

ULTRAVIOLETTABSORPTIONSSPEKTREN VON ISOFLAVONEN

Von R. BOGNÁR, V. SZABÓ und R. É. DÁVID

Institut für Organische Chemie der L. Kossuth Universität
Debrecen

Professor Dr. Árpád Kiss zum 70. Geburtstage gewidmet

(Eingegangen am 22. Dezember, 1959)

Bei pflanzenchemischen Untersuchungen ist oft eine schnelle — eventuell nur zur Orientierung dienende — Strukturanalyse der isolierten Verbindung notwendig. Bei der Untersuchung der Flavonoid- und Isoflavonoid-Abkömmlinge sollen drei Hauptfragen beantwortet werden, wenn man sich im Bezug auf die Struktur der isolierten Verbindung schnell orientieren will:

1. Hat die Verbindung ein 1,2-Diphenylpropan-Skelett (Isoflavonoid) oder ein 1,3-Diphenylpropan-Skelett (Flavonoid)?
2. In was für einem Oxydationszustand befindet sich die Verbindung (Flavon, Flavanon, Flaven, Flavan, usw.)?
3. Was für Substitution-Verhältnisse gibt es? (An welchem Ring legen sich die verschiedenen Substituenten an und ungefähr was für eine Zahl haben sie?)

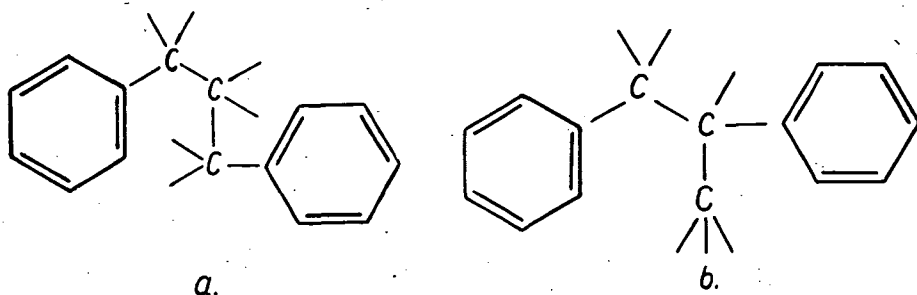


Fig. 1. a) 1,3-Diphenylpropan; b) 1,2-Diphenylpropan

Auf diese Fragen konnte man bloß mit analytisch-chemischen Reaktionen keine befriedigende Antwort geben. Auch die polarographischen Angaben können nur mit großer Umsicht in Betracht genommen werden. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß zur Entscheidung der obigen Probleme die ultravioletten Spektren gut anzuwenden sind.

In diesem Bericht möchten wir uns mit einer Detailfrage dieses Problemkreises, mit der Untersuchung der ultravioletten Spektren von Isofla-

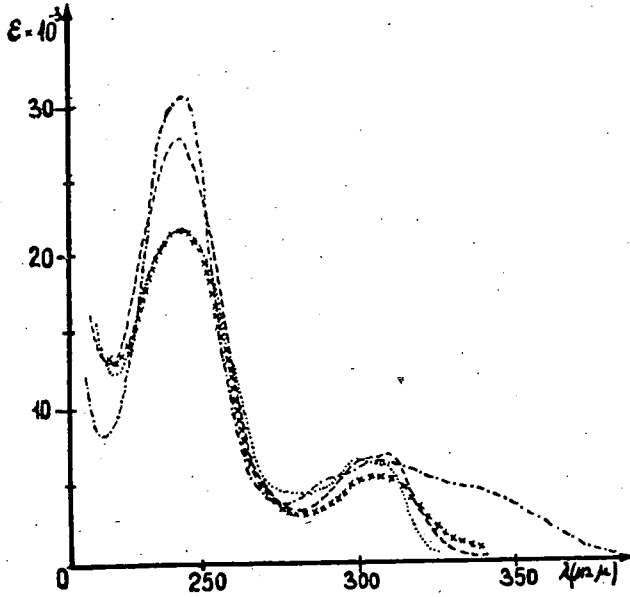


Fig. 2. Die Absorptionsspektren von Isoflavon in verschiedenen Lösungsmitteln. — in Äthanol, in Cyclohexan, - - - in Äthanol-cc. H_2SO_4 -Mischung (1:1), $\times \times \times$ in 0,01 n äthanolischem KOH

