

HANS GRISEBACH und WOLFGANG BARZ ¹⁾

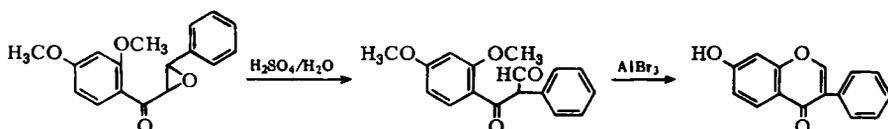
Über den Einfluß von Methoxy-substituenten auf den Umlagerungsmechanismus von Chalkonepoxiden ²⁾

Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität Freiburg i. Br.

(Eingegangen am 27. Januar 1964)

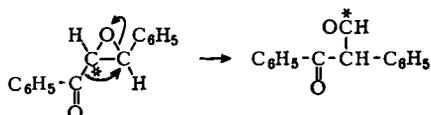
Als Modellreaktion für die Biosynthese der Isoflavone wurden [β -¹⁴C]4'-Methoxy-(1a), -4,4'-Dimethoxy- (1b) und -2',4'-Dimethoxy-chalkonepoxid (1c) mit Schwefelsäure oder Bortrifluorid zu den entsprechenden *ms*-Formyl-desoxybenzoinen (IIa–c) umgelagert. Wie die ¹⁴C-Verteilung in IIa–c beweist, verläuft die Umlagerung, wie beim unsubstituierten Chalkonepoxid, unter anschließlicher Wanderung des *Aryl*-Restes. Da bei der Isoflavonbiosynthese ein *Aryl*-Rest wandert, ist *in vivo* ein Reaktionsverlauf über eine Umlagerung von Chalkonepoxiden unwahrscheinlich.

Die säurekatalysierte Umlagerung geeigneter substituierter Chalkonepoxide führt *in vitro* zu Isoflavonen ^{3, 3a)}:



Auch für die unter Wanderung eines *Aryl*-Restes verlaufende Biosynthese der Isoflavone in Pflanzen wurden von uns Chalkonepoxide als Zwischenstufen postuliert ⁴⁾. Diese Hypothese wurde später gestützt durch den Befund, daß Chalkone *in vivo* und in zellfreien Pflanzenextrakten in Isoflavone umgewandelt werden können ⁵⁾.

Vom mechanistischen Standpunkt befriedigte jedoch die vorgeschlagene Reaktionsfolge nicht, da nach H. O. HOUSE ⁶⁾ die säurekatalysierte Umlagerung des unsubstituierten *trans*-Chalkonepoxids unter intramolekularer Wanderung des Benzoyl- und nicht des Phenylrestes verläuft. Dieser Beweis wurde mit der ¹⁴C-markierten Verbindung geführt, da auf anderem Wege die Reaktionsprodukte nicht unterscheidbar sind:



¹⁾ Aus der Diplomarb. W. BARZ, Univ. Freiburg i. Br. 1962.

²⁾ IX. Mitteil. Zur Biogenese der Isoflavone.

³⁾ J. ALGAR und J. MCKENNA, Proc. Roy. Irish Acad. 49, 225 [1944]; C. A. 38, 5502g [1944].

^{3a)} H. GRISEBACH, in Recent Developments in the Chemistry of Natural Phenolic Compounds (Herausg. W. D. OLLIS), S. 69, Pergamon Press, Oxford 1960.

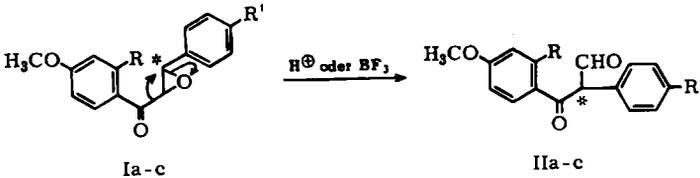
⁴⁾ H. GRISEBACH, Z. Naturforsch. 14b, 802 [1959].

⁵⁾ H. GRISEBACH und G. BRANDNER, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 60, 51 [1962] und dort zitierte Arbeiten.

