

Synthese prenylierter Chalkone aus Hopfen und Bestimmung ihrer cytotoxischen und antioxidativen Aktivität

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der naturwissenschaftlichen Fakultät IV- Chemie und Pharmazie -
der Universität Regensburg



vorgelegt von

Susanne Vogel

aus Weiden

2008

Die Arbeit wurde geleitet von: Prof. Dr. J. Heilmann

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht am: 4.07.2008

Tag der mündlichen Prüfung: 8.08.2008

Prüfungsausschuss:	Prof. Dr. B. Dick	(Vorsitzender)
	Prof. Dr. J. Heilmann	(Erstgutachter)
	Prof. Dr. B. König	(Zweitgutachter)
	Prof. Dr. S. Elz	(Dritter Prüfer)

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von April 2005 bis Juni 2008 unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Jörg Heilmann am Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie der Universität Regensburg

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bedanken bei:

Herrn Prof. Dr. Jörg Heilmann für seine umfassende und engagierte persönliche Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit, sowie für zahlreiche wertvolle Anregungen und die kritische Durchsicht und Hilfestellung beim Verfassen dieser Dissertationsarbeit.

Frau Gabi Brunner für ihre stetige Hilfsbereitschaft sowie tatkräftige, engagierte und sehr gewissenhafte Unterstützung bei der Durchführung der *in vitro*-Testung und des Radikalassays.

Frau Dr. Birgit Kraus für die Unterstützung und die vielen wertvollen Tipps und Anregungen bei der pharmakologischen Testung.

Daniel Lachmann und Sebastian Pitzl danke ich für die Hilfe und Unterstützung beim gesamten Synthetischen Teil.

Den Mitgliedern der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Siavosh Mahboobi für die hilfreichen Gespräche und Tipps bei der chemischen Synthese.

Meinen Kollegen für die freundliche Aufnahme in der Arbeitsgruppe, für das stets heitere Laborklima und die gute Zusammenarbeit in jeglicher Hinsicht.

Allen Mitarbeitern der zentralen analytischen Abteilungen der Fakultät für die Aufnahme der Massenspektren, sowie die Durchführung der hochaufgelösten NMR-Spektren.

Meinen Eltern für die fortwährende Unterstützung, ohne die mein Studium und diese Arbeit nicht möglich gewesen wären.

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

A	Einleitung	1
1.	Allgemeines über Hopfen-Botanische Beschreibung und Anbau.....	1
2.	Inhaltsstoffe im Hopfen.....	2
3.	Verschiedene prenylierte Chalkone im Hopfen.....	4
4	Synthese bisher bekannter prenylierter Chalkone im Hopfen.....	6
5.	Metabolisierung.....	6
6.	Biologische Wirkungen.....	9
6.1	Medizinische Anwendung im Mittelalter.....	9
6.2	Sedierende Wirkung.....	9
6.3	Antibakterielle Wirkung.....	10
6.4	Antivirale Aktivität.....	10
6.5	Antifungale Wirkung.....	11
6.6	Östrogene Wirkung.....	12
6.7	Antikancerogene Wirkung.....	13
6.8	Antioxidative Wirkung.....	15
6.9	Antiprotozoale Wirkung.....	15
B	Aufgabenstellung	17
C	Synthese der Testverbindungen	19
1	Übersicht zur Synthesestrategie von Xanthohumol.....	19
2	Herstellung des A-Ringes.....	20
2.1	Schützen der Hydroxygruppen.....	20
2.2	Einführung der Prenylseitenkette.....	21
2.3	Umlagerung der Prenylseitenkette.....	22
2.4	Methoxylierung.....	24
3	Schätzung der entsprechenden Benzaldehyde.....	25
4	Basenkatalysierte Aldol-Kupplung.....	27
5	Entschätzung.....	29

6	Strukturaufklärung von Xanthohumol	30
6.1	Zuordnung der 1D-Daten von Xanthohumol.....	31
6.2	Zuordnung der 2D-Daten von Xanthohumol.....	33
7	Variation der Chalkone am B-Ring	38
7.1	Variation der Position und der Anzahl der Hydroxygruppen.....	38
7.2	Einführung einer Methoxygruppe.....	42
8	Chalkone ohne Prenylkette	43
9	Variationen am A-Ring	46
9.1	Variation der Methoxygruppen.....	46
9.2	Chalkone mit Geranylseitenkette.....	52
9.3	Doppelte Prenylierung.....	55
9.4	Hydratisierung der Prenylseitenkette.....	60
9.5	Ringschlussreaktionen.....	63
9.6	Ringschlussreaktion ohne Doppelbindung.....	66
D	Pharmakologische Prüfung	69
1	Bestimmung der Zytotoxizität	69
1.1	In <i>vitro</i> Testung an der humanen Gebärmutterhalskrebstumor- zelllinie HeLa.....	69
2	Der MTT-Assay	70
3	Testung der synthetisierten Substanzen auf ihre Zytotoxizität an der humanen Gebärmutterhalskrebstumorzelllinie HeLa	71
3.1	Allgemeines.....	71
3.2	Ergebnisse der Testsubstanzen.....	72
3.3	Diskussion der Ergebnisse.....	73
3.3.1	Variationen am B-Ring.....	74
3.3.2	Chalkone ohne Prenylkette.....	75
3.3.3	Variationen am A-Ring.....	76
E	ORAC-Fluorescein Assay	81
1	Grundlagen des Assays	81

2	Auswertung des ORAC-Assays.....	86
3	Ergebnisse der Testsubstanzen.....	87
4	Diskussion der ORAC-Testergebnisse.....	89
F	Zusammenfassung.....	99
1	Synthese der Testverbindungen.....	99
2	Testung der synthetisierten Substanzen auf ihre Zytotoxizität an HeLa-Zellen.....	101
3	ORAC-Fluorescein Assay.....	103
G	Ausblick.....	107
H	Experimenteller Teil.....	109
1	Allgemeine Angaben.....	109
1.1	Synthetischer Teil.....	109
1.2	Biochemischer und pharmakologischer Teil.....	110
2	Synthesevorschriften und analytische Daten.....	112
2.1	Vorschrift A: Schützen der Hydroxygruppen.....	112
2.1.1	Analytische Daten der geschützten Acetophenone.....	112
2.2	Vorschrift B: Prenylierung/Geranylierung der Hydroxygruppen.....	113
2.2.1	Analytische Daten der O-prenylierten/O-geranylierten Acetophenone.....	114
2.3	Vorschrift C: Umlagerung der Prenylgruppe/Geranylgruppe.....	117
2.3.1	Analytische Daten der prenylierten/geranylierten Acetophenone.....	117
2.4	Vorschrift D: Methoxylierung der Acetophenone.....	119
2.4.1	Analytische Daten der methoxylierten Acetophenone.....	120
2.5	Hydroxilierung mit Quecksilber.....	123
2.5.1	Analytische Daten der hydroxilierten Verbindung.....	123
2.6	Ringschlussreaktionen.....	125
2.6.1	Analytische Daten der ringgeschlossenen Verbindungen.....	125
2.7	Vorschrift E: Schützen der Hydroxygruppen der Benzaldehyde.....	126

2.7.1	Analytische Daten der geschützten Benzaldehyde.....	126
2.8	Vorschrift F: Basenkatalysierte Aldolkupplung.....	128
2.8.1	Analytische Daten der geschützten Chalkone.....	128
2.9	Vorschrift G: Entschützung der Chalkone.....	141
2.9.1	Analytische Daten der entschützten Chalkone.....	141
3	Biochemische und pharmakologische Testmethoden.....	160
3.1	Testung der synthetisierten Substanzen auf die Zytotoxizität an der humanen Gebärmutterhalskrebstumorzelllinie HeLa.....	160
3.1.1	Einfrieren und Auftauen der Zellen.....	160
3.1.2	Zubereitung des Zellmediums.....	161
3.1.3	Kultivierung der Zelllinie.....	161
3.1.4	Bestimmung der Zytotoxizität im Mikrotiterassay.....	162
3.2	ORAC-Fluorescein Assay.....	163
3.2.1	Pipettierschema.....	163
3.2.2	Herstellung der Pufferlösungen.....	163
3.2.3	Versuchsdurchführung.....	164
3.2.4	Einstellungen am Fluorometer.....	166
I	Literaturverzeichnis.....	167
J	Anhang.....	178
1	Verwendete Abkürzungen.....	178
2	Publikationsübersicht.....	181

A Einleitung

1 Allgemeines über den Hopfen

Botanische Beschreibung und Anbau

Der Hopfen (*Humulus lupulus L.*) gehört zu der Familie der Hanfgewächse (*Cannabaceae*) und der Ordnung der Nesselgewächse (*Urticales*) an. Es handelt sich um eine diözische (zweihäusige) Staude, es gibt also weibliche und männliche Pflanzen. Nur die weiblichen Pflanzen bilden als Blüten Dolden (siehe Abb. 1), die durch Windbestäubung befruchtet werden.



Abbildung A-1: Weiblicher Hopfen

Der Hopfen wird bis zu 50 Jahre alt, mehrjährig ist aber nur der Wurzelstock, die oberirdischen Teile sind einjährig und sterben im Herbst ab. Im April beginnen die neuen Triebe am Wurzelstock zu sprießen. Ihre nicht selbsttragende Achse schlingt sich linkswindend an anderen Pflanzen bzw. am Aufleitdraht empor. Bis Anfang Juli erreicht die Staude eine Höhe bis zu sieben Metern. Die Blütezeit reicht von Anfang bis Mitte Juli. Die männlichen Blütenstände sind achselständige, lockere, rispenartige, in den letzten Verzweigungen wickelartige Trugdolden. Die weiblichen Blütenstände bestehen aus 60 Einzelblüten. Es handelt sich um dichtblütige Scheinähren, an kurzen Zweigen end- und seitenständig, mit Lupulindrüsen besetzt.

Die Hopfenblätter sind gegenständig (an den weiblichen Blütenzweigen zweizeilig angeordnet), lang gestielt, grobgesägt und rauhaarig. Bei der Ernte im September werden die Pflanzen kurz über dem Boden abgeschnitten. Das Pflücken und Reinigen der Hopfendolden erfolgt maschinell. Die getrockneten Hopfendolden können für den Bierbrauprozess ohne weitere Aufarbeitung verwendet werden.

2 Inhaltsstoffe im Hopfen

Hopfen ist ein wichtiger Aromalieferant für die Bierbrauerei. Die gelbgefärbten Lupulinkörper, enthalten die Bitterstoffe des Hopfens und daneben ätherische Öle, Polyphenole, Proteine etc (s. Tabelle 1):

Tabelle A-1: Inhaltsstoffe getrockneter Dolden [1, 2]

Inhaltsstoffe	Anteil [%]
α -Säuren (Humulone)	2 - 17
β -Säuren (Lupulone)	2 - 10
Ätherische Öle (Terpene)	0,5 - 3
Polyphenole (Naringenine, Chalkone)	3 - 6
Monosaccharide	2
Aminosäuren	0,1
Proteine	15
Lipide	1 - 5
Pektin	2
Asche	10
Wasser	8 - 12
Cellulose, Lignin	40 - 50

Den Bitterstoffen kommt große wirtschaftliche Bedeutung zu. Sie werden in den Klassen der α -Säuren (Humulone, II) und der β -Säuren (Lupulone, III) zusammengefasst. Die zugrundeliegende Basisstruktur ist das Phloroglucin (1,3,5-

Trihydroxybenzol, I), dessen Derivate in zahlreichen Pflanzen nachgewiesen werden konnten [3](siehe Abb. A-2).

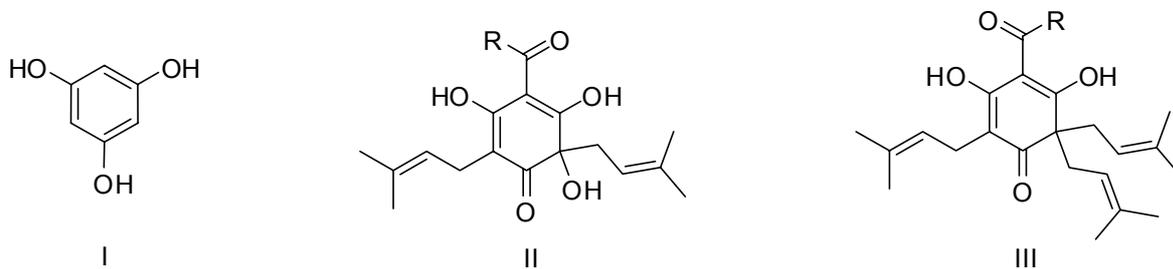


Abbildung A-2: Struktur des Phloroglucins (I) und der Hopfenbitterstoffe [4], R= Alkylrest

Flavonoide sind sehr häufig auftretende sekundäre Pflanzenstoffe, die innerhalb der Gruppe der Polyphenole eine große Strukturvielfalt besitzen. Sie kommen ubiquitär bei höheren Pflanzen vor und fehlen vollständig im gesamten Tierreich sowie bei Bakterien, Pilzen und Algen. Flavonoide bestehen prinzipiell aus zwei aromatischen Kohlenstoffringen (A-Ring und B-Ring) sowie einem heterozyklischen Ring. Der Name leitet sich vom lateinischen flavus = gelb ab und berücksichtigt damit, dass die meisten dieser Substanzen in reiner Form eine gelbliche Farbe haben [5]. Mittlerweile sind laut DGE mehr als 6500 Verbindungen bekannt, die je nach Grundstruktur in verschiedene Gruppen eingeteilt werden.

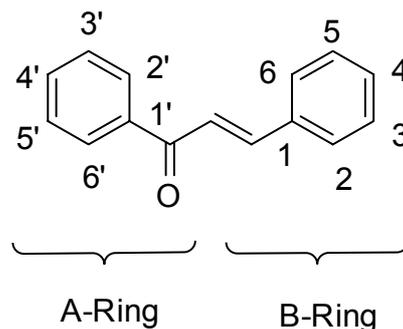


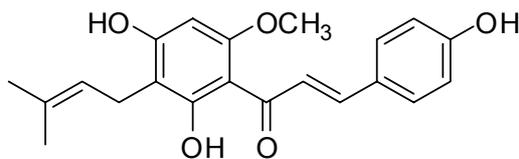
Abbildung A-3: Allgemeine Struktur von Chalkonen

Eine interessante Gruppe der Flavonoide sind die Chalkone, denen der heterozyklische Ring fehlt und deren Grundstruktur in Abbildung A-3 dargestellt ist. Prenylierte Chalkone sind die wesentlichen Bestandteile der phenolischen Fraktion im Hopfen. Der wichtigste Vertreter der prenylierten Chalkone im Hopfen ist das

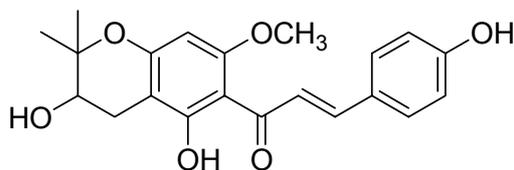
Xanthohumol (2',4',4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalcon), welches zwischen 0,1-1% des Trockengewichtes [5] ausmacht, und bereits 1913 von Powers et al. entdeckt wurde [6]. Seitdem ist es zahlreichen pharmakologischen Tests unterzogen worden.

3 Verschiedene prenylierte Chalkone im Hopfen

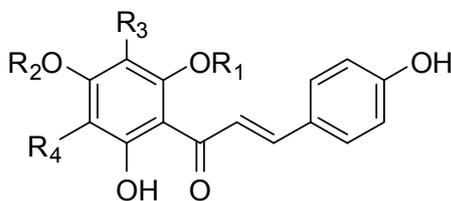
Neben Xanthohumol wurden bisher auch weitere Minorchalkone (siehe Abbildung A-4) in Hopfen gefunden [5, 7, 8]. Für diese Substanzen wurden bisher allerdings nur sehr wenige pharmakologische Tests durchgeführt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Konzentration im Vergleich zu Xanthohumol deutlich geringer ist und sie deshalb viel schwerer zugänglich sind [9]. Ein Teil dieser Minorverbindungen sollten in dieser Arbeit synthetisch hergestellt werden.



Xanthohumol



Xanthohumol B



$R_1, R_2, R_3 = H, R_4 = \text{Prenyl}$

Desmethylxanthohumol

$R_1, R_3 = H, R_2 = \text{Me}, R_4 = \text{Prenyl}$

Xanthogalenol

$R_1, R_2 = \text{Me}, R_3 = H, R_4 = \text{Prenyl}$

4'-O-Methylxanthohumol

$R_1, R_2, R_3 = H, R_4 = \text{Geranyl}$

3'-Geranylchalconaringenin

$R_1, R_2 = H, R_3, R_4 = \text{Prenyl}$

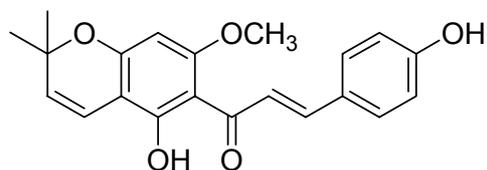
3',5'-Diprenylchalconaringenin

$R_1 = \text{Me}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3, R_4 = \text{Prenyl}$

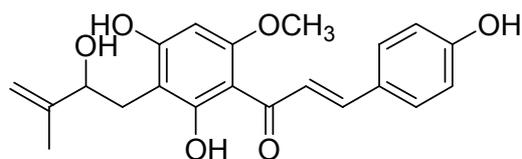
5'-Prenylxanthohumol

$R_1, R_2 = \text{Me}$, $R_3, R_4 = \text{H}$

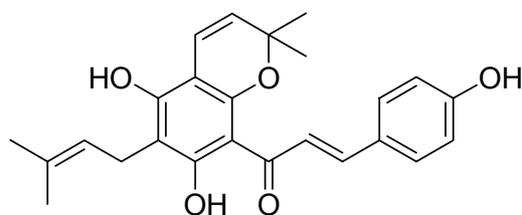
Flavokawin



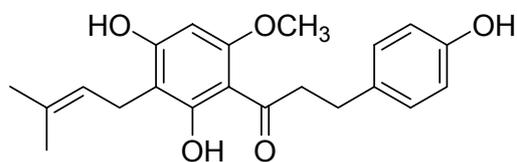
Xanthohumol C



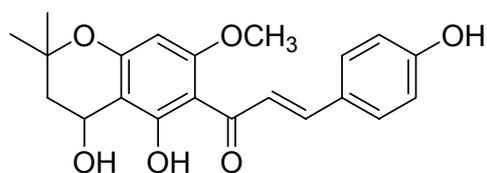
Xanthohumol D



Xanthohumol E



α,β - Dihydroxanthohumol



iso-Dehydrocyloxanthohumol-hydrat

Abbildung A-4: In *Humulus lupulus* identifizierte Chalone

Neue Studien zeigen, dass Flavanone in basischer Lösung und unter Erwärmung aus den Chalkonen durch Zyklisierung entstehen können [10, 11, 83]. Die meisten der isolierten Chalkone besitzen eine freie 2'-Hydroxygruppe und können so zu ihren korrespondierenden Flavanonen isomerisieren (siehe Abbildung A-5).

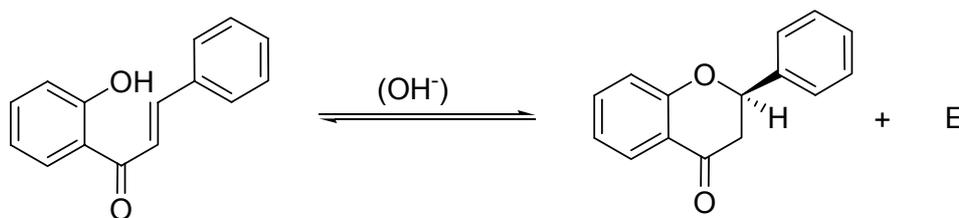


Abbildung A-5: Basenkatalysierte Zyklisierung der Chalkone

Diese Reaktion kann auch für die Synthese von Flavanonen eingesetzt werden [10]. Dabei entsteht ein Produktgemisch beider Enantiomere. Nach dieser Methode stellten Verzele et al. [11] bereits 1957 aus Xanthohumol Isoxanthohumol (4',7-Dihydroxy-5-methoxy-8-(3''-methylbut-2''-enyl)flavanon her.

4 Synthese bisher bekannter prenylierter Chalkone im Hopfen

Zu Beginn dieser Arbeit waren chemische Synthesen in der Literatur bisher nur für nicht-prenylierte Chalkone mit Ausnahme von Desmethylxanthohumol bekannt. Bis dahin mussten alle Verbindungen aus Hopfen isoliert werden. Durch das wachsende Interesse an diesen Verbindungen sind mittlerweile jedoch weitere Synthesen für Xanthohumol von Khupse et al. [13] und Vogel et al. [14], Desmethylxanthohumol von Diller et al. [12] und Xanthohumol C von Lee et al. [15] veröffentlicht worden.

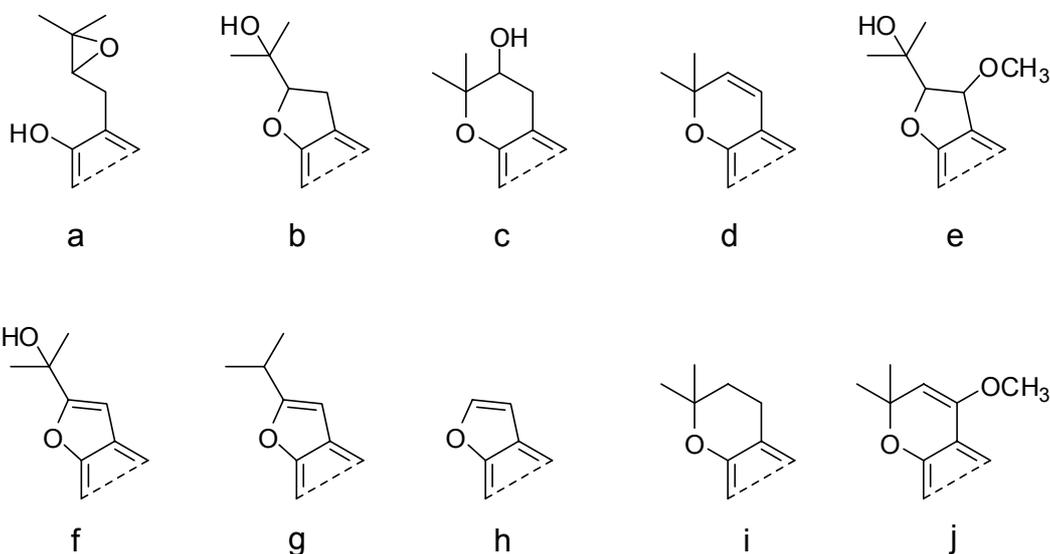
5 Metabolisierung

Der Stoffwechsel oder der Metabolismus steht für die Aufnahme, den Transport und die chemische Umwandlung von Stoffen in einem Organismus sowie die Abgabe von Stoffwechselendprodukten an die Umgebung. Da Xanthohumol das dominierende Chalkon in Hopfen ist, ist es von großem Interesse seine Metabolisierung im menschlichen Körper zu untersuchen. Durch Metabolisierung in Phase I und II könnte es auch zu pharmakologisch aktiven Metaboliten umgewandelt werden, die mit zur Wirkung des Xanthohumols beitragen können. Bis heute ist allerdings noch nicht viel über die genaue Metabolisierung und die biologische Verfügbarkeit von Xanthohumol bekannt. Yilmazer et al. [16, 17] untersuchten 2001 die Metabolisierung

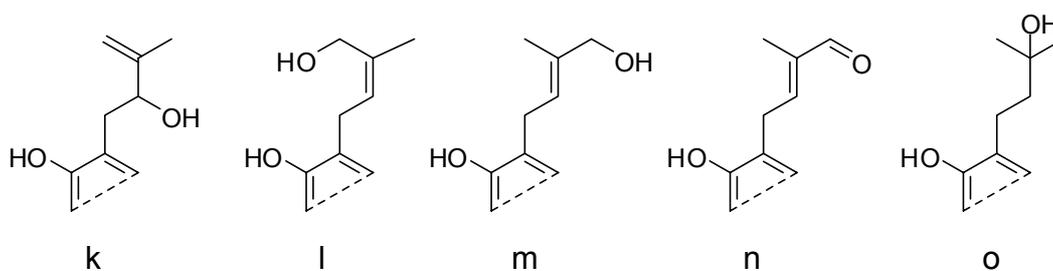
von Xanthohumol in Ratten. Sie identifizierten vier Phase-I-Metaboliten, die sich aus einer Oxidation an der Prenylkette ableiteten und zwei Phase-II-glucuronide.

Die erhaltenen Hauptmetabolite scheinen sich von der Epoxid Zwischenstufe a (siehe Abbildung A-6) abzuleiten, wobei die zyklischen Xanthohumol Derivate b und c durch einen intramolekularen nucleophilen Angriff entstehen könnten. Metabolit d ist das dehydratisierte Produkt von c.

Zyklisierung der Prenylseitenkette mit der Hydroxylgruppe an C-4' bei Xanthohumol-Metaboliten:



Metaboliten des Xanthohumols mit nicht zyklischer, sauerstoffhaltiger Prenylsubstitution:



Zyklisierung der Prenylseitenkette mit dem Sauerstoff an C-2' bei Metaboliten des Xanthohumols:

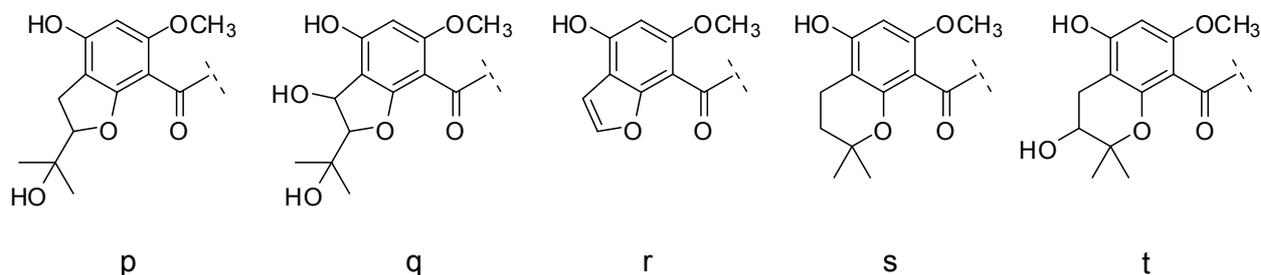


Abbildung A-6: Aus Xanthohumol entstehende Phase I Metaboliten in Ratten und Lebermikrosomen [5, 18, 19]. Die Metaboliten b, d, k und m sind dabei humanen Ursprungs.

Eine detaillierte *in vivo* Studie von Nookandeh et al. [18] identifizierte 22 Metaboliten von Xanthohumol in Rattenkot, zwei davon mit Flavanonstruktur. Die übrigen hatten eine Chalkon-Grundstruktur mit unverändertem oder abgewandeltem Rest (siehe Abb. A-6). Die Modifikation des Prenylsubstituenten durch Hydroxilierung und/oder Zyklisierung kann zur Bildung eines Pyran- oder Furanring mit einer der angrenzenden 2'- oder 4'-Hydroxygruppe führen. Von den gefundenen Metaboliten enthalten acht eine zyklische Prenylsubstitution an der die Hydroxygruppe an C-4' beteiligt ist (b, d, e-j), fünf eine zyklische Prenylsubstitution mit dem Sauerstoff am C-2' als Heteroatom (p-t). Drei Metaboliten besitzen eine nicht geschlossene hydroxylierte Prenylseitenkette (k, l, o). Die verbleibenden Verbindungen wurden als Isoxanthohumol, Isoxanthohumol analog Verbindung o (4',4-Dihydroxy-3'(3''-hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxyflavanon), Xanthohumol-4'-O-glucuronid, Xanthohumol-4-O-methylether, Xanthohumol-4-O-acetat und als α,β -Epoxid von Xanthohumol identifiziert.

Nikolic et al. [19] untersuchten *in vitro* die oxidative Metabolisierung von Xanthohumol in menschlichen Lebermikrosomen. Dabei wurden vier Hauptverbindungen und zwei in geringerem Ausmaß detektiert. Den größeren Anteil bildeten zwei Metabolite mit abgewandelter nicht zyklischer Prenylseitenkette (Verbindung k und m), eine Verbindung mit Benzodihydrofuran-Struktur (Verbindung b) und eine Struktur analog Xanthohumol mit zwei Hydroxygruppen in 3 und 4 Position am B-Ring. Von den zwei Minorkomponenten konnte nur eine identifiziert

werden. Es handelt sich hierbei um eine Benzoisochromen-Struktur (Verbindung d). (siehe Abb. A-6)

6 Biologische Wirkungen

6.1 Medizinische Anwendung im Mittelalter

Neben der Verwendung im Prozess des Bierbrauens als Aromalieferant, wurde schon früh die heilende Wirkung des Hopfens genutzt. Mattioli [20] berichtet von der abführenden, harntreibenden und blutreinigenden Wirkung. Der Verzehr der Hopfenwurzel helfe ferner bei Obstipation [21]. Als Desinfektionsmittel solle man einen wässrigen Hopfenextrakt verwenden, um „Feulung und den Gestank“ zu vertreiben. Bei Blasensteinen lindere hingegen ein Aufguss mit Hopfendolden die Beschwerden.

Im Vordergrund der pharmazeutischen Anwendung steht jedoch die schlaffördernde, sedierende Wirkung, über die schon Paracelsus berichtete [22]. Im Jahr 1913 beschrieb Brown und Clubb [23] zum ersten Mal die antiseptische Wirkung.

6.2 Sedierende Wirkung

Hopfen enthält eine Vielzahl von Aroma- und Bitterstoffen und die sedierende Wirkung wurde in zahlreichen Studien untersucht [24-30]. Das beruhigend wirkende Prinzip ist noch nicht bekannt, vermutet wird aber, dass aus den Bitterstoffen (Humulone und Lupulone) bei längerer Lagerung ein Spaltprodukt entsteht, welches sich im Tierversuch als stark sedativ erwiesen hat [26]. Dafür verantwortlich scheint der Aromastoff 2-Methyl-3-buten-ol (Prenol) zu sein. Eine Sedierung konnte deutlich nachgewiesen werden. Bei Mäusen bewirkte er in einer Dosierung von 0,8 g/kg Körpergewicht intraperitoneal (im Bauchraum) eine acht Stunden andauernde tiefe Narkose, von der sich die Versuchstiere vollständig erholten. 2-Methyl-3-buten-2-ol gleicht in seinem Wirkungsprofil weitgehend dem 3-Methyl-1-pentin-3-ol (Allotropal), das eine ähnliche chemische Struktur aufweist und als Sedativum verwendet wird [24]. Die für das Aroma verantwortlichen Substanzen (α - und β -Linalool) des Hopfens wurde ebenfalls getestet. [26].

6.3 Antibakterielle Wirkung

Die Hopfenbitterstoffe hemmen hauptsächlich gram positive Bakterien, einschließlich einiger Arten von *Bacillus*, *Micococcus*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium* und *Streptomyces* [31]. Teuber und Schmalreck zeigten, dass der lipophile Bereich der Zellmembran die Zielstruktur für die antibakterielle Wirkung darstellt. Die antibiotische Wirkung beruht folglich hauptsächlich auf dem hydrophilen Teil des Moleküls und erhöht sich mit abnehmender Löslichkeit [31, 32].

Mizobuchi und Sato [33] untersuchten die Wirkung von mehreren prenylierten Flavonoiden aus Hopfen, um das Wachstum an Gram-positivem *Staphylococcus aureus*, einem Erreger der häufig bei Lungenentzündung und Sepsis gefunden wurde. Die minimale Hemm-Konzentration (MIC) von Xanthohumol betrug hierbei 17,7µM.

In vivo Untersuchungen der biologischen Wirksamkeit von Xanthohumol in Ratten zeigten, dass Chalkone und ihre Metaboliten nach oraler oder intravenöser Verabreichung innerhalb von 24 Stunden mit dem Kot ausgeschieden werden [18, 34]. Deshalb schien es von Interesse zu untersuchen, ob Xanthohumol einen Einfluss auf die Darmaktivität (Biozönose) hat. Hanske et al. [35] untersuchten die tägliche Verabreichung von Xanthohumol an Ratten über vier Wochen. Es zeigte sich kein Einfluss auf die Darmtätigkeit im Vergleich mit unbehandelten Kontrollen.

6.4 Antivirale Aktivität

Durch Viren verursachte Krankheiten sind eine wachsende weltweite Gesundheitssorge. Die Suche nach neuen antiviralen Molekülen ist aus zwei Gründen bedeutsam:

Zum einen, weil viele bekannte antivirale Wirkstoffe besonders bei längerer Anwendung starke Nebenwirkungen verursachen können. Deshalb wurden Inhaltsstoffe von Nahrungsmitteln untersucht, die schon seit langer Zeit und in großen Mengen konsumiert werden. Xanthohumol als Inhaltsstoff des Hopfens wurde von Buckwold et al. auf sein antivirales Potential getestet [36]. Es war in der Lage, das Wachstum von BVDV (bovine viral diarrhea virus) mit einem IC₅₀-Wert von 1,4 ± 0,6 µg/ml, Rhinovirus mit einem IC₅₀-Wert von 6,5 ± 4,1 µg/ml und Herpes

simplex Typ I (HSV-1, IC_{50} -Wert: $44 \pm 33 \mu\text{g/ml}$) und Typ II (HSV-2, IC_{50} -Wert: $11 \pm 5,6 \mu\text{g/ml}$) zu hemmen. Ein Hopfenextrakt hatte dagegen nur schwache Wirkung. Eine zweite Ursache für die Forschung nach neuen antiviralen Wirkstoffen ist das Auftreten von Viren, die gegen etablierte Arzneimittel resistent geworden sind. Der Krankheitsverlauf der Immunschwächekrankheit AIDS wird zwar durch antivirale Medikamente verzögert, es können jedoch resistente Stämme des Erregers (HIV) entstehen. Die Suche nach neuen antiviralen Molekülen veranlassten Wang et al. Xanthohumol zu testen [37]. Sie stellten in vitro eine signifikante antivirale Wirkung gegenüber verschiedenen Stufen der Replikation von HIV-1 fest. Während der Verdoppelung zerstören viele Viren nicht nur die Zelle, die sie infiziert haben, sondern schaden auch benachbarte nicht infizierte Zellen durch CPE (cytopathic effects). Xanthohumol inhibierte die Bildung von viralem p24 Antigen. Dies ist ein virales Protein, das bei der Proliferation der Retroviren gebildet wird. p24 Antigen dient als spezifischer Nachweis für HIV. Xanthohumol inhibiert ebenfalls die reverse Transkriptase. Dies ist ein Enzym, das die Umschreibung von viraler RNA in DNA katalysiert. Da die reverse Transkriptase für die Vermehrung von Retroviren notwendig ist, wird ihre Aktivität zum Nachweis von Retroviren herangezogen. In C8166 Lymphozyten mit einem EC_{50} -Wert von 1,28 und 0,50 $\mu\text{g/ml}$. Eine Verwendung von Xanthohumol als Leitstruktur für die Entwicklung neuer HIV-Wirkstoffe wurde in Betracht gezogen [37-39, 102, 103]

6.5 Antifungale Wirkung

Untersuchungen auf die antifungale Aktivität von Hopfenverbindungen sind sehr limitiert. Mizobuchi und Sato [33] testeten fünf Hopfenbestandteile (6-Isopentenylnaringenin, Xanthohumol, Isoxanthohumol, 8-Isopentenylnaringenin und Naringenin) und verwandte Verbindungen an fünf für Menschen pathogenen Pilzen *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* und *Mucor rouxianus*. Xanthohumol zeigte eine MIC von 8,8 μM . Es hinderte das Wachstum der dermatophytischen Pilze *T. mentagrophytes* und *T. rubrum* damit effizienter als die Positivkontrolle Griseofulvin (MIC: 17,8 μM).

6.6 Östrogene Wirkung

Erste Hinweise auf eine östrogene Wirkung von Pflanzeninhaltsstoffen lieferten Berichte über die zufällige Beobachtung, dass Schafe durch Aufnahme von Klee unfruchtbar wurden [40]. Auch der Hopfen war schon seit langer Zeit im Verdacht, östrogene Wirkung zu besitzen. Bei Hopfenzupferinnen soll es häufig zu einer Verschiebung der Menstruation gekommen sein [22, 41]. Eine Voraussetzung für eine Beurteilung der Wirkung östrogenen Naturstoffe auf den menschlichen Organismus ist die Kenntnis der grundlegenden hormonellen Wirkmechanismen:

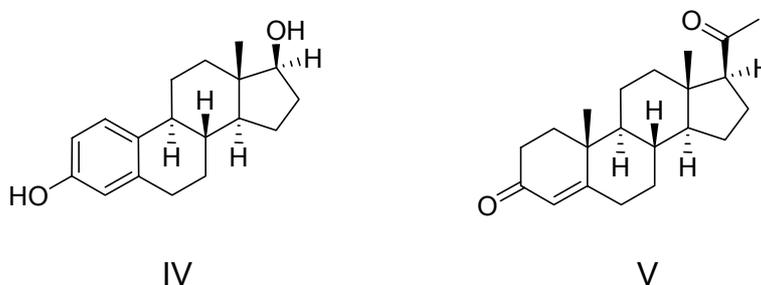


Abbildung A-7:IV: Struktur von Estrogen (β -Estradiol, Estra- 1,3,5-trien-3,17 β -diol)

V: Struktur von Progesteron (Pregn-4-en-3,20-dion)

Das Steroidhormon Estrogen (IV) beeinflusst das Wachstum und die Differenzierung vieler Zelltypen. Eine besondere Wirkung hat es auf die Entwicklung des Uterus, der Vagina und der Ovarien bei der Frau und auf die Prostata und die Testes beim Mann. Es spielt aber auch eine wichtige Rolle im Knochenmetabolismus, im zentralen Nervensystem und im kardiovaskulären System [42].

In Lebensmitteln finden sich Moleküle, die keine Steroidstruktur aufweisen (siehe Abbildung A-7), aber trotzdem eine schwache östrogene Wirkung verursachen. Da sie pflanzlichen Ursprungs sind, werden sie als „Phytoestrogene“ bezeichnet. Auch im Hopfen ist das Vorkommen von Phytoestrogenen nachgewiesen worden. Während De Keukeleire et al. nur mutmaßten, dass Hopfen Phytoestrogene bildet [43, 44], aber keine östrogene Wirkung des Xanthohumols oder des Desmethylxanthohumols nachweisen konnten, gelang Milligan et al. die Entdeckung des östrogen wirksamen 8-Prenylnaringenin [45]. Um 8-Prenylnaringenin in der Hormonersatztherapie einzusetzen, wurde sein Metabolismus untersucht. Dabei wurden zwei Oxidationsprodukte gefunden, die in vitro eine deutliche östrogene

Wirkung aufwiesen [46]. Schäfer et al. bestimmte eine Affinität zu ER α (Estrogen receptor), die nur um den Faktor 70 geringer war als die des Estrogens. Die Bindung an ER β war im Vergleich jedoch 20000-mal geringer. So wurde das erste Phytoestrogen entdeckt, das selektiv an ER α bindet [47]. Xanthohumol und Xanthogalenol zeigten nur sehr schwache oder keine östrogene Aktivität [48]. Neue Studien zeigen, dass 8-Prenylnaringenin ein Artefakt ist, das aus Desmethylxanthohumol hervorgehen kann [5, 8]. Naringenine (Flavanone) entstehen durch Zyklisierung in basischer Lösung und unter Erwärmen direkt aus den Chalkonen, so dass für die Bildung der östrogen wirksamen Substanzen auch die Chalcone verantwortlich sind.

Phytoestrogene können aber auch wirken, ohne an einen Rezeptor zu binden. Sie können als Tyrosinkinaseinhibitoren wirken. Auch eine Wirkung über den Mediator NO ist möglich [49].

6.7 Antikanzerogene Wirkung

Krebserkrankungen sind in der westlichen Welt nach den Herz-Kreislauf-Erkrankungen die häufigste Todesursache, mit mehr als 7 Millionen Todesfällen pro Jahr [50].

Als Ursache für die Entstehung von Krebs werden genetische, aber auch Umweltfaktoren diskutiert. Daneben erhöhen fettreiche Nahrung, ionisierende Strahlung, Tabak- und Alkoholgenuss sowie die langfristige Einnahme von Estrogenen das Krebsrisiko [<http://www.medicine-worldwide.de/krebs/.html>].

Gesunde Zellen befinden sich in einem exakt geregelten homöostatischen Gleichgewicht zwischen Proliferation (Gewebevermehrung), Differenzierung (zelluläre Spezialisierung) und programmierten Zelltod (Apoptose). Dieser Ablauf ist genetisch streng festgelegt. Eine Störung dieses Gleichgewichts durch Fehlregulation der Genaktivität, entstanden durch DNA-Schäden, kann zu unkontrollierter Proliferation führen. Krebs entsteht dann, wenn die in einer Zelle aufgetretenen Mutationen nicht repariert werden und dadurch tumorsupprimierende Effekte verloren gehen. Die Entstehung eines Tumors ist ein mehrstufiger Prozess, der Karzinogenese genannt wird und in drei Phasen unterteilt ist: Initiation, Promotion und Progression.

Dieses Modell der Abfolge von „richtigen“ Prozessereignissen in der „richtigen“ Reihenfolge während seiner Entwicklung ist als Mehrschrittmodell der Karzinogenese bekannt [51].

Ganz allgemein entwickelt sich malignes Gewebe aus einer einzelnen Zelle, welche sich unkontrolliert zu teilen beginnt. Antikanzerogene Moleküle haben die Fähigkeit, die Initiation zu blockieren und/oder die Promotion und Progression zu unterdrücken. Die Blockade der Initiation erfolgt durch Modulation der Enzyme, die im Metabolismus (Phase I) oder der Konjugation (Phase II) von Kanzerogenen involviert sind. In Studien inhibierte Xanthohumol Phase-I-Enzyme und induzierte Chinonreduktase, ein Phase-II-Enzym [50, 52].

Phase-II-Enzyme erleichtern durch Anheftung endogener Verbindungen, wie zum Beispiel Glutathion, Glucuronsäure, Acetat oder Sulfatresten die Ausscheidung von Fremdstoffen und damit die Entgiftung [53]. Es konnte gezeigt werden, dass Xanthohumol auch Phase-II-Enzyme aktiviert. Xanthohumol wurde auch auf seine Wirkung getestet, die Promotion von Tumoren zu inhibieren. Es verringerte die Aktivität der konstitutiven Cyclooxygenase I (Cox-I) und der induzierbaren Cox-II, welche bei der Inflammation (Entzündung) eine entscheidende Rolle spielen, weil sie die Biosynthese von Prostaglandinen katalysieren. Diese haben auch Bedeutung für die unkontrollierte Proliferation in der Promotionsphase der Karzinogenese [50].

Diese unkontrollierte Proliferation nimmt während der Progressionsphase noch zu, die auch durch das Fehlen einer wirksamen Apoptose gekennzeichnet ist. Eine antiproliferative Wirkung des Xanthohumols und weiterer Chalkone und Naringenine konnte in vitro festgestellt werden [54-60]. Weiterhin wurde die Wachstumshemmung in vivo von einem vasculären Tumor berichtet [61].

Vergleichbare Ergebnisse erbrachte eine Studie an menschlichen HL-60 promyelotischen Leukämiezellen [50]. Eine durchflusszytometrische Analyse ergab, dass ein Teil der Leukämiezellen apoptotische Eigenschaften zeigten. Dies ist ein erster Hinweis auf eine apoptotische Wirkung von Xanthohumol bei Krebszellen [62, 63].

Es bleibt festzustellen, dass Xanthohumol und vermutlich auch andere Hopfeninhaltsstoffe auf alle drei Phasen der Karzinogenese inhibierend wirken und folglich ein breites Wirkungsspektrum besitzen. Aufgrund der oben genannten in vitro

Ergebnisse ist ganz besonders die chemopräventive Wirkung des Xanthohumols in den Mittelpunkt des Interesses gerückt.

6.8 Antioxidative Wirkung

Neben den antikanzerogenen Eigenschaften wurden Xanthohumol und einige weitere prenylierte Chalkone auch auf ihre antioxidativen Eigenschaften untersucht [64]. Reaktive Sauerstoffspezies schädigen die Zellstruktur, indem sie zelleigene Strukturen wie Lipide, Proteine und DNA oxidieren. Aus diesem Grund werden sie als Mitverursacher einer Reihe von Krankheiten einschließlich Krebs und Arteriosklerose angesehen. Außerdem spielen sie eine wichtige Rolle im Alterungsprozess.

Deshalb ist das öffentliche Interesse an der Gewinnung neuer Antioxidantien sehr groß. Es wurde nachgewiesen, dass Xanthohumol reaktive Sauerstoff-Spezies einschließlich Hydroxyl- und Peroxyl-Radikale abfangen kann. Außerdem wird die Produktion von schädlichen Superoxid-Anion-Radikalen, die durch eine Xanthinoxidase erzeugt werden, gehindert, ohne direkt die Xanthinoxidase zu beeinflussen [65]. Weiterhin hemmt Xanthohumol die Superoxid-Anion-Radikalbildung durch die Stimulierung mit 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat an verschiedenen HL-60 promyelotischen Leukämiezellen mit einem IC_{50} -Wert von 2,6 μ M.

6.9 Antiprotozoale Wirkung

Malaria ist eine durch Infektion mit *Plasmodium falciparum* verursachte oft tödliche Erkrankung, mit mehr als 280 Millionen infizierten Menschen weltweit und jährlich mehr als 1 Million Todesfällen. Das meist verwendete Medikament zur Therapie und Vorbeugung der Malaria ist Chloroquin. Chloroquin hemmt die Kristallisierung von Hämozoin, einem Abbauprodukt des Häms. Hämozoin entsteht, wenn der Malariaerreger das Hämoglobin in infizierten roten Blutkörperchen abbaut, um daraus Proteine für seinen eigenen Stoffwechsel zu gewinnen. Kann das Hämozoin nicht mehr kristallisiert werden, führt dies zum Absterben des Parasiten. Das Auftreten von Medikament-resistenten Stämmen schränkt jedoch die Wirkungsweise ein, so dass ein dringender Bedarf an neuen wirksamen und kostengünstigen

Hemmstoffen besteht. Ein Mechanismus die Blutstadien von *P. falciparum* zu eliminieren beinhaltet Schritte der Entgiftung von Haemin, einem Nebenprodukt der parasitären Verdauung von Haemoglobin [66]. Die Erreger bauen Haemoglobin durch Aspartyl- und Cysteinproteasen ab. Diese dienen als therapeutisches Target und liefern einen Angriffspunkt für die Entwicklung von Verbindungen gegen diese Krankheit [57]. Chalkone sind unter den strukturellen Klassen für die eine antiplasmodiale Aktivität berichtet wird und wirken gegen die Cysteinproteasen von mit Plasmodien infizierten Zellen [67, 68]. Herath et al. [69] untersuchte die antiplasmodiale Aktivität von Xanthohumol an einem Chloroquin-empfindlichen Stamm D6 und an dem Chloroquin-resistenten Stamm W2. Die plasmodiale Lactat-Dehydrogenase Aktivität wurde als Indikator für die Anzahl der Parasiten, welche sich in den infizierten roten Blutzellen befinden gemessen. Xanthohumol zeigte an beiden Stämmen eine signifikante Aktivität (IC₅₀-Wert bei D6: 9,3 µM; IC₅₀-Wert bei W2: 2,8 µM).

Fröhlich et al. [9] untersuchten in vitro die antiplasmodiale Wirkung von Xanthohumol und sieben weiteren prenylierten Chalkonen an einem Chloroquin-empfindlichen Stamm poW und an einem multiresistenten Klon Dd2 mit Hilfe eines [³H]-Hypoxanthin-Aufnahme-Assays. Außerdem wurde der Einfluss der Verbindungen auf den Glutathion (GSH)-abhängigen Haeminabbau analysiert, um die Mitwirkung des antiplasmodialen Effekts der Chalkone zu ermitteln. Von den acht getesteten Substanzen, zeigten vier eine Wirkung mit einem IC₅₀-Wert kleiner 25 µM an wenigstens einem der beiden Stämme von *Plasmodium falciparum*. Xanthohumol erwies sich als aktivste Verbindung mit IC₅₀-Werten von 8,2 ± 0,3 µM (poW) und 24,0 ± 0,8 µM (Dd2). Drei der Verbindungen (Xanthohumol, 2',4,4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'(3-methylbutyl)chalkon und 2'',2''-Dimethyl-3'',4''-dihydro-(2H)-pyrano-[2'',3'':3',4']-2',4-dihydroxy-6'-methoxy-chalkon) waren nebenbei wirksam im Haeminabbautest. Der genaue Wirkmechanismus der Chalkone auf Plasmodien ist nicht bekannt, obwohl sie meistens als Cystein-Proteasehemmer in Betracht kommen. Die Ergebnisse zeigen zum ersten Mal die Fähigkeit von Chalkonderivaten in den Haeminabbauprozess von *Plasmodium falciparum* einzugreifen. Dieser Effekt könnte zu ihrer Aktivität an Plasmodien beitragen.

B Aufgabenstellung

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, liegen zahlreiche Publikationen über die pharmakologische Wirkung des Hopfens vor. Zahlreiche dieser Wirkungen werden auf die biologische Aktivität des Xanthohumols zurückgeführt, da diese Verbindung unter den prenylierten Chalkone quantitativ dominiert (etwa 90% der Chalkonfraktion). Die bereits verfügbaren pharmakologischen Daten für Xanthohumol, insbesondere seine viel versprechenden Eigenschaften in den unterschiedlichen biologischen Test wecken das Interesse an der Gewinnung und Testung weiterer, mit dem Xanthohumol strukturell verwandter Prenylchalkone. Trotz seiner guten Isolierbarkeit ist je nach Reinheit auch der Preis für Xanthohumol recht hoch (>> 1000 Euro/g) und es war zu Beginn der vorliegenden Arbeit trotz steigenden Bedarfs im Rahmen von in vivo Tests noch keine Synthese für diese Verbindung publiziert.

Das erste Ziel dieser Arbeit bestand in der Etablierung einer universellen, nachhaltigen und möglichst einfachen chemischen Synthese des Xanthohumols und möglichst vieler Sekundärstoffmetabolite aus der Fraktion prenylierter Chalkone im Hopfen. Diese Verbindungen sind pharmakologisch noch vollkommen unzureichend charakterisiert, da sie nur in niedrigen Konzentrationen im Hopfen vorkommen und für in vitro oder in vivo Tests nicht annähernd genügend Material isoliert werden kann.

Um die pharmakologischen Wirkungen der Chalkone untersuchen zu können, müssen diese aber in hochreiner Form gewonnen werden. Aus Pflanzen sind Naturstoffe zwar in Reinform isolierbar. Da diese jedoch oft nur in Spuren enthalten sind, müssen große Mengen an Pflanzenrohmaterial extrahiert werden, um ausreichende Mengen für in vitro und in vivo Tests gewinnen zu können. Die Synthese der Naturstoffe löst dieses Mengenproblem. Syntheseprodukte sind in nahezu beliebigen Mengen herstellbar. Außerdem erfüllen die Syntheseprodukte höchste Reinheitsanforderungen.

Das zweite Ziel der Arbeit bestand darin über das zu etablierende universale Syntheseregime auch nicht natürliche Abkömmlinge des Xanthohumols herzustellen, um in einem größeren Satz von Verbindungen auch Beziehungen zwischen Struktur und Aktivität ermitteln zu können. Es sollen einige Variationen an den einzelnen Ringbausteinen durchgeführt werden. Am B-Ring des Chalkons ist eine Veränderung

der Anzahl der Hydroxygruppen und ihrer jeweilige Position geplant. Außerdem sollen die Auswirkungen der Einführung oder Verschiebung von Methoxygruppe am A-Ring und auch am B-Ring untersucht werden. Ebenfalls interessante Möglichkeiten der Strukturvariation bietet die Prenylgruppe des Xanthohumols. Diese soll durch einen Ringschluss oder Hydroxylierung in die Struktur einiger bekannter Metabolite überführt werden. Durch eine mehrfache Einführung der Prenylkette oder Anbringung in einer anderen Position könnten bereits bekannte Minorverbindungen aus Hopfen, als auch nicht natürliche Derivate synthetisiert werden.

Das dritte Ziel der Arbeit besteht in der Synthese von Xanthohumol Metaboliten. Diese Verbindungen sind zwar in verschiedenen Modellen bereits detektiert und in ihrer Struktur bestimmt worden, aber pharmakologische Daten existieren hier gar nicht. Ihr limitiertes Vorkommen im Plasma, Urin oder Kot lässt manchmal sogar die vollständige Strukturbestimmung nicht zu [18].

Im letzten Schritt sollen alle hergestellten Verbindungen auf ihre pharmakologische Wirkung untersucht werden. Die Substanzen sollen dazu an einer Gebärmutterhalskarzinomzelllinie (HeLa) auf ihre zytotoxische Wirkung getestet werden. Dies wird mit dem von Mosman et al. [101] etablierten Zelltest unter Verwendung von MTT durchgeführt.

Darüber hinaus soll die Charakterisierung der pharmakologischen Eigenschaften durch die Bestimmung der antioxidativen Aktivität weiter ergänzt werden. Die antioxidative Wirkung wird in einem ORAC-Fluorescein-Assay nach Davalos et al. [116] in einer 96-Loch Mikrotiterplatte durchgeführt. In diesem Assay wird die Fluoreszenz des Fluorophors im zeitlichen Verlauf und die Beeinflussung durch das Antioxidanz detektiert.

