



Carotenylflavone und Carotenylisoflavone

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Dipl.-Chem. Nicole Kiesendahl

aus Düsseldorf

Düsseldorf, Dezember 2008

Gedruckt mit der Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. H.-D. Martin
Koreferent: Prof. Dr. T. J. J. Müller

Tag der mündlichen Prüfung: 29.01.09

Herrn Prof. Dr. H.-D. Martin danke ich für die Vergabe des Themas, den mir gewährten Freiraum zur Gestaltung dieser Arbeit sowie für seine Anregungen und stete Hilfsbereitschaft.

Teile der Arbeit wurden veröffentlicht in:

Carotenylflavonoids, a novel group of potent, dual-functional antioxidants

S. Beutner, S. Frixel, H. Ernst, T. Hoffmann, I. Hernandez-Blanco, C. Hundsdoerfer, N. Kiesendahl, S. Kock, H.-D. Martin, B. Mayer, P. Noack, A. Perez-Galvez, G. Kock, R. Scherrers, W. Schrader, S. Sell, W. Stahl, *ARKIVOC* **2007** (viii), 279-295

Abkürzungen

AIBN	Azo-bis-isobutyronitril
AMVN	2,2'-Azobis-(2,4-dimethylvaleronitril)
AU	arbitrary units
BF ₃ ·Et ₂ O	Bortrifluoriddiethyletherat
Car	Carotinoid
CHL	Chlorophyll
d	Dublett (NMR)
dd	Dublett von Dubletts (NMR)
DAD	Dioden Array Detektor
DC	Dünnschichtchromatographie
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyano- <i>p</i> -benzochinon
Deform.	Deformationsschwingung (IR)
DMF	Dimethylformamid
DMS	Dimethylsulfid
DMSO	Dimethylsulfoxid
F	Flavonoid
FAB	Fast Atom Bombardement (Massenspektrometrie)
GGDP	Geranylgeranyldiphosphat
<i>J</i>	Kopplungskonstante (NMR)
<i>k_q</i>	Geschwindigkeitskonstante für physikalisches Quenchen
<i>k_r</i>	Geschwindigkeitskonstante für chemische Reaktion
<i>m</i>	<i>meta</i> -Position
m	Multiplett (NMR)
mAU	milli arbitrary units
min	Minute
<i>N</i>	³ <i>J</i> + ⁵ <i>J</i> (NMR)
NBA	3-Nitrobenzylalkohol
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
<i>o</i>	ortho-Position
<i>p</i>	para-Position

Abkürzungen

PDT	Photodynamische Therapie
q ⁵	Quintett (NMR)
R _f	Retentionsfaktor
RT	Raumtemperatur
s	Singulett (NMR)
s (als Einheit)	Sekunde
Sdp.	Siedepunkt
Sens	Sensibilisator
Smp.	Schmelzpunkt
t	Triplett (NMR)
TEP	Triethylphosphit
TMOF	Trimethylorthoformiat
TTN	Thallium(III)-nitrat
Valenz	Valenzschwingung (IR)

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG.....	1
1.1 Carotinoide: Vorkommen, Aufbau und Funktion	4
1.2 Flavonoide: Vorkommen, Aufbau und Funktion	13
2 PROBLEMSTELLUNG	24
3 HAUPTTEIL.....	29
3.1 Syntheseplanung	29
3.2 Flavonsynthesen.....	34
3.3 Synthese der Methoxy-Flavone	40
3.3.1 Synthese des Flavons 53.....	40
3.3.2 Synthese der Flavone 66 und 70.....	42
3.4 Synthese der Methoxyflavonphosphonate.....	44
3.4.1 Synthese des 5-Methoxyflavonphosphonats 55	44
3.4.2 Synthese des 6- und des 7-Methoxyflavonphosphonats.....	45
3.5 Synthese der Carotenylflavone.....	47
3.5.1 Synthese der methoxylierten Carotenylflavone.....	47
3.5.2 Entfernen der Methyl-Schutzgruppe	48
3.5.3 Schutzgruppenwechsel am 5-Methoxyflavonphosphonat 55	51
3.6 Synthese des 5-Hydroxy-4'-methylflavons 77	56
3.7 Isoflavonsynthesen.....	57
3.7.1 TTN-Route	57
3.7.2 Synthese der Methoxy-Isoflavone	61
3.7.2.1 Sythese der Isoflavone 82 und 84.....	61
3.7.3 Deoxybenzoin-Route	83

3.7.4 Synthese der Hydroxy-Isoflavone	88
3.7.4.1 Synthese des 6-Hydroxy-4'-methylisoflavons 97	88
3.7.4.2 Synthese des 7-Hydroxy-4'-methylisoflavons 100	91
3.7.4.3 Synthese des 8-Hydroxy-4'-methylisoflavons 104	92
3.7.4.4 Synthese des 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavons 107	94
3.7.4.5 Synthese des 5,7-Dihydroxy-4'-methylisoflavons 110	95
3.7.5 Synthese der Benzoyl-4'-methylisoflavone	95
3.7.5.1 Synthese des 7-Benzoyl-4'-methylisoflavons 111	96
3.7.5.2 Synthese des 7,8-Dibenzoyl-4'-methylisoflavons 112	96
3.7.6 Synthese der Benzoylisoflavonphosphate	97
3.7.6.1 Synthese des 7-Benzoylisoflavonphosphonats 114	97
3.7.6.2 Synthese des 7,8-Dibenzoylisoflavonphosphonats 116	98
3.7.7 Synthese der hydroxylierten Carotenyliisoflavone 34 und 117	98
3.7.7.1 Synthese des 4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-7-hydroxyisoflavons 34	98
3.7.7.2 Synthese des 4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-7,8-dihydroxyisoflavons 117	100

3.8 Untersuchung des antioxidativen Potentials diverser Flavonoide

und Carotenyflavonoide..... 101

3.8.1 Untersuchungsmethode (Cumol - / Cumolhydroperoxid-Assay).....	101
3.8.2 Durchführung der Messungen	107
3.8.3 Kalibriermessung.....	108
3.8.4 Vermessung der wirkstoffhaltigen Systeme	111
3.8.4.1 Wirkstoff: 5-Hydroxy-4'-methylflavon 77.....	111
3.8.4.2 Wirkstoff: 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon 100	113
3.8.4.3 Wirkstoff: 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon 107	115
3.8.4.4 Wirkstoff: 4'- β -C ₂₅ - Caroteryl-5- hydroxyflavon 60.....	116
3.8.4.5 Wirkstoff: 4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-7-hydroxyisoflavon 34	118
3.8.4.6 Wirkstoff: β -Carotin 7	120
3.8.4.7 Vergleich der Wirkstoffe	121
3.8.5 Quantitative Betrachtung des antioxidativen Potentials der untersuchten	
Wirkstoffe.....	122

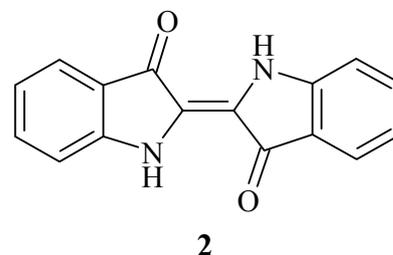
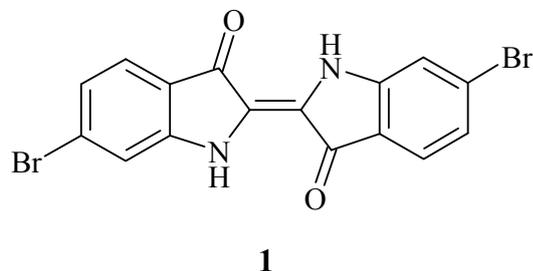
3.8.5.1 Inhibitionszeit-Methode nach Scherrers.....	123
3.8.5.2 Konzentrationsabhängigkeit der Inhibitionszeiten diverser Antioxidantien	135
3.8.5.3 Vergleich der antioxidativen Potentiale aller untersuchten Substanzen bei einer Wirkstoffkonzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	137
3.8.5.4 Flächen-Relations-Methode.....	141
3.8.5.5 Vergleich der Cumolhydroperoxidationshemmung aller untersuchten..... Systeme bei einer Wirkstoffkonzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	150
4 ZUSAMMENFASSUNG.....	154
4 SUMMARY	159
5 EXPERIMENTALTEIL	164
5.1 Allgemeines	164
5.2 Danksagungen.....	166
5.3 Darstellung der Methoxy-4'-methylflavone	167
5.3.1 Darstellung des 5-Methoxy-4'-methylflavons 53.....	167
5.3.2 Darstellung des 6-Methoxy-4'-methylflavons 66.....	175
5.3.3 Darstellung des 7-Methoxy-4'-methylflavons 70.....	183
5.4 Darstellung des 5-Benzoylflavonphosphonats 59	189
5.4.1 Darstellung des 5-Methoxyflavonphosphonats 55	189
5.4.2 Darstellung des 5-Benzoylflavonphosphonats 59	195
5.5 Darstellung des 4'-β-C₂₅- Carotenyl-5- hydroxyflavons 60	201
5.6 Darstellung des 5-Hydroxy-4'-methylflavons 77	205
5.7 Darstellung der Methoxy-4'-methylisoflavone	208
5.7.1 Darstellung des 5-Methoxy-4'-methylisoflavons 82.....	208
5.6.2 Darstellung des 6-Methoxy-4'-methylisoflavons 84.....	209

5.8 Darstellung der Hydroxy-4'-methylisoflavone	211
5.8.1 Darstellung des 6-Hydroxy-4'-methylisoflavons 97	211
5.8.2 Darstellung des 7-Hydroxy-4'-methylisoflavons 100	213
5.8.3 Darstellung des 8-Hydroxy-4'-methylisoflavons 104	219
5.8.4 Darstellung des 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavons 107	220
5.8.5 Darstellung des 5,7-Dihydroxy-4'-methylisoflavons 110	226
5.9 Darstellung der Benzoyl-4'-methylisoflavone	229
5.9.1 Darstellung des 7-Benzoyl-4'-methylisoflavons 111	229
5.9.2 Darstellung des 7,8-Dibenzoyl-4'-methylisoflavons 112.....	232
5.10 Darstellung der Benzoylisoflavonphosphonate.....	235
5.10.1 Darstellung des 7-Benzoylisoflavonphosphonats 114.....	235
5.10.2 Darstellung des 7,8-Dibenzoylisoflavonphosphonats 116	241
5.11 Darstellung der 4'-β-C₂₅- Carotenylhydroxyisoflavone	247
5.11.1 Darstellung des 4'- β -C ₂₅ -Carotenyl-7-hydroxyisoflavons 34	247
5.11.2 Darstellung des 4'- β -C ₂₅ -Carotenyl-7,8-dihydroxyisoflavons 117	251
6 LITERATUR	253

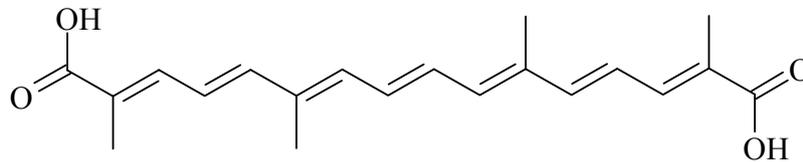
1 Einleitung

Farben und Farbstoffe - auf den ersten Blick werden sie meist mit rein visuellen und ästhetischen Aspekten in Verbindung gebracht – aber das trifft bei weitem nicht die Gesamtheit ihrer Eigenschaften! Vermittelt die Natur auch stets visuelle Eindrücke dank ihrer Farbvielfalt im Tier- und Pflanzenreich, so zeigt sich doch bei genauerem Hinsehen, dass auch sie ihre Farben und Farbstoffe keineswegs willkürlich oder nur um der Ästhetik willen einsetzt. Vielmehr werden sie mit ganz bestimmten, zunächst optischen Funktionen verknüpft, wie z. B. der Schutzwirkung von Tarnfarben im Tierreich, oder der für viele Insekten anziehenden Wirkung der Lockfarben von Blüten und Früchten. Nicht zuletzt ist noch die Signalfunktion bestimmter Farben zu erwähnen. Viele dieser optischen Funktionen hat sich die Menschheit von alters her zunutze gemacht und Farbstoffe zum verschönern, markieren, manipulieren kurz funktionalisieren ihrer Umwelt eingesetzt, was durchaus noch in die Gegenwart hineinreicht. So sind auch heutzutage bestimmte Farbtöne noch mit bestimmten Impressionen und Riten verknüpft.

Allerdings treten mittlerweile zahlreiche synthetische Farbstoffe an die Stelle der Naturfarbstoffe, die vor mehr als 4000 Jahren für die Färberei entdeckt wurden, wie beispielsweise der antike Purpur **1**, der in einem aufwändigen Verfahren aus der Purpurschnecke gewonnen wurde, oder der Indigo **2**, der in einer Vielzahl von Pflanzen in Form des Glucosids Indican auftritt.^[1,2] So färbten z. B. die alten Ägypter ihre Mumientücher mit Hilfe der Küpenfärbetechnik indigoblau.

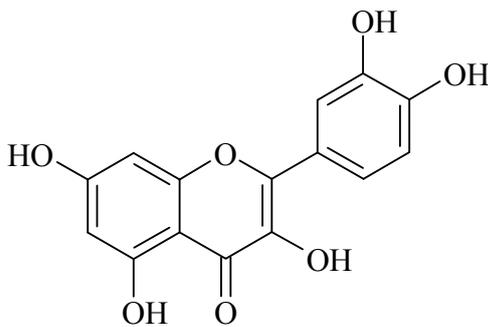


Zur Gelbfärbung nutzten sie einen weiteren Naturfarbstoff, das Crocetin **3** (in Crocus sativus, einer Krokusart, die zur Safrangewinnung kultiviert wird), welches zur Substanzklasse der Carotinoide gehört.^[3]

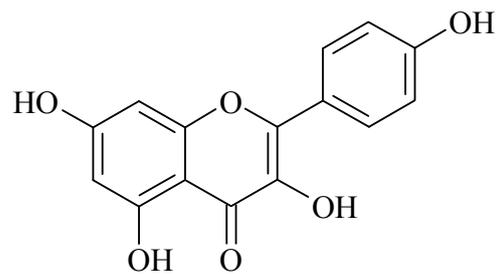


3

Im Mittelalter wurden dann die zu den Flavonoiden (lat. *flavus*, gelb) zählenden Gelbfarbstoffe Quercetin **4** und Kämpferol **5** sowie Luteolin häufig zum Färben und Drucken verwendet.^[2]



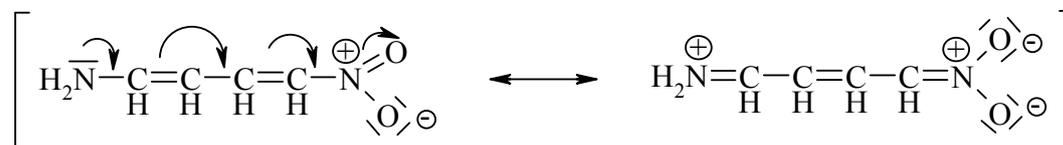
4



5

Die Farbigkeit der Farbstoffe basiert dabei auf ihrer Struktur. Damit eine Substanz farbig erscheinen kann, muss sie Strahlung im sichtbaren Bereich (ca. 400 – 750 nm) des elektromagnetischen Spektrums absorbieren, wobei die Komplementärfarbe der absorbierten Farbe wahrgenommen wird. Absorbiert also eine Verbindung z. B. im blauviolettten Bereich, dann erscheint sie gelb. Bei dieser Form der Energieaufnahme werden einzelne Elektronen im Molekül von ihrem höchsten besetzten Energieniveau in ein unbesetztes höheres Energieniveau angeregt. Hierbei muss es sich um energetisch leicht anzuregende Elektronen handeln, was für nichtbindende (n)- sowie π -Elektronen zutrifft, oder mit anderen Worten für Elektronen aus freien Elektronenpaaren oder Mehrfachbindungen. Damit der Elektronenübergang vom höchsten besetzten ins

niedrigste unbesetzte (antibindende) π^* -Orbital ($n \rightarrow \pi^*$ - bzw. $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergänge) durch sichtbares Licht initiiert ist, darf die Energiedifferenz zwischen diesen beiden Zuständen nicht allzu groß sein, was z. B. im Molekül durch Konjugation von Doppelbindungen erreicht wird. Es tritt eine gewisse Delokalisation der π -Elektronen ein, wodurch die Energiedifferenz zwischen π - und π^* - Niveau geringer wird, so dass die Anregung weniger Energie erfordert und die Absorption in den längerwelligen z. B. sichtbaren Bereich verschoben wird. Dabei wächst die Absorptionswellenlänge mit zunehmender Anzahl der konjugierten Doppelbindungen. Ab etwa acht konjugierten Doppelbindungen erscheint ein System farbig. Solche, dem Molekül Farbe verleihenden Struktureinheiten wie beispielsweise konjugierte Doppelbindungen oder aromatische Ringe werden als Chromophore bezeichnet. Oft können die π -Elektronen eines Chromophors noch mit den freien Elektronenpaaren von verschiedenen Substituenten wie -Hydroxy, -Amino, -Alkoxy oder -Thiol, sogenannten Auxochromen (Farbverstärker), in Wechselwirkung treten, wodurch die Delokalisation wächst, die Energiedifferenz zwischen Grund- und angeregtem Zustand abnimmt und letztlich die Absorptionsbande an Wellenlänge und Intensität zunimmt. Diese farbvertiefende Wirkung bezeichnet man als bathochromen Effekt (hingegen hypsochromer Effekt: Verschiebung der Absorptionsbande zu kürzeren Wellen). Bezüglich der Intensität entspricht das den hyper- bzw. den hypochromen Effekten. Besonders ausgeprägt ist der Effekt dann, wenn sich auf einer Seite des π -Systems ein π -Donor (z. B. -Amino-Gruppe) und auf der anderen Seite ein π -Akzeptor (z. B. -Nitro-Gruppe) befindet, wie z. B. bei Verbindungen folgendem Typs:



Allerdings übernehmen die natürlichen Farbstoffe, welche sich u. a. in folgende Klassen einteilen lassen: Porphyrinfarbstoffe, Chinone, Carotinoide, Flavonoide und Anthocyane in den Pflanzen neben der rein visuellen Farbgebung noch weit mehr Funktionen, die mit ihrer Struktur zusammenhängen und zum Begriff des funktionellen Farbstoffes führen.

Die Erforschung und Nutzung eben dieser Funktionalität für technologische und biologische Zwecke steht heutzutage im Vordergrund der Farbstoffforschung und stellt einen wichtigen Aspekt bei der Entwicklung neuer Farbstoffe dar. So finden sie unter anderem bei der optischen Datenspeicherung, in der Lasertechnologie, in der Photovoltaik, bei der Entwicklung von Photosensibilisatoren, in der photodynamischen Therapie (PDT) sowie in der chemischen und biologischen Analytik und nicht zuletzt in photobiologischen bzw. biochemischen Vorgängen in pflanzlichen und tierischen Organismen ihre Einsatzgebiete.^[4,5]

In pflanzlichen Organismen dienen z. B. die Carotinoide als Lichtfilter und sind an der Energieübertragung bei der Photosynthese beteiligt.^[3] Darüber hinaus übernehmen einige Naturfarbstoffe wie gerade die Carotinoide und Flavonoide aber auch Schutzfunktionen gegenüber Licht und dessen teils schädigende Wirkung in den Organismen. So stellen die Flavonoide durch Absorption im UV-A- und UV-B- Bereich gute Lichtschutzsubstanzen dar.^[6-8] Außerdem spielen beide Farbstoffklassen als Antioxidantien bzw. Radikalfänger eine wichtige Rolle, worauf unter Punkt 1.1 und 1.2 näher eingegangen wird.

1.1 Carotinoide: Vorkommen, Aufbau und Funktion

Ihren Namen verdankt die Substanzklasse der Carotinoide dem Carotin, das in der Mohrrübe, aber auch in zahlreichen anderen Pflanzen und tierischen Organismen sowie im menschlichen Körper vorkommt. Allgemein finden sich Carotinoide in Blütenblättern (z. B. im Krokus oder im Stiefmütterchen), im Herbstlaub, in zahlreichen Früchten (Karotten, Mais, Tomaten, Hagebutten, Paprika und Zitrusfrüchte), in Pilzen, Algen, Bakterien und Tieren (wie Hummer, Krabben, Forellen, Lachse und Flamingos). Die Biosynthese der Carotinoide findet jedoch ausschließlich in Pflanzen statt, wobei ausgehend vom Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA, "aktivierte Essigsäure") nach einigen das Kohlenstoffgerüst generierenden Reaktionsschritten letztlich ihr häufig vorliegendes C₄₀-Grundgerüst aus zwei C₂₀-Bausteinen, dem Geranylgeranyldiphosphat (GGDP) gebildet wird. Das GGDP dimerisiert in einer Kopf-an-Kopf-Kondensation (die Diphosphat-Gruppe stellt den jeweiligen Kopf und die Kohlenstoffkette den jeweiligen

Schwanz des Moleküls dar) zum Phytoen, dem C₄₀-Carotinoidgerüst. Nach sukzessiver Dehydrierung und optionalem Ringschluss werden dann die verschiedenen Carotinoide zugänglich, wie (Abb.1)^[9,10] für Lycopin **6** und β -Carotin **7**, den Hauptbestandteil des Carotins (neben seinem α - und γ -Isomeren) zeigt.

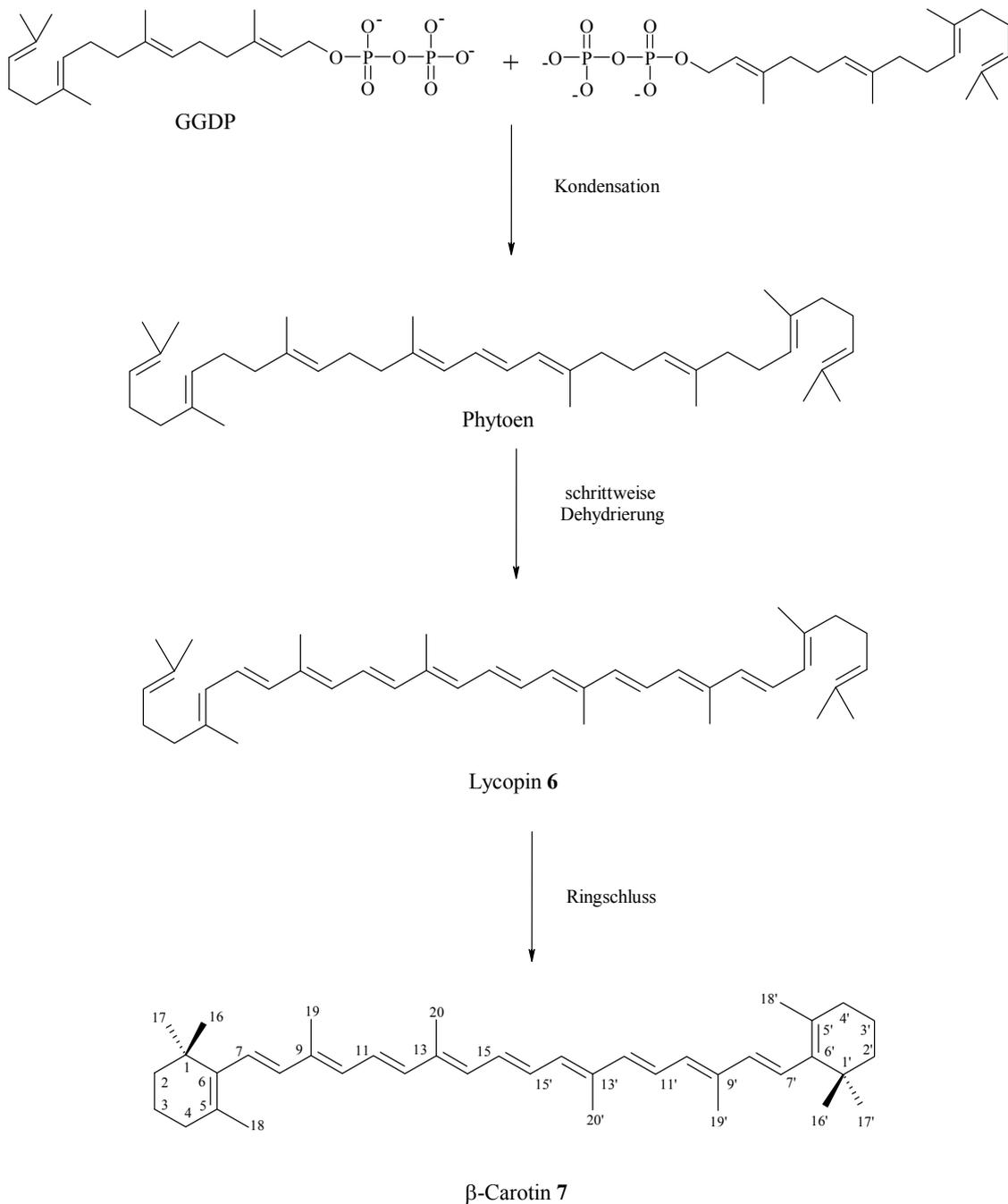
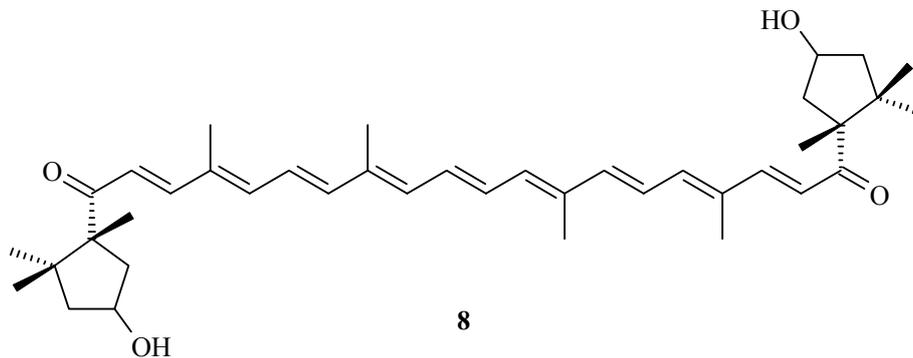


Abb. 1: Ausschnitt aus der Carotinoidbiosynthese am Beispiel von Lycopin **6** und β -Carotin **7**

Der Farbstoffcharakter der Carotinoide (überwiegend gelb, orange oder rot) beruht auf ihrer Polyen-Struktur mit meist 11-12 konjugierten Doppelbindungen.^[3] Bezüglich ihrer Polarität und damit Wasserlöslichkeit lassen sich die Carotinoide zunächst in zwei Klassen einteilen:

- Carotine, apolare reine Kohlenwasserstoffe (z. B. β -Carotin **7**)
- Xanthophylle, polare sauerstoffhaltige Gruppen tragende Derivate (z. B. Capsorubin **8** in roter Paprika)



Bei der Mehrzahl der Carotinoide handelt es sich jedoch um wasserunlösliche Substanzen, weshalb die natürlichen im Tierreich vorkommenden Vertreter immer mit Lipiden verbunden sind, denen sie ihre Farbe verleihen. Sie finden sich z. B. im Körperfett, in der Milch, in der Nebennierenrinde, im Eidotter, in der Retina und im Blut.^[11]

Weiterhin unterscheidet man noch zwischen

- acyclischen Carotinoiden (z. B. Lycopin **6**, roter Farbstoff der reifen Tomate und der Hagebutte) und
- cyclischen Carotinoiden (z. B. Capsorubin **8** oder β -Carotin **7**), die Fünf- oder Sechsringe als Endgruppen des Moleküls tragen

Im Gegensatz zu den Pflanzen können Tiere und Menschen die für sie physiologisch wichtigen Carotinoide nicht selbst aufbauen, sondern sind darauf angewiesen sie mit der Nahrung aufzunehmen und zu metabolisieren. So finden β -Carotin und einige andere Carotinoide ihr Haupteinsatzgebiet als Nahrungs- und Futtermittelzusatz nicht nur aufgrund ihrer färbenden Eigenschaften (Margarine, Butter, Käse, Fruchtsäfte), sondern

darüber hinaus auch aufgrund ihrer physiologischen Funktion als Provitamin A.^[3] Im tierischen und menschlichen Organismus kann β -Carotin **7** durch enzymatische oxidative Spaltung in zwei Moleküle Vitamin-A-Aldehyd (all-trans-Retinal **9**) umgewandelt werden. Dieser kann dann zum einen durch ein reduzierendes Enzym zum eigentlichen Vitamin-A, dem all-trans-Retinol **10** reduziert werden, oder zum anderen durch ein isomerisierendes Enzym bzw. durch Belichtung zum 11-cis-Retinal **11** isomerisiert werden. Das 11-cis-Retinal **11** kann seinerseits zum 11-cis-Retinol **12** reduziert werden.^[11,12]

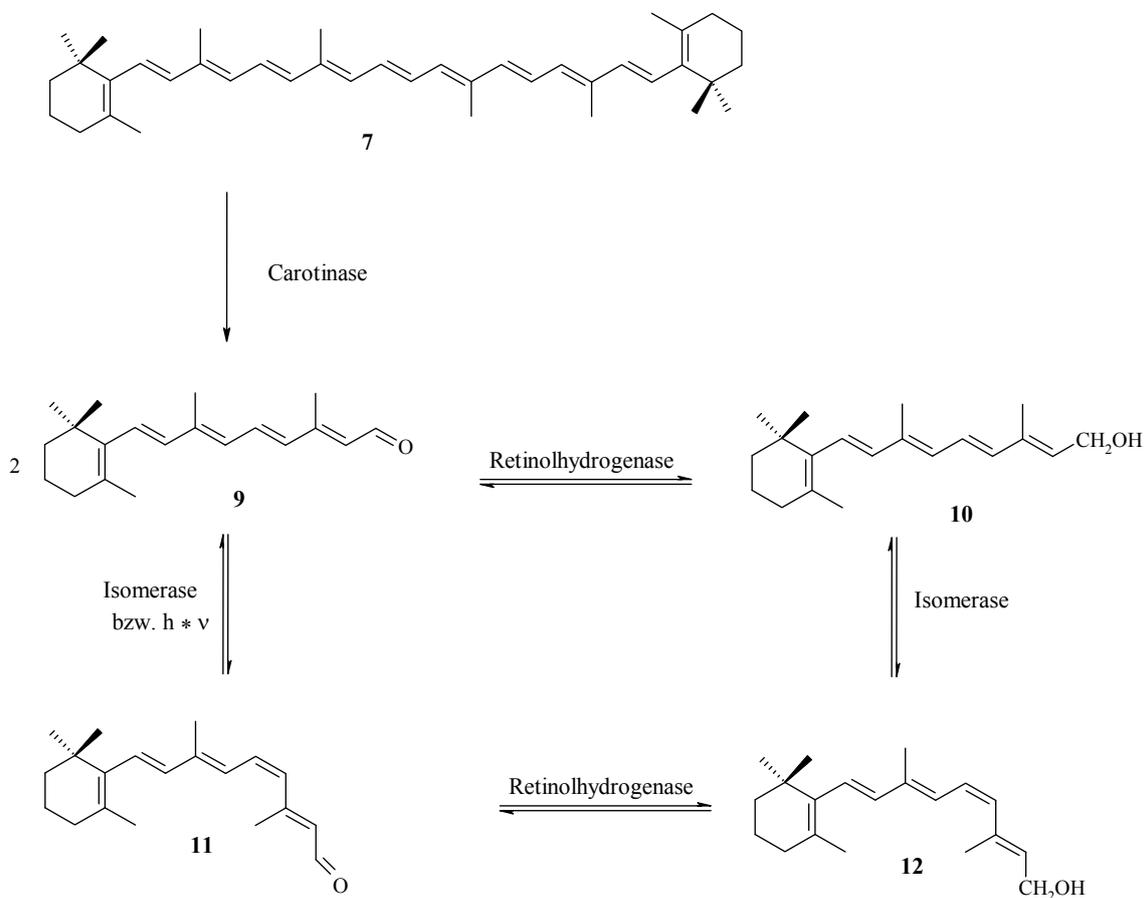
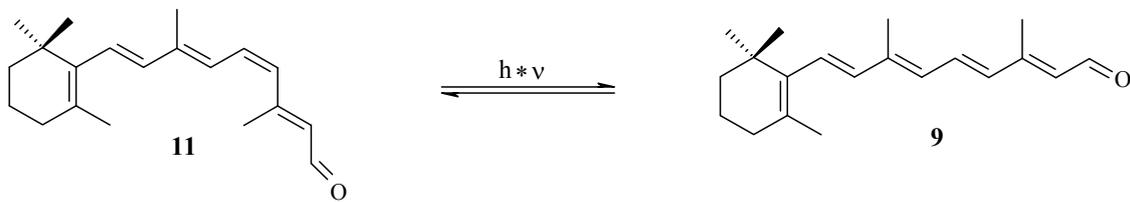


Abb. 2: Bildung von Retinal und Retinol aus β -Carotin **7**

Sowohl der Vitamin-A-Aldehyd als auch der Vitamin-A-Alkohol sind unentbehrlich für den Sehvorgang und das Körperwachstum, so dass das Provitamin A einen essentiellen Nahrungsbestandteil für den Menschen darstellt. Vitamin A ist in Form des 11-cis-Retinals Bestandteil des Sehpigments Rhodopsin, welches in den stäbchenförmigen

Sinneszellen der Retina des Auges vorkommt. Rhodopsin ist ein aus dem Protein Opsin und 11-cis-Retinal als prosthetischer Gruppe zusammengesetztes Proteid, wobei das Retinal über eine Imin-Funktion mit einer Lysinseitenkette des Opsins verbunden ist. Beim Sehvorgang kommt es durch Einwirkung von Licht zur Isomerisierung des Retinals an der C11-C12-Doppelbindung. Dabei wird die Bindung zum Opsin gelöst, so dass das Rhodopsin in Opsin und all-trans Retinal zerfällt und über einen elektrischen Nervenimpuls weitere den Sehprozess steuernde Reaktionen ausgelöst werden.^[11-13]



Den Carotinoiden werden darüber hinaus noch weitere bedeutende Funktionen in biologischen Systemen zugeschrieben. Es ist bekannt, dass Carotinoide oxidierbar sind und damit die Oxidation anderer Systemen verhindern können. Ihre Antioxidansfunktion, die sich sowohl in eine physikalische als auch in eine chemische Komponente einteilen lässt, spielt z. B. bei der Desaktivierung des schädigend wirkenden Singulett-Sauerstoffs $^1\text{O}_2^*$ eine wichtige Rolle. Unter normalen Bedingungen liegt der atmosphärische Sauerstoff in dem kinetisch eher reaktionsträgen Triplett-Grundzustand $^3\text{O}_2$ vor (die beiden energiereichsten Elektronen besetzen ungepaart mit gleichem Spin ($\uparrow\uparrow$) zwei antibindende π^* -Molekülorbitale). So verlaufen Oxidationen mit Luftsauerstoff normalerweise nur sehr langsam. Bei Vorhandensein geeigneter Sensibilisatoren, z. B. diverser organischer Farbstoffe, die ihrerseits durch Lichtabsorption relativ leicht vom Singulett- in den Triplett-Zustand übergehen und dann Energie und Spin auf ein anderes Molekül übertragen, kann der Triplett-Sauerstoff jedoch in den energiereicheren und damit reaktiveren und aggressiven Singulett-Sauerstoff umgewandelt werden, so dass spontane Reaktionen ablaufen können.^[14]

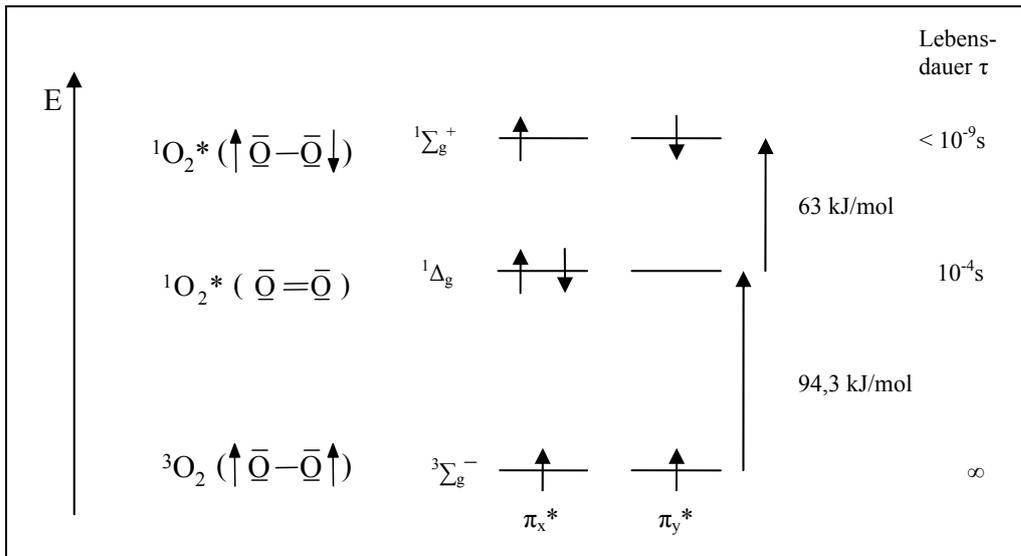
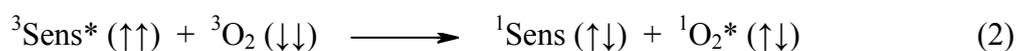
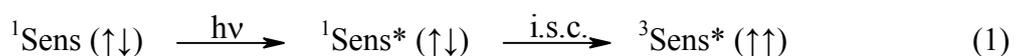


Abb. 3: Energieniveauschema und Lebensdauer τ der angeregten Zustände des Sauerstoffs

Der Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2^*$ stellt den ersten elektronisch angeregten Zustand des molekularen Sauerstoffs dar (die beiden energiereichsten Elektronen besetzen spingepaart, also mit entgegengesetztem Spin ($\uparrow\downarrow$) ein einziges π^* -Molekülorbital, das zweite bleibt elektronenleer). In dieser Form zeigt der Sauerstoff in vieler Hinsicht zerstörerische Wirkung. So bleicht er z. B. Farben, vergilbt Kunststoffe und bringt Lacküberzüge zum Ablättern.^[15] Aber auch auf biologische Systeme übt er einen schädigenden Effekt aus, indem er Enzyme zu inaktivieren und mutagene Zellen hervorzurufen vermag, was ihn mit dem Auftreten einiger Krebsarten in Verbindung bringen lässt.^[16]

Schematisch kann man sich die Entstehung von Singulett-Sauerstoff folgendermaßen vorstellen:



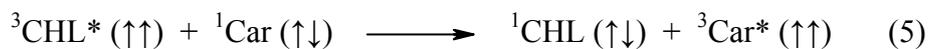
Zunächst wird der Sensibilisator $^1\text{Sens}$ durch Lichteinstrahlung in einen angeregten Singulett-Zustand $^1\text{Sens}^*$ überführt. Das angeregte Singulett-Molekül $^1\text{Sens}^*$ verwandelt sich dann rasch unter Spinumkehr eines Elektrons in ein angeregtes Triplett-Molekül $^3\text{Sens}^*$ (inter system crossing). Dieses ist in der Lage seine Energie und seinen Spin auf den Triplett-Sauerstoff $^3\text{O}_2$ zu übertragen, wodurch der reaktive Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2^*$ entsteht und der Sensibilisator wieder seinen nicht angeregten Grundzustand annimmt. Dieser letzte Reaktionsschritt (Gleichung (2)) erfolgt ohne Elektronenspinumkehr, es wird lediglich jeweils ein Elektron des Sensibilisators und des Sauerstoffs vertauscht, was auch den raschen Ablauf dieser Umsetzung begründet.^[15]

Die Antioxidansfunktion der Carotinoide (Car) besteht nun darin, die letztendlich aus der Lichteinstrahlung stammende Energie abzufangen, indem sie zunächst selbst unter Energie- und Spinübertragung vom Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2^*$ in den ihrerseits angeregten Triplett-Zustand übergehen. Der Sauerstoff nimmt dabei wieder seinen Triplett-Grundzustand $^3\text{O}_2$ an und das Carotinoid relaxiert durch Rotations- und Schwingungswechselwirkungen unter Wärmeabgabe ebenfalls wieder in den Grundzustand.^[11]



Allerdings hängt die Wirksamkeit der Carotinoide von der energetischen Lage ihres Triplett-Zustandes in Relation zum Singulett-Zustand des Sauerstoffs ab. Eine effektive Energieübertragung vom Singulett-Sauerstoff auf das Carotinoid ist nur dann möglich, wenn dessen Triplett-Energie unterhalb der Singulett-Energie ($^1\Delta_g$ -Zustand, 94,3 kJ/mol) des Sauerstoffs liegt. Diese Voraussetzung erfüllen unsubstituierte Carotinoide erst ab einer Anzahl von neun konjugierten Doppelbindungen.^[17,18] Die Geschwindigkeiten solcher Desaktivierungsreaktionen liegen für einige Carotinoide mit einer Geschwindigkeitskonstanten $k = 10^{10}$ l/mol·cm nahe am Diffusionslimit^[19a], so dass jeder Zusammenstoß eines Carotinoid-Moleküls mit Singulett-Sauerstoff zu dessen Desaktivierung führt. Die meisten Carotinoide löschen Singulett-Sauerstoff über einen

Mechanismus, bei dem ein Begegnungskomplex durch innere Umwandlung (internal conversion) in einen anderen Begegnungskomplex überführt wird.^[19b,c] Die oben beschriebene physikalische Komponente der Desaktivierung wird z. B. bei Pflanzen im Zusammenhang mit der Photosynthese deutlich. So führt das durch Lichtzufuhr (Sonnenlicht) aktivierte Blattgrün (Chlorophyll, CHL) nicht nur zur Bildung von Triplett-Sauerstoff durch Assimilation, sondern ein Teil des im ersten angeregten Singulett-Zustand befindlichen Chlorophylls kann auch in den angeregten Triplett-Zustand übergehen. Von dort aus ist es dann in der Lage, den Übergang des erzeugten Sauerstoffs von der Triplett- in die Singulett-Form zu sensibilisieren (Gleichung (1) und (2)). Der auf diese Weise gebildete Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2^*$ stellt ein Gift für die Pflanzen dar, weil er das Chlorophyll und andere Zellbestandteile oxidativ zerstören kann. Um dies zu verhindern, stellen die Pflanzen als Schutzsubstanzen Carotinoide bereit, welche den Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2^*$ desaktivieren (Gleichung (3) und (4)). Darüber hinaus können auch die angeregten Triplett-Chlorophyllmoleküle $^3\text{CHL}^*$ durch Energieübertragung auf das Carotinoid desaktiviert werden (Gleichung (5)).^[15,20]



Neben dem Schutz des Blattgrüns vor oxidativer Zerstörung ergänzen die Carotinoide das Chlorophyll auch in seiner Funktion als Lichtsammelpigment, indem sie dessen Absorptionslücke im Wellenlängenbereich von 480 – 550 nm füllen. Auf diese Weise wird eine breite Nutzung des Sonnenlichtspektrums durch die Lichtsammelkomplexe gewährleistet, was für eine effiziente Photosynthese erforderlich ist. Bei nachlassender Photosynthese im Herbst speichern z. B. die Laubbäume ihr Chlorophyll aus den Blättern im Stamm und in den Wurzeln und die zurückbleibenden Carotinoide werden anhand der Laubfärbung sichtbar.

Abbildung 4 gibt noch einmal eine zusammenfassende schematische Darstellung der Gleichungen (1) - (5) für das Quenchen von aktiviertem Sauerstoff und Chlorophyll durch Carotinoide, wobei Chlorophyll (^1CHL) selbst als lichtinduzierter Sensibilisator dient.

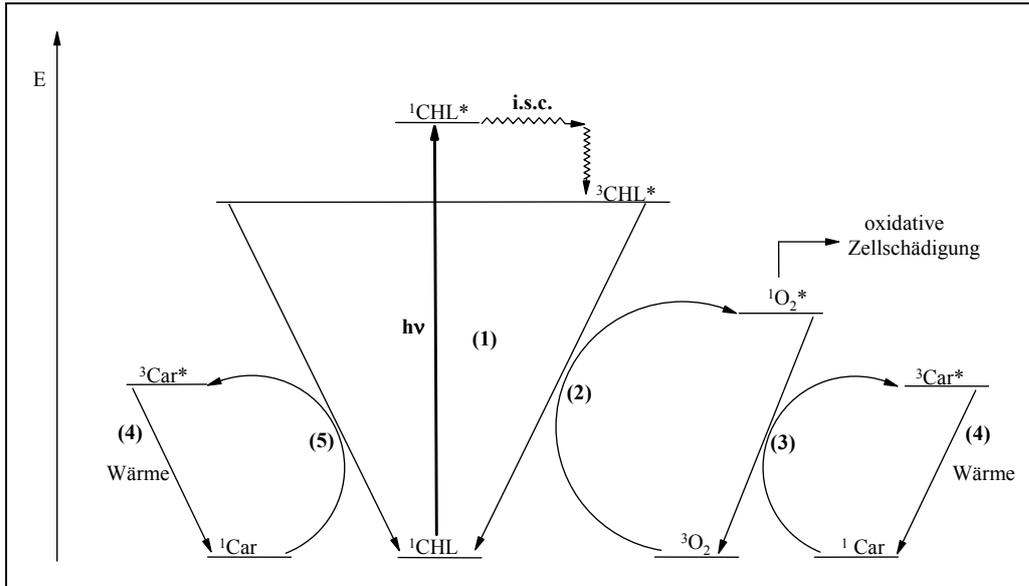
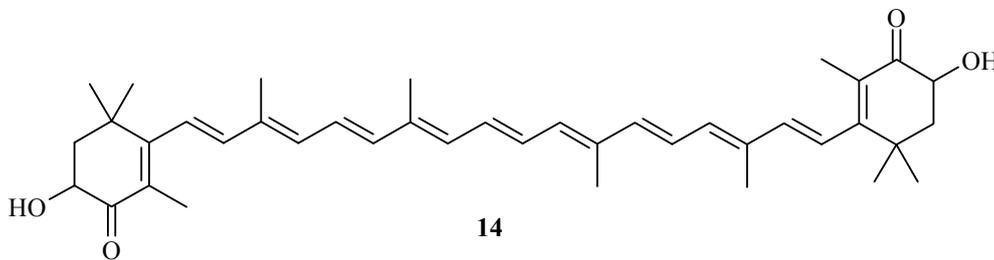
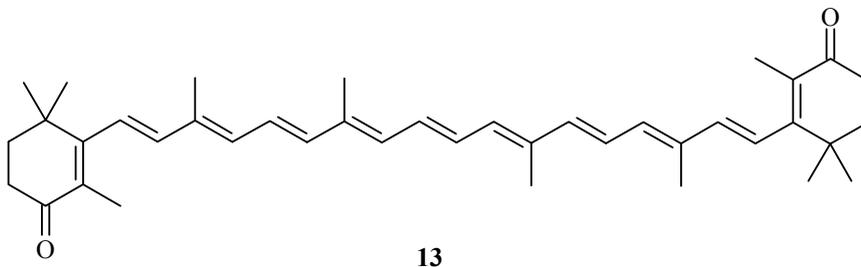


Abb. 4: Schema zur Desaktivierung von lichtinduziertem Triplet-Chloropyll ($^3\text{CHL}^*$) und Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2^*$) durch Carotinoide

Neben der physikalischen besitzen die Carotinoide auch eine chemische Komponente der Antioxidanzwirkung, die sich auf das Abfangen bzw. Desaktivieren von freien Radikalen bezieht, welche aufgrund ihrer Reaktivität insofern schädlich sind, dass sie Verbindungen wie Nucleinsäuren, Proteine, Kohlenhydrate und Lipide verändern oder zerstören können.^[21] Über die chemische Schutzfunktion ist jedoch nur soviel bekannt, dass sie über komplexe Mechanismen verläuft und das Carotinoid dabei zerstört wird. Dies kann z. B. über eine Abstraktion von Wasserstoffatomen oder eine Addition an das Polyensystem unter Ausbildung eines mesomeriestabilisierten Carotinoidradikals erfolgen, wobei neben dem zuvor erwähnten Singulett-Sauerstoff noch weitere reaktive Sauerstoffspezies, wie das Superoxid-Radikal ($\text{O}_2^{\cdot-}$), das Hydroxyl-Radikal (HO^{\cdot}), das Alkoxy-Radikal (RO^{\cdot}) oder die Radikale organischer Hydroperoxide (ROO^{\cdot}) abgefangen werden können.^[12,22,23] Beim β -Carotin **7** findet bevorzugt eine Autoxidation durch molekularen Sauerstoff unter Abstraktion der allylischen Wasserstoffatome in 4- bzw. 4'-Position statt.^[24,25] In Xanthophyllen wie Canthaxanthin **13** und Astaxanthin **14**, die sich z. B. in Krebs- und Krustentieren sowie im Gefieder des Flamingos finden, ist die 4- bzw. 4'-Position jedoch durch Keto-Gruppen blockiert, so dass hier keine H-Abstraktion an diesem Punkt stattfinden kann.

Dennoch gelten beide im Vergleich zu β -Carotin **7** als effektivere Antioxidantien gegenüber der Lipidperoxyation, da die in Konjugation zum Polyensystem stehenden Keto-Gruppen zur Stabilisierung der Carotinoidradikale beitragen können.^[26-29]



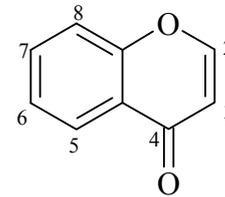
Wie zuvor erwähnt geht die chemische Desaktivierung reaktiver Sauerstoffspezies mit einem Abbau des Carotinoids einher, wobei für das β -Carotin Apo-Carotenale und verschiedene Epoxide als Abbauprodukte vorgeschlagen werden.^[30-32]

Aus dem antioxidativen Verhalten der Carotinoide wird auch ihre anticarcinogene Wirkung abgeleitet, so dass sie nicht nur in der Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Arteriosklerose und altersbedingter Maculadegeneration sondern auch in der Prophylaxe und Therapie einiger Krebserkrankungen eine Rolle spielen können.^[3,33,34]

1.2 Flavonoide: Vorkommen, Aufbau und Funktion

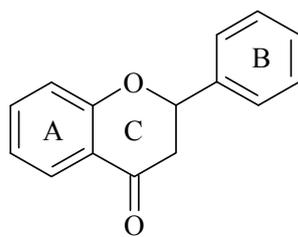
Die Flavonoide gehören zu den Polyphenolen und stellen eine in Pflanzen weit verbreitete, häufig gelbe Farbstoffklasse dar. Man trifft sie z. B. in Blütenblättern und -stielen, Rinden, Hölzern, Rotwein, dunkler Schokolade, schwarzem und grünem Tee,

sowie in Früchten und Gemüse an, wo sie hauptsächlich in der Schale bzw. Haut angereichert sind. Dabei können sie in freier Form, als Hydroxylverbindungen, als Methyl- oder Methylenether und als Glycoside (meist mit Glucose oder Rhamnose verknüpft) auftreten.^[35-41] Im allgemeinen liegt den Flavonoiden das Chromongerüst **15** zugrunde, das je nach Substitution bzw. Modifikation zu den verschiedenen Flavonoiduntergruppen führt.

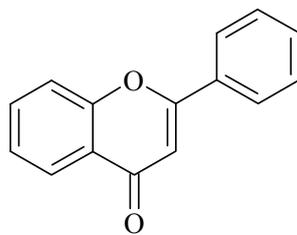


15

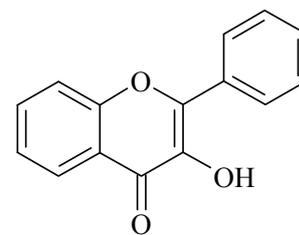
Abbildung 5 zeigt die Grundgerüste dieser Untergruppen: Flavanone **16**, Flavone **17**, Flavonole **18**, Isoflavone **19**, Aurone **20** (Derivate des 2-Benzyliden-3(2*H*)-benzofurans) und Anthocyanidine **21**.



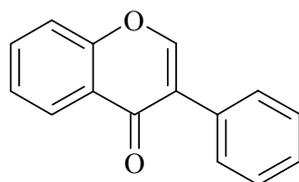
16



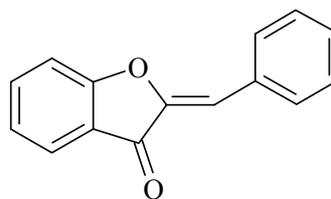
17



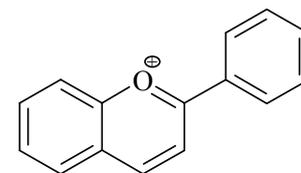
18



19



20



21

Abb. 5: Grundgerüste der Flavonoiduntergruppen

Die 15 Kohlenstoffatome des Flavonoidgrundgerüsts sind in 3 Ringen angeordnet (2 aromatische (A u. B) und ein O-heterocyclischer Ring (C)), wobei die strukturelle Variation am C-Ring stattfindet.

Die ebenfalls zu den Flavonoiden zählenden Anthocyanidine **21** liegen als Pyrylium-Salze (Flavylium-Salze) vor.^[3] Sie bilden das farbgebende Aglycon der roten und

blauen, als Glycoside in Blüten und Früchten vorkommenden, Anthocyane (griech. *anthos*, Blüte + *cyanos*, blau).^[1-3] Da Flavone oft als Begleitpigmente der Anthocyane auftreten, kann man auf der gleichen Pflanze rote bzw. blaue und gelbe Blüten finden. Als wichtige Vorstufen der Flavonoide, die beim biosynthetischen Aufbau des jeweiligen Grundgerüsts eine Rolle spielen, seien noch die Chalkone **22** erwähnt,

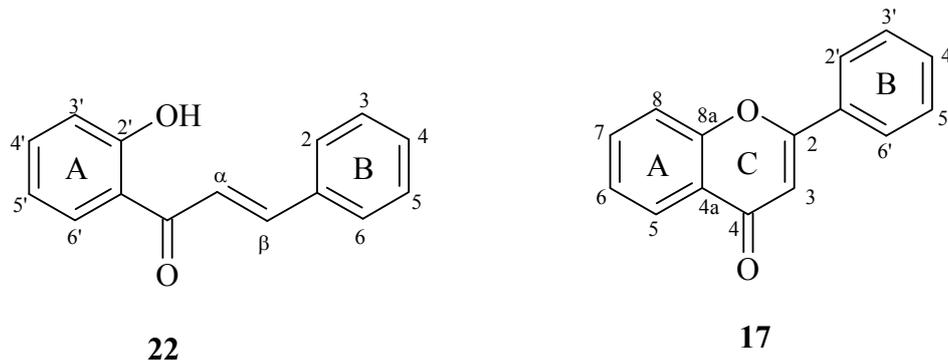


Abb. 6: Nummerierung von Flavonen **17** und Chalkonen **22**

wobei die in Abb. 6 angegebene unterschiedliche Nummerierung von Chalkonen und Flavonen^[42] zu beachten ist.

Die Flavonoidbiosynthese findet wie die Carotinoidbiosynthese ausschließlich in Pflanzen statt. Ausgangsstoff ist ebenfalls das aus der Photosynthese nach weiteren Reaktionsschritten hervorgehende Acetyl-CoA **23**, welches zum einen in Malonyl-CoA **24** umgewandelt wird und zum anderen über den Shikimisäureweg^[37,38] zu Phenylalanin **25** umgesetzt wird. Durch enzymatische Eliminierung von Ammoniak entsteht Zimtsäure **26**, welche anschließend enzymatisch zu *p*-Cumarinsäure **27** hydroxyliert wird. *p*-Cumarinsäure **27** reagiert mit einem weiteren Acetyl-CoA-Molekül **23** und dem Enzym Zimtsäure-CoA-Ligase unter Bildung von Cumaryl-CoA **28**, das schließlich mit 3 Molekülen Malonyl-CoA **24** zum entsprechenden Chalkon **29**, dem eigentlichen Schlüssel-molekül der Flavonoidbiosynthese umgesetzt wird. Nach Isomerisierung des Chalkons **29** entsteht das Flavanon **30**, aus welchem durch weitere enzymatische Reaktionen, wie beispielsweise Hydroxylierungen oder Dehydrierungen die verschiedenen Flavonoidunterklassen zugänglich werden. Auch die Isoflavone

entstammen der gleichen Biosynthese, allerdings findet hierzu eine 1,2-Arylwanderung auf der Stufe des Chalkons oder Flavanons statt.

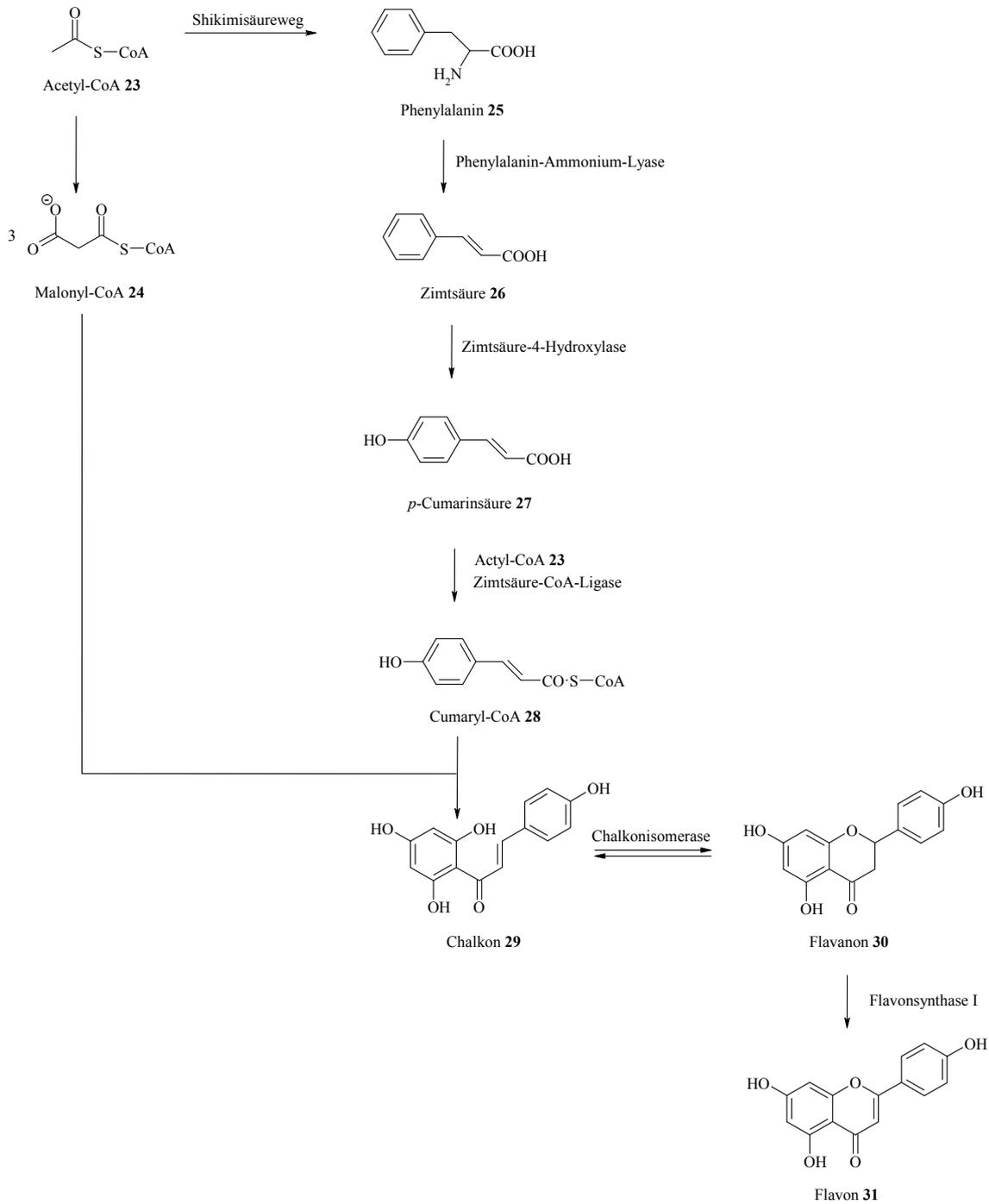


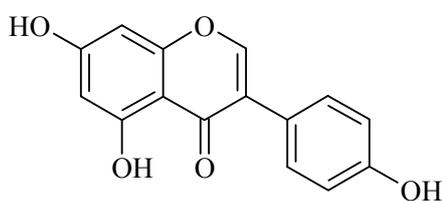
Abb. 7: Ausschnitt aus der Flavonoidbiosynthese am Beispiel des Flavons Apigenin 31

Da die Flavonoidbiosynthese über ihren Ausgangsstoff Acetyl-CoA mit der lichtabhängigen Photosynthese verknüpft ist, variiert der Flavonoidgehalt der Pflanzen mit der Jahreszeit, was sich im Sommer bei stärker Belichtung mit einer intensiveren Farbigkeit der Pflanzen bemerkbar macht. Durch die unterschiedlichen Hydroxylierungen bzw. Veretherungen und Glycosidierungen sind mittlerweile mehr als 400 natürliche Flavonoide bekannt, wobei die Substituenten bevorzugt in den Positionen 3, 5 und 7 sowie 3' und 4' auftreten. Neben ihrer Farbigkeit wurden bei den Flavonoiden noch weitere interessante Eigenschaften beobachtet, die ihre biologische Funktionalität betreffen und zum Teil eng mit ihrer Struktur (z. B. das Vorhandensein von Hydroxygruppen) in Zusammenhang stehen. Darunter fallen unter anderem:

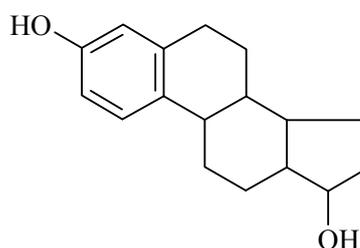
- antikoagulative Effekte, wie sie beim Quercetin **4** (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavon) und beim Rutin (Quercetin-3-rutinosid) auftreten. Durch eine Hemmung des Arachidonsäurestoffwechsels wird die Bildung der Prostaglandine und Thromboxane verringert, was sich positiv auf die Blutgerinnung auswirkt. Außerdem wird die Permeabilität der Körpergefäße erhöht und die Kapillarbrüchigkeit verringert. Insgesamt kann so das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen herabgesetzt werden.^[2,3,43,44]
- antiinflammatorische Effekte, wie sie ebenfalls Quercetin **4** und Rutin oder auch Morin (2',3,4',5,7-Pentahydroxyflavon) und Hesperidin (3',5-Dihydroxy-4'-methoxyflavanon-7-rutinosid) zeigen. Hierbei spielt wiederum die Inhibition des Arachidonsäuremetabolismus eine Rolle, sowie die Verminderung der Prostaglandinbildung, wodurch das Schmerzempfinden herabgesetzt wird.^[37,43,44]
- antivirale und antibakterielle Effekte, wobei die antivirale Wirkung vermutlich mit der Fähigkeit virale Proteinen zu binden und die virale Nucleinsäuresynthese zu beeinträchtigen, wie sie dem Quercetin **4** zugeschrieben wird, zusammenhängt. Für die antibakterielle Wirkung, z. B. bezüglich der Hemmung von Harnwegserkrankungen verursachenden Bakterien,

kommen Procyanidine in Frage, die vor allem in Heidel- und Moosbeeren zu finden sind.^[37, 43, 44]

- östrogene Wirkung, ein Merkmal, das den Isoflavonen zu Eigen ist und sie als Phytoöstrogene bezeichnen lässt. Ausschlaggebend für diese Eigenschaft ist vermutlich die strukturelle Ähnlichkeit zwischen Isoflavonen (wie Genistein **32**) und Östrogenen (wie Östradiol **33**),



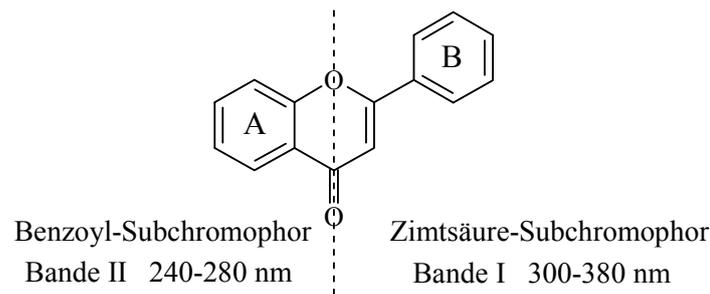
32



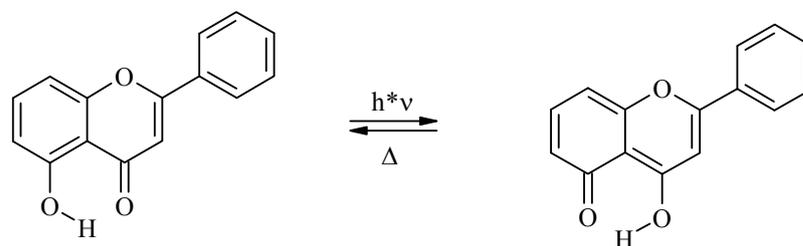
33

so dass sie diese an ihren Rezeptoren ersetzen und so einen positiven Einfluss auf einige postmenopausale Erkrankungen nehmen können. Dazu gehören z. B. Osteoporose, kardiovaskuläre Erkrankungen und hormonabhängige Krebserkrankungen wie Brust- und Prostatakrebs. Die Aufnahme von Isoflavonen kann über den Verzehr von Sojaprodukten und anderen tropischen Hülsenfrüchten sowie auch über zahlreiche Nahrungsergänzungsmittel gewährleistet werden.^[3,37,45-47]

- photoprotektive Wirkung, die im Allgemeinen auf die zwei UV-Vis-Hauptabsorptionsmaxima der meisten Flavonoide im Bereich von 300-380 nm (Bande I; vgl. UV-A 320-400 nm) und 240-280 nm (Bande II; vgl. UV-B 280-320 nm) zurückzuführen ist. Zur Verdeutlichung des Zustandekommens der beiden Absorptionsbanden kann der Flavonoid-Chromophor formal in zwei Subchromophore unterteilt werden, den Zimtsäure-Subchromophor mit Bande I und den Benzoyl-Subchromophor mit Bande II:



Abhängig von der Substitution des Flavonoid-Chromophors können verschiedene Effekte, wie bathochrome oder hypsochrome Verschiebung der Absorptionsmaxima beobachtet werden, wobei Substituenten am B-Ring hauptsächlich auf Bande I und Substituenten am A-Ring hauptsächlich auf Bande II Einfluß nehmen. Weiterhin trägt eine Hydroxy-Gruppe in 5-Position entscheidend zur Photostabilität der Flavonoide bei, was durch eine intramolekulare Protonenwanderung zwischen Hydroxy- und benachbarter Keto-Gruppe, unter Umwandlung der absorbierten Strahlung in Wärmeenergie, bedingt ist.^[48, 49]

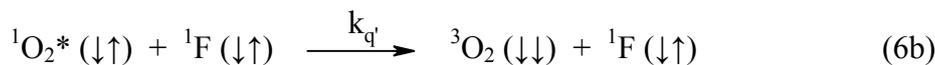
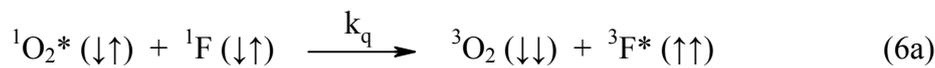


- antioxidative Eigenschaften, wobei die Flavonoide ähnlich den Carotinoiden eine physikalische und eine chemische Komponente der Antioxidansfunktion aufweisen. Allerdings ist die chemische Komponente hier besonders ausgeprägt, worauf im Weiteren näher eingegangen wird.

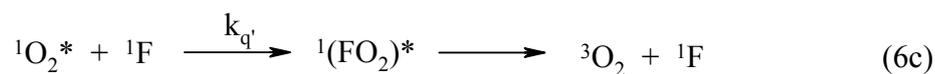
So wird der Schutzfunktion einiger Flavonoide vor Lipidperoxidationen große Aufmerksamkeit entgegengebracht. Membranlipide sind einerseits aufgrund ihres hohen Anteils an mehrfach ungesättigten Fettsäuren und andererseits durch ihre Verknüpfung mit enzymatischen und nicht-enzymatischen Systemen in der Zellmembran, welche in

der Lage sind, freie Radikale zu erzeugen, anfällig für Peroxidationen. Solche zellschädigenden Vorgänge können sowohl enzymatisch als auch nicht-enzymatisch initiiert werden und stehen mit zahlreichen pathologischen Erscheinungen wie Arteriosklerose, Entzündungen, Lebererkrankungen, Tumorbildung, Krebs und dem Altern in Verbindung.^[37,50] Die prophylaktische Wirkung der Flavonoide gegenüber diesen oxidativen Zellveränderungen beruht zum größten Teil auf ihrer Antioxidans- bzw. Radikalfängerfunktion bzgl. der schon in Kapitel 1.1 im Zusammenhang mit den Carotinoiden erwähnten reaktiven Sauerstoffspezies.^[37]

Das Quenchen von Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2^*$ durch Flavonoide (F) kann auf physikalischem Wege als Energieübertragungsreaktion (Gleichung (6a)) oder als Katalysereaktion (Gleichung (6b)) beschrieben werden:



Verläuft die Reaktion gemäß Gleichung (6b) mit F als Katalysator, tritt intermediär ein Anlagerungskomplex zweier unterschiedlicher Moleküle (Exciplex) auf, was Gleichung (6c) noch einmal verdeutlichen soll:



In den meisten Fällen wird die physikalische jedoch von der chemischen Desaktivierung begleitet, wobei das Flavonoid (F) wie in Gleichung (7) beschrieben als Akzeptor dient:



Ein Maß für die Geschwindigkeit solcher Desaktivierungsreaktionen liefert die Summe der Geschwindigkeitskonstanten $k_r + k_q$ bzw. $k_{q'}$ mit Werten im Bereich von $(k_r + k_q) = 1 \cdot 10^5$ bis $7 \cdot 10^6$ l/mol·cm in Deuteromethanol.^[51,52]

Mechanistisch könnte man sich den Verlauf der chemischen Desaktivierung von Singulett-Sauerstoff am Beispiel des Quercetins **4** über eine [2+2] Cycloaddition des Sauerstoffs an die 2,3-Doppelbindung des Flavonoid-C-Ringes und anschließenden Zerfall des entstandenen Dioxetans zum Carbonsäureester unter Kohlenmonoxidabspaltung vorstellen.^[8]

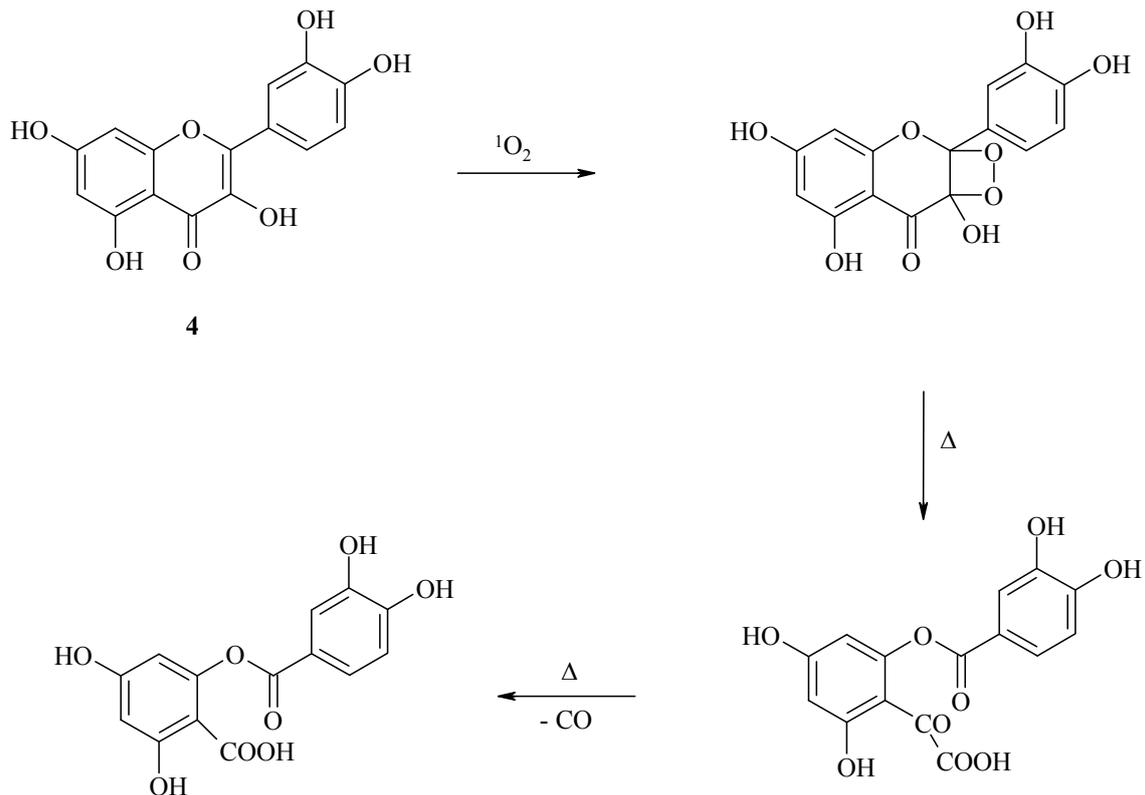


Abb. 8: Mechanismusvorschlag für die chemische Desaktivierung von Singulett - Sauerstoff ($^1\text{O}_2$) durch Quercetin **4**^[8]

Betrachtet man die chemische Desaktivierung von Superoxid-Radikalen ($\text{O}_2^{\cdot-}$) und Peroxyl-Radikalen (RO_2^{\cdot}), so erweisen sich wiederum Quercetin **4** und Rutin als wirksame Verbindungen und das Einfangen von Peroxyl-Radikalen erscheint als Zwei-Elektronen-Oxidation plausibel.^[52]

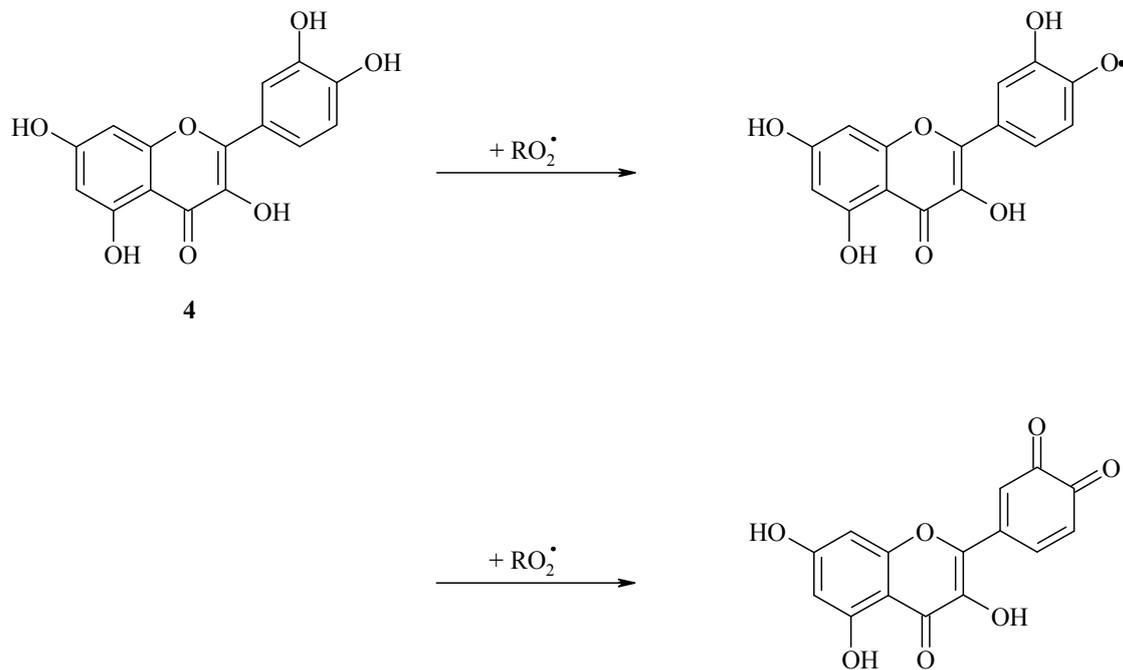


Abb. 9: Desaktivierung von Peroxyl-Radikalen durch Quercetin 4

Die phenolischen Hydroxy-Gruppen des Flavonoids bieten, wie Abb. 9 im ersten Reaktionsschritt zeigt, die Möglichkeit ein Phenoxy-Radikal zu bilden, welches im zweiten Schritt mit einem weiteren Peroxyl-Radikal reagiert. Dabei fällt auf, dass vorzugsweise Hydroxy-Gruppen in 3',4'- oder 2',5'-Position des Flavonoid-B-Ringes angegriffen werden, so dass dieser chinoiden Charakter erhält.^[52]

Diese und noch weitere von Bors et al.^[53], Acker et al.^[54], Jovanovic et al.^[52], Rice-Evans et al.^[55], Montesinos et al.^[56] und Cao et al.^[57] aufgezeigte Befunde führen zu folgender Struktur-Wirkungsbeziehung für Flavonoide:

- allgemein steigen mit der Anzahl der Hydroxy-Gruppen die antioxidativen bzw. prooxidativen Effekte, wobei allerdings die Position der Hydroxy-Gruppen zu beachten ist^[57]
- Dihydroxy-Gruppen in 3',4'- oder 2',5'-Position des B-Ringes^[53]

- Catechol-Funktion in 6,7- bzw. 7,8-Position des A-Ringes in Verbindung mit Hydroxy-Gruppen im B-Ring^[52,55]
- eine Doppelbindung in 2,3-Position, eine Hydroxy-Gruppe in 3-Position^[54] sowie eine Keto-Funktion in 4-Position des C-Ringes^[53]

spielen eine entscheidende Rolle bei den meisten biologisch wirksamen Effekten, wie Antioxidans- bzw. Radikalfängereigenschaften, dieser Substanzklasse.

2 Problemstellung

In Anbetracht der unter Punkt 1.1 und Punkt 1.2 für die Substanzklassen der Carotinoide und Flavonoide angesprochenen Funktionalitäten, insbesondere der antioxidativen Eigenschaften, stellt sich nun die Frage, wie sich ein Bichromophor aus Vertretern beider Substanzklassen, per definitionem ein Carotenylflavonoid, verhalten würde.

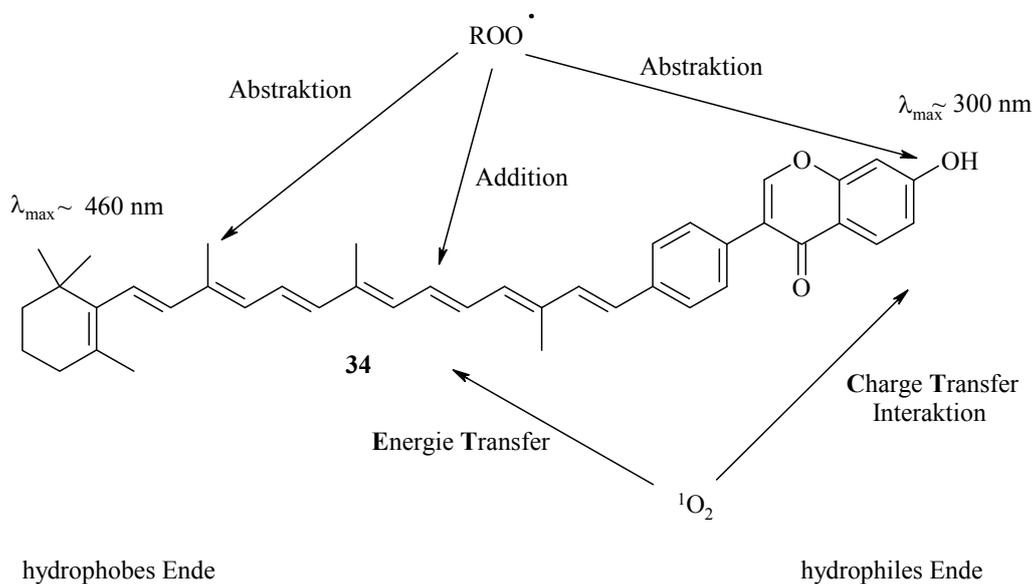


Abb. 10: Modell eines dualfunktionalen Systems am Beispiel des 4'-β-C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavon **34**

Idealerweise sollte es sich dabei um ein dualfunktionales System handeln, das durch additive Kombination der Eigenschaften beider Teilchromophore folgende Charakteristika aufweist:

UV-Protektion mit UV-Absorptionsmaxima im Bereich um 460 nm (Carotenoid-Teilchromophor) und 300 nm (Flavonoid-Teilchromophor).

Antioxidativität, die sich dank der Polyenkette des Carotinoidteils durch ausgeprägtes physikalisches Quenchverhalten sowie dank der phenolischen Hydroxy-Gruppen des Flavonoidteils durch ausgeprägtes chemisches Quenchverhalten gegenüber $^1\text{O}_2$, Peroxyl- und ähnlichen Radikalen auszeichnet.

Amphiphilie aufgrund der Hydrophobie des Carotenylnschwanzes und der Hydrophilie des notwendigerweise Hydroxygruppen tragenden Flavonoidkopfes.

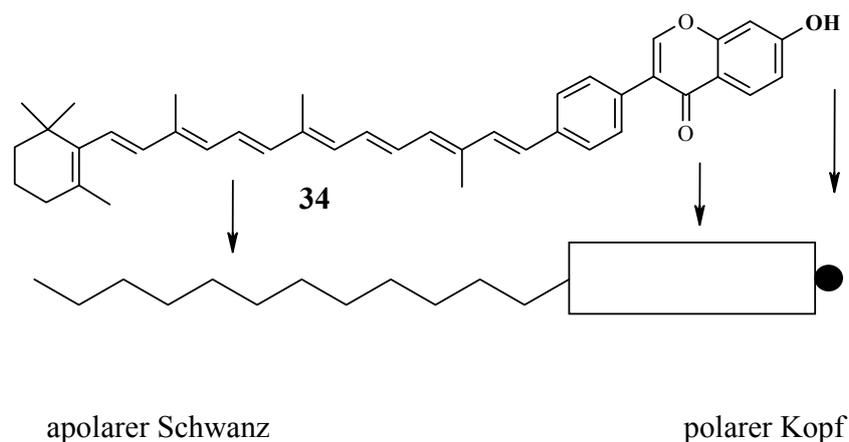


Abb. 11: Schematische Darstellung der polaren, hydrophilen Kopfregion und apolaren, hydrophoben Schwanzregion am Beispiel des Carotenylflavonoids **34**

Das amphiphile Verhalten könnte die Einlagerung von Carotenylflavonoiden in Zellmembranen ermöglichen, wodurch sie in vivo Untersuchungen und Wirksamkeiten zugänglich würden und Einfluss auf Membraneigenschaften nehmen könnten. Die Grundstruktur einer Zellmembran bildet eine Lipiddoppelschicht. Unter den Begriff Lipide fallen Fette, Öle, Wachse sowie Phospholipide, und allgemein handelt es sich dabei um Ester höherer Carbonsäuren (überwiegend mit 12 bis 22 Kohlenstoffatomen). Für den Aufbau einer Lipidmembran sind nun die Phospholipide die entscheidenden Bausteine. Man unterscheidet zwischen Sphingomyelinen, die Ester des zweiwertigen C_{18} -Aminoalkohols Sphingosin darstellen, und Phosphoglyceriden, die sich vom dreiwertigen C_3 -Alkohol Glycerin ableiten. Bei den Phosphoglyceriden sind die Hydroxygruppen an C-1 und C-2 des Glycerins mit variablen langkettigen Fettsäuren und die Hydroxygruppe an C-3 mit einem phosphorylierten Alkohol verestert.

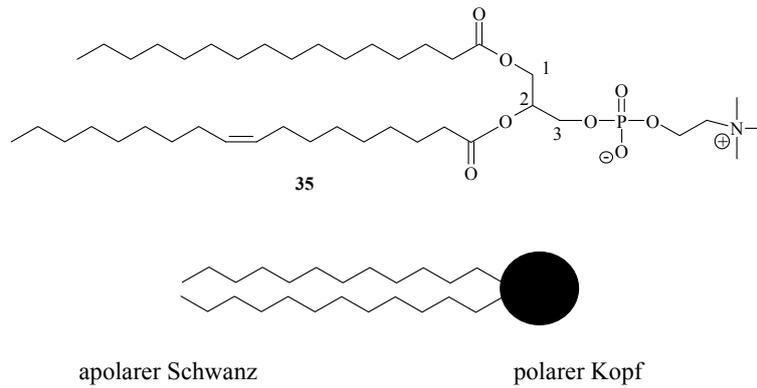


Abb. 12: Schematische Darstellung eines Phosphoglycerids am Beispiel des 1-Palmitoyl-2-oleyl-glycero-phosphatidylcholin **35**

Dabei ist allen Phospholipiden ihr amphiphiler Charakter gemeinsam. Die phosphorylierte Einheit bildet den polaren, hydrophilen Kopf und die Kohlenwasserstoffketten der Carbonsäurereste bilden die apolaren, hydrophoben Schwänze. Zur Ausbildung einer Lipidmembran, z. B. im wässrigen Medium, lagern sich die hydrophoben Kohlenwasserstoffketten so zusammen, dass eine Lipiddoppelschicht mit hydrophobem Kern und hydrophilen Randschichten entsteht.

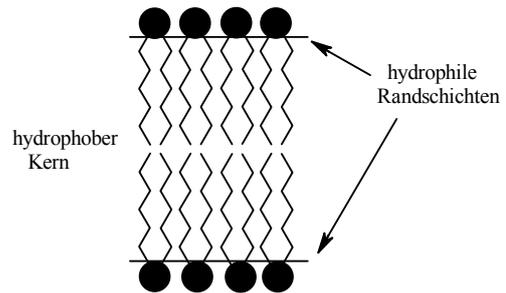


Abb. 13: Modell einer Lipiddoppelschicht

Vergleicht man nun die mögliche Einlagerung eines Carotenylflavonoids in eine Lipidmembran mit der Einlagerung von β -Carotin in selbige, so ist zu erwarten, dass sich die Hydroxy-Gruppe des Flavonoidkopfes über Wasserstoffbrückenbindungen in der polaren Kopfregion der Doppelschicht verankert und das Flavonoidgerüst sowie der Carotenylschwanz in das hydrophobe Membraninnere weisen. Das apolare β -Carotin würde sich hingegen nur im Membraninneren, bis hin zu einer zur Membranoberfläche parallelen Orientierung, lokalisieren.^[58,59]

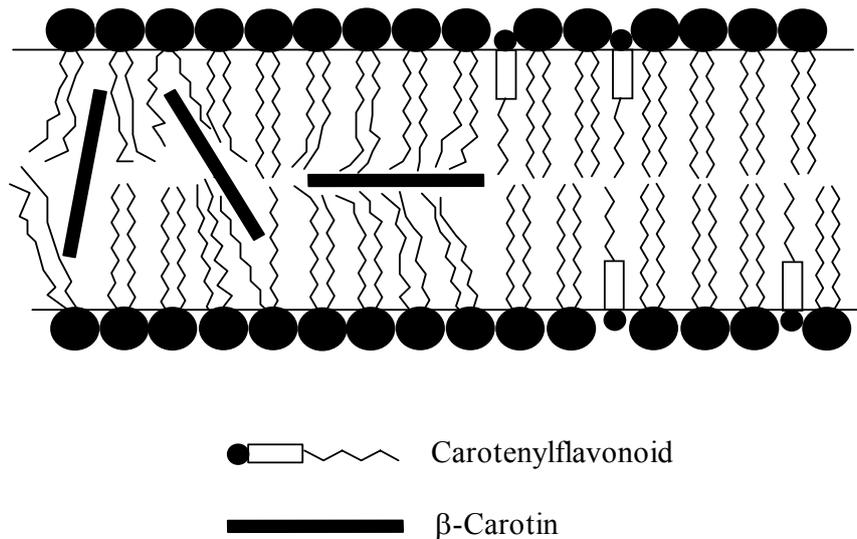


Abb. 14: Modell zur Einlagerung von β -Carotin und Carotenylflavonoid in eine Lipidmembran

Dem hier beschriebenen Einlagerungsmodell von Carotenylflavonoiden in Lipidmembranen zufolge, wäre die Phasengrenzflächen-Protektion respektive UV-Schutz und Antioxidativität als besonderes Einsatzgebiet dieser Bichromophore vorstellbar.

Richten wir nun das Hauptaugenmerk auf das antioxidative Potential als ein interessantes Charakteristikum beider Teilchromophore, so steht an erster Stelle die Entwicklung einer unter diesem Aspekt geeigneten Syntheseroute zum Aufbau der Carotenylflavonoide. Schematisch lässt sich eine Verknüpfung von Flavonoid- und Carotinoidteil über einen entsprechenden Spacer bzw. Linker darstellen:

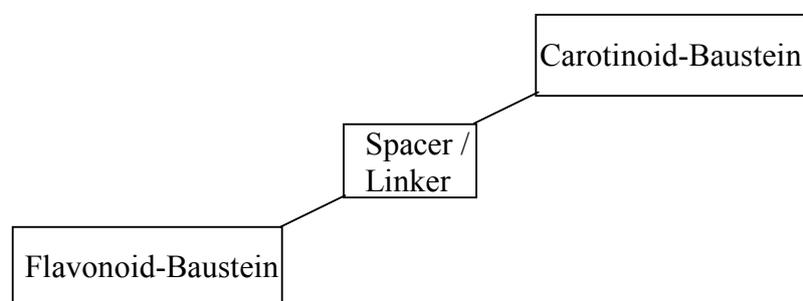


Abb. 15a: Schema eines Flavonoid-Polyen-Farbstoffes

Die Wahl des Spacers bzw. Linkers hängt prinzipiell von den an die Verknüpfung gestellten Anforderungen ab. Im Rahmen dieser Arbeit wird eine Ausdehnung der Konjugation der Carotinoid-Polyenkette in den Flavonoid-Baustein hinein angestrebt, was für die beiden Teilchromophore bedeutet, dass sie in direkter Konjugation miteinander stehen und somit beide Fragmente über eine olefinische Doppelbindung in einem Chromophor vereinigt werden (Abb. 15b).

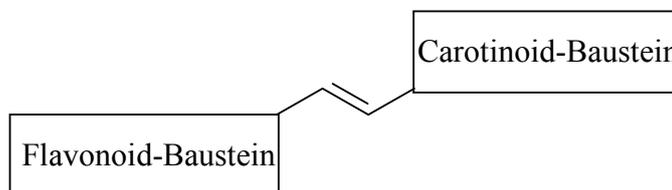


Abb. 15b: Vereinigung beider Fragmente in einem Chromophor durch direkte Konjugation

Ein weiteres entscheidendes Kriterium ist die Einführung von Hydroxy-Gruppen beim Aufbau des Flavonoidgerüsts, die wie zuvor beschrieben, maßgeblich für dessen antioxidatives Verhalten sind. Allerdings ist es weniger der Einbau, als vielmehr die je nach Reaktionsbedingungen erforderliche Maskierung der Hydroxy-Gruppen während der Synthese und ihre Freisetzung nach erfolgter Kopplung beider Grundbausteine, die eine besondere synthesespezifische Herausforderung darstellen. Position und Anzahl der Hydroxy-Substituenten sowie Kopplungspunkt und Kettenlänge des Polyensystems sind dabei grundsätzlich variabel, es wird jedoch versucht, der unter Punkt 1.2 anhand von Literaturbefunden aufgestellten Struktur-Wirkungsbeziehung für Flavonoide, soweit im präparativen Rahmen möglich, Rechnung zu tragen. Darüber hinaus wäre von Interesse welchen Einfluss die Stellung des Flavonoid-B-Ringes auf die Eigenschaften der Verbindungen hat, was für die Synthese bedeutet, dass der Flavonoidbaustein sowohl durch hydroxylierte Flavone als auch durch hydroxylierte Isoflavone vertreten sein sollte.

Nach erfolgreicher Carotenylflavonoidsynthese steht an zweiter, aber nicht weniger wichtiger Stelle die Untersuchung des antioxidativen Potentials der Zielverbindungen (z. B. 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavon **34**) im Cumol-/Cumolhydroperoxid-Assay, wie unter Punkt 3.8 näher erläutert wird.

3 Hauptteil

3.1 Syntheseplanung

Zur Entwicklung einer Syntheseroute für die Darstellung von Carotenylflavonoiden bietet sich ausgehend von Abb.15 b ein retrosynthetisches Vorgehen an. In Anlehnung an das in Teil 2 beschriebene Modell eines Flavonoid-Polyen-Farbstoffes soll die Verknüpfung beider Teilchromophore über eine olefinische Doppelbindung erfolgen, als Kopplungsreaktion wird also eine Olefinsynthese benötigt. Dazu hat sich bereits die literaturbekannte Wittig-Horner-Emmons-Reaktion als eine Variante der Wittig-Reaktion für die Verbindung bestimmter Endgruppen bzw. derer Phosphonate mit Polyensystemen im Bereich der Carotinoidynthese etabliert.^[60-62] In ihrem Gesamtprozess stellen beide Reaktionen Olefinsynthesen aus Carbonylverbindungen und Alkylhalogeniden dar.

Grundbausteine der Wittig-Reaktion sind einerseits Phosphor-Ylide, die aus entsprechenden Alkylhalogeniden durch Umsetzung mit einem Phosphin unter Basenzusatz hergestellt werden, und andererseits Aldehyde bzw. Ketone als Carbonylkomponente, die mit den Yliden unter Ausbildung einer olefinischen Doppelbindung reagieren.

Bei den Grundbausteinen der Wittig-Horner-Emmons-Reaktion handelt es sich um Phosphonate und Aldehyde oder Ketone. Die Phosphonate werden ebenfalls aus Alkylhalogeniden gewonnen, die in diesem Fall mit Phosphorigsäureestern umgesetzt werden. Nach anschließender Deprotonierung mittels Basenzusatz kann das so gebildete Phosphonat-Carbanion mit der Carbonylkomponente zum Olefin weiterreagieren. Allerdings sind nur solche Phosphonate geeignet, die am α -C-Atom bzgl. des Phosphors neben mindestens einem Proton auch noch einen weiteren Substituenten besitzen, der das entstehende Carbanion zu stabilisieren vermag, was z. B. eine Phenylgruppe gewährleisten würde.

Abbildung 16 zeigt den mechanistischen Verlauf der Wittig-Horner-Emmons-Olefinierung:

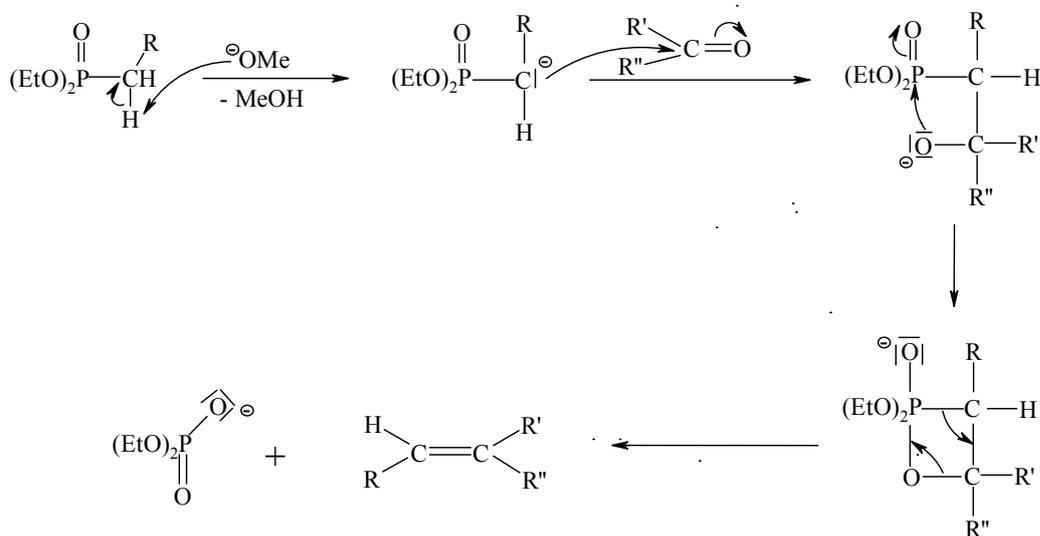


Abb. 16: Wittig-Horner-Emmons-Reaktion

Im Vergleich zu den Yliden der Wittig-Reaktion zeichnen sich die im Zuge der Wittig-Horner-Emmons-Variante auftretenden Carbanionen durch eine höhere Reaktivität aufgrund ihrer größeren Nucleophilie aus. Darüberhinaus wird die Wittig-Reaktion relativ stark durch sterische Hinderung beeinflusst, was dazu führt, dass trisubstituierte Olefine nur in geringer Ausbeute und tetrasubstituierte Olefine auf diesem Wege gar nicht zugänglich sind.^[63] Zusammenfassend sprechen die aufgeführten Kriterien für den Einsatz der Wittig-Horner-Emmons-Reaktion als Methode der Wahl im Bereich der Carotenylflavonoidsynthese, was auch schon in der Diplomarbeit^[64] von Herrn P. Noack für unsubstituiert Flavon-Polyen-Bichromophore und in meiner Diplomarbeit^[65] für methoxylierte Flavon-Polyen-Farbstoffe gezeigt wurde. Übertragen auf die angestrebten Carotenylflavonoide sollten sich Flavonyl- bzw. Isoflavonylphosphonate und Carotenaldehyde als funktionelle Kopplungspartner eignen, wie das folgende Blockschema verdeutlicht:

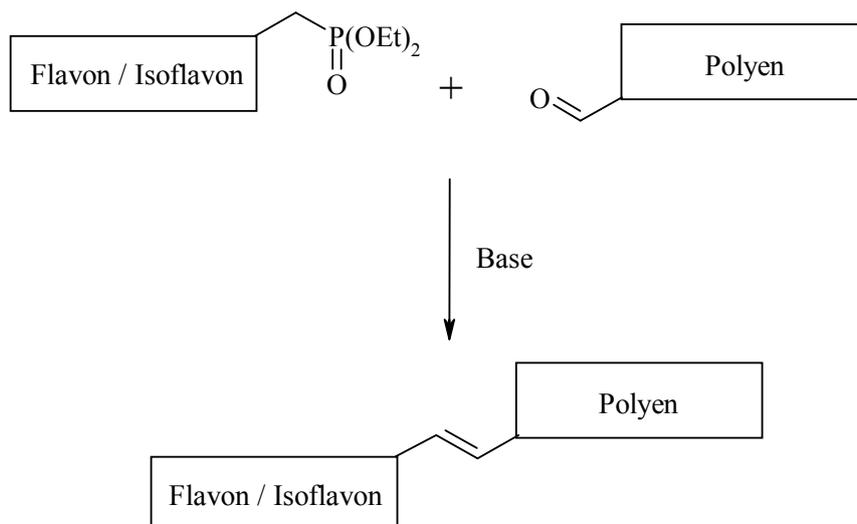
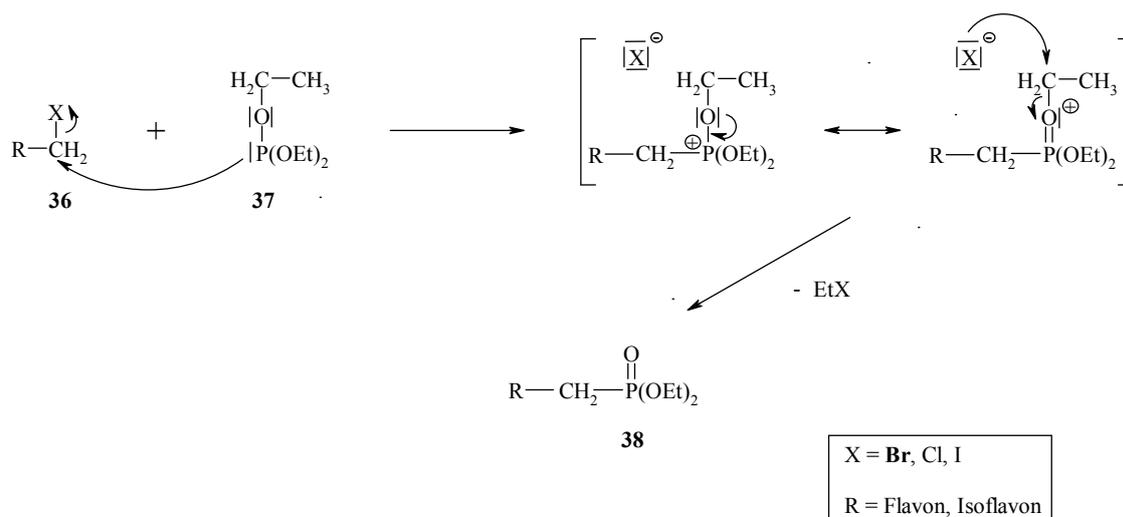


Abb. 17: Blockschema der Wittig-Horner-Emmons-Reaktion

Dabei sind die erforderlichen Carotenaldehyde im Institut für Organische Chemie I vorrätig oder käuflich zu erwerben. Die Flavonyl- bzw. Isoflavonylphosphonate sollten sich wie oben erwähnt aus den entsprechenden Alkylhalogeniden synthetisieren lassen, wozu sich laut Literatur^[1,66-68] im Allgemeinen die Michaelis-Arbuzov-Reaktion, die von einer Umsetzung des jeweiligen primären Alkylhalogenids **36** mit Triethylphosphit (TEP) **37** ausgeht, als effiziente Methode erwiesen hat.

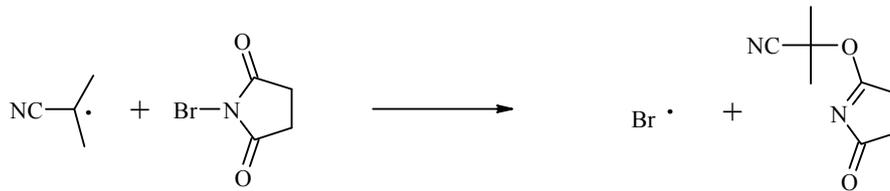
Abb. 18: Mechanismus der Michaelis-Arbuzov-Reaktion^[68]

Betrachtet man den Reaktionsverlauf mechanistisch, so wird der dreiwertige Phosphor des Phosphorigsäureesters **37** zunächst durch das Alkylhalogenid **36** quarternisiert und geht dann unter Abspaltung eines Moleküls Ethylhalogenid in den fünfwertigen Phosphonsäureester **38** über. Im Prinzip handelt es sich um eine Aufeinanderfolge zweier bimolekularer nucleophiler Substitutionen (S_N2),^[68] was bei der Wahl des Alkylhalogenids Bromide bevorzugen lässt. Während des nucleophilen Angriffs des Phosphorigsäureesters **37** auf das Alkylhalogenid **36** im ersten Reaktionsschritt, stellt Brom im Vergleich zu Chlor die bessere Abgangsgruppe dar.^[1] Iod wäre zwar eine noch bessere Abgangsgruppe als Brom, ist aber selbst auch ein sehr gutes Nucleophil,^[1] so dass eine Rückreaktion nicht auszuschließen wäre. Außerdem sind Iodide und Chloride hinsichtlich der Herstellung der entsprechenden Alkylverbindungen im Labormaßstab weit schwieriger zugänglich als Bromide, so dass Alkylbromide als Phosphonatvorstufe unter diesen Voraussetzungen auch die präparativ eleganteste Lösung darstellen, was für die hier gewünschten Phosphonate Flavonyl- bzw. Isoflavonylbromide als Vorstufe impliziert, für die gleichermaßen eine geeignete Synthesemethode ausfindig zu machen ist. Strukturell handelt es sich bei beiden um α -Bromalkylaromaten für deren Darstellung die radikalische Bromierung mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) **39** (Wohl-Ziegler-Reaktion) als bewährte Methode zur spezifischen Substitution von α -H-Alkylaromaten zur Verfügung steht.^[1,67] Die Wirkung des *N*-Bromsuccinimids gewährleistet bei dieser Radikalkettenreaktion, dass Brommoleküle in niedriger stationärer Konzentration geliefert werden und gleichzeitig der entstehende Bromwasserstoff verbraucht wird, so dass Nebenreaktionen wie Halogen-Addition an Doppelbindungen weitgehend vermieden werden können. Allerdings ist diese Art der Bromierung sehr empfindlich gegenüber Inhibitoren und setzt nur in Anwesenheit eines Initiators ein. Dazu dient beispielsweise Azo-bis-isobutyronitril (AIBN) **40**, das unter Thermolyse in zwei tert.-Butyronitrilradikale und Stickstoff zerfällt.

