

Hildebert Wagner, Walter Böhlinger, Ludwig Hörhammer und Loránd Farkas

Über Isoflavonglykoside, IX¹⁾

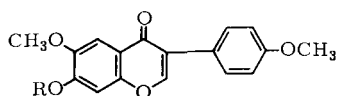
Synthese der Isoflavonglykoside Wistin und Orobol-7- β -D-glucosid (Orobosid?)

Aus dem Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München und der Forschungsgruppe für Alkaloidchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

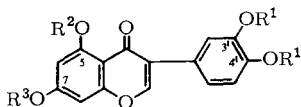
(Eingegangen am 20. November 1967)

Durch Umsetzung von 7-Hydroxy-6,4'-dimethoxy-isoflavon (**1a**, Afromosin) mit α -Acetobromglucose wurde 7-Hydroxy-6,4'-dimethoxy-isoflavon-7-mono- β -D-glucopyranosid (**1b**) dargestellt und seine Identität mit dem aus *Wistaria floribunda* isolierten Wistin festgestellt. — In gleicher Weise wurde aus 5,7,3',4'-Tetrahydroxy-isoflavon (**2a**, Orobol) das 5,7,3',4'-Tetrahydroxy-isoflavon-7-mono- β -D-glucopyranosid (**2b**) synthetisiert und die Identität mit dem in *Baptisia*-Arten vorkommenden Orobolglucosid nachgewiesen.

Nachdem das 7-Hydroxy-6,4'-dimethoxy-isoflavon (**1a**) schon mehrmals und zwar aus dem Kernholz von *Afromosia elata* Harms²⁾, aus *Myrocarpus fastigiatus* Fr. Allem (Cabreuva Holz)³⁾ und aus *Castanospermum australe*⁴⁾ isoliert worden war, konnte ein Glucosid des Afromosins (**1b**) bisher nur in *Wistaria floribunda*⁵⁾ aufgefunden werden. Das als Wistin benannte Glucosid lieferte bei der Hydrolyse in molaren Mengen Afromosin und D-Glucose. Da im Wistin ein leicht hydrolysierbares O-Glykosid vorliegt, kommt als Zuckerhaftstelle nur das C-7-Hydroxyl in Frage.



	R
1a	H
b	Glucosyl
c	Tetra- <i>O</i> -acetylglucosyl-



	R ¹	R ²	R ³
2a	H	H	H
b	H	H	Glucosyl
c	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅
d	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
e	CH ₃ CO	CH ₃ CO	Tetra- <i>O</i> -acetylglucosyl-

¹⁾ VIII. Mitteil.: H. Wagner, L. Hörhammer, W. Böhlinger und L. Farkas, Chem. Ber. 100, 101 (1967).

²⁾ T. B. H. McMurry und C. Y. Theng, J. chem. Soc. [London] 1960, 1491.

³⁾ J. B. Harborne, O. R. Gottlieb und M. T. Magalhaes, J. org. Chemistry 28, 881 (1963).

⁴⁾ R. A. Eade, H. Hinterberger und J. J. H. Simes, Austral. J. Chem. 16, 188 (1963).

⁵⁾ S. Shibata, T. Murata und M. Fujita, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] 11, 382 (1963).

Die Struktur des Afromosins haben *McMurry* und *Theng*²⁾ 1960 durch Synthese bewiesen. Um auch die Struktur des Wistins zu sichern, verknüpften wir Afromosin (**1a**) mit α -Acetobromglucose in Pyridin in Gegenwart von Silbercarbonat zum Wistin-tetraacetat (**1c**) und gewannen hieraus durch Verseifen mit Natriummethylat in der Kälte Wistin (**1b**). Dieses stimmte ebenso wie das Kupplungsprodukt (**1c**) im Schmelzpunkt und der optischen Drehung mit den Literaturangaben⁵⁾ überein.

Über das Vorkommen von Orobolglykosiden im Pflanzenreich wurde bisher an drei Stellen berichtet. Im Jahre 1930 isolierten *Bridel* und *Charaux*⁶⁾ aus *Orobos tuberosus* ein Glykosid vom Schmp. 220–221°, das sie Orobosid nannten. Die Emulsionspaltung lieferte ein Aglykon (Orobol), für das *Charaux* und *Rabate*⁷⁾ 1939 die Struktur eines 5.7.3'.4'-Tetrahydroxy-isoflavons (**2a**) aufstellen konnten. Über die Zuckerart und Zuckerhaftstelle im Orobosid wurden keine Angaben gemacht.