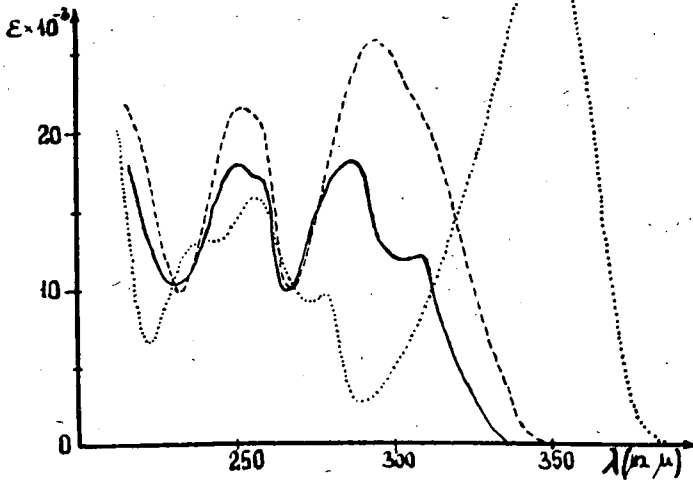


Fig. 3. Die Absorptionsspektren von Flavon in verschiedenen Lösungsmitteln. — in Cyclohexan, - - - in Äthanol, in Äthanol-cc. H_2SO_4 -Mischung (1:1)

vonnen beschäftigen. Eine systematische spektrale Untersuchung dieser Verbindungen wurde unseren Kenntnissen nach bisher noch nicht durchgeführt. Von manchen Verfassern wurden die Spektren von einigen Isoflavon- und Isoflavanon-Derivaten — als charakteristische physikochemische Daten — zum Zwecke der Identifizierung mitgeteilt [1—4].

Tabelle I

	I. Bande		II. Bande	
	λ_{\max} Å	ϵ	λ_{\max} Å	ϵ
Isoflavon	3080	6800	2450	27 400
Flavon	2950	25 800	2520	21 450

Für die Grundverbindung — nämlich das Isoflavon — ist ein Spektrum mit zwei Banden charakteristisch. Die Lage der in Äthanol gemessenen Banden stimmt im großen und ganzen mit der der Banden des in Äthanol gemessenen Spektrums vom Flavon überein, aber die Intensitätsverhältnisse der Absorptionen sind gerade umgekehrt. (Tabelle I. Fig. 2., 3.) Auf Grund des Spektrums sind also die zwei Verbindungen voneinander scharf zu unterscheiden. (Fig. 4.)

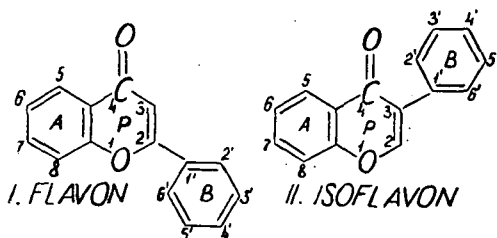


Fig. 4.

- III. R = MeO; R' = H: 7-Methoxyisoflavon
- IV. R = OH; R' = H: 7-Oxyisoflavon
- V. R = R' = OH: 7,4'-Dioxyisoflavon (Daidzein)
- VI. R = OH; R' = MeO: 7-Oxy-4'-Methoxyisoflavon (Formononetin)
- VII. R = MeO; R' = OH: 7-Methoxy-4'-Oxyisoflavon (Isoformononetin)
- VIII. R = MeO; R' = NH₂: 7-Methoxy-4'-Aminoisoflavon
- IX. R = OH; R' = NH₂: 7-Oxy-4'-Aminoisoflavon
- X. R = OH; R' = NO₂: 7-Oxy-4'-Nitroisoflavon.

Die Bande I des Isoflavons ist eine niedrige, flache, über eine kleine Inflexion verfügende Bande, die sich im apolaren Lösungsmittel in zwei kleine abgesonderten Maxima teilt. Die Bande II ist — in Äthanol aufgenommen — symmetrisch. Ihre Intensität nimmt in Cyclohexan stark ab, in Gegenwart von cc. H₂SO₄ nimmt sie zu. Durch die Substituierung des C₇-Atoms des Isoflavons (Ring "A") wird das Spektrum in bedeutendem Maße (aber nicht strukturell) geändert. Nimmt die Intensität der ersten Bande, mit

der Grundverbindung verglichen, beinahe doppelt so stark zu, zum Beispiel im Fall des 7-Methoxyisoflavons (III), so verbreitet sich die II. Bande, verliert ihre Symmetrie, und zeigt die Form von zwei verschmolzenen Banden. (Fig. 5.) Die Bande II. des 7-Methoxyisoflavons spaltet sich auch im Cyclohexan in zwei Teile, in eine bei 2280 Å auftretende Bande von kleinerer Intensität und in eine bei 2520 Å absorbierende Bande von größerer Intensität. Im Fall des Isoflavons gibt es keine Aufspaltung in zwei Teile. Die I. Bande des Spektrums von 7-Methoxyisoflavon, in Äthanol aufgenommen, ist, dem Isoflavon ähnlich, eine flache, über eine Inflexion verfügende Bande. Auch in Cyclohexan ist es in zwei Teile gespalten, aber gegliederter, als die entsprechende Bande des Isoflavons, und davon abweichend auch asymmetrisch.