Kettenstart:

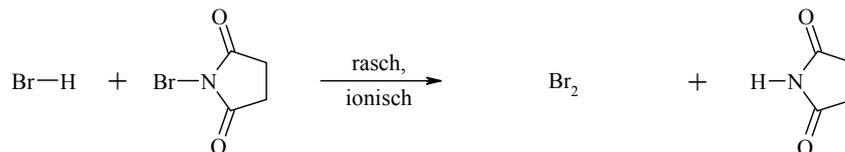
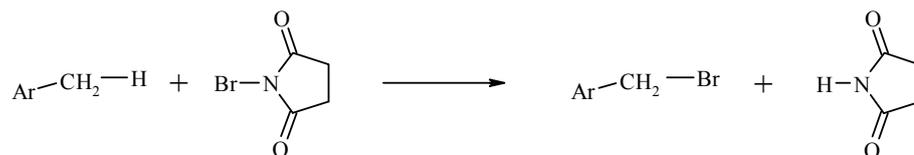


40



39

Propagationsschritte:

 Σ Propagationsschritte:

Ar = Aromat

Abb. 19: Mögliche Startreaktionssequenz und Kettenpropagation der NBS-Bromierung von Alkylaromaten

Übertragen auf die Brommethylflavonoidsynthese handelt es sich bei den im obigen Syntheschema auftretenden α -H-Alkylaromaten um methylierte Flavone bzw.

Isoflavone. An dieser Stelle trennen sich nun die Retrosynthesewege beider Verbindungstypen in eine entsprechende Flavonsynthese und Isoflavonsynthese. Zuvor sollte jedoch noch festgelegt werden, in welcher Position später die Kopplung mit dem Carotenaldehyd erfolgen soll, da die Stellung der Methylgruppe im Flavonoidteil dementsprechend zu wählen ist und darüber hinaus wäre in diesem Zusammenhang auch zu überlegen, in welchem Ring die Hydroxy-Gruppen einzuführen sind. Angesichts der unter Punkt 1.2 zusammengestellten Struktur-Wirkungsbeziehung für Flavonoide einerseits und des Bestrebens nach einer Ausdehnung des konjugierten Carotinoid- π -Systems andererseits, wäre ein positiver Einfluß auf das Antioxidansverhalten der Carotenylflavonoide bei Einführung von Hydroxy-Substituenten im Flavonoid-B-Ring und Kopplung beider Chromophore am Flavonoid-A-Ring, zu erwarten, was bereits in Arbeiten von P. Noack^[69] (Dissertation in Vorbereitung) bezüglich Carotenylflavonen aufgegriffen wurde. Parallel dazu ist es von Interesse auch den umgekehrten Fall, also Einführung von Hydroxy-Gruppen im Flavonoid-A-Ring und Kopplung am Flavonoid-B-Ring sowohl für Carotenylflavone als auch für Carotenylisoflavone, auf sein antioxidatives Verhalten zu untersuchen. Im Folgenden wird somit der Einbau von Hydroxylgruppen im Flavonoid-A-Ring und Kopplung am Flavon- bzw. Isoflavon-B-Ring jeweils in 4'-Position, was zunächst über die 4'-Methylflavone und 4'-Methylisoflavone auf präparativ günstigste Weise zugänglich erscheint, verfolgt.

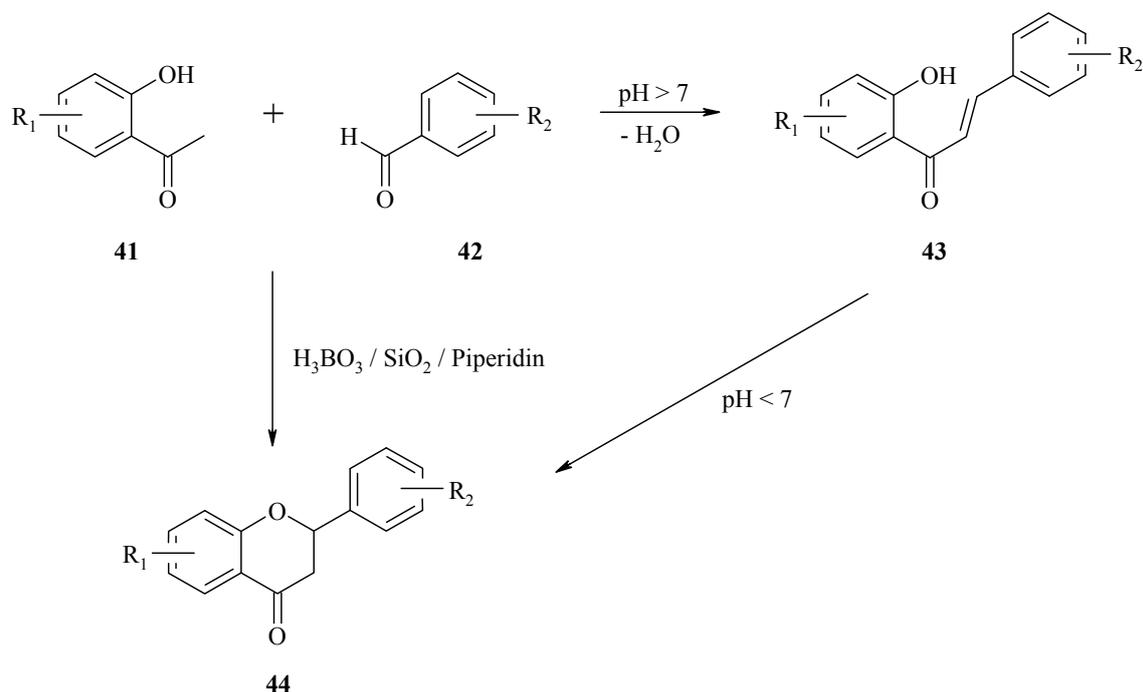
3.2 Flavonsynthesen

Wenden wir uns zuerst der Flavonsynthese zu, so werden in der Literatur^[49,70-75] verschiedene Methoden zum Aufbau des Flavongrundgerüsts beschrieben, die alle vom gleichen Edukttyp, einem dem angestrebten Flavon entsprechend substituierten 2'-Hydroxyacetophenonderivat **41** ausgehen.

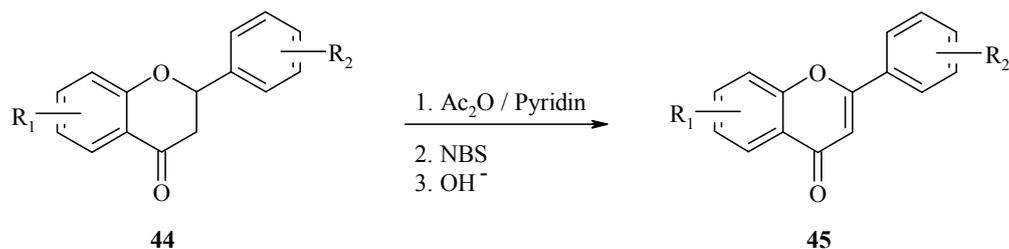
A: Flavanon-Route

Das 2'-Hydroxyacetophenonderivat **41** wird mit einem Benzaldehydderivat **42** entweder durch Zusatz starker Basen, z. B. Natriumhydroxid^[76], oder in Puffersystemen wie

Borsäure/Natriumhydroxid/Kaliumchlorid^[77] bzw. Borsäure/Siliziumoxid/ Piperidin^[78] über eine Claisen-Schmidt-Reaktion zunächst zum Chalkon **43** kondensiert. Mechanistisch wird die Bildung des Chalkons **43** unter Punkt B (DMSO-Route) näher erläutert. Nach Isolation des Chalkons **43** erfolgt dann im sauren Milieu die Cyclisierung zum Flavanon **44**. Erfolgt die Umsetzung der beiden Edukte **41** und **42** in oben genannten Puffersystemen im schwach basischen Milieu, wird teilweise auch direkte Cyclisierung zum Flavanon **44** beobachtet:

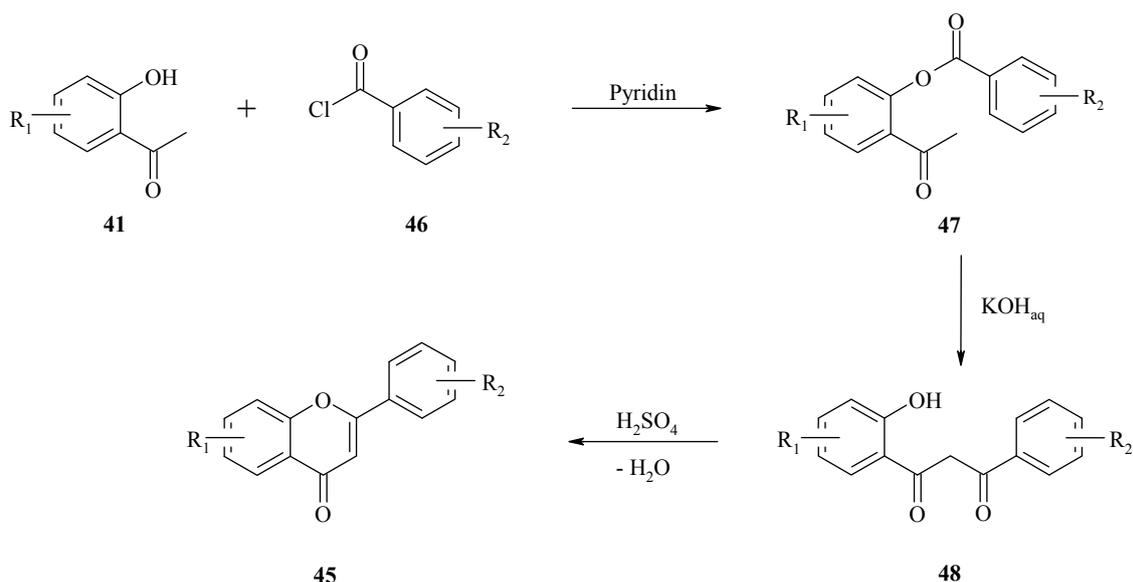


Die Dehydrierung zum Flavon **45** kann mittels Thallium-III-Salzen^[79], oder 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-*p*-benzoquinon (DDQ)^[80] als Oxidationsmittel erreicht werden. Weiterhin ist auch die radikalische Bromierung mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) und anschließende Bromwasserstoff-Eliminierung zu diesem Zweck gebräuchlich^[81]:



B: Baker-Venkataraman-Route

Erster Reaktionsschritt ist hierbei die Veresterung eines 2'-Hydroxyacetophenonderivates **41** mit einem aromatischen Acylchlorid **46**. Der auf diese Weise entstandene Ester **47** wird im zweiten Reaktionsschritt in einer basenkatalysierten Baker-Venkataraman-Reaktion zum entsprechenden 1,3-Diketon **48** umgelagert, welches anschließend säurekatalytisch unter Wasserabspaltung zum Flavon **45** cyclisiert wird.^[72,82-86]

**C: DMSO-Route**^[75]

Diese Syntheseroute verläuft wie die Flavanon-Route über ein Chalkon **43**, welches durch basenkatalysierte Aldolkondensation des 2'-Hydroxyacetophenonderivats **41**, das letztlich den Flavonoid-A-Ring darstellt, mit einem den entsprechend substituierten Flavonoid-B-Ring liefernden Derivat des Benzaldehyds **42** erhalten wird. Mechanistisch wird dabei dem zur Keto-Gruppe α -ständigen C-Atom des Acetophenons unter Wirkung einer Base, z. B. Natriumhydroxid, ein acides Proton entzogen, wodurch ein negativ geladener Kohlenstoff, ein Carbanion, entsteht. Dieses addiert im nächsten Schritt an das positiv polarisierte Carbonyl-C-Atom des Benzaldehyds. Im letzten Schritt kommt es dann zu der eigentlichen Kondensation, nämlich der Wasserabspaltung aus dem Additionsprodukt.

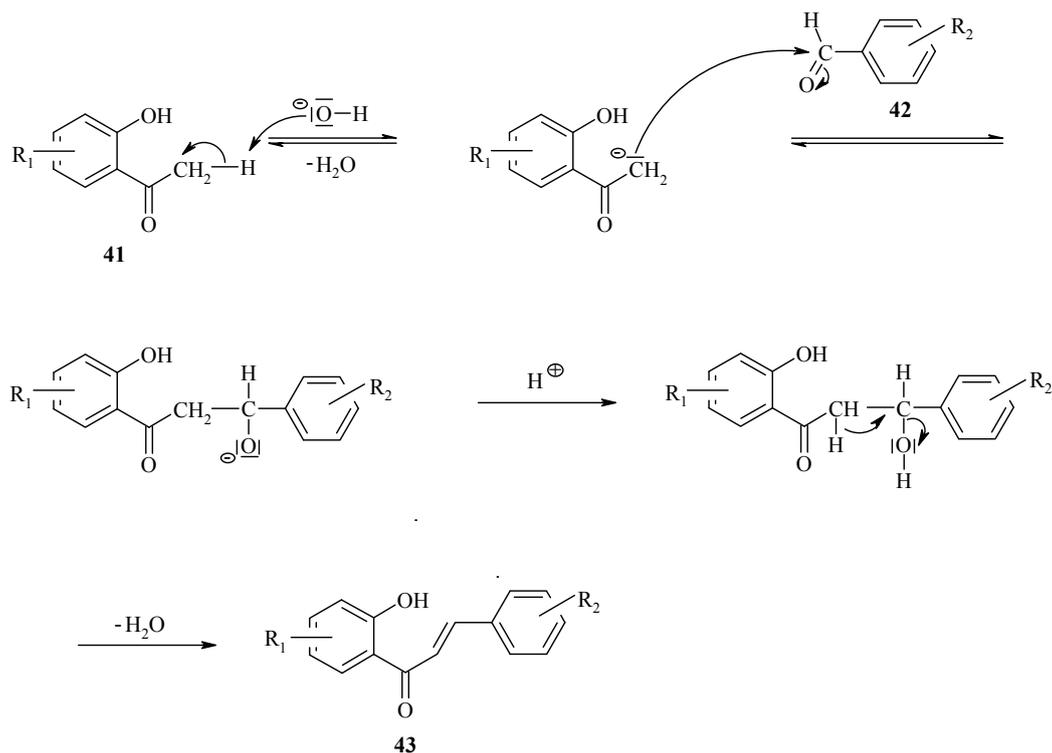
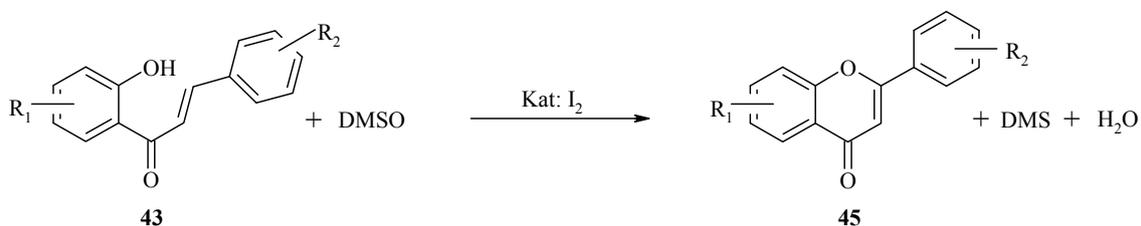


Abb. 20: Mechanismus der Aldolkondensation am Beispiel der Synthese des Chalkons **43**

Zweiter Syntheseschritt der DMSO-Route ist die Cyclisierung des Chalkons, wobei schließlich noch der Flavonoid-C-Ring ausgebildet wird. Hier kommt nun diese Synthesemethode benennende Dimethylsulfoxid (DMSO) zum Einsatz, in dem es unter der Wirkung katalytischer Mengen Iod über einen oxidativen Ringschluss zur Bildung des Flavons **45** führt. Das DMSO selbst wird dabei zum Dimethylsulfid (DMS) reduziert.

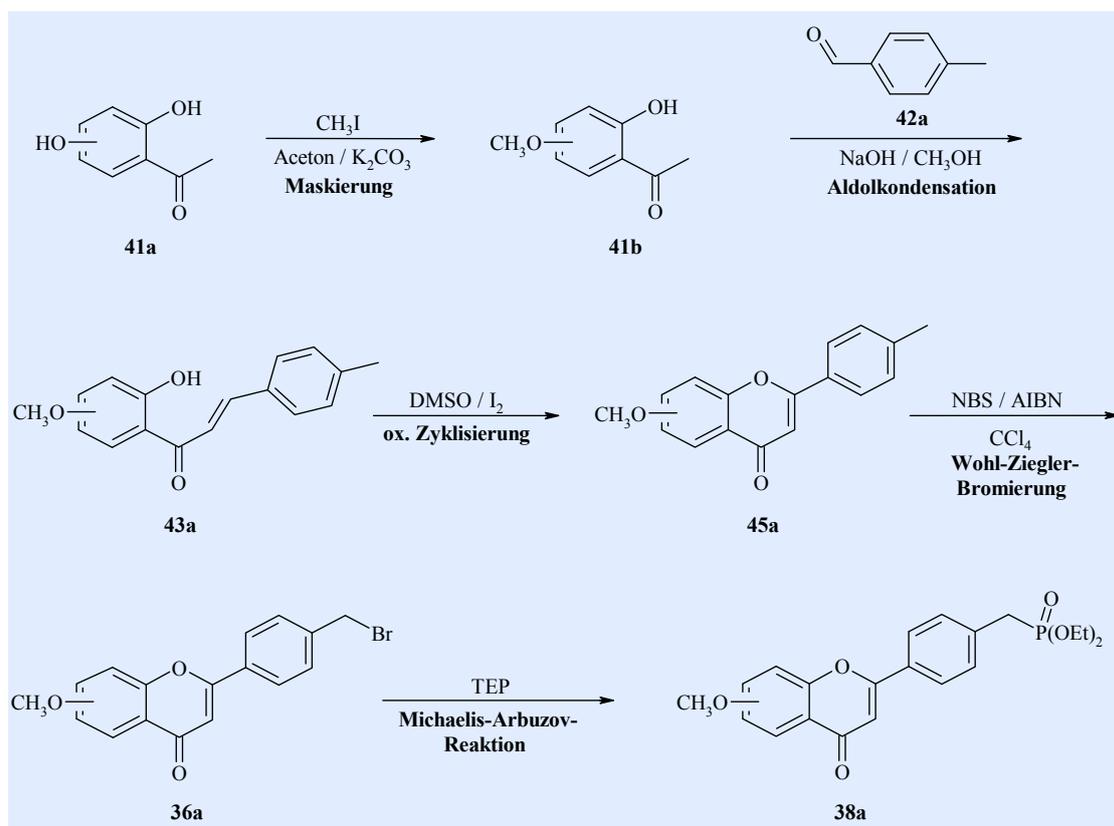


Der Mechanismus dieser Reaktion ist noch nicht geklärt, es ist lediglich bekannt, dass zwischen DMSO und Iod ein Oxidations-Reduktions-Zyklus abläuft.^[87]

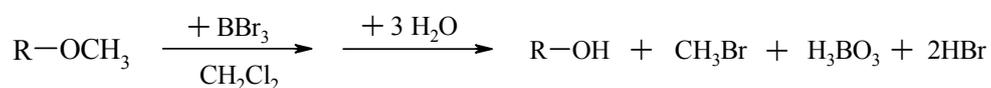
Von den drei aufgezeigten Methoden wird aufgrund bisheriger präparativer Erfahrungen, guter Handhabung, was auch die Zugänglichkeit der Edukte und benötigten Reagenzien betrifft, und relativ geringem Syntheseumfang die DMSO-Route zum Aufbau des Flavongerüsts gewählt. Einen wichtigen Aspekt stellt nun noch die Einführung der Hydroxy-Gruppen dar, die angesichts des DMSO-Syntheseschemas idealerweise zu Beginn des Flavongerüstaufbaus, also als entsprechende Substitution des 2'-Hydroxyacetophenon erfolgt. Allerdings stellt sich dabei die Frage, ob phenolische Hydroxy-Gruppen im Verlauf der Gesamtsynthese störend wirken und deshalb einer Maskierung bedürfen. Reflektiert man dazu noch einmal sämtliche Reaktionsbedingungen, würde spätestens die Darstellung der Brommethylflavone via NBS-Bromierung durch freie Hydroxy-Gruppen gestört, da sie als Radikalfänger bei einer radikalischen Reaktion Inhibitorfunktion hätten. Demnach wäre spätestens auf der Stufe der Methylflavone die Maskierung der Hydroxy-Gruppen erforderlich, aber auch schon während der basenkatalysierten Aldolkondensation zur Chalkondarstellung besteht die Gefahr, dass zusätzliche phenolische Hydroxy-Gruppen die Reaktivität des Acetophenons herabsetzen oder zu unerwünschten Nebenreaktionen führen, indem sie ihrerseits deprotoniert werden. Somit erscheint es sinnvoll, die Hydroxy-Gruppen schon im Acetophenon, also noch vor Beginn der Chalkonsynthese zu schützen, wobei die Hydroxy-Gruppe in 2'-Position allerdings ungeschützt bleiben sollte, da sie für den Ringschluss zum Flavon benötigt wird. Daraus tut sich als nächstes die Frage nach der Art der Schutzgruppe auf. Eine geeignete Schutzgruppe sollte sich leicht und selektiv in die zu maskierende Verbindung einführen lassen, während der nachfolgenden Reaktionen stabil, hier insbesondere basenstabil und sterisch nicht zu anspruchsvoll sein, keine unerwünschten Nebenreaktionen verursachen und möglichst schonend entferntbar sein. Unter Berücksichtigung dieser Anforderungen erscheint zunächst die Veretherung von Hydroxy-Gruppen zum Methoxy-Derivat als geeignete Maskierung, was am jeweiligen Acetophenon über eine Variante der Williamson-Veretherung mit Methyljodid als Methylierungsreagenz geschehen kann.^[67,73] Die Wiederfreisetzung der Hydroxy-Gruppen sollte dann erst nach erfolgter Kopplung zum Carotenylflavon stattfinden, da auch unter den Bedingungen der Wittig-Horner-Emmons-Reaktion durch Deprotonierung phenolischer Hydroxy-Gruppen Probleme entstehen könnten. Im Hinblick auf den säure- und hitzeempfindlichen Polyenteil muss allerdings unter milden

Bedingungen entschützt werden, was einige präparative Probleme aufwirft, die letztendlich zu einer Modifikation der Syntheseroute führen, worauf unter Punkt 3.5.2 näher eingegangen wird.

Insgesamt lässt sich zunächst für die Darstellung der Methoxyflavonphosphonate **38a** folgende 5-stufige Synthesesequenz zusammenstellen:



Kopplung der Methoxyflavonphosphonate **38a** mit Carotenaldehyden unter Wittig-Horner-Emmons-Reaktionsbedingungen generiert dann die methoxylierten Flavon-Polyen-Farbstoffe, die zur Freisetzung der Hydroxy-Substituenten noch auf schonende Weise entschützt werden müssen. Eine in der Literatur^[88] beschriebene milde Methode zur Etherspaltung verläuft bei Raumtemperatur unter Einwirkung von Bortribromid (BBr_3 , in Dichlormethan) auf die geschützte Substanz und anschließender Hydrolyse:



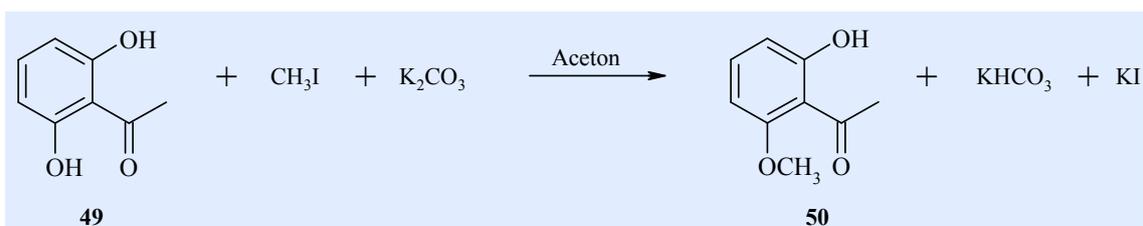
Bei Anwendung dieser Methode auf methoxylierte Carotenyflavone ist jedoch zu berücksichtigen, dass bei der Reaktion entstehende Säure (Bromwasserstoff) die Polyenkette angreifen und zerstören kann, was evtl. durch Abfangen der Säure mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung unterdrückt werden könnte. Möglicherweise sind es aber auch schon die Wechselwirkungen des Bortribromids selbst mit der Polyenkette, die selbige zerstören lassen. Jedenfalls ergibt sich aus den synthesespezifischen Schwierigkeiten der Vergangenheit^[65], wie unter Punkt 3.5.2 beschrieben eine Änderung der Syntheseroute auf der Stufe des Methoxyflavonphosphonats **38a**.

3.3 Synthese der Methoxy-Flavone

3.3.1 Synthese des Flavons 53

Ausgangsverbindung ist das 2,6-Dihydroxyacetophenon **49**, welches über eine Variante der Williamson-Veretherung in Gegenwart von Kaliumcarbonat als Base und einem Äquivalent Methyljodid in Aceton methoxyliert wird.^[67,73]

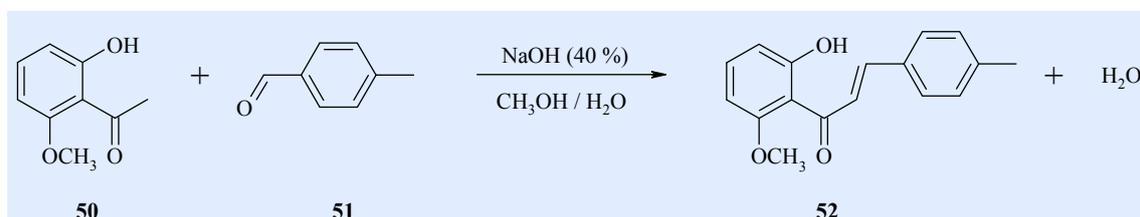
V1



Da das 2,6-Dihydroxyacetophenon **49** spiegelsymmetrisch ist, spielt es keine Rolle, welche der beiden Hydroxy-Gruppen bei dieser nucleophilen Substitution verethert wird. Dass es allerdings nicht zur gleichzeitigen Veretherung beider Hydroxy-Gruppen in einem Molekül kommt, beruht darauf, dass grundsätzlich die Neigung zur intramolekularen Wasserstoffbrückenbildung der Hydroxy-Gruppen mit dem Sauerstoff der benachbarten Keto-Gruppe besteht. Sobald nun eine der beiden Hydroxy-Gruppen verethert wird, bleibt die andere durch besagte Wasserstoffbrücke einer weiteren

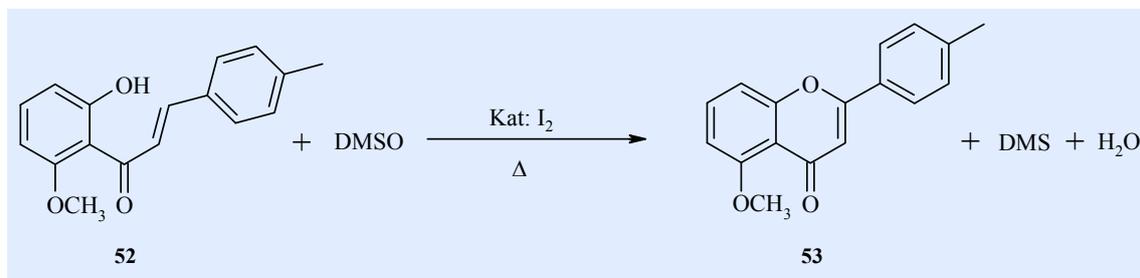
Veretherung unzugänglich. Eine weitere und vielleicht sogar noch entscheidendere Rolle spielt hierbei sicherlich die Möglichkeit zur Chelatisierung des Kations der verwendeten Base zwischen Phenolat- und Keto-Sauerstoff. Hierin ist auch die Ursache für die 77%ige und damit hohe Ausbeute an mono-Methoxy-Produkt zu suchen.

Man gewinnt auf diese Weise das 2-Hydroxy-6-methoxyacetophenon **50**, welches anschließend, unter ebenfalls 77%iger Ausbeute, in einer Aldolreaktion mit *p*-Toluyaldehyd **51** und 40%iger Natronlauge zum 2'-Hydroxy-6'-methoxy-4-methylchalkon **52** kondensiert.^[74]



V2

Gefolgt von einem iodkatalysierten oxidativen Ringschluss des Chalkons **52** in Dimethylsulfoxid (DMSO) entsteht schließlich das 5-Methoxy-4'-methylflavon **53** mit einer Ausbeute von 85 %.^[75,87]



V3

Dabei ist zu beachten, dass die Reaktionszeit 60 Minuten nicht überschreitet (dünnschichtchromatographische (DC) -Reaktionskontrolle bzw. zwischenzeitliche Probeentnahme und Testhydrolyse \Rightarrow gelblicher bis blassrosa Niederschlag), um eine Zersetzung des Produkts bzw. das Entstehen von undefinierten Nebenprodukten weitgehend zu vermeiden, was sonst die Aufarbeitung erschweren und die Ausbeute erheblich mindern würde. Weiterhin kann das nach beendeter Reaktion bei Hydrolyse ausfallende Rohprodukt durch das Arbeiten im salzsauren Medium (pH 1-2) in eine leichter filtrierbare Form gebracht werden. Vermutlich hat der pH-Wert über das DMSO

einen Einfluß auf die Fällungsform des Methoxyflavons, was sich bei neutraler Hydrolyse nach kurzer Zeit durch grau-blau Färbung des zuerst gelblichen Niederschlags bemerkbar macht. In dieser Form ist das Rohprodukt sehr schwer filtrierbar, wogegen es durch Zusatz von konzentrierter Salzsäure eine gutfiltrierbare flockige Konsistenz annimmt und seine Farbe wieder nach gelb bis ockerfarben umschlägt.

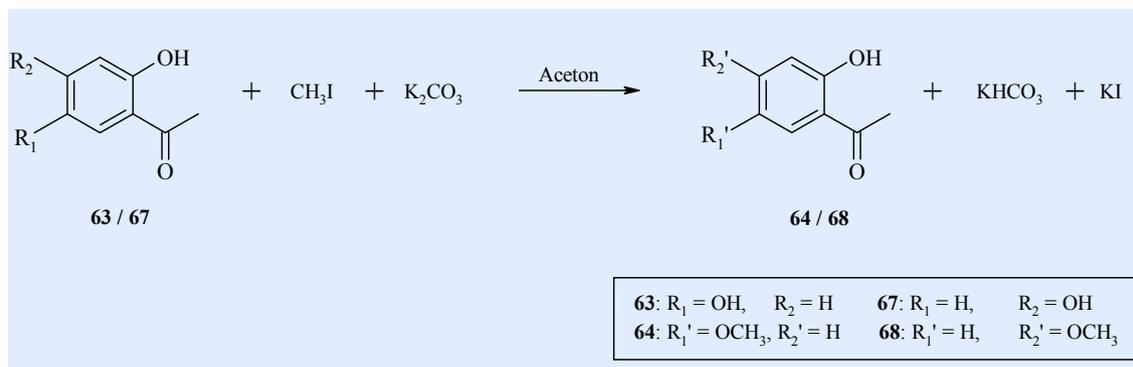
3.3.2 Synthese der Flavone 66 und 70

Beide Flavone wurden bereits während meiner Diplomarbeit^[65] synthetisiert, konnten aber nicht weiter zu den Phosphonaten umgesetzt werden, da erhebliche Schwierigkeiten bei der Bromierung, der Phosphonatsynthese eine Grenze setzten. Deshalb werden sie hier auch nur der Vollständigkeit halber aufgenommen, kommen aber bezüglich der Carotenylflavondarstellung nicht weiter in Betracht.

Ausgehend vom 2,5-Dihydroxyacetophenon **63** zur Darstellung von Flavon **66** und 2,4-Dihydroxyacetophenon **67** zur Darstellung von Flavon **70** wird die Synthese analog der unter Punkt 3.3.1 für das 5-Methoxy-4'-methylflavon **53** beschriebenen Methode durchgeführt.^[73-75]

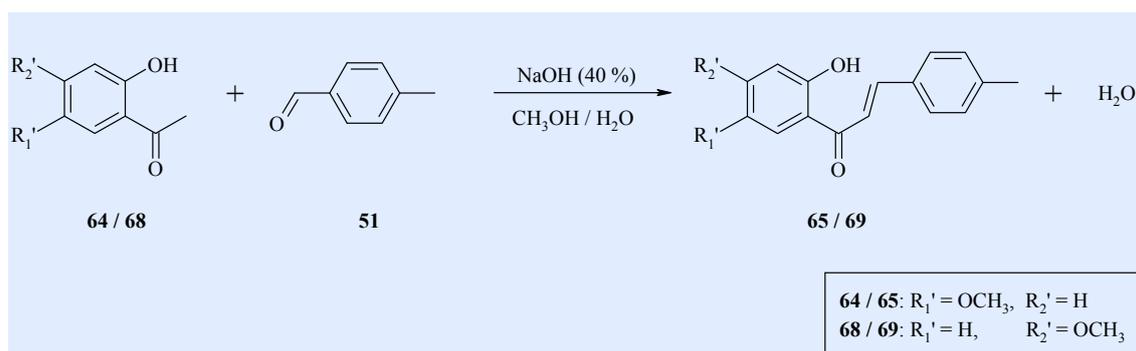
Die Methoxylierung von Verbindung **63** liefert das 2-Hydroxy-5-methoxyacetophenon **64** in 74%iger Ausbeute und die Methoxylierung von Verbindung **67** liefert entsprechend das 2-Hydroxy-4-methoxyacetophenon **68** in 91%iger Ausbeute:

V4 /
V7



Auch hier macht sich die Verbrückung zwischen Hydroxy- und benachbarter Keto-Gruppe, sowie die Chelatisierung des Basenkations in der überwiegenden Reaktion des acideren Protons der noch freien Hydroxy-Gruppe und den damit verbundenen guten Ausbeuten an jeweils gewünschtem mono-Methoxy-Produkt bemerkbar.

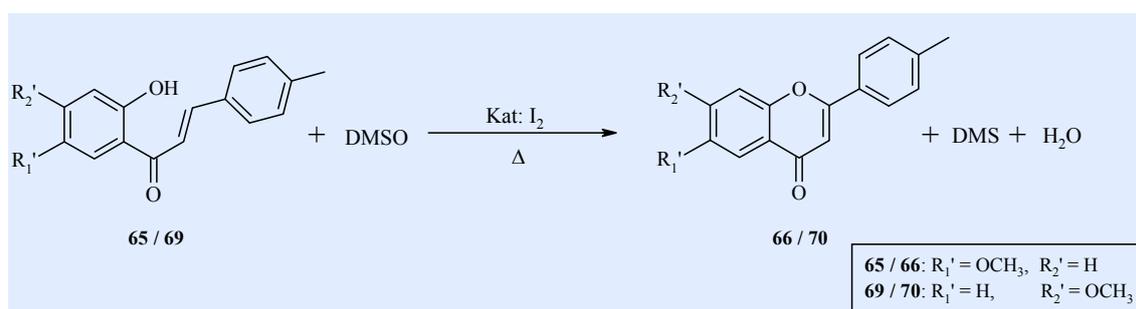
Auf die Einführung der Schutzgruppe folgt die Umsetzung der methoxylierten Hydroxyacetophenone **64** und **68** zum jeweiligen Chalkon **65** und **69**,



**V5 /
V8**

wobei das 2'-Hydroxy-5'-methoxy-4-methylchalkon **65** in einer Ausbeute von 53 % und das 2'-Hydroxy-4'-methoxy-4-methylchalkon **69** in einer Ausbeute von 44 % anfällt.

Der Aldolkondensation schließt sich nun noch der oxidative Ringschluss der Chalkone zum 6-Methoxy-4'-methylflavon **66** bzw. 7-Methoxy-4'-methylflavon **70** an:



**V6 /
V9**

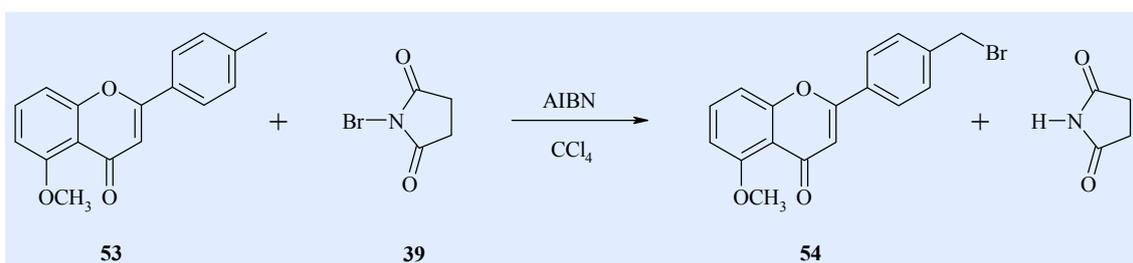
Die Reaktion verläuft mit einer Ausbeute von 91 % für Flavon **66** und 82 % für Flavon **70** sehr zufrieden stellend.

3.4 Synthese der Methoxyflavonphosphonate

3.4.1 Synthese des 5-Methoxyflavonphosphonats 55

Wie unter Punkt 3.1 Synthesepaltung beschrieben eignet sich die Michaelis-Arbuzov-Reaktion zur Darstellung des 5-Methoxyflavonphosphonats **55** aus 5-Methoxy-4'-brommethylflavon **54**. Dem geht allerdings zunächst noch mit 70%iger Ausbeute die radikalische NBS-Bromierung des 5-Methoxy-4'-methylflavons **53** voraus:

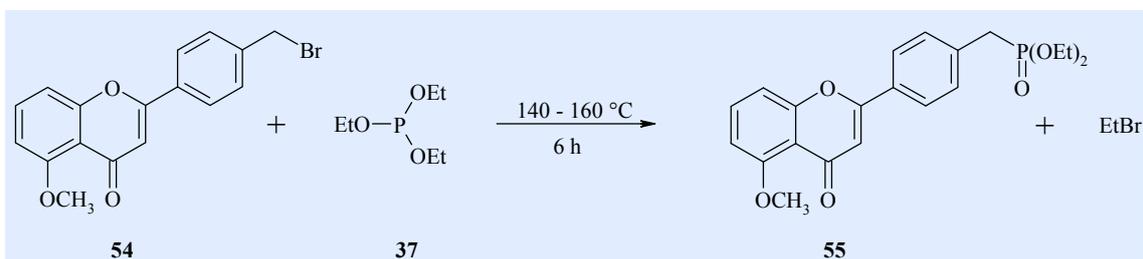
V10



Unter Einhalten einer Reaktionszeit von $1\frac{3}{4}$ h am Rückfluss (Ölbadtemperatur max. $110-120\text{ }^\circ\text{C}$) können so relativ gute Ausbeuten erzielt und das Entstehen von Nebenprodukten weitgehend vermieden werden.

Im folgenden Syntheseschritt wird das 5-Methoxy-4'-brommethylflavon **54** bei einer Ölbadtemperatur von $140-160\text{ }^\circ\text{C}$ für die Dauer von 6 h mit Triethylphosphit (TEP) **37** behandelt:

V11

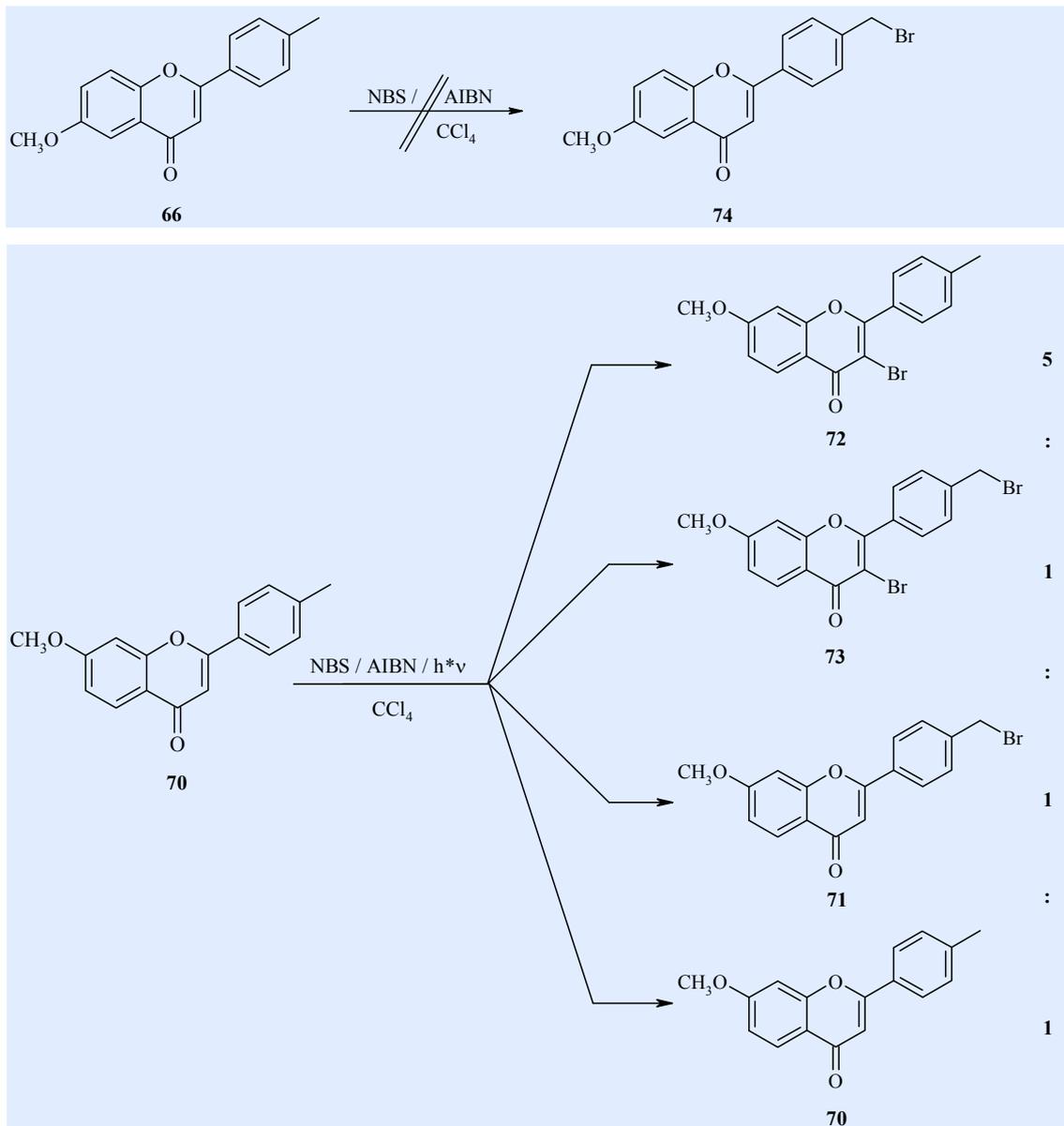


Schließlich kann das 5-Methoxyflavonphosphonat **55** mit einer Ausbeute von 74 % isoliert werden.

3.4.2 Versuche zur Synthese des 6- und des 7-Methoxyflavonphosphonats

Bisher war es, wie schon unter Punkt 3.3.2 erwähnt, nicht möglich diese Phosphonate auf dem hier beschriebenen Wege darzustellen, da bereits die Bromierung selbst nach Variation der Reaktionsbedingungen nicht bzw. nicht in ausreichender Menge zu den gewünschten Bromiden führte. Zunächst wurde sowohl das 6-Methoxy-4'-methylflavon **66** als auch das 7-Methoxy-4'-methylflavon **70** einer NBS-Bromierung unterzogen, wobei die Reaktion von Verbindung **70** erst nach zusätzlichem Belichten der Reaktionsmischung einsetzte. In diesem Fall entstand laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum^[65] ein 5:1:1:1 Gemisch folgender vier Substanzen: 3-Brom-7-methoxy-4'-methylflavon **72**, 3-Bromo-7-methoxy-4'-brommethylflavon **73**, 7-Methoxy-4'-brommethylflavon **71** und 7-Methoxy-4'-methylflavon **70**, wobei das 3-Brom-7-methoxy-4'-methylflavon **72** den größten Anteil ausmachte. Vermutlich führte die zusätzliche Belichtung dazu, dass eine ausreichend hohe Radikalkonzentration vorlag, um die Bromaddition an die 2-3 Doppelbindung zur Hauptreaktion werden zu lassen. Da allerdings im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum kein Hinweis auf ein Methin-Proton vorlag, ist anzunehmen, dass der Bromaddition eine Bromwasserstoff-Eliminierung folgte, so dass im Endeffekt das in 3-Position substituierte Produkt entstand.^[65] Es gelang zwar über die unterschiedlichen Löslichkeiten der Produkte in Tetrachlorkohlenstoff die in 3-Position bromierten Verbindungen von dem Substanzgemisch abzutrennen, es verblieb aber immer noch ein etwa 1:1 Gemisch aus Edukt **70** (7-Methoxy-4'-methylflavon) und gewünschtem Produkt **71** (7-Methoxy-4'-brommethylflavon), dessen geringe Ausbeute keine weitere Umsetzung zum Phosphonat erlaubte.

Die Reaktion des 6-Methoxy-4'-methylflavons **66** setzte scheinbar unter den Bedingungen einer NBS-Bromierung ein, statt des erwarteten 6-Methoxy-4'-brommethylflavons **74** entstand aber offenbar ein nicht definiertes Reaktionsprodukt aus Succinimid und Fragmenten des Starters AIBN, was im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum^[65] ein charakteristisches, aber nicht weiter gedeutetes Peakmuster zeigte,^[89] das Edukt **66** blieb unverändert.

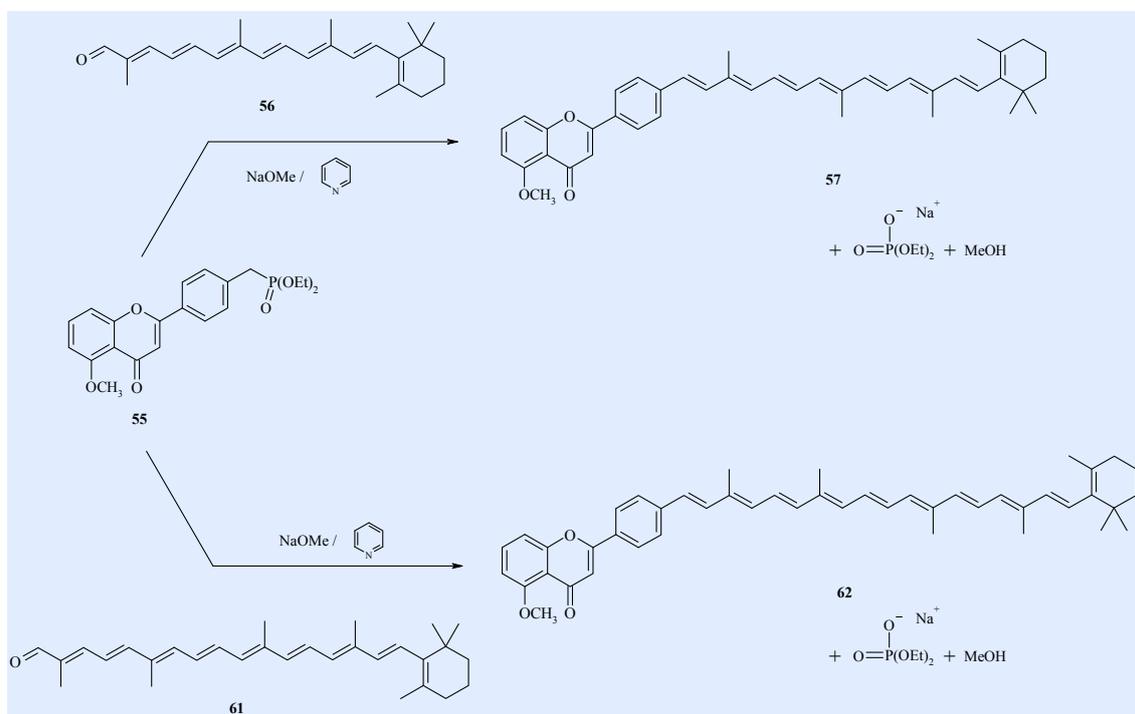


Diesen Ergebnissen zu Folge hat die Stellung der Methoxy-Gruppe im Flavongerüst eine erhebliche Auswirkung auf die Bromierbarkeit der Verbindungen.

3.5 Synthese der Carotenylflavone

3.5.1 Synthese der methoxylierten Carotenylflavone

Beim Zusammenfügen der Flavon-Polyen-Farbstoffe findet nun die neben den phenolischen Hydroxy-Gruppen zweite für das antioxidative Verhalten dieser Verbindungen ausschlaggebende Komponente Berücksichtigung, nämlich die Länge der Polyenkette des Carotinoidteilchromophors, wobei eine möglichst hohe Anzahl an konjugierten Doppelbindungen angestrebt wird. Andererseits ist aber auch zu bedenken, dass die zur Kopplung via Wittig-Horner-Emmons-Reaktion benötigten Carotenaldehyde mit zunehmender Kettenlänge oxidationsempfindlicher und somit synthesespezifisch schwerer handhabbar werden. So wurden schon im Rahmen meiner Diplomarbeit^[65] Kopplungen des in 5-Position methoxylierten Phosphonsäureesters **55** mit β -Apo-12'-Carotenal (C_{25} -Aldehyd) **56** und β -Apo-8'-Carotenal (C_{30} -Aldehyd) **61** vorgenommen:



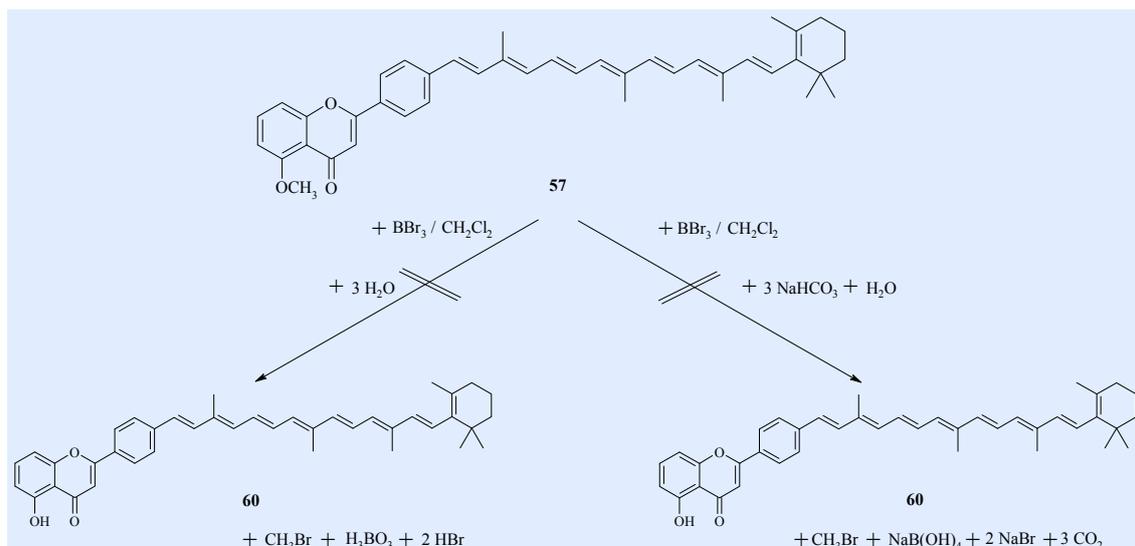
Die Kopplung wurde in Pyridin bei 0-5 °C durchgeführt. Als Base zur Deprotonierung des Phosphonats konnte Natriummethanolat verwendet werden, da das entstehende

Phosphonat-Carbanion durch den α -ständigen Phenylring gut stabilisiert wird. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 23-stündiger Reaktionszeit und säulenchromatographischer Aufreinigung (stationäre Phase: Merck Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 10:1) des Rohprodukts ließ sich das 5-Methoxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]-flavon (C_{25} -Kopplungsprodukt) **57** in 96%iger Ausbeute isolieren.

5-Methoxy-4'-[3,7,12,16-tetramethyl-18-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)octadeca-1,3,5,7,9,11,13,15,17-nonaenyl]flavon (C_{30} -Kopplungsprodukt) **62** wurde nach einer Reaktionszeit von 3 d und ebenfalls säulenchromatographischer Aufarbeitung (stationäre Phase: Merck Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 2:1) in einer Ausbeute von 11 % erhalten.

3.5.2 Entfernen der Methyl-Schutzgruppe

Zur Spaltung der Etherschutzgruppe wurde die unter Punkt 3.2 erwähnte, als relativ mild geltende Bortribromidmethode angewendet. Es gelang jedoch weder bei vorschriftsgemäßen noch bei variierten Reaktionsbedingungen^[88] den gewünschten hydroxylierten Flavon-Polyen-Farbstoff zu synthetisieren.^[65] Verbindung **57** wurde in Dichlormethan gelöst und unter Eiskühlung mit einer 1 molaren Lösung von Bortribromid in Dichlormethan versetzt. Dann verblieb die Reaktionsmischung drei Tage unter Rühren bei Raumtemperatur und wurde anschließend mit Eiswasser hydrolysiert.^[88] Nach säulenchromatographischer Aufarbeitung (stationäre Phase: Merck Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5:1) gewann man ein öliges dunkelrot-braunes Produkt, das gemäß $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zwar erfolgreich demaskiert wurde, dem aber gleichzeitig auch der Polyenteil zerstört wurde, so dass es nicht dem erwarteten 5-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]flavon **60** entspricht. Dieses Ergebnis ist vermutlich auf bei der Hydrolyse entstehenden Bromwasserstoff und dessen Angriff auf die Polyenkette zurückzuführen.^[65]



In einem weiteren Versuch wurde das methoxylierte Carotenylflavon **57** wiederum mit Bortribromid behandelt, jedoch wurden die Reaktionsbedingungen dahin gehend modifiziert, dass unter Argonatmosphäre gearbeitet wurde und die Hydrolyse mit eisgekühlter gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung erfolgte, um die freiwerdende Säure abzufangen. Es konnte jedoch auch auf diesem Wege nicht die gewünschte Verbindung **60** isoliert werden. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (stationäre Phase: Merck Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5:1) erhielt man zwei Produktfraktionen, die zwar im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum beide den formalen Austausch der Methoxy- gegen eine Hydroxy-Gruppe zeigen, aber im Einklang mit den UV-Daten auch einen Abbau bzw. eine Veränderung des Polyenteils aufweisen.^[65] Als Ursache für den Abbau oder die Unterbrechung des konjugierten Systems besteht in Anbetracht der Reaktionsbedingungen folgende durch Massenspektrometrie-Daten^[65] unterstützte Annahme:

Um einen Säureangriff bei der Hydrolyse zu vermeiden wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung hydrolysiert, demzufolge müsste die Veränderung am Polyensystem schon zuvor, während der eigentlichen Demaskierungsreaktion, stattgefunden haben. Hierfür könnte Bromwasserstoff verantwortlich sein, der durch möglicherweise schon in der käuflich erworbenen Bortribromid-Lösung (1M in Dichlormethan) enthaltene geringe Wassermengen entstanden ist und so mit der Bortribromid-Lsg. der Reaktionsmischung zugegeben wurde. Im Verlaufe der Reaktion könnte dann Bromwasserstoff-Addition an die Doppelbindungen der Flavon-Polyen-

Verbindung erfolgen, wobei dies an verschiedenen Positionen stattfinden und zur Bildung von Konstitutionsisomeren führen kann, was zwar eine Unterbrechung des konjugierten Polyensystems mit sich bringt aber das Flavon-Polyen-Grundgerüst beibehält und hinsichtlich der Massenspektren^[65] beider Produktfraktionen plausibel erscheint. Diese zeigen zwar jeweils ein Signal bei 584 M/z, wodurch das Vorliegen der gewünschten Substanz **60** ($M = 584.79$) vorgetäuscht wird, weisen aber ansonsten ein signifikant unterschiedliches Fragmentierungsmuster auf. Unter der Annahme einer Hydrobromierung des Polyensystems könnten die Signale bei 585 M/z bzw. 584 M/z jedoch Fragment-Ionen zugeordnet werden, die durch sofortige Br- bzw. HBr-Abspaltung gebildet wurden, wobei der eigentliche M^+ -Peak der jeweiligen hydrobromierten Verbindung im Spektrum nicht auftritt. Somit ließen sich die hier vorliegenden zwei Produktfraktionen als isomere Hydrobrom-Addukte von **60** deuten.^[65]

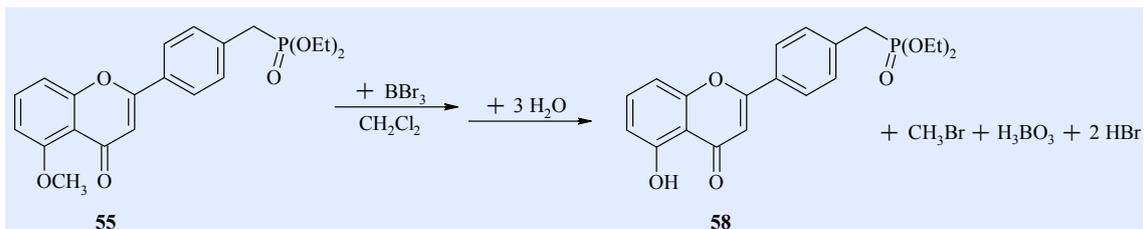
Zusammenfassend zeigen diese Befunde, dass eine störungsfreie Spaltung der Methylether-Bindung am gekoppelten Carotenylflavon scheinbar nicht möglich ist. Die Methyl-Schutzgruppe müsste also noch vor der Kopplungsreaktion entfernt und durch eine andere, den Synthesebedingungen angepasste Schutzgruppe ersetzt werden, da nach wie vor phenolische Hydroxy-Gruppen die Wittig-Horner-Emmons-Reaktion stark einschränken, wenn nicht sogar verhindern würden.^[90] Nun stellt sich die Frage, an welcher Stelle der Gesamtsynthese ein Austausch der Schutzgruppe günstig wäre, oder ob von vorn herein eine andere Schutzgruppe der Methyl-Gruppe vorzuziehen sei. Im Bereich der Flavonsynthese hat sich jedoch die Veretherung der phenolischen Hydroxy-Gruppen zum Methylether als äußerst günstig erwiesen (Punkt 3.3.1 und 3.3.2) und erst die Flavon-Polyen-Kopplungsreaktion oder vielmehr das damit verbundene Demaskieren verlangen nach einer anderen Verknüpfungsart zwischen Flavonteil und Schutzgruppe. Angesichts des säureempfindlichen Polyenteils könnte eine Veresterung die geeignete Maskierung der phenolischen Hydroxy-Gruppe darstellen, die sich dann durch Esterspaltung im basischen Milieu, dem auch der Polyenteil des Carotenylflavons stand halten sollte, wieder freisetzen ließe. Es ist aber auch zu bedenken, dass das Entfernen der Schutzgruppe mittels Esterspaltung nicht zwangsläufig im Anschluss an die Kopplung stattfinden muss, sondern unter den basischen Bedingungen der Wittig-

Horner-Emmons-Reaktion durchaus schon während der Kopplungsreaktion als Konkurrenzreaktion ablaufen und ungünstigenfalls diese sogar verhindern kann. Dem wäre evtl. durch Wahl einer relativ stabilen Ester-Gruppe vorzubeugen, wobei es sich um eine Stabilisierung aufgrund sterischer oder elektronischer Effekte handeln kann. Letztere würden z. B. durch einen Phenylring als Substituenten bewirkt, indem er mit der Estercarbonylgruppe in Konjugation tritt und so die Spaltung durch zusätzlich aufzubringende Delokalisationsenergie erschwert. Gelingt es dann noch den notwendigen Basenzusatz mengenmäßig beiden Reaktionen, Olefinierung und Esterspaltung anzupassen, könnten im Idealfall Kopplung und Demaskierung nacheinander als Ein-Topf-Reaktion ablaufen. Diesen Anforderungen zu Folge wird die Benzoyl-Gruppe, die sich über eine Einhorn-Alkoholyse^[67] von Benzoylchlorid **75** mit der entsprechenden Hydroxy-Verbindung einführen lässt, als Ersatz für die Methyl-Gruppe gewählt. Dabei sollte der Schutzgruppenwechsel der Verbindung erst zu einem möglichst späten Zeitpunkt der Syntheseroute erfolgen, da sich die Methyl-Gruppe im Vergleich zur Benzoyl-Gruppe z. B. aufgrund ihrer Basenstabilität während der Chalkondarstellung und auch im Rahmen der Flavonphosphonatsynthese als gut geeignete Schutzgruppe erwiesen hat. Im Folgenden wird somit der Schutzgruppenaustausch erst auf der Stufe des Flavonphosphonats vorgenommen, wodurch sich die unter 3.2 zusammengestellte Synthesesequenz um zwei Schritte verlängert.

3.5.3 Schutzgruppenwechsel am 5-Methoxyflavonphosphonat **55**

Zum Demaskieren des 5-Methoxyflavonphosphonats **55** wird nochmals auf die Bortribromidmethode zurückgegriffen, die am hier zu behandelnden Phosphonat glatt verlaufen sollte, da neben der Methoxy-Gruppe keine weiteren säurelabilen Gruppen vorhanden sind und die Methode bereits an Flavonoiden, vinylog verlängerten Flavonoiden und Chromonen erfolgreich Anwendung fand.^[48,91]

V12



Wie aus obigem Reaktionsschema ersichtlich, kann in diesem Fall mit Eiswasser hydrolysiert werden, da das Abfangen der entstehenden Säure hier nicht erforderlich ist. Nach Umkristallisation aus Etanol lässt sich das 5-Hydroxyflavonphosphonat **58** als gelb-ockerfarbenes Pulver in einer Ausbeute von 69 % isolieren.

Die neue Schutzgruppe wird durch Veresterung des 5-Hydroxyflavonphosphonats **58** mit Benzoylchlorid **75** via Einhorn-Variante^[1,67] eingeführt. Die Reaktion kann bei Raumtemperatur mit einem Überschuss an Benzoylchlorid in Pyridin durchgeführt werden. Pyridin dient dabei sowohl als säurebindendes Mittel für die entstehende Salzsäure, als auch als Reaktionsbeschleuniger mittels nucleophiler Katalyse.^[1] Abbildung 20 gibt allgemein den Mechanismus der Einhorn-Reaktion wieder:

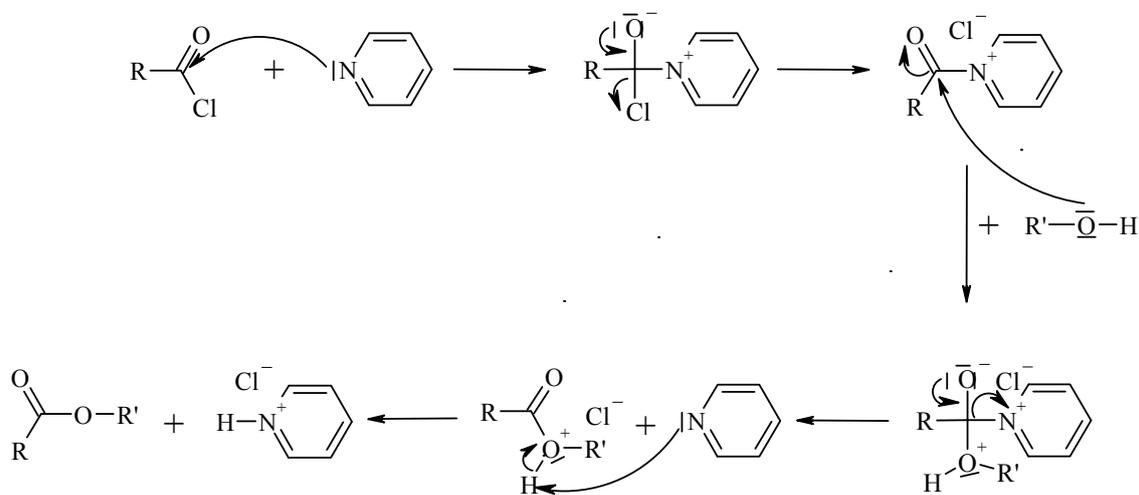


Abb. 21: Mechanismus der Einhorn-Reaktion

Im Falle des 5-Hydroxyflavonphosphonats **58** wird bei Raumtemperatur (RT) eine Reaktionszeit von 2 d benötigt. Bei vorzeitigem Beenden der Reaktion und Aufarbeiten der Reaktionsmischung erhält man laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ein Substanzgemisch aus dem gewünschten 5-Benzoylflavonphosphonat **59** und dem ungeschützten Edukt **58**. Für diese Befunde kann wahrscheinlich die Bildung einer intramolekularen H-Brücke zwischen der 5-Hydroxy- und der benachbarten Keto-Gruppe verantwortlich gemacht werden, so dass vorübergehend ein sechsgliedriger Ring entsteht, der die 5-Hydroxy-Gruppe weiteren Reaktionen schwerer zugänglich macht.

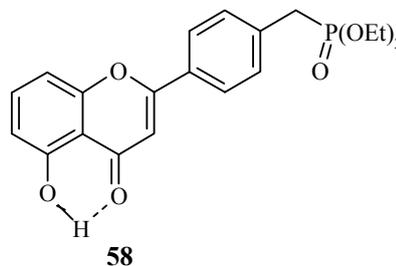
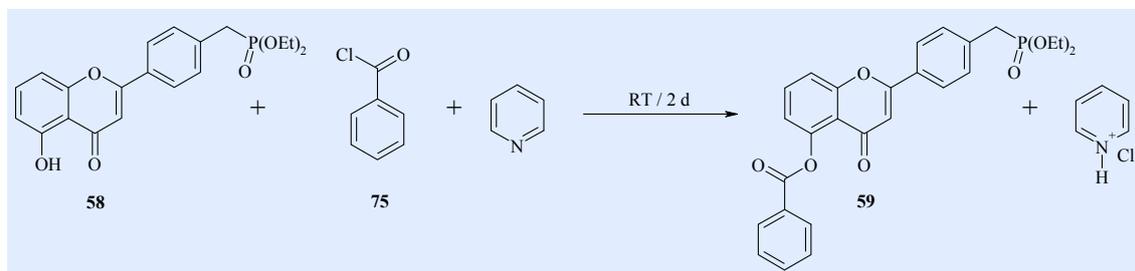


Abb. 22: H-Brücke zwischen 5-Hydroxy- und 4-Keto-Gruppe

Bei Einhalten der schon oben erwähnten Reaktionszeit von 2 d und Verwendung eines 8- bis 10-fachen Überschusses an Benzoylchlorid **75** kann jedoch bei der Veresterung des 5-Hydroxyflavonphosphonats **58** zum 5-Benzoylflavonphosphonat **59** eine Ausbeute von 70 % erreicht werden:



V13

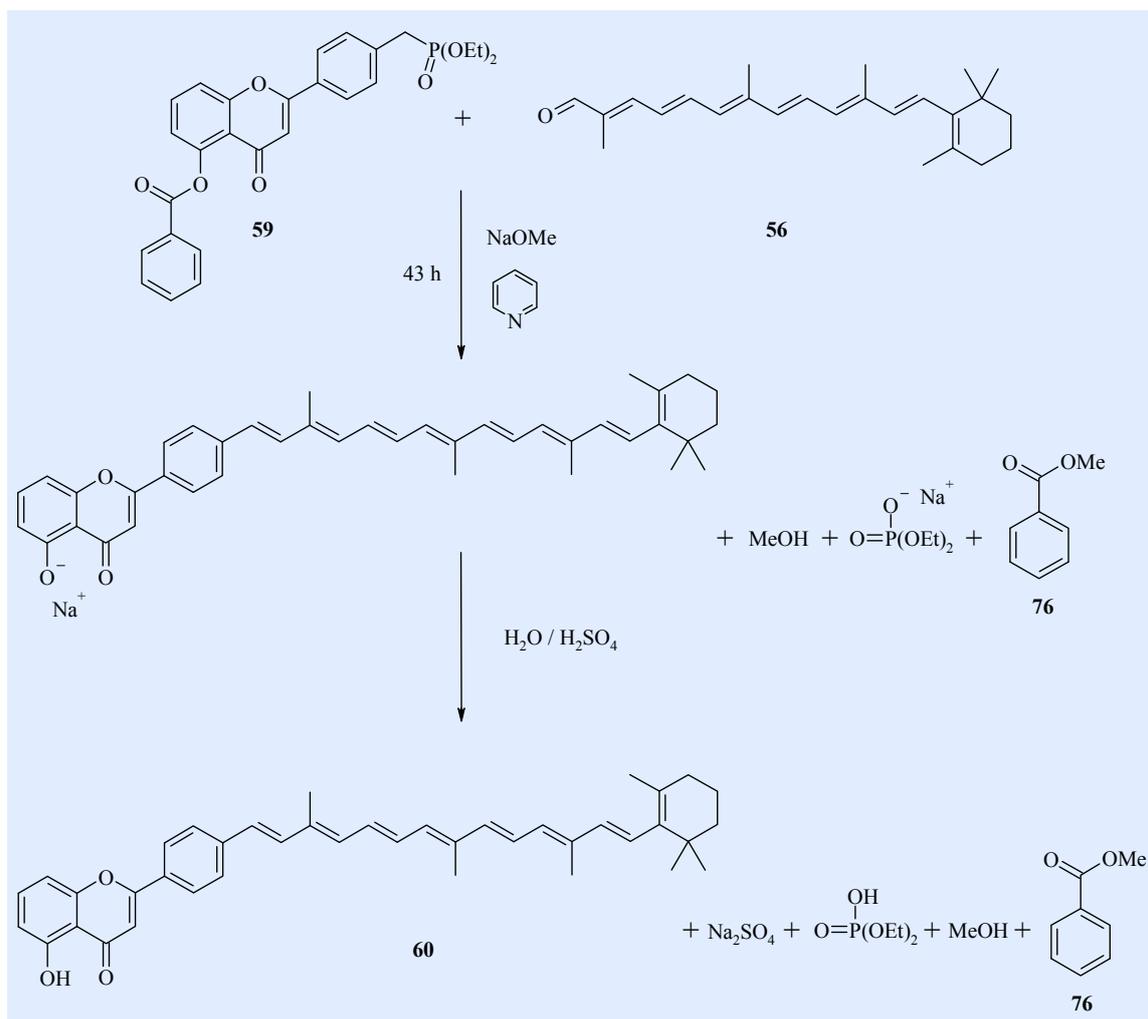
3.5.4 Synthese des 4'- β -C₂₅- Carotenyl-5- hydroxyflavons **60**

Zur Darstellung des 5-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]flavons **60** wird das 5-Benzoylflavonphosphonat **59** zusammen mit β -Apo-12'-Carotenal (C₂₅-Aldehyd) **56** einer Wittig-Horner-Emmons-Reaktion unterzogen. Der verwendete C₂₅-Aldehyd wird vor der Reaktion nochmals säulenchromatographisch aufgereinigt (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan). Die Kopplung wird in frisch destilliertem über

Kaliumhydroxid getrocknetem Pyridin durchgeführt, als Base zur Deprotonierung des Phosphonats und Spaltung des Benzoessäureesters hat sich die Verwendung von frischem Natriummethanolat in 10-molarem Überschuss als notwendig erwiesen. Äquimolare Mengen 5-Benzoylflavonphosphonat **59** und β -Apo-12'-Carotenal **56** werden in Pyridin vorgelegt (orange-rote Reaktionsmischung) und anschließend wird unter Argonatmosphäre und Eiskühlung zunächst ein 5-molarer Überschuss an Natriummethanolat über einen Zeitraum von 1 h portionsweise hinzugefügt. Alle Arbeiten werden unter Argonatmosphäre durchgeführt, um Nebenreaktionen und Reaktivitätsminderung des Natriummethanols durch Entstehen von Natriumhydroxid, hervorgerufen durch Luftfeuchtigkeit, zu vermeiden. Nach vorerst beendetem Basezusatz wird die Reaktion bei Raumtemperatur weitergeführt, wobei der Reaktionsverlauf dünnschichtchromatographisch (mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5:1) verfolgt wird. Dazu wird von Zeit zu Zeit (Pasteurpipette / Argongegenstrom) wenig Reaktionsmischung entnommen, mit einem Gemisch aus Wasser und konz. Schwefelsäure hydrolysiert (wobei ein pH-Wert von ~ 2 erreicht wird) und mit Chloroform extrahiert. Die dünnschichtchromatographische Untersuchung der orange-roten Chloroformphase zeigt zwei dicht beieinander liegende orangefarbene Substanzflecken mit den R_f -Werten (Retentionsfaktoren) $R_{f1} = 0.97$ und $R_{f2} = 1.00$, von denen ersterer zunächst weit intensiver erscheint. Ein Vergleich mit reinem C_{25} -Aldehyd identifiziert das Produkt mit kleinerem R_f -Wert als noch nicht umgesetztes β -Apo-12'-Carotenal **56**. Infolgedessen werden zur Vervollständigung der Reaktion nach etwa 24 h Reaktionszeit bei Raumtemperatur nochmals 5 Äquivalente Natriummethanolat portionsweise hinzugefügt. Nach 43 h Reaktionszeit wird die Reaktion als abgeschlossen betrachtet, was sich durch tiefrote Färbung der Reaktionsmischung und Verschwinden des C_{25} -Aldehydflecks bzw. Intensitätszunahme des Produktflecks ($R_f = 1.00$) im Dünnschichtchromatogramm bemerkbar macht.

Unter den gegebenen Bedingungen kann man davon ausgehen, dass zum einen beim Entfernen der Schutzgruppe zunächst das Natriumphenolat gebildet wird, welches erst während der nachfolgenden schwefelsauren Hydrolyse zum eigentlichen phenolischen Carotenylflavon protoniert wird, und zum anderen seitens der Benzoylgruppe nicht die Verseifung zur Benzoessäure sondern aufgrund des Natriummethanolatangriffs auf den Ester eine Umesterung zum Benzoessäuremethylester stattfindet. Es ist anzunehmen,

dass dieser Ester auch gegenüber der Hydrolyse in schwefelsaurer Lösung stabil bleibt und nicht zur Benzoessäure umgesetzt wird, da hierzu drastischere Bedingungen, wie etwa Erhitzen nötig wären, die im Hinblick auf das Carotenylflavon nicht in Frage kommen. Die Hydrolyse der Reaktionsmischung erfolgt in einem Eiswasser / konz. Schwefelsäure-Gemisch, wobei ein pH-Wert von 1-2 eingehalten wird, die Verweilzeit der Produkte in diesem Gemisch aber mit Rücksicht auf den Polyenteil des Carotenylflavons möglichst kurz gehalten wird und rasch die Extraktion mit Chloroform folgt.



V14

Nach Ausfällen des Rohprodukts aus Dichlormethan unter Zugabe von *n*-Hexan und anschließender Reinigung mittels Kieselgel-Filtersäule (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5:1) lässt sich das 5-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,

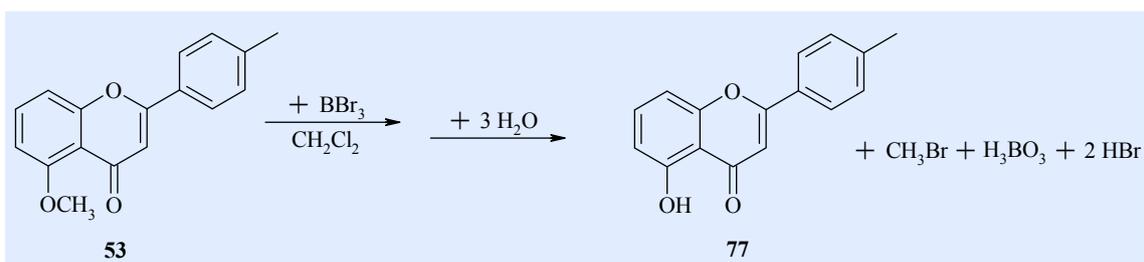
11,13-heptaenyl]flavon **60** als dunkelroter Feststoff in einer Ausbeute von 80 % isolieren.

Betrachtet man nochmals das Dünnschichtchromatogramm (an Kieselgel) von Substanz **60**, so ist ein R_f -Wert von 1 für eine phenolische Verbindung in einem relativ unpolaren Laufmittel-Gemisch wie Dichlormethan / Diethylether 5:1 zunächst ein recht überraschendes Ergebnis. Zwar besitzt das Carotenyflavon den unpolaren Polyenteil, doch der phenolische Flavonoidteil sollte durchaus die Polarität des Bichromophors gegenüber dem reinen Carotinoid erhöhen, was z. B. auch bei der in Kapitel 2 angesprochenen Einlagerung von Carotenyflavonoiden in Lipidmembranen zum Tragen kommen sollte. Unter den hier beschriebenen dünn-schichtchromatographischen Bedingungen müsste sich die polaritätssteigernde Wirkung des phenolischen Flavonoidteils durch einen kleineren R_f -Wert im Vergleich zum jeweiligen Carotinoid bemerkbar machen. Der aufgetretene gegenteilige Befund könnte wieder der schon mehrfach erwähnten intramolekularen H-Brückenbildung zwischen 5-Hydroxy- und 4-Keto-Gruppe (Abb. 22) zugeschrieben werden, so dass die 5-Hydroxy-Gruppe als verbrückte und damit nicht polaritätserhöhende Hydroxy-Gruppe vorliegt. Ob und inwieweit sich dieses Phänomen auf das untersuchte antioxidative Verhalten der Verbindung auswirkt, wird unter Punkt 3.8.4 und 3.8.5 besprochen. In diesem Zusammenhang wäre natürlich auch die Untersuchung des entsprechend hydroxylierten Flavonoids alleine ohne Carotinoidteil von Interesse, weshalb auch das 5-Hydroxy-4'-methylflavon **77** synthetisiert wird.

3.6 Synthese des 5-Hydroxy-4'-methylflavons **77**

Edukt der Synthese des 5-Hydroxy-4'-methylflavons **77** ist das 5-Methoxy-4'-methylflavon **53**, welches ebenfalls mit Hilfe der Bortribromidmethode demaskiert wird.

V15



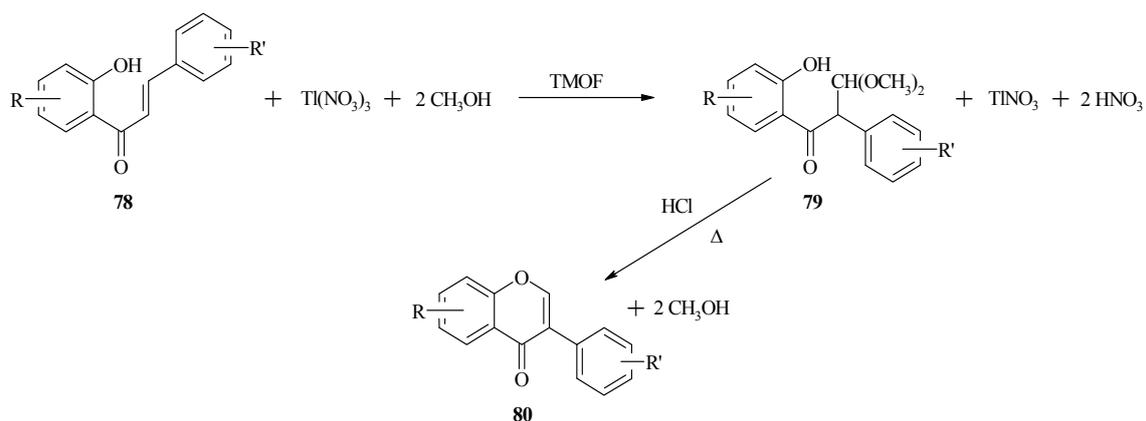
Nach Umkristallisation aus Ethanol fällt Substanz **77** in Form feiner orangefarbener Nadeln in 90%iger Ausbeute an. Auch hier macht sich die intramolekulare H-Brücke zwischen 5-Hydroxy- und 4-Keto-Gruppe im Dünnschichtchromatogramm (stationäre Phase: Kieselgel, Laufmittel: Dichlormethan / Diethylether 5:1) mit einem R_f -Wert von 1.00 für das Hydroxyflavon **77** im Vergleich zum R_f -Wert von 0.24 für das Methoxyflavon **53** bemerkbar.

3.7 Isoflavonsynthesen

In Analogie zur Flavondarstellung wird auch für die Isoflavondarstellung eine Methode benötigt, die es erlaubt, Hydroxy-Gruppen bzw. deren Derivate am A-Ring und eine Methylgruppe in 4'-Position des B-Ringes unterzubringen.

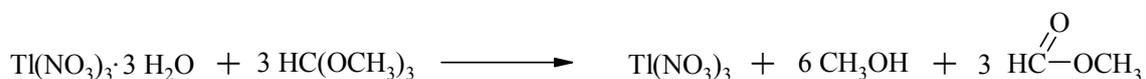
3.7.1 TTN-Route^[92]

In der Literatur^[92] findet sich unter anderem eine Methode, die gleich der zuvor beschriebenen Flavonsynthese über ein Chalkon **78** verläuft, welches hier jedoch mittels oxidativer Umlagerung mit Thallium(III)-nitrat (TTN) in Trimethylorthoformiat (TMOF) acetalisiert und anschließend säurekatalytisch zum Isoflavon **80** cyclisiert wird.



Die am Chalkon stattfindende 1,2-Arylwanderung des B-Ringes weist eine gewisse Parallele zur Isoflavon-Biosynthese auf (s. 1.2), allerdings übernimmt in der

Laborsynthese das TTN die steuernde Funktion des Enzyms der Biogenese, indem es als Lewis-Säure mit der olefinischen Doppelbindung des Chalkons eine Lewis-Säure-Base-Reaktion eingeht und damit durch Bindungspolarisation die Arylwanderung begünstigt. Bevor jedoch eine Addition des TTN an die Doppelbindung erfolgen kann, sollte deren unter dem Einfluss der elektronendichteziehenden Keto-Gruppe herabgesetzte Basizität bzw. Nucleophilie erhöht werden, was zum Beispiel mittels vorübergehender Ketalisierung der Carbonylfunktion erreicht werden kann. Auch hierbei spielt sicherlich das Thallium(III)-nitrat eine Rolle, da es die Keto-Gruppe durch Komplexierung für den nucleophilen Angriff des Alkohols (z. B. Methanol) bei der Ketalisierung zu aktivieren vermag. Es ist allerdings zu beachten, dass käuflich zu erwerbendes TTN in Form des Trihydrats vorliegt, dessen Kristallwasser die Acetalisierung bzw. Ketalisierung durch Verschieben des Reaktionsgleichgewichts auf die Eduktseite stören und zu unerwünschten Nebenprodukten führen kann. Dem vorzubeugen wird das TTN-Trihydrat zunächst in Orthoameisensäuretrimethylester gelöst, der dem TTN das Kristallwasser entzieht und dabei selbst unter Methanolabspaltung in den Ameisensäuremethylester übergeht:



In der Praxis wird das jeweilige Chalkon in Methanol vorgelegt und mit der Lösung von TTN in TMOF versetzt, woraus sich die Möglichkeit ergibt, dass sowohl Methanol als auch das bei Hydrolyse des Orthoameisensäuretrimethylesters intermediär gebildete Dimethoxymethylium-Kation zur Ketalisierung des Chalkons führen kann.^[68] Der mechanistischen Verlauf der Gesamtreaktion ist in Anlehnung an Literaturvorschläge^[93] folgendermaßen vorstellbar:

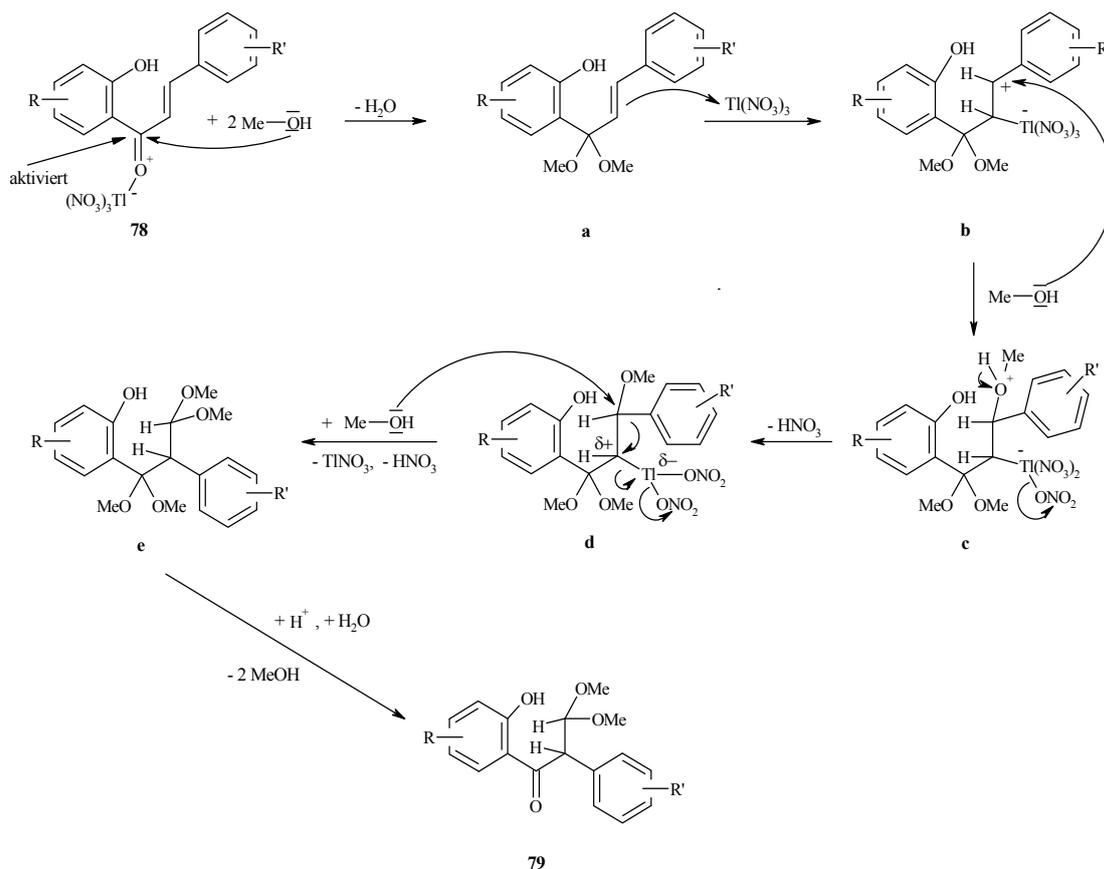


Abb. 23a: Mechanismusvorschlag zur oxidativen Umlagerung am Chalkon **78**

Im ersten Schritt wird das aktivierte Keton **78** ketalisiert, was eine Nucleophiliesteigerung der olefinischen Doppelbindung in Molekül **a** bewirkt, so dass diese unter Abspaltung eines Salpetersäure-Moleküls Thallium(III)-nitrat und Methanol addiert (**b** - **d**). Die neu entstandene polarisierte Kohlenstoff-Thalliumnitrat-Bindung wird unter Reduktion des Thallium(III)- zum Thallium(I)-nitrat wieder gespalten (Molekül **d**), wobei die Reduktion des Thalliums sicherlich auch die Triebkraft der Reaktion darstellt. Beim Verlauf via Carbenium-Ion, kann sich dieses durch 1,2-Umlagerung der benachbarten Aryl-Gruppe stabilisieren, was hier noch durch ein intermediäres mesomeriestabilsiertes Phenonium-Ion begünstigt würde. Auf diesem Wege erreicht der Flavonoid-B-Ring die "Isoflavon-Position" und wird an seiner Ausgangsposition durch ein weiteres Methanolmolekül (bzw. eine Methoxy-Gruppe) substituiert, so dass letztendlich eine Oxidation und Acetalisierung der Doppelbindung stattgefunden hat (Molekül **e**). Nach saurer Hydrolyse des Acetal-Ketals **e** entsteht das

β -Keto-acetal **79**. Hier wird vorzugsweise das Ketal hydrolysiert, da in diesem Fall das zwischenzeitlich auftretende Carbenium-Ion durch Delokalisation der positiven Ladung über den benachbarten Phenylring stabilisiert werden kann. Im nächsten Schritt erfolgt die Cyclisierung des Isoflavon-C-Ringes (**f** - **g**) mittels säurekatalysierter Umacetalisierung des Acetals **79**, und abschließende Methanoleliminierung (Molekül **h**) erzeugt dann das Isoflavon **80**.

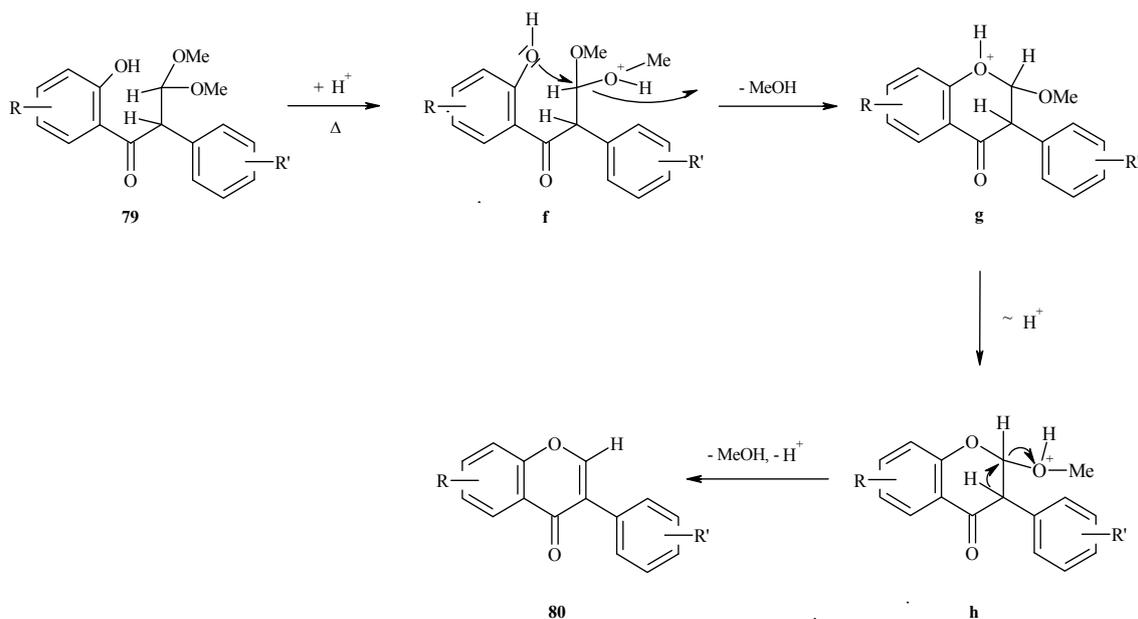


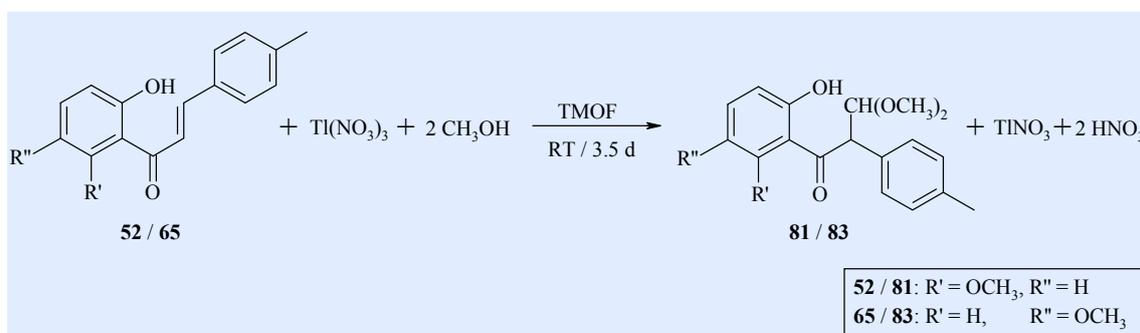
Abb. 23b: Mechanismusvorschlag zur säurekatalysierten Cyclisierung des Acetals **79**

Dieser Syntheseweg wird zur Darstellung zweier methoxylierter Isoflavone beschriftet, liefert jedoch nur geringe Ausbeuten uneinheitlicher Produkte. Zur Gewinnung der benötigten Chalkone kann auf die schon unter Punkt 3.3 im Zusammenhang mit der Methoxy-Flavonsynthese beschriebene Methode bzw. auf die dort bereits hergestellten Chalkone zurückgegriffen werden.

3.7.2 Synthese der Methoxy-Isoflavone

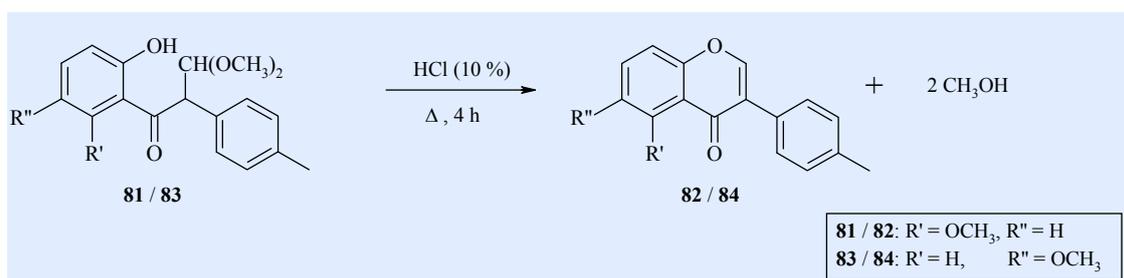
3.7.2.1 Versuche zur Synthese der Isoflavone **82** und **84**

Als Edukte dienen hier 2'-Hydroxy-6'-methoxy-4-methylchalkon **52** und 2'-Hydroxy-5'-methoxychalkon **65**, die gemäß der Versuche V1/V2 bzw. V4/V5 dargestellt wurden. Eine methanolische Lösung des jeweiligen Chalkons wird mit einer äquimolaren Menge wasserfreiem TTN (eingesetzt in Form von $\text{TTN} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ in 20-fachem Überschuß an TMOF) bei Raumtemperatur (RT) einer oxidativen Umlagerung unterzogen.^[92]



**V16a /
V17a**

Die Lösung des jeweils entstandenen Acetals **81** bzw. **83** wird von dem ausgefallenen Thallium(I)-nitrat abfiltriert und in der Siedehitze mit 10%iger Salzsäure weiter zum entsprechenden Isoflavon cyclisiert.^[92]



**V16b /
V17b**

Versuch 16a und b:

Es hat sich gezeigt, dass bei Einhalten der in der Literatur^[92] angegebenen Reaktionszeiten von 1 h für die erste Teilreaktion (oxidative Umlagerung) und 4 h für die zweite Teilreaktion (Ringschluss) kein Umsatz des 2'-Hydroxy-6'-methoxy-4-

methylchalkons **52** stattgefunden hat. Laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum konnte lediglich das Edukt (Chalkon **52**) zurückgewonnen werden. Erst bei Verlängerung der Teilreaktion a auf 3 - 3.5 d und beibehalten der 4-stündigen Teilreaktion b, kann nach Aufarbeitung der Reaktionsmischung und Umkristallisation des Rohproduktes aus Ethanol ein gelber Feststoff in 19%iger Ausbeute (Substanz **82**) isoliert werden.

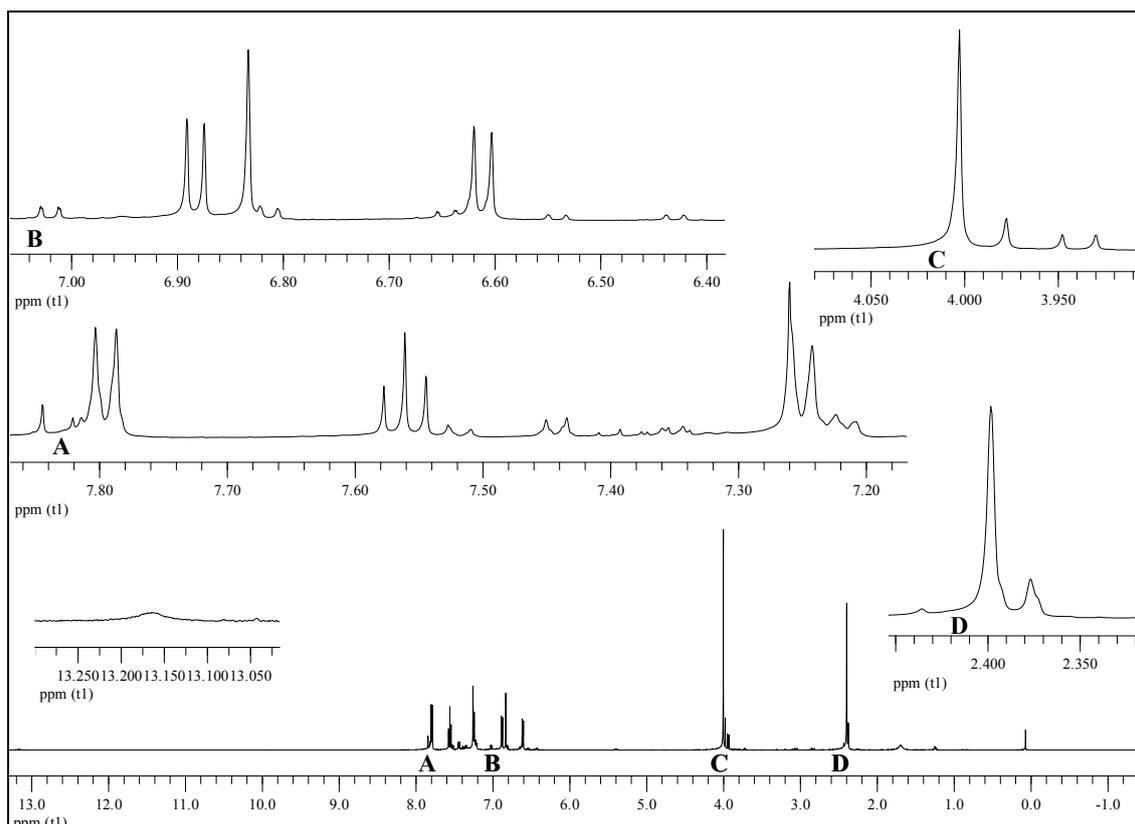
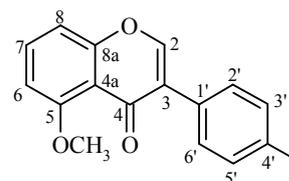
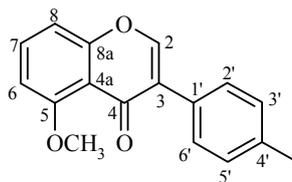


Abb. 24: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **82**



Gemäß $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abb. 24) handelt es sich dabei jedoch um ein Produktgemisch aus mindestens 3 Substanzen mit dem gewünschten 5-Methoxy-4'-methylisoflavan **82** als anteilmäßigem Hauptprodukt und den Verbindungen 6', α -Dimethoxy-2'-hydroxy-4-methylchalkon **82.1** und 1-(2-Hydroxy-6-methoxyphenyl)-3-methoxy-2*p*-tolylprop-2-en-1-on **82.2** als Nebenprodukte. Eine Erläuterung dieser Befunde erfolgt im Weiteren z. T. durch Gegenüberstellung der $^1\text{H-NMR}$ -Daten aus Abb. 24 mit Vergleichsspektren.

5-Methoxy-4'-methylisoflavin 82
(Hauptprodukt)



Ein Vergleich mit dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des 5-Methoxy-4'-methylflavons **53** (Abb. 25) dient dem Beweis, dass es sich bei dem Hauptprodukt in Abb. 24 um das gewünschte Isoflavin **82** handelt, da die beiden Spektren charakteristische Übereinstimmungen bzw. Unterschiede aufweisen.

