(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 02 603 T2** 2005.12.29

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 381 619 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 02 603.2**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/IN02/00085**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 718 508.1**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 03/082887**
(86) PCT-Anmeldetag: **28.03.2002**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **09.10.2003**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **21.01.2004**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **12.01.2005**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **29.12.2005**

(51) Int Cl.[7]: **C07H 7/06**

(73) Patentinhaber:
Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi, IN

(74) Vertreter:
Dr. Werner Geyer, Klaus Fehners & Partner GbR, 80687 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR

(72) Erfinder:
Maurya, Rakesh, Jammu, IN; Handa, Sukhdev Swami, Jammu, IN; Singh, Rajinder, Jammu, IN

(54) Bezeichnung: **8-(C-BETA-D-GLUCOPYRANOSYL)-7,3',4'-TRIHYDROXYFLAVONE, VERFAHREN ZUR ISOLATION AUS PTEROCARPUS MARSUPIUM UND PHARMAZEUTISCHE ZUSAMMENSETZUNG ZUR BEHANDLUNG VON DIABETES**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine neuartige Verbindung, 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon. Außerdem betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Isolation der neuartigen Verbindung 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon aus Pterocarpus marsupium. Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem eine pharmazeutische Zusammensetzung, die 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon enthält, sowie ein Verfahren zur Behandlung von Diabetes mit der Verbindung.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Pterocarpus marsupium Roxb (Leguminosae), auch als Indischer Kinobaum oder Bijasar bekannt, ist in den hügeligen Regionen Zentral- und Vorderindiens weit verbreitet [Jain, S. K.: Medical Plants, National Book Trust, New Delhi, 1968, S. 116]. Die Extrakte von Blättern, Blüten und Harz dieses Baums sind medizinisch bei der Behandlung von Durchfall, Zahnschmerzen, Fieber, Infektionen der Harnwege und der Haut verwendet worden [Chopra, R. N., Chopra, I. C., Handa, K. I. und Kapur, L. D.: Indigenous Drugs of India, 2. Bd., Dhar, U. N. and Sons Private Limited, Kalkutta, 1958, S. 522]. Der Extrakt aus der Rinde ist seit langem als nützlich bei der Behandlung von Diabetes angesehen worden [Kirtikar, K. R. und Basu, B. D.: Indian Medical Plants, 2. Auflg., herausgegeben von: Blatter, E., Cailes, J. F. und Mhaskar, K. S., Singh and Singh, Delhi, Indien, 1975, S. 2135]. Von Chakravarthy u.a. [Chakravarthy, B. K., Gupta, S. und Gode, K. D.: Lancet, 1982, 272 (und darin zitierte Literaturstellen)] ist berichtet worden, dass der aktive hypoglykämische Grundbestandteil der Rinde (–)-Epicatechin ist und dass seine Wirksamkeit der Regenerierung von Bauchspeicheldrüsen-Betazellen zuzuschreiben ist. Diese Behauptung ist jedoch von Kolb u.a. [Kolb, H., Kiesel, U., Grenlich, B. und Bosch J. V. D., Lancet, 1982, 1303] sowie von Sheehan u.a. [Sheehan, E. W., Zernaitis, M. A., Slatkin, D. J. und Schiff, Jr., P. L., Journal of Natural Products, 1983, 46, 232] in Frage gestellt worden. Es wird nun die Meinung vertreten, dass weitere Untersuchungen erforderlich sind, bevor (–)-Epicatechin als ein brauchbares Antidiabetikum zum Einsatz in klinischen Studien am Menschen angesehen werden kann.

[0003] Praktiker des indischen Gesundheitssystems sind der Ansicht, dass eher das Kernholz als die Rinde von Pterocarpus marsupium für eine Behandlung von Diabetespatienten nützlich ist und dass je älter die Pflanze ist, desto wirksamer ihr Kernholz ist. Außerdem wird geltend gemacht, dass nur Kernholz, das eine ausgeprägte rote Farbe hat und dem Wasser, in dem es eingeweicht aufbewahrt wird, eine rote Färbung mit bläulichgrüner Fluoreszenz verleiht, zur Verwendung als Antidiabetikum geeignet ist.

