

KARL FREUDENBERG, JACK H. STOCKER und JEAN PORTER

DAS KONDENSATIONSPRINZIP DER CATECHIN-GERBSTOFFE

Aus dem Chemischen Institut der Universität und dem Forschungsinstitut für die Chemie des Holzes und der Polysaccharide Heidelberg

(Eingegangen am 26. Januar 1957)

Burckhardt Helferich von K. Freudenberg gewidmet im Gedenken an die gemeinsamen Jahre bei Emil Fischer und die bald 50 Jahre währende Freundschaft

Die Kondensation, welche Catechine unter der Einwirkung von Säuren erleiden, besteht in der Substitution einer reaktionsfähigen CH-Gruppe des einen Moleküls durch das Kohlenstoffatom 2 (Phenylcarbinoläthergruppe) des anderen. Dieses Ergebnis wird an vereinfachten Modellen aus der Gruppe der Catechine abgeleitet.

Zu der großen Gruppe $C_6C_3C_6$ gehören die im Pflanzenreich weitverbreiteten Flavonole, Flavone, Dihydroflavonole, Anthocyanidine, Flavanone, Chalkone, Catechine u. a. Unter ihnen zeichnen sich die Catechine durch eine eigentümliche Empfindlichkeit gegen Säuren aus. Sie verwandeln sich erst in amorphe, wasserlösliche, bei längerer Einwirkung unlösliche Produkte gleicher Elementarzusammensetzung. Die wasserlöslichen niederen Glieder der Reihe sind viel gebrauchte Gerbstoffe. Sie finden sich in großen Mengen im Pflanzenkörper und dürften ohne Mitwirkung von Fermenten entstanden sein; offenbar reicht der Säuregehalt der Umgebung zu ihrer Bildung aus.

Als bald nach der Konstitutionsaufklärung des Catechins (I) konnte die Frage aufgeworfen werden, welche Gruppierungen für die Polymerisation oder Kondensation maßgebend sind. Der Grundkörper der Catechine, das Flavan, neigt unter dem Einfluß von Säuren nicht zur Kondensation; also ist die Zahl und die Stellung der Hydroxyle maßgebend. 1934 wurde gezeigt¹⁾, daß synthetisches 3.7.3'.4'-Tetrahydroxy-flavan ebenso säureempfindlich ist wie das Catechin (I) selbst. Die Hydroxylgruppe 5 ist also für die Empfindlichkeit nicht verantwortlich. Das gleiche gilt für das Hydroxyl 3, denn auch ein synthetisch bereitetes 7.3'.4'-Trihydroxy-flavan erweist sich als sehr empfindlich. Die Synthese dieser Catechine geht von den entsprechenden Flavylumsalzen aus, die hydriert werden. Später wurde die Versuchsreihe erweitert²⁾. Es ergab sich, daß auch das Hydroxyl 3' wegfallen kann. Denn das 7.4'-Dihydroxy-flavan (II) erweist sich durch seine Säureempfindlichkeit als echtes Catechin. Läßt man jedoch eines dieser beiden Hydroxyle fort, so verliert sich in den entstandenen Monohydroxy-flavanen die Empfindlichkeit gegen Säuren stufenweise: 4'-Hydroxy-flavan²⁾ und, wie jetzt gefunden wurde, 7-Methoxy-4'-hydroxy-flavan sind gegen Säuren nur noch bei längerem Erwärmen empfindlich, während 7-Hydroxy-flavan und 7-Hydroxy-4'-methoxy-flavan sowie 7.4'-Dimethoxy-flavan unempfindlich sind.

1) K. FREUDENBERG und P. MAIFLAND, Liebigs Ann. Chem. **510**, 193 [1934].

2) K. FREUDENBERG und K. WEINGES, Liebigs Ann. Chem. **590**, 140 [1954].