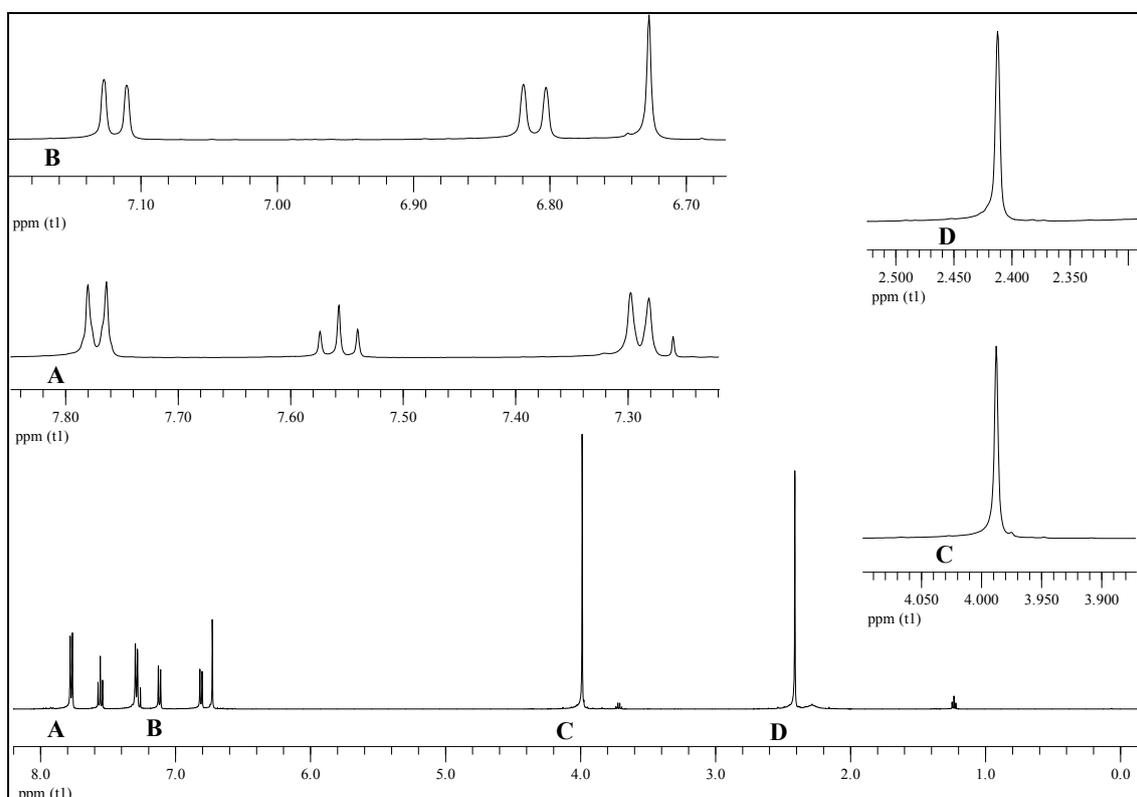
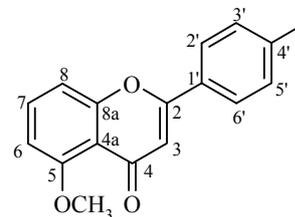


Abb. 25: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **53**



Spek- tren- Aus- schnitt	Substanz 82 (Hauptprodukt) 5-Methoxy-4'- methylisoflavon					Substanz 53 5-Methoxy-4'- methylflavon				
	δ [ppm]	Multi- plizität	Kopp- lung nJ [Hz]	Inten- sität (rel.)	Zuord- nung Proton	δ [ppm]	Multi- plizität	Kopp- lung nJ [Hz]	Inten- sität (rel.)	Zuord- nung Proton
A	7.80	m	$N = 8.1$	2	H ^{2'} H ^{6'} A-Teil [AM] ₂ - System	7.77	m	$N = 8.2$	2	H ^{2'} H ^{6'} A-Teil [AM] ₂ - System
	7.56	t	$^3J = 8.3$	1	H ⁷	7.56	t	$^3J = 8.4$	1	H ⁷
	7.25	m		2	H ^{3'} H ^{5'} M-Teil [AM] ₂ - System	7.29	m	$N = 8.1$	2	H ^{3'} H ^{5'} M-Teil [AM] ₂ - System
B	6.88	d	$^3J = 8.2$	1	H⁸	7.12	d	$^3J = 8.4$	1	H⁸
	6.83	s		1	H²	6.81	d	$^3J = 8.3$	1	H⁶
	6.61	d	$^3J = 8.3$	1	H⁶	6.73	s		1	H³
C	4.00	s		3	OCH ₃	3.99	s		3	OCH ₃
D	2.40	s		3	CH ₃	2.41	s		3	CH ₃

Tabelle 1: Gegenüberstellung der ¹H-NMR-Daten (500 MHz /CDCl₃) von **82** und **53**

Rein formal unterscheiden sich die beiden Flavonoide Isoflavon **82** und Flavon **53** nur durch die Position des jeweiligen B-Ringes bzw. des entsprechenden olefinischen Protons, welches sich beim Isoflavon in 2-Position und beim Flavon in 3-Position befindet. Eben dieser Unterschied macht sich im ¹H-NMR-Spektrum durch eine zu tieferem Magnetfeld (höherer Frequenz) verschobene Resonanz des Protons H² (Isoflavon **82**) gegenüber Proton H³ (Flavon **53**) bemerkbar, was auch aufgrund der umgebungsbedingt geringeren Abschirmung von H² im Vergleich zu H³ erwartet

würde. Darüber hinaus weisen die aromatischen Protonen H⁶ und H⁸ des Isoflavons **82** eine zu höherem Magnetfeld (niedrigerer Frequenz) verschobene Resonanz als die entsprechenden Protonen des Flavons **53** auf, was sicherlich auf den Einfluss der B-Ring-Position zurückzuführen ist. Insgesamt sorgen diese Gegebenheiten für zwei verschiedenartige Signalmuster im Resonanzbereich der diskutierten Protonen (jeweils Ausschnitt B in Abb. 24 und 25) und ermöglichen so eine ¹H-NMR-spektroskopische Unterscheidung beider Verbindungen. Tabelle 1 gibt eine Gegenüberstellung der ¹H-NMR-Daten beider Substanzen unter Hervorhebung (**fett gedruckt**) des besagten Bereichs (Spektrenausschnitt B).

Neben dem Signalsatz des 5-Methoxy-4'-methylisoflavons **82** weist das ¹H-NMR-Spektrum (Abb. 24) noch zwei weitere Signalsätze von geringerer Intensität auf, die in Abb. 26 durch Vergrößerung der Ausschnitte A-D des ¹H-NMR-Spektrums von **82** deutlicher erkennbar werden und möglicherweise den zuvor genannten Nebenprodukten zugeordnet werden können.

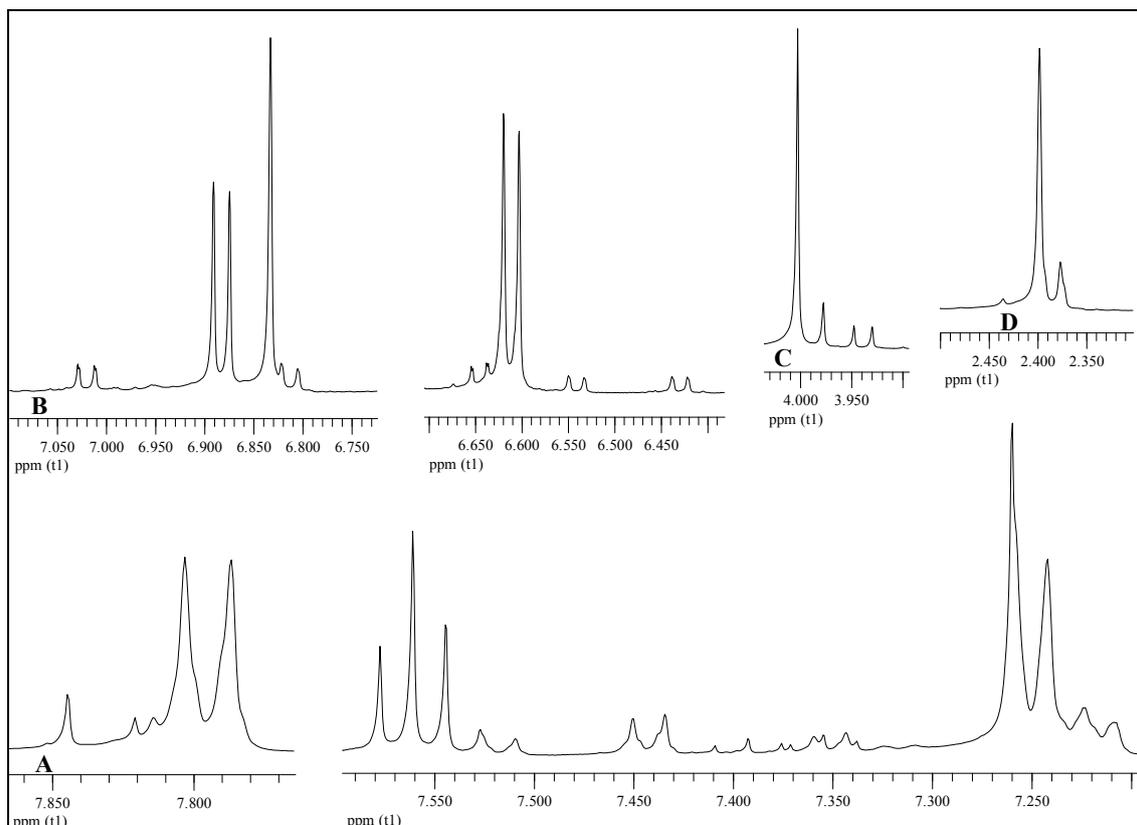
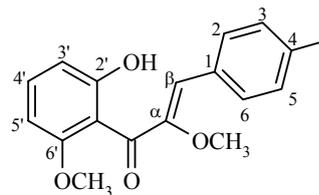


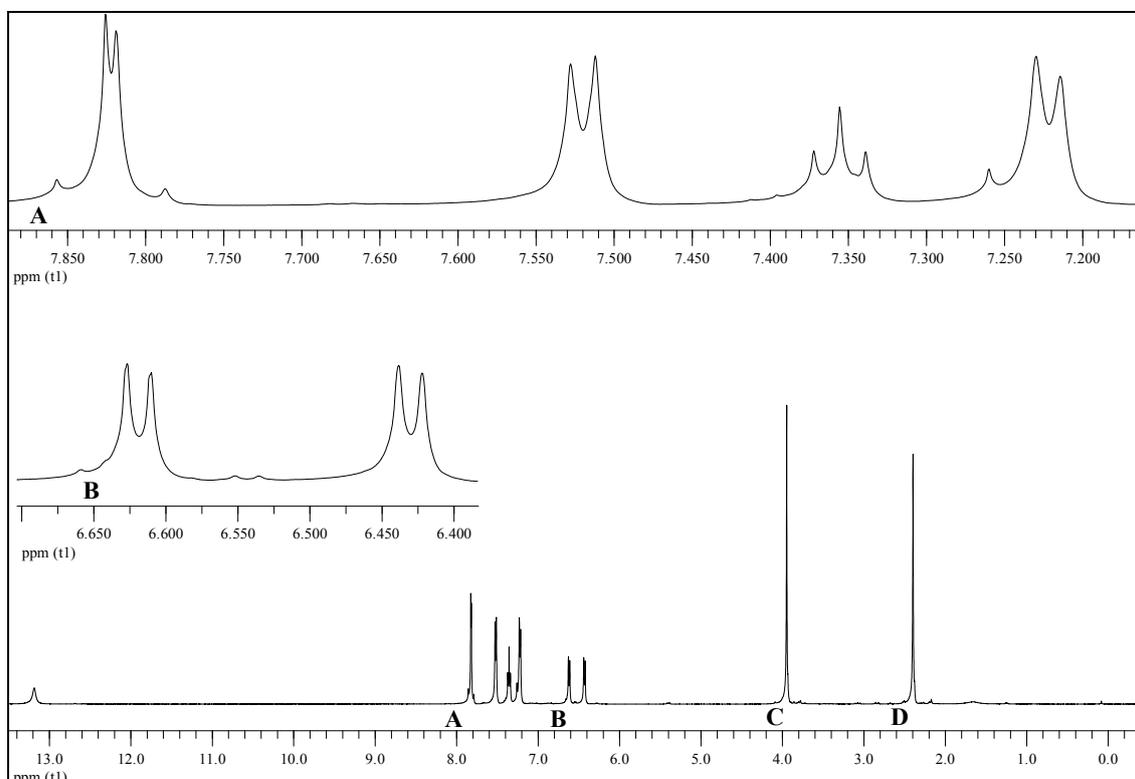
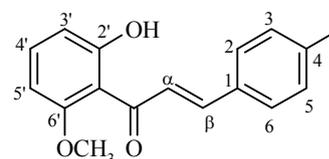
Abb. 26: Vergrößerung der Ausschnitte A-D des ¹H-NMR-Spektrums (Abb. 24) von **82**

6', α -Dimethoxy-2'-hydroxy-4-methylchalkon 82.1

(Nebenprodukt 1)



Zunächst deuten die beiden Dubletts im Bereich von 6.40 – 6.60 ppm (Ausschnitt B, Abb. 26) sowie die Signale im Bereich von 7.20 – 7.54 ppm (Ausschnitt A, Abb. 26) auf das Vorliegen eines Chalkons hin, was ein Vergleich mit dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Edukts 2'-Hydroxy-6'-methoxy-4-methylchalkon **52** (Abb. 27) unterstützt (s. Tabelle 2).

Abb. 27: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **52**

Allerdings tritt in den Bereichen A, C und D (Abb. 26) zum Teil eine Überlagerung der Signalsätze auf, was eine eindeutige Interpretation erschwert, und nur unter Berücksichtigung der Korrelation von Signalintensitäten zwischen den verschiedenen Signalsätzen zulässt. So weisen z. B. die beiden Multipletts bei 7.52 und 7.22 ppm

(Ausschnitt A, Abb. 26), die zunächst nur dem [AM]₂-System der aromatischen Protonen H²H⁶ und H³H⁵ des Nebenprodukts 1 (Verbindung **82.1**) zugeordnet werden (Tabelle 2) im Vergleich zu Signalen, die jeweils nur einem Proton von **82.1** zugeordnet werden (z. B. die Dubletts bei 6.54 und 6.43 ppm (Ausschnitt A, Abb. 26)), eine deutlich zu hohe Intensität auf. Der überschüssige Intensitätsanteil korreliert jedoch mit dem dritten Signalsatz des Gesamtspektrums, so dass hier Signale beider Nebenprodukte zusammenfallen, worauf später noch eingegangen wird.

Wie aus Tabelle 2 und Abb. 26 (Ausschnitt A) hervorgeht, weist das Singulett bei 7.82 ppm nur auf ein olefinisches Proton hin, so dass das zweite, im Vergleich zu Chalkon **52** (Tabelle 2) fehlende olefinische Proton durch einen anderen Substituenten ersetzt sein müsste. Eine Bestätigung hierfür liefert die Vielzahl von Singulett im Bereich von 3.93 - 4.00 ppm (Ausschnitt C, Abb.26). In diesem Bereich werden (in CDCl₃ gemessen) typischerweise die Signale von Methoxy-Protonen erwartet.^[94] Im vorliegenden Spektrum (Abb. 26, Ausschnitt C) lässt die Vielzahl der Singulett das Vorhandensein verschiedener Methoxy-Gruppen vermuten. Dabei konnte das Singulett höchster Intensität bereits dem Hauptprodukt **82** zugeordnet werden (Tabelle 1). Ein Vergleich der übrigen drei Signalintensitäten zeigt, dass die beiden Singulett bei 3.93 und 3.95 ppm mit dem Signalsatz von Nebenprodukt 1 korrelieren, was das Vorhandensein zweier verschiedener Methoxy-Gruppen in Verbindung **82.1** belegt. Im Gegensatz zu der mit dem Edukt **52** eingeführten Methoxy-Gruppe in 6'-Position des A-Ringes, müsste die zweite Methoxy-Gruppe ein Proton der olefinischen Doppelbindung ersetzen, da alle übrigen Signale den für **82.1** erwarteten aromatischen Protonen zugeordnet werden konnten.

In Tabelle 2 sind die ¹H-NMR-Daten von Verbindung **82.1** (Nebenprodukt 1) und Chalkon **52** gegenübergestellt.

Spektrenauschnitt	Substanz 82.1 Nebenprodukt 1					Substanz 52 2'-Hydroxy-6'-methoxy-4-methylchalkon				
	δ [ppm]	Multiplizität	Kopplung nJ [Hz]	Intensität (rel.)	Zuordnung Proton	δ [ppm]	Multiplizität	Kopplung nJ [Hz]	Intensität (rel.)	Zuordnung Proton
	13.16	s		1	OH	13.19	s		1	OH
A	7.82	s		1	H $^{\beta}$	7.83	d	$^3J_{\text{trans}} = 15.6$	1	H $^{\beta}$
						7.81	d	$^3J_{\text{trans}} = 15.7$	1	H $^{\alpha}$
	7.52	m	$N = 8.9$	2	H 2 H 6 A-Teil [AM] $_2$ -System	7.52	m	$N = 8.0$	2	H 2 H 6 A-Teil [AM] $_2$ -System
	7.39	t	$^3J = 8.4$	1	H $^{4'}$	7.36	t	$^3J = 8.3$	1	H $^{4'}$
	7.22	m	$N = 7.3$	2	H 3 H 5 M-Teil [AM] $_2$ -System	7.22	m	$N = 7.8$	2	H 3 H 5 M-Teil [AM] $_2$ -System
B	6.54	d	$^3J = 8.4$	1	H $^{3'}$	6.62	d	$^3J = 8.3$	1	H $^{3'}$
	6.43	d	$^3J = 8.3$	1	H $^{5'}$	6.43	d	$^3J = 8.2$	1	H $^{5'}$
C	3.95	s		3	OCH $_3$	3.95	s		3	OCH $_3$
	3.93	s		3	OCH $_3$					
D	2.44	s		3	CH $_3$	2.40	s		3	CH $_3$

Tabelle 2: Gegenüberstellung der $^1\text{H-NMR}$ -Daten (500 MHz / CDCl_3) von **82.1** und **52**

Die Ergebnisse erscheinen auch plausibel, wenn man den in Abb. 23a und 23b vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus noch einmal am hier vorliegenden konkreten

Fall betrachtet. So zeigen die Reaktionsschritte a - c in Abb. 23a die Addition von Thallium(III)-nitrat und Methanol an die olefinische Doppelbindung des Chalkons. In Schritt d - e sollte dann unter Reduktion des Thallium(III)- zum Thallium(I)-nitrat die [1,2]-Wanderung des benachbarten Arylrings erfolgen, wobei dessen Ausgangsposition durch eine weitere Methoxy-Gruppe besetzt würde. Auf dieser Stufe der Reaktion besteht nun aber die Möglichkeit, dass das Thalliumnitrat direkt an seiner Austrittsstelle durch ein Methanolmolekül bzw. eine Methoxy-Gruppe substituiert wird (Molekül **D**), ohne dass eine 1,2-Arylumlagerung stattfindet und somit auch kein Acetal gebildet wird. Die nachfolgende saure Hydrolyse des Ketals **E** liefert dann zwar das Keton **F**, aber der anschließende säurekatalysierte Ringschluss mittels Umacetalisierung (Syntheseschritt f - g, Abb. 23b) wäre hier nicht möglich. Stattdessen würde die stets bei erhöhter Temperatur als Konkurrenz zur Substitution bestehende Eliminierung bevorzugt ablaufen:

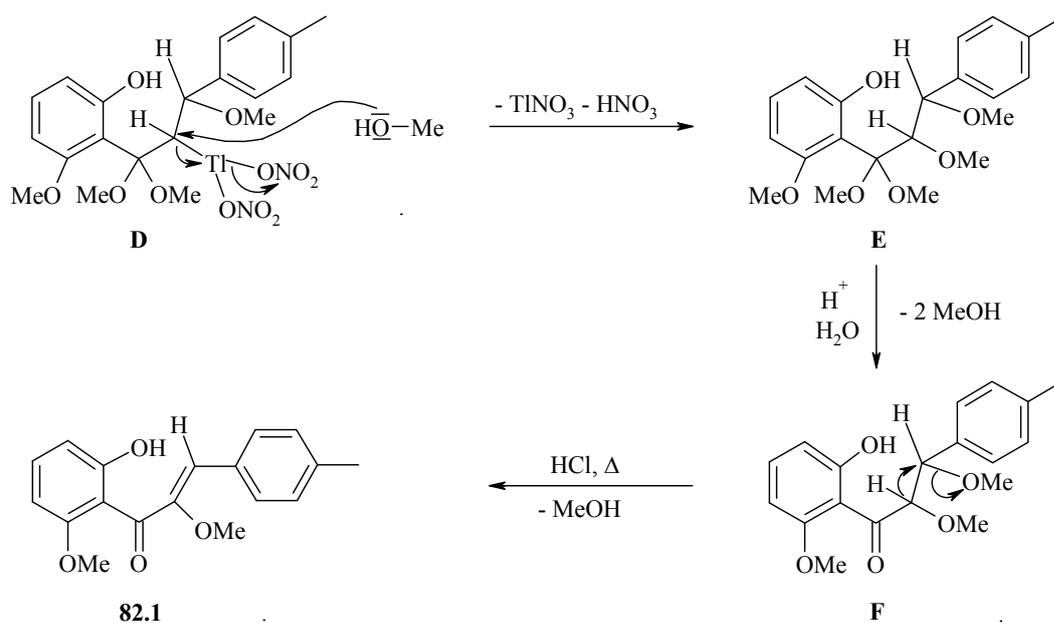
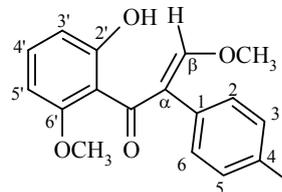


Abb. 28: Hypothetischer Mechanismus zur Entstehung von 6', α -Dimethoxy-2'-hydroxy-4-methylchalcon **82.1**

Welche der beiden vicinalen Methoxy-Gruppen eliminiert wird, ist hier sicherlich stereochemisch und thermodynamisch bedingt, was bei einem unimolekularen Verlauf (E1-Reaktion) die Abspaltung der zum Arylring geminalen Methoxy-Gruppe favorisieren lässt, wobei das entstehende Carbeniumion durch den +M-Effektes des Arylringes mesomeriestabilisiert werden kann. Ein Reaktionsverlauf in diese Richtung würde zum 6', α -Dimethoxy-2'-hydroxy-4-methylchalkon **82.1** führen, was mit dem ^1H -NMR-spektroskopischen Befund für das Nebenprodukt 1 in Einklang steht, der ein zu relativ großem δ -Wert (7.82 ppm, Abb. 26, Ausschnitt A) verschobenes olefinisches Proton (hier: H^β) anzeigt. Im Vergleich hierzu würde das Signal für H^α bei etwas kleinerem δ -Wert (höherem Feld) erwartet, da es durch die in diesem Falle direkt benachbarte Keto-Gruppe und den vicinalen Arylring weniger stark entschirmt würde als H^β mit weiter entfernter Keto-Gruppe und geminalem Arylring,^[94] wodurch wiederum die Annahme der in Abb. 28 beschriebenen Reaktionsrichtung unterstützt wird.

1-(2-Hydroxy-6-methoxyphenyl)-3-methoxy-2p-tolylprop-2en-1-on 82.2
(Nebenprodukt 2)



Als weiteres Nebenprodukt kommt aufgrund des dritten Signalsatzes im ^1H -NMR-Spektrum (Abb. 24 und 26) eine Verbindung in Frage, die ebenfalls ein bei relativ tiefem Magnetfeld ($\delta = 7.85$ ppm) absorbierendes olefinisches Proton besitzt (Abb. 26, Ausschnitt A). Außerdem lässt das Singulett bei 3.98 ppm und die für den Signalsatz des Hauptprodukts überhöhte Signalintensität bei 4.00 ppm (Abb. 26, Ausschnitt A) auch hier auf das Vorliegen zweier Methoxy-Gruppen schließen, von denen eine gleich der Methoxy-Gruppe des Hauptprodukts bei 4.00 ppm absorbiert, so dass die Signale einander überlagern. Bei 7.44 und 7.22 ppm (Ausschnitt A, Abb. 26) treten Signale auf, die auf ein $[\text{AM}]_2$ -System hindeuten, wobei der M-Teil mit entsprechenden Signalen des Nebenprodukts 1 zusammenfällt, wie eine Auswertung der Intensitäten zeigt. In Ausschnitt B (Abb. 26) finden sich noch zwei diesem Signalsatz zuzuordnende Dubletts

(7.02 und 6.81 ppm, Tabelle 3), die auf aromatische Protonen hinweisen, aber im Vergleich zu ähnlichen Signalen des Hauptprodukts (Isoflavon **82**) und Nebenprodukts 1 (Chalkon **82.1**) zu tieferem Magnetfeld verschoben sind.

Spektren-Ausschnitt	Substanz 82.2 Nebenprodukt 2				
	δ [ppm]	Multiplizität	Kopplung nJ [Hz]	Intensität (rel.)	Zuordnung Proton
A	7.85	s		1	H ^{β}
	7.53-7.56	t			H ^{7'}
	7.44	m	$N = 8.1$	2	H ² H ⁶ A-Teil [AM] ₂ -System
	7.22	m	$N = 7.3$	2	H ³ H ⁵ M-Teil [AM] ₂ -System
B	7.02	dd	$^3J = 8.4$ $^4J = 0.7$	1	H ^{8'}
	6.81	d	$^3J = 8.4$	1	H ^{6'}
C	4.00	s		3	OCH ₃
	3.98	s		3	OCH ₃
D	2.38	s		3	CH ₃

Tabelle 3: ¹H-NMR-Daten (500 MHz / CDCl₃) von **82.2**

Es ist jedoch unter Berücksichtigung der aufgeführten Ergebnisse und der angewendeten Synthesemethode nahe liegend, dass es sich auch bei Nebenprodukt 2 um ein flavonoid- oder chalkonähnliches System handelt. In diesem Falle könnte das [AM]₂-System bei 7.44 und 7.22 ppm den vier aromatischen B-Ring-Protonen und die Dubletts bei 7.02 und 6.81 ppm zwei aromatischen A-Ring-Protonen zugeordnet werden (Tabelle 3), wobei zunächst noch das Signal (Triplet) des dritten aromatischen A-Ring-Protons vermisst würde. Dieses fällt jedoch im 500-MHz-¹H-NMR-Spektrum

(Abb. 24 und 26, Ausschnitt A) teilweise mit dem entsprechenden Triplet des Hauptprodukts **82** und teilweise mit dem [AM]₂-System (A-Teil) des Nebenprodukts **82.1** zusammen, wie ein Vergleich mit dem 200-MHz-¹H-NMR-Spektrum (Abb. 29, Ausschnitt A) erkennen lässt.

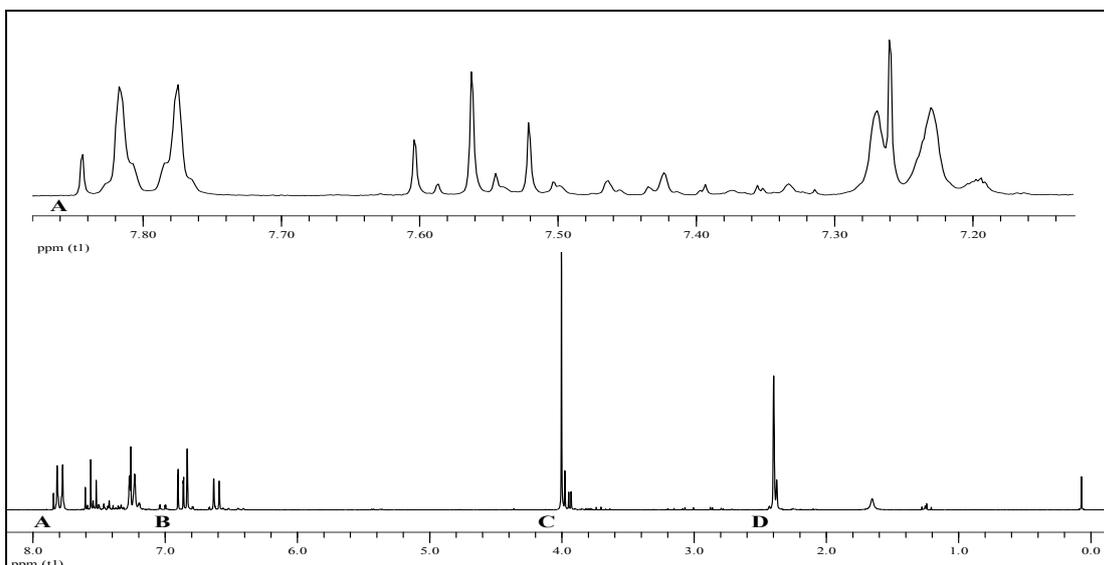


Abb. 29: ¹H-NMR-Spektrum (200 MHz / CDCl₃) von **82**

Demzufolge müsste sich auch bei Nebenprodukt 2 die zweite Methoxy-Gruppe als Substituent an der olefinischen Doppelbindung befinden, was gemeinsam mit dem Singulett bei 7.85 ppm (olefinisches Proton) eine chalconartige Struktur vermuten lässt. Allerdings befindet sich das Signal des olefinischen Protons hier bei tieferem Feld als im Nebenprodukt 1, was bedeuten würde, dass das Proton stärker entschirmt wird und somit chemisch eine vom Nebenprodukt 1 abweichende Umgebung haben muss. Eine derartige Erscheinung wäre mit einer geminalen Anordnung der Methoxy-Gruppe und des olefinischen Protons und einer dazu vicinalen Anordnung des Arylrings (B-Ring) und der Keto-Gruppe an der olefinischen Doppelbindung^[94] vereinbar.

In Anbetracht des Syntheseverlaufs (Abb. 23a) würde zwar die oxidative Umlagerung zum Acetal **81** (V16a) erfolgen, aber dem angestrebten Ringschluss (Abb. 23b, Schritt f-g) käme, ähnlich dem zum Nebenprodukt **82.1** führenden Reaktionsverlauf, auch hier die Methanoleliminierung als Konkurrenzreaktion zuvor:

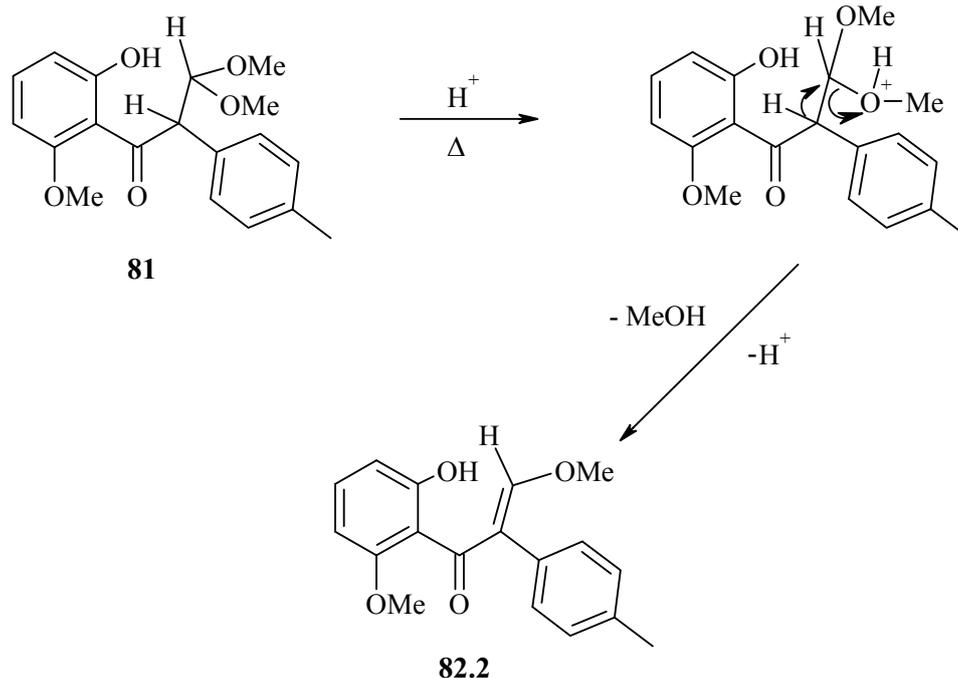


Abb. 30: Hypothetischer Mechanismus zur Entstehung von Verbindung **82.2**

Aus einer Relation der Intensität aller drei interpretierten $^1\text{H-NMR}$ -Signalsätze folgt eine anteilmäßige Verteilung von Hauptprodukt **82** : Nebenprodukt **82.1** : Nebenprodukt **82.2** im Verhältnis 77 % : 8 % : 15 %.

Massenspektrometrische Untersuchung des Substanzgemisches **82**, **82.1** und **82.2**

Zur Unterstützung der $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischen Interpretation bezüglich des Hauptprodukts **82** und der beiden Nebenprodukte **82.1** und **82.2** können die Ergebnisse der massenspektrometrischen Untersuchung herangezogen werden, die mit einem Signal bei 266 M/z (100 %) das Vorliegen des Hauptprodukts **82** ($M = 266.30$) repräsentiert, aber darüber hinaus auch ein Signal bei 298 M/z (6 %) aufweist, welches sowohl als Hinweis auf Nebenprodukt **82.1** als auch auf Nebenprodukt **82.2** dienen kann (jeweils $M = 298.34$). Das weitere Fragmentierungsmuster des Massenspektrums (269 M/z (12 %), 268 M/z (62 %), 251 M/z (44 %), 237 M/z (17 %), 235 M/z (12 %), 220 M/z (14 %), 177 M/z (33 %), 150 M/z (72 %), 115 M/z (25 %), 107 M/z (24 %), 105 M/z (18 %), 91 M/z (13 %), 65 M/z (6 %), 32 M/z (10 %)) kann entweder

Fragmenten des Hauptprodukts **82** oder der Nebenprodukte **82.1** bzw. **82.2** zugeordnet werden.

Versuch 17a und b:

Zur Darstellung des 6-Methoxy-4'-methylisoflavons **84** wird das 2'-Hydroxy-5'-methoxy-4-methylchalkon **65** den gleichen Reaktionsbedingungen unterzogen wie Chalkon **52** zur Darstellung des Isoflavons **82**, d.h. 3.5 d Reaktionszeit für Teilreaktion a (V17a) und 4 h unter Rückfluss für Teilreaktion b (V17b). Anschließende Aufarbeitung der Reaktionsmischung und Aufreinigung des Rohprodukts mittels Umkristallisation aus Ethanol liefert einen orangefarbenen Feststoff in 24%iger Ausbeute.

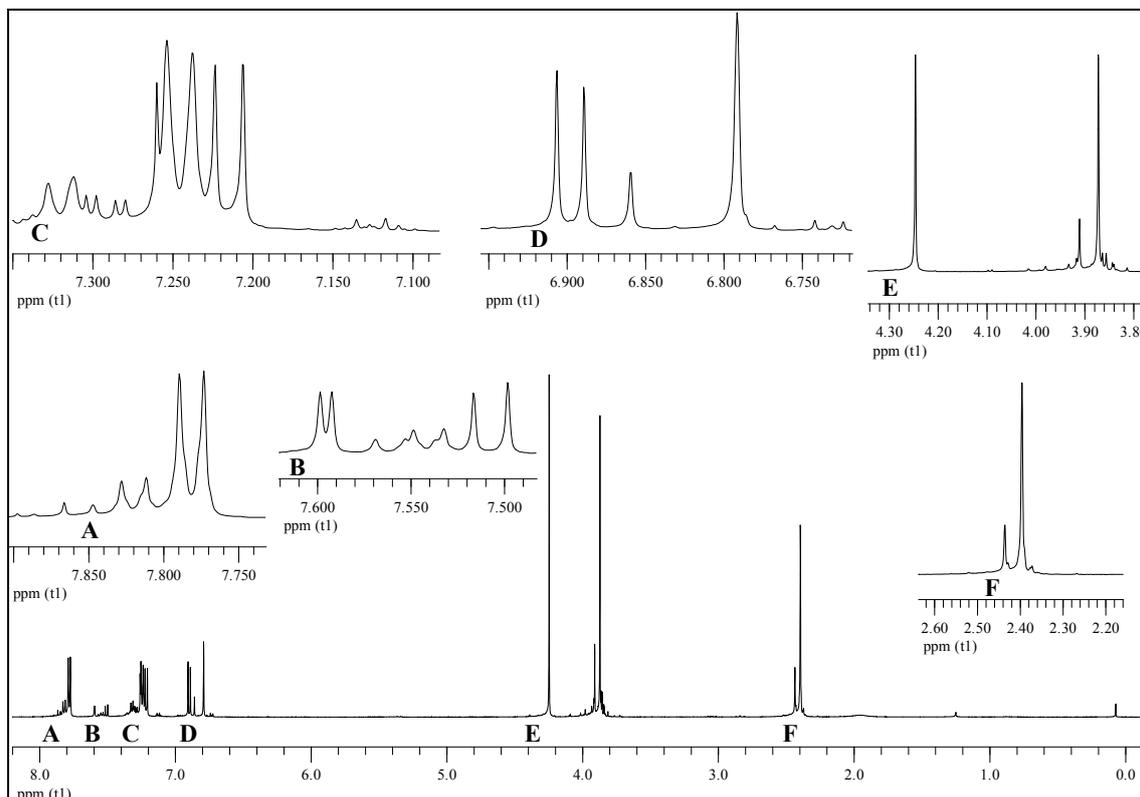


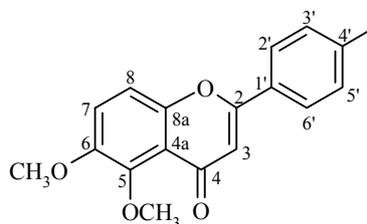
Abb. 31: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz / CDCl_3) des Substanzgemisches aus V17

Auch in diesem Fall lässt das ^1H -NMR-Spektrum (Abb. 31) erkennen, dass ein Gemisch mehrerer Substanzen entstanden ist, wobei das Hauptprodukt (Signalsatz höchster Intensität) hier nicht dem gewünschten 6-Methoxy-4'-methylisoflavon **84** entspricht,

sondern vielmehr eine di-methoxylierte Verbindung, das 5,6-Dimethoxy-4'-methylflavon **85** darstellt. Als Nebenprodukt kommt aufgrund des zweiten auswertbaren Signalsatzes in Abb. 31 das 6-Methoxy-4'-methylflavon **85.1** in Frage, worauf in den folgenden Abschnitten näher eingegangen wird.

5,6-Dimethoxy-4'-methylflavon **85**

(Hauptprodukt)



Die beiden Singulets bei 4.25 und 3.87 ppm (Abb. 31, Ausschnitt E) weisen auf zwei spektroskopisch verschiedene Methoxy-Gruppen hin. Die übrigen Signale dieses Satzes, insbesondere das Singulett bei 6.79 ppm (Abb. 31, Ausschnitt D) deuten zwar auf das Vorliegen eines Flavonoids hin, sind aber eher mit einer Flavon- statt Isoflavonstruktur vereinbar, was ein Vergleich mit dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Flavonanalogs 6-Methoxy-4'-methylflavon **66** unterstützt.

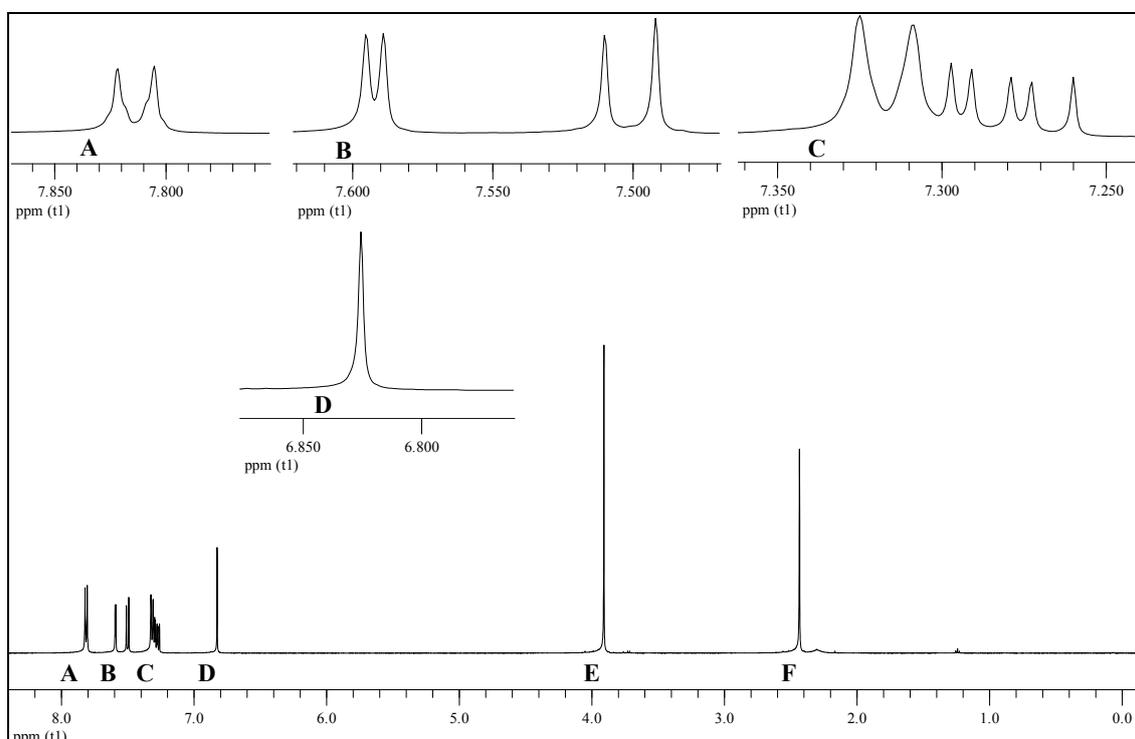
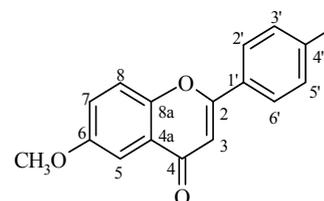


Abb. 32: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **66**



Die $^1\text{H-NMR}$ -Daten des bei Versuch 17 erzeugten Hauptprodukts und des 6-Methoxy-4'-methylflavons **66** sind in Tabelle 4 gegenübergestellt:

Spek- tren- Aus- schnitt	Substanz 85 (Hauptprodukt) 5,6-Dimethoxy- 4'-methylflavon					Substanz 66 6-Methoxy-4'- methylflavon				
	δ [ppm]	Multi- plizität	Kopp- lung nJ [Hz]	Inten- sität (rel.)	Zuord- nung Proton	δ [ppm]	Multi- plizität	Kopp- lung nJ [Hz]	Inten- sität (rel.)	Zuord- nung Proton
A	7.78	m	$N = 8.1$	2	$\text{H}^{2'}\text{H}^{6'}$ A-Teil [AM] ₂ - System	7.81	m	$N = 8.3$	2	$\text{H}^{2'}\text{H}^{6'}$ A-Teil [AM] ₂ - System
B						7.59	d	$^4J = 3.1$	1	H^5
						7.50	d	$^3J = 9.1$	1	H^8
C	7.25	m	$N = 8.0$	2	$\text{H}^{3'}\text{H}^{5'}$ M-Teil [AM] ₂ - System	7.32	m	$N = 8.1$	2	$\text{H}^{3'}\text{H}^{5'}$ M-Teil [AM] ₂ - System
	7.22	d	$^3J = 8.8$	1	H^7	7.29	dd	$^3J = 9.1$ $^4J = 3.1$	1	H^7
D	6.90	d	$^3J = 8.7$	1	H^8					
	6.79	s		1	H^3	6.83	s		1	H^3
E	4.25	s		3	OCH_3					
	3.87	s		3	OCH_3	3.91	s		3	OCH_3
F	2.40	s		3	CH_3	2.43	s		3	CH_3

Tabelle 4: Gegenüberstellung der $^1\text{H-NMR}$ -Daten (500 MHz / CDCl_3) von **85** (Hauptprodukt) und **66**

In beiden ^1H -NMR-Spektren (Abb. 31 und 32, jeweils Ausschnitt D) findet sich das Singulett des olefinischen Protons H^2 bzw. H^3 bei nahezu identischen δ -Werten (6.79 bzw. 6.83 ppm), wobei gerade die chemische Verschiebung dieses Protons ein signifikantes Kriterium bei der ^1H -NMR-spektroskopischen Unterscheidung zwischen dem Isoflavon und seinem Flavonanalogen darstellt. Aufgrund der chemischen Umgebung müsste das Proton H^2 des Isoflavons stärker entschirmt werden als das Proton H^3 des Flavons, d.h. das H^2 -Signal würde bei tieferem Feld erwartet als das H^3 -Signal (Inkrementensystem^[94]: $\delta = 7.69$ ppm (H^2), $\delta = 5.71$ ppm (H^3)). Da diese Voraussetzung hier nicht erfüllt wird, ist anzunehmen, dass es sich bei dem Hauptprodukt des entstandenen Substanzgemisches um ein Flavon handelt. Allerdings zeigt in diesem Fall wiederum ein Vergleich der beiden ^1H -NMR-Spektren (Abb. 31 und 32), dass in dem bisher besprochenen Signalsatz des Hauptprodukts **85** (Abb. 31) das Signal des aromatischen Protons H^5 (Dublett im Abstand einer 4J -Kopplung) gänzlich fehlt. Dies spricht dafür, dass die 5-Position hier anderweitig substituiert vorliegt, wozu die anfangs erwähnte zweite Methoxy-Gruppe in Frage kommt. Berücksichtigung der gesamten Befunde führt zum 5,6-Dimethoxy-4'-methylflavon **85** als Hauptprodukt.

Für den Reaktionsverlauf würde dies bedeuten, dass neben dem Ringschluss des C-Ringes eine Oxidation am A-Ring stattgefunden hat, was in Anbetracht des eingesetzten Chalkons **65** und der gegenwärtigen Reaktionsbedingungen durchaus verständlich ist, wie der von Literaturvorschlägen^[95] gestützte Mechanismus (Abb. 33) erläutern soll. Initiator dieses zunächst unerwarteten Reaktionsverlaufs ist wahrscheinlich die Komplexierung des TTN an der 2-Hydroxy-Gruppe des Chalkons **65**, wobei das Thallium einerseits vom Sauerstoff der Hydroxy-Gruppe und andererseits vom Sauerstoff der Keto-Gruppe des Chalkons **65** unter Ausbildung eines sechsgliedrigen Ringes chelatartig gebunden wird. Die Chelatisierung des Thalliums in Form eines sechsgliedrigen Ringsystems spielt dabei scheinbar an mehreren Punkten der Synthese für die Richtung des Verlaufs eine entscheidende Rolle. Im zweiten Schritt (**a-b**) kommt wieder die Reduktion von Thallium(III) zu Thallium(I) als Triebkraft der Reaktion zum Tragen. Dabei vermag die zur Hydroxy-Gruppe para-ständige Methoxy-Gruppe das bei Elimination von Thallium(I)-nitrat zwischenzeitlich entstehende chinoiden Kation durch ihren +M-Effekt zu stabilisieren. Gerade diese Stabilisierung im chinoiden System

scheint ausschlaggebend für den Reaktionsverlauf in beschriebener Richtung (Abb. 33) zu sein.

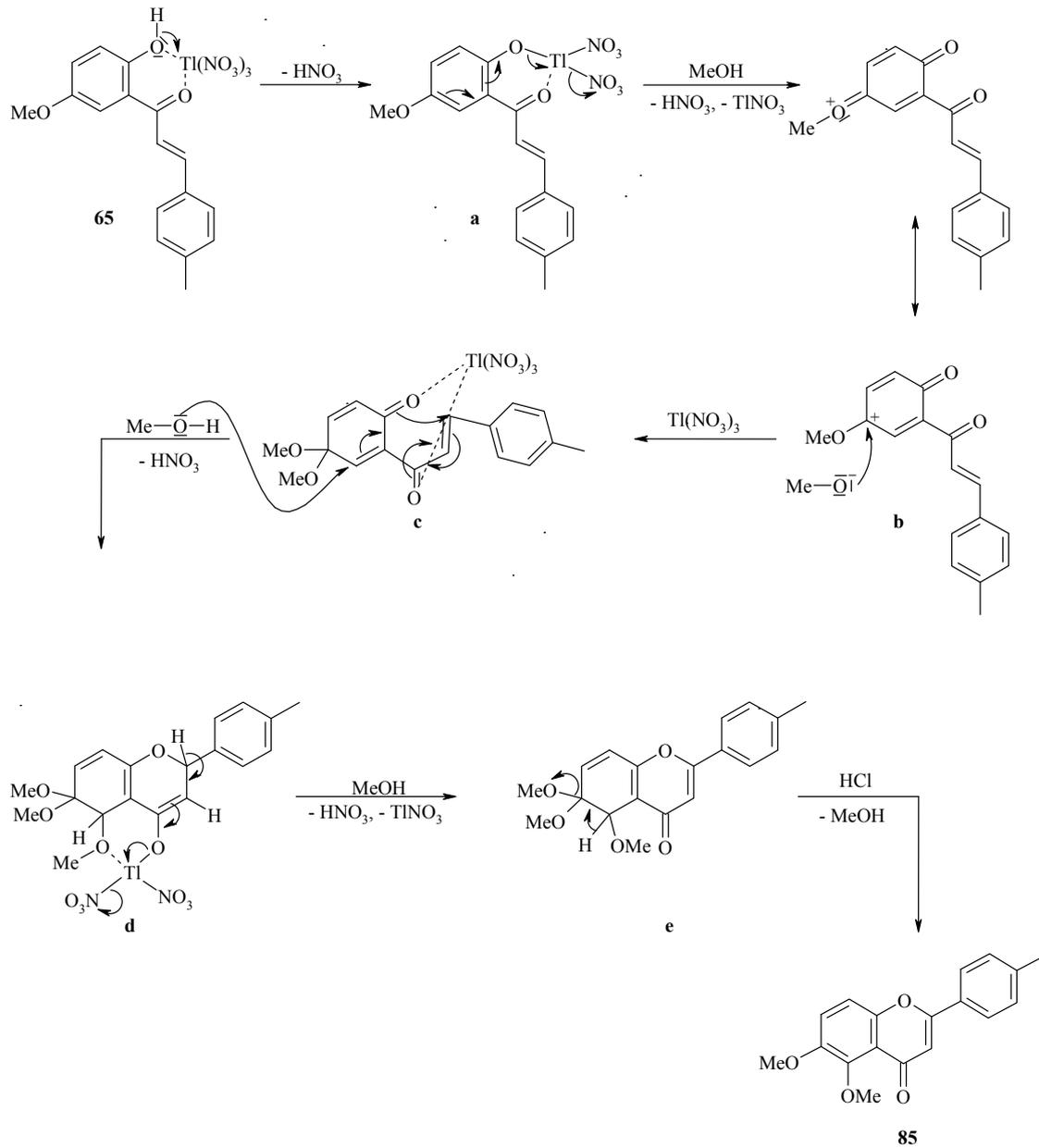


Abb. 33: Möglicher Reaktionsverlauf und -mechanismus zur Entstehung des 5,6-Dimethoxy-4'-methylflavons **85**

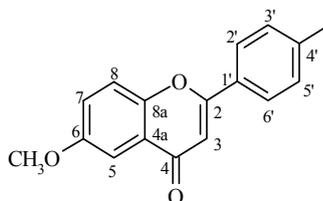
So findet hier die Ketalisierung via Methanoladdition (**b-c**) am Chalkon-A-Ring unter Bildung eines Chinon-Monoketals (**c**) und nicht wie geplant an der exocyclischen Ketogruppe (Abb. 23a) statt. Der nächste Reaktionsschritt beruht dann wahrscheinlich wiederum auf der Komplexierung eines weiteren Moleküls TTN, wobei diesmal eine Koordination mit der chinoiden und der exocyclischen Keto-Gruppe möglich ist (**c**). Allerdings wird die Komplexierung an der exocyclischen Keto-Gruppe durch den damit verbundenen Ringschluss des Flavonoid-C-Ringes (**c-d**) begünstigt. Die intermediär auftretende positive Ladung kann zwar über den A-Ring delokalisiert werden, es ist aber anzunehmen, dass sie unter der Wirkung des TTN zur Methanoladdition in die 5-Position gelenkt wird, da nur auf diese Weise ein stabiler sechsgliedriger Thallium-Komplex gebildet werden kann, indem das Thallium durch den Methoxy-Sauerstoff und den Keto-Sauerstoff chelatisiert wird (**c-d**). Diese Gegebenheit bedingt letztendlich die Einführung der 5-Methoxygruppe des späteren Endprodukts. Das komplexierte Thallium(III)-nitrat wird im folgenden Schritt unter Reduktion zum Thallium(I)-nitrat eliminiert, wobei jedoch angesichts der $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischen Befunde (Abb. 31 und Tabelle 4) keine Umlagerung des Flavonoid-C-Ringes stattfindet, was einen Eliminationsverlauf via Carbenium-Ion unwahrscheinlich macht und stattdessen eine 1,4-Elimination unter Mitwirkung des Methanols plausibel erscheinen lässt (**d-e**). Der letzte Reaktionsschritt stellt dann die Rearomatisierung des Flavonoid-A-Ringes mittels Eliminatinon eines Methanolmoleküls dar (**e-85**).

Massenspektrometrische Untersuchung des Produktgemisches aus Versuch 17

Im Einklang mit den Daten der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie sprechen auch die Daten der Massenspektrometrie für das Vorliegen eines Dimethoxyflavonoids, wie Verbindung **85** ($M = 296.33$), als Hauptprodukt, was insbesondere die Signale bei 296 M/z (90 %), 281 M/z (88 %) und 180 M/z (86 %) zeigen. Darüber hinaus treten aber auch Fragment-Signale auf, die nur mit der Anwesenheit von Nebenprodukten vereinbar sind, so z. B. bei 150 M/z (100 %) und 236 M/z (9 %) und auf die im Zusammenhang mit dem zweiten interpretierbaren Signalsatz des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums aus Abb. 31 nochmals eingegangen wird.

6-Methoxy-4'-methylflavon 85.1

(Nebenprodukt)



Die $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischen Daten der Signale, die aufgrund der Korrelation ihrer Intensitäten dem zweiten Signalsatz zugeordnet werden, sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Spek- tren- Aus- schnitt	Substanz 85.1 (Nebenprodukt)					Substanz 66 6-Methoxy-4'- methylflavon				
	δ [ppm]	Multi- plizität	Kopp- lung nJ [Hz]	Inten- sität (rel.)	Zuord- nung Proton	δ [ppm]	Multi- plizität	Kopp- lung nJ [Hz]	Inten- sität (rel.)	Zuord- nung Proton
A	7.82	m	$N = 8.2$	2	$\text{H}^{2'}\text{H}^{6'}$ A-Teil [AM] ₂ - System	7.81	m	$N = 8.3$	2	$\text{H}^{2'}\text{H}^{6'}$ A-Teil [AM] ₂ - System
	7.60	d	$^4J = 3.1$	1	H^5	7.59	d	$^4J = 3.1$	1	H^5
B	7.51	d	$^3J = 9.1$	1	H^8	7.50	d	$^3J = 9.1$	1	H^8
	7.32	m	$N = 7.9$	2	$\text{H}^{3'}\text{H}^{5'}$ M-Teil [AM] ₂ - System	7.32	m	$N = 8.1$	2	$\text{H}^{3'}\text{H}^{5'}$ M-Teil [AM] ₂ - System
C	7.29	dd	$^3J = 9.1$ $^4J = 3.1$	1	H^7	7.29	dd	$^3J = 9.1$ $^4J = 3.1$	1	H^7
	6.86	s		1	H^3	6.83	s		1	H^3
E	3.91	s		3	OCH_3	3.91	s		3	OCH_3
F	2.44	s		3	CH_3	2.43	s		3	CH_3

Tabelle 5: Gegenüberstellung der $^1\text{H-NMR}$ -Daten (500 MHz / CDCl_3) von **85.1** und **66**

Das Signalmuster (Abb. 31) entspricht in diesem Fall einem mono-methoxylierten Flavonoid und das Dublett bei 7.60 ppm weist hier mit dem Abstand einer 4J -Kopplung (Abb. 31, Ausschnitt B) deutlich auf das Vorhandensein des beim Signalsatz des Hauptprodukts **85** fehlenden Protons H^5 hin. Allerdings deutet auch bei Nebenprodukt **85.1** das Singulett bei 6.86 ppm (Abb. 31, Ausschnitt D) eher auf das Proton H^3 und damit Flavonstruktur, als auf das Proton H^2 der gewünschten Isoflavonstruktur hin und in der Gegenüberstellung mit den 1H -NMR-Daten des Flavons **66** (Tabelle 5) zeigt der gesamte Signalsatz des Nebenprodukts **85.1** nahezu vollständige Identität mit den Flavondaten, so dass das 6-Methoxy-4'-methylflavon als Nebenprodukt **85.1** anzusehen ist.

Massenspektrometrische Untersuchung des Substanzgemisches **85** und **85.1**

Unter der Voraussetzung, dass sich das in Versuch 17 entstandene Substanzgemisch hauptsächlich aus dem 5,6-Dimethoxy-4'-methylflavon **85** und dem 6-Methoxy-4'-methylflavon **85.1** im Verhältnis 4:1 zusammensetzt (gemäß Relation der Signalsatzintensitäten im 1H -NMR-Spektrum Abb. 31), soll an dieser Stelle nochmals auf die massenspektrometrischen Ergebnisse zurückgegriffen werden. Während die schon weiter oben erwähnten Signale bei 296 M/z, 281 M/z und 180 M/z hier ausschließlich Verbindung **85** zugeordnet wurden, sind die Signale bei 236 M/z und 150 M/z mit Fragmenten der Verbindung **85.1** vereinbar. Neben diesen treten im Massenspektrum aber noch weitere Signale bei 266 M/z (50 %), 145 M/z (30 %), 135 M/z (55 %), 119 M/z (29 %), 115 M/z (26 %), 91 M/z (27 %), 75 M/z (36 %) und 32 M/z (60 %) auf, die sowohl mit Fragmenten der Verbindung **85** als auch mit solchen der Verbindung **85.1** ($M = 266.30$) korrelieren.

Sucht man von reaktionsmechanistischer Seite her eine Erklärung für das Entstehen des Nebenprodukts **85.1** unter den gegebenen Synthesebedingungen (V17), so wäre denkbar, dass im 2'-Hydroxy-5'-methoxy-4-methylchalkon **65** der Sauerstoff der Hydroxy-Gruppe infolge des +M-Effekts der para-ständigen Methoxy-Gruppe so aktiviert wird, dass es hier sofort zum Ringschluss des C-Ringes kommt und das Thallium(III)-nitrat am Sauerstoff der Keto-Gruppe komplexiert wird (Abb. 34). Auf diese Weise würde eine zusätzliche Methoxylierung des A-Ringes, wie sie beim

Entstehen des Hauptproduktes **85** stattfindet, ausbleiben. Anschließende 1,4-Elimination von Thallium(I)-nitrat und Salpetersäure führt auch in diesem Fall zur Bildung des Flavons anstelle des Isoflavons.

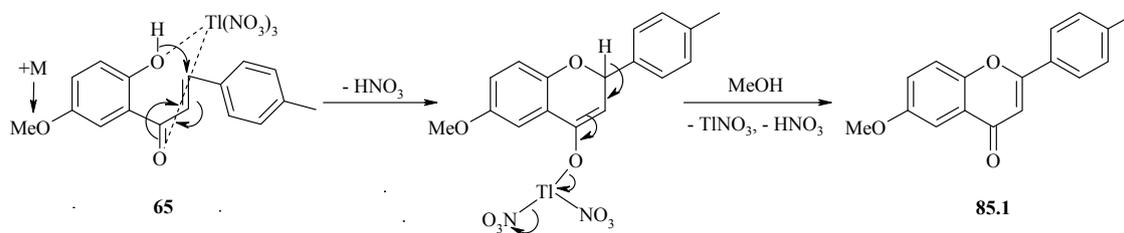


Abb. 34: Möglicher Reaktionsverlauf zur Entstehung von Verbindung **85.1**

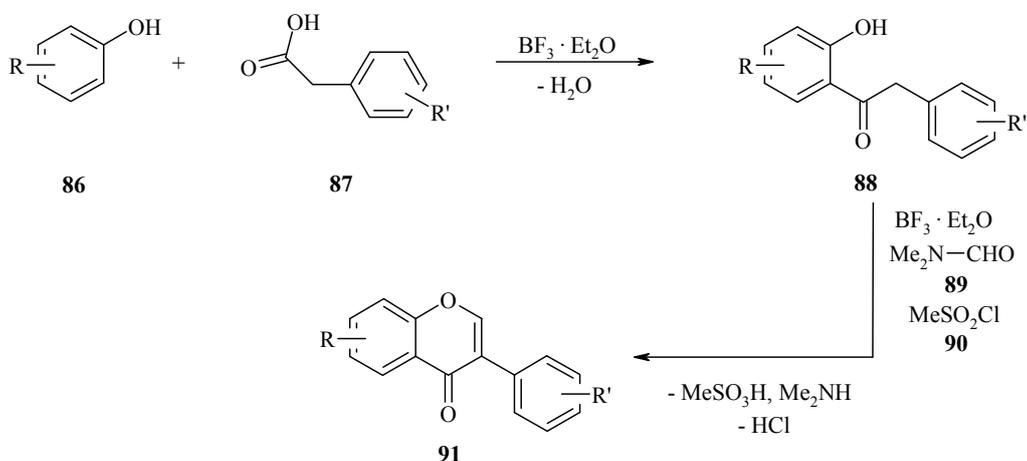
Zusammenfassend liefert die angewendete Methode («TTN-Methode») in beiden Fällen (Versuch 16 und Versuch 17) nicht die erwarteten Ergebnisse. In Versuch 16 entsteht zwar das angestrebte 5-Methoxy-4'-methylisoflavon **82** als Hauptprodukt, jedoch im Hinblick auf die noch erforderlichen Syntheseschritte bis zum Kopplungsprodukt, sind Ausbeute und Reinheit hier nicht ausreichend. In Versuch 17 gelingt es gar nicht das gewünschte 6-Methoxy-4'-methylisoflavon darzustellen. Eine Erklärung für diesen Unterschied zwischen beiden Fällen ist sicherlich in der Position der Methoxy-Gruppe im jeweiligen Edukt (Chalkon **52** und Chalkon **65**) und der Komplexierung des TTNs zu suchen. Wirft man nochmals einen vergleichenden Blick auf die mutmaßlichen Reaktionsmechanismen zur Entstehung der verschiedenen Haupt- und Nebenprodukte (Abbildungen: 23a und b, 28, 33, 34), so fällt auf, dass im 2'-Hydroxy-6'-methoxy-4-methylchalkon **52** von vornherein eine 6-Ring bildende Chelatisierung des TTN durch den Sauerstoff der Keto- und der 6'-Methoxy-Gruppe möglich ist, was hier zur Aktivierung der Keto-Gruppe für die anschließende Ketalisierung führt. Der A-Ring wird hier also nicht direkt ins Reaktionsgeschehen mit einbezogen, da zum einen die zur Hydroxy-Gruppe meta-ständige 6'-Methoxy-Gruppe keinen zum sofortigen Ringschluss aktivierenden +M-Effekt auf jene ausübt, wie es scheinbar bei der para-ständigen 5'-Methoxy-Gruppe im 2'-Hydroxy-5'-methoxy-4-methylchalkon (Abb. 34) der Fall ist und zum anderen auch keine zusätzliche Methoxylierung des A-Ringes stattfindet, da auch hier im Gegensatz zur para-ständigen 5'-Methoxy-Gruppe (Abb. 33) die meta-ständige 6'-Methoxy-Gruppe nicht zur Stabilisierung eines chinoiden Kations beitragen

könnte. Von anderer Seite betrachtet ist es also im 2'-Hydroxy-5'-methoxy-4-methylchalcon die 5'-Position der Methoxy-Gruppe, die unter den gegebenen Bedingungen ausschlaggebend für den unerwarteten Reaktionsverlauf ist.

Quintessenz aller Beobachtungen ist die Notwendigkeit einer Isoflavonsynthese, die den bestehenden Anforderungen besser gerecht wird.

3.7.3 Deoxybenzoin-Route^[96]

Eine solche Synthese findet sich in der Literatur^[96] in Form einer Ein-Topf-Synthese aus Friedel-Crafts-Acylierung und Formylierung mit anschließender Cyclokondensation. Als Ausgangssubstanzen dienen dieser Methode Derivate des Phenols **86** und der Phenyllessigsäure **87**, deren Substitutionsmuster dem jeweils angestrebten Isoflavon entsprechen und welche mit Hilfe von Bortrifluorid-diethyletherat ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$), das sowohl als Lösungsmittel als auch dank seines Lewis-Säure Charakters als Friedel-Crafts-Katalysator dient, zunächst zum jeweiligen Polyhydroxydeoxybenzoin **88** umgesetzt werden. Im Deoxybenzoin **88** als Vorstufe des Isoflavons **91** sind A-Ring (aus Phenolderivat **86**) und B-Ring (aus Phenyllessigsäurederivat **87**) des späteren Isoflavons **91** bereits miteinander verknüpft. Anschließende Formylierung mit Dimethylformamid (DMF) **89** und Methansulfonsäurechlorid **90** als Formylierungsreagenz gefolgt von einer abschließenden Cyclokondensation führt zur Ausbildung des C-Ringes des gewünschten Isoflavons **91**.



Entscheidend für einen erfolgreichen Ringschluss ist bereits im ersten Reaktionsschritt die Orientierung der Acylierung zum Polyhydroxydeoxybenzoin **88**, die in ortho-Position zu einer der phenolischen Hydroxy-Gruppen des Phenolderivats **86** stattfinden muss. Da jedoch der Platzbedarf des Acylsubstituenten **87**, sowie die dirigierende Wirkung der phenolischen Hydroxy-Gruppe eine para-Acylierung favorisieren, spielen Position und dirigierender Effekt weiterer Substituenten R des Phenolderivats **86** eine wichtige Rolle beim Reaktionsverlauf, der mechanistisch folgendermaßen vorstellbar ist:

Friedel-Crafts-Acylierung:

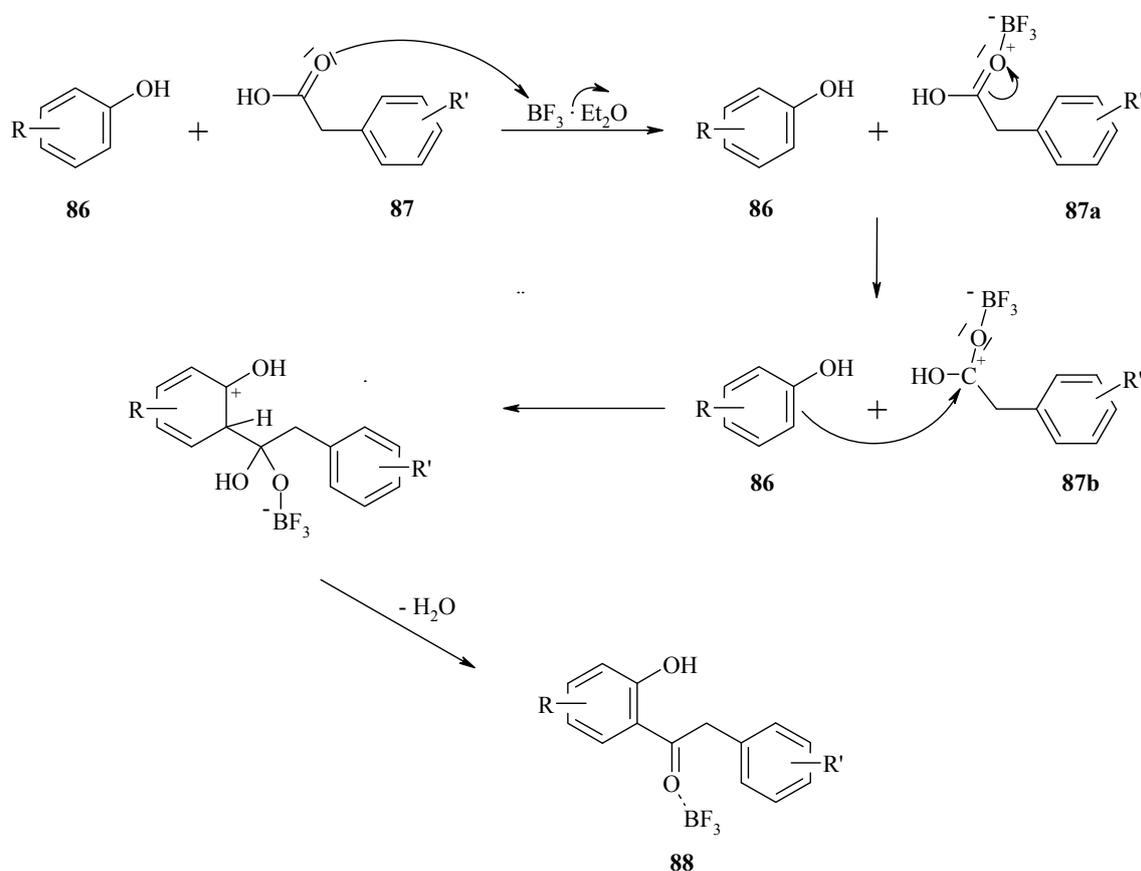


Abb. 35: Vorschlag zum Mechanismus der $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -katalysierten Friedel-Crafts-Acylierung zur Darstellung des Polyhydroxydeoxybenzoins **88**

Das Bortrifluoriddiethyletherat komplexiert als Lewis-Säure zunächst das Phenylelessigsäurederivat **87** und bildet mit diesem das eigentlich wirksame Elektrophil **87a** oder **87b**, welches dann mit dem Phenolderivat **86** zum Polyhydroxydeoxybenzoin **88** reagiert.

Auf dem Weg vom Deoxybenzoin **88** zum Isoflavon **91** bedarf es vor Ringschluss des C-Ringes noch der Einführung des C¹-Atoms dieses Ringes, was durch Formylierung mit einem Gemisch aus DMF **89** und Mesylchlorid **90** in Gegenwart von BF₃·Et₂O als Katalysator möglich sein sollte.^[96] Eigentliches Elektrophil und somit C¹-Lieferant ist das aus DMF **89** und Mesylchlorid **90** gebildete α-chlorierte Immoniumion **89a**. Allerdings verläuft die Reaktion laut Literatur^[97] nur unter der Wirkung von BF₃·Et₂O in gewünschter Weise, indem es durch Komplexierung des 2-Hydroxy-Ketons **88** die Ring-Formylierung verhindern und gleichzeitig die Methylen-Funktion selbiger Verbindung aktivieren sollte. Dies erscheint auch plausibel, wenn man bedenkt, dass ähnlich der schon früher beschriebenen Komplexierung des TTN das BF₃ ebenfalls in einem sechsgliedrigen Ringsystem von der 2-Hydroxy-Gruppe und der Keto-Gruppe des Deoxybenzoin **88** (Abb. 36) chelatisiert werden kann. Einerseits würde dabei der π-Donor-Effekt der 2-Hydroxy-Gruppe geschwächt, was eine Desaktivierung dieses Ringes bezüglich der Formylierung zur Folge hätte, vorausgesetzt weitere die elektrophile Ringsubstitution aktivierende Substituenten des Deoxybenzoin **88** würden ebenfalls durch Komplexierung mit BF₃ unwirksam. Andererseits erhöht das BF₃ aufgrund seiner elektronenziehenden Wirkung die Acidität der der Keto-Gruppe benachbarten Protonen und begünstigt so die Formylierung der Methylen-Funktion. Zunächst würde dabei ein acides Proton vom Methansulfonsäureanion **90a**, das bei der Bildung des Formylierungsreagenzes entsteht, abgefangen (Abb. 36) und anschließend könnte mittels nukleophilem Angriffes auf das Immoniumion **89a** die Formylierung erfolgen. Mechanistisch dürfte die Abfolge von Formylierung und Cyclisierung wie in Abbildung 36 vorgestellt aussehen.

Formylierung und Cyclisierung:

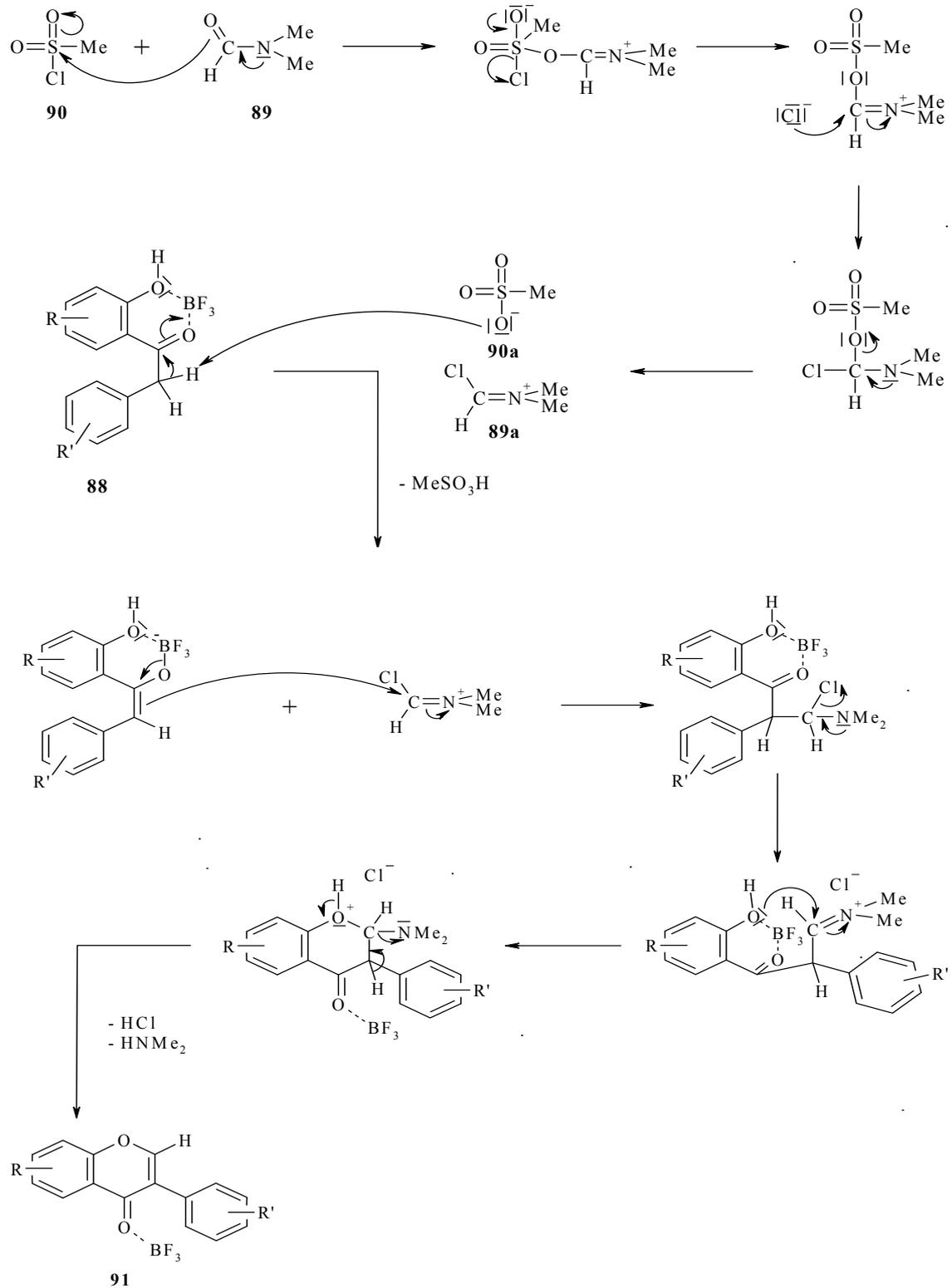
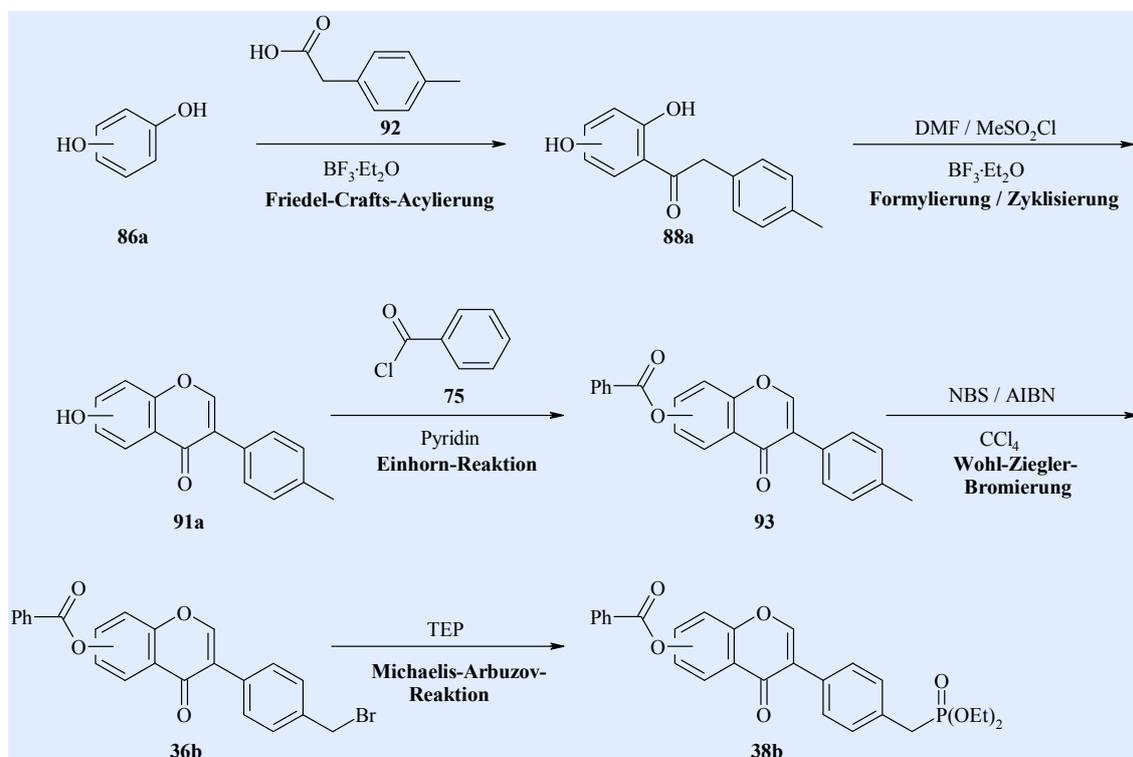


Abb. 36: Vorschlag zum Mechanismus der $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -katalysierten Formylierung und Cyclisierung zur Darstellung des Isoflavons **91**

Die Spaltung des Produkt-Katalysator(BF_3)-Komplexes **91** muss nach Beendigung der Reaktion hydrolytisch erfolgen.

Ähnlich der zur Flavondarstellung gewählten Methode, bietet sich auch hier die Einführung der gewünschten bzw. benötigten Hydroxy- und Methyl-Substituenten mit den Ausgangssubstanzen an. Allerdings ist der Einsatz von Schutzgruppen während der oben beschriebenen Isoflavonsynthese nicht erforderlich, da die Hydroxy-Gruppen den Reaktionsverlauf nicht stören bzw. durch Komplexierung mit BF_3 keine unerwünschten Nebenreaktionen auslösen sollten.^[96] Die Schutzgruppeneinführung wird somit auf dem Weg zum jeweils angestrebten Isoflavonphosphonat erst nach erfolgter Isoflavondarstellung, aber vor radikalischer Bromierung der hydroxylierten 4'-Methylisoflavone, aus den schon unter Punkt 3.2 im Zusammenhang mit der Flavonphosphonatdarstellung erläuterten Gründen, notwendig. Angesichts der bereits während der Carotenylflavonsynthese gewonnenen Erfahrungen wird hier nur die Veresterung mit Benzoylchlorid **75** zum Schutz der Hydroxygruppen gewählt, so dass die Syntheseschritte des Ent- und Umschützens eingespart werden können und für die Darstellung der Benzoylisoflavonphosphonate **38b** folgende 5-stufige Synthesesequenz vorgeschlagen wird:



Die Kopplung der Benzoylisoflavonphosphonate **38b** mit Carotenaldehyden unter den Bedingungen einer Wittig-Horner-Emmons-Reaktion kann dann analog der unter Punkt 3.5.4 für das hydroxylierte Carotenylflavon **60** beschriebenen Vorgehensweise erfolgen.

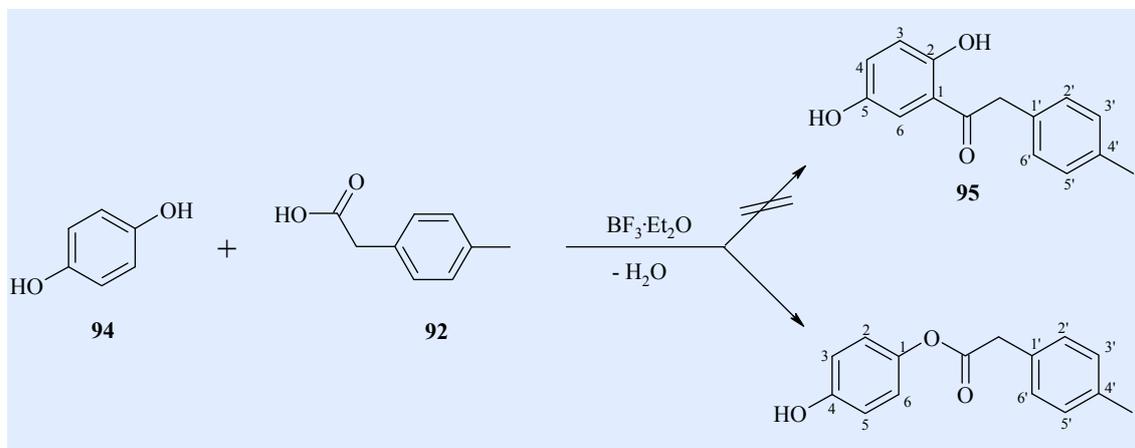
3.7.4 Synthese der Hydroxy-Isoflavone

Zunächst werden verschiedene Dihydroxybenzole und *p*-Tolylessigsäure **92** als Ausgangsmaterialien für die jeweiligen Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoine bzw. Monohydroxy-4'-methylisoflavone eingesetzt. Wie im Folgenden gezeigt wird, wirkt sich dabei die Position der phenolischen Hydroxy-Substituenten deutlich auf den Reaktionsverlauf aus. Weiterhin ist noch zu bemerken, dass keine der hier erprobten Isoflavonsynthesen als Ein-Topf-Reaktion durchführbar war, wie es die Literatur^[96] vorschlägt, sondern stets das Deoxybenzoin als Intermediat vor Weiterumsetzung zum Isoflavon isoliert und aufgereinigt wurde.

3.7.4.1 Versuche zur Synthese des 6-Hydroxy-4'-methylisoflavons **97**

Die Synthese scheitert schon auf der Stufe des 2,5-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoins **95**. Ausgangssubstanzen sind 1,4-Dihydroxybenzol **94** und *p*-Tolylessigsäure **92**, welche in 20 eq. $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ einer Friedel-Crafts-Acylierung unterzogen werden. Im 1,4-Dihydroxybenzol **94** blockieren die beiden phenolischen Hydroxy-Gruppen gegenseitig die jeweilige para-Position, so dass im Grunde nur die gewünschten ortho-Positionen der Acylierung zur Verfügung stehen.

V18



Die Auswertung des ^1H -NMR-Spektrums (Abb. 37) zeigt jedoch, dass es sich bei dem in 33%iger Ausbeute erhaltenen lachsfarbenen Produkt nicht um das erwartete 2,5-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **95**, sondern um das 4-Hydroxyphenyl-2-*p*-tolylacetat **96** handelt, was anhand der Signalintensitäten und damit Anzahl der vorhandenen Protonen, sowie des Signalaufspaltungsmusters des phenolischen Substituenten (Abb. 37, Ausschnitt C) im Spektrum deutlich wird.

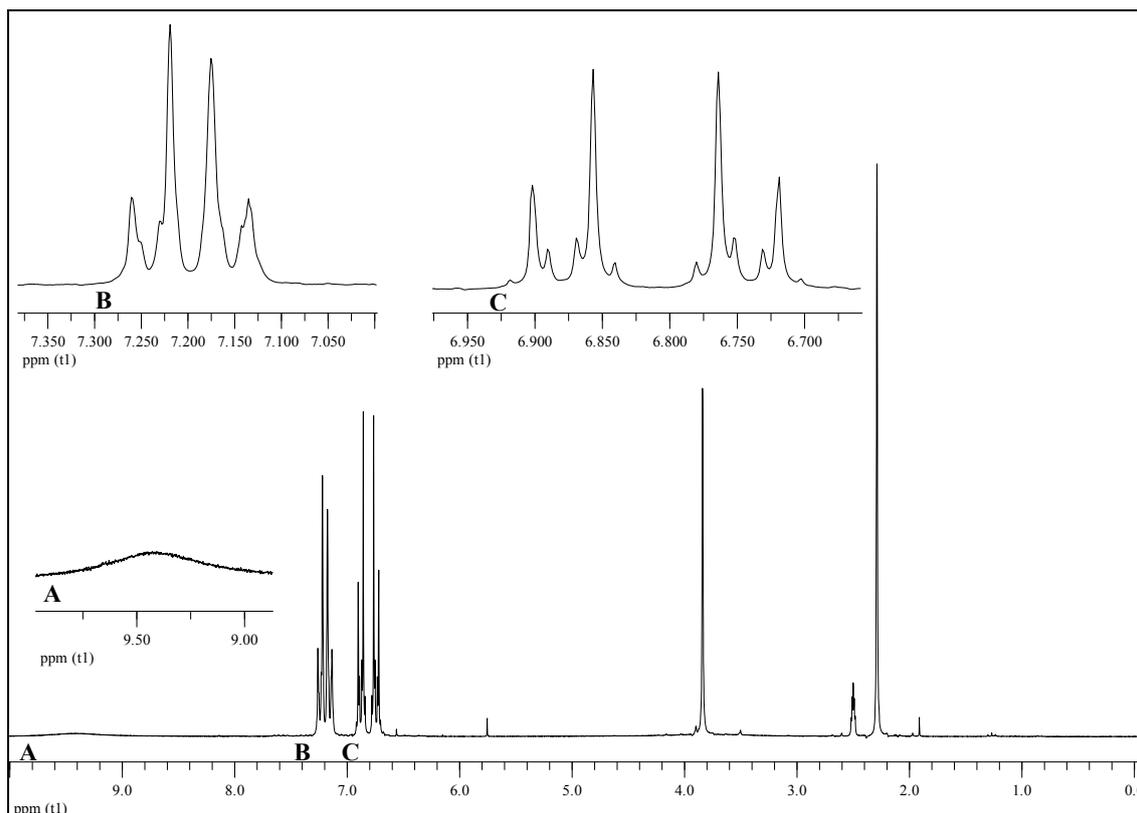
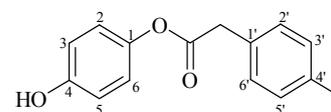


Abb. 37: ^1H -NMR-Spektrum (200 MHz / DMSO-d_6) von **96**



^1H -NMR (200 MHz / DMSO-d_6): Abb. 37

$\delta = 2.29$ (s, 3H, CH_3), 3.84 (s, 2H, CH_2), 6.74 (m, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 9.0$ Hz, H^3H^5), 6.88 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 9.0$ Hz, H^2H^6), 7.16 (m, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 8.0$ Hz, $\text{H}^3'\text{H}^5'$), 7.24 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 8.2$ Hz, $\text{H}^2'\text{H}^6'$), 9.43 (s, 1H, OH) ppm.

Das [AB]₂-System im Spektrenausschnitt C (Abb. 37) weist auf die vier aromatischen Protonen des Phenolringes in Verbindung **96** hin, wogegen das angestrebte 2,5-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **95** an diesem Ring nur drei aromatische Protonen tragen würde, die ein deutlich anderes Signalaufspaltungsmuster im ¹H-NMR-Spektrum aufweisen müssten. Erwartet würde für Proton H⁶ ein Dublett im Frequenzabstandsbereich einer ⁴J-Kopplung, für Proton H⁴ ein Dublett von Dubletts mit den Frequenzdifferenzen einer ³J- sowie einer ⁴J-Kopplung und letztendlich für Proton H³ ein Dublett im Abstand einer ³J-Kopplungsfrequenz. Diese Charakteristika spiegelt obiges Spektrum (Abb. 37) nicht wider.

Die massenspektrometrischen Ergebnisse erlauben hier keine eindeutige Unterscheidung zwischen angestrebter und tatsächlich entstandener Substanz, da das auftretende Fragmentierungsmuster: 242 M/z (9 %), 132 M/z (100 %), 105 M/z (72 %), 77 M/z (8 %) sowohl für Verbindung **95** (M = 242.27) als auch für Verbindung **96** (ebenfalls M = 242.27) in Frage käme.

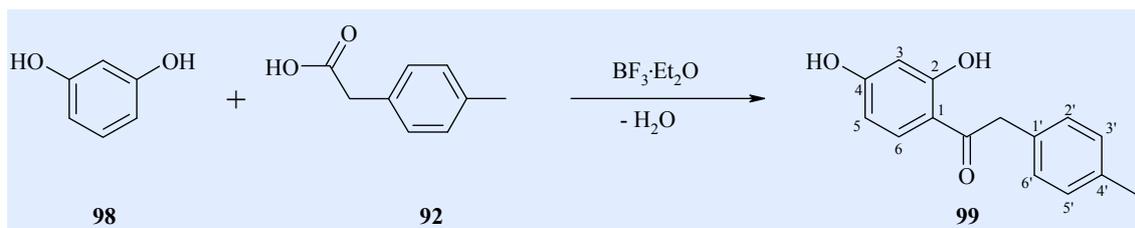
Als weitere Produkte lassen sich lediglich die Edukte **94** und **92** zurückgewinnen. Allem Anschein nach reicht hier der neben dem para-dirigierenden Effekt stets vorhandene ortho-dirigierende Effekt der Hydroxy-Substituenten nicht aus, um eine ortho-Acylierung zu bewirken. Stattdessen kommt es zur Veresterung einer der para-ständigen Hydroxy-Gruppen durch die *p*-Tolylessigsäure **92**. Diese Reaktion könnte analog der Friedel-Crafts-Acylierung (Abb. 35) durch BF₃·Et₂O katalysiert werden, in dem es die *p*-Tolylessigsäure **92** in Form des Carboxonium(**87a**)- bzw. Carbenium(**87b**)- Ions (Abb. 35) für den Angriff des Hydroxy-Sauerstoffs der Phenol-Komponente **94** aktiviert. Gründe für einen derartigen Reaktionsverlauf sind sicherlich im räumlichen Anspruch der mit Bortrifluorid komplexierten *p*-Tolylessigsäure **92** als Substituent zu suchen, wobei die Veresterung phenolischer Verbindungen durchaus eine literaturbekannte^[1,67] Konkurrenzreaktion zur Friedel-Crafts-Acylierung darstellt. Allerdings lassen sich die Phenolester teilweise nach Fries^[1,67] in die ortho- oder para-C-acylierten Produkte umlagern. So beschreibt die dem Versuch 18 zugrunde liegende Literatur^[96] die Acylierung des 1,4-Dihydroxybenzols **94** mit Phenylelessigsäure (statt *p*-Tolylessigsäure) zum ortho-Acylierungsprodukt als schleppende Reaktion. Möglicherweise findet auch dort zunächst die Veresterung einer phenolischen Hydroxy-Gruppe unter BF₃·Et₂O-Katalyse statt, und erst bei Verlängerung der Reaktionszeit wird

via Fries Umlagerung das 2,5-Dihydroxydeoxybenzoin (*o*-Acylierungsprodukt) gebildet. Bei Variation von Versuch 18 führt jedoch auch eine Ausdehnung der Reaktionszeit auf bis zu 24 h und Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 100-105 °C nicht zum gewünschten 2,5-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **95**.

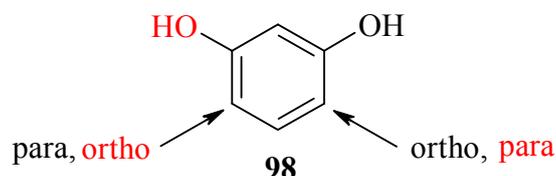
Verständlicherweise ist in diesem Fall eine Weiterumsetzung zum 6-Hydroxy-4'-methylisoflavin **97** mittels Formylierung der Methylengruppe und anschließender Cyclokondensation nicht möglich.

3.7.4.2 Synthese des 7-Hydroxy-4'-methylisoflavons **100**

Ausgehend vom 1,3-Dihydroxybenzol **98** und *p*-Tolylessigsäure **92** wird das 2,4-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **99** unter der katalytischen Wirkung von $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ mit einer Ausbeute von 61 % hergestellt.



Die Acylierung der *ortho*-Position einer der phenolischen Hydroxy-Gruppen bereitet hier in sofern keine Schwierigkeiten, dass sie gleichzeitig die *para*-Position der anderen Hydroxy-Gruppe darstellt, so dass der *para*-dirigierende Effekt der Hydroxy-Gruppen gegenseitig ausgenutzt werden kann:

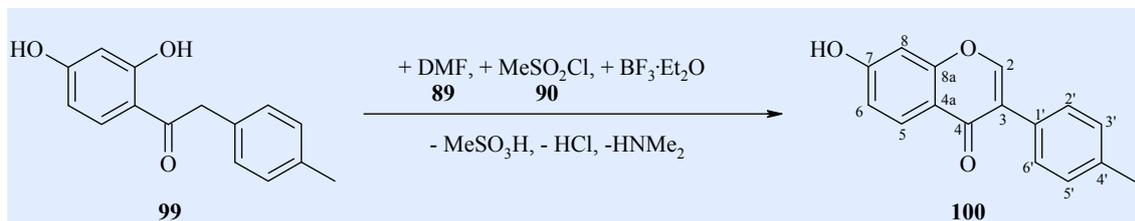


Welche der beiden symmetrieäquivalenten *ortho*- bzw. *para*-Positionen acyliert wird ist dabei unerheblich, es sollte lediglich eine Di-Acylierung vermieden werden, was über einen äquimolaren Einsatz der Edukte **98** und **92**, sowie die deaktivierende Wirkung der Acylgruppe gewährleistet wird.

Im nächsten Schritt wird das 2,4-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **99** dann wiederum unter $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -Katalyse mit Hilfe der Formylierungsreagentien DMF **89** und

Methansulfonsäurechlorid **90** zum 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** umgesetzt, welches nach Hydrolyse und Umkristallisation des Rohprodukts aus Ethanol in 59%iger Ausbeute erhalten wird.

V20



3.7.4.3 Versuche zur Synthese des 8-Hydroxy-4'-methylisoflavons **104**

Auch diese Synthese zeigt schon bei der Darstellung des Deoxybenzoins nicht den gewünschten Verlauf, da sich die para-dirigierende Wirkung in der phenolischen Ausgangskomponente, dem 1,2-Dihydroxybenzol **101** stark bemerkbar macht. So kann nach BF₃·Et₂O katalysierter Friedel-Crafts-Acylierung mit *p*-Tolylessigsäure **92** anstelle des 2,3-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoins **102** ausschließlich das 3,4-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **103** in 60%iger Ausbeute isoliert werden.

V21

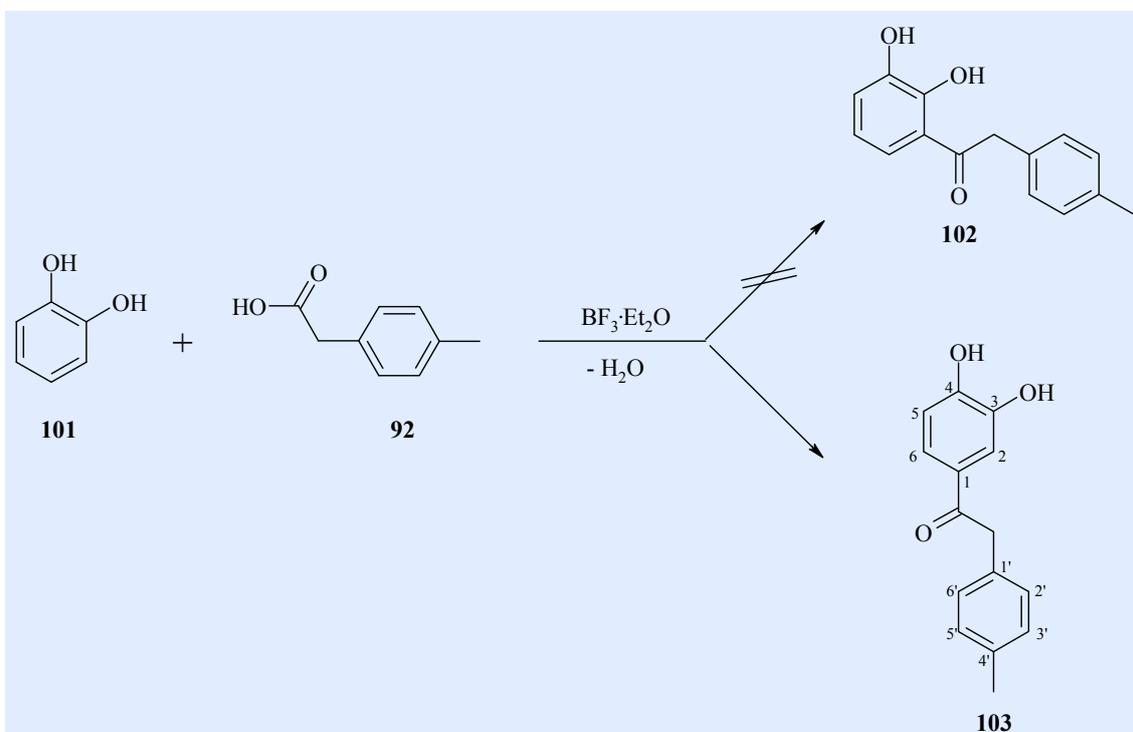


Abbildung 38 zeigt das zugehörige $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, das neben Produkt **103** noch eine nicht weiter definierte Verunreinigung aufweist:

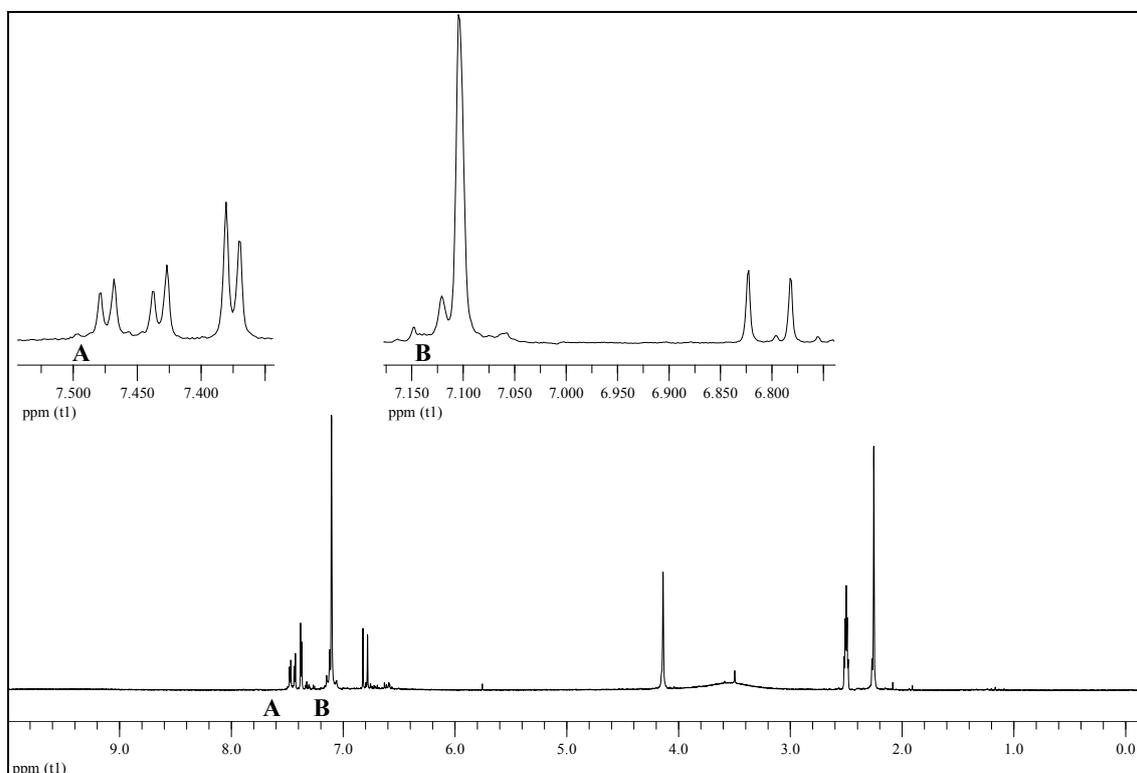
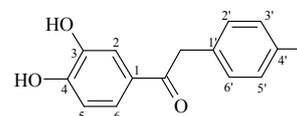


Abb. 38: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (200 MHz/ DMSO- d_6) von **103**



$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz / DMSO- d_6): Abb. 38

$\delta = 2.25$ (s, 3H, CH_3), 4.14 (s, 2H, CH_2), 6,80 (d, 1H, $^3J = 8.2$ Hz, H^5), 7.10 (m, 4H, $\text{H}^3\text{H}^5\text{H}^2\text{H}^6$), 7.38 (d, 1H, $^4J = 2.1$ Hz, H^2), 7.45 (dd, 1H, $^3J = 8.3$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, H^6) ppm.

Die Weiterumsetzung zum 8-Hydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **104** in der unter 3.7.3 beschriebenen Weise ist auch hier nicht möglich.

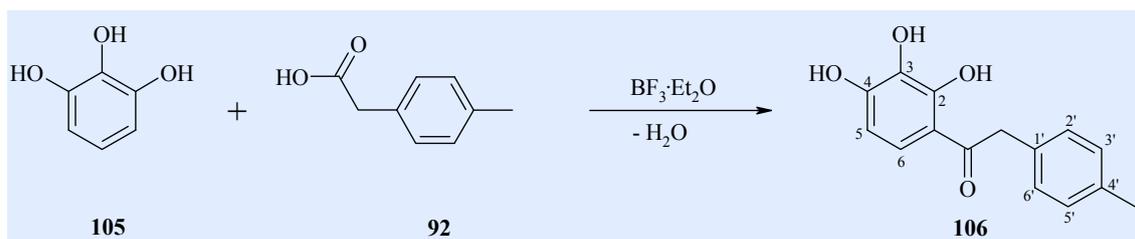
Um die Auswirkung der Anwesenheit mehrerer phenolischer Hydroxy-Gruppen im Flavonoidteil auf das Kopplungsverhalten der entsprechenden Phosphonate und auf das antioxidative Verhalten der Carotenylflavonoide zu testen, wird auch die Darstellung

der Dihydroxy-4'-methylisoflavone angegangen. Als Ausgangsmaterialien werden verschiedene Trihydroxybenzole und wiederum *p*-Tolylessigsäure **92** eingesetzt.

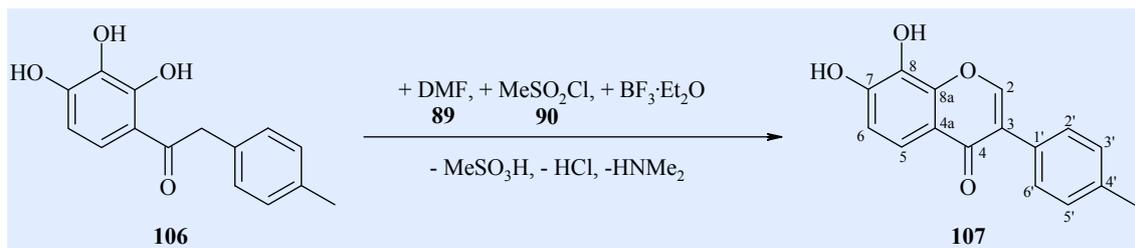
3.7.4.4 Synthese des 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavons **107**

Das 1,2,3-Trihydroxybenzol **105**, welches hier als phenolische Ausgangskomponente dient, bietet der Substitution ähnlich dem 1,3-Dihydroxybenzol **98** zwei symmetrieäquivalenten ortho-Positionen (bzgl. der Hydroxy-Gruppen), die unter dem Einfluss der jeweils gegenüberliegenden Hydroxy-Gruppe eine zusätzliche para-Aktivierung genießen, was die $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -katalysierte Acylierung dieser Positionen (4- und 6-Position) erheblich erleichtert bzw. überhaupt ermöglicht. Darüber hinaus wäre jedoch auch eine Acylierung der 5-Position, also para-ständig zur mittleren Hydroxy-Gruppe (2-Hydroxy-Gruppe) denkbar, die allerdings meta-ständig zu den übrigen beiden Hydroxy-Gruppen wäre, was ihre Aktivierung im Vergleich zur 4- und 6-Position herabsetzt. Dennoch ist eine Substitution in 5-Position als Nebenreaktion nicht auszuschließen, es wird jedoch kein entsprechendes Nebenprodukt isoliert. Zur Vermeidung einer Mehrfachacylierung wird auch hier ein äquimolarer Einsatz der Edukte **105** und **92** gewählt, so dass man das zur Herstellung des gewünschten Isoflavons **107** benötigte 2,3,4-Trihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **106** in 56%iger Ausbeute gewinnt.