⁶⁾ J. Amer. chem. Soc. 76, 1235 [1954].

Die Wanderung des Aroylrestes war aber *in vivo* auf Grund der Isotopenverteilung sicher auszuschließen⁷⁾. Die Möglichkeit blieb jedoch offen, daß der Verlauf der Umlagerung durch elektronische und sterische Faktoren beeinflussbar sein könnte⁸⁾. Wir haben daher den Einfluß von Methoxylsubstituenten auf die Umlagerung ¹⁴C-markierter Chalkonepoxide untersucht.

[β -¹⁴C]4'-Methoxy- (Ia), -4,4'-Dimethoxy- (Ib) und -2',4'-Dimethoxy-chalkonepoxid (Ic)^{8a)} wurden mit Schwefelsäure oder Bortrifluorid als Katalysator zu den entsprechenden Formyl-desoxybenzoinen II umgelagert.



a: R = R' = H

b: R = H, R' = OCH₃

c: R = OCH₃, R' = H

Diese Substitutionsmuster wählten wir, da auch in den natürlich vorkommenden Isoflavonen Sauerstoffsubstituenten an den betreffenden Positionen vorhanden sind.

Die β -Ketoaldehyde IIa und b konnten kristallisiert erhalten werden; dagegen erhielten wir IIc nach Reinigung durch Dünnschichtchromatographie nur als gelbes Öl⁹⁾.

Zur Bestimmung der Radioaktivitätsverteilung wurden IIa und b in siedendem Äthanol mit Na-Acetat deformyliert⁶⁾, die Desoxybenzoine als 2,4-Dinitro-phenylhydrazone gefällt und bis zur konstanten spezifischen Aktivität umkristallisiert. Bei IIc dagegen isolierte man nach 7 Stdn. Kochen mit Na-Acetat und selbst nach 15 Stdn. im Bombenrohr bei 120° nur das Ausgangsprodukt.

Als geeignete Abbaureaktion für IIc erwies sich die Oxydation mit Permanganat in alkalischer Lösung, wobei neben Kohlendioxid Benzoesäure und 2,4-Dimethoxybenzoesäure erhalten wurden. Die Säuren ließen sich präparativ auf Kieselgelplatten trennen und wurden weiterhin durch Sublimation im liegenden Rohr gereinigt.

⁷⁾ H. GRISEBACH und N. DOERR, Z. Naturforsch. **15b**, 284 [1960].

⁸⁾ H. O. HOUSE, D. J. REIF und R. L. WASSON, J. Amer. chem. Soc. **79**, 2490 [1957] und dort zitierte Arbeiten von House et al.

^{8a)} Für das unsubstituierte Chalkonepoxid ist die *trans*-Konfiguration von H. O. House⁶⁾ bewiesen worden. Da die Epoxide auf gleiche Weise dargestellt wurden, muß es sich auch hier um die *trans*-Produkte handeln. Im NMR-Spektrum betragen die Kopplungskonstanten der beiden Epoxidprotonen ($H_\alpha \tau = 5.75$; $H_\beta \tau = 6.0$; in Methylenchlorid, bez. auf TMS) in allen 3 Verbindungen nur etwa 1 Hz. Für das *trans*-Äthylenoxid beträgt dagegen $J = 3.1$ Hz und für die *cis*-Verbindung $J = 4.45$ Hz^{8b)}.

^{8b)} F. S. MORTIMER, J. molecular Spectroscopy **5**, 199 [1960].

⁹⁾ Das Umlagerungsprodukt von Ic zeigt auf dem Dünnschichtchromatogramm mit Toluol/Ameisensäure-äthylester/Ameisensäure (5 : 4 : 1) 6 Zonen. Der Anteil von IIc am Gesamtprodukt ist etwa 80–85%. Die anderen, nicht weiter untersuchten Verbindungen könnten u. a. sein: 1,2-Glykole¹⁰⁾ oder α -Diketone¹¹⁾.

¹⁰⁾ M. TIFFENEAU, Helv. chim. Acta **21**, 404 [1938].