Ein zweites Orobolglykosid, das mit Orobosid identisch sein sollte, wurde von *Meunier*⁸⁾ aus *Lathyrus macrorrhizus* isoliert. Schließlich berichteten *Mabry* und Mitarbb.⁹⁾ kürzlich über das Vorkommen eines Isoflavonglykosids in *Baptisia*-Arten, das sie auf Grund des NMR-Spektrums als ein Orobol-7-mono- β -D-glucopyranosid (**2b**) identifizierten. Der Schmelzpunkt des Glucosids lag bei 268° und wich deutlich von dem des Orobosids ab. Zum Strukturbeweis synthetisierten wir das Orobol-7- β -D-glucopyranosid in folgender Weise: 5.7.3'.4'-Tetrahydroxy-isoflavon (**2a**), das schon mehrmals auf verschiedenem Wege^{10–12)} dargestellt worden war, setzten wir in Kalilauge und Aceton mit einem Moläquiv. α -Acetobromglucose um. Das Kupplungsprodukt wurde mit Natriummethylat ebenfalls unter Sauerstoffausschluß verseift und das gebildete Glykosidgemisch an einer Perlonsäule aufgetrennt. Das aus den ersten Säulenfraktionen erhaltene Hauptglucosid schmolz bei 268–270° und zeigte in Pyridin eine opt. Drehung von $[\alpha]_D^{20}$: –79.8°. Die mittleren Säuleneluate lieferten in geringer Menge ein 2. Glucosid vom Schmp. 185°, dessen Strukturauflklärung im Gange ist.

Um die Zuckerhaftstelle in dem synthetisierten Glykosid vom Schmp. 268–270° zu klären, methylierten wir das Glykosid und erhielten durch nachfolgende Hydrolyse und Äthylierung einen Orobol-monoäthyl-trimethyläther, der mit synthetisch dargestelltem 5.3'.4'-Trimethoxy-7-äthoxy-isoflavon (**2c**) im Misch-Schmelzpunkt keine Depression ergab. Damit handelt es sich bei dem Glykosid vom Schmp. 268–270° um das Orobol-7-mono- β -D-glucopyranosid (**2b**). Für das 2. Glykosid ist auf Grund von Farbreaktionen und UV-Messungen das Vorliegen des isomeren 4'-Glucosids wahrscheinlich.

Da unser durch Synthese gewonnenes Hauptglykosid mit dem uns zur Verfügung stehenden natürlichen Orobolglucosid aus *Baptisia* im Misch-Schmelzpunkt keine Depression gab, ist damit für dieses Isoflavonglykosid die Struktur gesichert. Ob dem

6) *M. Bridel* und *C. Charaux*, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **190**, 387 (1930).

7) *C. Charaux* und *J. Rabate*, Bull. Soc. Chim. biol. **21**, 1330 (1939).

8) *A. Meunier*, Bull. Sci. pharmacol. **43**, 270 (1936).

9) *T. J. Mabry*, *J. Kagan* und *H. Rösler*, Phytochemistry **4**, 487 (1965).

10) *A. Robertson*, *C. W. Suckling* und *W. B. Whalley*, J. chem. Soc. [London] **1949**, 1571.

11) *N. Narasimhachari* und *T. R. Seshadri*, Proc. Indian Acad. Sci., Sect. A **32**, 342 (1950).

12) *R. Niyer*, *K. H. Shash* und *K. Venkataraman*, Proc. Indian Acad. Sci., Sect. A. **33**, 256 (1951).

von Charaux und Rabate⁷⁾ und Meunier⁸⁾ isolierten Orobosid, das gleiche optische Drehung aber abweichenden Schmelzpunkt besitzt, die gleiche Struktur zukommt, kann erst nach einer Neuisolierung mit Sicherheit entschieden werden.

Dem *Fonds der Chemie* und der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* sind wir für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche

Die mikroanalytischen Bestimmungen wurden von Herrn O. Seligmann, Institut für pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, durchgeführt. Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Die NMR-Spektren wurden mit einem Varian-A-60-Spektrometer mit Tetramethylsilan als innerem Standard gemessen.

7-Hydroxy-6,4'-dimethoxy-isoflavon-7-[mono-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid] (**1c**): 0.15 g Afromosin (**1a**) und 0.3 g α -Acetobromglucose in 25 ccm Pyridin wurden nach Zusatz von 0.5 g Silbercarbonat 5 Stdn. bei 0° gerührt. Das Filtrat gossen wir in 200 ccm 10proz. Essigsäure, lösten den abgetrennten Niederschlag in Methanol, zentrifugierten die Silbersalze ab und brachten das Wistinacetat (**1c**) aus Methanol/Wasser zur Kristallisation. Schmp. 164° (Lit.⁵⁾: 165–166°, Ausb. 0.27 g (85%).

C₃₁H₃₂O₁₄ (628.6) Ber. C 59.23 H 5.13 4COCH₃ 34.48 Gef. C 58.97 H 5.09 COCH₃ 33.81

7-Hydroxy-6,4'-dimethoxy-isoflavon-7-mono- β -D-glucopyranosid, Wistin (**1b**): 87 mg Wistinacetat (**1c**) wurden bei 0° in 5 ccm 0.1 n Natriummethylat gelöst und nach 12 stdg. Aufbewahren bei 0° mit 0.1 n HCl neutralisiert. Das Methanol wurde i. Vak. abgezogen und das Glucosid aus der wäbr. Lösung mit Natriumchlorid ausgesalzen. Aus Methanol/Wasser erhielten wir 56 mg (84%) farblose Nadeln vom Schmp. 206°, die im Misch-Schmp. mit authent. Substanz keine Depression zeigten (Lit.⁵): 209–210°). I. Hochvak. bei 150° verlor die Substanz 1 Mol Kristallwasser (Ber. 3.62, gef. 3.41).

UV (in Methanol p. a.): λ_{\max} (log ϵ): 261 (4.30) 322 m μ (3.75), $[\alpha]_D^{20}$: -69.6° (c = 1.20 in Eisessig) (Lit.⁵): $[\alpha]_D^{20}$: -67.1° in Eisessig).

C₂₃H₂₄O₁₀ · H₂O (478.4) Ber. C 57.74 H 5.48 Gef. C 57.62 H 5.66

5,7,3',4'-Tetrahydroxy-isoflavon-7-mono- β -D-glucopyranosid, Orobosid (**2b**): Eine unter Stickstoff bereitete Lösung von 2.25 g **2a** in 10 ccm 9proz. Kalilauge und 2 ccm Aceton versetzten wir bei 0° unter Einleiten eines Stickstoffstroms und ständigem Rühren mit einer Lösung von 3.2 g (1 Moläquiv.) α -Acetobromglucose in 25 ccm Aceton. Die Lösung wurde bei 0° 12 Stdn. gerührt, anschließend in 500 ccm Eiswasser gegossen und mit Essigsäure angesäuert. Der ausgefallene Niederschlag (2.6 g) wurde in Methanol unter Stickstoff 12 Stdn. bei 0° in einer 0.05 n Natriummethylat-Lösung stehengelassen. Anschließend wurde mit 0.1 n HCl neutralisiert und die Lösung eingeengt. Dabei fiel ein Niederschlag aus, neben wenig nicht umgesetztem **2a** aus einem Glykosidgemisch bestehend, das an mehreren Perlsäulen mit jeweils 0.2 g (Polyamid Macherey u. Nagel, 5 × 25 cm) und Methanol als Elutionsmittel getrennt wurde. Die ersten Fraktionen lieferten aus wäbr. Methanol farblose Kristalle vom Schmp. 268–270°. Ausb. 0.10 g (28%). Aus den folgenden Fraktionen wurden 80 mg einer 2. Substanz gewonnen. Schmp. 185° aus Methanol/Äthylacetat (1:1). R_F -Werte auf Polyamid-DC in Methanol/50proz. Essigsäure (9:1), Hauptglykosid: 0.57, Nebenglykosid 0.47, Orobol 0.25. Das Hauptglykosid verliert beim Trocknen i. Hochvak. bei 150° 1 Mol Kristallwasser (ber. 3.72%, gef. 3.28%).

UV (in Methanol p. a.): λ_{\max} (log ϵ) 262 (4.43), 322 m μ (3.80), $[\alpha]_D^{20}$: -79.8° (c = 1.2 in Pyridin) (Lit.⁶): $[\alpha]_D^{20}$: -61.29 und -76.62° in Pyridin für getr. Glucoside).

C₂₁H₂₀O₁₁ · H₂O (466.4) Ber. C 54.0 H 4.70 Gef. C 53.8 H 4.84

7-Hydroxy-5.3'.4'-triacetoxy-isoflavon-7-[mono-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid], *Orobosid-heptaacetat* (**2e**): 0.20 g **2b** wurden in Pyridin|Acetanhydrid (1:1) 15 Min. unter Rückfluß erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielten wir nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äthanol farblose, kräftige Kristalle vom Schmp. 196—197°, die mit Eisen(III)-chlorid keine Färbung zeigten. Ausb. 0.27 g (85%).

$C_{35}H_{34}O_{18}$ (742.6) Ber. C 56.60 H 4.61 7COCH₃ 40.57 Gef. C 56.61 H 4.91 COCH₃ 40.47

5.3'.4'-Trimethoxy-7-äthoxy-isoflavon (**2c**): 0.2 g **2b** wurden in 30 ccm Aceton mit 0.4 ccm Dimethylsulfat und 1 g Kaliumcarbonat 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Wir engten das Filtrat unter Zusatz von Ammoniak zur Trockne ein und erhitzen den Rückstand mit 10 ccm Methanol und 10 ccm 5proz. Salzsäure 1 Stde. unter Rückfluß. Den getrockneten Niederschlag aus der Hydrolyse äthylierten wir in Aceton mit 0.2 ccm Diäthylsulfat und 1 g Kaliumcarbonat durch 3stdg. Erhitzen unter Rückfluß. Die übliche Aufarbeitung ergab aus Methanol farblose Nadeln vom Schmp. 152—154°. Ausb. 0.1 g (62%).

NMR (CDCl₃, TMS): q bei $\delta = 4.10$ (2 Prot. = Äthoxyl-CH₂), t bei $\delta = 1.45$ (3 Prot. = Äthoxyl-CH₃), s bei $\delta = 3.9$ (9 Methoxyl-Prot.).

$C_{20}H_{20}O_6$ (374.4) Ber. C 67.40 H 5.66 Gef. C 66.80 H 5.71

Synthet. 3'.4'-Dimethoxy-5.7-diäthoxy-isoflavon (**2d**): 7.2 g des nach *Narasimhachari* und *Seshadri*¹¹⁾ synthetisierten [2-Hydroxy-4.6-diäthoxy-phenyl]-[3.4-dimethoxy-benzyl]-ketons wurden in 300 ccm frisch dest. Ameisensäure-äthylester langsam in 6.3 g gepulvertes Natrium eingebracht. Unter Rühren und Eiskühlung wurde die Lösung in etwa 3 Stdn. so zugegeben, daß die Reaktion unter schwacher Gasentwicklung und Braunfärbung des Gemisches abließ. Nach 12stdg. Aufbewahren bei 0° wurde mit wenig Methanol noch vorhandenes Natrium zerstört und dann bis zur klaren Lösung Eiswasser zugegeben. Wir säuerten mit Salzsäure an und erhitzen die Lösung ohne Rückfluß auf 70°. Der beim Erkalten gebildete Niederschlag wurde aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 127°. Ausb. 6.0 g (81%).

NMR: q bei $\delta = 4.12$ (4 Prot. = Äthoxyl-CH₂), m bei $\delta = 1.5$ (6 Prot. = Äthoxyl-CH₃), s bei $\delta = 3.9$ (6 Prot. = Methoxyl-CH₃). Die Eisen(III)-chlorid-Reaktion war negativ.

$C_{21}H_{22}O_6$ (370.4) Ber. C 68.09 H 5.99 Gef. C 67.95 H 6.07

Synthet. 5.3'.4'-Trimethoxy-7-äthoxy-isoflavon (**2c**): 0.2 g **2d** wurden in 10 ccm eines Gemisches aus 57proz. Jodwasserstoffsäure|Acetanhydrid (1:1) 30 Min. unter Rückfluß erhitzt. Das beim Eingießen in 10proz. Natriumsulfatlösung ausgefallene 5.3'.4'-Trihydroxy-7-äthoxy-isoflavon kristallisierte aus Äthylacetat in gelben Prismen. Diese wurden zur Methylierung in 30 ccm Aceton mit 1 g Kaliumcarbonat und 0.3 ccm Dimethylsulfat 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Die übliche Aufarbeitung ergab aus Methanol farblose Nadeln vom Schmp. 152 bis 153°, die im Misch-Schmp. mit dem auf anderem Wege dargestellten natürlichen **2c** keine Depression zeigten. Im NMR-Spektrum stimmte es mit dem aus dem synthet. Orobosid hergestellten Derivat völlig überein. Ausb. 0.13 g (64%).

[506/67]