V22



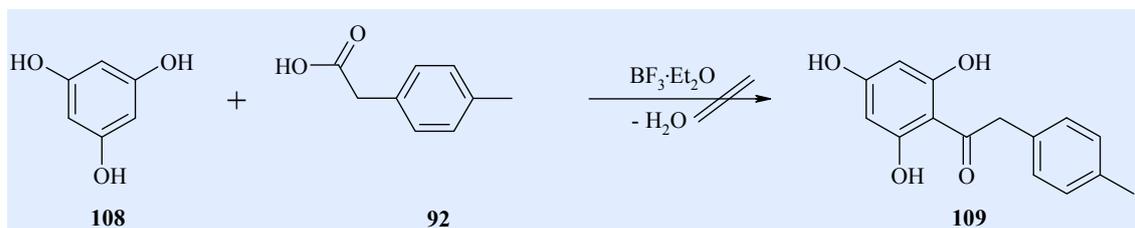
Die Formylierung und Cyclisierung zum 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon **107** in Gegenwart von DMF **89** und Methansulfonsäurechlorid **90** gelingt mit einer Ausbeute von 58 %.



V23

3.7.4.5 Versuche zur Synthese des 5,7-Dihydroxy-4'-methylisoflavons 110

Phenolische Ausgangsverbindung ist hierbei das 1,3,5-Trihydroxybenzol **108**, das der elektrophilen Substitution gleich drei ortho-Positionen zur Verfügung stellt, die alle noch eine zusätzliche para-Aktivierung durch die jeweils gegenüberliegende Hydroxy-Gruppe erfahren. Somit würde eine problemlose Acylierung unter Friedel-Crafts-Bedingungen erwartet^[96], was das Ergebnis der $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ katalysierten Acylierung mit *p*-Tolylessigsäure **92** jedoch nicht bestätigt. Es lässt sich weder als Zwischenstufe das 2,4,6-Trihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **109** noch nach Weiterbehandlung mit den Formylierungsreagentien DMF **89** und Mesylchlorid **90** im Quasi-Eintopfverfahren das gewünschte Isoflavon **110** isolieren. Eine Erklärung für diesen Befund liefert auch hier möglicherweise der Platzbedarf des mit BF_3 komplexierten Substituenten **92**, so dass die Reaktion zum 2,4,6-Trihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **109** aufgrund sterischer Hinderung nicht stattfindet.



V24

3.7.5 Synthese der Benzoyl-4'-methylisoflavone

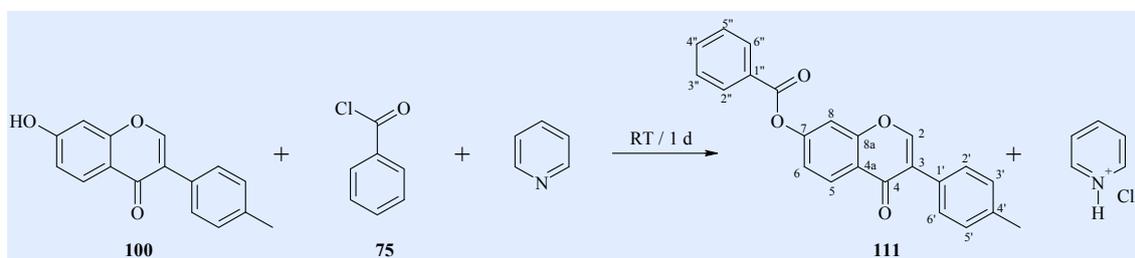
Wie schon im Rahmen der Flavonphosphonatsynthese beschrieben, erscheint es notwendig, die phenolischen Hydroxy-Gruppen vor der radikalischen Bromierung zu

schützen. Da sich die Benzoyl-Schutzgruppe hinsichtlich des Wiederentfernens nach erfolgter Kopplung zum Carotenyflavon als weitaus geeigneter als die Methoxy-Gruppe erwies, wird im Folgenden sofort die Benzoyl-Gruppe zum Schutz der Hydroxy-Isoflavone eingesetzt.

3.7.5.1 Synthese des 7-Benzoyl-4'-methylisoflavons 111

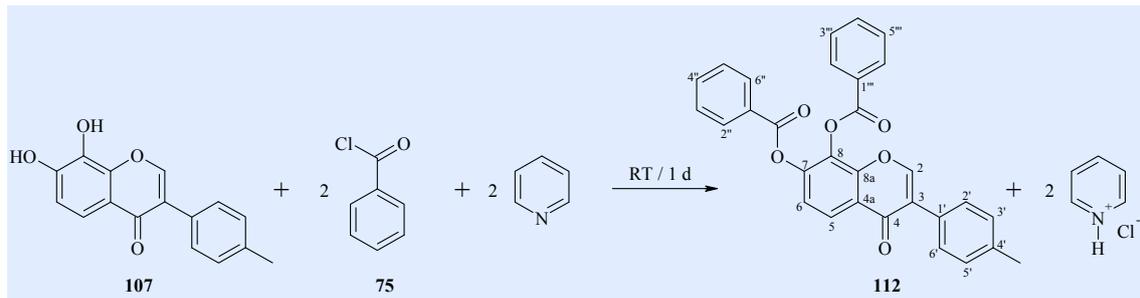
Die phenolische Hydroxy-Gruppe des 7-Hydroxy-4'-methylisoflavons **100** wird unter den Bedingungen einer Einhorn-Reaktion^[1,67] mit Benzoylchlorid **75** verestert. Allerdings kann die Reaktion im Vergleich zur Veresterung des 5-Hydroxyflavonphosphonats **58** bereits nach einer Reaktionszeit von einem Tag bei Raumtemperatur (RT) mit einer Ausbeute von 97 % beendet werden. Kürzere Reaktionszeit und höhere Ausbeute können hier wieder mit der größeren Acidität der 7-Hydroxy- gegenüber der 5-Hydroxy-Gruppe (siehe Punkt 3.5.3, Abb. 22) begründet werden. Nach salzsaurer Hydrolyse und Aufreinigung fällt das 7-Benzoyl-4'-methylisoflavon **111** als cremefarbenes Pulver an.

V25



3.7.5.2 Synthese des 7,8-Dibenzoyl-4'-methylisoflavons 112

Die beiden phenolischen Hydroxy-Gruppen des 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavons **107** werden ebenfalls via Einhorn-Reaktion^[1,67] mit Benzoylchlorid **75** verestert. Nach einer Reaktionsdauer von einem Tag bei Raumtemperatur (RT), salzsaurer Hydrolyse und Aufreinigung erhält man ein cremefarbenes Produkt in 83%iger Ausbeute, das 7,8-Dibenzoyl-4'-methylisoflavon **112**.

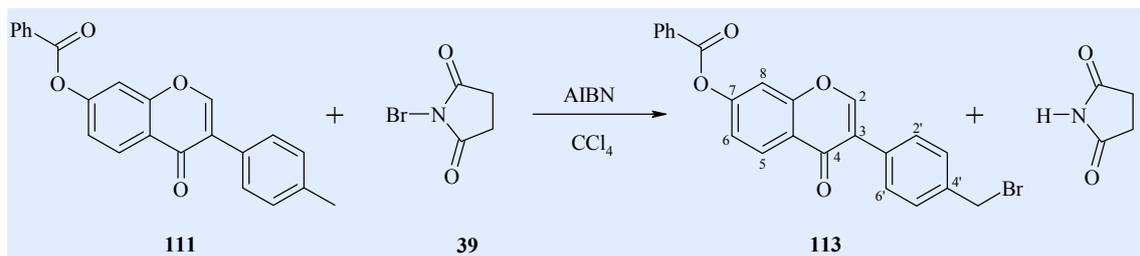


V26

3.7.6 Synthese der Benzoylisoflavonphosphonate

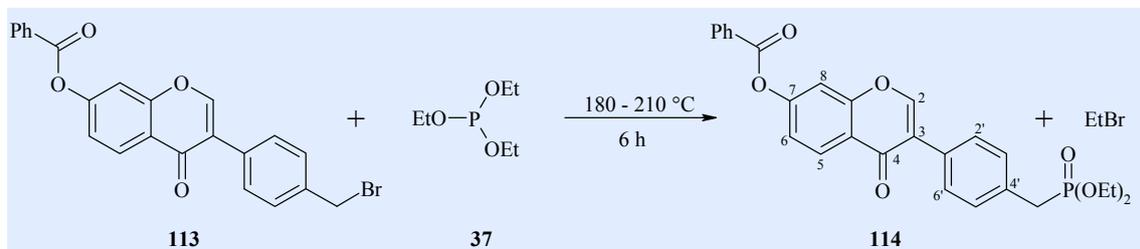
3.7.6.1 Synthese des 7-Benzoylisoflavonphosphonats 114

Das 7-Benzoyl-4'-methylisoflavon **111** wird nach Wohl-Ziegler^[1,67] radikalisch bromiert



V27

und das in 65%iger Ausbeute gewonnene 7-Benzoyl-4'-brommethylisoflavon **113** kann anschließend nach Michaelis-Arbuzov^[1,67] mit einer Ausbeute von 85 % zum 7-Benzoylisoflavonphosphonat **114** umgesetzt werden:

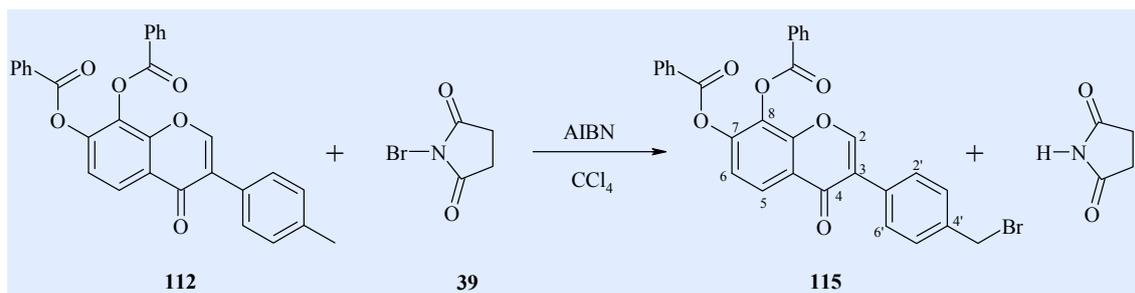


V28

3.7.6.2 Synthese des 7,8-Dibenzoylisoflavonphosphonats **116**

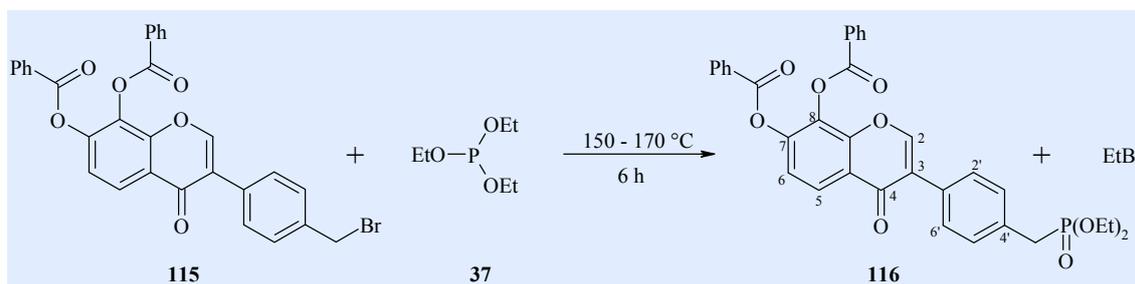
Die Darstellung des 7,8-Dibenzoylisoflavonphosphonats **116** erfolgt ausgehend vom 7,8-Dibenzoyl-4'-methylisoflavon **112** ebenfalls via Wohl-Ziegler-Bromierung^[1,67] gefolgt von einer Michaelis-Arbuzov-Reaktion^[1,67,68] mit Triethylphosphit (TEP) **37**. Das 7,8-Dibenzoyl-4'-brommethylisoflavon **115** entsteht mit 80 % Ausbeute

V29



und das 7,8-Dibenzoylisoflavonphosphonat **116** wird mit 58 % Ausbeute gebildet:

V30



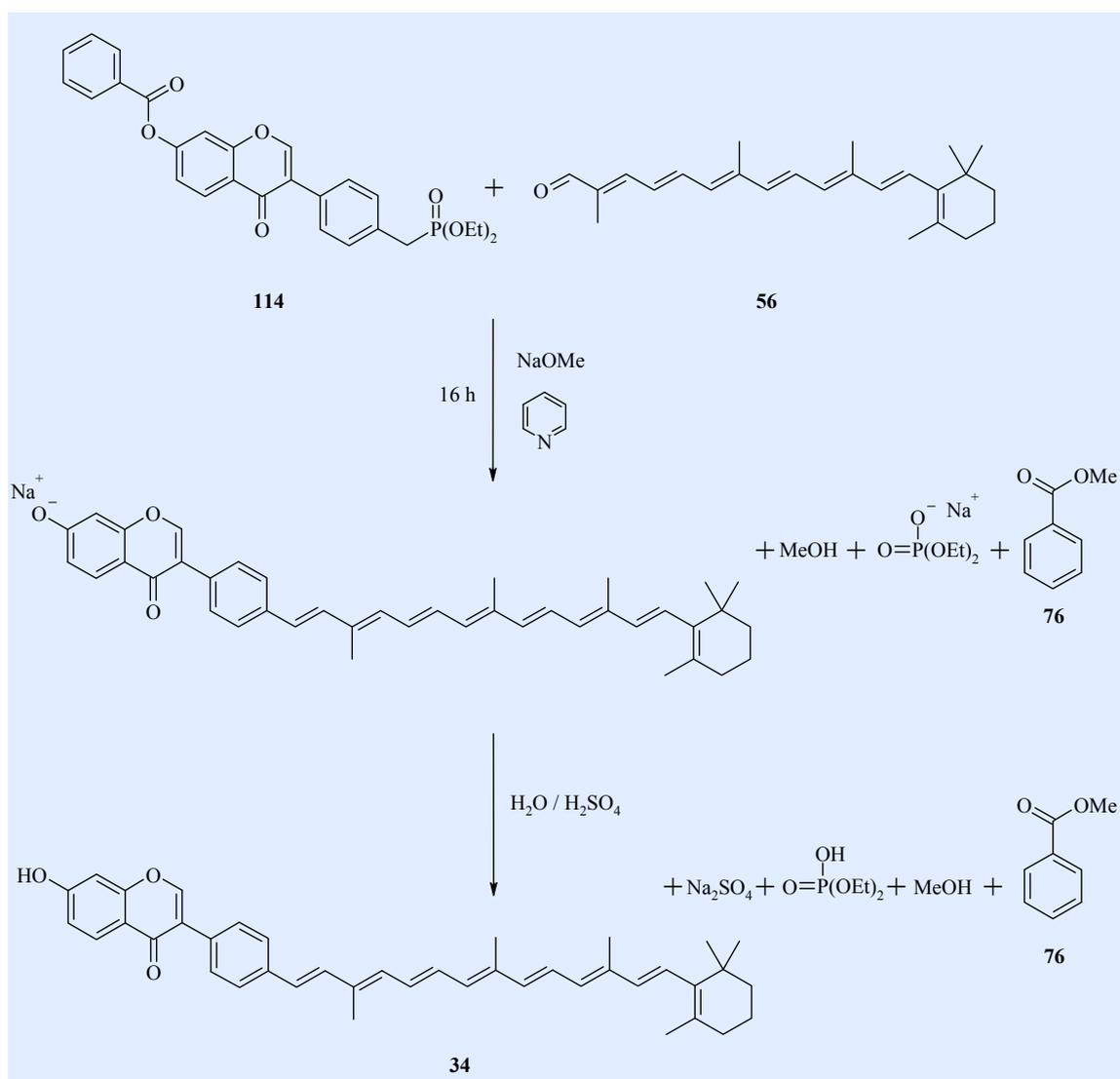
3.7.7 Synthese der hydroxylierten Carotenylisoflavone **34** und **117**

Die Darstellung der hydroxylierten Carotenylisoflavone **34** und **117** via Wittig-Horner-Emmons-Reaktion erfolgt präparationstechnisch analog der unter Punkt 3.5.4 beschriebenen Synthese des Carotenylflavons **60**.

3.7.7.1 Synthese des 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavons **34**

Äquimolare Mengen 7-Benzoylisoflavonphosphonat **114** und β -Apo-12'-Carotenal (C₂₅-Aldehyd) **56** werden in abs. Pyridin portionsweise mit frischem

Natriummethanolat versetzt. Im Gegensatz zur Synthese des Carotenylflavons **60**, genügt hier ein 5-molarer Überschuss an Natriummethanolat zur Deprotonierung des Phosphonats **114** und Verseifung des Benzoylestere. Nach 16 h ist die Reaktion abgeschlossen, was sich im Dünnschichtchromatogramm (stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5:1) durch Intensitätszunahme des orangefarbenen Substanzflecks mit dem R_f -Wert von 0.79 und Intensitätsabnahme bis hin zum Verschwinden des C_{25} -Aldehyd-Flecks ($R_f = 0.97$) bemerkbar macht. Anders als das 4'- β - C_{25} -Carotenyl-5-hydroxyflavon **60** zeigt das 4'- β - C_{25} -Carotenyl-7-hydroxyisoflavon **34** hier im Vergleich zum reinen C_{25} -Aldehyd **56** einen kleineren R_f -Wert, was aufgrund der phenolischen unverbrückten und damit polaritätssteigernden Hydroxy-Gruppe in 7-Position auch erwartet wird.



V31

Die Hydrolyse mit Eiswasser / konz. Schwefelsäure und die Aufarbeitung erfolgt in der unter Punkt 3.5.4 für das Carotenylflavon **60** beschriebenen Weise. Das Rohprodukt wird aus Dichlormethan ausgefällt, abgesaugt und mit *n*-Hexan gewaschen. Nach Aufreinigung mittels Kieselgel-Filtersäule (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5:1) erhält man 7-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]isoflavon **34** als orange-rotes Pulver in einer Ausbeute von 78 %.

3.7.7.2 Synthese des 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7,8-dihydroxyisoflavons **117**

Die beiden Edukte 7,8-Dibenzoylisoflavonphosphonat **116** und β -Apo-12'-Carotenal (C₂₅-Aldehyd) **56** werden wiederum in äquimolaren Mengen eingesetzt. Die Wittig-Horner-Emmons-Reaktion wird unter den schon beschriebenen Bedingungen (siehe 3.5.4 und 3.7.7.1) durchgeführt. Allerdings ist in diesem Fall laut dünnschichtchromatographischer Reaktionskontrolle (stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5:1) eine Reaktionszeit von 2 d bei 20-molarem Überschuß an Natriummethanolat erforderlich. Dieser relativ hohe Basenüberschuss bedingt jedoch auch eine erhöhte Zersetzungsgefahr des Produkts, was sich im Dünnschichtchromatogramm neben einem intensiven orange-gelben Produktfleck mit einem R_F-Wert von 0.50 durch weitere Substanzflecken bei sowohl kleineren als auch größeren R_F-Werten zeigt.

Nach Aufarbeitung in ebenfalls unter Punkt 3.5.4 beschriebener Weise, wird auch hier das Rohprodukt aus einem Dichlormethan / *n*-Hexan - Gemisch ausgefällt. Trotz mehrfacher säulenchromatographischer Aufreinigung (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5:1) lässt sich kein NMR-reines Produkt isolieren, es kann lediglich anhand des Massenspektrums die Masse des gewünschten 7,8-Dihydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]isoflavons **117** bestätigt werden. Darüberhinaus ist die Ausbeute so gering, dass eine weitere Aufreinigung und spektroskopische Untersuchung unter den gegebenen Bedingungen nicht möglich ist.

Carotinoide aufgestellte und von M. Schmidt^[90] modifizierte Methode. Diese basiert auf einem unter Luftsauerstoff sehr oxidationsempfindlichen Substrat wie es z. B. das Cumol **118** darstellt, wobei die Oxidation zum Cumolhydroperoxid **119** in Anwesenheit eines geeigneten Starters als Radikalkettenreaktion abläuft. Als Starter kommen z. B. Azoverbindungen, wie das im Zusammenhang mit der Wohl-Ziegler-Bromierung erwähnte AIBN **40** (Punkt 3.1) in Frage, die thermisch unter Abspaltung von Stickstoff in zwei Radikale zerfallen. Im Hinblick auf die Quantifizierung der Cumolhydroperoxidbildung sollte jedoch über den gesamten betrachteten Reaktionszeitraum eine konstante Radikalkonzentration zur Verfügung stehen, was durch einen den jeweiligen Reaktionsbedingungen angepassten langsam zerfallenden Starter erfüllt würde. Aus diesem Grund wird im folgenden 2,2'-Azobis-(2,4-dimethylvaleronitril) (AMVN) **120** als Radikalkettenstarter verwendet, dessen Rolle bei der Cumolhydroperoxidation folgendermaßen aussieht:

Zerfall des Starters AMVN **120** und Kettenstart:

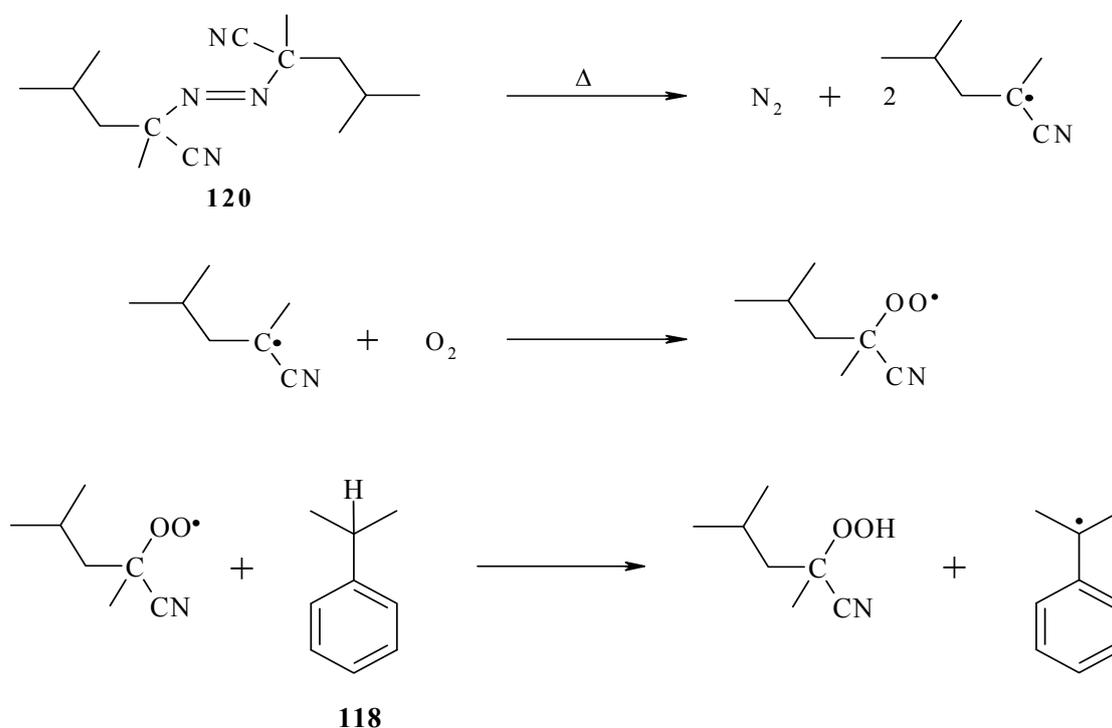


Abb. 39a: Durch AMVN **120** initiierte Peroxidation des Cumols **118**

Propagationsschritte:

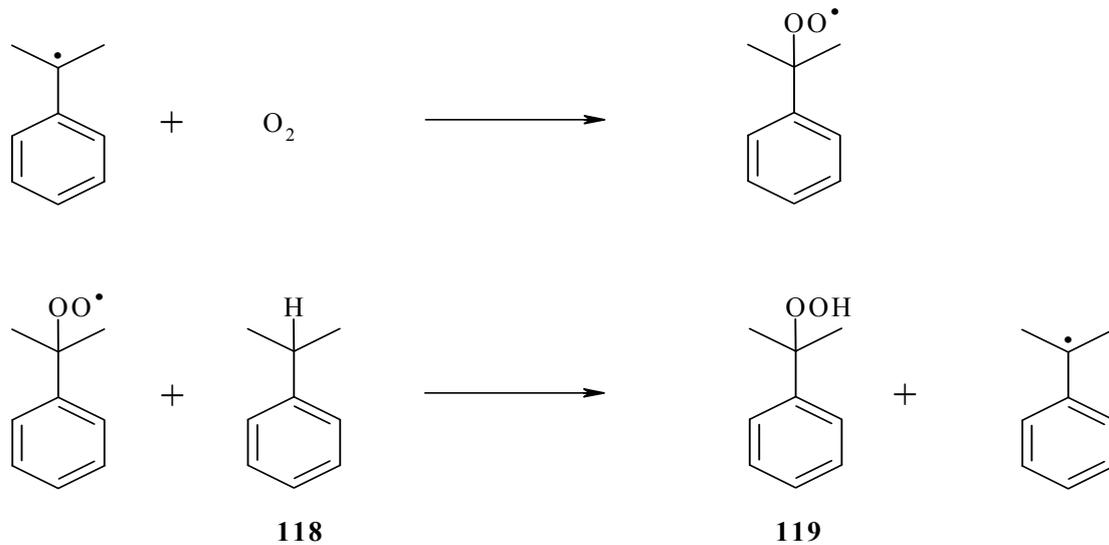


Abb. 39b: Propagationsschritte der Cumolperoxidation

Um quantitative Aussagen treffen zu können sollte die Cumolperoxidation über einen gewissen Zeitraum beobachtet und das entstandene Cumolhydroperoxid in geeigneter Weise detektiert werden. Dazu bedarf es zunächst einer definierten Versuchsanordnung was Reaktionsapparatur, Reaktionsansatz und Detektionsmethode anbelangt. Hierzu wird auf die eingangs erwähnte von M. Schmidt^[90] modifizierte Terao-Methode^[26] zurückgegriffen. Die von Schmidt^[90] entwickelte und auch im Weiteren verwendete Reaktionsapparatur erfüllt folgende Parameter:

- es handelt sich um ein zylindrisches Reaktionsgefäß, das zur Vermeidung von Photoreaktionen aus Braunglas gefertigt ist
- um eine konstante Sauerstoffmenge im Probenraum zu gewährleisten, fasst es ein Volumen von ca. 500 ml (Gefäßabmaße: \varnothing ca. 4 cm, Höhe ca. 40 cm)
- um ein Vermischen mit der Raumluft und ein Verdampfen des verwendeten Lösungsmittels zu vermeiden, wird in einem geschlossenen System gearbeitet, d. h. das Reaktionsgefäß besitzt Normschliffe, die je nach Bedarf durch Schliffstopfen oder Septen verschlossen werden können

- zur Annäherung des in vitro Versuchs an physiologische Bedingungen, wird das Reaktionsgefäß mittels wasserdurchflutetem Thermostatisiermantel auf 37 °C temperiert
- zur Gewährleistung einer guten Durchmischung der Probelösung auch an der Grenzfläche Lösung / Gas (Luft) während der gesamten Reaktionszeit, wird das Reaktionsgefäß auf einem Magnetrührer platziert, so dass die Probelösung mittels Rührfisch durchmischt werden kann

Auch die Zusammensetzung der Reaktionsmischung geht auf Untersuchungen von Terao^[26], Burton und Ingold^[23] sowie Schmidt^[90] zurück. So hat sich folgender Ansatz als praktikabel erwiesen:

- 5 ml reines Cumol
- 1 ml einer 0.45 M Lösung von AMVN in Chlorbenzol
- 4 ml Chlorbenzol (Lösungsmittel)

Im Reaktionsgefäß befinden sich also 10 ml Reaktionslösung folgender Konzentration:

- 3.6 mol /l Cumol
- 45 mmol /l AMVN

Zur messtechnischen Erfassung der Cumolhydroperoxidbildung hat sich ein chromatographisches Verfahren etabliert^[26,90], das die zu untersuchende Lösung mittels HPLC in ihre Bestandteile zerlegt und die Detektion der einzelnen Komponenten UV-spektroskopisch mit einem Dioden Array Detektor (DAD) vornimmt. Als Maß für die entstandene Cumolhydroperoxidmenge dient die Fläche des Cumolhydroperoxid-Peaks, der bei einer Wellenlänge von 254 nm und einer vom jeweiligen Messsystem abhängigen Retentionszeit detektiert werden kann. Von besonderem Interesse ist nun im Hinblick auf die zu untersuchenden antioxidativen Eigenschaften verschiedener Wirkstoffe die Menge des im Reaktionssystem vorliegenden Cumolhydroperoxids als Funktion der Zeit. Dazu können dem Reaktionsgefäß in definierten Zeitintervallen

mittels Mikroliterspritze Proben entnommen und zur Untersuchung in die HPLC-Anlage (s. 3.8.2, Tabelle 6: Messtechnische Daten) injiziert werden. Die Probennahme erfolgt über ein Septum, um keine grobe Beeinträchtigung des im Reaktionsgefäß bestehenden Gleichgewichts hervorzurufen. In der Regel wird die Reaktionsmischung über einen Zeitraum von mehreren Stunden untersucht und die Messung durch Auftragung der integrierten Cumolhydroperoxid-Peakfläche gegen die Zeit ausgewertet. Befindet sich nun in dem oben beschriebenen Reaktionssystem neben Cumol und Starter ein weiterer Wirkstoff, kann dieser die Cumolhydroperoxidation dahingehend beeinflussen, dass er sie beschleunigt (prooxidativer Effekt) oder verlangsamt bzw. unterdrückt (antioxidativer Effekt). Betrachtet man hierzu nochmals das in Abbildung 39 aufgeführte Reaktionsschema, wird die von Carotinoiden, Flavonoiden und Carotenylflavonoiden erwartete antioxidative Wirkung leicht verständlich. Als Radikalfänger vermögen sie zum Cumol in Konkurrenz zu treten, um an dessen Stelle unter Bildung stabilerer und damit reaktionsträgerer Radikale oxidiert zu werden. Für die chromatographische Untersuchung bedeutet dies, dass erst nach Verbrauch der Antioxidanz, also mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung, die Bildung des Cumolhydroperoxids in einem dem antioxidanzfreien Referenzsystem vergleichbaren Umfang einsetzt und detektiert werden kann. Diese Annahme impliziert gleichzeitig eine Konzentrationsabhängigkeit des antioxidativen Potentials eines Wirkstoffes, welcher im Folgenden durch Messung bei verschiedenen Antioxidanzkonzentrationen der Reaktionsmischung Rechnung getragen wird. Die eigentlich zu untersuchende Größe, nämlich das antioxidative Potential diverser Flavonoide und Carotenylflavonoide wird also letztlich durch die Hemmung der Cumolhydroperoxidproduktion im Vergleich zum reinen Cumol-Assay ausgedrückt. Idealerweise sollte der Konzentrationsbereich der Antioxidantien so breit gewählt werden, dass große Unterschiede (von nicht wirksam bis hoch wirksam) in ihrem Verhalten verzeichnet werden können, allerdings setzt hier die Löslichkeit der untersuchten Substanzen im verwendeten Lösungsmittel (Chlorbenzol) dem Konzentrationsintervall eine Obergrenze. Für den Einsatz von Chlorbenzol als Lösungsmittel sprechen folgende Eigenschaften:

- Oxidationsstabilität
- Lösen von sowohl polaren als auch unpolaren Substanzen

Die zu testenden Carotenylflavonoide bzw. Flavonoide lassen sich jedoch nur bis zu einer Maximalkonzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l vollständig in Chlorbenzol lösen, so dass zur Darstellung einer Konzentrationsreihe Antioxidanz-Stammlösungen der Konzentrationen $2.5 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l gewählt werden.

In der Reaktionsmischung werden dann die 4 ml reinen Chlorbenzols des antioxidanzfreien Ansatzes durch 4 ml einer der Antioxidanz-Stammlösungen ersetzt. Die Zusammensetzung der jeweiligen antioxidanzhaltigen Reaktionsmischung sieht dann folgendermaßen aus:

- 5 ml Cumol
- 1 ml einer 0.45 M Lösung von AMVN in Chlorbenzol
- 4 ml einer $2.5 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l oder $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l Antioxidanz-Stammlösung

was zu folgenden molaren Verhältnissen im Reaktionsgefäß führt:

- 3.6 mol/l Cumol
- 45 mmol/l AMVN
- $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l bzw. $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l Antioxidanz

3.8.2 Durchführung der Messungen

Messtechnische Daten:

HPLC-Apparatur	Agilent Series 1100
Probenschleife	20 μ l
Säule	\varnothing : 6.0 mm, Länge: 150mm YMC Silicagel Körnchengröße 5 μ m
Detektor	Dioden Array Detektor (DAD) UV/VIS 200-620 nm
Meßwellenlänge	254 nm
Laufmittel	Hexan/Isopropanol 99:1
Flußrate	2 ml/min

Tabelle 6: Messtechnische Daten der HPLC-Untersuchungen

Erster Schritt ist die Vermessung der reinen Cumol-Starter-Mischung in Chlorbenzol ohne Antioxidanzzusatz, was als Kalibrier- und Referenzmessung für die Untersuchung der Antioxidantien dient. Um systematische Fehler von vornherein ausschließen bzw. möglichst klein halten zu können, wird jede Messung als Doppelmessung ausgeführt. D.h. es werden jeweils zwei identische, auf 37 °C temperierte Reaktionsgefäße der oben beschriebenen Art parallel mit der Reaktionsmischung befüllt, so dass die Reaktion nahezu zeitgleich startet. Im Laufe der Reaktion werden abwechselnd aus beiden Gefäßen mittels 50 μ l-Spritze Proben entnommen und chromatographisch (HPLC) untersucht. Das Signal des Cumolhydroperoxids kann zu den gegebenen Parametern (s. Tabelle 6) bei einer Retentionszeit von ca. 4.3 Minuten registriert werden. Nach jeder Messung bzw. vor jeder erneuten Messung müssen Detektor und Säule jedoch so weit

regeneriert werden, dass eine einwandfreie Basislinie angezeigt wird, wozu etwa 5 Minuten Laufzeit nach Registrierung des Cumolhydroperoxid-Signals erforderlich sind, was einer Gesamtlaufzeit von mindestens 10 Minuten pro Chromatogramm entspricht. So hat sich in der Regel ein 10 – 15 Minuten Takt für die alternierende Probenahme aus den beiden Reaktionsgefäßen als günstig erwiesen. Für jedes einzelne Reaktionsgefäß bedeutet dies ein Messintervall von 20 – 30 Minuten, oder anders ausgedrückt besitzt jede der beiden entstehenden Messkurven Datenpunkt im 20 – 30 Minutenabstand. Nach der letzten Messung werden die Reaktionsgefäße entleert, mit Aceton gespült und im Trockenschrank bei 90 °C über Nacht getrocknet. Im Anschluss an die Kalibriermessung wird die Untersuchung der antioxidanshaltigen Reaktionsmischungen in analoger Weise durchgeführt und zunächst ein rein qualitativer Vergleich der einzelnen Messkurven vorgenommen. In Abschnitt 3.8.5 erfolgt dann eine quantitative Betrachtung der Messergebnisse.

3.8.3 Kalibriermessung

In jedem der beiden Reaktionsgefäße befinden sich 10 ml der chlorbenzolischen Reaktionsmischung mit einer Startkonzentration von 3.6 mol/l Cumol und 45 mmol/l AMVN. Die Probenahme erfolgt im 10 Minuten Takt abwechselnd aus beiden Gefäßen. Der Cumolhydroperoxidpeak kann bei einer Retentionszeit von ~ 4.4 min (Messwellenlänge 254 nm) aufgenommen werden. Die integrierte Peakfläche als Maß für die entstandene Cumolhydroperoxidmenge, wird gegen die Zeit aufgetragen, wobei sich im Falle des antioxidansfreien Systems ein linearer Zusammenhang abzeichnet (Abb. 40). Dieser lineare Zusammenhang zwischen Cumolhydroperoxidmenge und Zeit beschreibt im Grunde nichts anderes als die Reaktionsgeschwindigkeit der Cumolhydroperoxidation, die unter den gegebenen Bedingungen somit konstant ist und aus der Steigung der jeweiligen Regressionsgeraden (Messung 1: $y = ((9.27 \pm 0.04) \text{ mAU*s/min}) * x$ und Messung 2: $y = ((9.12 \pm 0.05) \text{ mAU*s/min}) * x$ hervorgeht (mAu*s/min = milli arbitrary units mal Sekunde pro Minute, wobei die Einheit mAu*s aus der HPLC-Auswertung hervorgeht und die Einheit min von der eigentlichen Untersuchung stammt).

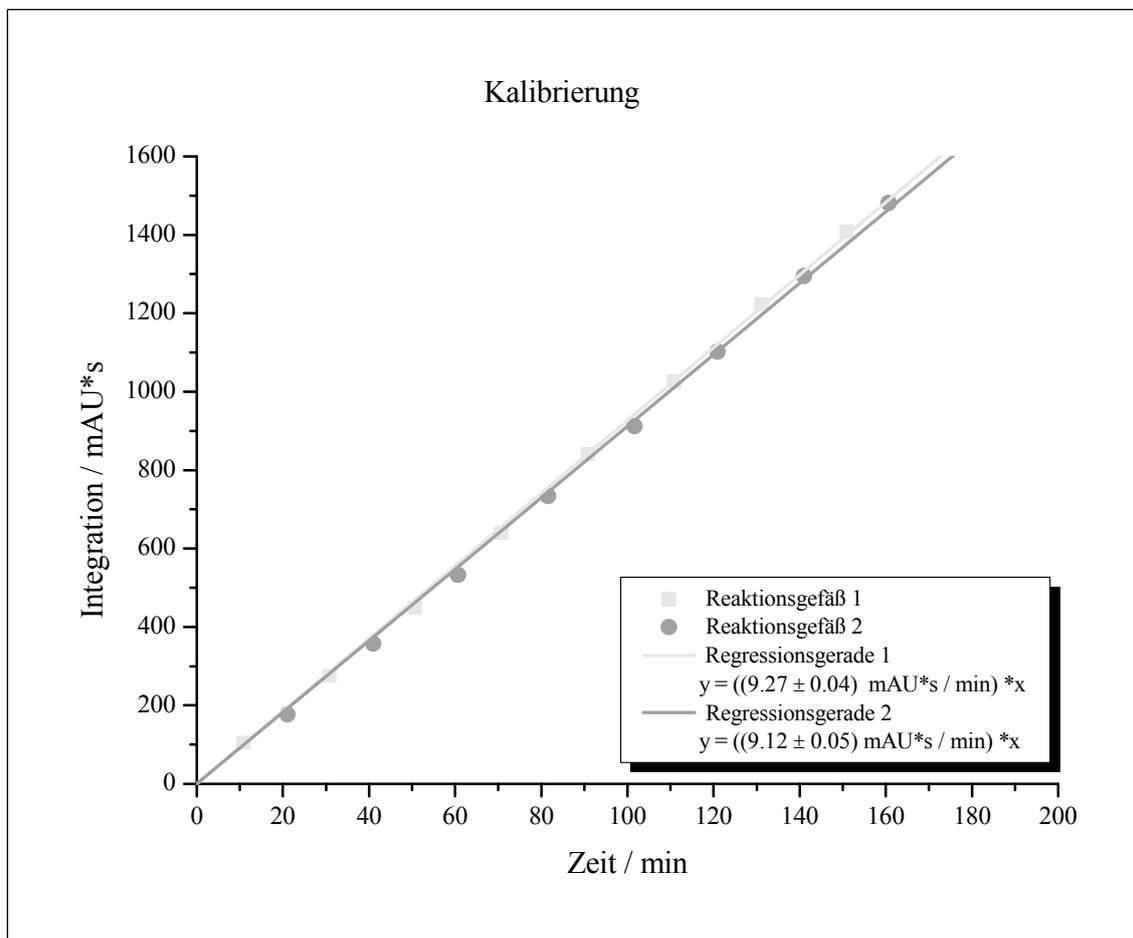


Abb. 40: Kalibriermessung der antioxidansfreien Cumol-AMVN-Mischung in Chlorbenzol (3.6 mol/l Cumol; 45 mmol/l AMVN)

Für die Vermessung der wirkstoffhaltigen Reaktionsmischungen wird im Falle eines antioxidativen Wirkstoffes eine zeitliche Verzögerung der Cumolhydroperoxidbildung erwartet, was sich in der graphischen Darstellung, wie bereits in Arbeiten von R. Scherrers^[98] und P. Noack^[69] vorgestellt, durch ein Abweichen vom linearen Verlauf der Kalibriermessung zeigt. Prinzipiell sind dabei zwei Arten der Inhibition, die partielle und die vollständige Inhibition zu unterscheiden. Partielle Inhibition zeigt in der graphischen Darstellung einen flacheren Messkurvenverlauf (kleinere Steigung) als die Referenzgerade. Vollständige Inhibition (100 %) zeigt eine Messkurve mit der Steigung 0 (Geschwindigkeit der Cumolhydroperoxidbildung = 0). Nach Verbrauch des

Antioxidans nimmt die Steigung der Messkurve wieder zu, bis die Steilheit der Referenzgeraden erreicht wird. Auch für diesen Übergang sind zwei Fälle zu unterscheiden, ein scharfer Knick in der Messkurve oder eine lange Krümmung. Bewirkt das Antioxidans selbst in geringen Mengen noch vollständige Inhibition und liegen darüber hinaus keine partiell inhibierenden Zersetzungsprodukte vor, so erfolgt ein abrupter Wechsel zwischen Inhibition und Cumolperoxidation. Im Messdiagramm macht sich dieses Verhalten durch einen scharfen Knick in der Messkurve bemerkbar. In diesem idealen Fall beschreibt der Zeitpunkt des Knickes (Punkt größter Krümmung) in der Kurve die Inhibitionszeit als Maß für das antioxidative Potential (und die Güte) des jeweiligen Wirkstoffs. Abbildung 41 zeigt ein Beispiel für den Kurvenverlauf bei partieller und bei vollständiger Inhibition (ideale Inhibitionskurve) im Vergleich zum wirkstofffreien System.

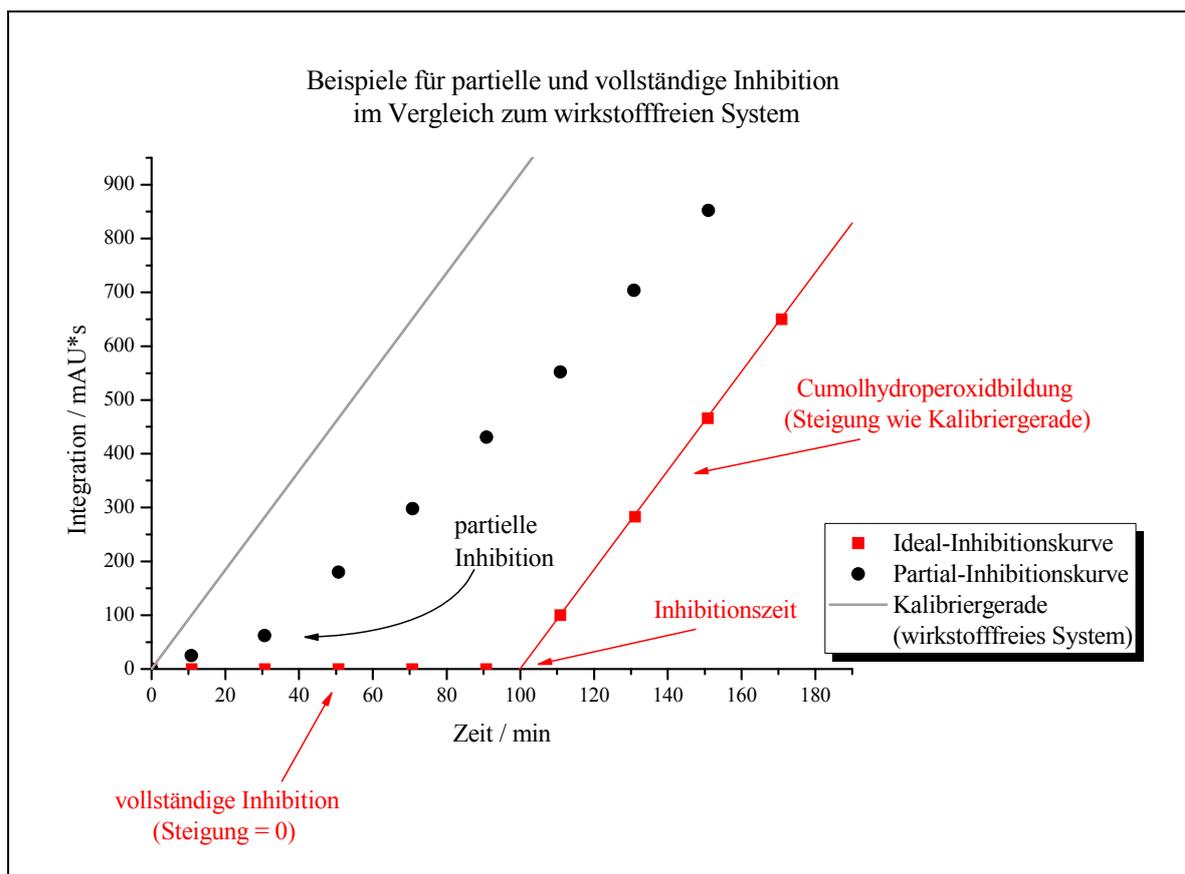


Abb.41: Beispiel einer Ideal- und einer Partial-Inhibitionskurve im Vergleich zum wirkstofffreien System (Kalibriergerade)

Das Konzept der Radikalketten brechenden Antioxidantien, sowie der Inhibitionsphase und Inhibitionszeit geht dabei auf Arbeiten von G. W. Burton et al zurück.^[116]

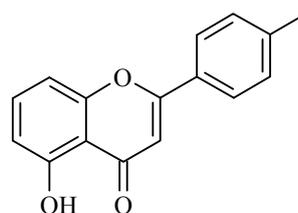
Mit Erreichen des linearen Anstiegs der Kalibriergeraden schreitet die Cumolhydroperoxidation mit der Geschwindigkeit des wirkstofffreien Systems fort. Anders im Fall partiell inhibierender Substanzen und Zersetzungsprodukte. Hierbei zeigt die Messkurve eine lange Krümmung und erreicht unter Umständen im betrachteten Zeitraum nicht mehr die Steigung der Referenzgeraden. Es handelt sich dann um ein komplexes System, das ein komplexes Verhalten zeigt.

Mündet die Inhibitionskurve (nach Beschreibung vollständiger oder partieller Inhibition) in eine geringfügig flachere Gerade als die Kalibriergerade, ist dies im Bereich der Genauigkeit oben beschriebener Interpretationsmethode (Inhibitionszeitmethode) zu tolerieren.^[69,98] Bei erheblichem Abweichen des Messkurvenverlaufs vom Idealfall wäre besagte Auswertmethode^[69,98] jedoch nochmals zu überdenken, worauf im quantitativen Teil 3.8.5 näher eingegangen wird.

3.8.4 Vermessung der wirkstoffhaltigen Systeme

Als Wirkstoffe werden neben den als vielversprechende Antioxidanzien entwickelten Carotenylflavonoiden auch die reinen hydroxylierten Flavonoide und β -Carotin untersucht, die aufgrund ihrer Struktur auch schon einen antioxidativen Effekt ausüben sollten (vgl. Kapitel 2). Um eine mögliche Konzentrationsabhängigkeit im oxidationshemmenden Verhalten zu berücksichtigen, wird von jedem Wirkstoff eine Konzentrationsreihe aufgenommen.

3.8.4.1 Wirkstoff: 5-Hydroxy-4'-methylflavon 77



Das antioxidative Potential des 5-Hydroxy-4'-methylflavons 77 wird bei drei verschiedenen Konzentrationen getestet. Neben 3.6 mol/l Cumol und 45 mmol/l AMVN

enthält die Reaktionsmischung somit $1 \cdot 10^{-4}$, $2 \cdot 10^{-4}$ oder $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l von Verbindung 77. Zwecks Doppelmessung befinden sich in jedem der beiden Reaktionsgefäße wieder 10 ml der jeweiligen Reaktionsmischung und die Probenahme erfolgt alternierend im Rhythmus von 10 Minuten.

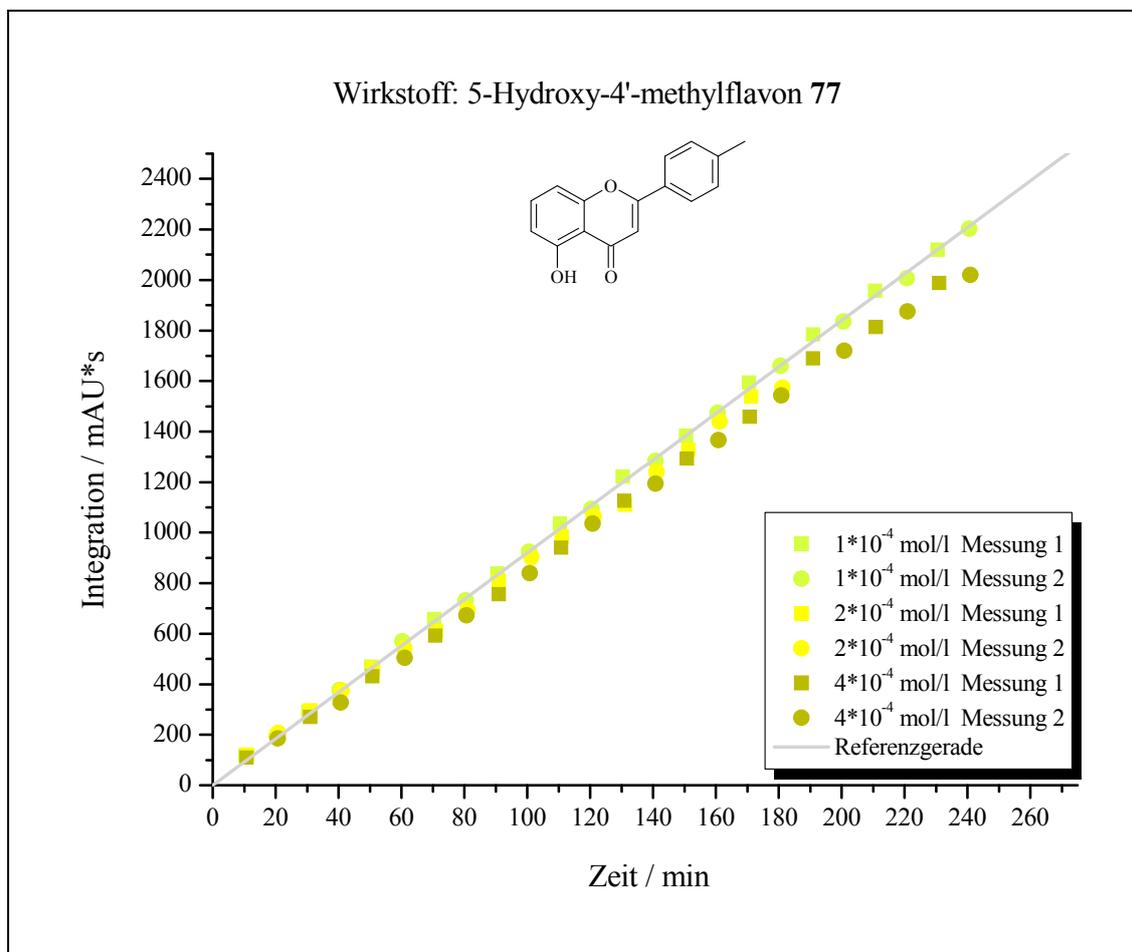
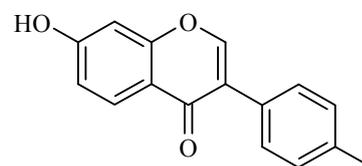


Abb. 42: Vermessung des 5-Hydroxy-4'-methylflavon 77 - haltigen Cumol-AMVN-Systems (Konzentrationsreihe)

Alle Messkurven zeigen einen ähnlichen Verlauf wie die Referenzgerade, ein Inhibitionszeitraum ist anhand keiner der Kurven zu erkennen. Lediglich die bei höchster Wirkstoffkonzentration aufgenommene Messkurve, weist eine etwas flachere Steigung als die Kalibriergerade auf, was bedeuten würde, dass die Cumolhydroperoxidation bei den hier vermessenen Antioxidanskonzentrationen zwar nicht vollständig unterdrückt, aber mit zunehmender Antioxidanskonzentration leicht

gedämmt wird. Diese Ergebnisse stehen mit den bisherigen Beobachtungen bezüglich des 5-Hydroxy-4'-methylflavons **77** (vgl. Punkt 3.6) bzw. der besonderen Position von 5-Hydroxy- und 4-Keto-Gruppe (vgl. Abb. 22) insofern im Einklang, dass auch hier die intramolekulare H-Verbrückung zwischen den besagten funktionellen Gruppen die H-Abstraktion derart erschwert, dass die Hydroxy-Gruppe nicht als Radikalfänger fungieren kann, was das mangelnde antioxidative Verhalten von Verbindung **77** begründen würde.

3.8.4.2 Wirkstoff: 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100**



Vom 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** lässt sich aufgrund seiner schlechten Löslichkeit in Chlorbenzol nur eine maximale Stammlösungskonzentration von $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l erreichen, was dazu führt, dass von der ursprünglich angestrebten Konzentrationsreihe nur die kleinste und mittlere Wirkstoffkonzentration, nämlich $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l in der Reaktionsmischung eingestellt und untersucht werden kann. Weiterhin ist zu beachten, dass das 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** bei der Messwellenlänge von 254 nm selbst eine Schulter seines Absorptionsmaximums besitzt und im Chromatogramm bei einer Retentionszeit von 22-25 Minuten detektiert wird. Für die Untersuchung im Cumol-Assay unter den gegebenen Bedingungen und einem Messintervall von 10 Minuten bedeutet dies, dass die jeweils übernächste Messung durch den Eigenpeak des 7-Hydroxy-4'-methylflavons **100** gestört wird, indem er den Cumolhydroperoxidpeak bei etwa 4 Minuten überlagert und somit eine überhöhte Cumolhydroperoxidmenge vortäuscht. Allerdings konnte dieses Phänomen nur bei der $1 \cdot 10^{-4}$ -molaren Antioxidanskonzentration im Reaktionsgemisch beobachtet werden, so dass für diesen Fall ein Messintervall von 13 Minuten gewählt wird. Der Eigenpeak des 7-Hydroxy-4'-methylflavons erscheint dann entweder nach 10 Minuten der jeweils nächsten Messung (was einer Retentionszeit von 23 Minuten entspricht), oder zu Beginn der jeweils übernächsten Messung (entsprechend einer Retentionszeit von ca. 24 Minuten), fällt jedoch bei keiner Messung mehr mit dem

Cumolhydroperoxidpeak zusammen. Die Untersuchung der Reaktionsmischung mit $2 \cdot 10^{-4}$ -molarer Antioxidanzkonzentration kann hingegen im 10 Minutentakt durchgeführt werden, da hier der Eigenpeak von Verbindung **100** zu Beginn jeder übernächsten Messung, also nach ca. 21 Minuten detektiert wird und somit zu keiner Überlagerung des Cumolhydroperoxidpeaks führt.

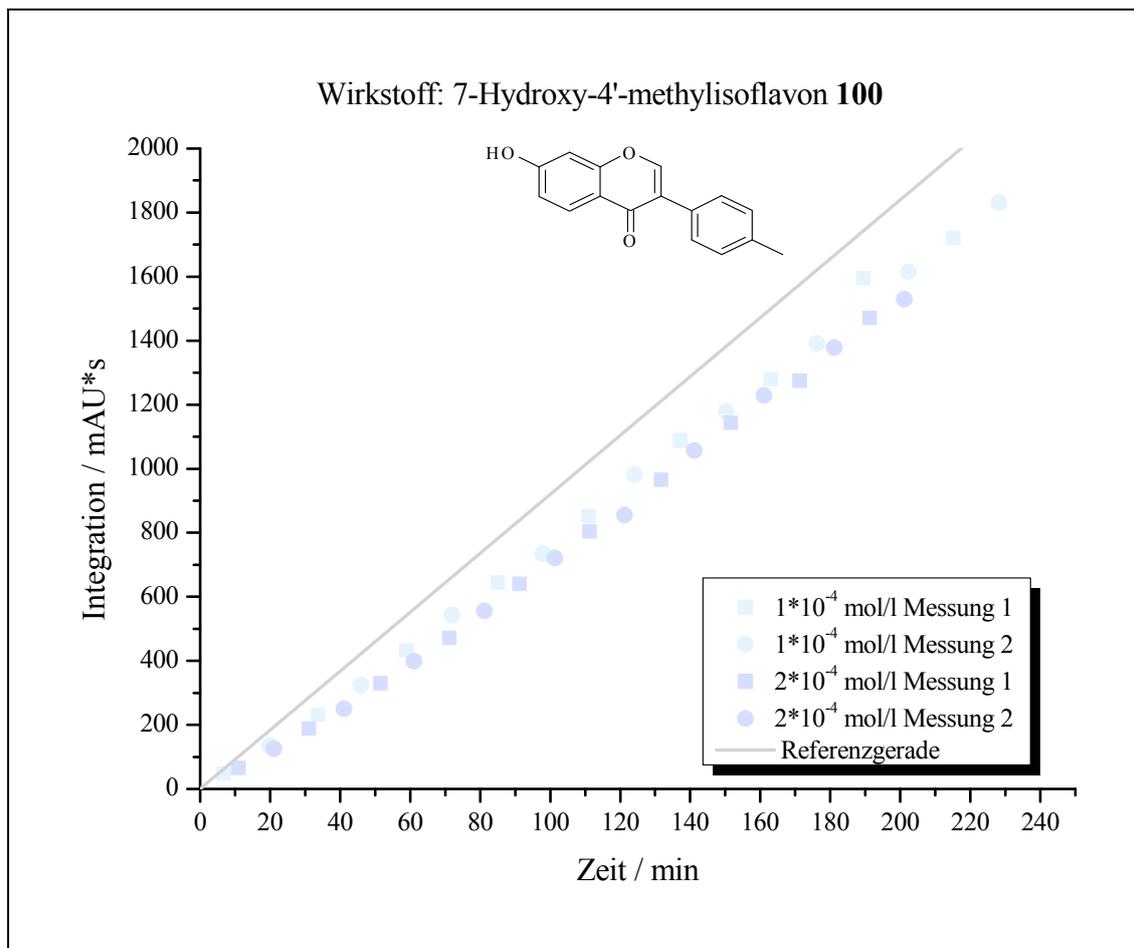
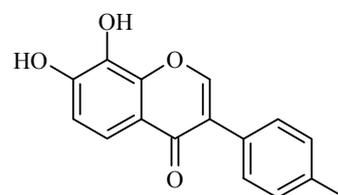


Abb. 43: Vermessung des 7-Hydroxy-4'-methylisoflavin **100**-haltigen Cumol-AMVN-Systems bei den Antioxidanzkonzentrationen $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l

Wie in Abb. 43 erkennbar, zeigen alle Messkurven im Vergleich zu Verbindung **77** (Abb. 42) ein deutliches Abweichen vom linearen Verlauf der Kalibriergeraden. Es tritt zwar auch in diesem Fall nicht die erwartete vollständige Unterdrückung der Cumolhydroperoxidbildung (Kurvenverlauf entlang oder parallel der x-Achse, Steigung = 0) auf, dennoch steigen alle Messkurven bis etwa 40 Minuten merklich flacher als die

Referenzgerade an, um dann wieder in einen steileren linearen Verlauf überzugehen, wobei jedoch nicht mehr die Steilheit der Kalibriergeraden erreicht wird. Demzufolge hätte das 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** sehr wohl eine hemmende Wirkung auf die Cumolhydroperoxidation, was auch aufgrund der 7-Hydroxy-Gruppe zu erwarten wäre, da diese im Gegensatz zur 5-Hydroxy-Gruppe nicht verbrückt vorliegt und somit dem Angriff von Radikalen frei zugänglich ist. Wenn auch keine vollständige Inhibition eintritt, so doch zumindest eine Verminderung der Reaktionsgeschwindigkeit mit einer Konzentrationsabhängigkeit in Richtung zunehmender Wirkstoffkonzentration.

3.8.4.3 Wirkstoff: 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon **107**



Auch 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon **107** zeigt eine Eigenabsorption bei der verwendeten Detektionswellenlänge (254 nm), allerdings liegt seine Retentionszeit unter den gegebenen Messbedingungen bei 17 Minuten, so dass ein Messintervall von 10 Minuten bedenkenlos ohne störende Peaküberlagerung beibehalten werden kann. Von Verbindung **107** lassen sich aufgrund seiner besseren Chlorbenzollöslichkeit gegenüber Verbindung **100** wieder alle drei der gewünschten Konzentrationen untersuchen. Die Messkurven (Abb. 44) verlaufen ähnlich den in Abb. 43 für das 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** beschriebenen Kurven, wobei sich hier ebenfalls ein Zusammenhang zwischen zunehmender Wirkstoffkonzentration und zunehmender Minderung der Cumolhydroperoxidbildung abzeichnet. Inwieweit sich dieser Zusammenhang und darüber hinaus der Beitrag einer zweiten Hydroxy-Gruppe quantifizieren lässt wird in Kapitel 3.8.5 näher erörtert. Jedenfalls weicht der Kurvenverlauf mit zunehmender Antioxidanskonzentration (Abb. 44) immer weiter vom linearen Verlauf der Kalibriergeraden ab und nähert sich der unter 3.8.3 als Idealfall beschriebenen Kurvenform für antioxidanshaltige Systeme.

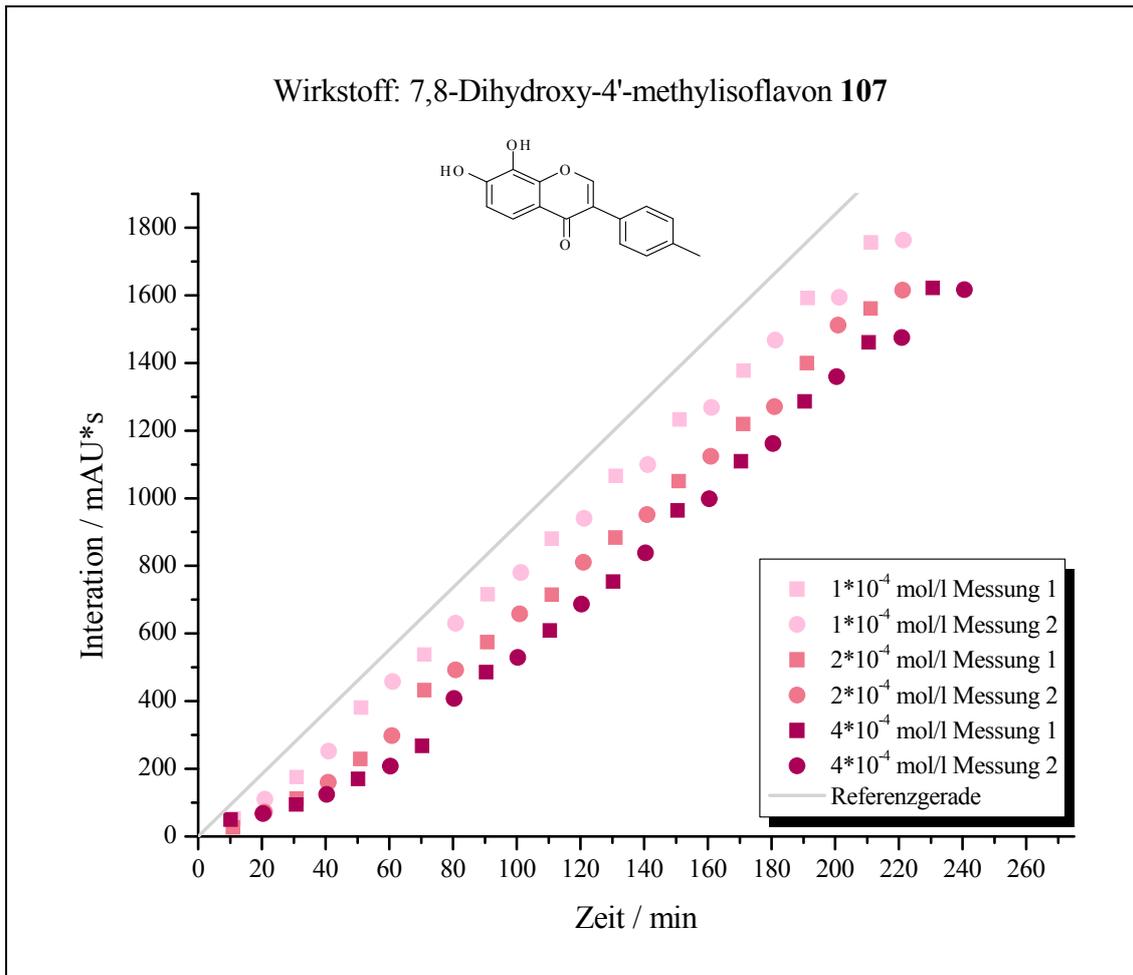
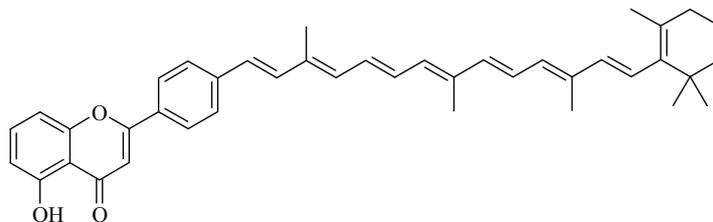


Abb. 44: Vermessung des 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon **107** - haltigen Cumol-AMVN-Systems (Konzentrationsreihe)

3.8.4.4 Wirkstoff: 4'- β -C₂₅-Carotenyl-5-hydroxyflavon **60**

5-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]flavon **60**



Verbindung **60** kann in allen drei gewünschten Endkonzentrationen vermessen werden,

allerdings ist zum Ansetzen der höchstkonzentrierten Stammlösung ($1 \cdot 10^{-3}$ mol/l) in Chlorbenzol ein etwa 30-minütiges Behandeln im Ultraschallbad erforderlich. Die Probenahme und chromatographische Untersuchung erfolgt wieder alternierend aus zwei Reaktionsgefäßen im 10-Minuten-Takt.

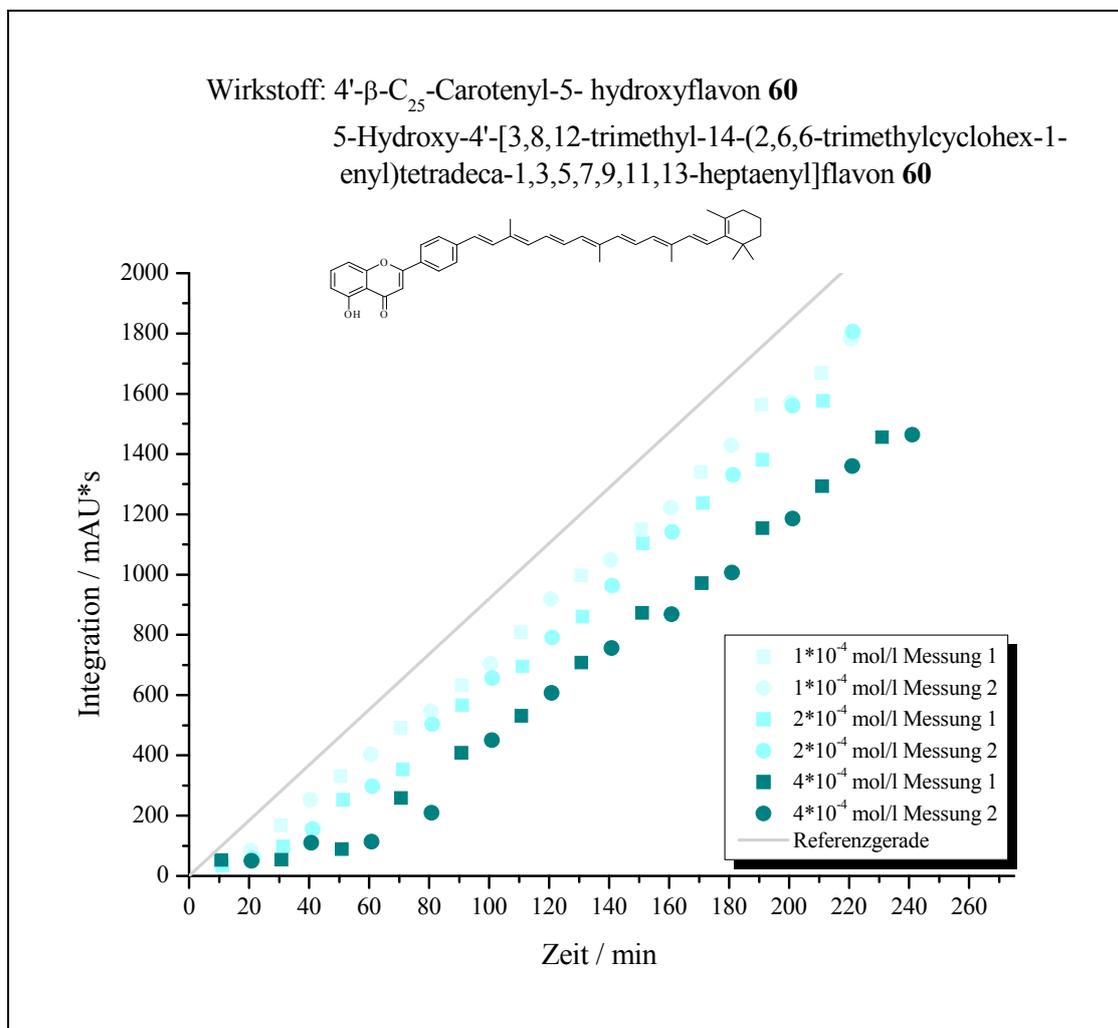


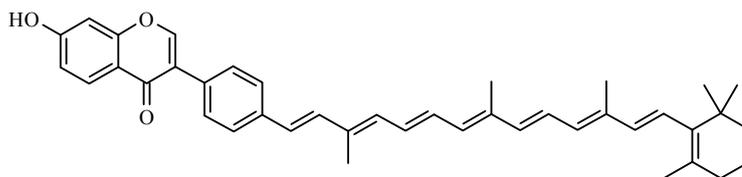
Abb. 45: Vermessung des 4'- β -C₂₅-Carotenylnyl-5-hydroxyflavon **60** (5-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]flavon **60**)- haltigen Cumol-AMVN-Systems (Konzentrationsreihe)

Im Gegensatz zur Untersuchung des reinen Flavonteils dieser Verbindung (Abb. 42, 5-Hydroxy-4'-methylflavon **77**), deutet die in Abb. 45 gezeigte Messkurvenform des

Carotenylflavon **60**-haltigen Reaktionssystems mit zunehmender Wirkstoffkonzentration auf eine merkliche Hemmung der Cumolhydroperoxidation hin. Dieser Befund lässt darauf schließen, dass hier die Wirkung des Carotinoidteils deutlich zum Tragen kommt. Das Abflachen im Vergleich zur Referenzgeraden im linearen Bereich der Kurven kann möglicherweise auf ebenfalls antioxidativ wirksame Abbauprodukte von Verbindung **60** zurückgeführt werden.

3.8.4.5 Wirkstoff: 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavon **34**

7-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]isoflavon **34**



Bei der Vermessung dieser Verbindung ist wiederum das Problem der Überlagerung des Cumolhydroperoxidpeaks mit einem Eigenpeak des Wirkstoffes zu berücksichtigen. Der Isoflavon-Teilchromophor des Carotenylflvonoids **34** absorbiert bei der Detektionswellenlänge (254 nm), und mit einer Retentionszeit von 13-14 Minuten würde der entsprechende Peak bei einem 10-minütigen Messintervall die jeweils folgende Messung durch Zusammenfall mit dem Cumolhydroperoxidpeak stören. Deshalb wird hier zur Untersuchung aller drei Wirkstoffkonzentrationen ($1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l) ein Messintervall von 15 Minuten gewählt. Der Eigenpeak des Carotenylflvonoids **34** erscheint dann gegen Ende der jeweiligen Messung und eine Kollision mit dem Cumolhydroperoxidpeak kann auf diese Weise ausgeschlossen werden. Im Gegensatz zum reinen Isoflavon **100** lässt sich von Verbindung **34** auch die höchstkonzentrierte Stammlösung ($1 \cdot 10^{-3}$ mol/l) in Chlorbenzol herstellen, allerdings ist ähnlich dem Carotenylflvonoid **60** ein 45-60 minütiges Behandeln im Ultraschallbad erforderlich.

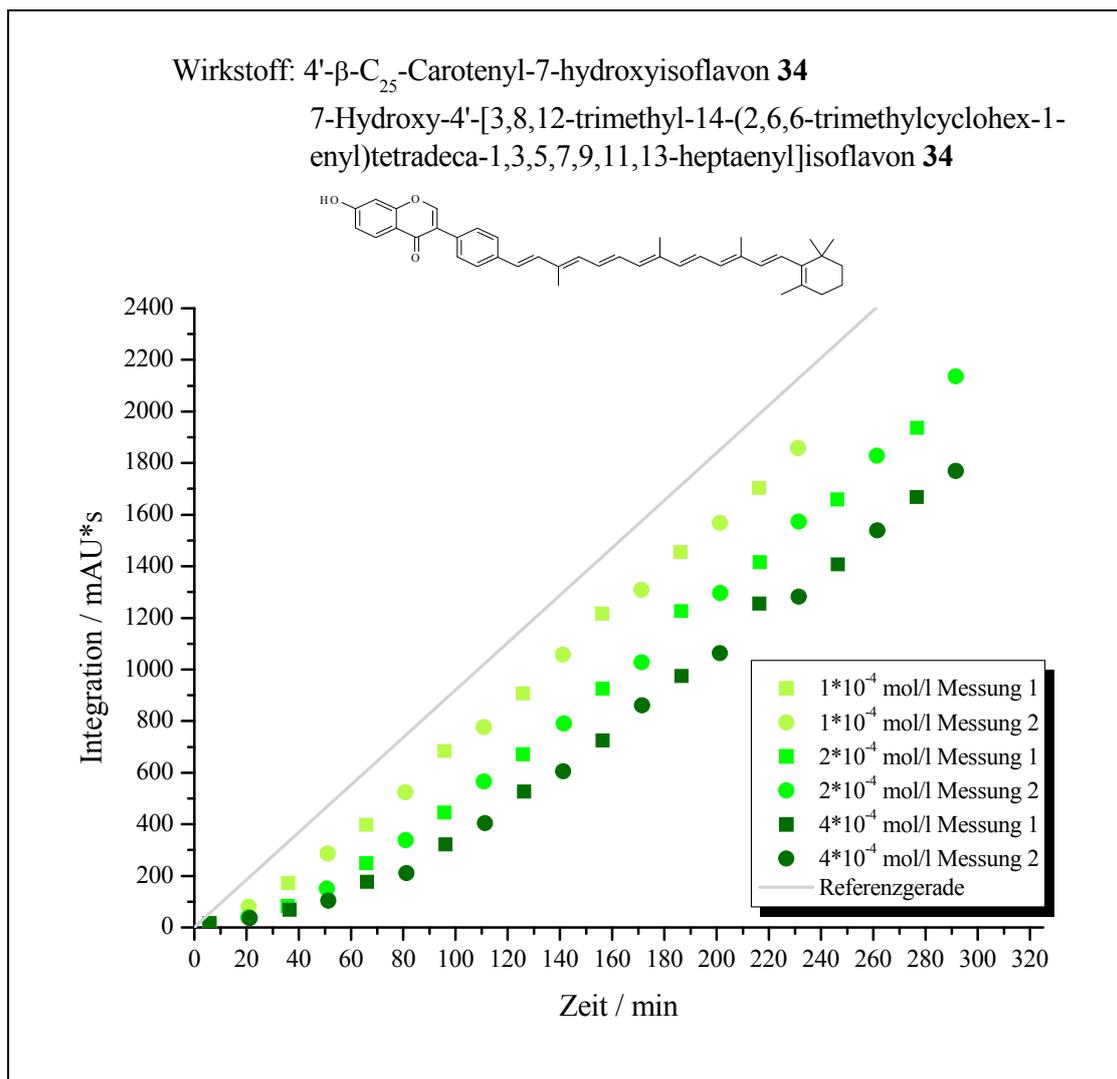


Abb. 46: Vermessung des 4'- β -C₂₅-Caroteny-7-hydroxyisoflavon **34** (7-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]isoflavon **34**) - haltigen Cumol-AMVN-Systems (Konzentrationsreihe)

Qualitativ betrachtet tendieren obige Messkurven (Abb. 46) stärker in Richtung des als ideal beschriebenen Antioxidanskurvenverlaufs als die für den reinen Isoflavon-Teilchromophor **100** aufgenommenen Kurven (Abb. 43). Dies impliziert eine erhebliche Mitwirkung des Carotinoidteils des Bichromophors **34** an der Hemmung der Cumolhydroperoxidation, was zuvor schon für Verbindung **60** in Betracht gezogen wurde. Nähere Aussagen über die Größe der Abweichung vom Ergebnis der

antioxidansfreien Messung bzw. über die Güte des Antioxidans können jedoch nur anhand quantitativer Betrachtungen (Kapitel 3.8.5) getroffen werden.

3.8.4.6 Wirkstoff: β -Carotin 7

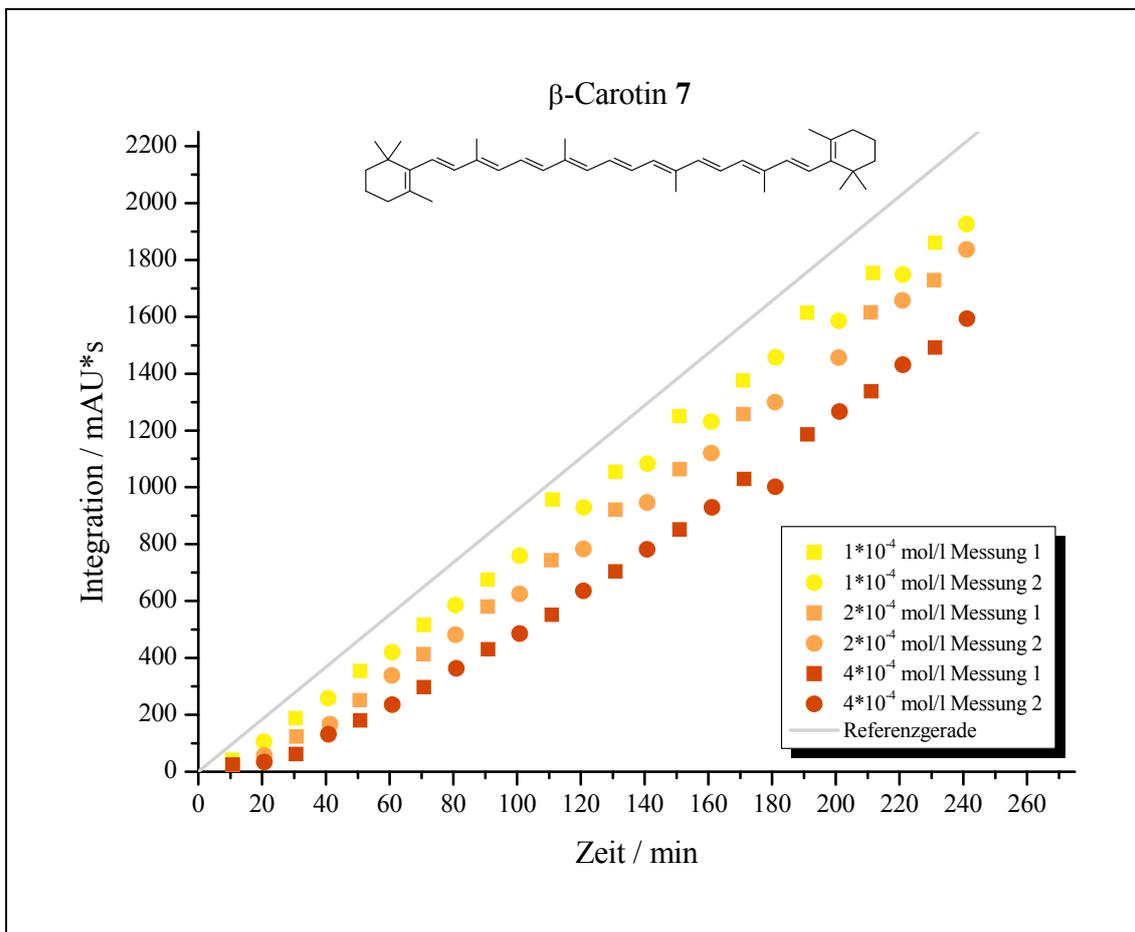
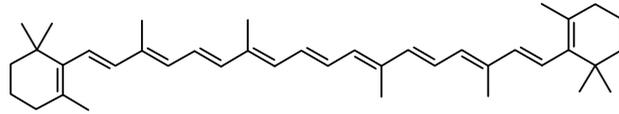


Abb. 47: Vermessung des β -Carotin 7 - haltigen Cumol-AMVN-Systems (Konzentrationsreihe)

Um eine Vergleichsmöglichkeit der Untersuchungsergebnisse aller zuvor beschriebenen Verbindungen mit einem literaturbekanntem Antioxidans zu erhalten, wird β -Carotin 7 (von der BASF AG zur Verfügung gestellt) nach gleicher Methode im Cumol-Assay

untersucht. Allerdings handelt es sich dabei um eine Substanz, die nur das antioxidative Verhalten eines Polyens repräsentieren kann, da Hydroxy-Gruppen und Flavonoidgerüst hier nicht vorhanden sind. Eventuell lässt aber gerade diese Tatsache Rückschlüsse auf den Einfluss des phenolischen Flavonoid-Teilchromophors im jeweiligen Carotenylflavonoid zu, worauf in Kapitel 3.8.5 genauer eingegangen wird.

Die Messkurven (Abb.46) des β -Carotin-haltigen Cumol-AMVN-Systems haben eine starke Ähnlichkeit mit denen der Carotenylflavonoid-haltigen Systeme (Abbildungen 44 und 45). Auch hier zeigt sich eine Parallelität zwischen zunehmender Wirkstoffkonzentration und zunehmender Cumolhydroperoxidationshemmung. Alle Kurven steigen zunächst langsamer als die Referenzgerade an und erreichen nach einiger Zeit ihre maximale Steigung, die jedoch immer noch flacher als die Referenzgeradensteigung erscheint. Das Abflachen des Kurvenzugs wächst dabei mit zunehmender Antioxidanskonzentration.

3.8.4.7 Vergleich der Wirkstoffe

Keine der hier eingesetzten Verbindungen zeigt unter den gegebenen Versuchsbedingungen eine prooxidative Wirkung, was einer Beschleunigung der Cumolhydroperoxidation im Vergleich zum wirkstofffreien Referenzsystem gleichkäme und durch ein rascheres Ansteigen der Messwerte, also einen steileren Kurvenverlauf gegenüber der Kalibriergeraden im Diagramm wiedergegeben würde. Somit gilt es im Folgenden das antioxidative Potential der verschiedenen Wirkstoffe quantitativ zu erfassen und sowohl zum antioxidansfreien System als auch untereinander in Relation zu setzen. Die quantitative Betrachtung wird für alle drei vermessenen Wirkstoffkonzentrationen ($1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l) durchgeführt, um gleich die erwartete Konzentrationsabhängigkeit mit zu erfassen. Ein Vergleich der einzelnen Wirkstoffe bezüglich ihres antioxidativen Potentials wird jedoch nur bei einer Wirkstoffkonzentration vorgenommen. Sicherlich wäre ein Vergleich am sinnvollsten an der höchsten vermessenen Antioxidanskonzentration durchzuführen, da sich aufgrund der schon beschriebenen Konzentrationsabhängigkeit des antioxidativen Potentials hier der größte Effekt zeigt. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass

Verbindung **100** (7-Hydroxy-4'-methylisoflavon) als Folge ihrer schlechten Chlorbenzollöslichkeit gar nicht in dieser Konzentration vermessen werden konnte. Um aber alle Verbindungen gleichermaßen in die Betrachtungen einzubeziehen und dennoch einen relativ deutlichen Effekt verzeichnen zu können, wird die mittlere vermessene Wirkstoffkonzentration ($2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) der einzelnen Cumol-Systeme als Grundlage für die Relation der verschiedenen Substanzen gewählt.

3.8.5 Quantitative Betrachtung des antioxidativen Potentials der untersuchten

Wirkstoffe

Wie schon die qualitativen Betrachtungen obiger Diagramme (Abb. 42-46) aussagen, zeigen die Messkurven nicht den von Scherrers^[98] und Noack^[69] als ideal beschriebenen Antioxidanskurvenverlauf (siehe auch Erläuterung in Kapitel 3.8.3), dennoch wird hier zunächst die Inhibitionszeitmethode^[69,98] zur quantitativen Auswertung der Diagramme angewendet. Eine alternative Interpretationsmöglichkeit stellt die 300-Minuten-Methode nach Schmidt^[90] dar, wobei der bei einer Reaktionszeit von 300 Minuten erhaltene Messwert für die entstandene Cumolhydroperoxidmenge des antioxidansfreien Cumol-AMVN-Systems auf 1 normiert wird und die 300-Minuten-Messwerte der wirkstoffhaltigen Systeme relativ dazu betrachtet werden. Allerdings würde bei dieser Methode die Kurvenform (Knick, Krümmung) nicht berücksichtigt, die im Falle obiger Diagramme (Abb. 42-46) gerade den Unterschied zwischen anfangs starker und später schwächer werdender Unterdrückung der Cumolhydroperoxidation verdeutlicht und von Substanz zu Substanz variiert. Hier wird auch noch einmal deutlich, dass für die Beurteilung des antioxidativen Potentials drei Größen von Bedeutung sind: die Inhibition in %, die Inhibitionszeit und der Übergang zu partieller Aktivität bzw. die Wirksamkeit von Abbauprodukten. Aus diesem Grund wird hier von der 300-Minuten-Methode Abstand genommen. Als Alternative, die auch der Kurvenform Rechnung tragen sollte, bietet es sich an, die Fläche unterhalb der jeweiligen Messkurve als quantitatives Maß für das antioxidative Potential des entsprechenden Wirkstoffs heranzuziehen. Allerdings ist zu beachten, dass dabei keine Aussage über das antioxidative Potential des jeweiligen Wirkstoffes alleine, wie etwa nach der Inhibitionszeitmethode, möglich ist, sondern stets eine Aussage über die

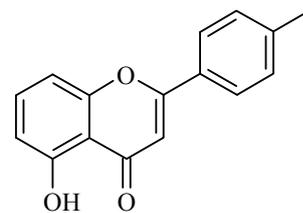
Wirkung des gesamten Systems (also antioxidatives Potential des Antioxidans plus Stabilität des Antioxidans plus Wirksamkeit möglicher Abbauprodukte) getroffen wird.

3.8.5.1 Inhibitionszeit-Methode nach Scherrers^[98]

Grundlage dieser Methode ist der weiter oben als ideal beschriebene Inhibitionskurvenverlauf (siehe Kapitel 3.8.3). Die Inhibitionszeit ist definitionsgemäß der Zeitpunkt zu dem der nahezu parallel zur x-Achse verlaufende Kurvenzweig in den linearen Anstieg der Kalibriergeraden übergeht und zu dessen Ermittlung zunächst mittels linearer Regression der entsprechenden Messdaten eine Geradengleichung für den ansteigenden Kurvenast aufgestellt wird. Schnittpunkt eben dieser Geraden mit der x-Achse ($y = a \cdot x + b = 0$) liefert die Inhibitionszeit t_i :

$$\begin{aligned} a \cdot x + b &= 0 \\ \leftrightarrow a \cdot x &= -b \\ \leftrightarrow x &= -b / a = t_i \end{aligned}$$

3.8.5.1.1 Wirkstoff: 5-Hydroxy-4'-methylflavon 77



Schon die qualitative Betrachtung der Messdaten (Kapitel 3.8.4.1) ließ für keine der untersuchten Konzentrationen eine Inhibitionsphase erkennen. Die Messpunkte steigen ab Beginn der Messung je Konzentration stetig linear an.

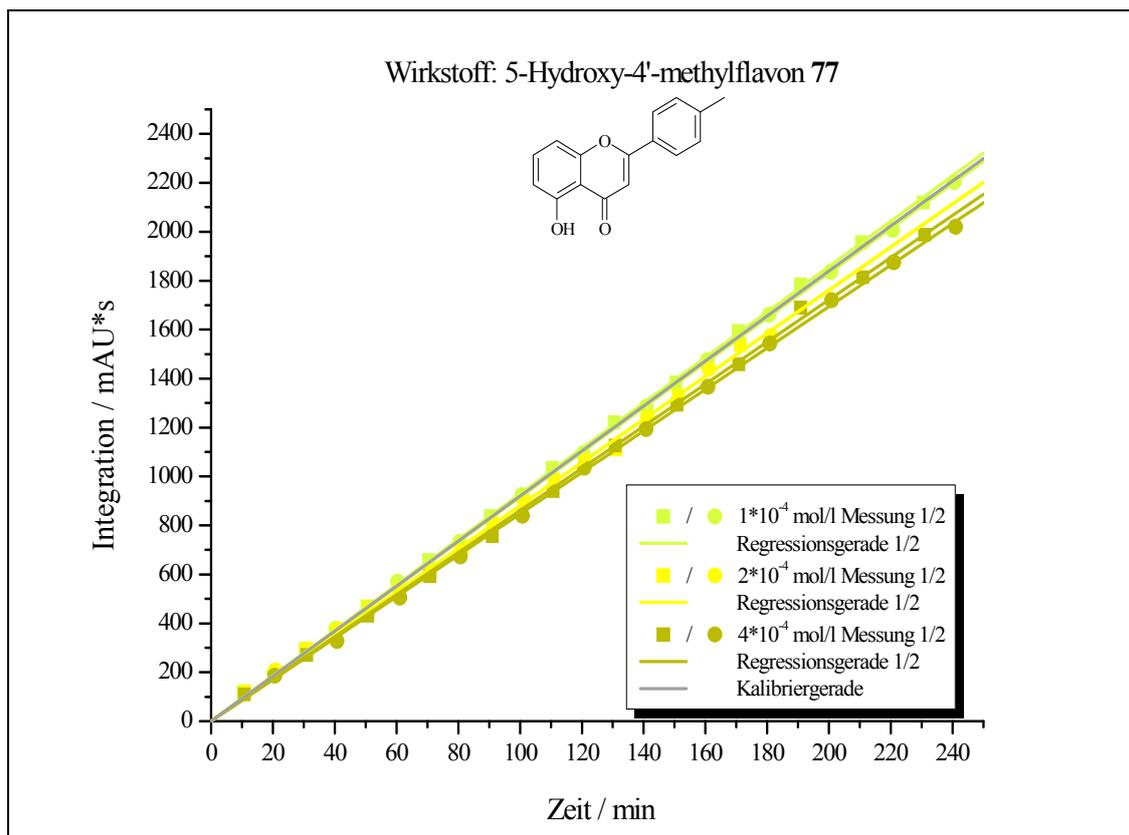


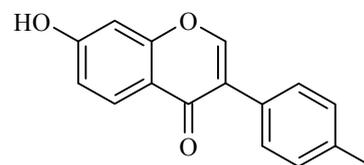
Abb. 48: Ermittlung der Inhibitionszeiten nach Scherrers^[98] für die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l der Verbindung **77** im Cumol-Assay

Wirkstoff-Konzentration	Regressionsgerade	Inhibitionszeit	Mittlere Inhibitionszeit
$1 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((9.29 \pm 0.03) \text{ mAU*s/min}) * x$ $y_2 = ((9.15 \pm 0.02) \text{ mAU*s/min}) * x$	$t_{i1} = 0 \text{ min}$ $t_{i2} = 0 \text{ min}$	$t_i = 0 \text{ min}$
$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.81 \pm 0.08) \text{ mAU*s/min}) * x$ $y_2 = ((8.80 \pm 0.05) \text{ mAU*s/min}) * x$	$t_{i1} = 0 \text{ min}$ $t_{i2} = 0 \text{ min}$	$t_i = 0 \text{ min}$
$4 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.61 \pm 0.04) \text{ mAU*s/min}) * x$ $y_2 = ((8.47 \pm 0.03) \text{ mAU*s/min}) * x$	$t_{i1} = 0 \text{ min}$ $t_{i2} = 0 \text{ min}$	$t_i = 0 \text{ min}$
Referenz	$y = ((9.20 \pm 0.05) \text{ mAU*s/min}) * x$		

Tabelle 7: Antioxidatives Potential der Verbindung **77** in Form von Inhibitionszeiten t_i

Wie aus Tabelle 7 ersichtlich, lässt sich für Verbindung **77** gemäß der Scherrers-Methode in keiner der vermessenen Konzentrationen eine Inhibitionszeit bezüglich der Cumolhydroperoxidation angeben. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der bereits mehrfach diskutierten antioxidativen Inaktivität der 5-Hydroxy-Gruppe (vgl. Abb. 22 und Kapitel 3.8.4.1). Anhand der in Tabelle 7 aufgeführten Regressionsgeradengleichungen ist lediglich ein leichtes Abflachen der Messkurven mit zunehmender Wirkstoffkonzentration zu erkennen. Demnach würde lediglich die Geschwindigkeit der Cumolhydroperoxidation etwas eingedämmt.

3.8.5.1.2 Wirkstoff: 7-Hydroxy-4'-methylisoflavin **100**



Anhand der aufgenommenen Messpunkte ist der für ein Antioxidans erwartete Kurvenverlauf der vollständigen Inhibition (Steigung = 0) nicht erkennbar. Es zeigt sich nur anfangs ein von der Kalibriergeraden abweichender etwas flacherer Verlauf (partielle Inhibition), der je nach Wirkstoffkonzentration bei etwa 30 – 40 Minuten in den steileren linearen Kurvenast mündet. Natürlich ist zu bedenken, dass die vollständige Inhibition durchaus zu Beginn der Messung etwa im Bereich von 5 – 15 Minuten, wo das Antioxidans noch in vollem unverbrauchtem Ausmaß vorliegt auftreten kann (zumal nur mit relativ kleinen Antioxidanskonzentrationen gearbeitet wird). Zur deutlichen Erfassung dieses Bereichs wäre aber eine zeitlich dichtere Aufnahme von Messwerten erforderlich, als es unter den gegebenen Messbedingungen (siehe Messintervall 10 – 15 Minuten) möglich ist. Demnach würde hier nur der Übergangsbereich (partielle Inhibition) infolge der bereits verbrauchten Hauptmenge an Antioxidans und der lineare Anstieg der Cumolperoxidation wiedergegeben. Somit wird zunächst ungeachtet der im Messkurvenverlauf nicht ersichtlichen x-Achsen-Parallelität der jeweils lineare Kurvenast mit Hilfe der Scherrers-Methode^[98] zur Ermittlung der Inhibitionszeit herangezogen (Abb. 49 und Tabelle 8).

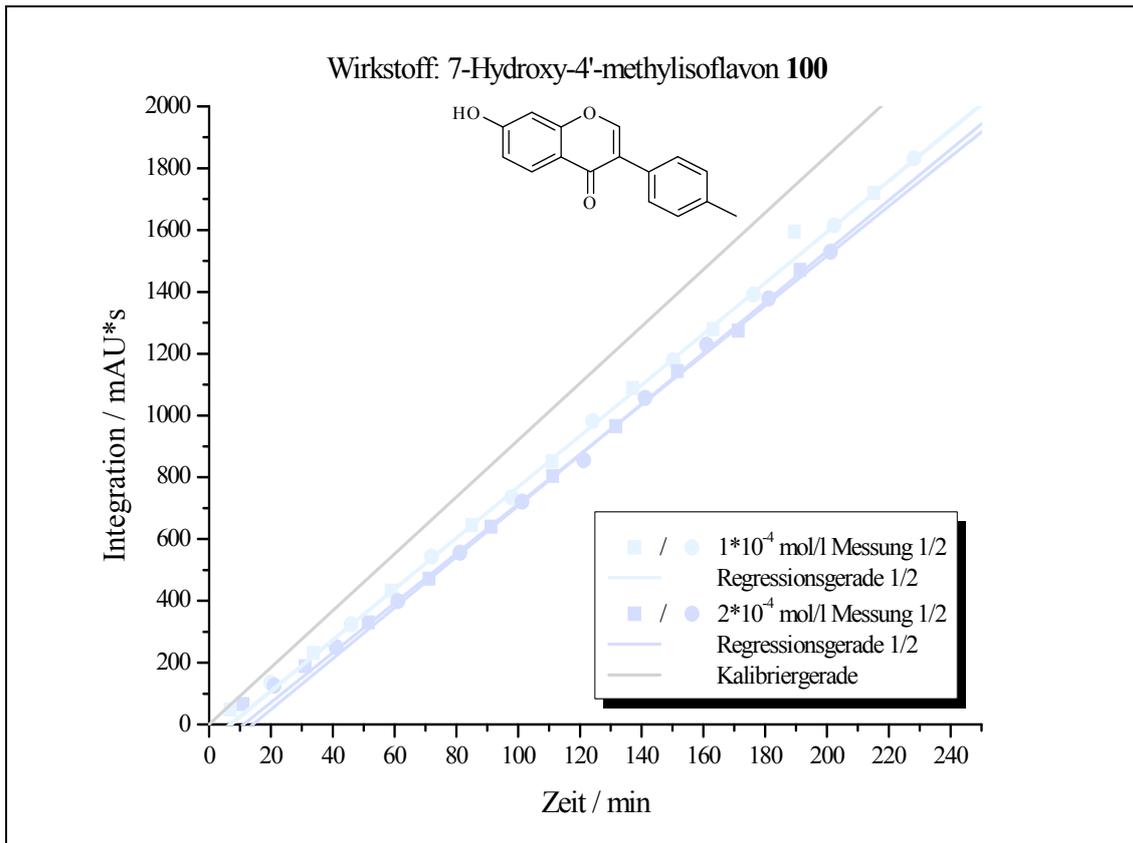


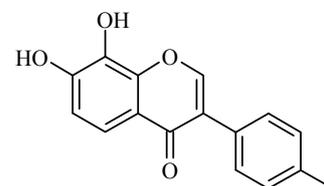
Abb. 49: Ermittlung der Inhibitionszeiten nach Scherrers^[98] für die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l der Verbindung **100** im Cumol-Assay

Da in diesem Fall nur zwei Wirkstoffkonzentrationen untersucht wurden, ist es schwierig eine eindeutige Aussage über die Konzentrationsabhängigkeit des antioxidativen Potentials von Verbindung **100** zu treffen. Die in Tabelle 8 aufgezeigten Konzentrationen zeigen jedenfalls einen linearen Zusammenhang zwischen Antioxidanskonzentration und Inhibitionszeit.

Wirkstoff-Konzentration	Regressionsgerade	Inhibitionszeit	Mittlere Inhibitionszeit
$1 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.24 \pm 0.07) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (54.70 \pm 9.91) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.28 \pm 0.08) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (60.12 \pm 12.51) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 7 \text{ min}$ $t_{i2} = 7 \text{ min}$	$t_i = 7 \text{ min}$
$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.03 \pm 0.17) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (89.65 \pm 23.02) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.24 \pm 0.15) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (116.90 \pm 22.48) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 11 \text{ min}$ $t_{i2} = 14 \text{ min}$	$t_i = 13 \text{ min}$
Referenz	$y = ((9.20 \pm 0.05) \text{ mAU*s/min}) * x$		

Tabelle 8: Antioxidatives Potential der Verbindung **100** in Form von Inhibitionszeiten t_i

3.8.5.1.3 Wirkstoff: 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon **107**



Wie erwartet zeigt Verbindung **107** mit einer durchschnittlichen Inhibitionszeit von 9 Minuten bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l und 21 Minuten bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l längere Inhibitionszeiten als das 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** (Tabelle 8), was sicherlich auf die zweite vorhandene Hydroxy-Gruppe zurückzuführen ist. Allerdings scheint die Position der Hydroxy-Gruppen einen Einfluss auf die antioxidative Aktivität der Verbindung zu haben, da sich die Verdopplung der Hydroxy-Gruppen-Anzahl nicht in dem Maße bemerkbar macht, wie eine Verdopplung der Wirkstoffkonzentration.

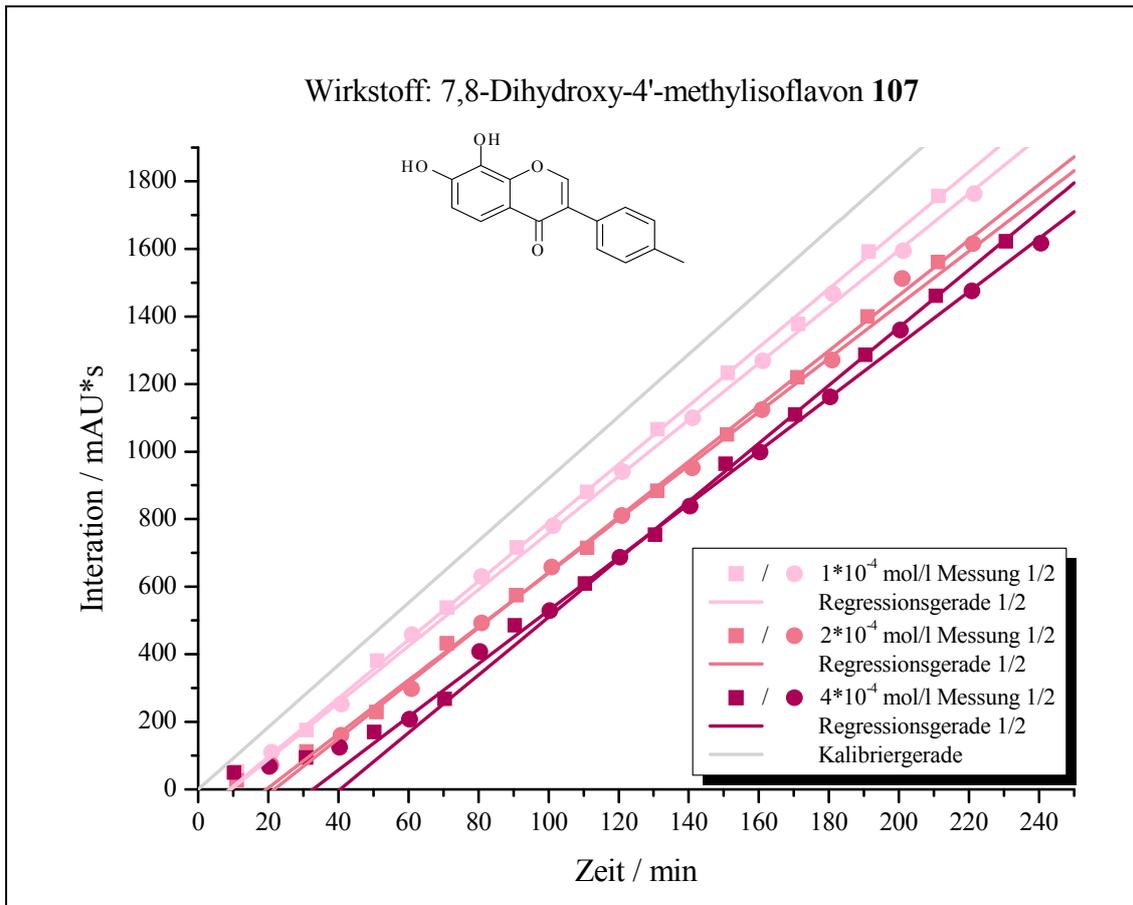


Abb. 50: Ermittlung der Inhibitionszeiten nach Scherrers^[98] für die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l der Verbindung **107** im Cumol-Assay

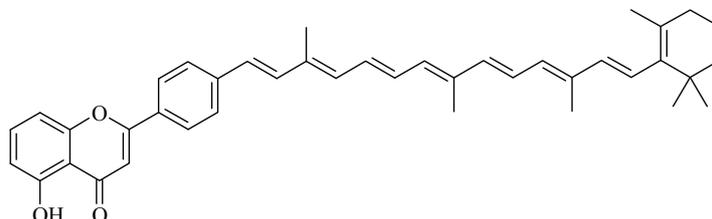
Was die Konzentrationsabhängigkeit des antioxidativen Potentials von Verbindung **107** angeht, zeichnet sich anhand der Daten in Tabelle 9 schon ein linearer Zusammenhang ab, worauf aber später noch genauer eingegangen wird.