C Synthese der Testverbindungen

1 Übersicht zur Synthesestrategie von Xanthohumol

Die prenylierten Chalkone sind die Hauptkomponenten in der phenolischen Fraktion im Hopfen. Der wichtigste Vertreter dieser Substanzklasse im Hopfen ist das Xanthohumol. Die Beschaffung größerer Mengen Xanthohumol, wie sie für die pharmakologischen in-vivo Tests benötigt werden, ist allerdings über die Isolierung aus Hopfen aufwändig und sehr teuer. Durch die chemische Synthese könnte der Naturstoff in ausreichenden Mengen für pharmakologische Tests und in hochreiner Form hergestellt werden. Da bisher nur Xanthohumol umfassend auf seine pharmakologischen Eigenschaften untersucht wurde und die Ergebnisse in der Literatur sehr viel versprechend ausfielen [50, 54-63], wurde es als Ausgangsstoff und Leitstruktur für die Synthese ausgewählt. Durch diese Synthese bieten sich dann interessante Möglichkeiten zur weiteren Strukturvariation am prenylierten Chalkonskelett. Ziel war es weitere Minorkomponenten aus Hopfen und Derivate natürlich vorkommender oder synthetischer, prenylierter Chalkone sowie Phase-I-Metabolite des Xanthohumols unter Etablierung einer möglichst universal anwendbaren Synthesestrategie zu erzeugen.

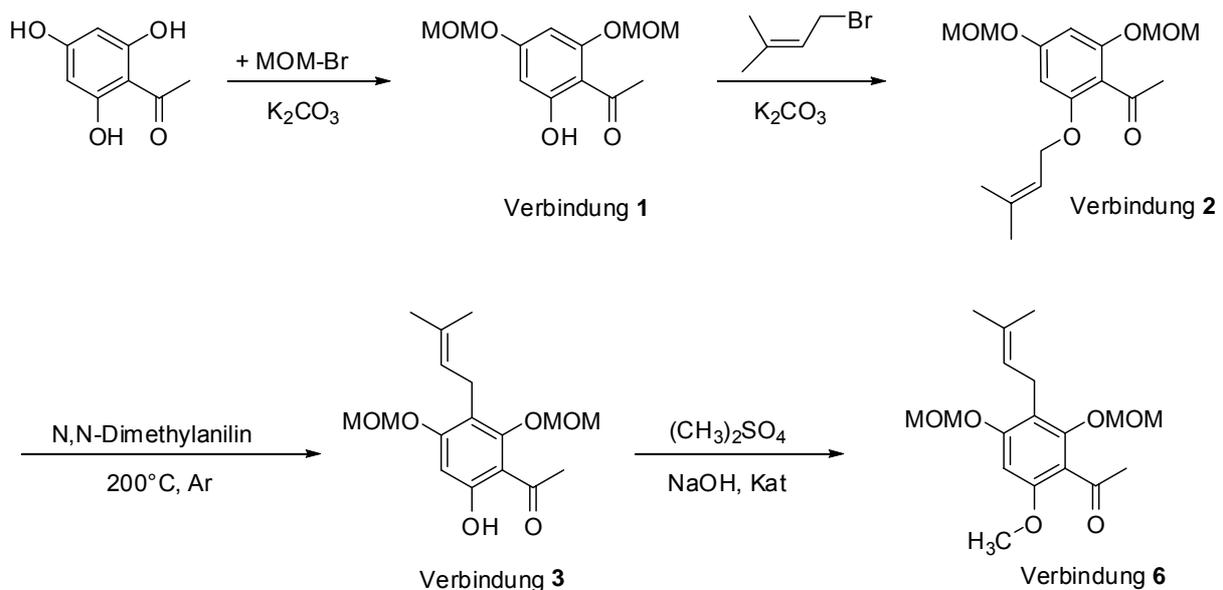


Abbildung C-1: Übersicht zur A-Ring Synthese

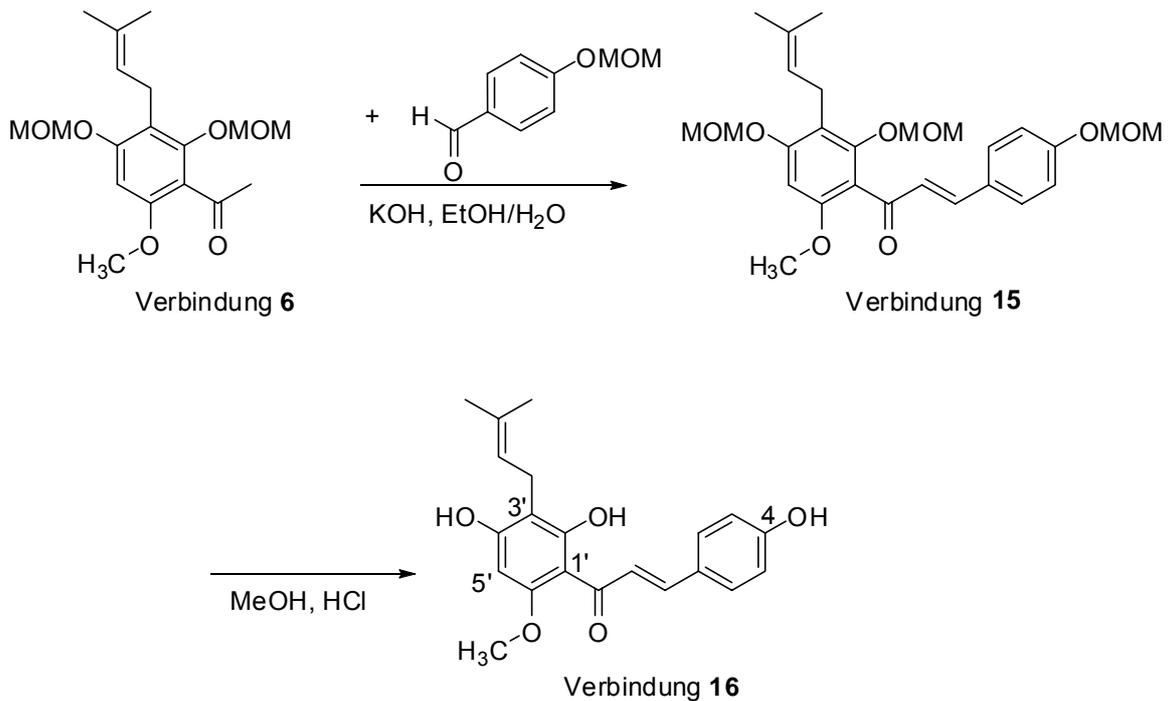


Abbildung C-2: Basenkatalysierte Aldolkupplung und Entschützung von Xanthohumol.

2 Herstellung des A-Ringes

2.1 Schützen der Hydroxygruppen

In der Literatur findet man häufig MEM (Methoxy-ethoxy-methyl-ether) als Schutzgruppe für Chalkone [70]. Es zeigt sich jedoch, dass die MEM-Schutzgruppe mit den NMR-Signalen der Prenylseitenkette überlagernde Signale liefert. Um die Strukturaufklärung zu erleichtern, wird daher der chemisch ähnlich reaktive Brommethylmethylether gewählt. Der erste Schritt der Synthese ist die Maskierung der OH-Gruppen durch eine Methoxymethyl-Schutzgruppe (MOM) [71].

Ein Vorteil der Protektion der Hydroxygruppen ist, dass eine Zyklisierung des Chalkongerüsts zum Flavanon während der Reaktionssequenz verhindert wird (vgl. Kapitel A). Ein weiterer Grund der für die Verwendung von Schutzgruppen spricht, ist die Erleichterung der später folgenden Aldol-Kondensation. Die freien OH-Gruppen würden die negative Ladungsdichte des Enolations verringern. Diese negative Ladung kann mesomer das phenolische System stabilisieren, was die Reaktivität

deutlich senken würde. Dies wird auch von experimentellen Beobachtungen unterstützt.

Die MOM-Schutzung ist eine nucleophile Substitution, die unter basischen Bedingungen durchgeführt wird. Die Umsetzung von 2,4,6-Trihydroxyacetophenon-Monohydrat mit Brommethylmethylether und Kaliumcarbonat in Aceton ergibt Verbindung 1.

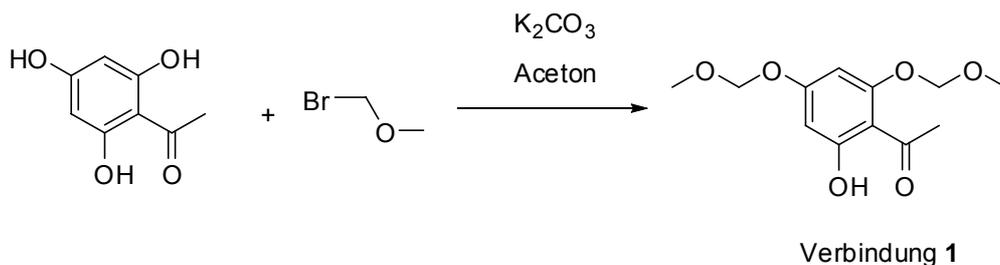


Abbildung C-3: Schutz der Hydroxygruppen des 2,4,6-Trihydroxyacetophenon

Diese Art von Schutzgruppe eignet sich gut für die Chalkon-Synthese [72, 73], da sie unter allen in der Synthese verwendeten Reaktionsbedingungen stabil ist und am Ende der Synthese leicht durch Erhitzen in MeOH/HCl abgespalten werden kann.

2.2 Einführung der Prenylseitenkette

Die Prenylseitenkette wird durch nucleophile Substitution mit der freien Hydroxygruppe zu einem Ether umgesetzt, wobei 3,3-Dimethylallylbromid als Nucleophil verwendet wird (siehe Abbildung C-4). Die basische Reaktionsmischung wird 24 Stunden unter Rühren mit Kaliumcarbonat in Aceton refluxiert [74-77]. Im ^1H -Spektrum zeigt ein Dublett bei 4,49 ppm, ein weiter aufgespaltenes Triplet bei 5,40 ppm und jeweils ein Singulett bei 1,71 und 1,75 ppm der beiden Methylgruppen die Einführung der Prenylseitenkette. Verbindung 2 entsteht in sehr guten Ausbeuten von 96%.

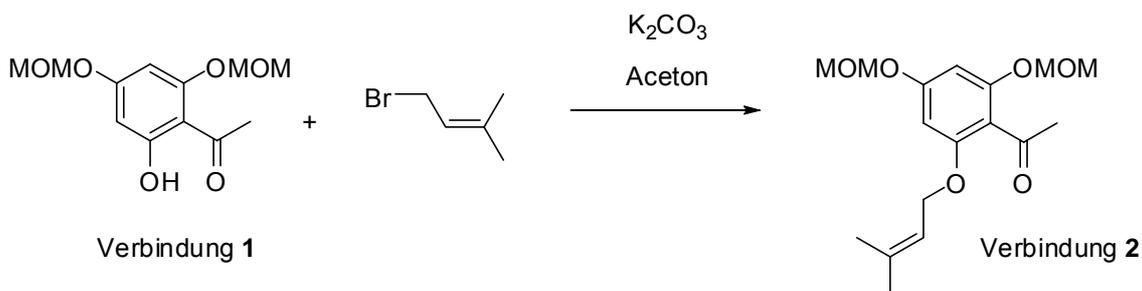


Abbildung C-4: Einführung der Prenylseitenkette bei Verbindung 1

2.3 Umlagerung der Prenylseitenkette

Die Prenylkette wird durch eine thermische Claisen-Umlagerung des Ethers in N,N-Dimethylanilin bei 200 °C in die 3'-Position (para) überführt (siehe Abbildung C-5). Diese thermische Umlagerung ist der Ausbeute-limitierende Schritt mit einer maximalen Ausbeute von 41%.

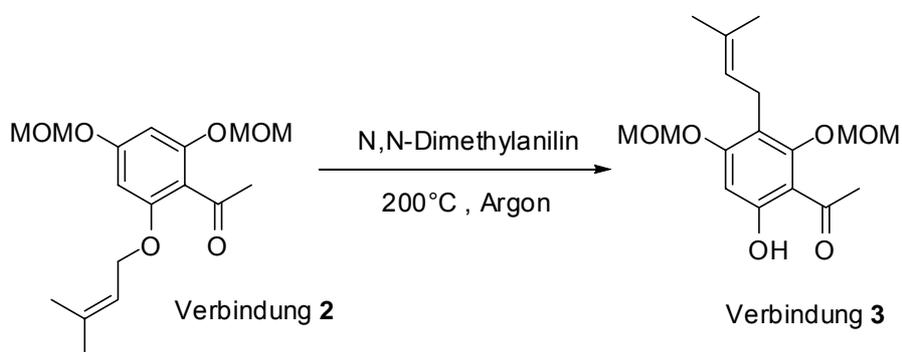


Abbildung C-5: Thermische Umlagerung der Prenylkette in die para-Position

Im $^1\text{H-NMR}$ lässt sich bei Verbindung 3 für die Prenylgruppe nun ein Dublett bei 3,30 ppm der CH_2 -Gruppe zuordnen. Das Auftreten eines Singuletts bei 6,47 ppm anstelle von zwei Dubletts mit einer Kopplungskonstante von 1,9 Hz im Bereich von 6,31-6,43 ppm zeigt ebenfalls die Umlagerung direkt an den aromatischen Ring.

Die direkte Prenylierung am aromatischen Ring, wie von Diller et al. [12] beschrieben liefert keine brauchbaren Ergebnisse. Es wird sowohl das geschützte, als auch das ungeschützte Trihydroxyacetophenon, in basischer, wässriger Lösung bei 0°C mit Dimethylallylbromid umgesetzt. Bei der direkten Umsetzung mit Verbindung 1 in

Methanol und KOH entstehen sehr viele Nebenprodukte, bei denen die Seitenkette mehrfach und in unterschiedlichen Positionen am Aromaten vorhanden sein kann. Als Hauptprodukt entsteht Verbindung **4**, an der die Prenylierung einmal am Ring in 3'-Position erfolgt und gleichzeitig ein Ether mit dem Sauerstoff in 6'-Position entsteht. Die maximale Ausbeute des ausschließlich einfach C-prenylierten Produkts beträgt 33%.

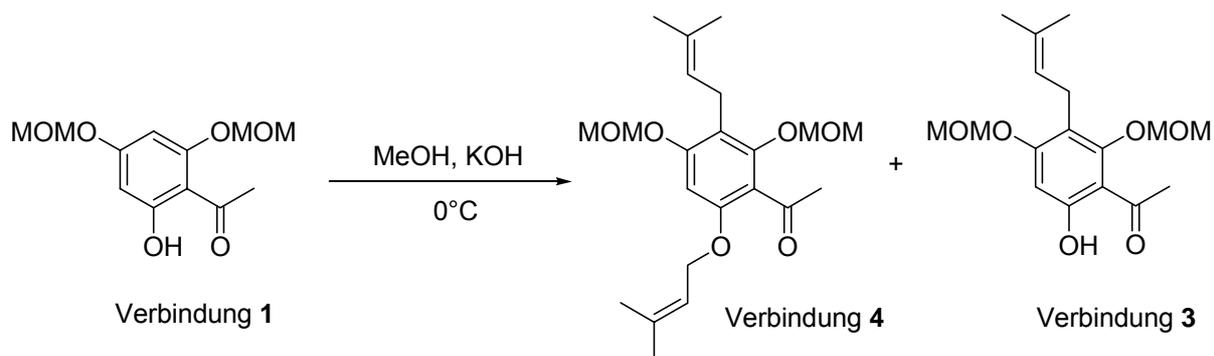


Abbildung C-6: Direkte Prenylierung von Verbindung **1** (nach Diller et al. [12])

Die Reaktion des ungeschützten Edukts [78-80] liefert ebenfalls keine reproduzierbaren Daten. Die Entstehung von Kristallen der Verbindung **5**, erfolgt in sehr schlechter Ausbeute und kann nicht in jedem Versuch reproduziert werden.

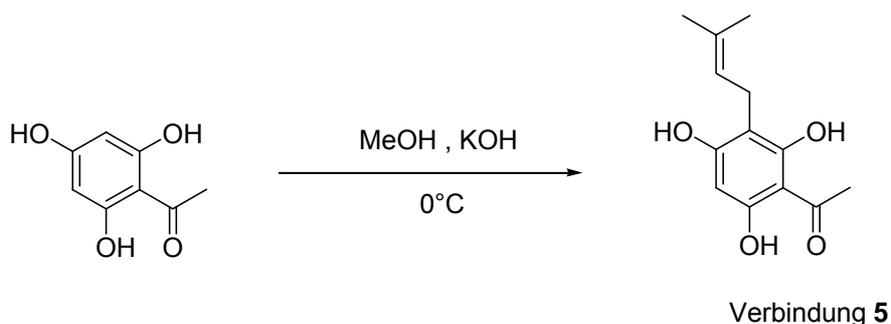


Abbildung C-7: Direkte Prenylierung von 2,4,6-Trihydroxyacetophenon (nach Diller et al. [12])

Des Weiteren wird die Umlagerung der Seitenkette von Verbindung **4** untersucht. Pisco et al. stellten eine Temperaturabhängigkeit der Umlagerung fest. Bei höheren Temperaturen (216°C) lagerte sich die Prenylkette in die para-Position um (Claisen-

Cope-Umlagerung), bei etwas niedrigeren Temperaturen von 180°C fand eine Umlagerung in die ortho-Position (Claisen Umlagerung) statt [81].

Bei der thermischen Umlagerung mit freier para-Position erhält man sowohl bei einer Reaktionstemperatur von 180°C als auch bei 210°C und 160°C ausschließlich das para-Produkt (Verbindung **3**). Ein Umlagerungsprodukt mit der Prenylkette in ortho-Position war auch bei unterschiedlichen Reaktionstemperaturen nicht zu isolieren. Es kann außerdem keine temperaturgebundene Veränderung der Ausbeute festgestellt werden.

Dies lässt sich eventuell damit begründen, dass der aromatische Ring zu hoch substituiert ist, so dass der 6-gliedrige Übergangszustand der [3,3]-sigmatropen Claisen-Umlagerung aus sterischen Gründen nicht gebildet werden kann.

2.4 Methoxylierung

Die Einführung der Methoxygruppe in die 6'-Position erfolgt mit Dimethylsulfat unter Phasentransferkatalyse mit Tetrabutylammonium-iodid in einem Gemisch aus Methylenchlorid und Wasser (v/v 3:2) bei Raumtemperatur.

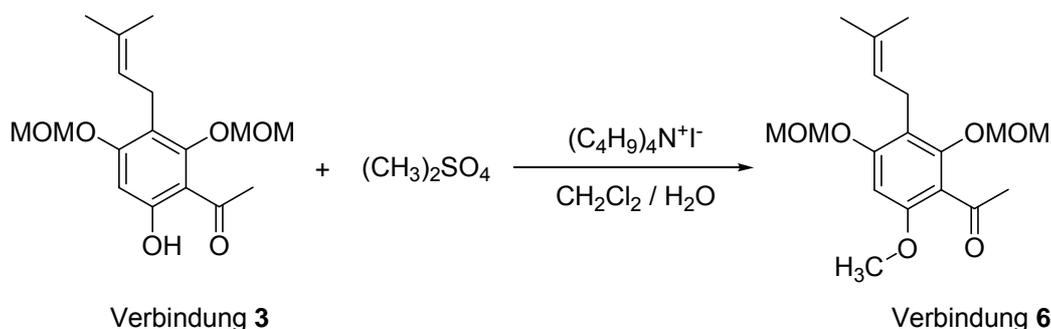


Abbildung C-8: Methoxylierung der freien Hydroxygruppe

Es wird außerdem die nucleophile Substitution mit Jodmethan als Alkylierungsmittel durchgeführt. Dabei wird Verbindung **3** mit Kaliumcarbonat in Aceton für 24 Stunden unter Rückfluss gerührt [82-85].

Die Methylierung der wieder frei gewordene ortho-Hydroxygruppe erfolgt mit Jodmethan jedoch nicht in zufriedenstellenden Ausbeuten. Ein Grund dafür könnte

die mesomere Wechselwirkung der 6'-Hydroxygruppe mit der Carbonylfunktion sein. Deren Elektronendichte wird verringert und dadurch die Nucleophilie vermindert.

Die Anwendung der Phasentransferkatalyse zeigt bei weitem bessere Ergebnisse und wird daher für alle weiteren Versuche verwendet. Das so erhaltene Produkt dient als erster Baustein für die folgende Claisen-Schmidt Kondensation.

Im Protonenspektrum lässt sich für Verbindung **6** die Methoxygruppe gut durch ein Singulett bei 3,79 ppm erkennen. Das Fehlen des etwas breiteren Singulett-OH-Signals bei 12,94 ppm bestätigt zudem die Entstehung einer Methoxygruppe. Dieser letzte Schritt in der A-Ring-Synthese ist außerdem für die folgenden Schritte der Synthese von Vorteil. Denn freie Hydroxy-Gruppen können die nachfolgende Aldol-Kupplung stören, da durch die Reaktion des Alkohols mit dem Aldehyd ein Halbacetal entstehen kann. So können Nebenreaktionen bei der nachfolgenden Aldol-Kupplung vermieden werden.

Es wird außerdem überprüft, ob eine Einführung einer Methoxygruppe auch an einer anderen Stelle der Synthese möglich ist. Dazu wird die Methylierung direkt nach der Schützung durchgeführt. So entsteht Verbindung **7**, an der die Seitenkette erst anschließend angebracht werden soll. Eine direkte Prenylierung ist jedoch nicht möglich. Dies bedeutet, dass eine freie OH-Gruppe für die Prenylierung gebraucht wird.

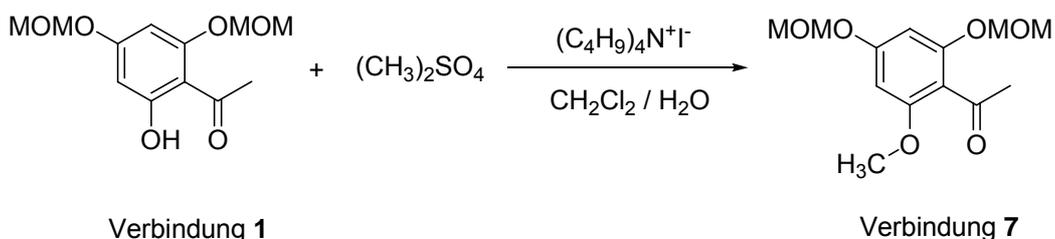


Abbildung C-9: Methoxylierung der freien Hydroxygruppe

3 Schützung der entsprechenden Benzaldehyde

Die Protektion der hydroxylierten Benzaldehydderivate erfolgt mit einer MOM-Schutzgruppe. (vgl. Kapitel 2.2). Die MOM-Schützung ist eine nucleophile

Substitution, die unter basischen Bedingungen mit Kaliumcarbonat in Aceton 3 Stunden unter Rückfluss durchgeführt wird [86].

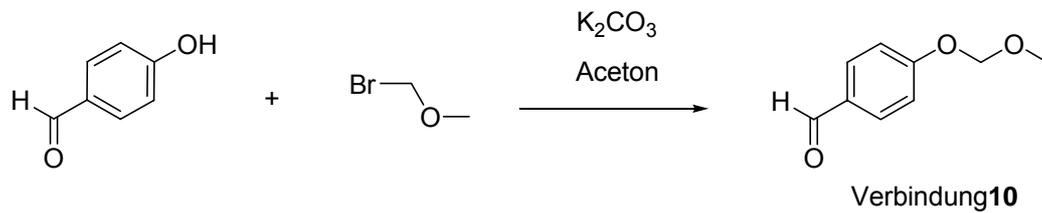


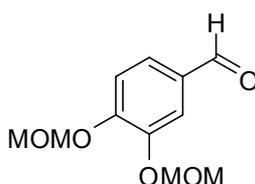
Abbildung C-10: MOM-Schützung der hydroxylierten Benzaldehyd-derivate am Beispiel des 4-Hydroxybenzaldehyds

Es wird jeweils der entsprechende Mono-, Di-, oder Trihydroxybenzaldehyd mit der entsprechenden Menge an Äquivalenten Brommethylmethylether im basischen Milieu umgesetzt.

Tabelle C-1: Geschützte Benzaldehyde für die Aldolkupplung

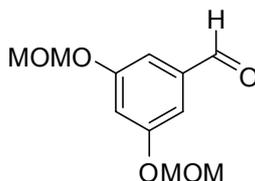
Name	Struktur	Verbindung
2-(Methoxymethoxy)-benzaldehyd		8
3-(Methoxymethoxy)-benzaldehyd		9
4-(Methoxymethoxy)-benzaldehyd		10

3,4-Di-(methoxymethoxy)-
benzaldehyd



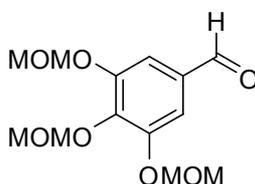
11

3,5-Di-(methoxymethoxy)-
benzaldehyd



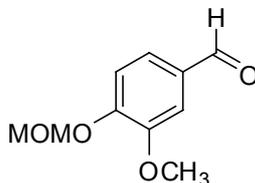
12

3,4,5-Tri-(methoxymethoxy)-
benzaldehyd



13

3-Methoxy-4-
(methoxymethoxy)-benzaldehyd



14

Die Hydroxygruppen der entsprechenden Benzaldehyde müssen maskiert werden, da das im basischen Milieu entstehende Phenolat die positive Partialladung der Carbonylgruppe verringern würde. Der nucleophile Angriff des Enolats würde aufgrund dessen erschwert werden.

4 Basenkatalysierte Aldol-Kupplung

Ein Syntheseweg für die Darstellung der Struktur von Chalkonen basiert auf der basenkatalysierten Claisen-Kondensation eines Benzaldehyds mit einem

entsprechenden Acetophenon. Dieser Weg wurde in der Vergangenheit von zahlreichen Autoren beschrieben. [74-76, 87-91]

Die Bezeichnung Aldol ist eine Abkürzung für ALDehydalkohOL und zeigt die Doppelfunktion solcher Verbindungen an. Unter sauren wie unter basischen Bedingungen kann die β -Hydroxycarbonyl-Verbindung unter Verlust von Wasser zu einer α,β -ungesättigten Carbonyl-Verbindung weiterreagieren.

Der Mechanismus der basenkatalysierten Aldolreaktion wird wie folgt beschrieben: Das Hydroxidion spaltet das durch den -I-Effekt der Carbonyl-Gruppe aktivierte Wasserstoffatom der Methylgruppe ab. Es entsteht ein durch Mesomerie stabilisiertes Carbanion, welches mit dem einsamen Elektronenpaar an das positiviert C-Atom eines anderen Carbonylmoleküls addiert. Dadurch entsteht als Vorstufe ein Aldolanion, welches als starke Base durch das Wasser zum Aldol protoniert wird.

Die basische Eliminierung verläuft nach einem so genannten E1cB-Mechanismus (elimination, unimolecular, conjugated base). Er stellt die Umkehrung des E1-Mechanismus dar; bei E1cB kommt es zuerst zur Abspaltung des Protons unter Carbanion-Bildung und dann zur Abspaltung der schlechten Abgangsgruppe. Voraussetzung für den relativ selten vorkommenden E1cB-Mechanismus sind eine schlechte Abgangsgruppe und ein leicht abzuspaltendes (also acides) Proton. Die Reaktion wird durch einen nucleophilen Angriff des Enolations eingeleitet. Die Bildung des Enolations ist im basischen Milieu stark begünstigt. [92].

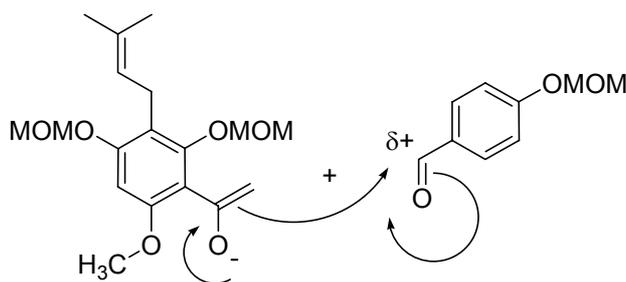


Abbildung C-11: Nucleophiler Angriff im Rahmen der durchgeführten Aldolkupplung

Die Aldol-Kondensation des geschützten A-Ringes mit dem ebenfalls MOM-geschützten Benzaldehydderivat erfolgt unter basischen Bedingungen. Bei dieser Kupplungsreaktion werden die beiden Reaktionspartner in Ethanol gelöst und nach

Zugabe von 50%iger Kaliumhydroxidlösung erst 1 Stunde im Eisbad dann für 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt.

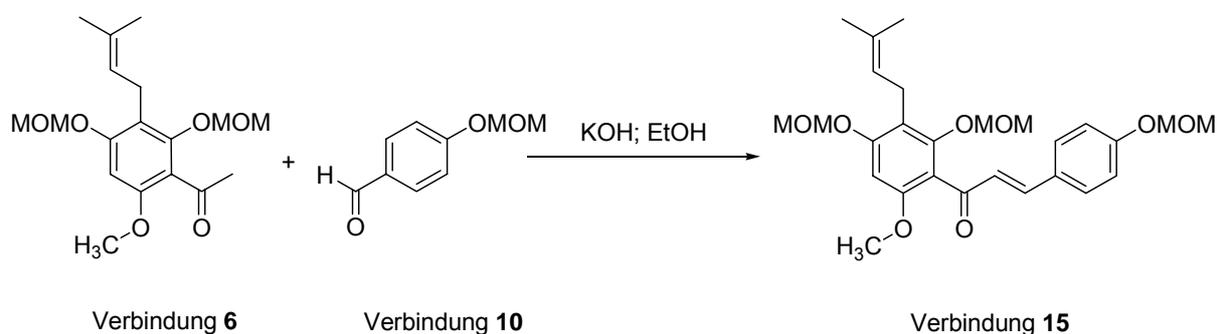


Abbildung C-12: Basenkatalysierte Aldol-Kupplung zum geschützten Chalkon

Im $^1\text{H-NMR}$ lassen sich nun meist zwei Dubletts im Bereich von 7-8 ppm mit einer Kopplungskonstante von ca. 16 Hz den Protonen der neu entstandenen Doppelbindung (H- α und H- β) zuordnen. Manchmal entsteht jedoch ein Spektrum höherer Ordnung und die Aufspaltung zum Dublett geht verloren (siehe Verbindung **54** und **66**).

Da die gesamte Aldolreaktion eine reine Gleichgewichtsreaktion ist, hängen die Ausbeuten der Produkte stark von den Reaktionsbedingungen (z.B. pH-Wert) ab.

5 Entschützung

Der letzte Schritt zur Vervollständigung der Synthese ist die Abspaltung der Schutzgruppen [74-76, 91]. Zum Entfernen der Schutzgruppen wird das erhaltene vollständig geschützte Chalkon in siedendem Methanol gelöst. Dann wird 3 N HCl im Verhältnis 5:1 zugegeben und die Reaktionsmischung wird 20 Minuten unter Rückfluss gerührt.

Die Aufreinigung zur reinen Endverbindung erfolgte durch Säulenchromatographie.

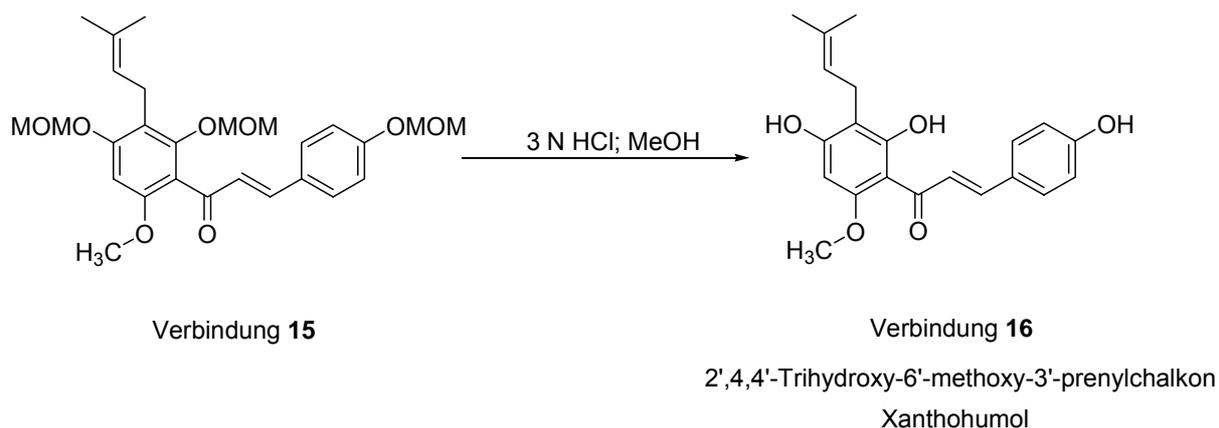


Abbildung C-13: Entschützung des Chalkons

Es entsteht 2',4,4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalcon mit dem Trivialnamen Xanthohumol als oranger Feststoff. Die Abspaltung der Schutzgruppen kann mit Hilfe der NMR-Spektroskopie leicht belegt werden, da die Singuletts der MOM-Schutzgruppe im Bereich von 3,4 - 3,6 ppm und im Bereich von 4,9 - 5,3 ppm nun fehlen.

6 Strukturaufklärung von Xanthohumol

Die Strukturaufklärung und Signalzuordnung erfolgt durch umfassende Kernresonanzspektroskopie und Abgleich mit den in der Literatur zum Xanthohumol publizierten Daten. Dazu werden neben den 1D Spektren (^1H und ^{13}C) die zweidimensionalen Spektren HSQC, HMBC, COESY und NOESY verwendet. Zusätzliche Informationen werden durch die Massenspektroskopie gewonnen. Die Zuordnung der Signale zu den Kohlenstoffen und Protonen der weiteren synthetisierten Strukturen werden dann von den für das Xanthohumol gewonnenen Daten bzw. aus der Literatur abgeleitet. In einzelnen Fällen, insbesondere bei in der Literatur bisher nicht bekannten Substanzen, werden für die synthetisierten Verbindungen 2D Spektren gemessen, wenn die Signalzuordnung aufgrund nahe beieinander liegender Signale nicht möglich ist.

6.1 Zuordnung der 1D-Daten von Xanthohumol

Der im EI-MS Massenspektrum vorhandene Molekülionenpeak bei m/z 354 bestätigt das Vorliegen von Xanthohumol ($C_{21}H_{22}O_5$ 354,15). Die 1H - und ^{13}C -NMR-Spektren stimmen mit den in der Literatur publizierten Daten überein [93, 99].

Im 1H -NMR-Spektrum sind zunächst die Lösungsmittelpeaks bei $\delta = 2,05$ ppm für das undeuterierte Aceton und $\delta = 2,84$ ppm für H_2O zu erkennen. Im aromatischen Bereich sieht man vier Protonen, die man als zwei paarweise auftretende Dupletts bei δ 6,91 ppm ($J = 8,5$ Hz; -H-3 und -H-5) und 7,60 ppm ($J = 8,5$ Hz; -H-2 und -H-6) dem symmetrisch substituierten B-Ring zuordnen kann sowie ein für ein Proton integrierendes Signal bei $\delta = 6,13$, welches dem aromatischen Proton am A-Ring zugeordnet werden kann. Ein Singulett mit einem Integral für drei Protonen kommt bei 3,92 ppm zur Resonanz, das durch seine Verschiebung eindeutig der Methoxygruppe in 6'-Position zugeschrieben wird.

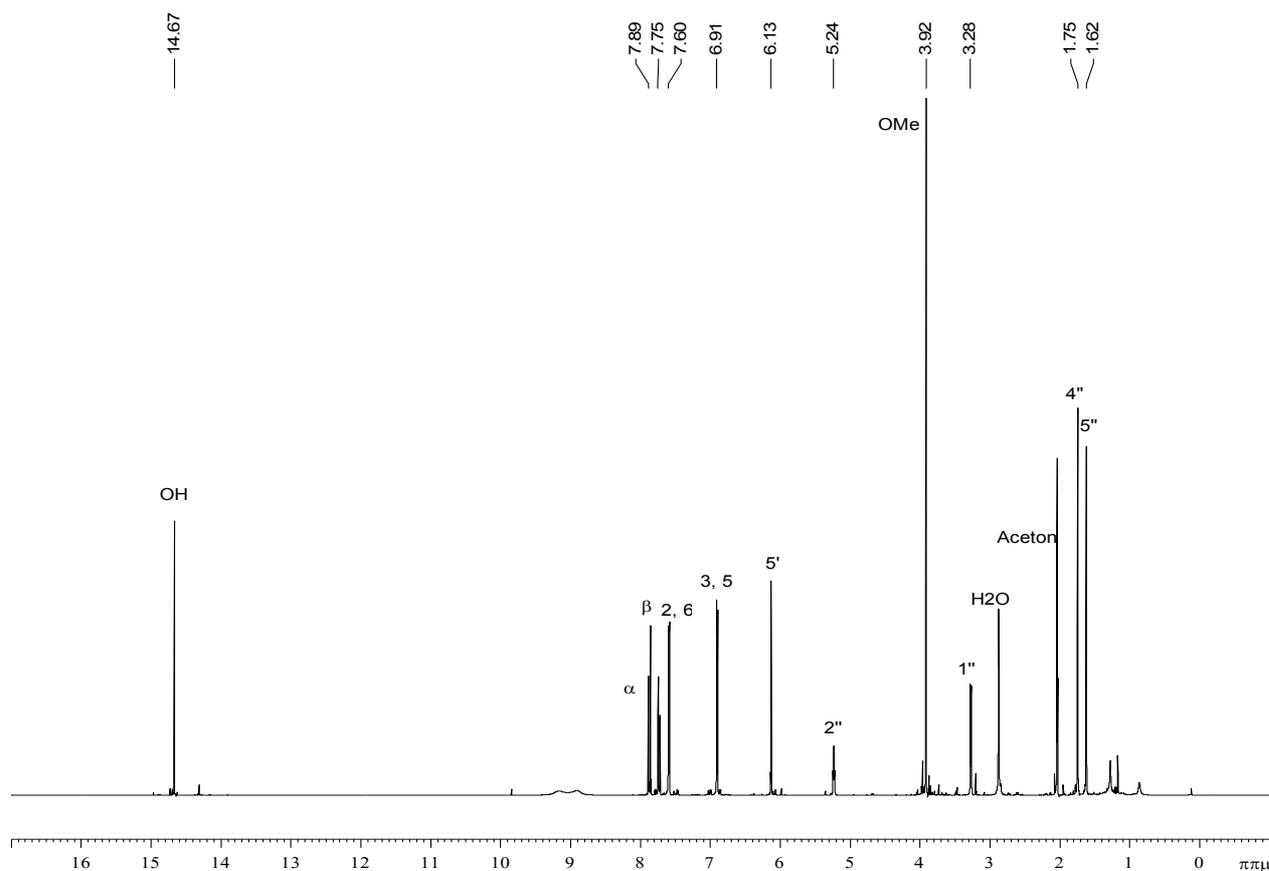


Abbildung C-14: 1H -NMR-Spektrum von Xanthohumol (600 MHz) in $Aceton-d_6$

Im Protonenspektrum des Xanthohumols gibt es noch einige Charakteristika. Die Signale im tiefen Feld (siehe Abbildung C-14) sind typisch für Substanzen mit Chalkonstruktur. Das Proton der Hydroxygruppe in Position β zur Carbonylgruppe wird durch den Elektronenzug der Carbonylfunktion stark entschirmt und erst bei hoher Frequenz angeregt. Die Doppelbindung im Chalkon zwischen den beiden Ringen zeigt zwei Dupletts im tiefen Feld mit einer Kopplungskonstanten von 15,6 Hz.

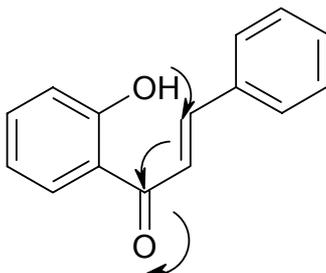


Abbildung C-15: Chalkongrundstruktur in der die Verschiebung der Elektronen im Rahmen einer mesomeren Grenzstruktur angedeutet ist.

Die Dubletts für die beiden Protonen der zur Carbonylgruppe konjugierten Doppelbindung werden bei allen Chalkonen stark ins tiefe Feld verschoben ($\geq 6,90$ ppm). Diese Doppelbindung ist im Gegensatz zur Doppelbindung der Prenylgruppe (5,24 ppm) stark entschirmt. Ein weiteres Signal bei 3,28 kann als Dublett für zwei Protonen der $-\text{CH}_2-1''$ -Position der Seitenkette zugeordnet werden. Die beiden Singulets bei 1,62 ppm und 1,75 ppm mit jeweils drei Protonen gehören zu den Methylgruppen der Prenylkette.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum (siehe Abb. C-16) kann das Signal bei $\delta = 193,3$ ppm dem quartären Kohlenstoff der Ketogruppe zugeordnet werden. Die beiden intensiveren Signale bei $\delta = 131,2$ ppm und $\delta = 116,8$ ppm gehören zu insgesamt vier Kohlenstoffatomen und können den aromatischen Kohlenstoffatomen am B-Ring zugewiesen werden. Der Kohlenstoff der Methoxygruppe in $6'$ -Position kann dem Signal bei $\delta = 56,1$ ppm zugeordnet werden.

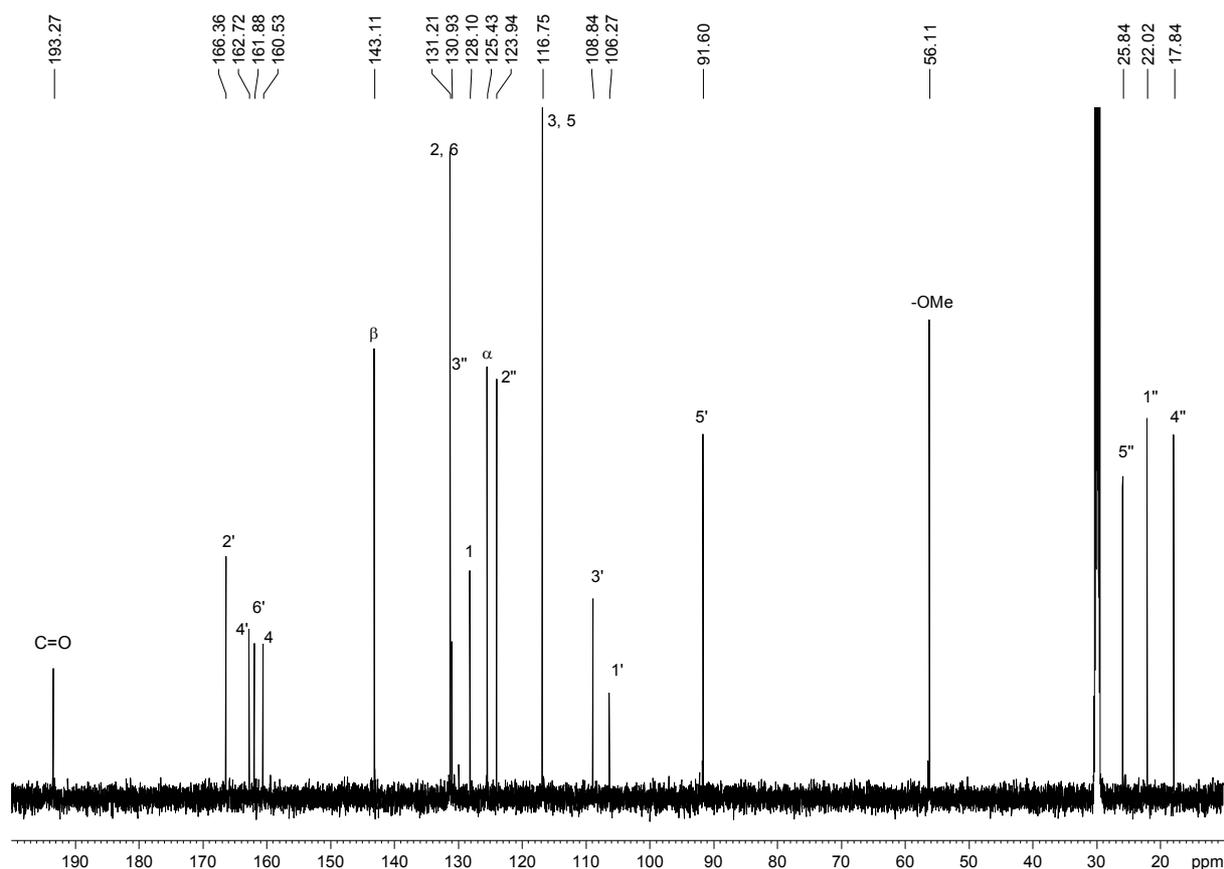


Abbildung C-16: ^{13}C -NMR- Spektrum von Xanthohumol (150 MHz) in Aceton- d_6

6.2 Zuordnung der 2D-Daten von Xanthohumol

Für die Strukturaufklärung von komplexen chemischen Verbindungen ist die Aufnahme von 2D-heteronuklear korrelierten NMR-Spektren (z.B. zwischen ^{13}C und ^1H) von großer Wichtigkeit.

Innerhalb des COSY-Experimentes werden skalare Kopplungen benachbarter Protonen beobachtet. Seltener sind auch Kopplungen über mehrere Bindungen (long-range) zu detektieren.

Mit dem HSQC (**H**eteronuclear **S**ingle **Q**uantum **C**oherence) kann durch die Untersuchung der direkten Kopplung von Protonen an Kohlenstoff-Atome eine jeweilige Zuordnung von ^1H - bzw. ^{13}C -NMR-Signalen erfolgen (siehe Abb. C-17).

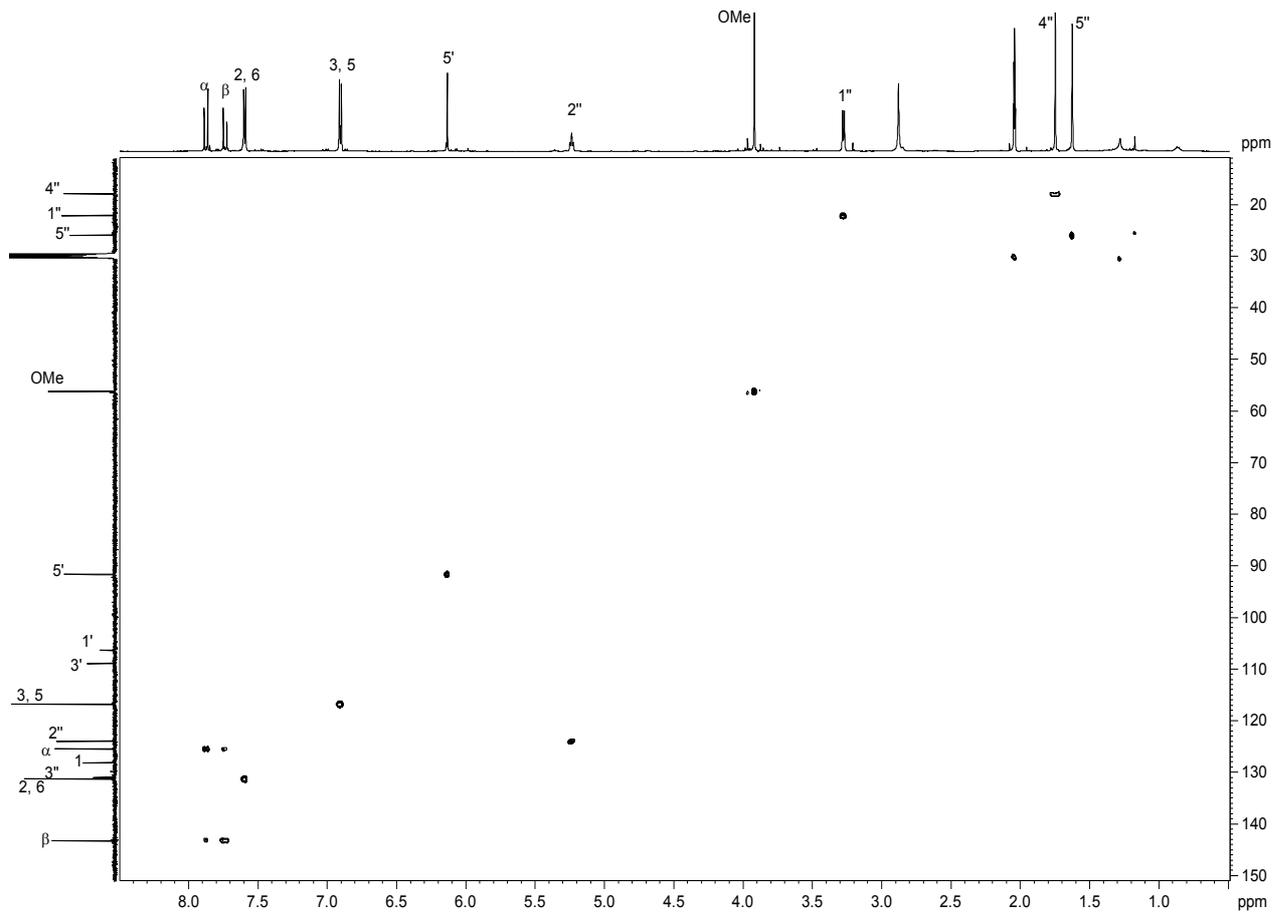


Abbildung C-17: HSQC-Spektrum (600 MHz) von Xanthohumol in Aceton-d₆

In den HMBC (**H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**orrelation)-Spektren sind Korrelationen über mehrere Bindungen (2J und 3J -Kopplungen) zwischen ^{13}C - und ^1H -Atomen sichtbar.

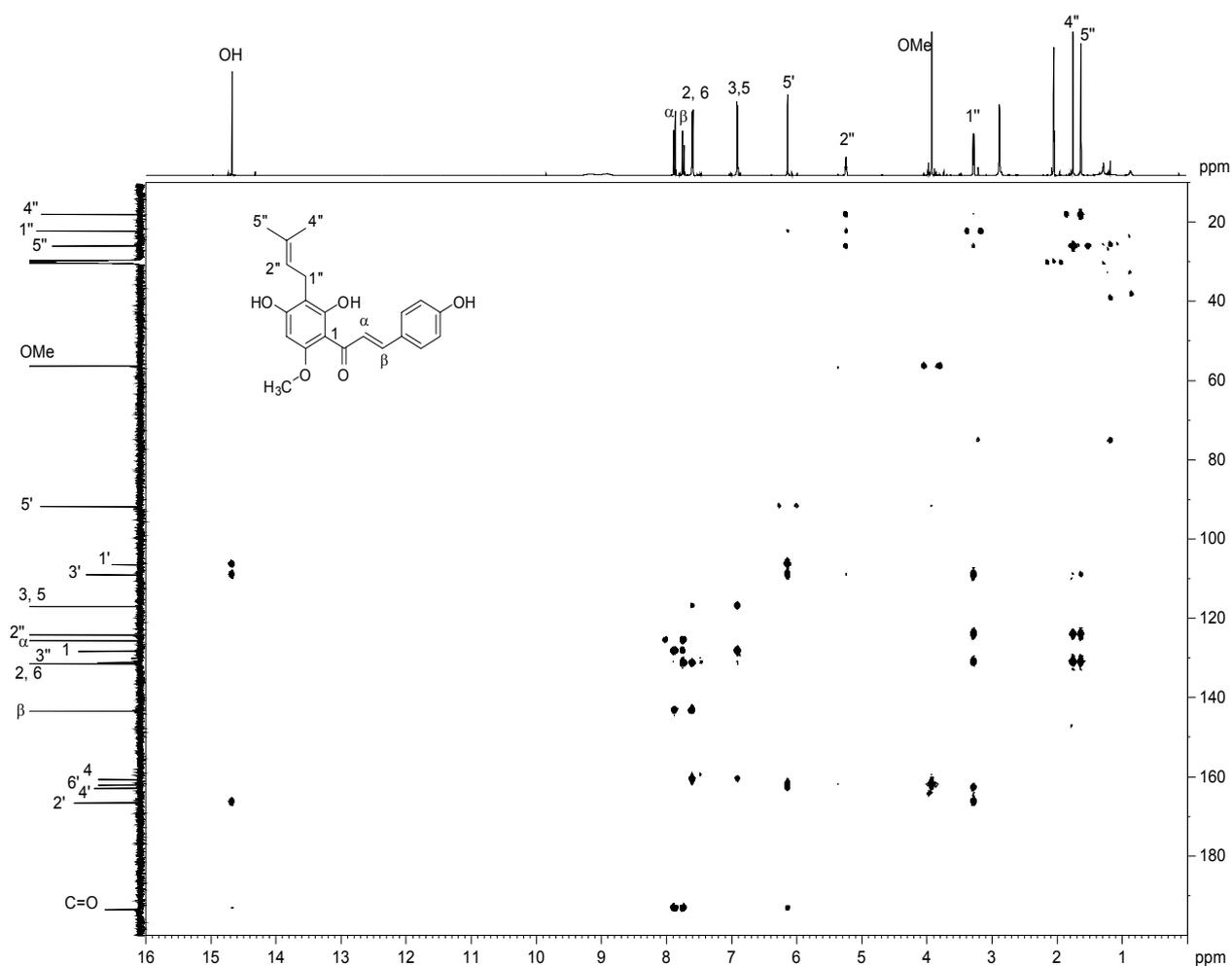


Abbildung C-18: HMBC-Spektrum (600 MHz) von Xanthohumol in Aceton-d₆

Aus dem HSQC (Abb. C-17) erfolgt für das Xanthohumol eine Zuordnung der Protonen zu den jeweiligen Kohlenstoffen. So können beispielsweise die beiden Dubletts im tiefen Feld bei $\delta = 6,91$ ppm (H- β) und $\delta = 7,60$ ppm (H- α) den Kohlenstoffen bei 125.5 (C- α) und 143.2 (C- β) zugeordnet werden. Insgesamt kann die in der Literatur vorgenommene Zuordnung [8, 100] durch die Analyse der 2D Spektren (Abb. C-17 bis C-21) bestätigt werden. Zur einwandfreien Zuordnung der Methylgruppen, die Lage zum Proton an der Doppelbindung betreffend, wird noch ein NOESY gemessen. Der Unterschied des NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy)-Experimentes im Vergleich mit den anderen hier erläuterten 2D-Verfahren (COSY, HSQC, HMBC) besteht darin, dass hier keine Beziehungen zwischen Kernen, die über skalare Spin-Spin-Kopplungen, d.h. über Bindungen, miteinander in Wechselwirkung treten, sichtbar gemacht werden, sondern Wechselwirkungen zwischen koppelnden Kerndipolen, die direkt über den

Raum übertragen werden. Dieser Magnetisierungstransfer über den Raum erfolgt über den Kern-Overhauser-Effekt.

