



Doctoral Thesis

Bocconia integrifolia, eine Heilpflanze aus dem Arzneimittelschatz der Kallawaya-Indianer Boliviens

Author(s):

Oechslin, Stephan M.

Publication Date:

1992

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000665909> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH Nr. 9813

***Bocconia integrifolia*, eine Heilpflanze aus dem
Arzneimittelschatz der Kallawaya-Indianer
Boliviens**

**Isolierung, Strukturaufklärung und biologische Aktivität der
Inhaltsstoffe**

ABHANDLUNG
Zur Erlangung des Titels
DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN
der
EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZUERICH

vorgelegt von

STEPHAN M. OECHSLIN
eidg. dipl. Apotheker
geboren am 1. Mai 1962
von Einsiedeln (SZ)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. O. Sticher, Referent
Prof. Dr. G. Folkers, 1. Korreferent
Dr. G. König, 2. Korreferent

Zürich 1992



dat 6

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit werden Aspekte der Isolierung, der Strukturaufklärung und der biologischen Aktivität von genuinen Inhaltsstoffen aus *Bocconia integrifolia* H. & B. behandelt. *B. integrifolia* wird seit Jahrhunderten in der Volksmedizin Boliviens von den Kallawaya-Indianern als Schlafmittel und bei der Bekämpfung von Infektionen eingesetzt.

Das getrocknete Pflanzenmaterial wurde mit Petrolether, Dichlormethan, Essigester und Methanol extrahiert. Aus dem Petrolether-Extrakt konnten mittels VLC, MPLC, Gelchromatographie und HPLC vier Dihydrobenzophenanthridin-Alkaloide rein erhalten werden: Dihydrosanguinarin, Dihydrochelirubin, Dihydrochelerythrin und 12-Methoxydihydrochelerythrin. Der Dichlormethan-Extrakt wurde mittels Flüssig-flüssig-Verteilung in drei Phasen aufgetrennt. 6-Acetyldihydrochelerythrin wurde mittels offener Säulenchromatographie aus der Unterphase des Dichlormethan-Extraktes isoliert. Aus der Mittelphase konnten nach offener Säulenchromatographie und Gelchromatographie sechs Dihydrobenzophenanthridin-Alkaloide angereichert werden, die noch mit HPLC gereinigt wurden: ein Isomerenpaar von 6-[3-(2-Hydroxytetrahydrofuran-2-yl)]dihydrosanguinarin, ein Isomerenpaar von 6-[3-(2-Hydroxytetrahydrofuran-2-yl)]dihydrochelerythrin, 6-(4-Hydroxybenzyl)-dihydrosanguinarin und 1-(6-Dihydrosanguinarin-1-yl)-3-(6-dihydrochelerythrin-1-yl)aceton (Chelisanguidimerin). Der Essigester-Extrakt wurde analog zum Dichlormethan-Extrakt in drei Phasen aufgetrennt. Die Unterphase enthielt das Benzyltetrahydroisochinolin-Alkaloid N-Methylcoclaurin, das durch Alkaloid-Extraktion rein dargestellt werden konnte. Der Methanol-Extrakt wurde ebenfalls mittels Flüssig-flüssig-Verteilung in drei Phasen aufgetrennt. In der Mittelphase konnten die quaternären Benzophenanthridin-Alkaloide Sanguinarin, Chelirubin und Chelerythrin angereichert werden, die mittels Ionenaustauschchromatographie getrennt wurden. Die Flavonoide und Säuren, die sich in der Unterphase angereichert hatten, wurden mittels Gelchromatographie und anschließender RP-HPLC getrennt. Es konnten 3,4-Dihydroxybenzoesäure, Kaffeesäure, 3-O-[2-O-(β -D-Glucosyl)- β -D-galactosyl]quercetin, 3-O-[2-O-(β -D-Glucosyl)- β -D-glucosyl]quercetin, 3-O-[6-O-(α -L-Arabinosyl)- β -D-galactosyl]quercetin, 3-O-[6-O-(α -L-Rhamnosyl)- β -D-glucosyl]quercetin (Rutin), 3-O-[6-O-(β -D-Xylosyl)- β -D-galactosyl]quercetin, 3-O-[6-O-(α -L-Rhamnosyl)- β -D-galactosyl]quercetin, 3-O-(β -D-Galactosyl)quercetin (Hyperosid) und 3-O-(β -D-Glucosyl)quercetin erhalten werden.

Alle in dieser Arbeit beschriebenen Verbindungen sind erstmals aus *B. integrifolia* isoliert worden. Bei den Dihydrobenzophenanthridin-Alkaloiden 12-Methoxydihydrochelerythrin, 6-[3-(2-Hydroxytetrahydrofuran-2-yl)]dihydrosanguinarin, 6-[3-(2-Hydroxytetrahydrofuran-2-yl)]dihydrochelerythrin, 6-(4-Hydroxybenzyl)dihydrosanguinarin, 1-(6-Dihydrosanguinarin-2-yl)-3-(6-dihydrochelerythrin-2-yl)aceton und dem Flavonoid 3-O-[6-O-(β -D-Xylosyl)- β -D-galactosyl]quercetin handelte es sich um neue Naturstoffe. Mit Ausnahme von Dihydrosanguinarin, Dihydrochelirubin, Dihydrochelerythrin, Sanguinarin und Chelerythrin sind alle Verbindungen zum ersten Mal aus der Gattung *Bocconia* isoliert worden.

