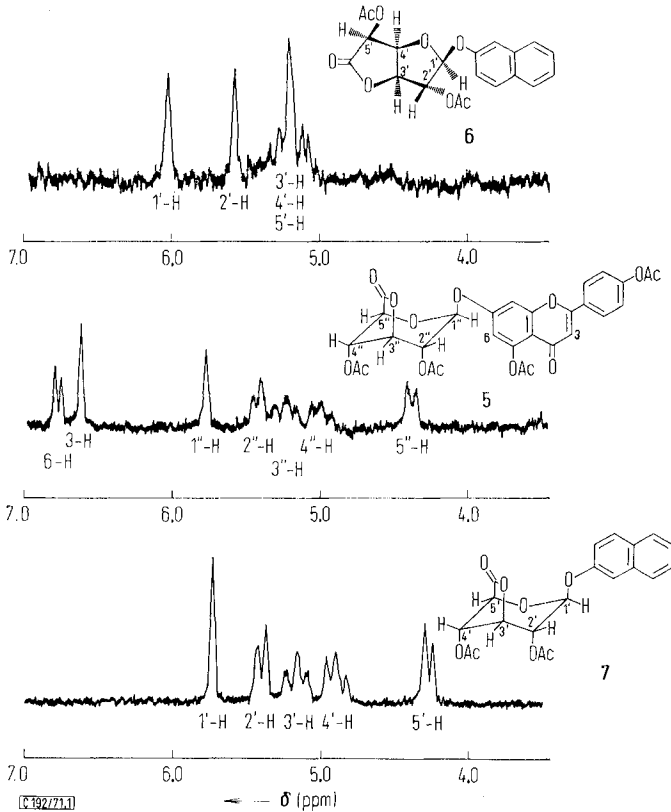
<sup>9)</sup> G. N. Bollenback, J. W. Long, D. G. Benjamin und J. A. Lindquist, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 3310 (1954).

<sup>10)</sup> E. Koenigs und L. Knorr, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **34**, 974 (1901).

gelsäule und über das Vollacetat (**1**) und erhielten nach katalytischer Entbenzylierung und Acetylierung das Apigenin-7-[ $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-methylester]-pentaacetat (**2**). Aus diesem ließ sich **3** durch vorsichtiges Verseifen mit *n* NaOH in der Kälte gewinnen. **3** hatte den Zers.-P. 175–177° und zeigte die optische Drehung  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-114.7^\circ$  (Pyridin/Wasser 1:1). Nach den NMR-, IR- und UV-Spektren und dem Chromatogrammvergleich war das synthetische Glucuronid mit der aus *Ruellia tuberosa* L. isolierten Verbindung identisch.

Die Acetylierung von synthetischem und isoliertem Apigenin-7-glucuronid ergab bei Verwendung von Acetanhydrid und Zinkchlorid dasselbe Apigenin-7-glucuronid-pentaacetat **4**. Mit Acetanhydrid/Natriumacetat erhielten wir das Apigenin-7-glucuronid-tetraacetat **5**.

In unseren früheren Synthesearbeiten über Flavonglucuronide<sup>1,2)</sup> haben wir für die Glucuronsäure in dem nach der Acetanhydrid-Natriumacetat-Methode erhaltenen Glucuronidacetat die *Furanoseform* postuliert. Zur Sicherung dieser Annahme



Abbild. NMR-Spektren (Ausschnitte,  $\text{CDCl}_3$ ) von  
 oben: Naphthol-(2)-[2.5-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-3.6-lacton] (**6**)  
 Mitte: 7-Hydroxy-5.4'-diacetoxy-flavon-7-[2.4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-3.6-lacton] (**5**)  
 unten: Naphthol-(2)-[2.4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-3.6-lacton] (**7**)

synthetisierten wir als Modell- und Vergleichssubstanz das bereits bekannte 2'.5'-Diacetat des Naphthol-(2)-[ $\beta$ -D-glucufuranosiduronsäure-3.6-lactons] (**6** in der Abbild.) nach einer von *Tsou* und *Seligman*<sup>11)</sup> modifizierten *Helferich*-Methode<sup>12)</sup> durch Zusammenschmelzen von  $\beta$ -Naphthol mit 1.2.5-Tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucufuranuronsäure-3.6-lacton<sup>13)</sup>.

