

2-Methoxystypandron, ein neues Naphthochinon aus *Rhamnus fallax* B.

2-Methoxystypandrone, a New Naphthoquinone from *Rhamnus fallax* B.

Hans-W. Rauwald und Holger Miething

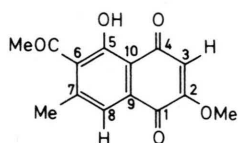
Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin,
Königin-Luise-Str. 2–4, D-1000 Berlin 33

Z. Naturforsch. **38 c**, 17–20 (1983); received August 12, 1982

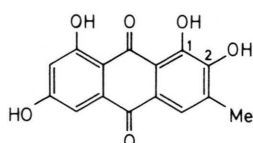
Rhamnus fallax Boiss. (*Oreohertzogia fallax* Boiss.; *Rhamnus alpinus* L. ssp. *fallax*),
6-Acetyl-5-hydroxy-2-methoxy-7-methyl-1,4-naphthoquinone, 2-Methoxystypandrone, Alaternin,
2-Hydroxyemodin

The structure of 2-methoxystypandrone, a new naphthoquinone from the stem bark of *Rhamnus fallax* B., was elucidated by UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS and chemical degradation as 6-Acetyl-5-hydroxy-2-methoxy-7-methyl-1,4-naphthoquinone. This is the first described occurrence of a naphthoquinone in a *Rhamnus* species. Free alaternin, 2-hydroxyemodin, was found for the second time in plant material.

Die Rinden von *Rhamnus catharticus* L. und *Rhamnus fallax* Boiss. gelten im Europäischen Arzneibuch als Verfälschungen von *Frangulae cortex* und *Rhamni purshiani cortex*, wobei gerade in letzter Zeit häufig *Rhamnus fallax* B. im Handel angetroffen wird [1, 2]. Nachdem wir kürzlich über die freien Anthrachinone der Kreuzdornrinde [3] berichtet haben, beschreiben wir nachstehend die Isolierung und Strukturaufklärung zweier Pigmente aus der Fallaxrinde, von denen das Naphthochinon **F1** erstmalig und das Anthrachinon **F2** zum zweiten Male [3] als Pflanzeninhaltsstoffe gefunden wurden.



F1: 2-Methoxystypandron



F2: Alaternin

Ergebnisse und Diskussion

Die beiden Pigmente **F1** und **F2** ließen sich aus der gelagerten Fallaxrinde durch Extraktion mit Et_2O oder CHCl_3 (Ausschluß möglicher Isolierungsartefakte) gewinnen. Die DC der Extraktlösungen (Kieselgel/**F1**: CHCl_3 , $R_f = 0,8$, KOH: rot/**F2**: Petrolether-Ethylacetat-Eisessig, 90:5:5, $R_f = 0,22$, KOH: violett) machte deutlich, daß *Rh. fallax* sehr viel mehr gelb- und orangefarbene Komponenten

enthält als vergleichsweise *Rh. catharticus* (vgl. [3]) und *Rh. frangula* (vgl. [4]). **F1** und **F2** wurden von den Begleitstoffen, insbesondere den bekannten Hauptanthrachinonen [5, 6] Chrysophanol, Physcion und Frangula-Emodin durch wiederholte SC an Polyamid und Kieselgel abgetrennt und resultierten nach Kristallisation aus Chloroform/MeOH in gelb-orangen Plättchen (**F1**; Schmp. 193°) bzw. aus MeOH in roten Nadeln (**F2**; Zers.-P. $296-298^\circ$). Anzumerken ist, daß Aloe-Emodin – in [4] als Rindeninhaltsstoff angegeben, von Poethke *et al.* [5, 6] nicht beschrieben – nicht aufgefunden wurde.

F1 liefert im EI-MS den Molmassenpeak bei m/e 260, woraus in Verbindung mit einer Hochauflösung die Summenformel $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_5$ folgt (m/e gef. 260, 0687; m/e ber. 260, 0684). Wesentliche Fragmentationen finden sich bei m/e 245 ($\text{M}-\text{CH}_3$) $^+$, m/e 231 ($\text{M}-\text{CHO}$) $^+$ und m/e 217 ($\text{M}-\text{COCH}_3$) $^+$ (hochauflös. MS). **F1** zeigt im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (250 MHz/ CDCl_3 /TMS/ δ -Werte) sechs Singulets dreier Methylgruppen bei 2,38 ppm (Ar-Me), 2,62 ppm (Ar-COMe) und 3,96 ppm (–OMe) sowie je eines Protons bei 6,16 (Chin.-H), 7,52 (Ar-H) und 12,52 (Chelatis. OH). In Verbindung mit den Daten des UV- (λ_{max} 230, 289, 414 nm) und des IR-Spektrums (2930, chelat. OH; 1680, 1630 Chinon-CO, 1593 cm^{-1} , C=C) sollte es sich bei **F1** um ein 5-Hydroxy-1,4-naphthochinonderivat (Juglonderivat) handeln; eine Anthrachinonstruktur kann aufgrund der genannten Eigenschaften ausgeschlossen werden.

Aus den ^1H - und ^{13}C -chemischen Verschiebungen ergibt sich für den Chinonring eine Methoxysubstitution, was auch der Datenvergleich (δ/ppm) mit

Sonderdruckanforderungen an Dr. H.-W. Rauwald.
0341-0382/83/0100-0017 \$ 01.30/0



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.

Cassumunachinon (= 2-Methoxy-8(3,4-dimethoxyphenyl)-1,4-naphthochinon) [7] bestätigt: H-2/3: 6,16 (Cass.: 6,15); C-H: 110,4 (Cass.: 108,4); C-OMe: 162,1 (Cass.: 161,2). Die genaue Position der Methoxygruppe (C-2 oder C-3) läßt sich spektroskopisch direkt nur über ein protonengekoppeltes ^{13}C -NMR festlegen (vgl. [7]); wegen Substanzmangel an **F1** wurde kein entsprechendes auswertbares Spektrum erhalten. Alternativ ließ sich die Stellung der Methoxy-Gruppe in **F1** anhand der UV-Spektrenkorrelation mit 2- und 3-Hydroxyjuglonen festlegen: aufgrund der vinylogenen Carbonsäureesterstruktur in **F1** erfolgt bereits beim Behandeln in warmem Alkali (Pottasche) die Etherspaltung zum entsprechend substituierten 2- oder 3-Hydroxyprodukt **F1a** (vgl. [8]). Die ^1H -NMR-Analyse des Abbauprodukts **F1a** lieferte den Befund einer vollständigen Entmethylierung von **F1**. Nach den intensiven Untersuchungen des Arbeitskreises Moore und Scheuer [9] und den Angaben einer neueren Übersichtsarbeit [10] gelingt eine eindeutige Unterscheidung zwischen einem 2- oder 3-Hydroxyjuglon durch den „Alkali-Shift“ der Chinoidbande bei ca. 400 nm [9] ($n \rightarrow \pi^*$) im UV-/VIS-Spektrum: wie aus Tabelle I hervorgeht, führt dies im 2-Hydroxyjuglon aufgrund der Chelatisierungsmöglichkeit am C-1-Carbonyl zu einer deutlich größeren bathochromen Verschiebung gegenüber dem 3-Hydroxyderivat (ca. 35–55 nm) und zu einem zusätzlichen hypsochromen Effekt mit einer Absorption bei 380 nm. Die Datenkorrelation der Tab. I belegt für das Abbauprodukt von **F1** zweifelsfrei eine C-2-Hydroxylierung und somit für **F1** die Teilstruktur eines 2-Methoxyjuglons.

Für die Positionen der aromatischen Acetyl- und Methylgruppe sind sechs theoretisch mögliche Konstitutionsisomere des 2-Methoxyjuglons denkbar. Vom biosynthetischen Gesichtspunkt ist insbesondere die Konstitution eines 6-Acetyl-7-methylderivats in Erwägung zu ziehen, die auch den im folgenden beschriebenen ^1H - und ^{13}C -NMR-spektroskopischen Befunden Rechnung trägt. Dieses Substitutionsmuster findet sich im *Stypandron* (= 6-Acetyl-7-methyljuglon) [11] aus *Stypandra* und *Dianella spec.* (Liliaceae) und in dessen 3-Methoxysubstitutionsprodukt *Orientalon* [12] aus der Polygonaceae *Rumex orientalis*. Die ^1H -chemische Verschiebung des aromatischen Protons $\delta = 7,52$ ppm korreliert mit den für diese Pflanzenstoffe angegebenen Werten (δ 7,46 bzw. 7,65 ppm) ebenso wie mit einer

Tab. I. Korrelation der UV-/VIS-Absorptionen in **F1a** und Hydroxyjuglonen (λ_{max} , nm/0.05 n methanol. KOH).

	MeOH	MeOH/OH ⁻
2-Hydroxyjuglon	409	380 und 470 [9] bzw. 490 [10]
3-Hydroxyjuglon	410	435 [9] und [10]
F1a	410	380 und 480

Tab. II. Zuordnung der ^{13}C -NMR Signale von **F1**.

C-Atom	F1 ^a	Berechnete (C 5-10) und Literaturwerte ^b (C1-4)
1	181,7	183,9
2	162,1	161,2
3	110,4 ^c	108,4
4	191,4	190,0
5	159,2	161,4
6	131,5	134,1
7	144,4	145,9
8	122,5 ^c	119,7
9	138,8 ^d	135,7
10	114,8 ^d	115,0
CH ₃ CO	31,3 ^c	u. 207,4
-CH ₃	20,4 ^c	
-OCH ₃	57,3 ^c	
		57,0 ^b

^a Werte bez. auf CDCl₃/TMS (δ /ppm).

^b C-1,4 bez. auf Juglon [18], C-2,3 bez. auf Cassumunachinon [7].

^c rel. hohe Signalintensitäten aus C-H_x-Gruppierungen.

^d Brückenkopf-C-Atome: sehr intensitätsschwache Signale.

durch additive Substituenteninkremente [13] auf die Protonen des Juglons [14], dessen 6- [15] und 7- [16] methylderivate und 8-Dichloroacetyl-7-methyljuglons [17] abgeschätzten ^1H -Resonanz mit δ 7,59. (Vgl. H ber. f. drei Isomere: $\delta > 8$ ppm, f. zwei Isomere: δ 7,17 und 7,72 ppm.) Zur weiteren Verifizierung der Struktur haben wir das ^{13}C -NMR-Spektrum des Juglons als strukturähnlichster Verbindung mit eindeutig zugeordneten ^{13}C -Signalen [18] herangezogen. Die mit Hilfe additiver Verschiebungskremente auf die aromatischen C-Atome [19] des Juglons berechneten ^{13}C -Verschiebungen der möglichen Isomeren wurden den für **F1** ermittelten δ_{C} -Werten aus der ^1H -breitband-entkoppelten Aufnahme (s.o.) gegenübergestellt. Wie aus Tab. II hervorgeht, lassen sich so die Werte für die aromatischen Ringkohlenstoffe 5–10 der vermuteten Struktur in sehr guter Näherung aus Juglon berechnen. Der Vergleich mit dem Kriterium der besten

Übereinstimmung führt zu der Zuordnung einer 6-Acetyl-7-methyl-Substitution. Die in den Tabellen wiedergegebenen δ_c der Chinonkohlenstoffatome 1–4 resultieren aus dem Spektrenvergleich mit den Literaturdaten des Juglons [18] und des Cassumunachinons [7].

Ein weiterer Befund für das Vorliegen einer *o,o'*-disubstituierten Acetylgruppe ergibt sich aus den ^{13}C -Verschiebungen der Methyl- und Carbonylkohlenstoffe im Acetyl, wenn der Betrachtung des aromatischen Ringes eine Acetophenongrundstruktur zugrundegelegt wird. Nach den Ausführungen von Breitmaier und Bauer [19] unterliegt der Carbonylkohlenstoff sowohl Konjugationseffekten (sterische Abstoßung *o*-substituierter Phenylketone) wie auch dem Einfluß intramolekularer Wechselwirkungen (z. B. H-Brücke im 2-Hydroxyacetophenon). Der von Breitmaier und Voelter [20] erstellte Tabelle der ^{13}C -Verschiebungen substituierter Acetophenone (ACP) ist zu entnehmen, daß sich diese Effekte bei *o,o'*-Methyl- bzw. Hydroxysubstituenten in einer deutlich zunehmenden Entschirmung der Carbonyl- und Methylkohlenstoffe äußern und daß sich die C-1 (ipso)-Verschiebungen des aromatischen C signifikant ändern. Vgl.: 2-Hydroxy-ACP: 204,1/25,4/118,9; 4-Hydroxy-ACP: 197,1/24,8/129,6; 2-Methyl-ACP: 199,0/28,3/136,4; 2,6-Dihydroxy-ACP: 204,5/31,9(!)/108,0; 2,6-Dimethyl-ACP: 205,4/30,5(!)/141,7. Die entsprechenden Signale finden sich in **F1** bei 207,4, 31,3 und 131,5 ppm (s. Tab. II) und sind mit einer *o*-Methyl-, *o'*-Hydroxysubstitution des Acetyls an C-6 in Einklang zu bringen. Der neuen Verbindung kommt somit die Struktur eines 6-Acetyl-5-hydroxy-2-methoxy-7-methyl-1,4-naphthochinons zu. Das Vorkommen von 2-Methoxystypandron in einer *Rhamnus*-Art ist aus chemotaxonomischer Sicht sehr überraschend, da für die durch ihre Anthrachinonführung charakterisierten *Rhamnus*-Arten bisher kein 1,4-Naphthochinonderivat beschrieben ist.

Eine von Tezuka *et al.* [16] beschriebene Artefaktbildung von 2- und 3-Methoxy-7-methyljuglon aus 7-Methyljuglon nach intensiver MeOH-Extraktion bzw. MeOH/ H^+ -Säulenchromatographie an saurem Al_2O_3 kann für das von uns isolierte 2-Methoxystypandron ausgeschlossen werden. Sowohl in Ether- wie auch Chloroformextrakten der Fallaxrinde ist das Naphthochinonpigment dc analysierbar.

F2 wurde aufgrund von Schmp., Mischschmp., und spektroskopischen Daten der freien Verbindung

wie auch des Tetraacetylderivats eindeutig als das erstmalig von uns aus der Rinde von *Rh. catharticus* [3] isolierte Alaternin (2-Hydroxy-Frangula-Emodin) identifiziert, das außerdem als Bestandteil des Glykosidhydrolysats von *Rhamnus alaternus* L. beschrieben ist [vgl. 3]. Das vikariierende Auftreten dieses Pigments in *Rhamnus*-Rinden – es fehlt in den offizinellen *Frangulae cortex* und *Rhamni purshiani cortex* – interessiert möglicherweise vom chemotaxonomischen Blickpunkt aus wie auch als analytische Unterscheidungsmöglichkeit, da es dc durch seine Violettfärbung (Alizarin-Teilstruktur!) nach Bornträger-Reaktion leicht nachweisbar ist.

Experimentelles

Pflanzenmaterial: Handelsware gelagerter Rinde von *Rh. fallax* (*Oreoherzogiae Cortex*). Die Identität der Droge wurde durch morphologische und anatomische Untersuchungen [1] sowie durch den dc-Nachweis des Xanthorhammins sichergestellt.

Geräte: IR, UV, MS, Schmp. s. [3], NMR-Spektren wurden auf einem WM 250 Bruker mit TMS als innerem Standard (^{13}C -NMR bei 32,25 MHz) registriert. Hochauflösende MS: MAT 711/1787; 80 eV; Aufnahmetemp. 100 °C.

DC: DC-Alufolien, Kieselgel 60 (Merck), CHCl_3 -od. Etherextrakt; FM: Cyclohexan-Methylenchlorid-Ethylformiat-Ameisensäure 35:30:30:5, **F1**: R_f 0,7, **F2**: R_f 0,55. FM: CHCl_3 , **F1**: R_f 0,8. FM: Petrol-ether-Ethylacetat-Eisessig 90:5:5, **F2**: R_f 0,22. Det.: methanol. KOH, **F1** rot, **F2** violett.

Isolierung: 1 kg gepulverte Droge wurde mit Diethylether im Soxhlet erschöpfend extrahiert. Nach Eindampfen i.V. wurden ca. 30 g braunes, amorphes Pulver erhalten. Je 10 g Trockenextrakt wurden sc an 300 g Polyamid „Divergan“ mit MeOH eluiert. Die **F1**- und **F2**-haltigen Fraktionen wurden sc an Kieselgel 60 mit CHCl_3 vorgetrennt. Die Reindarstellung erfolgte bei **F1** durch Mehrfach-sc mit Toluol, bei **F2** mit CHCl_3 an Kieselgel 60.

F1 (2-Methoxystypandron): Ausbeute 15 mg. Schmp. 193–194 °C. UV (MeOH): λ_{max} (ϵ) = 230 (11271), 289 (7332), 414 (2912) nm. – IR (KBr): ν 3430, 2930 (chel. OH), 1700 (Ar-CO), 1680, 1630 (Chinon-CO), 1593 (C=C), 1032 (OCH_3) cm^{-1} . – MS (70 eV, DE): m/e = 260 (40,5%, M^+); 245 (49,3% [$\text{M}-\text{CH}_3$] $^+$); 231 (14,1% [$\text{M}-\text{CHO}$] $^+$); 217

(24,9% [M-CH₃CO]⁺); 189 (5,4% [217-CO]); 43 (100% [CH₃CO]⁺). MS-Hochaufl.: gef. 260. 06876, ber. 260. 06848 für C₁₄H₁₂O₅; gef. 245. 04509, ber. 245. 04500 für C₁₃H₉O₅; gef. 231. 06494, ber. 231. 06574 für C₁₃H₁₁O₄; gef. 217. 04979, ber. 217. 05001 für C₁₂H₉O₄. ¹H- u. ¹³C-NMR: s. Ergebnisteil.

Hydrolytische Spaltung von **F1**: 2–3 mg **F1** werden in 1 ml 1N-K₂CO₃-Lsg. (MeOH) 45 min bei 80 °C erwärmt. Anschließend wird mit verd. HCl neutralisiert und das Spaltprodukt **F1a** mit Et₂O ausgeschüttelt. UV: s. Tab. I. ¹H-NMR (CDCl₃/δ/

ppm): 12,57 (OH, chelat.), 7,50 (Ar-H), 6,28 (Chin.-H), 2,57 (Ar-COMe), 2,34 (Ar-Me).

F2 (Alaternin): Ausbeute 10 mg. Exp. Dat. s. [3].

Danksagung

Wir danken Frau G. Dreke, Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin, für die Aufnahmen der ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren und Frau U. Ostwald, Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin, für die Durchführung der MS-Analysen.

Teil der in Vorbereitung befindlichen Dissertation H. Miething, FU Berlin.

- [1] W. Schier, Deutsche Apotheker Ztg. **119**, 527 (1979).
- [2] H. Schilcher, Deutsche Apotheker Ztg. **121**, 1317 (1981).
- [3] H. W. Rauwald u. H. D. Just, Planta Med. **42**, 244 (1981).
- [4] I. Weisgerber, H. Sieper u. F. Korte, Arch. Pharm. **301**, 87 (1968).
- [5] W. Poethke, H. Behrendt u. F. Matschke, Pharmaz. Zentralhalle Dtschld. **102**, 492 (1963).
- [6] W. Poethke u. H. Behrendt, Pharmaz. Zentralhalle Dtschld. **104**, 549 (1965).
- [7] H. Dinter, R. Hänsel u. A. Pelter, Z. Naturforsch. **35 c**, 154 (1980).
- [8] K. T. Finley, in: The chemistry of the quinonoid compounds (S. Patai, ed.), S. 942, Part 2, John Wiley, London 1974.
- [9] I. Singh, R. T. Ogata, R. E. Moore, C. W. Chang u. P. J. Scheuer, Tetrahedron **24**, 6053 (1968).
- [10] St. Berger u. A. Rieker, in: The chemistry of the quinonoid compounds (S. Patai, ed.), S. 215, Part 1, John Wiley, London 1974.
- [11] R. G. Cooke u. L. G. Sparrow, Austr. J. Chem. **18**, 218 (1965).
- [12] M. Sharma, P. Sharma u. S. Rangaswami, Ind. J. Chem. **15 B**, 544 (1977).
- [13] H. Günther, NMR-Spektroskopie, S. 104, G. Thieme Verlag Stuttgart 1973.
- [14] R. E. Moore u. P. J. Scheuer, J. Org. Chem. **31**, 3272 (1966).
- [15] G. Wurm, U. Geres u. H. Schmidt, Arch. Pharm. **314**, 861 (1981).
- [16] M. Tezuka, M. Kuroyanagi, K. Yoshihira u. S. Natori, Chem. Pharm. Bull. **20**, 2029 (1972).
- [17] R. H. Thomson, Naturally Occurring Quinones, Academic Press, London 1971.
- [18] M. Kobayashi, Y. Terui, K. Tori u. N. Tsuji, Tetrahedron Lett. **8**, 619 (1976).
- [19] E. Breitmaier u. G. Bauer, ¹³C-NMR-Spektroskopie, S. 60–70, G. Thieme Verlag, Stuttgart 1977.
- [20] E. Breitmaier u. W. Voelter, ¹³C NMR Spectroscopy, S. 156–158, Verlag Chemie, Weinheim 1974.