[0004] Hypoglykämische Wirkungen wässriger oder alkoholischer Extrakte aus Kernholz von Pterocarpus marsupium sind durch Versuche [Shah, D. S.: Indian Journal of Medical Research, 1967, 55, 166 und darin zitierte Literaturstellen; Gupta, S. S.: Indian Journal of Medical Research, 1963, 51, 716] und klinische Studien [Sepha, G. C. und Bose, S. N.: J. Ind. Med. Assoc., 1956, 27, 383; Kedar, P. und Chkrabarti, C. H., Maharastra Med. J., 1981, 28, 165] verifiziert worden.

[0005] Das Kernholz von Pterocarpus marsupium ist reich an phenolischen Stoffen. Eine chemische Untersuchung von Kernholz von P. marsupium ist auf 1946 zurückdatierbar, wobei frühe Arbeiten [Bhargava, P. N.: Proc. Ind. Acad. Sci., 1946, 24A, 496] über dieses Arzneimittel von fragmentarischer Art sind. Bisher berichtete Untersuchungen dieser Pflanze offenbaren die folgenden chemischen Bestandteile:

1. Etherextrakt von P. marsupium lieferte ein Isoflavonoid, Glycol-4,4'-Dihydroxy-α-methylhydrobenzoin, als Marsupol bezeichnet [Rao, A. V. S., Mathew, J.: Phytochemistry, 1982, 21, 1837], ein Benzofuranon-Derivat, 2,4',6-Trihydroxy-4-methoxybenzo(b)furan3(2H)-on, als Carpusin bezeichnet [Mathew, J. und Rao, A. V. S.: Phytochemistry, 1983, 22, 794], ein 2-Propanol-Derivat 1,3-bis-(4-Hydroxyphenyl)propan-2-ol, als Propterol bezeichnet [Rao, A. V. S., Mathew, J. und Shankaran, A. V. B.: Phytochemistry, 1984, 23, 897], 1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)propan-2-ol, als Propterol B bezeichnet [Mathew, J., Rao, A. V. S. und Rambhav, S.: Current Science, 1984, 53, 576], 6-Hydroxy-7-O-methyl-3-(3-hydroxy-4-O-methylbenzyl)chroman-4-on [Jain, S. C., Sharma, S. K., Kumar, R., Rajwansh, V. K. und Babu, V. R.: Phytochemistry, 1997, 44, 765].
2. Eine ethylacetatlösliche Fraktion eines alkoholischen Kernholzextraktes lieferte: ein Pterosupin β,2',4,4'-Tetrahydroxy-3'(c-β-D-glucopyranosid)dihydrochalcon [Adinarayana, D., Syamsundar, K. V., Seligmann, O. und Wagner, H.: Z. Naturforsch., 1982, 37C, 145)], Marsupinol [Trivedi, J. J.: Indian J. Phys. Pharmacol., 1997, 15, 51], 5,4'-Dimethoxy-8-methylisoflavon-7-O-α-L-rhamnopyranosid, Retusin-O-β-D-Glucopyranosid und Irisolidin-7-O-α-L-rhamnopyranosid [Mitra, J. und Joshi, T.: Phytochemistry, 1982, 21, 2429] und 5,7'-Dihydroxy-6-methoxy-7-O-α-L-rhamnopyranosid [Mitra, J. und Joshi, T.: Phytochemistry, 1983, 22, 2326], das aus der ethylacetatlöslichen Fraktion eines alkoholischen Kernholzextraktes erhalten wurde.
3. Benzofuranon-Derivate, 2,6-Dihydroxy-2-(p-hydroxybenzyl)-4-methoxy-3(2H)-benzofuranon, als Marsupin bezeichnet (Maurya, R., Ray, A. B.,

Duah, F. K., Slatkin, D. J. und Schiff, P. L. Jr.: Heterocycles, 1982, 19, 2103] und Pterostilbin, (2S)-Hydroxyflavon, Isoliquiritigenin, Liquiritigenin, 7,4'-Dihydroxyflavon,5-Deoxykaempferol und 3,7,4'-Trihydroxyflavon [Maurya, R., Ray, A. B., Duah, F. K., Slatkin, D. J. und Schiff, P. L. Jr.: J. Nat. Prod., 1984, 47, 179], zwei C-Glycoside, 8-C-β-D-Glucopyranosyl-3,7,4'-Trihydroxy- und 3,7,3',4'-Tetrahydroxyflavon sowie 3'-C-β-D-Glucopyranosyl-α-hydroxydihydrochalcon [Bezuidenhoudt, B. C. B., Brandt, E. V. und Ferreira, E. V.: Phytochemistry, 1987, 26, 531], aus Ethylacetatextrakt aus entfettetem Kernholz.

