

Hildebert Wagner, Heinz Danninger, Otto Seligmann und Lorand Farkas\*)

Synthese von Glucuroniden der Flavonoid-Reihe, I

## Erste Synthese eines natürlich vorkommenden Flavonoid-Glucuronids (Quercetin-3- $\beta$ -D-glucuronid)

Aus dem Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München

(Eingegangen am 17. Juli 1970)

Durch Kupplung von 7,4'-Dibenzyl-quercetin mit  $\alpha$ -Acetobromglucuronsäure-methylester, Darstellung des Vollacetats, Entbenzylierung und Verseifung wurde das aus zahlreichen Pflanzen isolierte Quercetin-3- $\beta$ -D-glucopyranosuronid (3) als erstes natürlich vorkommendes Glucuronid des Pflanzenreiches synthetisiert und in seiner Struktur bewiesen.

Synthesis of Glucuronides in the Flavonoid-Series, I

### The First Synthesis of a Naturally Occurring Flavonoid Glucuronide (Quercetin-3- $\beta$ -D-glucuronide)

The first synthesis, and thereby confirmation of its structure, of a naturally occurring flavonoid glucuronide, quercetin-3- $\beta$ -D-glucuronide (3) is achieved by coupling of 7,4'-dibenzylquercetin with methyl(tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide)-uronate, followed by total acetylation of the product and subsequent removal of the protecting groups.

Ein Quercetinglucuronid wurde erstmals im Jahre 1939 von Endres, Hüttel und Kaufmann<sup>1)</sup> aus *Phaseolus vulgaris* L. isoliert und Quercituron genannt. Marsh<sup>2)</sup> bestätigte dieses Vorkommen. Die Zuckerstellung am C-3-Hydroxyl des Aglykons klärten Sasaki und Watanabe<sup>3)</sup> bei einem von ihnen aus *Gaultheria miqueliana* Takeda isolierten und Miquelianin benannten Quercetinglucuronid. Pearl und Darling<sup>4)</sup> konnten dann später zeigen, daß Quercituron und Miquelianin mit einem dritten von ihnen aus *Populus grandidentata* L. erhaltenen Quercetin-3-glucuronid identisch war. Ribereau-Gayon<sup>5)</sup> fand dieses Glucuronid in *Vitis vinifera* L. Harborne<sup>6)</sup> isolierte Quercetin-3-glucuronid erneut aus *Phaseolus vulgaris* L. und konnte durch Vergleich

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

1) G. Endres, R. Hüttel und L. Kaufmann, Liebigs Ann. Chem. 537, 205 (1939).

2) C. A. Marsh, Nature [London] 176, 176 (1955).

3) T. Sasaki und Y. Watanabe, J. pharmac. Soc. Japan [Yakugaku Zasshi] 76, 892 (1956).

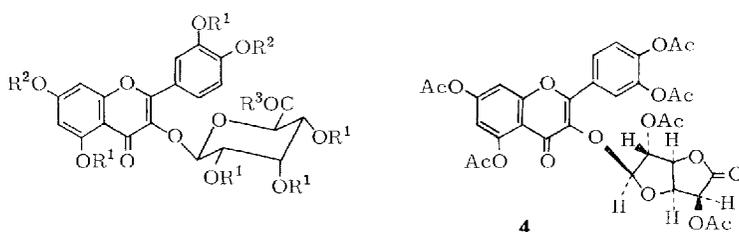
4) I. A. Pearl und S. F. Darling, J. org. Chemistry 28, 1442 (1963); Tappi 48, 607 (1965).

5) P. Ribereau-Gayon, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 258, 1335 (1964); Ann. Physiol. Vegetale 6, 211 (1964).

6) J. B. Harborne, Phytochemistry 4, 107 (1965).

der sauren und enzymatischen Hydrolysegeschwindigkeit mit der verschiedener anderer Flavonolglykoside die C-3-Stellung der Glucuronsäure bestätigen. Weitere Isolierungen dieses Glucuronids gelangen *Stadtman* und *Pohl*<sup>7,8)</sup> aus *Euphorbia cyparissias* L., *Harborne* und *Mendez*<sup>9)</sup> aus *Beilschmiedia miersii* L. und *Dumkow*<sup>10)</sup> aus *Euphorbia lathyris* L.

Zum Strukturbeweis von **3** kuppelten wir 7,4'-Dibenzyl-quercetin<sup>11)</sup> mit  $\alpha$ -Acetobromglucuronsäure-methylester<sup>12)</sup> nach einer von uns modifizierten *Koenigs-Knorr*-Methode<sup>13)</sup> in Pyridin mit Silberoxid als Katalysator. Wir reinigten das Kupplungsprodukt an einer Kieselgelsäule und über das Vollacetat (**1**) und erhielten nach katalytischer Entbenzylierung und Acetylierung 5,7,3',4'-Tetraacetat-quercetin-3- $[\beta$ -D-glucuronid-methylester-triacetat] (**2**). Aus diesem erhielten wir durch vorsichtiges Verseifen mit *n* NaOH in der Kälte Quercetin-3- $\beta$ -D-glucuronid (**3**) vom Schmp. 190–191° und der optischen Drehung  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-48.2^\circ$  (in Pyridin/Wasser 1 : 1).