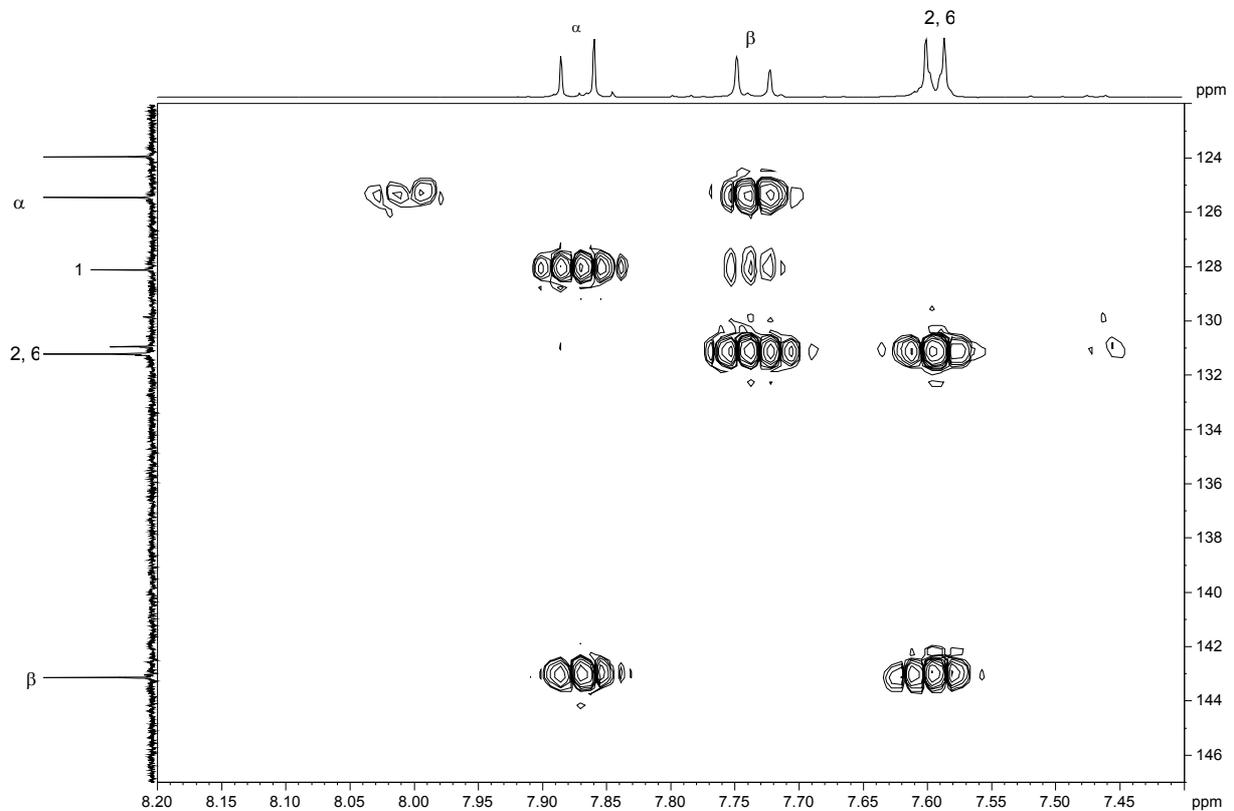


Abbildung C-19: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum (600 MHz) von Xanthohumol in Aceton-d₆

Am häufigsten wird das homonukleare ¹H-¹H-NOESY-Experiment durchgeführt, um Beziehungen zwischen Protonen über den Raum aufzudecken. Vorteilhaft ist die Aufnahme eines NOESY-Spektrums, wenn Beziehungen zwischen Protonen vermutet werden, die zwar über viele Bindungen voneinander getrennt (keine Signale im COSY-Spektrum), aber sich räumlich sehr nahe sind. Im NOESY-Spektrum sind analog dem COSY-Spektrum auf beiden Achsen die ¹H-chemischen Verschiebungen aufgetragen. Es ergibt sich also ein zur Diagonalen symmetrisches Diagramm. Das Spektrum beinhaltet wieder Diagonal- und Kreuzsignale.

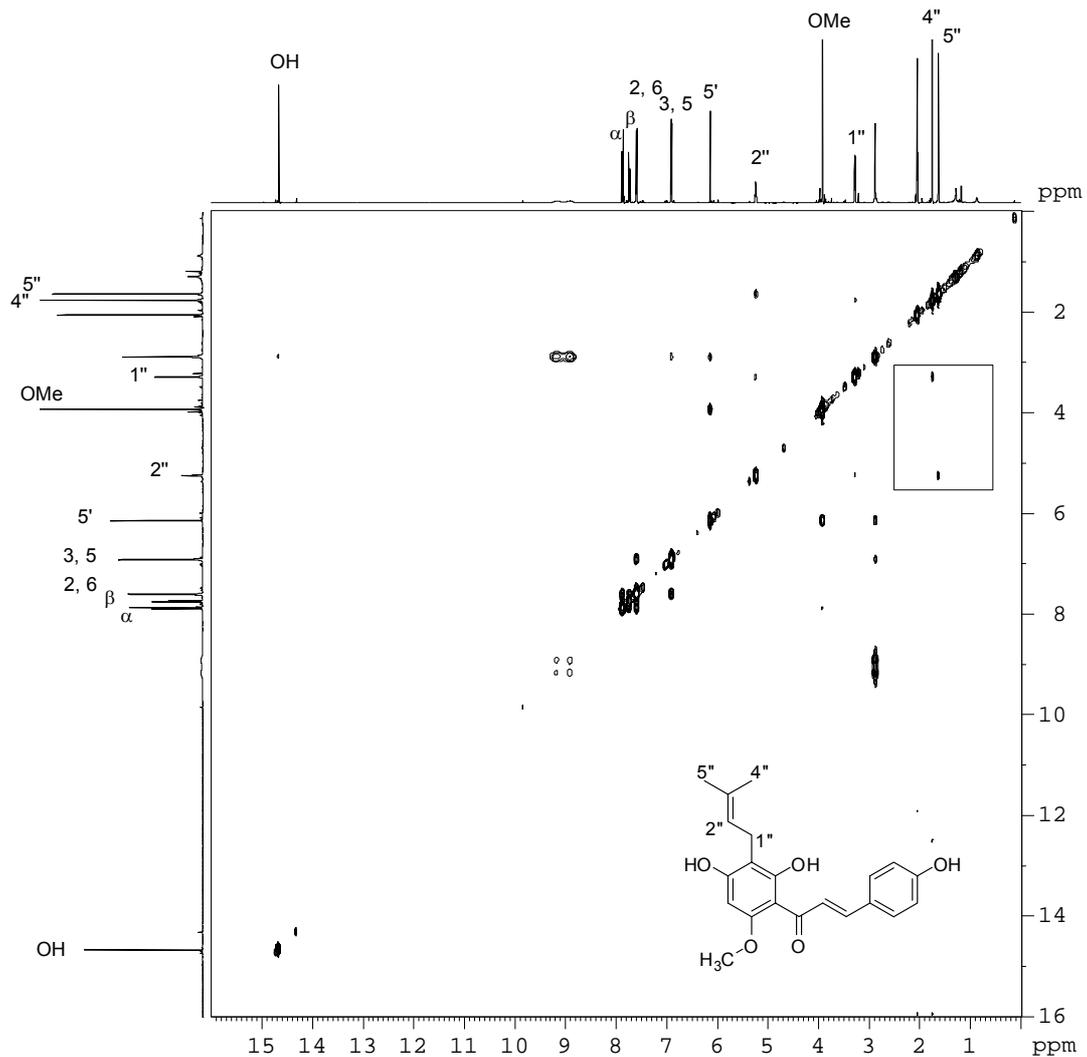


Abbildung C-20: NOESY-Spektrum (600 MHz) von Xanthohumol in Aceton-d₆

Aus dem vergrößerten Ausschnitt des NOESY-Spektrums (siehe Abb. C-21) ist eine eindeutige Zuordnung der Protonensignale zu den beiden Methylgruppen möglich. Das Signal bei $\delta = 1,63$ ppm (3H) koppelt mit dem Signal für H-2'' ($\delta = 5,24$ ppm) und kann H-5'' zugeordnet werden, während das Signal bei $\delta = 1,75$ ppm (3H) mit dem bei $\delta = 3,28$ ppm wechselwirkt und so zu H-4'' gehört.

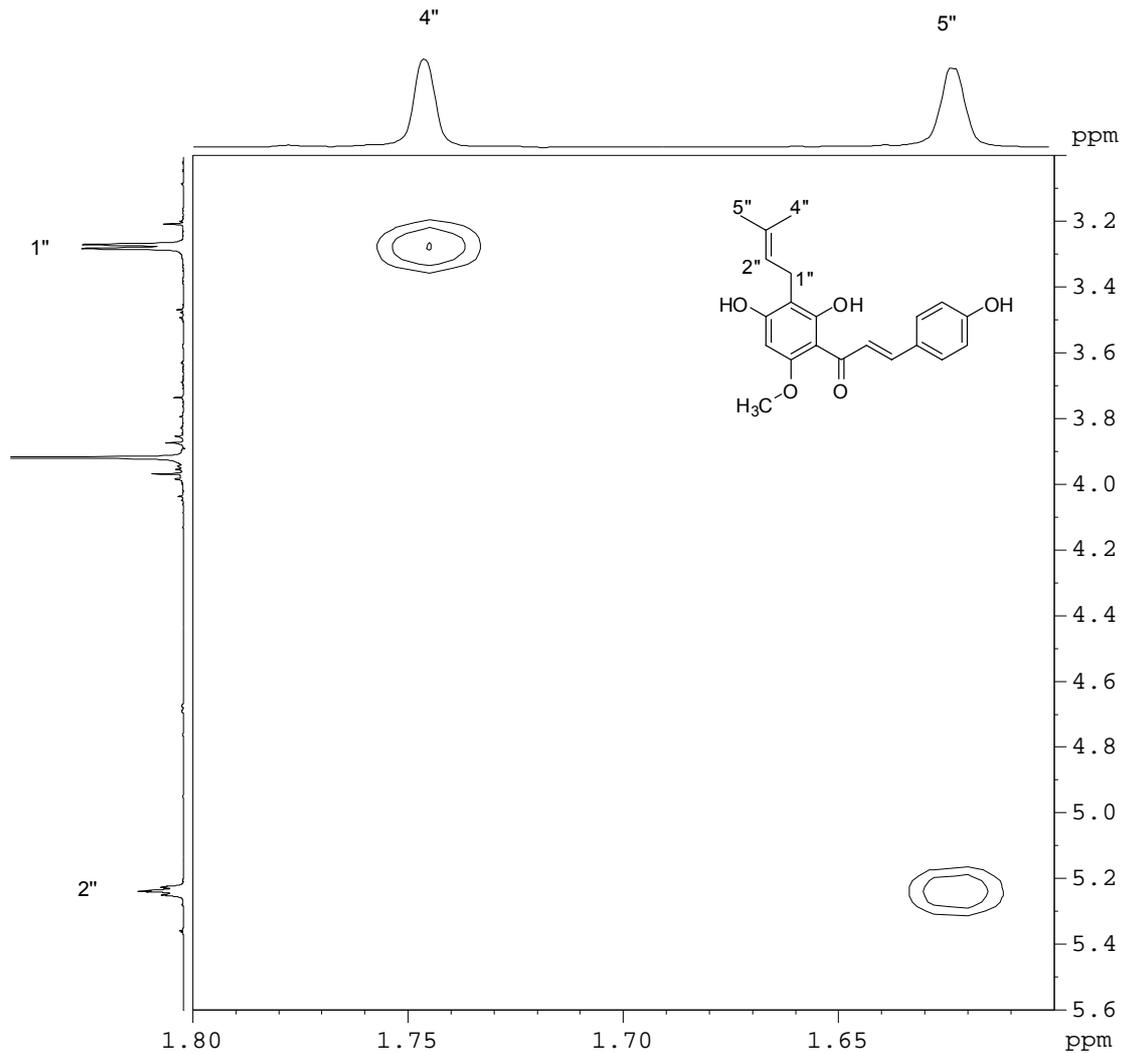
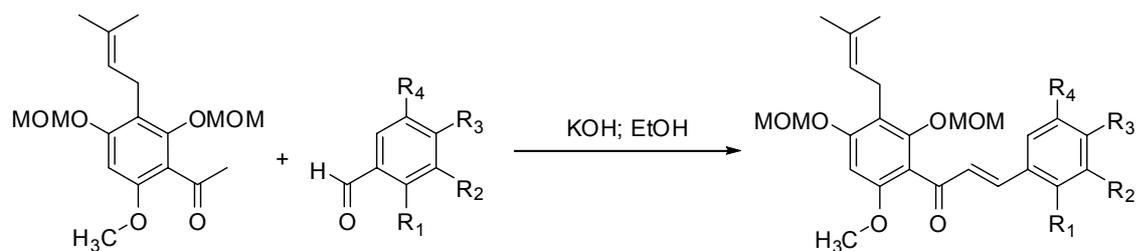


Abbildung C-21: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum (600 MHz) von Xanthohumol in Aceton-d₆

7 Variation der Chalkone am B-Ring

7.1 Variation der Position und der Anzahl der Hydroxygruppen

Mit der Synthese von Xanthohumol als Leitstruktur bietet sich nun eine interessante Möglichkeiten der Strukturvariation. Es werden nun im weiteren Verlauf Verbindungen hergestellt, die am B-Ring des Chalkons die Stellung und Anzahl der Hydroxygruppe variieren.



Verbindung 6

 Verbindung 17: $R_1 = \text{OMOM}$; $R_2, R_3, R_4 = \text{H}$

 Verbindung 18: $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{OMOM}$; $R_3, R_4 = \text{H}$

 Verbindung 19: $R_1 = \text{H}$; $R_2, R_3 = \text{OMOM}$; $R_4 = \text{H}$

 Verbindung 20: $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{OMOM}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OMOM}$

 Verbindung 21: $R_1 = \text{H}$; $R_2, R_3, R_4 = \text{OMOM}$

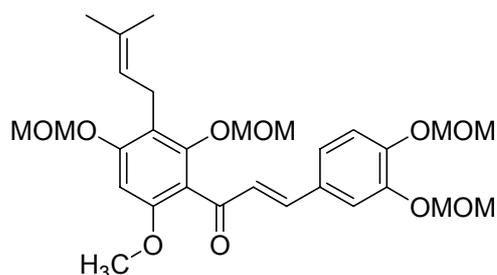
Abbildung C-22: Basen-katalysierte Aldol-Kupplung zum geschützten Chalkon

Als Reaktionspartner für die basenkatalysierte Aldol-Kupplung wird in dieser Sequenz immer der geschützte A-Ring (Verbindung 6) gewählt, der mit den jeweiligen geschützten Benzaldehyden (Tab. C-1) umgesetzt wird (siehe Tab. C-2).

Tabelle C-2: Geschützte Chalkone

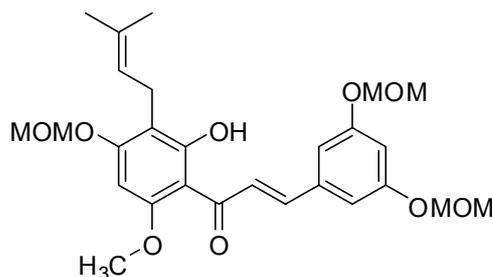
Name	Struktur	Verbindung
6'-Methoxy-2,2',4'-tri-(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon		17
6'-Methoxy-2',3,4'-tri-(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon		18

6'-Methoxy-2',3,4,4'-tetra-
(methoxymethoxy)-3'-
prenylchalkon



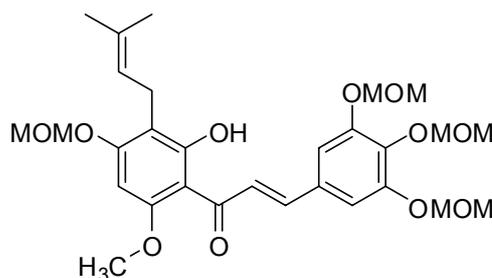
19

2'-Hydroxy-6'-methoxy-
3,4',5-tri(methoxy-
methoxy)-3'-
prenylchalkon



20

2'-Hydroxy-6'-methoxy-
3,4,4',5-tetra(methoxy-
methoxy)-3'-
prenylchalkon



21

Bei den Verbindungen **20** und **21** entsteht bei der Kupplung jeweils eine bereits freie Hydroxygruppe an der 2'-Position. In den ^1H -Spektren zeigt sich bei allen Verbindungen das Fehlen der Methylgruppe des Acetophenons und die Entstehung von je zwei Dubletts im Bereich von 7-8 ppm mit einer Kopplungskonstante von ca. 16 Hz. Dies lässt auf eine erfolgreiche Aldolkupplung zu einem geschützten Chalkon schließen.

Zur Vervollständigung der Synthese ist zum Abschluss die Abspaltung der Schutzgruppen der geschützten Verbindungen notwendig. Dies erfolgt mit 3 N HCl in Methanol unter Rückfluss. Dabei ist darauf zu achten, dass die einzelnen Substanzen nicht zu lang mit der Säure in der Hitze gerührt werden. Bei längerer Dauer ist eine Abspaltung der Prenylkette möglich. Die Aufreinigung der jeweiligen Endverbindung erfolgt durch Säulenchromatographie in unterschiedlichen Petrolether/Ethylacetat-Verhältnissen.

Tabelle C-3: Chalkone mit variabler Hydroxylgruppensubstitution

Name	Struktur	Verbindung
2,2',4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon		22
2',3,4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon		23
2',3,4,4'-Tetrahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon		24
2',3,4',5-Tetrahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon		25
2',3,4,4',5-Pentahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon		26

Mit Verbindung **24** (siehe Tabelle C-3) wird zum ersten Mal auch ein Phase-I-Metabolit von Xanthohumol synthetisch hergestellt [19]. Dies ermöglicht jetzt auch eine umfangreiche pharmakologische Testung eines ersten Xanthohumolmetaboliten, die vorher aus Mangel an Substanz prinzipiell nicht durchgeführt werden konnte.

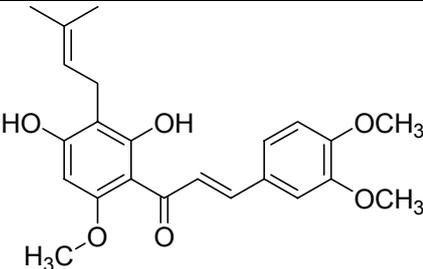
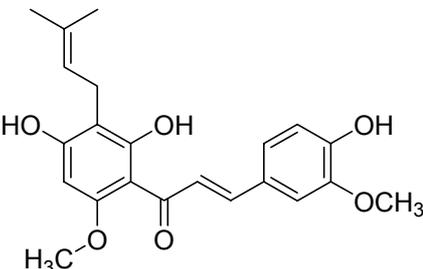
7.2 Einführung einer Methoxygruppe

Unter Anwendung der unter 7.1 beschriebenen Methode werden in einer weiteren Sequenz Chalkone synthetisiert, bei denen die Hydroxygruppen durch eine (Ferulasäure analog) oder zwei Methoxygruppe ersetzt wird (siehe Tabelle C-4 und C-5). Dies erfolgt wie in Kapitel 7.1 beschrieben.

Tabelle C-4: Geschützte Chalkone mit Methoxygruppe am B-Ring

Name	Struktur	Verbindung
3,4,6'-Trimethoxy-2',4'-di(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon		27
3,6'-Di(methoxy)-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon		28

Tabelle C-5: Xanthohumolanaloga mit Methoxygruppensubstitution

Name	Struktur	Verbindung
2',4-Dihydroxy-4',6'- dimethoxy-3'- prenylchalkon		29
2',4,4'-Tri(hydroxy)-3,6'- di(methoxy)-3'- prenylchalkon		30

8 Chalkone ohne Prenylkette

Um den Einfluss der Prenylseitenkette im Xanthohumol zu untersuchen und herauszufinden ob und welche Bedeutung dieser Substituent für das Molekül hat, werden auch Verbindungen ohne diese Seitenkette synthetisiert.

Dazu werden Helichrysetin und 3-Hydroxyhelichrysetin als Analoga zu Xanthohumol (Verbindung **16**) und seinem Metaboliten 3-Hydroxyxanthohumol (Verbindung **24**) ausgewählt.

Als Ausgangssubstanz wird auch hier das 2,4,6-Trihydroxyacetophenon-Monohydrat gewählt. Dieses wird mit Brommethylmethylether geschützt und die Methylierung direkt nach der Schützung durchgeführt. So entsteht Verbindung **7**, die mit 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd bzw. 3,4-Di(metoxymethoxy)benzaldehyd umgesetzt wird (Tabelle C-6). Die so erhaltene Chalkone werden zur Vervollständigung der Synthese noch entschützt. Die Reaktion erfolgt in guten Ausbeuten, da bei diesen Verbindungen durch die Abwesenheit weiterer Seitenketten weniger Nebenprodukte entstehen (siehe Exp. Teil Seite 146, 147).

Tabelle C-6: Geschützte Chalkone ohne Prenylseitenkette

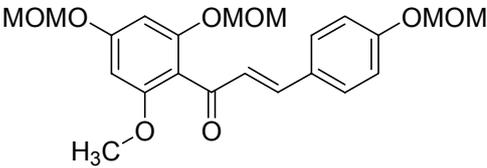
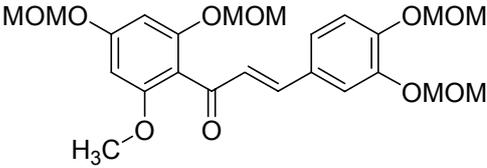
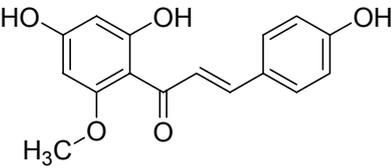
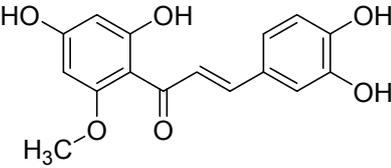
Name	Struktur	Verbindung
6'-Methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-chalkon		31
6'-Methoxy-2',3,4,4'-tetra(methoxymethoxy)-chalkon		32

Tabelle C-7: Endverbindungen der Chalkone ohne Prenylkette

Name	Struktur	Verbindung
2',4,4'-Trihydroxy-6'-methoxychalkon		33
2',3,4,4'-Tetrahydroxy-6'-methoxychalkon		34

Des Weiteren wird die Synthese von Flavokawin, Verbindung **39** und 2',4-Dihydroxy-4',6'-dimethoxy-3'-methylchalkon, Verbindung **40** durchgeführt. Flavokawin wurde von Stevens et al. im Jahr 2000 [93] als eine Minorkomponente in *Humulus lupulus* entdeckt. Auch hier sind auf Grund der geringen Konzentration in der Pflanze bis heute wenig pharmakologische Daten bekannt.

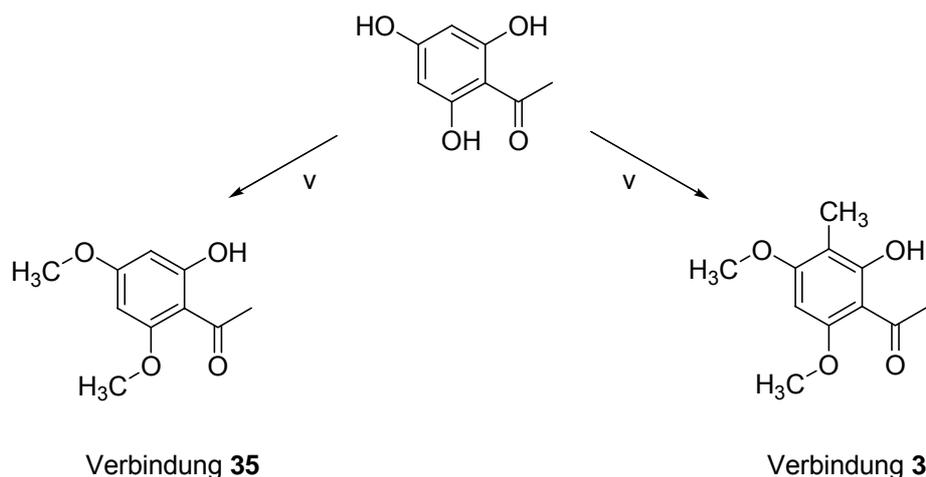


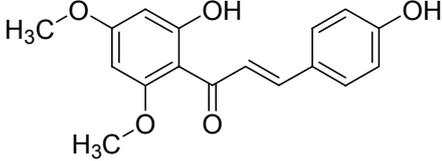
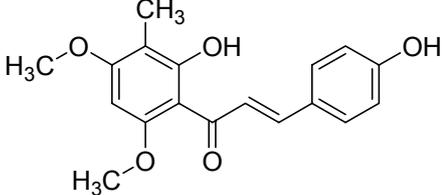
Abbildung C-23: Syntheschema für Verbindungen **35** und **36**; (v) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, $(n\text{-C}_4\text{H}_9)_3\text{N}^+\text{I}^-$

Auch hier dient 2,4,6-Trihydroxyacetophenon als Ausgangssubstanz, die mit einem Überschuss an Dimethylsulfat und Tetrabutylammoniumjodid als Phasentransferkatalysator umgesetzt wird. Es entstehen Verbindung **35** und Verbindung **36** in gleicher Ausbeute (siehe Abb. C-23 und Exp. Teil Seite 120, 121). Durch den Überschuss an Alkylierungsmittel werden nicht nur zwei Hydroxygruppen angegriffen, sondern es findet auch eine Reaktion am Ring statt. Die Hydroxygruppe in 2'-Position ist durch eine Wasserstoffbrücke mit der Carbonylfunktion stabilisiert. Die Kupplung der beiden Substanzen mit 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd unter basischen Bedingungen liefert die Verbindungen **37** und **38** (siehe Tabelle C-8).

Tabelle C-8: Geschützte Chalkone mit zusätzlichen Methylgruppen

Name	Struktur	Verbindung
2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy-4-(methoxymethoxy)chalkon		37
2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy-4-(methoxymethoxy)-3'-methylchalkon		38

Tabelle C-9: Methylierte Chalkone ohne Prenylgruppe

Name	Struktur	Verbindung
2',4-Dihydroxy-4',6'-dimethoxychalkon		39
2',4-Dihydroxy-4',4'-dimethoxy-3'-methylchalkon		40

Die Entschützung im sauren Milieu liefert Flavokawin, Verbindung **39** und 3'-Methylflavokawin, Verbindung **40** (Tabelle C-9).

9 Variation am A-Ring

9.1 Variation der Methoxygruppen

Xanthohumol besitzt eine Methoxygruppe in 6'-Position. Um den Einfluss dieses Substituenten auf pharmakologische Effekte (siehe Kapitel Pharmakologische Prüfung und ORAC-Fluorescein-Assay) zu ermitteln, werden nun Verbindungen hergestellt, die am A-Ring des Chalkons die Methoxygruppe in einer anderen Position besitzen und sich auch in der Anzahl ihrer Methoxygruppen unterscheiden (siehe Tabelle C-10). Desmethylxanthohumol ist eine bekannte prenylierte Minorverbindung in Hopfen und besitzt im Vergleich zu Xanthohumol keine Methoxygruppe an 6'.

Xanthogalenol ist eine weitere Minorkomponente im Hopfen. Die Struktur unterscheidet sich nur durch die unterschiedliche Position der Methoxygruppe von Xanthohumol. Diese befindet sich nicht in 6'-, sondern in 4'-Position.

Eine Verbindung mit einer Methoxy-Gruppe in 2'-Position ist in der Natur bisher nicht bekannt. Diese Substanz wird aber dennoch synthetisiert, um den Einfluss der Methoxygruppe in dieser Position mit den Daten für Xanthohumol zu vergleichen. Bei der Verbindung 4'-O-Methylxanthohumol, die schon von Stevens et al. [93] in geringem Anteil in der Hopfenpflanze identifiziert worden ist, findet sich eine zweite Methoxygruppe in 4'-Position zusätzlich zur 6'-Position. Es wird weiter noch eine zweite Substanz, 4,6'-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy-3'-prenylchalon mit den Methoxygruppen in 2'- und 4'-Position hergestellt.

Die Synthese von Desmethylxanthohumol wurde 2005 von Diller et al. [12] zum ersten Mal beschrieben. Die direkte Prenylierung von 2,4,6-Trihydroxyacetophenon-Monohydrat am aromatischen Ring liefert jedoch keine reproduzierbaren Ergebnisse. Daher wird die Desmethyl-Verbindung in Anlehnung an das Reaktionsschema für Xanthohumol hergestellt. Hierbei wird Verbindung **3**, direkt mit dem geschützten 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd umgesetzt. Das entstandene geschützte Chalon, Verbindung **53** wird im letzten Schritt von den Schutzgruppen befreit und liefert dann Desmethylxanthohumol, Verbindung **58**.

Für das Xanthogalenol und das 4,6'-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy-3'-prenylchalon wird zunächst der entsprechende A-Ring synthetisiert. Dabei ist der erste Schritt die Einführung von einer bzw. zwei Methoxygruppen. Bei der Umsetzung mit einem Äquivalent an Alkylierungsmittel entsteht Verbindung **41**. Bei einem Überschuss an Dimethylsulfat erhält man Verbindung **42** (siehe Exp. Teil Seite 121). Verbindung **41** wird erst mit einer MOM-Schutzgruppe versetzt, damit die sich anschließende Prenylierung selektiv verläuft. Verbindung **42** und Verbindung **43** werden nun wie bei der Xanthohumolsynthese beschrieben (siehe Exp. Teil Seite 113) mit einer Prenylseitenkette an der noch freien Hydroxygruppe versehen. Die so entstehenden Verbindungen **44** und **45** werden durch eine thermische Umlagerung bei 200°C in die 3'-Position (para) umgelagert. Diese thermische Umlagerung liefert dann Verbindung **46** und Verbindung **47** als fertigen A-Ring für die Chalkone. (siehe Abbildung C-24) Die beiden Verbindungen werden als Baustein für die Chalonstruktur mit 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd umgesetzt.

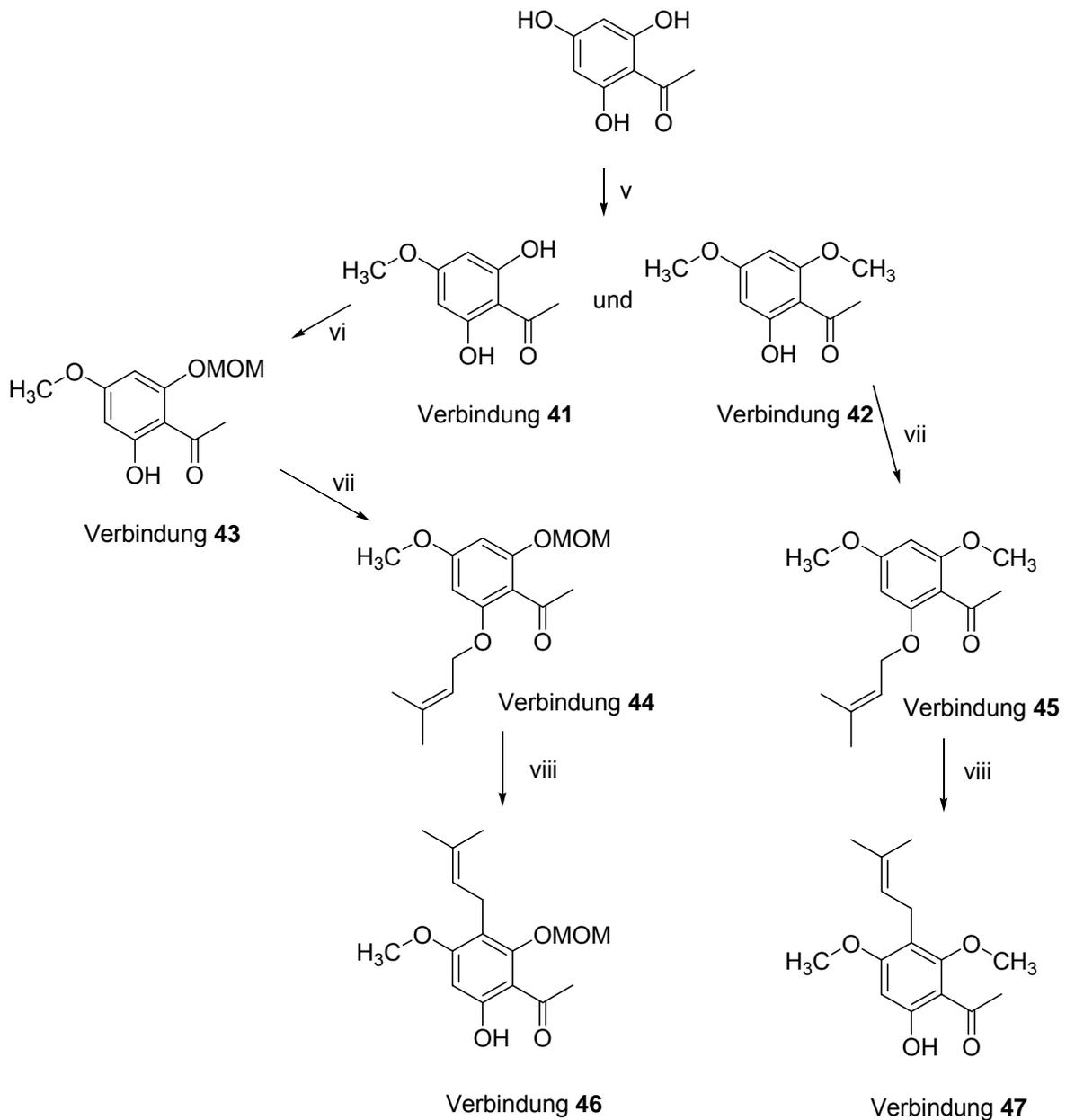


Abbildung C-24: Reaktionsschema zur Bildung methoxylierter Ringderivate; (v) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, Kat; (vi) MOM-Br, K_2CO_3 , Aceton, reflux; (vii) Prenyl-Br, K_2CO_3 , Aceton, reflux; (viii) N,N-Dimethylanilin, 200°C , Argon

Die Kupplung mit dem geschützten B-Ring erfolgte als Aldol-Kondensation in Ethanol unter basischen Bedingungen, wie sie allgemein für die Synthese von Chalkonen durchgeführt wird (siehe Exp. Teil Seite 128) [74-76, 88-91]. Im Fall der Xanthogalenol Synthese entsteht die zweifach geschützte Verbindung **54**. Beim Chalkon mit Methoxygruppen in 2'- und 4'-Position entsteht die geschützte Verbindung **55**. Die vollständige Entschützung der Substanzen liefert Xanthogalenol,

Verbindung **59** und 4,6'-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy-3'-prenylchalkon, Verbindung **60**. Eine weitere Minorkomponente im Hopfen ist das Chalkon mit dem Trivialnamen 4'-O-Methylxanthohumol, bei dem sich eine zweite Methoxygruppe in 4'-Position neben der in 6'-Position befindetet.

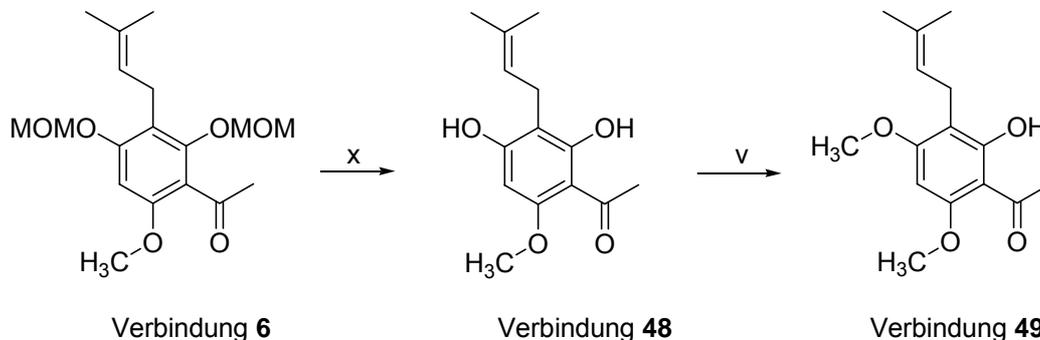


Abbildung C-25: Reaktionsschema für die Bildung von Ring A für 4'-O-Methylxanthohumol; (x) 3 N HCl, MeOH, 15 min Reflux; (v) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, $(n\text{-C}_4\text{H}_9)_3\text{N}^+\text{I}^-$

Zur Synthese dieser Substanz wird der fertige geschützte A-Ring des Xanthohumols, Verbindung **6** herangezogen (Abb. C-25). Bei diesem muss die MOM-Schutzgruppe in 4'-Position durch eine Methoxygruppe ausgetauscht werden. Dies erfolgt durch die vollständige Entschützung in einem Methanol/Salzsäure-Gemisch (v/v 5:1) für 20 Minuten unter Rückfluss (siehe Exp. Teil Seite 141). Die erhaltene Verbindung **48** kann anschließend durch die Methylierung der Hydroxygruppe in 4'-Position in Verbindung **49** überführt werden.

Durch die Aldol-Kupplung mit 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd entsteht das geschützte Chalkon Verbindung **57**, welches durch die Entschützung mit 3 N Salzsäure in Methanol in das zweifach O-Methylierte Derivat des Xanthohumols umgewandelt wird (Verbindung **61**).

Der schwierigste Teil der Synthese für ein Xanthohumolderivat mit einer Methoxygruppe in 2'-Position besteht in der Herstellung des entsprechend substituierten A-Ringes, wobei zunächst Verbindung **3** hergestellt wird. Da bei dieser Verbindung zwei Schutzgruppen in 2'- und 4'-Position vorhanden sind, werden diese in einem Methanol/Salzsäure-Gemisch (v/v 5:1) bei 15 Minuten unter Rückfluss entfernt (siehe Exp. Teil Seite 141). So erhält man das vollständig entschützte am Ring prenylierte Acetophenon, Verbindung **50**. Eine erneute Maskierung der Hydroxygruppen ergibt Verbindung **51**, wobei die Positionen 4' und 6' geschützt sind. Diese Positionen sind für diese Reaktion jetzt begünstigt, da die direkte

Nachbarschaft der Prenylkette und der Carbonylfunktion die 2'-Position vermutlich sterisch an der Reaktion mit der MOM-Schutzgruppe hindert. Die Einführung der Methoxygruppe an diese Stelle mit Hilfe von Tetrabutylammoniumjodid als Phasentransferkatalysator ergibt Verbindung **52**. (Abb. C-26)

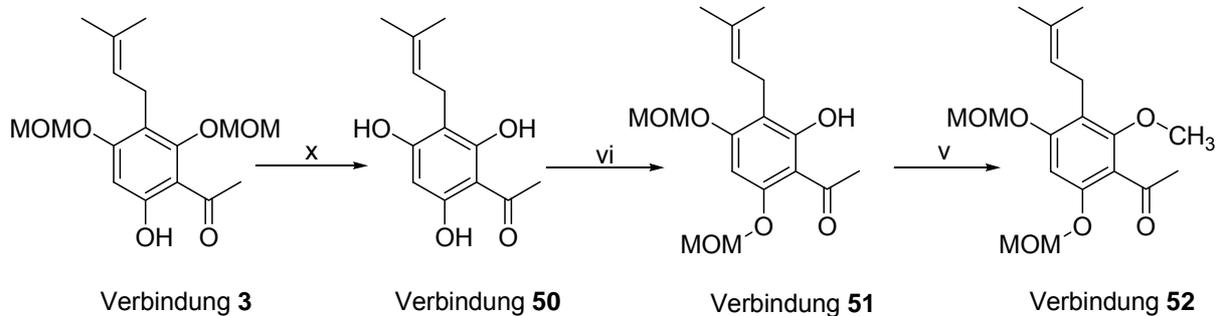


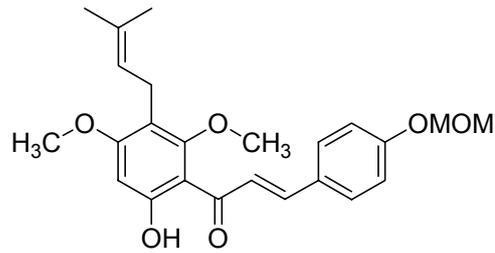
Abbildung C-26: Reaktionsschema zur Synthese des A-Rings von Xanthoflorianol; (x) 3 N HCl, MeOH, 15 min reflux; (vi) MOM-Br, K₂CO₃, Aceton, reflux; (v) (CH₃)₂SO₄, (n-C₄H₉)₃N⁺I⁻

Die Kupplung dieses geschützten A-Rings mit dem entsprechend maskierten 4-Hydroxybenzaldehyd ergibt die Chalkonstruktur Verbindung **57**. Die Entfernung aller Schutzgruppen liefert die zu Xanthohumol analoge Struktur mit der Methoxygruppe in 2'-Position, Verbindung **62**. Für dieses nicht natürlich vorkommende Chalkon wird der Trivialname Xanthoflorianol eingeführt.

Tabelle C-10: Geschützte Methoxy-Chalkone

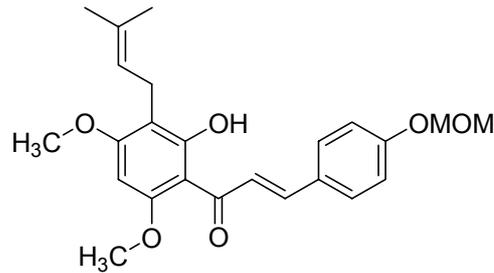
Name	Struktur	Verbindung
6'-Hydroxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon		53
6'-Hydroxy-4'-methoxy-2',4-di(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon		54

6'-Hydroxy-2',4'-
dimethoxy-
4(methoxymethoxy)-3'-
prenylchalkon



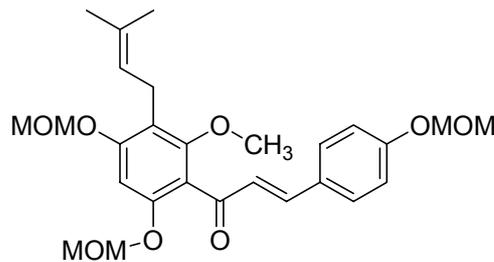
55

2'-Hydroxy-4',6'-
dimethoxy-4(methoxy-
methoxy)-3'-
prenylchalkon



56

2'-Methoxy-4,4',6'-
tri(methoxymethoxy)-3'-
prenylchalkon

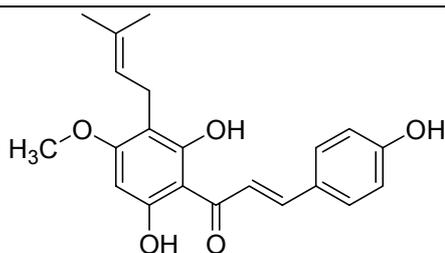


57

Tabelle C-11: Methoxychalkone

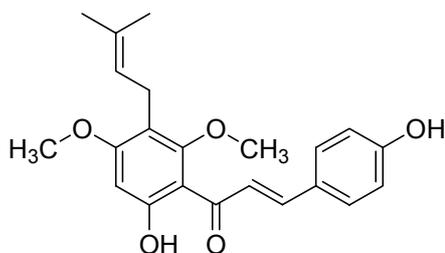
Name	Struktur	Verbindung
2',4,4',6'-Tetrahydroxy-3'- prenylchalkon		58

2',4,6'-Trihydroxy-4'-methoxy-3'-prenylchalkon



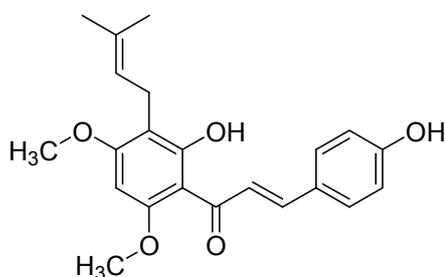
59

4,6'-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy-3'-prenylchalkon



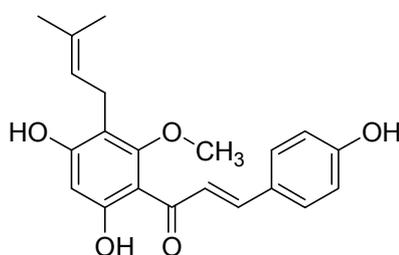
60

2',4-Dihydroxy-4',6'-dimethoxy-3'-prenylchalkon



61

4,4',6'-Trihydroxy-2'-methoxy-3'-prenylchalkon



62

9.2 Chalkone mit Geranylseitenkette

Eine weitere Möglichkeit der Strukturvariation ist die Synthese von Verbindungen, die statt einer Prenyl- eine Geranylseitenkette tragen.

Geranylierte Chalkone besitzen im Vergleich zu prenylierten Verbindungen eine Seitenkette mit 10 Kohlenstoffatomen, wodurch das Molekül lipophiler ist. Zu den pharmakologischen Eigenschaften dieser Chalkone liegen ebenfalls noch wenige Daten vor.

In *Humulus lupulus* ist 3'-Geranylchalkonaringenin die einzige bisher isolierte geranylierte Verbindung. Nach Xanthohumol, dem am mengenmäßig häufigsten prenylierten Chalkon (~ 90%) und Desmethyloxanthohumol (~ 5%) ist es oft die dritthäufigste Verbindung in der Chalkon-Fraktion des Hopfens. [93]

In dieser Arbeit wird eine Synthese für 3'-Geranylchalkonaringenin und das 3'-Geranyl-2',4,4'-trihydroxy-6'-methoxychalkon entwickelt. Im Gegensatz zu dem im Hopfen vorkommenden Chalkon besitzt es wie das Xanthohumol eine Methoxygruppe an der 6'-Position.

Wie für die Synthese bereits dargestellter Chalkone ist der erste Schritt der Schutz der OH-Gruppen durch die MOM-Schutzgruppe. Die Geranylkette wird durch nucleophile Substitution mit der freien Hydroxygruppe zu einem Ether eingebracht, wobei Geranyl bromid als Nucleophil verwendet wird (siehe Exp. Teil Seite 113) [94, 95]. Die basische Reaktionsmischung wurde 24 Stunden unter Rühren refluxiert. Dabei entsteht Verbindung **63**. Dann wird die Geranylkette durch eine thermische Umlagerung bei 200°C in die 3'-Position (para) umgelagert. (siehe Exp. Teil Seite 117 und Abb. C-27 und C-28)

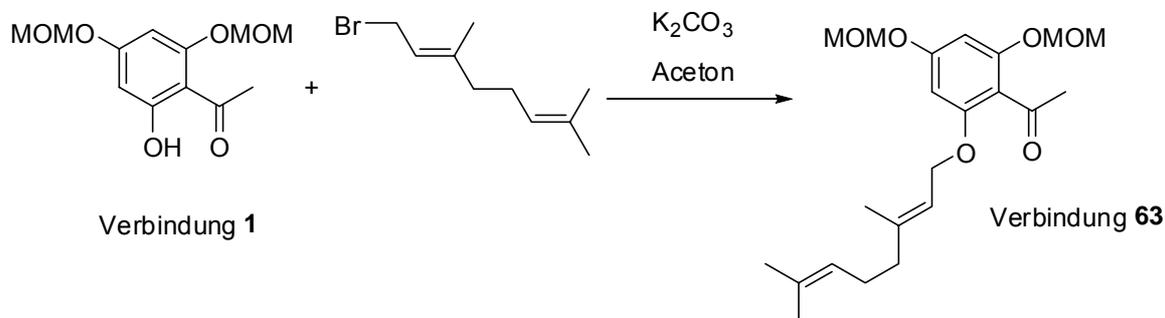


Abbildung C-27: Geranylierung von Verbindung **1** zu **63**

Diese thermische Umlagerung ist, wie auch bei der Synthese von Xanthohumol, der Ausbeute-limitierende Schritt mit maximal 28% an Verbindung **64**.

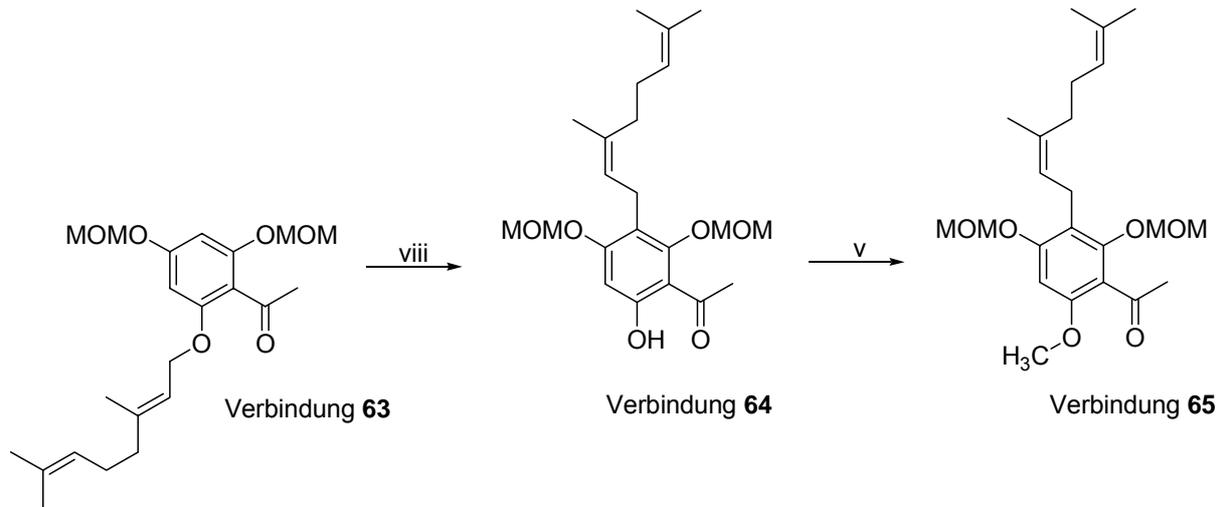


Abbildung C-28: Umlagerung der Geranylkette von **63** und Methoxylierung zu Verbindung **65**; (viii) N,N-Dimethylanilin, 200°C, Argon; (v) (CH₃)₂SO₄, (n-C₄H₉)₃N⁺I⁻

Der Methoxylierungsschritt zu Verbindung **65** erfolgt binnen 24 Stunden mit Dimethylsulfat unter Phasentransferkatalyse in Methylenchlorid/Wasser (v/v 3:2) bei Raumtemperatur. Für die natürliche Geranylverbindung wird die Kupplung von Verbindung **64** mit dem 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd durchgeführt. Bei der in Hopfen bisher nicht bekannten Geranylverbindung mit der Methoxygruppe in der 6'-Position wird für die Aldolkupplung Verbindung **65** ebenfalls dieses geschützte Benzaldehydderivat verwendet. (siehe Abb. C-29)

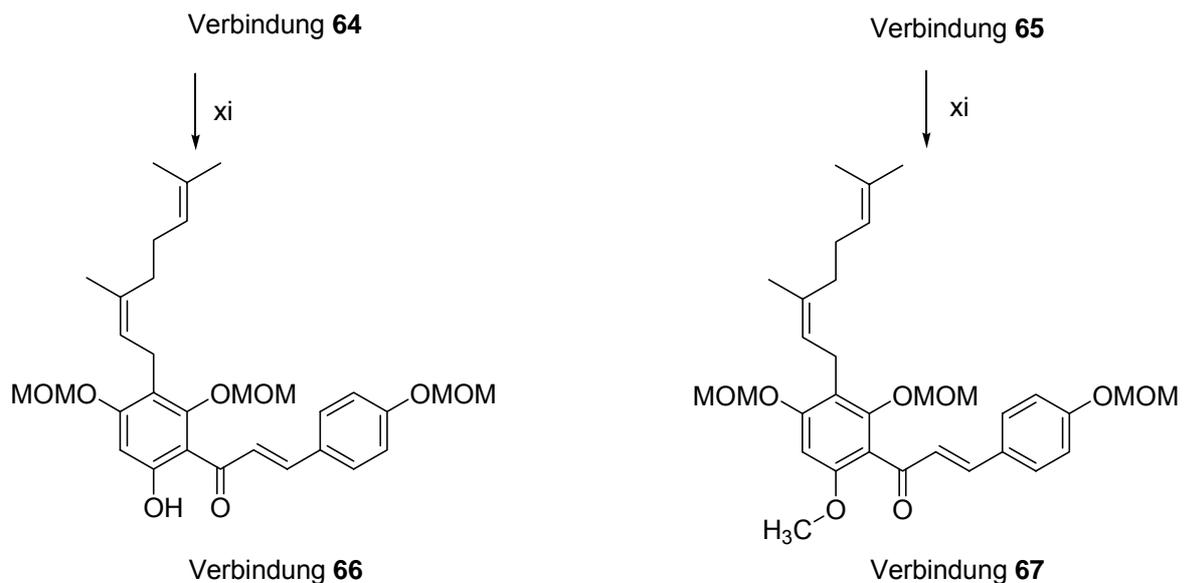
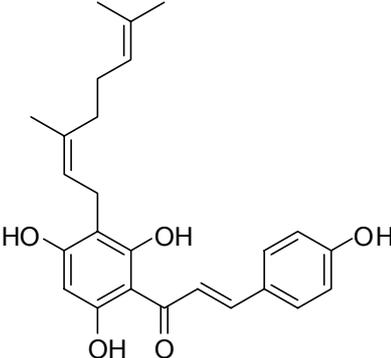
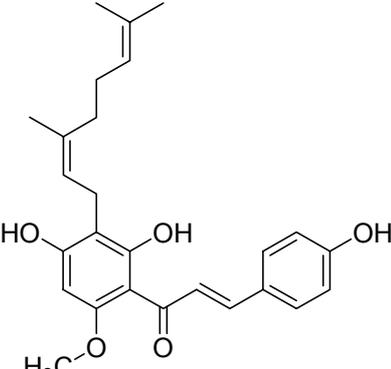


Abbildung C-29: Bildung der geschützte Geranylchalkone **66** und **67**; (xi) KOH, EtOH/H₂O

Die gewünschten Endprodukte 2',4,4',6'-Tetrahydroxy-3'-geranylchalkon, Verbindung **68** und 3'-Geranyl-2',4,4'-trihydroxy-6'-methoxychalkon, Verbindung **69** (Tabelle C-12), werden durch Entschützen von Verbindung **66** und Verbindung **67** erhalten. Die Aufreinigung erfolgt durch Säulenchromatographie (siehe Exp. Teil Seite 152, 153).

