

¹³C-NMR-SPEKTREN NATÜRLICH VORKOMMENDER FLAVONOIDE

Hilbert Wagner und Vedantha Mohan Chari

Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München

und

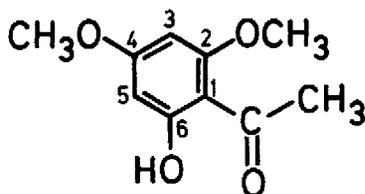
Johann Sonnenbichler

Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried

(Received in Germany 24 February 1976; received in UK for publication 15 April 1976)

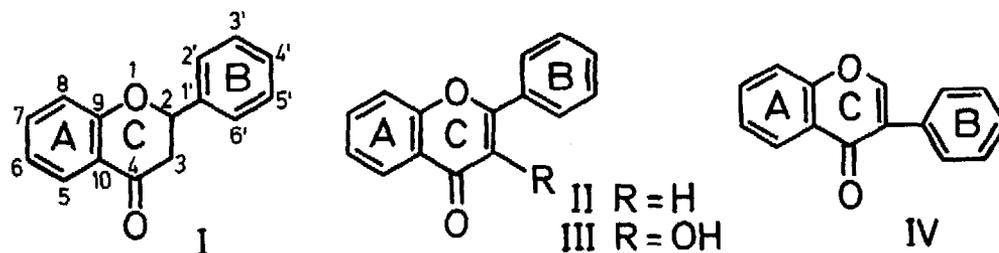
Kürzlich erschienene Veröffentlichungen über die ¹³C-NMR-Analyse des unsubstituierten Flavons und seiner deuterierten Derivate¹⁾ von einigen nicht natürlich vorkommenden Monomethoxyflavonen²⁾ und von natürlichem Naringenin³⁾ haben gezeigt, daß diese Methode die bisherigen Verfahren der Strukturaufklärung innerhalb dieser Stoffgruppe in idealer Weise ergänzt. Die vorliegende Untersuchung stellt die erste systematische ¹³C-NMR-Analyse der am häufigsten vorkommenden natürlichen Schlüsselverbindungen der Flavanon-, Flavon-, Flavonol- und Isoflavon-Reihe dar. Die Zuordnung aller Signale von 20 Flavonoid-Spektren erlaubt nunmehr die Interpretation komplex aufgebauter Flavonoide wie z.B. von Prenylflavonen, Biflavonoiden, Flavonolignanen, Neoflavonoiden u.a.

Die Zuordnung der ¹³C-Resonanzen erfolgt einmal durch Vergleich verschiedener substituierter Derivate unter Zugrundelegung der für aromatische Systeme angegebenen Inkremente⁴⁾ sowie in einigen Fällen durch Analyse von "Off-Resonance" (OR)-Messungen sowie durch spezifische Protonenentkopplung. Daß durch die Inkrement-Rechnung auch bei polyhydroxylierten Aromaten eine zufriedenstellende Abschätzung der δ-Werte erfolgen kann, zeigt das Beispiel des 2,4-Di-O-methylphloracetophenons, bei dem die gefundenen und berechneten (in Klammern angegebenen) δ-Werte im Formelbild gegenübergestellt sind.



1.	105.4 (102.8)	4.	166.0 (166.5)
2.	165.8 (162.4)	5.	93.5 (93.7)
3.	90.5 (92.4)	6.	162.7 (157.5)

A-Ring: Die C-6 und C-8 Signale erscheinen in 5,7-Dihydroxyflavonoiden bei wesentlich höherem Feld (98.9-93.5 ppm) als die entsprechenden Signale des Benzols. Im OR-Spektrum erscheinen sie als Dublette. Eine Zuordnung der Signale 98.8 und 94.0 ppm im Flavon Apigenin war durch Vergleich mit dem Spektrum des 5-O-Methyl-apigenins (Thevetiaflavon) möglich. In diesem ist das erste um 2.4 ppm nach höherem Feld (96.4 ppm), das zweite um 1.2 ppm nach niederem Feld (95.2 ppm) verschoben. Da ortho-ständige C-Atome bei Methylierung der benachbarten OH-Gruppe nach höherem Feld verschoben werden, ist das erste Signal dem C-6 und das zweite dem C-8 zuzuordnen. Das gleiche ergibt sich aus



	Flavonoide	Substitution	$\text{CH}_3\text{O}-$	C_2	C_3	C_4
I	Pinocembrin	5,7 (OH) ₂	-	78.4	42.2	195.8
	Naringenin ^a	4',5,7 (OH) ₃	-	78.4	42.0	196.2
	Isosakuranetin	5,7(OH) ₂ -4'(OCH ₃) ₃	55.0	77.8	41.9	196.1
	Eriodictyol	3',4',5,7 (OH) ₄	-	78.3	42.2	196.2
	Homoeriodictyol	4',5,7 (OH) ₃ -3'(OCH ₃)	55.6	78.7	42.1	196.3
	Hesperetin ^a	3',5,7 (OH) ₃ -4'(OCH ₃)	55.9	78.5	42.1	196.2
II	Chrysin	5,7 (OH) ₂	-	163.0	105.0	181.6
	Apigenin ^a	4',5,7 (OH) ₃	-	164.1	102.8	181.8
	Acacetin	5,7(OH) ₂ -4'(OCH ₃)	55.5	163.9	103.9	182.3
	Thevetiaflavon	4',7(OH) ₂ -5(OCH ₃)	55.8	160.4 ^b	107.1	175.7
	Genkwanin	4',5(OH) ₂ -7(OCH ₃)	56.0	164.6	103.4	182.3
	Luteolin ^a	3',4',5,7 (OH) ₄	-	164.5 ^b	103.3	182.2
	Chrysoeriol	4',5,7(OH) ₃ -3'(OCH ₃)	56.0	163.7 ^b	103.8	181.8
	Diosmetin	3',5,7(OH) ₃ -4'(OCH ₃)	55.8	163.6	104.0	181.8
III	Kaempferol ^a	3,4',5,7(OH) ₄	-	146.8	135.6	175.9
	Quercetin ^a	3,3',4',5,7 (OH) ₅	-	146.9	135.8	175.9
	Azaleatin	3,3',4,7(OH) ₄ -5-(OCH ₃)	56.0	142.0	137.1	171.1
	Rhamnetin	3,3',4,5(OH) ₄ -7-(OCH ₃)	55.9	147.3	136.0	175.9
	Ombuin	3,3',5,(OH) ₃ -4',7-(OCH ₃) ₂	55.6 55.9	146.7	136.4	176.0
IV	Genistein	4',5,7 (OH) ₃	-	153.6	121.4 ^b	180.2

Die Spektren wurden in DMSO-d₆-Lösung mit einem Bruker WX-90 FT-Spektrometer bei 66.63 MHz aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm-Werten (TMS=O) ausgedrückt.

a) Zusätzliche Aufnahme der "Off-Resonanz"-Spektren

b) Die Zuordnungen sind vertauschbar.

dem Vergleich der Spektren der beiden Flavonole Quercetin und Azaleatin. Durch spezifisches Protonenkopplungsexperiment bei Apigenin konnte diese Zuordnung für C-6 und C-8 bestätigt werden. In analoger Weise wurden die Signale für C-6 und C-8 bei den untersuchten Flavon- und Flavonolverbindungen zugeordnet. Zu demselben Ergebnis kam Wehrli³⁾ unabhängig von uns bei dem Flavanon Naringenin. Die nah beieinander liegenden Signale für C-5 und C-9 konnten von Wehrli durch Aufnahme des Protonengekoppelten Spektrums unterschieden werden. Das bei niedrigerem Feld erscheinende Signal wurde dem

C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁ '	C ₂ '	C ₃ '	C ₄ '	C ₅ '	C ₆ '
163.6	96.1	166.6	95.1	162.7	101.9	138.0	126.5	128.5	128.5	128.5	126.5
163.6	95.9	166.7	95.0	162.9	101.8	128.9	128.2	115.2	157.8	115.2	128.2
163.5	95.8	166.6	94.9	162.7	101.7	130.5	128.6	113.5	159.4	113.5	128.6
163.4	95.7	166.6	94.8	162.8	101.7	129.4	114.2	145.1 ^b	145.6 ^b	115.3	117.8
163.5	95.8	166.6	95.0	162.9	101.8	129.4	111.1	147.5	146.9	115.2	119.6
163.8	96.2	166.9	95.4	163.0	102.1	131.4	114.3	146.7	148.1	112.1	118.0
157.3	98.9	164.3	94.0	161.5	103.9	130.6	126.0	128.0	131.7	128.0	126.0
157.3	98.8	163.7	94.0	161.5	103.7	121.3	128.4	116.0	161.1	116.0	128.4
157.9	99.4	164.8	94.3	162.2	104.4	123.5	128.4	114.8	162.8	114.8	128.4
159.0 ^b	96.4	162.4	95.2	159.9 ^b	106.0	121.5	127.7	115.8	160.6	115.8	127.7
157.7	98.2	165.6	92.9	161.8	105.0	121.6	128.8	116.3	161.8	116.3	128.8
157.9	99.2	164.7 ^b	94.2	162.1	104.2	119.3	113.8	146.2	150.1	116.4	122.1
157.4	98.8	164.2 ^b	94.0	161.6	103.3	120.4	110.2	150.8	148.0	115.8	121.7
157.5	99.0	164.4	94.0	161.7	103.7	118.7	113.1	146.9	151.2	112.1	123.3
156.2	98.2	163.9	93.5	160.7	103.1	121.7	129.5	115.4	159.2	115.4	129.5
156.2	98.3	164.0	93.5	160.8	103.1	122.1	115.2	145.1	147.7	115.7	120.1
158.1	96.0	162.6	94.8	160.6	105.2	122.4	114.6	145.1	147.1	115.7	119.3
156.0	97.4	164.9	91.8	160.4	103.7	121.9	115.2	145.0	147.8	115.6	120.1
156.0	97.4	164.9	91.8	160.4	104.0	123.4	114.8	146.2	149.4	111.7	119.8
157.6	98.6	164.3	93.7	157.6	104.6	122.4 ^b	130.0	115.2	162.1	115.2	130.0

C-5 zugeordnet. Die entsprechenden Signale in den untersuchten Flavanonen wurden analogerweise zugeordnet. Die C-9 und C-10 Signale erscheinen bei den untersuchten Flavanonen um 163.0 und 101.0 ppm, bei den Flavononen um ca. 160.0 und 105.0 ppm, bei den Flavonolen um 161.0 ppm und 104.0 ppm und bei den Isoflavononen um 157.0 und 104.0 ppm. In der Gruppe II und III sind die C-5 und C-9 Zuordnungen möglicherweise vertauschbar. Methylierung der C-7-OH-Gruppe führt weder bei Flavononen noch bei Flavonolen zu einer wesentlichen Verschiebung des C-9 und C-5 Signals. Die beobachtete Hochfeldverschiebung von C-8 ist größer als bei C-6. Methylierung der C-5-OH-Gruppe verschiebt das C-7 Signal jeweils etwa -1.6 ppm. Das C-10 Signal wird in beiden Fällen nach niedrigem Feld und zwar um 2.3

bzw. 2.1 ppm verschoben. Die gleiche Beobachtung wurde auch bei einem 1-Hydroxyxanthonderivat und dem entsprechenden O-Methyläther gemacht⁵⁾.

C-Ring: Bei den untersuchten Flavonen erscheint das C-2 Signal im Bereich von 163.0 ppm, bei den Flavonolen um 147.0 ppm und bei den Flavanonen um 78.0 ppm. Im Genistein ist das C-2 Signal gegenüber dem des hiermit isomeren Apigenins stark nach höherem Feld verschoben. Das C-3 liegt bei Flavanonen um 42.0 ppm und wird teilweise durch Signale vom DMSO-d₆-Lösungsmittel verdeckt. Im OR-Spektrum liefert es ein Triplett. Bei Flavonen erscheint das C-3 um 103.0 ppm, bei Flavonolen um 136.0 ppm. Das C-3 Signal bei Genistein ist gegenüber dem des Apigenins stark nach niederem Feld verschoben. Das Signal des Carbonylkohlenstoffs erscheint mit ziemlicher Lagekonstanz bei Flavanonen um 196.0 ± 0.4 ppm, bei Flavonolen um 175.9 ppm und beim Genistein um 186.0 ppm. Bei aufgehobener Wasserstoffbrückenbindung ergibt sich eine Verschiebung von -6.0 ppm bzw. -4.8 ppm. Substitutionsänderungen im A-Ring und B-Ring haben wenig Einfluß. Die Lage des C-4 Signals erlaubt daher eine eindeutige Aussage über die Oxydationsstufe des C-Ringes.

B-Ring: Bei den C-Resonanzen des B-Ringes ist bemerkenswert, daß das Inkrement für die an C-1' substituierte Doppelbindung (erwartungsgemäß ca. ± 9.0 ppm) wenig wirksam zu sein scheint, sodaß die C-1'-Resonanzen (etwa 122 ppm) bei ungewöhnlich hohem Feld erscheinen. Die eindeutige Zuordnung konnte aber in diesem Falle durch OR-Messungen erfolgen. Bei 4'-O-Monosubstitution erfolgte die Zuordnung der Signale unter Berücksichtigung der Signal-Intensitäten. Methylierung des 4'-Hydroxyls führte zu den erwarteten Verschiebungen, jedoch wird das C-1' wider Erwarten nach niedrigerem Feld verschoben. Bei einer C-3',4'-Dihydroxysubstitution erscheint das C-2'-Signal immer bei höherem Feld, das C-6' immer bei niedrigerem Feld. Die O-Methylierung führt zu den erwarteten Verschiebungen bei C-2', C-5' und C-6', während C-3' und C-4' nur gering gegenüber den entsprechend hydroxylierten Verbindungen verschoben wurden. Die isomeren Monomethyläther von 3',4'-Dihydroxyflavonoiden können somit an Hand der Resonanzen von C-2', C-5' und C-6' eindeutig unterschieden werden. Die OR-Spektren von Luteolin, Quercetin und Hesperetin zeigen bei günstiger Einstrahlungsfrequenz des Entkopplers deutlich die reduzierte ³J_{CH}-Kopplung des C-4'-Atoms mit den zwei meta-ständigen Protonen und des C-6'-Atoms mit einem meta-ständigen Proton.

Danksagung:

Fräulein Schild (Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried) danken wir für die Aufnahme der Spektren. Herrn Dr. A. Neszmelyi (Budapest) danken wir für die Aufnahme einiger Spektren sowie ihre Diskussion.

Literatur:

- 1) P. Joseph-Nathan, J. Mares und MA. C. Hernández, J. Mag. Res., **16**, 447 (1974)
- 2) C.A. Kingsbury and J.H. Looker, J. Org. Chem., **40**, 1120 (1975)
- 3) F. Wehrli, J. Chem. Soc., Chem. Comm. 663 (1975)
- 4) J.B. Stothers "Carbon-13 NMR Spectroscopy", Academic Press, New York (1972).
G. Levy und G.L. Nelson "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemists", Wiley, New York (1972)
- 5) J.S.E. Holker, R.D. Lapper und T.J. Simpson, J.C.S. Perkin I, 2135 (1974)