4. Der Benzinextrakt aus einer Wurzel von P. marsupium bot Selin-4(15)-en-1β,11-Diol, β-Eudesmol, Erythrodiol-3-Monoacetat und Pterostilben [Adinarayana, D. und Syamasundar, K. V.: Phytochemistry, 1982, 22, 1083]. Der Ethanolextrakt aus Blüten von P. marsupium lieferte 4,6,4'-Trihydroxyauron-6-O-rhamnopyranosid und 4,6,4'-Trihydroxy-7-methylauron-4-O-rhamnopyranosid [Mohan, P. und Joshi, T.: Phytochemistry, 1989, 28, 1287), und der Ethanolextrakt aus Rinde von P. marsupium lieferte (–)-Epicatechin [Chakravarthy, B. K. und Gode, K. D.: Plania Medica, 1985, 56].

[0006] Der Stand der Technik liefert jedoch keine Einzelheiten hinsichtlich der biologischen Wirkungen, die mit derartigen chemischen Komponenten im Zusammenhang stehen. Auch gibt der Stand der Technik nur die Herstellung von Etherextrakt, Ethylacetatextrakt und einer ethylacetatlöslichen Fraktion des alkoholischen Extraktes bekannt, offenbart jedoch weder ein Verfahren zur Herstellung von Wasserextrakten aus Kernholz von Pterocarpus marsupium, noch einen Versuch, irgendeine chemische Komponente davon zu isolieren.

AUFGABEN DER ERFINDUNG

[0007] Dementsprechend ist die Hauptaufgabe der Erfindung, Wasserextrakte aus Kernholz von Pterocarpus marsupium herzustellen und die chemischen Komponenten davon zu erhalten.

[0008] Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist, die Wasserextrakte aus Kernholz von Pterocarpus marsupium zu untersuchen, um bioaktive Fraktionen zu erhalten, die für die Behandlung von Diabetes brauchbar sind.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0009] Die oben angeführten und weitere Aufgaben der Erfindung werden gelöst durch Herstellen eines in n-Butanol löslichen Wasserextraktes für ein Untersuchen des Wasserextraktes aus Kernholz von Pterocarpus marsupium und Isolieren einer neuartigen bioaktiven Fraktion davon. Dementsprechend stellt die vorliegende Erfindung eine neuartige Verbindung, nämlich 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon, bereit.

[0010] Außerdem schafft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Isolation von 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon, das Folgendes aufweist:

(a) Pulverisieren des Kernholzes der Pflanze Pterocarpus marsupium,

(b) Extrahieren des auf diese Weise vorbereiteten, pulverisierten Pflanzenmaterials mit einem protischen Lösemittel,

(c) Konzentrieren des Extraktes auf ein Minimalvolumen und Aufteilung mit unterschiedlichen organischen Lösemitteln ansteigender Polarität zum Entfernen nichtpolarer Komponenten, Extrahieren der wässrigen Schicht mit einem polaren Lösemittel, Entfernen des Lösemittels zum Erhalt des Restes,

(d) Isolieren des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavons aus dem Rest.

[0011] In einer Ausführungsform der Erfindung ist das protische Lösemittel, das zur Herstellung des Extraktes im Schritt (b) benutzt wird, aus der Gruppe ausgewählt, die aus Wasser, Methanol, Ethanol, Propanol, Butanol und jeder beliebigen Mischung davon besteht.

[0012] In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung ist das polare Lösemittel, das benutzt wird, um die wässrige Schicht extrahieren, aus Ethylacetat, Propanol und Butanol ausgewählt.

[0013] In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung ist das organische Lösemittel, das im Schritt (c) benutzt wird, um nichtpolare Komponenten zu entfernen, aus der Gruppe ausgewählt, die aus Hexan, Petroleumether und Chloroform besteht.

[0014] In noch einer weiteren Ausführungsform der Erfindung sind die chromatographischen Verfahren, die für die Isolation von 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon verwendet werden, aus der MPLC, der HPLC und der Flash-Chromatographie ausgewählt.

[0015] Außerdem betrifft die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine pharmazeutisch wirksame Menge von 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon in einer pharmazeutisch akzeptablen Trägersubstanz enthält.

[0016] In einer Ausführungsform der Erfindung ist die Menge des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavons in der Zusammensetzung im Bereich von 0,5 mg bis 10 mg pro kg Körpergewicht des Patienten.