¹¹⁾ W. BAKER und R. ROBINSON, J. chem. Soc. [London] **1932**, 1798.

Die erhaltenen Werte für die Radioaktivitätsverteilung sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tab. 1. Aktivitätsverteilung in den Umlagerungsprodukten (Meßfehler etwa $\pm 3-4\%$)

Umgelagertes Epoxid	Katalysator	Epoxid ($\mu\text{C}/\text{mMol}$)	β -Keto- aldehyd ($\mu\text{C}/\text{mMol}$)	Desoxy- benzoin ^{a)} ($\mu\text{C}/\text{mMol}$)	% Aktivität im Desoxy- benzoin ^{b)}
[β - ¹⁴ C]4'-Methoxy-chalkon- epoxid (Ia)	H ₂ SO ₄	0.074	0.072	0.074	103
	H ₂ SO ₄ /HOAc	0.074	0.076	0.079	104
	BF ₃ ·O(C ₂ H ₅) ₂	0.074	0.074	0.074	100
[β - ¹⁴ C]4.4'-Dimethoxy- chalkonepoxid (Ib)	H ₂ SO ₄	0.24	0.25	0.25	100
	BF ₃ ·O(C ₂ H ₅) ₂	0.24	0.25	0.26	100
[β - ¹⁴ C]2'.4'-Dimethoxy- chalkonepoxid (Ic)	H ₂ SO ₄	0.083	(0.083)	0.082 ^{c)}	99 ^{d)}
	BF ₃ ·O(C ₂ H ₅) ₂	0.083	(0.083)	0.087 ^{c)}	105 ^{d)}

a) Als 2.4-Dinitro-phenylhydrazon.

b) Bez. auf β -Ketoaldehyd.

c) Spez. Aktivität der Benzoesäure.

d) % Aktivität in Benzoesäure, bez. auf Epoxid.

Bei ausschließlicher Wanderung des Aroylrestes sollte sich die gesamte Aktivität im Desoxybenzoin, bzw. beim Abbau von IIc in der Benzoesäure befinden. Dies ist innerhalb der Fehlergrenzen der Fall. Die von uns untersuchte Substitution hat also keinen Einfluß auf den Umlagerungsmechanismus.

Während unserer Untersuchungen veröffentlichten H. O. HOUSE und S. D. RYERSON¹²⁾ kinetische Messungen der Umlagerung von substituierten Chalkonepoxiden. Da der Effekt der Substitution in beiden Ringen etwa gleich war, halten diese Autoren einen Reaktionsverlauf über freie Carboniumionen für unwahrscheinlich und nehmen für die Umlagerung einen Simultanprozeß („concerted reaction“) an. Diese Vorstellung ist auch mit unseren Ergebnissen im Einklang.

Auf Grund obiger Ergebnisse und der Arbeiten von HOUSE und Mitarbb. ist auch ein Verlauf der Isoflavonbiosynthese über eine Umlagerung von Chalkonepoxiden unwahrscheinlich, es sei denn, die enzymatisch katalysierte Reaktion würde nach einem völlig anderen Mechanismus erfolgen.

Weitere Möglichkeiten für die Arylwanderung bei der Isoflavonbiosynthese sind an anderer Stelle diskutiert worden¹³⁾.

Die Arbeit wurde in dankenswerter Weise durch die DEUTSCHE FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT unterstützt. Dem FONDS DER CHEMIE und der BADISCHEN ANILIN- & SODA-FABRIK AG danken wir für Sachbeihilfen.

¹²⁾ J. Amer. chem. Soc. 83, 979 [1961].

¹³⁾ H. GRIEBACH und W. D. OLLIS, *Experientia* [Basel] 11, 1 [1961]; H. GRIEBACH, *Planta med.* [Stuttgart] 10, 385 [1962].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE*)

¹⁴C-markierte Ausgangsprodukte

a) [Carbonyl-¹⁴C]benzaldehyd von Radiochemical Centre, Amersham, England.

b) [Carbonyl-¹⁴C]4-methoxy-benzaldehyd aus [Carbonyl-¹⁴C]4-hydroxy-benzaldehyd¹⁴⁾ durch Methylierung mit Dimethylsulfat und Natronlauge unter Stickstoff. Ausb. 90%.

