

ENDGÜLTIGE STRUKTUR VON ADONIVERNITH AUS *ADONIS VERNALIS*

HILDEBERT WAGNER, LEONORE ROSPRIM* und KATJA GALLE†‡

Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München

(Eingegangen 31 Juli 1974)

Key Word Index—*Adonis vernalis*; Ranunculaceae; glycoflavone; adonivernith; orientin-2''-O-mono- β -D-xyloside.

Abstract—The structure of adonivernith, an orientin xyloside earlier isolated from *Adonis vernalis*, was established as luteolin 8- β -D-glucopyranosyl-2''-O-D-xylopyranoside (orientin 2''-O- β -D-xylopyranoside).

Im Jahre 1959 wurde von uns [1] aus dem Kraut von *Adonis vernalis* L. ein Flavon-C-glykosid isoliert (Adonivernith), das noch O-glykosidisch eine Xylose an den C-Zucker gebunden enthielt. Nach den damals durchgeführten Untersuchungen sollte ein Orientin-bzw. Isoorientin-O-xylosid vorliegen.

Zur endgültigen Strukturaufklärung wurde das Adonivernith erneut isoliert und dem Perjodsäureabbau sowie der NMR- und Massen-Spektroskopie unterworfen. Adonivernith vom Schmp. 204° und der optischen Drehung $[\alpha] -67,3^\circ$ (in Pyridin) liefert nach der Barger-Methode [2] das erwartete Decaacetat (Schmp. 226°). Durch Diazomethan-Methylierung und anschließende Säurehydrolyse wurde ein Flavon-C-glykosid-tetramethyläther erhalten, der eindeutig mit dem Orientintetramethyläther [3] übereinstimmte.

Da beim Perjodsäureabbau nach Viscontini [4] Glycerin und Äthylenglykol gebildet wurden, mußten die Glucose und Xylose Pyranose-Struktur besitzen. Der Verbrauch von 9,1 Mol Perjodat pro Mol Adonivernith bei der Oxydation nach Malaprade [5] im sauren Milieu entsprach dem theoretischen Verbrauch (9,0 Mol) für eine Hexose und eine Pentose.

Der Perjodatverbrauch nach Fleury-Lange-Oxidation im schwach sauren Milieu lag zwischen 3,7 und 4,0 Mol pro Flavon-C-glykosid. Für eine 1 \rightarrow 2 Verknüpfung wäre ein theoretischer Verbrauch von 3 Mol, für eine 1 \rightarrow 6 Verknüpfung einer von 4 Mol zu erwarten. Mittlerweile ist nun von Horowitz und Gentili [7, 8] aus *Citrus sinensis* ein Xylosyl-vitexin isoliert und mit Hilfe der NMR-Spektroskopie eindeutig als ein 2''-O- β -D-Xylosyl-vitexin aufgeklärt worden. Damit war ein direkter spektroskopischer Vergleich möglich. Wie beim Xylosyl-vitexin-nonaacetat fehlte im NMR-Spektrum des Adonivernith-decaacetates das 2''-O-Acetylsignal bei $\delta = 1,72$ (siehe Tabelle 1). Der überhöhte Perjodatverbrauch wird von Horowitz und Gentili [7] mit einer Komplexbildung von Perjodat mit der oxidierten Seitenkette und den freien phenolischen Gruppen erklärt.

Die M-175 Bruchstücke im Massen-Spektrum von 1 und 2 (m/e 545 bzw. 515) entstehen durch Abspaltung der Methylxylose und stellen das jeweilige Methyl-flavon-C-glucosid-Ion dar (Abb. 1). Wie aus der Abb. 1 weiterhin hervorgeht, ist das Fragmentierungsmuster der Methyl-xylose im Xylosylorientinpermethyläther völlig analog dem des Xylosylvitexinpermethyläthers.

Aus diesen Ergebnissen kann für Adonivernith die Struktur eines Orientin-2''-O-mono- β -D-xylopyranosids abgeleitet werden.

* Teil der Dissertationsarbeit L. Rosprim.

† Teil der Dissertationsarbeit K. Galle.

‡ 14. Mitteilung über Flavon-C-glykoside.

Tabelle 1. ppm-Werte der Zuckeracetylgruppen in CDCl_3

	4''-O-Ac	3''-O-Ac	6''-O-Ac	2''-O-Ac
8-C-Flavon-glykoside				
Vitexinheptaacetat	2,09	2,01	1,91	1,72
Xylosylvitexinnonaacetat	2,08	1,99	1,92	—
Orientinocetaacetat	2,09	2,02	1,95	1,72
Xylosylorientinocetaacetat*	2,07	1,97	1,92	—
6-C-Flavon-glykoside				
Isovitexinheptaacetat	2,08	2,08	2,04	1,83
Isoorientinocetaacetat	2,08	2,08	2,02	1,82

* Eigene Messung.

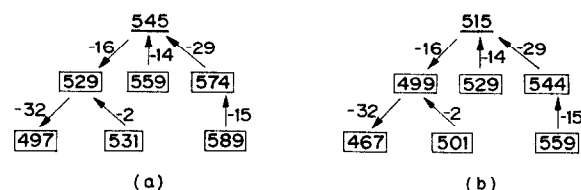


Abb. 1. MS-Zerfallschema von (a) Xylosylorientinpermethyläther. (b) Xylosylvitexinpermethyläther.