[0017] Außerdem betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavons bei der Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Diabetes.

[0018] In einer Ausführungsform der Erfindung ist die Menge an 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon in der Zusammensetzung im Bereich von 0,5 mg bis 10 mg pro kg Körpergewicht des Patienten.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0019] Die vorliegende Erfindung schafft ein Verfahren zur Isolation von 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon, das Folgendes aufweist:

(a) Pulverisieren des Kernholzes der Pflanze Pterocarpus marsupium,

(b) Extrahieren des auf diese Weise vorbereiteten, pulverisierten Pflanzenmaterials mit einem protischen Lösemittel,

(c) Konzentrieren des wässrigen Extraktes auf ein Minimalvolumen und Aufteilung mit organischen Lösemitteln ansteigender Polarität zum Entfernen nichtpolarer Komponenten, Extrahieren der wässrigen Schicht mit einem polaren Lösemittel, Entfernen des Lösemittels zum Erhalt des Restes,

(d) Isolieren des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavons aus dem Rest.

[0020] Das zur Herstellung des Extraktes benutzte Lösemittel kann Wasser, Methanol, Ethanol, Propanol und Butanol und dergleichen oder Mischungen davon sein. Das im Schritt (c) zum Entfernen der nichtpolaren Komponenten benutzte Lösemittel ist aus der Gruppe ausgewählt, die aus Hexan, Petroleumether und Chloroform besteht. Das polare Lösemittel, das benutzt wird, um die wässrige Schicht zu extrahieren, ist aus Ethylacetat, Propanol und Butanol ausgewählt. Die zum Isolieren des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavons benutzten chromatographischen Verfahren können MPLC, Flash-Chromatographie usw. sein.

[0021] Bei dem MPLC-Verfahren wird das erforderliche Elutionsmittel durch die Säule gepumpt, und bei der Flash-Chromatographie wird das Lösemittel mittels Luftdruck vorwärts bewegt. Der Verbindung wurde die Molekülformel $C_{21}H_{20}O_{10}$[FAB-MS, m/z 433 [M + 1]$^{+}$] zugeordnet. Dieser Schluss wurde durch ^{13}CNMR- und DEPT-Spektren gestützt.

[0022] Die Verbindung 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon, die eine Wirksamkeit als Antidiabetikum sowohl bei Menschen als auch bei Tieren gezeigt hat, wurde aus der n-Butanol-löslichen Fraktion der Auskochung von Kernholz von P. marsupium in Wasser isoliert. Im Stand der Technik gibt es keine Offenbarung dieser Verbindung, da die Arbeiten auf dem Gebiet an Etherextrakt, an Ethylacetatextrakt und an der ethylacetatlöslichen Fraktion des alkoholischen Extraktes erfolgten.

[0023] Das Verfahren zur Isolation des Wirkstoffes aus Pterocarpus marsupium weist ein Trennen bzw. Aufteilen des wässrigen Extraktes aus pulverisiertem Kernholz mit unterschiedlichen organischen Lösemitteln auf, die 1 bis 6 Kohlenstoffatome im Molekül enthalten. 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon wird durch Anwenden moderner chromatographischer Verfahren wie etwa der Mitteldruck-Flüssigkeitschromatographie (MPLC), der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) und der Flash-Chromatographie bei Verwendung von Kieselgel (230 bis 400 Mesh) aus der polaren Fraktion isoliert und zeigt eine hypoglykämische Wirksamkeit.

[0024] Die hypoglykämische Wirksamkeit der Verbindung 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon ist an Wistar-Ratten, die 18 Stunden ohne Nahrungsaufnahme blieben, geprüft worden. Bei einer Dosis von 10 mg/kg per os wurde bei allen behandelten Ratten eine hypoglykämische Wirkung protokolliert. Die mittlere Abnahme, die protokolliert wurde, betrug 24 mg/100 ml Blut von einem anfänglichen Mittelwert von 92 zu einem Mittelwert von 68 mg/100 ml Blut. Im Vergleich dazu zeigte der klinisch eingesetzte Hypoglykämiewirkstoff, der als Positivkontrolle bei der Studie verwendet wurde, eine mittlere Abnahme von 23 mg/100 ml Blut.