Zur Identifizierung und Strukturaufklärung der Reinsubstanzen gelangten EIMS, FAB-MS, IR, UV, optische Drehung sowie 1D- und 2D-NMR-Techniken zum Einsatz. Mit Hilfe der 2D-NMR-Experimente konnten erstmals die ^{13}C -NMR-Werte für die isolierten Benzophenanthridin-Alkaloide zugeordnet werden. Die zuvor beschriebene Zuordnung der ^{13}C -NMR-Werte für Sanguinarin musste revidiert werden.

Alle isolierten Verbindungen wurden auf ihre antibakterielle, antifungale und molluscizide Wirkung überprüft. Die quaternären Benzophenanthridin-Alkaloide zeigten sehr starke Aktivität gegenüber den Test-Bakterien *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* und *Escherichia coli* sowie gegenüber der Süßwasserschnecke *Biomphalaria glabrata* und bestätigten somit die volksmedizinische Verwendung. Für die Abklärung weiterer biologischer Aktivitäten wurden die Substanzen in ein Random-Screening eingeschleust.

SUMMARY

The presented work describes aspects of the isolation, structure elucidation and biological activity of genuine constituents of *Bocconia integrifolia*, which is used in Bolivia by the Kallawayan Indians as a soporific and against infections.

The air-dried plant material was extracted sequentially with petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate and methanol. Separation of the petroleum ether extract using vlc, mplc, gel-chromatography and hplc resulted in the isolation of four dihydrobenzophenanthridine alkaloids: dihydrosanguinarine, dihydrochelirubine, dihydrochelerythrine and 12-methoxydihydrochelerythrine. The dichloromethane extract was separated using a three-phase solvent system. The alkaloid 6-acetyldihydrochelerythrine was isolated from the lower layer using open column chromatography. Fractionation of the middle layer by open column chromatography, gel-chromatography and hplc yielded six dihydrobenzophenanthridine alkaloids: a pair of stereoisomers of 6-[3-(2-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)]dihydrosanguinarine, a pair of stereoisomers of 6-[3-(2-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)]dihydrochelerythrine, 6-(4-hydroxybenzyl)dihydrosanguinarine and 1-(6-dihydrosanguinarin-1-yl)-3-(6-dihydrochelerythrin-1-yl)acetone (chelisanguidimerine). The ethyl acetate extract was also separated using a three-phase solvent system. The tetrahydroisoquinoline alkaloid N-methylcoclaurine was isolated by common alkaloid extraction of the lower layer. The methanol extract was fractionated by a three-phase solvent system. The separation of the middle layer using ion-pair-chromatography resulted in the isolation of the quaternary benzophenanthridine alkaloids sanguinarine, chelirubine and chelerythrine. From the lower layer, which contained flavonoids and acids, 3,4-dihydroxybenzoic acid, caffeic acid, 3-O-[2-O-(β -D-glucosyl)- β -D-galactosyl]quercetin, 3-O-[2-O-(β -D-glucosyl)- β -D-glucosyl]quercetin, 3-O-[6-O-(α -L-arabinosyl)- β -D-galactosyl]quercetin, 3-O-[6-O-(α -L-rhamnosyl)- β -D-glucosyl]quercetin (rutin), 3-O-[6-O-(β -D-xylosyl)- β -D-galactosyl]quercetin, 3-O-[6-O-(α -L-rhamnosyl)- β -D-galactosyl]quercetin, 3-O-(β -D-galactosyl)quercetin (hyperoside) und 3-O-(β -D-glucosyl)quercetin were separated by gel-chromatography and reverse-phase hplc.

This is the first report on the constituents of *Bocconia integrifolia*. The benzophenanthridine alkaloids 12-methoxydihydrochelerythrin, 6-[3-(2-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)]dihydrosanguinarine, 6-[3-(2-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)]dihydrochelerythrine, 6-(4-hydroxybenzyl)dihydrosanguinarine, 1-(6-

dihydrosanguinarinyl)-3-(6-dihydrochelerythriny)acetone and the flavonoid 3-O-[6-O-(β -D-xylosyl)- β -D-galactosyl]quercetin are new natural products. All compounds were isolated for the first time from the genus *Bocconia*, with the exception of dihydrosanguinarine, dihydrochelirubine, dihydrochelerythrine, sanguinarine and chelerythrine.

The structures were elucidated by means of ei-ms, fab-ms, ir, uv, optical rotation as well as 1D- and 2D-nmr techniques. For all isolated benzophenanthridine alkaloids the ^{13}C -nmr data were assigned for the first time. In the case of sanguinarine the ^{13}C -nmr data have been reassigned.

The antibacterial, antifungal and molluscicidal activity of all isolates was tested. The quaternary benzophenanthridine alkaloids sanguinarine, chelirubine and chelerythrine were highly active against the bacteria *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, as well as against the mollusc *Biomphalaria glabrata*. A random screen of all isolates is currently being performed to find further biological activities.