Tabelle C-12: Synthetisierte Geranylchalkone

Name	Struktur	Verbindung
3'-Geranyl-6'-hydroxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon		68
3'-Geranyl-6'-methoxy-2',4,4'-Tri(methoxymethoxy)chalkon		69

9.3 Doppelte Prenylierung

Auch durch eine doppelte Einführung der Prenylkette können einige Minorverbindungen synthetisiert werden.

Für die Synthese des diprenylierten A-Ringes von 3',5'-Diprenylchalconaringenin und 5'-Prenylxanthohumol (Verbindung **77**) werden verschiedene Syntheseansätze erprobt. Zum einen [74-76] wird eine weitere Umlagerung von Verbindung **4** durchgeführt (siehe Abb. C-30). Die zweite Prenylkette soll durch eine thermische Verschiebung in die ortho-Position verlagert werden. Diese Reaktion führt jedoch zu

keinem zweifach am Ring prenylierten Produkt. Auch der Versuch der direkten zweifachen Prenylierung an Verbindung **1** liefert nur sehr wenig an Verbindung **70** (~ 23%), jedoch sehr viele nicht bestimmte Nebenprodukte.

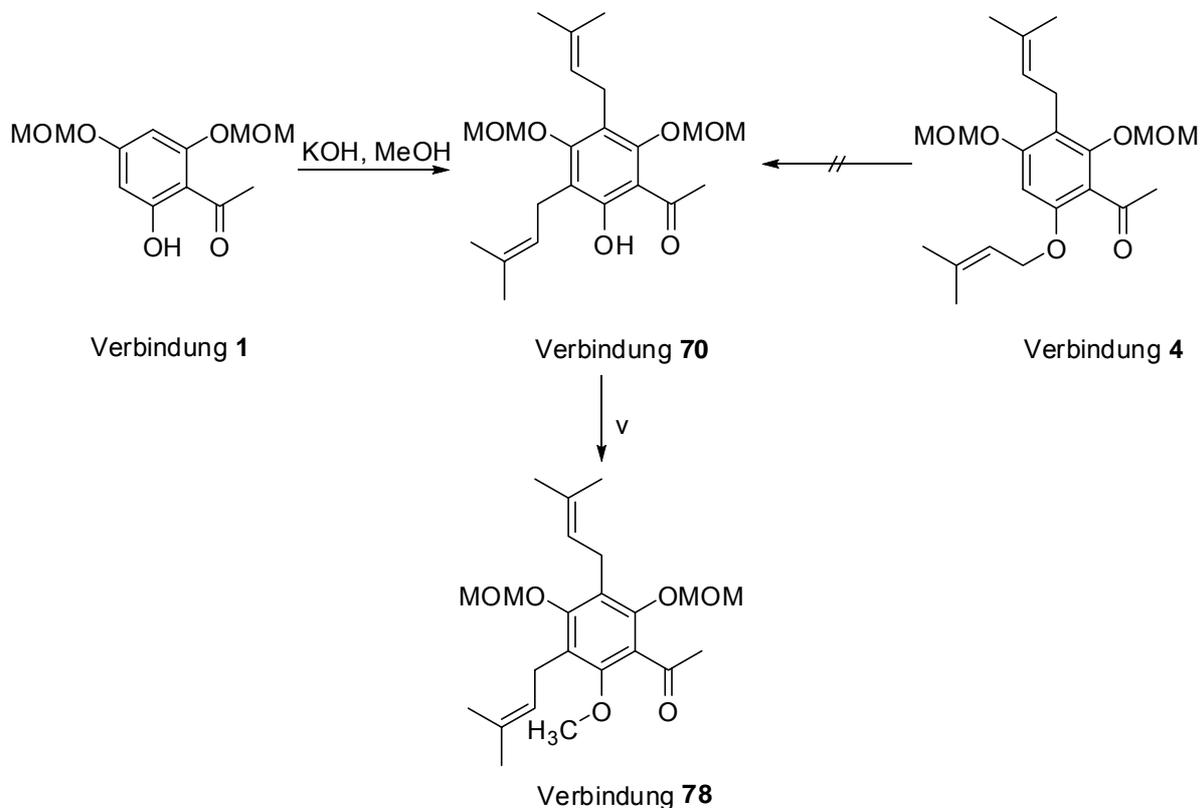


Abbildung C-30: Direkte Prenylierung (Exp. Teil S. 118) und Umlagerung zur Herstellung eines diprenylierten Acetophenonderivates; (v) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, $(\text{n-C}_4\text{H}_9)_3\text{N}^+\text{I}^-$

Am erfolgreichsten ist die Einführung der zweiten Prenylkette durch eine weitere nucleophile Substitution an der freien phenolischen OH-Gruppe von Verbindung **71** (siehe Abb. C-32 und Exp. Teil Seite 153). Das einfach entschützte O-prenylierte Acetophenon (Verbindung **71**) wird durch Behandlung von Verbindung **2** mit HCl im Eisbad fast quantitativ gewonnen. Die selektive Abspaltung einer MOM-Schutzgruppe erfolgte in guter Ausbeute von 96% und ohne Bildung von Nebenprodukten.

Um die Abspaltung von beiden Schutzgruppen zu vermeiden, wird die Reaktion bei 0°C im Eisbad durchgeführt. Außerdem verhindert die niedrige Temperatur die Spaltung des Ethers. Verbindung **2** wird in Aceton gelöst und die Lösung wird tropfenweise mit 3 N Salzsäure angesäuert und 4 Stunden im Eisbad gerührt. Der Verlauf der Entschützung wird dabei laufend durch Dünnschichtchromatographie

verfolgt. Die Abspaltung der Schutzgruppe in *ortho*-Position zur Carbonylgruppe ist wahrscheinlicher, da durch die räumliche Nähe eine Wasserstoff-Brücke zur Carbonyl-Gruppe gebildet werden kann.

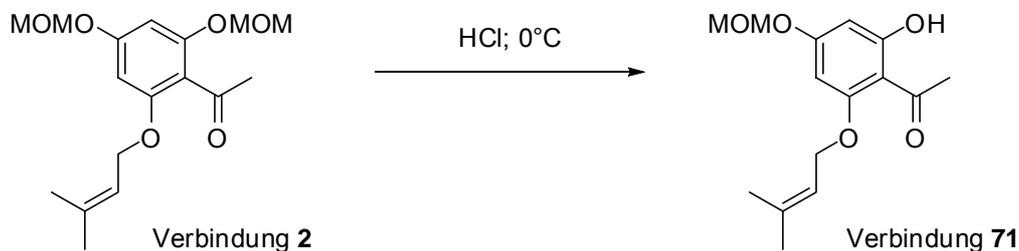


Abbildung C-31: Selektive Entschützung von Verbindung 2

Die zweite Prenylkette wird nun ebenfalls durch nucleophile Substitution mit der freien Hydroxygruppe zu einem Ether eingebracht (Verbindung 72). Das zweifach C-prenylierte Produkt, Verbindung 73 erhält man durch thermische Umlagerung von Verbindung 72 bei 200°C. Der letzte Schritt in der diprenylierten A-Ring-Synthese ist die Methylierung der freien OH-Gruppe, wobei Verbindung 74 entsteht (siehe Abb. C-32).

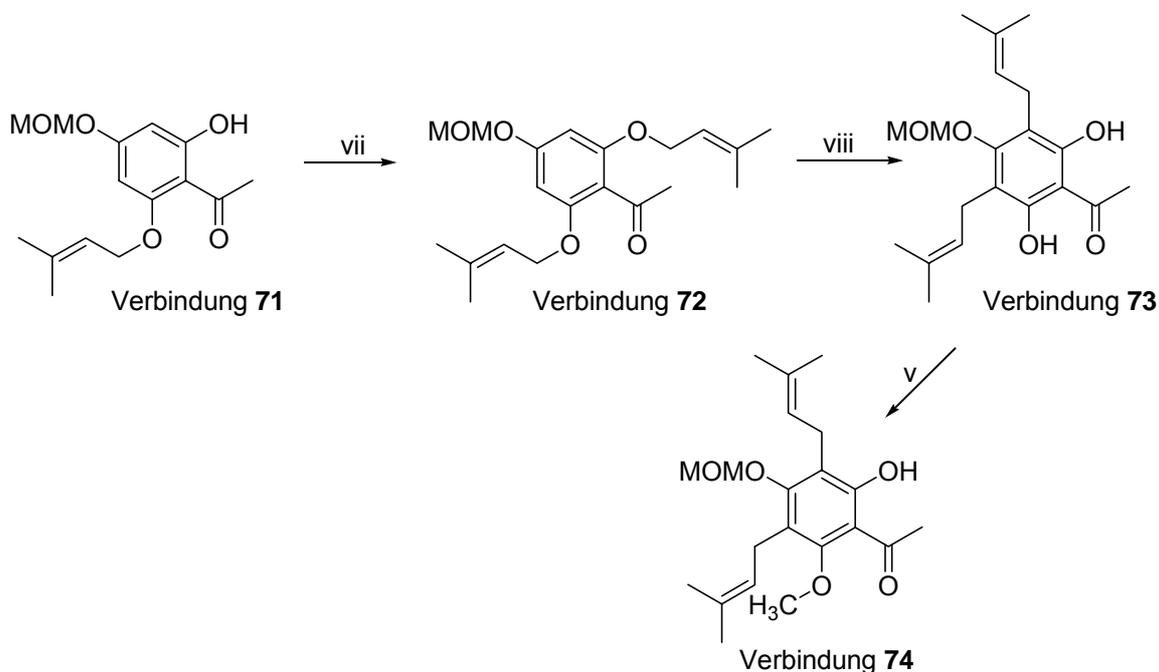


Abbildung C-32: Herstellung von diprenylierten Acetophenonderivaten; (vii) Prenyl-Br, K_2CO_3 , Aceton, reflux; (viii) N,N-Dimethylanilin, 200°C, Argon; (v) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, $(n\text{-C}_4\text{H}_9)_3\text{N}^+\text{I}^-$

Die Kupplung mit dem geschützten B-Ring erfolgt als Aldol-Kondensation unter basischen Bedingungen. Für die Xanthohumol analoge Struktur mit einer zweiten Prenylkette in 5'-Position ergibt sich Verbindung **75**, für das Chalkon ohne die Methoxygruppe entsteht Verbindung **76** (siehe Abb. C-33 und Exp. Teil Seite 136).

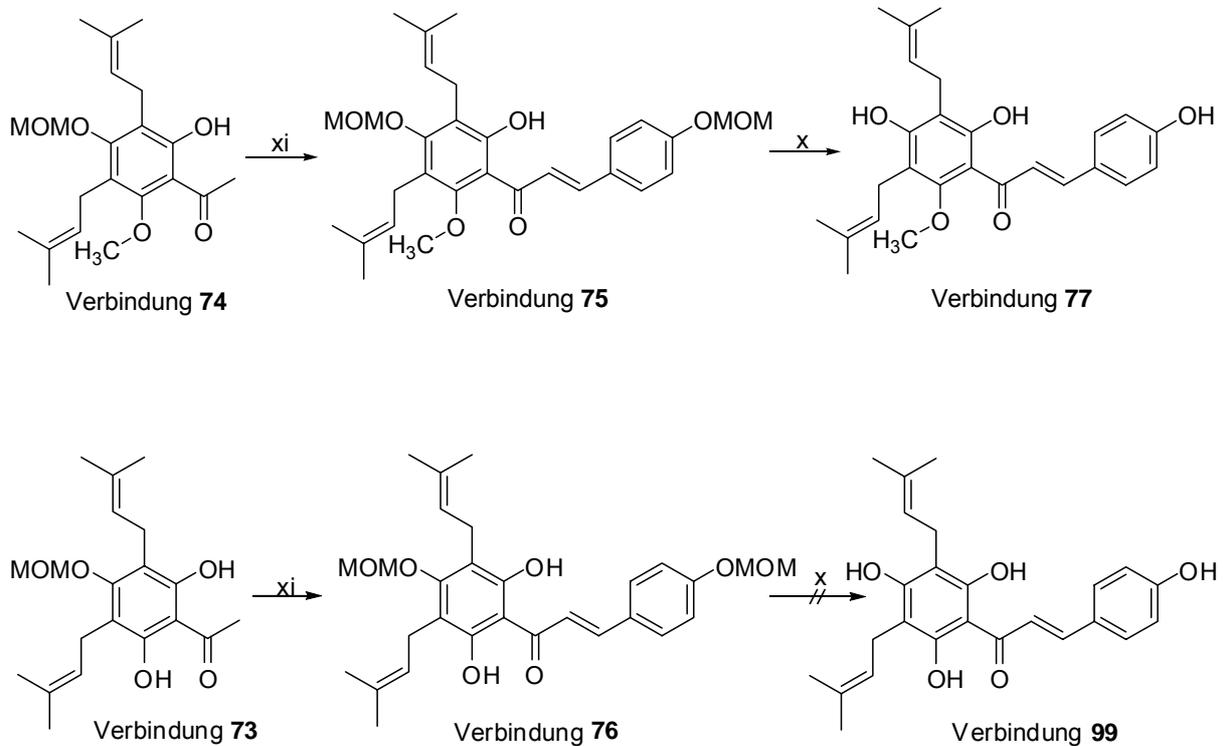


Abbildung C-33: Herstellung der diprenylierten Chalcone durch Aldolkopplung und Entschützung (xi) KOH, EtOH/H₂O; (x) 3 N HCl, MeOH, 15 min reflux

Das 5'-Prenylxanthohumol (Verbindung **77**) wird durch die Abspaltung der Schutzgruppen aus Verbindung **75** gewonnen. Beim Entschützen von Verbindung **76** entsteht nicht das 3',5'-Diprenylchalconaringenin. Es kommt zu einer Zyklisierung zum Flavanon (siehe Abb. C-34). In der Natur entsteht ein Gleichgewicht zwischen Chalkon und Flavanon (Verbindung **99**), wenn die Hydroxygruppe in 2' und 6'-Position nicht substituiert sind. Hier ist dies zur Seite der Flavanone verschoben.

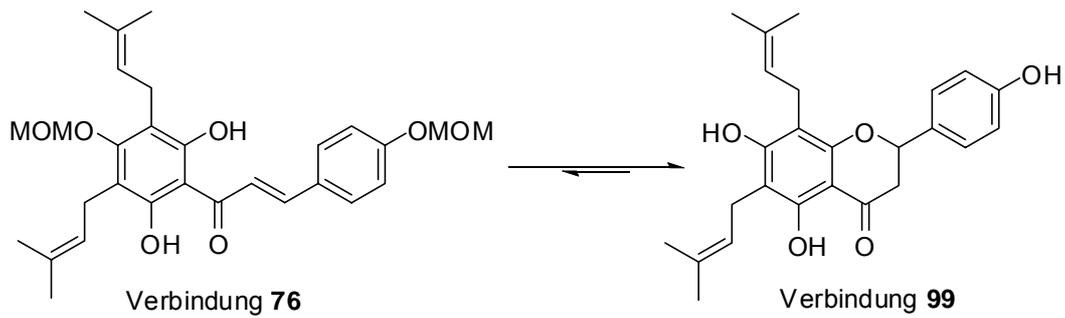


Abbildung C-34: Zyklisierung von Verbindung **76** zum Flavanon Verbindung **99**

Verbindung **70** wird durch das Anbringen der Methoxygruppe in 6'-Position in Verbindung **78** abgewandelt. Sowohl Verbindung **70** als Verbindung **78** werden mit dem geschützten 4-Hydroxybenzaldehyd in die entsprechende Chalkonstruktur überführt. (siehe Tab. C-13)

Tabelle C-13: Geschützte Diprenylchalkone

Name	Struktur	Verbindung
6'-Hydroxy-2',4,4'- tri(methoxymethoxy)-3',5'- diprenylchalkon		79
6'-Methoxy-2',4,4'- tri(methoxymethoxy)-3',5'- diprenylchalkon		80

Bei der Abspaltung der Schutzgruppen von Verbindung **80** entsteht Verbindung **77**, bei Verbindung **79** kann wieder nur das zyklisierte Produkt zum Flavanon (Verbindung **99**) erhalten werden.

9.4 Hydratisierung der Prenylseitenkette

Eine ebenfalls interessante Möglichkeit der Strukturvariation bietet die Prenylgruppe. Es wird die Einführung einer Hydroxygruppe durch eine Addition an der Doppelbindung durchgeführt. Zur Darstellung des entsprechenden A-Rings wird eine Oxymercurierung an der Doppelbindung der Prenylseitenkette gewählt (Exp. Teil Seite 123).

Die Oxymercurierung erfolgt üblicherweise stereospezifischer als anti-Addition [92]. Die Hydroxygruppe addiert an der gegenüberliegenden Seite des Quecksilberacetats. Diese Reaktion verläuft in zwei Schritten: Der eigentlichen Oxymercurierung, bei der der zentrale Schritt der elektrophile Angriff eines Quecksilberacetats (HgOAc^+) an das weniger substituierte C-Atom ist, und einer Demercurierung, in der die Quecksilberacetoxy-Gruppierung reduziert und durch ein Wasserstoff ersetzt wird. Das Quecksilberacetat (HgOAc^+) bildet sich im Gleichgewicht aus Hg(II)-Acetat. Zunächst greift das Quecksilberacetat an dem weniger substituierten C-Atom an, weil sich so im Übergangszustand das stärker substituierte partiell positiv geladene C-Atom bildet. Formal gesehen ist im metallorganischen Dreiring die Bindung des Quecksilber-Atoms zu dem stärker substituierten C-Atom länger als die zu dem weniger substituierten. Diese Reaktion verläuft aber nachweislich über einen cyclischen Übergangszustand, da es zu keiner Umlagerung kommt. Bei einer echten Carbenium-Ion-Zwischenstufe würde die Umlagerung des sekundären Carbenium-Ions zu einem tertiären Carbenium-Ion zu beobachten sein. Im vorliegenden Mechanismus wird die cyclische Zwischenstufe dann von einem Wasser-Molekül an dem partiell positiv geladenen also dem stärker substituierten C-Atom angegriffen. Im zweiten Schritt wird eine Demercurierung mit Natriumborhydrid vorgenommen. Der Mechanismus beinhaltet den Angriff eines Hydridions aus dem NaBH_4 auf das Hg-substituierte Kohlenstoffatom unter Regenerierung des Quecksilbers. Man erhält somit eine hydratisierte Doppelbindung [92].

Diese Addition an die Doppelbindung nach Markownikow von Verbindung **6** liefert als Hauptprodukt Verbindung **81**. Als Nebenprodukt entsteht in kleinen Mengen Verbindung **82**. (siehe Abb. C-35).

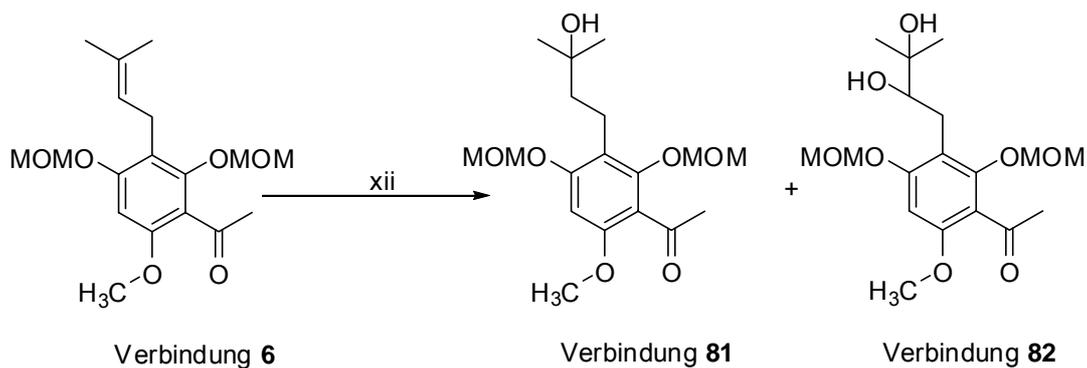


Abbildung C-35: Addition einer Hydroxygruppe an die Prenylseitenkette von Verbindung **6**; (xii) $\text{Hg}(\text{OAc})_2$

Bei der Reaktion entsteht das in der Literatur beschriebene Produkt mit der Hydroxygruppe in 3'-Position [96]. Als Hauptprodukt geht Verbindung **81** hervor, bei der die OH-Gruppe nach Markownikow angelagert wird, als Nebenprodukt entsteht in kleinen Mengen die dihydroxilierte Verbindung **82** (siehe Abb. C-35).

Das Protonenspektrum von Verbindung **81** belegt diese Reaktion. Es zeigt jeweils ein Dublett vom Triplet bei 1,66 ppm und 2,68 ppm mit Kopplungskonstanten von 4,4 und 7,8 Hz. Ein einzelnes Proton in 3'-Position ist nicht aufgetreten.

Durch diese Markownikow-Hydatisierung wird der A-Ring in die Struktur des bekannten Metaboliten Xanthohumol H überführt. Diese Verbindung ist sowohl eine Minorverbindung im Hopfen [93] als auch ein Phase-I-Metabolit des Xanthohumols [18, 19]. Der einfach hydratisierte, geschützte A-Ring (Verbindung **81**) wird nun in einer Aldol-Kupplung mit dem geschützten 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd umgesetzt. Dabei entsteht Verbindung **83**. Weiter werden noch zwei weitere Benzaldehyde mit dem modifizierten A-Ring Verbindung **81** gekoppelt. Dazu werden der 3,4-geschützte Benzaldehyd (Verbindung **11**) und das Vanillin (Verbindung **14**) ausgewählt. Bei diesen Kupplungsreaktionen entstehen Verbindung **84** und **85** als gewünschte Chalkone. (siehe Tabelle C-14)

Tabelle C-14: Geschützte Chalconderivate mit einer hydroxylierten Prenylseitenkette

Name	Struktur	Verbindung
3'-(3''-Hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon		83
3'-(3''-Hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxy-2',3,4,4'-tetra(methoxymethoxy)chalkon		84
3'-(3''-Hydroxy-3''-methylbutyl)-3,6'-dimethoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon		85

Das vollständig geschützte Chalkon Verbindung **83** wird im letzten Schritt in einem Methanol/Salzsäure-Gemisch 15 Minuten unter Rückfluss gerührt. Das Entfernen aller Schutzgruppen liefert Xanthohumol H (Verbindung **86**) als gewünschtes Produkt. Die am B-Ring abgewandelten Derivate werden ebenfalls durch das Abspalten aller Schutzgruppen in die entsprechenden Chalkone überführt. Das Produkt mit den zwei Hydroxygruppen am B-Ring ist Verbindung **87**, das Chalkon mit dem Vanilin als Kupplungspartner ergibt Verbindung **88** (siehe Tabelle C-15).

Tabelle C-15: Chalkone mit hydroxylierter Prenylseitenkette

Name	Struktur	Verbindung
2',4',4'-Tri(hydroxy)-3'(3''-hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxychalkon		86
2',3,4,4'-Tetra(hydroxy)-3'(3''-hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxychalkon		87
2',4,4'-Tri(hydroxy)-3'(3''-hydroxy-3''-methylbutyl)-3,6'-dimethoxychalkon		88

9.5 Ringschlussreaktionen

Eine weitere interessante Möglichkeit der Strukturvariation bietet der Ringschluss der Prenylkette. Die Seitenkette kann in die Struktur von bekannten Metaboliten, z.B. Xanthohumol C überführt werden und es können auch einige natürliche oder in der Natur nicht vorkommende Minorverbindungen synthetisiert werden.

Xanthohumol C besitzt eine Benzoisochromenstruktur. Die Prenylkette ist dabei zu einem Pyranring zyklisiert, an dem die Hydroxygruppe in 4'-Position beteiligt ist. Zur Synthese dieser Substanz wird der fertige A-Ring des Xanthohumols, Verbindung **6**

herangezogen. Bei diesem müssen die beiden MOM-Schutzgruppen in 2'- und 4'-Position entfernt werden. Dies erfolgt durch die vollständige Entschützung in einem Methanol/Salzsäure-Gemisch (v/v 5:1) für 15 Minuten unter Rückfluss. Die erhaltene Verbindung **48** wird nun mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ) in Benzol und einigen Tropfen Dioxan zu Verbindung **89** zyklisiert (siehe Exp. Teil Seite 125 und Abb. C-36). Dies geschieht in einer Redox-Reaktion. Dabei ist der Ringschluss eine Oxidationsreaktion und die Reduktion erfolgt am DDQ [97].

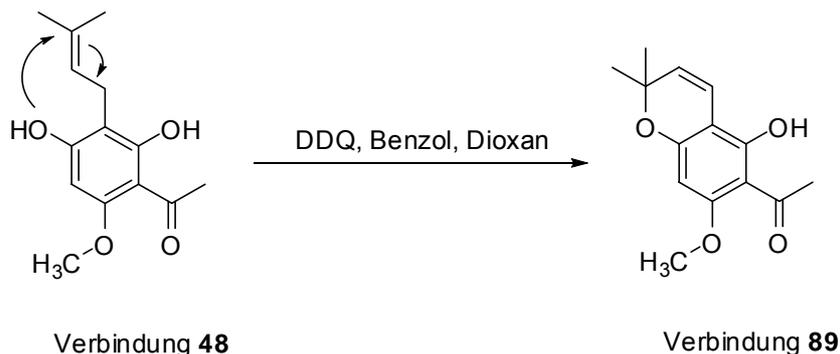


Abbildung C-36: Zyklisierung des A-Rings zur Synthese von Xan C

Ein freies Elektronenpaar am Sauerstoff greift an der Doppelbindung an, wobei diese um klappt. Es entsteht ein konjugiertes System mit dem Aromaten, welches dadurch stabilisiert wird. Die beiden Protonen werden mit ihren Elektronen vom 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon aufgenommen. (siehe Abb. C-37)

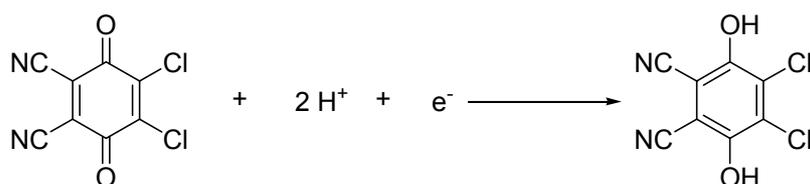


Abbildung C-37: Reduktion des DDQ

Der Ringschluss erfolgt ausschließlich mit der Hydroxygruppe in 4'-Position. Die freie Hydroxykette in 2'-Position ist in eine Wasserstoffbrücke mit der Carbonylfunktion eingebunden und es entstehen daher keine unerwünschten Nebenprodukte.

Die Kupplung dieses geschützten A-Rings, Verbindung **89** bei der die Prenylseitenkette mit der 4'-Hydroxyposition einen Ring bildet mit dem entsprechend maskierten 4-Hydroxybenzaldehyd liefert Verbindung **90**. Es werden noch zwei

weitere Benzaldehyde mit Verbindung **89** gekuppelt. Dazu werden der 3,4-geschützte Benzaldehyd (Verbindung **11**) und das Vanilin (Verbindung **14**) ausgewählt. Das Produkt mit den zwei geschützten Hydroxygruppen am B-Ring ist Verbindung **91**, das Chalkon mit dem Vanilin als Kupplungspartner ergibt Verbindung **92** (siehe Abb. C-38).

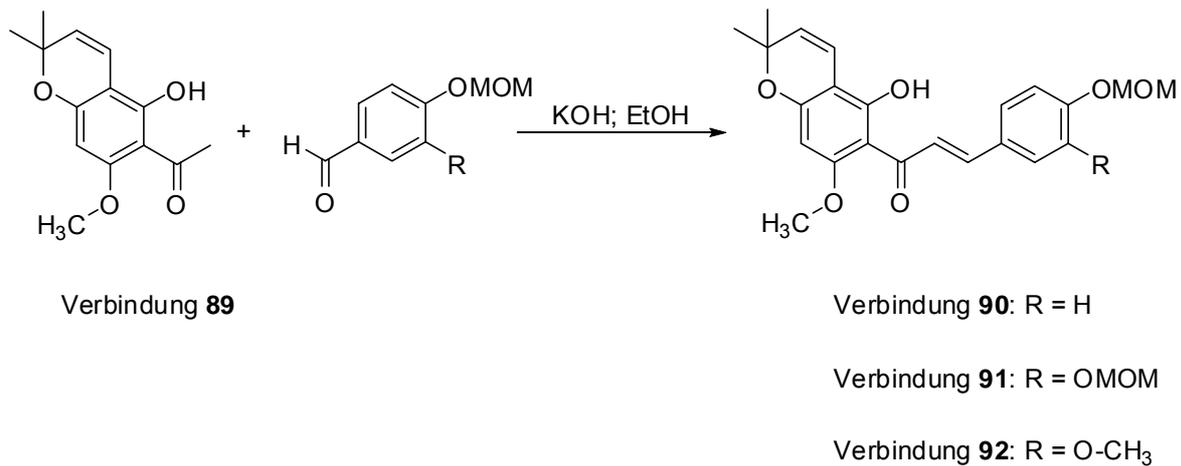


Abbildung C-38: Geschütztes Xanthohumol C und seine Analoga

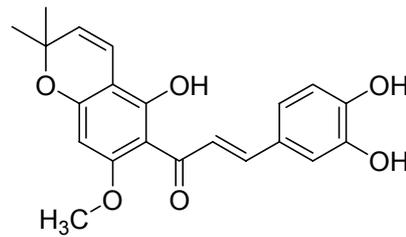
Die Entfernung der Schutzgruppe von Verbindung **90** liefert Verbindung **93**. Dies ist eine Minorkomponente im Hopfen [93]. Sie besitzt den Trivialnamen Xanthohumol C. Durch die Abspaltung der Schutzgruppen bei den beiden anderen Ringsystemen entstehen die Xanthohumol C-Derivate, die am B-Ring zwei Substituenten aufweisen. Verbindung **94** besitzt eine weitere Hydroxygruppe in 3-Position. Bei Verbindung **95** ist die Xanthohumol C verwandte Struktur durch eine zusätzliche Methoxygruppe in 3-Position ergänzt. (siehe Tabelle C-16).

Tabelle C-16: Xanthohumol C und seine Analoga

Name	Struktur	Verbindung
2'',2''- Dimethylpyrano[2'',3''':3',4']- 2',4-dihydroxy-6'- methoxychalkon		93

2'',2''-

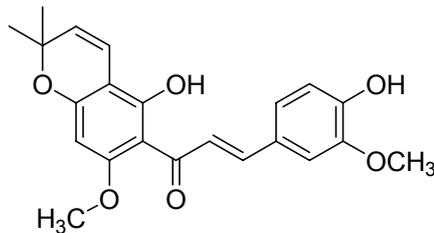
Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-

2',3,4-trihydroxy-6'-
methoxychalkon

94

2'',2''-

Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-

2',4-dihydroxy-3,6'-
dimethoxychalkon

95

9.6 Ringschlussreaktion ohne Doppelbindung

Um den Einfluss der Doppelbindung im Xanthohumol C zu untersuchen und herauszufinden welche Bedeutung sie für die pharmakologische Aktivität des Moleküls hat, wird nun eine Verbindung ohne diese Doppelbindung im Pyranring synthetisiert.

Um den analogen A-Ring zu Xanthohumol C ohne die Doppelbindung herzustellen, wird wie schon für das Xanthohumol C selbst, die ungeschützte am Ring prenylierte Verbindung **48** verwendet. Diese wird mit Ameisensäure in Tetrahydrofuran 3 Stunden unter Rückfluss gerührt (Abb. C-39 und Exp. Teil Seite 125) [98]. Dabei findet eine Protonierung der Doppelbindung statt. Es bildet sich das stabilisierte Carbanion. Nun kann ein freies Elektronenpaar des Sauerstoffs an der positiv geladenen Seite der Doppelbindung angreifen. Im letzten Schritt wird das überschüssige H^+ -Ion abgespalten und kann von der Ameisensäure wieder aufgenommen werden. Die Reaktion läuft nach dem Prinzip einer Addition an eine Doppelbindung ab [92].

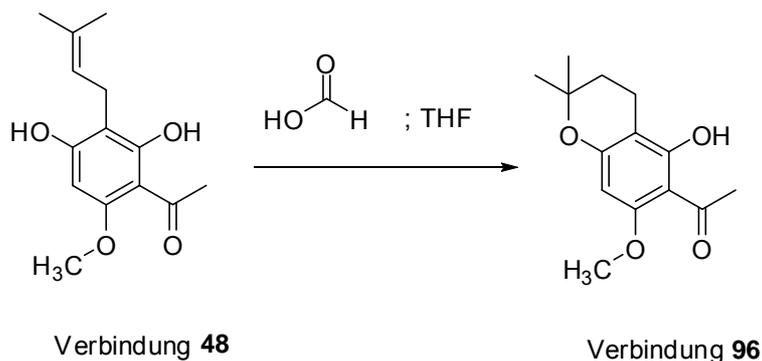


Abbildung C-39: A-Ring des Xanthohumol C ohne die Doppelbindung im Pyranring

Die Prenylkette ist jetzt zu einem Pyranring ohne Doppelbindung, Verbindung **96** zyklisiert, an dem die Hydroxygruppe in 4'-Position beteiligt ist (s. Abb. C-39). Auch hier entstehen keine Nebenprodukte durch eine Zyklisierung in 2'-Position. Die Umsetzung des A-Ringes mit dem geschützten 4-Hydroxy-Benzaldehydderivat erfolgt wie bei allen bereits synthetisierten Chalkonen in Ethanol unter basischen Bedingungen. (Exp. Teil Seite 128)

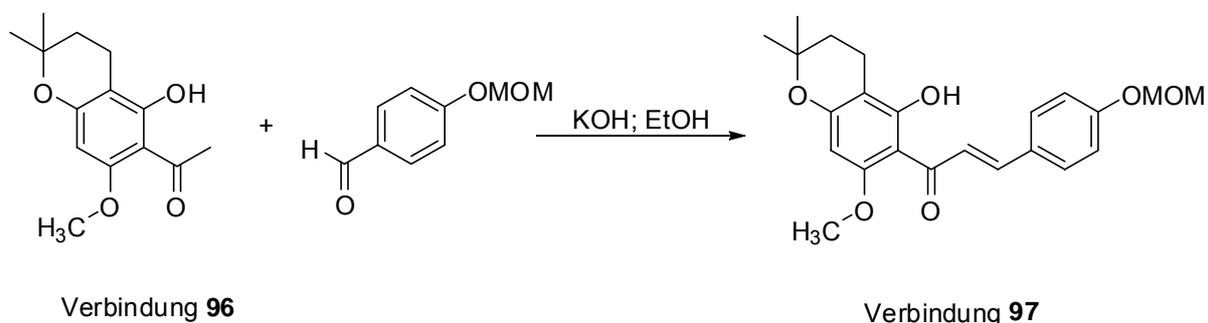
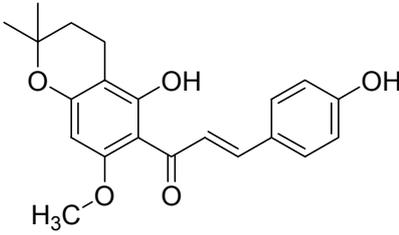


Abbildung C-40: Geschütztes Ringchalkon ohne Doppelbindung

Das so erhaltene Chalkon Verbindung **97** wird zur Vervollständigung der Synthese noch entschützt. Das Abspalten aller Schutzgruppen liefert Verbindung **98** als gewünschtes Produkt.

Tabelle C-17: Ringchalkon ohne Doppelbindung

Name	Struktur	Verbindung
2'',2''-Dimethyl-3'',4''-dihydro-(2H)-pyrano[2'',3'':3',4']-2',4-dihydroxy-6'-methoxychalkon		98

D Pharmakologische Prüfung

Die Aufgaben im zweiten Teil dieser Arbeit lagen zum einen in der *in vitro* Testung der synthetisierten Verbindungen auf ihre zytotoxische Wirkung (Hemmung des Zellwachstums an der humanen Gebärmutterhalskrebstumorzelllinie HeLa) und zum Anderen auf der Testung ihrer Radikalfängereigenschaften und damit der antioxidativen Wirkung. Das Vorgehen und die Ergebnisse zu beiden Testsysteme werden in den folgenden Punkten vorgestellt.

1 Bestimmung der Zytotoxizität

Zytotoxizität ist die Fähigkeit einiger chemischen Substanzen (z.B. auch Arzneistoffe) Zellen zu schädigen. Diese Schädigung kann auch *in vivo* durch Zellen des Immunsystems geschehen, z.B. durch Antikörper, zytotoxische T-Zellen und natürliche Killerzellen. Auch Viren können zytotoxisch wirksam sein. Die Zytotoxizität einer Substanz kann z.B. mit dem MTT-Test bestimmt werden. Das Detektionsprinzip dieses kolorimetrischen Tests beruht auf der reduktiven Spaltung des Tetrazol-Ringes von MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) zu violetten wasserunlöslichen Formazankristallen.

1.1 *In vitro* Testung an der humanen Gebärmutterhalskrebstumorzelllinie HeLa

Die zytotoxische Wirksamkeit der synthetisierten Verbindungen wurde an HeLa Zellen untersucht. Es handelt sich dabei um eine Zelllinie, die aus menschlichen Epithelzellen eines Zervixkarzinoms (Gebärmutterhalskrebs) einer 31-jährigen afroamerikanischen Frau aus Baltimore etabliert wurde. Bei der Patientin **Henrietta Lacks** (daher der Name) wurden einige dieser Zellen von einem Karzinom am Muttermund entfernt, um sie auf ihre Malignität zu untersuchen. Die entfernten Zellen waren vom humanen Papillomvirus 18 (HPV18) befallen. Der Gendefekt konnte inzwischen aufgeklärt werden: Die Zellen waren sowohl durch ein virales Protein, welches den p53 Tumorsuppressor inaktiviert, als auch durch eine Mutation in Frau Lacks HLA (Humanes Leukozyten Antigen) Supergenfamilie auf Chromosom 6 zu Tumorzellen entartet.

2 Der MTT-Assay

Der MTT-Assay ist ein Standard-Test zur Bestimmung der Hemmung von Zellwachstum und der Zytotoxizität [101]. Zellen werden *in vitro* mit dem MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid), einem gelben Tetrazoliumsalz, inkubiert, um ihre Lebensfähigkeit beziehungsweise den Anteil lebender Zellen im Vergleich zu einer Kontrollprobe von Zellen zu messen. Dies ist beispielsweise nach Testung einer giftigen Substanz notwendig, um den Nachweis der Toxizität der Substanzen auf die Zellen zu zeigen. Der kolorimetrische MTT-Test beruht auf der reduktiven Spaltung des Tetrazol-Ringes von MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) zu violetten wasserunlöslichen Formazankristallen (siehe Abbildung D-1) durch zelluläre Dehydrogenasen, die wesentlich in den Mitochondrien lebender Zellen stattfindet.

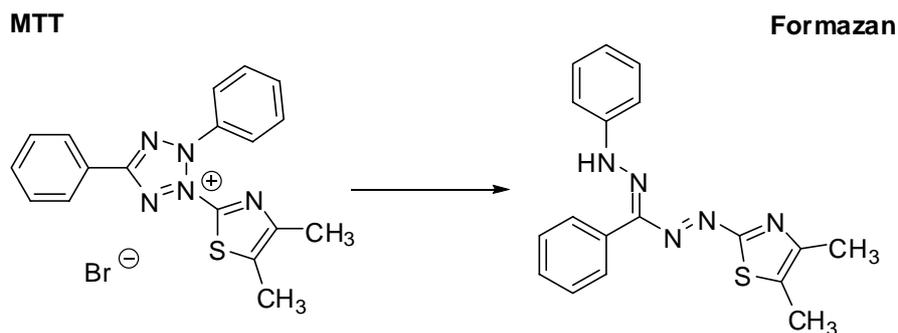


Abbildung D-1: Reduktion des gelben MTTs zum violetten Formazan

MTT ist ein nicht membrangängiges Tetrazoliumsalz. Es wird von Zellen vermutlich durch Endozytose aufgenommen. In den Zellen wird es durch Oxidoreduktasen der Mitochondrien, des endoplasmatischen Retikulums und des Cytosols zu einem blauvioletten Formazan reduziert, welches sich in der Bildung von nadelförmigen Kristallen äußert. Nur lebende Zellen enthalten aktive Dehydrogenasen, deshalb bleibt bei toten Zellen die Bildung des Farbstoffs aus [101].

Die Menge an gebildetem Formazan durch die Umwandlung des MTT ist ein Maß für die Lebensfähigkeit (engl. „viability“) der Zellen in Kultur. Die Menge des gebildetem Formazan hängt von der Anzahl der Zellen (und der enthaltenen Mitochondrien) und von ihrem „Gesundheitszustand“ ab.

Beobachtet man nach der Behandlung mit einer Substanz eine verminderte Fähigkeit zur Reduktion von MTT im Vergleich zur Lösungsmittelkontrolle, zeigt dies sehr allgemein eine die Zellen schädigende Wirkung an. Ob Apoptose, Nekrose, Hemmung der Oxidoreduktasen oder (bei langer Expositionszeit) Wachstumshemmung die Ursache sind, kann mit dem MTT-Test nicht untersucht werden. Da die Menge an umgesetztem MTT zur Anzahl der Zellen proportional ist, wird der MTT-Test gelegentlich auch als Proliferationstest verwendet.

Um die Toxizität einer Substanz zu testen werden die Zellen in einer 96 Well Platte zunächst entweder mit der Testsubstanz oder mit dem Lösungsmittel inkubiert (Versuchsdurchführung siehe Experimenteller Teil). Für die Quantifizierung der Zytotoxizität werden pro Well 15 μ l MTT-Lösung (5 mg/ml) zugegeben und die Zellen für 4 h bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Dann wird vorsichtig das überstehende Medium mit dem Überschuss an MTT abgesaugt und die Formazanfärbung mit einer 10%igen SDS-Lösung (sodium dodecylsulfate) in Wasser gelöst. Nach 24 Stunden Inkubationszeit im Dunkeln bei Raumtemperatur wird die optische Dichte der gefärbten Lösungen photometrisch in einem Mikrotiterplatten-Autoreader bei 560 nm gemessen.

Bestimmt man die optische Dichte der Lösung findet man einen quantitativen Zusammenhang zwischen Anzahl der lebenden Zellen und der Absorption. Daraus lässt sich aus der Messung der Absorption bei verschiedenen Konzentrationen der IC_{50} -Wert der Substanz berechnen, welcher Auskunft darüber gibt, wie effektiv das Zellwachstum gehemmt werden kann. Für die Bestimmung der IC_{50} -Werte wird die optische Dichte gegen die logarithmische Konzentration aufgetragen. Je niedriger der IC_{50} -Wert ist, desto höher ist die zytotoxische Aktivität der Substanz.

3 Testung der synthetisierten Substanzen auf ihre Zytotoxizität an der humanen Gebärmutterhalskrebstumorzelllinie HeLa

3.1 Allgemeines

Alle synthetisierten Verbindungen werden an der beschriebenen Zelllinie auf ihre zytostatischen bzw. zytotoxischen Fähigkeiten getestet. Zum ersten sichtbar machen von Struktur-Wirkungs-Beziehungen werden die Verbindungen hierzu in Unterklassen

eingeteilt, an denen nur geringe Strukturveränderungen durchgeführt werden. Die angegebenen IC_{50} -Werte sind jeweils die Mittelwerte aus mindestens drei unabhängigen Experimenten (und zwei Messreihen pro Experiment), wobei für die Messungen immer eine Verdünnungsreihe erstellt wird mit einer Ausgangskonzentration von 50 $\mu\text{g/ml}$. Die Verdünnung erfolgt 1:1 im Test (50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,563; 0,78; 0,39; 0,195 $\mu\text{g/ml}$)

3.2 Ergebnisse der Testsubstanzen im MTT-Assay

Tabelle D-1: IC_{50} - Werte ($\mu\text{mol/l}$) der Testverbindungen im MTT-Assay

Verbindung	Konzentrationsbereich ($\mu\text{mol/l}$)	IC_{50} - Werte ($\mu\text{mol/l}$)	Standardabweichung ($\mu\text{mol/l}$)
Verbindung 16	0,55 – 141,18	9,4	1,4
Verbindung 22	0,55 – 141,18	5,9	0,4
Verbindung 23	0,55 – 141,18	4,8	0,3
Verbindung 24	0,53 – 135,08	2,5	0,5
Verbindung 25	0,53 – 135,08	3,2	0,4
Verbindung 26	0,50 – 129,49	30,3	6,4
Verbindung 29	0,49 – 125,57	17,1	1,8
Verbindung 30	0,51 – 130,15	10,1	1,6
Verbindung 33	0,68 – 174,65	5,2	0,8
Verbindung 34	0,65 – 165,52	14,8	2,1
Verbindung 39	0,65 – 166,61	19,2	1,2
Verbindung 40	0,62 – 159,17	12,2	1,5
Verbindung 58	0,57 – 147,00	16,5	1,3
Verbindung 59	0,55 – 141,18	28,3	3,6

Tabelle D-1: IC₅₀- Werte (µmol/l) der Testverbindungen im MTT-Assay

Verbindung	Konzentrationsbereich (µmol /l)	IC ₅₀ - Werte (µmol /l)	Standardabweichung (µmol /l)
Verbindung 60	0,53 – 135,81	25,6	3,3
Verbindung 61	0,53 – 135,81	11,8	1,7
Verbindung 62	0,55 – 141,18	16,4	1,5
Verbindung 68	0,48 – 122,49	18,2	1,7
Verbindung 69	0,46 – 118,42	8,2	1,2
Verbindung 77	0,46 – 118,42	9,7	2,1
Verbindung 86	0,52 – 134,35	9,2	1,5
Verbindung 87	0,50 – 128,82	35,9	3,9
Verbindung 88	0,48 – 124,33	39,2	2,7
Verbindung 93	0,55 – 141,99	12,5	1,7
Verbindung 94	0,53– 135,82	13,0	1,3
Verbindung 95	0,51 – 130,84	13,2	1,6
Verbindung 98	0,55 – 141,18	15,4	1,4

3.3 Diskussion der Ergebnisse

Hopfen (*Humulus lupulus* L.) besitzt ein breites Spektrum von strukturell verwandten prenylierten Chalkonen, wobei Xanthohumol das am reichlichsten vorkommende Chalkon ist. Das Spektrum von Minorkomponenten beinhaltet zum Beispiel Xanthogalenol, 4'-O-Methylxanthohumol, 5'-Prenylxanthohumol, Xanthohumol B, C, D, E und H. Aufgrund der guten Verfügbarkeit von Xanthohumol, das aus der Isolierung von Hopfen oder durch die Synthese in guten Ausbeuten erlangt werden kann, ist die pharmakologische Charakterisierung bedeutend fortgeschritten und es zeigt sich ein interessantes Spektrum an pharmakologischen Effekten [102-104].

Neben seiner bemerkenswerten aniproliferativen Wirkung gegen verschiedene Krebszelllinien [54, 56, 63], weist Xanthohumol auch apoptotische Aktivität auf [62, 63] und zeigt chemopreventive Effekte [50, 55]. Weiterhin werden in mehreren in vitro Studien fundierte Effekte an Enzymen und Transkriptionsfaktoren beobachtet, die bei der Entstehung von Krebs beteiligt sind [57-62]. Erst vor kurzem wurde von einer in vivo Wachstumshemmung eines Gefäßtumors berichtet [61].

In Anlehnung an die Literaturdaten von anderen Zelllinien, zeigt Xanthohumol eine bemerkenswerte zytotoxische Aktivität mit einem IC_{50} -Wert von $9,4 \pm 1,4 \mu\text{M}$.

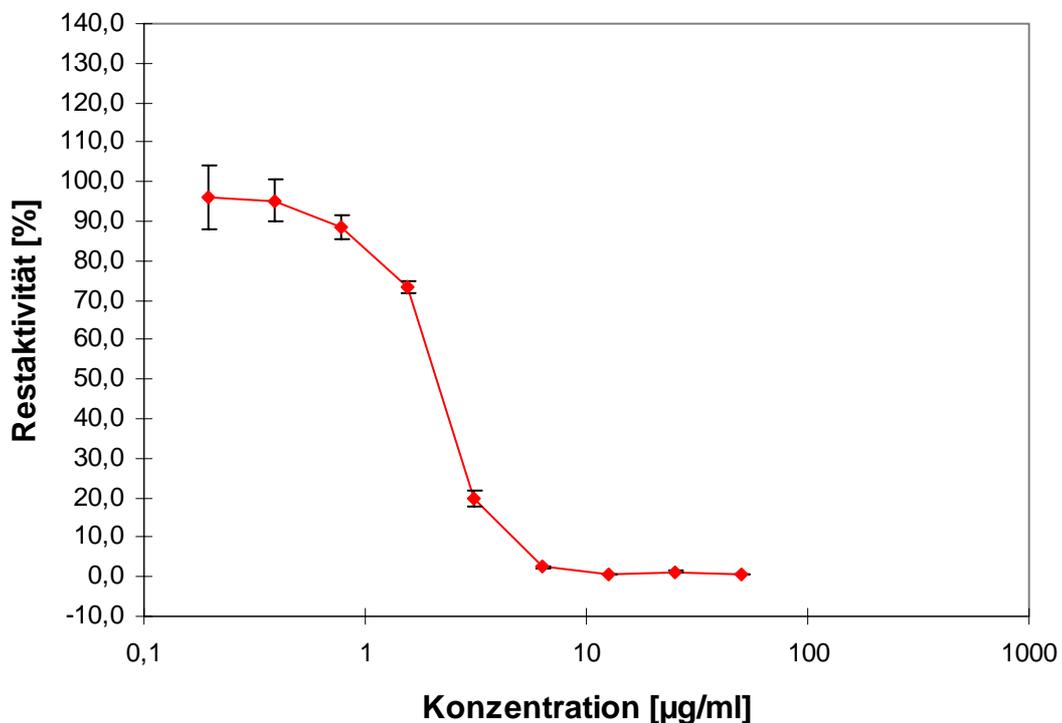


Abbildung D-2: Bestimmung des IC_{50} -Wertes von Xanthohumol. Dabei wird die optische Dichte gegen die logarithmische Konzentration aufgetragen.

In dieser Arbeit wurden die Möglichkeiten der Strukturvariation an den beiden aromatischen Ringen der Chalkonstrukturen untersucht und getestet.

3.3.1 Variationen am B-Ring

Interessanterweise besitzen die durch die Variation der Anzahl und Position der Hydroxygruppe am B-Ring hergestellten Verbindungen eine höhere Wirkung als das Xanthohumol selbst, mit Ausnahme der dreifach substituierten Verbindung **26**. Die

Verbindung **23** mit der Hydroxygruppe in 3'-Position besitzt mit einem IC_{50} von $4,8 \pm 0,3 \mu\text{M}$ eine deutlich höhere Aktivität als das Xanthohumol mit $9,4 \pm 1,4 \mu\text{M}$. Die Substanz mit der Hydroxygruppe in 2'-Position zeigt ebenfalls eine höhere Aktivität mit einem IC_{50} -Wert von $5,9 \pm 0,4 \mu\text{M}$.