Das 7-Oxyisoflavon (IV) zeigt dasselbe Spektrum in alkoholischem Mittel, wie die 7-Methoxy-Verbindung (Fig. 6.). Die Einführung der Elektronendonoren-Substituenten (V., VI.) auf das C₇-Atom des Isoflavonmoleküls verursacht im Spektrum weitere Änderungen. Die I. Bande ändert sich nicht, die zweite Bande verbreitet sich aber weiter, gliedert sich, und ihr Maximum verschiebt sich nach dem Sichtbaren. (Fig. 7.) Im Fall eines Aminosubstituenten (VIII., IX.) trennt sich bereits die bei den anderen Verbindungen zusammengeschmolzen erscheinende II. Bande, um 2450 Å tritt eine Bande ungestört auf, um 2700 Å dagegen formt sich eine neue hohe Bande, in deren absteigende Seite die I. Bande verschmolzen ist. (Fig. 8., 9.)

Auch durch die Nitrogruppe in der Lage C₄ wird das Spektrum wesentlich verändert. Im Spektrum (Fig. 9.) vom 7-Oxy-4'-Nitroisoflavon (X) ist die I. Bande sehr hoch, breit, symmetrisch, die zweite aber ganz niedrig und bei 2230 Å erscheint auch eine neue Bande.

Die auf das C₅-Atom des Isoflavon-Moleküls substituierte Hydroxyl- oder Methoxyl-Gruppe verändert das Spektrum wesentlich. Die so substituierten Isoflavone werden durch ein über eine einzige breite asymmetrische Bande verfügendes Spektrum charakterisiert. Das Absorptionsmaximum dieser Bande ist um 2620 Å und es hat eine flache Inflexion um 3250 Å. Auch die Intensität der Bande ist wesentlich größer als sie im Fall der anderswo substituierten Isoflavone ist. Die Differenz in ϵ ist ungefähr 11—13 000. (Fig. 10—11.) Im Fall der 5-Methoxy-Substitution ist das Maximum bei kürzerer Wellenlänge zu finden und auch die Intensität der Bande ist kleiner, weiterhin um 3250 Å gibt es keine Inflexion. (Fig. 10.) Von der Form und Intensität der Bande (die anderen Substituenten außer Acht gelassen) ist es immer möglich zu wissen, ob ein Hydroxyl- oder Methoxyl-Substituent auf dem C₅-Atom zu finden ist oder nicht. Die Wirkung anderer Elektronendonoren-Substituenten ist in den Spektren der 5-Oxy- beziehungsweise 5-Methoxyisoflavon nur in kleinem Maße sichtbar. In der folgenden Tabelle wird die auf das Absorptionsspektrum des Isoflavons geübte Wirkung der Substituenten zusammengestellt. (Tabelle II.)

Der auf das C₂-Atom des Genisteins (5, 7, 4'-Trioxyisoflavon) eingeführte Substituent vermindert die Intensität der bei 2620 Å befindlichen Bande und verschiebt sie auch. (Fig. 11.) Die Wirkung der verschiedenen Substituenten scheint mit deren Raumauffüllung in Zusammenhang zu sein. (Tabelle III.)



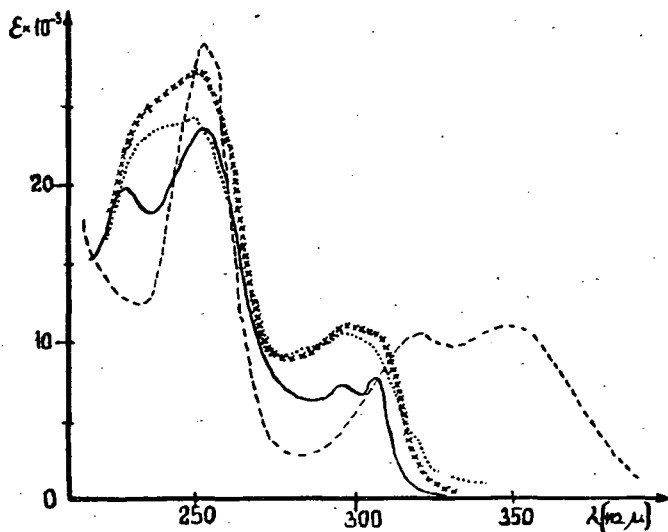


Fig. 5. Die Absorptionsspektren von 7-Methoxyisoflavon in verschiedenen Lösungsmitteln. $\times \times \times$ in Äthanol, — — — in Äthanol-cc. H_2SO_4 -Mischung (1:1), \dots in 0,01 n äthanolischem KOH, — in Cyclohexan

