

Monogalloylhamamelose aus *Hamamelis virginiana*

Monogalloylhamamelose from *Hamamelis virginiana*

Gerhard Schilling und Alois Keller

Organisch-Chemisches Institut der Universität Heidelberg,
Im Neuenheimer Feld 270, D-6900 Heidelberg

Herrn Prof. Dr. W. Mayer zum 70. Geburtstag gewidmet

Z. Naturforsch. **41c**, 253–257 (1986); received August 28, 1985

Hamamelis virginiana, Tanning Compounds, Furanose/Pyranose Mixture, ^{13}C NMR

By chromatography of the bark extract from *Hamamelis virginiana* a monogalloylhamamelose was isolated. It is shown by ^{13}C NMR spectroscopy that this compound is a complex mixture of isomeric 5-galloylhamamelofuranoses, 2'-galloylhamamelofuranoses and 2'-galloylhamamelopyranoses. The same equilibrium of isomers is obtained by partial hydrolysis of hamamelitannin (**1**). Therefore it is concluded that the monogalloylhamamelose is formed in the bark by hydrolysis of **1** also.

Der im Norden der USA weitverbreitete Hamamelisstrauch (*Hamamelis virginiana*) enthält in seiner Rinde als Hauptbestandteil das Hamamelitannin [1–4] (**1a/1b**). Bei der Chromatographie des Rindenextraktes haben wir nun eine weitere Verbindung isoliert, die sich aufgrund der Zusammensetzung $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_{10}$ als eine Monogalloylhamamelose erwies. Behandelt man **1a/1b** mit verdünnter Salzsäure oder einem sauren Ionenaustauscher, so gelangt man – dies beweisen Analyse, chromatographischer Vergleich und vor allem die NMR-Spektren – zu einer Monogalloylhamamelose, die mit der aus der Rinde isolierten Substanz identisch ist. Wird bei der Hydrolyse von **1a/1b** eine der beiden Galloylgruppen selektiv abgelöst, so kommt als Struktur entweder eine 5-Galloyl- oder eine 2'-Galloylhamamelose in Betracht; erfolgt jedoch die partielle Hydrolyse unspezifisch, so liegen beide Strukturisomere nebeneinander vor. Die 5-Galloylhamamelose kann lediglich ein Anomerenpaar (**2a/2b**), die 2'-Galloylhamamelose jedoch außer den Furanoseformen **4a** und **5a** auch das Pyranosenpaar **6a/7a** im Gleichgewicht ausbilden.

In den ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren der Monogalloylhamamelose absorbieren jeweils vier Signale im Anomerenbereich. Damit ist die Existenz von mindestens vier Isomeren aufgezeigt. Diese Tatsache kann jedoch nicht als schlüssiger Beweis für das alleinige Vorliegen der 2'-Galloylhamamelose (**4–7**) gewertet werden. Sind nämlich die Konzentrationsun-

terschiede zwischen den beiden Strukturisomeren bzw. den Pyranose/Furanoseformen zu groß und entziehen sich damit dem spektroskopischen Nachweis, oder überlagern sich Signale, dann läge in Wirklichkeit ein komplexes Gemisch aus 5- und 2'-Galloylhamamelosen vor.

Dieses Problem, dessen Lösung gleichzeitig die Frage nach der selektiven oder nicht selektiven Ablösbarkeit der Galloylgruppen in **1a/1b** beantworten würde, haben wir an der freien Monogalloylhamamelose und ihren Methylglykosiden mit Hilfe der ^{13}C -NMR-Spektroskopie zu lösen versucht. Zu Vergleichszwecken wurden von **1a/1b** die Derivate **1c–1g** hergestellt, die dazugehörenden Daten sind in Tab. I. zusammengefaßt. Die Zuordnung basiert auf dem Vergleich mit den bekannten Werten der Hamamelose [5], der Ribose [6] und ihrer Methylglykoside sowie der durch Alkylierung und Acetylierung hervorgerufenen Verschiebungseffekte [7, 8].

Die Methylglykoside der Monogalloylhamamelose

Die Methylglykoside können entweder durch partielle Methanolyse (a) von **1c** oder durch direkte Glykosidierung (b) der Monogalloylhamamelose dargestellt werden. Das nach (a) oder (b) hergestellte Produkt besitzt zwar in einer Vielzahl von Laufmitteln einen einheitlichen R_F -Wert, erweist sich aber dennoch als Substanzgemisch, das sich chromatographisch nicht auftrennen ließ. Trotzdem ist eine NMR-spektroskopische Analyse möglich.

Das nach (a) hergestellte Glykosidgemisch zeigt im ^{13}C -NMR-Spektrum vier Signale für anomere

Sonderdruckanforderungen an Dr. G. Schilling.

Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, D-7400 Tübingen
0341–0382/86/0300–0253 \$ 01.30/0

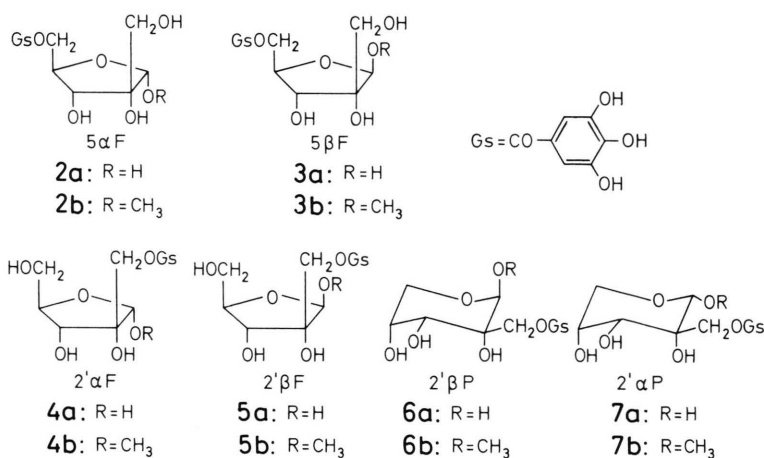
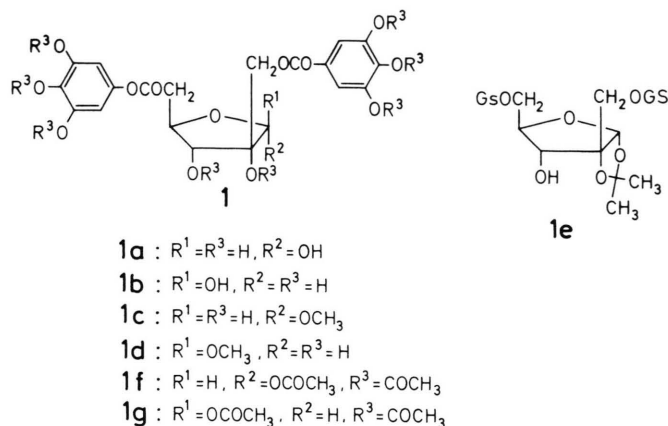


Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

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.



Tab. I. ^{13}C -Chemische Verschiebungen für **1a–1g** bei 20 MHz mit TMS als internem Standard.

	Solvens	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-2'
1a	[D ₆]DMSO	97,25	75,96	71,59	78,79	64,96	66,11
1b	[D ₆]DMSO	101,26	78,79	72,56	79,28	65,11	66,29
1c	[D ₆]DMSO	103,94	76,88	71,03	79,81	64,31	65,70
1d	[D ₆]DMSO	107,12	78,43	71,85	79,88	64,29	65,48
1e	[D ₆]DMSO	105,20	87,87	72,22	78,70	63,48	64,48
1f	[D ₆]Aceton	95,93	83,17	71,96	81,92	63,09	64,88
1g	[D ₆]Aceton	97,97	87,13	73,69	79,97	63,35	64,88

C-Atome (Tab. II). Dabei zeigen die Resonanzen bei $\delta = 107,88$ und $\delta = 107,67$ wesentlich höhere Intensitäten (Tab. III) als die bei 103,45 und 103,67. Dadurch wurde die Differenzierung und Zuordnung erst möglich, obwohl wegen Überlagerung nicht alle Signale identifiziert werden konnten. Die beiden

Tiefeldabsorptionen erwiesen sich, wie der Vergleich mit **1d** und **1g** ergibt, als β -Furanosesignale. Die weitere Zuordnung als **3b** ($5\beta F$) bzw. **5b** ($2'\beta F$) folgt aus der Tatsache, daß bei $\delta = 83,55$ eine Absorption registriert wird, die in ihrer Intensität dem C-1-Signal bei $\delta = 107,45$ entspricht. Verglichen mit

Tab. II. ^{13}C -Chemische Verschiebungen für **2a–6a** und **2b–6b** in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ bei 20 MHz mit TMS als internem Standard.

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-2'
2a	96,88	77,14	70,18	78,38	61,87	62,63
3a	101,89	79,13	71,96	79,51	64,46	66,24
4a	96,88	78,59	^a	81,85	65,76 ^b	
5a	100,76	78,86	72,60	82,55	64,68 ^b	
6a	94,34	^a	66,24	68,99	64,95 ^b 61,17 ^b	
2b	103,99	78,21	70,60	^a	65,70	63,32
3b	107,88	80,26	71,95	80,10	63,32	62,62
4b	103,67	77,35	70,82	80,26	62,62	^a
5b	107,45	78,91	72,38	83,55	62,32	64,94
6b	101,84	74,11	65,97	^a	^a	^a

^a Wegen Überlagerung nicht zugeordnet.^b Signale mit hoher Intensität, nicht zugeordnet.

Tab. III. Isomerenzusammensetzung bei der Monogalloylhamamelose (in %).

Methylglykoside hergestellt aus		Monogalloylhamamelose	
1d	Monogalloylhamamelose		
2b 13,5	52,0	14,0 49,0	63,0
3b 38,5			
4b 13,6	48,0	7,0 21,0 9,0 —	37,0
5b 34,4			
6b —			
7b —			
2a ~ 35–40	71–76		
3a ~ 36			
4a ~ 5–10	23–28		
5a ~ 7			
6a ~ 10			
7a —			

1d ist dieses Signal nach tieferem Feld verschoben, ein Effekt, der nur bei Entacylierung an C-5 auftreten kann. Die verbleibenden Signale bei $\delta = 103,99$ und $\delta = 103,67$ entsprechen **2b** ($5\alpha\text{F}$) und **4b** ($2'\alpha\text{F}$). Diese Zuordnung ist durch Vergleich mit **1c** und **1f** getroffen, wobei berücksichtigt wurde, daß sich bei Umkehr der Konfiguration an C-1 und gleichzeitiger Entacylierung an C-2' sterische Effekte kompensieren können.

Das nach (b) hergestellte Glykosidgemisch unterscheidet sich vor allem in den Konzentrationen der gebildeten Glykoside (Tab. III) und ein zusätzliches Anomerensignal bei $\delta = 101,84$, das durch Vergleich mit dem C-1-Wert von Methyl- β -D-hamamelopyranosid als β -Pyranose-Signal identifiziert wurde. Damit sind auch letzte Zweifel an der Zuordnung der beiden Furanosen **2a** und **2b** beseitigt; eine Zuweisung als Pyranosesignal war nämlich wegen der geringen ΔS -Werte nicht völlig ausgeschlossen.

Die Frage nach der selektiven Abspaltung einer Galloylgruppe in **1** kann nun beantwortet werden. Ausgehend von **1d** werden bei der partiellen Methanolyse beide Galloylgruppen gleich leicht abgelöst, denn die Auswertung des Integrals liefert ein Strukturisomerenverhältnis von etwa 1:1 (Tab. III). Bei den Glykosiden der Monogalloylhamamelose, die direkt aus der Rinde gewonnen wurden, überwiegen jedoch die 5-Galloyl-Isomeren. Zwangsläufig folgt hieraus, daß auch bei der freien Monogalloylhamamelose das gleiche Strukturisomerenverhältnis von 5-Galloyl- und 2'-Galloyl-Verbindungen vorliegen muß. Lediglich innerhalb der Strukturisomeren kann sich die Gleichgewichtszusammensetzung bezüglich des α/β - bzw. des Furanosen/Pyranosen-Verhältnisses noch ändern, denn diese Gleichgewichte hängen stark von den Reaktionsbedingungen ab.

Die freie Monogalloylhamamelose

Das ^{13}C -NMR-Spektrum (Tab. II) zeigt bei $\delta = 101,89$, 100,76, 96,88 und 94,34 die Signale für anomere C-Atome im Verhältnis 0,8:0,1:0,0:0,2. Durch den Vergleich mit der Hamamelose, der D-Ribose und **1a/1b** wurden die drei tieffeldigen Absorptionen als Furanosesignale und das vierte als Pyranosesignal erkannt. Die weitere Differenzierung war wieder über die Intensitätsunterschiede möglich, eine vollständige Zuordnung war jedoch, wie auch schon bei den Methylglykosiden, wegen Überlagerung von Signalen nicht möglich. Trotzdem erhält man weitere Informationen: Man findet in der Signalgruppe mit den hohen Intensitäten keine Absorptionen mit δ -Werten > 80 . Folglich handelt es sich um die beiden 5-Galloylhamamelosen **2a** ($5\alpha\text{F}$) und **3a** ($5\beta\text{F}$). Zu diesem Ergebnis kommt man auch über den Vergleich mit den entsprechenden, bereits zugeordneten Methylglykosiden **2b** und **3b**. Das letzte Furanosesignal bei $\delta = 100,76$ entspricht damit der 2'-Galloylhamamelose **5a** ($2'\beta\text{F}$).

Mit der Zuordnung des Anomerenbereichs könnte nun die vollständige Gleichgewichtszusammensetzung der Monogalloylhamamelose angegeben werden, wenn nicht zwei Signale im Bereich $\delta = 82,5$ auftreten würden. Damit muß neben **5a** ($2'\beta\text{F}$) notwendigerweise auch **4a** ($2'\alpha\text{F}$) in der Gleichgewichtsmischung vorhanden sein, denn nur dann können als Folge der Entacylierung zwei C-4-Signale bei 82,58 und 82,85 absorbieren. Die Absorption von C-1 für **4a** kann über eine Betrachtung der Gleichgewichts-

zusammensetzung ermittelt werden. Die Signale bei $\delta = 101,89$ und $\delta = 96,88$ entsprechen den beiden 5-Galloylhamamelosen **2a** und **3a**, sie würden folglich im Isomerengemisch mit etwa 83% vorliegen, also um etwa 20% höher als im Glykosidgemisch. Da aber die Glykosidierung das Strukturisomerenverhältnis nicht ändert, muß man annehmen, daß **4a** zusammen mit **2a** bei $\delta = 96,88$ absorbiert. Exakte Angaben zur Gleichgewichtszusammensetzung sind nicht möglich. Bei den in Tab. III angegebenen Werten wurde davon ausgegangen, daß **4a** und **5a** in etwa gleichen Konzentrationen vorliegen. Diese Annahme basiert auf den ungefähr gleichen Intensitäten der C-4-Atome dieser beiden Komponenten.

Es stellt sich nun natürlich die Frage, ob auch bei der Hydrolyse von Hamamelitannin (**1a/1b**) eine Galloylgruppe leichter abgelöst wird. Tatsächlich ändert sich bei der durch Hydrolyse hergestellten Monogalloylhamamelose das Strukturisomerenverhältnis nicht wesentlich. Wir vermuten deshalb, daß auch in der Pflanze die Monogalloylhamamelose auf hydrolytischem Wege aus Hamamelitannin entsteht.

Experimenteller Teil

Die ^1H -NMR-Spektren wurden an einem HFX90-Gerät der Fa. Bruker, die Breitband- und off resonance entkoppelten ^{13}C -NMR-Spektren an einem CFT20 der Fa. Varian aufgenommen. Die optischen Drehwerte wurden an einem Perkin-Elmer-141-Polarimeter und die Schmelzpunkte (nicht korrigiert) mit einem Monoskop (Bock) gemessen. Die chromatographischen Trennungen erfolgten an Cellulosepulver MN 2100 (Machery, Nagel & Co.), Sephadex G25 (Pharmacia) und an Kieselgel (Malinckrodt).

Monogalloylhamamelose **2a–6a**

a) 25 g eines Aceton/Wasserextrakts aus der zerkleinerten Rinde von *Hamamelis virginiana* werden in 200 ml Wasser aufgenommen und 30 h mit Essigester extrahiert, wobei Hamamelitannin (**1**) in die organische Phase übergeht und hieraus kristallin (2 g) erhalten werden kann. Die wässrige Phase enthält die Monogalloylhamamelose (R_F 0,59), Spuren von Gallussäure (R_F 0,48) und Catechingerbstoffe (R_F 0,0–0,6). Zur weiteren Reinigung wird zuerst an Cellulose/Wasser, dann an Sephadex G25 chromatographiert.

b) 6 g (0,011 mol) **1a/1b** in 120 ml Wasser werden **3d** bei 50 °C mit Ionenaustauscher I (Merck) ge-

rührt. Danach filtriert man ab, engt die Lösung ein und chromatographiert an Cellulose/Wasser.

1,1 g nach a) bzw. 2,9 g nach b) als amorphe, farblose Substanz vom R_F 0,59 (1 mol $^{-1}$ Essigsäure), 0,29 (Essigester/Essigsäure/Wasser 313), 0,70 (*n*-Butanol/Ethanol/Wasser 514); $\alpha_{578}^{25} = +10,4$ ($c = 2$, Wasser).

^1H -NMR ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): $\delta = 6,98, 7,01, 7,03$ (H arom.), 4,95, 5,04, 5,06, 5,12 (1-H), 3,3–4,5 (Ringprotonen).

$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_{10}$ (332,5)

Ber.: C 46,99, H 4,86;

gef.: C 46,75, H 4,99.

Methyl-monogalloylhamameloglykoside (**2b–6b**)

a) 0,5 g **1d** (9,5 mmol) werden 24 h in 50 ml methanolischer Salzsäure (0,24%) bei 60 °C gehalten, dann mit Natriummethylatlösung neutralisiert, eingedampft und an Cellulose mit 1 N Essigsäure getrennt.

R_F (1 N Essigsäure) 0,64; man erhält 0,17 g (47,8%) als farblosen Sirup.

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$

Ber.: C 48,56, H 5,24;

gef.: C 48,73, H 5,47.

b) 0,57 g **2a–6a** werden 20 h in 100 ml methanolischer HCl (0,3%) am Rückfluß gekocht. Es entsteht **2b–6b** vom R_F 0,64 neben Spuren von Gallussäure-Methylester. Nach Reinigung über Cellulose/1 N Essigsäure erhält man 0,38 g (64%) **2b–6b**.

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ (346,3)

Ber.: C 48,56, H 5,24, OCH_3 8,96;

gef.: C 48,72, H 5,51, OCH_3 9,10.

α - und β -Hamamelitannin-methylglykosid **1c, 1d**

3 g (5,9 mmol) **1a/1b** werden mit 75 ml methanolischer Salzsäure (0,21%) 5 h am Rückfluß gekocht, danach mit Natriummethylatlösung neutralisiert, zum Trocknen gebracht und zunächst an Cellulose/Wasser getrennt: R_F (1 N Essigsäure): 0,64 (**2b–6b**); 0,55 (Gallussäuremethylester); 0,51 (Monogalloylhamamelose), 0,42 (Gallussäure); 0,39 (**1d**); 0,36 (**1c**); 0,29 (**1a/1b**).

1c und **1d** erhält man als Mischfraktion; zur weiteren Trennung wird an Sephadex G25/Wasser chromatographiert.

0,27 g (10%) **1d** aus Wasser vom Schmp. 208 °C, $\alpha_{578}^{25} = -29,4$ °C ($c = 2$ in Aceton).

$^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$) δ : 4,73 (1-H), 4,5–3,5 (m, 6H), 3,23 (OCH_3), 7,0 (2H arom.), 9,21 (2H OH arom.), 8,92 (1H OH arom.).

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (516,4)

Gef.: C 48,48, H 4,67, OCH_3 6,00;

gef.: C 48,97, H 4,80, OCH_3 6,03.

0,034 g ($\sim 2\%$) **1c** aus Wasser vom Schmp. 146–148 °C, $\alpha_{578}^{25} = +26,8$ ($c = 2$ in Aceton).

$^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$) δ : 4,86 (1-H), 4,0–4,6 (m 6H), 3,41 (OCH_3), 7,0 (H arom.), 9,6 (OH arom.).

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (516,4)

Gef.: C 48,86, H 4,83, OCH_3 6,03.

α -1,2-Isopropyliden-hamamelitannin **1e**

0,55 g (1,1 mmol) **1a/1b** in 50 ml absolutem Aceton werden mit 0,3 g wasserfreiem Kupfersulfat 20 h am Rückfluß gekocht. Danach wird filtriert, die Lösung eingengt und mit Aceton/Wasser 2:1 aufgenommen. 0,34 g (57%) vom Schmp. 140–143 °C, $\alpha_{578}^{25} = +16,7$ °C ($c = 2$ in Aceton).

$^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$) δ : 7,05, 7,02 (H arom.), 5,72 (1-H), 3,6–4,8 (H Ring), 1,48, 1,35 (CH_3).

$\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (542,4)

Ber.: C 50,93, H 4,83;

gef.: C 51,07, H 4,98.

Nonaacetyl- α -hamamelitannin **1g**

0,9 g (1,8 mmol) **1a/1b** werden mit Acetanhydrid/Pyridin 24 h bei 40 °C acetyliert. Das Reaktionsgemisch wird an Kieselgel mit Toluol/Aceton 6:1 chromatographiert. Nach Einengen der Fraktion vom R_F 0,41 erhält man aus Methanol/Wasser 0,7 g (53%) **1g** vom Schmp. 73–75 °C und $\alpha_{578}^{20} = -4,67$ °C ($c = 1$ in Aceton).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,80, 7,72 (H arom.), 6,53 (1-H), 5,60 (3-H; $J = 7,8$ Hz), 5,17, 4,83 (CH_2 ; $J = 12,6$ Hz), 4,7–4,3 (3H), 2,28 (6 \times), 2,14, 1,97, 1,94 (9 COCH_3).

$\text{C}_{38}\text{H}_{28}\text{O}_{23}$ (862,7)

Ber.: C 52,91, H 4,44, COCH_3 44,91;

gef.: C 53,14, H 4,59, COCH_3 44,58.

Nonaacetyl- β -hamamelitannin **1g**

Die Fraktion vom R_F 0,36 enthält 0,43 g (28%) **1f** vom Schmp. 83–85 °C (aus Methanol/Wasser) und $\alpha_{578}^{20} = +37,2$ °C ($c = 2$ in Aceton).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,81, 7,85 (H arom.), 6,64 (1-H), 5,52 (3-H; $J = 4,2$ Hz), 5,03, 4,64 (CH_2 ; $J = 12,6$ Hz), 4,8–4,4 (3H), 2,35 (4 \times), 2,27 (2 \times), 2,17 (2 \times), 2,12 (9 COCH_3).

$\text{C}_{38}\text{H}_{28}\text{O}_{23}$ (862,7)

Ber.: C 52,91, H 4,44, COCH_3 44,91;

gef.: C 53,02, H 4,70, COCH_3 44,95.

[1] O. Th. Schmidt, Liebigs Ann. Chem. **476**, 250 (1929).

[2] O. Th. Schmidt und C. C. Weber-Molster, Liebigs Ann. Chem. **515**, 43, 65 (1935).

[3] O. Th. Schmidt und K. Heintz, Liebigs Ann. Chem. **515**, 77 (1935).

[4] W. Mayer, W. Kunz und F. Löblich, Liebigs Ann. Chem. **688**, 232 (1965).

[5] G. Schilling und A. Keller, Liebigs Ann. Chem. **1977**, 1475.

[6] E. Breitmaier, G. Jung und W. Voelter, Chimia **26**, 136 (1972).

[7] K. D. Dalling und D. M. Grant, J. Am. Chem. Soc. **89**, 6612 (1967).

[8] D. E. Dorman und J. D. Roberts, J. Am. Chem. Soc. **92**, 1355 (1970).