Die beiden nicht natürlichen dihydroxylierten Verbindungen 2',3,4,4'-Tetrahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon und 2',3,4',5-Tetrahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon sind dabei jedoch die aktivsten mit IC_{50} -Werten von $2,5 \pm 0,5 \mu\text{M}$ und $3,2 \pm 0,4 \mu\text{M}$. Dabei ist besonders von Bedeutung, da Verbindung **24**, diese ist als ein möglicher Phase-I-Metabolit von Xanthohumol bekannt [18], eine bessere Wirkung zeigt als das Xanthohumol selbst. Das trihydroxylierte Chalkon (Verbindung **26**) dagegen weist eine deutlich geringere Aktivität auf ($IC_{50} 30,3 \pm 6,4 \mu\text{M}$). Im Vergleich zum Xanthohumol liegt hier der IC_{50} -Wert um den Faktor 3 höher.

Die zweifach substituierten Substanzen erreichen die höchste zytotoxische Aktivität, weshalb auch eine Umwandlung einer bzw. beider Hydroxygruppen in eine Methoxykette untersucht wird. Das 2',4,4'-Tri(hydroxy)-3,6'-di(methoxy)-3'-prenylchalkon (Verbindung **30**) mit einer Methoxygruppe und nur einer Hydroxygruppe am B-Ring zeigt eine Aktivität von $10,1 \pm 1,6 \mu\text{M}$. Es lässt sich feststellen, dass die Hemmwirkung hier in derselben Größenordnung wie bei der Vergleichsverbindung **16** liegt, jedoch im Vergleich zum dihydroxyliertem Analogon einen um den Faktor 4 höheren IC_{50} -Wert (und damit eine niedrigere Aktivität) besitzt. Die Substanz mit zwei Methoxygruppen am B-Ring in 3'- und 4'-Position (Verbindung **29**) zeigt einen deutlich höheren IC_{50} -Wert von $17,1 \pm 1,8 \mu\text{M}$ und damit noch geringere Aktivität.

3.3.2 Chalkone ohne Prenylkette

Um den Einfluss der Prenylseitenkette auf die Aktivität des Xanthohumol zu untersuchen und herauszufinden ob und welche Bedeutung dieser Substituent für das Molekül hat, werden nun Verbindungen ohne diese Seitenkette synthetisiert und getestet.

Dazu werden Helichrysetin und 3-Hydroxyhelichrysetin als Analoga zu Xanthohumol (Verbindung **16**) und dem Metaboliten 3-Hydroxyxanthohumol (Verbindung **24**) ausgewählt. Außerdem werden das Flavokawin, Verbindung **39** und 2',4-Dihydroxy-4',6'-dimethoxy-3'-methylchalkon, Verbindung **40** untersucht. Flavokawin wurde von

Stevens et al. im Jahr 2000 als eine Minorkomponente in *Humulus lupulus* entdeckt [93]. Aber auch hier sind auf Grund der geringen Konzentration in der Pflanze bis jetzt wenig pharmakologische Daten bekannt.

In dem hier durchgeführten Test zeigt sich, dass fast alle getesteten Verbindungen ohne Prenylkette IC_{50} -Werte erreichen, die etwas höher liegen als die IC_{50} -Werte der Substanzen mit Prenylseitenkette. Das Helichrysetin zeigt als einzige Verbindung einen sichtlich niedrigeren IC_{50} -Wert.

Ein Vergleich der zytotoxischen Aktivität von prenylierten Verbindungen, wie Xanthohumol und 3-Hydroxyxanthohumol mit ihren korrespondierenden nicht prenylierten Analoga Helichrysetin (IC_{50} $5,2 \pm 0,8 \mu\text{M}$) and 3-Hydroxyhelichrysetin (IC_{50} $14,8 \pm 2,1 \mu\text{M}$) zeigt, dass die Prenylseitenkette in C-3'-Position nur einen Einfluss auf die Zytotoxizität bei den dihydroxilierten Verbindungen hat. Beim Vergleich von 4-O-Methylxanthohumol (IC_{50} $11,8 \pm 1,7 \mu\text{M}$) und Flavokawin erweist sich die prenylierte Substanz als etwas besser, wobei eine deutliche Veränderung der antiproliferativen Wirkung nicht beobachtet werden kann.

Das Flavokawin (Verbindung **39**) besitzt einen IC_{50} -Wert von $19,2 \pm 1,2 \mu\text{M}$, wobei Verbindung **40**, die sich nur durch eine Methylgruppe in 3'-Position unterscheidet einen etwas geringeren IC_{50} -Wert von $12,2 \pm 1,5 \mu\text{M}$ besitzt.

Die Prenylkette scheint daher für die zytotoxischen Eigenschaften im MTT Test keine spezifische Bedeutung zu haben. Offensichtlich ist diese Position austauschbar. Dies ergibt interessante Möglichkeiten für einen Austausch der Substituenten an C-3' für die nicht prenylierten Xanthohumol Analoga mit dem Versuch synthetische Verbindungen mit noch höherer Zytotoxizität gegenüber Tumorzellen zu erhalten. Auch die Entwicklung von Hybrid- und Bivalenten Molekülen unter Nutzung von C-3' als Kupplungsposition ist möglich.

3.3.3 Variationen am A-Ring

Eine weitere Modifikation entsteht durch die Variation und Überführung der verschiedenen Hydroxygruppen am A-Ring in verschiedene Methoxygruppen. Dabei treten einige Unterschiede im Vergleich zum Xanthohumol als Leitstruktur auf.

Alle Verbindungen mit der Variation der verschiedenen Methoxygruppen weisen eine geringere Wirkung auf die HeLa-Zellen auf. Die IC_{50} -Werte liegen deutlich höher als bei Xanthohumol. (siehe Tabelle D-1) Als Substituent des B-Rings wird zunächst

konstant immer eine Hydroxygruppe in 4'-Position gewählt, da die einzelnen Verbindungen so besser mit Xanthohumol als Leitsubstanz verglichen werden können.

In Anlehnung an die Literaturdaten von anderen Zelllinien, zeigt Xanthohumol eine bemerkenswerte zytotoxische Aktivität mit einem IC_{50} -Wert von $9,4 \pm 1,4 \mu\text{M}$, wobei Desmethylxanthohumol, das keine Methoxygruppe am A-Ring besitzt, eine geringere Wirkung mit einem IC_{50} -Wert von $16,5 \pm 1,3 \mu\text{M}$ aufweist.

Der IC_{50} -Wert von $11,8 \pm 1,7 \mu\text{M}$ für das 4'-O-Methylxanthohumol (Verbindung **61**), welches eine zweite Methoxygruppe an C-4' trägt, unterscheidet sich nur geringfügig von dem IC_{50} -Wert von Xanthohumol. Jedoch ist das Flavokawin als analoge Substanz zum 4'-O-Methylxanthohumol ohne Prenylkette nochmals geringfügig schlechter.

Das Xanthogalenol (Verbindung **59**), mit der Methoxygruppe in 4'-Position und nicht in 6'-Position, und das 4,6'-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy-3'-prenylchalcon (Verbindung **60**), welches zwei Methoxygruppen in 2'- und 4'-Position besitzt, weisen dagegen eine deutlich geringere Wirkung mit IC_{50} -Werten von $28,3 \pm 3,6 \mu\text{M}$ und $25,6 \pm 3,3 \mu\text{M}$ auf als das Xanthohumol.

Die Verbindungen mit einer Methoxygruppe in 6'-Position besitzen hier immer eine größere zytotoxische Wirkung auf die HeLa-Zellen im Vergleich zu den Substanzen mit der Methoxygruppe in 4'-Position, wobei man bei der zweiten Methoxygruppe in 4'-Position zu der an C-6' keine so deutliche Verschlechterung der Aktivität feststellt. Der Wechsel der Methoxykette in der 4'-Position scheint daher nicht so günstig für die zytotoxische Wirkung.

Eine Verbindung mit der Methoxy-Alkylkette nur in 2'-Position ist in der Natur bisher nicht bekannt. Diese Substanz wird aber dennoch synthetisiert, um den Einfluss in dieser Position mit der Leitstruktur von Xanthohumol zu vergleichen.

Die biologische Aktivität von Xanthoflorianol (Verbindung **62**) mit einem IC_{50} -Wert von $16,4 \pm 1,5 \mu\text{M}$ ist im Bezug auf Verbindung **16** jedoch nicht so gut.

Eine direkte Beziehung zwischen Struktur und Aktivität der Verbindungen durch den Austausch der Methoxygruppen in ihrer Anzahl und Position zu erstellen ist zu diesem Zeitpunkt noch nicht möglich.

Eine weitere Möglichkeit der Strukturvariation ist die Verlängerung der Prenylseitenkette in eine Geranylseitenkette.

In dieser Arbeit wird die Minorkomponente 3'-Geranylchalkonaringenin, die bisher einzige isolierte geranylierte Verbindung aus Hopfen und das 3'-Geranyl-2',4',4'-trihydroxy-6'-methoxychalkon untersucht. Im Gegensatz zu dem im Hopfen vorkommenden Chalkon besitzt es eine Methoxygruppe an der 6'-Position.

Bei der im Hopfen natürlich vorkommenden Geranylverbindung (Verbindung **68**), mit einer Hydroxygruppe in 6'-Position ergibt sich ein IC_{50} -Wert von $18,2 \pm 1,7 \mu M$, der fast das Zweifache von Xanthohumol beträgt, sich jedoch von dem Desmethylxanthohumolwert kaum unterscheidet.

Bei der synthetisierten Geranylverbindung (Verbindung **69**) hingegen zeigt sich eine leichte Erhöhung der zytotoxischen Wirkung auf die HeLa-Zellen. Die Verdoppelung der Prenylseitenkette zur Geranylkette bei der sonst analogen Xanthohumolstruktur erweist sich hier als Vorteil. Es kann ein IC_{50} -Wert von $8,2 \pm 1,2 \mu M$ festgestellt werden. Bei der Verlängerung der Prenylseitenkette zur Geranylkette erhält man für die in der Natur nicht vorkommende Substanz eine bessere zytotoxische Aktivität als für die natürliche Verbindung.

Es wird außerdem nicht nur die Verlängerung der Prenylkette, sondern auch eine mehrfache Einführung der Prenylkette untersucht. Die Einführung einer zweiten Prenylkette in 5'-Position zu der in 3'-Position weist einen IC_{50} -Wert von $9,7 \pm 2,1 \mu M$ auf. Der IC_{50} -Wert dieser Verbindung zeigt eine Wirkung, die nahezu identisch mit der der Stammverbindung ist. Die diprenylierte Substanz mit der Methoxygruppe in 6'-Position (Verbindung **77**) ist daher etwa gleich gut wirksam wie die Leitsubstanz Xanthohumol.

Mit dieser Strukturmodifikation, einer Substitution der 5'-Position am aromatischen A-Ring mit einer zusätzlichen Prenylkette wird eine weitere Gruppe von zytostatisch wirksamen Hemmstoffen entwickelt.

Eine ebenfalls interessante Möglichkeit der Strukturvariation bietet die Prenylgruppe. Es wird die Einführung einer Hydroxygruppe durch eine Addition an der Doppelbindung durchgeführt. Von besonderem Interesse ist die pharmakologische Wirkung von Xanthohumol H (Verbindung **86**), welches nicht nur eine Minorkomponente in Hopfen, sondern auch ein Phase-I-Metabolit ist. Durch diese Tatsache, dass sich diese Reaktion häufig im Xanthohumol Metabolismus ereignet (an verschiedenen Stellen des Moleküls) ist pharmakologische Testung dieser Verbindung interessant. Das Xanthohumol H (Verbindung **86**), an dem sich die

Hydroxygruppe in 3''-Position der Seitenkette befindet zeigt in dem Zelltest einen ähnlichen IC_{50} -Wert wie das Xanthohumol. Es besitzt einen IC_{50} -Wert von $9,2 \pm 1,5 \mu\text{M}$.

Die beiden Derivate mit modifiziertem Substituentenmuster am B-Ring sind jedoch deutlich schwächer wirksam als das Xanthohumol H selbst. Die Derivate des Xanthohumol H mit zwei Hydroxygruppen am B-Ring in 3- und 4-Position (Verbindung **87**) und je einer Hydroxy- und Methoxygruppe am B-Ring (Verbindung **88**) zeigen mit IC_{50} -Werten von $35,9 \pm 3,9 \mu\text{M}$ und $39,2 \pm 2,7 \mu\text{M}$ eine deutlich niedrigere zytotoxische Aktivität an den Zellen. Auch bei dem Vergleich der IC_{50} -Werte der Verbindungen mit Hydroxygruppe in der Seitenkette mit den IC_{50} -Werten der Analoga mit Prenylkette zeigt sich eine um den Faktor 12-14 geringere zytotoxische Aktivität.

Die Einführung eines zweiten Substituenten am aromatischen B-Ring weist bei den hier getesteten Verbindungen immer eine wesentlich schlechtere zytotoxische Wirksamkeit auf, wobei es bei den prenylierten Analoga zu einer Verbesserung der Wirkung kommt. Interessant wäre nun auch, ob die Variation der Hydroxygruppe an 4'-Position einen Einfluss auf die Zytotoxizität besitzt.

Eine weitere interessante Modifikation entsteht durch den Ringschluss der Prenylseitenkette. Die Seitenkette kann so in die Struktur von bekannten Metaboliten, z.B. Xanthohumol C überführt werden. Xanthohumol C besitzt eine Benzoisochromenstruktur. Das Xanthohumol C (Verbindung **93**), an dem die Prenylkette zu einem Pyranring mit der Hydroxygruppe in 4'-Position zyklisiert ist, weist einen IC_{50} -Wert von $12,5 \pm 1,7 \mu\text{M}$ auf. Im Vergleich zum Xanthohumol liegt hier der IC_{50} -Wert geringfügig höher. Auch die Derivate des Xanthohumol C mit zwei Hydroxygruppen, in 3- und 4-Position am B-Ring (Verbindung **94**) und je einer Hydroxy- und Methoxygruppe am B-Ring (Verbindung **95**) zeigen mit einen IC_{50} -Wert von $13,0 \pm 1,3 \mu\text{M}$ und $13,2 \pm 1,6 \mu\text{M}$ eine niedrigere Aktivität als Xanthohumol.

Es lässt sich feststellen, dass die Hemmwirkung hier in derselben Größenordnung wie bei dem Xanthohumol C liegt, jedoch bei dem Vergleich der Ring-geschlossenen Substanzen mit den offenkettigen Verbindungen höhere IC_{50} -Werte besitzt.

Ein Einfluss des substituierten B-Rings ist bei diesen Verbindungen nicht zu erkennen, da sowohl Xanthohumol C, als auch die beiden strukturähnlichen Substanzen fast die gleichen IC_{50} -Werte erreichen. Der Ringschluss der Prenylkette zu einem Pyranring im Molekül scheint für die Zytotoxizität an den HeLa-Zellen nicht

direkt von Vorteil zu sein, da die offenkettigen Verbindungen jeweils niedrigere IC_{50} -Werte besitzen.

Um den Einfluss der Doppelbindung im Xanthohumol C zu untersuchen und herauszufinden welche Bedeutung sie für das Molekül hat, wird nun eine Verbindung ohne diese Doppelbindung im Pyranring untersucht.

Das 2'',2''-Dimethyl-3'',4''-dihydro-(2H)-pyrano[2'',3'':3',4']-2',4-dihydroxy-6'-methoxy-chalkon (Verbindung **98**), welches die gleiche Struktur wie das Xanthohumol C hat nur ohne Doppelbindung im Pyranring, hat einen IC_{50} -Wert von $15,4 \pm 1,4 \mu\text{M}$.

Dies ist mit dem IC_{50} -Wert von Xanthohumol C fast identisch und ebenfalls geringer als die zytotoxische Wirkung des Xanthohumol. Es lässt sich feststellen, dass die Hemmwirkung bei allen nochmals zyklisierten Verbindungen in derselben Größenordnung liegt. Die Doppelbindung im Xanthohumol C scheint bei dieser Verbindung also keinen Einfluss auf die pharmakologischen Daten zu haben.

E ORAC-Fluorescein Assay

1 Grundlagen des Assays

Freie Radikale sind oft hochreaktive Sauerstoffverbindungen (aggressive Moleküle), die die Zellen und DNA schädigen können.

Reaktive Sauerstoffspezies (Reactive Oxygen Species, ROS) werden durch normale zelluläre Reaktionen in aeroben Organismen gebildet. Sie werden von Phagozyten bei immunologischen Vorgängen („respiratory burst“) zur Abwehr von Mikroorganismen freigesetzt oder entstehen in den stark stoffwechselaktiven Mitochondrien oder den Peroxisomen. Auch die Aktivität der CYP P450 Enzyme, die an vielen Stoffwechselvorgängen beteiligt sind, trägt zur zelleigenen ROS-Bildung bei [105]. Zu den ROS gehören neben reaktivem Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$) Wasserstoffperoxid (H_2O_2), das Superoxidanion-Radikal ($\text{O}_2^{\bullet-}$), Peroxydradikale (HO_2^{\bullet} und ROO^{\bullet}) und das Hydroxylradikal (OH^{\bullet}) [106]. Meist zählt man auch Alkoxyradikale (RO^{\bullet}), Hypochlorige Säure (OCl^-) sowie Ozon (O_3) dazu.

Die vermehrte Bildung von freien Radikalen erfolgt durch Stress, Ozon, UV-Strahlung, einseitige Ernährung, Alkohol- und Tabakkonsum. Dieses Übergewicht von freien Radikalen nennt man oxidativer Stress [105-111].

Sind Zellen starkem Stress ausgesetzt, kann sich dieser in einem Anstieg der intrazellulären ROS-Konzentration äußern. Da Radikale auf Grund ihrer ungepaarten Elektronen sehr reaktiv sind, greifen sie nicht nur gezielt körperfremde Bestandteile an, sondern reagieren ebenso mit körpereigenen Molekülen wie DNA, Proteinen und den Lipiden der Zellmembranen. Dies kann zu Veränderungen und Schädigungen der jeweiligen Biomoleküle führen. Damit sind ROS vermutlich wichtige Mitverursacher einer Vielzahl von Krankheiten wie zum Beispiel Krebs oder Arteriosklerose. Außerdem spielen sie eine entscheidende Rolle im Alterungsprozess [105].

Daher stehen der Zelle bzw. dem Organismus mehrere Möglichkeiten zur Verfügung, um die Anzahl von ROS zu regulieren. Fehlerhafte Moleküle können von der Zelle erkannt und abgebaut werden, womit einer Fehlfunktion oder Mutation vorgebeugt wird. Des Weiteren ist die Zelle in der Lage bereits entstandene Schäden zu erkennen und zu beseitigen (DNA-Reparatur-Enzyme).

Die Bildung von ROS kann verhindert oder aber ihre Konzentration verringert werden, indem antioxidative Enzyme ROS reduzieren oder niedermolekulare Substanzen diese abfangen oder ihre Bildung verhindern (Antioxidantien). Zu diesen Enzymen gehören die Superoxiddismutase, die die Reaktion vom Superoxidradikal zu Wasserstoffperoxid katalysiert, ebenso wie die Glutathion-peroxidasen und die Katalase, die Wasserstoffperoxid zu H₂O umsetzen [113]. Oxidativer Stress kann aber auch durch Zuführung von externen Antioxidantien wieder ausgeglichen werden.

Ein Antioxidans ist eine Substanz, die im Vergleich zu einem oxidierbaren Substrat in niedriger Konzentration vorhanden ist und die dessen Oxidation signifikant verzögert oder verhindert [114]. Antioxidantien neutralisieren freie Radikale und sind klassische Radikalfänger. Durch die Anwesenheit natürlicher Antioxidantien in der Zelle, wie z.B. Vitamin C, α -Tocopherol, β -Carotin, Harnsäure, Albumin oder Glutarsäure wird die Zellschädigung verhindert oder verzögert. Diese reagieren mit den aggressiven ROS und machen sie dadurch für die Zellen unschädlich. Darüber hinaus können Schäden durch Reparaturprozesse entfernt werden [107, 110].

Der Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay ist eine Messmethode zur Bestimmung der gesamten antioxidativen Kapazität von Reinsubstanzen und Gemischen [112]. Dabei wird die Fluoreszenz eines Fluorophors unter dem Einfluss spezieller Radikale im zeitlichen Verlauf detektiert. Durch die Radikale wird der Fluorophor oxidiert und die Fluoreszenz verschwindet. Antioxidantien schützen den Fluorophor vor der Oxidation durch die Radikale, was sich in verstärkter Fluoreszenz bemerkbar macht. Die Fläche unter der gemessenen Fluoreszenzkurve ist bei vollständigem Abbau proportional zur gesamten antioxidativen Kapazität der Probe. Die antioxidative Aktivität des untersuchten Materials wird mit einer „Area under the curve“ -(AUC) Technik ermittelt, um sowohl die Verhinderung der Radikalentstehung durch Antioxidantien als auch die Dauer dieser Verhinderung einzubeziehen.

Sind Substanzen mit antioxidativem Potential in der Probe vorhanden, können die durch einen Radikalbildner erzeugten Sauerstoffradikale abgefangen werden, so dass der Fluorophor in geringerem Ausmaß oxidiert wird. Weiterhin ist vorstellbar, dass die Radikalentstehung über eine Wechselwirkung mit dem Radikalbildner verzögert wird. Zur Quantifizierung dieser Wirkung wurde die Fläche unter der Kurve (AUC) ermittelt, die sowohl Ausmaß als auch Dauer der Verzögerung der Fluoreszenzabnahme erfasst. In beiden Fällen wird der Abbau des Fluorophors

verzögert und die Fläche unter der Kurve nimmt im Vergleich zum Ansatz ohne Antioxidans zu (siehe Abbildung E-3).

Zunächst wurde 1993 von Cao et al. B-Phycoerythrin (B-PE), ein wasserlösliches Protein-Gemisch aus *Porphyridium cruentum*, als Fluorophor verwendet. Es besitzt eine hohe Quantenausbeute und gegenüber ROS eine hohe Sensitivität [112]. Es sind jedoch einige Nachteile erkennbar:

- Es finden unspezifische Wechselwirkungen mit Polyphenolen durch Proteinbindung statt. Die Messwerte für Substanzen dieser Art werden dadurch signifikant verfälscht.
- Die Photostabilität unter den Reaktionsbedingungen ist nicht gewährleistet
- B-PE variiert bezüglich der Zusammensetzung, woraus eine unterschiedliche Reaktivität gegenüber ROS resultiert.

Daher wird in neueren Assays Fluorescein als Fluorophor verwendet [115]. Die Reaktion von Fluorescein mit Radikalen beruht auf einem Transfer von Wasserstoffatomen. Fluorescein und Fluorescein-Derivate sind die am häufigsten verwendeten Fluorophore zur Markierung von Biomolekülen. Sie sind preiswert, besitzen eine hohe Fluoreszenzquantenausbeute ($f = 0,78$) und sind photostabil. Außerdem liegen ihre Anregungs- und Emissionswellenlängen im langwelligen Bereich. ($\lambda_{ex} = 492 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$). Fluorescein zeigt außerdem keine Wechselwirkungen mit Polyphenolen, was für die Testung der Chalkone von großer Bedeutung ist.

Als Radikalbildner wird in diesem Assay 2,2'-Azobis(2-Methylpropionamidin)-dihydrochlorid (AAPH) verwendet. Bei der thermischen Zersetzung von AAPH unter Freisetzung von Stickstoff entstehen Kohlenstoffradikale, die durch Reaktion mit Sauerstoff reaktive Peroxidradikale bilden. Durch die Verwendung von AAPH als Erzeuger der reaktiven Sauerstoffspezies, werden die Substanzen in erster Linie auf ihre Eigenschaft getestet, die gebildeten Radikale abzufangen. Das Fluorescein wird durch die Peroxidradikale oxidiert, wodurch die Fluoreszenz verloren geht (siehe Abbildung E-1).

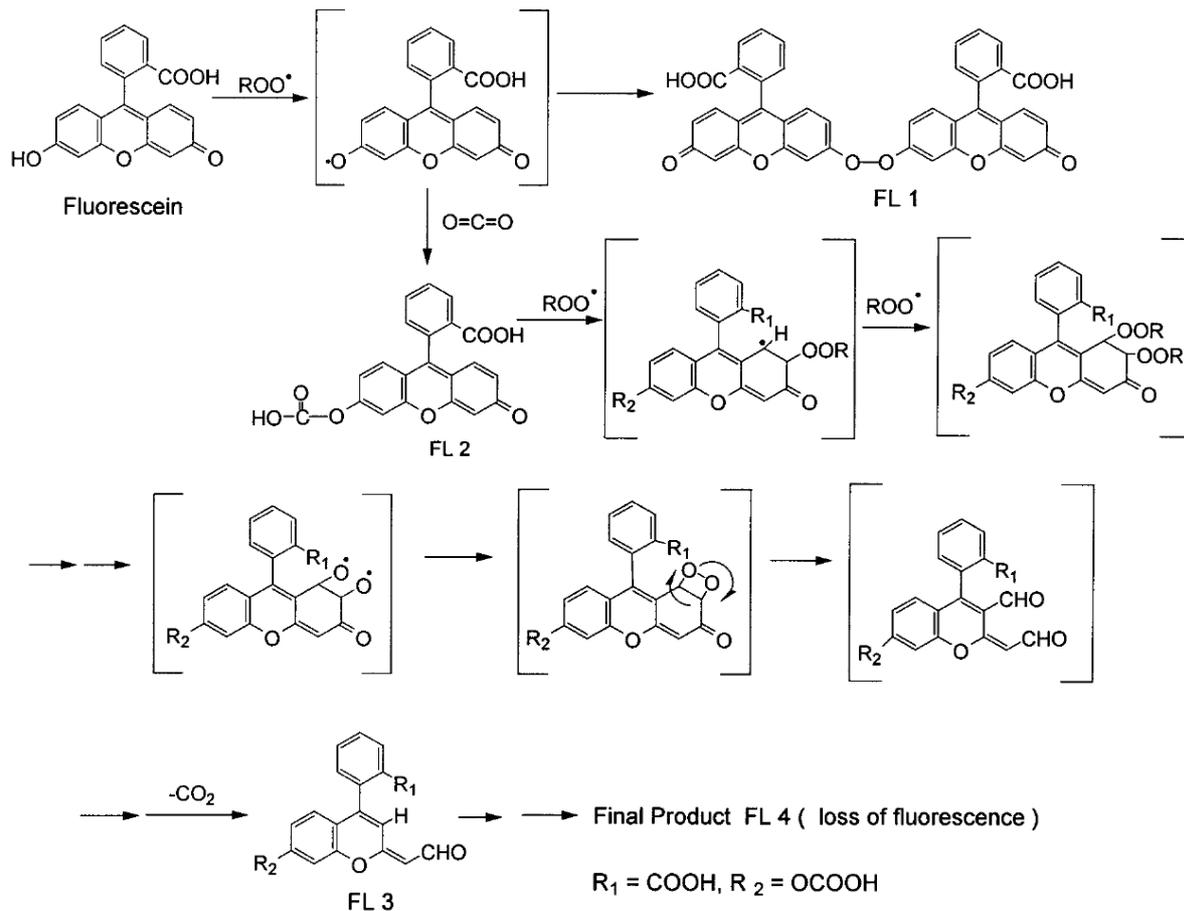


Abbildung E-1: Vermuteter Mechanismus der Fluorescein-Oxidation in Gegenwart von AAPH [115]

Trolox, 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure ist ein wasserlösliches Vitamin E-Analogon mit guten Radikalfänger-Eigenschaften und wird beim ORAC-Fluorescein-Assay als Standard-Antioxidanz verwendet. Alle Ergebnisse werden auf Trolox bezogen und in Trolox-Äquivalenten (TE) angegeben.

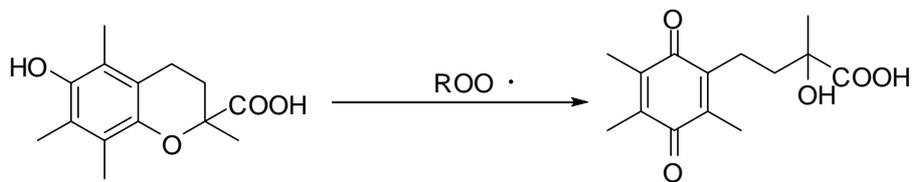


Abbildung E-2: Trolox verhindert die Oxidation von Fluorescein, indem es die von AAPH gebildeten Peroxyd-Radikale abfängt. Als Oxidationsprodukt entsteht ein Chinon

So kann die antioxidative Aktivität verschiedener Antioxidantien aus unterschiedlichen Assays miteinander verglichen werden. Außerdem wird dadurch die Reproduzierbarkeit gewährleistet.

Aktive Substanzen, wie z. B Trolox fangen die von AAPH gebildeten Radikale ab, was in einer Verzögerung der Oxidation von Fluorescein und in einer dadurch verzögerten Abnahme der gemessenen Fluoreszenz erkennbar ist. Abbildung E-3 zeigt diesen Zusammenhang für unterschiedliche Trolox-Konzentrationen zur Etablierung einer Positivkontrolle (n=4)

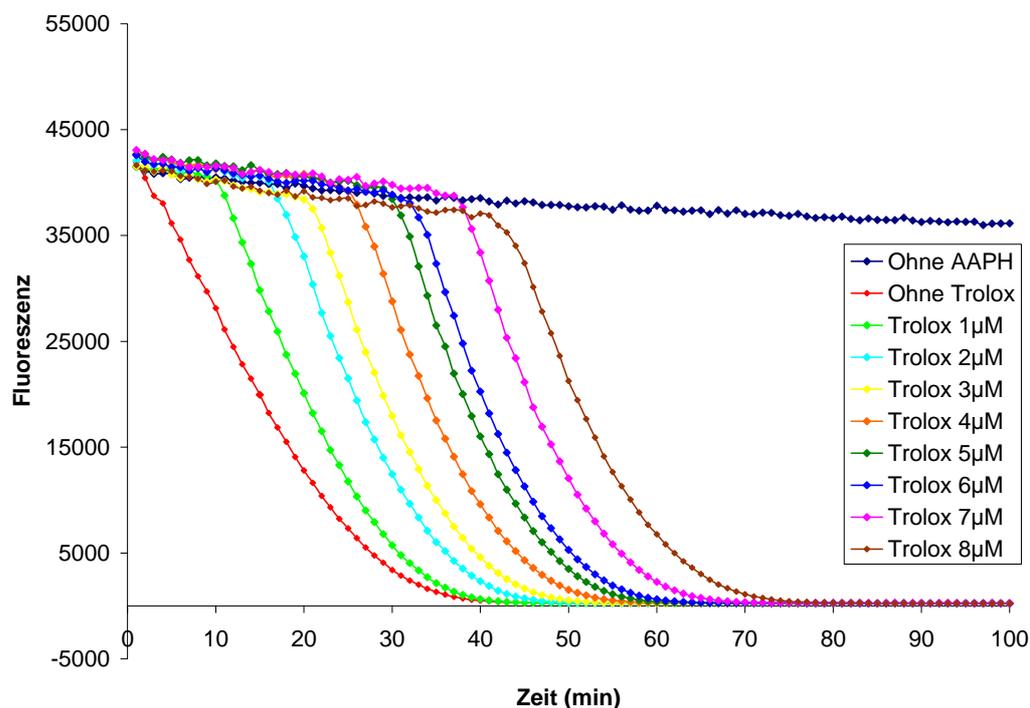


Abbildung E-3: Abhängigkeit der Fluorescein-Oxidation von der Zeit für unterschiedliche Trolox-Konzentrationen

Bei Zugabe von AAPH fällt das Signal ab (Blindwert ohne Trolox). Ist Trolox vorhanden, zeigt die Kurve eine Plateauphase und fällt dann entsprechend der Blindwert-Kurve ab. Je höher die Trolox-Konzentration ist, desto länger ist die Plateauphase und umso später fällt die Kurve ab.

Die AUC-Werte sowohl der Trolox-Kalibriergeraden als auch der Testsubstanzlösungen hängen nach Abzug der Blindwertfläche linear von der Konzentration ab, so dass die zu 1 mM der jeweiligen Substanz äquivalente Trolox-Konzentration berechnet werden kann (= Trolox-Äquivalent). Je größer dieser Wert ist, desto höher ist die antioxidative Kapazität.

2 Auswertung des ORAC-Assays

Die Fläche unter der gemessenen Fluoreszenzkurve ist bei vollständigem Abbau proportional zur gesamten antioxidativen Kapazität der Probe. Die antioxidative Aktivität des untersuchten Materials wird mit einer „Area under the curve“ -(AUC) Technik ermittelt. Jeder Test wird in vierfacher Ausführung durchgeführt und jedes Experiment wird mindestens dreimal unabhängig wiederholt. Aus den gemessenen Fluoreszenzwerten wird dann zunächst der Mittelwert bestimmt.

Aus den Mittelwerten wird dann die Fläche unter der Kurve für alle unterschiedlichen Lösungen (Trolox und Substanz in unterschiedlichen Konzentrationen sowie LM-Kontrolle und Blindwert) nach der folgenden Formel berechnet.

$$AUC = 1 + \sum_{i=1}^n \frac{f_i}{f_0}$$

Mit : f_0 = Anfangsfluoreszenz bei $t = 1$ min

f_i = Detektierte Fluoreszenz bei der Zeit (Zyklus) i

Davalos et al. korrigierten die Messwerte, indem sie mit dem Faktor $F_{\text{blank},t=0}/F_{\text{Probe},t=0}$ multiplizierten [116]. Dies würde aber zu einer unproportionalen Verschiebung der Kurven führen, da der detektierte Anfangspunkt der Blindprobe immer unter dem Anfangspunkt der restlichen Kurven (mit Substanz) liegt. Hier wurde diese Korrektur nicht durchgeführt. Als Annäherung wird ein gemeinsamer Startpunkt aller Kurven angenommen, der jedoch nicht bestimmt werden kann, da der erste Messwert im Augenblick der AAPH-Zugabe nicht detektierbar ist.

Den netto AUC-Wert erhält man durch:

$$AUC_{\text{net}} = AUC - AUC_{\text{blank}}$$

Die netto AUC-Werte (AUC_{net}) der Substanzen werden für alle Messungen gegen die Konzentration aufgetragen. In allen Fällen lässt sich ein linearer Zusammenhang nachweisen.

Aus der daraus hervorgehenden Regressionsgeraden und der jeweils zugehörigen Trolox-Eichgeraden werden die Trolox-Äquivalente nach folgender Gleichung bestimmt:

$$\text{Trolox} - \text{Äquivalente} = \frac{AUC_{net}(\text{Trolox})}{AUC_{net}(\text{Verbindung})} \times \frac{c(\text{Trolox})}{c(\text{Verbindung})}$$

3 Ergebnisse der Testsubstanzen

In Tabelle E-1 sind die Trolox-Äquivalente als Mittelwert aus mindestens 3 unabhängigen Messungen der getesteten prenylierten Chalkone (ausgedrückt in $\mu\text{mol}/\text{Trolox}$ pro μmol reine Substanz), der jeweilige Konzentrationsbereich ($\mu\text{mol}/\text{l}$) und die Standardabweichung dargestellt. Die getesteten Verbindungen zeigen eine bemerkenswerte Aktivität von 0,9 bis 5,2 Trolox-Äquivalenten in einem Konzentrationsbereich von 0,1 bis 2,0 μM . Es ist interessant, dass Xanthohumol nur im Mittelfeld der ORAC-Werte liegt und Minorkomponenten aus Hopfen wie das Desmethylxanthohumol, das 4'-O-Methylxanthohumol oder das Xanthohumol H sich weitaus aktiver verhalten.

Tabelle E-1: Berechnete Trolox-Äquivalente für die getesteten Chalkone

Verbindung	Konzentrationsbereich ($\mu\text{mol / l}$)	Trolox- Äquivalente (TE)	Standardabweichung (TE)
Verbindung 16	0,25 – 1,5	2,3	0,2
Verbindung 22	0,25 – 1,5	2,3	0,2
Verbindung 23	0,25 – 1,5	2,7	0,1
Verbindung 24	0,1 – 1,0	3,1	0,3
Verbindung 25	0,1 – 1,0	2,9	0,4
Verbindung 26	0,1 – 1,0	1,1	0,3
Verbindung 29	0,5 – 2,0	0,9	0,1
Verbindung 30	0,25 – 1,5	2,6	0,4
Verbindung 33	0,1 – 1,0	4,4	0,6
Verbindung 34	0,25 – 1,5	3,0	0,2
Verbindung 39	0,25 – 1,5	4,0	0,5
Verbindung 40	0,25 – 1,5	2,1	0,4
Verbindung 58	0,25 – 1,5	3,8	0,5
Verbindung 59	0,25 – 1,5	1,8	0,3
Verbindung 60	0,25 – 1,5	1,5	0,2
Verbindung 61	0,25 – 1,5	3,8	0,4
Verbindung 62	0,25 – 1,5	5,2	0,8
Verbindung 68	0,25 – 1,5	2,3	0,1
Verbindung 69	0,25 – 1,5	3,4	0,2
Verbindung 77	0,25 – 1,5	1,9	0,1
Verbindung 86	0,25 – 1,5	4,8	0,1

Tabelle E-1: Berechnete Trolox-Äquivalente für die getesteten Chalkone

Verbindung	Konzentrationsbereich ($\mu\text{mol / l}$)	Trolox- Äquivalente (TE)	Standardabweichung (TE)
Verbindung 87	0,25 – 1,5	3,2	0,2
Verbindung 88	0,25 – 1,5	4,0	0,4
Verbindung 93	0,25 – 1,5	1,8	0,1
Verbindung 94	0,25 – 1,5	1,9	0,3
Verbindung 95	0,25 – 1,5	2,1	0,5
Verbindung 98	0,25 – 1,5	1,7	0,2

4 Diskussion der ORAC-Testergebnisse

Oft wird die pharmakologische Bedeutung von phenolischen Verbindungen in Nahrungsmitteln diskutiert, die auch auf die antioxidative Wirkung zurückzuführen ist [117]. Vor allem in den letzten zehn Jahren sind viele in vitro-Tests sowohl zur Bestimmung der antioxidativen Aktivität von Lebensmitteln, Getränken sowie von biologischen Flüssigkeiten als auch von Einzelsubstanzen entwickelt worden.

Aus dem Radikalassay, in welchem auf die antioxidative Aktivität getestet wird, geht hervor, dass alle getesteten Chalkone antioxidativ wirksam sind. Alle untersuchten Substanzen mit Ausnahme von Verbindung **29** (0,9 TE) zeigen eine höhere Aktivität als Trolox.

Gerhäuser et al. [118] berichten von einem ORAC-Wert von 2,9 Trolox-Äquivalenten bei einer Konzentration von 1 μM für Xanthohumol. Dies wird fast exakt durch unsere Experimente bestätigt, die $2,3 \pm 0,2$ Trolox-Äquivalente in einem Konzentrationsbereich von 0,25 - 1,5 μM zeigen.

Die Variation der Position der Hydroxygruppen am B-Ring zeigt keine Unterschiede der Aktivität zum Xanthohumol. Das 2,2',4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon (Verbindung **22**) besitzt einen ORAC-Wert von $2,3 \pm 0,2$ Trolox-Äquivalenten und das 2',3,4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon von $2,7 \pm 0,1$ Trolox-Äquivalenten.

Bei der Variation der Anzahl an Hydroxygruppen kann man jedoch Veränderungen erkennen. Beide dihydroxylierten Verbindungen (Verbindung **24** und Verbindung **25**) sind aktiver ($3,1 \pm 0,3$ bzw. $2,9 \pm 0,4$ TE) als Xanthohumol. Das trihydroxylierte Chalkon (Verbindung **26**) dagegen weist eine deutlich geringere Aktivität auf ($1,1 \pm 0,3$ TE). Die Substanz mit den beiden Methoxygruppen am B-Ring (Verbindung **29**) zeigt mit $0,9 \pm 0,1$ TE die niedrigste Aktivität der getesteten Verbindungen. Das 2',4,4'-Tri(hydroxy)-3,6'-di(methoxy)-3'-prenylchalkon (Verbindung **30**) mit einer Methoxygruppe und nur einer Hydroxygruppe am B-Ring hat eine Aktivität von $2,6 \pm 0,4$ TE, die geringfügig besser als beim Xanthohumol ist.

Flavonoide (Flavanone und Chalkone) aus Hopfen wurden von Miranda et al. [119] auf ihre Fähigkeit geprüft, die in vitro Oxidation von menschlichem low-density-lipoprotein (LDL) zu hemmen. Dabei wurde die Oxidation von LDL nach dem Grad der Bildung von konjugierten Dienen und Thiobarbitursäurezahl (TBARS, als Maß der Fettoxidation) bemessen. Es stellte sich heraus, dass alle prenylierten Chalkone und Flavanone antioxidative Aktivität zeigten. Die nicht-prenylierten Verbindungen, darunter auch Verbindung **33**, weisen dort keine Aktivität auf. In dem hier durchgeführten Test dagegen zeigen aber genau diese Verbindung ohne Prenylkette (Verbindung **33**, $4,4 \pm 0,6$ TE) eine relativ gute Aktivität.

Auch die anderen Chalkone ohne Prenylseitenkette besitzen eine erhöhte Aktivität. Die Verbindung **34**, ebenfalls ohne Prenylkette weist mit $3,0 \pm 0,2$ TE eine ähnliche Aktivität auf wie sein Analogon Verbindung **24** mit Prenylkette ($3,1 \pm 0,3$ TE).

Das Flavokawin (Verbindung **39**) hat eine Aktivität von $4,0 \pm 0,5$ TE, wobei Verbindung **40**, die sich nur durch eine Methylgruppe in 3'-Position unterscheidet einen ORAC-Wert von $2,1 \pm 0,4$ TE besitzt.

Die Variationen der Methoxygruppen am A-Ring zeigen signifikante Unterschiede zum Xanthohumol als Leitstruktur. Das Desmethylxanthohumol (Verbindung **58**), das keine Methoxygruppe am A-Ring besitzt, und das 4'-O-Methylxanthohumol (Verbindung **61**), welches eine zweite Methoxygruppe an C-4' trägt, zeichnen sich durch eine erhöhte antioxidative Wirkung mit $3,8 \pm 0,5$ TE und $3,8 \pm 0,4$ TE aus. Jedoch ist das Flavokawin als analoge Substanz zum 4'-O-Methylxanthohumol ohne Prenylkette nochmals geringfügig besser.

Das Xanthogalenol (Verbindung **59**), mit der Methoxygruppe in 4'-Position und nicht in 6'-Position, und das 4,6'-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy-3'-prenylchalcon (Verbindung **60**), welches zwei Methoxygruppen in 2'- und 4'-Position besitzt, weisen dagegen eine deutlich geringere Aktivität mit $1,8 \pm 0,3$ TE und $1,5 \pm 0,2$ TE auf als das Xanthohumol. Durch die zweite Methoxygruppe in 2'-Position zu der an C-4' verschlechtert sich hier die Wirkung, wobei man bei der zweiten Methoxygruppe in 6'-Position zu der an C-4' eine deutliche Verbesserung der Aktivität feststellt.

Eine Verbindung mit der Methoxy-Alkylkette nur in 2'-Position ist in der Natur bisher nicht bekannt. Diese Substanz wird aber dennoch synthetisiert, um den Einfluss in dieser Position mit der Leitstruktur von Xanthohumol zu vergleichen.

Die biologische Aktivität der hier synthetisierten Verbindung **62**, welche Xanthoflorianol genannt wird, ist im Bezug auf die antioxidative Wirkung im ORAC Assay deutlich höher als das Xanthohumol, Desmethyloxanthohumol, Xanthogalenol und 4'-O-Methylxanthohumol [120]. 2'-O-Methyl-3'-prenylchalconaringenin (Verbindung **62**) zeigt mit $5,2 \pm 0,8$ TE die höchste hier gemessene Aktivität.

Bei der im Hopfen natürlich vorkommenden Geranylverbindung (Verbindung **68**), mit einer Hydroxygruppe in 6'-Position zeigt sich eine fast identische Aktivität von $2,3 \pm 0,1$ TE wie beim Xanthohumol. Bei der synthetisierten Geranylverbindung (Verbindung **69**) hingegen zeigt sich eine Erhöhung der oxidativen Wirkung. Die Verdoppelung der Prenylseitenkette zur Geranylkette bei der sonst analogen Xanthohumolstruktur erweist sich hier als Vorteil. Es kann eine Aktivität von $3,4 \pm 0,2$ TE festgestellt werden.

Es wird außerdem nicht nur die Verlängerung der Prenylkette, sondern auch eine mehrfache Einführung der Prenylkette untersucht. Die Einführung einer zweiten Prenylkette in 5'-Position zu der in 3'-Position weist jedoch nur eine antioxidative Wirkung von $1,9 \pm 0,1$ TE auf. Die diprenylierte Substanz mit der Methoxygruppe in 6'-Position (Verbindung **77**) ist daher schwächer wirksam als die Leitsubstanz Xanthohumol.

Von besonderem Interesse ist die pharmakologische Wirkung von Xanthohumol H (Verbindung **86**), welches nicht nur eine Minorkomponente in Hopfen ist, sondern auch ein Phase-I-Metabolit, der nach einer oralen Verabreichung von 1000 mg/kg

Xanthohumol in Rattenkot entdeckt wurde [18]. Die Einführung einer Hydroxygruppe durch eine Addition an der Doppelbindung der Prenylseitenkette lässt die Aktivität im Vergleich zu Xanthohumol ansteigen. Durch die Tatsache, dass sich diese Reaktion häufig im Xanthohumol Metabolismus ereignet (an verschiedenen Stellen des Moleküls) ist die pharmakologische Testung dieser Verbindung interessant.

Das Xanthohumol H (Verbindung **86**), an dem sich die Hydroxygruppe in 3''-Position der Seitenkette befindet, zeichnet sich durch eine deutlich erhöhte antioxidative Wirkung mit $4,8 \pm 0,1$ TE aus. Auch die Derivate des Xanthohumol H mit zwei Hydroxygruppen am B-Ring (Verbindung **87**) und je einer Hydroxy- und Methoxygruppe am B-Ring (Verbindung **88**) zeigen mit $3,2 \pm 0,2$ TE und $4,0 \pm 0,4$ TE eine erhöhte Aktivität. Die beiden Derivate sind jedoch schwächer wirksam als das Xanthohumol H selbst.

Bei dem Vergleich der Verbindungen mit Hydroxygruppe in der Seitenkette mit den Analoga mit Prenylkette zeigt sich bei Verbindung **87** kein Unterschied zu Analogon Verbindung **24** ($3,1 \pm 0,3$ TE). Das 2',4,4'-Tri(hydroxy)-3,6'-dimethoxy-3'(3-hydroxy-3-methylbutyl)chalkon (Verbindung **88**) mit einer Methoxygruppe und nur einer Hydroxygruppe am B-Ring weist im Vergleich zu seinem Analogon Verbindung **30** ($2,6 \pm 0,4$ TE) mit $4,0 \pm 0,4$ TE eine deutlich bessere antioxidative Wirkung auf.

Bei den zweifach am B-Ring substituierten Verbindungen ist nun auch die Substanz mit je einer Hydroxy- und Methoxygruppe aktiver als die mit nur Hydroxygruppen. Bei den Substanzen mit Prenylkette ist dies genau umgekehrt.

Eine weitere interessante Möglichkeit der Strukturvariation bietet der Ringschluss der Prenylkette. Die Seitenkette kann so in die Struktur von bekannten Metaboliten, z.B. Xanthohumol C überführt werden und es können auch einige natürliche oder in der Natur nicht vorkommende Minorverbindungen synthetisiert werden.

Das Xanthohumol C (Verbindung **93**), an dem die Prenylkette zu einem Pyranring mit der Hydroxygruppe in 4'-Position zyklisiert ist, weist eine erniedrigte antioxidative Wirkung mit $1,8 \pm 0,1$ TE auf. Auch die Derivate des Xanthohumol C mit zwei Hydroxygruppen am B-Ring (Verbindung **94**) und je einer Hydroxy- und Methoxygruppe am B-Ring (Verbindung **95**) zeigen mit $1,9 \pm 0,3$ TE und $2,1 \pm 0,5$ TE eine niedrigere Aktivität als Xanthohumol.

Bei dem Vergleich der ringgeschlossenen Verbindungen mit den Analoga mit offener Prenylkette zeigt sich ebenfalls jeweils eine geringere Aktivität. Ein Einfluss des

substituierten B-Rings ist bei diesen Verbindungen nicht zu erkennen, da sowohl Xanthohumol C, als auch die beiden strukturähnlichen Substanzen fast die gleiche antioxidative Wirkung aufweisen.

Um den Einfluss der Doppelbindung im Xanthohumol C zu untersuchen und herauszufinden welche Bedeutung sie für das Molekül hat, wird nun eine Verbindung ohne diese Doppelbindung im Pyranring untersucht. Das 2'',2''-Dimethyl-3'',4''-dihydro-(2H)-pyrano[2'',3'':3',4']-2',4-dihydroxy-6'-methoxy-chalkon (Verbindung **98**), besitzt eine Aktivität von $1,7 \pm 0,2$ TE. Dies ist mit dem ORAC-Wert von Xanthohumol C fast identisch und ebenfalls geringer als die antioxidative Wirkung des Xanthohumol. Die Doppelbindung im Xanthohumol C zeigt bei dieser Verbindung also keinen Einfluss auf die pharmakologischen Daten.

Versucht man, erste Aussagen über die Zusammenhänge von Struktur und Wirkung zu treffen, dann fallen folgende Dinge auf:

Die Prenylkette scheint für die Radikalfängereigenschaften keine spezifische Bedeutung zu haben, da Verbindung **33**, welches keine Prenylkette besitzt, eine deutlich höhere Aktivität (4,4 TE) als Xanthohumol mit Prenylkette (2,3 TE) aufweist. Auch Verbindung **34**, ebenfalls ohne Prenylkette zeigt mit 3,0 TE eine ähnliche Aktivität auf wie sein Analogon Substanz **24** mit Prenylkette (3,1 TE). Eine etwa gleich erhöhte antioxidative Wirkung sieht man auch beim 4-O-Methylxanthohumol und Flavokawin.

Aus der Variation der Anzahl und Position der Hydroxygruppen am B-Ring kann keine direkte Beziehung zwischen Struktur und Aktivität hergestellt werden. Der Austausch einer einzelnen Hydroxygruppe am B-Ring lässt keinen deutlichen Unterschied in der Aktivität erkennen. Jedoch ist bei den dihydroxilierten Verbindungen ein Anstieg der ORAC-Werte zu beobachten. Die dreifach substituierte Substanz dagegen zeigt eine deutlich geringere Wirkung.

Der Austausch der beiden Hydroxygruppen am B-Ring, die eine höhere Aktivität als Xanthohumol besitzen durch zwei Methoxyketten führt zu einer deutlichen Verschlechterung der Trolox-Äquivalente. Verbindung **29** (0,9 TE) hat als einzige Substanz eine niedrigere Aktivität als Trolox.

Eine direkte Beziehung zwischen Struktur und Aktivität durch den Austausch der Methoxygruppen in ihrer Anzahl und Position zu erstellen ist mit diesem Datensatz zunächst nicht möglich. Es zeigt sich jedoch, dass die in der Natur nicht

vorkommende Verbindung **62** mit einer Methoxygruppe in 2'-Position am aktivsten von allen getesteten Substanzen ist. Die Verbindungen mit einer Methoxykette in 6'-Position besitzen hier immer eine größere antioxidative Wirkung im Vergleich zu den Substanzen mit der Methoxygruppe in 4'-Position. Diese besitzen niedrigere Trolox-Äquivalente. Die Methoxygruppe in der 4'-Position scheint daher die antioxidative Wirkung im ORAC nicht zu begünstigen.

Das Desmethylxanthohumol, das keine Methoxy- Alkylkette am A-Ring trägt kann bei den Struktur-Aktivitäts-Beziehungen schlecht eingeordnet werden. Einerseits besitzt es eine deutlich höhere Aktivität als Xanthohumol, was nicht positiv für eine Methoxygruppe im Molekül spricht, andererseits ist es nicht so wirksam wie das Xanthoflorianol, das in 2'-Position eine Methoxygruppe besitzt.

Bei der Verlängerung der Prenylseitenkette zur Geranylkette erhält man für die in der Natur nicht vorkommende Substanz eine Erhöhung des ORAC-Werts.

Die Substitution der 5'-Position am aromatischen A-Ring mit einer zusätzlichen Prenylkette führt zu einem Rückgang der Trolox-Äquivalente.

Die Einführung einer Hydroxygruppe durch eine Addition an der Doppelbindung der Prenylkette lässt die Aktivität im Vergleich zu Xanthohumol ansteigen. Die hydroxilierte Seitenkette begünstigt bei den getesteten Verbindungen die antioxidative Wirkung mehr als bei den Analoga mit der Prenylkette.

Der Ringschluss der Prenylkette zu einem Pyranring mit und ohne Doppelbindung im Molekül weist immer eine geringere Aktivität auf als die offenkettigen Verbindungen. Die Benzoisochromenstruktur scheint für diesen Radikalassay nicht von Vorteil zu sein.

Eine direkte Beziehung zwischen Struktur und Aktivität kann jedoch nicht erstellt werden. Ein möglicher Grund dafür könnte auch sein, dass der antioxidativen Aktivität nicht nur ein einziger Mechanismus zugrunde liegt. Auf einen solchen Unterschied in der Wirkungsweise im Vergleich zu Trolox weist auch der Verlauf der kinetischen Kurven für die Substanzen hin (siehe Abbildung E-4).

