

Hildebert Wagner, Gerold Aurnhammer, Heinz Danninger, Otto Seligmann, Laszlo Pallos und Lorand Farkas

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

## Synthese von Chrysin-7- $\beta$ -D-glucopyranuronid, -7- $\beta$ -D-neohesperidosid und -7- $\beta$ -D-rutinosid

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

(Eingegangen am 5. Oktober 1971)

Durch Kupplung von Chrysin mit  $\alpha$ -Acetobromglucuronsäure-methylester und Verseifen des dargestellten Vollacetats wurde 5.7-Dihydroxy-flavon-7- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure (Chrysin-7- $\beta$ -D-glucopyranuronid) (2) synthetisiert. Chrysin-7- $\beta$ -D-neohesperidosid (5), die unmittelbare Ausgangsverbindung für die Chrysinherstellung, wurde durch Dehydrierung von 5.7-Dihydroxy-flavanon-7- $\beta$ -D-neohesperidosid-heptaacetat mit Jod und Kaliumacetat und anschließende Entacetylierung dargestellt. Glykosidierung von Chrysin mit  $\alpha$ -Acetobromrutinose und anschließende Verseifung des Teilacetats ergab Chrysin-7- $\beta$ -D-rutinosid (7).

### Synthesis of Glucuronides in the Flavonoid-Series, IV<sup>1)</sup>

#### Synthesis of Chrysin-7- $\beta$ -D-glucopyranuronide, -7- $\beta$ -D-neohesperidoside and -7- $\beta$ -D-rutinoside

Coupling of chrysin with methyl(tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide)uronate, followed by total acetylation and subsequent removal of the protecting groups yielded chrysin-7- $\beta$ -D-glucopyranuronide (2). Chrysin-7- $\beta$ -D-neohesperidoside (5), starting material to get chrysin, was prepared by dehydrogenation of 5.7-dihydroxyflavanone-7- $\beta$ -D-neohesperidoside heptaacetate with iodine and potassium acetate and subsequent deacetylation. Condensation of chrysin with  $\alpha$ -acetobromrutinose, followed by deacetylation of the product resulted in the formation of chrysin-7- $\beta$ -D-rutinoside (7).

Kürzlich berichteten wir über die Synthese von Quercetin-3- $\beta$ -D-glucuronid<sup>2)</sup> sowie über die Isolierung und Synthese von Kämpferol-3- $\beta$ -D-glucuronid<sup>3)</sup> und Apigenin-7- $\beta$ -D-glucuronid<sup>1)</sup>. Die vorliegende Arbeit beschreibt die Synthese des Chrysin (= 5.7-Dihydroxy-flavon)-7- $\beta$ -D-glucuronids (2), das von Marsh<sup>4)</sup> im Jahre 1955 aus den Blättern von *Scutellaria galericulata* L. (*Lamiaceae*) isoliert worden war.

Das zur Synthese erforderliche 5.7-Dihydroxy-flavon (Chrysin) stellten wir durch Dehydrierung des von uns kürzlich synthetisierten, leicht zugänglichen 5.7-Dihydroxy-

<sup>1)</sup> III. Mitteil.: H. Wagner, H. Danninger, M. A. Iyengar, O. Seligmann, L. Farkas, S. S. Subramanian und A. G. Nair, Chem. Ber. 104, 2681 (1971).

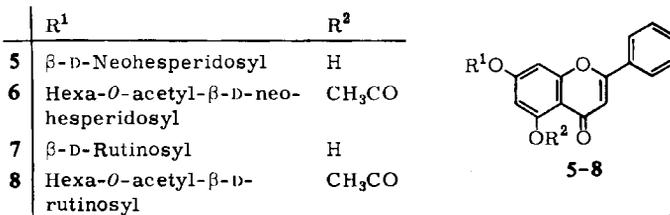
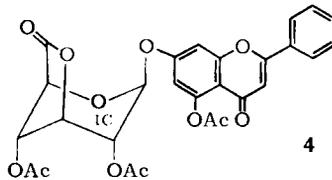
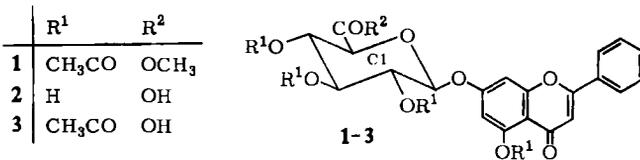
<sup>2)</sup> H. Wagner, H. Danninger, O. Seligmann und L. Farkas, Chem. Ber. 103, 3674 (1970).

<sup>3)</sup> H. Wagner, H. Danninger, O. Seligmann, M. Nogradi, L. Farkas und N. Farnsworth, Chem. Ber. 103, 3678 (1970).

<sup>4)</sup> C. A. Marsh, Biochem. J. 59, 58 (1955).

flavanon-7- $\beta$ -D-neohesperidosid-heptaacetats<sup>5)</sup> zum Chrysin-7- $\beta$ -D-neohesperidosid-heptaacetat (**6**) und anschließende alkalische sowie saure Hydrolyse dar. Diese etwas ungewöhnliche Darstellungsweise eines Flavon-Aglykons brachte den Vorteil, daß im gleichen Arbeitsgang das bisher in der Natur noch nicht aufgefundene, aber sicher existierende Chrysin-7- $\beta$ -D-neohesperidosid (**5**) erhalten werden konnte. Ein Dihydrochrysin-7- $\beta$ -D-neohesperidosid (Pinocembrin-7- $\beta$ -D-neohesperidosid = Sarothanosid) ist bereits aus mehreren Pflanzen isoliert worden<sup>5-8)</sup>.

Zur Synthese des Chrysin-7- $\beta$ -D-glucuronids (**2**) kuppelten wir das synth. Chrysin mit  $\alpha$ -Acetobromglucuronsäure-methylester<sup>9)</sup> nach einem modifizierten *Koenigs-Knorr*-Verfahren in Chinolin mit Silbercarbonat als Katalysator. Das über eine Kieselgelsäule gereinigte Kupplungsprodukt wurde zum Vollacetat **1** acetyliert und dann zu **2** in der Kälte verseift.



Das synthetische Chrysin-7- $\beta$ -D-glucuronid (**2**) stimmte im Schmelzpunkt, UV-Spektrum und in der optischen Drehung mit den für das isolierte Produkt angegebenen Daten<sup>4)</sup> überein. Die NMR-Daten des mit Zinkchlorid/Acetanhydrid dargestellten Chrysin-7- $\beta$ -D-glucuronid-tetraacetats (**3**) und des mit Natriumacetat/Acetanhydrid

<sup>5)</sup> G. Aurnhammer, H. Wagner, L. Hörhammer und L. Farkas, Chem. Ber. **103**, 3667 (1970).

<sup>6)</sup> L. Carreras-Matas, Farmacognosid [Madrid] **19**, 1 (1959).

<sup>7)</sup> V. Plouvier, C. R. heb. Seances Acad. Sci. **265**, 2120 (1967).

<sup>8)</sup> J. P. Kutney, W. C. Warnock und B. Gilbert, Phytochemistry **9**, 1877 (1970).

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

dargestellten Chrysin-7- $\beta$ -D-glucuronid-3,6-lacton-triacetats (4) sind auf Grund unserer früheren Studien an synth. Modellverbindungen<sup>3)</sup> für das Vorliegen des Zuckeranteils in der Pyranoseform beweisend.

Die vorliegende Synthesereihe haben wir durch Darstellung des mit 5 isomeren Chrysin-7- $\beta$ -D-rutinosids (7) ergänzt.

Dem *Fonds der Chemie* und der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* danken wir für Sachbeihilfen.

### Beschreibung der Versuche<sup>10)</sup>

5,7-Dihydroxy-flavon-7- $\beta$ -D-neohesperidosid (*Chrysin-7- $\beta$ -D-neohesperidosid*) (5): 3.33 g 5,7-Dihydroxy-flavanon-7- $\beta$ -D-neohesperidosid-heptaacetat<sup>5)</sup> wurden in 10 ccm Eisessig mit 10 ccm Acetanhydrid, 3.3 g Kaliumacetat und 2 g Jod 23 Stdn. unter Rückfluß erhitzt<sup>11)</sup>. Die abgekühlte Lösung wurde in 400 ccm 0.5proz. eisgekühlte Kaliumjodidlösung getropft und der Niederschlag aus Methanol durch Verdünnen mit kaliumjodidhaltigem Wasser umgefällt. Nach Trocknen des abgesaugten Acetats (6) wurde mit 0.5proz. Natriummethylat-Lösung 30 Min. entacetyliert. Nach Neutralisation mit Eisessig wurde die dunkelbraune Lösung mit Kohle aufgehellt, mit etwas Kaliumhydrogensulfat versetzt und mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt. Nach Entfernen des Methanols i. Vak. wurde 3 mal mit Petroläther/Äther (1:1), anschließend mehrmals mit Äthylacetat ausgeschüttelt. Die Äthylacetatfraktionen wurden eingeeengt, mit wäßrigem Methanol versetzt und zur Kristallisation beiseitegestellt. Nach einigen Tagen kristallisierte 5 in dicken, gelblichen Nadeln. Aus wäßrigem Pyridin 0.98 g (45%) von Schmp. 215–218°.  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-110.3^\circ$  ( $c = 0.77$ , in Pyridin).

UV (Methanol p. a.):  $\lambda_{\min}$  233.5 nm ( $\lg \epsilon$  4.02),  $\lambda_{\max}$  268 (4.48), Inflex. 300–310 (4.14).

$C_{27}H_{30}O_{13}$  (562.5) Ber. C 57.65 H 5.37 Gef. C 57.85 H 5.27

7-Hydroxy-5-acetoxy-flavon-7-[hexa-O-acetyl- $\beta$ -D-neohesperidosid] (*Chrysin-7- $\beta$ -D-neohesperidosid-heptaacetat*) (6): 0.25 g 5 wurden mit 2.5 ccm Acetanhydrid und 2.5 ccm Pyridin über Nacht bei Raumtemp. acetyliert. Nach Absaugen des in Eiswasser ausgefallenen Niederschlags 0.34 g Heptaacetat (89%), aus absol. Äthanol Nadeln vom Schmp. 122°. FeCl<sub>3</sub>-Reaktion negativ.  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-50.5^\circ$  ( $c = 0.87$  in Chloroform).

$C_{41}H_{44}O_{20}$  (856.8) Ber. C 57.47 H 5.18 Gef. C 57.38 H 5.12

NMR (CDCl<sub>3</sub>): Aglykon: 5-OAc  $\delta = 2.45$  s (3H); 3-H 6.64 s; 6-H 6.73 (d,  $J = 2.5$  Hz); 8-H 7.1 (d,  $J = 2.5$  Hz); 3'-H, 4'-H, 5'-H 7.3–7.7; 2'-H, 6'-H 7.83 (d,  $J = 9$  Hz); – Zucker: Ac 1.9–2.28 (18H); Rhamnose-6-H 1.22 (d,  $J = 6$  Hz); Glucose-2-, 5-, 6-, 6-H und Rhamnose-5-H: 3.8–4.35 (5H); Glucose-1-, 3-, 4-H und Rhamnose-1-, 2-, 3-, 4-H: 5.0–5.5 (7H).

Synthetisches Chrysin = 5,7-Dihydroxy-flavon: 2.0 g 5 wurden mit 100 ccm 5proz. äthanolischer Salzsäure 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Umkristallisieren aus Methanol 0.76 g (85%) vom Schmp. 285° (Lit.<sup>12)</sup>: 285°).

7-Hydroxy-5-acetoxy-flavon-7-[2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (*Chrysin-7- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-methylester-tetraacetat*) (1): 1 g Chrysin und 2 g  $\alpha$ -Acetobromglucuronsäure-methylester<sup>3)</sup> wurden mit 2 g Sikkon und 1.5 g Silbercarbonat in 20 ccm Chinolin 3 Stdn. unter Lichtabschluß geschüttelt<sup>1)</sup>. Den Ablauf der Reaktion verfolgten wir mit DC auf Kieselgel (Benzol/Pyridin/Ameisensäure = 72:18:10). Wir rührten

<sup>10)</sup> Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Die NMR-Spektren wurden mit dem Varian-A-60 aufgenommen (TMS innerer Standard).

<sup>11)</sup> H. Wagner, L. Hörhammer, G. Aurnhammer und L. Farkas, Chem. Ber. **101**, 445 (1968).

<sup>12)</sup> R. Téoule, G. Grenier, H. Pachéco und J. Chopin, Bull. Soc. chim. France **1961**, 546.

anschließend das Reaktionsprodukt langsam in 150 ccm 10proz. Kaliumchloridlösung ein, säuerten mit 10proz. *Essigsäure* bis pH 5 an und ließen über Nacht stehen. Dann filtrierten wir ab, wuschen mehrmals mit Wasser nach, nahmen den Rückstand mit Aceton auf, zentrifugierten mehrmals und dampften die Lösung ein. Zur Reinigung chromatographierten wir an einer Kieselgelsäule (23 × 7 cm) mit dem Laufmittel Benzol/Äthanol (9:1). Die Fraktionen mit dem Kupplungsprodukt wurden vereinigt, eingedampft und in der üblichen Weise mit *Acetanhydrid*/Natriumacetat acetyliert. Rohausb. 0.9 g (ca. 37%), aus Äthanol/Chloroform lange, dünne, biegsame Nadeln vom Schmp. 248–250°. DC auf Kieselgel mit Benzol/Äthanol (9:1):  $R_F$  0.5.

$C_{30}H_{28}O_{14}$  (612.6) Ber. C 58.82 H 4.61 Gef. C 58.60 H 4.59

NMR ( $CDCl_3$ ): Zucker: 2-, 3-, 4-Acetyl  $\delta$  2.05 (s);  $OCH_3$  3.75 (s); 5-H 4.20–4.52 (m); 1-, 2-, 3-, 4-H 5.20–5.60 (m); — Aglykon: 5-Acetyl 2.43 (s); 3-H 6.61 (s); 6-H 6.70 (d,  $J = 2.5$  Hz); 8-H 7.03 (d,  $J = 2.5$  Hz); 3'-, 4'-, 5'-H 7.38–7.68 (m); 2'-, 6'-H 7.74–8.0 (m).

IR (KBr): 1640 Flavoncarbonyl, 1750/cm Estercarbonyl.

*5,7-Dihydroxy-flavon-7- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure* (*Chrysin-7- $\beta$ -D-glucopyranuronid*) (2): Eine Lösung von 1.0 g **1** in einer Mischung von 200 ccm Aceton und 125 ccm Wasser wurde unter Rühren im Eisbad tropfenweise mit 30 ccm *n NaOH* versetzt. Der Reaktionsablauf wurde mit DC auf Kieselgel (Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser = 10:2:3) verfolgt. Nach 1 stdg. Rühren neutralisierten wir mit 18 ccm *n HCl*, dampften im Rotationsverdampfer das Aceton ab und erhielten bei Zugabe von 7 ccm *n HCl* einen blaßgelben Niederschlag. Wir filtrierten ab, wuschen mit Wasser neutral und kristallisierten aus 200 ccm 70proz. Methanol um. Ausb. 0.530 g (76%), lange, dünne, gebogene, blaßgelbe Nadeln vom Zers.-P. 224–226° (Lit.<sup>4)</sup>: 225–226°).  $[\alpha]_D^{25}$ : –107.0° ( $c = 1.12$  in 50proz. wäbr. Pyridin) (Lit.<sup>4)</sup>:  $[\alpha]_D^{25}$ : –112 ± 2° in 50proz. wäbr. Pyridin). DC (Kieselgel), Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser (10:2:3):  $R_F$  0.75.

UV (Methanol p.a.):  $\lambda_{min}$  233 nm ( $lg \epsilon$  4.017),  $\lambda_{max}$  268 (4.507),  $\lambda_{infl.}$  300 (4.158) [Lit.<sup>4)</sup>: 235 (4.013), 270 (4.471), 306 (4.158)].

$C_{21}H_{18}O_{10}$  (430.4) Ber. C 58.61 H 4.31 Gef. C 58.71 H 4.27

NMR ( $(CD_3)_2SO$ ): Zucker: 2-, 3-, 4-H  $\delta$  3.2–3.8 (m); 5-H 4.0–4.35 (br); 1-H 5.25–5.50 (br); 2-, 3-, 4-OH 3.3–6.0 (br); — Aglykon: 6-H 6.59 (d,  $J = 2$  Hz); 8-H 6.99 (d,  $J = 2$  Hz), 3-H 7.10 (s); 3'-, 4'-, 5'-H 7.56–7.85 (m); 2'-, 6'-H 7.96–8.30 (m); 5-OH 12.9 (s).

IR (KBr): 1650 Flavoncarbonyl, 1720 Estercarbonyl, 2200–3600/cm Säurehydroxyl.

*7-Hydroxy-5-acetoxy-flavon-7-[2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure]* (*Chrysin-7- $\beta$ -D-glucopyranuronid-tetraacetat*) (3): Zu 0.15 g **2** wurden 5 ccm *Acetanhydrid* und 0.15 g frisch geglihtes *Zinkchlorid* gegeben. Nach 24stdg. Stehenlassen rührten wir das Reaktionsgemisch langsam in 50 ccm Eiswasser ein und arbeiteten nach der üblichen Methode auf. Aus 70 ccm Äthanol erhielten wir einen farblosen, gallertigen Niederschlag vom Zers.-P. 210–212°, Ausb. 0.135 g (65%).

$C_{29}H_{26}O_{14}$  (598.5) Ber. C 58.20 H 4.38 Gef. C 58.13 H 4.36

NMR ( $(CD_3)_2SO$ ): Zucker: 2-, 3-, 4-Acetyl  $\delta$  2.05 (s); 5-H 4.20 (d,  $J = 9$  Hz); 2-, 3-, 4-H 4.98–5.72 (m); 1-H 5.98 (d,  $J = 7$  Hz); — Aglykon: 5-Acetyl 2.25 (s); 3-H 6.89 (s); 6-H 6.91 (d,  $J = 2$  Hz); 8-H 7.40 (d,  $J = 2$  Hz); 3'-, 4'-, 5'-H 7.48–7.81 (m); 2'-, 6'-H 7.85–8.25 (m).

IR (KBr): 1680 Flavoncarbonyl, 1750 Estercarbonyl + Säurecarbonyl, 2320–3500/cm Säurehydroxyl.

7-Hydroxy-5-acetoxy-flavon-7-[2.4-di-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure-3.6-lacton] (Chrysin-7- $\beta$ -D-glucopyranuronid-3.6-lacton-triacetat) (4): 0.15 g **2** versetzen wir mit 5 ccm *Acetanhydrid* und 0.15 g frisch geglühtem *Natriumacetat*. Nach 14stdg. Stehenlassen erwärmen wir 5 Min. auf dem Dampfbad und arbeiteten das *Lacton* nach der üblichen Methode auf. Aus Äthanol blaßgelbe Nadeln vom Zers.-P. 146–148°, Ausb. 0.140 g (75%).

C<sub>27</sub>H<sub>22</sub>O<sub>12</sub> (538.5) Ber. C 60.23 H 4.12 Gef. C 60.07 H 4.23

NMR (CDCl<sub>3</sub>): Zucker: 2-, 4-Acetyl  $\delta$  2.17, 2.25 (s); 5-H 4.42 (d,  $J = 3.5$  Hz); 4-H 5.04 (t,  $J = 3.5$  Hz); 3-H 5.26 (t,  $J = 4$  Hz); 2-H 5.45 (d,  $J = 4$  Hz); 1-H 5.80 (s). — Aglykon: 5-Acetyl 2.45 (s); 3-H 6.69 (s); 6-H 6.80 (d,  $J = 2$  Hz); 8-H 7.18 (d,  $J = 2$  Hz); 3', 4', 5'-H 7.40–7.45 (m); 2', 6'-H 7.75–8.12 (m).

IR (KBr): 1650 Flavoncarbonyl, 1740 Estercarbonyl, 1805/cm Lactoncarbonyl.

5.7-Dihydroxy-flavon-7- $\beta$ -D-rutinosid (Chrysin-7- $\beta$ -D-rutinosid) (7): Eine Lösung von 0.40 g synth. *Chrysin* in 7 ccm Pyridin wurde mit 0.5 g *Silbercarbonat*, 1 g *Drierite* und 1.25 g  $\alpha$ -*Acetobromrutinose* versetzt. Nach 3stdg. Schütteln bei Raumtemp. wurde mit 20 ccm Chloroform verdünnt, von Silbersalzen abzentrifugiert, die Lösung i. Vak. unter mehrmaligem Zusatz von Äthanol eingengt, bis kein Pyridingeruch mehr wahrnehmbar war, und der Rückstand nach Auflösen in 20 ccm Methanol mit 0.6proz. *Natriummethylat*-Lösung verseift. Nach Neutralisation mit *Eisessig* wurde mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt und das nicht umgesetzte Aglykon durch dreimaliges Ausschütteln mit Äther/Petroläther (8:2) entfernt. Nach Einengen der Unterphase wurde die wäßrige Lösung mit A-Kohle geklärt und stehengelassen. Der entstandene Niederschlag wurde nach 48 Stdn. abgesaugt und aus wäßrigem Methanol umkristallisiert. Hellgelbe Nadeln vom Schmp. 265–266°, Ausb. 0.68 g (77%),  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-97.0^\circ$  ( $c = 0.91$  in Pyridin). DC (Polyamidplatte, gegossen) Nitromethan/Methanol (65:30): Chrysin-7- $\beta$ -D-rutinosid  $R_F$  0.60; Chrysin-7- $\beta$ -D-neohesperidosid  $R_F$  0.55.

C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>13</sub> (562.5) Ber. C 57.65 H 5.37 Gef. C 57.90 H 5.39

UV (Methanol p.a.):  $\lambda_{\min}$  233.5 nm ( $\lg \epsilon$  3.99);  $\lambda_{\max}$  268 (4.49); Infl. 305 (4.13).

7-Hydroxy-5-acetoxy-flavon-7-[hexa-O-acetyl- $\beta$ -D-rutinosid] (Chrysin-7- $\beta$ -D-rutinosid-heptaacetat) (8): 0.12 g **7** wurden mit 1 ccm *Acetanhydrid* und 1 ccm *Pyridin* über Nacht bei Raumtemp. stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung erhielten wir 0.15 g *Acetat* (82%), Schmp. 129–132°. Die FeCl<sub>3</sub>-Reaktion war negativ.  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-48.0^\circ$  ( $c = 1.1$  in Chloroform).

C<sub>41</sub>H<sub>44</sub>O<sub>20</sub> (856.8) Ber. C 57.47 H 5.18 Gef. C 57.80 H 5.14

NMR (CDCl<sub>3</sub>): Zucker: Rhamnose-CH<sub>3</sub>  $\delta$  1.12 (d,  $J = 6$  Hz); — Acetyl 1.75–2.18 (18H); Glucose-5-, 6-, 6-H und Rhamnose-5-H 3.6–4.1; Glucose-1-, 2-, 3-, 4-H und Rhamnose-2-, 3-, 4-H 4.9–5.35; Rhamnose-1-H 4.65; — Aglykon: 5-Acetyl 2.39; 3-H 6.53; 6-H 6.66 (d,  $J = 2.5$  Hz); 8-H 6.95 (d,  $J = 2.5$  Hz); 3', 4', 5'-H: 7.35–7.6 (3H); 2', 6'-H 7.7–7.9 (2H).

DC (Kieselgel), Toluol/Äthylacetat (1:1): Chrysin-rutinosid-heptaacetat  $R_F$  0.40; Chrysin-neohesperidosid-heptaacetat  $R_F$  0.43.

[383/71]