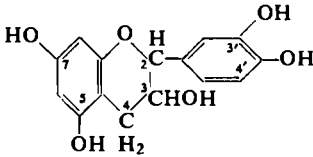
Schon früher¹⁾ wurde ausgesprochen, daß bei der Kondensation der Catechine zusätzliches Hydroxyl auftritt. Wegen der großen Zahl der Hydroxyle ist die Bestimmung des hinzugekommenen erschwert. Wir haben infolgedessen die Kondensation des 7,4'-Dihydroxy-flavans untersucht. Die Bildung von zusätzlichem Hydroxyl wurde auch hier beobachtet. Die Elementarzusammensetzung blieb unverändert. Wenn wir annehmen, was zweifellos berechtigt ist, daß die Kondensation einem Endprodukt zustrebt, das aus Einheiten mit je 3 Hydroxylen aufgebaut ist, so kann aus dem Hydroxylgehalt der Kondensations- oder Polymerisationsgrad beurteilt werden. Er erweist sich als auffallend nieder (2–3 Einheiten). Offenbar verwandeln sich die während der Reaktion unlöslich abgeschiedenen Di- und Trimeren nur äußerst langsam in höher kondensierte Formen. Es ist auch möglich, daß die Zahl in Wirklichkeit größer ist, denn die Hydroxylgruppen wurden durch Acetylierung und Bestimmung des Acetylgehalts ermittelt. Die Produkte sind jedoch so schwer löslich, daß eine quantitative Acetylierung nicht gewährleistet ist.

Um weiteres Beobachtungsmaterial zu gewinnen, wurde die Kondensation des Catechins selbst in ihrem Anfangsstadium untersucht³⁾. Es gelingt, durch Gegenstromverteilung in bescheidener Ausbeute ein Produkt zu gewinnen, dessen Molekulargewicht doppelt so groß wie das des Catechins ist und das ein kristallisiertes Acetat liefert. Es ist optisch aktiv.

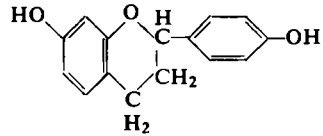
Damit sind wesentliche Gesichtspunkte für die Beurteilung der Kondensation oder Polymerisation der Catechine gewonnen. Es steht fest, daß sich die Sauerstoffbrücke öffnet, wobei sich ein Phenolhydroxyl bildet. Wenn das untersuchte Hydroxyflavan keine Hydroxylgruppen im Heterocyclus besitzt, könnte sich der Ring unter Bildung eines Diphenylpropenderivates öffnen (z. B. III aus II). Das entstandene hydroxylierte Diphenylpropen könnte einer Säurepolymerisation unterliegen wie die *p*-hydroxylierten oder methoxylierten Zimtalkohole. Gegen diese Auffassung sprechen jedoch gewichtige Argumente. Es wäre nicht zu verstehen, daß sich — wie oben festgestellt ist — auch solche Hydroxyflavane in der gleichen Weise polymerisieren, die ein Hydroxyl in 3-Stellung besitzen. Bei der erörterten Ringöffnung müßte sich, wenn das Hydroxyl 3 anwesend ist, ein Enol bilden, und es wäre nicht zu verstehen, daß sich ein solches ebenso wie ein Äthylen verhielte. Ein anderes Argument gegen die oben entwickelte Auffassung ist die optische Aktivität des dimeren Catechins. Sie könnte nicht erhalten bleiben, wenn die Dimerisation über eine ungesättigte Verbindung verlief. Deshalb greifen wir — nunmehr mit weit besseren Argumenten — auf eine Auffassung zurück, die bereits früher¹⁾ entwickelt wurde. Die erste zum dimeren Catechin führende Stufe dieser Reaktion ist durch die Formel IV wiedergegeben. Catechin reagiert bifunktionell. Kohlenstoff 2 des einen Moleküls kondensiert sich mit Kohlenstoff 6, vielleicht auch mit 8 oder 5' des anderen. Die Reaktion verläuft mit derselben Leichtigkeit, ob das Hydroxyl 3 anwesend ist oder nicht. Die Asymmetrie bleibt erhalten an beiden C-Atomen 3, sowie an der Gruppe 2 der oben angeschriebenen Molekülhälfte und möglicherweise auch an der Gruppe 2 der unten stehenden. Die Reaktion ist von derselben Art wie im Resorcin-monobenzyläther

3) K. FREUDENBERG und J. M. ALONSO, unveröffentlicht; vgl. K. FREUDENBERG, *Sci. Proc. Roy. Dublin Soc.* 27, 153 [1956]; K. FREUDENBERG, *Arthur-Stoll-Festschrift*, Basel 1957, S. 199