Ein Vergleich des NMR-Spektrums mit dem des synthetischen Apigenin-7-[ $\beta$ -D-glucuronid-3.6-lacton]-tetraacetats (**5**) zeigte aber in dem in Frage kommenden Bereich von  $\delta = 4.2-6.0$  keinerlei Übereinstimmung oder Ähnlichkeit (siehe Abbild. oben und Mitte). Wir synthetisierten daher auch das entsprechende Naphthol-(2)-[2.4-di-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-3.6-lacton] (**7** in der Abbild.), indem wir  $\beta$ -Naphthol nach einer von *Bollenback* et al.<sup>9)</sup> modifizierten *Koenigs-Knorr*-Methode<sup>10)</sup> mit 1-Desoxy-1- $\alpha$ -D-brom-2.3.4-tri-*O*-acetyl-glucopyranuronsäure-methylester<sup>9)</sup> kuppelten, das Kupplungsprodukt verseiften und dieses wieder acetylierten.

Wie die Abbild. unten deutlich zeigt, ist das NMR-Spektrum des Naphthol-(2)- $\beta$ -D-glucopyranosid-Derivats **7** im Bereich der Zuckerprotonen mit dem des Apigenin-7-[ $\beta$ -D-glucuronid-3.6-lacton]-tetraacetats (**5**) nahezu deckungsgleich. Damit dürften alle Zucker in den von uns aus isolierten und synthetischen Flavonoidglucuroniden dargestellten Acetaten nicht in der Furanose-, sondern in der Pyranose-1C-Form vorliegen. Für die glykosidisch gebundenen Glucuronsäure- $\gamma$ -lactone hingegen ist unseres Wissens bisher in der Literatur nur die furanoide Form beschrieben worden<sup>14,15)</sup>.

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

We are thankful to the Principal, J. I. P. M. E. R., for kind encouragement.

### Beschreibung der Versuche<sup>16)</sup>

*Isolierung von Apigenin-7- $\beta$ -D-glucuronid (3) aus Ruellia tuberosa L.*<sup>17,18)</sup>: Die gelben Knospen wurden mit 80proz. Äthanol unter Rückfluß extrahiert. Anschließend entfernten wir i. Vak. das Lösungsmittel und schüttelten das wäbr. Konzentrat zuerst mit Petroläther, dann mit Äther, Äthylacetat und schließlich mit Methyläthylketon aus. Der Ätherrückstand enthielt wenig Luteolin, welches wir früher in größerer Menge aus den Blüten isoliert hatten<sup>6)</sup>. Die Äthylacetat- und Methyläthylketon-Auszüge enthielten das gleiche Flavon. Wir vereinigten die Fraktionen, dampften sie im Rotationsverdampfer bei 40° zur Trockne ein und nahmen den Rückstand in heißem wäbr. Methanol auf. Nach 2-tägigem Aufbewahren in Eisschrank erhielten wir blaßgelbe Nadeln vom Schmp. 234–236°<sup>19)</sup>. DC (Kieselgel,

11) *K. C. Tsou* und *A. M. Seligman*, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 5605 (1952).

12) *B. Helferich* und *E. Schmitz-Hillebrecht*, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **66**, 378 (1933).

13) *W. F. Goebel* und *F. H. Barbers*, *J. biol. Chemistry* **100**, 743 (1933).

14) *K. Kato*, *K. Yoshida* und *H. Tsukamoto*, *Chem. pharmac. Bull. [Tokyo]* **12**, (6) 665 (1964).

15) *F. Smith*, *J. chem. Soc. [London]* **1944**, 584.

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

17) Tropische, in Amerika beheimatete, gelegentlich auch in Südindien in Gärten kultivierte Pflanze, deren tiefblaue, tubusartige Blüten sich aus einer gelben Knospe entwickeln.