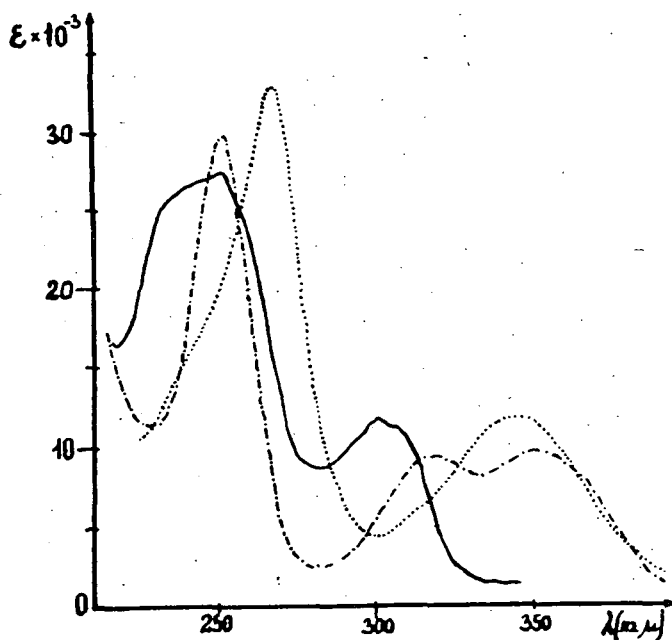


Fig. 6. Die Absorptionsspektren von 7-Oxyisoflavon in verschiedenen Lösungsmitteln. — in Äthanol, — — — in Äthanol-cc. H_2SO_4 -Mischung (1:1), \dots in 0,002 n $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$

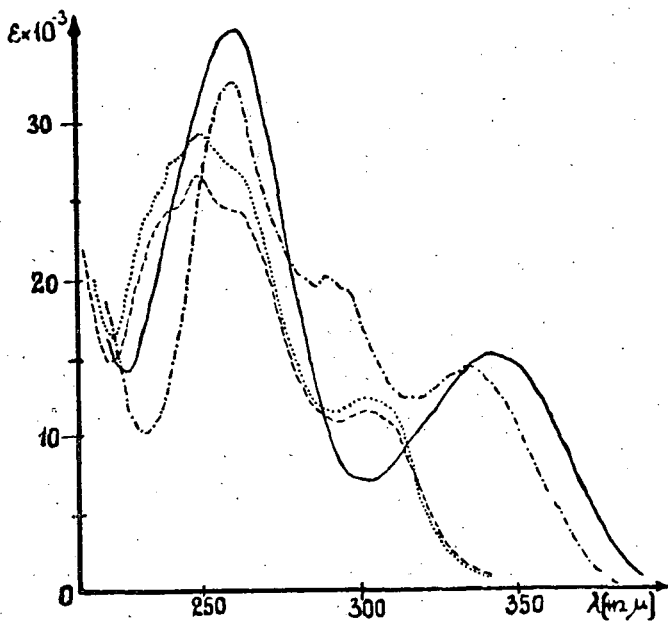


Fig. 7. Die Absorptionsspektren von 7,4'-Dioxyisoflavon in Äthanol — — — und in 0,002 n $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$ - - - - - bzw. die von 7-Oxy-4'-methoxyisoflavon in Äthanol und in 0,002 n $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$. — · — · —

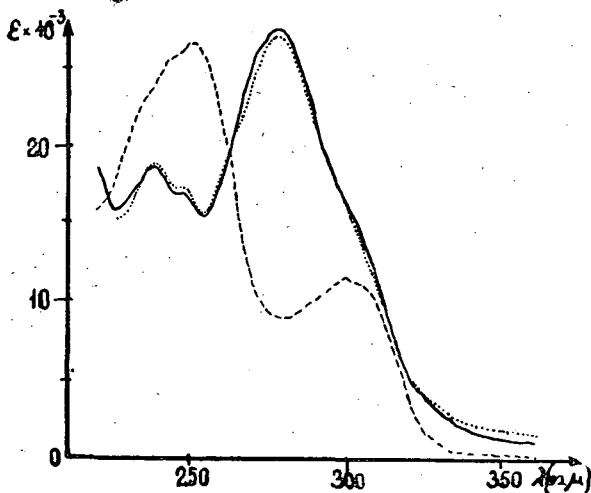


Fig. 8. Die Absorptionsspektren von 7-Methoxy-4'-aminoisoflavon in Äthanol — — —, in Äthanol-0,1 n HCl-Mischung (1:1) - - - - - und in 0,01 n äthanolischem KOH — · — · —