Wirkstoff-Konzentration	Regressionsgerade	Inhibitionszeit	Mittlere Inhibitionszeit
$1 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.66 \pm 0.08) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (76.92 \pm 10.06) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.37 \pm 0.10) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (78.69 \pm 15.58) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 9 \text{ min}$ $t_{i2} = 9 \text{ min}$	$t_i = 9 \text{ min}$
$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.20 \pm 0.10) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (178.08 \pm 14.14) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((7.94 \pm 0.13) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (153.54 \pm 20.54) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 22 \text{ min}$ $t_{i2} = 19 \text{ min}$	$t_i = 21 \text{ min}$
$4 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.57 \pm 0.17) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (346.82 \pm 31.06) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((7.87 \pm 0.27) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (257.43 \pm 53.10) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 40 \text{ min}$ $t_{i2} = 33 \text{ min}$	$t_i = 37 \text{ min}$
Referenz	$y = ((9.20 \pm 0.05) \text{ mAU*s/min}) * x$		

Tabelle 9: Antioxidatives Potential der Verbindung **107** in Form von Inhibitionszeiten t_i

3.8.5.1.4 Wirkstoff: 4'- β -C₂₅-Carotenyl-5- hydroxyflavon **60**

5-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]flavon **60**



Im Vergleich zum Flavonoid-Subchromophor **77** alleine, weist das Carotenylflavon **60** ein deutlich antioxidatives Verhalten auf, was dann sicherlich dem Carotenyl-Subchromophor zuzuschreiben ist.

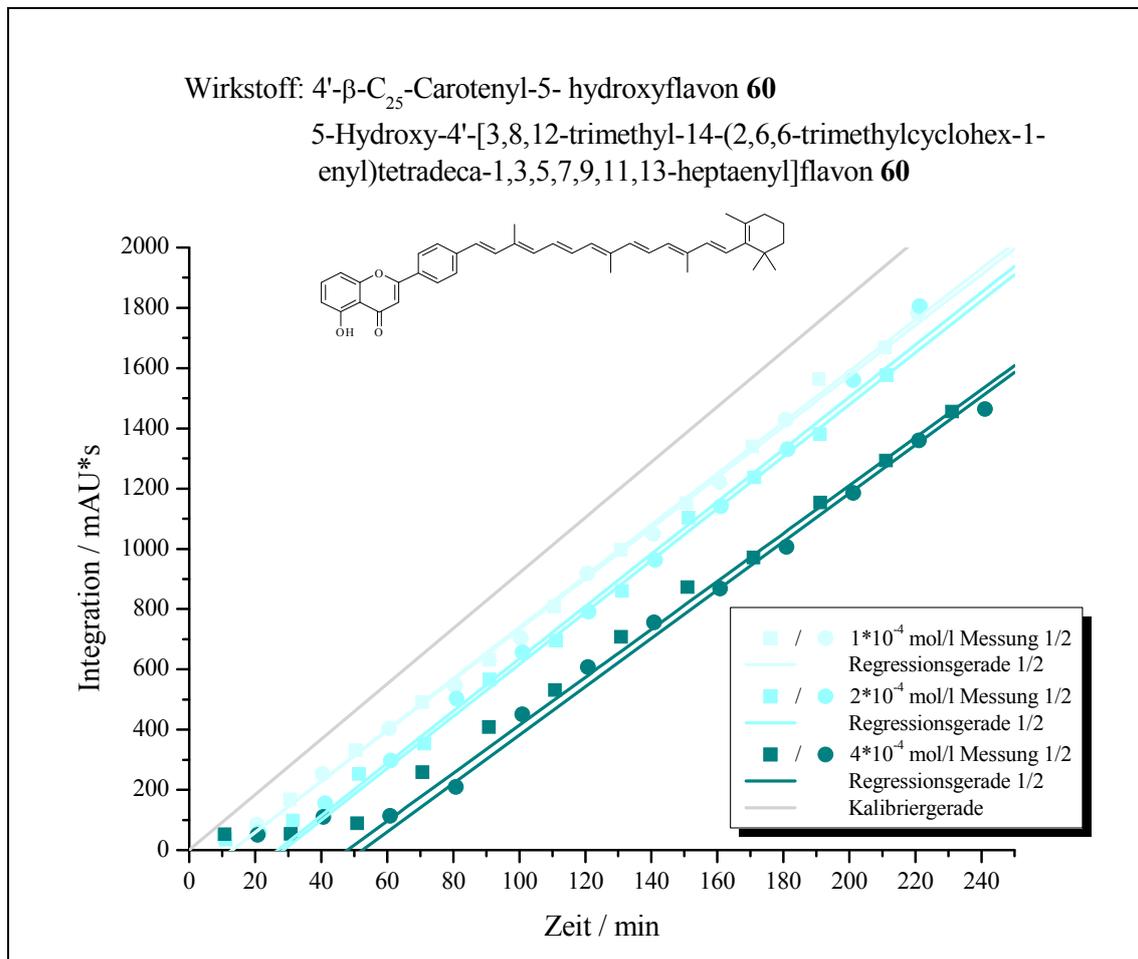


Abb. 51: Ermittlung der Inhibitionszeiten nach Scherrers^[98] für die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l der Verbindung **60** im Cumol-Assay

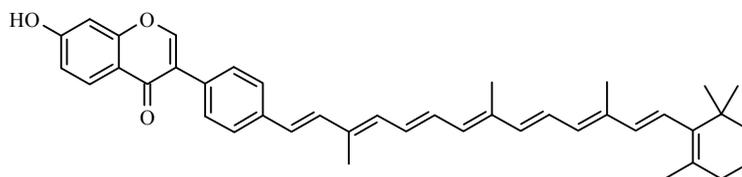
Auch hier wächst das antioxidative Potential im Rahmen der Fehlergrenze linear mit der Wirkstoff-Konzentration (Tabelle 10).

Wirkstoff-Konzentration	Regressionsgerade	Inhibitionszeit	Mittlere Inhibitionszeit
$1 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.51 \pm 0.14) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (111.39 \pm 18.52) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.42 \pm 0.11) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (109.29 \pm 15.54) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 13 \text{ min}$ $t_{i2} = 13 \text{ min}$	$t_i = 13 \text{ min}$
$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.63 \pm 0.21) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (246.19 \pm 30.89) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.69 \pm 0.24) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (233.25 \pm 32.79) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 29 \text{ min}$ $t_{i2} = 27 \text{ min}$	$t_i = 28 \text{ min}$
$4 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((7.96 \pm 0.27) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (381.53 \pm 54.61) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.03 \pm 0.26) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (421.54 \pm 43.73) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 48 \text{ min}$ $t_{i2} = 52 \text{ min}$	$t_i = 50 \text{ min}$
Referenz	$y = ((9.20 \pm 0.05) \text{ mAU*s/min}) * x$		

Tabelle 10: Antioxidatives Potential der Verbindung **60** in Form von Inhibitionszeiten t_i

3.8.5.1.5 Wirkstoff: 4'- β -C₂₅-Carotenyloxy-7-hydroxyisoflavon **34**

7-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]isoflavon **34**



Auch in diesem Fall zeigt das Carotenyloxyisoflavon eine erheblich ausgeprägtere antioxidative Wirkung als der entsprechende Isoflavon-Teilchromophor **100**.

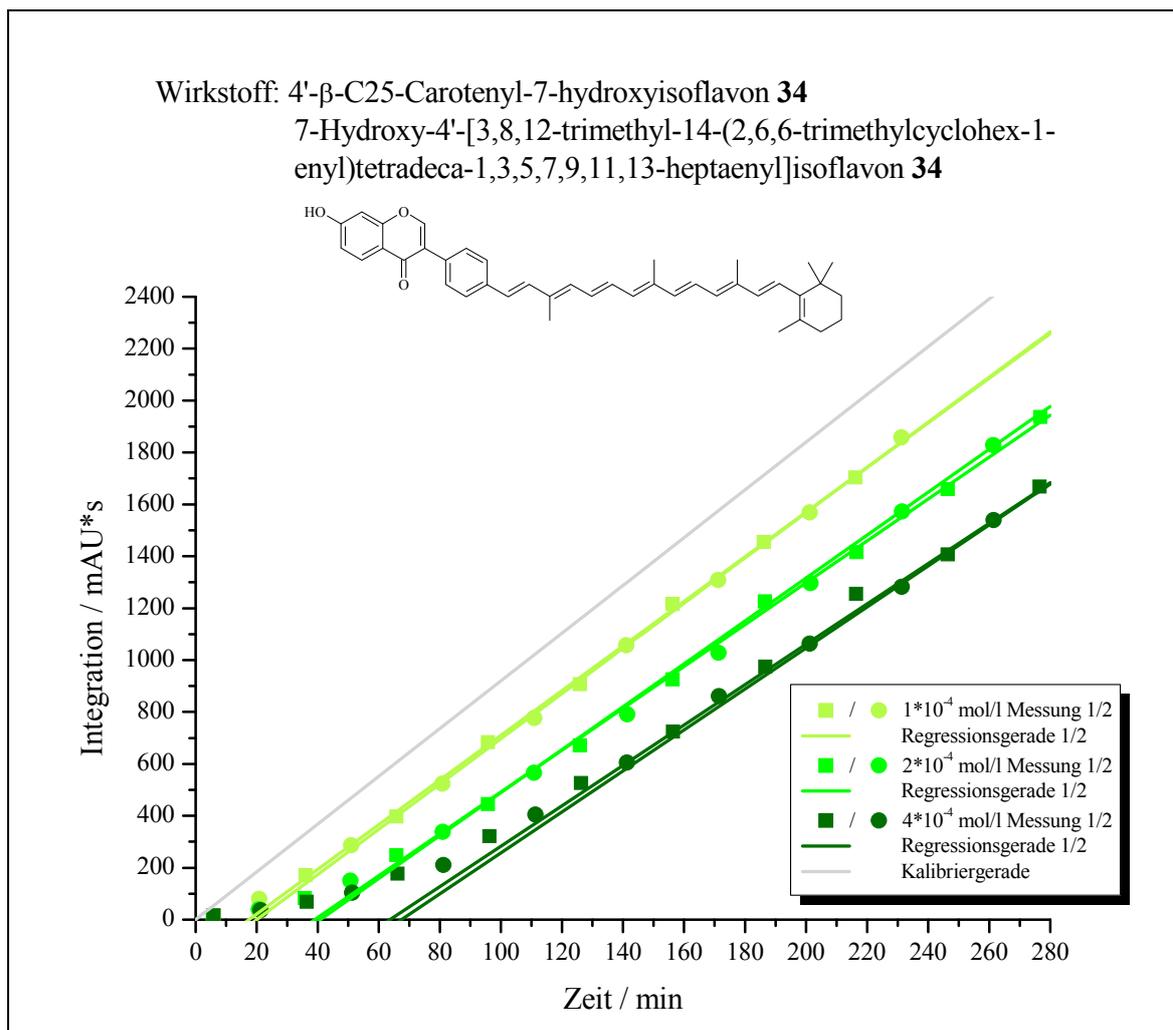


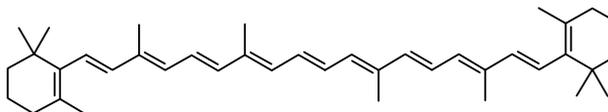
Abb. 52: Ermittlung der Inhibitionszeiten nach Scherrers^[98] für die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l der Verbindung **34** im Cumol-Assay

Was die Konzentrationsabhängigkeit des antioxidativen Potentials angeht, besteht für die höchste vermessene Konzentration ein deutliches Abweichen vom bisher festgestellten linearen Zusammenhang. Betrachtet man dazu nochmals den Verlauf der Messkurven für die Wirkstoffkonzentration $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l, so ähneln sie im Bereich der Inhibitionsphase stark der als ideal beschriebenen Inhibitionskurve. Der nach Antioxidansverbrauch wieder erreichte linear ansteigende Kurvenast ist jedoch deutlich flacher als die Kalibriergerade, was auch die Geradengleichungen der jeweiligen Regressionsgeraden (vgl. Steigungen) in Tabelle 11 bestätigen. Es findet also im untersuchten Zeitraum noch partielle Inhibition statt, so dass der nach

Antioxidansverbrauch eigentlich steilere Anstieg (Kalibriergerade) der Cumolhydroperoxidbildung noch gar nicht erreicht wird. Extrapolation dieser im Vergleich zur Referenzgeraden zu flach verlaufenden Regressionsgeraden würde somit zu kleine Inhibitionszeiten wiedergeben, was eine Erklärung für das scheinbare Abweichen von der linearen Konzentrationsabhängigkeit wäre und eine Grenze der hier angewandten Interpretationsmethode aufzeigt.

Wirkstoff-Konzentration	Regressionsgerade	Inhibitionszeit	Mittlere Inhibitionszeit
$1 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.60 \pm 0.12) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (150.50 \pm 16.53) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.71 \pm 0.09) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (174.43 \pm 13.99) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 18 \text{ min}$ $t_{i2} = 20 \text{ min}$	$t_i = 19 \text{ min}$
$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.07 \pm 0.14) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (314.97 \pm 26.36) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.27 \pm 0.19) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (337.59 \pm 36.39) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 39 \text{ min}$ $t_{i2} = 41 \text{ min}$	$t_i = 40 \text{ min}$
$4 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((7.78 \pm 0.22) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (495.25 \pm 50.45) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((7.90 \pm 0.16) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (532.90 \pm 40.78) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 64 \text{ min}$ $t_{i2} = 67 \text{ min}$	$t_i = 66 \text{ min}$ s. o.
Referenz	$y = ((9.20 \pm 0.05) \text{ mAU*s/min}) * x$		

Tabelle 11: Antioxidatives Potential der Verbindung **34** in Form von Inhibitionszeiten t_i

3.8.5.1.6 Wirkstoff: β -Carotin 7

Beim β -Carotin 7 ist die Linearität in der Konzentrationsabhängigkeit des antioxidativen Potentials (bzw. der Inhibitionszeit) wieder klar zu erkennen (Tabelle 12). Auch hier tritt zwar verglichen mit der Kalibriergeraden ein Abflachen der Regressionsgeraden auf, liegt aber scheinbar noch im Rahmen der Anwendbarkeit der hier gewählten Interpretationsmethode.

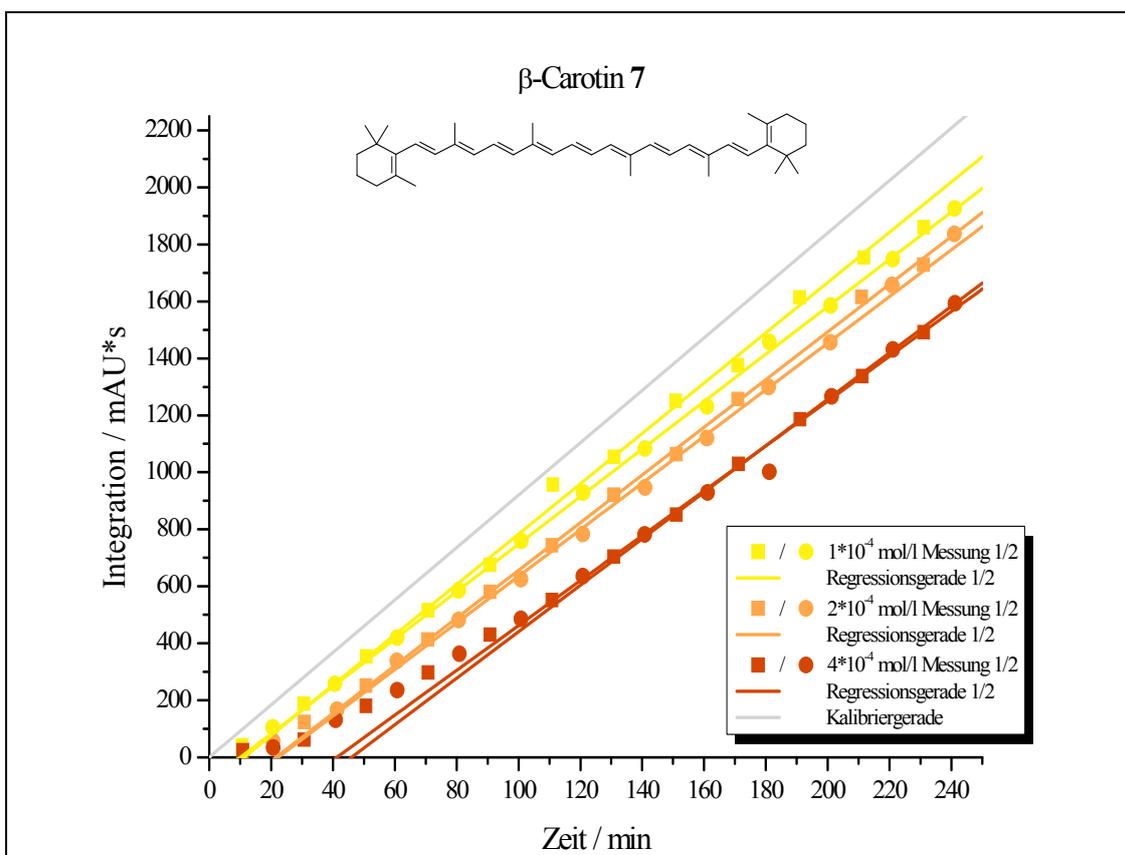


Abb. 53: Ermittlung der Inhibitionszeiten nach Scherrers^[98] für die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l und $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l der Verbindung 7 im Cumol-Assay

Wirkstoff-Konzentration	Regressionsgerade	Inhibitionszeit	Mittlere Inhibitionszeit
$1 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.83 \pm 0.15) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (99.92 \pm 18.74) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.33 \pm 0.11) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (84.50 \pm 18.03) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 11 \text{ min}$ $t_{i2} = 10 \text{ min}$	$t_i = 11 \text{ min}$
$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((8.37 \pm 0.21) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (180.75 \pm 36.94) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.18 \pm 0.11) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (182.80 \pm 16.09) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 22 \text{ min}$ $t_{i2} = 22 \text{ min}$	$t_i = 22 \text{ min}$
$4 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$y_1 = ((7.87 \pm 0.07) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (324.75 \pm 11.83) \text{ mAU*s}$ $y_2 = ((8.16 \pm 0.10) \text{ mAU*s/min}) * x$ $- (375.37 \pm 18.79) \text{ mAU*s}$	$t_{i1} = 41 \text{ min}$ $t_{i2} = 46 \text{ min}$	$t_i = 44 \text{ min}$
Referenz	$y = ((9.20 \pm 0.05) \text{ mAU*s/min}) * x$		

Tabelle 12: Antioxidatives Potential der Verbindung 7 in Form von Inhibitionszeiten t_i

3.8.5.2 Konzentrationsabhängigkeit der Inhibitionszeiten diverser Antioxidantien

Abbildung 54 verleiht eine Übersicht über die Abhängigkeiten der antioxidativen Potentiale (bzw. Inhibitionszeiten) von der jeweiligen Wirkstoffkonzentration, mittels Auftragung der mittleren Inhibitionszeiten gegen die Wirkstoffkonzentrationen. Verbindung 77 wird von dieser Zusammenstellung bewusst ausgeklammert, da sie laut obiger Auswertung der Messergebnisse (Punkt 3.8.5.1.1) kein antioxidatives Potential in Form von Inhibitionszeiten zeigt. Alle übrigen hier untersuchten Substanzen weisen eine mehr oder weniger lineare Konzentrationsabhängigkeit der Inhibitionszeiten auf, was sich mit Untersuchungen von R. Scherrers^[98] an Carotinoid-Systemen deckt. Eine mögliche Erklärung für das starke Abweichen vom linearen Verhalten der bei höchster Antioxidanskonzentration ($4 \cdot 10^{-4}$ mol/l) ermittelten Inhibitionszeit von Verbindung 34 wurde bereits unter Punkt 3.8.5.1.5 gegeben. Der zugehörige Datenpunkt ($t_i = 66 \text{ min}$,

$c = 4 \cdot 10^{-4}$ mol/l) wird in Abb. 54 zwar abgebildet, findet aber bei der linearen Regression der Datenreihe keine Berücksichtigung.

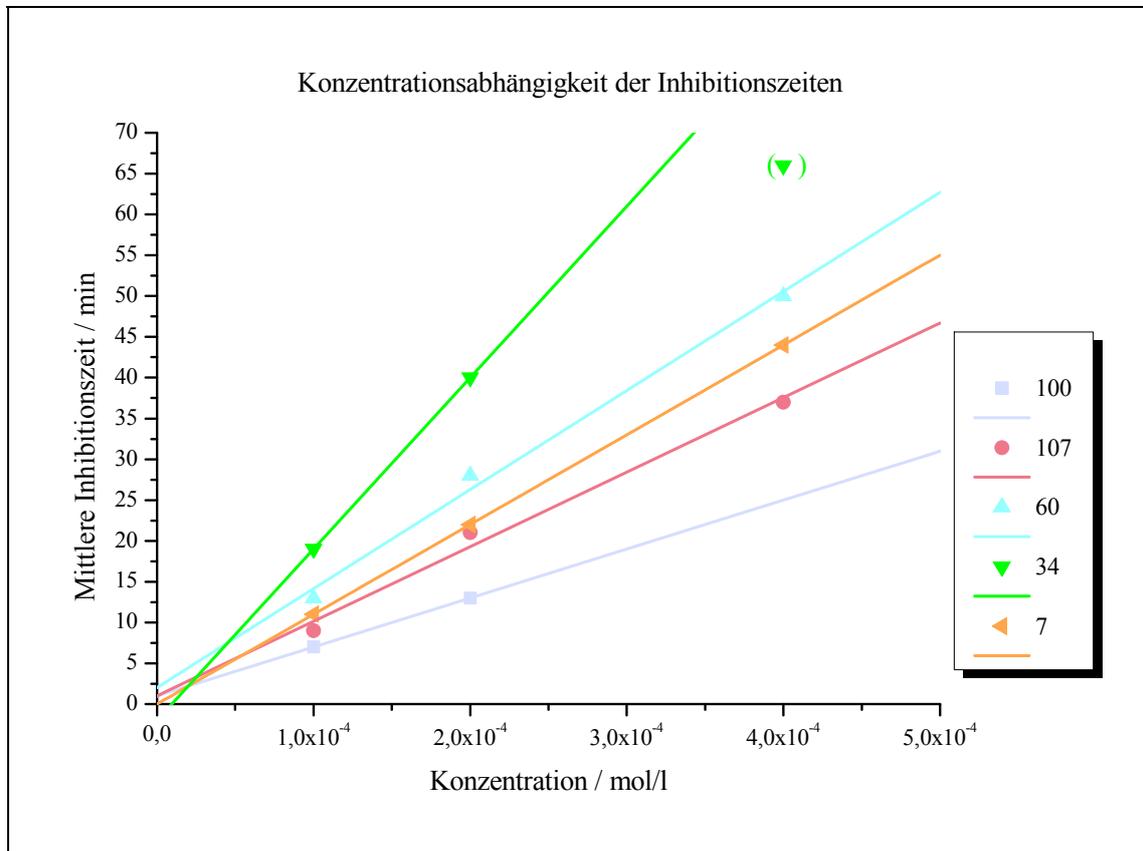


Abb. 54: Konzentrationsabhängigkeit der Inhibitionszeiten diverser Antioxidantien

Ein Vergleich der Antioxidantien untereinander bezüglich ihrer Inhibitionszeiten bzw. antioxidativen Güte kann anhand obiger Abbildung schon aufgrund der Geradensteigungen getroffen werden, wird im Weiteren aber nur anhand einer der untersuchten Wirkstoffkonzentrationen vorgenommen. Dazu wird die mittlere Konzentration ($2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) gewählt, da im Gegensatz zur höchsten Konzentration ($4 \cdot 10^{-4}$ mol/l) alle Verbindungen bei dieser Konzentration vermessen werden konnten und im Vergleich zur niedrigsten Konzentration ($1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) ein deutlicherer Effekt zu verzeichnen ist.

3.8.5.3 Vergleich der antioxidativen Potentiale aller untersuchten Substanzen bei einer Wirkstoffkonzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l I

Das Balkendiagramm in Abbildung 55 gibt eine vergleichende Übersicht über die antioxidativen Potentiale (bzw. Inhibitionszeiten) der im Cumol-Assay untersuchten Substanzen. Verbindung **77** (5-Hydroxy-4'-methylflavon), welche im Balkendiagramm nicht erscheint, zeigt im Gegensatz zu den anderen beiden Hydroxy-Falvonoiden **100** und **107** keinen antioxidativen Effekt. Als Ursache wurde schon weiter oben die mehrfach diskutierte besondere Position der 5-Hydroxy- und der 4-Keto-Gruppe und damit das Fehlen einer wirksamen, aber für die Antioxidativität eigentlich ausschlaggebenden phenolischen Hydroxy-Gruppe angegeben.

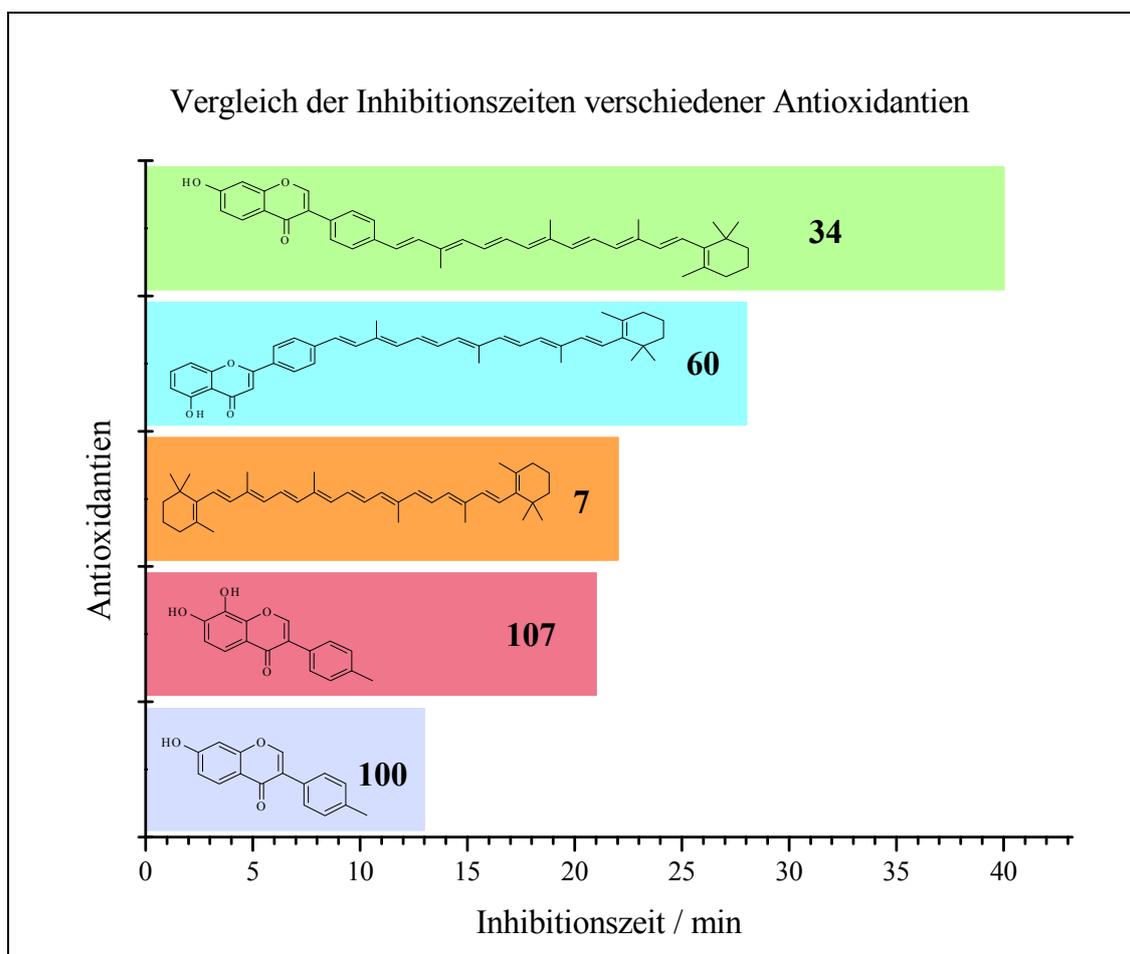


Abb. 55: Übersicht über die Inhibitionszeiten der im Cumol-Assay in einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l getesteten Antioxidantien

Wie bereits erwähnt, zeigen sowohl das 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** als auch das 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon **107** Inhibitionszeiten von 13 bzw. 21 Minuten. Die Erhöhung der Hydroxy-Gruppen-Anzahl geht dabei mit einer Verlängerung der Inhibitionszeit, bzw. Vergrößerung des antioxidativen Potentials einher, so dass nahezu die Güte des β -Carotins **7** bei gleicher Konzentration ($2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) erreicht wird.

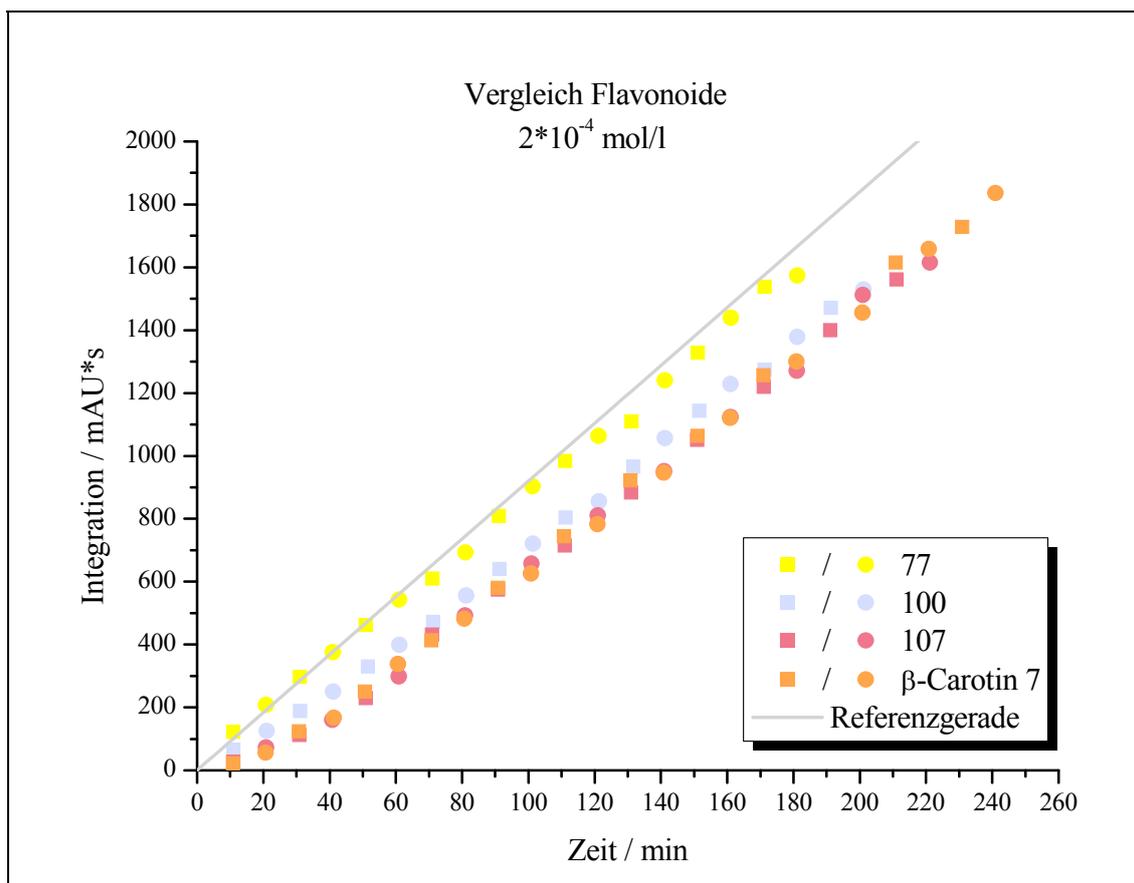


Abb. 56: Vergleich der Messkurven aller flavonoidhaltigen Systeme und des β -Carotin 7-haltigen Systems bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l

Bei Betrachtung der Carotenylflavonoide fällt auf, dass Verbindung **60** sehr wohl einen antioxidativen Effekt zeigt, obwohl der 5-Hydroxy-4'-methylflavon-Teilchromophor keine inhibierende Wirkung auf die Cumolhydroperoxidation ausübt. Geht man davon aus, dass sich innerhalb eines Carotenylflavonoids die beiden Teilchromophore, Flavonoid und Polyen, in ihrer Funktion ergänzen, lässt sich daraus schließen, dass die ermittelte Inhibitionszeit des Carotenylflavonoids **60** allein aus der Funktion des

Polyenteils resultiert. Dann wird auch die im Vergleich zu Verbindung **60** größere Wirksamkeit des 7-Hydroxy-4'-methylisoflavons **34** verständlich, bei dem sowohl der Hydroxylflavonoid-Teilchromophor als auch der Polyen-Teilchromophor agieren können. Unter der Annahme, dass jeder Teilchromophor unabhängig von weiteren Partnern ein spezifisches antioxidatives Potential besitzt, sollte im Falle von Verbindung **34** der Polyen-Teilchromophor einen Beitrag von 28 Minuten zur Gesamtinhibitionszeit von 40 Minuten leisten, da es sich hier um einen sehr ähnlichen Carotinoid-Teilchromophor wie in Verbindung **60** handelt. Die restlichen 12 Minuten sollten dann durch den Flavonoid- bzw. in diesem Falle Isoflavon-Teilchromophor hervorgerufen werden, was auch bei einem Vergleich mit der Inhibitionszeit von 13 Minuten des 7-Hydroxy-4'-methylisoflavons **100** plausibel erscheint. Demnach würde sich das antioxidative Potential der Carotenalflavonoide additiv aus den Beiträgen beider Teilchromophore zusammensetzen. Eine Überprüfung dieser Hypothese bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

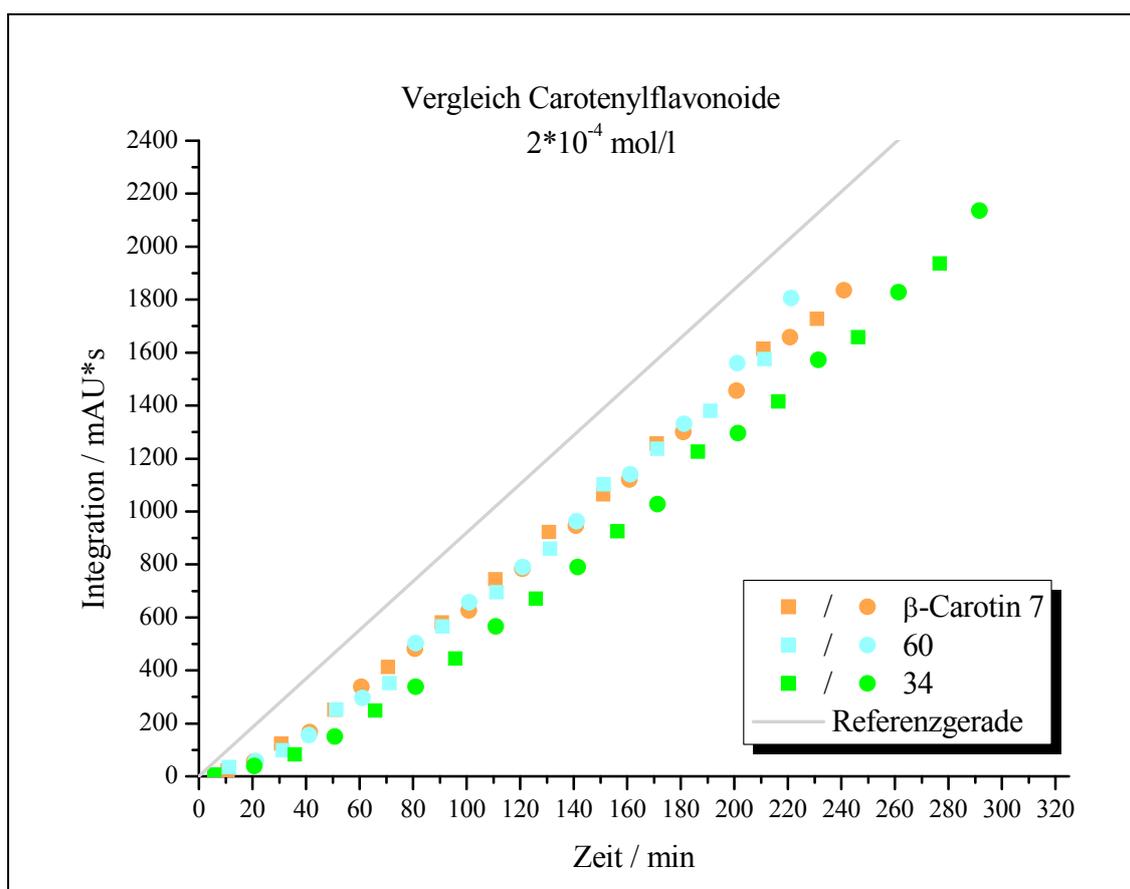


Abb. 57: Vergleich der Messkurven aller carotenylflavonoidhaltigen Systeme und des β-Carotin 7-haltigen Systems bei einer Konzentration von 2*10⁻⁴ mol/l

Auch über die Auswirkung der Flavonoid-B-Ring Position (Flavon oder Isoflavon) auf das antioxidative Potential der Carotenylflavonoide kann unter den gegebenen Bedingungen keine genaue Aussage getroffen werden. Dazu bedürfte es Vertretern beider Flavonoiduntergruppen mit Hydroxy-Gruppen in identischen Positionen, deren Darstellung ebenfalls aus den im Syntheseteil genannten Gründen bisher nicht möglich war.

In Abbildung 58 sind nochmals die Messkurven aller untersuchten Systeme mit einer Wirkstoffkonzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l gegenübergestellt. Es ist ersichtlich, dass erst beim Zusammenwirken beider Teilchromophore im Carotenylflavonoid (siehe Verbindung **34**) eine merkliche Verbesserung der Cumolhydroperoxidations-Inhibition im Vergleich zum β -Carotin **7** eintritt.

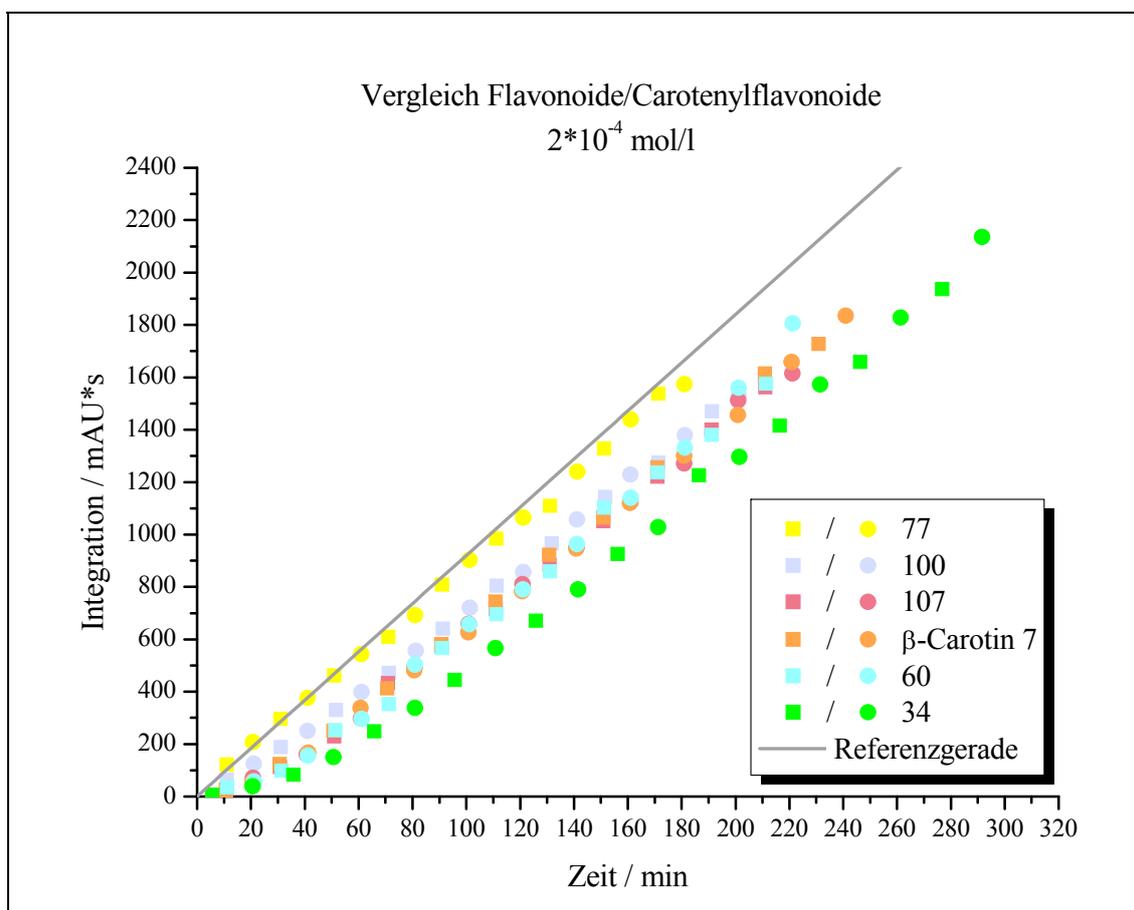


Abb. 58: Vergleich der Messkurven aller wirkstoffhaltigen Systeme bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l

3.8.5.4 Flächen-Relations-Methode

Um nochmals auf den nicht idealen Antioxidanskurvenverlauf im Sinne von Scherrers^[98] und Noack^[69] einzugehen und die Messkurvenform als Wiedergabe des gesamten antioxidativ wirksamen Systems zu berücksichtigen (antioxidatives Potential des Antioxidans, Stabilität des Antioxidans, mögliche Aktivität von Abbauprodukten), kann die schon unter Punkt 3.8.5 erwähnte Flächen-Relations-Methode herangezogen werden. Dabei wird die Fläche unterhalb der jeweiligen Messkurve als quantitatives Mass für das antioxidative Potential des entsprechenden Wirkstoffsystems in Relation zur Fläche unterhalb der Kalibriergeraden, also des wirkstofffreien Systems betrachtet. Allerdings muss dazu für alle Messungen ein identischer Integrationsbereich definiert werden. Es müssen also Grenzwerte auf den Messkurven festgelegt werden, zwischen denen die Flächen unter den Kurven bestimmt werden. Will man sich dabei nur auf Messwerte beschränken, ergibt sich das Problem, dass man für alle Messungen zwei Messwerte zu exakt gleichen Zeiten benötigt, was aber aufgrund der zeitversetzten Doppelmessung und der zum Teil notwendigerweise variierenden Messintervalle (siehe Abschnitt 3.8.4) gar nicht möglich ist. Deshalb werden für alle Messungen einheitliche Start- und Endpunkte auf der Zeitachse (x-Achse) festgelegt und die zugehörigen individuellen Cumolhydroperoxidmengenwerte (y-Werte) rechnerisch anhand der Messkurven ermittelt. Als Start wird der Zeitpunkt 0 (Beginn der Messung) gewählt. Zur Wahl geeigneter Endpunkte ist es erforderlich nochmals einen Blick auf die besagten Diagramme zu werfen (Abb. 40-46). Die größte Veränderung und auch der größte Unterschied der Systeme untereinander liegt sicherlich im Bereich des Übergangs vom flachen zum etwas steileren Kurvenverlauf oder anders ausgedrückt im Bereich der Beschleunigung zwischen Unterdrückung der Cumolhydroperoxidation und Erreichen einer konstanten Cumolhydroperoxidations-geschwindigkeit. Dieses Erreichen einer konstanten, wenn auch individuellen Oxidationsgeschwindigkeit ist allen hier untersuchten Reaktionssystemen gemeinsam und eben diese Tatsache kann zum Festlegen der oberen Integrationsgrenze genutzt werden. So wird als x-Wert der Zeitpunkt $t = 180$ min definiert, der bei allen untersuchten Systemen im Bereich der konstanten Reaktionsgeschwindigkeit (linearer Kurventeil) liegt. Der jeweils zugehörige y-Wert (Cumolhydroperoxidmenge) kann nun interpolativ mit Hilfe der bereits in

Kapitel 3.8.5.1 aufgestellten Regressionsgeraden ermittelt werden. Das auf diese Weise erhaltene Datenpaar wird in den jeweiligen Kurvenverlauf als zusätzlicher Datenpunkt eingegliedert und anschließend wird die Fläche unterhalb der Kurve mittels graphischer Integration in den Grenzen von 0 – 180 Minuten bestimmt. Dabei wird die Fläche unterhalb der Kalibriergeraden (wirkstofffreies System) auf 100 % normiert und die Flächen der wirkstoffhaltigen Systeme dazu in Relation gesetzt, wobei das antioxidative Potential mit abnehmender Fläche wachsen sollte.

Auch bei dieser Analysenmethode wird aus den bereits genannten Gründen (s. Punkt 3.8.4.6) die mittlere der vermessenen Wirkstoffkonzentrationen zum Vergleich der Antioxidanssysteme ausgewählt, und der Übersichtlichkeit halber werden auch in den folgenden Diagrammen nur die Flächen unterhalb der Messkurven dieser Konzentration ($2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) relativ zur Kalibriermessung wiedergegeben.

3.8.5.4.1 Kalibriermessung: wirkstofffreies System

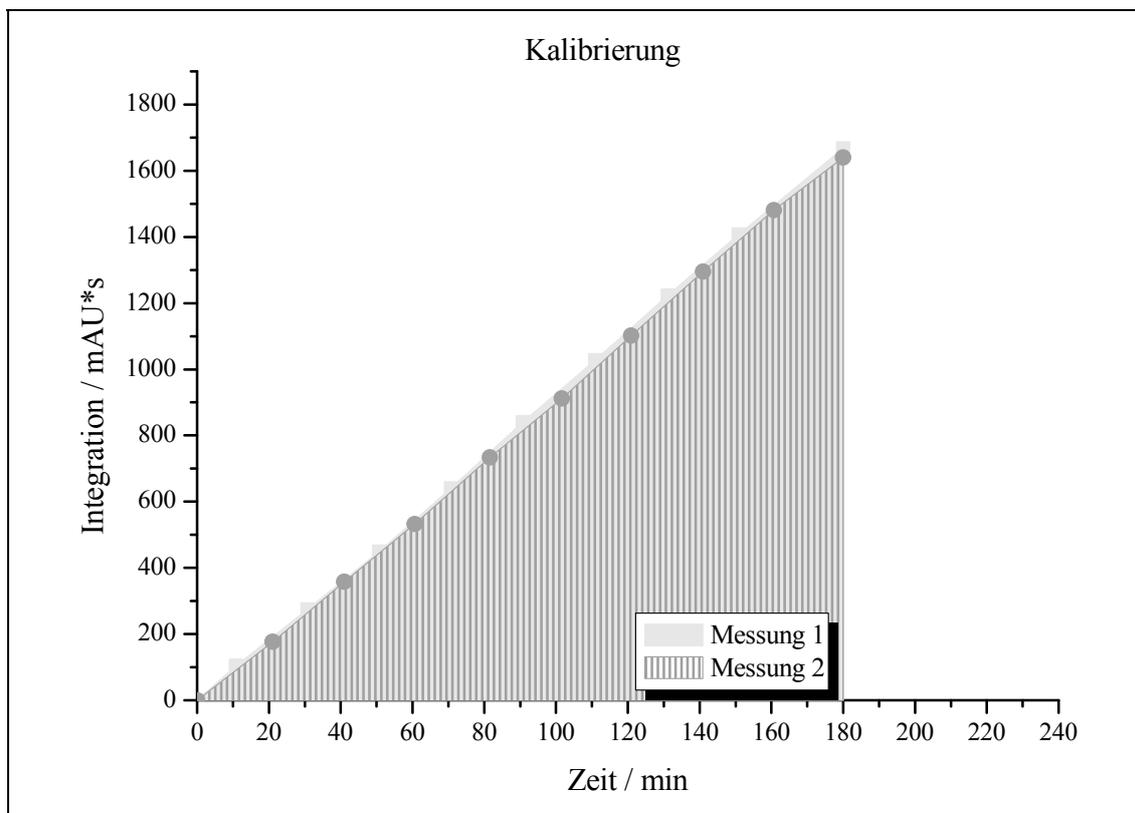


Abb. 59: Fläche unterhalb der Kalibriergeraden in den Grenzen von 0 – 180 Minuten

Die Integration in den Grenzen von 0-180 Minuten liefert für Messung 1 einen Wert von 150 AU*s*min als Maß für besagte Fläche unterhalb der Kalibriergeraden. Messung 2 ergibt einen Wert von 147 AU*s*min. Diese Werte werden gemittelt, und der Mittelwert: 149 AU*s*min auf 100 % gesetzt, da es sich hier um das reine Cumolsystem ohne Inhibitor handelt und somit die unter gegebenen Bedingungen maximal mögliche Cumolhydroperoxidbildung zu erwarten ist.

3.8.5.4.2 Wirkstoff: 5-Hydroxy-4'-methylflavon 77

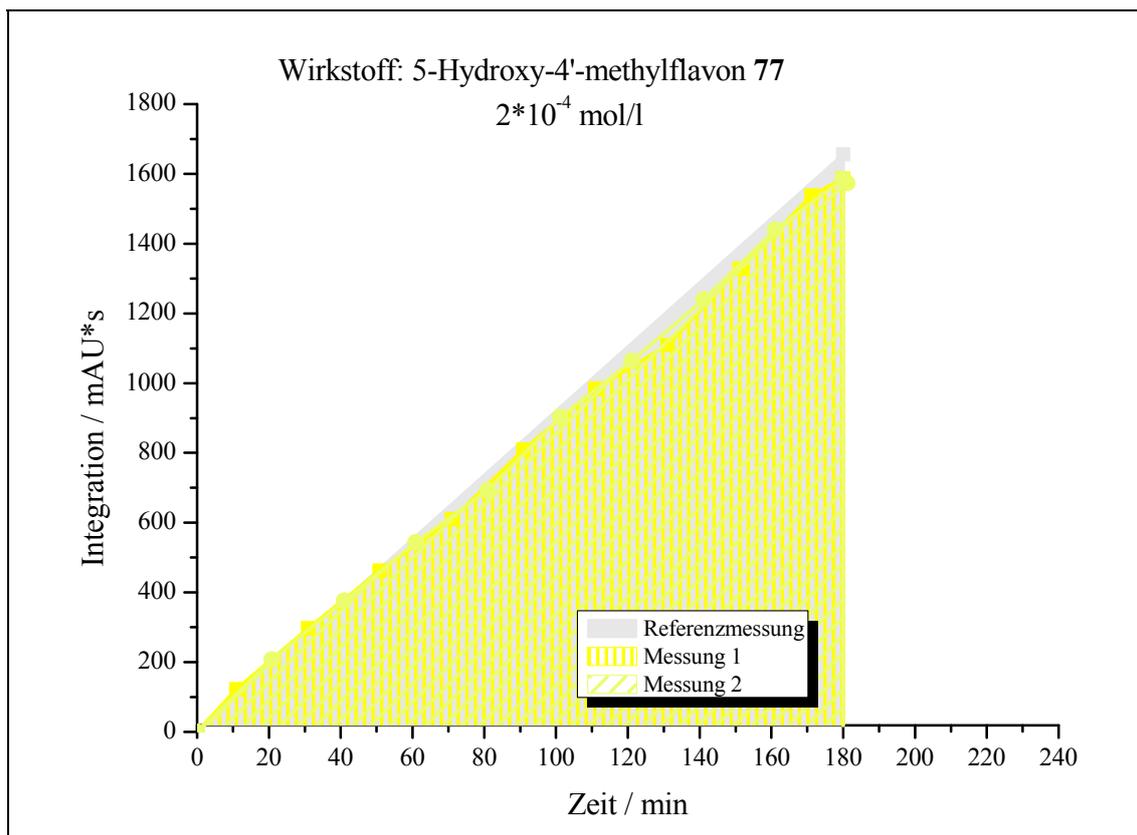
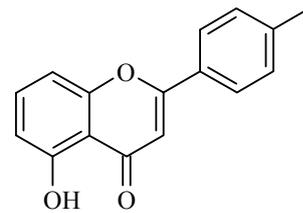


Abb. 60: Relation der Flächen unterhalb der Kalibriergeraden und der Messkurven des Verbindung 77 – haltigen Systems

Schon rein optisch ist aus Abbildung 60 ersichtlich, dass hier die miteinander zu vergleichenden Flächen nahezu deckungsgleich sind, so dass bestenfalls eine geringfügige Inhibition der Cumylhydroperoxidation stattfindet, was die Ergebnisse der Integration belegen. Für Messung 1 liefert die Integration in den Grenzen von 0 – 180 Minuten eine Fläche von 143 AU*s*min und für Messung 2 eine Fläche von 144 AU*s*min. Im Mittel ergibt das einen Wert von 144 AU*s*min und relativ zur Kalibriermessung betrachtet entspricht das einer Cumolhydroperoxidation von 97 % oder einer Inhibition um 3 %.

3.8.5.4.3 Wirkstoff: 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100**

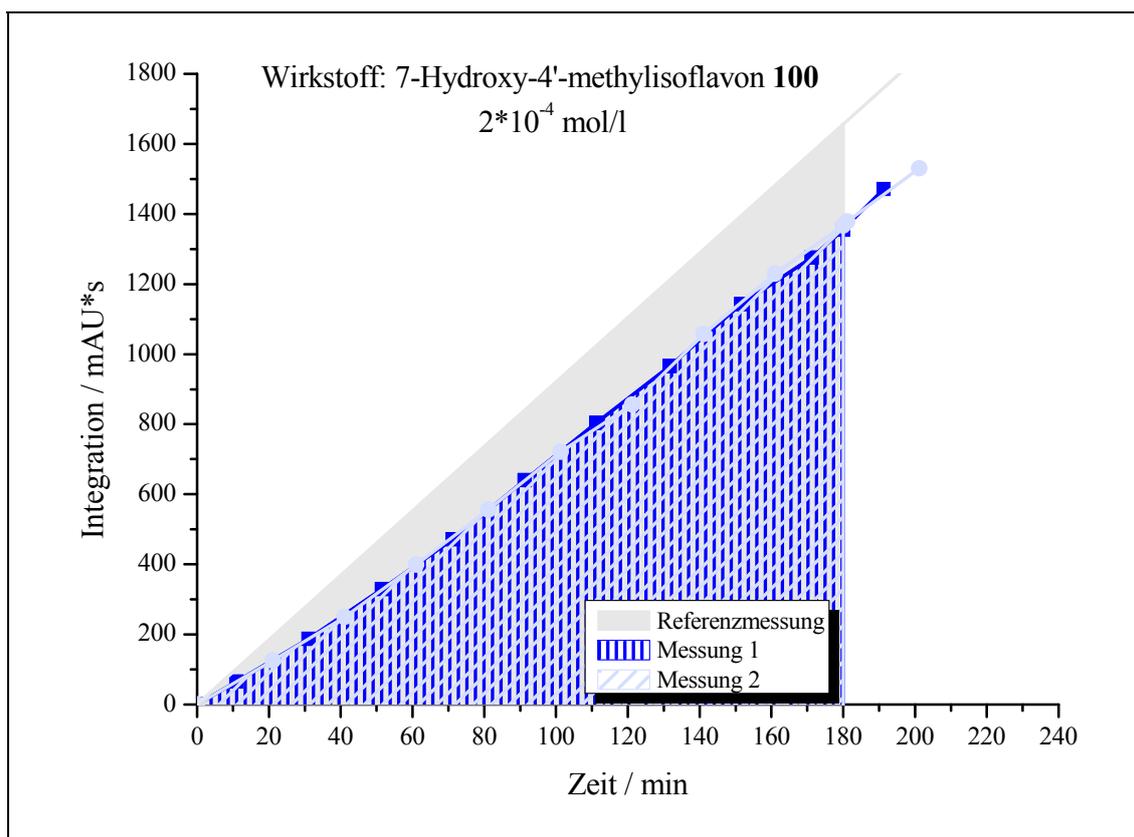
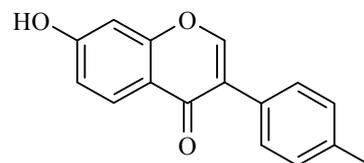
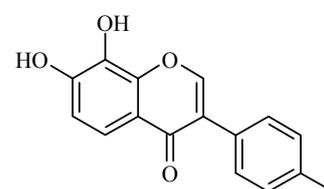


Abb. 61: Relation der Flächen unterhalb der Kalibriergeraden und der Messkurven des Verbindung **100** – haltigen Systems

In diesem Fall (Abb. 61) ist schon deutlicher zu erkennen, dass im betrachteten Zeitraum (0 – 180 min) eine Hemmung der Cumolhydroperoxidation vorliegt. Die Fläche unterhalb der Messkurven ist augenscheinlich kleiner, als jene unterhalb der Referenzgeraden. Quantitativ ausgedrückt bedeutet dies einen Wert von 116 AU*s*min sowohl für Messung 1 als auch für Messung 2. Man erhält also eine Fläche von 116 AU*s*min, was 78 % der Referenzfläche entspricht. Das bedeutet, dass in den ersten 180 Reaktionsminuten nur 78 % der in gleicher Zeit ohne Antioxidans entstehenden Cumolhydroperoxidmenge gebildet werden, was einer Inhibition um 22 % gleichkommt. Hier zeigt bereits die 7-Hydroxygruppe ihre Wirksamkeit als Radikalfänger.



3.8.5.4.4 Wirkstoff: 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon 107

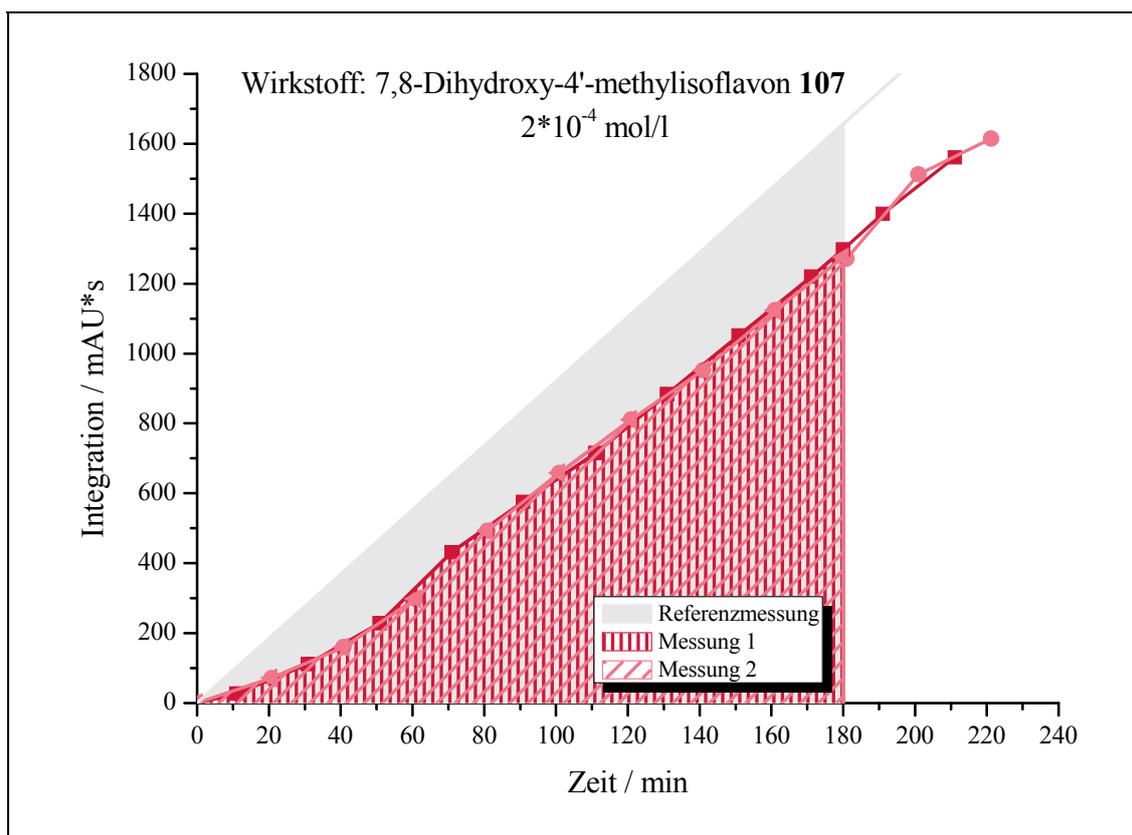
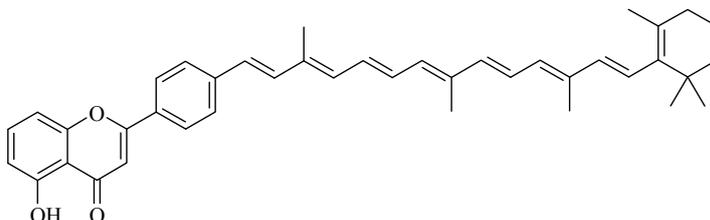


Abb. 62: Relation der Flächen unterhalb der Kalibriergeraden und der Messkurven des Verbindung 107 – haltigen Systems

Von Verbindung **107** wird aufgrund der zwei vorhandenen Hydroxygruppen ein noch ausgeprägteres antioxidatives Verhalten als von Verbindung **100** erwartet, was auch die qualitativen und quantitativen Betrachtungen mit 104 AU*s*min (Messung 1) bzw. 103 AU*s*min (Messung 2) bestätigen (Abb. 62). Mittelwertbildung ergibt eine Fläche von 104 AU*s*min und damit eine gegenüber der Referenzmessung um 30 % verminderte Cumolhydroperoxidbildung. Das heißt im gewählten Zeitraum entstehen nur 70 % des Oxidationsprodukts des antioxidansfreien Systems.

3.8.5.4.5 Wirkstoff: 4'- β -C₂₅- Carotenyl-5- hydroxyflavon **60**

5-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]flavon **60**



Auch ein Zusatz des Wirkstoffes **60** zum Cumol-AMVN-System führt bei der untersuchten Konzentration im Vergleich zum Kalibriersystem und im Gegensatz zum 5-Hydroxy-4'-methylflavon-Teilchromophor **77** – haltigen Cumolsystem zu einer deutlichen Unterdrückung der Hydroperoxidation (Abb. 63). Aus den Integrationsergebnissen von 103 AU*s*min für Messung 1 und Messung 2 resultiert eine Inhibition von 31 % bzw. eine Cumolhydroperoxidation von nur 69 % verglichen mit dem antioxidansfreien Referenzsystem. Dieser Effekt ist hier sicherlich, wie schon unter Punkt 3.8.5.1.4 diskutiert wurde, auf die Wirkung des Polyenteilchromophors zurückzuführen, während der 5-Hydroxy-4'-methylflavon-Teilchromophor **77** allein in der Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l keine nennenswerte antioxidative Wirkung zeigt (s. Abb. 60).

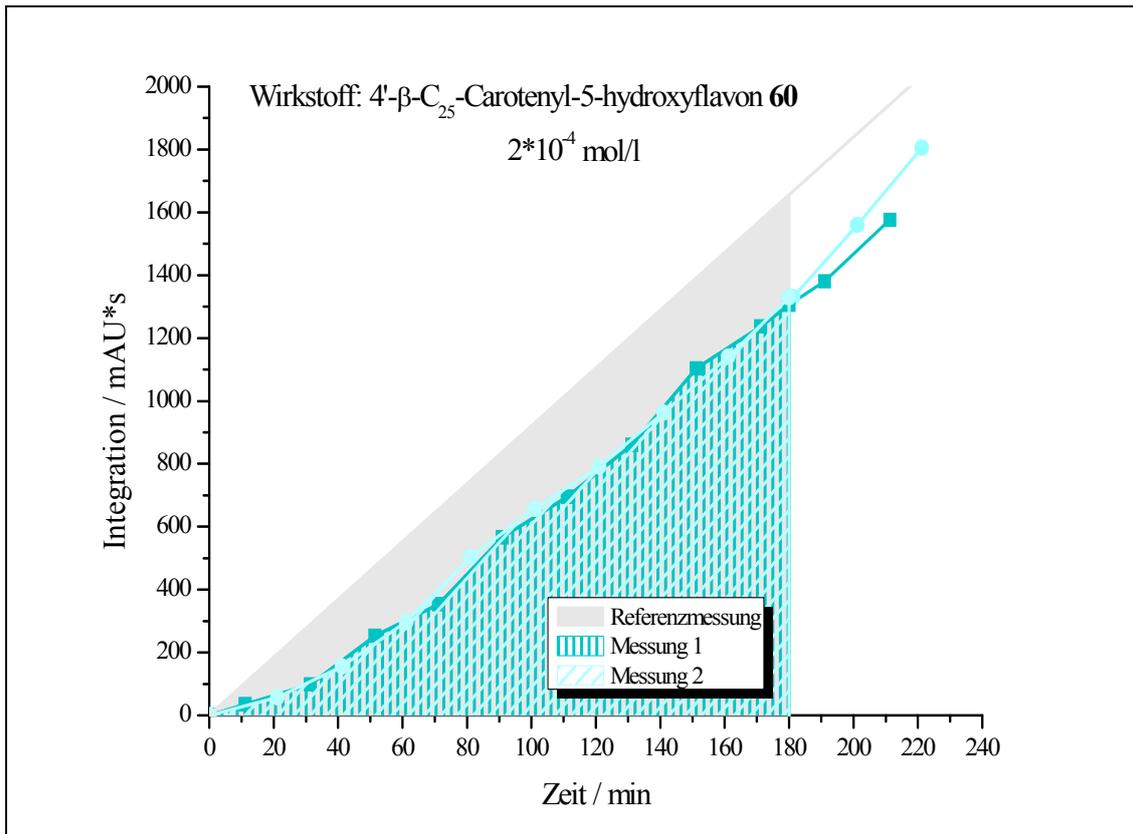
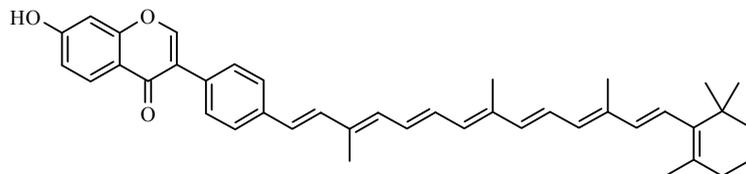


Abb. 63: Relation der Flächen unterhalb der Kalibriergeraden und der Messkurven des Verbindung **60** – haltigen Systems

3.8.5.4.6 Wirkstoff: 4'-β-C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavon **34**

7-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]isoflavon **34**



Auch bei dieser Analysenmethode zeigt Verbindung **34** das größte antioxidative Potential aller hier bisher untersuchten Substanzen. Die Fläche unterhalb der

Messkurven in den Grenzen von 0 – 180 Minuten entspricht nur 55 % der Referenzfläche (Messung 1: 82 AU*s*min, Messung 2: 82 AU*s*min). Das bedeutet, dass die Cumolhydroperoxidation gegenüber der Kalibrierung um 45 % gemindert wird, was keineswegs verwunderlich ist, da laut Abbildung 61 schon allein der 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon-Teilchromophor ein gewisses antioxidatives Potential aufweist, welches durch den Polyenteilchromophor idealerweise ergänzt werden sollte, da dieser ja bereits in Verbindung **60** (Abbildung 63) eine beträchtliche inhibierende Wirkung aufweist.

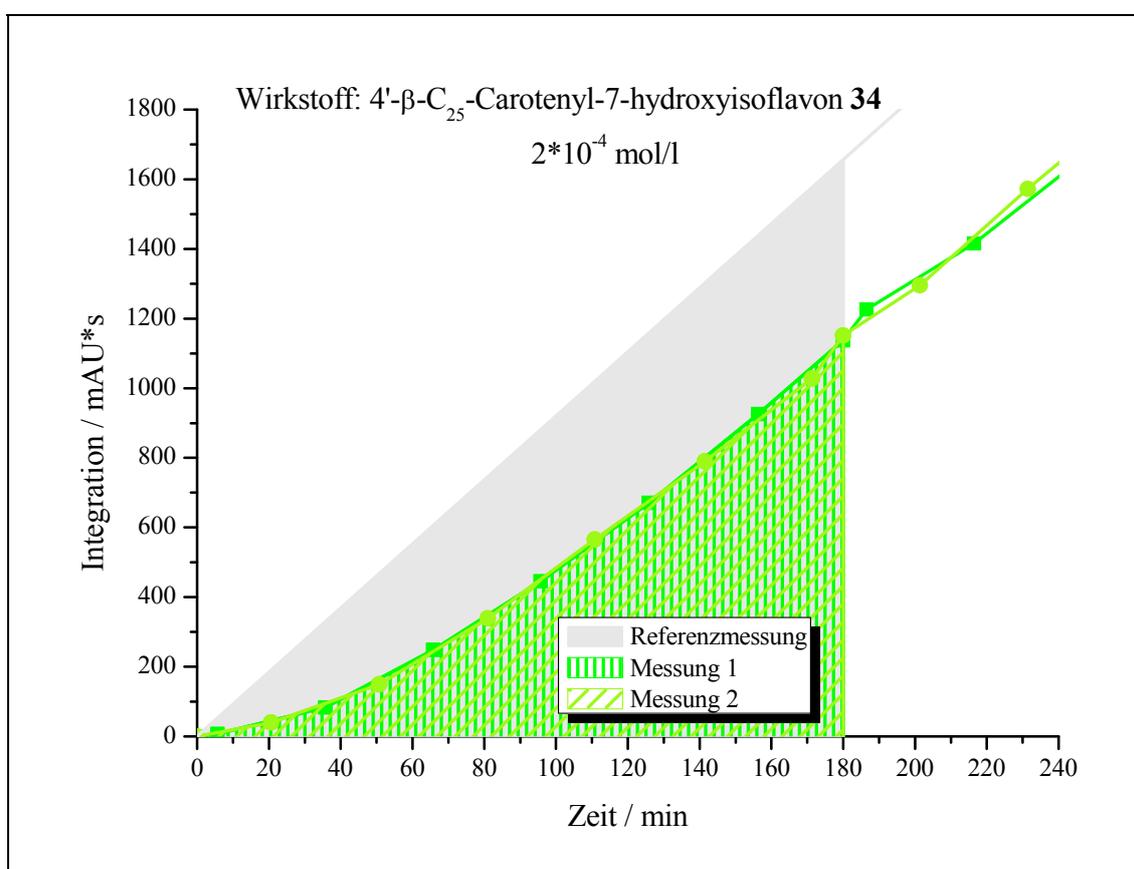
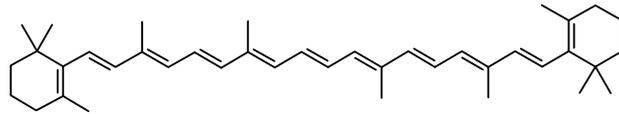


Abb. 64: Relation der Flächen unterhalb der Kalibriergeraden und der Messkurven des Verbindung **34** – haltigen Systems



3.8.5.4.7 Wirkstoff: β -Carotin 7

Als literaturbekannte Vergleichssubstanz spiegelt das β -Carotin 7 den antioxidativen Effekt einer polyenischen Verbindung wider. Im Vergleich zum nicht inhibierten Kalibriersystem beträgt die Fläche unter den Messkurven im Mittel nur 105 AU*s*min (Messung 1: 107 AU*s*min, Messung 2: 102 AU*s*min), was einer Cumolhydroperoxidbildung von 70 % bzw. einer Inhibition um 30 % entspricht (Abb. 65).

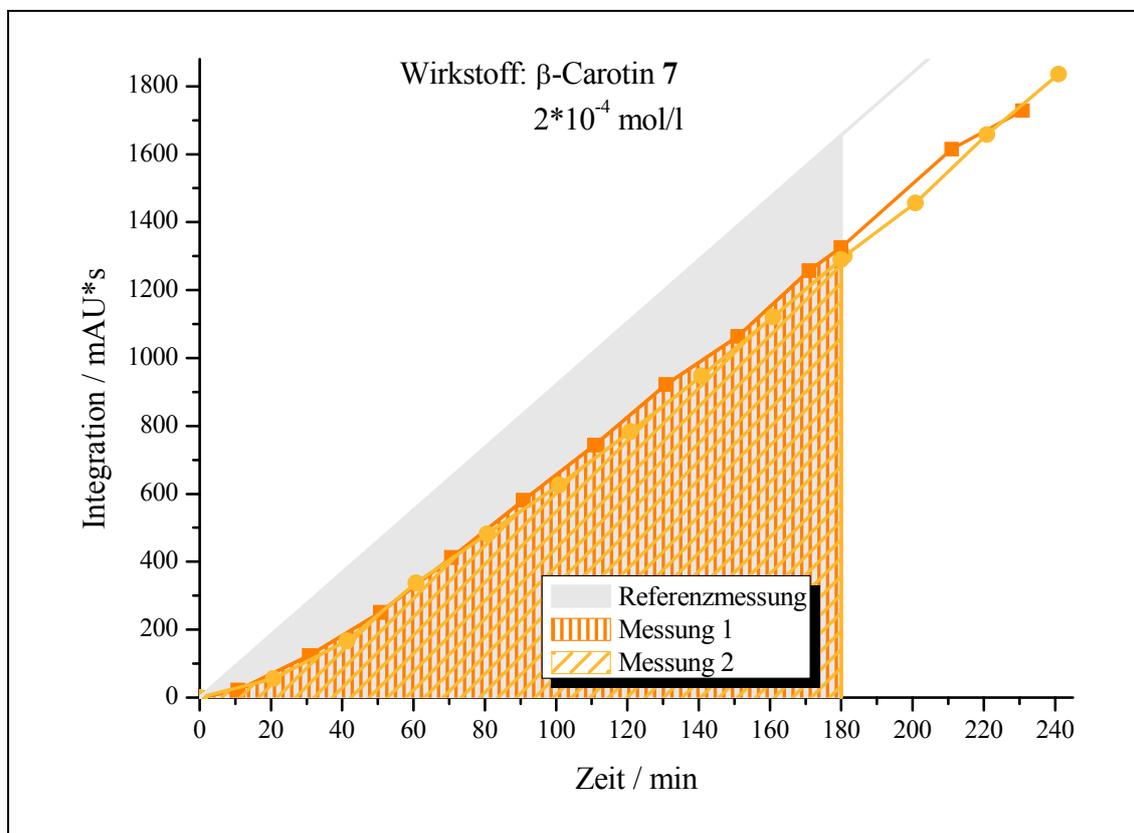


Abb. 65: Relation der Flächen unterhalb der Kalibriergeraden und der Messkurven des β -Carotin 7 – haltigen Systems

Im Großen und Ganzen lässt obiges Balkendiagramm den gleichen Trend erkennen, wie der Vergleich der Antioxidantien anhand ihrer Inhibitionszeiten (Abb. 55). Auch hier wird Verbindung **77** aufgrund ihres im Rahmen der Messgenauigkeit nicht verzeichenbaren antioxidativen Potentials aus der weiteren Betrachtung ausgeklammert. Die übrigen Wirkstoffsysteme ergeben das bereits bekannte Bild mit dem 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** als antioxidativ schwächstem und 4'- β -C₂₅-Caroteny-7-hydroxyisoflavon **34** als stärkstem Vertreter. Das β -Carotin **7**, sowie das 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon **107** und das 4'- β -C₂₅-Caroteny-5-hydroxyflavon **60** bewegen sich erwartungsgemäß wieder im Mittelfeld. Allerdings kommt diesen drei Systemen hier (im Rahmen der Messgenauigkeit) die gleiche antioxidative Güte zu, wogegen das 4'- β -C₂₅-Caroteny-5-hydroxyflavon **60** bei Betrachtung der reinen Inhibitionszeit ein 1.3-fach besseres Antioxidans als β -Carotin **7** darstellt. Sicherlich macht sich hier das unter Punkt 3.8.5 bei Anwendung der Flächen-Relations-Methode erwähnte Zusammenwirken mehrerer Effekte bemerkbar, wobei nun der im Vergleich zu Verbindung **60** längere Polyenteil des β -Carotins **7** zum Tragen käme. Das heißt Verbindung **60** zeigt zwar in den ersten 30 Reaktionsminuten eine stärkere Unterdrückung der Cumolhydroperoxidation als β -Carotin **7** (vgl. Inhibitionszeitmethode), dieses zeigt aber im Zuge seines Abbaus eine stärkere partielle Inhibition. Was das 4'- β -C₂₅-Caroteny-7-hydroxyisoflavon **34** anbelangt zeigt auch diese Interpretationsweise, dass sich der Hydroxyisoflavon-Teilchromophor und der Polyen-Teilchromophor in ihrer Wirkung ergänzen. Abbildung 67 gibt nochmals eine Gegenüberstellung beider Auswertmethoden anhand der in Relation zum β -Carotin **7** betrachteten antioxidativen Potentiale der untersuchten Wirkstoffe (Wirkstoffkonzentration $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l). Das antioxidative Potential des β -Carotins **7** wird dazu in beiden Methoden auf 1 normiert.

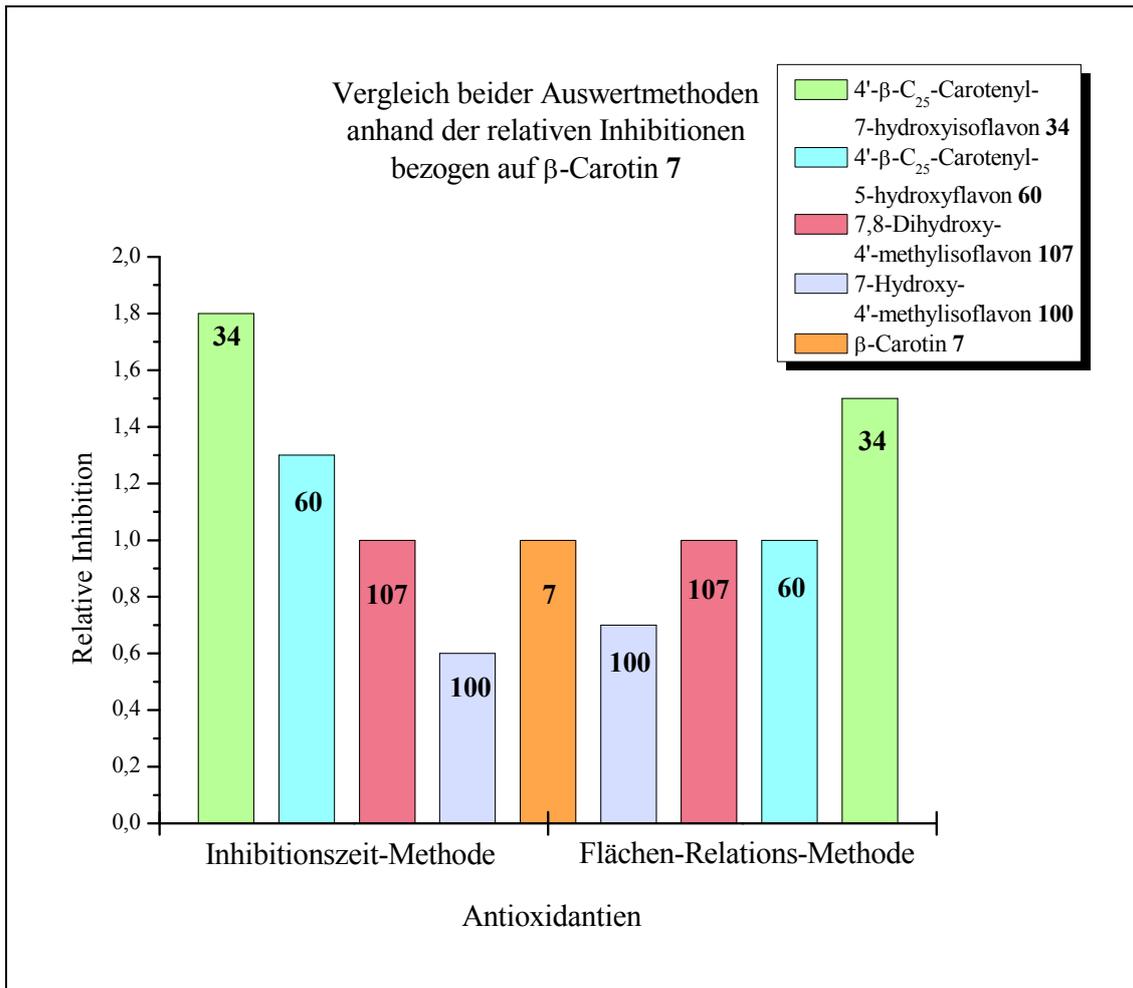


Abb. 67: Relative Inhibitionen (bzgl. β -Carotin 7) der im Cumol-Assay untersuchten Wirkstoffe bei Wirkstoffkonzentration $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l (Gegenüberstellung der angewandten Auswertmethoden)

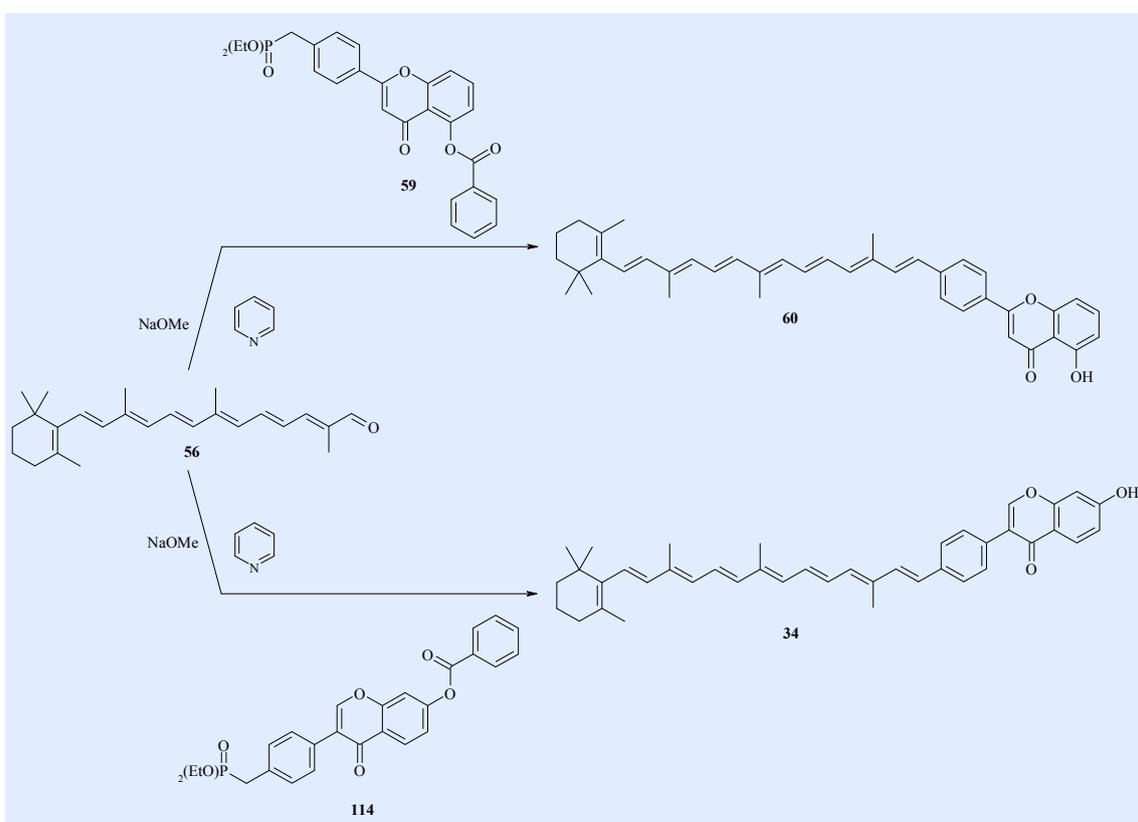
Wirkstoff	Wirkstoff-Konzentration	Relative Inhibition (Inhibitionszeit-Methode)	Relative Inhibition (Flächen-Relations-Methode)
β-Carotin 7	$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	1	1
7-Hydroxy-4'-methylisoflavon 100	$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	0.6	0.7
7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon 107	$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	1	1
4'-β-C ₂₅ -Caroteny-5-hydroxyflavon 60	$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	1.3	1
4'-β-C ₂₅ -Caroteny-7-hydroxyisoflavon 34	$2 \cdot 10^{-4}$ mol/l	1.8	1.5

Tabelle 13: Relative Inhibitionen (bzgl. β-Carotin **7**) der im Cumol-Assay untersuchten Wirkstoffe bei Wirkstoffkonzentration $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l (Gegenüberstellung der angewandten Auswertmethoden)

4 Zusammenfassung

Carotenyflavonoide stellen die synthetisch realisierbare Verbindung interessanter Eigenschaften, hier insbesondere der antioxidativen Eigenschaften zweier Substanzklassen (Carotinoide (bzw. Polyene) und Flavonoide) in einem Bichromophor dar.

Die Entwicklung geeigneter Synthesesequenzen, unter Berücksichtigung des Schutzgruppenproblems, als besondere synthesespezifische Herausforderung, beim Einbau der antioxidativitätsrelevanten phenolischen Hydroxy-Gruppen des Flavonoid-Teilchromophors, ermöglicht die Darstellung einiger Benzoylflavon- bzw. Benzoylisoflavonphosphonate. Deren Kopplung mit C₂₅-Carotenaldehyd via Wittig-Horner-Emmons-Reaktion lässt nach optimierter Aufarbeitung neuartige hydroxylierte Carotenyflavonoide zugänglich werden.



Allerdings bereitet die Synthese dihydroxylierter Carotenylflavonoide, wie des 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7,8-dihydroxyisoflavons **117**, was die Dosierung der zur Deprotonierung des Phosphonats benötigten Base während der Wittig-Horner-Emmons Reaktion anbelangt, derartige Komplikationen, dass eine befriedigende Ausbeute des gewünschten Carotenylflavonoids in erforderlicher Reinheit noch nicht möglich ist. Im Vergleich zu den beiden erfolgreich dargestellten und im Cumol-Cumolhydroperoxid-Assay auf ihr antioxidatives Potential untersuchten Hydroxy-Carotenylflavonoide **34** und **60** wäre es jedoch eine interessante Verbindung.

Der in vitro Test des antioxidativen Potentials dreier hydroxylierter Flavonoide (**77**, **100** und **107**), zweier Hydroxy-Carotenylflavonoide (**34** und **60**) und des β -Carotins **7** im Cumol-Cumolhydroperoxid-Assay zeigt, dass sich einerseits eine zunehmende Anzahl an phenolischen Hydroxy-Gruppen der Flavonoide positiv auf die Inhibition der Cumolhydroperoxidbildung auswirkt und andererseits die Kopplung eines Flavonoid-Teilchromophors an einen Polyen-Teilchromophor die inhibierende Wirkung des Antioxidans erheblich vergrößert. Allerdings ist dabei auch die Auswirkung der Position der phenolischen Hydroxy-Gruppe im Flavonoidteil nicht zu vernachlässigen. So zeigt eine 5-Hydroxy-Gruppe (vgl. 5-Hydroxy-4'-methylflavon **77**) keine nennenswerte antioxidative Wirkung, wogegen eine 7-Hydroxy-Gruppe (vgl. 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** und 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavon **34**) durchaus inhibierend auf die Cumolhydroperoxidation wirkt. Da Verbindung **107** (7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon) im hier durchgeführten Test bei mittlerer Konzentration ($2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) ein 1.6 mal größeres antioxidatives Potential (Inhibitionszeit-Methode) aufweist als Verbindung **100** (7-Hydroxy-4'-methylisoflavon), ist zu erwarten, dass auch das 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7,8-dihydroxyisoflavon **117** ein entsprechend größeres antioxidatives Potential als Verbindung **34** (4'- β -C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavon) besitzt, was jedoch im Rahmen dieser Arbeit aufgrund der genannten präparativen Schwierigkeiten (s. 3.7.7.2) nicht überprüft werden kann.

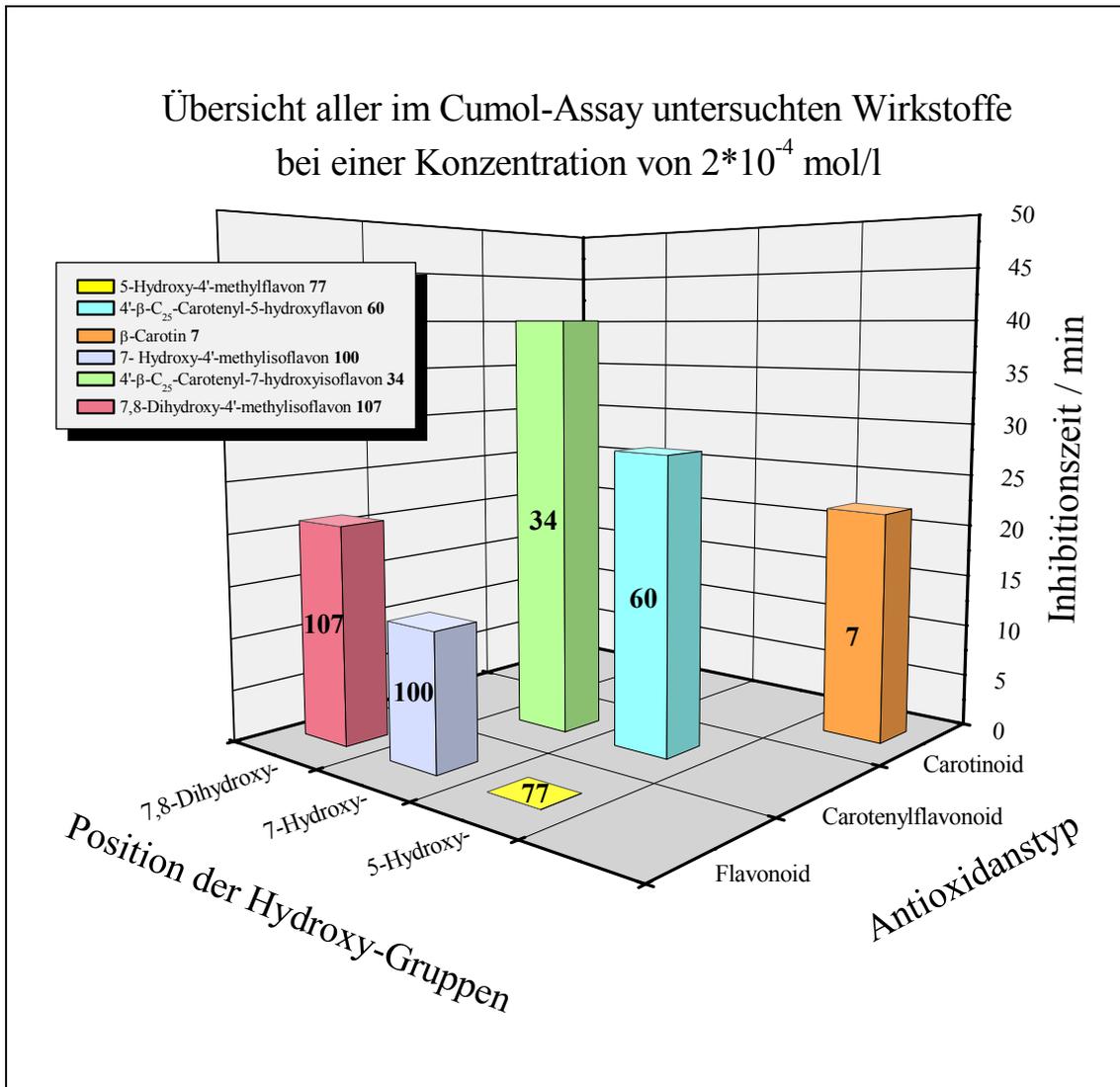


Abb. 68a: Übersicht der Inhibitionszeiten aller im Cumol-Assay untersuchten Wirkstoffe (Konzentration $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) in Abhängigkeit von Antioxidanstyp und Position sowie Anzahl der Hydroxy-Gruppen (Inhibitionszeitmethode)

Wirkstoff	Wirkstoff-Konzentration	Mittlere Inhibitionszeit
4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-7-hydroxyisoflavon 34	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 40 min
4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-5-hydroxyflavon 60	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 28 min
β -Carotin 7	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 22 min
7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon 107	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 21 min
7-Hydroxy-4'-methylisoflavon 100	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 13 min
5-Hydroxy-4'-methylflavon 77	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 0 min

Tabelle 14: Übersicht über die Inhibitionszeiten aller im Cumol-Assay in einer Konzentration von 2*10⁻⁴ mol/l getesteten Antioxidantien

So bildet in der Gruppe der hier untersuchten Wirkstoffe Verbindung **34** bei einer Konzentration von 2*10⁻⁴ mol/l mit der 1.8-fachen Inhibitionszeit des β -Carotins **7** im Cumol-Assay das Antioxidans mit dem größten inhibierenden Effekt.

Ein sehr ähnliches Bild entsteht, wenn man für die Flächen-Relations-Methode die gleichen Betrachtungen anstellt.

Wirkstoff	Wirkstoff-Konzentration	Inhibition
4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-7-hydroxyisoflavon 34	2*10 ⁻⁴ mol/l	45 %
4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-5-hydroxyflavon 60	2*10 ⁻⁴ mol/l	31 %
β -Carotin 7	2*10 ⁻⁴ mol/l	30 %
7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon 107	2*10 ⁻⁴ mol/l	30 %
7-Hydroxy-4'-methylisoflavon 100	2*10 ⁻⁴ mol/l	22 %
5-Hydroxy-4'-methylflavon 77	2*10 ⁻⁴ mol/l	3 %

Tabelle 15: Übersicht über die Inhibitionswirkung aller im Cumol-Assay in einer Konzentration von 2*10⁻⁴ mol/l getesteten Antioxidantien (Flächen-Relations-Methode)

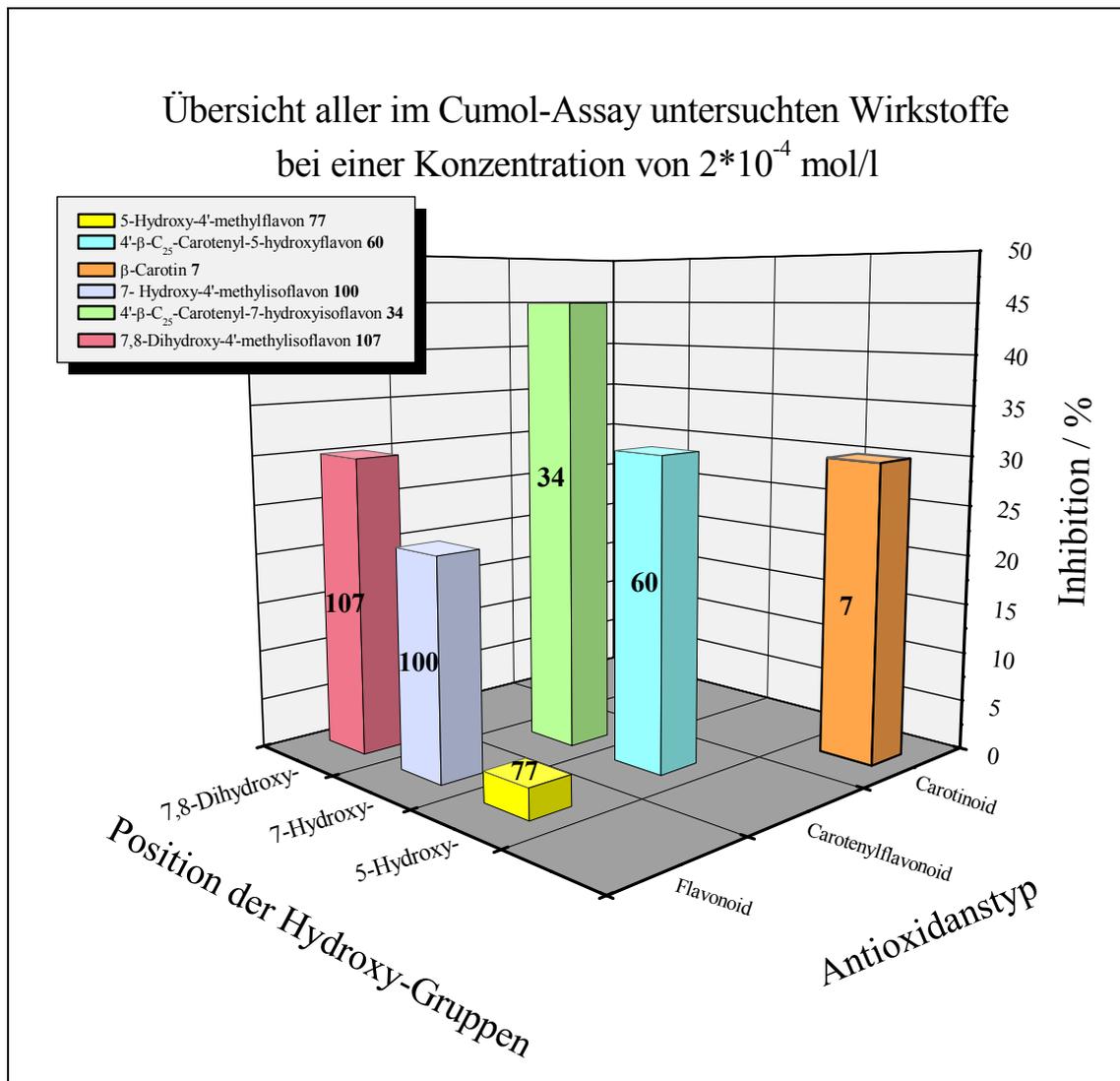


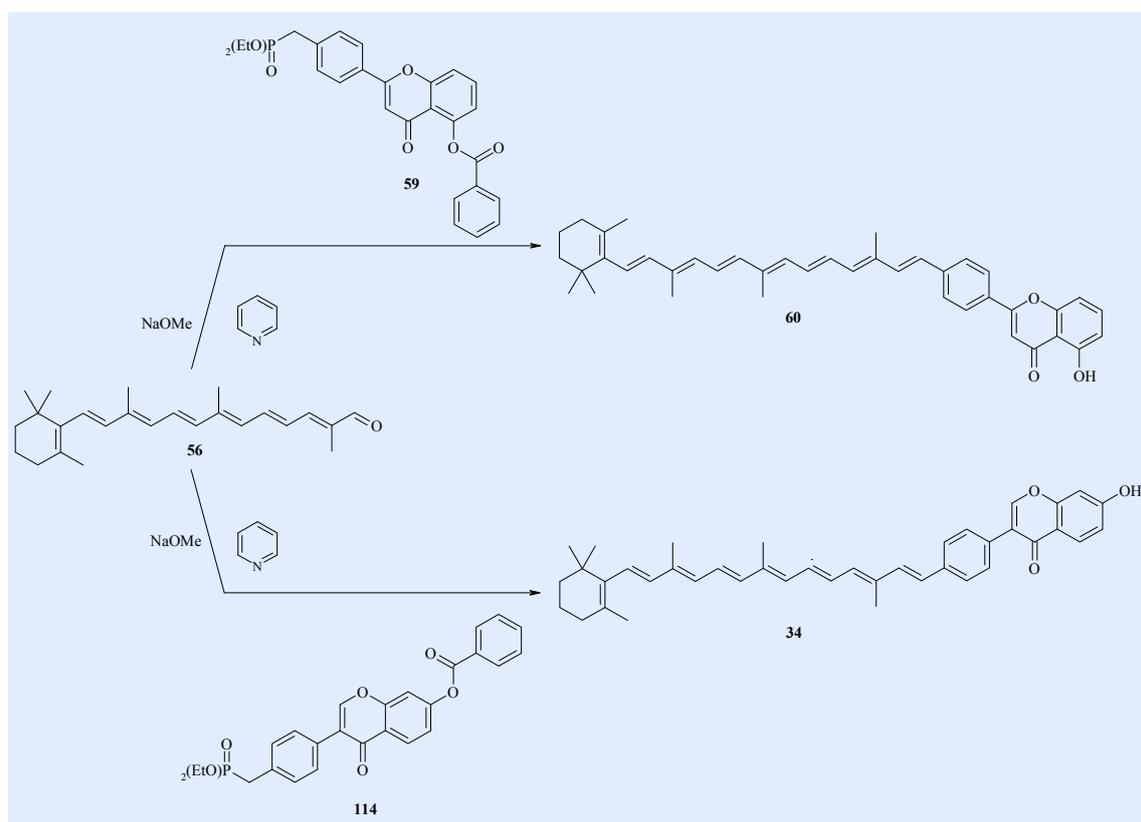
Abb. 68b: Übersicht der Inhibitionswirkung aller im Cumol-Assay untersuchten Wirkstoffe (Konzentration $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) in Abhängigkeit von Antioxidanstyp und Position sowie Anzahl der Hydroxy-Gruppen (Flächen-Relations-Methode)

In Abb. 68b und Tabelle 15 wird der Vollständigkeit halber die Inhibitionswirkung des 5-Hydroxy-4'-methylflavons **77** mit einem Wert von 3 % angegeben (s. 3.8.5.4.2), ist aber im Rahmen der Messgenauigkeit zu vernachlässigen.

4 Summary

Carotenylflavonoids are the synthetic realizable combination of interesting characteristics, here especially the antioxidant properties, of two substance classes (carotenoids (or polyenes) and flavonoids) into a single bichromophoric molecule.

Development of suitable synthesis sequences with respect to the adequate protection of the phenolic hydroxygroups, which are relevant for the antioxidant behaviour of the flavonoid component, leads to some bezoylflavone- and benzoylisoflavonephosphonates. Coupling of these with C₂₅-carotene aldehyde via Wittig-Horner-Emmons-reaction and following optimized workup makes new hydroxylated carotenylflavonoids available.