18) *T. S. Gamble*, *Flora of the Presidency of Madras* **2**, 714 (1921); Neuauflage: *Botanical Survey of India, Calcutta* 1957.

19) Bei einer ersten Isolierung, die nur geringe Ausbeuten brachte, erhielten wir aus bisher nicht geklärtem Grund sofort das freie Flavonglucuronid vom Zers.-P. 172–174°.

50proz. Essigsäure):  $R_F$  0.68, Ausb. etwa 1%. Wir versetzten die Substanz mit 20proz. wäbr. Schwefelsäure, ließen 1 Stde. bei Raumtemp. stehen und gaben tropfenweise bis pH 3 *n* NaOH zu. Anschließend schüttelten wir 7 mal mit Äthylacetat aus, trockneten die vereinigten Auszüge mit Natriumsulfat, dampften i. Vak. zur Trockne und kristallisierten aus Wasser um. Zers.-P. 172–174°.  $[\alpha]_D^{27}$ :  $-103^\circ$  ( $c = 0.605$  in Pyridin/Wasser 1:1).

$C_{21}H_{18}O_{11}$  (446.4) Ber. C 56.51 H 4.07 Gef. C 56.30 H 4.32

UV (Methanol p.a.):  $\lambda_{max}$  268 nm (lg  $\epsilon$  4.29); 333 (4.30); — Methanol/Na-Acetat: 268 (4.29); 388 (4.30).

Hydrolyse von **3** durch 4stdg. Erhitzen auf dem Dampfbad mit 25proz. Salzsäure lieferte als Aglykon 5.7.4'-Trihydroxy-flavon (Apigenin), identifiziert durch Chromatogrammvergleich mit authent. Apigenin und durch das NMR-Spektrum seines Triacetats und Trimethylderivats.

Wir methylierten **3** mit Dimethylsulfat in wasserfreiem Aceton durch 36stdg. Erhitzen unter Rückfluß. Anschließend hydrolysierten wir, wie oben beschrieben, und erhielten 5.4'-Di-O-methyl-apigenin vom Schmp. 260–262°<sup>20)</sup>.

Im Hydrolysat wurde nach Neutralisation mit Bariumhydroxid durch PC Glucuronsäure nachgewiesen (Pyridin/Äthylacetat/Eisessig/Wasser 5:5:1:3,  $R_F$  0.32, Detektion mit Anilinphtalatlösung).

Nach Enzym-Hydrolyse mit  $\beta$ -Glucuronidase bei 38° in 0.1 *m* AcOH/NaOH-Puffer (pH 5.9) konnten nach 36 Stdn. Inkubation die Spaltprodukte Apigenin und Glucuronsäure chromatographisch nachgewiesen werden.

Darstellung zweier Pyranoseacetate von isoliertem **3**:

7-Hydroxy-5.4'-diacetoxy-flavon-7-[2.3.4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure] (Apigenin-7- $\beta$ -D-glucuronid-pentaacetat) (**4**): 0.1 g **3** wurde in 3 ccm Acetanhydrid mit 0.1 g geglühtem Zinkchlorid in Lösung gebracht. Nach 24stdg. Stehenlassen wurde das Pentaacetat wie üblich aufgearbeitet. Aus Äthanol farblose Nadeln vom Schmp. 169–170°, DC (Kieselgel-G, Toluol/Äthylacetat 5:4):  $R_F$  0.42,  $[\alpha]_D^{27}$ :  $-39.2^\circ$  ( $c = 0.741$  in Chloroform).

IR (KBr): 1630 Flavoncarbonyl, 1740 Estercarbonyl, 2600–3600/cm Säurehydroxyl.

$C_{31}H_{28}O_{16}$  (656.6) Ber. C 56.71 H 4.29 Gef. C 56.93 H 4.55

7-Hydroxy-5.4'-diacetoxy-flavon-7-[2.4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-3.6-lacton] (Apigenin-7-[ $\beta$ -D-glucuronid-3.6-lacton]-tetraacetat) (**5**): 0.1 g **3** wurde mit 3 ccm Acetanhydrid und 0.1 g Natriumacetat 1 Stde. auf dem Dampfbad acetyliert. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielten wir aus Äthanol farblose Nadeln vom Schmp. 207–209°.  $[\alpha]_D^{27}$ :  $-83.1^\circ$  ( $c = 1.02$  in Chloroform). DC (Kieselgel, Toluol/Äthylacetat 5:4):  $R_F$  0.26.