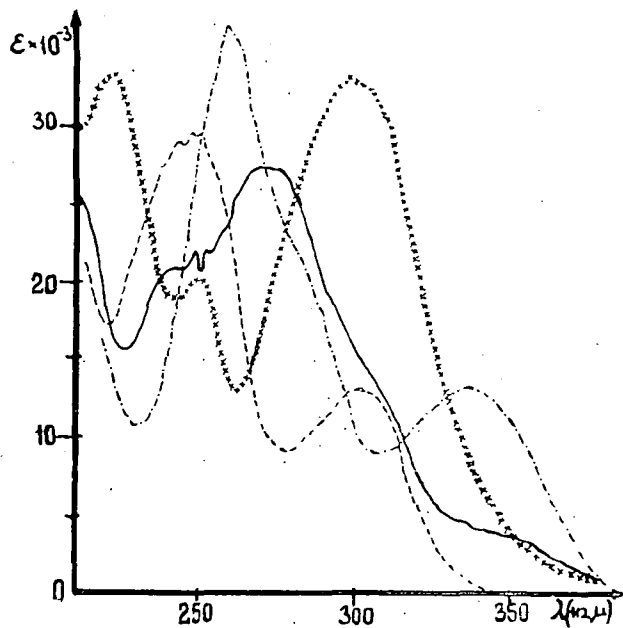


Fig. 9. Die Absorptionsspektren von 7-Oxy-4'-aminoisoflavon in Äthanol ———, in Äthanol 0,1 n HCl-Mischung (1:1) — — — und in 0,02 n C_2H_5ONa — · — · — bzw. das Absorptionsspektrum von 7-Oxy-4'-nitroisoflavon in Äthanol $\times\times\times$

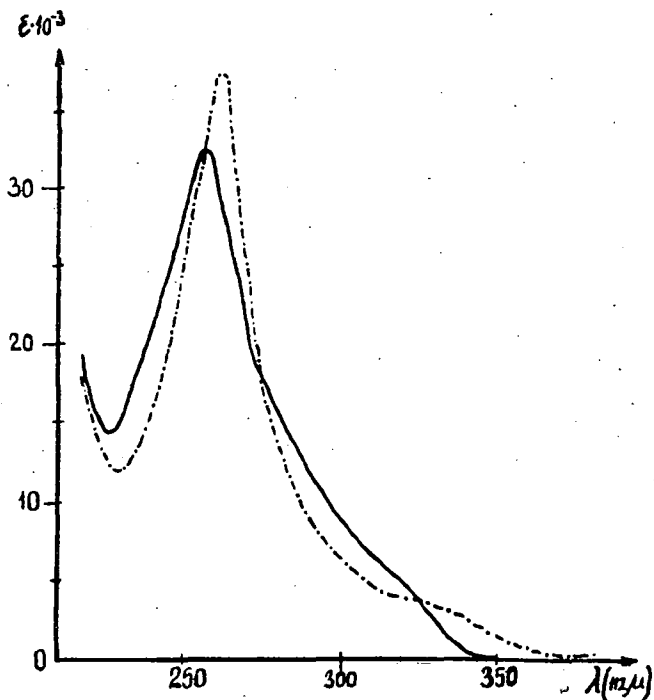


Fig. 10. Das Absorptionsspektrum von Trimethylgenistein ——— bzw. das von Genistein-7-methyläther (Prunetin) — · — · — beide in Äthanol

Tabelle II

Die Wirkung der Substituenten auf das Absorptionsspektrum des Isoflavons

No	Der Name des Isoflavons	I. Bande				II. Bande			
		λ_{\max}	$\Delta\lambda$	I_{\max}	ΔI	λ_{\max}	$\Delta\lambda$	I_{\max}	ΔI
1.	Isoflavon	308	—	6 900	—	245	—	27 400	—
2.	7-Oxy-isoflavon	302	-6	11 400	4 500	250	+5	27 400	0
3.	7-Methoxy-isoflavon	298	-10	11 120	4 220	250	+5	27 200	-200
4.	7,4'-Dioxy-isoflavon	303	-5	11 300	4 400	249,5	+4,5	26 800	-600
5.	7-Oxy-4'-methoxy-isoflavon	302,5	-5,5	12 200	5 300	250	+5	29 400	+2 000
6.	7-Methoxy-4'-oxy-isoflavon	296	-12	11 600	4 700	262	+17	26 200	-1 200
7.	7-Methoxy-4'-amino isoflavon	278	neue Bande	27 440	—	238	-7	18 800	-2 600
8.	7-Oxy-4'-amino-isoflavon	271	„ „	27 200	—	249	+4	21 800	-5 600
9.	5, 7, 4'-Trioxy-isoflavon	325 Infl.	—	4 600	—	262,5	+17,5	37 600	+10 200
10.	5-Oxy-7, 4'-dimethoxy-isoflavon	310 Infl.	—	4 380	—	261,0	+16	37 400	+10 000
11.	5, 7, 4'-Trimethoxy-isoflavon	—	—	—	—	257	+12	32 640	+5 240

$\Delta\lambda$ die Änderung der Lage des Absorptionsmaximums

ΔI die Änderung der Absorptionsintensität

} bezogen auf die Grundverbindung

Tabelle III

	λ_{\max} Å	ϵ
Genistein	2625	37 600 (Fig. 11.)
2-Methylgenistein	2575	33 740 [2]
2-Äthylgenistein	2580	32 582 [2]
2-Carboxygenistein	2610	27 275 (Fig. 11.)
2-Carbäthoxygenistein	2660	24 575 (Fig. 11.)