¹⁴C-markierte Chalkone und Chalkonepoxide: Die Verbindungen sind nur in Tab. 2 zusammengestellt, da sie nach Analogievorschriften¹⁵⁾ dargestellt wurden. Der markierte Aldehyd wurde entgegen den üblichen Methoden stets im Unterschluß eingesetzt.

Tab. 2. ¹⁴C-markierte Chalkone und entsprechende Epoxide

Verbindung	Schmp.	Ausb. ^{a)} (%)	$\nu_{C=O}$ (cm ⁻¹)	Literatur
[β - ¹⁴ C]4'-Methoxy-chalkon	105.5–106°	90		16)
Epoxid Ia	79.5–80°	90	1665	3)
[β - ¹⁴ C]4,4'-Dimethoxy-chalkon	101–101.5°	70		17)
Epoxid Ib	119–120°	73	1665	3)
[β - ¹⁴ C]2',4'-Dimethoxy-chalkon	77–78°	90		18)
Epoxid Ic	117–117.5°	85	1650	19)

a) Bez. auf radioaktive Aldehyde.

Die durchgeführten Umlagerungsreaktionen für Ia und b sind in Tab. 3 aufgeführt. Die Reaktionsbedingungen entsprachen den in der jeweils zitierten Literatur gemachten Angaben.

Tab. 3. Umlagerungsprodukte aus Ia und b

Umlagerungsprodukt	Schmp.	Katalysator	Reaktions- zeit (Min.)	Ausb. (%)	Literatur
4-Methoxy- <i>ms</i> -formyl- desoxybenzoin (IIa)	83.5–84.5°	H ₂ SO ₄ /H ₂ O (2:1)	30 ^{a)}	63	3)
		H ₂ SO ₄ /HOAc	60 ^{a)}	36	20)
		BF ₃ -Ätherat in Benzol	30	64	6)
		BF ₃ -Ätherat in Äther	30	41	6)
		BF ₃ -Ätherat in Cyclohexan	30	45	8)
4,4'-Dimethoxy- <i>ms</i> -formyl- desoxybenzoin (IIb)	134–135°	H ₂ SO ₄ /H ₂ O (2:1)	30	55	3)
		BF ₃ -Ätherat in Benzol	30	55	

a) Bei kürzeren oder längeren Reaktionszeiten sank die Ausb.

*) Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

14) H. GRISEBACH und L. PATSCHKE, Chem. Ber. **95**, 2098 [1962].

15) E. P. KOHLER und H. M. CHADWELL, Org. Syntheses, Vol. II, S. 1.

16) F. STOCKHAUSEN und L. GATTERMANN, Ber. dtsh. chem. Ges. **25**, 3536 [1892].

17) F. STRAUSS, Liebigs Ann. Chem. **374**, 139 [1910].

18) H. KAUFMANN und F. KIESER, Ber. dtsh. chem. Ges. **46**, 3796 [1913].

19) l. c.¹¹⁾, S. 1801.

20) E. WEITZ und A. SCHEFFER, Ber. dtsh. chem. Ges. **54**, 2327 [1921].

Dinitrophenylhydrazon von IIb: Orangefarbenes Pulver vom Schmp. 87–90°.

$C_{23}H_{20}N_4O_7$ (464.4) Ber. C 59.48 H 4.35 N 12.07 Gef. C 59.40 H 4.28 N 12.37

2,4-Dimethoxy-ms-formyl-desoxybenzoin (IIc): Sowohl aus dem Ansatz von *Ic* in H_2SO_4/H_2O (2:1) wie auch mit BF_3 -Ätherat in Benzol resultierte ein braunes Öl³⁾, das mit verschiedenen Lösungsmitteln nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, Toluol/Ameisensäure-äthylester/Ameisensäure 5:4:1) wurde die Zone des β -Ketoaldehyds durch Besprühen mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin- oder $FeCl_3$ -Lösung sichtbar gemacht (R_F 0.8). Das chromatographisch gereinigte Produkt ist ein gelbes Öl, das sich in Lauge in kurzer Zeit löst und ammoniakalische Silbernitratlösung reduziert. Für die Eisen(III)-chloridreaktion wird eine Anlaufzeit von 4–5 Min. benötigt.