IR (KBr): 1620 Flavoncarbonyl, 1740 Estercarbonyl, 1800/cm Lactoncarbonyl.

$C_{29}H_{24}O_{14}$  (596.5) Ber. C 58.39 H 4.06 Gef. C 58.11 H 4.15

Synthetisches 7-Hydroxy-4'-benzyloxy-5-acetoxy-flavon-7-[2.3.4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (4'-O-Benzyl-apigenin-7-[ $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-methylester]-tetraacetat) (**1**): 1.00 g nach Teoule und Mitarbb.<sup>8)</sup> hergestelltes 4'-O-Benzyl-apigenin und 1.4 g 2.3.4-Tri-O-acetyl-1-desoxy-1- $\alpha$ -D-brom-glucopyranuronsäure-methylester<sup>9)</sup> wurden mit 1.5 g wasserfreiem Calciumsulfat und 1.5 g Silbercarbonat in 25 ccm Chinolin unter Lichtabschluß geschüttelt<sup>10)</sup>. Der Ablauf der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, Benzol/Pyridin/Ameisensäure 72:18:10) verfolgt. Nach 3 Stdn. rührten wir das Reaktionsgemisch langsam in 150 ccm 10proz. Kaliumchloridlösung ein, säuerten tropfenweise mit Eisessig an, ließen über Nacht stehen und wuschen nach Abfiltrieren mehrmals mit

<sup>20)</sup> Dictionary of Org. Compounds, 4th Edit., Fyfe a. Spottiswoode, London, 1964.

Wasser nach. Den trockenen Rückstand nahmen wir mit Aceton auf, zentrifugierten, dampften die Lösung ein und reinigten über eine Kieselgelsäule ( $23 \times 7$  cm) mit Benzol/Äthanol (9 : 1). Die das Kupplungsprodukt enthaltenden Fraktionen wurden eingedampft und in üblicher Weise mit *Acetanhydrid*/*Natriumacetat* acetyliert. Rohausb. 0.86 g (43%). Aus Äthanol/Chloroform farbloser, gallertiger Niederschlag. Nach Trocknen bei  $100^\circ$  i. Vak. Schmp.  $207-209^\circ$ . DC (Kieselgel, Toluol/Äthylacetat 5 : 4):  $R_F$  0.43.

$C_{37}H_{34}O_{15}$  (718.7) Ber. C 61.84 H 4.77 Gef. C 62.40 H 4.80

NMR ( $CDCl_3$ , int. TMS): Zucker: 2-, 3-, 4-Acetyl  $\delta$  2.08 (s);  $-OCH_3$  3.71 (s); 5-H 4.11 bis 4.48; 1-, 2-, 3-, 4-H 5.1—5.6; — Aglykon: 5-Acetyl 2.43 (s);  $-OCH_2Ph$  5.13 (s); 3-H 6.48 (s); 6-H 6.64 (d,  $J = 2$  Hz); 8-H 6.98 (d,  $J = 2$  Hz); 3', 5'-H 7.05 (d,  $J = 9$  Hz);  $C_6H_5$  7.38 (s); 2', 6'-H 7.78 (d,  $J = 9$  Hz).

*Synthetisches 7-Hydroxy-5,4'-diacetoxy-flavon-7-[2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-methylester]* (*Apigenin-7-[ $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-methylester]-pentaacetat*) (**2**): 0.8 g synthetisches **1** wurden in 125 ccm Äthylacetat mit Palladium/Kohle unter Wasserstoff-Atmosphäre über Nacht hydriert. Wir dampften das Filtrat i. Vak. bei  $30^\circ$  zur Trockne ein und acetylierten mit *Acetanhydrid*/*Natriumacetat*. Aus Äthanol/Chloroform lange, dünne, farblose Nadeln in Büscheln, Schmp.  $235-237^\circ$ , Ausb. 0.56 g (76%). DC (Kieselgel, Toluol/Äthylacetat 5 : 4):  $R_F$  0.27.