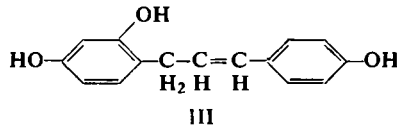
die Wanderung der Benzylgruppe in den Kern³⁾. 7-Methoxy-4'-hydroxy-flavan und 4'-Hydroxy-flavan, die einer langsamen Polymerisation fähig sind, lassen erkennen, daß Kohlenstoffatom 2 durch ein *p*-ständiges Hydroxyl aktiviert sein muß; zugleich lassen diese beiden Flavane auch vermuten, daß sich das C-Atom 2 des einen Mole-



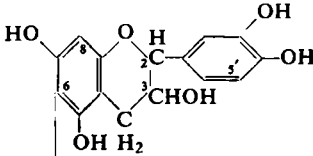
I. Catechin = 3.5.7.3'.4'-Pentahydroxy-flavan



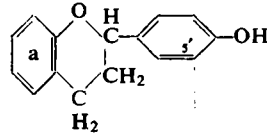
II. 7,4'-Dihydroxy-flavan



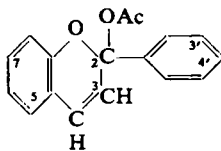
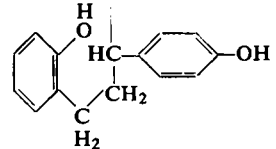
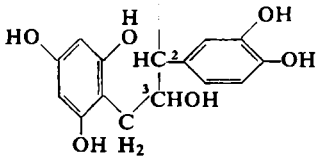
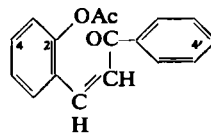
III



IV. Dimeres Catechin



V. Dimeres 4'-Hydroxy-flavan

VI. 2-Acetoxy-flavan-(3)
Acetat der Flavylium-pseudobase

VII. 2-Acetoxy-chalkon

küls auch mit der Stellung 5' des anderen kondensieren kann, wenn im Kern a keine elektronen-aktive Gruppe für die Kondensation zur Verfügung steht. Das Dimerisationsprodukt des 4'-Hydroxy-flavans kann somit die Formel V haben.

Das Catechin ist kein Gerbstoff im technischen Sinn. Das gibt sich daran zu erkennen, daß Gelatine- und Catechinlösung in großer Verdünnung keinen Niederschlag bilden. Die Säurepolymerisate des Catechins sind dagegen echte, leimfällende Gerbstoffe, sofern sie nicht durch zu hohe Kondensation unlöslich geworden sind. Auch das dimere Catechin gibt Gerbstoffreaktion. Hier ist gegenüber dem Catechin die Zahl der Phenolhydroxyle vermehrt, und diese Hydroxyle gehören zu einem größeren Molekül. Gelänge es, das dimere Catechin zur Kristallisation zu bringen, so wäre es

ohne Zweifel in Wasser schwerer löslich als das Catechin. Diese potentielle Schwerlöslichkeit macht die Substanz zum Gerbstoff. Gerbstoffe sind Polyphenole, die häufig nicht aus wäßriger Lösung kristallisieren, übersättigte Lösungen bilden und scheinbar in Wasser leicht löslich sind. In Wirklichkeit wären sie, wenn sie kristallisierten, schwer löslich⁴⁾.

Der Pflanzenphysiologe begegnet Catechinen und Catechingerbstoffen in großer Anhäufung in Hölzern, insbesondere tropischen. Wie andere Phenole können Catechine durch Phenoldehydrasen in höher molekulare Stoffe verwandelt werden, die man Gerbstoffrote nennt. Sie bilden sich auf demselben Wege wie das Lignin aus den Hydroxymethylalkoholen. Diese Art der Umwandlung der Catechine wird hier nicht behandelt.

Früher wurde gezeigt⁵⁾, daß Flavyliumsalze mit Pyridin und Acetanhydrid kristallinisches Acetat geben. Häufig entstehen mehrere Produkte nebeneinander. Dies rührt zum Teil daher, daß die nach den gewöhnlichen Verfahren bereiteten Flavyliumsalze häufig nicht einheitlich sind; zum andern, daß bei der Acetylierung Gemische entstehen der acetylierten Pseudobase (2-Acetoxy-flaven-(3)) (VI) und 2-Acetoxy-*cis*- oder *trans*-chalkon (VII).

Im folgenden werden einige weitere Acetate aus Flavyliumsalzen beschrieben. Über diesen Fragenkomplex soll später zusammenfassend berichtet werden.