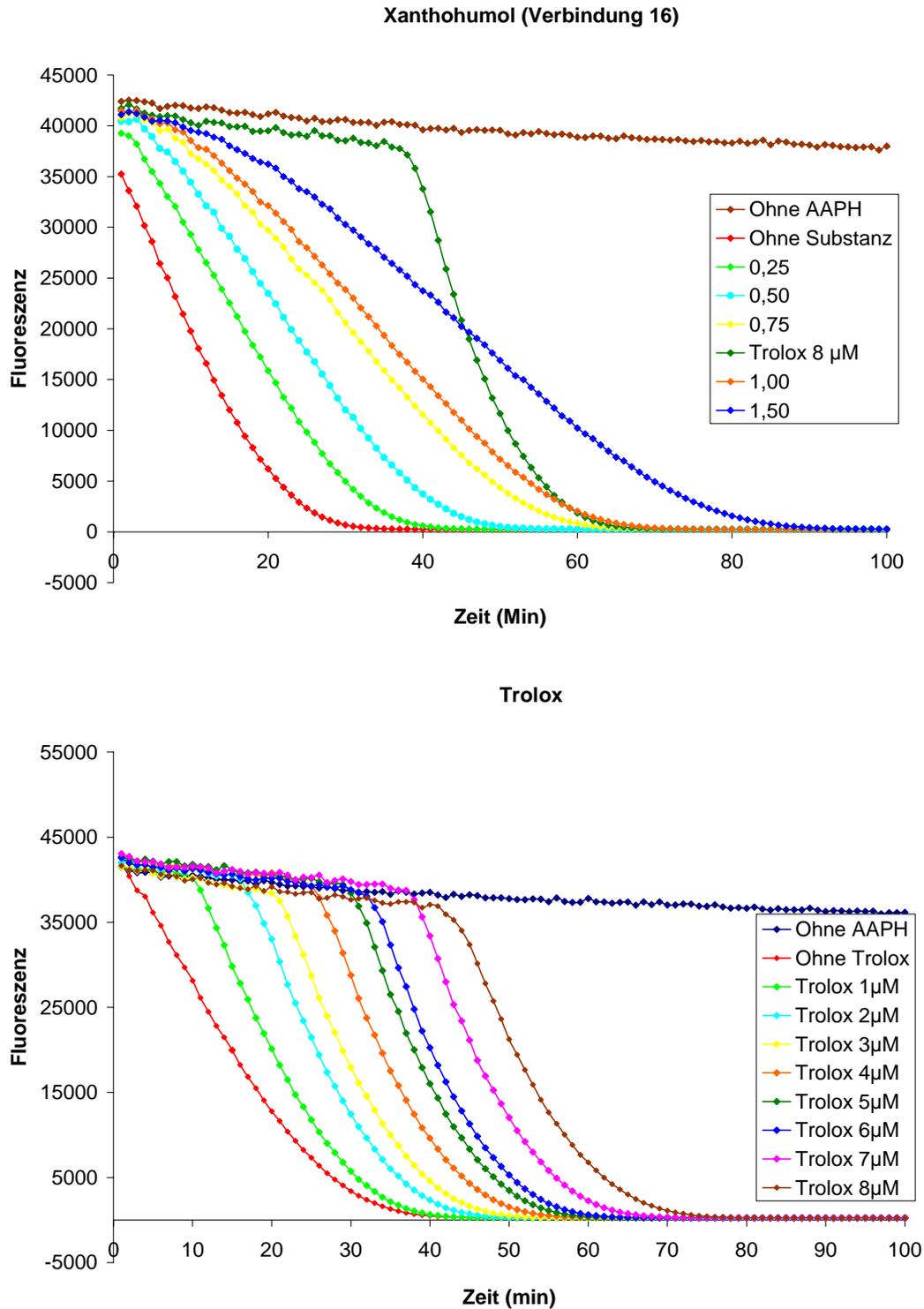


Abbildung E-4: Vergleich der kinetischen Kurven von Xanthohumol und Trolox.

Der deutliche Unterschied könnte ein Hinweis darauf sein, dass die antioxidative Aktivität der Substanz nicht nur auf das Abfangen der Peroxid-Radikale zurückzuführen ist.

Für alle Substanzen ist ein linearer Zusammenhang zwischen Konzentration und Fläche unter der Kurve festzustellen. Die Oxidation von Fluorescein wird also bei Vorhandensein von Substanz in steigender Konzentration zunehmend verhindert.

Zur Quantifizierung dieser Wirkung wird die Fläche unter der Kurve (AUC) ermittelt, die sowohl Ausmaß als auch Dauer der Verzögerung der Fluoreszenzabnahme erfasst. Die AUC-Werte sowohl der Trolox-Kalibriergeraden als auch der Testsubstanzlösungen hängen nach Abzug der Blindwertfläche linear von der Konzentration ab, so dass die zu 1 mM der jeweiligen Substanz äquivalente Trolox-Konzentration berechnet werden kann (= Trolox-Äquivalent). Je größer dieser Wert ist, desto höher ist die antioxidative Kapazität.

Bei der Zugabe von AAPH (Blindwert) fällt das Fluoreszenzsignal ab. In Gegenwart von Trolox mit steigender Konzentration wird der Abfall der Kurve zeitlich verschoben und die Fläche unter der Kurve nimmt zu. Vergleicht man die Trolox-Kurve mit den Kurven der getesteten Verbindungen, so stellt man einen signifikanten Unterschied fest. Die Trolox-Kurven durchlaufen für steigende Konzentrationen zunächst eine Plateauphase, bevor sie dann zeitlich verzögert analog der Blindwert-Kurve (ohne Substanz) abfallen. Keine der getesteten Substanzen zeigt jedoch eine Plateauphase. Die einzelnen Kurven fallen flacher ab. Die Fläche unter der Kurve nimmt dabei jedoch stets für steigende Konzentrationen zu.

Dieser Unterschied im Verlauf der Kurven ist möglicherweise darin zu begründen, dass die antioxidative Wirkung der Substanzen nicht ausschließlich darauf zurückzuführen ist, dass die gebildeten Radikale abgefangen werden, wie es bei Trolox der Fall ist. Vorstellbar wäre, dass durch die Bildung der Radikale der Zerfall von AAPH beeinflusst wird. Da der ORAC-Fluorescein-Assay ein rein deskriptiver Assay ist, sind aber nur Vermutungen bezüglich der genauen Wirkungsweise der Substanzen möglich.

Trolox-Äquivalente, die durch einen vergleichbaren Radikalassay ermittelt wurden, sind in der Literatur verfügbar. Ein direkter Vergleich mit den gemessenen Werten ist jedoch oftmals schwierig, da sehr häufig Pflanzenextrakte auf ihre gesamte oxidative Kapazität getestet werden. Genau dies, die Möglichkeit in einem Assay die gesamte oxidative Kapazität von Substanzgemischen und nicht nur von reinen Substanzen zu bestimmen, stellt einen entscheidenden Vorteil des ORAC-Assays dar. Die Trolox-Äquivalente wurden dann in μmol Trolox pro Gramm Extrakt angegeben und sind

daher nicht mit den bestimmten Werten, die in μmol Trolox pro μmol reiner Substanz bestimmt wurden, vergleichbar.

Ou et al. testeten einige reine Antioxidantien. Im Vergleich zu diesen Daten liefern die getesteten Chalkone gute Ergebnisse für ihre antioxidative Aktivität. Die am schwächsten aktive Verbindung (Verbindung **29**, 0,9 TE) liegt immer noch im Bereich von Vitamin C und besitzt bessere Radikalfänger-Eigenschaften als Glutathion.

Der ORAC-Fluorescein Assay zeigt eine deutliche antioxidative Wirkung für 2'-O-methyl-3'-prenylchalconaringenin (Verbindung **62**) und Xanthohumol H (Verbindung **86**) mit 5,2 und 4,8 Trolox-Äquivalenten. Dies ist im Vergleich zu anderen Antioxidantien wie Quercetin ($7,28 \pm 0,22$ TE) und Catechin ($6,76 \pm 0,22$ TE) eine geringe Aktivität, aber im Vergleich zu Genistein ($5,93 \pm 0,45$ TE) eine ähnlich gute Wirkung. Bei den wirksamen Verbindungen **58** ($3,8 \pm 0,5$ TE), **61** ($3,8 \pm 0,4$ TE), **88** ($4,0 \pm 0,4$ TE) und **33** ($4,4 \pm 0,6$ TE) ist die Aktivität mit der, die für Kaffeesäure ($4,37 \pm 0,24$ TE) berichtet wird vergleichbar.

Tabelle E-2. Relative Trolox-Äquivalente reiner Substanzen nach Ou [115]

Substanzen	ORAC _{FL} (TE)
Kaffeesäure	$4,37 \pm 0,24$
Chlorogensäure	$3,14 \pm 0,19$
Quercetrin	$6,47 \pm 0,29$
Genistein	$5,93 \pm 0,45$
Glutathion	$0,62 \pm 0,02$
Rutin	$6,01 \pm 0,25$
Quercetin	$7,28 \pm 0,22$
Catechin	$6,76 \pm 0,22$
Vitamin C	$0,95 \pm 0,02$

Auch Davalos et al. [116] testeten einige reine Antioxidantien auf ihre Aktivität. Es ist dabei festzustellen, dass die von Davalos ermittelten Werte für die gleichen Verbindungen höher liegen als die von Ou et al. ermittelten Werte. Dies könnte auf die Unterschiede in der Berechnung der Trolox-Äquivalente zurückzuführen sein.

Davalos et al. korrigierten alle gemessenen Fluoreszenzwerte, indem sie diese mit dem Faktor $\text{Fluoreszenz}_{\text{blank},t=0} / \text{Fluoreszenz}_{\text{sample},t=0}$ multiplizierten. Die Berechnungen in dieser Arbeit werden analog Ou et al. [115] ohne diese Korrektur erstellt. Aus diesem Grund ist der Vergleich mit den hier angegebenen Werten sinnvoller.

Ou et al. ermittelten mit Fluorescein höhere analysierte ORAC-Werte für Kaffeesäure und Catechin, verglichen mit den ORAC-Werten, die mit B-Phycoerythrin gemessen wurden.

Es ist interessant, dass Xanthohumol nur im Mittelfeld der ORAC-Werte liegt und Minorkomponenten aus Hopfen wie das Desmethylxanthohumol, das 4'-O-Methylxanthohumol oder das Xanthohumol H sich weitaus aktiver verhalten.

F Zusammenfassung und Diskussion

1 Synthese der Testverbindungen

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein möglichst universales und praktikables Synthesekonzept für zahlreiche prenylierte Chalkone zu etablieren, die bis heute nur durch direkte Isolation aus dem Hopfen erhalten werden konnten. Dabei wurde es als wichtig angesehen möglichst wenige universale Synthesebausteine zu verwenden und auch solche Syntheseschritte zu wählen, die in ihrer Reihenfolge möglichst frei kombinierbar sind, um durch die freie Kombinierbarkeit auf einfachem Weg eine große Strukturvielfalt zu erhalten.

Die prenylierten Chalkone sind die Hauptkomponente der phenolischen Fraktion im Hopfen. Der wichtigste Vertreter dieser Substanzklasse in *Humulus lupulus* ist das Xanthohumol. Neben der Möglichkeit die Struktur des Xanthohumols chemisch modifizieren zu können, erschien es auch notwendig, zunächst auch eine Synthese für die Verbindung selbst zu entwickeln, die bisher nicht etabliert war. Durch diese Synthese konnte der Naturstoff in ausreichenden Mengen für pharmakologische in vitro und in vivo Tests hergestellt werden. Im weiteren Focus stand auch die Synthese von zahlreichen Minorkomponenten aus Hopfen, die bisher über die Isolierung kaum zugänglich waren. Dieses Spektrum synthetisierter Verbindungen wurde ergänzt durch die Synthese nicht natürlich vorkommende Derivate sowie durch Verbindungen, die als Phase-I-Metaboliten des Xanthohumols identifiziert worden sind und bisher gar nicht zugänglich waren.

Ein Chalkon kann durch eine basenkatalysierte Aldol-Kupplung eines entsprechend substituierten Acetophenons (A-Ring) mit einem Benzaldehyd-Derivat (B-Ring) erhalten werden [74-76, 87-91].

Für das Xanthohumol wurden erst die einzelnen Ringbausteine hergestellt. Hierbei war der erste Schritt die zweifache Schützung von 2,4,6-Trihydroxyacetophenon mit Brommethylmethylether (MOM). Die Einführung der Prenylkette erfolgte über die noch freie phenolische Hydroxygruppe. Die nucleophile Substitution mit Prenylbromid lieferte einen Ether mit der Seitenkette an 6'-Position. Die Umlagerung der Prenylgruppe erfolgte durch eine para Claisen-Umlagerung mit N,N-Dimethylanilin bei 200°C in die 3'-Position. Die Methylierung der wieder frei gewordenen ortho-Hydroxygruppe mit Dimethylsulfat wurde durch Phasentransferkatalyse mit

Tetrabutylammoniumjodid erreicht. Das so erhaltene Produkt konnte als erster Baustein für die folgende Claisen-Schmidt Kondensation erhalten werden.

Dieser Baustein wurde nun in einer basenkatalysierten Aldol-Kupplung mit ebenfalls MOM-geschütztem 4-Hydroxybenzaldehyd zu der entsprechenden geschützten Chalkonstruktur umgesetzt. Das Entfernen aller Schutzgruppen erfolgte in MeOH/HCl. Ausgehend von dieser Synthese wurden einige Möglichkeiten der Strukturvariation an den beiden aromatischen Ringen des Chalkons durchgeführt. Eine dieser Modifikationen war die Veränderung der Anzahl der Hydroxygruppen und ihrer jeweilige Position am B-Ring. Der B-Ring wurde außerdem durch die Umwandlung einiger Hydroxygruppen in Methoxyketten verändert.

Um den Einfluss der Prenylseitenkette im Xanthohumol zu untersuchen und herauszufinden ob und welche Bedeutung dieser Substituent für die Aktivität in den zu verwendenden in vitro Testsystemen hat, wurden sowohl einige natürliche als auch in der Natur nicht vorkommende Verbindungen ohne diese Seitenkette synthetisiert.

Da aber auch andere Minorkomponenten aus Hopfen interessant schienen, wurden darüber hinaus auch Verbindungen hergestellt, die sich am A-Ring des Chalkons in Bezug auf die Stellung und die Anzahl der Methoxygruppen vom Xanthohumol unterscheiden.

Die Herstellung von natürlichen und in der Natur nicht vorkommenden Chalkonen durch die Veränderung der Prenylseitenkette in eine Geranylgruppe stellte eine weitere Modifikation der A-Ring Substitution dar. Nicht nur durch die Verlängerung der Prenylkette, sondern auch durch eine mehrfache Einführung der Prenylkette oder Anbringen in einer anderen Position konnten bereits durch Isolierung aus Hopfen bekannte Minorverbindungen synthetisiert werden. Die Prenylseitenkette kann aber auch durch einen Ringschluss oder Hydatisierung in die Struktur einiger bekannter Metabolite (Xanthohumol H, Xanthohumol C) überführt werden. Die Einführung einer Hydroxygruppe durch eine Addition an der Doppelbindung der Prenylseitenkette mit Hilfe einer Oxymercurierung führte dabei zum Xanthohumol H, welches nicht nur eine Minorkomponente in Hopfen, sondern auch ein Phase-I-Metabolit darstellt. Bei Xanthohumol H befindet sich die Hydroxygruppe in 3''-Position der Seitenkette. Der Ringschluss der Prenylseitenkette führte zum Benzoisochromen Xanthohumol C. Die Prenylkette ist dabei zu einem Pyranring zyklisiert, an dem die Hydroxygruppe in 4'-Position beteiligt ist. Dies wurde im Rahmen einer Redox-Reaktion mit 2,3-Dichlor-

5,6-dicyan-1,4-benzochinon realisiert. Um den Einfluss der Doppelbindung für die pharmakologische Aktivität vom Xanthohumol C zu untersuchen wurde auch eine Verbindung ohne diese Doppelbindung im Pyranring synthetisiert. Die Prenylkette wurde dabei mit Ameisensäure in Tetrahydrofuran umgesetzt.

Auf der Basis dieser Strukturvariationen wurden unter Testung der Zytotoxizität in einem MTT-Assay und der antioxidativen Aktivität in einem ORAC-Assay erste Beziehungen zwischen Struktur und Wirkung innerhalb der Klasse der Chalkone aus Hopfen diskutiert.

2 Testung der synthetisierten Substanzen auf ihre Zytotoxizität an HeLa Zellen

Die verschiedenen natürlichen und in der Natur nicht vorkommenden Chalkone wurden ersten pharmakologische Tests unterzogen. Alle neu synthetisierten Derivate wurden auf ihre zytostatische Aktivität an humanen HeLa-Zellen getestet. Dies wurde mit dem von Mosman et al. [101] etablierten und inzwischen häufig modifizierten Zelltest [121] unter Verwendung von MTT durchgeführt.

In Übereinstimmung mit Literaturdaten von anderen Zelllinien [50], zeigte Xanthohumol auch in der HeLa-Zelllinie eine beachtenswerte zytotoxische Aktivität mit einem IC_{50} -Wert von $9,4 \pm 1,4 \mu\text{M}$.

Zuerst wurde der Einfluss der Hydroxylierung des B-Ringes auf die zytotoxische Aktivität der prenylierten Chalkone untersucht. Interessanterweise besaßen die durch die Variation der Anzahl und Position der Hydroxygruppe am B-Ring hergestellten Verbindungen alle eine höhere zytotoxische Wirkung auf die HeLa-Zellen als das Xanthohumol selbst, mit Ausnahme der dreifach substituierten Verbindung (Verbindung **26**). Die zweifach hydroxylierten Substanzen (Verbindung **24** und **25**) erreichten dabei die höchste zytotoxische Aktivität ($IC_{50} = 2,5$ und $3,2 \mu\text{M}$). Die Modifikation einer oder beider Hydroxygruppen am B-Ring zu Methoxygruppen führte zu keiner deutlichen Verbesserung der zytotoxischen Aktivität. Die Substanz mit zwei Methoxygruppen (Verbindung **29**) zeigte eher eine Verschlechterung der Wirkung.

Die Testung der Verbindungen ohne Prenylkette zeigte, dass fast alle getesteten Verbindungen ohne Prenylkette IC_{50} -Werte erreichen, die etwas höher liegen als die

IC₅₀-Werte der Substanzen mit Prenylseitenkette. Das Helichrysetin wies als einzige Verbindung einen niedrigeren IC₅₀-Wert mit $5,2 \pm 0,8 \mu\text{M}$ auf.

Die Prenylkette des Xanthohumols scheint daher für die zytotoxischen Eigenschaften gegenüber HeLa Zellen keine spezifische Bedeutung zu haben. Offensichtlich ist diese Position austauschbar.

Durch die Variation und Überführung der verschiedenen Hydroxygruppen am A-Ring in verschiedene Methoxygruppen traten einige Unterschiede im Vergleich zum Xanthohumol als Leitstruktur auf. Alle Verbindungen wiesen eine geringere Wirkung auf die HeLa-Zellen auf. Die IC₅₀-Werte lagen deutlich höher (von $11,8 \mu\text{M}$ für Verbindung **61** bis $28,3 \mu\text{M}$ für Verbindungen **59**) als bei Xanthohumol.

Bei der Verlängerung der Prenylseitenkette zur Geranylseite erhielt man für die in der Natur nicht vorkommende Substanz (Verbindung **69**) eine bessere zytotoxische Aktivität mit einem IC₅₀-Wert von $8,2 \pm 1,2 \mu\text{M}$ gegenüber der natürlichen Verbindung **68** ($18,2 \pm 1,7 \mu\text{M}$). Geranylierte Chalkone besitzen im Vergleich zu prenylierten Verbindungen eine Isopenteneinheit mehr an der Seitenkette, wodurch das Molekül lipophiler ist. Auf die Frage, ob und in welcher Weise sich die längere Seitenkette auf die pharmakologischen Eigenschaften der Chalkone auswirkt, konnte bis jetzt jedoch noch keine konkrete Aussage getroffen werden.

Die Einführung einer zweiten Prenylkette in 5'-Position zusätzlich zu der in 3'-Position führte zu einem IC₅₀-Wert von $9,7 \pm 2,1 \mu\text{M}$ bei Verbindung **77**. Die diprenylierte Substanz mit der Methoxygruppe in 6'-Position war daher etwa genauso gut wirksam wie die Leitsubstanz Xanthohumol.

Von besonderem Interesse ist die pharmakologische Wirkung von Xanthohumol H (Verbindung **86**), welches nicht nur eine Minorkomponente in Hopfen, sondern auch ein Phase-I-Metabolit ist. Die Einführung einer Hydroxygruppe in die 3''-Position der Seitenkette führte im Zelltest zu einem ähnlichen IC₅₀-Wert wie das Xanthohumol. Es ergab einen IC₅₀-Wert von $9,2 \pm 1,5 \mu\text{M}$.

Die durch die Modifikation der B-Ringe erhaltenen Xanthohumol H-Derivate wurden ebenfalls getestet. Die Einführung eines zweiten Substituenten am aromatischen B-Ring wies bei den hier getesteten Verbindungen immer eine wesentlich schlechtere zytostatische Wirksamkeit auf ($35,9 \pm 3,9 \mu\text{M}$ für Verbindung **87** und $39,2 \pm 2,7 \mu\text{M}$ für Verbindung **88**).

Weiterhin wurde untersucht, welchen Einfluss der Ringschluss der Prenylseitenkette zeigt. Das Xanthohumol C (Verbindung **93**), an dem die Prenylkette zu einem

Pyranring mit der Hydroxygruppe in 4'-Position zyklisiert ist, zeigte einen geringfügig höheren IC_{50} -Wert von $12,5 \pm 1,7 \mu\text{M}$ im Vergleich zum Xanthohumol auf. Ein Einfluss des substituierten B-Rings war bei den Xanthohumol C-Derivaten nicht zu erkennen, da sowohl Xanthohumol C, als auch die beiden strukturähnlichen Verbindungen fast die gleichen IC_{50} -Werte erreichten. Der Ringschluss der Prenylkette zu einem Pyranring im Molekül scheint für die Zytotoxizität an den HeLa-Zellen nicht direkt von Vorteil zu sein, da die offenkettigen Verbindungen jeweils niedrigere IC_{50} -Werte besaßen.

2'',2''-Dimethyl-3'',4''-dihydro-(2H)-pyrano[2'',3'':3',4']-2',4-dihydroxy-6'-methoxy-chalkon (Verbindung **98**), dem im Vergleich zum Xanthohumol C nur die Doppelbindung im Pyranring fehlt, besaß einen IC_{50} -Wert von $15,4 \pm 1,4 \mu\text{M}$. Es lässt sich feststellen, dass die Hemmwirkung bei allen nochmals zyklisierten Verbindungen in derselben Größenordnung liegt und etwas geringer als bei Xanthohumol ist. Die Doppelbindung im Xanthohumol C scheint daher bei dieser Verbindung keinen Einfluss auf die pharmakologischen Daten zu haben.

3 ORAC-Fluorescein Assay

Die verschiedenen synthetisierten natürlichen und in der Natur nicht vorkommenden Chalkone wurden außerdem alle auf ihre antioxidative Wirkung getestet. Dies wurde mit Hilfe des ORAC-Fluorescein Assays nach Davalos et al. in einer 96-Loch Mikrotiterplatte durchgeführt [116].

Der Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay ist eine Messmethode zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität von Reinsubstanzen und Gemischen [112], Dabei wird die Fluoreszenz eines Fluorophors im zeitlichen Verlauf detektiert. Durch die ROS (Reactive Oxygen Species) wird der Fluorophor oxidiert und die Fluoreszenz verschwindet. Antioxidative Substanzen schützen dagegen den Fluorophor vor der Oxidation.

Trolox ist ein wasserlösliches Vitamin E-Analogon mit guten Radikalfänger-Eigenschaften und wurde als Standard-Antioxidanz in diesem Test verwendet [115, 116]. Die ORAC-Werte wurden auf Trolox bezogen und in Trolox-Äquivalenten angegeben, die aus den Standardkurven von jedem Test ermittelt wurden.

Aus den ermittelten Daten geht hervor, dass alle getesteten Chalkone antioxidativ wirksam sind. Alle untersuchten Substanzen zeigten eine deutliche bis starke Aktivität von 0,9 bis 5,2 Trolox-Äquivalenten in einem Konzentrationsbereich von 0,1 bis 2,0 μM . Dies liegt im Bereich anderer starker Antioxidantien wie Ferulasäure ($4,4 \pm 0,2$ Trolox-Äquivalenten, in einem Konzentrationsbereich von 0,4 - 1,3 μM), aber deutlich niedriger im Vergleich zum Quercetin ($10,5 \pm 0,4$ Trolox-Äquivalente, 0,2 - 0,6 μM) und Kaffeesäure ($6,6 \pm 0,2$ Trolox-Äquivalente, 0,2 - 1,0 μM) [116].

Gerhäuser et al. berichteten von einem ORAC-Wert von 2,9 Trolox-Äquivalenten bei einer Konzentration von 1 μM für Xanthohumol. Dies wurde fast exakt durch unsere Experimente bestätigt, die $2,3 \pm 0,2$ Trolox-Äquivalente in einem Konzentrationsbereich von 0,25 - 1,5 μM zeigten.

Zunächst wurde der Einfluss der Hydroxylierung des B-Ringes auf die Radikalfängereigenschaften der prenylierten Chalkone untersucht. Aus der Variation der Anzahl und Position der Hydroxygruppen am B-Ring konnte jedoch keine direkte Beziehung zwischen Struktur und Aktivität hergestellt werden. Der Austausch einer einzelnen Hydroxygruppe am B-Ring lies keinen deutlichen Unterschied in der Aktivität erkennen. Jedoch war bei den dihydroxylierten Verbindungen ein Anstieg der ORAC-Werte zu beobachten ($3,1 \pm 0,3$ TE für Verbindung **24** bzw. $2,9 \pm 0,4$ TE für Verbindung **25**). Die dreifach substituierte Substanz (Verbindung **26**) dagegen zeigte eine deutlich geringere Wirkung ($1,1 \pm 0,3$ TE).

Die Auswechslung der beiden Hydroxygruppen am B-Ring, die eine höhere Aktivität als Xanthohumol besaßen durch zwei Methoxyketten führte zu einer deutlichen Erniedrigung der Trolox-Äquivalente. Verbindung **29** (0,9 TE) hatte als einzige Substanz eine niedrigere Aktivität als Trolox.

Die Prenylkette scheint für die Radikalfängereigenschaften keine spezifische Bedeutung zu haben, da Verbindung **33**, welches keine Prenylkette besitzt, eine deutlich höhere Aktivität (4,4 TE) als Xanthohumol mit Prenylkette (2,3 TE) aufwies. Auch Verbindung **34**, ebenfalls ohne Prenylkette zeigte mit 3,0 TE eine ähnliche Aktivität wie sein Analogon Substanz **24** mit Prenylkette (3,1 TE).

Eine etwa gleich erhöhte antioxidative Wirkung sah man auch beim Flavokawin, wobei Verbindung **40**, die sich nur durch eine Methylgruppe in 3'-Position unterscheidet einen ORAC-Wert von $2,1 \pm 0,4$ TE ergab.

Durch die Variation und Überführung der verschiedenen Hydroxygruppen am A-Ring in verschiedene Methoxygruppen traten einige Unterschiede im Vergleich zum Xanthohumol als Leitstruktur auf.

Es zeigte sich, dass die in der Natur nicht vorkommende Verbindung **62**, welche von uns mit dem Namen Xanthoflorianol benannt wurde, mit einer Methoxygruppe in 2'-Position am aktivsten von allen getesteten Substanzen mit $5,2 \pm 0,8$ TE war. Die Verbindungen mit einer Methoxykette in 6'-Position zeigten hier immer eine größere antioxidative Wirkung im Vergleich zu den Substanzen mit der Methoxygruppe in 4'-Position. Durch die zweite Methoxygruppe in 2'-Position zusätzlich zu der an C-4' verschlechterte sich die Wirkung, wobei man bei der zweiten Methoxygruppe in 6'-Position zu der an C-4' eine deutliche Verbesserung der Aktivität feststellte. Das Desmethylxanthohumol, das keine Methoxy-Alkylkette am A-Ring trägt kann dagegen nur schlecht eingeordnet werden. Einerseits besitzt es eine deutlich höhere Aktivität als Xanthohumol, andererseits ist es nicht so wirksam wie das Xanthoflorianol, das in 2'-Position eine Methoxygruppe besitzt. Bei der Verlängerung der Prenylseitenkette zur Geranylgruppe erhielt man für die in der Natur nicht vorkommende Substanz (Verbindung **69**) eine bessere antioxidative Aktivität mit $3,4 \pm 0,2$ TE als für die natürliche Verbindung **68** ($2,3 \pm 0,1$ TE).

Die Einführung einer zweiten Prenylkette in 5'-Position zu der in 3'-Position wies einen Rückgang der Trolox-Äquivalente auf. Die diprenylierte Substanz mit der Methoxygruppe in 6'-Position war schwächer wirksam als die Leitsubstanz Xanthohumol.

Die pharmakologische Wirkung von Xanthohumol H (Verbindung **86**) im ORAC Test war höher als die des Xanthohumols. Die Einführung einer Hydroxygruppe in die 3''-Position der Seitenkette durch eine Addition an der Doppelbindung lies die Aktivität ($4,8 \pm 0,1$ TE) im Vergleich zu Xanthohumol selbst ansteigen. Auch die Derivate des Xanthohumol H zeigten mit $3,2 \pm 0,2$ TE für Verbindung **87** und $4,0 \pm 0,4$ TE für Verbindung **88** eine erhöhte Aktivität. Die hydroxilierte Seitenkette begünstigte bei den getesteten Verbindungen die Radikalfängereigenschaften mehr als bei den Analoga mit der Prenylkette.

Das Xanthohumol C (Verbindung **93**), an dem die Prenylkette zu einem Pyranring mit der Hydroxygruppe in 4'-Position zyklisiert ist, wies eine erniedrigte antioxidative Wirkung mit $1,8 \pm 0,1$ TE auf. Auch ein Einfluss des substituierten B-Rings war bei den Xanthohumol C-Derivaten nicht zu erkennen, da alle Verbindungen fast die

gleiche antioxidative Wirkung erreichten.

Die Verbindung ohne die Doppelbindung im Pyranring (Verbindung **98**) ergab eine Aktivität von $1,7 \pm 0,2$ TE. Dies ist mit dem ORAC-Wert von Xanthohumol C fast identisch und ebenfalls geringer als die antioxidative Wirkung des Xanthohumol. Die Doppelbindung im Xanthohumol C scheint daher bei dieser Verbindung keinen Einfluss auf die antioxidative Aktivität zu haben.

Als Resümee lässt sich festhalten, dass die Etablierung eines universal anwendbaren, effizienten und nachhaltigen Syntheseweges für ein breites Strukturspektrum von Chalkonen gelungen ist. Die pharmakologischen Arbeiten zeigen, dass auch von den Minorverbindungen im Hopfen wie auch von den bisher untersuchten Phase-I-Metaboliten des Xanthohumols eine potente pharmakologische Aktivität erwartet werden kann, und eine breite pharmakologische Charakterisierung in Zukunft lohnenswert erscheint.

G Ausblick

Die bereits verfügbaren pharmakologischen Daten für Xanthohumol, insbesondere seine viel versprechenden Eigenschaften in den unterschiedlichen biologischen Test wecken das Interesse an der Gewinnung und Testung weiterer, mit dem Xanthohumol strukturell verwandter Prenylchalkone.

Die Synthese weiterer Minorkomponenten und Metabolite wird dabei angestrebt, um die pharmakologischen Wirkungen der Chalkone weiter untersuchen zu können. Die Zyklisierung der Prenylseitenkette zu einem Furanring mit der Hydroxygruppe in 4'-Position und die Einführung weiterer Substituenten am zyklisierten Ring soll durchgeführt werden. Auch Verbindungen, die an einer anderen Stelle der Prenylseitenkette hydroxiliert oder zweifach mit Hydroxygruppen versehen sind, erscheinen für die Zukunft als lohnenswerte Syntheseprojekte. Außerdem könnte versucht werden die Prenylkette in 3'-Position durch andere Substituenten zu ersetzen. Auch die Entwicklung von Hybrid- und Bivalenten Molekülen unter Nutzung von C-3' als Kupplungsposition ist möglich. Bei diesen Verbindungen könnten ganz neue Strukturteile über die C-3' Position eingebaut werden.

Die Synthese der hergestellten Verbindungen könnte durch die Einführung weiterer Substituenten am aromatischen B-Ring noch erweitert werden. Die unterschiedlichen pharmakologischen Wirkungen dieser Derivate machen es möglich, weitere Struktur-Aktivitäts-Beziehungen aufzuklären. Die verschiedenen natürlichen und synthetisch hergestellten Verbindungen sollen außerdem weiterhin auf ihre pharmakologischen Eigenschaften untersucht werden, insbesondere sollen ihre zytotoxische Aktivität (durch einen MTT-Assay) sowie ihre antioxidative Eigenschaften bestimmt werden. Es würden sich interessante neue Möglichkeiten ergeben um weitere synthetische Verbindungen mit noch höherer Zytotoxizität gegenüber Tumorzellen zu erhalten. Weitere pharmakologische Daten der bereits synthetisierten Verbindungen könnten durch die Testung an verschiedenen weiteren Zelllinien generiert werden. Bei dieser Untersuchung würden spezifische zytotoxische Eigenschaften in den Blickpunkt geraten.

Da im Hopfen oder im Fall der Metabolite im Plasma nur niedrige Konzentrationen der Verbindungen enthalten sind, müssen große Mengen extrahiert werden, um

ausreichende Mengen für zellphysiologische Tests zu gewinnen. Daher sollen größere Mengen der verschiedenen Verbindungen hergestellt werden, damit noch weitere pharmakologische Untersuchungen (insbesondere auch in vivo) gestartet werden können.

Darüber hinaus soll die Charakterisierung der pharmakologischen Eigenschaften durch die Bestimmung der antioxidativen Aktivität weiter ergänzt werden. Wie der Vergleich mit einigen Trolox-Äquivalenten aus der Literatur zeigt, besitzen die Chalkone ein gutes antioxidatives Potential. Der nächste Schritt in der Charakterisierung der pharmakologischen Eigenschaften der Hopfen-Chalkone und deren synthetischer Derivate wird die Testung in einem zellulären Assay sein. Hierbei spielen neben den Radikalfängereigenschaften noch andere Parameter eine wesentliche Rolle, wie z.B. die Fähigkeit der Verbindungen, die Zellmembran zu passieren.

F Experimenteller Teil

1 Allgemeine Angaben

1.1 Synthetischer Teil

Chemikalien:

Die Ausgangsstoffe der Synthesen wurden überwiegend von den Firmen ALDRICH und MERCK bezogen. 2,4,6-Trihydroxyacetophenon-Monohydrate (98%), MOM-Br (tech. 90%), Prenyl- (96%) und Geranyl bromid (95%) und 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ, 98%) wurden von der Firma Aldrich erhalten. Dimethylsulfat (99%) wurde von der Firma Merck bezogen und and N,N-Dimethylanilin (99%) von der Firma Janssen.

Dünnschicht- und Säulenchromatographie:

Zur Dünnschicht- (DC) und Säulenchromatographie (SC) wurden folgende stationäre Phasen verwendet:

DC: MERCK 5554 DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄

SC: MERCK 10832 Geduran[®] SI 60 Kieselgel, Korngröße 0,063-0,200 nm

Die Detektion erfolgte mit UV-Licht der Wellenlänge 254 und 366 nm

Schmelzpunktbestimmungen:

Die Schmelzpunkte wurden mit der Schmelzpunktapparatur BÜCHI B-545 (BÜCHI Labortechnik GmbH, Essen) bestimmt. Die angegebenen Werte wurden nicht korrigiert.

Massenspektrometrie:

Die Massenspektren wurden in der Zentralen Analytik der NWF IV an der Universität Regensburg gemessen. Es wurden hoch- und niedrigaufgelöste elektroneninduzierte Massenspektren (PI-EI MS) an einem Finnigan MAT 710 A-Massenspektrometer der Firma VARIAN (bei 70 eV Beschleunigungsspannung) aufgenommen.

Bei der Auflistung der Daten ist zunächst die Masse/Ladung (m/z), dann die Art des Massenfragments und schließlich die relative Intensität in % angegeben.

UV/vis-Spektroskopie:

Die UV-Spektren aller Verbindungen wurden an einem Cary 50 Scan UV-Visible-Spektrometer der Firma Varian mit Methanol (Reinheitsgrad >99.9%) als Lösungsmittel aufgenommen. Verwendet wurden 1 cm Quarzküvetten der Firma Hellma.

Die Daten sind angegeben als λ_{\max} (MeOH)(log ϵ) in nm

 ^1H - und ^{13}C -Kernresonanzspektroskopie:

Alle ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren wurden an einem AVANCE 300 (^1H -NMR 300,13 MHz, ^{13}C -NMR 75,47 MHz) der Firma BRUKER in der Zentralen Analytik der NWF IV an der Universität Regensburg gemessen. Die Messtemperatur betrug 296,1 K. Die Spektren wurden in Aceton- d_6 , CDCl_3 oder $\text{DMSO-}d_6$ (Firma: Deutero GmbH, Reinheit 99,8%) aufgenommen und die Kalibrierung mit Hilfe des nicht deuterierten Lösungsmittelanteils durchgeführt.

Auflistung der Daten in folgender Reihenfolge:

^1H -NMR: Chemische Verschiebung (δ) in ppm, Multiplizität, Anzahl der Protonen, Kopplungskonstante (J) in Hertz (Hz) und Art der Protonen bzw. genaue Zuordnung
Weiterhin wurden folgende Abkürzungen bei der Auswertung verwendet:

s = Singulett; d = Duplett; dd = Duplett vom Duplett; t = Triplet; q = Quartett; quin = Quintett; m = Multipllett

1.2 Biochemischer und pharmakologischer Teil**Feinchemikalien und Reagenzien:**

AAPH (2,2'-Azobis(2-Methylpropionamidin)-dihydrochlorid) (Fa. Aldrich, Taufkirchen)

Amphotericin B, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Fa. Biochrom, Berlin)

Fetal Calf Serum (Fa. Biochrom, Berlin)

Fluorescein (Fa. Merck, Darmstadt)

L-Glutamin, 200 mM (Fa. Biochrom, Berlin)

MEM-EARLE Medium, mit 0,85 g/l NaHCO_3 , ohne L-Glutamin (Fa. Biochrom, Berlin)

MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) 98% (Fa. Aldrich, Taufkirchen)

Nicht essenzielle Aminosäuren NEA-(100x)-Konzentrat (Fa. Biochrom, Berlin)

PBS Lösung ohne $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ (Fa. Biochrom, Berlin)
Penicillin Natriumsalz/Streptomycin Sulfat (Fa. Gibco, Karlsruhe)
SDS (sodium dodecyl sulfate, Fa. Aldrich, Taufkirchen)
Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure, Fa. Fluka, Buchs/CH)
Trypanblau (Fa. Fluka, Buchs/CH)
Trypsin, 2,5% in PBS ohne $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ (Fa. Biochrom, Berlin)

Geräte:

Autoklav, Typ 23 (Fa. Melag, Berlin)
Einkanalpipette (Fa. Eppendorf, Hamburg)
 CO_2 -Inkubator (Fa. New Brunswick Scientific, New Jersey/USA)
Lamina Flow Sterilbank, FASTER CBH
Microplate Autoreader SpectaFluor Plus (Fa. Tecan, Crailsheim)
Mehrkanalpipette (Fa. Eppendorf, Hamburg)
Mikroskop Olympus CKX 41 (Fa. Olympus, Hamburg)
Milli Q Water System (Fa. Millipore, Boston / USA)
pH-Meter inolab (Fa. WTW, Weilheim)
Vortex Genie 2 (Fa. Bender & Hobein AG, Zürich/CH)
Wasserbad (Fa. Memmert, Büchenbach)
Zentrifuge, Modell Megafuge 1.0R (Fa. Heraeus Kendro, Fellbach)

Verbrauchsmaterialien:

Cryoröhrchen (Fa. VWR, Darmstadt)
Stereologische Einmalpipetten, steril (Fa. TPP, Trasadingen/CH)
Falcon Tube 50 und 15 ml (Fa. VWR, Darmstadt)
96-Loch-Mikrotiterplatten, steril (Fa. TPP Trasadingen/CH)
Neubauer-Zählkammer (Fa. VWR, Darmstadt)
Reaktionsgefäße (Fa. Eppendorf, Hamburg)
Zellkulturflaschen, 75 cm², steril (Fa. TPP, Trasadingen/CH)

Lösungen und Puffer:

AAPH	271,20 g/mol
Fluorescein- Stammlösung	117 μM
Milliporewasser	aus Milli Q Water System (Fa. Millipore)

MTT	5 mg/ml in PBS-Puffer
SDS	10% in Wasser
Trolox	250,29 g/mol
Phosphat-Puffer (für ORAC):	75 mM, pH 7,4
	Lösung A: Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O, 75 mM
	Lösung B: NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O, 75 mM

Zelllinien:

HeLa: menschliche Epithel-Gebärmutterhalskarzinomzelllinie zur Durchführung der Zytotoxizitätstests (American Type Culture Collection, ATCC CCL17)

2 Synthesevorschriften und analytische Daten

2.1 Vorschrift A: Schützungen der Hydroxygruppen

Es werden 25 mmol 2,4,6-Trihydroxyacetophenon-Monohydrat (1 Äquivalent) und 175 mmol Kaliumcarbonat (7 Äquivalente) in 150 ml Aceton gelöst und zum Sieden erhitzt, dann langsam 62,5 mmol Brommethylmethylether (2,5 Äquivalente) zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 3 Stunden unter Rückfluss gerührt. Anschließend wird der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und man lässt das Kaliumcarbonat absetzen. Der Überstand wird abdekantiert und das Carbonat mit Aceton gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotationsverdampfer eingeengt.

2.1.1 Analytische Daten der geschützten Acetophenone

2-Hydroxy-4,6-di(methoxymethoxy)acetophenon (1)

Darstellung nach Vorschrift A. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Weißer Feststoff; Ausbeute: 68%

C₁₂H₁₆O₆ (256,09 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 2,65 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,47 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,52 (s, 3H, -MOM-CH₃), 5,17 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,25 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,24 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz; -H-3), 6,26 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, -H-5), 13,72 (s, 1H, -OH)

6-Hydroxy-4-methoxy-2(methoxymethoxy)acetophenon (43)

Darstellung aus 2,6-Dihydroxy-4-methoxyacetophenon (**41**) und Brommethylmethylether nach Vorschrift A. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 95%

C₁₁H₁₄O₅ (226,08 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 2,64 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,52 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,84 (s, 3H, -OCH₃), 5,35 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,09 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, -H-3), 6,21 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, -H-5), 13,87 (s, 1H, -OH)

2-Hydroxy-4,6-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (51)

Darstellung aus 2,4,6-Trihydroxy-3-prenylacetophenon (**5**) und Brommethylmethylether nach Vorschrift A. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 3:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 57%

C₁₇H₂₄O₆ (324,16 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 1,77 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 2,65 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,30 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, -CH₂-), 3,47 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,51 (s, 3H, -MOM-CH₃), 5,19 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, -CH=), 5,23 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,25 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,39 (s, 1H, -H-5), 13,82 (s, 1H, -OH)

2.2 Vorschrift B: Prenylierung/Geranylierung der Hydroxygruppe

Es werden 25 mmol 2-Hydroxy-4,6-di(methoxymethoxy)acetophenon (**1**, 1 Äquivalent) und 100 mmol Kaliumcarbonat (4 Äquivalente) in 150 ml Aceton gelöst und zum Sieden erhitzt. Dann werden langsam 37,5 mmol Dimethylallylbromid/Geranyl bromid (1,5 Äquivalente) zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 24 Stunden unter Rückfluss gerührt. Anschließend wird der

Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und das Kaliumcarbonat abfiltriert. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt.

2.2.1 Analytische Daten der O-prenylierten/O-geranylierten Acetophenone

4,6-Di(methoxymethoxy)-2-prenyloxyacetophenon (2)

Darstellung nach Vorschrift B. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 91%

$C_{17}H_{24}O_6$ (324,16 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,71 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 1,75 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 2,47 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,45 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,47 (s, 3H, -MOM- CH_3), 4,49 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, - CH_2 -), 5,12 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,15 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,40 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH=), 6,31 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-3), 6,43 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-5)

6-Hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (3)

Es werden 7 mmol 2-Hydroxy-4,6,di(methoxymethoxy)acetophenon (1) in 20 ml Methanol vorgelegt und mit 14 mmol Kaliumhydroxid versetzt. Die Reaktionsmischung wird auf 0°C gekühlt und langsam 10,5 mmol Dimethylallylbromid zugetropft. Der Ansatz wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird auf Eiswasser gegossen, mit 3N HCl angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 6:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 33%

$C_{17}H_{24}O_6$ (324,16 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,68 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 1,76 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 2,70 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,30 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, - CH_2 -), 3,45 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,51 (s, 3H, -MOM- CH_3), 4,95 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,14 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH=), 5,21 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 6,47 (s, 1H, -H-5), 12,94 (s, 1H, -OH)

2,4-Di(methoxymethoxy)-3-prenyl-6-prenyloxyacetophenon (4)

Es werden 7 mmol 2-Hydroxy-4,6,di(methoxymethoxy)acetophenon (**1**) in 20 ml Methanol vorgelegt und mit 14 mmol Kaliumhydroxid versetzt. Die Reaktionsmischung wird auf 0°C gekühlt und langsam 10,5 mmol Dimethylallylbromid zugetropft. Der Ansatz wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird auf Eiswasser gegossen, mit 3N HCl angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 6:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 73%

C₂₂H₃₂O₆ (392,22 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,71 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 1,74 (s, 6H, 2x -Prenyl-CH₃), 1,76 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 2,49 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,30 (d, 2H, *J* = 6,7 Hz, -CH₂-), 3,46 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,48 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,48 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 4,49 (d, 2H, *J* = 6,7 Hz, -CH₂-), 4,90 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,14 (t, 1H, *J* = 6,7 Hz, -CH=), 5,18 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,40 (t, 1H, *J* = 6,7 Hz, -CH=), 6,54 (s, 1H, -H-5)

2,4,6-Tri(hydroxy)-3-prenylacetophenon (5)

Es werden 20 mmol 2,4,6-Tri(hydroxy)acetophenon-Monohydrat und 36 mmol Kaliumhydroxid in 55 ml Wasser vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird auf 0°C gekühlt und langsam 26 mmol Dimethylallylbromid zugetropft. Der Ansatz wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann auf 55 ml kalten Methanol gegossen, mit 3N HCl angesäuert und mit Benzol extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Kaliumhydrogencarbonatlösung in Methanol/Wasser extrahiert. Um die Kristallisation zu Starten wird etwas Wasser zugegeben und vorsichtig mit HCl angesäuert.

Leicht rötliche Kristalle; Ausbeute: 42%

C₁₃H₁₆O₄ (236,10 g/mol)

¹H-NMR (DMSO):

δ (ppm): 1,59 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 1,67 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 2,54 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,06 (d, 2H, *J* = 6,9 Hz, -CH₂-), 5,10 (t, 1H, *J* = 6,9 Hz, -CH=), 5,99 (s, 1H, -H-5), 10,31 (s, 1H, -OH), 10,53 (s, 1H, -OH), 14,01 (s, 1H, -OH)

4-Methoxy-2-(methoxymethoxy)-6-prenyloxyacetophenon (44)

Darstellung aus 6-Hydroxy-4-methoxy-2(methoxymethoxy)acetophenon (**43**) und Dimethylallylbromid nach Vorschrift B. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 77%

C₁₆H₁₇O₅ (294,15 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,71 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 1,76 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 2,47 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,46 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,79 (s, 3H, -OCH₃), 4,50 (d, 2H, *J* = 6,6 Hz, -CH₂-), 5,14 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,41 (t, 1H, *J* = 6,6 Hz, -CH=), 6,15 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, -H-3), 6,31 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, -H-5)

2,4-Di(methoxy)-6-prenyloxyacetophenon (45)

Darstellung aus 6-Hydroxy-2,4-di(methoxy)acetophenon (**42**) und Dimethylallylbromid nach Vorschrift B. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 45%

C₁₅H₂₀O₄ (264,14 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,71 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 1,76 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 2,45 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,78 (s, 3H, -OCH₃), 3,81 (s, 3H, -OCH₃), 4,50 (d, 2H, *J* = 6,6 Hz, -CH₂-), 5,41 (t, 1H, *J* = 6,6 Hz, -CH=), 6,09 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, -H-3), 6,10 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, -H-5)

2-Geranyloxy-4,6-di(methoxymethoxy)acetophenon (63)

Darstellung aus 2-Hydroxy-4,6-di(methoxymethoxy)acetophenon (**1**) und Geranyl bromid nach Vorschrift B. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 81%

C₂₂H₃₂O₆ (392,22 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,59 (s, 3H, -CH₃-10'), 1,67 (s, 3H, -CH₃-9'), 1,70 (s, 3H, -CH₃-4'), 2,06 (m, 4H, -CH₂-5' und -CH₂-6'), 2,47 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,45 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,47 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,52 (d, 2H, *J* = 6,4 Hz, -CH₂-1'), 4,90 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,07 (t,

1H, $J = 6,8$ Hz, -CH-7'), 5,12 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,14 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,40 (t, 1H, $J = 6,4$ Hz, -CH-2'), 6,31 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-3), 6,43 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-5)

4-(Methoxymethoxy)-2,6-diprenyloxyacetophenon (72)

Darstellung aus 2-Hydroxy-4-(methoxymethoxy)-6-prenyloxyacetophenon (71) und Dimethylallylbromid nach Vorschrift B. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 4:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 79%

C₂₀H₂₈O₅ (348,19 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,70 (s, 6H, 2x -Prenyl-CH₃), 1,75 (s, 6H, 2x -Prenyl-CH₃), 2,44 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,48 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,48 (d, 4H, $J = 6,6$ Hz, 2x -CH₂-), 5,15 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,40 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, 2x -CH=), 6,24 (s, 2H, -H-3 und -H-5)

2.3 Vorschrift C: Umlagerung der Prenylgruppe/Geranylgruppe

Es wird eine Lösung von 4,6-Di(methoxymethoxy)-2-prenyloxyacetophenon (2, 1 Äquivalent) in N,N-Dimethylanilin 98% unter Argon vorgelegt und 3 Stunden bei 200°C refluxiert. Anschließend wird auf Raumtemperatur abgekühlt, mit 3N HCl angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden erst mit 3N HCl, dann mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt.

2.3.1 Analytische Daten der prenylierten/geranylierten Acetophenone

6-Hydroxy-4-methoxy-2-(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (46)

Darstellung aus 4-Methoxy-2-(methoxymethoxy)-6-prenyloxyacetophenon (44) nach Vorschrift C. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Gelbliches Öl; Ausbeute: 32%

C₁₆H₂₂O₅ (294,15 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,69 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 1,75 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 2,70 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,28 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-), 3,50 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,84 (s, 3H, -OCH₃), 4,95

(s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,13 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH=), 6,27 (s, 1H, -H-5), 13,16 (s, 1H, -OH)

6-Hydroxy-2,4-di(methoxy)-3-prenylacetophenon (47)

Darstellung aus 2,4-Di(methoxy)-6-prenyloxyacetophenon (**45**) nach Vorschrift C. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Gelbliches Öl; Ausbeute: 56%

C₁₅H₂₀O₄ (264,14 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,69 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 1,76 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 2,68 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,26 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-), 3,72 (s, 3H, -OCH₃), 3,84 (s, 3H, -OCH₃), 5,14 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH=), 6,25 (s, 1H, -H-5), 13,36 (s, 1H, -OH)

3-Geranyl-6-hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)acetophenon (64)

Darstellung aus 2-Geranyloxy-4,6-di(methoxymethoxy)acetophenon (**63**) nach Vorschrift C. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 4:1.

Gelbliches Öl; Ausbeute: 28%

C₂₂H₃₂O₆ (392,22 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,57 (s, 3H, -CH₃-10'), 1,65 (s, 3H, -CH₃-9'), 1,75 (s, 3H, -CH₃-4'), 2,08 (m, 4H, -CH₂-5' und -CH₂-6'), 2,70 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,31 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-1') 3,45 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,50 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,95 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,06 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, -CH-7'), 5,15 (t, 1H, $J = 6,4$ Hz, -CH-2'), 5,20 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,47 (s, 1H, -H-5), 12,95 (s, 1H, -OH)

6-Hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacethophenon (70)

Es werden 4 mmol 2-Hydroxy-4,6,di(methoxymethoxy)acetophenon (**1**, 1 Äquivalent) in 10 ml Methanol vorgelegt und mit 11,2 mmol Kaliumhydroxid (2,8 Äquivalente) versetzt. Die Reaktionsmischung wird auf 0°C gekühlt und langsam 9,6 mmol Dimethylallylbromid (2,4 Äquivalente) zugetropft. Der Ansatz wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird auf Eiswasser gegossen, mit 3N HCl angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 6:1.