Nach BRADBURY und WHITE [2] heben die Substituenten des C_2 -Atoms die Planarität des Ringsystems des Genisteins auf und verursachen "die sterische Verhinderung der Resonanz". Dieselbe Erscheinung kommt vor wie im Fall der Methyl-Substitution von 4-Dimethylaminostilben [5].

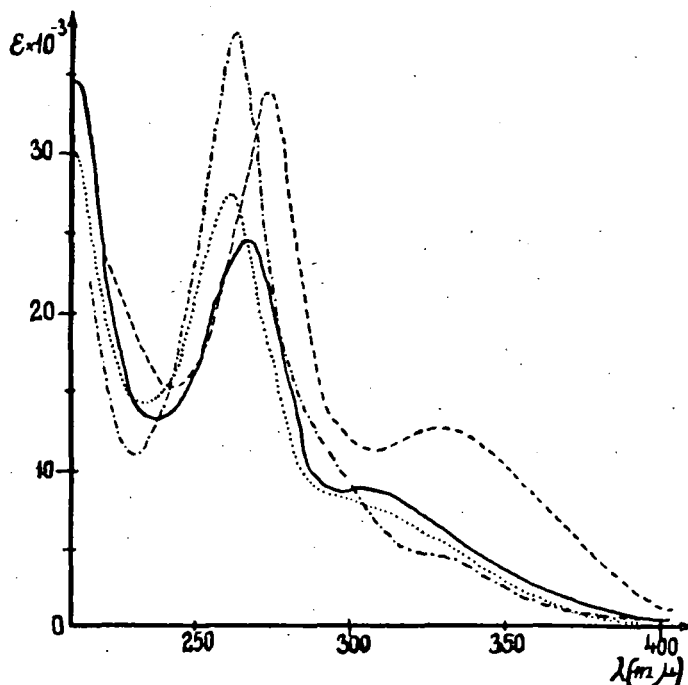


Fig. 11. Das Absorptionsspektrum von Genistein in Äthanol ———, von 2-Carbäthoxygenistein in Äthanol ———, von 2-Carboxygenistein in Äthanol und von 2-Carboxygenistein in 0,01 n äthanolischem KOH ———

Wir haben gesehen, daß die sich an verschiedenen Stellen knüpfenden verschiedenen Elektrondonor-Gruppen auf die Spektren abweichende Wirkungen ausüben. Noch differenzierter ist die Wirkung dann, wenn das Spektrum der in verschiedener Lage Hydroxyl-, beziehungsweise Amino-Gruppen enthaltenden Isoflavone in säurigen oder alkalischen Lösungsmitteln aufgenommen wird. Die im Spektrum eintreffende Abänderung zeigt dann noch

Tabelle IV

Die Spektren der Oxyflavone in alkalischem Lösungsmittel

No	Der Name des Oxyflavons		I. Bande		$\Delta\lambda$	Neue Bande		II. Bande		$\Delta\lambda$	Die Nummer der Fig.
			in C_2H_5OH	in C_2H_5ONa		in C_2H_5OH	in C_2H_5ONa	in C_2H_5OH	in C_2H_5ONa		
1.	7-Oxy-isoflavin	$m\mu$ ϵ	302 11 400	342,5 11 560	+40,5			250 27 400	267 32 600	+17,0	4-5
2.	7-Methoxy-isoflavin	$m\mu$ ϵ	298 11 120	296 10 480	-2,0			250 27 200	249 24 200	-1,0	3
3.	7-Oxy-4'-methoxy-isoflavin	$m\mu$ ϵ	302,5 12 200	342,0 14 900	+39,5			250 29 400	261 35 600	+11,0	6
4.	7, 4'-Dioxy-isoflavin	$m\mu$ ϵ	303 11 300	335 14 300	+32,0		290 20 000	249,5 26 800	261 32 600	+11,5	6
5.	7-Methoxy-4'-oxy-isoflavin	$m\mu$ ϵ	296 11 600	!* !			287 25 800	262 26 200	238 17 200	-22	7
6.	7-Oxy-4'-amino-isoflavin	$m\mu$ ϵ	um 300 !* Infl.	337 13 100	+37	271 27 200	um 280 Infl.	249 21 800	260 36 200	+11	8
7.	7-Methoxy-4'-amino-isoflavin	$m\mu$ ϵ	um 300 !* Inf.	um 300 !* Infl.		278 27 440	278 27 040	238 18 800	238 18 840	0	9
8.	5, 7, 4'-Trioxy-isoflavin	$m\mu$ ϵ	325 Infl. 4 600	337 12 750	+12			262,5 37 600	276 33 400	+13,5	10
9.	Sophoricosid	$m\mu$ ϵ	325 Infl. 142 400	335 10 200	+10			262,0 37 900	277 39 000		

!* verschmolzen in der absteigenden Seite der neuen Bande

ausdrücklicher die Stelle der Substitution. In der Tabelle IV werden die Abänderungen des Spektrums der Hydroxyl- und Amino-Gruppe enthaltenden Isoflavone in $5 \cdot 10^{-4}$ M Na-Äthylat enthaltender alkoholischer Lösung dargestellt.