Für die Unterstützung dieser Arbeit danken wir der RESEARCH CORPORATION NEW YORK. Auch der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT sind wir zu Dank verpflichtet.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

7-Hydroxy-4'-methoxy-flavylumchlorid: Die Lösung von 4 g *Resorcylaldehyd*²⁾ und 4.2 g *p-Methoxy-acetophenon*⁶⁾ in 80 ccm Essigester wird bei 0° mit *Chlorwasserstoff* gesättigt. Nach 16 Stdn. wird mit 300 ccm Äther versetzt und der Niederschlag aus Eisessig umkristallisiert. Das dunkelrote Rohprodukt wog 6.8 g. Aus Methanol-HCl (5%) oder 5-proz. wäßriger Salzsäure umkristallisiert, bildet es schöne rote Plättchen. Die verdünnte Lösung in Säuren ist gelb; auf Zusatz von Alkali wird sie rot. Die Kristallisation aus Ameisensäure-HCl ergibt ein reineres Produkt, aber in geringerer Ausbeute.

$C_{16}H_{13}O_3Cl \cdot H_2O$ (306.7) Ber. Cl 11.56 OCH₃ 10.12 Gef. Cl 11.51 OCH₃ 9.78

7-Acetoxy-4'-methoxy-flavan: Die Suspension von 100 mg Platinoxid in 30 ccm Methanol wird hydriert und mit 600 mg *Flavylumsalz* versetzt. Das erste Mol. *Wasserstoff* wird innerhalb von 5 Min., das zweite nach weiteren 50 Min. aufgenommen. Das Filtrat wird mit 3 ccm Pyridin versetzt und i. Vak. auf 2 ccm eingeengt. Nach Zugabe von 2.5 ccm Acetanhydrid wird das Lösungsmittel vollends verdampft und der Rückstand in 4 ccm einer Mischung von 5 Vol. *Acetanhydrid* und 4 Vol. Pyridin aufgenommen. Die Lösung bleibt 3 Stdn. bei 50° stehen und wird auf Eis gegossen. Die harzige Substanz wird, in 20 ccm heißem Äthanol gelöst, mit Tierkohle behandelt. Das Filtrat wird i. Vak. verdampft, der Rückstand in Äthanol gelöst und die Lösung erneut mit Tierkohle erwärmt. Nach monatelangem Aufbewahren

⁴⁾ Vgl. K. FREUDENBERG, Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe, Springer Verlag, Berlin 1920, S. 1, 13, 23.

⁵⁾ K. FREUDENBERG, KARIMULLAH und G. STEINBRUNN, Liebigs Ann. Chem. **518**, 37 [1935]; vgl. auch l. c.²⁾ sowie R. L. SHRINER, The Roger Adams Symposium, J. Wiley & Sons, New York 1954, S. 103.

⁶⁾ Org. Syntheses, Coll. Vol I, 105 [1932].

schied sich aus dem Filtrat eine hellbraune Kristallmasse ab, die noch zweimal aus 90-proz. Äthanol umkristallisiert wurde. Schmp. 88°, Ausb. 25–28%. Farblose Kristalle.

$C_{18}H_{18}O_4$ (298.3) Ber. C 72.48 H 6.08 Gef. C 72.44 H 6.41

7-Hydroxy-4'-methoxy-flavan: Die Lösung von 1 g *Acetat* und 5 g trockenem Kaliumacetat in 100 ccm absol. Äthanol wird unter Stickstoff 7 Std. unter Rückfluß gekocht. Der Rückstand der i. Vak. eingedampften Lösung wird in 200 ccm Wasser aufgenommen und wiederholt mit je 50 ccm Äther ausgeschüttelt. Der Ätherrückstand wird dreimal aus wäßrigem Methanol mit Tierkohle umkristallisiert. Ausb. an farblosen Kristallen 0.37 g (44% d. Th.), Schmp. 106–107°.

$C_{16}H_{16}O_3$ (256.3) Ber. C 75.01 H 6.30 OCH_3 12.11 Gef. C 75.34 H 6.74 OCH_3 11.28

Durch Methylierung mit Dimethylsulfat entsteht das unten beschriebene 7.4'-Dimethoxyflavan (Mischprobe).