However the synthesis of dihydroxylated carotenylflavonoids like 4'-β-C₂₅-Carotenyl-7,8-dihydroxyisoflavone **117** causes some difficulties concerning the dosage of base required for the phosphonate deprotonation during the Wittig-Horner-Emmons-reaction.

So compound **117** cannot yet be obtained in satisfactory yield and purity. Nevertheless it will be an interesting compound in comparison with the two successfully synthesized and in the cumene-assay well tested hydroxy-carotenylflavonoids **34** and **60**.

The in vitro antioxidant-test of three hydroxylated flavonoids (**77**, **100** and **107**), two hydroxylated carotenylflavonoids (**34** and **60**) and β -Carotene **7** in the cumene-assay shows on the one hand an increasing inhibition of cumenehydroperoxide formation by increasing number of phenolic hydroxy-groups in the flavonoid component. On the other hand the coupling of a flavonoid with a carotenoid component has a positive effect on the inhibition of cumenehydroperoxidation. Moreover the position of the phenolic hydroxy group and its resulting effect has to be taken into consideration. So shows a 5-hydroxy-group (5-Hydroxy-4'-methylflavone **77**) no remarkable antioxidant behaviour, whereas a 7-hydroxy-group (e. g. 7-Hydroxy-4'-methylisoflavone **100** and 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavone **34**) absolutely acts inhibitory concerning the cumenehydroperoxidation. Since compound **107** (7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavone) presents a 1.6 times higher antioxidant potential (inhibition-time-method) than compound **100** (7-Hydroxy-4'-methylisoflavone) within the here investigated assay by mean concentration ($2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) it may be expected that 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7,8-dihydroxyisoflavone **107** also presents an adequate higher antioxidant potential than carotenylflavonoid **34** (4'- β -C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavone). In the present work this supposition cannot be investigated because of the afore-mentioned difficulties in preparation (3.7.7.2).

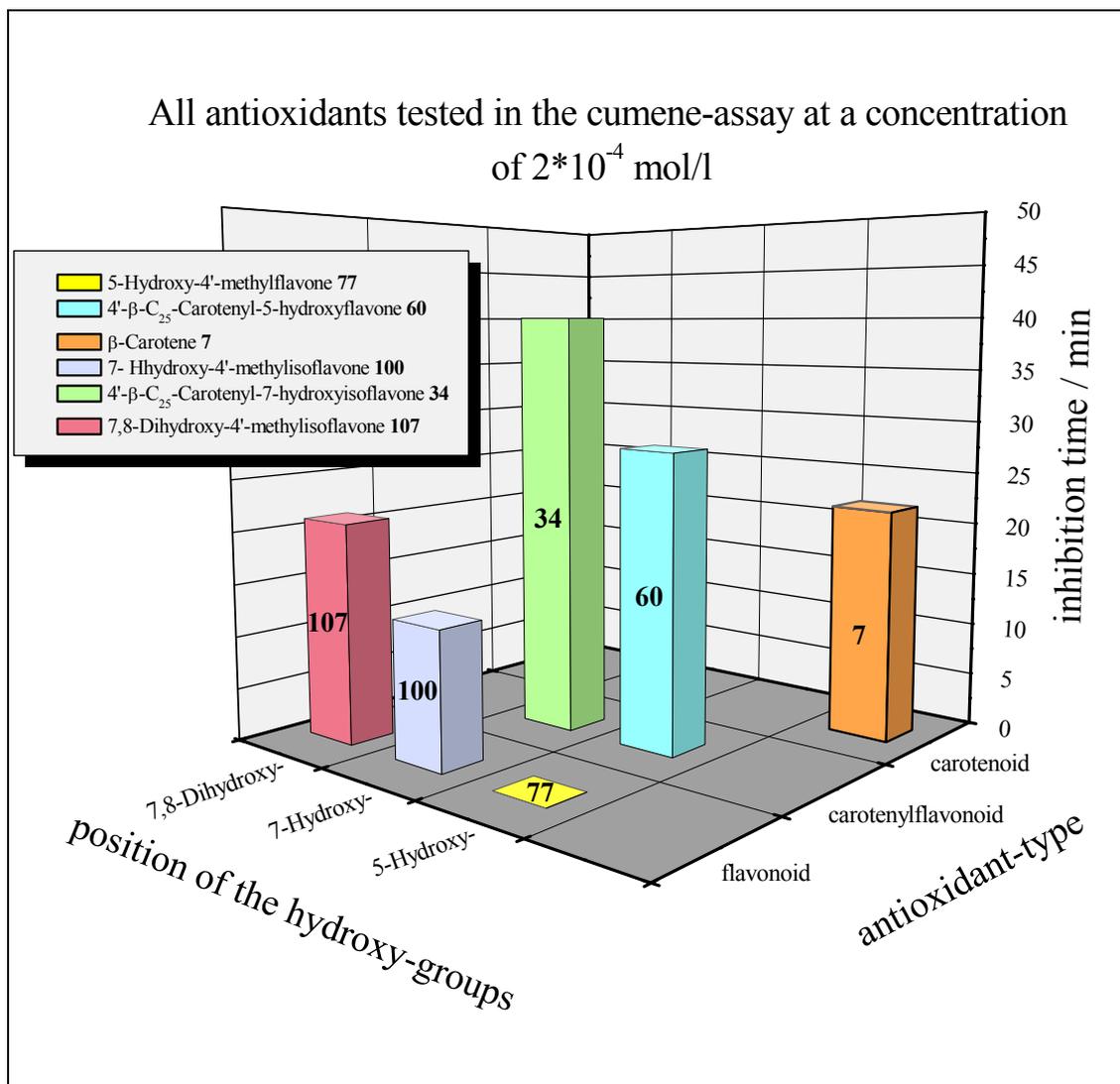


Figure 68a: Review about the inhibition times of all antioxidants tested in the cumene-assay (concentration $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) in dependence on antioxidant-type as well as position and number of the hydroxy-groups (inhibition-time-method)

antioxidant	concentration of antioxidant	mean inhibition-time
4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-7-hydroxyisoflavone 34	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 40 min
4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-5-hydroxyflavone 60	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 28 min
β -Carotene 7	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 22 min
7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavone 107	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 21 min
7-Hydroxy-4'-methylisoflavone 100	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 13 min
5-Hydroxy-4'-methylflavone 77	2*10 ⁻⁴ mol/l	t _i = 0 min

Table 14: Review about the inhibition times of all antioxidants tested in the cumene-assay (concentration 2*10⁻⁴ mol/l) (inhibition-time-method)

Within the here investigated substrates compound **34** is the most effective antioxidant with a 1.8 times higher inhibition time than β -Carotene **7** concerning the formation of cumenehydroperoxide (measured at an antioxidant concentration of 2*10⁻⁴ mol/l).

The area-relation-method gives a nearly similar picture.

antioxidant	concentration of antioxidant	inhibition
4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-7-hydroxyisoflavone 34	2*10 ⁻⁴ mol/l	45 %
4'- β -C ₂₅ -Caroteryl-5-hydroxyflavone 60	2*10 ⁻⁴ mol/l	31 %
β -Carotene 7	2*10 ⁻⁴ mol/l	30 %
7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavone 107	2*10 ⁻⁴ mol/l	30 %
7-Hydroxy-4'-methylisoflavone 100	2*10 ⁻⁴ mol/l	22 %
5-Hydroxy-4'-methylflavone 77	2*10 ⁻⁴ mol/l	3 %

Table 15: Review about the antioxidant potentials of all antioxidants tested in the cumene-assay (concentration 2*10⁻⁴ mol/l) (area-relation-method)

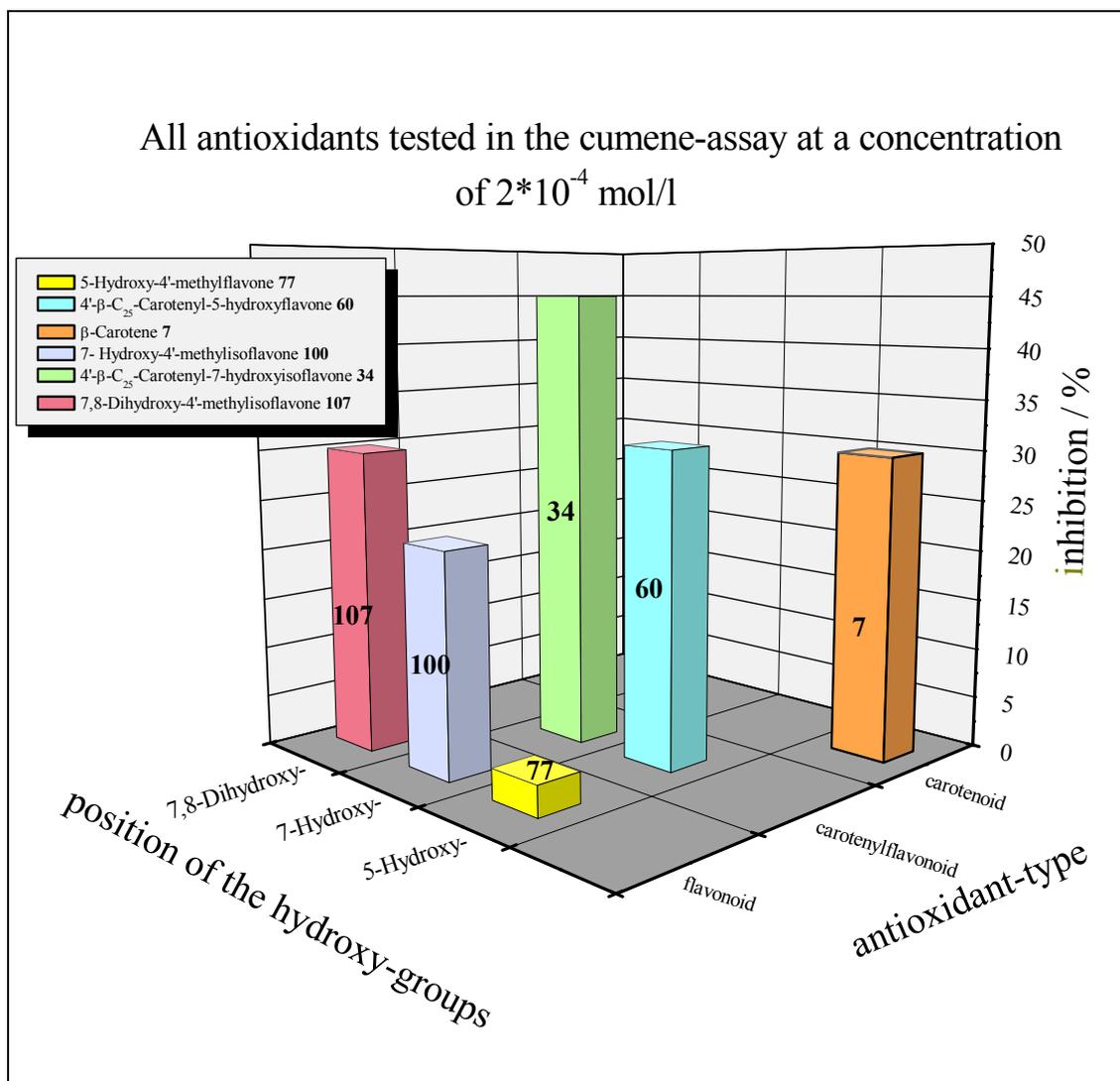


Figure 68b: Review about the antioxidant potentials of all antioxidants tested in the cumene-assay (concentration $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) in dependence on antioxidant-type as well as position and number of the hydroxy-groups (area-relation-method)

For the sake of completeness in figure 68b and table 15 the antioxidant potential of 5-Hydroxy-4'-methylflavone 77 is considered with a value of 3 % (s. 3.8.5.4.2), but it may be disregarded within the accuracy of measurement.

5 Experimentalteil

5.1 Allgemeines

Folgende Geräte, Materialien und Hilfsmittel wurden zur Reaktionskontrolle und Charakterisierung der jeweiligen Verbindung verwendet:

Schmelzpunkt (unkorrigiert): Reichert Thermovar

Dünnschichtchromatographie: Merck DC-Aluminiumfolien Kieselgel 60 mit UV-Indikator F₂₅₄

Säulenchromatographie: Merck Kieselgel 60, Fluka Kieselgel 60

UV/Vis-Spektroskopie: Perkin Elmer Lambda 19

IR-Spektroskopie: Bruker Vector 22

Massenspektrometrie: Varian MAT 311 A, Varian MAT 8200
Ionisierungsenergie: 70 eV

HRMS (hochaufgelöste Masse): Finnigan MAT 95
Ionisierungsenergie: 70 eV

¹H-NMR-Spektroskopie: 200 MHz, Bruker AM 200
300 MHz, Varian VXR 300
500 MHz, Bruker AM 500
Ohne TMS aufgenommene Spektren wurden auf folgende Signale nicht bzw. teilweise nicht deuterierter Lösemittelanteile normiert:
CHCl₃: Singulett bei 7.26 ppm

DMSO-d₅: Quintett bei 2.50 ppm

In den Spektren treten bei folgenden chemischen Verschiebungen (δ) H₂O-Signale auf:

In CDCl₃: Singulett bei 1.6-2.0 ppm

In DMSO-d₆: Singulett bei 3.3-3.4 ppm

¹³C{¹H}-NMR-Spektroskopie: 125 MHz, Bruker AM 500

Ohne TMS aufgenommene Spektren wurden auf folgende Signale normiert:

CDCl₃: Triplett bei 77.0 ppm

DMSO-d₆: Septett bei 39.43 ppm

³¹P{¹H}-NMR-Spektroskopie: 81 MHz, Bruker AM 200

Elementaranalysen: Institut für Pharmazeutische Chemie der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Die nachstehenden Verbindungen wurden von folgenden Firmen zur Verfügung gestellt:

β -Apo-12'-Carotenal **56**: BASF AG, Ludwigshafen

β -Carotin **7**: BASF AG, Ludwigshafen

5.2 Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Instituts für Organische Chemie I für die freundliche Aufnahme, stete Hilfsbereitschaft und die vielfältigen Beiträge zum Gelingen dieser Arbeit bedanken.

Darüber hinaus gilt mein herzlicher Dank:

- Frau M. Beuer und Herrn P. Behm für die Aufnahme der NMR-Spektren
- Frau I. Menzel für die Durchführung einiger IR- und UV/Vis-Messungen, sowie Frau D. Koschel für die Aufnahme zahlreicher IR-Spektren
- Herrn Dr. P. Tommes und Herrn R. Bürgel für die Aufnahme der Massenspektren
- dem Institut für Pharmazeutische Chemie der HHU Düsseldorf für die Durchführung der Elementaranalysen
- Herrn Dr. W. Schrader für die Messung der hochaufgelösten Massen (MPI für Kohlenforschung in Mühlheim a. d. R.)
- Frau V. Foremny für die Unterstützung in allen Sekretariatsangelegenheiten
- Herrn Privatdozent Dr. K. Schaper für die stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft sowie die Durchsicht dieser Arbeit

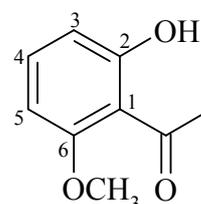
und in besonderem Maße meinen Eltern.

5.3 Darstellung der Methoxy-4'-methylflavone

5.3.1 Darstellung des 5-Methoxy-4'-methylflavons 53

Versuch 1:^[73] 2-Hydroxy-6-methoxyacetophenon 50

In einem 250 ml Einhalskolben mit Rückflusskühler werden 6.00 g (39.4 mmol) 2,6-Dihydroxyacetophenon **49**, 5.59 g (39.4 mmol) Methyljodid und 5.45 g (39.4 mmol) Kaliumcarbonat in 100 ml Aceton 22 h unter Rückfluss



gekocht (Ölbadtemperatur 80 – 90 °C). Nach Abkühlen der Reaktionsmischung wird der sandfarbene Niederschlag (anorganische Salze: KI, KHCO₃) abfiltriert. Das orange-braune Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt, wobei neben gelbem noch orange-brauner Rückstand im Kolben verbleibt (Rohprodukt und noch nachgefallene anorganische Salze). Der gesamte Rückstand wird mit Diethylether aufgenommen und der unlösliche gelb-braune Teil (anorganische Salze) wird wiederum abfiltriert und verworfen. Aus dem klaren zitronengelben Filtrat wird der Ether am Rotationsverdampfer entfernt. Im Kolben verbleibt das gelbe Rohprodukt, das nach Umkristallisation aus Methanol zitronengelbe Nadeln bildet.

Ausbeute: 5.07 g (30.5 mmol) **50**, 77 % (Lit.^[73] 84 %), C₉H₁₀O₃, M = 166.18

Smp.: 54 - 56 °C (Lit.^[73] 57 - 58 °C)

¹H-NMR (200 MHz / CDCl₃): (Abb. 69) vgl. Lit.^[73]

δ = 2.66 (s, 3H, CH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 6.38 (dd, 1H, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 0.8 Hz, H⁵), 6.56 (dd, 1H, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, H³), 7.33 (t, 1H, ³J = 8.4 Hz, H⁴), 13.25 (s, 1H, OH) ppm.

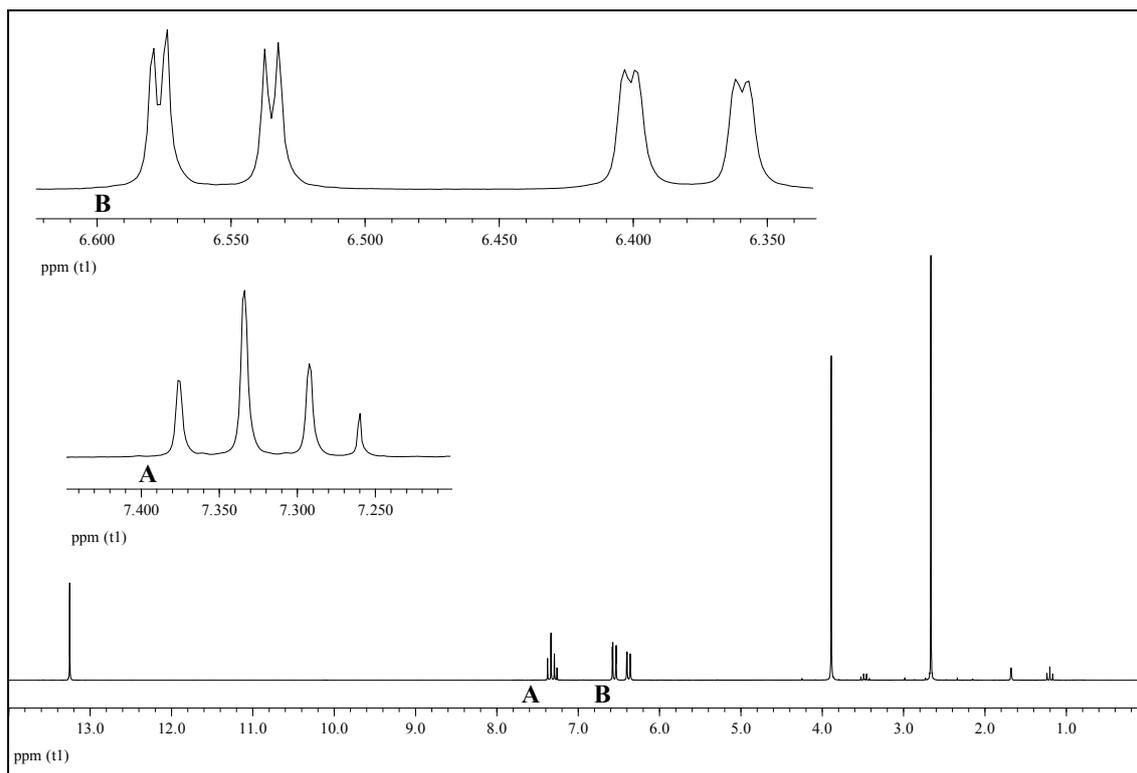


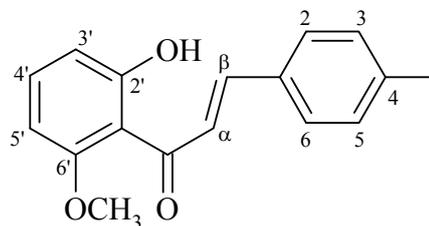
Abb. 69: ^1H -NMR-Spektrum (200 MHz / CDCl_3) von **50**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 33.63$ (CH_3), 55.57 (OCH_3), 101.07 (C^5), 110.64 (C^3), 111.24 (C^1), 136.04 (C^4), 161.48 (C^6), 164.60 (C^2), 205.14 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

Versuch 2:^[74] **1-(2-Hydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(4-methylphenyl)-2-propen-1-on 52**

In einem 500 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter werden 4.80 g (28.9 mmol) 2-Hydroxy-6-methoxyacetophenon **50** in 145 ml Methanol gelöst. Zu dieser gelben



Lösung werden unter Rühren langsam 145 ml Natronlauge (40 %) hinzugegossen, wobei sich die Reaktionsmischung grün färbt und erwärmt. Anschließend werden bei Raumtemperatur 5.23 g (43.5 mmol) *p*-Toluylaldehyd **51** zugegossen (rot-braun Färbung der Reaktionsmischung). Nach 21 h Rühren bei Raumtemperatur wird die Reaktionslösung unter Rühren und Einhalten eines pH-Wertes von ~ 2 auf ein Gemisch aus Eis und konz. Salzsäure gegeben. Dabei fällt orangefarbener Feststoff aus, welcher nach Abfiltrieren in 250 – 300 ml Chloroform gelöst und 4-mal mit je 150 ml Natriumhydrogencarbonatlösung (5 %) gewaschen wird. Die orangefarbene organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels wird das Filtrat am Rotationsverdampfer bis auf das orangefarbene Rohprodukt eingedunstet. Dieses wird aus Ethanol umkristallisiert und bringt ein kristallines orangefarbenes Produkt hervor.

Ausbeute: 5.92 g (22.2 mmol) **52**^[99,100], 77 %, C₁₇H₁₆O₃, M = 268.32

Smp.: 82 - 85 °C

¹H-NMR (200 MHz / CDCl₃): (Abb. 70)

δ = 2.40 (s, 3H, CH₃), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 6.43 (dd, 1H, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, H^{5'}), 6.62 (dd, 1H, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, H^{3'}), 7.22 (m, 2H, B-Teil eines [AB]₂-Systems, N = 7.9 Hz, H³H⁵), 7.36 (t, 1H, ³J = 8.3 Hz, H^{4'}), 7.52 (m, 2H, A-Teil eines [AB]₂-Systems, N = 8.2 Hz, H²H⁶), 7.81 (d, 1H, ³J_{trans} = 16.1 Hz, H^α), 7.83 (d, 1H, ³J_{trans} = 15.7 Hz, H^β), 13.19 (s, 1H, OH) ppm.

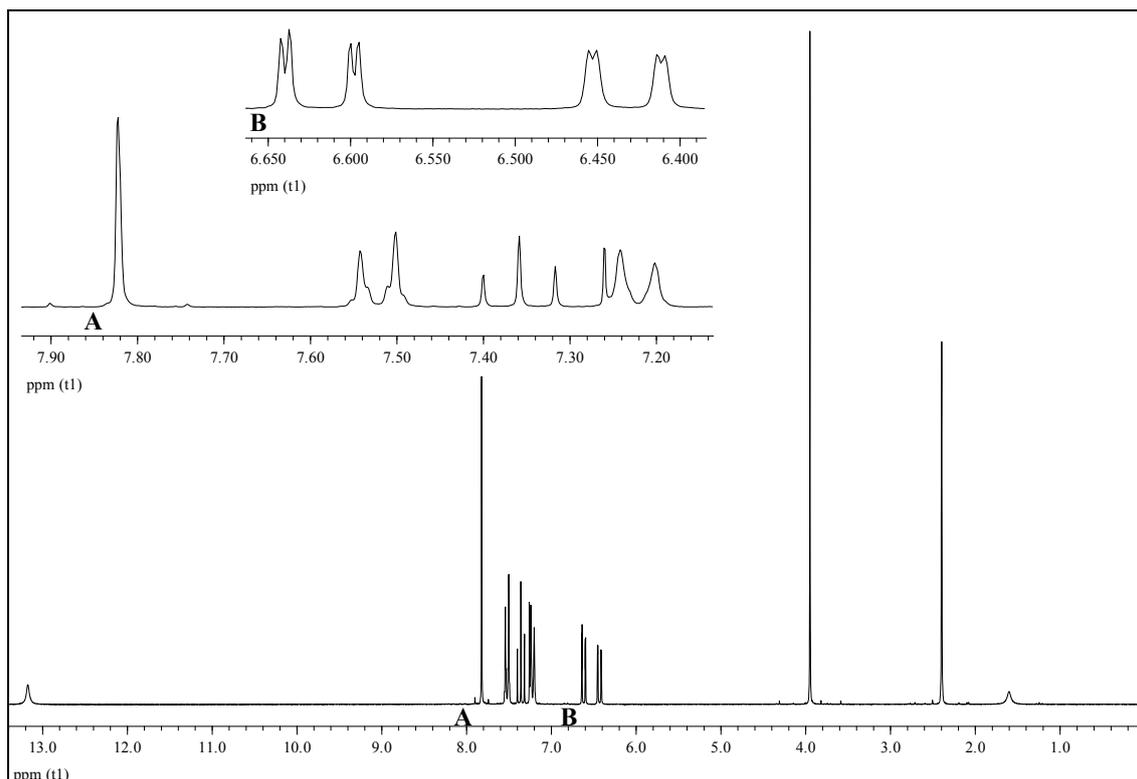


Abb. 70: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (200 MHz / CDCl_3) von **52**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 21.51$ (CH_3), 55.91 (OCH_3), 101.51 ($\text{C}^{5'}$), 110.90 ($\text{C}^{3'}$), 112.00 ($\text{C}^{1'}$), 126.53 (C^α), 128.49 (C^2C^6), 129.65 (C^3C^5), 132.55 (C^1), 135.76 (C^4), 140.83 (C^4), 143.13 (C^β), 160.93 (C^6), 164.80 ($\text{C}^{2'}$), 194.48 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS m/z (%) = 268 (23) [M^+], 267 (21), 253 (10), 251 (7), 177 (51), 165 (10), 151 (44), 150 (53), 145 (11), 136 (16), 122 (33), 118 (16), 117 (35), 116 (23), 108 (46), 107 (44), 105 (26), 92 (12), 91 (62), 77 (11), 65 (38), 32 (100).

UV-Vis (CH_2Cl_2):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 339 (4.41) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 71)

$\tilde{\nu}$ = 2971 (CH₃-Valenz), 1632 (C=O *o*-Hydroxyarylketone/C=C-Valenz), 1582 (Ringschw. Aromat), 1454 (CH₃-Def.), 1360 (O-H-Def.), 1240 (C-O-C-Valenz), 1206-1180 (C-OH-Valenz), 1090 (C-O-C-Valenz), 984 (H-C=C-H-Def.) cm⁻¹.

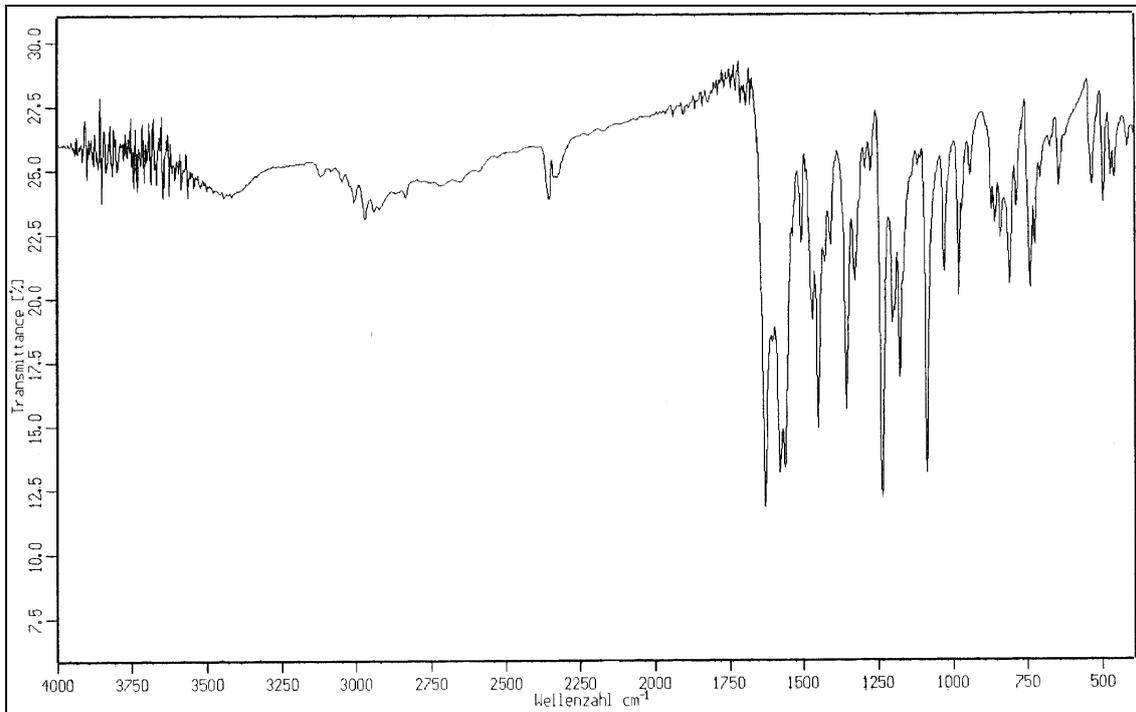
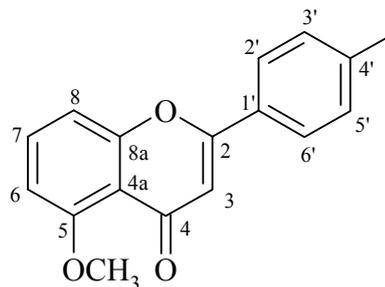


Abb. 71: IR-Spektrum (KBr) von **52**

Elementaranalyse: ber.: C: 76.10 % H: 6.01 %
gef.: C: 76.13 % H: 5.95 %

Versuch 3:^[75] **5-Methoxy-4'-methylflavon 53**

5.40 g (20.1 mmol) 2'-Hydroxy-6'-methoxy-4-methylchalkon **52** werden in einem 100 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler in 60 ml (0.84 mol) Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst und nach Zugabe von 0.20 g (0.79 mmol) Iod unter Rückfluss gekocht. Nach 50 min ist die Reaktion



abgeschlossen (DC (Dünnschichtchromatographie)-Kontrolle (stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Diethylether)). Man lässt die Reaktionsmischung abkühlen und gießt sie dann zur Hydrolyse unter Rühren auf eine Mischung aus Eiswasser und konz. Salzsäure (pH ~ 2). Dabei entsteht cremefarbener bis ockerfarbener flockiger Niederschlag. Die Mischung verbleibt zum Absetzen des Niederschlags im Kühlschrank. Falls sich der Niederschlag im Laufe der Zeit grün-blau färbt, wird nochmals mit etwas konz. Salzsäure angesäuert, bis er wieder gelblich und flockig wird (leichter filtrierbare Form). Anschließend wird der Niederschlag abgesaugt und in Chloroform gelöst. Die dabei entstehenden zwei Phasen werden im Scheidetrichter getrennt und die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels entfernt man das Lösemittel am Rotationsverdampfer. Im Kolben verbleibt das orangefarbene Rohprodukt, welches aus Ethanol umkristallisiert wird. Das Produkt **53** entsteht in Form bernsteinfarbener bis orangefarbener Kristalle.

Ausbeute: 4.54 g (17.0 mmol) **53**^[86,88,99], 85 % (Lit.^[86] 42 %), C₁₇H₁₄O₃, M = 266.30

Smp.: 153 - 156 °C

¹H-NMR (200 MHz / CDCl₃): (Abb. 72)

δ = 2.44 (s, 3H, CH₃), 3.99 (s, 3H, OCH₃), 6.71 (s, 1H, H³), 6.81 (dd, 1H, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 0.6 Hz, H⁶), 7.11 (dd, 1H, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, H⁸), 7.29 (m, 2H, M-Teil eines

[AM]₂-Systems, $N = 8.0$ Hz, H^3H^5), 7.55 (t, 1H, $^3J = 8.4$ Hz, H^7), 7.77 (m, 2H, A-Teil eines [AM]₂-Systems, $N = 8.3$ Hz, H^2H^6) ppm.

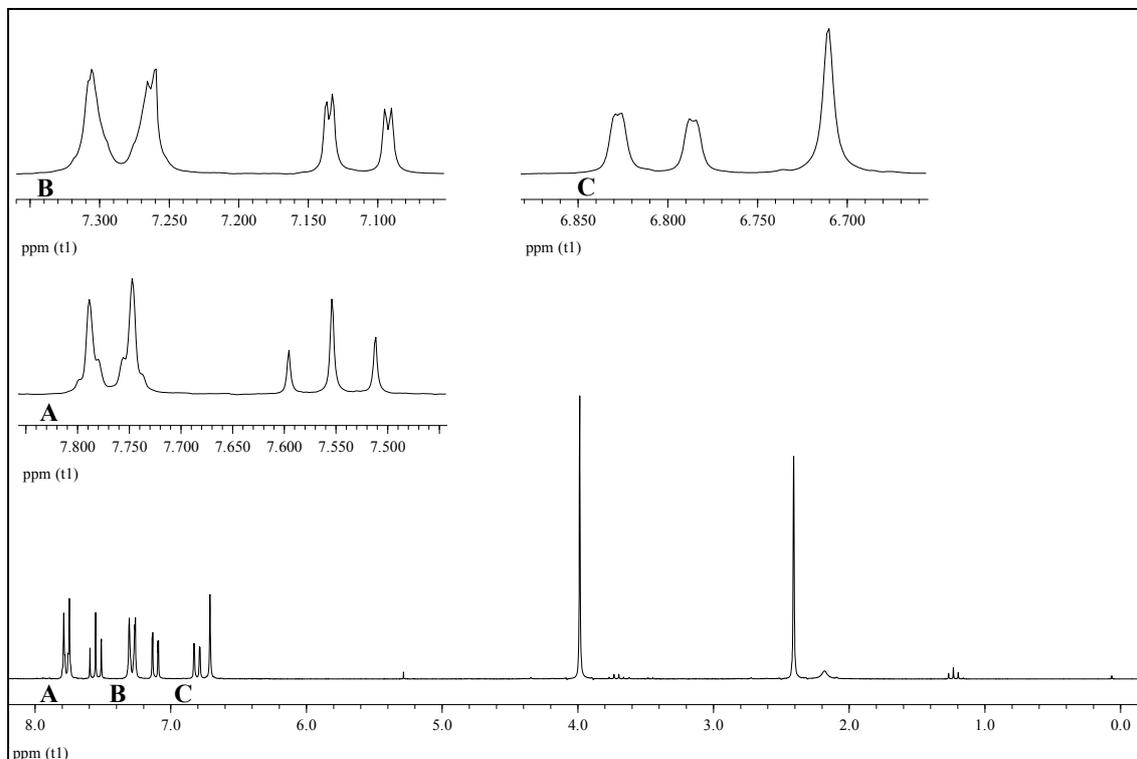


Abb. 72: ¹H-NMR-Spektrum (200 MHz / CDCl₃) von **53**

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz / CDCl₃):

$\delta = 21.47$ (CH₃), 56.45 (OCH₃), 106.35 (C⁶), 108.35 (C³), 110.11 (C⁸), 114.46 (C^{4a}), 125.98 (C²C⁶), 128.50 (C¹), 129.65 (C³C⁵), 133.67 (C⁷), 141.97 (C⁴), 158.24 (C^{8a}), 159.70 (C⁵), 161.40 (C²), 178.43 (C=O) ppm.

MS m/z (%) = 266 (100) [M⁺], 265 (50), 237 (48), 221 (27), 220 (95), 120 (24), 119 (14), 116 (14), 115 (32), 107 (20), 92 (16), 91 (11).

UV-Vis (CH₂Cl₂):

λ_{\max} (lg ϵ) = 321 (4.06), 295 (4.11), 266 (4.27) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 73)

$\tilde{\nu} = 3064\text{-}3003$ (C-H-Valenz Aromat), $2962\text{-}2880$ (CH₃-Valenz), 2838 (O-CH₃-Valenz), 1636 (C=O/C=C-Valenz), 1600 (Ringschw. Aromat), 1474 (CH₃-Def.), 1379 (CH₃-Def.), 1266 (C-O-C-Valenz), 1099 (C-O-C-Valenz), 817 (C=C-H-Def.) cm⁻¹.

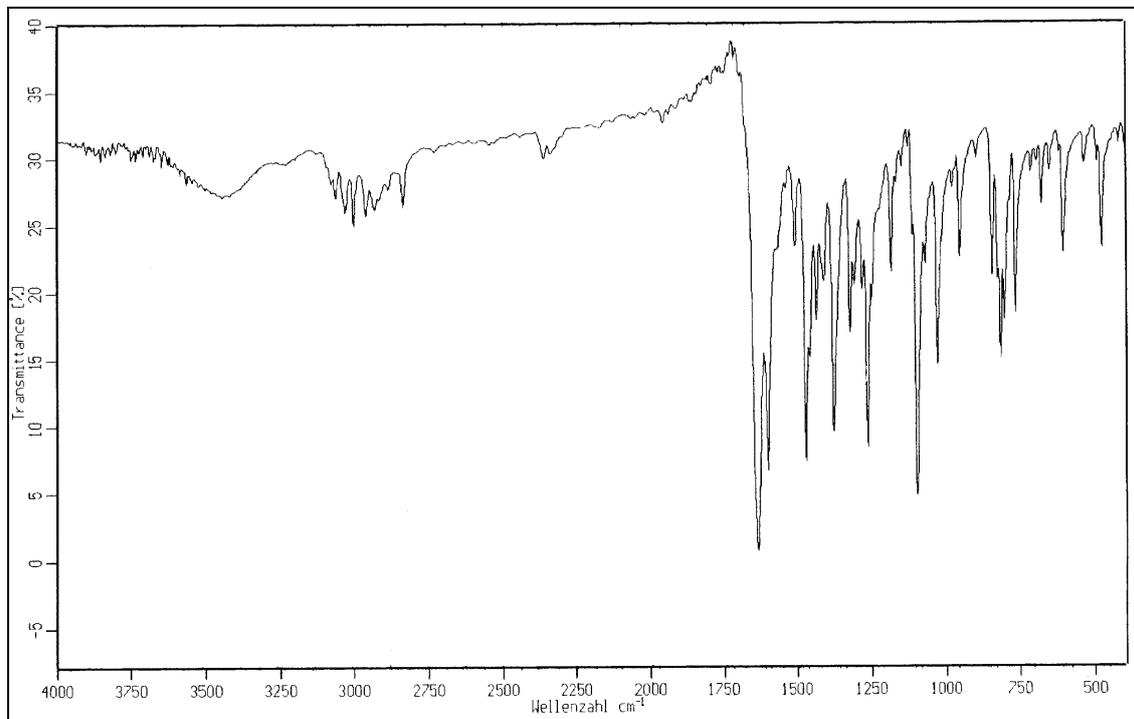


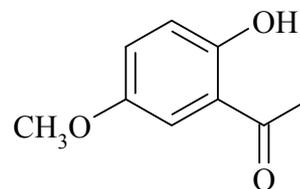
Abb. 73: IR-Spektrum (KBr) von **53**

Elementaranalyse: ber.: C: 76.68 % H: 5.30 %
gef.: C: 76.31 % H: 5.14 %

5.3.2 Darstellung des 6-Methoxy-4'-methylflavons **66**

Versuch 4:^[73] 2-Hydroxy-5-methoxyacetophenon **64**

In einem 250 ml Einhalskolben mit Rückflusskühler werden 6.00 g (39.4 mmol) 2,5-Dihydroxyacetophenon **63**, 5.45 g (39.4 mmol) Kaliumcarbonat und 5.59 g (39.4 mmol) Methyljodid in 100 ml



Aceton 22 h unter Rückfluss gekocht (Ölbadtemperatur 80 - 90 °C). Nach Abkühlen der gelben Reaktionsmischung wird der sandfarbene Niederschlag (KI, KHCO₃) abfiltriert. Das braune Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt, wonach im Kolben gelber und bräunlicher Rückstand verbleibt. Dieser wird mit Diethylether aufgenommen, und nochmals nicht in Lösung gehender sandfarbener und brauner Feststoff (anorganische Salze) abgesaugt. Aus dem gelben Filtrat wird der Ether am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält als Rohprodukt maisgelbe Kristalle, die aus Ethanol umkristallisiert werden.

Ausbeute: 4.87 g (29.3 mmol) **64**, 74 % (Lit.^[101] 16 %), C₉H₁₀O₃, M = 166.18

Smp.: 47 - 48 °C (Lit.^[101] 49 - 49.5 °C)

¹H-NMR (300 MHz / CDCl₃ / TMS): (Abb. 74)

δ = 2.63 (s, 3H, CH₃), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 6.93 (d, 1H, ³J = 9.0 Hz, H³), 7.13 (dd, 1H, ³J = 9.0 Hz, ⁴J = 3.1 Hz, H⁴), 7.18 (d, 1H, ⁴J = 3.0 Hz, H⁶), 7.26 (s, CHCl₃), 11.86 (s, 1H, OH) ppm.

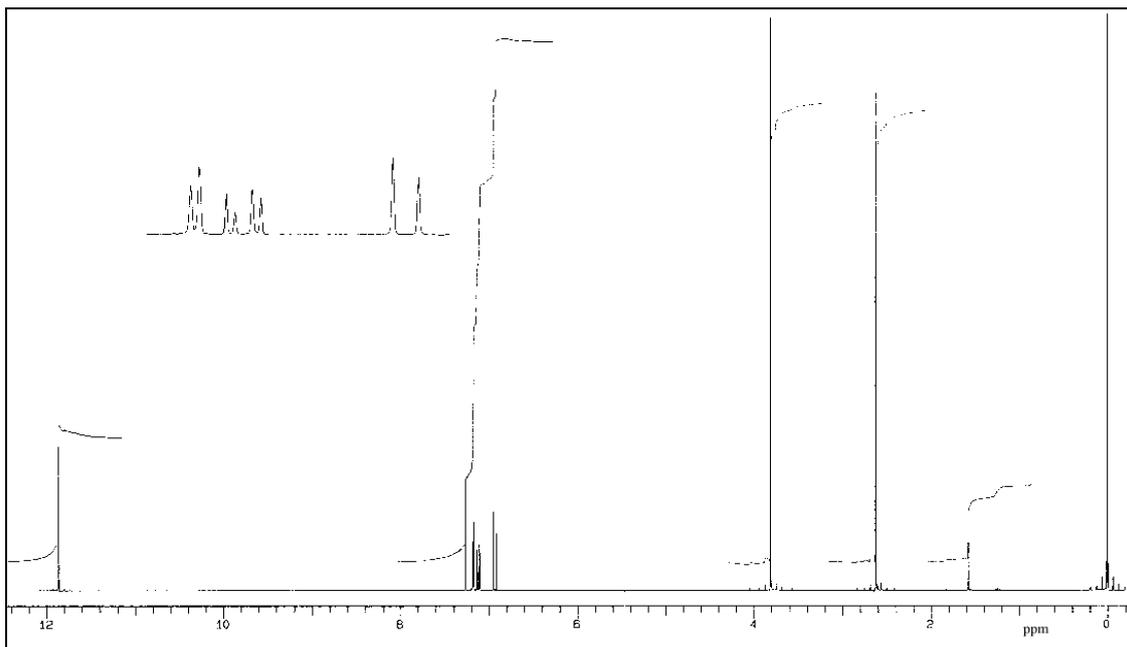
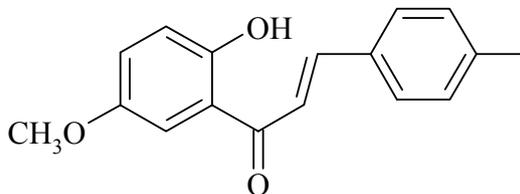


Abb. 74: ^1H -NMR-Spektrum (300 MHz / CDCl_3 / TMS) von **53**

Versuch 5:^[74] **1-(2-Hydroxy-5-methoxyphenyl)-3-(4-methylphenyl)-2-propen-1-on 65**

In einem 500 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter werden 4.80 g (28.9 mmol) 2-Hydroxy-5-methoxyacetophenon **64** in 150 ml Methanol gelöst



(weingelbe Lösung). Unter Rühren werden dann 150 ml Natronlauge (40 %) hinzugegossen, wobei sich die Reaktionsmischung braun färbt, bis schließlich gelblicher Feststoff ausfällt. Anschließend werden bei Raumtemperatur 5.23 g (43.5 mmol) *p*-Toluylaldehyd **51** zugegossen. Dabei wird die Reaktionsmischung zu einer rot-braunen festen Masse, die mit 400 – 500 ml Methanol in Lösung gebracht und 23 h bei Raumtemperatur gerührt wird. Die tiefrote Reaktionslösung gibt man dann unter Rühren und Einhalten eines pH-Wertes von 2 auf eine Mischung aus Eis und konz. Salzsäure. Der entstehende orangefarbene flockige Niederschlag wird abgesaugt, in 300 ml Chloroform gelöst und 4-mal mit je 150 ml wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (5 %) gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, anschließend mittels Filtration vom Trockenmittel befreit und am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedunstet. Nach Umkristallisation des so gewonnenen Rohprodukts aus Ethanol, erhält man einen orangefarbenen Feststoff.

Ausbeute: 4.13 g (15.4 mmol) **65**^[102], 53 % (Lit.^[103] 52 %), C₁₇H₁₆O₃, M = 268.32

Smp.: 94 - 96 °C (Lit.^[103] 93 - 94 °C)

¹H-NMR (500 MHz / CDCl₃): (Abb. 75) vgl. Lit.^[103]

δ = 2.40 (s, 3H, CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 6.97 (d, 1H, ³J = 9.1 Hz, H³), 7.14 (dd, 1H, ³J = 9.0 Hz, ⁴J = 3.0 Hz, H⁴), 7.24 (m, 2H, M-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 7.9 Hz, H³H⁵), 7.36 (d, 1H, ⁴J = 3.0 Hz, H⁶), 7.55 (d, 1H, ³J_{trans} = 15.6 Hz, H^α), 7.56 (m, 2H, A-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 7.9 Hz, H²H⁶), 7.90 (d, 1H, ³J_{trans} = 15.4 Hz, H^β), 12.43 (s, 1H, OH) ppm.

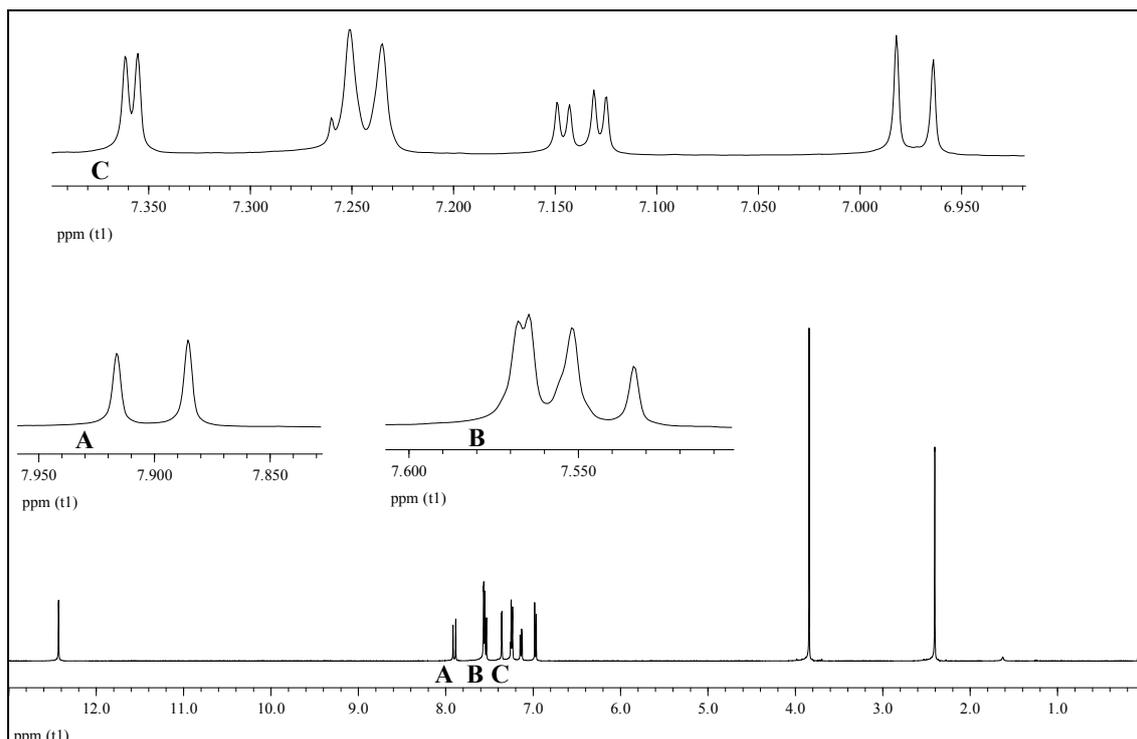


Abb. 75: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **65**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3): vgl. Lit.^[103]

$\delta = 21.55$ (CH_3), 56.09 (OCH_3), 112.91 ($\text{C}^{6'}$), 118.98 (C^{α}), 119.27 ($\text{C}^{3'}$), 119.65 ($\text{C}^{1'}$), 123.69 ($\text{C}^{4'}$), 128.70 (C^2C^6), 129.76 (C^3C^5), 131.81 (C^1), 141.61 (C^4), 145.68 (C^{β}), 151.65 ($\text{C}^{5'}$), 157.87 ($\text{C}^{2'}$), 193.37 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS m/z (%) = 268 (17) [M^+], 235 (2), 177 (7), 165 (5), 150 (100), 135 (15), 117 (16), 107 (26), 91 (29), 79 (22), 65 (13), 52 (12), 39 (11), 32 (36).

UV-Vis (CH_2Cl_2):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 331 (4.59) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 76)

$\tilde{\nu} = 3000$ (C-H-Valenz Aromat), 2970-2910 (CH_3 -Valenz), 2839 (O- CH_3 -Valenz), 1643 ($\text{C}=\text{O}$ *o*-Hydroxyarylketone/ $\text{C}=\text{C}$ -Valenz), 1566 (Ringschw. Aromat), 1486 (Ringschw.

Aromat), 1417 (O-H-Def.), 1362 (CH₃-Def.), 1263 (C-O-C-Valenz/O-H-Def.), 1182 (C-O-C-Valenz), 1048 (C-OH-Valenz), 988 (H-C=C-H-Def.), 823 (C=C-H-Def.) cm⁻¹.

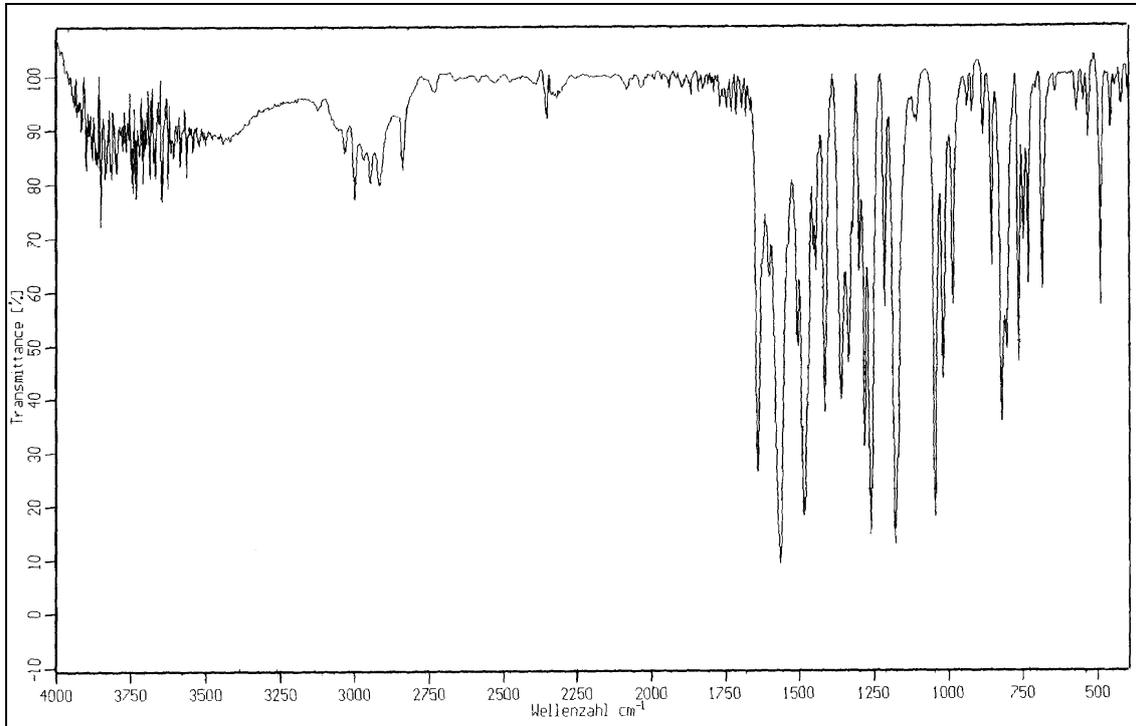
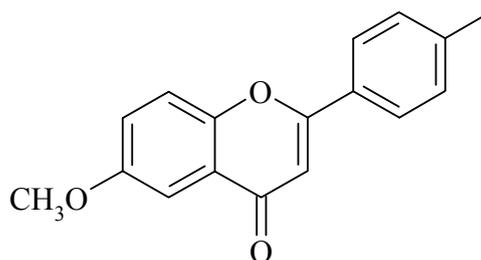


Abb. 76: IR-Spektrum (KBr) von **65**

Versuch 6:^[75] **6-Methoxy-4'-methylflavon 66**

In einem 100 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler werden 4.00 g (14.9 mmol) 2'-Hydroxy-5'-methoxy-4-methylchalkon **65** in 45 ml (0.63 mol) DMSO gelöst und mit 0.15 g (0.59 mmol) Iod versetzt. Diese rote



Lösung wird unter Rückfluss gekocht und der Reaktionsverlauf mittels DC-Kontrolle (stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Dichlormethan oder Diethylether) verfolgt. Nach 60 min kann die Reaktion als abgeschlossen betrachtet werden. Man lässt die dunkelrote Lösung abkühlen und hydrolysiert indem man sie unter Rühren auf Eiswasser gießt. Zunächst fällt ein cremefarbener Feststoff aus, der mit der Zeit grünblau wird. Durch Zugabe von konz. Salzsäure erhält man wieder gelblichen flockigen Niederschlag, den man absaugt und in Ethanol löst. Diese Lösung wird mit wässriger Natriumthiosulfatlösung (20 %) gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels und Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer wird der orange-gelbe Rückstand aus Ethanol umkristallisiert. Man erhält als Produkt **66** einen bernsteinfarbenen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 3.63 g (13.6 mmol) **66**, 91 % (Lit.^[104] 80 %, Lit.^[105] 86 %), C₁₇H₁₄O, M = 266.30

Smp.: 151 - 154 °C (Lit.^[104] 161 - 162 °C, Lit.^[105] 160 - 161 °C, Lit.^[106] 144 - 148 °C)

¹H-NMR (300 MHz / CDCl₃ / TMS): (Abb. 77)

δ = 2.45 (s, 3H, CH₃), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 6.80 (s, 1H, H³), 7.26 (s, CHCl₃), 7.29 (dd, 1H, ³J = 9.1 Hz, ⁴J = 3.1 Hz, H⁷), 7.33 (m, 2H, M-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 8.0 Hz, H^{3'}H^{5'}), 7.51 (d, 1H, ³J = 9.1 Hz, H⁸), 7.60 (d, 1H, ⁴J = 3.1 Hz, H⁵), 7.83 (m, 2H, A-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 8.3 Hz, H^{2'}H^{6'}) ppm.

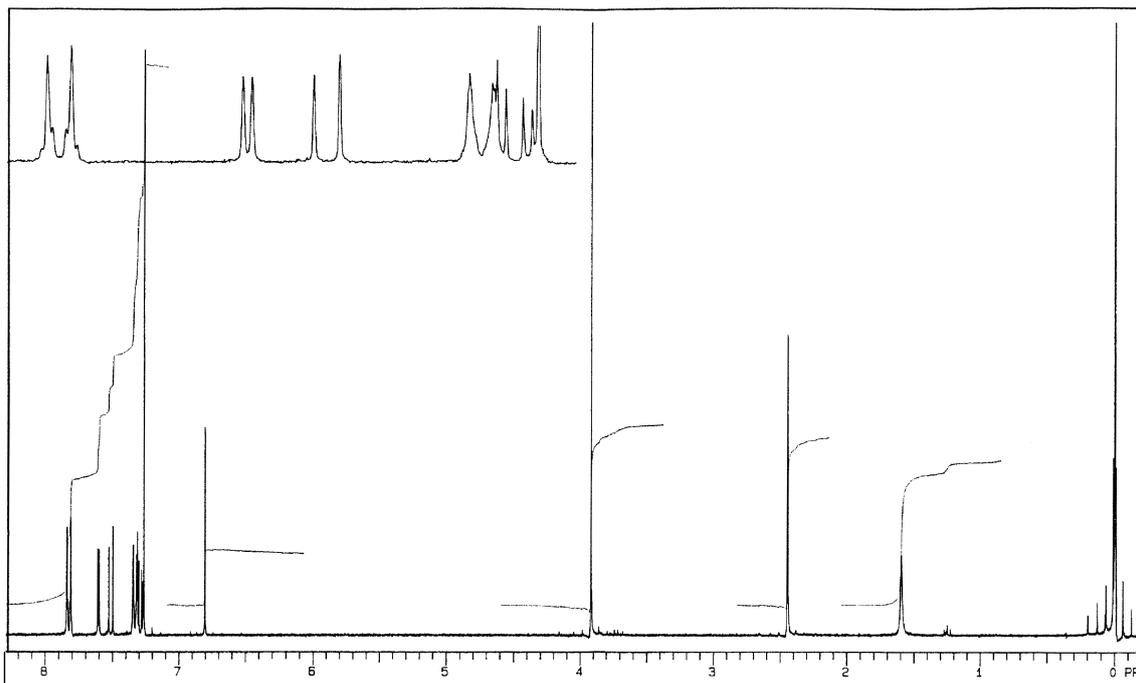


Abb. 77: ^1H -NMR-Spektrum (300 MHz / CDCl_3 / TMS) von **66**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 21.52$ (CH_3), 55.93 (OCH_3), 104.77 (C^5), 106.13 (C^3), 119.47 (C^7), 123.78 (C^8), 124.43 (C^{4a}), 126.19 (C^2 , C^6), 128.96 (C^1), 129.74 (C^3 , C^5), 142.20 (C^4), 151.07 (C^{8a}), 156.96 (C^6), 163.52 (C^2), 178.31 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS m/z (%) = 266 (1) [M^+], 160 (3), 150 (3), 79 (4), 64 (100), 32 (36).

UV-Vis (CH_2Cl_2):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 306 (4.60), 274 (4.61) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 78)

$\tilde{\nu} = 3037$ - 3006 (C-H-Valenz Aromat), 2974 - 2912 (CH_3 -Valenz), 2834 (O- CH_3 -Valenz), 1635 (C=O/C=C-Valenz), 1580 (Ringschw. Aromat), 1486 (Ringschw. Aromat), 1434 (CH_3 -Def.), 1357 (CH_3 -Def.), 1291 (C-O-C-Valenz), 1254 (C-O-C-Valenz), 1024 (C-O-C-Valenz), 827 (C=C-H-Def.) cm^{-1} .

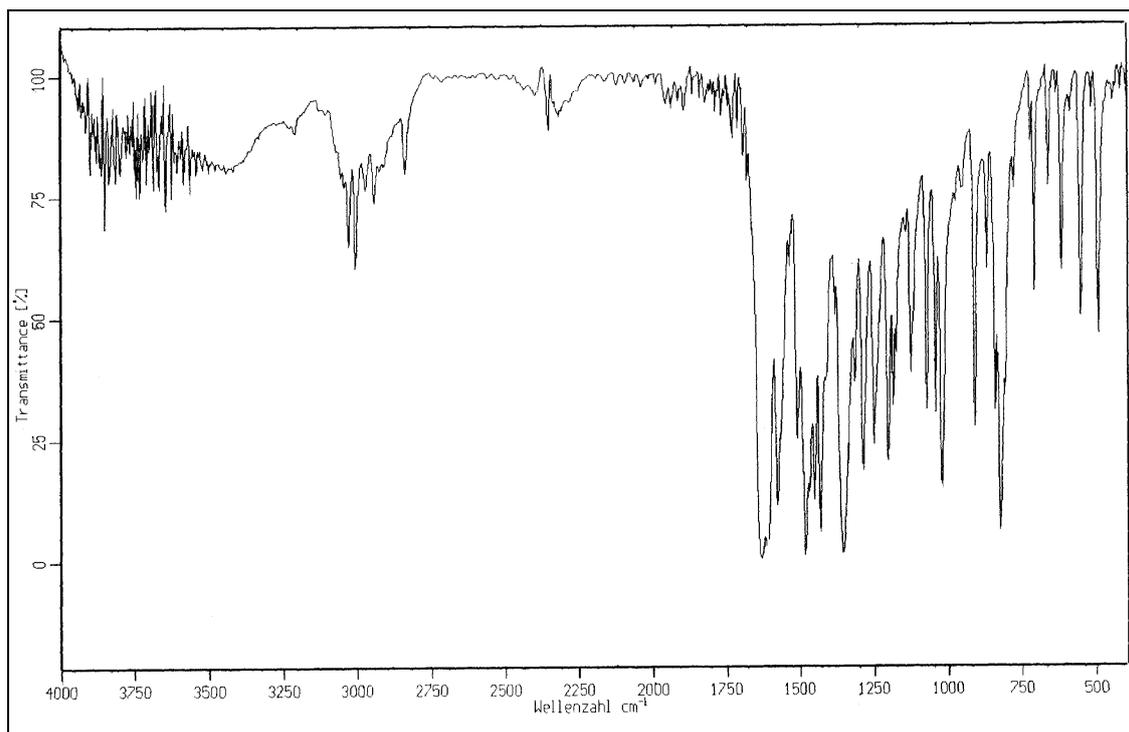
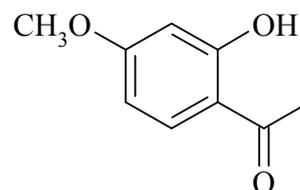


Abb. 78: IR-Spektrum (KBr) von **66**

5.3.3 Darstellung des 7-Methoxy-4'-methylflavons 70

Versuch 7:^[73] 2-Hydroxy-4-methoxyacetophenon 68

In einem 250 ml Einhalskolben mit Rückflusskühler werden 5.00 g (32.9 mmol) 2,4-Dihydroxyacetophenon **67**, 4.55 g (32.9 mmol) Kaliumcarbonat und 4.67 g (32.9 mmol) Methyljodid



in 85 ml Aceton (rote Reaktionsmischung) 22 h unter Rückfluss gekocht (Ölbadtemperatur 80 - 90 °C). Nach Abkühlen der Reaktionsmischung werden die anorganischen Salze (KI, KHCO₃; hier vermutlich durch die rote Lösung rosa angefärbt) abgesaugt. Aus dem Filtrat wird das Aceton am Rotationsverdampfer entfernt. Während des Einengens fällt nochmals rosafarbener Niederschlag nach, der neben rot-orangefarbenem Rückstand mit Diethylether aufgenommen wird. Man saugt den unlöslichen rosafarbenen Feststoff ab und engt das Filtrat wiederum am Rotationsverdampfer ein. Im Kolben verbleibt ein öliger orangefarbener Rückstand, der über Nacht im Kühlschrank zu orangefarbenen Nadeln durchkristallisiert. Dieses Rohprodukt wird aus Ethanol umkristallisiert, wobei blasslachsfarbene Nadeln entstehen.

Ausbeute: 4.97 g (29.9 mmol) **68**, 91 % (Lit.^[73] 92 %), C₉H₁₀O₃, M = 166.18

Smp.: 47 - 49 °C (Lit.^[73] 49 - 50 °C)

¹H-NMR (300 MHz / CDCl₃ / TMS): (Abb. 79) vgl.Lit.^[73]

δ = 2.56 (s, 3H, CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 6.47-6.42 (m, 2H, H³H⁵), 7.27 (s, CHCl₃), 7.63 (d, 1H, ³J = 9.1 Hz, H⁶), 12.76 (s, 1H, OH) ppm.

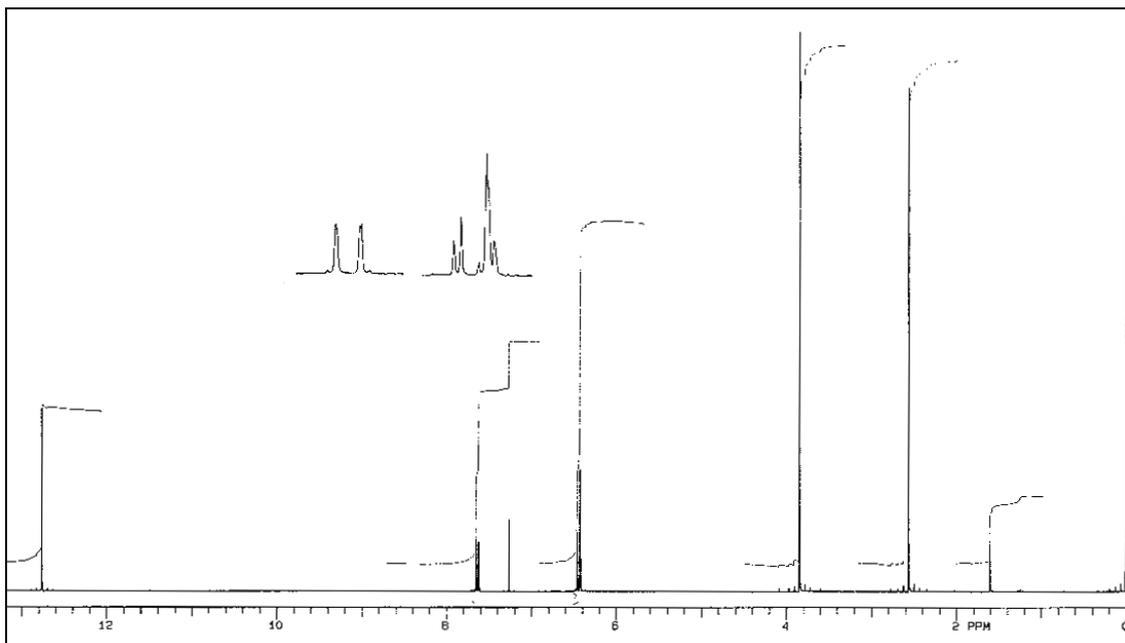
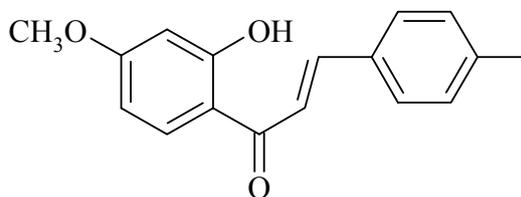


Abb. 79: ¹H-NMR-Spektrum (300 MHz / CDCl₃ / TMS) von **68**

Versuch 8:^[74] **1-(2-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-3-(4-methylphenyl)-2-propen-1-on 69**

In einem 500 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter werden 4.60 g (27.7 mmol) 2-Hydroxy-4-methoxyacetophenon **68** in 140 ml



Methanol gelöst. Zu der klaren blasslachsfarbenen Lösung werden langsam unter Rühren 140 ml Natronlauge (40 %) hinzuge tropft (Eisbadkühlung). Dabei färbt sich die Lösung zunächst gelblich und wird trübe, bis schließlich weißer Feststoff ausfällt. Es werden 5.00 g (41.6 mmol) *p*-Toluylaldehyd **51** bei Raumtemperatur zugetropft, wobei sich die Reaktionsmischung zitronengelb färbt, aber trübe bleibt. Nun wird der Ansatz 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Während dieser Zeit bleibt die Reaktionsmischung gelb und es bildet sich dickklumpiger Niederschlag. Die gesamte Mischung wird unter Einhaltung eines pH-Wertes von 2 auf ein Gemisch aus Eis und konz. Salzsäure gegeben. Dabei entsteht ein leuchtend gelber flockiger Niederschlag, welcher abgesaugt wird. Man löst diesen Feststoff in 300 ml Chloroform und wäscht ihn zur Neutralisation 4-mal mit je 150 ml wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (5 %). Die Chloroformphase wird über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels und Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer kristallisieren aus Ethanol gelbe Nadeln aus.

Ausbeute: 3.29 g (12.3 mmol) **69**, 44 %, C₁₇H₁₆O₃, M = 268.32

Smp.: 116 - 118 °C (Lit.^[107] 120 - 121 °C)

¹H-NMR (500 MHz / CDCl₃): (Abb. 80)

δ = 2.40 (s, 3H, CH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 6.50-6.47 (m, 2H, H³H⁵), 7.23 (m, 2H, M-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 7.9 Hz, H³H⁵), 7.54 (d, 1H, ³J_{trans} = 15.5 Hz, H^a), 7.55 (m, 2H, A-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 8.0 Hz, H²H⁶), 7.83 (d, 1H, ³J = 8.6 Hz, H⁶), 7.87 (d, 1H, ³J_{trans} = 15.4 Hz, H^β), 13.50 (s, 1H, OH) ppm.

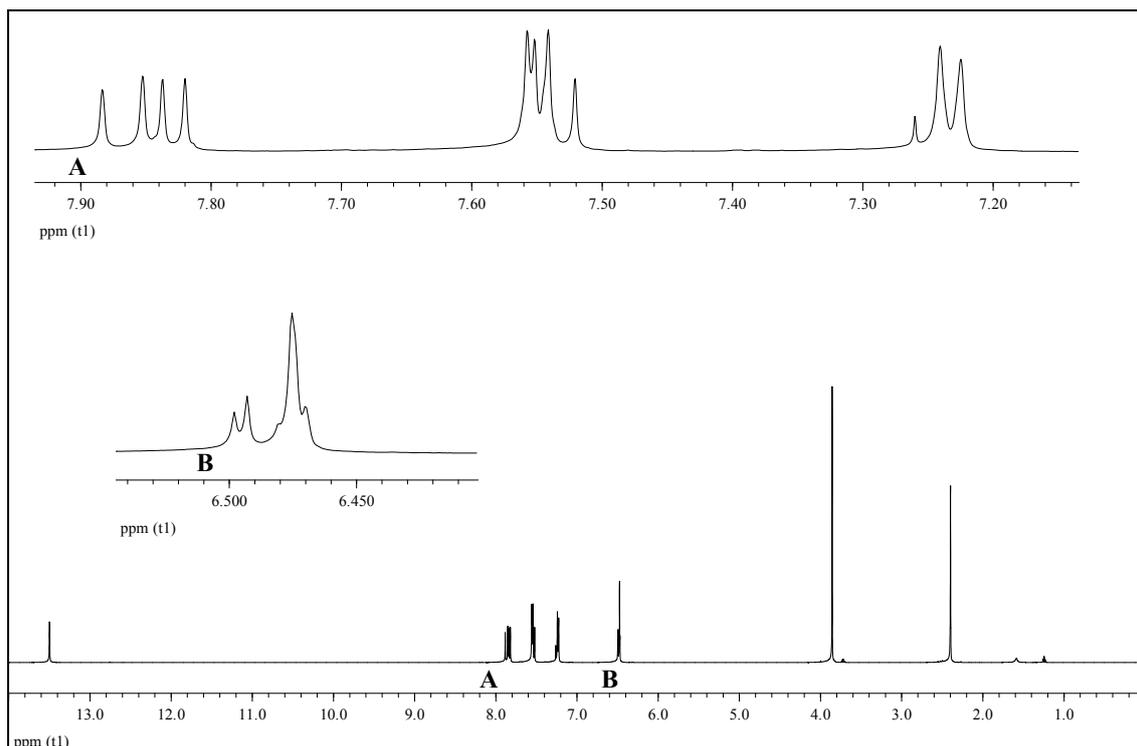


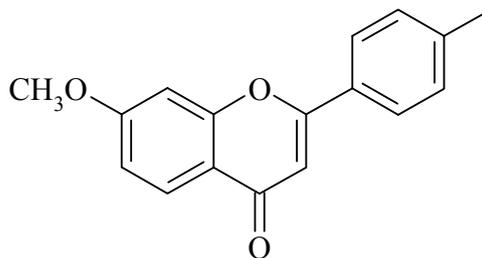
Abb. 80: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **69**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 21.53$ (CH_3), 55.56 (OCH_3), 101.03 ($\text{C}^{3'}$), 107.66 ($\text{C}^{5'}$), 114.10 ($\text{C}^{1'}$), 119.19 (C^{α}), 128.55 (C^2C^6), 129.72 (C^3C^5), 131.18 ($\text{C}^{6'}$), 132.03 (C^1), 141.24 (C^4), 144.48 (C^{β}), 166.11 ($\text{C}^{2'}$), 166.64 ($\text{C}^{4'}$), 191.91 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

Versuch 9:^[75] **7-Methoxy-4'-methylflavon 70**

In einem 100 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler werden 3.10 g (11.6 mmol) 2'-Hydroxy-4'-methoxy-4-methylchalcon **69** in 36 ml (0.51 mol) DMSO gelöst. Man fügt 0.12 g (0.47 mmol) Iod hinzu und kocht das



rote Gemisch 60 min unter Rückfluss. Der Reaktionsverlauf wird dabei mittels DC-Kontrolle (stationäre Phase: Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan oder Diethylether) verfolgt. Nach 60 min wird die Reaktion abgebrochen, d. h. man lässt die orangefarbene Reaktionslösung abkühlen und gibt sie dann unter Rühren auf Eiswasser. Hierbei entsteht ein flockiger cremefarbener Niederschlag, der nach kurzer Zeit grau-blau wird. Durch Zugabe von konz. Salzsäure erhält man wieder cremefarbenen Niederschlag (leichter filtrierbare Form, pH ~ 1). Dieser wird abgesaugt, in 500 ml Chloroform gelöst und mit wässriger Natriumthiosulfatlösung (20 %) gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels wird das Chloroform am Rotationsverdampfer entfernt. Der im Kolben verbleibende gelbe Feststoff wird aus Methanol umkristallisiert. Man erhält auf diese Weise blasslachsfarbene Kristalle.

Ausbeute: 2.51 g (9.43 mmol) **70**, 82 %, C₁₇H₁₄O₃, M = 266.30

Smp.: 131 - 133 °C (Lit.^[107] 136 - 138 °C, Lit.^[108] 133 - 134 °C)

¹H-NMR (500 MHz / CDCl₃): (Abb. 81)

δ = 2.42 (s, 3H, CH₃), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 6.74 (s, 1H, H³), 6.98-6.95 (m, 2H, H⁶H⁸), 7.30 (m, 2H, M-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 8.1 Hz, H^{3'}H^{5'}), 7.79 (m, 2H, A-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 8.2 Hz, H^{2'}H^{6'}), 8.12 (d, 1H, ³J = 8.7 Hz) ppm.

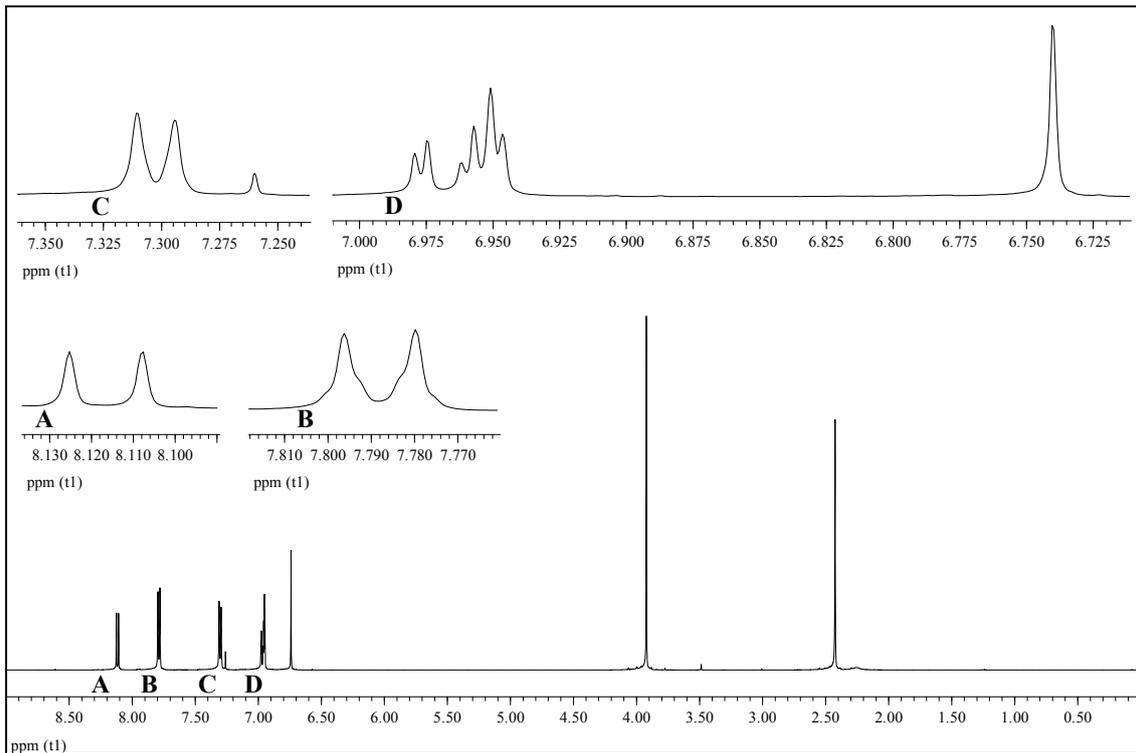


Abb. 81: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **70**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

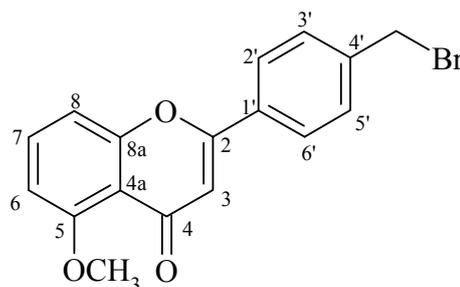
$\delta = 21.48$ (CH_3), 55.80 (OCH_3), 100.35 (C^8), 106.78 (C^3), 114.32 (C^6), 117.74 (C^{4a}), 126.06 (C^2 ' C^6 '), 126.97 (C^5), 128.94 (C^1 '), 129.69 (C^3 ' C^5 '), 142.03 (C^4 '), 157.94 (C^{8a}), 163.25 (C^2), 164.11 (C^7), 177.86 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

5.4 Darstellung des 5-Benzoylflavonphosphonats 59

5.4.1 Darstellung des 5-Methoxyflavonphosphonats 55

Versuch 10:^[64,65,67] 5-Methoxy-4'-brommethylflavon 54

In einem 1 l Zweihalskolben mit Rückflusskühler werden 4.30 g (16.1 mmol) 5-Methoxy-4'-methylflavon **53** mit 500 ml Tetrachlorkohlenstoff (p. A. über Molsieb 4 Å getrocknet) versetzt und etwa 30 min erwärmt, wobei nahezu der gesamte Feststoff in Lösung



geht (bernsteinfarbene bis lachsfarbene Reaktionsmischung). Dann werden 3.23 g (18.1 mmol) *N*-Bromsuccinimid (NBS) **39** und 1.5 g (9.1 mmol) Azo-bis-isobutyronitril (AIBN) **40** hinzugegeben. Das in Tetrachlorkohlenstoff unlösliche NBS befindet sich zunächst am Kolbenboden. Dieses Gemisch wird nun weiter erhitzt. Bei 110 °C Ölbadtemperatur beginnt die Reaktionsmischung zu schäumen und man lässt noch 1½ h bei 110-115 °C Ölbadtemperatur unter Rückfluss kochen. Nach dieser Zeit ist am Kolbenboden kein Feststoff mehr vorhanden, aber an der Oberfläche der inzwischen goldfarbenen Reaktionslösung schwimmt cremefarbener Feststoff (NBS wurde zu Succinimid umgesetzt). Zur Vervollständigung der Reaktion wird noch 15 min weitergekocht und nach insgesamt 1¾ h Reaktionszeit wird die Reaktion abgebrochen. Der beim Abkühlen entstehende cremefarbene Niederschlag wird abgesaugt. Laut ¹H-NMR-Spektrum handelt es sich dabei um ein Gemisch aus dem gewünschten Produkt und Succinimid. Zur Isolierung des 5-Methoxy-4'-brommethylflavons **54** kann man sich die Wasserlöslichkeit des Succinimids zu Nutze machen. Das cremefarbene Rohprodukt wird somit in ein Becherglas gegeben und unter Rühren in Wasser gewaschen. Der Succinimid kann dabei ausgewaschen werden, da er zum größten Teil in Lösung geht, während das Produkt **54** ungelöst bleibt. Dieses wird wiederum abgesaugt und am Rotationsverdampfer trockengezogen.

Ausbeute: 3.90 g (11.3 mmol) **54**, 70 %, C₁₇H₁₃BrO₃, M = 345.19

Smp.: 223 °C

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz / CDCl_3 / TMS): (Abb. 82)

$\delta = 4.01$ (s, 3H, OCH_3), 4.53 (s, 2H, CH_2Br), 6.74 (s, 1H, H^3), 6.84 (d, 1H, $^3J = 8.0$ Hz, H^6), 7.14 (dd, 1H, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 0.9$ Hz, H^8), 7.27 (s, CHCl_3), 7.53 (m, 2H, M-Teil eines $[\text{AM}]_2$ -Systems, $N = 8.5$ Hz, H^3H^5), 7.59 (t, 1H, $^3J = 8.4$ Hz, H^7), 7.87 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AM}]_2$ -Systems, $N = 8.5$ Hz, H^2H^6) ppm.

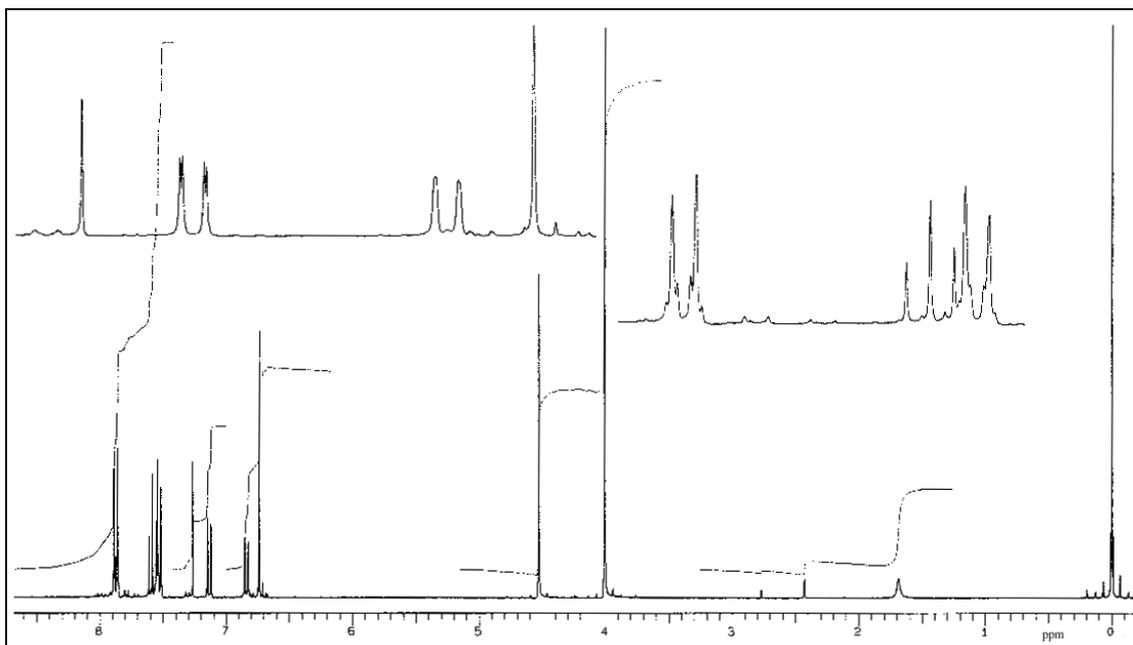


Abb. 82: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (300 MHz / CDCl_3 / TMS) von **54**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 32.23$ (CH_2), 56.47 (OCH_3), 106.52 (C^6), 109.15 (C^3), 110.09 (C^8), 126.07 (C^{4a}), 126.50 (C^2C^6), 129.60 (C^3C^5), 131.32 (C^1), 133.95 (C^7), 141.12 (C^4), 158.20 (C^{8a}), 159.73 (C^5), 160.49 (C^2), 178.30 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS m/z (%) = 346 (34), 345 (14) [M^+], 344 (34), 317 (5), 315 (5), 300 (4), 298 (4), 266 (100), 265 (49), 264 (10), 249 (8), 237 (36), 236 (17), 235 (11), 221 (15), 220 (54), 120

(18), 119 (20), 116 (11), 115 (24), 107 (17), 92 (13), 91 (14), 82 (3), 79 (3), 77 (3), 76 (4), 56 (8).

UV-Vis (CH_2Cl_2):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 323 (4.41), 296 (4.53), 270 (4.71) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 83)

$\tilde{\nu}$ = 3028 (C-H-Valenz Aromat), 2972-2938 (CH_2 -Valenz), 2840 (O- CH_3 -Valenz), 1644 (C=O/C=C-Valenz), 1603 (Ringschw. Aromat), 1474 (CH_2 -Def.), 1378 (CH_3 -Def.), 1267 (C-O-C-Valenz), 1098 (C-O-C-Valenz), 846 (C=C-H-Def.), 596 (C-Br-Valenz) cm^{-1} .

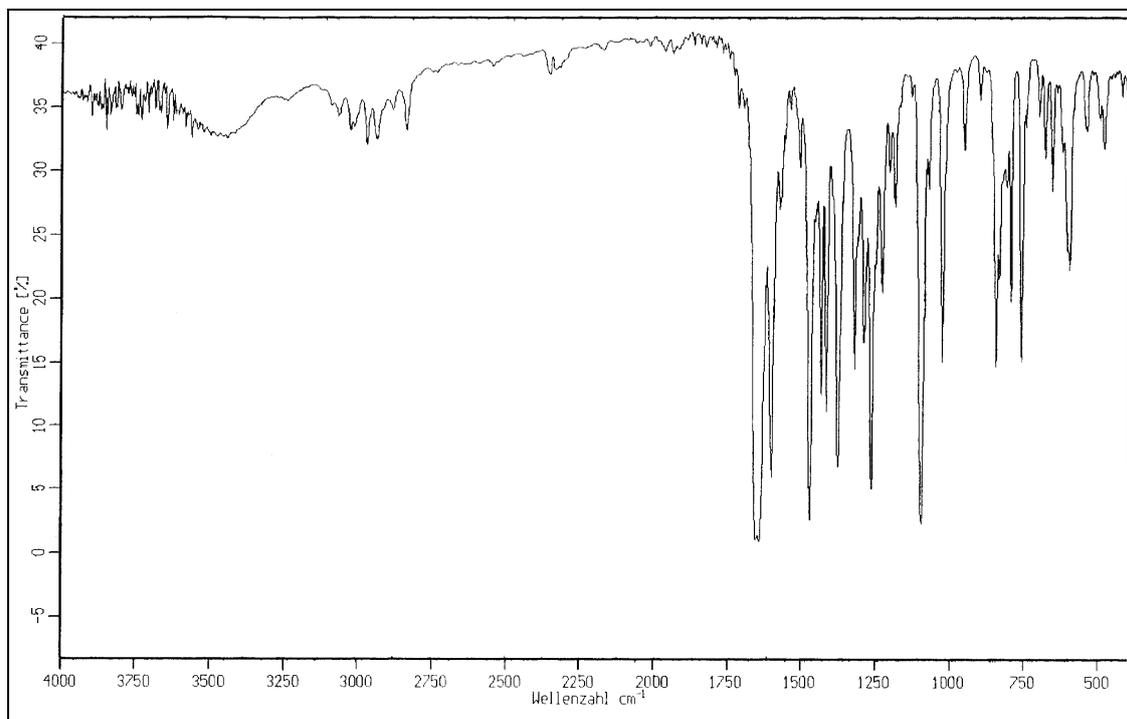
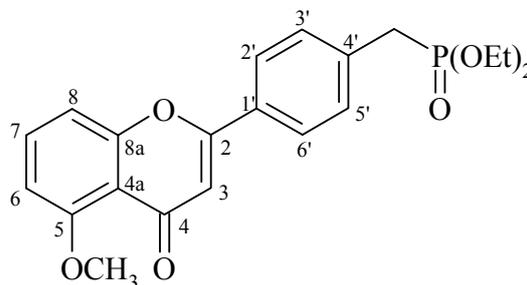


Abb. 83: IR-Spektrum (KBr) von **54**

Versuch 11:^[64,65] **[4-(4-Oxo-5-methoxy-4*H*-chromen-2-yl)benzyl]-
phosphonsäurediethylester **55****

3.75 g (10.9 mmol) 5-Methoxy-4'-brommethylflavon **54** werden in einem 100 ml Einhalskolben mit Rückflusskühler mit 14.3 g (86.1 mmol) Triethylphosphit (TEP) versetzt und bei 140 - 160 °C



Ölbadtemperatur 6 h unter Rückfluss gekocht. Dabei wird die zunächst cremefarbene Suspension gelb-bräunlich und klar. Nach Abkühlen verbleibt die Reaktionsmischung über Nacht im Kühlschrank, wobei cremefarbener Feststoff ausfällt. Das überschüssige TEP wird im Ölpumpenvakuum entfernt und der erhaltene Rückstand aus Toluol umkristallisiert. Man erhält einen cremefarbenen Feststoff.

Ausbeute: 3.23 g (8.03 mmol) **55**, 74 %, C₂₁H₂₃O₆P, M = 402.38

Smp.: 133 °C

¹H-NMR (200 MHz / CDCl₃): (Abb. 84)

δ = 1.26 (t, 6H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, CH₃), 3.22 (d, 2H, ²J_{HP} = 22.1 Hz, CH₂-P), 4.00 (s, 3H, OCH₃), 3.97 – 4.11 (m, 4H, CH₂), 6.75 (s, 1H, H³), 6.83 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.3 Hz, H⁶), 7.13 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 0.9 Hz, H⁸), 7.44 (m, 2H, B-Teil eines [AB]₂X-Systems, N = 8.5 Hz, ⁴J_{BX} = 2.4 Hz, H³H⁵), 7.58 (t, 1H, ³J_{HH} = 8.4 Hz, H⁷), 7.85 (m, 2H, A-Teil eines [AB]₂X-Systems, N = 8.4 Hz, H²H⁶) ppm.

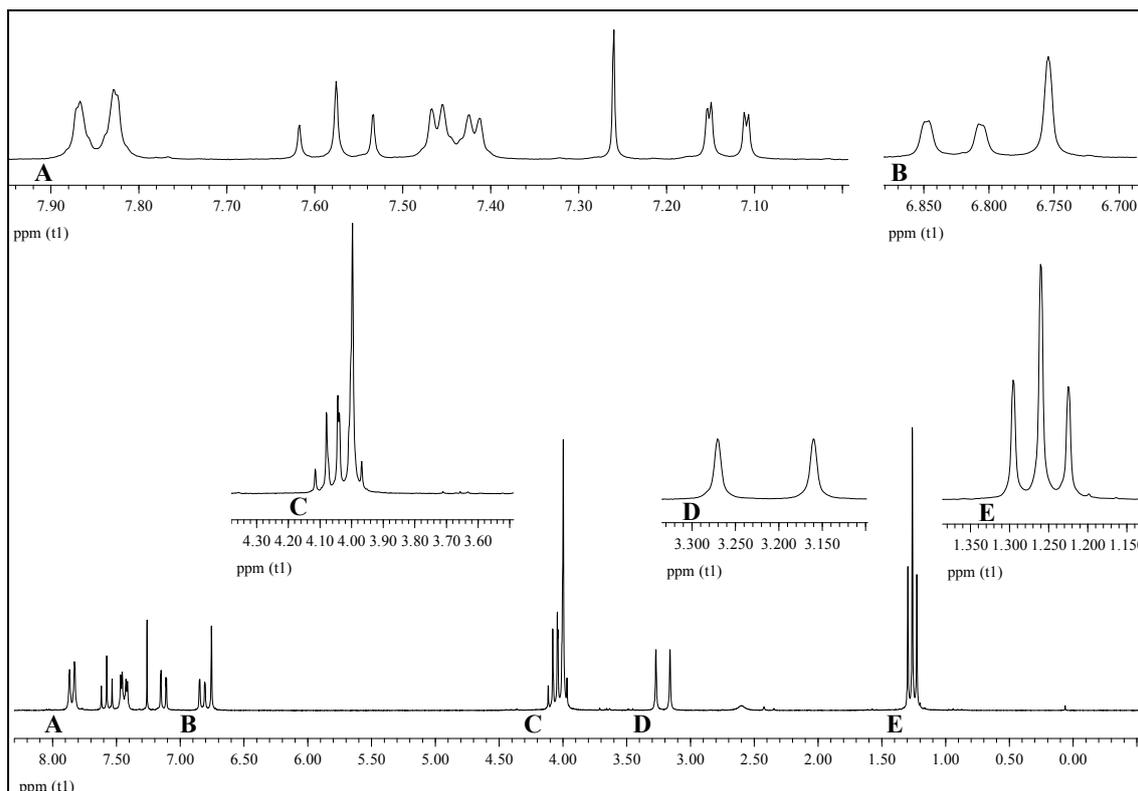


Abb. 84: ^1H -NMR-Spektrum (200 MHz / CDCl_3) von **55**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 16.36$ (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.0$ Hz, 2CH_3), 33.83 (d, $^1J_{\text{CP}} = 137.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-P}$), 56.48 (OCH_3), 62.27 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, 2CH_2), 106.47 (C^3), 108.76 (C^6), 110.10 (C^8), 114.44 (C^{4a}), 126.24 (d, $^4J_{\text{CP}} = 2.9$ Hz, $\text{C}^{2'}\text{C}^{6'}$), 129.98 (d, $^5J_{\text{CP}} = 3.7$ Hz, $\text{C}^{1'}$), 130.37 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.7$ Hz, $\text{C}^3\text{C}^{5'}$), 133.84 (C^7), 135.62 (d, $^2J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, $\text{C}^{4'}$), 158.25 (C^{8a}), 159.75 (C^5), 160.94 (d, $^6J_{\text{CP}} = 1.4$ Hz, C^2), 178.33 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (81 MHz / CDCl_3):

$\delta = 26.48$ ppm.

MS m/z (%) = 402 (100) [M^+], 373 (15), 356 (13), 328 (5), 264 (9), 249 (3), 236 (8), 219 (5), 121 (2), 109 (3), 107 (3), 91 (4), 81 (5).

UV-Vis (CH_2Cl_2):

λ_{max} (lg ϵ) = 321 (4.44), 295 (4.53), 267 (4.71) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 85)

$\tilde{\nu} = 3056$ (C-H-Valenz Aromat), 2981-2902 (CH₃/CH₂-Valenz), 2848 (O-CH₃-Valenz), 1648 (C=O/C=C-Valenz), 1603 (Ringschw. Aromat), 1477 (CH₂-Def.), 1377 (CH₃-Def.), 1292-1245 (P=O-Valenz), 1269 (C-O-C-Valenz), 1096 (C-O-C-Valenz), 1023 (P-O-Alkyl-Valenz), 968 (C=C-H-Def.), 837 (C=C-H-Def.) cm⁻¹.

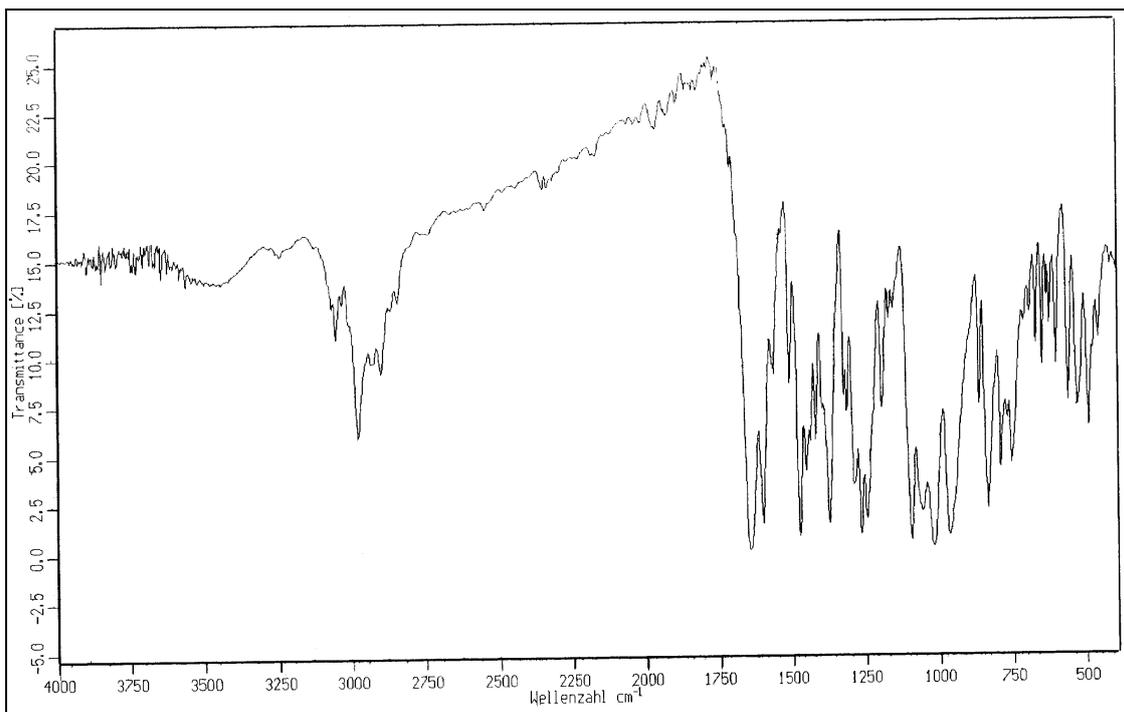
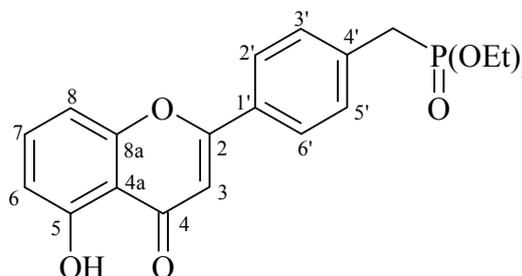


Abb. 85: IR-Spektrum (KBr) von **55**

Elementaranalyse: ber.: C: 62.68 % H: 5.76 %
 gef.: C: 62.03 % H: 5.59 %

5.4.2 Darstellung des 5-Benzoylflavonphosphonats **59****Versuch 12:**^[88] [4-(4-Oxo-5-hydroxy-4H-chromen-2-yl)benzyl]-
phosphonsäurediethylester **58**

1.76 g (4.37 mmol) 5-Methoxyflavonphosphonat **55** werden in einem 100 ml Zweihalskolben mit Trockenrohr (Trockenmittel: Calciumchlorid) und Tropftrichter in 17 ml Dichlormethan p.



A. gelöst (orangefarbene Lösung). Die Reaktionsmischung wird im Eisbad gekühlt und es werden vorsichtig 8.8 ml einer 1 M Lösung von Bortribromid (8.8 mmol) in Dichlormethan hinzugegeben. Dabei beginnt Feststoff auszufallen. Das Eisbad wird entfernt und die Reaktionsmischung wird 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird sie zur Hydrolyse unter Rühren auf Eiswasser gegossen und verbleibt über Nacht im Kühlschrank. Das ausgefallene gelb/orange-braune Rohprodukt wird abgesaugt. Da das Rohprodukt nicht vollständig ausfällt, sondern ein Teil noch in Lösung verbleibt, wird das Filtrat mit Dichlormethan extrahiert. Die gelbe organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trockenmittels wird das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Im Kolben verbleibt gelb-oranger Feststoff, der gemeinsam mit dem zuvor abgesaugten Rohprodukt in Ethanol aufgenommen und aus Ethanol umkristallisiert wird. man erhält Produkt **58** als gelb-ockerfarbene Feststoff.

Ausbeute: 1.17 g (3.01 mmol) **58**, 69 %, $C_{20}H_{21}O_6P$, $M = 388.35$

Smp: 193 - 197 °C

1H -NMR (200 MHz / DMSO- d_6): (Abb. 86)

$\delta = 1.18$ (dt, 6H, $^3J_{HH} = 7.0$ Hz, $^4J_{HP} = 1.5$ Hz, CH_3), 3.22 (d, 2H, $^2J_{HP} = 21.9$ Hz, CH_2 -P), 4.01-3.80 (m, 4H, CH_2), 6.82 (d, 1H, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz, H^6), 7.10 (s, 1H, H^3), 7.21 (d, 1H, $^3J_{HH} = 7.9$ Hz, H^8), 7.48 (m, 2H, M-Teil eines $[AM]_2X$ -Systems, $N = 8.3$ Hz, $^4J_{MX} =$

2.4 Hz, H^3H^5), 7.69 (t, 1H, $^3J_{HH} = 8.3$ Hz, H^7), 8.04 – 8.10 (m, 2H, A-Teil eines $[AM]_2X$ -Systems, H^2H^6), 12.69 (s, 1H, OH) ppm.