In der Tabelle V wird die Änderung des Spektrums der auch die Aminogruppe enthaltenden Isoflavone, in 0,1 M HCl enthaltender Äthanol-Lösung dargestellt.

Tabelle V

Die Spektren der Aminoisoflavone in säurigem Lösungsmittel									
	Der Name des Aminoisoflavons	I. Bande		$\Delta\lambda$	Neue Bande		$\Delta\lambda$	II. Bande	
		in C_2H_5OH	in HCl gehaltendem C_2H_5OH		in C_2H_5OH	in HCl gehaltendem C_2H_5OH		in C_2H_5OH	in HCl gehaltendem C_2H_5OH
1.	7-Oxy-4'-NH ₂ -isoflavon	!* Infl.	303 12 800		271 27 200	—		249 21 800	248 28 400
2.	7-Methoxy-4'-amino-isoflavon	!*	302 11 800		278 27 440	—		328 18 800	250 27 400

!* verschmolzen in der absteigenden Seite der neuen Bande

Von den obigen Angaben ist es zu sehen, daß sich ein Zusammenhang zwischen den im Spektrum eintreffenden Änderungen und den strukturellen Änderungen aufweist. Die I. Bande verschiebt sich in Gegenwart von Na-Äthylat erst dann, wenn sich in der Lage 7 (C_7 -Atom) eine freie Phenolhydroxylgruppe befindet. GleichermäÙen formt sich um 2750 Å erst dann eine neue Bande im alkalischen Lösungsmittel, beziehungsweise verschiebt sich die um 2500 Å auftretende Bande nach der längeren Wellenlänge dann, wenn in der Lage 4' ($C_{4'}$ -Atom) eine freie phenolische Hydroxylgruppe zu finden ist, oder wenn ebenda eine NH₂-Gruppe — deren elektrondonore Wirkung größer ist als die der OH-Gruppe — eingeführt wird. Wenn die Elektrondonor-Fähigkeit der NH₂-Gruppe durch Salzbildung aufgehoben wird, wird auch das Spektrum das gleiche, wie das Spektrum einer an der $C_{4'}$ -Stelle unsubstituierten Verbindung. Über die Wirkung auf das Spektrum der C_5 -Hydroxylgruppe haben wir schon gesprochen. Weiterhin haben wir gesehen, daß die Gegenwart der auf dem C_7 - und $C_{4'}$ -Atom befindlichen substituierten oder freien Hydroxyl- und Aminogruppen, auf Grund des Spektrums leicht festzustellen ist. Also das Ultraviolettpektrum ist zur raschen Orientierung über die Substitutionsverhältnissen geeignet.

Jene Farbenreaktionen, die für die Isoflavone (für das Chromon-Skelett) charakteristisch sind, treten auch bei den Flavonen auf [6]. Die Flavone und Isoflavone sind also auf Grund der Farbenreaktionen nicht zu unterscheiden. Auf Grund des Spektrums geht die Unterscheidung sehr rasch.

Die Unterscheidungsmöglichkeit des Isoflavon- und Flavon-Skeletts voneinander, beziehungsweise von fremden Verbindungen kann noch erhöht werden, mit der Aufnahme der Spektren in cc. H_2SO_4 -Alkohol. In der Tabelle VI werden einige Angaben mitgeteilt, durch welche die Unterschiede gezeigt werden.

Tabelle VI

Die Spektren der Isoflavone und Flavone in Äthanol-cc. H_2SO_4 -Mischung (1 : 1)							
No.	Der Name der Verbindung	I. Bande	$\log \epsilon_I$	II. Bande	$\log \epsilon_{II}$	III. Bande	$\log \epsilon_{III}$
1.	Flavon	350	4,496	278	3,978	256	4,196
2.	Isoflavon	340	3,645	307,5	3,798	246	4,475
3.	7-Oxy-isoflavon	350	3,974	317,5	3,968	252	4,474
4.	7-Methoxy-isoflavon	350	4,036	322	4,009	252	4,461
5.	5, 7, 4'-Trioxyflavon	404	4,358	300	3,792	266	4,146
6.	5, 7, 4'-Trioxy-isoflavon	—	—	—	—	266	4,540

Zur Erklärung des Spektrums versuchten wir auch die Zuordnung der Banden zu verrichten. Wir haben vorausgesetzt, daß in Molekül 3, eine über große Anregungswahrscheinlichkeit verfügende zusammengesetzte Chromophorgruppe zu finden sei (Fig. 12.), die zusammengesetzten Chromophorgruppen des Isoflavons.