Acetat aus 7-Hydroxy-4'-methoxy-flavyliumchlorid: 1 g des Salzes wird in der Mischung von 10 ccm *Acetanhydrid* und 8 ccm Pyridin gelöst und eine Woche lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach Zusatz von Eiswasser wird eine hellgrüne Masse erhalten, die aus Methanol (Tierkohle) und mehrmals aus Cyclohexan-Chloroform umkristallisiert wird. Rahmfarbene Kristalle. Schmp. 105°. Die Analyse weist auf 2.7-Diacetoxy-4'-methoxy-flaven-(3) oder 2.4-Diacetoxy-4'-methoxy-chalkon hin.

$C_{20}H_{18}O_6$ (354.3) Ber. OCH_3 8.76 $COCH_3$ 24.29 Gef. OCH_3 8.44 $COCH_3$ 23.99

7.4'-Dimethoxy-flavyliumchlorid: 2 g *p-Methoxy-acetophenon* und 2 g *2-Hydroxy-4-methoxy-benzaldehyd*⁷⁾ werden in 40 ccm Essigester gelöst; die weitere Behandlung entspricht der oben angegebenen Vorschrift. Das in sehr guter Ausbeute anfallende Rohprodukt wird mehrmals aus Methanol-HCl (5%) umkristallisiert. Rote Kristalle, Zers.-P. 120°, Ausb. 77%. Die Analyse ergab keine befriedigenden Werte, wie dies bei Flavyliumsalzen oft vorkommt.

7.4'-Dimethoxy-flavan: 180 mg Platinoxyd werden in 45 ccm Methanol hydriert. Nach Zugabe von 1 g des *Flavyliumsalzes* wird das erste Mol. *Wasserstoff* während 15 Min., das zweite während 2 Std. aufgenommen. Die filtrierte Lösung hinterläßt nach dem Einengen i. Vak. ein bald erstarrendes Öl. Ausb. 57%. Nach mehrmaliger Umkristallisation aus Methanol-Wasser (3:1) (Tierkohle) wird ein farbloses Produkt vom Schmp. 85° erhalten.

$C_{17}H_{18}O_3$ (270.3) Ber. C 75.55 H 6.71 OCH_3 22.96 Gef. C 75.83 H 6.98 OCH_3 22.57

Acetat aus 7.4'-Dimethoxy-flavyliumchlorid: 500 mg des Salzes werden in einer Mischung von 5 ccm *Acetanhydrid* und 4 ccm Pyridin gelöst und drei Tage im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Zu Beginn ist die Lösung tiefrot, zu Ende ist sie grün gefärbt. Das Acetat wird mit Eiswasser ausgefällt, rasch in Methanol gelöst und sofort abgekühlt. Danach wird mehrmals aus Chloroform-Cyclohexan unter Anwendung von Tierkohle umkristallisiert. Ausb. 250 mg. Rahmfarbene Kristalle. Schmp. 133–134°. Auch hier ist nicht entschieden ob 2-Acetoxy-7.4'-dimethoxy-flaven-(3) vorliegt oder 2-Acetoxy-4.4'-dimethoxy-chalkon.

$C_{19}H_{18}O_5$ (326.3) Ber. C 69.94 H 5.56 Gef. C 70.11 H 5.82

7-Methoxy-4'-hydroxy-flavyliumchlorid wird nach der angegebenen Weise aus 3 g *2-Hydroxy-4-methoxy-benzaldehyd*⁵⁾ und 2.7 g *p-Hydroxy-acetophenon*²⁾ in 40 ccm Essigester hergestellt. Rote Kristalle aus Methanol-HCl (3.5%). Die Lösung des Salzes in saurer Lösung ist gelb, in schwach alkalischer rot.

$C_{16}H_{13}O_3Cl \cdot H_2O$ (306.7) Ber. Cl 11.56 Gef. Cl 11.55

Aus dem Flavyliumsalz wurde ein nicht einheitliches Acetat vom Schmp. 93–99° erhalten (Kristalle aus Aceton-Wasser und Chloroform-Cyclohexan).

⁷⁾ E. OTT und E. NAUEN, Ber. dtsch. chem. Ges. 55, 924 [1922].

7-Methoxy-4'-acetoxylflavan: Die Hydrierung des Salzes wird nach Aufnahme von 2 Moll. Wasserstoff unterbrochen. Das Acetat kristallisiert aus Äthanollösung bei 0° innerhalb von 2 Wochen und wird zweimal aus Methanol-Wasser umkristallisiert. Schmp. 78°.