$C_{32}H_{30}O_{16}$  (670.6) Ber. C 57.31 H 4.51 Gef. C 57.40 H 4.53

NMR ( $(CD_3)_2SO$ , int. TMS): Zucker: 2-, 3-, 4-Acetyl  $\delta$  2.05 (s);  $-OCH_3$  3.67 (s); 5-H 4.79 (d,  $J = 9.5$  Hz); 2-, 3-, 4-H 4.9—5.7 (m); 1-H 5.97 (d,  $J = 7$  Hz); — Aglykon: 5-, 4'-Acetyl 2.33 (s); 3-H 6.88 (s); 6-H 6.89 (d,  $J = 2$  Hz); 8-H 7.39 (d,  $J = 2$  Hz); 3', 5'-H 7.37 (d,  $J = 9$  Hz); 2', 6'-H 8.11 (d,  $J = 9$  Hz).

*Synthetisches 5,7,4'-Trihydroxy-flavon-7- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure* (*Apigenin-7- $\beta$ -D-glucuronid*) (**3**): 0.43 g synthetisches **2** wurden in einer Mischung von 250 ccm Aceton und 50 ccm Wasser langsam unter Rühren im Eisbad mit 20 ccm 1*n* NaOH versetzt. Wir verfolgten den Ablauf der Reaktion dünn-schichtchromatographisch (Kieselgel, Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser 10 : 2 : 3). Nach 1 Stde. Rühren gaben wir noch 50 ccm Wasser zu, neutralisierten mit 1*n* HCl, dampften das Aceton i. Vak. bei  $30^\circ$  ab, säuerten mit 1*n* HCl bis pH 3 an und schüttelten 10mal mit 25 ccm Äthylacetat aus. Die vereinigten<sup>\*</sup> Auszüge wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. bei  $30^\circ$  abgedampft. Aus Wasser gelbe Kristalle vom Zers.-P.  $175-177^\circ$ , Ausb. 0.195 g (69%).  $[\alpha]_D^{26}$ :  $-114.7^\circ$  ( $c = 0.976$  in Pyridin/Wasser 1 : 1). DC (Kieselgel, Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser 10 : 2 : 3):  $R_F$  0.8; (Butanol/Eisessig/Wasser 6 : 1 : 2):  $R_F$  0.53. Im Misch-Schmp. mit dem natürlichen Glucuronid entstand keine Depression. UV- und IR-Spektren waren mit denen des isolierten Glucuronids deckungsgleich.

NMR ( $(CD_3)_2SO$ , int. TMS): Aglykon: 6-H  $\delta$  6.51 (d,  $J = 2$  Hz); 3-H 6.80 (s); 8-H 6.85 (d,  $J = 2$  Hz); 3', 5'-H 6.98 (d,  $J = 9$  Hz); 2', 6'-H 7.95 (d,  $J = 9$  Hz); 5-OH 13.1 (s); 4'-OH 8.2—11 (br); — Zucker: 2-, 3-, 4-H 3.3—3.7 (m); 5-H 4.0—4.3 (br); 1-H 5.34 (br).

*Synthetisches 7-Hydroxy-5,4'-diacetoxy-flavon-7-[2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure]* (*Apigenin-7- $\beta$ -D-glucuronid-pentaacetat*) (**4**): 0.12 g synthetisches **3** wurden in 4 ccm *Acetanhydrid* mit 0.15 g geglühtem Zinkchlorid in Lösung gebracht. Nach 24stdg. Stehenlassen rührten wir das *Acetat* langsam in 40 ccm Eiswasser ein und erhielten nach Absaugen und Waschen mit Wasser aus Äthanol farblose, lange Nadeln vom Schmp.  $170-172^\circ$ , Ausb. 0.13 g (75%).