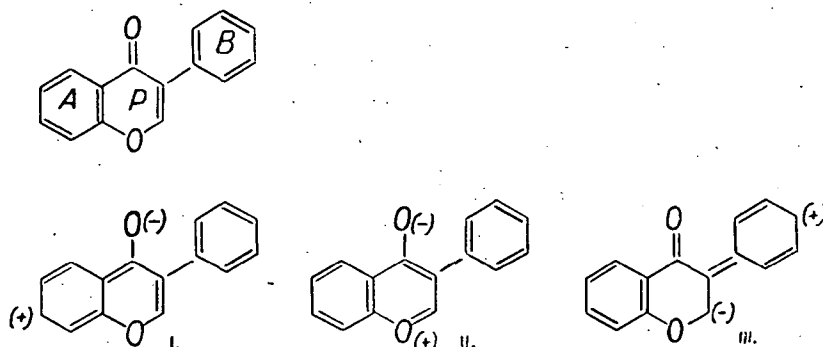


Fig. 12. Die zusammengesetzten Chromophorgruppen des Isoflavons

Das I. Chromophor entsteht durch die Konjugation des aromatischen Ringes "A" und der Carbonyl-Gruppe. Dieser Anregung haben wir die I. Bande zugeordnet. Die Zuordnung haben wir auf Grund bekannter Prinzipien damit begründet, daß wenn dieses zusammengesetzte Chromophor mit einer p -Elektronen enthaltenden auxochromen Gruppe in Para-Stellung mit der Carbonyl-Gruppe erweitert wird, dann nimmt die Extinktion der I. Bande in

großem Maße zu und wenn die auxochrome Wirkung des phenolischen Hydroxyls durch ionische Dissoziation (siehe die Spektrumaufnahme im Falle alkalischer Mittel) vermehrt wird, dann verschiebt sich die I. Bande stufenweise nach dem sichtbaren Bereich.

Der II. zusammengesetzten Chromophorgruppe haben wir die zweite Bande zugeordnet. Dies haben wir auf Grund des Vergleiches von Spektren der verschiedenen, γ -Pyronring enthaltenden Verbindungen getan. Die II. Bande ist im Fall des substituierten Isoflavons zusammengesetzt. Wahrscheinlich befindet sich an dieser Stelle die zur zweiten Anregung gehörende Bande des I. zusammengesetzten Chromophors, worauf aus der — bei Anwendung von alkalischen Mitteln — beobachtbaren, geringen Banderverschiebung zu folgern ist. Im Fall der Substitution des C_4 -Atoms gliedert sich die II. Bande, von der Vermehrung der auxochromen Wirkung des Substituenten abhängig, immer mehr, und zerfällt sogar in zwei Teile. Auf Grund der Ergebnisse unserer Messungen haben wir die neue, um 2750 Å sich formende Bande dem III. zusammengesetzten Chromophor zugeordnet, das durch die Konjugation der doppelten Bindung des aromatischen "B" Rings und des γ -Pyronrings entsteht. (Siehe das Spektrum der C_4 -Atom, Hydroxyl-, bzw. Aminogruppen enthaltenden Verbindungen.) Diese, um 2750 Å auftretende Bande formt sich nämlich erst dann, wenn sich auf der C_4 -Stelle eine freie Hydroxyl-, bzw. Aminogruppe befindet.

Für organische Chemiker ist die spektroskopische Untersuchung der Isoflavon-Verbindungen ein sehr nützliches Hilfsmittel, das viel schneller zur Erkennung der Struktur führt, deshalb haben wir weniger die theoretischen Beziehungen des Spektrums, als die Nutzbarkeitsmöglichkeiten zur Aufklärung der Struktur untersucht. Die Spektrumangaben der verschiedenen Flavonoid- und Isoflavonoidverbindungen, die wir hier nur zu einem kleinen Teil darstellen konnten, verstärken unsere Voraussetzung, daß die spektroskopische Methode zur Entscheidung der in der Einleitung angegebenen Probleme geeignet ist. (Unsere Untersuchungen werden fortgesetzt.)

* * *

Unsere Arbeit ist mit der Unterstützung der Ungarischen Wissenschaftlichen Akademie verrichtet worden, wofür wir auch hier vielen Dank aussprechen möchten.

Literatur

- [1] Varburton, V. K.: Quaterly Rewiews 67, (1954).
- [2] Bradbury, R. B., D. E. White: J. Chem. Soc. (London) 871 (1953).
- [3] Baker, W., J. B. Harborne, W. D. Ollis: J. Chem. Soc. (London) 1854 (1953).
- [4] Szabó, V., R. Bognár, M. Puskás: Acta Chim. Hung. 15, 103 (1958).
- [5] Beale, R. N., E. M. F. Roe: J. Am. Chem. Soc. 74, 2302 (1952).
- [6] Paech, K., M. V. Tracey: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. III. (Springer, 1955) S. 450.