Gelbliches Öl; Ausbeute: 23%

$C_{22}H_{32}O_6$ (392,22 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,68 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 1,74 (s, 6H, 2x -Prenyl- CH_3), 1,76 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 2,53 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,29 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, - CH_2 -), 3,37 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, - CH_2 -), 3,47 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,57 (s, 3H, -MOM- CH_3), 4,89 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 4,93 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,19 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH=), 5,43 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH=), 12,70 (s, 1H, -OH)

2,6-Dihydroxy-4-(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacetophenon (73)

Darstellung aus 4-(Methoxymethoxy)-2,6-diprenyloxyacetophenon (**72**) nach Vorschrift C. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 6:1.

Braunes Öl; Ausbeute: 28%

$C_{20}H_{28}O_5$ (348,19 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,74 (s, 6H, 2x -Prenyl- CH_3), 1,81 (s, 6H, 2x -Prenyl- CH_3), 2,67 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,34 (d, 4H, $J = 6,6$ Hz, 2x - CH_2 -), 3,58 (s, 3H, -MOM- CH_3), 4,95 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,20 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH=), 9,89 (s, 1H, -OH)

2.4 Vorschrift D: Methoxylierung der Hydroxygruppe

Es werden 4 mmol 6-Hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**3**, 1 Äquivalent), 6 mmol Natriumhydroxid (1,5 Äquivalente) und 0,4 mmol Tetrabutylammoniumjodid (0,1 Äquivalent) in 20 ml Methylenchlorid/Wasser 3:2 vorgelegt und gut gerührt. Dann werden tropfenweise 4,4 mmol Dimethylsulfat (1,2 Äquivalente) zugegeben. Die Reaktionsmischung wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt.

2.4.1 Analytische Daten der methoxylierten prenylierten Acetophenone

6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (6)

Darstellung aus 6-Hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (3) und Dimethylsulfat nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1. Farbloses Öl; Ausbeute: 89%

$C_{18}H_{26}O_6$ (338,17 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 1,74 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 2,50 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,30 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, - CH_2 -), 3,47 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,48 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,79 (s, 3H, -O CH_3), 4,90 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,14 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH=), 5,20 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 6,54 (s, 1H, -H-5)

2-Methoxy-4,6-di(methoxymethoxy)acetophenon (7)

Darstellung aus 2-Hydroxy-4,6-di(methoxymethoxy)acetophenon (1) und Dimethylsulfat nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1. Farbloses Öl; Ausbeute: 84%

$C_{13}H_{18}O_4$ (270,11 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 2,65 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,46 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,48 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,78 (s, 3H, -O CH_3), 5,14 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,16 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 6,31 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-3), 6,45 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-5)

2-Hydroxy-4,6-dimethoxyacetophenon (35)

Darstellung aus 2,4,6-Trihydroxyacetophenon-Monohydrat (1 Äquivalent) und Dimethylsulfat (2,5 Äquivalente) nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 38%

$C_{10}H_{12}O_4$ (196,07 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 2,61 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,82 (s, 3H, -O CH_3), 3,85 (s, 3H, -O CH_3), 5,92 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, -H-3), 6,06 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, -H-5), 14,03 (s, 1H, -OH)

2-Hydroxy-4,6-dimethoxy-3-methylacetophenon (36)

Darstellung aus 2,4,6-Trihydroxyacetophenon-Monohydrat (1 Äquivalent) und Dimethylsulfat (2,5 Äquivalente) nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 38%

$C_{11}H_{14}O_4$ (210,09 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 2,01 (s, 3H, -CH₃), 2,62 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,89 (s, 3H, -OCH₃), 3,90 (s, 3H, -OCH₃), 5,95 (s, 1H, -H-5), 13,97 (s, 1H, -OH)

2,6-Dihydroxy-4-methoxyacetophenon (41)

Darstellung aus 2,4,6-Tri(hydroxy)acetophenon-Monohydrat und Dimethylsulfat nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Weißer Feststoff; Ausbeute: 38%

$C_9H_{10}O_4$ (182,06 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 2,58 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,74 (s, 3H, -OCH₃), 5,94 (s, 2H, -H-5 und -H-3), 12,32 (s, 1H, -OH)

6-Hydroxy-2,4-di(methoxy)acetophenon (42)

Darstellung aus 2,4,6-Tri(hydroxy)acetophenon-Monohydrat (1 Äquivalent) und Dimethylsulfat (2,4 Äquivalente) nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Weißer Feststoff; Ausbeute: 38%

$C_{10}H_{12}O_4$ (196,07 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 2,61 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,82 (s, 3H, -OCH₃), 3,85 (s, 3H, -OCH₃), 5,92 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, -H-5), 6,06 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, -H-3), 14,04 (s, 1H, -OH)

2-Hydroxy-4,6-di(methoxy)-3-prenylacetophenon (49)

Darstellung aus 2,4-Di(hydroxy)-6-methoxy-3-prenylacetophenon (48) und Dimethylsulfat nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Weißer Feststoff; Ausbeute: 80%

$C_{15}H_{20}O_4$ (264,14 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 1,76 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 2,61 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,27 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, - CH_2 -), 3,88 (s, 3H, - OCH_3), 3,89 (s, 3H, - OCH_3), 5,17 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, - $\text{CH}=\text{)$, 5,95 (s, 1H, -H-5), 13,94 (s, 1H, -OH)

2-Methoxy-4,6-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (52)

Darstellung aus 2-Hydroxy-4,6-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**51**) und Dimethylsulfat nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1. Farbloses Öl; Ausbeute: 59%

$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_6$ (338,17 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 1,76 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 2,51 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,29 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, - CH_2 -), 3,46 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,47 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,71 (s, 3H, - OCH_3), 5,13 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,16 (m, 3H, - $\text{CH}=\text{)$ und -O- CH_2 -O-), 6,70 (s, 1H, -H-5)

3-Geranyl-6-methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)acetophenon (65)

Darstellung aus 3-Geranyl-6-hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)acetophenon (**64**) nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 4:1.

Gelbliches Öl; Ausbeute: 68%

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_6$ (406,24 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

δ (ppm): 1,57 (s, 3H, - CH_3 -10'), 1,64 (s, 3H, - CH_3 -9'), 1,74 (s, 3H, - CH_3 -4'), 2,06 (m, 4H, - CH_2 -5' und - CH_2 -6'), 2,50 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,31 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, - CH_2 -1'), 3,47 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,48 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,79 (s, 3H, - OCH_3), 4,89 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,05 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, - CH -7'), 5,14 (t, 1H, $J = 6,4$ Hz, - CH -2'), 5,20 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 6,55 (s, 1H, -H-5)

2-Hydroxy-6-methoxy-4-(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacetophenon (74)

Darstellung aus 2,6-Dihydroxy-4(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacetophenon (**73**) und Dimethylsulfat nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 4:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 64%

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$ (362,21 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

δ (ppm): 1,69 (s, 6H, 2x -Prenyl- CH_3), 1,76 (s, 6H, 2x -Prenyl- CH_3), 2,71 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,34 (d, 4H, $J = 6,4$ Hz, 2x - CH_2 -), 3,58 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,70 (s, 3H, -O CH_3), 4,98 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,20 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, 2x -CH=), 13,02 (s, 1H, -OH)

6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacetophenon (78)

Darstellung aus 6-Hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacetophenon (**70**) und Dimethylsulfat nach Vorschrift D. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 5:1.

Farbloses Öl; Ausbeute: 67%

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_6$ (406,24 g/mol)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

δ (ppm): 1,68 (s, 6H, 2x -Prenyl- CH_3), 1,74 (s, 6H, 2x -Prenyl- CH_3), 2,53 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,27 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, - CH_2 -), 3,36 (d, 2H, $J = 5,5$ Hz, - CH_2 -), 3,47 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,57 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,67 (s, 3H, -O CH_3), 4,88 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 4,88 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,18 (t, 1H, $J = 5,5$ Hz, -CH=), 5,39 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, -CH=)

2.5 Hydroxylierung mit Quecksilber

2.5.1 Analytische Daten der hydroxylierten Verbindung

3-(3'-Hydroxy-3'-methylbutyl)-6-methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)acetophenon (81)

Es wird eine Lösung von 2,22 g Quecksilber(II)acetat (4 Äquivalente) in Wasser (5 ml) vorbereitet. Dazu gibt man nacheinander 10 ml THF und 590 mg 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**). Die Innentemperatur sollte dabei 30°C nicht übersteigen. Man rührt so lange, bis bei einer Probe des Gemisches auf Zusatz von NaOH kein Quecksilberoxid mehr ausfällt. Dann versetzt man mit 5 ml 3N NaOH, tropft eine Lösung von 99 mg NaBH_4 in 5 ml 3N NaOH zu und rührt noch weitere 60 Minuten. Das ausgefallene Quecksilberoxid wird abgetrennt, die wässrige Phase mit Kochsalz gesättigt und mit Ether extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Reinigung durch SC mit Ethylacetat.

Farbloses Öl; Ausbeute: 70%

$C_{18}H_{28}O_7$ (356,18 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,25 (s, 6H, 2x $-CH_3$), 1,66 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, $-CH_2$), 1,77 (s, 1H, -OH), 2,47 (s, 3H, $-CO-CH_3$), 2,68 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, $-CH_2$), 3,48 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,50 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,78 (s, 3H, $-OCH_3$), 4,91 (s, 2H, $-O-CH_2-O-$), 5,20 (s, 2H, $-O-CH_2-O-$), 6,53 (s, 1H, $-H-5'$)

3-(2',3'-Dihydroxy-3'-methylbutyl)-6-methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-acetophenon (82)

Es wird eine Lösung von 2,22 g Quecksilber(II)acetat (4 Äquivalente) in Wasser (5 ml) vorbereitet. Dazu gibt man nacheinander 10 ml THF und 590 mg 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**). Die Innentemperatur sollte dabei 30°C nicht übersteigen. Man rührt so lange, bis bei einer Probe des Gemisches auf Zusatz von NaOH kein Quecksilberoxid mehr ausfällt. Dann versetzt man mit 5 ml 3N NaOH, tropft eine Lösung von 99 mg $NaBH_4$ in 5 ml 3N NaOH zu und rührt noch weitere 60 Minuten. Das ausgefallene Quecksilberoxid wird abgetrennt, die wässrige Phase mit Kochsalz gesättigt und mit Ether extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Reinigung durch SC mit Ethylacetat.

Farbloses Öl; Ausbeute: 19%

$C_{18}H_{28}O_8$ (372,18 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,37 (s, 3H, $-CH_3$), 1,46 (s, 3H, $-CH_3$), 2,36 (m, 1H, $-CH_2$), 1,77 (s, 1H, -OH), 2,44 (s, 3H, $-CO-CH_3$), 2,91 (m, 1H, $-CH_2$), 3,43 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,44 (s, 1H, $-H-2'$), 3,46 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,77 (s, 3H, $-OCH_3$), 4,91 (s, 2H, $-O-CH_2-O-$), 5,19 (s, 2H, $-O-CH_2-O-$), 6,53 (s, 1H, $-H-5'$)

2.6 Ringschlussreaktionen

2.6.1 Analytische Daten der ringgeschlossenen Verbindungen

2',2'-Dimethylpyrano[2',3':3,4]-2-hydroxy-6-methoxyacetophenon (89)

Es werden 7,2 mmol 2,4-Di(hydroxy)-6-methoxy-3-prenylacetophenon (**48**) und 7,2 mmol 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ) in 50 ml trockenem Benzol vorgelegt und 9 Tropfen trockenes Dioxan zugegeben. Die Reaktionsmischung wird zum Sieden erhitzt und 3 Stunden unter Rückfluss gerührt. Anschließend lässt man auf Raumtemperatur abkühlen und filtriert das DDQ ab. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 6:1. Hellgelbe Kristalle; Ausbeute: 90%

$C_{14}H_{16}O_4$ (248,1 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,44 (s, 6H, 2x -CH₃), 2,60 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,85 (s, 3H, -OCH₃), 5,45 (d, 1H, $J = 10,4$ Hz, -H-3), 5,88 (s, 1H, -H-8), 6,65 (d, 1H, $J = 10,4$ Hz, -H-4), 14,28 (s, 1H, -OH)

2',2'-Dimethyl-3',4'-dihydro-(2H)-pyrano[2',3':3,4]-2-hydroxy-6-methoxyacetophenon (96)

Es werden 100 mg 2,4-Di(hydroxy)-6-methoxy-3-prenylacetophenon (**48**) in 2 ml THF und 3 ml Ameisensäure vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird zum Sieden erhitzt und 3 Stunde unter Rückfluss gerührt. Anschließend wird auf Eiswasser gegossen und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 6:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 60%

$C_{14}H_{18}O_4$ (250,12 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,35 (s, 6H, 2x -CH₃), 1,79 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, -H-3), 2,59 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, -H-4), 2,50 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,82 (s, 3H, -OCH₃), 5,84 (s, 1H, -H-8), 14,40 (s, 1H, -OH)

2.7 Vorschrift E: Schützen der Hydroxygruppen der Benzaldehyde

10 mmol des entsprechenden Benzaldehyds (1 Äquivalent) und 50 mmol Kaliumcarbonat (5 Äquivalente) werden in 50 ml Aceton vorgelegt und zum Sieden erhitzt. Es werden 1,5 Äquivalente Brommethylmethylether pro zu schützende Hydroxygruppe zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 3 Stunden unter Rückfluss gerührt. Anschließend wird der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und das Kaliumcarbonat abfiltriert. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt.

2.7.1 Analytische Daten der geschützten Benzaldehyde

2-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (8)

Darstellung aus 2-Hydroxybenzaldehyd und Brommethylmethylether nach Vorschrift E. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 6:1.

Hellgelber Feststoff; Ausbeute: 34%

$C_9H_{10}O_3$ (166,06 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 3,53 (s, 3H, -MOM- CH_3), 5,31 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 7,09 (m, 1H, -H-5), 7,22 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, 0,5 Hz, -H-3), 7,54 (m, 1H, -H-4), 7,85 (dd, 1H, $J = 7,7$ Hz, 1,6 Hz, -H-6), 10,51 (s, 1H, -CO-H)

3-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (9)

Darstellung aus 3-Hydroxybenzaldehyd und Brommethylmethylether nach Vorschrift E. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 3:1.

Hellgelber Feststoff; Ausbeute: 41%

$C_9H_{10}O_3$ (166,06 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 3,49 (s, 3H, -MOM- CH_3), 5,24 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 7,32 (ddd, 1H, $J = 8,0$ Hz, 2,2 Hz, 1,4 Hz, -H-4), 7,46(t, 1H, $J = 7,9$ Hz, -H-5), 7,53 (m, 2H, -H-2 und -H-6), 9,98 (s, 1H, -CO-H)

4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (10)

Darstellung aus 4-Hydroxybenzaldehyd und Brommethylmethylether nach Vorschrift E. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Hellgelber Feststoff; Ausbeute: 78%

$C_9H_{10}O_3$ (166,06 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 3,49 (s, 3H, -MOM- CH_3), 5,26 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 7,15(d, 1H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,83 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 9,90 (s, 1H, -CO-H)

3,4-Di(methoxymethoxy)benzaldehyd (11)

Darstellung aus 3,4-Di(hydroxy)benzaldehyd und Brommethylnmethylether nach Vorschrift E. Reinigung durch SC mit Methylenchlorid/Ethylacetat 6:1.

Hellgelber Feststoff; Ausbeute: 41%

$C_{11}H_{14}O_5$ (226,08 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 3,52 (s, 3H, -MOM- CH_3), 3,53 (s, 3H, -MOM- CH_3), 5,30 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,33 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 7,29 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, -H-5), 7,51 (dd, 1H, $J = 8,2$ Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,68 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-2), 9,87 (s, 1H, -CO-H)

3,5-Di(methoxymethoxy)benzaldehyd (12)

Darstellung aus 3,5-Di(hydroxy)benzaldehyd und Brommethylnmethylether nach Vorschrift E. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Hellgelber Feststoff; Ausbeute: 68%

$C_{11}H_{14}O_5$ (226,08 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 3,49 (s, 6H, 2x -MOM- CH_3), 5,21 (s, 4H, 2x -O- CH_2 -O-), 6,98 (t, 1H, $J = 2,2$ Hz, -H-4), 7,21 (d, 2H, $J = 2,2$ Hz, -H-2 und -H-6), 9,91 (s, 1H, -CO-H)

3,4,5-Tri(methoxymethoxy)benzaldehyd (13)

Darstellung aus 3,4,5-Tri(hydroxy)benzaldehyd und Brommethylnmethylether nach Vorschrift E. Reinigung durch SC mit Methylenchlorid/Ethylacetat 6:1.

Hellgelber Feststoff; Ausbeute: 31%

$C_{13}H_{18}O_7$ (286,11 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 3,52 (s, 6H, 2x -MOM- CH_3), 3,62 (s, 3H, -MOM- CH_3), 5,25 (s, 4H, 2x -O- CH_2 -O-), 5,27 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 7,39 (s, 2H, -H-2 und -H-6), 9,85 (s, 1H, -CO-H)

3-Methoxy-4(methoxymethoxy)benzaldehyd (14)

Darstellung aus 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd und Brommethylmethylether nach Vorschrift E. Reinigung durch SC mit Methylenchlorid/Ethylacetat 2:1.

Weißer Feststoff; Ausbeute: 75%

$C_{10}H_{12}O_4$ (196,07 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 3,52 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,94 (s, 3H, -OCH₃), 5,32 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 7,27 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, -H-5), 7,11 (dd, 1H, $J = 8,7$ Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,43 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-2), 9,86 (s, 1H, -CO-H)

2.8 Vorschrift F: Aldolkupplung

Zu einer kalten Lösung von 1 Äquivalent des A-Ringes und 1,1 Äquivalenten des geschützten Benzaldehyds in 4 ml Ethanol wird tropfenweise eine kalte Lösung von 50 Äquivalenten Kaliumhydroxid in 10 ml Ethanol/Wasser 3:2 bei 0°C unter Argon gegeben. Es wird zunächst 1 Stunde im Eisbad gerührt, dann 3 Tage bei Raumtemperatur unter Argon. Anschließend wird auf Eiswasser gegossen, mit 3N HCl angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt.

2.8.1 Analytische Daten der geschützten Chalkone**6'-Methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalon (15)**

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (6) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (10) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 66%

$C_{27}H_{34}O_8$ (486,23 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,67 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,76 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,35 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, -CH₂-1''), 3,42 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,47 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,50 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,76 (s, 3H, -OCH₃), 4,90 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,19 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-2''), 5,20 (s, 2H,

-O-CH₂-O-), 5,23 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,58 (s, 1H, -H-5'), 6,89 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -H- β), 7,03 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,37 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -H- α), 7,48 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6)

6'-Methoxy-2,2',4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (17)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**) und 2-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**8**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 74%

C₂₇H₃₄O₈ (486,23 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,67 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,76 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,35 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, -CH₂-1''), 3,43 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,45 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,49 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,77 (s, 3H, -OCH₃), 4,92 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,18 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-2''), 5,21 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,23 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,58 (s, 1H, -H-5'), 7,01 (m, 1H, -H-5), 7,07 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, -H- β), 7,13 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz, 1,5 Hz, -H-3), 7,32 (m, 1H, -H-4), 7,58 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz, 1,6 Hz, -H-6), 7,82 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, -H- α)

6'-Methoxy-2',3,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (18)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**) und 3-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**9**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 61%

C₂₇H₃₄O₈ (486,23 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,68 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,76 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,35 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, -CH₂-1''), 3,43 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,48 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,76 (s, 3H, -OCH₃), 4,91 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,18 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-2''), 5,18 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,24 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,59 (s, 1H, -H-5'), 6,98 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, -H- β), 7,05 (m, 1H, -H-4), 7,19 (m, 1H, -H-5), 7,33 (m, 2H, -H-2 und -H-6), 7,36 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -H- α)

6'-Methoxy-2',3,4,4'-tetra(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (19)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**) und 3,4-Di(methoxymethoxy)benzaldehyd (**11**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 79%

C₂₉H₃₈O₁₀ (546,25 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,68 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,76 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,35 (d, 2H, J = 6,6 Hz, -CH₂-1''), 3,43 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,51 (s, 6H, 2x -MOM-CH₃), 3,52 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,75 (s, 3H, -OCH₃), 4,90 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,18 (t, 1H, J = 6,7 Hz, -CH-2''), 5,23 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,24 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,26 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,58 (s, 1H, -H-5'), 6,89 (d, 1H, J = 15,9 Hz, -H-β), 7,08 (d, 1H, J = 8,2 Hz, -H-5), 7,16 (dd, 1H, J = 8,2 Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,31 (d, 1H, J = 15,9 Hz, -H-α), 7,35 (d, 1H, J = 1,9 Hz, -H-2)

2'-Hydroxy-6'-methoxy-3,4',5-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (20)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**) und 3,5-Di(methoxymethoxy)benzaldehyd (**12**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 45%

C₂₉H₃₈O₁₀ (546,25 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,67 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,79 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,21 (d, 2H, J = 7,1 Hz, -CH₂-1''), 3,43 (s, 9H, 3x -MOM-CH₃), 3,92 (s, 3H, -OCH₃), 5,19 (s, 4H, 2x -O-CH₂-O-), 5,22 (t, 1H, J = 7,3 Hz, -CH-2''), 5,27 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,23 (s, 1H, -H-5'), 6,77 (t, 1H, J = 2,2 Hz, -H-4), 6,97 (d, 2H, J = 2,2 Hz, -H-2 und -H-6), 7,66 (d, 1H, J = 15,6 Hz, -H-β), 7,84 (d, 1H, J = 15,6 Hz, -H-α), 14,01 (s, 1H, -OH-2')

2'-Hydroxy-6'-methoxy-3,4,4',5-tetra(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (21)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**) und 3,4,5-Tri(methoxymethoxy)benzaldehyd (**13**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 53%

C₂₉H₃₈O₁₁ (562,24 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,67 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,79 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,32 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, -CH₂-1''), 3,49 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,52 (s, 6H, 2x -MOM-CH₃), 3,62 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,92 (s, 3H, -OCH₃), 5,19 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,21 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, -CH-2''), 5,24 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,27 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,30 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,23 (s, 1H, -H-5'), 7,16 (s, 2H, -H-2 und -H-6), 7,65 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,81 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 14,08 (s, 1H, -OH-2')

3,4,6'-Trimethoxy-2',4'-di(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (27)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**) und 3,4-Di(methoxy)benzaldehyd nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Methylenchlorid/Ethylacetat 6:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 40%

C₂₇H₃₄O₈ (486,23 g/mol)

¹H-NMR (DMSO-d₆):

δ (ppm): 1,67 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,76 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,36 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-1''), 3,41 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,50 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,76 (s, 3H, -OCH₃), 3,90 (s, 3H, -OCH₃), 3,91 (s, 3H, -OCH₃), 4,92 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,19 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH-2''), 5,24 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,58 (s, 1H, -H-5'), 6,85 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, -H-5), 6,88 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -H- β), 7,07 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-2), 7,12 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,34 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -H- α)

3,6'-Di(methoxy)-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (28)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**) und 3-Methoxy-4-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**14**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 65%

C₂₈H₃₆O₉ (516,24 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,76 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,36 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-1''), 3,40 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,45 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,49 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,76 (s, 3H, -OCH₃), 3,89 (s, 3H, -OCH₃), 4,90 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,21 (t, 1H, $J = 6,7$ Hz, -CH-2''), 5,22 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,32 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,71 (s, 1H, -H-5'), 6,94 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -H- β), 7,12 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, -H-5), 7,17 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,30 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -H- α), 7,35 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-2)

6'-Methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-chalkon (31)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)acetophenon (**7**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 76%

C₂₂H₂₆O₈ (418,16 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 3,38 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,47 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,51 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,76 (s, 3H, -OCH₃), 5,11 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,20 (s, 4H, 2x -O-CH₂-O-), 6,36 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, -H-3'), 6,50 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, -H-5'), 6,86 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, -H-β), 7,02 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, -H-3 und -H-5), 7,31 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, -H-α), 7,47 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, -H-2 und -H-6)

6'-Methoxy-2',3,4,4'-tetra(methoxymethoxy)-chalkon (32)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)acetophenon (**7**) und 3,4-Di(methoxymethoxy)benzaldehyd (**11**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 78%

C₂₄H₃₀O₁₀ (478,18 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 3,39 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,50 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,52 (s, 6H, 2x -MOM-CH₃), 3,76 (s, 3H, -OCH₃), 5,11 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,20 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,24 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,26 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,37 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, -H-3'), 6,50 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, -H-5'), 6,86 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, -H-β), 7,14 (m, 2H, -H-5 und -H-6), 7,27 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, -H-α), 7,35 (s, 1H, -H-2)

2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy-4-(methoxymethoxy)chalkon (37)

Darstellung aus 2-Hydroxy-4,6-di(methoxy)acetophenon (**35**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 83%

C₁₉H₂₀O₆ (344,13 g/mol)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 3,45 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,88 (s, 3H, -OCH₃), 4,01 (s, 3H, -OCH₃), 5,27 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,10 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, -H-3'), 6,13 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, -H-5'), 7,11 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,70 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,77 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,94 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 14,38 (s, 1H, -OH-6')

2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy-4'-(methoxymethoxy)-3'-methylchalkon (38)

Darstellung aus 2-Hydroxy-4,6-di(methoxy)-3-methylacetophenon (**36**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 59%

C₂₀H₂₂O₆ (358,14 g/mol)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,97 (s, 3H, -CH₃), 3,45 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,96 (s, 3H, -OCH₃), 4,05 (s, 3H, -OCH₃), 5,27 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,32 (s, 1H, -H-5'), 7,11 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,70 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,76 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,94 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 14,25 (s, 1H, -OH-6')

6'-Hydroxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (53)

Darstellung aus 6-Hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**3**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 43%

C₂₆H₃₂O₈ (472,21 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,70 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,79 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,36 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-1''), 3,46 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,47 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,49 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,88 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,18 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, -CH-2''), 5,22 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,23 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,50 (s, 1H, -H-5'), 7,07 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,60 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,72 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,83 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 12,88 (s, 1H, -OH)

6'-Hydroxy-4'-methoxy-2',4-di(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (54)

Darstellung aus 6-Hydroxy-4-methoxy-2-methoxymethoxy-3-prenylacetophenon (**46**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 52%

C₂₅H₃₀O₇ (442,20 g/mol)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,67 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,78 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,35 (d, 2H, *J* = 6,6 Hz, -CH₂-1''), 3,46 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,48 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,92 (s, 3H, -OCH₃), 4,95 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,19 (t, 1H, *J* = 6,6 Hz, -CH-2''), 5,28 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,37 (s, 1H, -H-5'), 7,13 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, -H-3 und -H-5), 7,72 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, -H-2 und -H-6), 7,82 (s, 2H, -H-α und -H-β), 13,20 (s, 1H, -OH-6')

6'-Hydroxy-2',4'-dimethoxy-4(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (55)

Darstellung aus 6-Hydroxy-2,4-di(methoxy)-3-prenylacetophenon (**47**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 75%

C₂₄H₂₈O₆ (412,19 g/mol)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,78 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,31 (d, 2H, *J* = 6,8 Hz, -CH₂-1''), 3,46 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,71 (s, 3H, -OCH₃), 3,91 (s, 3H, -OCH₃), 5,17 (t, 1H, *J* = 6,9 Hz, -CH-2''), 5,28 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,34 (s, 1H, -H-5'), 7,14 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, -H-3 und -H-5), 7,72 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz, -H-2 und -H-6), 7,84 (d, 1H, *J* = 15,6 Hz, -H-β), 7,92 (d, 1H, *J* = 15,6 Hz, -H-α), 13,60 (s, 1H, -OH-6')

2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy-4-(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (56)

Darstellung aus 2-Hydroxy-4,6-di(methoxy)-3-prenylacetophenon (**49**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 73%

C₂₄H₂₈O₆ (412,19 g/mol)

¹H-NMR (DMSO-d₆):

δ (ppm): 1,60 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,70 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,16 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, -CH₂-1''), 3,39 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,92 (s, 3H, -OCH₃), 3,99 (s, 3H, -OCH₃), 5,10 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, -CH-2''), 5,26 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,28 (s, 1H, -H-5'), 7,10 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,70 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,70 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,81 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 14,09 (s, 1H, OH-2')

2'-Methoxy-4,4',6'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (57)

Darstellung aus 2-Methoxy-4,6-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**52**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 70%

C₂₇H₃₄O₈ (486,23 g/mol)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,77 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,31 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, -CH₂-1''), 3,35 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,43 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,48 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,68 (s, 3H, -OCH₃-2'), 5,13 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,21 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-2''), 5,27 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,33 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,52 (s, 1H, -H-5'), 7,08 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,63 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,79 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,98 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α)

3'-Geranyl-6'-hydroxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-chalkon (66)

Darstellung aus 3-Geranyl-6-hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)-acetophenon (**64**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 4:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 66%

C₃₁H₄₀O₈ (540,27 g/mol)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,62 (s, 3H, -CH₃-10''), 1,70 (s, 3H, -CH₃-9''), 1,81 (s, 3H, -CH₃-4''), 2,05 (m, 4H, -CH₂-5'' und -CH₂-6''), 3,40 (d, 2H, $J = 6,3$ Hz, -CH₂-1''), 3,46 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,47 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,49 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,97 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,09 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-7''), 5,25 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-2''), 5,28 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,33 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,49 (s, 1H, -H-5'), 7,13 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,73 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,82 (s, 2H, -H- α und -H- β), 12,96 (s, 1H, -OH)

3'-Geranyl-6'-methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon (67)

Darstellung aus 3-Geranyl-6-methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-acetophenon (65) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (10) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 61%

C₃₂H₄₂O₈ (554,29 g/mol)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,63 (s, 3H, -CH₃-10''), 1,67 (s, 3H, -CH₃-9''), 1,77 (s, 3H, -CH₃-4''), 1,97 (m, 4H, -CH₂-5'' und -CH₂-6''), 3,37 (d, 2H, J = 7,4 Hz, -CH₂-1''), 3,40 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,44 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,50 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,77 (s, 3H, -OCH₃), 4,90 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,08 (t, 1H, J = 7,1 Hz, -CH-7''), 5,23 (t, 1H, J = 7,1 Hz, -CH-2''), 5,25 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,32 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,71 (s, 1H, -H-5'), 6,91 (d, 1H, J = 16,2 Hz, -H-β), 7,07 (d, 2H, J = 8,8 Hz, -H-3 und -H-5), 7,32 (d, 1H, J = 15,6 Hz, -H-α), 7,62 (d, 2H, J = 8,5 Hz, -H-2 und -H-6)

2'-Hydroxy-6'-methoxy-4,4'-di(methoxymethoxy)-3',5'-diprenylchalkon (75)

Darstellung aus 2-Hydroxy-6-methoxy-4-(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacetophenon (74) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (10) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 4:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 64%

C₃₀H₃₈O₇ (510,28 g/mol)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, , -CH₃-5''), 1,69 (s, 3H, -CH₃-4''), 1,77 (s, 3H, -CH₃-5'''), 1,79 (s, 3H, -CH₃-4'''), 3,37 (d, 2H, J = 7,4 Hz, -CH₂-1''), 3,40 (d, 2H, J = 7,4 Hz, -CH₂-1'''), 3,46 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,57 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,70 (s, 3H, -OCH₃), 5,05 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,24 (t, 2H, J = 7,4 Hz, 2x -CH-2'' und -CH-2'''), 5,29 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 7,14 (d, 2H, J = 8,8 Hz, -H-3 und -H-5), 7,74 (d, 2H, J = 8,8 Hz, -H-2 und -H-6), 7,78 (d, 1H, J = 15,9 Hz, -H-β), 7,93 (d, 1H, J = 15,9 Hz, -H-α), 13,19 (s, 1H, -OH)

2',6'-Dihydroxy-4,4'-di(methoxymethoxy)-3',5'-diprenylchalkon (76)

Darstellung aus 2,6-Dihydroxy-4-(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacetophenon (73) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (10) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 57%

$C_{29}H_{36}O_7$ (496,25 g/mol)

1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,70 (s, 3H, -CH₃-4''), 1,77 (s, 3H, -CH₃-5'''), 1,79 (s, 3H, -CH₃-4'''), 3,38 (d, 4H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-1'' und -CH₂-1'''), 3,45 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,46 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,57 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,93 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,04 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,24 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH-2''), 5,27 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH-2'''), 5,28 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 7,13 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,74 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,77 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz, -H- β), 7,87 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz, -H- α), 12,79 (s, 1H, -OH)

6'-Hydroxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3',5'-diprenylchalkon (79)

Darstellung aus 6-Hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacetophenon (**70**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 4:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 34%

$C_{31}H_{40}O_8$ (540,27 g/mol)

1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -CH₃-4''), 1,70 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,77 (s, 3H, -CH₃-4'''), 1,79 (s, 3H, -CH₃-5'''), 3,38 (d, 4H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-1'' und -CH₂-1'''), 3,45 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,46 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,57 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,93 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,04 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,24 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH-2''), 5,27 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH-2'''), 5,28 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 7,13 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,74 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,77 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz, -H- β), 7,87 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz, -H- α), 12,79 (s, 1H, -OH)

6'-Methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3',5'-diprenylchalkon (80)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3,5-diprenylacetophenon (**78**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 4:1.

Gelbes Öl; Ausbeute: 63%

$C_{32}H_{42}O_8$ (554,29 g/mol)

1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,68 (s, 6H, -CH₃-5'' und -CH₃-5'''), 1,76 (s, 6H, -CH₃-4'' und -CH₃-4'''), 3,30 (d, 4H, $J = 7,1$ Hz, -CH₂-1'' und -CH₂-1'''), 3,38 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,44 (s, 3H, -

MOM-CH₃), 3,57 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,65 (s, 3H, -OCH₃), 4,89 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,02 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,26 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,27 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz, -CH-2'' und -CH-2'''), 6,96 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, -H-β), 7,09 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,34 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, -H-α), 7,63 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6)

3'-(3''-Hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon (83)

Darstellung aus 3-(3'-Hydroxy-3'-methylbutyl)-6-methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-acetophenon (**81**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:2.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 74%

C₂₇H₃₆O₉ (504,24 g/mol)

¹H NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,25 (s, 6H, 2x -CH₃), 1,70 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, -CH₂), 2,76 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, -CH₂), 3,43 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,44 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,52 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,76 (s, 3H, -OCH₃), 4,91 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,25 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,33 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,70 (s, 1H, -H-5'), 6,91 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, -H-β), 7,08 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,31 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H-α), 7,62 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-2 und -H-6)

3'-(3''-Hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxy-2',3,4,4'-tetra(methoxymethoxy)-chalkon (84)

Darstellung aus 3-(3'-Hydroxy-3'-methylbutyl)-6-methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-acetophenon (**81**) und 3,4-Di(methoxymethoxy)benzaldehyd (**11**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:4.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 68%

C₂₉H₄₀O₁₁ (564,26 g/mol)

¹H NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,24 (s, 6H, 2x -CH₃), 1,63 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, -CH₂), 2,71 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, -CH₂), 3,48 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,50 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,52 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,53 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,00 (s, 3H, -OCH₃), 4,91 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,28 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,29 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,33 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,40 (s, 1H, -H-5'), 7,20 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, -H-5), 7,36 (dd, 1H, $J = 8,2$ Hz, 1,9 Hz, -H-6),

7,56 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-2), 7,73 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz, -H- β), 7,93 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz, -H- α)

**3'-(3''-Hydroxy-3''-methylbutyl)-3,6'-dimethoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-
chalkon (85)**

Darstellung aus 3-(3'-Hydroxy-3'-methylbutyl)-2,4-di(methoxymethoxy)-6-methoxyacetophenon (**81**) und 3-Methoxy-4-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**14**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Ethylacetat.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 63%

$C_{28}H_{38}O_{10}$ (534,25 g/mol)

1H NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,25 (s, 6H, 2x -CH₃), 1,70 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, -CH₂), 2,76 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, -CH₂), 3,43 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,45 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,52 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,76 (s, 1H, -OCH₃), 3,89 (s, 3H, -OCH₃), 4,91 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,22 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,33 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,70 (s, 1H, -H-5'), 6,93 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz, -H- β), 7,12 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, -H-5), 7,15 (dd, 1H, $J = 8,1$ Hz, 1,6 Hz, -H-6), 7,29 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, -H- α), 7,35 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz, -H-2)

**2'',2''-Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-2'-hydroxy-6'-methoxy-4-(methoxymethoxy)-
chalkon (90)**

Darstellung aus 2',2'-Dimethylpyrano[2',3':3,4]-2-hydroxy-6-methoxyacetophenon (**89**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 66%

$C_{23}H_{24}O_6$ (396,16 g/mol)

1H -NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,46 (s, 6H, 2x -CH₃), 3,49 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,91 (s, 3H, -OCH₃), 5,22 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,46 (d, 1H, $J = 10,0$ Hz, -H-3''), 5,92 (s, 1H, -H-5'), 6,69 (d, 1H, $J = 10,0$ Hz, -H-4''), 7,06 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,55 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,75 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,80 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 14,61 (s, 1H, -OH)

2'',2''-Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-2'-hydroxy-6'-methoxy-3,4-di(methoxy-methoxy)chalkon (91)

Darstellung aus 2',2'-Dimethylpyrano[2',3':3,4]-2-hydroxy-6-methoxyacetophenon (**89**) und 3,4-Di(methoxymethoxy)benzaldehyd (**11**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 34%

C₂₅H₂₈O₈ (456,18 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,44 (s, 6H, 2x -CH₃), 3,48 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,53 (s, 3H, -MOM-CH₃), 4,02 (s, 3H, -OCH₃), 5,28 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,30 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,58 (d, 1H, J = 9,9 Hz, -H-3''), 6,04 (s, 1H, -H-5'), 6,63 (d, 1H, J = 9,9 Hz, -H-4''), 7,20 (d, 1H, J = 8,5 Hz, -H-5), 7,35 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, 2,2 Hz, -H-6), 7,56 (d, 1H, J = 2,2 Hz, -H-2), 7,73 (d, 1H, J = 15,6 Hz, -H-β), 7,92 (d, 1H, J = 15,6 Hz, -H-α), 14,73 (s, 1H, -OH)

2'',2''-Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-2'-hydroxy-3,6'-dimethoxy-4-(methoxy-methoxy)chalkon (92)

Darstellung aus 2',2'-Dimethylpyrano[2',3':3,4]-2-hydroxy-6-methoxyacetophenon (**89**) und 3-Methoxy-4-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**14**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 38%

C₂₄H₂₆O₇ (426,17 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,44 (s, 6H, 2x -CH₃), 3,47 (s, 3H, -MOM-CH₃), 3,94 (s, 3H, -OCH₃), 4,02 (s, 3H, -OCH₃), 5,24 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 5,58 (d, 1H, J = 9,9 Hz, -H-3''), 6,04 (s, 1H, -H-5'), 6,63 (d, 1H, J = 9,9 Hz, -H-4''), 7,16 (d, 1H, J = 8,2 Hz, -H-5), 7,30 (dd, 1H, J = 8,2 Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,36 (d, 1H, J = 1,9 Hz, -H-2), 7,75 (d, 1H, J = 15,6 Hz, -H-β), 7,92 (d, 1H, J = 15,6 Hz, -H-α), 14,71 (s, 1H, -OH)

2'',2''-Dimethyl-3'',4''-dihydro-(2H)-pyrano[2'',3'':3',4']-2'-hydroxy-6'-methoxy-4'-(methoxymethoxy)chalkon (97)

Darstellung aus 2',2'-Dimethyl-3',4'-dihydro-(2H)-pyrano[2',3':3,4]-2-hydroxy-6-methoxyacetophenon (**96**) und 4-(Methoxymethoxy)benzaldehyd (**10**) nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Methylenchlorid.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 74%

$C_{23}H_{26}O_6$ (398,17 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,36 (s, 6H, 2x $-CH_3$), 1,81 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, 2x $-H-3''$), 2,63 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, 2x $-H-4''$), 3,49 (s, 3H, $-MOM-CH_3$), 3,88 (s, 3H, $-OCH_3$), 5,22 (s, 2H, $-O-CH_2-O-$), 5,88 (s, 1H, $-H-5'$), 7,06 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, $-H-3$ und $-H-5$), 7,55 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, $-H-2$ und $-H-6$), 7,75 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\beta$), 7,85 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\alpha$), 14,78 (s, 1H, $-OH$)

2.9 Vorschrift G: Entschützung

Es wird 1 Äquivalent des geschützten Chalkons in 10 ml Methanol vorgelegt und gerührt. Die Reaktion wird zum Sieden erhitzt und es werden langsam 2 ml 3N HCl zugegeben. Nach 20 Minuten unter Rückfluss wird auf Eiswasser gegossen und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt.

2.9.1 Analytische Daten der entschützten Verbindungen

2',4,4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon (16)

Darstellung aus 6'-Methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (**15**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 64%

$C_{21}H_{22}O_5$ (354,15 g/mol)

Schmp.: 162-163°C

UV: λ_{max} (MeOH) 369,6 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 354 $[M]^+$ (70), 339 $[M-CH_3]^+$ (10), 311 $[M-C_3H_7]^+$ (48), 179 (100);

1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,62 (s, 3H, $-CH_3-5''$), 1,75 (s, 3H, $-CH_3-4''$), 3,28 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, $-CH_2-1''$), 3,92 (s, 3H, $-OCH_3$), 5,24 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, $-CH-2''$), 6,13 (s, 1H, $-H-5'$), 6,91 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, $-H-3$ und $-H-5$), 7,60 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, $-H-2$ und $-H-6$), 7,75 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\beta$), 7,89 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\alpha$), 9,08 (s, 1H, $-OH$), 14,67 (s, 1H, $-OH-2'$)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,3 (CO), 166,4 (C-2'), 162,7 (C-4'), 161,9 (C-6'), 160,5 (C-4), 143,1 (C- β), 131,3 (C-2 und C-6), 130,9 (C-3''), 128,1 (C-1), 125,4 (C- α), 124,0 (C-2''), 116,8 (C-3 und C-5), 108,8 (C-3'), 106,3 (C-1'), 91,6 (C-5'), 56,1 (OCH₃), 25,8 (C-5''), 22,0 (C-1''), 17,8 (C-4'')

2,2',4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon (22)

Darstellung aus 6'-Methoxy-2,2',4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (**17**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Methylenchlorid/Ethylacetat 4:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 40%

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5$ (354,15 g/mol)

Schmp.: 84-85°C

UV: λ_{max} (MeOH) 365,0 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 354 [M]⁺ (42), 293 (100), 179 (85); EI-HRMS (pos. mode) m/z : 354,1459 (berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5$, 354,1467)

^1H -NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,78 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,83 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,41 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz, -CH₂-1''), 3,89 (s, 3H, -OCH₃), 5,30 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz, -CH-2''), 5,60 (s, 1H, -OH), 5,94 (s, 1H, -OH), 6,23 (s, 1H, -H-5'), 6,85 (m, 1H, -H-5), 6,96 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -H- β), 6,98 (m, 1H, -H-3), 7,25 (m, 1H, -H-4), 7,55 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz, 1,6 Hz, -H-6), 8,04 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -H- α), 14,56 (s, 1H, -OH-2')

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,8 (CO), 166,4 (C-2'), 162,9 (C-4'), 162,0 (C-6'), 157,7 (C-2), 138,3 (C- β), 132,2 (C-4), 131,0 (C-3''), 129,6 (C-6), 128,3 (C- α), 124,0 (C-2''), 123,5 (C-1), 120,9 (C-5), 117,1 (C-3), 108,9 (C-3'), 106,4 (C-1'), 91,7 (C-5'), 56,1 (OCH₃), 25,9 (C-5''), 22,1 (C-1''), 17,9 (C-4'')

2',3,4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon (23)

Darstellung aus 6'-Methoxy-2',3,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (**18**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Methylenchlorid/Ethylacetat 4:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 55%

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5$ (354,15 g/mol)

Schmp.: 79-80°C

UV: λ_{max} (MeOH) 355,0 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 354 $[M]^+$ (64), 339 $[M-CH_3]^+$ (12), 311 $[M-C_3H_7]^+$ (40), 179 (100); EI-HRMS m/z : 354,1465 (berechnet für $C_{21}H_{22}O_5$, 354,1467)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,78 (s, 3H, $-CH_3-5''$), 1,83 (s, 3H, $-CH_3-4''$), 3,41 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz, $-CH_2-1''$), 3,90 (s, 3H, $-OCH_3$), 4,99 (s, 1H, $-OH$), 5,29 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz, $-CH-2''$), 5,95 (s, 1H, $-OH$), 6,23 (s, 1H, $-H-5'$), 6,86 (ddd, 1H, $J = 8,0$ Hz, 2,7 Hz, 1,1 Hz, $-H-4$), 7,07 (m, 1H, $-H-2$), 7,18 (m, 1H, $-H-6$), 7,27 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $-H-5$), 7,70 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\beta$), 7,85 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\alpha$), 14,52 (s, 1H, $-OH-2'$)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,3 (CO), 166,4 (C-2'), 163,2 (C-4'), 162,1 (C-6'), 158,8 (C-3), 142,6 (C- β), 137,9 (C-1), 131,1 (C-3''), 130,9 (C-5), 128,7 (C- α), 123,9 (C-2''), 120,9 (C-6), 118,2 (C-4), 115,3 (C-2), 108,9 (C-3'), 106,3 (C-1'), 91,8 (C-5'), 56,2 (OCH_3), 25,9 (C-5''), 22,1 (C-1''), 17,9 (C-4'')

2',3,4,4'-Tetrahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon (24)

Darstellung aus 6'-Methoxy-2',3,4,4'-tetra(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (19) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:3.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 42%

$C_{21}H_{22}O_6$ (370,14 g/mol)

Schmp.: 127°C

UV: λ_{max} (MeOH) 380,0 nm

EI-MS (pos. mode) 370 $[M]^+$ (57), 355 $[M-CH_3]^+$ (9), 327 (31), 179 (100); EI-HRMS (pos. mode) m/z : 370,1416 (berechnet für $C_{21}H_{22}O_6$, 370,1416)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,77 (s, 3H, $-CH_3-5''$), 1,83 (s, 3H, $-CH_3-4''$), 3,40 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, $-CH_2-1''$), 3,90 (s, 3H, $-OCH_3$), 5,29 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, $-CH-2''$), 5,72 (s, 1H, $-OH$), 5,94 (s, 1H, $-H-5'$), 6,25 (s, 1H, $-OH$), 6,87 (s, 1H, $-OH$), 7,08 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, $-H-5$), 7,09 (dd, 1H, $J = 8,2$ Hz, 1,9 Hz, $-H-6$), 7,15 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, $-H-2$), 7,68 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\beta$), 7,76 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\alpha$), 14,65 (s, 1H, $-OH-2'$)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,3 (CO), 166,4 (C-2'), 162,8 (C-4'), 161,9 (C-6'), 148,8 (C-4), 146,4 (C-3), 143,5 (C- β), 131,0 (C-3''), 128,8 (C-1), 125,6 (C- α), 124,0 (C-2''), 123,1 (C-6), 116,5 (C-5), 115,3 (C-2), 108,9 (C-3'), 106,3 (C-1'), 91,7 (C-5'), 56,2 (OCH_3), 25,9 (C-5''), 22,1 (C-1''), 17,9 (C-4'')

2',3,4',5-Tetrahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon (25)

Darstellung aus 2'-Hydroxy-6'-methoxy-3,4',5-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (20) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:2.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 71%

$C_{21}H_{22}O_6$ (370,14 g/mol)

Schmp.: 141-142°C

UV: λ_{max} (MeOH) 355,0 nm

EI-MS (pos. mode) 370 $[M]^+$ (73), 355 $[M-CH_3]^+$ (11), 327 $[M-C_3H_7]^+$ (22), 179 (100);

EI-HRMS (pos. mode) m/z : 370,1416 (berechnet für $C_{21}H_{22}O_6$, 370,1416)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,78 (s, 3H, $-CH_3-5''$), 1,83 (s, 3H, $-CH_3-4''$), 3,40 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz, $-CH_2-1''$), 3,90 (s, 3H, $-OCH_3$), 5,05 (s, 1H, $-OH$), 5,29 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz, $-CH-2''$), 5,94 (s, 1H, $-OH$), 6,24 (s, 1H, $-H-5'$), 6,39 (t, 1H, $J = 2,1$ Hz, $-H-4$), 6,65 (d, 2H, $J = 2,1$ Hz, $-H-2$ and $-H-6$), 7,60 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\beta$), 7,80 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\alpha$), 14,50 (s, 1H, $-OH-2'$)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,3 (CO), 166,4 (C-2'), 163,1 (C-4'), 162,0 (C-6'), 159,9 (C-3 und C-5), 142,9 (C- β), 138,5 (C-1), 131,1 (C-3''), 128,6 (C- α), 123,9 (C-2''), 109,0 (C-3'), 107,6 (C-2 und C-6), 106,3 (C-1'), 105,6 (C-4), 91,8 (C-5'), 56,2 (OCH_3), 25,9 (C-5''), 22,1 (C-1''), 17,9 (C-4'')

2',3,4,4',5-Pentahydroxy-6'-methoxy-3'-prenylchalkon (26)

Darstellung aus 2'-Hydroxy-6'-methoxy-3,4,4',5-tetra(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (21) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:3.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 69%

$C_{21}H_{22}O_7$ (386,14 g/mol)

Schmp.: 64-66°C

UV: λ_{max} (MeOH) 385,0 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 386 $[M]^+$ (32), 371 $[M-CH_3]^+$ (4), 343 $[M-C_3H_7]^+$ (8), 179 (100), 153 (68); EI-HRMS (pos. mode) m/z : 386,1360 (berechnet für $C_{21}H_{22}O_7$ 386,1366)

1H -NMR (DMSO- d_6):

δ (ppm): 1,61 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,70 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,14 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, -CH₂-1''), 3,88 (s, 3H, -OCH₃), 5,13 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz, -CH-2''), 6,08 (s, 1H, -H-5'), 6,65 (s, 2H, -H-2 und -H-6), 7,49 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz, -H- β), 7,66 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz, -H- α), 14,70 (s, 1H, -OH-2')

¹³C-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 193,2 (CO), 166,4 (C-2'), 162,8 (C-4'), 161,9 (C-6'), 146,8 (C-3 und C-5), 143,9 (C- β), 136,7 (C-4), 130,9 (C-3''), 127,8 (C-1), 125,7 (C- α), 124,0 (C-2''), 108,9 (C-3'), 108,8 (C-2 und C-6), 106,3 (C-1'), 91,7 (C-5'), 56,2 (OCH₃), 25,9 (C-5''), 22,1 (C-1''), 17,9 (C-4'')

2',4'-Dihydroxy-3,4,6'-trimethoxy-3'-prenylchalkon (29)

Darstellung aus 3,4,6'-Trimethoxy-2',4'-di(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (27) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 78%

C₂₃H₂₆O₆ (398,17 g/mol)

Schmp.: 154-155°C

UV: λ_{\max} (MeOH) 375,1 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 398 [M]⁺ (80), 355 [M-C₃H₇]⁺ (53), 179 (100); EI-HRMS (pos. mode) m/z : 398,1726 (berechnet für C₂₃H₂₆O₆, 398,1729)

¹H-NMR (DMSO-d₆):

δ (ppm): 1,61 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,70 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,14 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-1''), 3,81 (s, 3H, -OCH₃), 3,83 (s, 3H, -OCH₃), 3,87 (s, 3H, -OCH₃), 5,14 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH-2''), 6,09 (s, 1H, -H-5'), 7,03 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, -H-5), 7,26 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1,6 Hz, -H-6), 7,32 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz, -H-2), 7,68 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,83 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 14,57 (s, 1H, -OH-2')

¹³C-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 193,2 (CO), 166,4 (C-2'), 162,9 (C-4'), 162,0 (C-6'), 152,6 (C-4), 150,6 (C-3), 143,1 (C- β), 131,0 (C-3''), 129,4 (C-1), 126,4 (C- α), 124,0 (C-2''), 123,6 (C-6), 112,6 (C-5), 111,6 (C-2), 108,9 (C-3'), 106,3 (C-1'), 91,7 (C-5'), 56,2 (3 x OCH₃-3,4,6'), 25,9 (C-5''), 22,1 (C-1''), 17,9 (C-4'')

2',4,4'-Trihydroxy-3,6'-dimethoxy-3'-prenylchalkon (30)

Darstellung aus 3,6'-Di(methoxy)-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (28) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:2.