Abbaureaktionen

[4-Methoxy-phenyl]-benzyl-keton ²¹⁾: Der Abbau von *IIa* erfolgte durch 2.5stdg. Kochen mit *Na-Acetat* in Äthanol⁶⁾. *Keton*-Ausb. 64%. Schmp. 76.5–77°. Das 2,4-Dinitro-phenylhydrazon des Ketons wurde an Aluminiumoxid (neutral, nach BROCKMANN) mit Benzol chromatographiert, aus Äthanol/Essigester bis zur konstanten spez. Aktivität umkristallisiert und war dann papierchromatographisch²²⁾ einheitlich. Schmp. 199–200°.

$C_{21}H_{18}N_4O_5$ (406.4) Ber. C 62.07 H 4.47 N 13.79 Gef. C 61.94 H 4.76 N 13.70

[4-Methoxy-phenyl]-[4-methoxy-benzyl]-keton: Nach der Deformylierung⁶⁾ von *IIb* wurde das Keton als 2,4-Dinitro-phenylhydrazon gefällt und mehrfach aus Äthanol/Essigester bis zur konstanten spez. Aktivität umkristallisiert. Schmp. 177–177.5°.

$C_{22}H_{20}N_4O_6$ (436.4) Ber. C 60.55 H 4.62 N 12.83 Gef. C 60.35 H 4.65 N 12.69

Oxydativer Abbau von IIc mit Permanganat: 120 mg des gereinigten Umlagerungsproduktes löste man in 10 ccm 15-proz. Kalilauge. Nach Abfiltrieren von wenig Ungelöstem wurde nach Zugabe von 850 mg $KMnO_4$ in 10 ccm Wasser 5 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die noch heiße Lösung wurde vom Mangandioxid abfiltriert, der Rückstand mit wenig siedendem Wasser gewaschen und das Filtrat mit wenig Aktivkohle kurz aufgeköcht. Das farblose Filtrat säuerte man mit verd. Schwefelsäure an und sättigte es mit NaCl, wobei Kohlendioxidentwicklung eintrat. Es wurde mit Äther extrahiert, die Säuren wurden mit Natriumhydrogencarbonatlösung ausgeschüttelt und nach Ansäuern wieder in Äther aufgenommen, aus dem man 45 mg leicht gelbliches Pulver erhielt, das präparativ auf Kieselgelplatten mit Toluol/Ameisensäure-äthylester/Ameisensäure (5:4:1) getrennt wurde. R_F -Werte der erhaltenen Säuren: *Benzoessäure* 0.60–0.65, *2,4-Dimethoxy-benzoessäure* 0.39–0.44. Misch-Schmp. mit Vergleichssubstanzen ohne Depression. Zur Prüfung auf konstante spez. Aktivität wurden die Säuren weiterhin im liegenden Rohr bei 80°/0.01 Torr sublimiert.

Messung der Radioaktivitäten: Alle Messungen erfolgten nach Verbrennung der Substanzen zu CO_2 im Proportionalgaszählrohr²³⁾. Die absolute Zählausbeute wurde mit einem Eichpräparat zu 61.7% bestimmt und die Aktivitäten auf $\mu C/mMol$ umgerechnet.

²¹⁾ J. MEISENHEIMER und L. JOCHELSON, Liebigs Ann. Chem. **355**, 291 [1907].

²²⁾ H. HORNER und W. KIRMSE, Liebigs Ann. Chem. **597**, 48 [1955].

²³⁾ H. SIMON, H. DANIEL und J. F. KLEBE, Angew. Chem. **71**, 303 [1959].