$C_{18}H_{18}O_4$ (298.3) Ber. C 72.48 H 6.08 OCH_3 10.40 $COCH_3$ 14.43
Gef. C 72.74 H 6.55 OCH_3 10.39 $COCH_3$ 14.70

7-Methoxy-4'-hydroxylflavan: Aus 300 mg des Acetats werden 200 mg Flavan erhalten. Farblose Nadeln aus wäßr. Äthanol (Tierkohle), Schmp. 144°.

$C_{16}H_{16}O_3$ (256.3) Ber. OCH_3 12.11 Gef. OCH_3 12.32

Die Methylierung ergibt das 7,4'-Dimethoxy-flavan vom Schmp. 82–84° (Mischprobe).

2,4,4'-Trimethoxy-chalkon: 2 g *p*-Methoxy-acetophenon und 1.8 g 2,4-Dimethoxy-benzaldehyd⁸⁾ werden mit der Lösung von 1 g Natriumhydroxyd in 8 ccm Wasser übergossen, danach wird soviel Äthanol zugegeben, wie zur Bildung einer klaren Lösung bei 50° nötig ist. Die Flüssigkeit wird 2 Stdn. auf 50–60° gehalten und dann im Dunkeln zwei Tage aufbewahrt. Nach Zusatz von HCl werden hellgelbe Kristalle erhalten, die mehrmals aus wäßrigem Methanol umkristallisiert werden. Schmp. 97°, Ausb. 2.1 g (54% d. Th.).

$C_{18}H_{18}O_4$ (298.3) Ber. C 72.48 H 6.08 OCH_3 31.21 Gef. C 72.55 H 6.37 OCH_3 30.44

Das Ultraviolettspektrum läßt auf ein Gemisch von *cis*- und *trans*-Form schließen⁹⁾.

UltraviolettabSORption der Flavane

7-Hydroxy-4'-methoxy-flavan	λ_{max}	225	283	288	λ_{min}	249 m μ
	$\log \epsilon = \log D - \log C$	4.20	3.65	3.57		2.60
7,4'-Dimethoxy-flavan	λ_{max}	229	283	288	λ_{min}	250 m μ
	$\log \epsilon$	4.16	3.73	3.59		2.69
7-Methoxy-4'-hydroxy-flavan	λ_{max}	226	282	288	λ_{min}	250 m μ
	$\log \epsilon$	4.25	3.68	3.53		2.76

Kondensation des 7,4'-Dihydroxy-flavans: 100 mg des Flavans werden in 100 ccm *n* HCl gekocht. Zuerst löst sich das Flavan, alsbald scheiden sich Kondensationsprodukte in Flocken aus. Nach einer halben Stde. sind ungefähr 20%, nach 4 Stdn. 70% Kondensationsprodukt entstanden. Wird nach 30 Min. heiß filtriert, so erhält man ein amorphes Material, das sich in der warmen Mischung von Acetanhydrid und Pyridin löst. Kondensate, die durch längeres Kochen erzeugt sind, lösen sich nur unvollständig. Zur Acetylierung wird das getrocknete Material mit dem Gemisch von Acetanhydrid und Pyridin (1:1 Vol.) 15 Stdn. bei 70° gehalten. Zur Acetylbestimmung wird nach R. KUHN¹⁾ und A. ROTH mit Chromsäure oxydiert. Im Acetat des 30 Min. lang gekochten Produktes werden 31.0% Acetylgruppe gefunden, nach 4 stdg. Kochen 31.7%. Der berechnete Acetylwert für das Ausgangsmaterial ist 26.3%, für das Zweierstück 31.0%, für das Dreierstück 32.4% und für ein Polymerisat mit $p = \infty$ endlich 35.0%. Unser „Polymerisat“ hat demnach den Polymerisationswert 2.5. Offenbar wird unter den Versuchsbedingungen das Dimere bereits abgeschieden und wegen seiner Unlöslichkeit nur äußerst langsam weiter in Trimeres oder Tetramer ver wandelt. Man muß allerdings, wie schon oben vermerkt, damit rechnen, daß bei diesen amorphen und unlöslichen Produkten die Acetylierung nicht ganz vollständig vonstatten geht und daher der wirkliche Kondensationsgrad höher ist.

⁸⁾ R. ADAMS und E. MONTGOMERY, J. Amer. chem. Soc. 46, 1521 [1924].

⁹⁾ R. E. LUTZ und R. H. JORDAN, J. Amer. chem. Soc. 72, 4090 [1950].