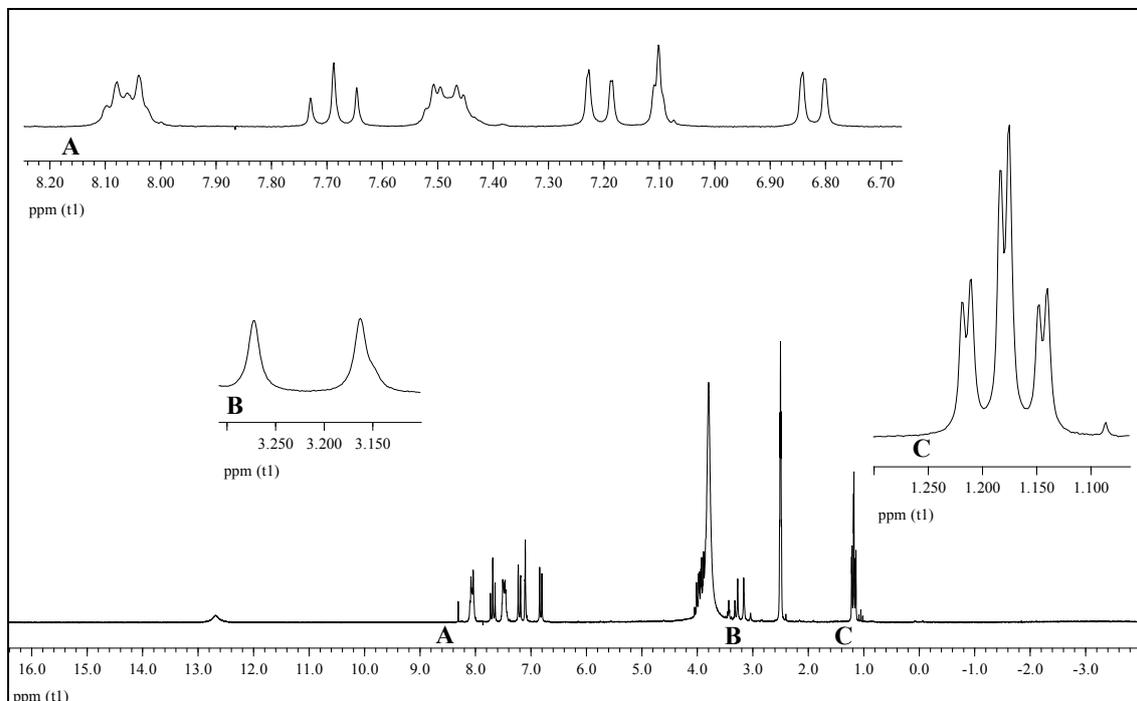


Abb. 86: 1H -NMR-Spektrum (200 MHz /DMSO- d_6) von **58**

$^{13}C\{^1H\}$ -NMR (125 MHz / DMSO- d_6):

$\delta = 16.26$ (d, $^3J_{CP} = 5.8$ Hz, $2CH_3$), 33.60 (d, $^1J_{CP} = 130.1$ Hz, CH_2-P), 60.55 (d, $^2J_{CP} = 6.3$ Hz, $2CH_2$), 105.19 (C^3), 107.47 (C^8), 110.07 (C^{4a}), 110.90 (C^6), 126.37 (d, $^4J_{CP} = 2.5$ Hz, C^2C^6), 128.42 (d, $^5J_{CP} = 3.9$ Hz, C^1), 130.43 (d, $^3J_{CP} = 6.2$ Hz, C^3C^5), 135.89 (C^7), 138.49 (d, $^2J_{CP} = 8.9$ Hz, C^4), 155.84 (C^{8a}), 159.77 (C^5), 164.09 (C^2), 183.15 ($C=O$) ppm.

$^{31}P\{^1H\}$ -NMR (81 MHz / DMSO- d_6):

$\delta = 26.92$ ppm.

MS m/z (%) = 388 (100) [M^+], 360 (10), 314 (11), 253 (13), 252 (21), 137 (5), 136 (5), 109 (11), 108 (14), 91 (5), 45 (10).

UV-Vis (Methanol):

$\lambda_{\max} (\lg \epsilon) = 303 (4.27), 272 (4.40) \text{ nm.}$

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 87)

$\tilde{\nu} = 3410$ (O-H-Valenz), 1653 (C=O/C=C-Valenz), 1612 (Ringschw. Aromat), 1474 (CH₂-Def.), 1427 (CH₃-Def.), 1258 (P=O-Valenz), 1229 (C-O-C-Valenz), 1059 (C-OH-Valenz), 1045 (P-O-Alkyl-Valenz), 844 (C=C-H-Def.) cm⁻¹.

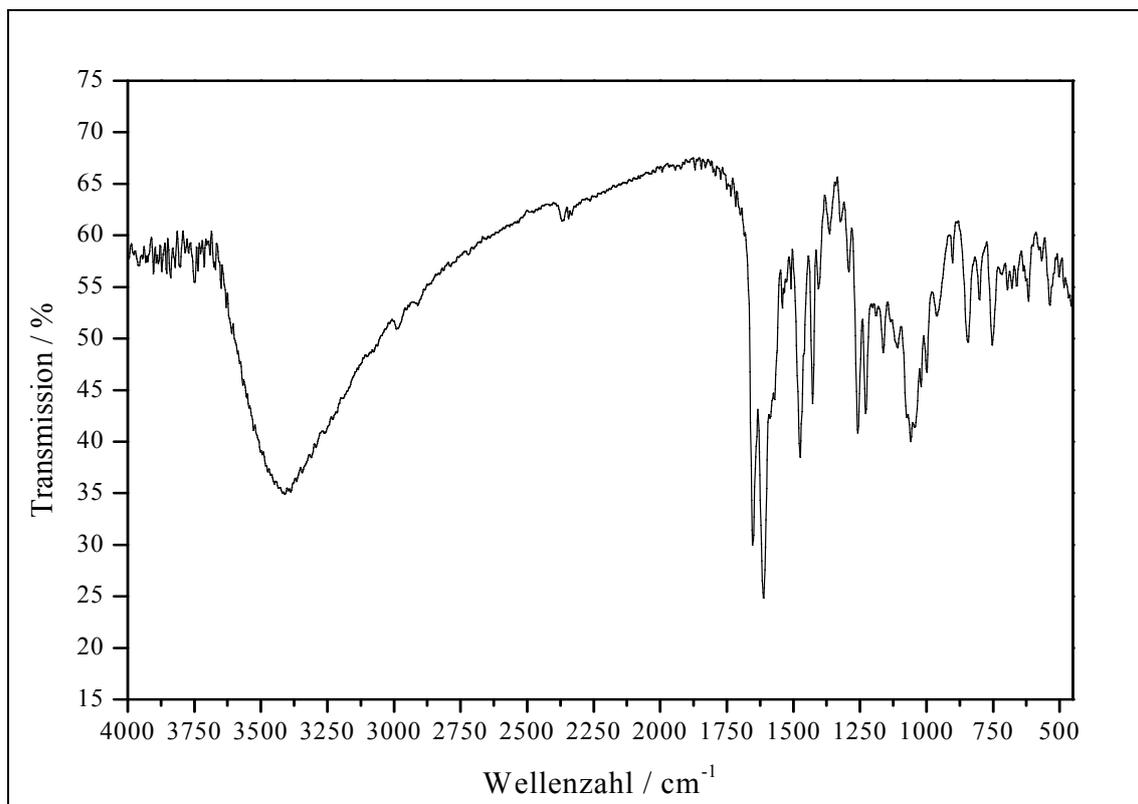
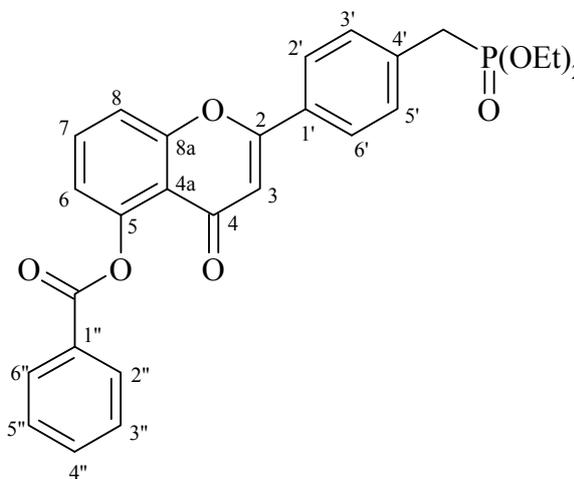


Abb. 87: IR-Spektrum (KBr) von **58**

Versuch 13:^[67]**2-{4-[(Diethoxyphosphoryl)methyl]phenyl}-4-oxo-4H-chromen-5-yl-benzoat 59**

In einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter wird 1.00 g (2.57 mmol) 5-Hydroxyflavonphosphonat **58** in 110 ml Pyridin p. A. gelöst (bernsteinfarbene Reaktionsmischung). Dann werden unter Rühren bei Raumtemperatur 3 ml (25 mmol) Benzoylchlorid **75** hinzugegeben. Nach



2 d Rührzeit bei Raumtemperatur wird die Reaktion abgebrochen und die Reaktionsmischung zur Hydrolyse auf Eiswasser gegeben und mit konz. Salzsäure angesäuert (pH 1 - 2), wobei zunächst eine milchige Trübung und nach kurzer Zeit cremefarbener Feststoff entsteht. Dieser wird abgesaugt, mit 150 ml Diethylether aufgenommen und zum Sieden erhitzt. Der nicht in Lösung gehende Feststoff wird wiederum abgesaugt. Meist fällt im Filtrat noch etwas cremefarbener Feststoff nach, der ebenfalls abgesaugt wird. Die vereinigten Feststofffraktionen werden am Rotationsverdampfer getrocknet. Man erhält Produkt **59** als cremefarben - gelbliches Pulver.

Ausbeute: 0.89 g (1.8 mmol) **59**, 70 %, C₂₇H₂₅O₇P, M = 492.46

Smp.: 152 - 155 °C

¹H-NMR (500 MHz / CDCl₃): (Abb. 88)

δ = 1.27 (t, 6H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, CH₃), 3.23 (d, 2H, ²J_{HP} = 22.1 Hz, CH₂-P), 4.03 – 4.08 (m, 4H, CH₂), 6.64 (s, 1H, H³), 7,17 (d, 2H, ³J_{HH} = 7.8 Hz, H⁶), 7.45 (m, 2H, M-Teil eines [AM]₂X-Systems, N = 7.7 Hz, H^{3'}H^{5'}), 7.52 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.8 Hz, H⁸), 7.50 – 7.55 (m, 2H, M-Teil eines [AM]₂B-Systems H^{3''}H^{5''}), 7.64 (t, 1H, B-Teil eines [AM]₂B-Systems, ³J = 7.4 Hz, H^{4''}), 7.71 (t, 1H, ³J_{HH} = 8.2 Hz, H⁷), 7.84 (m, 2H, A-Teil eines

[AM]₂X-Systems, $N = 8.0$ Hz, $H^{2'}H^{6'}$), 8.27 – 8.28 (m, 2H, A-Teil eiens [AM]₂B-Systems, $H^{2''}H^{6''}$) ppm.

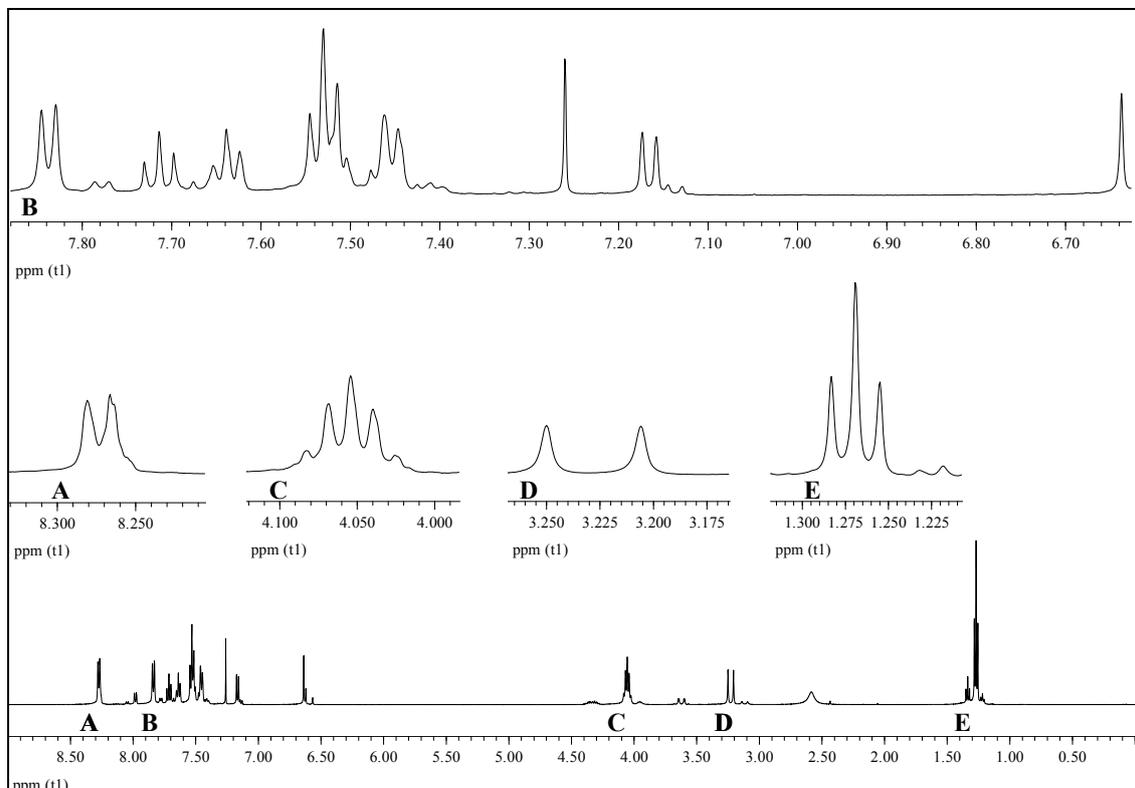


Abb. 88: ¹H-NMR-Spektrum (500 MHz / CDCl₃) von **59**

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz / CDCl₃):

$\delta = 16.38$ (d, $^3J_{CP} = 5.9$ Hz, 2CH₃), 33.89 (d, $^1J_{CP} = 137.5$ Hz, CH₂-P), 62.33 (d, $^2J_{CP} = 6.8$ Hz, 2CH₂), 108.43 (C³), 116.30 (C⁸), 117.29 (C^{4a}), 119.48 (C⁶), 126.41 (d, $^4J_{CP} = 2.7$ Hz, C^{2'}C^{6'}), 128.50 (C^{3''}C^{5''}), 129.82 (C^{1'}), 130.42 (C^{2''}C^{6''}), 130.58 (d, $^3J_{CP} = 7.4$ Hz, C^{3'}C^{5'}), 133.36 (C^{4''}), 133.42 (C⁷), 134.64 (C^{1''}), 135.94 (d, $^2J_{CP} = 9.1$ Hz, C^{4'}), 149.53 (C⁵), 157.44 (C^{8a}), 162.07 (C²), 165.49 (O-C=O), 176.93 (C=O) ppm.

³¹P{¹H}-NMR (81 MHz / CDCl₃):

$\delta = 26.53$ ppm.

MS m/z (%) = 492 (19) [M⁺], 388 (5), 356 (2), 251 (1), 105 (100), 77 (19).

UV-Vis (CH_2Cl_2):

$\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 295 (4.39) \text{ nm}$.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 89)

$\tilde{\nu} = 3069$ (C-H-Valenz Aromat), 2980-2905 (CH_3/CH_2 -Valenz), 1746 (C=O-Valenz Arylester), 1640 (C=O/C=C-Valenz), 1614 (Ringschw. Aromat), 1511 (Ringschw. Aromat), 1470 (CH_3/CH_2 -Def.), 1375 (P-O-Alkyl-Valenz), 1267 (P=O-Valenz), 1238 (C-O-C-Valenz), 1084-1023 (O=C-O-C / P-O-Alkyl-Valenz), 973 (C=C-H-Def.), 860 (C=C-H-Def.), 768 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert), 704 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert) cm^{-1} .

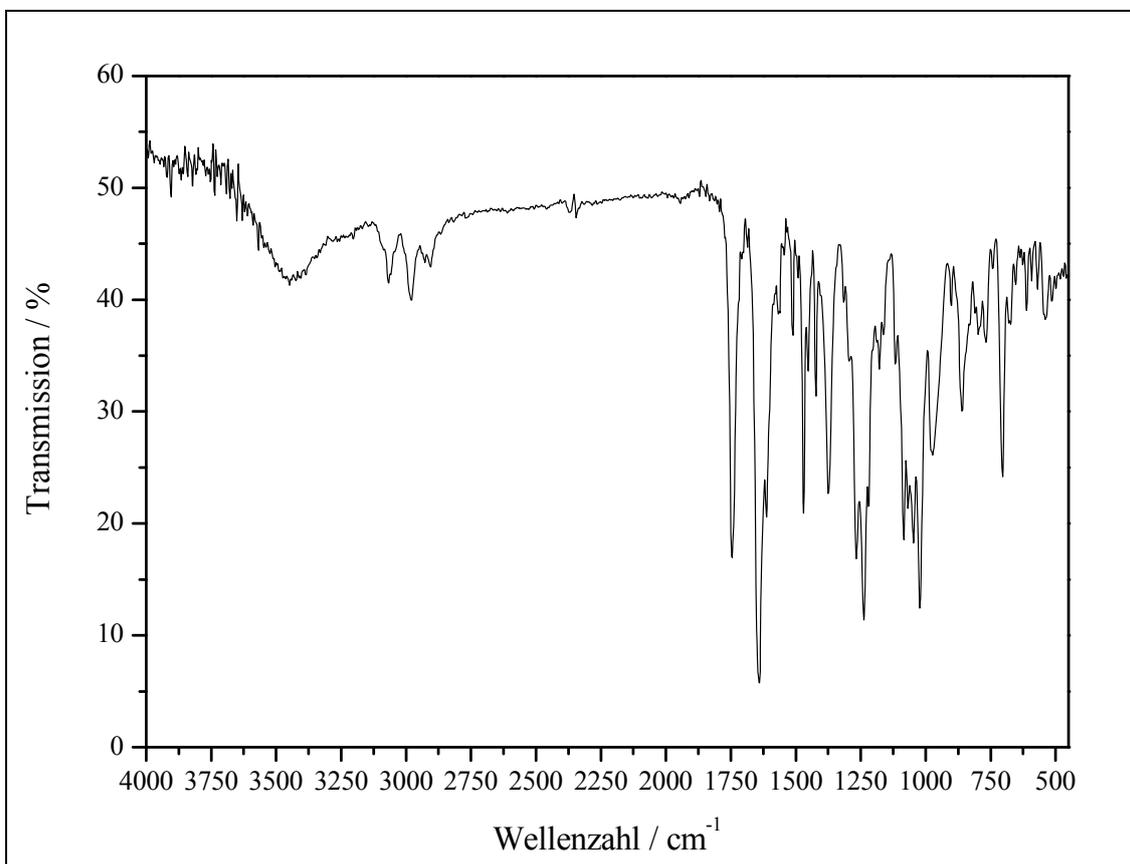
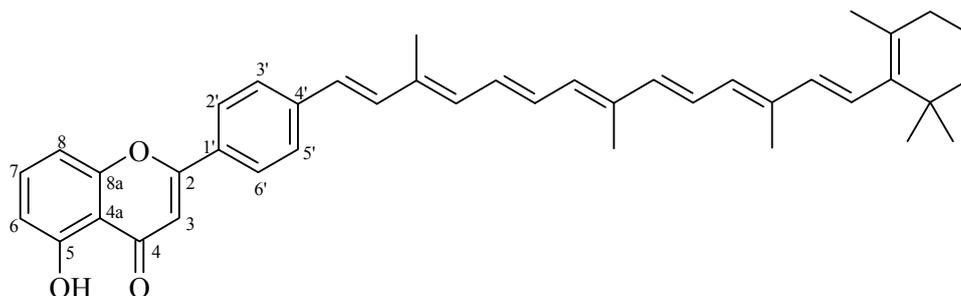


Abb. 89: IR-Spektrum (KBr) von **59**

5.5 Darstellung des 4'- β -C₂₅- Carotenyl-5- hydroxyflavons 60

Versuch 14: 4'- β -C₂₅- Carotenyl-5- hydroxyflavon 60
 5-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]flavon 60



Zunächst wird das benötigte β -Apo-12'-Carotenal (C₂₅-Aldehyd) **56** säulenchromatographisch aufgereinigt (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan, R_f = 0.5) und das als Lösemittel benötigte Pyridin p. A. wird über Kaliumhydroxid getrocknet und unmittelbar vor dem Gebrauch frisch destilliert (Sdp.: 115 °C).

Dann werden in einem 250 ml Dreihalskolben mit Trockenrohr (Trockenmittel: Calciumchlorid) und Gaseinleitungshahn 0.66 g (1.3 mmol) 5-Benzoylflavonphosphonat **59** und 0.47 g (1.3 mmol) β -Apo-12'-Carotenal (C₂₅-Aldehyd) **56** unter Rühren in 100 ml absolutem Pyridin gelöst (orange-rote Reaktionsmischung) und unter Argon im Eisbad gekühlt. Nun werden über einen Zeitraum von 1 h portionsweise 0.36 g (6.7 mmol) frisches Natriummethanolat im Argongegenstrom hinzugefügt. Anschließend wird das Eisbad entfernt und die Reaktionsmischung über Nacht weiter bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch verfolgt. Dazu wird im Argongegenstrom mit Hilfe einer Pasteurpipette etwas Reaktionsmischung entnommen und mit einem Gemisch aus Wasser und konz. Schwefelsäure bei pH ~ 2 hydrolysiert. Das Hydrolysat wird mit etwas Chloroform versetzt und per Schütteln extrahiert. Die orange-rote organische Phase kann dann dünnschichtchromatographisch untersucht werden (stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5 : 1). Nach einer Reaktionszeit von 1 d werden nochmals über einen Zeitraum von 2½ h 0.34 g (6.3 mmol) Natriummethanolat

portionsweise im Argongegenstrom bei Raumtemperatur hinzugegeben. Nach insgesamt 43 h Reaktionszeit wird die Reaktion laut DC-Kontrolle als beendet betrachtet (vgl. Punkt 3.5.4) und abgebrochen. Die inzwischen tiefrot gefärbte Reaktionsmischung wird unter Eiskühlung und Rühren schluckweise auf ein H₂O / konz. Schwefelsäure – Gemisch (pH 1 - 2) gegeben und mit Chloroform extrahiert. Während der Hydrolyse ausfallender tieferer Feststoff geht bei der Extraktion wieder in Lösung. Die vereinigten roten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trockenmittels am Rotationsverdampfer vom Chloroform befreit. Im Kolben verbleibt ein dunkelroter matschiger Rückstand, der mit Dichlormethan aufgenommen und mit *n*-Hexan versetzt wird, bis das dunkelrote Rohprodukt ausfällt. Dieses wird abgesaugt und über eine Filtersäule gereinigt (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5 : 1). Nach Einengen am Rotationsverdampfer und Trocknen an der Vakuumpumpe erhält man das 4'-β-C₂₅-Carotenyl-5-hydroxyflavon **60** als tiefroten leicht metallisch glänzenden Feststoff.

Ausbeute: 0.63 g (1.1 mmol) **60**, 80 %, C₄₁H₄₄O₃, M = 584.80

Smp.: 198 °C

¹H-NMR (500 MHz / CDCl₃): (Abb. 90)

δ = 1.03 (s, 6H, CH₃), 1.46-1.48 (m, 2H, CH₂), 1.59-1.64 (m, 4H, CH₂), 1.72 (s, 3H, CH₃), 1.98 (s, 3H, CH₃), 2.00 (s, 3H, CH₃), 2.05 (s, 3H, CH₃), 6.12-6.21 (m, 3H, Polyen-H), 6.28 (d, 1H, ³J_{trans} = 10.9 Hz, Polyen-H), 6.37 (d, 1H, ³J_{trans} = 14.9 Hz, Polyen-H), 6.44 (d, 1H, ³J_{trans} = 11.1 Hz, Polyen-H), 6.61 (d, 1H, ³J_{trans} = 15.9 Hz, Polyen-H), 6.64-6.76 (m, 3H, Polyen-H), 6.74 (s, 1H, H³), 6.82 (d, 1H, ³J = 8.2 Hz, H⁶), 7.01 (d, 1H, ³J = 8.2 Hz, H⁸), 7.02 (d, 1H, ³J_{trans} = 16.2 Hz, Polyen-H), 7.55 (t, 1H, ³J = 8.8 Hz, H⁷), 7.56 (m, 2H, M-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 9.1 Hz, H^{3'}H^{5'}), 7.87 (m, 2H, A-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 8.5 Hz, H^{2'}H^{6'}), 12.62 (s, 1H, OH) ppm.

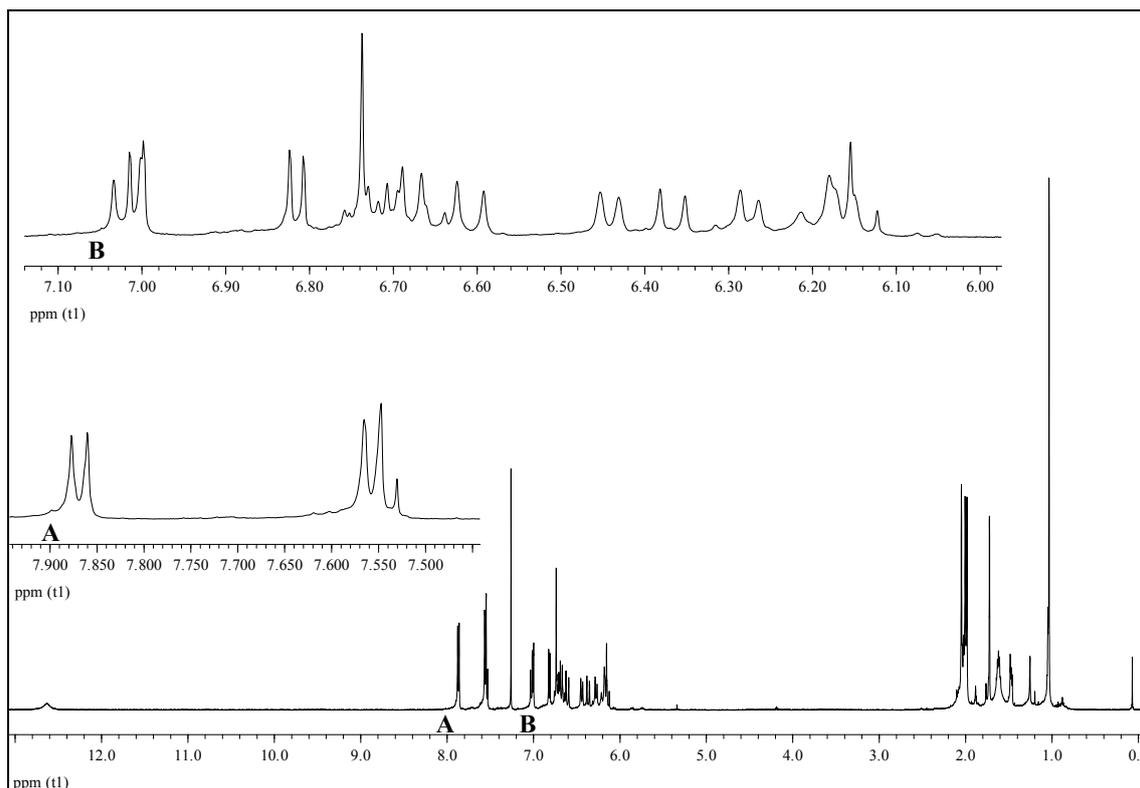


Abb. 90: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **60**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 12.76$ (CH_3), 12.79 (CH_3), 12.89 (CH_3), 19.25 (CH_2), 21.77 (CH_3), 28.97 (2CH_3), 33.12 (CH_2), 34.27 , 39.64 (CH_2), 105.44 (C^3), 107.01 (C^8), 110.90 (C^6), 111.40 (C^{4a}), 125.67 (Polyen-C), 125.97 (Polyen-C), 126.75 ($\text{C}^{2'}\text{C}^6\text{C}^{3'}\text{C}^{5'}$), 126.97 (Polyen-C), 129.18 ($\text{C}^{1'}$), 129.40 (Polyen-C), 129.50 (Polyen-C), 130.70 (Polyen-C), 131.54 (Polyen-C), 132.02 (Polyen-C), 135.03 (Polyen-C), 135.23 (C^7), 135.29 (Polyen-C), 136.18 (Polyen-C), 136.50 (Polyen-C), 136.99 (Polyen-C), 137.68 (Polyen-C), 137.60 , 137.88 (Polyen-C), 141.76 ($\text{C}^{4'}$), 156.40 (C^{8a}), 160.80 (C^5), 164.28 (C^2), 183.49 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS m/z (%) = 585 (4) [M^+], 584 (12) [$(\text{M} - \text{H})^+$], 361 (18), 360 (100), 332 (12), 315 (14), 314 (77), 265 (5), 255 (5), 252 (21), 251 (46), 224 (6), 223 (34), 177 (6), 159 (8), 137 (17), 136 (7), 133 (5), 119 (6), 109 (4), 108 (12), 107 (5), 105 (8), 91 (9).

UV-Vis (Chloroform / Methanol 7 : 1):

λ_{\max} ($\lg \epsilon$) = 472 (4.86), 277 (4.23) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 91)

$\tilde{\nu}$ = 3447 (O-H-Valenz), 2925 (CH₃/CH₂-Valenz), 1655 (C=O/C=C-Valenz), 1618 (Ringschw. Aromat), 1600 (Ringschw.Aromat), 1577 (Ringschw. Aromat), 1474 (CH₂/CH₃-Def.), 1422 (CH₂/CH₃-Def.), 1400 (CH₂/CH₃-Def.), 1364 (CH₃-Def.), 1258 (C-O-C-Valenz), 1229 (C-O-C-Valenz), 1182 (C-OH-Valenz), 1077 (C-O-C-Valenz), 968 (H-C=C-H-Def.), 838 (C=C-H-Def.), 745 (C=C-H-Def.) cm⁻¹.

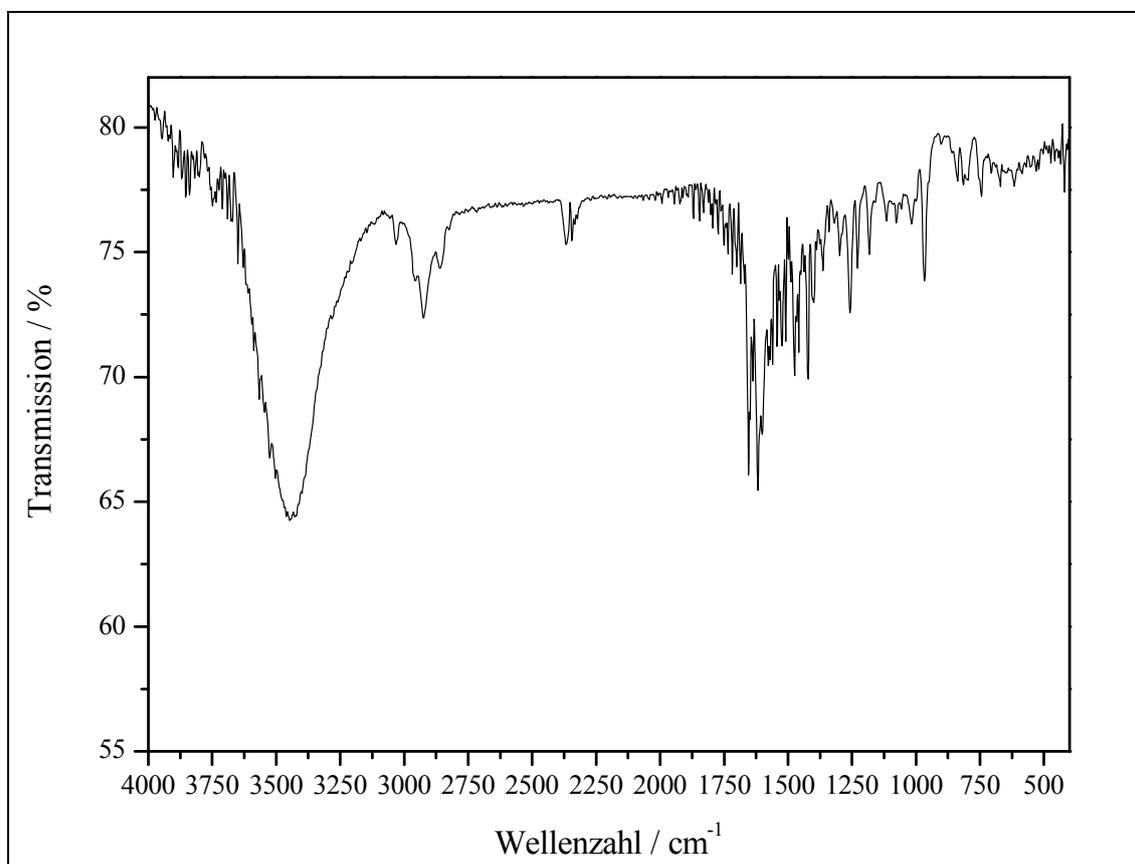


Abb. 91: IR-Spektrum (KBr) von **60**

HRMS (C₄₁H₄₄O₃ + H)⁺: ber.: 585.336322

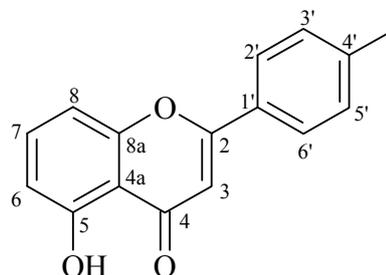
gef.: 585.336124

5.6 Darstellung des 5-Hydroxy-4'-methylflavons 77

Versuch 15:^[88]

5-Hydroxy-4'-methylflavon 77

In einem 100 ml Zweihalskolben mit Trockenrohr (Trockenmittel: Calciumchlorid) und Tropftrichter wird 1.00 g (3.76 mmol) 5-Methoxy-4'-methylflavon **53** in 15 ml Dichlormethan p. A. gelöst (rote Lösung). Diese Lösung wird im Eisbad gekühlt und es werden vorsichtig 7.5 ml einer 1 M Lösung von Bortribromid (7.5 mmol) in Dichlormethan hinzuge tropft. Dabei färbt sich die Reaktionsmischung bräunlich und wird trübe. Man entfernt das Eisbad und lässt 3 d bei Raumtemperatur rühren. Anschließend erfolgt die Hydrolyse, indem man die Reaktionsmischung unter Rühren auf Eiswasser gießt. Es bildet sich eine orange-braune viskose (zähe) organische Phase und eine farblose wässrige Phase. Nach Extraktion mit Dichlormethan wird die orange-braune organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet. Dann wird das Trockenmittel abfiltriert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Im Kolben verbleibt das orange-ockerfarbene Rohprodukt, welches aus Ethanol umkristallisiert wird. Produkt **77** kristallisiert in Form feiner orangefarbener Nadeln aus.



Ausbeute: 0.85 g (3.4 mmol) **77**, 90 % (Lit.^[109] 2 %), C₁₆H₁₂O₃, M = 252.27

Smp.: 181 - 183 °C (Lit.^[109] 183 - 185 °C)

¹H-NMR (200 MHz / CDCl₃): (Abb. 92) vgl. Lit.^[109]

δ = 2.43 (s, 3H, CH₃), 6.68 (s, 1H, H³), 6.79 (dd, 1H, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 0.7 Hz, H⁶), 6.98 (dd, 1H, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 0.8 Hz, H⁸), 7.31 (m, 2H, M-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 8.1 Hz, H^{3'}H^{5'}), 7.53 (t, 1H, ³J = 8.3 Hz, H⁷) 7.79 (m, 2H, A-Teil eines [AM]₂-Systems, N = 8.3 Hz, H^{2'}H^{6'}), 12.61 (s, 1H, OH) ppm.

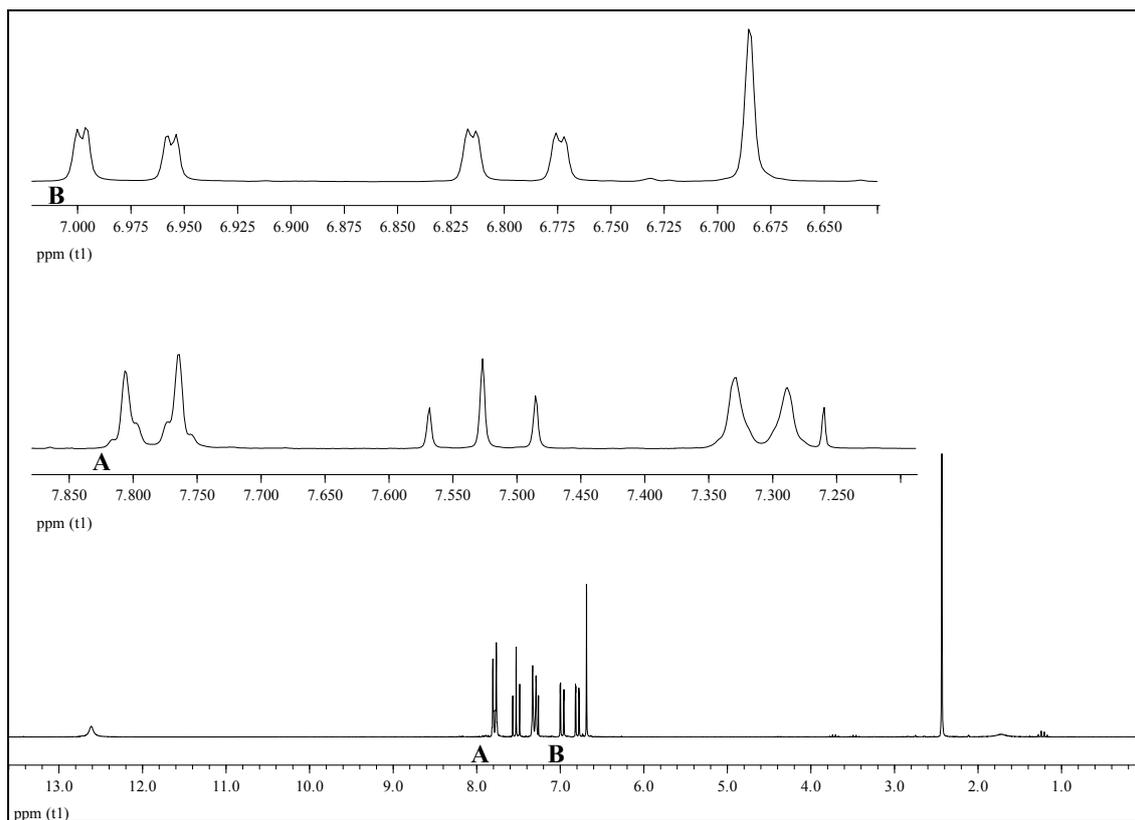


Abb. 92: ^1H -NMR-Spektrum (200 MHz / CDCl_3) von **77**

MS (FAB (Matrix: NBA (3-Nitrobenzylalkohol))):

m/z (%) = 329.2 (38) $[\text{2NBA} + \text{Na}]^+$, 307.2 (100) $[\text{2NBA} + \text{H}]^+$, 289.2 (66) $[\text{2NBA} - \text{OH}]^+$, 253.1 (95) $[\text{M} + \text{H}]^+$, 252.2 (64) $[\text{M}]^+$.

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 302 (4.19), 271 (4.34) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 93)

$\tilde{\nu}$ = 3427 (O-H-Valenz), 1639 (C=O/C=C-Valenz), 1614 (Ringschw. Aromat), 1587 (Ringschw. Aromat), 1482 (CH_3 -Def.), 1425 (CH_3 -Def.), 1260 (C-O-C-Valenz), 818 (C=C-H-Def.) cm^{-1} .

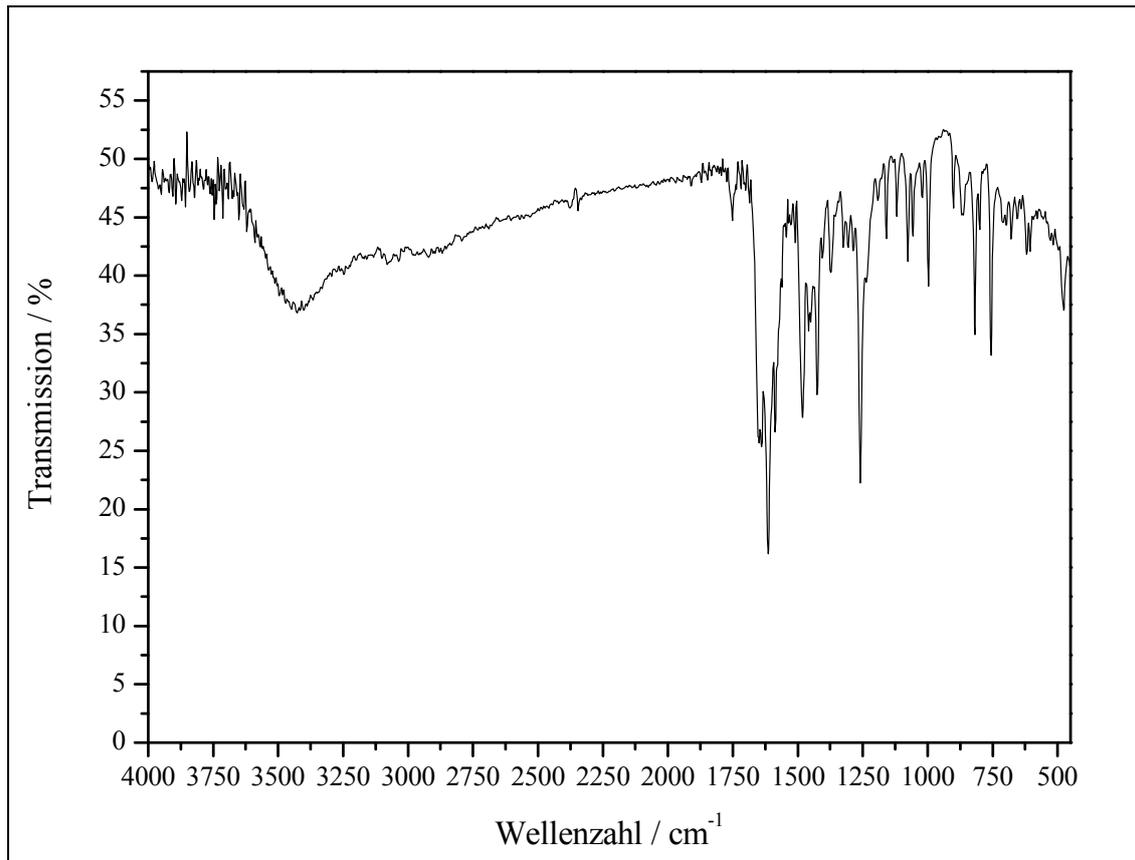


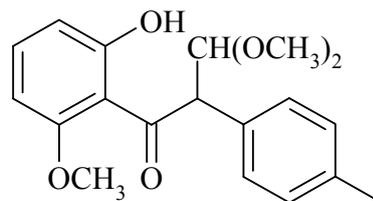
Abb. 93: IR-Spektrum (KBr) von 77

5.7 Darstellung der Methoxy-4'-methylisoflavone

5.7.1 Versuche zur Darstellung des 5-Methoxy-4'-methylisoflavons 82

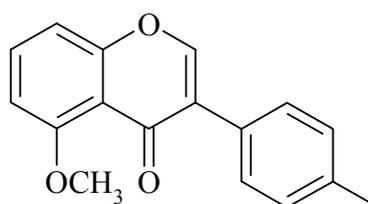
Versuch 16a:^[92] **1-(2-Hydroxy-6-methoxyphenyl)-3,3-dimethoxy-2-(4-methylphenyl)propan-1-on 81**

In einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler werden 0.47 g (1.8 mmol) 2'-Hydroxy-6'-methoxy-4- methylchalkon **52** in 60 ml Methanol gelöst. Zu der gelb - orangefarbenen Lösung werden portionsweise 0.93 g (2.1 mmol) Thallium(III)-nitrat-Trihydrat (TTN · 3 H₂O) in 14 ml (14 g, 0.13 mol) Trimethylorthoformiat (TMOF) hinzugefügt und 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Dabei entsteht weißer Feststoff (vermutlich Thallium(I)-nitrat), von dem die gelbe Reaktionslösung, in der sich das gewünschte Produkt **81** befinden sollte, abfiltriert und gemäß Versuch 16b weiter umgesetzt wird.



Versuch 16b:^[92] **5-Methoxy-4'-methylisoflavon 82**

Das klare gelbe Filtrat aus Versuch 16a wird mit ca. 12 ml Salzsäure (10%ig) versetzt, wobei die Reaktionsmischung sofort trübe wird und gelblicher Feststoff ausfällt. Dieser wird abfiltriert und das wiederum klare gelbe Filtrat wird 4 h unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen der Reaktionsmischung, wird das Lösemittel (Methanol) am Rotationsverdampfer entfernt und im Kolben verbleibt ein gelb-oranger leicht öliges Rückstand. Dieser wird mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen werden zur Neutralisation mit 5%iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit Wasser gewaschen. Dann wird die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Man filtriert das Trockenmittel ab und entfernt das Chloroform am



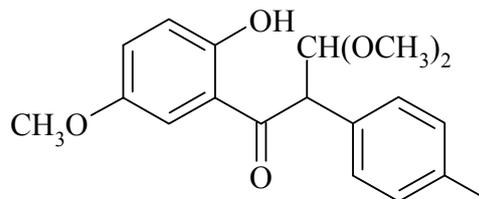
Rotationsverdampfer, wobei im Kolben wieder ein gelb - oranger ölicher Rückstand verbleibt. Dieses Rohprodukt wird mit Ethanol aufgenommen und daraus umkristallisiert. Nach Kühlen der Kristallisationslösung im Kühlschrank, lässt sich ein gelber Feststoff in 19%iger Ausbeute isolieren, bei dem es sich jedoch laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abb. 24) um ein Substanzgemisch aus dem gewünschten Produkt **82** und zwei Nebenprodukten **82.1** und **82.2** handelt. Eine Interpretation und Diskussion der Synthese sowie der $^1\text{H-NMR}$ - und Massenspektren findet sich im Hauptteil unter Punkt 3.7.2.1. Auf die Isolierung und Charakterisierung von **82** wurde aufgrund der geringen Ausbeute und zu aufwendigen und uneffektiven Trennung des Substanzgemisches verzichtet.

5.6.2 Versuche zur Darstellung des 6-Methoxy-4'-methylisoflavons **84**

Versuch 17a:^[92]

1-(2-Hydroxy-5-methoxyphenyl)-3,3-dimethoxy-2-(4-methylphenyl)propan-1-on **83**

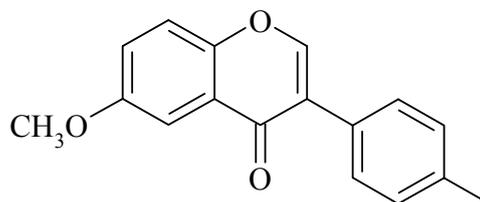
1.00 g (3.73 mmol) 2'-Hydroxy-5'-methoxy-4-methylchalcon **65** werden in einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler in 160 ml Methanol gelöst (rote Lösung). Dann werden



portionsweise unter Rühren 1.91 g (4.30 mmol) Thallium(III)-nitrat-Trihydrat (TTN · 3 H₂O) in 29 ml (28 g, 0.26 mol) Orthoameisensäuretrimethylester (TMOF) hinzugefügt, wobei die Reaktionsmischung heller (orange) wird. Nach einer Rührzeit von 3.5 d bei Raumtemperatur filtriert man den ausgefallenen weißen Feststoff (TlNO₃) ab und setzt das klare orangefarbene Filtrat weiter gemäß Versuch 17b um.

Versuch 17b:^[92]**6-Methoxy-4'-methylisoflavon 84**

Das aus Versuch 17a erhaltene Filtrat wird unter Rühren mit 24 ml 10%iger Salzsäure versetzt. Dabei wird die Reaktionsmischung sofort gelb und trübe und es fällt gelbweißer Feststoff aus, den man abfiltriert.



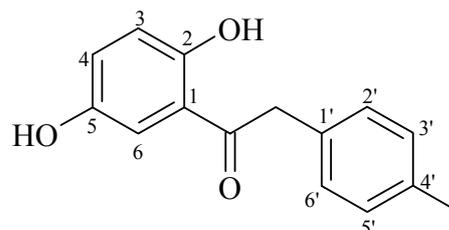
Das klare orangefarbene Filtrat wird 3½ h unter Rückfluss gekocht und über Nacht bei Raumtemperatur belassen. Anschließend entfernt man das Lösemittel (Methanol) weitgehend am Rotationsverdampfer und extrahiert die verbleibende wässrige Phase mit Chloroform. Die vereinigten Chloroformphasen werden zur Neutralisation mit wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (1 %) und Wasser gewaschen. Dann wird die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trockenmittels, entfernt man das Chloroform am Rotationsverdampfer. Im Kolben verbleibt neben wenig hellem Feststoff ein dunkel orange - roter ölicher Rückstand. Dieses Rohprodukt wird mit Ethanol aufgenommen und aus Ethanol umkristallisiert, wobei nach Kühlung der Kristallisationslösung im Kühlschrank orangefarbener Feststoff in einer Ausbeute von 24 % ausfällt. Laut ¹H-NMR-Spektrum (Abb. 31) handelt es sich dabei aber nicht um das gewünschte 6-Methoxy-4'-methylisoflavon **84**, sondern um ein Substanzgemisch, das vermutlich hauptsächlich aus den beiden Flavonen 5,6-Dimethoxy-4'-methylflavon **85** und 6-Methoxy-4'-methylflavon **85.1** besteht. Eine Interpretation und Diskussion des ¹H-NMR-Spektrums und der massenspektrometrischen Daten sowie des Syntheseverlaufs findet sich im Hauptteil unter Punkt 3.7.2.1.

5.8 Darstellung der Hydroxy-4'-methylisoflavone

5.8.1 Versuch zur Darstellung des 6-Hydroxy-4'-methylisoflavons 97

Versuch 18:^[96] 2,5-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin 95

In einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler (mit Trockenrohr, Trockenmittel: Calciumchlorid) werden 3.50 g (31.8 mmol) 1,4-Dihydroxybenzol **94** und 4.77 g (31.8 mmol) *p*-Tolylessigsäure **92** unter Rühren in 90 ml (0.72 mol) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ gelöst (weingelbe Lösung) und auf 60 – 80 °C Ölbadtemperatur erhitzt. Nach 5 h wird das Ölbad entfernt und die goldgelbe Reaktionsmischung über Nacht weiter bei Raumtemperatur gerührt. Nach insgesamt 24 h Reaktionszeit gibt man die inzwischen gold-olivfarbene Reaktionsmischung zur basischen Hydrolyse (Neutralisation) auf 500 ml eiskalte Natriumacetat-Lösung (12 g / 100 ml), wobei sich eine gelbliche organische Phase von einer farblosen wässrigen Phase abscheidet. Dem folgt die Extraktion mit Diethylether und Trocknen der schwach gelblichen organischen Phase über Magnesiumsulfat. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels, wird das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt, wobei die zuerst schwach gelbliche Lösung über orange und rot-braun bis hin zu tief grün-schwarz immer dunkler wird und schließlich dunkler Feststoff ausfällt. Diese Mischung wird mit Dichlormethan aufgenommen und der nicht in Lösung gehende anthrazitfarbene Feststoff wird abgesaugt. Laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum und Massenspektrum handelt es sich dabei um das Edukt 1,4-Dihydroxybenzol **94**. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt bis im Kolben nur noch eine geringe Menge orange-braune Flüssigkeit verbleibt. Diese wird mit einem Gemisch aus Dichlormethan und *n*-Hexan aufgenommen, was zur Ausfällung einer flockigen lachsfarbenen Substanz führt, welche abgesaugt wird. Die $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchung (Abb. 37) zeigt jedoch, dass es sich dabei nicht um das gewünschte 2,5-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **95**, sondern allem Anschein nach um das Konkurrenzprodukt 4-Hydroxyphenyl-2-(*p*-tolyl)acetat **96** handelt. Das Filtrat des in

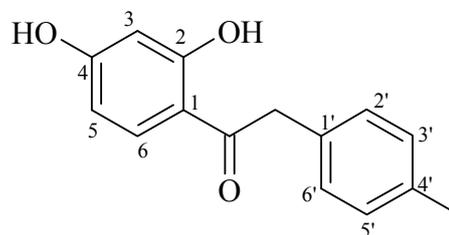


33%iger Ausbeute anfallenden Produkts **96** wird am Rotationsverdampfer eingeeengt und nochmals mit einem Gemisch aus Dichlormethan, Chloroform und *n*-Hexan aufgenommen. Bei Kühlung dieser Lösung (Kühlschrank) kristallisiert ebenfalls lachsfarbener Feststoff aus, bei dem es sich allerdings gemäß ¹H-NMR-Spektrum lediglich um das zweite Edukt *p*-Tolylessigsäure **92** handelt. Eine Interpretation und Diskussion sowohl des ¹H-NMR-Spektrums und des Massenspektrums von Verbindung **96** als auch der Synthese an sich, erfolgt im Hauptteil unter Punkt 3.7.4.1. Da auch eine Modifikation der Reaktionsbedingungen (siehe ebenfalls Punkt 3.7.4.1) nicht zu dem ursprünglich erwarteten 2,5-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **95** führt, findet auch keine weitere Umsetzung zum eigentlich angestrebten 6-Hydroxy-4'-methylisoflavon **97** statt.

5.8.2 Darstellung des 7-Hydroxy-4'-methylisoflavons 100

Versuch 19:^[96]**2,4-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin 99**

5.00 g (45.4 mmol) 1,3-Dihydroxybenzol **98** und 6.82 g (45.4 mmol) *p*-Tolylessigsäure **92** werden in einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler (mit Trockenrohr, Trockenmittel: Calciumchlorid) in 130 ml (1.04 mol) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) erwärmt, wobei eine goldfarbene Lösung entsteht. Diese wird für 3½ h auf 80 – 105 °C Ölbadtemperatur erhitzt, wobei sie orange-rot wird (der Reaktionsverlauf kann mittels DC-Kontrolle verfolgt werden; stationäre Phase: Kieselgel 60, mobile Phase: Diethylether). Man lässt die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur abkühlen und hydrolysiert dann neutralisierend, indem man sie unter Rühren auf ein großes Volumen (ca. 600 ml) eiskalter wässriger Natriumacetatlösung (12 g / 100 ml) gießt. Dabei scheidet sich eine orange-braune organische Phase ab. Man extrahiert mit Diethylether und trocknet anschließend die orangefarbene organische Phase über Magnesiumsulfat. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels wird das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Im Kolben verbleibt eine dunkelorange-farbene stechend riechende Flüssigkeit, aus der orangefarbener Feststoff ausfällt und über Nacht im Kühlschrank eine klumpige Masse entsteht. Diese wird mit Dichlormethan aufgenommen und aus Dichlormethan umkristallisiert. Man erhält das 2,4-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **99** als gelblichen bis ockerfarbenen Feststoff.



Ausbeute: 6.68 g (27.6 mmol) **99**, 61 % (Lit.^[110] 83 %), $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3$, $M = 242.27$

Smp.: 106 - 108 °C (Lit.^[111] 114 °C)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz / DMSO-d_6): (Abb. 94)

$\delta = 2.26$ (s, 3H, CH_3), 4.22 (s, 2H, CH_2), 5.75 (s, CH_2Cl_2), 6.25 (d, 1H, $^4J = 1.7$ Hz, H^3), 6.38 (dd, 1H, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, H^5), 7.11 (m, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 7.9$ Hz, $\text{H}^{3'}\text{H}^{5'}$), 7.16 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 7.9$ Hz, $\text{H}^{2'}\text{H}^{6'}$), 7.93 (d, 1H, $^3J = 8.8$ Hz, H^6), 10.68 (s, 1H, OH), 12.55 (s, 1H, OH) ppm.

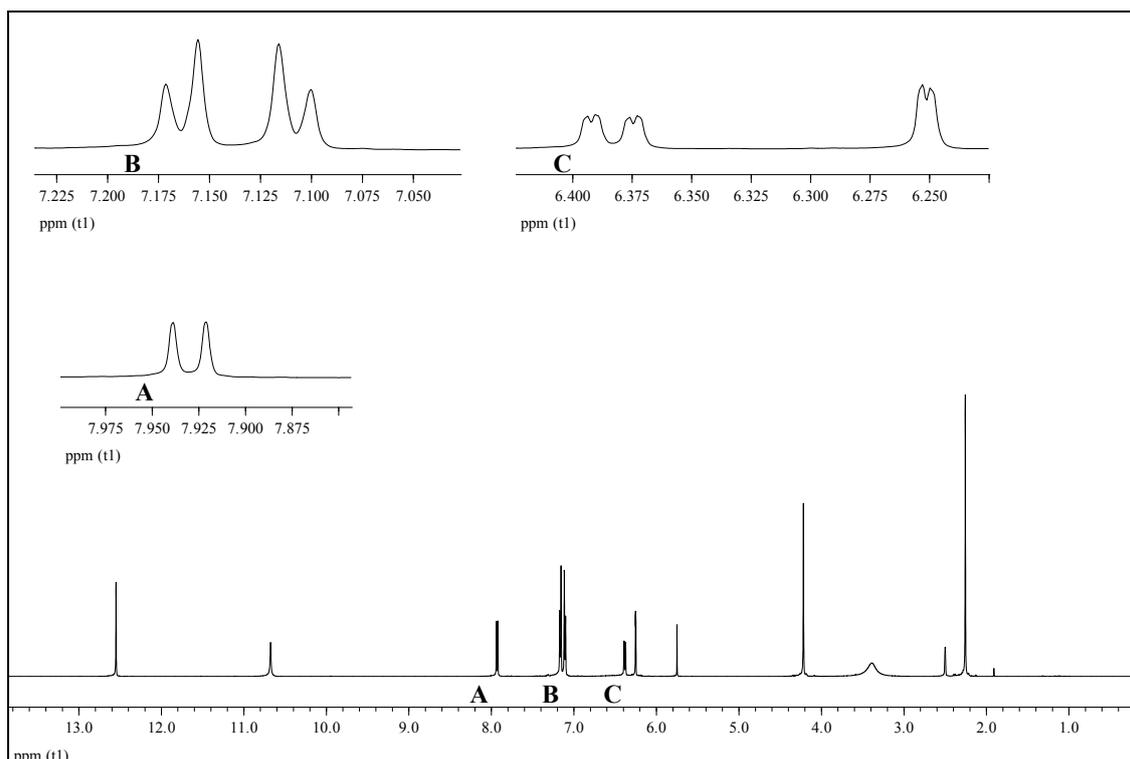


Abb. 94: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz / DMSO-d_6) von **99**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / DMSO-d_6):

$\delta = 20.56$ (CH_3), 43.67 (CH_2), 54.84 (CH_2Cl_2), 102.40 (C^3), 108.19 (C^5), 112.06 (C^1), 128.91 ($\text{C}^{3'}\text{C}^{5'}$), 129.26 ($\text{C}^{2'}\text{C}^{6'}$), 132.03 ($\text{C}^{1'}$), 133.52 (C^6), 135.58 ($\text{C}^{4'}$), 164.60 (C^2), 164.89 (C^4), 202.26 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS m/z (%) = 242 (4) [M^+], 137 (100), 110 (9), 105 (3), 84 (25), 69 (3).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 314 (3.93), 278 (4.14) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 95)

$\tilde{\nu} = 3185$ (O-H-Valenz), 1624 (C=O-Valenz), 1586 (Ringschw. Aromat), 1509 (Ringschw. Aromat), 1459 (CH₃/CH₂-Def.), 1327 (O-H-Def.), 1173 (C-OH-Valenz), 1140 (C-OH-Valenz) cm⁻¹.

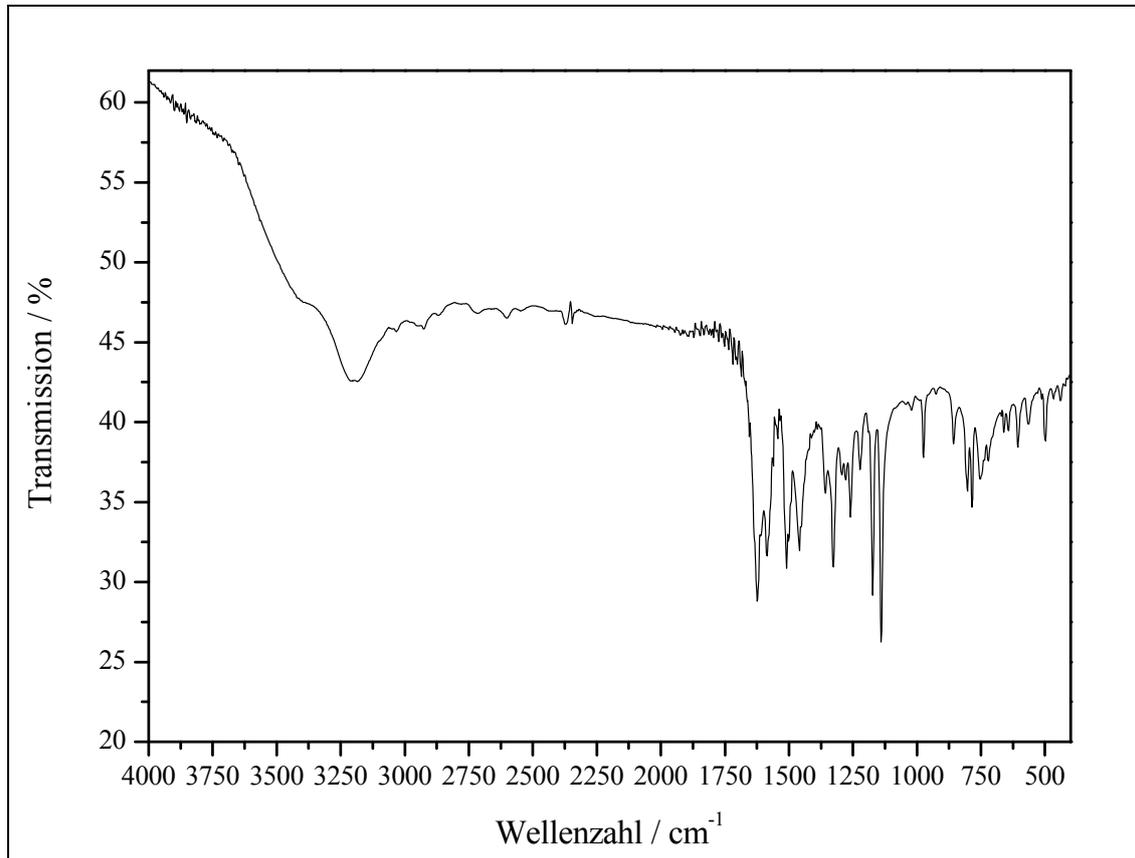
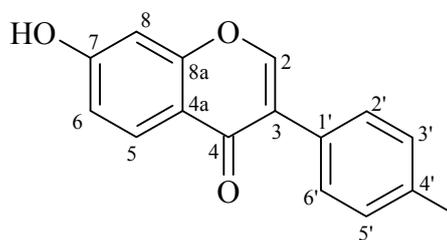


Abb. 95: IR-Spektrum (KBr) von **99**

Versuch 20:^[96]**7-Hydroxy-4'-methylisoflavon 100**

In einem 1 l Zweihalskolben mit Rückflusskühler (mit Trockenrohr, Trockenmittel: Calciumchlorid) und Tropftrichter werden 6.20 g (25.6 mmol) 2,4-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **99** in 555 ml (7.21 mol) *N,N*-



Dimethylformamid (DMF, über Molekularsieb 4 Å getrocknet) gelöst. Zu dieser goldgelben Lösung tropft man unter Rühren bei Raumtemperatur vorsichtig 55.5 ml (442 mmol) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (BF₃·Et₂O) hinzu, wobei sich die Reaktionsmischung leicht erwärmt. Diese wird nun weiter auf 60 °C Ölbadtemperatur erhitzt und dann werden als Formylierungsreagenz 6.0 ml (77 mmol) Methansulfonsäurechlorid **90** in 10 ml (130 mmol) DMF **89** hinzuge tropft. Die inzwischen orangefarbene Reaktionsmischung wird für 3½ h auf 100-110 °C Ölbadtemperatur erhitzt, wobei sie intensiver orange-rot wird (der Reaktionsverlauf kann mittels DC-Kontrolle verfolgt werden; stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Diethylether). Anschließend lässt man die Reaktionsmischung zunächst abkühlen und hydrolysiert dann, indem man sie unter Rühren auf ein großes Volumen eiskaltes Wasser gießt. Dabei fällt gelber Feststoff aus und die überstehende wässrige Lösung ist blass gelblich bis farblos. Tritt dieser Effekt nicht auf, so reicht die zur Hydrolyse verwendete Wassermenge noch nicht aus und es muss noch mehr Wasser hinzugefügt werden. Die so erhaltene Mischung aus gelbem Rohprodukt und Hydrolysat kann über Nacht im Kühlschrank verbleiben. Nach Absaugen des Rohprodukts und Umkristallisation aus Ethanol erhält man schließlich das 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** in Form cremefarbener bis bernsteinfarbener Kristalle.

Ausbeute: 3.83 g (15.2 mmol) **100**, 59 % (Lit.^[112] 21.3 %), C₁₆H₁₂O₃, M = 252.27

Smp.: 248 - 250.5 °C (Lit.^[112] 241 - 243 °C)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz / DMSO-d_6): (Abb. 96) vgl. Lit. ^[112]

$\delta = 2.33$ (s, 3H, CH_3), 6.87 (d, 1H, $^4J = 1.7$ Hz, H^8), 6.94 (dd, 1H, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, H^6), 7.22 (m, 2H, M-Teil eines $[\text{AM}]_2$ -Systems, $N = 7.9$ Hz, H^3H^5), 7.45 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AM}]_2$ -Systems, $N = 7.9$ Hz, H^2H^6), 7.97 (d, 1H, $^3J = 8.7$ Hz, H^5)
8.34 (s, 1H, H^2), 10.82 (s, 1H, OH) ppm.

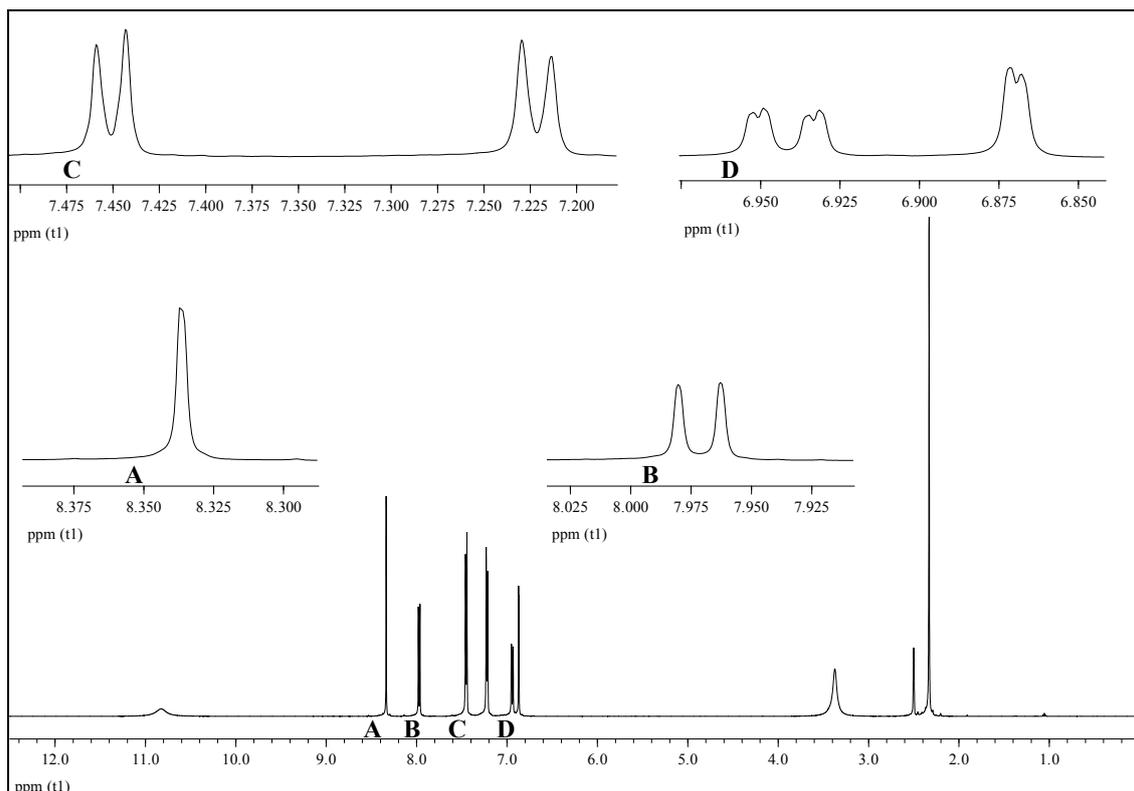


Abb. 96: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz / DMSO-d_6) von **100**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / DMSO-d_6): vgl. Lit. ^[112]

$\delta = 20.74$ (CH_3), 102.07 (C^8), 115.15 (C^6), 116.56 (C^{4a}), 123.36 (C^3), 127.23 (C^5), 128.61 (C^3C^5), 128.68 (C^2C^6), 129.08 (C^1), 136.94 (C^4), 153.39 (C^2), 157.37 (C^{8a}), 162.55 (C-OH), 174.42 (C=O) ppm.

MS m/z (%) = 252 (100) [M^+], 137 (13), 136 (37), 116 (24), 115 (41), 108 (21), 80 (11).

UV-Vis (Methanol):

λ_{\max} ($\lg \epsilon$) = 300 (4.04), 247 (4.46) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 97)

$\tilde{\nu}$ = 3426 (O-H-Valenz), 3126 (O-H-Valenz), 1627 (C=O/C=C-Valenz), 1585 (Ringschw. Aromat), 1454 (CH₃-Def.), 1385 (CH₃-Def.), 1306 (O-H-Def.), 1277 (C-O-C-Valenz), 1198 (C-OH-Valenz), 1103 (C-O-C-Valenz), 808 (C=C-H-Def.) cm⁻¹.

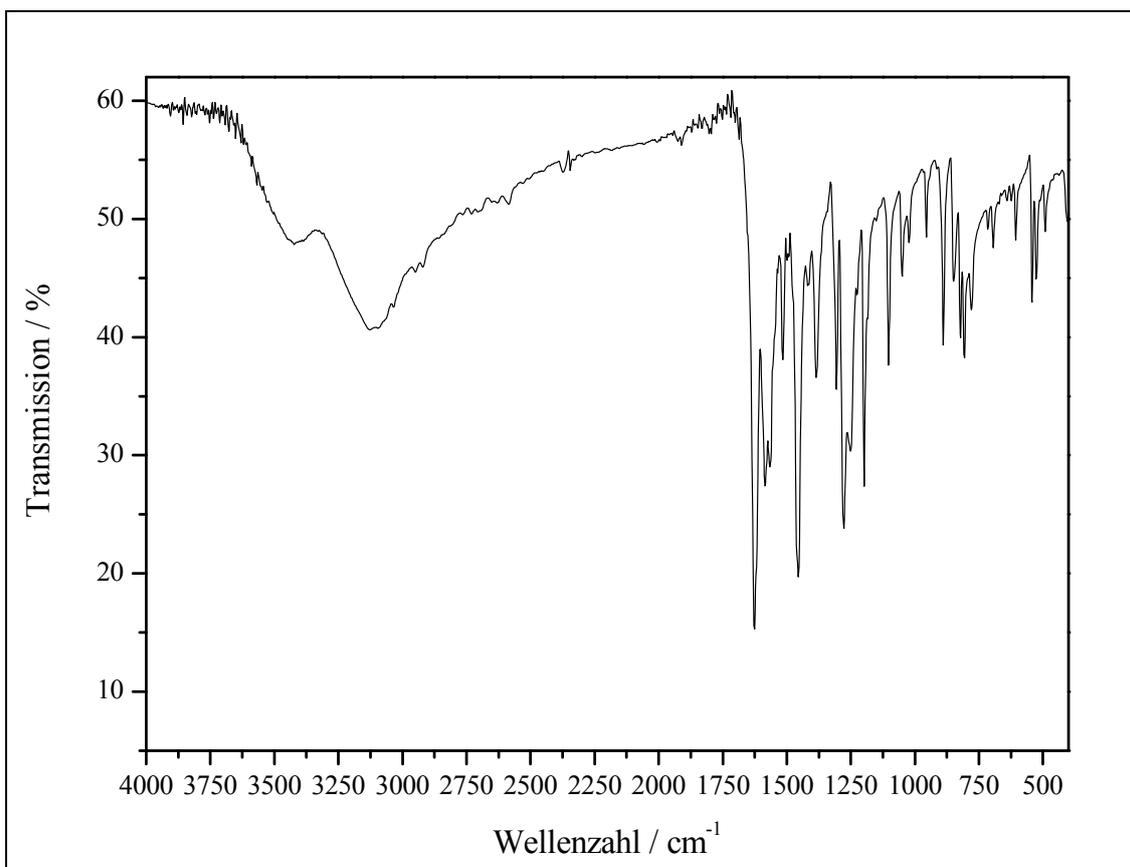


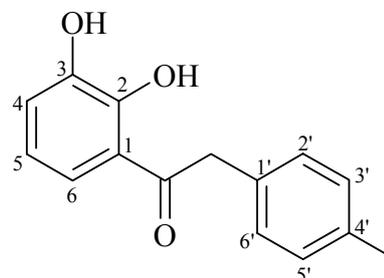
Abb. 97: IR-Spektrum (KBr) von **100**

5.8.3 Versuch zur Darstellung des 8-Hydroxy-4'-methylisoflavons **104**

Versuch 21:^[96]

2,3-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **102**

In einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler (mit Trockenrohr, Trockenmittel: Calciumchlorid) werden 2.75 g (25.0 mmol) 1,2-Dihydroxybenzol **101** und 3.75 g (25.0 mmol) *p*-Tolylessigsäure **92** in 70 ml (0.56 mol) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$)

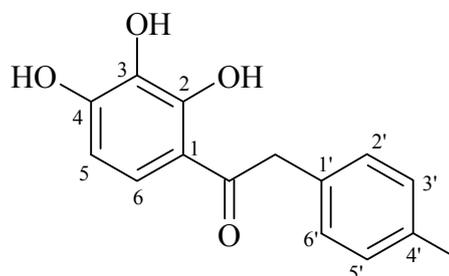


unter Rühren und Erwärmen gelöst (orangefarbene Lösung). Die Reaktionsmischung wird für etwa 3 h auf 80 – 90 °C Ölbadtemperatur erhitzt, wobei sie tief rot-braun wird (Reaktionskontrolle mittels DC möglich; stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase Diethylether). Nach Abkühlen wird die Reaktionsmischung unter Rühren auf ca. 300 ml eiskalte wässrige Natriumacetatlösung (12 g / 100 ml) gegeben (neutralisierende Hydrolyse). Die sich abscheidende rote organische Phase wird mit Diethylether extrahiert und die vereinigten Etherextrakte werden über Magnesiumsulfat getrocknet. Man filtriert das Trockenmittel ab, entfernt das Lösemittel am Rotationverdampfer und behält im Kolben ein dunkel violettes klumpiges Rohprodukt zurück. Nach Umkristallisation aus Diethylether isoliert man einen sandfarbenen Feststoff, bei dem es sich jedoch laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abb. 38) nicht um das gewünschte 2,3-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **102**, sondern neben einer nicht weiter definierten Verunreinigung zum größten Teil um das 3,4-Dihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **103** handelt. Hierzu findet sich eine Interpretation des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums und eine Diskussion des Syntheseverlaufs im Hauptteil unter Punkt 3.7.4.3. Auch in diesem Fall ist eine Weiterumsetzung zum angestrebten 8-Hydroxy-4'-methylisoflavon **104** nicht möglich.

5.8.4 Darstellung des 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavons 107

Versuch 22:^[96]**2,3,4-Trihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin 106**

4.00 g (31.7 mmol) 1,2,3-Trihydroxybenzol **105** und 4.76 g (31.7 mmol) *p*-Tolylessigsäure **92** werden in einem 250 ml Zueihalskolben mit Rückflusskühler (mit Trockenrohr, Trockenmittel: Calciumchlorid) in 80 ml (0.64 mol) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (BF₃·Et₂O) unter Rühren und Erwärmen gelöst (bernsteinfarbene Lösung) und anschließend für 3½ h auf 80 - 105 °C Ölbadtemperatur erhitzt (dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle möglich; stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Diethylether). Dann lässt man die inzwischen tiefrote Reaktionsmischung auf Raumtemperatur abkühlen und gießt sie unter Rühren auf ca. 400 ml eiskalte wässrige Natriumacetatlösung (12 g / 100 ml). Während dieser neutralisierenden Hydrolyse scheidet sich eine braune organische Phase ab, welche mit Diethylether extrahiert wird. Die vereinigten dunkelroten Etherphasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, und nach Abfiltrieren des Trockenmittels, am Rotationsverdampfer vom Lösemittel befreit. Im Kolben bleibt eine dunkelrote viskose Flüssigkeit zurück, die über Nacht im Kühlcrank zu einer festen Masse wird. Dabei handelt es sich um das Rohprodukt des gewünschten 2,3,4-Trihydroxy-4'-methyldeoxybenzoins **106**, das nach Umkristallisation aus Dichlormethan eine cremefarbene Substanz darstellt.



Ausbeute: 4.60 g (17.8 mmol) **106**, 56 %, C₁₅H₁₄O₄, M = 258.27

Smp.: 143 - 145 °C

¹H-NMR (500 MHz / DMSO-d₆): (Abb. 98)

δ = 2.26 (s, 3H, CH₃), 4.22 (s, 2H, CH₂), 5.75 (s, CH₂Cl₂), 6.42 (d, 1H, ³J = 8.9 Hz, H⁵), 7.11 (m, 2H, B-Teil eines [AB]₂-Systems, N = 7.8 Hz, H³H⁵), 7.17 (m, 2H, A-Teil

eines $[AB]_2$ -Systems, $N = 7.9$ Hz, $H^{2'}H^{6'}$), 7.49 (d, 1H, $^3J = 8.9$ Hz, H^6), 8.64 (s, 1H, OH), 10.13 (s, 1H, OH), 12.54 (s, 1H, OH) ppm.

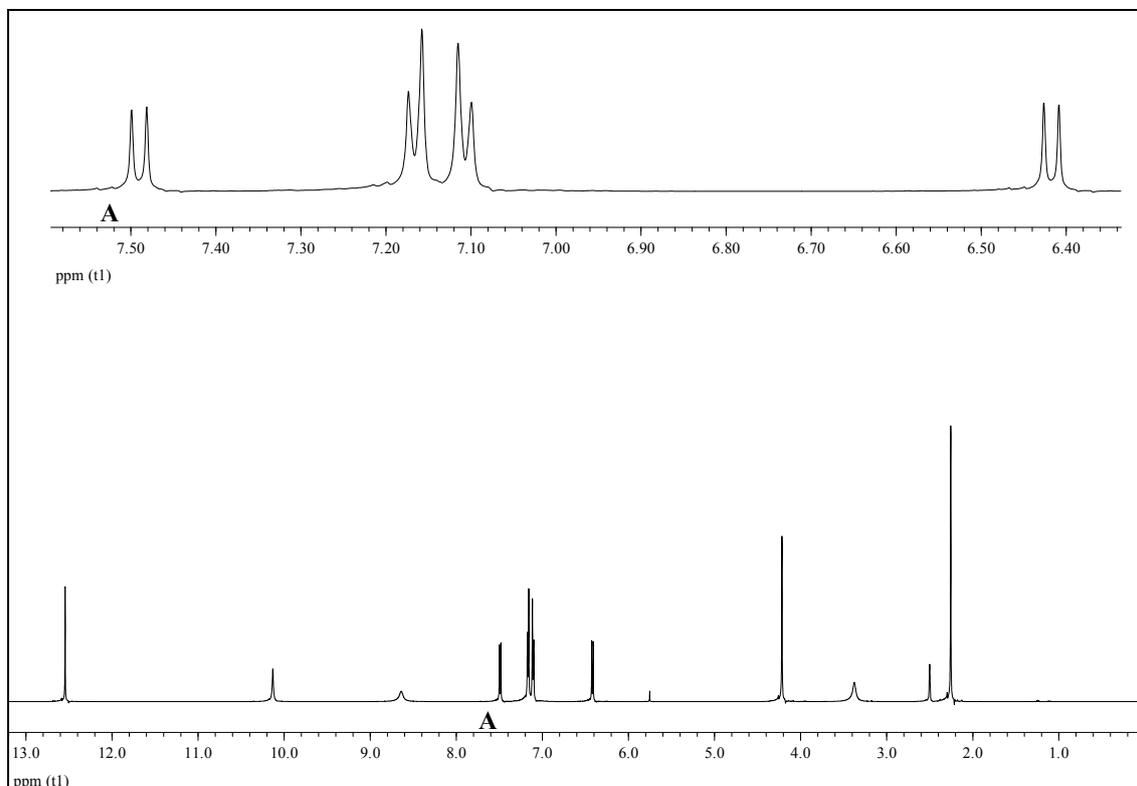


Abb. 98: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz / DMSO- d_6) von **106**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / DMSO- d_6):

$\delta = 20.57$ (CH_3), 43.59 (CH_2), 107.72 (C^5), 112.36 (C^1), 122.98 (C^6), 128.90 ($\text{C}^3\text{C}^{5'}$), 129.27 (C^2C^6), 132.12 ($\text{C}^{1'}$), 132.29 (C^3), 135.56 (C^4), 152.53 (C^2), 152.54 (C^4), 203.01 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS m/z (%) = 258 (8) [M^+], 153 (100), 125 (3), 107 (4), 105 (10), 79 (11), 77 (5).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 295 (4.23) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 99)

$\tilde{\nu}$ = 3484 (O-H-Valenz), 3194 (O-H-Valenz), 2928 (CH₂/CH₃-Valenz), 1622 (C=O-Valenz), 1591 (Ringschw. Aromat), 1515 (Ringschw. Aromat), 1436 (CH₂/CH₃-Def.), 1369 (CH₃-Def.), 1290 (O-H-Def.), 1173 (C-OH-Valenz), 1032 (C-OH-Valenz), 801 (C-H-Def. Aromat, 2 benachbarte H) cm⁻¹.

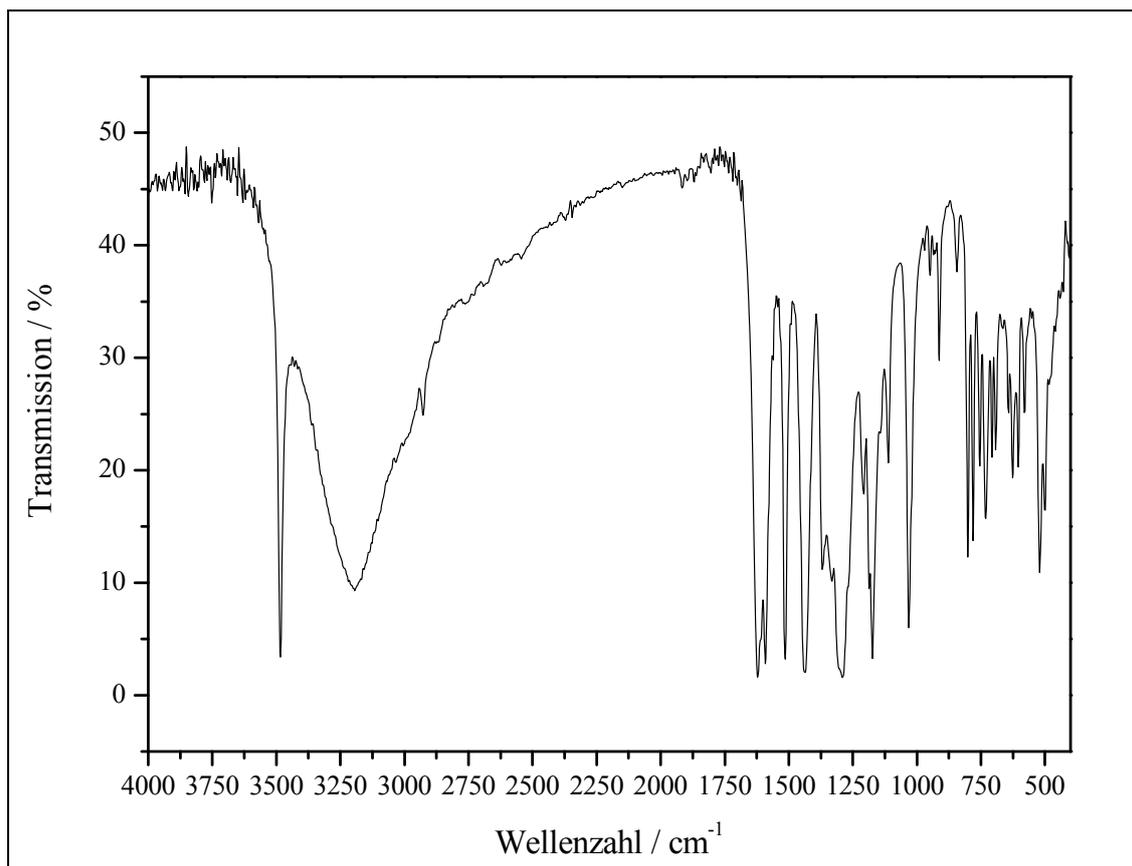
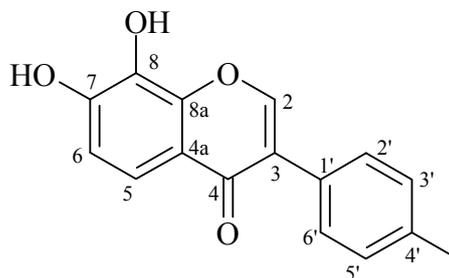


Abb. 99: IR-Spektrum (KBr) von **106**

Elementaranalyse: ber.: C: 69.76 % H: 5.46 %
gef.: C: 69.38 % H: 5.24 %

Versuch 23:^[96]**7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon 107**

Die Reaktion wird in einem 500 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler (mit Trockenrohr, Trockenmittel: Calciumchlorid) und Tropftrichter durchgeführt. 2.69 g (10.4 mmol) 2,3,4-Trihydroxy-4'-methoxybenzoin **106** werden in 216 ml



(2.81 mol) *N,N*-Dimethylformamid (DMF, über Molekulsieb 4 Å getrocknet) gelöst und unter Rühren bei Raumtemperatur vorsichtig tropfenweise mit 21.6 ml (172 mmol) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) versetzt, wobei sich die Reaktionsmischung leicht erwärmt. Nach Zugabe des Bortrifluoriddiethyletherats erhitzt man die Reaktionsmischung auf 60 °C Ölbadtemperatur und tropft dann das Formylierungsreagenz, 2.5 ml (32 mmol) Methansulfonsäurechlorid **90** in 4.1 ml (53 mmol) DMF **89**, hinzu. Anschließend wird die Reaktionsmischung auf 90 – 110 °C Ölbadtemperatur erhitzt (Reaktionsverlauf kann mittels DC-Kontrolle verfolgt werden; stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Diethylether) und nach 3½ h lässt man die tief orange-braune Reaktionsmischung abkühlen und gießt sie unter Rühren auf ein grosses Volumen eiskaltes Wasser (pH-Wert der Mischung liegt bei 2). Dabei sollte maisgelber – ockerfarbener Feststoff ausfallen. Ist dies nicht der Fall, so reicht die zur Hydrolyse eingesetzte Menge Wasser noch nicht aus und es muss noch Wasser hinzugefügt werden. Man saugt das Rohprodukt ab und kristallisiert es aus Ethanol um.

Ausbeute: 1.62 g (6.04 mmol) **107**, 58 % (Lit.^[113] 78 %), $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$, $M = 268.27$

Smp.: 237 - 239 °C (Lit.^[113] 241 °C)

¹H-NMR (200 MHz / DMSO-d_6): (Abb. 100) vgl. Lit.^[113]

$\delta = 2.33$ (s, 3H, CH_3), 6.96 (d, 1H, $^3J = 8.7$ Hz, H^6), 7.22 (m, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 7.9$ Hz, H^3H^5), 7.45 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 8.0$ Hz, H^2H^6), 7.47 (d, 1H, $^3J = 8.7$ Hz, H^5), 8.37 (s, 1H, H^2) ppm.

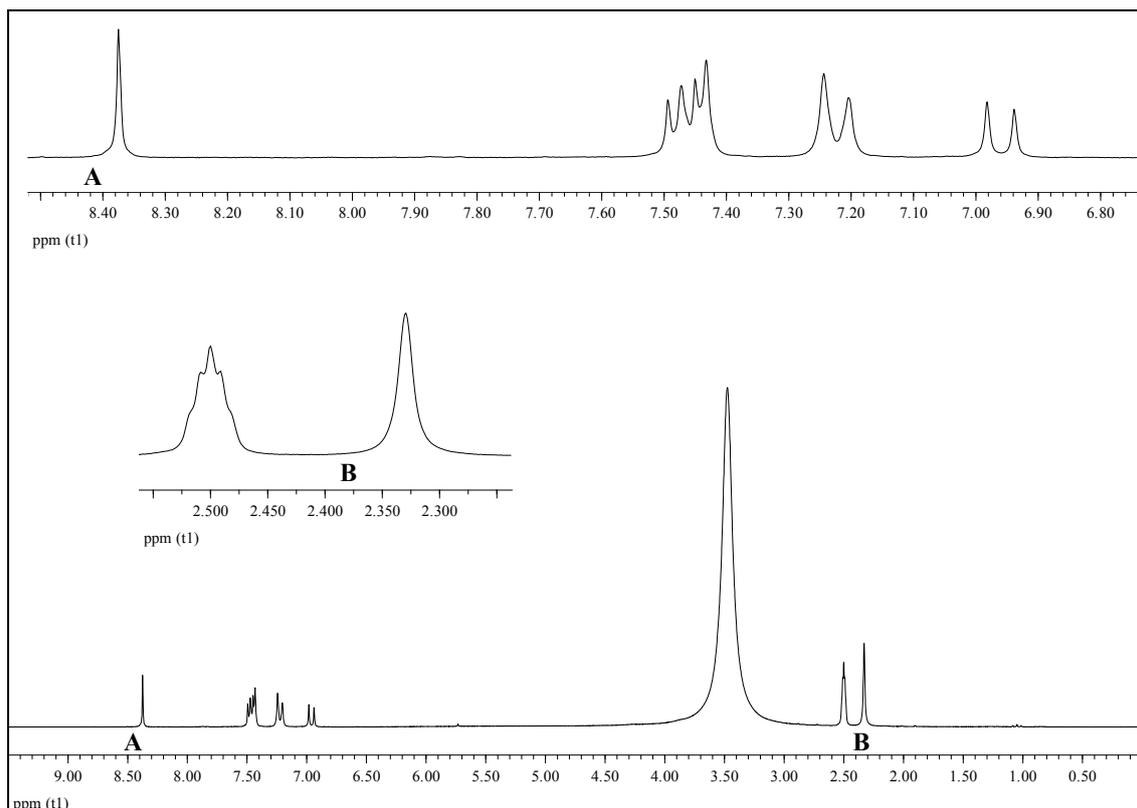


Abb. 100: ^1H -NMR-Spektrum (200 MHz /DMSO- d_6) von **107**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / DMSO- d_6): vgl. Lit. ^[113]

$\delta = 20.75$ (CH_3), 114.15 (C^6), 115.59 (C^5), 117.37 (C^{4a}), 122.80 (C^3), 128.60 (C^3C^5), 128.76 (C^2C^6), 129.22 (C^1), 132.87 (C^4), 136.87 (C^8), 146.63 (C^{8a}), 150.00 (C^7), 153.24 (C^2), 174.89 ($\text{C}=\text{O}$) ppm.

MS m/z (%) = 268 (67) [M^+], 267 (66) [$(\text{M}-\text{H})^+$], 165 (4), 152 (100), 133 (37), 124 (16), 115 (32), 91 (4), 85 (7), 83 (9), 77 (5), 71 (10), 57 (13), 55 (10), 43 (15).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 303 (3.97), 250 (4.53) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 101)

$\tilde{\nu} = 3396$ (O-H-Valenz), 3092 (C-H-Valenz Aromat), 2968-2922 (CH_3 -Valenz), 1616 ($\text{C}=\text{O}/\text{C}=\text{C}$ -Valenz), 1587 (Ringschw. Aromat), 1515 (Ringschw. Aromat), 1438 (CH_3 -

Def.), 1388 (CH₃-Def.), 1320 (O-H-Def.), 1272 (C-O-C-Valenz), 1196 (C-O-C-Valenz), 1167 (C-OH-Valenz), 1084 (C-OH-Valenz), 1044 (C-O-C-Valenz), 1018 (C-O-C-Valenz), 887 (C=C-H-Def.), 819 (C-H-Def. Aromat, 2 benachbarte H) cm⁻¹.

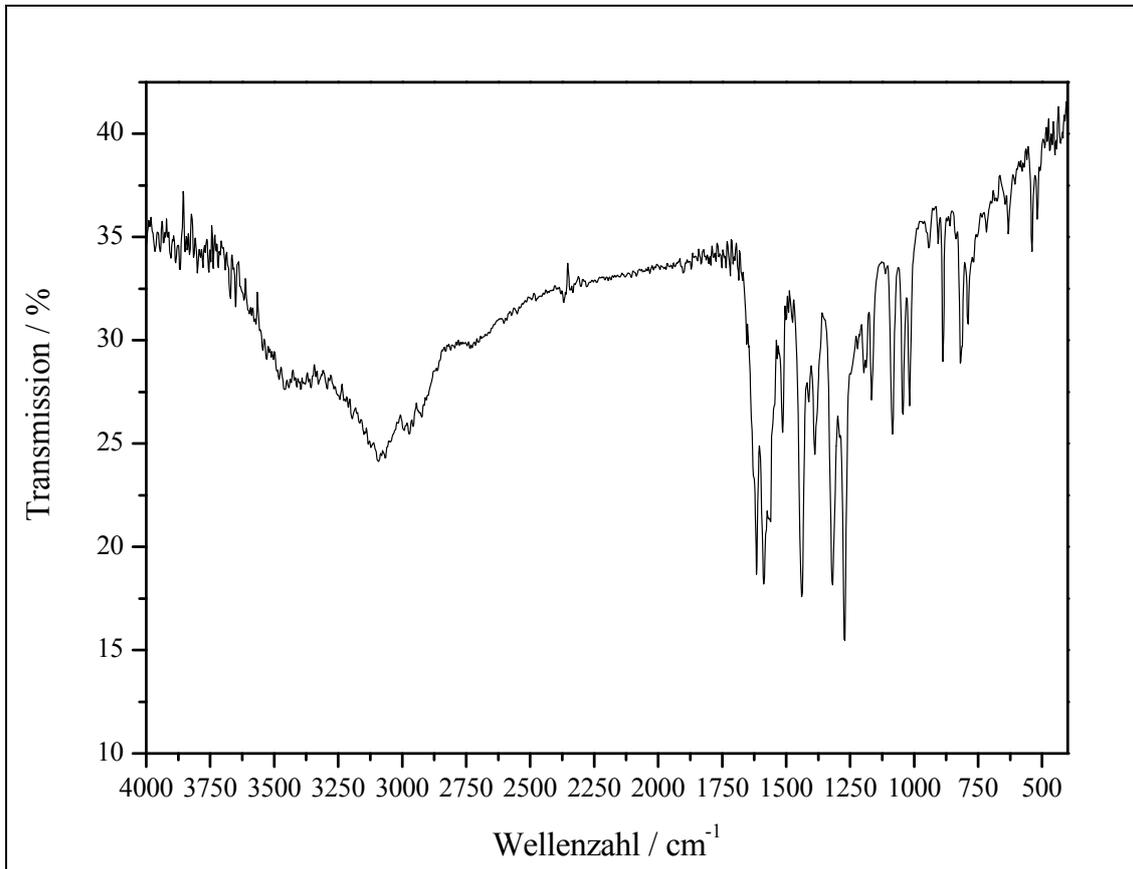
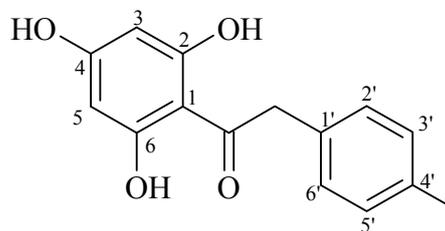


Abb. 101: IR-Spektrum (KBr) von **107**

5.8.5 Versuche zur Darstellung des 5,7-Dihydroxy-4'-methylisoflavons 110

Versuch 24:^[96]**2,4,6-Trihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin 109**

Der Versuch wurde mehrfach unter variierenden Reaktionsbedingungen durchgeführt, es gelang jedoch nicht die gewünschte Verbindung zu isolieren. Im Folgenden werden 3 angewendete Varianten beschrieben.



Variante 1: In einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler (mit Trockenrohr, Trockenmittel: Calciumchlorid) werden 5.00 g (39.6 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol **108** und 6.00 g (40.0 mmol) *p*-Tolylessigsäure **92** in 105 ml (836 mmol) Bortrifluoriddiethyletherat (BF₃·Et₂O) unter Rühren und Erwärmen gelöst, wobei zunächst eine klare orangefarbene Lösung entsteht. Diese wird auf 80 – 100 °C Ölbadtemperatur erhitzt und nach etwa 15 min tritt eine Trübung der Reaktionsmischung mit Ausfällung eines orangefarbenen Niederschlags auf. Nach 3 h wird die Reaktion abgebrochen indem man die Synthesemischung auf Raumtemperatur abkühlen lässt und den ausgefallenen neonorangefarbenen Feststoff absaugt (Rohproduktfraktion 1). Der Feststoff wird mit Wasser und Natriumacetatlösung (12 g / 100 g) gewaschen und das Filtrat (Reaktionslösung) wird mit wässriger Natriumacetatlösung (12 g / 100 g) hydrolysiert und verbleibt über Nacht im Kühlschrank. Dabei setzt sich ebenfalls eine orange-rote allerdings schwerfiltrierbare Substanz (kaugummiartige Masse, Rohproduktfraktion 2) ab, nach deren Abtrennung die Natriumacetatphase noch mit Diethylether extrahiert wird. Die orangefarbene Etherphase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trockenmittels am Rotationsverdampfer vom Lösemittel befreit. Im Kolben verbleibt ein roter matschiger Feststoff (Rohproduktfraktion 3). Die vereinigten Rohproduktfraktionen können in einem Gemisch aus Diethylether, Dichlormethan und Ethanol in Lösung gebracht werden, lassen sich jedoch nicht umkristallisieren. Erst bei Zugabe von *n*-Hexan entsteht pulverförmiger rosa-roter Feststoff. Dieser wird

abgesaugt und aus dem Filtrat kristallisieren farblose Nadeln aus, bei denen es sich laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum und Massenspektrum um das Edukt *p*-Tolylessigsäure **92** handelt. Die $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchung des rosa-roten Feststoffes zeigt, dass es sich dabei um ein Produktgemisch handelt, liefert jedoch keinen Hinweis auf das gewünschte 2,4,6-Trihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **109**.

Variante 2: In einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler (mit Trockenrohr, Trockenmittel: Calciumchlorid) werden 3.50 g (27.8 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol **108** und 4.17 g (27.8 mmol) *p*-Tolylessigsäure **92** bei Raumtemperatur unter Rühren in 75 ml (0.60 mol) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ gelöst und anschließend in einem Eisbad gekühlt (orangebraune Lösung). Nach 4 h wird das Eisbad entfernt und die Reaktionsmischung erwärmt sich auf Raumtemperatur. Nach 5 h wird sie für 15 min auf eine Ölbadtemperatur von 70 °C erhitzt, wobei gelblicher Feststoff ausfällt. Man gießt die Reaktionsmischung sofort unter Rühren auf ca. 500 ml eiskalte Natriumacetat-Lösung (12 g / 100 g). Dabei scheidet sich eine orangefarbene organische Phase ab. Die Mischung verbleibt über Nacht im Kühlschrank und wird anschließend mit Diethylether extrahiert. Dann trocknet man die neonorangefarbene Etherphase über Magnesiumsulfat. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels und Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer, verbleibt im Kolben matschiger orangefarbener Feststoff. Dieser wird mit Dichlormethan aufgenommen und zum Sieden erhitzt, wobei er jedoch nicht vollständig in Lösung geht. Der nicht in Lösung gegangene Feststoff wird abgesaugt und sowohl $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch als auch massenspektrometrisch untersucht. Demzufolge wurde hier lediglich eines der Edukte, das 1,3,5-Trihydroxybenzol **108**, zurückgewonnen. Das nach Absaugen dieser Substanz erhaltene Filtrat wird am Rotationsverdampfer etwas eingengt und verbleibt über Nacht im Kühlschrank. Es kristallisieren farblose Nadeln aus, deren $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische und massenspektrometrische Untersuchung zeigt, dass es sich hierbei um das zweite Edukt, die *p*-Tolylessigsäure **92** handelt. Das gewünschte 2,4,6-Trihydroxy-4'-methyldeoxybenzoin **109** kann jedoch in keiner der isolierten Substanzfraktionen nachgewiesen werden.

Variante 3: In dieser dritten Variante wird versucht, an die Friedel-Crafts-Acylierung sofort die Formylierung anzuschliessen, also ohne Isolieren des Deoxybenzoin. Zunächst werden wiederum 5.00 g (39.6 mmol) 1,3,5-Trihydroxybenzol **108** und 6.00 g (40.0 mmol) *p*-Tolylessigsäure **92** in einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler (mit Trockenrohr, Trockenmittel: Calciumchlorid) unter Rühren und Erwärmen in 105 ml (836 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ gelöst. Die gelb – orange Reaktionsmischung wird auf 80 – 105 °C Ölbadtemperatur erhitzt, wobei sie intensiver orange wird und nach ca. 15 min Feststoff ausfällt. Nach 5 h lässt man den Reaktionsansatz auf Raumtemperatur abkühlen und fügt unter Rühren 62 ml (0.81 mol) DMF **89** (über Molekularsieb 4 Å getrocknet) hinzu. Dabei erwärmt sich die Reaktionsmischung und wird noch weiter auf etwa 60 °C Ölbadtemperatur erhitzt. Bei dieser Temperatur wird dann langsam das Formylierungsreagenz, 10.0 ml (128 mmol) Methansulfonsäurechlorid **90** in 16.0 ml (208 mmol) DMF **89** hinzugetropft, wobei die Reaktionsmischung siedet. Die Ölbadtemperatur wird auf 70 – 80 °C gebracht und das weiterhin siedende Reaktionsgemisch für 2½ h bei dieser Temperatur belassen, bevor man es auf Raumtemperatur abkühlen lässt. Inzwischen besteht das Gemisch neben einer gelblichen Flüssigkeit aus intensiv orangefarbenem Feststoff und einer klumpigen dunkelroten Masse und wird zur Hydrolyse auf eiskaltes Wasser gegeben. Der pulverförmige Feststoff und die klumpige Masse werden gemeinsam abgesaugt und in wässrigem Aceton gelöst. Erst nach Einengen dieser Lösung am Rotationsverdampfer und Umkristallisation des Rohprodukts aus Ethanol, kann ein orangefarbenes Produkt isoliert werden, bei dem es sich laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum um ein nicht weiter definiertes Substanzgemisch handelt, das jedoch keinerlei Hinweis auf das angestrebte 5,7-Dihydroxy-4'-methylisoflavin **110** gibt und auch keine weitere Aufreinigung zulässt.