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
1	COCH <sub>3</sub>	Cl <sub>12</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	OCH <sub>3</sub>
2	COCH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
3	H	H	OH

Im chromatographischen Vergleich und in allen anderen Daten zeigte das synthetische Glykosid **3** Identität mit der aus *Euphorbia cyparissias* L.<sup>8)</sup> isolierten natürlichen Verbindung. Acetylierung von **3** lieferte das Hexaacetat des Quercetin-3- $\beta$ -D-glucuronid- $\gamma$ -lactons (**4**). Aus dem NMR-Spektrum folgt für **4**, daß das Glucuronsäure-lacton nicht mehr in der Pyranose-, sondern in der Furanoseform vorliegen dürfte.

Das Quercetin-3- $\beta$ -D-glucuronid ist damit das erste Glucuronid des Pflanzenreiches, das synthetisch dargestellt wurde.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemie* für Sachbeihilfen.

Für die Überlassung von natürlichem Quercetin-3-glucuronid haben wir Herrn Professor Dr. R. *Pohl*, Freiburg, herzlich zu danken.

7) H. *Stadtman* und R. *Pohl*, *Naturwissenschaften* **53**, 362 (1966).

8) H. *Stadtman*, Dissertation, Univ. Freiburg 1967.

9) J. B. *Harborne* und J. *Mendez*, *Phytochemistry* **8**, 763 (1969).

10) K. *Dumkow*, *Z. Naturforsch.* **24b**, 358 (1969).

11) L. *Jurd*, *J. org. Chemistry* **27**, 1294 (1962).

12) G. N. *Bollenback*, J. W. *Long*, D. G. *Benjamin* und I. A. *Lindquist*, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 3310 (1954).

13) E. *Koenigs* und L. *Knorr*, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **34**, 974 (1901).

### Beschreibung der Versuche<sup>14)</sup>

*Synthet. 3-Hydroxy-7,4'-dibenzoyloxy-5,3'-diacetoxy-flavon-3-[\beta-D-glucuronid-methylester-triacetat] (7,4'-Dibenzyl-5,3'-diacetyl-quercetin-3-[\beta-D-glucuronid-methylester-triacetat]) (1):* 1.5 g 7,4'-Dibenzyl-quercetin<sup>11)</sup> und 1.55 g nach Bollenback und Mitarbb.<sup>12)</sup> hergestellter *\alpha*-Acetobromglucuronsäure-methylester wurden mit 1.5 g wasserfreiem Calciumsulfat und 1.8 g Silberoxid in 20 ccm Pyridin 2 Stdn. unter Lichtabschluß geschüttelt<sup>13)</sup>. Anschließend rührten wir das Reaktionsprodukt langsam in 100 ccm 10proz. Kaliumchloridlösung ein, säuerten mit 10proz. Essigsäure an, filtrierten und wuschen die Fällung mehrmals mit Wasser nach. Wir nahmen wieder mit Aceton auf, zentrifugierten, dampften die Lösung ein und reinigten über eine Kieselgelsäule (23 \times 7 cm) mit dem Laufmittel Toluol/Äthylacetat (5 : 4). Die das Kupplungsprodukt enthaltenden Fraktionen wurden eingedampft und in üblicher Weise mit Acetanhydrid/Natriumacetat acetyliert: Rohausb. 1.2 g (44%), aus Äthanol/Chloroform kleine Nadeln vom Schmp. 202–204°. DC auf Kieselgel mit Toluol/Äthylacetat (5 : 4):  $R_F$  0.61.

$C_{46}H_{42}O_{18}$  (882.8) Ber. C 62.58 H 4.79 Gef. C 62.40 H 4.89

NMR (CDCl<sub>3</sub>, int. TMS):  $\delta$  1.92–2.22 (3 Zucker-Acetyl); 5-,3'-Acetyl 2.3–2.6; — Aglykon: —O—CH<sub>2</sub>—C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> 4.95–5.48; 6-H 6.69 (d,  $J = 2.5$  Hz); 8-H 6.89 (d,  $J = 2.5$  Hz); 5'-H 7.11 (d,  $J = 9$  Hz); C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> 7.43 (s); 2', 6'-H 7.99 (m). — Zucker: —OCH<sub>3</sub> 3.6 (s); 5-H 3.83–4.15; 2-, 3-, 4-H 4.97–5.45; 1-H 5.62–5.85.

*Synthet. 3-Hydroxy-5,7,3',4'-tetraacetoxy-flavon-3-[\beta-D-glucuronid-methylester-triacetat] (5,7,3',4'-Tetraacetyl-quercetin-3-[\beta-D-glucuronid-methylester-triacetat]) (2):* 0.58 g **1** wurden in Äthylacetat mit Palladium/Kohle in einer Wasserstoff-Atmosphäre 1 Stde. hydriert. Wir dampften das Filtrat bei 30° zur Trockne ein und acetylierten mit Acetanhydrid/Natriumacetat. Rohausb. 0.42 g (81%). Aus Äthanol/Chloroform lange Nadeln vom Schmp. 222–224°. DC auf Kieselgel mit Toluol/Äthylacetat (5 : 4):  $R_F$  0.3.