Von Tikhonov [9] ist aus *Lemna gibba* L. ein Orientin-O-xylosid isoliert worden, das mit Adonivernith identisch sein soll. Wenn eine Identität besteht, muß die dort angegebene 1 → 6 Verknüpfung für die Xylose an den C-Zucker korrigiert werden.

EXPERIMENTELLES

Isolierung von Adonivernith aus Adonis vernalis. 3 kg Droge *Adonis vernalis* (Fa. Loibl, München) wurden im Soxhlet erschöpfend mit 7 l Methanol extrahiert. Der Extrakt wurde eingedunstet und der sirupöse Rückstand mit heißem Wasser aufgenommen. Dabei fielen Chlorophyll und andere Nebensstoffe aus und wurden abfiltriert. Das klare, braune Filtrat engten wir auf 200 ml ein. Je 25 ml davon wurden auf 5 l mit destilliertem Wasser verdünnt und auf eine 120 cm lange und 6 cm breite Amberlitsäule IRC-50 (Fa. Roth) aufgetragen. Die Durchlaufgeschwindigkeit betrug ungefähr 1 l in 10 Min.. Dabei wurden

die Flavone am Ionenaustauscher adsorbiert. Mit ca 10 l destilliertem Wasser wurde anschließend die Säule bis zur Farblosigkeit nachgewaschen. Die Flavoneluierung erfolgte mit 1,5 l Methanol bei einer Durchlaufgeschwindigkeit von 30 Tropfen/Min. Das vereinigte Elutionsgemisch ergab nach dem Einengen 10,6 g Flavonrohkrystallat. Je ein Gramm davon wurde im entsprechenden Elutionsmittel gelöst und weiter über Cellulose-, Kieselgel- oder Polyamidsäulen getrennt. Bei der Trennung über Cellulosesäule mit 15% Essigsäure bzw. Kieselgelsäule mit $\text{EtOAc-HCO}_2\text{H-H}_2\text{O}$ (10:3:2) erhielten wir nur Fraktionen angereichert mit Adonivernith und einem 2. Flavon-C-glykosid. Über Polyamidsäulen und MeOH als Lösungsmittel wurde Adonivernith rein erhalten. Die Fraktionen 45–51 (a 25 ml) enthielten reines Adonivernith. Nach dem Einengen bis zur Trockene und Lösen in heißem EtOH kristallisierte Adonivernith bei längerem Stehen in gelben Nadeln aus. Die Ausbeute betrug 0,1%.

Adonivernith. Schmp. 204° Lit. [1] Schmp. 200°. $[\alpha]_D^{22} = 67,3^\circ$ ($c = 0,7438\%$ in Pyridin) DC: Polyamid-MeOH R_f 0,48 Cellulose-15% HOAc R_f 0,53. $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (598,11) Ber. C 52,18 H 5,04 Gef. C 52,30 H 4,84 H_2O Ber. 3,04 Gef. 2,63 UV: λ_{max} 256 nm $\epsilon = 16861$, 269 nm $\epsilon = 16500$, 347 nm $\epsilon = 18709$ (MeOH); 275, 305, 332, 426 nm (AlCl_3); 270, 278, 325, 400 nm (NaOAc); 265, 375 nm ($\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{NaOAc}$). IR (KBr): cm^{-1} 3300, 2850, 1650, 1600, 1570, 1500, 1430, 1345, 1250, 1220, 1170, 1160, 1150, 1100, 1085, 1028, 923, 882, 840, 810 OH: 3300 cm^{-1} ; CH-Ar: 2850; C=O: 1650; C-C: 1600, 1570, 1500, 1430; C-O (Zucker): 1028; OH: 840, 810 (ortho-disubstit.) NMR: 60 MHz (CD_3)₂SO + $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{D}$, TMS int., ppm H-2', H-6' $\delta = 7,35$ (s); H-5' $\delta = 6,95$ (d), J 9 Hz; H-3' $\delta = 6,68$ (s); H-6 $\delta = 6,30$ (s); CH-1 (Gluc.) $\delta = 4,88$ (d), J 9 Hz; Zuckerprotonen $\delta = 4,3$ –2,9 (m), 12 H; MS (ES): ST 250°. PT 200°. 70 eV. Res. 1000/4 KV m/e (rel. Int.), 580 M⁺ (fehlt), 430 (12), 412 (12), 394 (12), 376 (14), 352 (14), 340 (12), 326 (14), 323 (14), 310 (14), 299 (16), 286 (18), 270 (14), 258 (18), 242 (14), 241 (13), 203 (12), 189 (14), 176 (10), 165 (15).