[0025] Anhand ihres positiven Molybdatophosphorsäure-Tests (blau), Eisenchlorid-Tests (grün) wurde nachgewiesen, dass die Verbindung ein Phenol ist. Sie wurde als ein Flavon erkannt, da sie auf den Shinoda-Test reagierte. Auf das Vorhandensein von Hydroxyl, von Carbonyl und eines Phenyl-Ringes ließ die IR-Absorption bei 3228, 1615, 1554, 1448, 1422 cm^{-1} schließen. Das UV-Spektrum der Verbindung zeigte Absorptionsmaxima bei λ_{max}^{MeoH} 219, 238, 260, 320, 358 nm, die in Gegenwart von NaOAc einer bathochromen Verschiebung bei 219, 238, 267, 320, 367 nm unterlagen. Diese Beobachtung deutete auf das Vorhandensein einer freien Hydroxyl-Gruppe an C-7 hin.

[0026] Das ^{1}H-NMR-Spektrum (200 MHz in DMSO-d_6) zeigte eine Verbreiterung der Signale in den aromatischen Bereichen, vermutlich wegen des sterischen Zusammendrängens des Glykosyl- und B-Ringes. Die Untersuchung des Spektrums ließ ein Singulett-Signal bei δ 6,98 (1H) erkennen, das für ein Proton bei C-3 von Flavon charakteristisch ist. Ein Dublett-Proton-Signal bei δ 8,28 (1H, d, J = 2,1 Hz), das durch die Wirkung des benachbarten C=O tieffeldverschoben ist, weist eine ortho-Kopplung mit dem Dublettsignal bei δ 6,95 (1H, d, J = 8,3 Hz) auf. Diese ortho-Kopplung wird dem Proton bei C-5 und

C-6 zugeordnet und gibt an, dass nur diese zwei Protonen zu dem A-Ring gehören und dass C-8 mit einer Glucosyl-Gruppe besetzt ist. Die Protonensignale bei δ 7,84 (1H, br d, J = 2,1 Hz) 7,97 (1H, br dd, J = 2,1; 8,7 Hz) und 6,99 (1H, d, J = 8,7 Hz) werden den Protonen des B-Ringes zugeordnet. Ferner zeigten ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren Signale, die einer Glukosekomponente zugeordnet wurden. Die C-C-Kopplung wurde durch heteronukleare ^{1}H- und ^{13}C-Korrelation des anomeren Protons bei δ 5,16 mit einem Kohlenstoff-Dublett bei δ 79,3 in der Region, die für C_1-substituierte Glucoside charakteristisch ist, deutlich. Ferner lieferte die Kopplungskonstante (J = 9,5 Hz) des Signals, das von dem anomeren Proton des Glucopyranosids resultierte, einen Hinweis darauf, dass die Glucosidbindung eine β-Konfiguration aufweist. Folglich führte die oben angegebene Analyse zu der Struktur 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon.

[0027] Die Erfindung wird anhand der nachstehend gegebenen Beispiele, die nicht als den Rahmen der vorliegenden Erfindung einschränkend aufzufassen sind, ausführlich beschrieben.

BEISPIEL 1

[0028] Das pulverisierte Kernholz von Pterocarpus marsupium (1 kg) wurde mit 80 wässrigem Ethanol (3 × 3 Liter) über einen Zeitraum von 48 Stunden perkoliert. Das resultierende Konzentrat wurde mit Hexan, Chloroform, Propanol und Butanol in dieser Reihenfolge getrennt bzw. aufgeteilt. Der polare Extrakt wurde einer MPLC unter Verwendung von Kieselgel (100 bis 200 Mesh) unterzogen, um mit Hexan, Chloroform, Methanol, Ethanol in dieser Reihenfolge Grobfraktionen zu erhalten. Die aktive Verbindung wurde durch wiederholte MPLC und Flash-Chromatographie über Kieselgel (230 bis 400 Mesh) unter Verwendung von $CHCl_3$ – MeOH (19:1) als Lösemittel gereinigt, um 8-(C-β-D-Glucopyranosyi)-7,3',4'-Trihydroxyflavon (Ausbeute 0,046), Schmelzpunkt 202 bis 204°C, $[\alpha]_D^{19}$ +25,6° (MeOH, c, 0,5), zu liefern.

