



# Die aktiewe bestanddeel van wildepietersielie (*Heteromorpha arborescens*): 6,7-dimetoksikumarien

## Authors:

Thomas Makungo<sup>1</sup>  
Teunis van Ree<sup>1</sup>

## Affiliations:

<sup>1</sup>Department of Chemistry,  
University of Venda, South  
Africa

## Correspondence to:

Teunis van Ree

## Email:

teunis.vanree@univen.ac.za

## Postal address:

Private Bag X5050,  
Thohoyandou 0950,  
South Africa

## Dates:

Received: 12 Aug. 2013

Accepted: 27 June 2014

Published: 13 Oct. 2014

## How to cite this article:

Makungo, T. & Van  
Ree, T., 2014, 'Die  
aktiewe bestanddeel  
van wildepietersielie  
(*Heteromorpha arborescens*):  
6,7-dimetoksikumarien',  
*Suid-Afrikaanse Tydskrif  
vir Natuurwetenskap en  
Tegnologie* 33(1), Art. #762,  
3 pages. [http://dx.doi.  
org/10.4102/satnt.v33i1.762](http://dx.doi.org/10.4102/satnt.v33i1.762)

## Copyright:

© 2014. The Authors.  
Licensee: AOSIS  
OpenJournals. This work  
is licensed under the  
Creative Commons  
Attribution License.

Dichloormetaanekstraksie van die takke en blare van 'n jong *Heteromorpha arborescens*-boom (wildepietersielie of *muthatha-vhanna* in Tshivenda) het 'n anti-inflammatoriese kumarien, 6,7-dimetoksi-2*H*-chromen-2-oon, opgelewer.

**6,7-Dimethoxycoumarin, the active substance of the parsley tree, *Heteromorpha arborescens*.** Dichloromethane extraction of the branches and leaves of a young *Heteromorpha arborescens* plant (known as parsley tree or *muthatha-vhanna* in Tshivenda) resulted in the isolation of an anti-inflammatory coumarin, 6,7-dimethoxy-2*H*-chromen-2-one.

## Inleiding

Suid-Afrika het 'n ryk biodiversiteit, met ongeveer 3000 van die sowat 24 000 hoër plantspesies wat medisinaal gebruik kan word. Hiervan word ongeveer 350–500 spesies wyd gebruik en in groot hoeveelhede as tradisionele geneesmiddels verkoop (Steenkamp *et al.* 2006). Die meeste plante wat deur tradisionele genesers aangewend word, het een of ander bioaktiwiteit (Arnold & Gulumian 1984). In die Vhembe-distrik word baie plantsoorte tradisioneel gebruik om kwale soos hoofpyn, pyn, en gastro-intestinale siektes te behandel (Mabogo 1990).

*Heteromorpha arborescens* (sin. *Heteromorpha trifoliata*) word algemeen in Suider-Afrika in tradisionele behandelings gebruik (Arnold & Gulumian 1984; Bearts & Lehman 1989; Hutchings *et al.* 1996; Watt & Breyer-Brandwijk 1962). Veewagters en ander jong mans gebruik die wortels saam met melk, bier of *mageu* teen pyn; daar word beweer dat dié mengsel hulle sterk maak en uithou vermoë gee (opkikker?). 'n Aftreksel van die blare word gebruik vir die algemene 'skoonmaak' van die maag, niere, en bloed (Mabogo 1990). Ander medisinale gebruike sluit in behandeling vir koliek, maagpyn, histerie, hoofpyn, koors, verkoue, asma, onvrugbaarheid en ontworming (Palmer & Pitman 1973). Die onderskeie dele van die plant word op verskillende maniere gebruik (Erasto *et al.* 2005). Die hout is baie sag sodat die Xhosa musiekinstrumente daarvan maak (Pooley 1993). In die Okavango-delta word die wortels as opkikkermiddel gebruik.

Die uitstaande kenmerke van die wildepietersielie is die glansende bas wat in horisontale vlokke afskilfer, en die kenmerkende pietersieliegeur wanneer die blare gekneus word. Die blare varieer in vorm en grootte en kan van eenvoudig tot saamgesteld wees. Die klein geelgroen blomme wat in Desember tot Januarie verskyn, is onopvallend. *Heteromorpha arborescens* kom in savanne en bosveld voor en is redelik wyd verspreid in die oostelike dele van Suid-Afrika, veral die Suid-Kaap, Oos-Kaap, Oos-Vrystaat, KwaZulu-Natal, Swaziland, Gauteng, Mpumalanga en Limpopo (Coates Palgrave 1977; Van Wyk, Van Oudtshoorn & Gericke 2000).