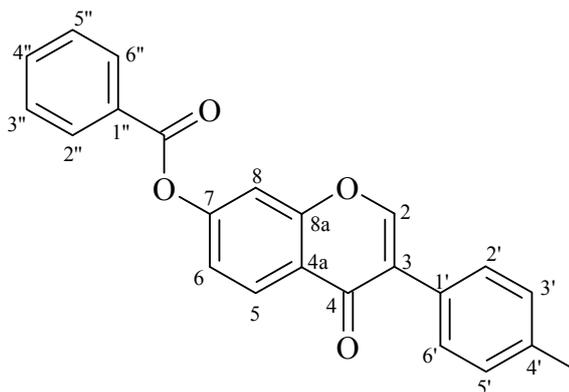
5.9 Darstellung der Benzoyl-4'-methylisoflavone

5.9.1 Darstellung des 7-Benzoyl-4'-methylisoflavons 111

Versuch 25:^[67]

4-Oxo-3-(4-methylphenyl)-4*H*-chromen-7-yl-benzoat 111

3.40 g (13.5 mmol) 7-Hydroxy-4'-methylisoflavon **100** werden in einem 500 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter in ca. 250 ml Pyridin p. a. gelöst. Dann werden unter Rühren bei Raumtemperatur 6.8 ml (59 mmol)



Benzoylchlorid **75** hinzugetropft, wobei sich die Reaktionsmischung bernsteinfarben färbt und nach einiger Zeit milchig trübe wird. man lässt über Nacht weiter bei Raumtemperatur rühren und nach insgesamt einem Tag Reaktionszeit hydrolysiert man, indem man die Reaktionsmischung unter Rühren auf Eiswasser gibt und mit konz. Salzsäure ansäuert. Es entsteht weiß – cremefarbener flockiger Niederschlag, welcher abgesaugt und zur Neutralisation mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen wird. Das so erhaltene Rohprodukt wird mit ca. 150 ml Diethylether aufgenommen und zum Sieden erhitzt. Der dabei nicht in Lösung gehende cremefarbene Feststoff stellt das gewünschte 4'-Methylisoflavon-7-yl-benzoat **111** dar. Nach Absaugen des Produkts fällt im Filtrat meist noch cremefarbener Feststoff nach, der ebenfalls abgesaugt wird. Die vereinigten Produktfraktionen werden am Rotationsverdampfer oder an der Vakuumpumpe getrocknet.

Ausbeute: 4.65 g (13.0 mmol) **111**^[114,115], 97 %, C₂₃H₁₆O₄, M = 356.38

Smp.: 207 - 210 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz / CDCl_3): (Abb. 102)

$\delta = 2.40$ (s, 3H, CH_3), 7.27 (m, 2H, M-Teil eines $[\text{AM}]_2$ -Systems, $N = 7.5$ Hz, $\text{H}^{3''}\text{H}^{5''}$), 7.31 (dd, 1H, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 1.8$ Hz, H^6), 7.44 (d, 1H, $^4J = 2.0$ Hz, H^8), 7.47 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AM}]_2$ -Systems, $N = 7.9$ Hz, $\text{H}^{2''}\text{H}^{6''}$), 7.55 (m, 2H, M-Teil eines $[\text{AM}]_2\text{B}$ -Systems, $N = 7.7$ Hz, $\text{H}^{3'''}\text{H}^{5''}$), 7.69 (t, 1H, B-Teil eines $[\text{AM}]_2\text{B}$ -Systems, $^3J = 7.2$ Hz, $\text{H}^{4''}$), 8.01 (s, 1H, H^2), 8.23 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AM}]_2\text{B}$ -Systems, $N = 7.6$ Hz, $\text{H}^{2''}\text{H}^{6''}$), 8.39 (d, 1H, $^3J = 8.7$ Hz, H^5) ppm.

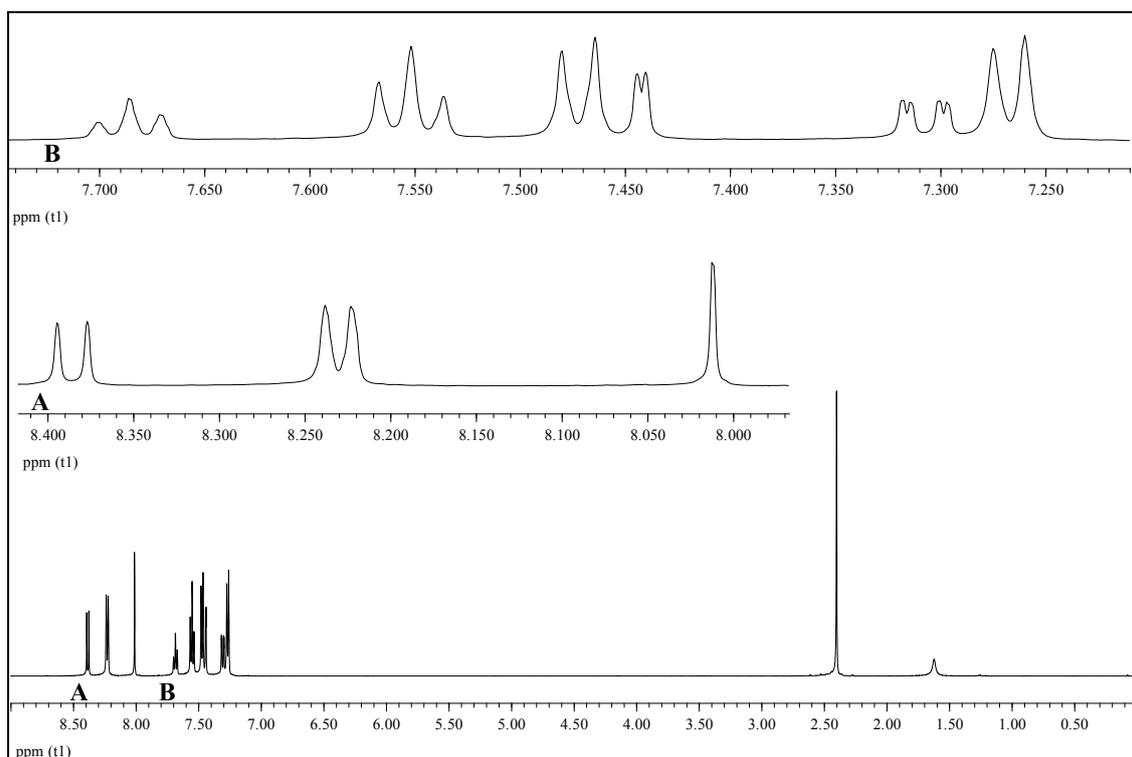


Abb. 102: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **111**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 21.25$ (CH_3), 111.10 (C^8), 119.60 (C^6), 122.42 (C^{4a}), 125.52 (C^3), 127.92 (C^5), 128.55 (C^1), 128.74 ($\text{C}^{1''}\text{C}^{3''}\text{C}^{5''}$), 128.79 (C^2C^6), 129.23 (C^3C^5), 130.31 ($\text{C}^{2''}\text{C}^{6''}$), 134.10 ($\text{C}^{4''}$), 138.19 (C^4), 152.88 (C^2), 154.73 (C^{8a}), 156.70 (C^7), 164.36 (O-C=O), 175.68 (C=O) ppm.

MS m/z (%) = 356 (11) [M^+], 266 (3), 224 (2), 117 (9), 105 (100), 91 (3), 77 (27).

UV-Vis (Methanol):

λ_{\max} ($\lg \epsilon$) = 300 (3.99), 232 (4.52) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 103)

$\tilde{\nu}$ = 3087 (C-H-Valenz Aromat), 3032 (C-H-Valenz Aromat), 2918 (CH₃-Valenz), 1737 (C=O-Valenz Arylester), 1641 (C=O/C=C-Valenz), 1619 (Ringschw. Aromat), 1515 (Ringschw. Aromat), 1442 (CH₃-Def.), 1373 (CH₃-Def.), 1272 (C-O-C-Valenz), 1233 (C-O-C-Valenz), 1183 (O=C-O-C-Valenz), 1061 (O=C-O-C-Valenz), 1025 (C-O-C-Valenz), 884 (C=C-H-Def.), 818 (C-H-Def. Aromat), 787 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert), 700 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert) cm⁻¹.

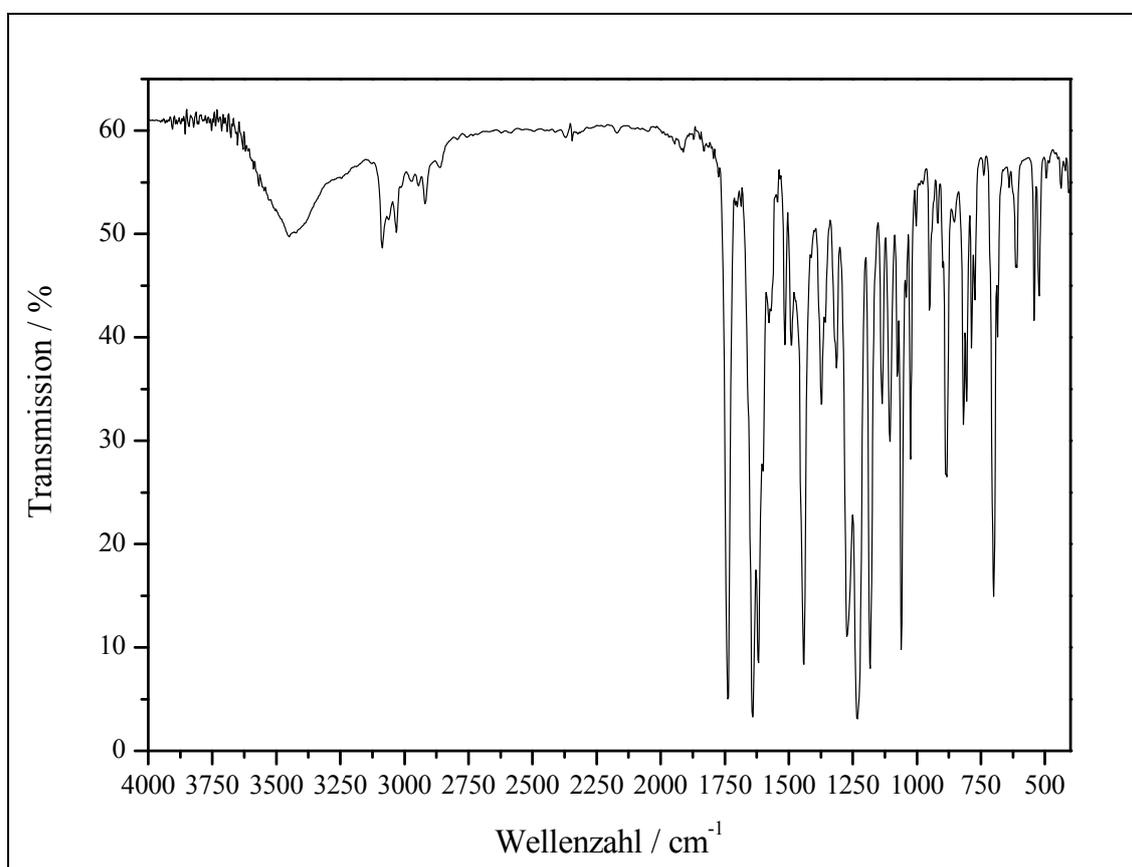
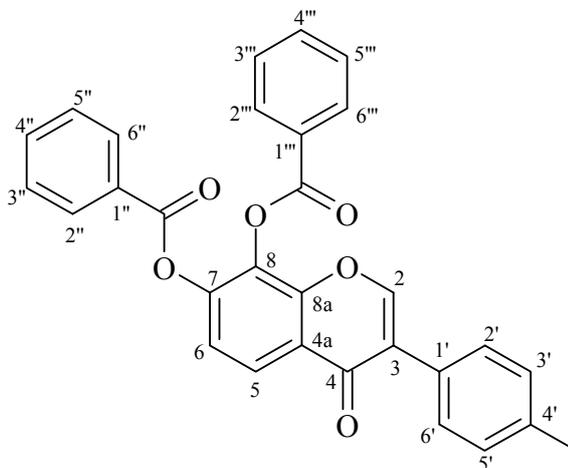


Abb. 103: IR-Spektrum (KBr) von **111**

5.9.2 Darstellung des 7,8-Dibenzoyl-4'-methylisoflavons **112****Versuch 26:**^[67] 4-Oxo-3-(4-methylphenyl)-4H-chromen-7,8-diyl-dibenzoat **112**

In einem 250 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter werden 1.21 g (4.51 mmol) 7,8-Dihydroxy-4'-methylisoflavon **107** in 80 ml Pyridin p. A. gelöst. Dann werden unter Rühren bei Raumtemperatur 5.0 ml (43 mmol) Benzoylchlorid **75**



hinzu-getropft. Die Reaktionsmischung färbt sich währenddessen orange und wird mit der Zeit milchig trübe. Man lässt über Nacht weiter bei Raumtemperatur rühren und hydrolysiert nach einer Reaktionszeit von 1 d, indem man die Reaktionsmischung unter Rühren auf Eiswasser gibt und anschließend mit konz. Salzsäure ansäuert. Dabei entsteht creme-ockerfarbener Niederschlag welcher abgesaugt und zur Neutralisation mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen wird. Das auf diese Weise erhaltene Rohprodukt wird mit etwa 150 ml Diethylether aufgenommen und zum Sieden erhitzt. Der dabei nicht in Lösung gehende cremefarbene Feststoff ist das gewünschte Produkt **112**. Es wird abgesaugt und getrocknet. Meist fällt im Filtrat nochmals cremefarbenes Produkt **112** nach, das ebenfalls abgesaugt und getrocknet wird.

Ausbeute: 1.78 g (3.74 mmol) **112**, 83 %, $C_{30}H_{20}O_6$, $M = 476.48$

Smp.: 177 - 178 °C

1H -NMR (200 MHz / DMSO- d_6): (Abb. 104)

$\delta = 2.35$ (s, 3H, CH_3), 7.26 (m, 2H, B-Teil eines $[AB]_2$ -Systems, $N = 8.1$ Hz, $H^3'H^5'$), 7.49 (m, 2H, A-Teil eines $[AB]_2$ -Systems, $N = 8.7$ Hz, $H^2'H^6'$), 7.47 – 7.60 (m, 4H, M-Teile zweier $[AM]_2B$ -Systeme, $H^{3''}H^{5''}$, $H^{3''' }H^{5''' }$), 7.73 (d, 1H, $^3J = 8.9$ Hz, H^6), 7.67 –

7.78 (m, 2H, B-Teile zweier [AM]₂B-Systeme, H^{4''}, H^{4'''}), 8.00 – 8.10 (m, 4H, A-Teile zweier [AM]₂B-Systeme, H^{2''}H^{6''}, H^{2'''}H^{6'''}), 8.21 (d, 1H, ³J = 8.9 Hz, H⁵), 8.55 (s, 1H, H²) ppm.

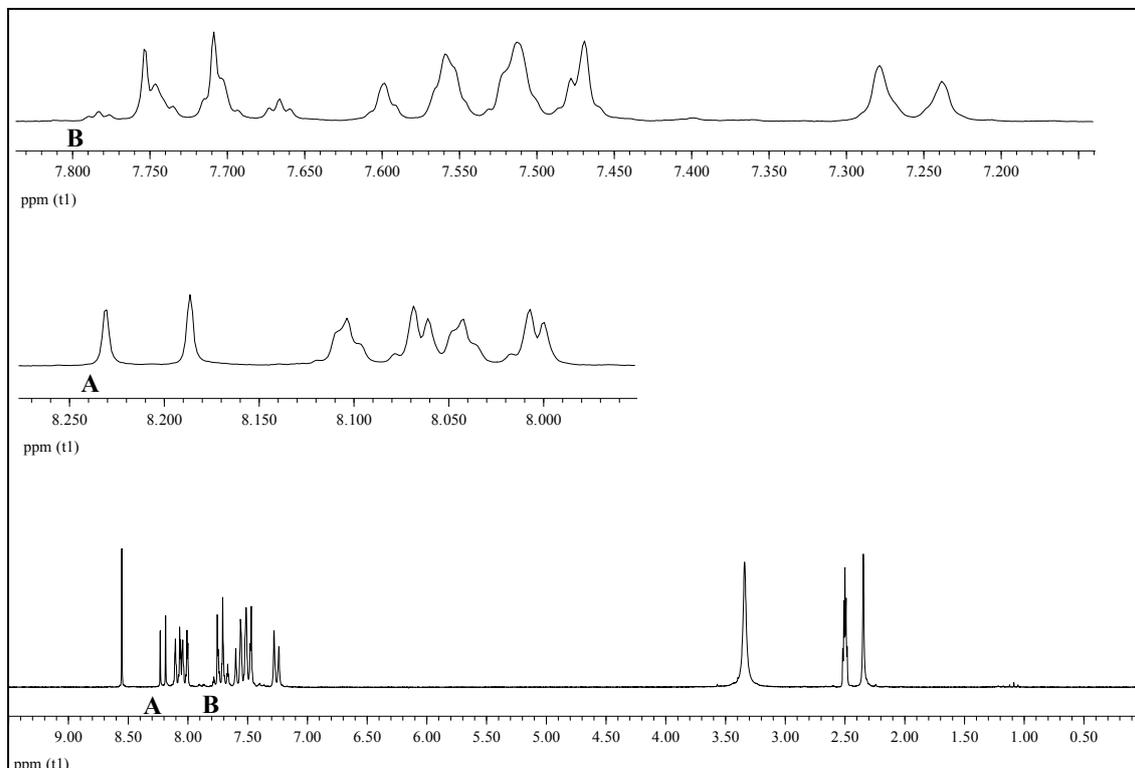


Abb. 104: ¹H-NMR-Spektrum (200 MHz /DMSO-d₆) von **112**

¹³C{¹H}-NMR (125 MHz / DMSO-d₆):

δ = 20.76 (CH₃), 120.70 (C⁶), 122.78 (C^{4a}), 123.57 (C⁵), 124.27 (C³), 126.80 / 127.39 / 128.20 (C^{1'''}, C^{1''}, C^{1'}), 128.77 (C^{3'}C^{5'}C^{2'}C^{6'}), 129.05 / 129.22 (C^{3'''}C^{5'''}, C^{3''}C^{5''}), 129.75 / 129.89 (C^{2'''}C^{6'''}, C^{2''}C^{6''}), 131.17 (C⁸), 134.60 / 134.88 (C^{4'''}, C^{4''}), 137.51 (C^{4'}), 146.50 (C⁷), 148.94 (C^{8a}), 154.15 (C²), 162.77 / 163.06 (2 O-C=O), 174.25 (C=O) ppm.

MS m/z (%) = 476 (4) [M⁺], 105 (100), 77 (19).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (lg ε) = 304 (3.86), 250 (4.57), 231 (4.61) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 105)

$\tilde{\nu} = 3072$ (C-H-Valenz Aromat), 3028 (C-H-Valenz Aromat), 2924 (CH₃-Valenz), 1752 (C=O-Valenz Arylester), 1649 (C=O/C=C-Valenz), 1619 (Ringschw. Aromat), 1581 (Ringschw. Aromat), 1512 (Ringschw. Aromat), 1449 (CH₃-Def.), 1377 (CH₃-Def.), 1323 (O=C-O-C-Valenz), 1251 (C-O-C-Valenz), 1212 (C-O-C-Valenz), 1189 (O=C-O-C-Valenz), 1081 (O=C-O-C-Valenz), 1055 (C-O-C-Valenz), 1025 (C-O-C-Valenz), 886 (C=C-H-Def.), 817 (C-H-Def. Aromat), 779 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert), 707 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert) cm⁻¹.

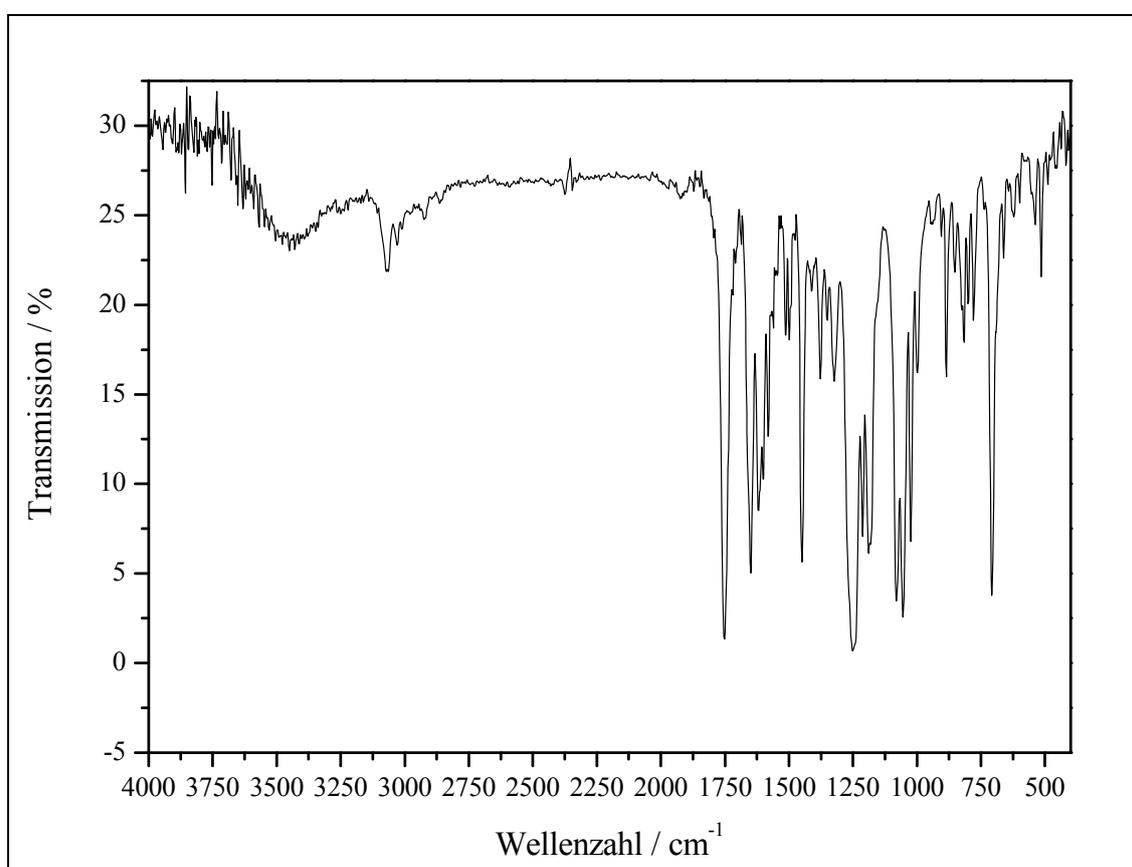


Abb. 105: IR-Spektrum (KBr) von **112**

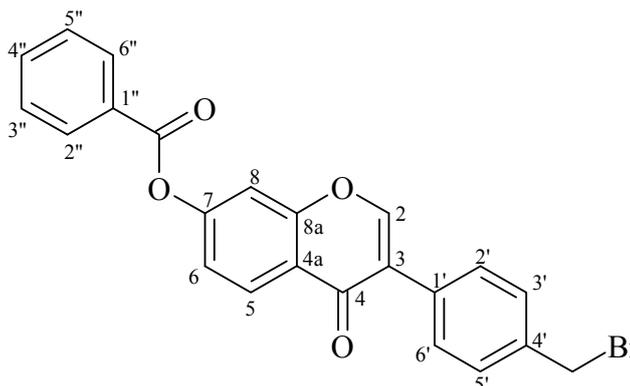
5.10 Darstellung der Benzoylisoflavonphosphonate

5.10.1 Darstellung des 7-Benzoylisoflavonphosphonats 114

Versuch 27:^[64,65,67]

4-Oxo-3-(4-brommethylphenyl)-4*H*-chromen-7-yl- benzoat 113

Für die radikalische Wohl-Ziegler-Bromierung werden 3.50 g (9.82 mmol) 7-Benzoyl-4'-methylisoflavon **111** in einem 1 l Zweihalskolben mit Rückflusskühler in 400 ml Tetrachlorkohlenstoff p. A. (über Molekularsieb 4 Å getrocknet) erwärmt, wobei ein



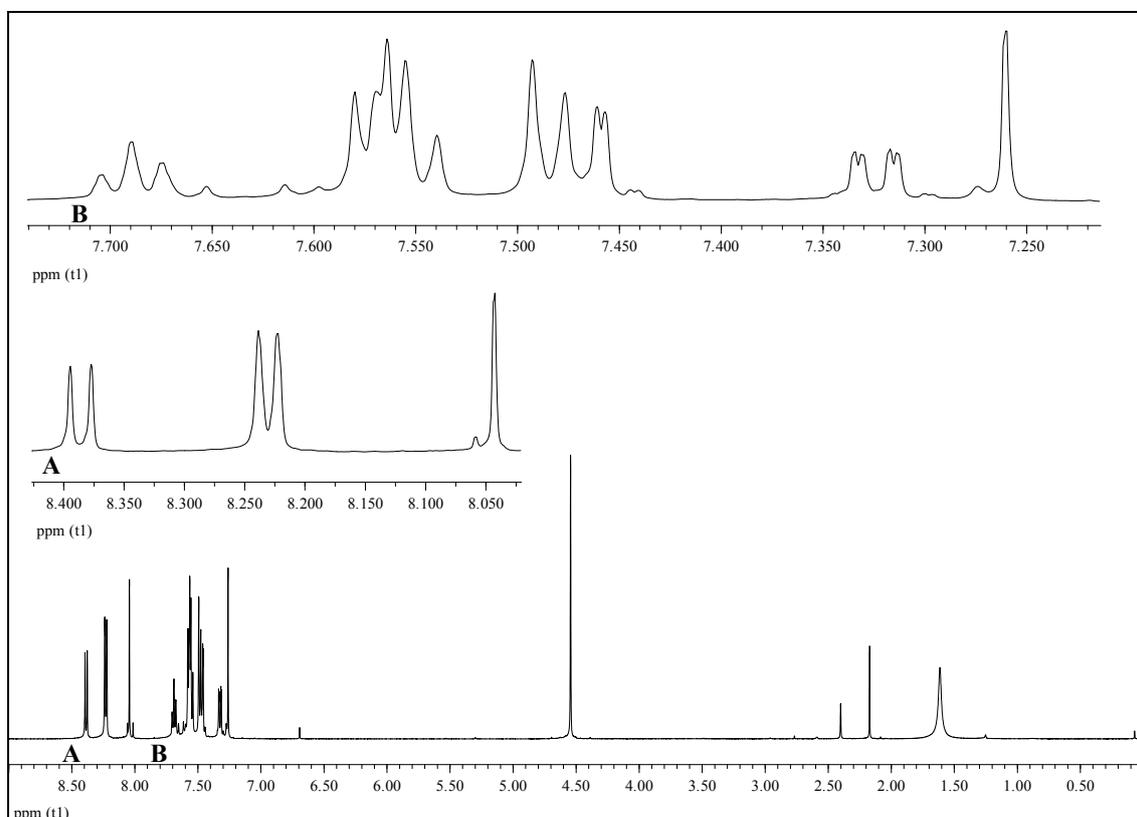
Teil der Substanz in Lösung geht. Dann werden 1.75 g (9.83 mmol) *N*-Bromsuccinimid (NBS) **39** als Bromierungsreagenz und 1.5 g (9.1 mmol) Azo-bis-isobutyronitril (AIBN) **40** als Starter hinzugefügt und die Reaktionsmischung weiter erhitzt. Bei einer Ölbadtemperatur von 100 °C beginnt die Reaktionsmischung zu schäumen, was ein Zeichen für den Start der Reaktion ist. Die Ölbadtemperatur wird für 3 h in einem Bereich von 100 – 115 °C gehalten. Da das *N*-Bromsuccinimid in Tetrachlorkohlenstoff unlöslich ist, befindet es sich zu Beginn der Reaktion zunächst am Boden des Reaktionskolbens, um im Laufe der Zeit durch Umsetzung zu Succinimid von dort zu verschwinden, was ein gutes Indiz für die Vervollständigung der Reaktion darstellt. Nach 3 h lässt man nun die Reaktionsmischung abkühlen und kühlt sie dann weiter über Nacht im Kühlschrank. Es entsteht ein flockiger cremefarbener Niederschlag. Bei diesem Rohprodukt handelt es sich meist um ein Gemisch aus dem gewünschten Produkt und Succinimid. Das Rohprodukt wird abgesaugt und zur Abtrennung des wasserlöslichen Succinimids in Wasser gewaschen. Das dabei nicht in Lösung gehende cremefarbene Produkt wird abgesaugt und getrocknet.

Ausbeute: 2.77 g (6.36 mmol) **113**, 65 %, C₂₃H₁₅O₄Br, M = 435.27

Smp.: 230 - 233 °C

 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz / CDCl_3): (Abb. 106)

$\delta = 4.54$ (s, 2H, CH_2Br), 7.32 (dd, 1H, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 1.8$ Hz, H^6), 7.46 (d, 1H, $^4J = 2.0$ Hz, H^8), 7.48 (m, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 8.0$ Hz, $\text{H}^{3'}\text{H}^{5'}$), 7.54 – 7.58 (m, 2H, M-Teil eines $[\text{AM}]_2\text{B}$ -Systems, $\text{H}^{3''}\text{H}^{5''}$), 7.57 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 8.0$ Hz, $\text{H}^{2'}\text{H}^{6'}$), 7.69 (t, 1H, B-Teil eines $[\text{AM}]_2\text{B}$ -Systems, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}^{4''}$), 8.04 (s, 1H, H^2), 8.22 – 8.24 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AM}]_2\text{B}$ -Systems, $\text{H}^{2''}\text{H}^{6''}$), 8.39 (d, 1H, $^3J = 8.7$ Hz, H^5) ppm.

Abb. 106: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **113** $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 33.13$ (CH_2), 111.18 (C^8), 119.82 (C^6), 122.35 (C^{4a}), 124.99 (C^3), 126.76 ($\text{C}^{1''}$), 127.94 (C^5), 128.76 ($\text{C}^{3''}\text{C}^{5''}$), 129.25 (C^3C^5), 129.33 (C^2C^6), 130.33 ($\text{C}^{2''}\text{C}^{6''}$), 131.75

(C^{1'}), 134.16 (C^{4''}), 137.84 (C^{4'}), 153.28 (C²), 154.89 (C^{8a}), 156.69 (C⁷), 164.35 (O-C=O), 175.43 (C=O) ppm.

MS m/z (%) = 436 (1) [(M + H)⁺], 434 (1), 357 (3), 356 (13), 355 (17), 250 (1), 106 (7), 105 (100), 82 (1), 81 (1), 78 (2), 77 (25).

UV-Vis (CH₂Cl₂):

λ_{\max} (lg ϵ) = 259 (4.58) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 107)

$\tilde{\nu}$ = 3092 (C-H-Valenz Aromat), 3065 (C-H-Valenz Aromat), 1736 (C=O-Valenz Arylester), 1641 (C=O/C=C-Valenz), 1620 (Ringschw. Aromat), 1513 (Ringschw. Aromat), 1443 (CH₂-Def.), 1273 (C-O-C-Valenz), 1239 (C-O-C-Valenz), 1185 (O=C-O-C-Valenz), 1063 (O=C-O-C-Valenz), 1027 (C-O-C-Valenz), 889 (C=C-H-Def.), 783 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert), 704 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert), 614 (C-Br-Valenz) cm⁻¹.

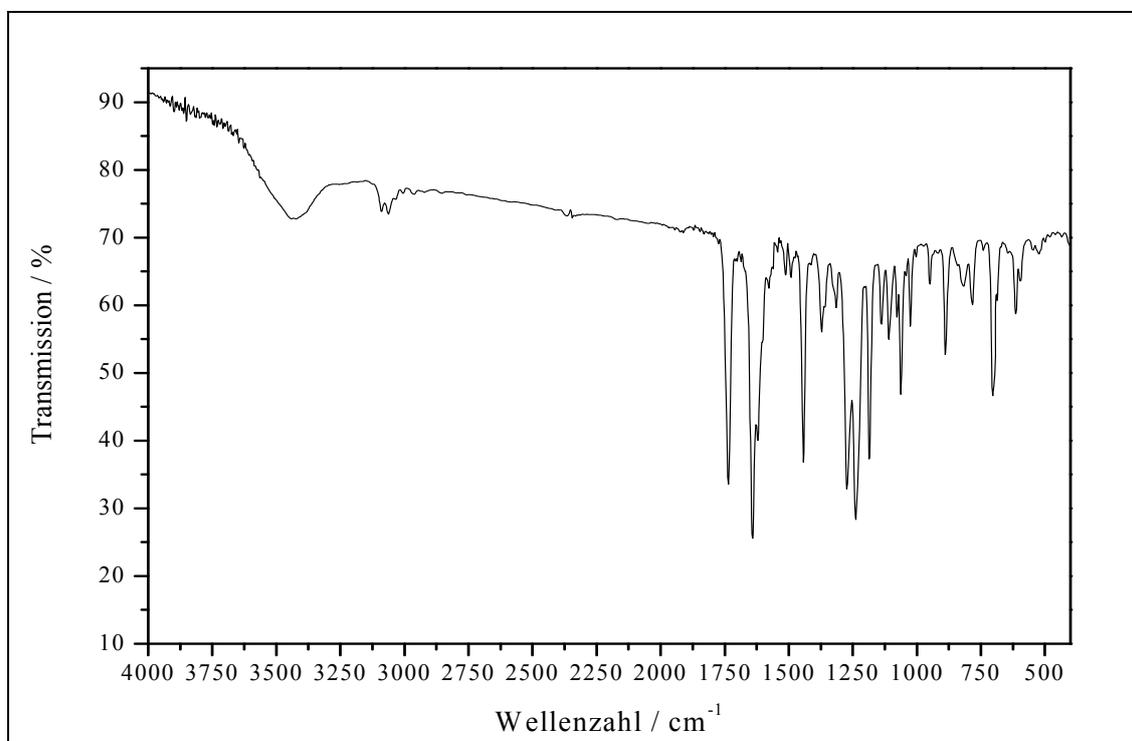
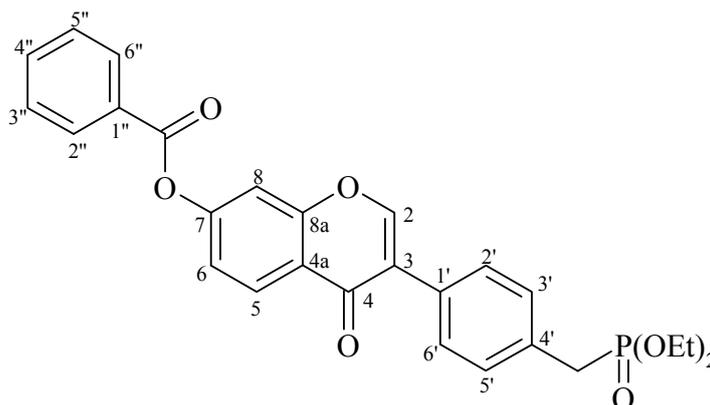


Abb. 107: IR-Spektrum (KBr) von **113**

Elementaranalyse: ber.: C: 63.47 % H: 3.47 %
 gef.: C: 63.51 % H: 3.09 %

Versuch 28:^[64,65] **3-{4-[(Diethoxyphosphoryl)methyl]phenyl}-4-oxo-4H-chromen-7-yl-benzoat 114**

Zur Darstellung des gewünschten Phosphonats **114** via Michaelis-Arbuzov-Reaktion werden in einem 100 ml Einhalskolben mit Rückflusskühler 2.44 g (5.61 mmol) 7-Benzoyl-4'-brommethylisoflavon **113** mit 1.20 g (7.22 mmol) Triethylphosphit (TEP) **37**



versetzt und auf eine Ölbadtemperatur von 180 – 210 °C erhitzt. Erst in diesem Temperaturbereich wird das Reaktionsgemisch zu einer bräunlichen Flüssigkeit, die dann 6 h unter Rückfluss gekocht wird. Beim Abkühlen auf Raumtemperatur fällt karamellfarbener Feststoff aus und bei weiterem Kühlen im Kühlschrank (über Nacht) wird die gesamte Reaktionsmischung zu einer festen karamellfarbenen Masse. Diese wird aus einem Gemisch von Toluol, *n*-Hexan und Diethylether umkristallisiert, was zu einem cremefarbenen pulverförmigen Produkt führt.

Ausbeute: 2.34 g (4.75 mmol) **114**, 85 %, C₂₇H₂₅O₇P, M = 492.49

Smp.: 172 - 175 °C

¹H-NMR (200 MHz / CDCl₃): (Abb. 108)

δ = 1.28 (t, 6H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, CH₃), 3.20 (d, 2H, ²J_{HP} = 21.7 Hz, CH₂-P), 3.98 - 4.13 (m, 4H, CH₂), 7.31 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ⁴J_{HH} = 2.2 Hz, H⁶), 7.38 (m, 2H, B-Teil

eines $[AB]_2X$ -Systems, $N = 8.4$ Hz, $^4J_{BX} = 2.4$ Hz, $H^{3'}H^{5'}$), 7.45 (d, 1H, $^4J_{HH} = 2.0$ Hz, H^8), 7.53 (m, 2H, A-Teil eines $[AB]_2X$ -Systems, $N = 8.4$ Hz, $H^{2'}H^{6'}$), 7.50 – 7.58 (m, 2H, M-Teil eines $[AM]_2B$ -Systems, $H^{3''}H^{5''}$), 7.64 – 7.73 (m, 1H, B-Teil eines $[AM]_2B$ -Systems, $H^{4''}$), 8.03 (s, 1H, H^2), 8.20 - 8.25 (m, 2H, A-Teil eines $[AM]_2B$ -Systems, $H^{2''}H^{6''}$), 8.38 (d, 1H, $^3J_{HH} = 8.8$ Hz, H^5) ppm.

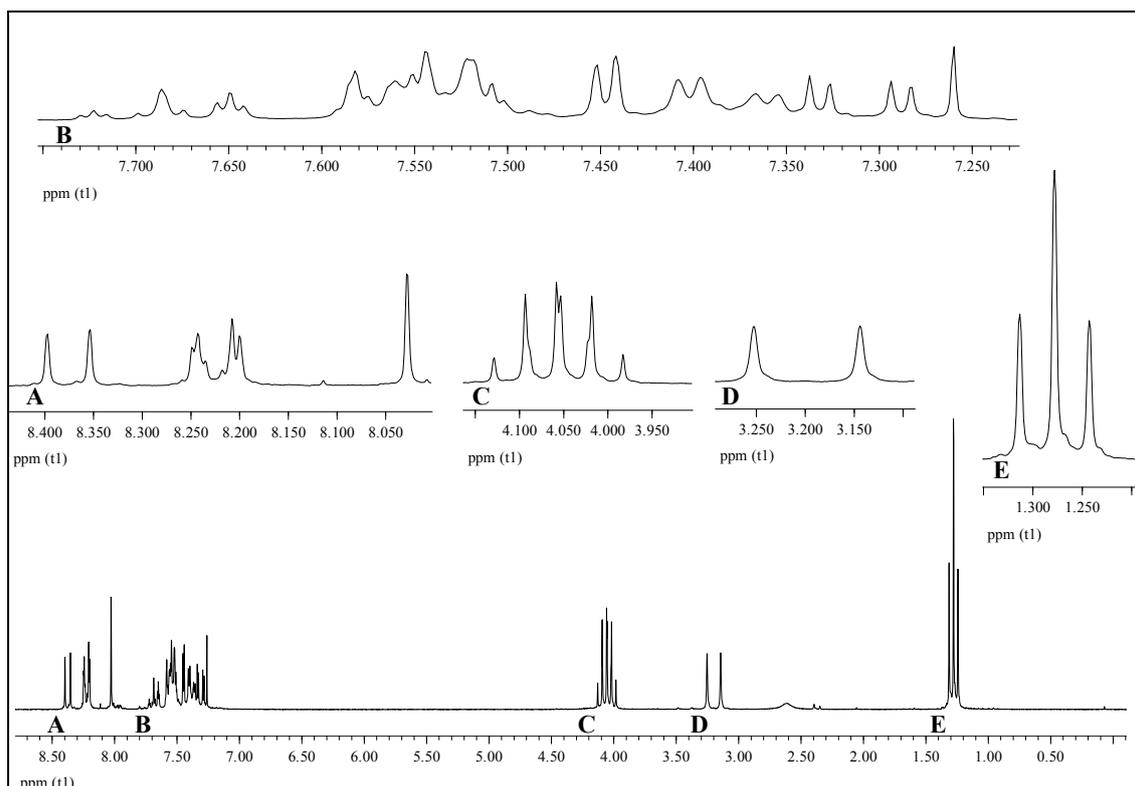


Abb. 108: 1H -NMR-Spektrum (200 MHz / $CDCl_3$) von **114**

$^{13}C\{^1H\}$ -NMR (125 MHz / $CDCl_3$):

$\delta = 16.35$ (d, $^3J_{CP} = 5.8$ Hz, $2CH_3$), 33.46 (d, $^1J_{CP} = 137.9$ Hz, CH_2-P), 62.17 (d, $^2J_{CP} = 6.6$ Hz, $2CH_2$), 111.10 (C^8), 119.67 (C^6), 122.33 (C^{4a}), 125.09 (C^3), 127.84 (C^5), 128.71 ($C^{3''}C^{5''}$), 129.00 (d, $^4J_{CP} = 2.8$ Hz, $C^{2'}C^{6'}$), 129.18 ($C^{1''}$), 129.87 (d, $^3J_{CP} = 6.5$ Hz, C^3C^5), 130.12 (C^1), 130.26 ($C^{2''}C^{6''}$), 131.76 (d, $^2J_{CP} = 9.3$ Hz, C^4), 134.09 ($C^{4''}$), 153.13 (C^2), 154.76 (C^{8a}), 156.63 (C^7), 164.30 (O-C=O), 175.49 (C=O) ppm.

$^{31}P\{^1H\}$ -NMR (81 MHz / $CDCl_3$):

$\delta = 27.40$ ppm.

MS m/z (%) = 493 (2) [(M+H)⁺], 492 (8) [M⁺], 370 (1), 357 (2), 356 (6), 355 (1), 249 (2), 152 (2), 106 (8), 105 (100), 77 (16).

UV-Vis (CH₂Cl₂):

λ_{\max} (lg ϵ) = 305 (3.93), 251 (4.61) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 109)

$\tilde{\nu}$ = 3070 (C-H-Valenz Aromat), 2983-2908 (CH₃/CH₂-Valenz), 1737 (C=O-Valenz Arylester), 1638 (C=O/C=C-Valenz), 1620 (Ringschw. Aromat), 1514 (Ringschw. Aromat), 1440 (CH₃/CH₂-Def.), 1373 (P-O-Alkyl-Valenz), 1319 (P=O-Valenz), 1232 (C-O-C-Valenz), 1186 (O=C-O-C-Valenz), 1059 (C-O-C/O=C-O-C-Valenz), 1025 (P-O-Alkyl-Valenz), 965 (C=C-H-Def.), 888 (C=C-H-Def.), 783 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert), 701 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert) cm⁻¹.

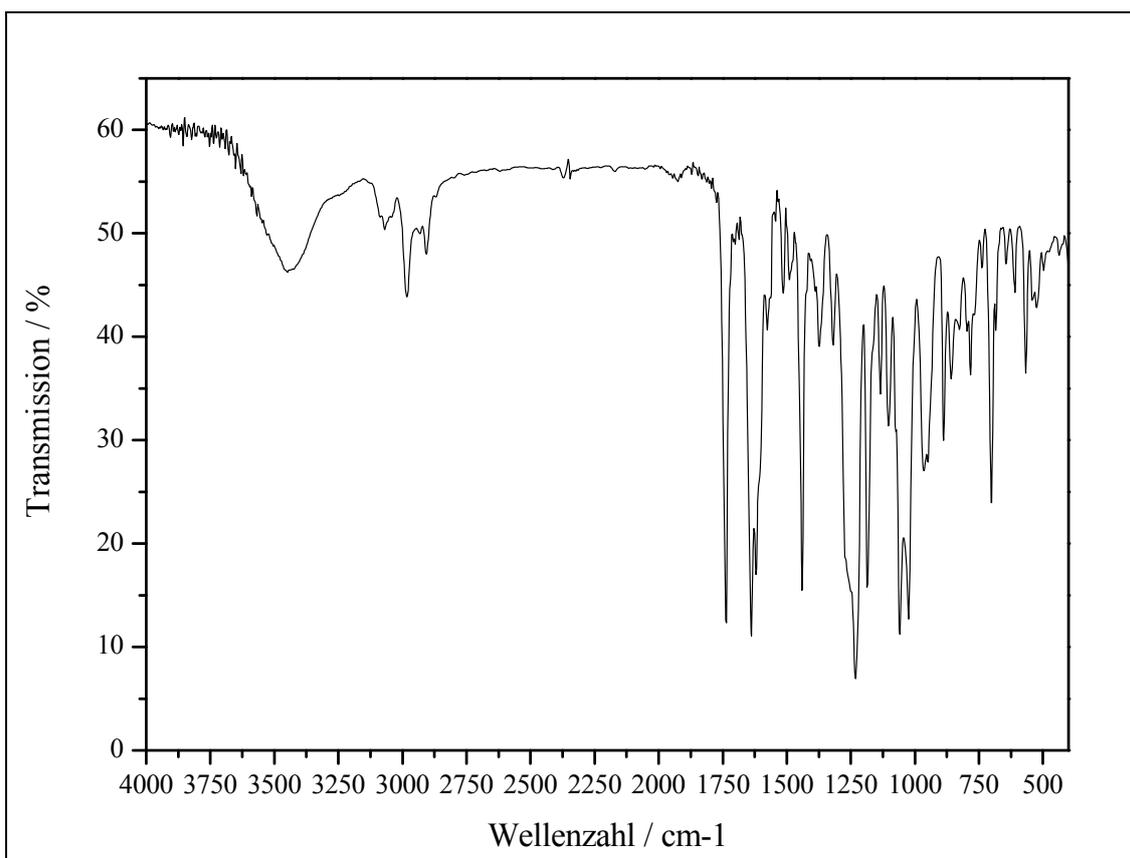
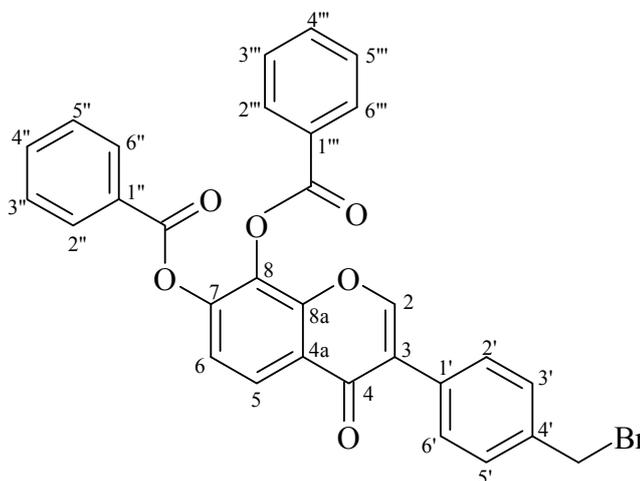


Abb. 109: IR-Spektrum (KBr) von **114**

5.10.2 Darstellung des 7,8-Dibenzoylisoflavonphosphonats **116****Versuch 29:**^[64,65,67]**4-Oxo-3-(4-brommethylphenyl)-4H-chromen-7,8-diyl-dibenzoat **115****

In einem 500 ml Zweihalskolben mit Rückflusskühler werden 1.50 g (3.15 mmol) 7,8-Dibenzoyl-4'-methylisoflavon **112** in 220 ml Tetrachlorkohlenstoff p. A. (über Molekularsieb 4 Å getrocknet) unter Rühren erwärmt, wobei der größte Teil des Edukts in Lösung



geht, die Reaktionsmischung aber noch trübe bleibt. Es werden 0.56 g (3.2 mmol) *N*-Bromsuccinimid (NBS) **39** sowie eine katalytische Menge Azo-bis-isobutyronitril (AIBN) **40** hinzugefügt und weiter erhitzt. Bei einer Ölbadtemperatur von 100 °C beginnt der Reaktionsansatz zu schäumen und wird dann 3 h bei 100 – 115 °C Ölbadtemperatur unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur verbleibt die Reaktionsmischung über Nacht im Kühlschrank, was zur Ausfällung von flockigem cremefarbenem Rohprodukt führt. Dieses Gemisch aus Succininid und Bromid **115** saugt man ab, und wäscht es anschließend zur Entfernung des wasserlöslichen Succininids in Wasser. Beim Einengen des Filtrats des Rohprodukts am Rotationsverdampfer fällt meist nochmals flockiges cremefarbenes Rohprodukt nach, das in gleicher Weise wie das erste Rohprodukt behandelt wird. Schließlich werden die in Wasser aufgereinigten Produkte (es geht jeweils nur der Succininid in Lösung, das Produkt **115** bleibt ungelöst) abgesaugt und getrocknet.

Ausbeute: 1.40 g (2.52 mmol) **115**, 80 %, C₃₀H₁₉O₆Br, M = 555.38

Smp.: 150 - 154 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz / CDCl_3): (Abb. 110)

$\delta = 4.53$ (s, 2H, CH_2Br), 7.40 – 7.49 (m, 4H, M-Teile zweier $[\text{AM}]_2\text{B}$ -Systeme, $\text{H}^{3''}\text{H}^{5''}$, $\text{H}^{3''''}\text{H}^{5''''}$), 7.48 (m, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 8.3$ Hz, H^3H^5), 7.48 (d, 1H, $^3J = 8.8$ Hz, H^6), 7.54 – 7.65 (m, 2H, B-Teile zweier $[\text{AM}]_2\text{B}$ -Systeme, $\text{H}^{4''}$, $\text{H}^{4''''}$), 7.55 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $N = 8.2$ Hz, H^2H^6), 7.98 (s, 1H, H^2), 8.09 – 8.17 (m, 4H, A-Teile zweier $[\text{AM}]_2\text{B}$ -Systeme, $\text{H}^{2''}\text{H}^{6''}$, $\text{H}^{2''''}\text{H}^{6''''}$), 8.31 (d, 1H, $^3J = 8.9$ Hz, H^5) ppm.

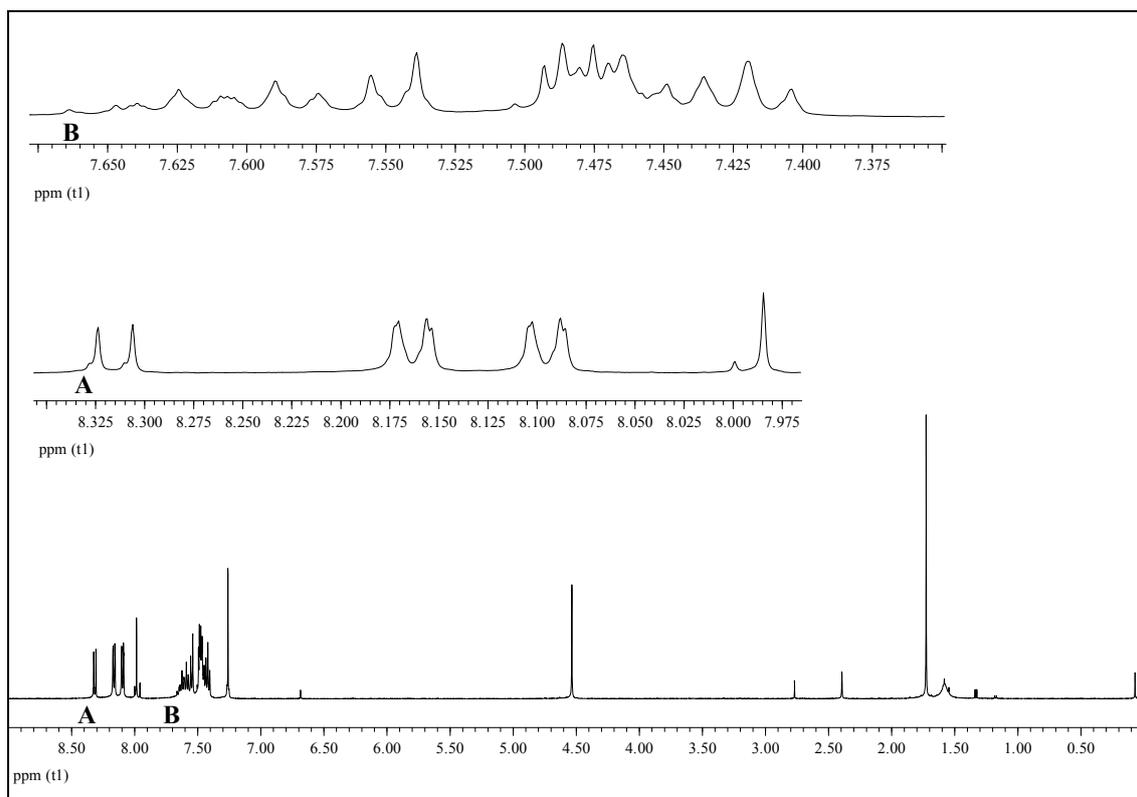


Abb. 110: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz / CDCl_3) von **115**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3):

$\delta = 33.06$ (CH_2), 120.36 (C^6), 123.34 (C^{4a}), 124.16 (C^5), 125.19 (C^3), 127.77 / 128.05 ($\text{C}^{1''}$, $\text{C}^{1''''}$), 128.67 / 128.72 ($\text{C}^{3''}\text{C}^{5''}$, $\text{C}^{3''''}\text{C}^{5''''}$), 128.82 (C^1), 129.27 (C^3C^5), 129.35 (C^2C^6), 130.32 / 130.48 ($\text{C}^{2''}\text{C}^{6''}$, $\text{C}^{2''''}\text{C}^{6''''}$), 131.39 (C^8), 134.15 / 134.22 ($\text{C}^{4''}$, $\text{C}^{4''''}$), 137.98 (C^4), 147.23 (C^7), 149.75 (C^{8a}), 152.84 (C^2), 163.33 / 163.61 (2 O-C=O), 175.08 (C=O) ppm.

MS m/z (%) = 557 (1), 556 (2), 555 (1) [M^+], 554 (2), 553 (1), 490 (0.3), 477 (1), 476 (3), 475 (3), 370 (1), 237 (0.3), 122 (0.3), 121 (0.3), 108 (0.3), 107 (1), 106 (8), 105 (100), 104 (0.3), 89(1), 82 (0.5), 80 (0.3), 78 (1), 77 (12).

UV-Vis (CH_2Cl_2):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 237 (4.63) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 111)

$\tilde{\nu}$ = 3067 (C-H-Valenz Aromat), 1753 (C=O-Valenz Arylester), 1651 (C=O/C=C-Valenz), 1620 (Ringschw. Aromat), 1580 (Ringschw. Aromat), 1499 (Ringschw. Aromat), 1449 (CH_2 -Def.), 1249 (C-O-C-Valenz), 1192 (O=C-O-C-Valenz), 1081 (O=C-O-C-Valenz), 1058 (C-O-C-Valenz), 1024 (C-O-C-Valenz), 886 (C=C-H-Valenz), 779 (C-H-Def. Aromat), 704 (C-H-Def. Aromat monosubstituiert), 604 (C-Br-Valenz) cm^{-1} .

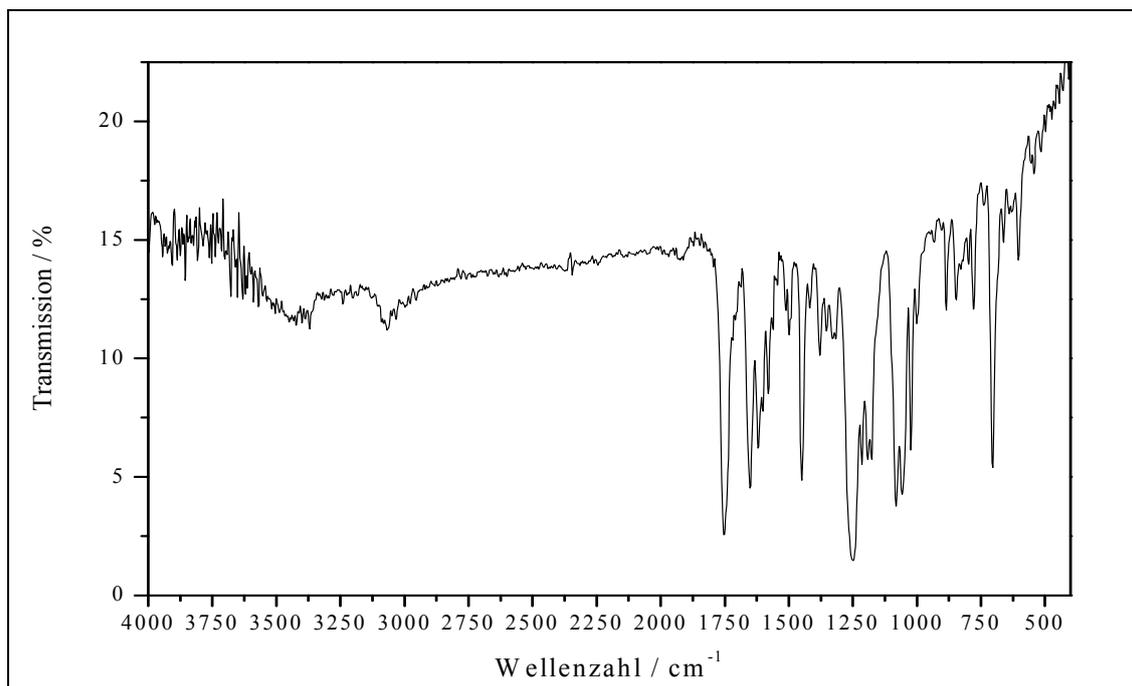
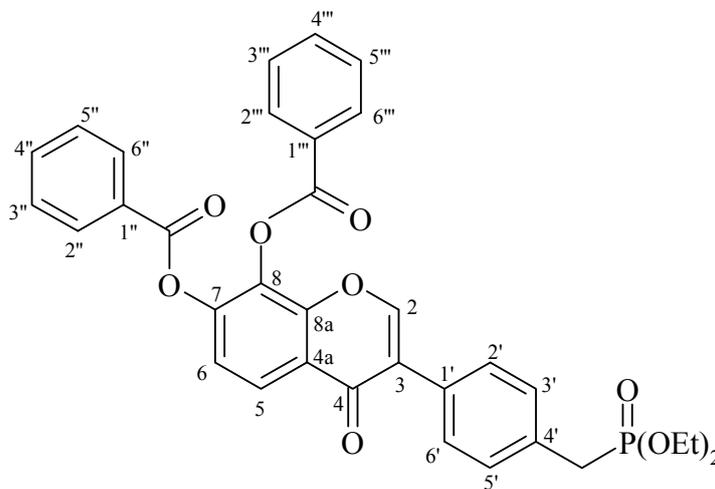


Abb. 111: IR-Spektrum (KBr) von **115**

Elementaranalyse: ber.: C: 64.88 % H: 3.45 %
gef.: C: 64.50 % H: 3.69 %

Versuch 30:^[64,65]**3-{4-[(Diethoxyphosphoryl)methyl]phenyl}-4-oxo-4H-chromen-7,8-diyl-dibenzoat **116****

In einem 100 ml Einhalskolben mit Rückflusskühler werden 1.20 g (2.16 mmol) 7,8-Dibenzoyl-4'-brommethylisofalvon **115** mit 0.47 g (2.8 mmol) Triethylphosphit (TEP) **37** versetzt und auf 150 – 170 °C Ölbadtemperatur erhitzt, wobei aus



der zunächst cremefarbenen Suspension eine klare orange-braune Flüssigkeit wird. Nach 6 h bei dieser Temperatur lässt man die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur abkühlen, was zu einer bräunlichen viskosen Masse führt. Diese wird mit einem Gemisch aus Toluol, Diethylether und *n*-Hexan aufgenommen, wobei sich am Kolbenboden eine honigartige Schicht abscheidet. Die überstehende Flüssigkeit wird abdekantiert, die verbleibende honigartige Masse nochmals mit etwas *n*-Hexan versetzt und am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingengt. Man erhält Produkt **116** als cremefarbene bis gelbliche Substanz.

Ausbeute: 0.77 g (1.3 mmol) **116**, 58 %, C₃₄H₂₉O₉P, M = 612.57

Smp.: 71.5 - 72.5 °C

¹H-NMR (500 MHz / CDCl₃): (Abb. 112)

δ = 1.27 (t, 6H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, CH₃), 3.19 (d, 2H, ²J_{HP} = 21.8 Hz, CH₂-P), 4.02 – 4.08 (m, 4H, CH₂), 7.37 (m, 2H, B-Teil eines [AB]₂X-Systems, N = 8.1 Hz, ⁴J_{BX} = 2.2 Hz, H^{3'}H^{5'}), 7.40 – 7.48 (m, 4H, M-Teile zweier [AM]₂B-Systeme, H^{3''}H^{5''}, H^{3'''}H^{5'''}), 7.47 (d, 1H, ³J = 9.0 Hz, H⁶), 7.51 (m, 2H, A-Teil eines [AB]₂X-Systems, N = 8.0 Hz,

$H^{2'}H^{6'}$), 7.57 – 7.63 (m, 2H, B-Teile zweier $[AM]_2B$ -Systeme, $H^{4''}$, $H^{4'''}$), 7.96 (s, 1H, H^2), 8.09 – 8.17 (m, 4H, A-Teile zweier $[AM]_2B$ -Systeme, $H^{2''}H^{6''}$, $H^{2'''H^{6'''}}$), 8.31 (d, 2H, ${}^3J = 8.9$ Hz, H^5) ppm.

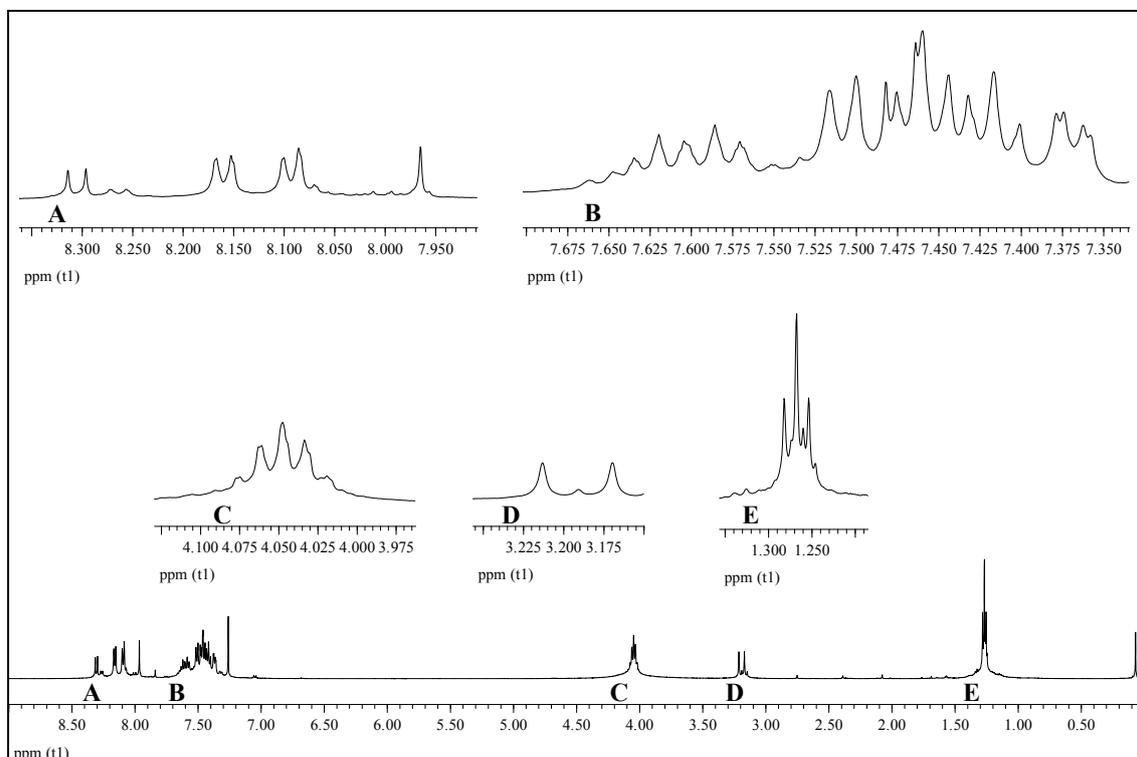


Abb. 112: 1H -NMR-Spektrum (500 MHz / $CDCl_3$) von **116**

${}^{13}C\{{}^1H\}$ -NMR (125 MHz / $CDCl_3$):

$\delta = 16.35$ (d, ${}^3J_{CP} = 6.0$ Hz, $2CH_3$), 33.45 (d, ${}^1J_{CP} = 138.2$ Hz, CH_2-P), 62.33 (d, ${}^2J_{CP} = 6.8$ Hz, $2CH_2$), 120.27 (C^6), 123.36 (C^{4a}), 124.12 (C^5), 125.33 (C^3), $127.78 / 128.06$ ($C^{1''}$, $C^{1'''}$), 128.35 (C^1), $128.66 / 128.71$ ($C^{3''}C^{5''}$, $C^{3'''H^{5'''}}$), 129.07 (d, ${}^4J_{CP} = 3.0$ Hz, $C^{2'}C^{6'}$), 129.94 (d, ${}^3J_{CP} = 6.4$ Hz, $C^{3'}C^{5'}$), 130.04 (C^8), $130.31 / 130.46$ ($C^{2''}C^{6''}$, $C^{2'''H^{6'''}}$), 131.85 (d, ${}^2J_{CP} = 9.1$ Hz, C^4), $134.13 / 134.20$ ($C^{4''}$, $C^{4'''}$), 147.15 (C^7), 149.73 (C^{8a}), 152.75 (C^2), $163.33 / 163.61$ (2 O-C=O), 175.20 (C=O) ppm.

${}^{31}P\{{}^1H\}$ -NMR (81 MHz / $CDCl_3$):

$\delta = 27.34$ ppm.

MS m/z (%) = 612 (0.2) $[M^+]$, 477 (2), 476 (6), 152 (0.5), 137 (0.1), 122 (0.4), 109 (0.6), 107 (0.6), 106 (7.5), 105 (100), 77 (16).

UV-Vis (CH_2Cl_2):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 238 (4.63) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 113)

$\tilde{\nu}$ = 2986 (CH_3/CH_2 -Valenz), 1751 ($\text{C}=\text{O}$ -Valenz Arylester), 1655 ($\text{C}=\text{O}/\text{C}=\text{C}$ -Valenz), 1619 (Ringschw. Aromat), 1579 (Ringschw. Aromat). 1450 (CH_2 -Def.), 1377 (P-O-Alkyl-Valenz), 1319 ($\text{P}=\text{O}$ -Valenz), 1248 ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$ -Valenz), 1082 ($\text{O}=\text{C}-\text{O}-\text{C}$ -Valenz), 1055 ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$ -Valenz), 1023 (P-O-Alkyl-Valenz), 967 ($\text{C}=\text{C}-\text{H}$ -Def.), 885 ($\text{C}=\text{C}-\text{H}$ -Def.), 850 ($\text{C}=\text{H}$ -Def.), 782 ($\text{C}-\text{H}$ -Def. Aromat monosubstituiert), 706 ($\text{C}-\text{H}$ -Def. Aromat monosubstituiert) cm^{-1} .

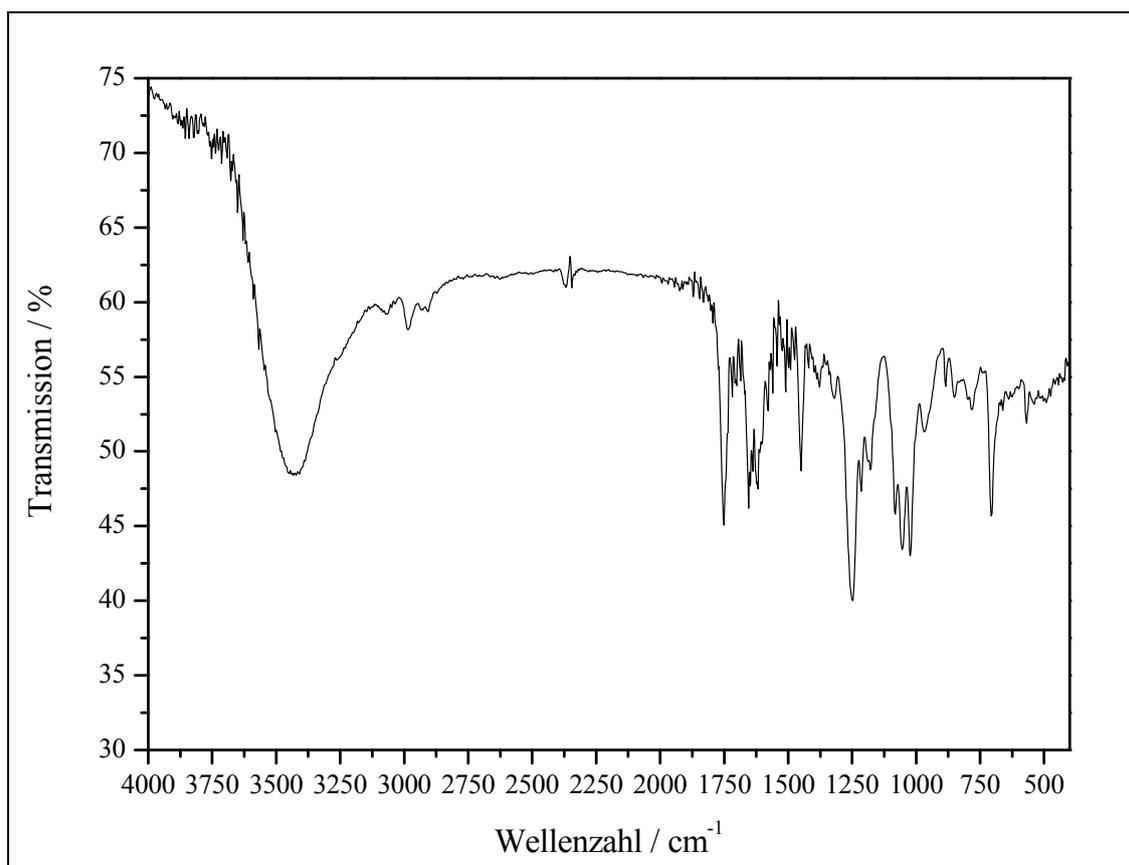
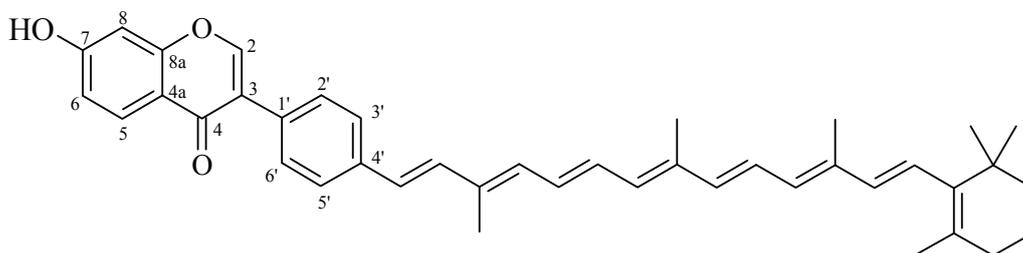


Abb. 113: IR-Spektrum (KBr) von **116**

5.11 Darstellung der 4'- β -C₂₅- Carotenylhydroxyisoflavone

5.11.1 Darstellung des 4'- β -C₂₅-Carotenyl-7-hydroxyisoflavons 34

Versuch 31: 4'- β -C₂₅- Carotenyl-7- hydroxyisoflavon 34
7-Hydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]isoflavon 34



Die benötigten Chemikalien werden wie folgt vorbereitet: β -Apo-12'-Carotenal (C₂₅-Aldehyd) **56** wird säulenchromatographisch aufgereinigt (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan, R_f = 0.5) und Pyridin p. A. wird über Kaliumhydroxid getrocknet und unmittelbar vor Gebrauch frisch destilliert (Sdp.: 115 °C).

Die Kopplungsreaktion wird in einem 250 ml Dreihalskolben mit Trockenrohr (Trockenmittel: Calciumchlorid) und Gaseinleitungshahn durchgeführt. Dazu werden 1.50 g (3.05 mmol) 7-Benzoylisoflavonphosphonat **114** und 1.07 g (3.05 mmol) β -Apo-12'-Carotenal (C₂₅-Aldehyd) **56** unter Rühren in 160 ml absolutem Pyridin gelöst (orangefarbene Lösung) und mit Argon gespült. Anschließend werden unter Eiskühlung 0.84 g (15.5 mmol) frisches Natriummethanolat portionsweise über 2 h im Argongegenstrom hinzugefügt. Danach wird das Eisbad entfernt und die Reaktionsmischung über Nacht weiter unter Argon bei Raumtemperatur gerührt. Bei einer Reaktionszeit von 16 h erscheint die Reaktionsmischung tief dunkelrot und wird dünnschichtchromatographisch auf den Fortschritt des Umsatzes geprüft. Dazu wird mittels Pasteurpipette im Argongegenstrom etwas Reaktionsmischung entnommen, mit einem Gemisch aus Wasser und konz. Schwefelsäure hydrolysiert und mit Chloroform

per Schütteln extrahiert. Die orange-rote organische Phase kann dann dünnschichtchromatographisch untersucht werden (stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5 : 1) und auf Grund des Ergebnisses (vgl. Punkt 37.7.1) wird die Reaktion zu diesem Zeitpunkt auch als abgeschlossen betrachtet. Nun wird die gesamte Reaktionsmischung unter Eiskühlung und Rühren sukzessive auf ein Wasser / konz. Schwefelsäure – Gemisch (pH 1 – 2) gegeben und mit Chloroform extrahiert. Man trocknet die vereinigten roten organischen Phasen über Magnesiumsulfat und entfernt das Lösemittel nach Abfiltrieren des Trockenmittels am Rotationsverdampfer. Der im Kolben verbleibende Rückstand wird mit Dichlormethan aufgenommen, wobei roter, zum Teil glibberiger Feststoff entsteht. Dieser wird abgesaugt und mit *n*-Hexan gewaschen, was ihn pulverförmig werden lässt. Das so erhaltene Rohprodukt wird noch über eine Filtersäule aufgereinigt (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5 : 1). Falls das Rohprodukt zum Auftragen auf die Filtersäule nicht ausreichend in dem Laufmittel gelöst werden kann, wird es zunächst in einem Chloroform / Methanol 7 : 1 Gemisch in Lösung gebracht, auf der Filtersäule dann aber mit dem eigentlichen Laufmittel weiterbehandelt. Schließlich erhält man das 4⁷-β-C₂₅- Carotenyl-7-hydroxyisoflavon **34** nach Einengen der Produktfraktion am Rotationsverdampfer und Trocknen an der Vakuumpumpe als orange-roten Feststoff.

Ausbeute: 1.39 g (2.38 mmol) **34**, 78 %, C₄₁H₄₄O₃, M = 584.80

Zers.-P.: ab 280 °C

¹H-NMR (500 MHz / CDCl₃ / CD₃OD 7 : 1): (Abb. 114)

δ = 0.95 (s, 6H, CH₃), 1.17 (m, 2H, CH₂), 1.37-1.42 (m, 2H, CH₂), 1.51-1.56 (m, 2H, CH₂), 1.64 (s, 3H, CH₃), 1.90 (s, 3H, CH₃), 1.91 (s, 3H, CH₃), 1.95 (s, 3H, CH₃), 3.29 (q⁵, CH₃OH), 3.32 (s, CH₃OH), 3.56 (s, CH₃OH), 6.03-6.69 (m, 10H, Polyen-H), 6.76 (d, 1H, ⁴J = 2.3 Hz, H⁸), 6.85 (dd, 1H, ³J = 8.9 Hz, ⁴J = 2.3 Hz, H⁶), 6.85 (d, 1H, ³J_{trans} = 15.1 Hz, Polyen-H), 7.42 (m, 4H, H²H⁶H³H⁵), 7.90 (s, 1H, H²), 8.03 (d, 1H, ³J = 8.8 Hz, H⁵) ppm.

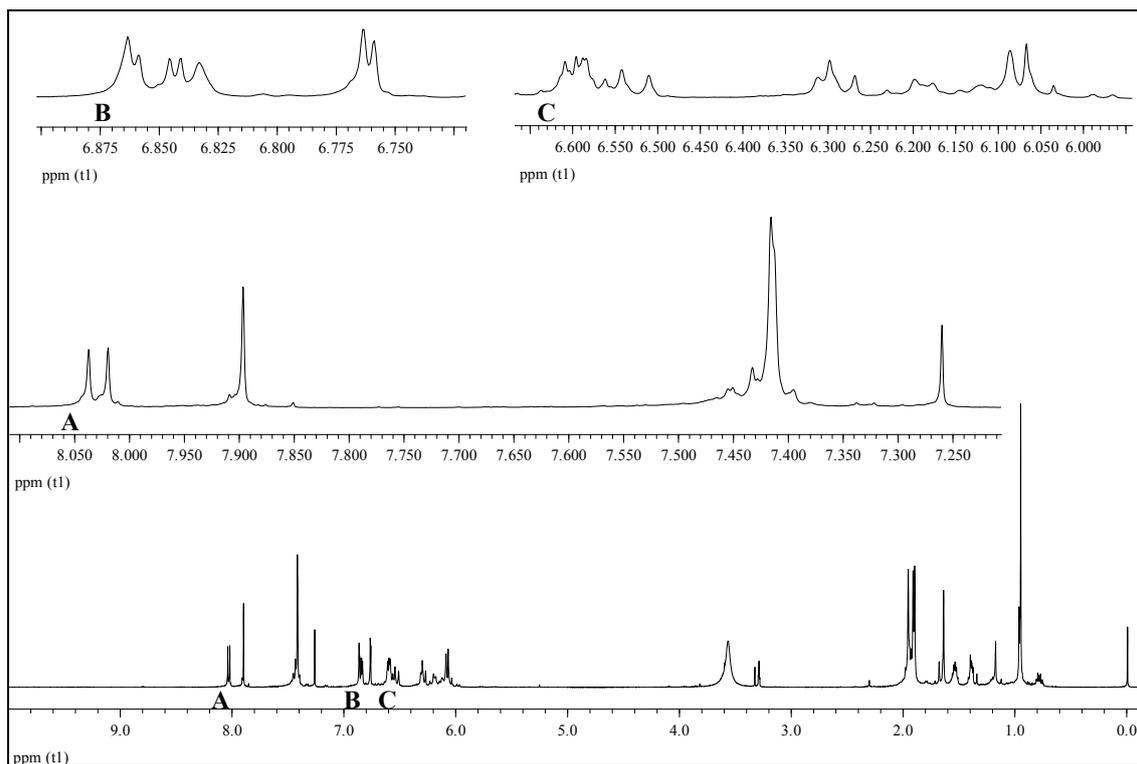


Abb. 114: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz / CDCl_3 / CD_3OD 7 : 1) von **34**

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz / CDCl_3 / CD_3OD 7 : 1):

$\delta = 12.52$ (CH_3), 12.53 (CH_3), 12.59 (CH_3), 19.06 (CH_2), 21.52 (CH_3), 28.74 (2CH_3), 32.91 (CH_2), 34.08 , 39.45 (CH_2), 102.29 (C^8), 115.16 (C^6), 117.16 (C^{4a}), 124.43 (C^3), 125.06 , 126.16 (C^3C^5), 126.58 , 126.89 , 127.58 (C^5), 129.01 (C^2C^6), 129.23 , 129.56 , 130.37 , 130.52 , 130.60 , 132.06 , 133.24 , 133.74 , 135.54 , 135.98 , 136.67 , 136.99 , 137.48 , 137.57 , 137.73 , 152.74 (C^2), 158.04 (C^{8a}), 162.54 (C-OH), 176.29 (C=O) ppm.

MS m/z (%) = 584 (34) [$\text{M} - \text{H}^+$], 395 (19), 394 (33), 379 (17), 329 (28), 328 (80), 327 (41), 303 (46), 291 (21), 265 (33), 253 (18), 252 (75), 251 (100), 190 (35), 189 (31), 175 (27), 174 (19), 173 (45), 171 (25), 159 (79), 157 (31), 156 (17), 145 (37), 143 (22), 141 (21), 137 (43), 136 (18), 133 (41), 131 (27), 129 (31), 128 (30), 121 (29), 119 (48), 107 (25), 105 (55), 91 (38).

UV-Vis (Chloroform / Methanol 7 : 1):

λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 442 (5.01), 334 (4.31), 277 (4.44) nm.

IR-Spektrum (KBr): (Abb. 115)

$\tilde{\nu}$ = 3427 (O-H-Valenz), 3029 (Aryl-H), 2923-2855 (CH₃/CH₂-Valenz), 1621 (C=O/C=C-Valenz), 1575 (Ringschw. Aromat), 1509 (Ringschw. Aromat), 1455 (CH₂/CH₃-Def.), 1377 (CH₃-Def.), 1265 (C-O-C-Valenz / O-H-Def.), 1195 (C-OH-Valenz), 1098 (C-O-C-Valenz), 1045 (C-OH-Valenz), 963 (H-C=C-H-Def.), 888 (C=C-H-Def.), 845 (C=C-H-Def.), 795 (C=C-H-Def.) cm⁻¹.

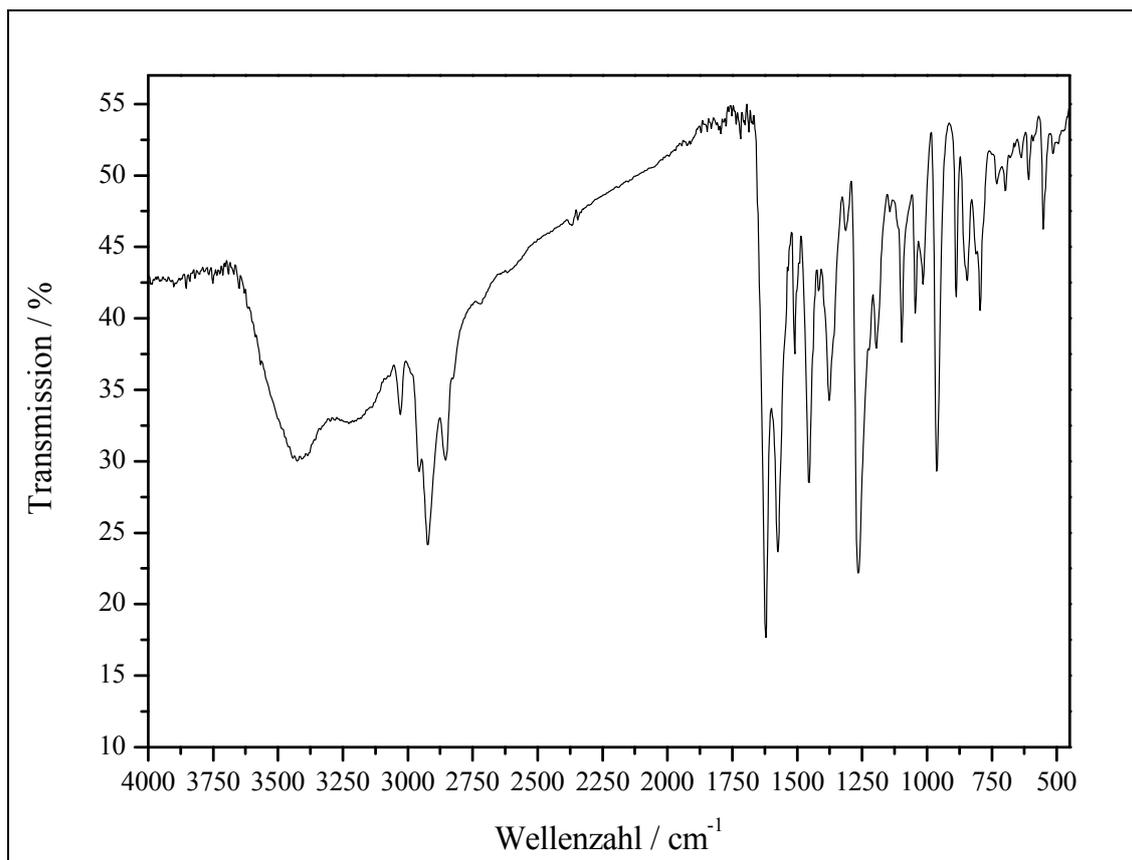
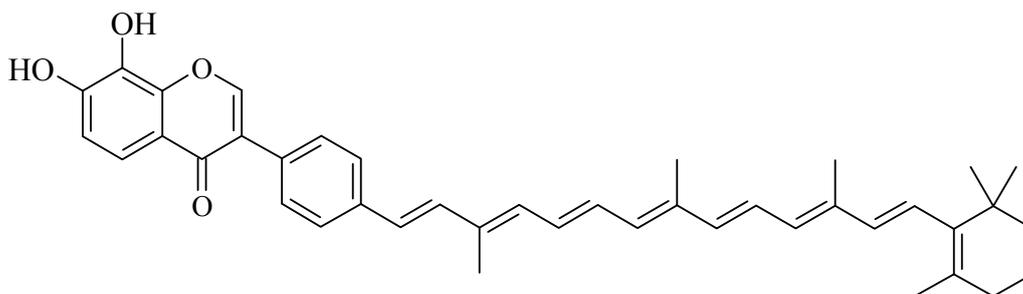


Abb. 115: IR-Spektrum (KBr) von **34**

HRMS (C₄₁H₄₄O₃ + Na)⁺: ber.: 607.318261
gef.: 607.317742

5.11.2 Darstellung des 4'- β -C₂₅-Caroteny-7,8-dihydroxyisoflavons **117****Versuch 32:** 4'- β -C₂₅- Caroteny-7,8- dihydroxyisoflavon **117**

7,8-Dihydroxy-4'-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]isoflavon **117**



Die benötigten Chemikalien werden folgendermaßen aufgereinigt: β -Apo-12'-Carotenal (C₂₅-Aldehyd) **56** wird säulenchromatographisch behandelt (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan, R_f = 0.5) und das Pyridin p. A. wird über Kaliumhydroxid getrocknet und unmittelbar vor Gebrauch frisch destilliert (Sdp.: 115 °C)

Dann werden in einem 250 ml Dreihalskolben mit Trockenrohr (Trockenmittel: Calciumchlorid) und Gaseinleitungshahn 0.65 g (1.1 mmol) 7,8-Dibenzoylisoflavonphosphonat **116** und 0.37 g (1.1 mmol) β -Apo-12'-Carotenal (C₂₅-Aldehyd) **56** in ca. 100 ml absolutem Pyridin unter Rühren gelöst, mit Argon gespült und im Eisbad gekühlt. Zur Deprotonierung des Phosphonats gibt man zunächst über einen Zeitraum von 1½ h portionsweise unter Argon 0.60 g (11 mmol) frisches Natriummethanolat hinzu und entfernt anschließend das Eisbad. Die Reaktionsmischung wird weiter unter Argon bei Raumtemperatur gerührt, wobei sie nach einem Tag Reaktionszeit tiefrot geworden ist. Die dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle erfolgt in der zuvor (Versuch 14 und Versuch 31) beschriebenen Weise, zeigt hier jedoch noch keinen nennenswerten Umsatz an. So werden der Reaktionsmischung noch weitere 0.60 g (11 mmol) Natriummethanolat unter Argon hinzugefügt. Nach 2 d Reaktionszeit wird die Reaktion abgebrochen, im Dünnschichtchromatogramm (stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5:1) ist nun ein orange-gelber

Produktfleck mit einem R_f -Wert von 0.50 zu erkennen, es treten jedoch auch noch weitere Substanzflecken möglicher Neben- oder Zersetzungsprodukte bei anderen R_f -Werten auf. Die Hydrolyse der Reaktionsmischung erfolgt auch hier unter Eiskühlung und Rühren mit einem Wasser / konz. Schwefelsäure Gemisch (pH 1 – 2). Dem schließt sich die Extraktion mit Chloroform und das Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat an. Nach Abfiltrieren des Trockenmittels und Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer verbleibt ein dunkelroter Rückstand, der mit Dichlormethan aufgenommen wird und aus dem durch Zugabe von *n*-Hexan dunkelroter Feststoff ausgefällt wird. Beim Absaugen nimmt dieser Feststoff jedoch eine klebrige Konsistenz an. Das so erhaltene Rohprodukt wird mehrfach säulenchromatographisch (stationäre Phase: Fluka Kieselgel 60, mobile Phase: Dichlormethan / Diethylether 5 : 1) aufgereinigt. Es entsteht ein orangefarbenes pulverförmiges Produkt, das jedoch laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum noch so weit verunreinigt ist, dass keine eindeutige Zuordnung der Signale möglich ist. Aufgrund der geringen Ausbeute ($\sim 5\%$) gelingt auch keine weitere Aufreinigung des Produkts. Es kann lediglich mit Hilfe der Massenspektrometrie die Masse des 4'- β -C₂₅-Caroteny-7,8-dihydroxyisoflavons **117** nachgewiesen werden.

Ausbeute: $\sim 5\%$ (noch verunreinigtes Produkt), C₄₁H₄₄O₄, M = 600.80

MS (FAB (Matrix: NBA (3-Nitrobenzylalkohol))):

m/z (%) = 601.6 (2) [(M+H)⁺], 600.7 (2) [M⁺], 329.2 (33) [2NBA + Na]⁺, 307.3 (100) [2NBA + H]⁺, 289.2 (61) [2NBA – OH]⁺.

6 Literatur

- [1] H.R. Christen, *Grundlagen der organischen Chemie*, 6. Auflage, Salle + Sauerländer, Frankfurt-Aarau **1985**.
- [2] L.F. Fieser und M. Fieser, *Organische Chemie*, 2. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim **1982**.
- [3] J. Falbe, M. Regitz (Hrsg.), *Römpp Chemie Lexikon*, 9. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart **1990**.
- [4] M.R. Detty, P.B. Merkel, S.K. Powers, *J. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5920-5922.
- [5] M.R. Detty, P.B. Merkel, *J. Chem. Soc.* **1990**, 112, 3845-3855.
- [6] P.A. Steerenberg, J. Carssen, P. Dortant, *Photochem. and Photobiol.* **1998**, 67(4), 456-461.
- [7] F. Bonina, L. Montenegro, C. Plugisi, *Internat. J. Pharmaceutics* **1996**, 145, 87-94.
- [8] Baker *et al.*, *J. Chem. Soc.* **1956**, 410-412.
- [9] K. Meyer, *Chem. Unserer Zeit* **2002**, 36, 178-192.
- [10] P. Karlson, D. Doeneke, J. Koolman, *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 14. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1994**.
- [11] E. Buddecke, *Grundriss der Biochemie*, 9. Auflage, de Gruyter, New York / Berlin **1994**.
- [12] G. Löffler, P. E. Petrides, *Physiologische Chemie*, 4. Auflage, Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg **1988**.
- [13] H. G. O. Becker, *Einführung in die Photochemie*, 3. Auflage, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1991**.
- [14] W. Adam, *Chemie in unserer Zeit*, **1981**, 190-197.
- [15] A. F. Hollemann, E. Wiberg, N. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 91.-100. Auflage, de Gruyter, Berlin **1985**.
- [16] R. G. Ziegler, *J. Nutr.*, **1989**, 119, 116-122.
- [17] N. I. Krinsky, *Pure & Appl. Chem.*, **1979**, 51, 649-660.
- [18] N. I. Krinsky, *Free Radical Biology & Medicine*, **1989**, 7, 617-635.

- [19] a) D. Baltshun, S. Beutner, K. Briviba, H.-D. Martin, J. Paust, M. Peters, S. Röver, H. Sies, W. Stahl, A. Steigel, F. Stenhorst, *Liebigs Ann. Rec.*, **1997**, 1887-1893; b) R. Schmidt, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 5509-5513; c) C. Schweitzer, R. Schmidt, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1685-1757.
- [20] A. Telfer, J. De Las Rivas, J. Barber, *Biochem. Biophys. Acta*, **1991**, *1060*, 106-114.
- [21] H. Sies, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 1061-1075; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 1058-1071.
- [22] R. Yamauchi, K. Kato, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 5066-5071.
- [23] G. W. Burton, K. U. Ingold, *Science* **1984**, *224*, 569-573.
- [24] H.-D. Martin, C. Jäger, C. Ruck, M. Schmidt, *J. Prakt. Chem.* **1999**, *341*, 302-308.
- [25] A. A. Woodall, S. W.-M. Lee, R. J. Weesie, M. J. Jackson, G. Britton, *Biochim. Biophys. Acta* **1997**, *1336*, 33-42.
- [26] J. Terao, *Lipids* **1989**, *24*, 659-661.
- [27] P. Palozza, N. I. Krinsky, *Methods Enzymol.* **1992**, *213*, 403-419.
- [28] A. Mortensen, L. H. Skibsted, J. Sampson, C. Rice-Evans, S. A. Everett, *FEBS Lett.* **1997**, *418*, 91-97.
- [29] W. Miki, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 141-146.
- [30] T.A. Kennedy, D.C. Liebler, *Chem. Res. Toxicol.* **1991**, *4*, 290-295.
- [31] G. J. Handelsmann, F. J. G. M. van Kuijk, A. Chatterjee, N. I. Krinsky, *Free Rad. Bio. Med.* **1991**, *10*, 427-437.
- [32] R. C. Mordi, J. C. Walton, G. W. Burton, S. Hughes, K. U. Ingold, D. A. Lindsay, J. Moffat, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 911-928.
- [33] M. M. Mathews-Roth, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 147-156.
- [34] S. T. Mayne, *FASEB J.* **1996**, *10*, 690-701.
- [35] J. Falbe, M. Regitz (Hrsg.), *Römpp Chemie Lexikon*, 9., korrigierte und verbesserte Auflage auf CD-ROM, Georg Thieme Verlag, Stuttgart **1995**.
- [36] P. C. H. Hollmann, I. C. W. Arts, *J. Sci. Food Agric.* **2000**, *80*, 1081-1093.
- [37] J. B. Harborne (Hrsg.), *The Flavonoids: Advances in research since 1986*, Chapman & Hall London, **1993**.
- [38] J. B. Harborne (Hrsg.), *The Flavonoids: Advances in research since 1986*,

- Chapman & Hall London, **1982**.
- [39] J. B. Harborne, T. J. Magry, H. Mabry, *The Flavonoids*, Chapman & Hall London, **1975**.
- [40] J. B. Harborne, *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*, Academic Press London, **1967**.
- [41] K. Böhm, *Die Flavonoide*, **1967**, Ed. Cantor KG – Aulendorf i. Württ.
- [42] T. J. Magry, K. R. Markham and M. B. Thomas, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, New York / Heidelberg / Berlin **1970**.
- [43] J. Spilková, J. Hubík, *Pharm. in unserer Zeit*, **1988**, *17*, 1-10.
- [44] Bernhard Watzl und Gerhard Rechkemmer, *Ernährungs-Umschau* **2001**, *48*, 498-502.
- [45] D. C. Knight, J. A. Eden, *Maturitas* **1995**, *22*, 167-175.
- [46] L. Wroblewski-Lissin, J. P. Cooke, *J. Am. Coll. Cardiol.* **2000**, *35*, 6, 1403-1410.
- [47] Y. Ishimi, C. Miyaura, M. Ohmura, Y. Onoe, T. Sato, Y. Uchiyama, M. Ito, X. Wang, T. Suda, S. Ikegami, *Endocrinology* **1999**, *140*, 4, 1893-1900.
- [48] T. Hoffmann, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2003**.
- [49] S. Beutner, S. Frixel, H. Ernst, S. Haremza, T. Hoffmann, I. Hernández Blanco, N. Kiesendahl, B. Mayer, P. Noack, C. Ruck, R. Scherrers, M. Schmidt, I. Schuelke, H.-D. Martin, *Advances in Colour Science and Technology* **2002**, *5*, 103-112.
- [50] H. Haraguchi, Y. Mochida, S. Sakai, S. Matsuda, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **1996**, *60*, 945-948.
- [51] C. Tournaire *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **1993**, *19*, 205.
- [52] S. V. Jovanovic, S. Steenken, M. Tosic, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 4846-4851.
- [53] W. Bors, W. Heller, C. Michael, M. Saran, *Methods Enzymol.*, **1990**, *186*, 343-355.
- [54] S. v. Acker, M. J. de Groot, D.-J. van den Berg, M. N. J. L. Tromp, G. D.-O. den Kelder, W. J. F. van der Vijgh, A. Bast, *Chem. Res. Toxicol.* **1996**, *9*, 1305-1312.
- [55] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, G. Paganda, *Free Radical Biol. Med.* **1996**, *20*, 933-956.
- [56] M. C. Montesinos *et al.*, *Z. Naturforsch.*, **1995**, *50c*, 552-560.

- [57] G. Cao, E. Sofic, R. L. Prior, *Free Radical Biol. Med.* **1997**, *22*, 749-760.
- [58] B. Nordén, G. Lindblom, I. Jonás, *J. Phys. Chem.* **1977**, *81*, 2086-2093.
- [59] B.-A. Johansson, G. Lindblom, A. Wiesländer, G. Arvidson, *FEBS Lett.* **1981**, *128*, 97-99.
- [60] L. Horner, H. Hoffmann, H. G. Wippel, G. Klahre, *Chem. Ber.*, **1959**, *92*, 2499-2506.
- [61] W. S. Wadsworth, W. D. Emmons, *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, *83*, 1733-1738.
- [62] J. D. Sumartis, R. Thommen, *J. Org. Chem.*, **1968**, *34*, 559-560.
- [63] H. Ernst, *Carotenoids, Volume 2: Synthesis*, Birkhäuser Verlag, Basel **1996**.
- [64] P. Noack, Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **1999**.
- [65] N. Kiesendahl, Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2000**.
- [66] W. Adam, D. Golsch, L. Hadjarapoglou, *J. Org. Chem.*, **1991**, *56*, 7292-7297.
- [67] Organikum, 19. Auflage, Deutscher Verlag der Wissenschaften **1993**.
- [68] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, 3. Auflage, Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, **2004**.
- [69] P. Noack, Dissertation in Vorbereitung, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf).
- [70] W. Baker, *J. Chem. Soc.*, **1933**, 1381-1388.
- [71] H. S. Mahal, K. Venkataraman, *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1767-1769.
- [72] T. S. Wheeler, *Flavone, Organic Synthesis*, Collect. Vol. IV, Wiley, New York, **1963**, 478-481.
- [73] C. K. Lau, P.C. Bélanger, C. Defresne, J. Scheigetz, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1670-1673.
- [74] D. C. G. A. Pinto, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavalairo, *J. Heterocyclic Chem.*, **1996**, *33*, 1890.
- [75] D. C. G. A. Pinto, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavalairo, *J. Heterocyclic Chem.*, **1996**, *33*, 1887-1893.
- [76] T. H. Simpson, W. B. Whalley, *J. Chem. Soc.* **1955**, 166-169.
- [77] L. Reichel, G. Hempel, *Liebigs Ann. Chem.* **1959**, *625*, 184-195.
- [78] W. H. Zhang, W. L. Chan, Y. H. Lin, Y. S. Szeto, Y. C. Lin, C. H. Yeung, *Heterocycles*, **1997**, *45*, 1, 71-75.
- [79] M. S. Khanna, O. V. Singh, C. P. Garg, R. P. Kapoor, *Synth. Commun.* **1993**, *23*, 5, 585-590.

- [80] C. G. Shanker, B. V. Mallaiah, G. Srimannarayana, *Synthesis* **1983**, 4, 310.
- [81] A. D. Patil, V. H. Desphande, *Indian J. Chem.* **1983**, 22B, 109-113.
- [82] W. Baker, N. C. Brown, J. A. Scott, *J. Chem. Soc.* **1939**, 1922-1927.
- [83] H. Schmid, K. Banholzer, *Helv. Chim. Acta* **1954**, 37, 198, 1706-1716.
- [84] K. Bowden, M. Chehel-Amiran, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1986**, 2039-2043.
- [85] B. P. Reddy, G. L. D. Krupadanam, *J. Heterocycl. Chem.* **1996**, 33, 1561-1565.
- [86] J. J. Ares, P. E. Outt, S. V. Kakodkar, R. C. Buss, J. C. Geiger, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 7903-7905.
- [87] T. Aida, T. Akasaka, N. Furakawa, *Bull. Soc. Chem. Japan*, **1976**, 49, 1117-1121.
- [88] J. J. Ares *et al.*, *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 4937-4943.
- [89] A. Steigel, Persönliche Mitteilung.
- [90] M. Schmidt, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2001**.
- [91] I. Hernández Blanco, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf) **2003**.
- [92] R. V. Suresh, C. S. Rukmani Iyer, P. R. Iyer, *Tetrahedron* **1985**, 41, 12, 2479-2482.
- [93] A. McKillop, *Pure Appl. Chem.* **1975**, 43, 463-479.
- [94] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart **1995**.
- [95] T. Horie, T. Yamada, Y. Kawamura, M. Tsukayama, M. Kuramoto, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1038-1042.
- [96] K. Wähälä, T. A. Hase, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1991**, 3005-3008.
- [97] R. J. Bass, *J.C.S. Chem. Comm.*, **1976**, 78-79.
- [98] R. Scherrers, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf) **2005**.
- [99] Y. H. Kim, J. Kim, H. Park, H. P. Kim, *Biol. Pharm. Bull.* **2007**, 30, 8, 1450-1455.
- [100] T. T. Dao, Y. S. Chi, J. Kim, H. P. Kim, S. Kim, H. Park, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2004**, 14, 1165-1167.
- [101] A. T. Shulgin, D. C. Dyer, *J. Med. Chem.*, **1975**, 18, 1201-1204.
- [102] H.-H. Ko, H.-K. Hsieh, C.-T. Liu, H.-C. Lin, C.-M. Teng, C.-N. Lin, *JPP* **2004**, 56, 1333-1337.
- [103] H.-K. Hsieh, L.-T. Tsao, J.-P. Wang, C.-N. Lin, *J. Pharm. Pharmacol.* **2000**, 52, 163-171.
- [104] R. S. Varma, R. K. Saini, D. Kumar, *J. Chem. Research (S)*, **1998**, 348-349.

- [105] M. Kucukislamoglu, M. Nebioglu, M. Zengin, M. Arslan, N. Yayli, *Journal of Chemical Research* **2005**, (9), 556-557.
- [106] L. Piazzini *et al.*, *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 4250-4254.
- [107] S. Bhat, S. Joshi, *Indian J. Chem. Sect. B*, **1991**, 30, 976-977.
- [108] H. Göker, D. W. Boykin, S. Yildiz, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, 13, 1707-1714.
- [109] D. C. G. A. Pinto, A. M. S. Silva, L. M. P. M. Almeida, J. A. S. Cavaleiro, J. Elguero, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3807-3815.
- [110] Y.-W. Kim, R. W. Brueggemeier, *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 6113-6115.
- [111] E. Chapman, H. Stephen, *Journal of the Chemical Society, Transactions* **1923**, 123, 404-409.
- [112] G.-Y. Gao, D.-J. Li, W. M. Keung, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2003**, 11, 4069-4081.
- [113] Y. Vasquez-Martinez, R. V. Ohri, V. Kenyon, T. R. Holman, S. Sepúlveda-Boza, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2007**, 15, 7408-7425.
- [114] *Huaxue Shijie* **2003**, 44 (10), 535-537, 509.
- [115] *Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi* **2001**, 11 (5), 270-273.
- [116] G. W. Burton, D. O. Foster, B. Perly, T. F. Slater, I. C. P. Smith, K. U. Ingold, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **1985**, 311, 565-578.

Hiermit versichere ich, dass ich die vorgelegte Arbeit selbständig durchgeführt und verfasst habe. Als Hilfsmittel wurden nur die angegebenen Quellen verwendet.

Wegberg, 14.12.08

Nicole Kiesendahl