BEISPIEL 2

[0029] Das Kernholz von Pterocarpus marsupium wurde mit heißem Wasser über einen Zeitraum von 4 × 4 Stunden extrahiert. Das resultierende Konzentrat wurde zwischen Hexan, Chloroform, Propanol und Butanol in dieser Reihenfolge aufgeteilt. Der auf diese Weise erhaltene polare Extrakt wurde einer Flash-Chromatographie unter Verwendung von Kieselgel (100 bis 200 Mesh) mit Hexan, Chloroform, Ethylacetat und Methanol als Lösemittelsystem unterzogen, um die 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon-reiche Fraktion bereitzustellen, die bei wiederholter Chromatographie über Kieselgel (230 bis 400 Mesh) unter Verwendung von EtOAc-MeOH (19,5:0,5) als Lösemittel 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon der Formel 1 (Ausbeute 0,049%), Schmelzpunkt 202 bis 204°C, $[\alpha]_D^{19}$ +25,6° (MeOH, c, 0,5), lieferte.

BEISPIEL 3

[0030] Das Kernholz von Pterocarpus marsupium wurde (16 Mal) mit Wasser gekocht, bis ¼ des Wasservolumens übrig blieb. Es wurde filtriert, konzentriert und zwischen Hexan, Chloroform, Ethylacetat, Propanol und n-Butanol in dieser Reihenfolge aufgeteilt. Der erhaltene polare Extrakt wurde einer Säulenchromatographie unter Verwendung von Kieselgel (60 bis 120 Mesh) mit Hexan, Chloroform, Ethylacetat und Methanol als Lösemittelsystem unterzogen, um die 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon-reiche Fraktion bereitzustellen. Die 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon-reiche Fraktion lieferte bei wiederholter Säulenchromatographie über Kieselgel (100 bis 200 Mesh) unter Verwendung eines Gemisches aus Ethylacetat-Aceton (8:2) 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon (Ausbeute 0,051%), Schmelzpunkt 202 bis 204°C, $[\alpha]_D^{19}$ +25,6° (MeOH, c, 0,5).

VORTEILE:

1. Die erhaltene Verbindung 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon ist ein neuartiges Molekül mit der Wirkung eines Antidiabetikums.
2. Das Verfahren zur Isolation von 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-Trihydroxyflavon ist verhältnismäßig einfach.

Patentansprüche

1. 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-trihydroxyflavon.

2. 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-trihydroxyflavon nach Anspruch 1, das aus Pterocarpus marsupium isoliert ist.

3. Verfahren zur Isolation von 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-trihydroxyflavon, welches Folgendes aufweist:
(a) Pulverisieren des Kernholzes der Pflanze Pterocarpus marsupium.
(b) Extrahieren des pulverisierten Pflanzenmaterials mittels eines protischen Lösemittels,
(c) Konzentrieren des Extraktes auf Minimalvolumen und Aufteilung mit unterschiedlichen organischen Lösemitteln ansteigender Polarität zum Entfernen nichtpolarer Komponenten, Extrahieren der wässrigen Schicht mit einem polarem Lösemittel, Entfernen des Lösemittels zum Erhalt des Restes.
(d) Isolieren des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-trihydroxyflavons aus dem Rest.

4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das in

Schritt (b) verwendete protische Lösemittel aus Wasser, Methanol, Ethanol, Propanol, Butanol und jeder beliebigen Mischung daraus ausgewählt ist.

5. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das in Schritt (c) verwendete organische Lösemittel zum Entfernen der nichtpolaren Komponenten aus Hexan, Petether und Chloroform ausgewählt ist.

6. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das zum Extrahieren der wässrigen Schicht verwendete polare Lösemittel aus Ethylacetat, Propanol und Butanol ausgewählt ist.

7. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das für die Isolation des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-trihydroxyflavons verwendete chromatographische Verfahren aus MPLC, HPLC und Flash-Chromatographie ausgewählt ist.

8. Pharmazeutische Zusammensetzung, welche eine pharmazeutisch effektive Menge des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-trihydroxyflavons in einer pharmazeutisch akzeptablen Trägersubstanz umfasst.

9. Zusammensetzung nach Anspruch 8, wobei die Menge des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-trihydroxyflavons in der Zusammensetzung im Bereich zwischen 0,5 mg und 10 mg pro kg Körpergewicht des Patienten liegt.

10. Verwendung des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-trihydroxyflavons bei der Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Diabetes.

11. Verwendung nach Anspruch 10, wobei die Menge des 8-(C-β-D-Glucopyranosyl)-7,3',4'-trihydroxyflavons in der pharmazeutischen Zusammensetzung im Bereich zwischen 0,5 und 10 mg pro kg Körpergewicht des Patienten liegt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen