

Loránd Farkas, Mihály Nógrádi, Hildebert Wagner und Ludwig Hörhammer

Über Isoflavonglykoside, X¹⁾

Endgültige Strukturaufklärung und vollständige Synthese des Sophorabiosids, eines Glykosids aus *Sophora japonica* L. ²⁾

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

(Eingegangen am 28. Februar 1968)

Durch Permethylierung und Analyse der Hydrolyseprodukte wurde der Zuckeranteil des von Zemplén und Mitarb.³⁾ aus *Sophora japonica* isolierten 5.7.4'-Trihydroxy-isoflavon-4'-rhamnoglucosids (Sophorabiosid, **2**) als Neohesperidose (2-O- α -L-Rhamnopyranosyl-D-glucopyranose) identifiziert und diese Struktur durch die Synthese des Glykosids bewiesen.

Im Jahre 1938 isolierten französische Forscher aus den Blüten von *Sophora japonica* L. zwei neue Glykoside, Sophoricosid⁴⁾ und Sophoraflavonolosid⁵⁾. Die vollständige Konstitution des Sophoricosids wurde von Zemplén und Mitarb.⁶⁾ ermittelt. Es handelte sich um 5.7.4'-Trihydroxy-isoflavon-4'- β -D-glucosid (**1a**), ein Isomeres des Genistins⁷⁾ (5.7.4'-Trihydroxy-isoflavon-7- β -D-glucosid) (**1b**). Diese Struktur wurde später durch die Synthese bestätigt⁸⁾.

Versuche zur Nachisolierung von Sophoraflavonolosid blieben erfolglos⁹⁾. Dafür konnte ein neues, als Sophorabiosid bezeichnetes Nebenglykosid aufgefunden werden³⁾.

¹⁾ IX. Mittel.: H. Wagner, W. Böhringer, L. Hörhammer und L. Farkas, Chem. Ber. 101, 1626 (1968).

²⁾ Kurzmittel.: L. Farkas und M. Nógrádi, Tetrahedron Letters [London] 1964, 3919.

³⁾ G. Zemplén und R. Bognár, Ber. dtsch. chem. Ges. 75, 482 (1942).

⁴⁾ C. Charaux und J. Rabaté, Bull. Soc. Chim. biol. 20, 454 (1938).

⁵⁾ J. Rabaté und J. Dussy, Bull. Soc. Chim. biol. 20, 459 (1938).

⁶⁾ G. Zemplén, R. Bognár und L. Farkas, Ber. dtsch. chem. Ges. 76, 267 (1943).

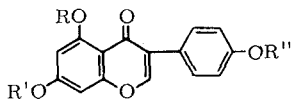
⁷⁾ G. Zemplén und L. Farkas, Ber. dtsch. chem. Ges. 76, 1110 (1943).

⁸⁾ R. Bognár und V. Szabó, Acta chim. Acad. Sci. hung. 4, 338 (1954).

⁹⁾ Über die Neuisolierung und Konstitutionsaufklärung von Sophoraflavonolosid wurde erst 1951 von Freudenberg und Mitarb. berichtet¹⁰⁾. Die Struktur — 3.5.7.4'-Tetrahydroxy-flavon-3- β -[2-O- β -D-glucopyranosyl-D-glucopyranosid] — konnte unlängst durch Synthese bekräftigt werden¹¹⁾.

¹⁰⁾ K. Freudenberg, H. Knauber und F. Cramer, Chem. Ber. 84, 144 (1951).

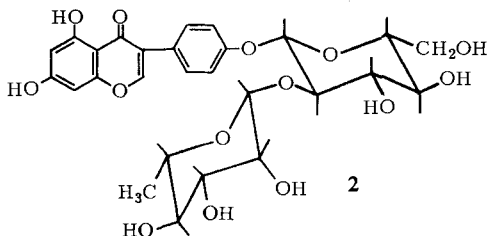
¹¹⁾ H. Wagner, L. Hörhammer, R. Dirscherl, L. Farkas und M. Nógrádi, Chem. Ber. 101, 1186 (1968).



	R	R'	R''
1a	H	H	β -D-Glucosyl
b	H	β -D-Glucosyl	H
c	H	H	H
d	CH ₃	CH ₃	H
e	H	C ₆ H ₅ CH ₂	H
f	H	C ₆ H ₅ CH ₂	β -Neohesperidosyl
g	CH ₃ CO	C ₆ H ₅ CH ₂	Hexaacetyl- β -neohesperidosyl
h	CH ₃ CO	H	Hexaacetyl- β -neohesperidosyl
i	CH ₃ CO	CH ₃ CO	Hexaacetyl- β -neohesperidosyl
k	H	C ₆ H ₅ CH ₂	β -D-Glucosyl

Das Aglykon des neuen Inhaltsstoffes war ebenfalls Genistein (**1c**). Sein Zuckeranteil, an das C-4'-OH von **1c** geknüpft, erwies sich als ein von Rutinose verschiedenes Rhamnoglucosid, das die Autoren³⁾ Sophorabiose nannten.

In einer vorläufigen Mitteilung²⁾ berichteten wir kurz über Methylierungsversuche an diesem Sophorabiosid. Vollmethylierung nach *Kuhn* und *Trischmann*¹²⁾ und anschließende Hydrolyse ergab 4'-Hydroxy-5,7-dimethoxy-isoflavon (**1d**) als methyliertes Aglykon und ein Gemisch an methylierten Zuckern. Nach der im Versuchsteil geschilderten Weise identifizierten wir als einzige Methylzucker 2,3,4-Tri-*O*-methyl-L-rhamnose und 3,4,6-Tri-*O*-methyl-D-glucose¹³⁾. Dieses Ergebnis spricht für eine Verknüpfung der Rhamnose am C-2-OH der Glucose, und damit für eine Identität von Sophorabiose mit Neohesperidose¹⁴⁾. Dem Sophorabiosid kommt somit Struktur **2** zu.



Die Bezeichnung Sophorabiose kann aus der Literatur gestrichen werden.

Eine unlängst von uns beschriebene präparative Synthese von Acetobromneohesperidose¹⁵⁾ ermöglichte nun, die Struktur **2** und die noch nicht eindeutig bewiesene Konfiguration der Rhamnose-Glucose-Verknüpfung durch eine vollständige Synthese von Sophorabiosid zu bestätigen.

¹²⁾ *R. Kuhn* und *H. Trischmann*, *Chem. Ber.* **96**, 284 (1963).

¹³⁾ Für Proben von 3,4,6-Tri-*O*-methyl-D-glucose sind wir Herrn *H. G. Fletcher jr.* (USA) und Herrn *P. A. J. Gorin* (Kanada) zu Dank verpflichtet.

¹⁴⁾ *R. M. Horowitz* und *B. Gentili*, *Tetrahedron* [London] **19**, 773 (1963).

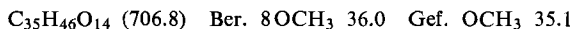
¹⁵⁾ *H. Wagner*, *G. Aurnhammer*, *L. Hörhammer*, *L. Farkas* und *M. Nógrádi*, *Tetrahedron Letters* [London] **1968**, 1635.

Zu diesem Zweck wurde 5,4'-Dihydroxy-7-benzyloxy-isoflavon (**1e**) (s. unten) im System Pyridin/Silbercarbonat mit Acetobromneohesperidose gekuppelt. Nach dem Verseifen, chromatographischer Trennung vom Aglykon und wiederholtem Umkristallisieren erhielten wir 5,4'-Dihydroxy-7-benzyloxy-isoflavon-4'- β -neohesperidosid (**1f**). Zur Reindarstellung von **2** erwies es sich als vorteilhafter, vom Heptaacetat **1g** auszugehen. Wir führten **1g** durch katalytische Hydrierung in das 7,4'-Dihydroxy-5-acetoxy-isoflavon-4'- β -neohesperidosid-hexaacetat (**1h**) über und erhielten durch nachfolgende Acetylierung 5,7,4'-Trihydroxy-isoflavon-4'- β -neohesperidosid-octaacetat (**1i**), das mit dem aus natürlichem Sophorabiosid bereiteten Acetat identisch war. Die Verseifung des letzteren zum schwer kristallisierbaren freien Sophorabiosid (**2**) wurde bereits beschrieben³⁾.

Das im C-7-OH geschützte Aglykon, 5,4'-Dihydroxy-7-benzyloxy-isoflavon (**1e**) kann auf zweierlei Weise erhalten werden, einmal durch direktes Benzylieren von 5,7,4'-Trihydroxy-isoflavon (**1c**) mit 1 Mol Benzylchlorid in Dimethylformamid oder in einem ergiebigeren Verfahren durch partielle Benzylierung von Sophoricosid (**1a**), leicht erhältlich aus *Sophora japonica* L., und nachfolgende Hydrolyse des entstandenen 5,4'-Dihydroxy-7-benzyloxy-isoflavon-4'- β -D-glucosids (**1k**).

Beschreibung der Versuche¹⁶⁾

Vollständige Methylierung von Sophorabiosid (2): 0.915 g *Sophorabiosid-octaacetat*³⁾ wurden mit 50 ccm 0.1 n *Natriummethylat* 1 Stde. gekocht. Die Lösung wurde zur Trockne eingedampft und der Rückstand in 30 ccm Dimethylformamid gelöst. Nach Zugabe von 1.4 g Ba(OH)₂ · 8 H₂O und 1.4 g BaO wurden unter Eiskühlung und Rühren 3.5 ccm *Dimethylsulfat* zugetropft. Nach 30 Min. entfernte man das Eisbad, rührte das Gemisch über Nacht und zersetzte das überschüssige Reagenz durch Zutropfen von 2 ccm konz. Ammoniak. Nach Zugabe von 100 ccm Chloroform filtrierte man die anorganischen Salze ab und schüttelte das Filtrat mehrmals mit 5proz. Natronlauge und Wasser aus. Nach Trocknen und Eindampfen wiederholte man den Prozeß mit der halben Menge der Reagenzien. Es entstand ein hellgelbes Harz.



0.10 g des oben erhaltenen Produktes wurden mit einem Gemisch von 1.1 ccm Methanol und 0.4 ccm 4 n *HCl* 14 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach Zugabe von 1.5 ccm Wasser entfernte man das Methanol durch Erwärmen auf dem Wasserbad. Es kristallisierten 35 mg des methylierten Aglykons aus, das nach Umkristallisieren aus wenig Äthanol bei 265–267° schmolz und mit authent. 4'-Hydroxy-5,7-dimethoxy-isoflavon keine Schmelzpunktsdepression zeigte.

Aus der wäßrigen Lösung wurden die methylierten Zucker kontinuierlich mit Chloroform extrahiert und die Chloroformlösung dünnschichtchromatographisch untersucht (Kieselgel G, Benzol/Äthanol (6:1), Sichtbarmachung durch Besprühen mit Anilinchthalatlösung und Erhitzen bei 110°). Ein Vergleich mit authent. Proben^{13,17)} zeigte die Anwesenheit von 2,3,4-Tri-O-methyl-L-rhamnose (R_F 0.55, grüngrau) und 3,4,6-Tri-O-methyl-D-glucose (R_F 0.30, rotbraun).

¹⁶⁾ Alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

¹⁷⁾ 2,3,4-Tri-O-methyl-L-rhamnose wurde nach Angaben der Lit.¹⁸⁾ hergestellt.

¹⁸⁾ W. N. Haworth, E. L. Hirst und E. J. Miller, J. chem. Soc. [London] 1929, 2469.

5.4'-Dihydroxy-7-benzyloxy-isoflavon-4'-β-D-glucosid (1k): 26.0 g *5.7.4'-Trihydroxy-isoflavon-4'-β-D-glucosid (1a)* in 100 ccm Dimethylformamid wurden mit 9.0 g *Benzylchlorid* und 16 g ausgeglühtem K_2CO_3 4 Stdn. bei 90° gerührt. Es wurde mit viel Wasser verdünnt, das ausgeschiedene Produkt abgentscht und zur Entfernung des Ausgangsproduktes mit verd. Natronlauge gewaschen. Ausb. 28.5 g (90%), Schmp. 208—212°. Eine kleine Probe wurde aus Essigsäure, dann aus Dimethylformamid/Äthanol umkristallisiert. Dicke farblose Nadeln, Schmp. 211—213°.

$C_{28}H_{26}O_{10}$ (522.5) Ber. C 64.36 H 5.02 Gef. C 63.89 H 5.06

5.4'-Dihydroxy-7-benzyloxy-isoflavon (1e)

a) Aus **1k**: 26 g rohes **1k** wurden mit 160 ccm Essigsäure zum Sieden erhitzt, die Suspension mit 24 ccm konz. Salzsäure versetzt, 5 Min. gekocht, rasch abgekühlt und in Wasser gegossen. Die Fällung filtrierte man ab und digerierte mit Natriumcarbonatlösung. Das Rohprodukt (16.0 g, 89%) kristallisierte man aus Essigsäure. Farblose Platten vom Schmp. 207—209°.

$C_{22}H_{16}O_5$ (360.4) Ber. C 73.32 H 4.48 Gef. C 73.05 H 4.54

b) Aus *5.7.4'-Trihydroxy-isoflavon (1c)*: 1.0 g **1c** in 10 ccm Dimethylformamid wurde bei 90° 4 Stdn. mit 0.38 g *Benzylchlorid* und 1.0 g ausgeglühtem K_2CO_3 gerührt. Nach Verdünnen mit Wasser und Umkristallisieren des ausgefallenen Rohproduktes erhielten wir 1.0 g (73%) **1e**.

Die Kupplung von 1e mit Acetobromneohesperidose: 2.0 g **1e** wurden in 10 ccm trockenem Pyridin 10 Min. mit 2 g *Silbercarbonat* gerührt. Man versetzte die Suspension mit 2.6 g *Acetobromneohesperidose*¹⁵⁾ und rührte das Reaktionsgemisch über Nacht. Es wurde mit 20 ccm Methylenchlorid verdünnt, filtriert und die rote Lösung mehrmals mit eiskalter 5proz. Salzsäure ausgeschüttelt, wobei sich ein Teil des nicht umgesetzten Aglykons (1 g) ausschied. Nach dem Eindampfen löste man den Rückstand in 25 ccm 0.1 n *Natriummethylat*. Nach 24 Stdn. dampfte man zur Trockene ein und chromatographierte den Rückstand auf 150 g Kieselgel Merck mit Äthylacetat/Methanol/Wasser (100:15.5:13.5). Mehrmaliges Umkristallisieren eines Teils der Glykosidfraktion aus Äthanol ergab *5.4'-Dihydroxy-7-benzyloxy-isoflavon-4'-β-neohesperidosid (1f)* als kleine farblose Nadeln vom Schmp. 180—183°.

$C_{34}H_{36}O_{14} \cdot H_2O$ (686.6) Ber. C 59.43 H 5.55 Gef. C 59.90 H 4.74

Die Hauptmenge des Rohglykosids wurde mit Pyridin/*Acetanhydrid* acetyliert. Nach üblicher Aufarbeitung aus Äthanol/Dichlormethan kristallisierte das *5.4'-Dihydroxy-7-benzyloxy-isoflavon-4'-β-neohesperidosid-heptaacetat (1g)* in farblosen Nadeln vom Schmp. 128—132°.

$C_{48}H_{50}O_{21}$ (962.9) Ber. C 59.87 H 5.23 Gef. C 59.73 H 5.30

7.4'-Dihydroxy-5-acetoxy-isoflavon-4'-β-neohesperidosid-hexaacetat (1h): 60 mg **1g** wurden in Äthylacetat/Äthanol mit Palladiumkohle in üblicher Weise hydriert. Farblose Prismen vom Schmp. 245—248° (aus Äthanol).

$C_{41}H_{44}O_{21}$ (872.8) Ber. C 56.42 H 5.07 Gef. C 56.29 H 5.10

5.7.4'-Trihydroxy-isoflavon-4'-β-neohesperidosid-octaacetat, synthet. Sophorabiosid-acetat (1i): 40 mg **1h** acetylierte man mit Pyridin/*Acetanhydrid*. Nach Abdampfen der Reagenzien kristallisierte man den Rückstand zweimal aus Äthanol/Dichlormethan. Schmp. 252—255°, Misch-Schmp. mit authent. *Sophorabiosid-octaacetat* 252—254° (Lit.³⁾: 253—254°.

$C_{43}H_{46}O_{22}$ (914.8) Ber. C 56.46 H 5.07 Gef. C 56.52 H 5.20