

Isolierung und Strukturaufklärung von 2'-Hydroxy-4', 6'-dimethoxychalkon-4-glukosid aus *Viscum album* L.

Isolation and identification of 2'-hydroxy-4', 6'-dimethoxy-chalkon-4-glucoside of *Viscum album* L.

Hans Becker, Joachim Exner

Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Heidelberg

und

Gerhard Schilling

Organisch-Chemisches Institut der Universität Heidelberg

Z. Naturforsch. **33 c**, 771–773 (1978);
received June 19, 1978

Viscum album L., Loranthaceae, Flavonoids,
Chalkon-Glucoside, ^{13}C -NMR

A hitherto unknown chalkon (2'-hydroxy-4',6'-dimethoxy-chalkon-4-glucoside) of European mistletoe (*Viscum album* L.) has been isolated and identified.

Im Verlauf unserer Arbeiten über den Sekundärstoffwechsel der Mistel [1–3] fiel bei der Aufarbeitung auf Flavonoide ein Kristallisat an. Die chromatographische Überprüfung auf Polyamid und auf Papier (zweidimensional nach ref. 4) ergab zunächst widersprüchliche Aussagen. Während ein relativ hoher R_f -Wert auf Polyamid (Aglykalaufmittel) auf ein Aglykon hindeutete, ließ das Papierchromatogramm auf ein Glykosid schließen. Die Hydrolyse mit 6-prozentiger Salzsäure zeigte, daß es sich um ein Glykosid handelt. Aus dem Hydrolysat konnte mit Hilfe authentischer Vergleichssubstanzen durch Circularchromatographie [5] auf Cellulose Glukose als einziger Zucker nachgewiesen werden. Die Aufbereitung und Chromatographie des Aglykons ergab auf dem Chromatogramm einen Hauptfleck mit wesentlich höherem R_f -Wert als die Ausgangssubstanz.

Sowohl das Glykosid als auch das Aglykon wurden nach Reinigung durch präparative Schichtchromatographie mit Hilfe spektroskopischer Methoden (UV, MS, IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR) und durch den Schmelzpunkt identifiziert. Die Interpretation dieser Spektren ergibt für die Substanz die Struktur eines 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon-4-glukosids (siehe Abb. 1).

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. Hans Becker, Institut für Pharmazeutische Biologie, Im Neuenheimer Feld 364, D-6900 Heidelberg.

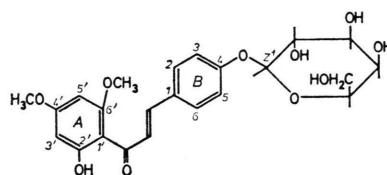


Abb. 1. 2'-Hydroxy-4',6'-Dimethoxychalkon-glukosid.

UV mit Verschiebungsreagenzien nach ref. 4

Da das Chalkonglykosid keine freie OH-Gruppe besitzt, konnte sich keines der Verschiebungsreagenzien auswirken. Das Methanolspektrum zeigt die für Chalkone typische Bande mit dem Maximum bei 355 nm. Das Spektrum für das Chalkonaglykon dagegen zeigt eine deutliche Verschiebung von 60 nm, nach Zusatz von NaOMe, durch die Ionisierung der freien OH-Gruppe in Stellung C-4.

IR: Es konnte die typische Carbonylschwingung bei 1620 cm^{-1} beobachtet werden. Die Absorptionsbande erscheint deshalb so tief, weil die Carbonylgruppe $\alpha-\beta$ ungesättigt ist und durch ein *o*-substituiertes Aryl beeinflusst wird.

^1H -NMR:

a) Aglykon:

Die beiden Protonen des Ringes A sind als breites Signal bei 6,03 ppm zu erkennen; sie koppeln als AB-Spinsystem mit $J = 1,5\text{ Hz}$. Aus der Nichtäquivalenz der beiden Protonen C-3' und C-5' sowie der Tieffeldlage (13,6 ppm) des in der Wasserstoffbrücke stehenden Protons zwischen der OH-Gruppe in C-2' und der Ketogruppe kann geschlossen werden, daß der Phloroglucinkern 2-fach an C-4' und C-6' substituiert ist. Die olefinischen Protonen H- α und H- β absorbieren bei 7,34 ppm bzw. 7,58 ppm. Die Transstellung dieser beiden Protonen wird durch die große Kopplung von $J = 15,7\text{ Hz}$ bewiesen. Die Protonen der beiden Methoxylgruppen zeigen scharfe Signale bei 3,77 ppm und 3,85 ppm. Die 4 Protonen des B-Ringes absorbieren als AA'BB'-Spinsystem bei 6,31 ppm (H-3/H-5) und 7,29 ppm (H-2/H-6) mit der Kopplungskonstante von $J = 9\text{ Hz}$.

b) Glykosid:

Der Einfluß der an C-4 verknüpften Glukose macht sich deutlich auf die chemische Verschiebung der Protonen des Ringes B sowie auf die beiden



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Protonen H- α und H- β bemerkbar. Die Protonen H- α und H- β erscheinen als Singulett in einem Signal bei 7,18 ppm, sie sind nur beim Aglykon deutlich differenziert. Die vier Protonen des B-Ringes absorbieren als AA'BB'-Spinsystem bei 7,14 ppm (H-3/H-5) und 7,20 ppm (H-2/H-6) mit der Kopplungskonstante von $J \sim 9$ Hz. Man beobachtet eine deutliche Tieffeldverschiebung für die Protonen H-3/H-5. Weiterhin beobachtet man im Bereich zwischen 4,4 und 5,45 ppm 5 Protonen, von denen 4 mit D₂O austauschbar sind. Zwischen 3,1 und 3,8 ppm absorbieren weitere aliphatische Protonen, deren Anzahl wegen des Wassergehalts des Lösungsmittels durch Integration nicht genau zu ermitteln war. Das mit D₂O nicht austauschbare Proton bei 5,0 ppm ist dem anomeren Proton H-1 der Glukose zuzuordnen.

Die Protonen des Ringes A sowie die Protonen der substituierten Methoxylgruppen sind durch die Glukose unbeeinflusst und absorbieren annähernd bei denselben ppm-Werten wie beim Aglykon.

¹³C-NMR-Spektroskopie:

Die Zuordnung der Signale wurde zunächst über das Off-Resonanzspektrum getroffen und dann durch Vergleich mit Literaturwerten bestätigt. Die Werte für den Ring A wurden einer Arbeit von Wagner und Chari [6] am Beispiel des 4',6'-Dimethoxy-2-Hydroxy-Phloracetophenon entnommen.

Die Werte der übrigen C-Atome (außer dem Zuckeranteil) konnten durch die Arbeit von Ward [7] bestätigt werden. Schließlich ließen sich die Kohlenstoffe des substituierten Zuckerrestes durch die Arbeit von Dorman und Roberts [8] als β -D-Glukopyranose-Rest zuordnen. Als Beweis für die C-1-Verknüpfung der Glukose wird gewertet, daß das Dublett für Z-1 bei tiefem Feld (100.084 ppm) erscheint. Von besonderer Beweiskraft sind die beiden Dubletts bei 142.458 und 125.430 ppm für das C- α und C- β .

Im einzelnen wurden folgende ppm Werte gemessen und den in Klammern angegebenen C-Atomen zugeordnet:

192.305 (C-O); 165.724/165.529 (4'/6'); 162.020 (2'); 159.355 (4); 142.458 (C- α); 130.240 (2/6); 128.550 (1); 125.430 (C- β); 116.657 (3/5); 106.323 (1'); 100.084 (Z-1); 93.910 (3'); 91.116 (5'); 77.143/76.558 (Z-3/Z-5); 73.178 (Z-2); 69.669 (Z-4); 60.635 (Z-6); 56.151/55.631 (2 x -OCH₃).

MS: Die Direktvermessung des Glykosids zeigte einen überraschend deutlichen Molpeak mit einem Anteil von 9%. Weiter konnte gezeigt werden, daß die Glukose als ganzes Molekül abgespalten wird. Durch peak-matching konnte die genaue Masse von 462, 146 ermittelt werden, was folgender Summenformel entspricht: C₂₃H₂₆O₁₀.

Der (M-Glu)⁺-Wert entspricht genau dem Aglykon. Vom Aglykon konnten alle Bruchstücke des klassischen Chalkon-Zerfalls nachgewiesen werden [9]. Besonders aussagekräftig ist das Bruchstück A⁺ als Basepeak, da dadurch sowohl der Chalkoncharakter sowie die Stellung der beiden Methoxylgruppen bestätigt werden konnten. Das Bruchstück B⁺ beweist dagegen die freie OH-Gruppe in Stellung C-4, die Substitutionsstelle der Glukose.

Schmelzpunkt: 156 – 158 °C (unkorrigiert).

Mit der Isolierung und Bestimmung der Verbindung war es gelungen, ein bisher noch nicht beschriebenes Chalkonglykosid aufzufinden. Das Vorkommen von Chalkonglykosiden stellt nach Harborne [10] ein ursprüngliches Merkmal dar. Die zum Teil hochmethylierten Quercetinderivate [2] dagegen sind nach Harborne ein Merkmal für eine fortgeschrittene Evolution. Dieser Gegensatz könnte ein weiterer Hinweis für die Sonderstellung, die die Mistel als Halbparasit im Pflanzensystem einnimmt, sein.

Methoden:

Isolierungen: 5 kg Blatt- und Stengelmateriale von Misteln, die auf Kiefern gewachsen waren, wurden grob zerkleinert und in 2 10-Liter Glasstutzen mit 80%igem Ethanol mehrmals extrahiert (Mazeration). Die dekantierten Lösungen wurden vereinigt und zur Sirupdicke eingedampft. Der wässrige Rückstand wurde mit heißem Wasser versetzt und mit einem Scheidetrichter Ethanol eingetropft (Ethanol-fällung). Der Extrakt wurde erneut vom Ethanol befreit. Die Wasserphase wurde zunächst gegen Chloroform und dann gegen Ethylacetat ausgeschüttelt. Die Ethylacetatphase wurde zunächst über Na₂SO₄ getrocknet, dann eingengt und der Rückstand in wenig Ethanol (90%) aufgenommen. Aus dieser Lösung fielen 110 mg Rohkristallat aus. Die Kristalle wurden mehrmals umkristallisiert und die Substanz weiter durch präparative Schichtchromatographie gereinigt.

Chromatographie:

- a) Polyamid DC 11 (Macherey u. Nagel)
LM: Benzol:Petrolether (100 – 140°):Methyl-
ethylketon:Methanol 60:26:7:7;
- b) Whatmann 3 MM-Papier:
1. Dimension: TBA
2. Dimension: 15% Essigsäure.

UV-Spektroskopie: Die UV-Spektren wurden in Methanol nach [4] an einem Zeiss-Spektralphotometer (DM 4) aufgenommen.

¹H-NMR-Spektroskopie: Die ¹H-NMR-Spektren wurden an einem HX-90 der Fa. Bruker in DMSO-d₆ als Lösungsmittel aufgenommen.

¹³C-NMR-Spektroskopie: 22,63 MHz-Gerät der Fa. Bruker; in DMSO-d₆.

IR-Spektroskopie:

Perkin-Elmer IR-Spektralphotometer 283; in KBr.

Massenspektroskopie:

CEC 21-110 B der Fa. Du Pont; jeweils mehrere Spektren zwischen 30 und 250°C.

- [1] H. Becker u. H. Nimz, Z. Pflanzenphysiol. **72**, 52 bis 63 (1974).
- [2] H. Becker u. J. Exner, Proceedings of the 5th Hungarian Bioflavonoid Symposium, Mátrafüred, Ungarn 1977. (L. Farkas, M. Gábor und F. Kallay eds.) Elsevier Scientific Publishing Comp., Amsterdam-Oxford-New York 1977.
- [3] J. Exner, Dissertation, Heidelberg 1978.
- [4] T. J. Mabry, K. R. Markham u. M. B. Thomas, The Systematic Identification of Flavonoids, Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1970.
- [5] H. Becker, J. Exner u. J. E. Averett, Phytochemical Bulletin, **10**, 36 (1977).
- [6] H. Wagner u. V. M. Chari, Tetrahedron Letters **21**, 1799 (1976).
- [7] R. Ward, J. Chem. Soc. Perkin I, (1976) 1475.
- [8] D. E. Dorman u. J. D. Roberts, J. Aust. Chem. Soc. **92**, 1355 (1970).
- [9] T. Mabry u. R. Markham, The Flavonoids, (T. J. Mabry u. H. Mabry eds.) p. 105, Chapman and Hall, London 1975.
- [10] J. B. Harbone, Chemistry in Botanical Classification (G. Bendz u. J. Santesson eds.) Academic Press, New York and London 1973.