$C_{36}H_{34}O_{20}$  (786.7) Ber. C 54.9 H 4.35 Gef. C 54.7 H 4.30

NMR (CDCl<sub>3</sub>, int. TMS):  $\delta$  1.97–2.19 (3 Zucker-Acetyl); 5-,7-,3',4'-Acetyl 2.28–2.55. — Aglykon: 6-H 6.85 (d,  $J = 2.5$  Hz); 8-H 7.29 (d,  $J = 2.5$  Hz); 5'-H 7.34 (d,  $J = 9$  Hz); 2', 6'-H 8.0 (m). — Zucker: —OCH<sub>3</sub> 3.62 (s); 5-H 3.84–4.18; 2-, 3-, 4-H 5.0–5.43; 1-H 5.74 (d,  $J = 6$  Hz).

*Synthet. 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-\beta-D-glucopyranosuronid (Quercetin-3-\beta-D-glucopyranosuronid) (3):* Eine Lösung von 0.37 g **2** in 150 ccm Aceton/Wasser (1 : 1) wurde langsam unter Rühren im Eisbad mit 20 ccm 1 *n* NaOH versetzt. Nach 2 Stdn. Rühren neutralisierten wir mit 1 *n* HCl, dampften das Aceton i. Vak. bei 30° ab, säuerten mit 1 *n* HCl bis pH 3 an und schüttelten zehnmal mit je 25 ccm Äthylacetat aus. Die vereinigten Auszüge wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bei 30° abgedampft. Aus 70proz. Methanol blaßgelbe Nadeln, Schmp. 190–191° (Lit.<sup>4)</sup>: 193–195°, Ausb. 0.15 g (67%).  $[\alpha]_D^{30}$ : –48.2° ( $c = 0.835$  in 50proz. wäbr. Pyridin) (Lit.<sup>4)</sup>:  $[\alpha]_D^{25}$ : –48.1°,  $c = 1.67$  in 50proz. wäbr. Pyridin).

UV (Methanol p. a.):  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) 257 (4.35); 360 (4.23); Infl. 309 m $\mu$  (3.95).

Chromatographisch stimmte das synth. **3** mit der zur Verfügung stehenden Testsubstanz von Professor Dr. R. Pohl, Freiburg, überein.

DC auf Polyamid +20% Zellulose: Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser (10 : 2 : 3):  $R_F$  0.55, Butanol/Eisessig/Wasser (6 : 1 : 2):  $R_F$  0.21.

$C_{21}H_{18}O_{13}$  (478.4) Ber. C 52.73 H 3.79 Gef. C 52.80 H 3.68

<sup>14)</sup> Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Die NMR-Spektren wurden mit dem Varian A 60 aufgenommen.

NMR ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ , int. TMS): Aglykon: 6-H  $\delta$  6.23 (d,  $J = 2$  Hz); 8-H 6.42 (d,  $J = 2$  Hz); 5'-H 6.87 (d,  $J = 9$  Hz); 2', 6'-H 7.63 (m); 7-, 3', 4'-OH 8.33–11.66; 5-OH 12.58 (s). — Zucker: 2-, 3-, 4-, 5-H 3.15–3.85; 1-H 5.25–5.68; 2-, 3-, 4-OH 4.75–5.68; — $\text{CO}_2\text{H}$  8.33 bis 11.66.

IR (KBr): 1650 Flavonolcarbonyl, 1725/cm Säurecarbonyl.

*Synthes.* 3-Hydroxy-5,7,3',4'-tetraacetoxy-flavon-3- $[\beta$ -D-glucuronid- $\gamma$ -lacton-diacetat] (Quercetin-3- $[\beta$ -D-glucuronid- $\gamma$ -lacton]-hexaacetat) (4): 0.11 g 3 acetylierten wir mit Acetanhydrid/Natriumacetat 1 Stde. auf dem Dampfbad. Aus Äthanol farblose Nadeln vom Schmp. 158–160°, Ausb. 0.12 g (74%). DC auf Kieselgel mit Toluol/Äthylacetat (5 : 4):  $R_F$  0.28.

$\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{O}_{18}$  (712.6) Ber. C 55.62 H 3.96 Gef. C 55.80 H 4.12

NMR ( $\text{CDCl}_3$ , int. TMS):  $\delta$  2.0–2.2 (2 Zucker-Acetyl); 5-, 7-, 3', 4'-Acetyl 2.25–2.5. — Aglykon: 6-H 6.85 (d,  $J = 2.5$  Hz); 8-H 7.29 (d,  $J = 2.5$  Hz); 5'-H 7.39 (d,  $J = 9$  Hz); 2', 6'-H 7.9 (m). — Zucker: 5-H 4.3 (m); 1-, 2-, 3-, 4-H 4.75–5.75.

IR (KBr): 1630 Flavonolcarbonyl, 1750 Estercarbonyl, 1810/cm Lactoncarbonyl.

[248/70]