Organiese ekstrakte van die wortels van *H. arborescens* het hoë *Cyclooxygenase* (COX)-1-inhibisie getoon. Die chemiese verbinding(s) wat vir hierdie anti-inflammatoriese effek verantwoordelik is, was tot dusver nog nie bekend nie (McGaw, Jäger & Van Staden 1997).

## Materiaal en metodes

### Algemene prosedures

Die Thohoyandou Botaniese Tuin het *H. arborescens* geïdentifiseer en goedgevestiglik materiaal geskenk vir dié studie. Smeltpunte (m.p.) is met behulp van 'n Büchi SMP-20-smeltpuntapparaat bepaal en is ongekorrigeerd. <sup>1</sup>H- en <sup>13</sup>C-KMR-spektra is met 'n Bruker Avance 400 MHz KMR-spektrometer in CDCl<sub>3</sub> gemeet. Chemiese verskuiwings is bepaal relatief tot residuele oplosmiddel, en koppelingskonstantes *J* is in Hz gerapporteer. IR-spektra is met behulp van 'n Bruker Alpha-P-FTIR gemeet. Dunlaagchromatografie (DLC) en kolomchromatografie (KC) is op silikajel 60 GF<sub>254</sub> (Merck)-plaatjies en silika 100, onderskeidelik, uitgevoer. Kolle op die DLC-plaatjies is sigbaar gemaak deur Ultraviolet (UV)-bestraling by 254 nm en 365 nm en

## Read online:



Scan this QR  
code with your  
smart phone or  
mobile device  
to read online.



deur behandeling met 'n *p*-anisaldehyd-sproeireagens (0.5 g *p*-anisaldehyd, 50 mL ysasyn en 5 mL swaelsuur) of vanillien (0.5 g in 100 mL metanol en 4 mL swaelsuur), gevolg deur verhitting.

## Plantmaterial en monstervoorbereiding

Die takke en blare van 'n jong *H. arborescens*-plant is versamel en geïdentifiseer in samewerking met die personeel van die Thohoyandou Botaniese Tuin. Die materiaal is 4 weke lank by kamertemperatuur en in die koelte laat droog word en daarna gemaal om 1.03 kg poeier op te lewer.

## Ekstraksie en isolasie

Die lugdroë materiaal is steeds vir drie opeenvolgende dae teen kamertemperatuur geweek in 5 L *n*-heksaan (x3), gevolg deur 5 L dichloormetaan (x3). Die gekombineerde dichloormetaanekstrak is oor anhidriese natriumsulfaat (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) gedroog, gefiltreer en ingedamp om 10.05 g ru ekstrak te lewer. Die ekstrak is deur KC op 1 kg silikajel in 'n kolom van 75 cm x 8 cm gefraksioneer (Tabel 1).

Fraksie HaD14–20 (2.98 g) was redelik suiwer (DLC) en is ná verdere kolomchromatografie met dieselfde loopmiddels, eers met metanol – *n*-heksaan, en vervolgens met *n*-heksaan – etielasetaat (EtOAc), omgekristalliseer om 1.06 g 6,7-dimetoksikumarien 1 in die vorm van wit kristalle op te lewer. M.p. 137 °C – 140 °C [Lit. 144 °C – 146 °C [Hashim *et al.* 2011], 145 °C – 146 °C [Van Puyvelde *et al.* 1988]]. IR (ATR):  $\nu_{\max}$  1715.54 (laktoon C=O strek), 1608.99 (arom. C=C strek), 1558.14 ( $\nu_{\text{C-C}}$ ), 1507.16 ( $\nu_{\text{C-C}}$ ), 1245.72, 997.85, 917.49 (arom.  $\delta_{\text{C-H}}$ ) cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H- KMR:  $\delta_{\text{H}}$  3.94 (3H, s, OMe-7), 3.97 (3H, s, OMe-6), 6.30 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, 3-H), 6.86 (1H, s, 5-H), 6.87 (1H, s, 8-H), 7.63 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, 4-H) dpm. <sup>13</sup>C KMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta_{\text{C}}$  56.36 (OCH<sub>3</sub>-7), 56.39 (OCH<sub>3</sub>-6), 100.08 (CH-8), 108.14 (CH-5), 111.45 (C-4a), 113.58 (CH-3), 143.19 (CH-4), 146.41 (C-6), 150.08 (C-8a), 152.94 (C-7), 161.31 (C-2) dpm.

## Resultate

Kolomchromatografie oor silika het verskeie fraksies opgelewer, wat herhaaldelik gechromatografeer is totdat 'n intens fluoresserende verbinding in die vorm van wit kristalle geïsoleer is. Hierdie verbinding, uit *n*-heksaan – etielasetaat gekristalliseer, is oplosbaar in chloroform en etielasetaat, en smelt tussen 137 °C en 140 °C.

Die <sup>1</sup>H KMR-spektrum het op die teenwoordigheid van 10 protone gedui, met twee prominente metoksi-seine by

**TABEL 1:** Kolomchromatografie van dichloormetaanekstrak.

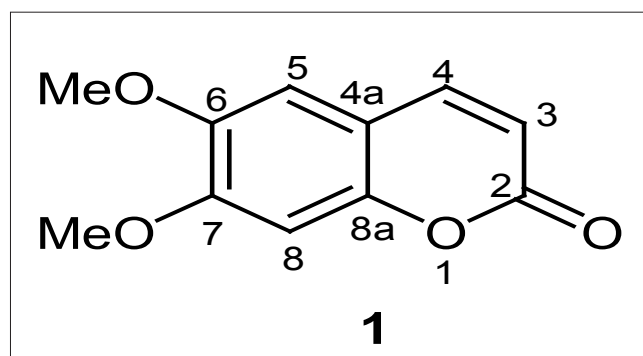
Elueermiddelmengsels: <i>n</i> -heksaan-EtOAc (2 L elk)	Gekombineerde fraksies	Gekombineerde fraksies in gram
100:0	HaD1–5	1.63
90:10	HaD6–10	3.16
80:20	HaD11–13	1.71
40:60	HaD14–20	2.98
20:80	HaD21–24	1.11
0:100	HaD25–27	2.57

3.94 dpm en 3.97 dpm, en twee eenproton-doelette by 6.30 dpm en 7.63 dpm, met 'n koppelingskonstante van 9.1 hertz, tiperend vir die kumarien-piroonring. Die blou fluoressensie onder lang golflengte UV het ook uit die staanspoor 'n kumarien gesuggereer. Die koppeling van twee aromatiese protone by 6.85 dpm en 6.86 dpm is deur die korrelasiespektrum (COSY) bevestig. In die <sup>13</sup>C KMR-spektrum het die karbonielgroep by 161.3 en twee CH<sub>3</sub>-O by 56.36 dpm en 56.39 dpm uitgestaan. Die IR-spektrum het ook die teenwoordigheid van C=O, aromatiese C=C, O-C, en =C-H by 1716 cm<sup>-1</sup>, 1609 cm<sup>-1</sup> en 1558 cm<sup>-1</sup>, 1246 cm<sup>-1</sup> en 917 cm<sup>-1</sup>, onderskeidelik, bevestig. Die DEPT-135-spektrum het geen CH<sub>2</sub>-piek en vier kwaternêre koolstowwe vertoon, terwyl die DEPT-90-spektrum op die teenwoordigheid van vier aromatiese C-H by 100.06 dpm, 108.08 dpm, 113.57 dpm en 143.22 dpm gedui het. Die C-H-korrelasies is deur 'n HSQC-eksperiment bevestig. NOESY- en HMBC-spektra het die niebindingsinteraksies tussen die twee metoksi-groepe, en die metoksies, H-5 en H-8, onderskeidelik, bevestig, waarvan Figuur 1 afgelei is.

Die spektrale data stem grootliks ooreen met die onvolledige data van die verbinding (gevind in *Diplolophium africanum*) voorheen deur Van Puyvelde *et al.* (1988) gerapporteer, en die verbinding deur Hashim *et al.* (2011) uit *Artocarpus kemando* geïsoleer. Die verbinding is ook in die hipolipiedemiese Chinese kruie *Artemisia scoparia* en *Artemisia capillaris* (Jang *et al.* 2005) gevind.