Adonivernith-decaacetat (hergestellt nach Barger [2]). Schmp. 226° Lit. [1] Schmp. 226°. DC: Kieselgel/ C_6H_6 -MeOH (95:5) R_f 0,85 $\text{C}_{46}\text{H}_{48}\text{O}_{25}$ (1000,88) Ber. C 55,18 H 4,83 Gef. C 55,13 H 4,95 10 CH_3CO (lt. NMR) IR (in KBr): cm^{-1} 2940, 1735, 1640, 1600, 1493, 1470, 1420, 1360, 1330, 1250, 1170, 1105, 1060, 1035, 1014, 933, 904, 863, 845, 815 Ester-CO: 1735; Keto-CO: 1640 NMR: 60 MHz: (CDCl_3 TMS int.), ppm H-2', H-6' $\delta = 7,57$ (s); H-5' $\delta = 7,43$ (s); H-6 $\delta = 6,93$ (s); H-3' $\delta = 6,60$ und 6,64; Zuckerprotonen: $\delta = 5,5$ –3,5 13 H; OAc-7,5,3',4' $\delta = 2,42$ –2,33 12 H; OAc-Zucker: 2,07–1,92 18 H; OAc-4'' $\delta = 2,07$; OAc-3'' $\delta = 1,97$; OAc-6'' $\delta = 1,92$.

Adonivernithpermethyläther (hergestellt nach Hakomori [10]). MS (ES): ST 200°. PT 190°. 70 eV. Res. 1000/4 KV, m/e (rel. Int.) 720 M⁺ (fehlt), 589 (3), 574 (5), 559 (16), 545 (14), 543 (10), 531 (6), 529 (6), 497 (5), 385 (10), 371 (24), 369 (12), 356

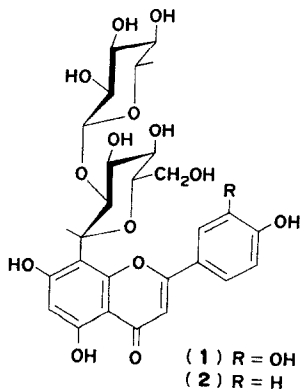


Abb. 2.

(10), 355 (24), 354 (10), 342 (10), 341 (27), 207 (13), 203 (14), 191 (10), 190 (12), 189 (27), 187 (13), 177 (10), 175 (14), 173 (10), 163 (10), 161 (14), 159 (11).

Orientintetramethyläther. Adonivernith wurde nach der Methode von Koeppen [3] mit CH_3N_3 methyliert und das Methylierungsprodukt mit 5%iger HCl 2 Stdn. hydrolysiert. Schmp. 264–65°, Lit. [3] Schmp. 267–268°.

Perjodsäure-Oxydationen von Adonivernith. (a) Der Perjodatabbau nach Viscontini [4] wurde mit 2,4 mg Adonivernith, die Perjodsäure-Oxydation nach Malaprade [5] mit 20 mg Substanz durchgeführt (Ausführung und Berechnung siehe J. Chopin, M.-L. Bouillant, H. Wagner und K. Galle [11]). (b) Die Perjodsäure-Oxydation nach Fleury-Lange [5] erfolgte mit 14 mg Substanz. Diese Menge wurde in 20 ml 60% Äthanol gelöst und 20 ml 0,04 n Perjodsäure hinzugefügt. Die Reaktion verläuft im Dunkeln bei 15°. Die Blindprobe wurde auf die gleiche Weise hergestellt. Zur Messung der Oxydationsgeschwindigkeit wurden je 4 ml Probe und Blindprobe in gleichen Zeitintervallen entnommen. Dazu kamen noch jeweils 10 ml wassergesättigte NaHCO_3 -Lösung, 5 ml 0,02 n NaAsO_2 -Lösung und 1 ml 20% KJ -Lösung in konz. NaHCO_3 . Nach 15 Min. wurden die Proben mit einem 0,02 n J_2 -Titer und Stärke als Indikator titriert. Berechnung des Perjodatverbrauches nach Malaprade [5].

Anerkennungen—Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Bad Godesberg) für Sachbeihilfen. Frau Galle dankt dem Deutschen Akademischen Austauschdienst für das gewährte Stipendium.

REFERENCES

1. Hörhammer, L., Wagner, H. und Leeb, W. (1960) *Arch. Pharmaz.* **293/65**, 264.
2. Barger, G. (1906), *J. Chem. Soc.* **89**, 1210.
3. Koeppen, B. H., Smit, C. J. B. und Roux, D. G. (1962) *Biochem. J.* **83**, 507.
4. Viscontini, M., Hoch, D. u. Karrer, P. (1955) *Helv. Chim. Acta* **38**, 642.
5. Malaprade, L. (1928) *Bull. Soc. Chim. Fr.* **43**, 685.
6. Fleury, P. u. Lange, J. (1933) *J. Pharm. Chim. Paris* **17**, 196.
7. Horowitz, R. M. u. Gentili, B. (1966) *Chem. Ind. (London)* **625**.
8. Gentili, B. u. Horowitz, R. M. (1968) *J. Org. Chem.* **33**.
9. Tikhonov, A. I. (1970) *Khim. Issled. Farm.*; (1972) *Chem. Abstr.* **76**.
10. Hakomori, S. (1964) *J. Biochem.* **55**, 205.
11. Chopin, J., Bouillant, M. L., Wagner, H. und Galle, K. (1974) *Phytochemistry* **13**, 2583.