NMR ( $(CD_3)_2SO + CDCl_3$  1 : 1, int. TMS): Zucker: 2-, 3-, 4-Acetyl  $\delta$  2.05 (s); 5-H 4.70 (d,  $J = 9$  Hz); 2-, 3-, 4-H 5.0—5.61 (m); 1-H 5.96 (d,  $J = 7$  Hz); — Aglykon: 5-, 4'-Acetyl

2.35 (s); 3-H 6.90 (s); 6-H 6.94 (d,  $J = 2.5$  Hz); 8-H 7.36 (d,  $J = 2.5$  Hz); 3'-, 5'-H 7.36 (d,  $J = 9$  Hz); 2'-, 6'-H 8.10 (d,  $J = 9$  Hz).

**4** stimmte in der optischen Drehung und im IR- sowie NMR-Spektrum mit dem aus natürlichem **3** dargestellten Acetat völlig überein.

*Synthetisches 7-Hydroxy-5,4'-diacetoxy-flavon-7-[2,4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton]* (*Apigenin-7-[ $\beta$ -D-glucuronid-3,6-lacton]-tetraacetat*) (**5**): 0.13 g synthetisches **3** wurden mit 4 ccm *Acetanhydrid* und 0.15 g *Natriumacetat* 1 Stde. auf dem Dampfbad erwärmt. Wir rührten das Reaktionsgemisch langsam in 40 ccm Eiswasser. Nach Absaugen und Waschen mit Wasser aus Äthanol farblose, lange Nadeln vom Schmp. 212–214°, Ausb. 0.13 g (76%).

NMR (CDCl<sub>3</sub>, int. TMS): Zucker: 2-, 4-Acetyl 2.15, 2.21 (s); 5-H 4.37 (d,  $J = 4$  Hz); 4-H 5.0 (t,  $J = 4$  Hz); 3-H 5.21 (t,  $J = 4$  Hz); 2-H 5.42 (d,  $J = 4$  Hz); 1-H 5.79 (s); — Aglykon: 4'-Acetyl 2.33 (s); 5-Acetyl 2.41 (s); 3-H 6.60 (s); 6-H 6.77 (d,  $J = 2$  Hz); 8-H 7.01 (d,  $J = 2$  Hz); 3'-, 5'-H 7.23 (d,  $J = 9$  Hz); 2'-, 6'-H 7.90 (d,  $J = 9$  Hz).

**5** stimmte in der optischen Drehung und in allen spektroskopischen Daten mit dem aus natürlichem **3** dargestellten Tetraacetat völlig überein.

*Synthetisches Naphthol-(2)-[2,5-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glucofuranosiduronsäure-3,6-lacton]* (**6**): Farblose Nadeln vom Schmp. 228–229° (Lit.<sup>11</sup>): 227–230°,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-9.0^\circ$  ( $c = 0.92$  in Pyridin) (Lit.<sup>11</sup>):  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-4.8^\circ$ , in Pyridin).

NMR (CDCl<sub>3</sub>, int. TMS): Zucker: 2-, 5-Acetyl  $\delta$  1.45, 2.19 (s); 3-, 4-, 5-H 5.00–5.5 (m); 2-H 5.56 (s); 1-H 6.01 (s).

*Synthetisches Naphthol-(2)-[2,4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton]* (**7**): Das synthetische *Naphthol-(2)- $\beta$ -D-glucopyranuronid* vom Schmp. 158–160° (Lit.<sup>9</sup>): 151.5 bis 152°) wurde mit *Acetanhydrid*/*Natriumacetat* acetyliert. Farblose Nadeln vom Schmp. 187 bis 188°,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-111^\circ$  ( $c = 1.39$  in CHCl<sub>3</sub>).

NMR (CDCl<sub>3</sub>, int. TMS): Zucker: 2-, 4-Acetyl  $\delta$  2.1, 2.18 (s); 5-H 4.30 (d,  $J = 3$  Hz); 4-H 4.91 (t,  $J = 3$  Hz); 3-H 5.18 (t,  $J = 3.5$  Hz); 2-H 5.43 (d,  $J = 3.5$  Hz); 1-H 5.75 (s).

[192/71]