## Bespreking

6,7-Dimetoksikumarien (ook genoem skoparoon of 6,7-dimetoksi-2*H*-chromen-2-oon) is 'n plantgroeihormoon (Afek, Szejnberg & Carmely 1986). Dit verslap ook die gladde spiëre en verlaag totale cholesterol en trigliseriede in bloed (Hoult & Payá 1996). Kumariene is oor die algemeen kragtige anti-inflammatoriese middels (Kontogiorgis & Hadjipavlou-Litina 2003; Sahoo *et al.* 2012). Natuurprodukte soos eskuletien (6,7-dihidroksikumarien), fraksetien, dafnetien en ander verwante kumarienderivate is reeds geïdentifiseer as inhibitore van die lipoksigenase en siklo-oksigenase ensiensisteme, asook van neutrofielafhanklike superoksied-anioonvorming (Fylaktakidou *et al.* 2004). Veral die 5-, 6- of 7-geoksigeneerde en visinale dihidroksikumariene is skynbaar kragtige lipoksigenase-inhibitore (Hadjipavlou-Litina, Litinas & Kontogiorgis 2007).



**FIGUUR 1:** 6,7-Dimetoksikumarien.



Alhoewel die anti-inflammatoriese aktiwiteit van die geïsoleerde verbinding nie getoets is nie, is dit baie waarskynlik dat die teenwoordigheid van hierdie verbinding die tradisionele gebruik van die plant bevestig.

## Slot

Kumariene, afkomstig van inheemse plante, voorsien 'n waardevolle basis vir die ontwikkeling van nuwe geneesmiddels (Venugopala, Rashmi & Odhav 2013). COX-1 inhibisiestudies wat voorheen gedoen is, het reeds getoon dat die organiese ekstrakte van die wortels van *H. arborescens* hoogs aktief is (McGaw *et al.* 1997). Skoparoon, wat in hierdie plant voorkom, is waarskynlik vir hierdie aktiwiteit verantwoordelik. Dit bevestig dus die waarde van die gebruik van *H. arborescens* vir die verligting van pyn deur tradisionele genesers.

## Erkenning

Die finansiële ondersteuning van die Tegnologie-Innoveringsagentskap (TIA) word met dank erken.

## Mededingende belange

Die outeurs verklaar hiermee dat hulle geen finansiële of persoonlike verbintenisse het met enige party wat hulle voordelig of nadelig kon beïnvloed het by die skryf van hierdie artikel nie.

## Outeursbydrae

T.M. (Universiteit van Venda) was verantwoordelik vir die versameling, ekstraksie en analise van plantmateriaal. Hy was ook betrokke by die skryf van die oorspronklike manuskrip. T.v.R. (Universiteit van Venda) was verantwoordelik vir die projekbeplanning en -bestuur, data-analise en -interpretasie, asook die beplanning en skryf van hierdie manuskrip.

## Literatuurverwysings

- Afek, U., Szejnberg, A. & Carmely, S., 1986, '6,7-Dimethoxycoumarin, a citrus phytoalexin conferring resistance against *Phytophthora gummosis*', *Phytochemistry* 25(8), 1855–1856. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81162-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81162-0)
- Arnold, H.-J. & Gulumian, M., 1984, 'Pharmacopoea of traditional medicine in Venda', *Journal of Ethnopharmacology* 12, 35–74. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741\(84\)90086-2](http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741(84)90086-2)

- Bearts, M. & Lehmann, J., 1989, 'Guérisseurs et plantes médicinales de la région des crêtes Zaire-Nil au Burundi, Musée Roy, De l'Afrique Centrale Tervuren, Belgique' ('Healers and medicinal plants of the region of the Zaire-Burundi Nile ridges, Royal Museum of Central Africa, Tervuren, Belgium'), *Annales Sciences Economiques*, 18.
- Coates Palgrave, K., 1977, *Trees of Southern Africa*, Struik, Cape Town.
- Erasto, P., Adebola, P.O., Grierson, D.S. & Afolayan, A.J., 2005, 'An ethnobotanical study of plants used for the treatment of diabetes in the Eastern Cape Province, South Africa', *African Journal of Biotechnology* 4, 1458–1460.
- Fylaktakidou, K.C., Hadjipavlou-Litina, D.J., Litinas, K.E. & Nicolaidis, D.N., 2004, 'Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory / antioxidant activities', *Current Pharmaceutical Design* 10(30), 3813–3833. <http://dx.doi.org/10.2174/1381612043382710>
- Hadjipavlou-Litina, D.J., Litinas, K.E. & Kontogiorgis, C., 2007, 'The anti-inflammatory effect of coumarin and its derivatives', *Anti-inflammatory & Anti-allergy agents in medicinal chemistry* 6(4), 293–306. <http://dx.doi.org/10.2174/187152307783219989>
- Hashim, N.M., Rahmani, M., Shamaun, S.S., Ee, G.C.L., Sukari, M.A., Ali, A.M. *et al.*, 2011, 'Dipeptide and xanthenes from *Artocarpus kemando* Miq', *Journal of Medicinal Plants Research* 5(17), 4224–4230.
- Hoult, J.R.S. & Payá, M., 1996, 'Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: Natural products with therapeutic potential', *Genetical Pharmacology* 27(4), 713–722. [http://dx.doi.org/10.1016/0306-3623\(95\)02112-4](http://dx.doi.org/10.1016/0306-3623(95)02112-4)
- Hutchings, A., Scott, A.H., Lewis, G. & Cunningham, A.B., 1996, *Zulu medicinal plants: An inventory*, University of Natal Press, Pietermaritzburg.
- Jang, S.I., Kim, Y.-J., Lee, W.-Y., Kwak, K.C., Baek, S.H., Kwak, G.B. *et al.*, 2005, 'Scoparone from *Artemisia capillaris* inhibits the release of inflammatory mediators in RAW-264.7 cells upon stimulation cells by Interferon-gamma Plus LPS', *Archives of Pharmaceutical Research* 28(2), 203–208. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02977716>
- Kontogiorgis, C. & Hadjipavlou-Litina, D., 2003, 'Biological evaluation of several coumarin derivatives designed as possible anti-inflammatory/antioxidant agents', *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 18(1), 63–69. <http://dx.doi.org/10.1080/1475636031000069291>
- Mabogo, D.E.N., 1990, *The ethnobotany of the Vhavenda*, M.Sc. dissertation, University of Pretoria, Pretoria.
- McGaw, L.J., Jäger, A.K. & Van Staden, J., 1997, 'Prostaglandin synthesis inhibitory activity in Zulu, Xhosa and Sotho medicinal plants', *Phytotherapy Research* 11, 113–117. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199703\)11:2<113::AID-PTR27>3.0.CO;2-S](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199703)11:2<113::AID-PTR27>3.0.CO;2-S)
- Palmer, E. & Pitman, N., 1973, *Trees of Southern Africa*, Balkema, Cape Town.
- Pooley, E., 1993, *The complete field guide to trees of Natal, Zululand and Transkei*, Natal Flora Publications Trust, Pietermaritzburg.
- Sahoo, S.S., Shukla, S., Nandy, S. & Sahoo, H.B., 2012, 'Synthesis of novel coumarin derivatives and its biological evaluations', *European Journal of Experimental Biology* 2(4), 899–908.
- Steenkamp, P.A., Harding, N.M., Van Heerden, F.R. & Van Wyk, B.-E., (2006) 'Identification of atractyloside by LC-ESI-MS in alleged herbal poisonings', *Forensic Science International* 163, 81–92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forciint.2005.11.010>
- Van Puyvelde, L., De Kimpe, N., Ayobangira, F.X., Costa, J., Nshimyumukiza, P., Boily, Y. *et al.*, 1988, 'Wheat rootlet growth inhibition test of Rwandese medicinal plants: Active principles of *Tetradenia riparia* and *Diplolophium africanum*', *Journal of Ethnopharmacology* 24, 233–246. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741\(88\)90156-0](http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741(88)90156-0)
- Van Wyk, B.-E., Van Oudtshoorn, B. & Gericke, N., 2000, *Medicinal plants of South Africa*, 2nd edn., Briza, Pretoria.
- Venugopala, K.N., Rashmi, V. & Odhav, B., 2013, 'Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity', *BioMed Research International* Article ID 963248, 14 pp. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/963248>
- Watt, J.M. & Breyer-Brandwijk, M.G., 1962, *The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa*, 2nd edn., Livingstone, London.