Gelbes Öl; Ausbeute: 55%

$C_{22}H_{24}O_6$ (384,16 g/mol)

Schmp.: 160-162°C

UV: λ_{max} (MeOH) 375,0 nm

EI-MS (pos. mode) 384 $[M]^+$ (100), 369 $[M-CH_3]^+$ (13), 341 (56), 179 (70); EI-HRMS (pos. mode) m/z : 384,1570 (berechnet für $C_{22}H_{24}O_6$, 384,1573)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,64 (s, 3H, $-CH_3-5''$), 1,76 (s, 3H, $-CH_3-4''$), 3,29 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, $-CH_2-1''$), 3,93 (s, 3H, $-OCH_3$), 3,94 (s, 3H, $-OCH_3$), 5,25 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, $-CH-2''$), 6,14 (s, 1H, $-H-5'$), 6,90 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, $-H-5$), 7,25 (dd, 1H, $J = 8,2$ Hz, 1,9 Hz, $-H-6$), 7,32 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, $-H-2$), 7,73 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, $-H-\beta$), 7,89 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, $-H-\alpha$), 14,68 (s, 1H, $-OH$)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,3 (CO), 166,4 (C-2'), 162,8 (C-4'), 161,9 (C-6'), 150,1 (C-4), 148,7 (C-3), 143,4 (C- β), 131,0 (C-3''), 128,6 (C-1), 125,8 (C- α), 124,0 (C-2''), 123,7 (C-6), 116,3 (C-5), 112,1 (C-2), 108,9 (C-3'), 106,3 (C-1'), 91,7 (C-5'), 56,3 (OCH_3), 56,2 (OCH_3), 25,9 (C-5''), 22,1 (C-1''), 17,9 (C-4'')

2',4,4'-Trihydroxy-6'-methoxychalkon (33)

Darstellung aus 6'-Methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon (31) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 76%

$C_{16}H_{14}O_5$ (286,28 g/mol)

Schmp.: 253-254°C

UV: λ_{max} (MeOH) 365,0 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 286 $[M]^+$ (89), 285 $[M-H]^+$ (80), 167 (100);

1H -NMR (DMSO- d_6):

δ (ppm): 3,87 (s, 3H, $-OCH_3$), 5,91 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, $-H-3'$), 6,01 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, $-H-5'$), 6,84 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, $-H-3$ und $-H-5$), 7,57 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, $-H-2$ und $-H-6$), 7,62 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\beta$), 7,69 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-H-\alpha$), 13,96 (s, 1H, $-OH-2'$)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,2 (CO), 169,1 (C-2'), 165,7 (C-4'), 164,3 (C-6'), 160,7 (C-4), 143,4 (C- β), 131,3 (C-2 und C-6), 128,1 (C-1), 125,2 (C- α), 116,8 (C-3 und C-5), 106,4 (C-1'), 97,0 (C-3'), 92,2 (C-5'), 56,4 (OCH₃)

2',3,4,4'-Tetrahydroxy-6'-methoxychalkon (34)

Darstellung aus 6'-Methoxy-2',3,4,4'-tetra(methoxymethoxy)chalkon (**32**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:2.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 71%

C₁₆H₁₄O₆ (302,08 g/mol)

Schmp.: 230°C

UV: λ_{\max} (MeOH) 380,0 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 302 [M]⁺ (72), 301 [M-H]⁺ (40), 167 (100); EI-HRMS m/z : 302,0783 (berechnet für C₁₆H₁₄O₆, 302,0790)

¹H-NMR (DMSO-d₆):

δ (ppm): 3,88 (s, 3H, -OCH₃), 5,91 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, -H-3'), 6,01 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, -H-5'), 6,79 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, -H-5), 7,02 (dd, 1H, $J = 8,8$ Hz, 2,2 Hz, -H-6), 7,11 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, -H-2), 7,54 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,62 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 9,28 (s, 1H, -OH), 9,64 (s, 1H, -OH), 10,61 (s, 1H, -OH), 14,03 (s, 1H, -OH-2')

¹³C-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 193,1 (CO), 169,1 (C-2'), 165,7 (C-4'), 164,3 (C-6'), 148,9 (C-4), 146,4 (C-3), 143,8 (C- β), 128,7 (C-1), 125,3 (C- α), 123,1 (C-6), 116,5 (C-5), 115,3 (C-2), 106,4 (C-1'), 97,0 (C-3'), 92,2 (C-5'), 56,4 (OCH₃)

2',4-Dihydroxy-4',6'-dimethoxychalkon (39)

Darstellung aus 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy-4(methoxymethoxy)chalkon (**37**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 72%

C₁₇H₁₆O₅ (300,10 g/mol)

UV: λ_{\max} (MeOH) 365 nm

EIMS (pos. mode) m/z 300 [M]⁺ (100), 207 (42), 181 (64); HR-EIMS m/z 300,0998 (berechnet für C₁₇H₁₆O₅ 300,0998)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 3,87 (s, 3H, -OCH₃), 4,01 (s, 3H, -OCH₃), 6,09 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, -H-3'), 6,12 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, -H-5'), 6,92 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,63 (d, 2H, J

= 8,8 Hz, -H-2 und -H-6), 7,76 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,89 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 8,93 (s, 1H, -OH-4), 14,38 (s, 1H, -OH-2')

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,4 (CO), 169,2 (C-2'), 167,3 (C-4'), 163,7 (C-6'), 160,7 (C-4), 143,8 (C- β), 131,4 (C-2 und C-6), 128,0 (C-1), 125,0 (C- α), 116,8 (C-3 und C-5), 106,8 (C-1'), 94,7 (C-3'), 91,8 (C-5'), 56,5 (OCH₃-6'), 56,1 (OCH₃-4')

2',4-Dihydroxy-4',6'-dimethoxy-3'-methylchalkon (40)

Darstellung aus 2'-Hydroxy-4',6'-di(methoxy)-3'-methylchalkon (**38**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 73%

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_5$ (314,12 g/mol)

Schmp.: 173-177°C

UV: λ_{max} (MeOH)(log ϵ) 365 nm (4,48)

EIMS (pos. mode) m/z 314 [M]⁺ (100), 221 (21), 194 (41); HR-EIMS m/z 314,1152 (berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_5$ 314,1154)

^1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,97 (s, 3H, -CH₃), 3,96 (s, 3H, -OCH₃-4'), 4,05 (s, 3H, -OCH₃-6'), 6,31 (s, 1H, -H-5'), 6,92 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,62 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,76 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,90 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 8,99 (s, 1H, -OH-4), 14,33 (s, 1H, -OH)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,7 (CO), 165,0 (C-2'), 164,6 (C-4'), 162,3 (C-6'), 160,7 (C-4), 143,4 (C- β), 131,3 (C-2 und C-6), 128,0 (C-1), 125,4 (C- α), 116,8 (C-3 und C-5), 106,7 (C-1'), 105,8 (C-3'), 87,8 (C-5'), 56,4 (OCH₃-6'), 56,1 (OCH₃-4'), 7,5 (CH₃)

2,4-Dihydroxy-6'-methoxy-3'-prenylacetophenon (48)

Darstellung aus 6-Methoxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**6**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Weißer Feststoff; Ausbeute: 79%

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$ (250,12 g/mol)

^1H -NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,77 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,82 (s, 3H, -CH₃-4''), 2,61 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,37 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, -CH₂-1''), 3,84 (s, 3H, -OCH₃), 5,26 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, -CH-2''), 5,90 (s, 1H, -OH), 6,15 (s, 1H, -H-5), 14,39 (s, 1H, -OH)

2,4,6-Trihydroxy-3-prenylacetophenon (50)

Darstellung aus 6-Hydroxy-2,4-di(methoxymethoxy)-3-prenylacetophenon (**3**) und 3 N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Hellgelber Feststoff; Ausbeute: 69%

C₁₃H₁₆O₄ (236,10 g/mol)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,62 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 1,73 (s, 3H, -Prenyl-CH₃), 2,60 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,23 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, -CH₂-), 5,21 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, -CH=), 6,06 (s, 1H, -H-5), 9,06 (s, 1H, -OH), 9,45 (s, 1H, -OH), 13,96 (s, 1H, -OH)

2',4,4',6'-Tetrahydroxy-3'-prenylchalkon (58)

Darstellung aus 6'-Hydroxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (**53**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 43%

C₂₀H₂₀O₅ (340,13 g/mol)

Schmp.: 176-177°C

UV: λ_{\max} (MeOH) 365,0 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 340 [M]⁺ (70), 325 [M-CH₃]⁺ (13), 297 [M-C₃H₇]⁺ (20), 165 (100);

¹H-NMR (DMSO-d₆):

δ (ppm): 1,60 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,69 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,09 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, -CH₂-1''), 5,13 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz, -CH-2''), 6,02 (s, 1H, -H-5'), 6,83 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,52 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,65 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,99 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 10,05 (s, 1H, -OH), 10,34 (s, 1H, -OH), 10,64 (s, 1H, -OH), 14,54 (s, 1H, -OH-2')

¹³C-NMR (Aceton-d₆)

δ (ppm): 193,4 (CO), 165,9 (C-2'), 162,8 (C-4'), 160,5 (C-6'), 160,2 (C-4), 143,0 (C- β), 131,2 (C-2 und C-6), 130,8 (C-3''), 128,2 (C-1), 125,6 (C- α), 124,3 (C-2''), 116,8 (C-3 und C-5), 108,1 (C-3'), 105,7 (C-1'), 95,3 (C-5'), 25,9 (C-5''), 22,1 (C-1''), 17,9 (C-4'')

2',4,6'-Trihydroxy-4'-methoxy-3'-prenylchalkon (59)

Darstellung aus 6'-Hydroxy-4'-methoxy-2',4-di(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (**54**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 54%

$C_{21}H_{22}O_5$ (354,15 g/mol)

Schmp.: 95-97°C

UV: λ_{\max} (MeOH) 365,0 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 354 $[M]^+$ (60), 339 $[M-CH_3]^+$ (21), 311 $[M-C_3H_7]^+$ (21), 179 (100);

1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,62 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,74 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,24 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, -CH₂-1''), 3,84 (s, 3H, -OCH₃), 5,18 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, -CH-2''), 6,17 (s, 1H, -H-5'), 6,92 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,58 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,78 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 8,12 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 8,91 (s, 1H, -OH), 9,84 (s, 1H, -OH), 14,05 (s, 1H, -OH-2')

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,8 (CO), 164,3 (C-4' und C-2'), 160,8 (C-6'), 160,6 (C-4), 143,4 (C- β), 131,2 (C-2 und C-6), 130,8 (C-3''), 128,1 (C-1), 125,4 (C- α), 124,1 (C-2''), 116,8 (C-3 und C-5), 109,0 (C-3'), 106,1 (C-1'), 91,5 (C-5'), 55,9 (OCH₃), 25,9 (C-5''), 21,9 (C-1''), 17,8 (C-4'')

4,6'-Dihydroxy-2',4'-dimethoxy-3'-prenylchalkon (60)

Darstellung aus 6'-Hydroxy-2',4'-dimethoxy-4(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (**55**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranges Öl; Ausbeute: 67%

$C_{22}H_{24}O_5$ (368,16 g/mol)

UV: λ_{\max} (MeOH) 375,1 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 368 $[M]^+$ (91), 353 $[M-CH_3]^+$ (21), 248 (61), 233 (100); EI-HRMS (pos. mode) m/z : 368,1621 (berechnet für $C_{22}H_{24}O_5$, 368,1624)

1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,66 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,78 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,30 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, -CH₂-1''), 3,71 (s, 3H, -OCH₃), 3,91 (s, 3H, -OCH₃), 5,17 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-2''), 6,34

(s, 1H, -H-5'), 6,95 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,64 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,84 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,89 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 8,98 (s, 1H, -OH-4), 13,63 (s, 1H, -OH-6')

$^{13}\text{C-NMR}$ (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,5 (CO), 166,3 (C-2'), 165,3 (C-4'), 161,2 (C-6'), 161,0 (C-4), 144,8 (C- β), 131,5 (C-2 und C-6), 131,5 (C-3''), 127,8 (C-1), 124,2 (C- α), 123,7 (C-2''), 117,0 (C-3 und C-5), 116,4 (C-3'), 109,6 (C-1'), 96,9 (C-5'), 63,5 (OCH₃-2'), 56,5 (OCH₃-4'), 25,9 (C-5''), 23,0 (C-1''), 17,9 (C-4'')

2',4-Dihydroxy-4',6'-dimethoxy-3'-prenylchalkon (61)

Darstellung aus 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy-4-(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (**56**) und 3N HCl nach Vorschrift F. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 66%

$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_5$ (368,16 g/mol)

Schmp.: 145°C

UV: λ_{max} (MeOH) 369,9 nm

EI-MS (pos. mode) m/z : 368 [M]⁺ (73), 353 [$\text{M}-\text{CH}_3$]⁺ (20), 325 [$\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7$]⁺ (65), 193 (100);

$^1\text{H-NMR}$ (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,62 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,75 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,26 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, -CH₂-1''), 3,96 (s, 3H, -OCH₃), 4,04 (s, 3H, -OCH₃), 5,18 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, -CH-2''), 6,30 (s, 1H, -H-5'), 6,92 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,61 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,75 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,88 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 9,11 (s, 1H, -OH-4), 14,33 (s, 1H, OH-2')

$^{13}\text{C-NMR}$ (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,8 (CO), 164,8 (C-4'), 164,4 (C-2'), 162,5 (C-6'), 160,8 (C-4), 143,5 (C- β), 131,3 (C-2 und C-6), 131,0 (C-3''), 128,0 (C-1), 125,4 (C- α), 123,9 (C-2''), 116,9 (C-3 und C-5), 110,0 (C-3'), 106,9 (C-1'), 88,0 (C-5'), 56,5 (OCH₃-6'), 56,2 (OCH₃-4'), 25,9 (C-5''), 22,0 (C-1''), 17,9 (C-4'')

4,4',6'-Trihydroxy-2'-methoxy-3'-prenylchalkon (62)

Darstellung aus 2'-Methoxy-4,4',6'-tri(methoxymethoxy)-3'-prenylchalkon (**57**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 41%

$C_{21}H_{22}O_5$ (354,15 g/mol)

Schmp.: 57-60°C

UV: λ_{\max} (MeOH)(log ϵ) 370 nm (4,50)

EIMS (pos. mode) m/z 354 $[M]^+$ (100), 339 $[M-CH_3]^+$ (20), 235 (31), 234 (38), 219 (60), 179 (100); HR-EIMS m/z 354,1463 (berechnet für $C_{21}H_{22}O_5$ 354,1467)

1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,67 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,79 (s, 3H, -CH₃-4''), 3,33 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, -CH₂-1''), 3,72 (s, 3H, -OCH₃-2'), 5,24 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-2''), 6,25 (s, 1H, -H-5'), 6,95 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,64 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,82 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,89 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 8,99 (s, 1H, -OH), 9,47 (s, 1H, -OH), 13,50 (s, 1H, -OH-6)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,3 (CO), 165,6 (C-6'), 163,8 (C-4'), 162,3 (C-2'), 160,8 (C-4), 144,4 (C- β), 131,3 (C-2 und C-6), 131,3 (C-3''), 127,9 (C-1), 124,3 (C- α), 123,9 (C-2''), 116,9 (C-3 und C-5), 115,5 (C-3'), 109,4 (C-1'), 100,2 (C-5'), 63,4 (OCH₃-2'), 25,8 (C-5''), 23,0 (C-1''), 18,0 (C-4'')

3'-Geranyl-2',4,4',6'-tetrahydroxychalkon (68)

Darstellung aus 3'-Geranyl-6'-hydroxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon (66) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:2.

Gelb-oranger Feststoff; Ausbeute: 25%

$C_{25}H_{28}O_5$ (408,19 g/mol)

Schmp.: 74-79°C

UV: λ_{\max} (MeOH) 365 nm

EIMS (pos. mode) m/z 408 $[M]^+$ (40), 365 $[M-C_3H_7]^+$ (2), 323 (100), 285 (81), 203 (53), 165 (60); HR-EIMS m/z 408,1931 (berechnet für $C_{25}H_{28}O_5$ 408,1937)

1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,61 (s, 3H, -CH₃-10''), 1,64 (s, 3H, -CH₃-9''), 1,77 (s, 3H, -CH₃-4''), 2,05 (m, 4H, -CH₂-5'' und -CH₂-6''), 3,29 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, -CH₂-1''), 5,08 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-7''), 5,27 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, -CH-2''), 6,10 (s, 1H, -H-5'), 6,91 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,57 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,76 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 8,13 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 8,88 (s, 1H, -OH), 9,08 (s, 1H, -OH), 9,59 (s, 1H, -OH), 14,65 (s, 1H, -OH-2')

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,4 (CO), 165,9 (C-2'), 162,8 (C-4'), 160,5 (C-6'), 160,2 (C-4), 143,0 (C- β), 134,7 (C-3''), 131,6 (C-8''), 131,2 (C-2 und C-6), 128,3 (C-1), 125,6 (C- α), 124,1 (C-7''), 123,9 (C-2''), 116,8 (C-3 und C-5), 106,9 (C-3'), 105,7 (C-1'), 95,3 (C-5'), 40,9 (C-5''), 29,1 (C-6''), 25,4 (C-10''), 22,8 (C-1''), 20,8 (C-9''), 16,1 (C-4'')

3'-Geranyl-2',4,4'-trihydroxy-6'-methoxychalkon (69)

Darstellung aus 3'-Geranyl-6'-methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon (**67**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Dunkelgelber Feststoff; Ausbeute: 53%

$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_5$ (422,21 g/mol)

Schmp.: 107-112°C

UV: λ_{max} (MeOH) (log ϵ) 370 nm (4,51)

EIMS (pos. mode) m/z 422 $[\text{M}]^+$ (78), 407 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ (6), 379 $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7]^+$ (8), 353 $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_9]^+$ (49), 299 (75), 233 (87), 179 (100); HR-EIMS m/z 422,2093 (berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_5$ 422,2093)

^1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,61 (s, 3H, $-\text{CH}_3$ -10''), 1,64 (s, 3H, $-\text{CH}_3$ -9''), 1,78 (s, 3H, $-\text{CH}_3$ -4''), 1,98 (m, 4H, $-\text{CH}_2$ -5'' und $-\text{CH}_2$ -6''), 3,31 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, $-\text{CH}_2$ -1''), 3,93 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$ -6'), 5,08 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, $-\text{CH}$ -7''), 5,27 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, $-\text{CH}$ -2''), 6,14 (s, 1H, $-\text{H}$ -5'), 6,91 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, $-\text{H}$ -3 und $-\text{H}$ -5), 7,61 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, $-\text{H}$ -2 und $-\text{H}$ -6), 7,75 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-\text{H}$ - β), 7,89 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $-\text{H}$ - α), 9,04 (s, 1H, $-\text{OH}$), 14,65 (s, 1H, $-\text{OH}$ -2')

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,3 (CO), 166,5 (C-2'), 162,8 (C-4''), 161,9 (C-6'), 160,6 (C-4), 143,2 (C- β), 134,8 (C-3''), 131,6 (C-8''), 131,3 (C-2 und C-6), 128,2 (C-1), 125,5 (C- α), 125,2 (C-7''), 123,9 (C-2''), 116,8 (C-3 und C-5), 108,9 (C-3'), 106,3 (C-1'), 91,6 (C-5'), 56,2 (OCH_3 -6'), 40,6 (C-4''), 27,5 (C-6''), 25,8 (C-10''), 21,8 (C-1''), 17,7 (C-9''), 16,3 (C-4'')

6-Hydroxy-4-(methoxymethoxy)-2-prenyloxyacetophenon (71)

Es werden 2 mmol 4,6-Di(methoxymethoxy)-2-prenyloxyacetophenon in 13 ml Aceton vorgelegt und auf 0°C abgekühlt. Dann werden wenige Tropfen 3 N HCl zugegeben (pH = 2). Die Reaktionsmischung wird 4 Stunden im Eisbad gerührt. Das

Aceton wird abrotiert und der Rückstand in Ethylacetat/Wasser gelöst. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 4:1.

Weißer Feststoff; Ausbeute: 96%

$C_{15}H_{20}O_5$ (280,32 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$):

δ (ppm): 1,75 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 1,80 (s, 3H, -Prenyl- CH_3), 2,62 (s, 3H, -CO- CH_3), 3,48 (s, 3H, -MOM- CH_3), 4,55 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, - CH_2 -), 5,18 (s, 2H, -O- CH_2 -O-), 5,49 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, -CH=), 6,03 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, -H-3), 6,20 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, -H-5), 13,85 (s, 1H, -OH)

2',4,4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'5'-diprenylchalkon (77)

Darstellung aus 6'-Methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)-3'5'-diprenylchalkon (**80**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 64%

$C_{26}H_{30}O_5$ (422,21 g/mol)

Schmp.: 62-68°C

UV: λ_{max} (MeOH) 370 nm

EIMS (pos. mode) m/z 422 [M] $^+$ (100), 407 [$M-CH_3$] $^+$ (39), 379 [$M-C_3H_7$] $^+$ (22), 351 (35), 287 (45), 247 (49), 231 (77); HR-EIMS m/z 422,2091 (berechnet für $C_{26}H_{30}O_5$ 422,2093)

1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,65 (s, 3H, - CH_3 -5''), 1,68 (s, 3H, - CH_3 -5'''), 1,77 (s, 3H, - CH_3 -4''), 1,79 (s, 3H, - CH_3 -4'''), 3,39 (d, 2H, $J = 5,8$ Hz, - CH_2 -1''), 3,41 (d, 2H, $J = 5,8$ Hz, - CH_2 -1'''), 3,69 (s, 3H, -O CH_3 -6'), 5,19 (t, 1H, $J = 5,6$ Hz, -CH-2''), 5,20 (t, 1H, $J = 5,6$ Hz, -CH-2'''), 6,95 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,63 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,83 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,90 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 8,03 (s, 1H, -OH), 8,97 (s, 1H, -OH), 13,89 (s, 1H, -OH-2')

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,8 (CO), 163,2 (C-2' und C-4'), 160,9 (C-4), 159,9 (C-6'), 144,4 (C- β), 132,3 und 131,4 (C-3'' und C-3'''), 131,4 (C-2 und C-6), 127,9 (C-1), 124,4 (C- α), 124,1 und 123,3 (C-2'' und C-2'''), 116,9 (C-3 und C-5), 115,0 (C-5'), 112,4 (C-3'),

109,4 (C-1'), 63,5 (OCH₃-6'), 25,9 (C-5'' und C-5'''), 23,3 und 23,2 (C-1'' und C-1'''), 18,1 (C-4'' und C-4''')

2',4',4'-Trihydroxy-3'(3''-hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxychalkon (86)

Darstellung aus 3'-(3''-Hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon (**83**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:2.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 65%

C₂₁H₂₄O₆ (372,16 g/mol)

Schmp.: 212-214°C

UV: λ_{max} (MeOH) 370 nm

EIMS (pos. mode) *m/z* 372 [M]⁺ (49), 354 [M-H₂O]⁺ (13), 339 [M-H₂O-CH₃]⁺ (12), 179 (100); HR-EIMS *m/z* 372,1569 (berechnet für C₂₁H₂₄O₆ 372,1573)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,24 (s, 6H, 2x -CH₃), 1,68 (dt, 2H, *J* = 4,4 Hz, 7,8 Hz, -CH₂), 2,69 (dt, 2H, *J* = 4,4 Hz, 7,8 Hz, -CH₂), 3,93 (s, 3H, -OCH₃), 6,11 (s, 1H, -H-5'), 6,92 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, -H-3 und -H-5), 7,61 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, -H-2 und -H-6), 7,75 (d, 1H, *J* = 15,6 Hz, -H-β), 7,90 (d, 1H, *J* = 15,6 Hz, -H-α), 14,72 (s, 1H, -OH)

¹³C-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 193,3 (CO), 166,4 (C-2'), 163,2 (C-4'), 161,9 (C-6'), 160,6 (C-4), 143,1 (C-β), 131,3 (C-2 und C-6), 128,2 (C-1), 125,5 (C-α), 116,8 (C-3 und C-5), 110,1 (C-3'), 106,2 (C-1'), 92,0 (C-5'), 70,8 (C-3''), 56,1 (OCH₃-6'), 43,2 (C-2''), 29,7 (C-1'' und C-5''), 17,9 (C-4'')

2',3,4,4'-Tetrahydroxy-3'(3''-hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxychalkon (87)

Darstellung aus 3'-(3''-Hydroxy-3''-methylbutyl)-6'-methoxy-2',3,4,4'-tetra(methoxymethoxy)chalkon (**84**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:4.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 56%

C₂₁H₂₄O₇ (388,15 g/mol)

Schmp.: 160-163°C

UV: λ_{max} (MeOH) 380 nm

EIMS (pos. mode) *m/z* 388 [M]⁺ (49), 370 [M-H₂O]⁺ (13), 355 [M-H₂O-CH₃]⁺ (12), 179 (100);

$^1\text{H-NMR}$ (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,25 (s, 6H, 2x - CH_3), 1,68 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, - CH_2), 2,69 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, - CH_2), 3,93 (s, 3H, - OCH_3), 6,11 (s, 1H, -H-5'), 6,89 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, -H-5), 7,10 (dd, 2H, $J = 8,2$ Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,24 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-2), 7,68 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,85 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 14,74 (s, 1H, -OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,3 (CO), 166,4 (C-2'), 163,2 (C-4'), 161,9 (C-6'), 148,8 (C-4), 146,4 (C-3), 143,5 (C- β), 128,8 (C-1), 125,6 (C-6), 123,1 (C- α), 116,5 (C-5), 115,3 (C-2), 110,1 (C-3'), 106,2 (C-1'), 92,0 (C-5'), 70,9 (C-3''), 56,2 (OCH_3 -6'), 43,2 (C-2''), 29,6 (C-1'' und C-5''), 17,9 (C-4'')

2',4,4'-Tri(hydroxy)-3'(3''-hydroxy-3''-methylbutyl)-3,6'-dimethoxychalkon (88)

Darstellung aus 3'-(3''-Hydroxy-3''-methylbutyl)-3,6'-dimethoxy-2',4,4'-tri(methoxymethoxy)chalkon (**85**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:4.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 51%

$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_7$ (402,17 g/mol)

Schmp.: 177-179°C

UV: λ_{max} (MeOH) 380 nm

EIMS (pos. mode) m/z 402 [$\text{M}]^+$ (47), 384 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (26), 369 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3]^+$ (9), 179 (100); HR-EIMS m/z 402,1676 (berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_7$ 402,1679)

$^1\text{H-NMR}$ (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,24 (s, 6H, 2x - CH_3), 1,68 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, - CH_2), 2,69 (dt, 2H, $J = 4,4$ Hz, 7,8 Hz, - CH_2), 3,94 (s, 3H, - OCH_3), 3,95 (s, 3H, - OCH_3), 6,11 (s, 1H, -H-5'), 6,90 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, -H-5), 7,24 (dd, 2H, $J = 8,1$ Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,32 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-2), 7,73 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,90 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 14,72 (s, 1H, -OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,3 (CO), 166,4 (C-2'), 163,2 (C-4'), 161,9 (C-6'), 150,1 (C-4), 148,7 (C-3), 143,4 (C- β), 128,6 (C-1), 125,8 (C-6), 123,7 (C- α), 116,3 (C-5), 112,0 (C-2), 110,1 (C-3'), 106,3 (C-1'), 92,0 (C-5'), 70,8 (C-3''), 56,3 (OCH_3), 56,1 (OCH_3), 43,2 (C-2''), 29,6 (C-1'' und C-5''), 17,9 (C-4'')

2'',2''-Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-2',4-dihydroxy-6'-methoxychalkon (93)

Darstellung aus 2'',2''-Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-2'-hydroxy-6'-methoxy-4-(methoxymethoxy)chalkon (**90**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 87%

C₂₁H₂₀O₅ (352,13 g/mol)

Schmp.: 90-98°C

UV: λ_{\max} (MeOH) 370 nm

EIMS (pos. mode) m/z 352 [M]⁺ (34), 337 [M-CH₃]⁺ (37), 217 (100); HR-EIMS m/z 352,1312 (berechnet für C₂₁H₂₀O₅ 352,1311)

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,44 (s, 6H, 2x -CH₃), 4,01 (s, 3H, -OCH₃), 5,57 (d, 1H, $J = 10,2$ Hz, -H-3'), 6,04 (s, 1H, -H-8'), 6,63 (d, 1H, $J = 10,2$ Hz, -H-4'), 6,93 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,63 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,77 (d, 2H, $J = 15,4$ Hz, -H- β), 7,89 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz, -H- α), 14,82 (s, 1H, -OH)

¹³C-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 193,5 (CO), 163,8 (C-2'), 163,3 (C-4'), 161,2 (C-6'), 160,8 (C-4), 143,9 (C- β), 131,4 (C-2 und C-6), 128,0 (C-1), 126,4 (C-5''), 125,0 (C- α), 116,9 (C-3 und C-5), 116,6 (C-4''), 106,6 (C-1'), 103,5 (C-3'), 92,5 (C-5'), 78,9 (C-6''), 56,6 (OCH₃), 28,6 (C-6''-CH₃)

2'',2''-Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-2',3,4-trihydroxy-6'-methoxychalkon (94)

Darstellung aus 2'',2''-Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-2'-hydroxy-6'-methoxy-3,4-di(methoxymethoxy)chalkon (**91**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:2.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 63%

C₂₁H₂₀O₆ (368,13 g/mol)

Schmp.: 57-62°C

UV: λ_{\max} (MeOH) 384,9 nm

EIMS (pos. mode) m/z 368 [M]⁺ (34), 353 [M-CH₃]⁺ (37), 217 (100);

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,44 (s, 6H, 2x -CH₃), 4,02 (s, 3H, -OCH₃), 5,57 (d, 1H, $J = 10,1$ Hz, -H-3'), 6,03 (s, 1H, -H-8'), 6,62 (d, 1H, $J = 10,1$ Hz, -H-4'), 6,90 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, -H-5),

7,13 (dd, 1H, $J = 8,2$ Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,25 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-2), 7,71 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,83 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 8,37 (s, 1H, -OH), 14,73 (s, 1H, -OH)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,4 (CO), 163,8 (C-2'), 163,3 (C-4'), 161,1 (C-6'), 149,0 (C-4), 146,4 (C-3), 144,2 (C- β), 128,6 (C-1), 126,4 (C-5''), 125,1 (C- α), 123,3 (C-6), 116,5 (C-5), 115,4 (C-2), 106,6 (C-1'), 103,5 (C-3'), 92,5 (C-5'), 78,9 (C-6''), 56,6 (OCH₃), 28,6 (C-6''-CH₃)

2'',2''-Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-2',4-dihydroxy-3,6'-dimethoxychalkon (95)

Darstellung aus 2'',2''-Dimethylpyrano[2'',3'':3',4']-2'-hydroxy-3,6'-dimethoxy-4-(methoxymethoxy)chalkon (**92**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:2.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 57%

$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_6$ (382,14 g/mol)

Schmp.: 111-114°C

UV: λ_{max} (MeOH) 380 nm

EIMS (pos. mode) m/z 382 [M]⁺ (33), 367 [M-CH₃]⁺ (31), 217 (100); HR-EIMS m/z 382,1418 (berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 382,1416)

^1H -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 1,44 (s, 6H, 2x -CH₃), 3,95 (s, 3H, -OCH₃), 4,01 (s, 3H, -OCH₃), 5,57 (d, 1H, $J = 10,1$ Hz, -H-3'), 6,04 (s, 1H, -H-8'), 6,63 (d, 1H, $J = 10,1$ Hz, -H-4'), 6,91 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, -H-5), 7,27 (dd, 1H, $J = 8,2$ Hz, 1,9 Hz, -H-6), 7,34 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, -H-2), 7,76 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,89 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 8,28 (s, 1H, -OH), 14,80 (s, 1H, -OH)

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 193,5 (CO), 163,8 (C-2'), 163,3 (C-4'), 161,2 (C-6'), 150,3 (C-4), 148,8 (C-3), 144,1 (C- β), 128,4 (C-1), 126,4 (C-5''), 125,3 (C- α), 124,0 (C-6), 116,6 (C-5), 112,1 (C-2), 106,6 (C-1'), 103,4 (C-3'), 92,5 (C-5'), 78,9 (C-6''), 56,6 (OCH₃), 56,3 (OCH₃), 28,6 (C-6''-CH₃)

2'',2''-Dimethyl-3'',4''-dihydro-(2H)-pyrano[2'',3'':3',4']-2',4'-dihydroxy-6'-methoxychalkon (98)

Darstellung aus 2'',2''-Dimethyl-3'',4''-dihydro-(2H)-pyrano[2'',3'':3',4']-2'-hydroxy-6'-methoxy-4'-(methoxymethoxy)chalkon (**97**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 1:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 96%

C₂₁H₂₂O₅ (354,15 g/mol)

Schmp.: 104-114°C

UV: λ_{\max} (MeOH) 370 nm

EIMS (pos. mode) m/z 354 [M]⁺ (100), 261 (25), 234 (32), 179 (74); HR-EIMS m/z 354,1465 (berechnet für C₂₁H₂₂O₅ 354,1467)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm): 1,36 (s, 6H, 2x -CH₃), 1,81 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, -H-3'), 2,64 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, -H-4'), 3,88 (s, 3H, -OCH₃), 5,28 (s, 1H, -OH), 5,88 (s, 1H, -H-8'), 6,86 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,51 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, -H-2 und -H-6), 7,75 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- β), 7,83 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, -H- α), 14,81 (s, 1H, -OH)

¹³C-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 193,2 (CO), 166,5 (C-2'), 161,8 (C-4), 160,7 (C-4'), 161,0 (C-4), 143,4 (C- β), 131,3 (C-2 und C-6), 128,1 (C-1), 125,3 (C- α), 116,8 (C-3 und C-5), 106,0 (C-1'), 102,5 (C-5'), 92,7 (C-3'), 76,8 (C-3''), 56,3 (OCH₃), 32,6 (C-2''), 29,1 (C-5''), 26,9 (C-4''), 16,8 (C-1'')

2',4,4'-Trihydroxy-6'-methoxy-3'5'-diprenylflavanon (99)

Darstellung aus 2',6'-Dihydroxy-4,4'-di(methoxymethoxy)-3',5'-diprenylchalkon (**76**) und 3N HCl nach Vorschrift G. Reinigung durch SC mit Petrolether/Ethylacetat 2:1.

Oranger Feststoff; Ausbeute: 64%

C₂₅H₂₈O₅ (408,19 g/mol)

Schmp.: 71-75°C

UV: λ_{\max} (MeOH) 295,9 und 345 nm

¹H-NMR (Aceton-d₆):

δ (ppm): 1,59 (s, 3H, -CH₃-5''), 1,62 (s, 3H, -CH₃-5'''), 1,65 (s, 3H, -CH₃-4''), 1,75 (s, 3H, -CH₃-4'''), 3,15 (m, 2H, -H- α), 3,30 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz, -CH₂-1''), 3,32 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz, -CH₂-1'''), 5,14 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, -CH-2''), 5,18 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, -CH-2'''),

5,43 (m, 1H, -H- β), 6,90 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-3 und -H-5), 7,40 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, -H-2 und -H-6), 8,16 (s, 1H, -OH), 8,51 (s, 1H, -OH), 12,48 (s, 1H, -OH-4')

^{13}C -NMR (Aceton- d_6):

δ (ppm): 197,9 (CO), 162,3 (C-4'), 160,2 (C-6'), 158,9 (C-2'), 158,6 (C-4), 132,2 und 132,0 (C-3'' und C-3'''), 131,1 (C-1), 128,8 (C-2 und C-6), 123,4 und 123,3 (C-2'' und C-2'''), 116,1 (C-3 und C-5), 108,7 (C-5'), 107,9 (C-3'), 103,4 (C-1'), 79,7 (C- β), 43,5 (C- α), 25,8 (C-5'' und C-5'''), 22,5 und 21,8 (C-1'' und C-1'''), 17,9 (C-4'' und C-4''')

3 Biochemische und pharmakologische Testmethoden

3.1 Testung der synthetisierten Substanzen auf die Zytotoxizität an HeLa-Zellen

3.1.1 Einfrieren und Auftauen der Zellen

Um Zellen längere Zeit lagern zu können, müssen diese kurz vor der Konfluenz eingefroren werden. Dazu werden sie wie bei der Kultivierung der Zelllinie zunächst mit 5 ml PBS gewaschen, abgesaugt und mit 3 ml einer Trypsin-Lösung (Einwirkzeit etwa 3-5 Minuten im Inkubator bei 37°C) von der Gefäßwand abgelöst. Die Lösung wird in ein Zentrifugenglas überführt, mit 3 ml MEM-Medium versetzt und bei 800 Umdrehungen pro Minute, 5 Minuten bei 20°C abzentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt und verworfen. Der Rückstand wird in 2,1 ml MEM-Medium aufgenommen und homogenisiert. In einem Cryoröhrchen werden 200 μl FCS und 100 μl DMSO steril filtriert vorgelegt und 700 μl der Zellsuspension dazu pipettiert und gemischt. Das Cryoröhrchen wird dann bei -70°C eingefroren (über Nacht) und anschließend bei -170°C gelagert.

Zum Auftauen der Zellen legt man die tiefgekühlten Plastikampullen in ein Becherglas mit warmem Wasser. Die Zellsuspension wird in ein Zentrifugenglas überführt, mit 8 ml MEM-Medium versetzt und bei 800 Umdrehungen pro Minute, 5 Minuten bei 20°C abzentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt und verworfen.

Insgesamt wird dieser Vorgang dreimal durchgeführt. Anschließend wird das Pellet in 2 ml Medium suspendiert und in eine 75 cm²-Kulturflasche mit 18 ml vorgelegtem Medium überführt.

3.1.2 Zubereitung des Zellmediums

Als Medium (500 ml) der HeLa-Zellen wird phenolrothaltiges MEM-EARLE (mit 0,85 g/l Natriumhydrogencarbonat) verwendet. Dieses wird mit 5 ml L-Glutamin (200 mM), 5 ml NEA (Nicht essenzielle Aminosäuren), 800 µl Amphotericin B (250 µg/ml), 5,5 ml Penicillin Natriumsalz/ Streptomycin Sulfat (P.-Endkonzentration = 30,05 mg in 500 ml; S.-Endkonzentration = 50 mg in 500 ml) und 50 ml FCS (Fetal Calf Serum, fötales Kälberserum) vermischt und gut geschüttelt. Es wird bei 2-8 °C aufbewahrt.

3.1.3 Kultivierung der Zelllinie

Die verwendete Zelllinie wächst als Monolayer in 250 ml-Kulturflaschen (75 cm² Wachstumsfläche) in einer Wasserdampf gesättigten, 5 Vol.-% CO₂-haltigen Atmosphäre bei 37°C. Die HeLa-Zellen (ATCC CCL17) werden in phenolrothaltigem MEM-Medium kultiviert. Das Medium ist je nach Wachstum und Zelldichte nach 3-7 Tagen verbraucht und wird gegen frisches ausgetauscht. Kurz vor der Konfluenz wird das verbrauchte Medium abgesaugt, die Zellen mit 5 ml PBS-Puffer gewaschen, erneut abgesaugt und mit 3 ml einer Trypsin-Lösung (Einwirkzeit etwa 3-5 Minuten im Inkubator bei 37°C) von der Gefäßwand abgelöst. Die Lösung wird in ein Zentrifugenglas überführt, mit 3 ml MEM-Medium versetzt und bei 800 Umdrehungen pro Minute, 5 Minuten bei 20°C abzentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt und der Rückstand mit 5 ml zugegebenem MEM-Medium homogenisiert. In eine neue Kulturflasche werden nun 500 µl der entstandenen Zellsuspension in 20 ml vorgelegtes MEM-Medium ausgesät. Die frisch ausgesäten Zellen setzen sich nach kurzer Zeit am Boden des Kulturgefäßes ab und wachsen schon nach wenigen Stunden als adhärente Zellen weiter. Die restlichen 4,5 ml der Zellsuspension werden verworfen oder für die Bestimmung der Zytotoxizität verwendet.

3.1.4 Bestimmung der Zytotoxizität im Mikrotiterassay

Der Test wird in einer 96-well Mikrotiterplatte durchgeführt. Von den zu untersuchenden Verbindungen wird eine Stammlösung (5 mg/ml) in Ethanol hergestellt.

Die, wie in Kapitel 3.1.3 beschrieben, gewonnene Zellsuspension wird mit Hilfe von Trypanblau auf ihre Lebensfähigkeit überprüft. Dazu werden 10 µl Zellsuspension mit 10 µl Trypanblau-Lösung (0,04 g in 10 ml PBS) vermischt und mikroskopisch überprüft. Die lebenden Zellen werden in einer Neubauerkammer ausgezählt. Zur Bestimmung der Anzahl der Zellen in einem Milliliter wurde, um die Verdünnung und das Volumen in der Neubauer-Zählkammer zu berücksichtigen, der Mittelwert der vier gezählten Quadrate mit 2×10^4 multipliziert.

Für den Zytotoxizitätsassay wird die Zellzahl auf 150.000 Zellen pro ml eingestellt.

Es werden jeweils neun verschiedene Konzentrationen getestet. Dazu wird eine Verdünnungsreihe erstellt mit einer Ausgangskonzentration von 50 µg/ml. Die Verdünnung erfolgt 1:1 im Test (50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,563; 0,78; 0,39; 0,195 µg/ml). Die maximale Endkonzentration von Ethanol beträgt 3%.

Nun werden jeweils 75 µl einer Mischung aus Medium und der Substanz in der entsprechend eingestellten Konzentration in jedes Loch vorgelegt. Dann werden 75 µl der Zellsuspension dazu pipettiert. Das Gesamtvolumen im Test beträgt 150 µl. Für die Quantifizierung der Zytotoxizität werden 15 µl einer wässrigen Lösung von MTT (Fluka, 5 mg/ml in PBS) nach 68 Stunden im Inkubator (Mosmann et al. 1986) zugegeben. Während der erneuten Inkubation von 4 Stunden bei 37°C setzen die noch lebensfähigen Zellen das MTT zu einem unlöslichen Formazansalz um. Dann wird vorsichtig das überstehende Medium mit dem Überschuss MTT abgesaugt und das Formazan mit 150 µl einer 10%igen SDS-Lösung (sodium dodecylsulfate) in Wasser gelöst. Nach 24 Stunden Inkubationszeit im Dunkeln bei Raumtemperatur wird die optische Dichte der gefärbten Lösungen in einem Mikrotiterplatten-Autoreader bei 560 nm gemessen.

Für die Bestimmung der IC₅₀-Werte wird die optische Dichte gegen die logarithmische Konzentration aufgetragen. Jeder Test wurde in doppelter Ausführung durchgeführt und jedes Experiment wurde mindestens dreimal unabhängig wiederholt (n =6).

Eine Positivkontrolle wurde mit Helenalin (IC₅₀ 0,7 ± 0,1 µM) durchgeführt.

3.2 ORAC-Fluorescein-Assay

Die Durchführung erfolgt in einer Greiner bio-one PS Microplatte 96 Well (nicht steril)

3.2.1 Pipettierschema

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PB	PB				Trolox					LM	PB
B			1µM	2µM	3µM	4µM	5µM	6µM	7µM	8µM		
C												
D												
E	PB		Substanz 1					Substanz 2				PB
F		c ₁	c ₂	c ₃	c ₄	c ₅	c ₁	c ₂	c ₃	c ₄	c ₅	
G												
H												

PB = Phosphatpuffer

LM = Lösungsmittelkontrolle (Ethanol)

c = Konzentration in µM

3.2.2 Herstellung der Pufferlösungen

Phosphatpuffer:

75 mM, pH = 7,4

Lösung A: 13,35 g Na₂HPO₄ (Wasserfrei)/l M = 141,96 g/mol 75 mM

Lösung B: 10,35 g NaH₂PO₄ x H₂O/l M = 137,99 g/mol 75 mM

Die Lösung B wird langsam zu Lösung A zugegeben und mit Hilfe des pH-Meters der pH-Wert von 7,4 eingestellt.

Fluorescein:

$M = 332,32 \text{ g/mol}$

Es wird eine Stammlösung von $117 \mu\text{M}$ im Phosphatpuffer hergestellt. Für eine Platte werden davon $55,55 \mu\text{l}$ in 13 ml Phosphatpuffer gegeben, was einer Stoffmenge von 500 nM entspricht. Davon werden $120 \mu\text{l}$ in jedes well pipettiert, damit im Ansatz eine Stoffmenge von 300 nM vorliegt.

AAPH:

$M = 271,20 \text{ g/mol}$

Für eine Platte werden $65,088 \text{ mg}$ in 6 ml Phosphatpuffer gelöst (entspricht 40 mM). Davon werden $60 \mu\text{l}$ in jedes well pipettiert, damit im Ansatz eine Stoffmenge von 12 mM vorliegt.

Trolox :

$M = 250,29 \text{ g/mol}$

Es wird eine Stammlösung von 8 mM hergestellt, indem $2,00232 \text{ mg}$ in 1 ml Phosphatpuffer gelöst werden. Davon ausgehend wird eine Verdünnungsreihe von $10\text{-}80 \mu\text{M}$ in Phosphatpuffer hergestellt. Aus jeder dieser Verdünnungen werden $20 \mu\text{l}$ pro Loch pipettiert, damit eine Reihe von $1\text{-}8 \mu\text{M}$ Trolox im Ansatz vorliegt.

Synthetisierte Substanzen:

Es wird eine Stammlösung von 1 mg/ml in Ethanol hergestellt. Davon ausgehend wird eine Verdünnungsreihe mit 5 Konzentrationen im Bereich $1\text{-}20 \mu\text{M}$ in Phosphatpuffer hergestellt. Aus jeder Verdünnung werden $20 \mu\text{l}$ pro Loch pipettiert, um eine Stoffmenge von $0,1\text{-}2,0 \mu\text{M}$ im Ansatz zu erhalten.

3.2.3 Versuchsdurchführung

Der ORAC-Fluorescein-Assay wird nach Davalos et al. in einer 96-Loch Mikrotiterplatte durchgeführt. Die Anordnung auf der Platte erfolgt wie im Pipettierschema dargestellt. Als Puffer wird 75 mM Phosphatpuffer ($\text{pH} = 7,4$) verwendet. Pro Platte werden 2 Substanzen in 5 unterschiedlichen Konzentrationen ($0,25 - 1,5 \mu\text{M}$) sowie 8 Kalibrierlösungen mit Trolox als Antioxidationsmittel ($1 \mu\text{M}$, 2

μM , 3 μM , 4 μM , 5 μM , 6 μM , 7 μM , 8 μM) gemessen. Alle Verdünnungsreihen werden für jede Platte immer frisch hergestellt. Das Endvolumen der Reaktionsmischung beträgt 200 μl pro well. Daraus ergeben sich folgende Zusammensetzungen:

Trolox:	Fluorescein (300 nM)	120 μl
	Trolox (1-10 μM)	20 μl
	AAPH (12 mM)	<u>60 μl</u>
		200 μl
Substanz :	Fluorescein (300 nM)	120 μl
	Substanz (0,1-1,5 μM)	20 μl
	AAPH (12 mM)	<u>60 μl</u>
		200 μl
Blindwert :	Fluorescein (300 nM)	120 μl
	Puffer (75 mM)	20 μl
	AAPH (12 mM)	<u>60 μl</u>
		200 μl
LM-Kontrolle:	Fluorescein (300 nM)	120 μl
	ETOH in Puffer (0,6 Vol%)	20 μl
	AAPH (12 mM)	<u>60 μl</u>
		200 μl

Von jeder Substanz wird eine Stammlösung (1 mg/ml) in Ethanol hergestellt. Um auszuschließen, dass Ethanol einen Einfluss auf die gemessene Fluoreszenz hat, wird in jedem Assay eine LM-Kontrolle durchgeführt. Die LM-Kontrolle (0,6 Vol % im Ansatz) unterscheidet sich nicht vom Blindwert. Daher wird für die Auswertung keine Lösungsmittel-Korrektur durchgeführt.

Die Substanz, Trolox und der Phosphatpuffer werden in den angegebenen Mengen auf die Platte pipettiert. Dann wird das Fluorescein in alle 96 wells zugegeben und die Platte 15 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Zugabe des Radikalstarters AAPH (60 μL) erfolgt möglichst zügig mit einer Mehrkanalpipette von A bis H (oben nach unten). Daraufhin wird die kinetische Messung in dem auf 37°C vorgeheizten Fluorometer sofort gestartet. Es werden je nach Substanz 90-200 Zyklen gemessen mit einem kinetischen Intervall von 1 min. Die Mikrotiterplatte wird automatisch 1s vor

jeder Messung geschüttelt. Die Detektion findet in einem 96-well-Plattenleser bei 37 °C (Extinktion = 485 nm, Emission = 535 nm) statt.

Jeder Test wurde in vierfacher Ausführung durchgeführt und jedes Experiment wurde mindestens dreimal unabhängig wiederholt.

Die ORAC-Werte werden in Trolox-Äquivalenten angegeben, die aus den Standardkurven von jedem Test ermittelt werden. Der Regressionskoeffizient zwischen AUC und antioxidativer Konzentration werden ebenfalls für jedes Beispiel ermittelt und somit die Linearität geprüft.

3.2.4 Einstellungen am Fluorometer

Edit measurement parameters:

General: Fluorescence

Measurement parameters: Fluorescein, Ex 485 nm/Em 535 nm

Gain: 80

Read mode: Top

Integration time: 50 μ s

Nr. of flashes: 3

Kinetic: Nr of cycles: 80-200

Interval: 1min

Valid range: 35-38°C

Shaking: shaking before measurement

Duration: 1 sec

Settle time: 1 sec

I Literaturverzeichnis

- 1 Steinhaus, M., Wichtige Aromastoffe in Hopfen (*Humulus lupulus*, L.), Dissertationsschrift, Technische Universität München, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching bei München, **2000**
- 2 Forster, A., Gekürzte Fassung nach einem Vortrag anlässlich der 48. Arbeitstagung der österreichischen Braumeister und Brauereitechniker, Innsbruck 17.9. - 19.9. **1998**
- 3 Winkelmann, K., Heilmann, J., Zerbe, O., Rali, T., Sticher, O., New Prenylated Bi- and Tricyclic phloroglucinol derivatives from *Hypericum papuanum*, *Journal of Natural Products*, **2001**, 64, 701-706
- 4 Belitz, H.-D., Grosch, W., Food Chemistry, 2.Auflage, Springer-Verlag, Berlin, **1999**
- 5 Stevens, J.F., Page, J.E., Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health! *Phytochemistry*, **2004**, 65, 1317-1330
- 6 Power, F.B., Tutin, F., Rogerson, H., The Constituents of Hops. *Journal of the Chemical Society, Transactions* **1913**, 103, 1267-1292
- 7 Stevens, J.F., Taylor, A.W., Nickerson, G.B., et al. Prenylflavonoid variation in *Humulus lupulus*: distribution and taxonomic significance of xanthogalenol and 4'-O-methylxanthohumol. *Phytochemistry*, **2000**, 53, 759-775
- 8 Chadwick, L.R., Nikolic, D., Burdette, J.E., Overk, C.R., Bolton, J.L., van Breemen, R.B., Fröhlich, R., Fong, H.H.S., Farnsworth N.R., Pauli, G.F., Estrogens and Congeners from spent hops (*Humulus lupulus*), *Journal of Natural Products*, **2004**, 67, 2024-2032
- 9 Fröhlich, S., Schubert, C., Bienzle, U., Jenett-Siems, K., In vitro antiplasmodial activity of prenylated chalcone derivatives of hops (*Humulus lupulus*) and their interaction with haemin, *Journal of Antimicrobial Chemotherapie*, **2005**, 55, 883-887
- 10 Wang, Y., Tan, W., Li, W. Z., Li, Y., A Facile synthetic approach to prenylated flavanones: First Total synthesis of Bonannione A and Sophoraflavanone A, *Journal of Natural Products*, **2001**, 64, 196-199
- 11 Verzele, M., Stockx, J., Fontijn, F., Anteunis, M., Xanthohumol, a new natural chalcone, *Bulletin des Societes Chimique Belges*, **1957**, 66, 452-475

- 12 Diller, R.A., Riepl, H.M., Rose, O., Frias, C., Henze, G., Prokop, A.. Synthesis of demethylxanthohumol, a new potent apoptosis-inducing agent from hops. *Chemistry & Biodiversity*, **2005**, 2, 1331-133
- 13 Khupse, R.S.; Erhardt P.W., Total synthesis of xanthohumol, *Journal of Natural Products*, **2007**, 70, 1507-1509.
- 14 Vogel, S.; Heilmann J., Synthesis of prenylated hop chalcones and evaluation of their cytotoxic activity, *Planta Medica*, **2007**, 73, 953
- 15 Lee, Y.R. Xia, L., Concise Total Synthesis of Biologically Interesting Pyranochalcone Natural Products: Citrunobin, Boesenbergin A, Boesenbergin B, Xanthohumol C, and Glabrachromene, *Synthesis*, **2007**, 20, 3240-3246.
- 16 Yilmazer, M., Stevens, J.F., Buhler, D.R., In vitro biotransformation of xanthohumol, a flavonoid in hops (*Humulus lupulus*) by rat liver microsomes, *Drug metabolism and disposition*, **2001**, 29, 223-231
- 17 Yilmazer, M., Stevens, J.F., Buhler, D.R., In vitro glucuronitation of xanthohumol, a flavonoid in hop and beer, by rat and human liver microsomes. *FEBS Letters*, **2001**, 491, 252-256
- 18 Nookandeh, A.; Frank, N.; Steiner, F.; Ellinger, R.; Schneider, B.; Gerhäuser, C.; Becker, H., Xanthohumol metabolites in faeces of rats, *Phytochemistry*, **2004**, 65, 561-570.
- 19 Nikolic, D., Li, Y., Chadwick, L.R., Pauli, G.F., van Breemen, R.B., Metabolism of xanthohumol and isoxanthohumol, prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus L.*), by human liver microsomes, *Journal of Mass Spectrometry*, **2005**, 40, 289-299.
- 20 Mattioli, P. A., *Kreutterbuch Deß Hochgelehrten und weitberühmten Herrn D. Petri Andrea Matthioli*, **1600**, Franckfurt am Mayn
- 21 Fuchs, L., *The New Herbal of 1543*, Taschen GmbH, Köln, **2001**
- 22 Schmidsberger, P., *Heilpflanzen*, Gondrom Verlag, Bindlach, **1988**, 95-97
- 23 Brown, A.J., Clubb, D., *Journal of the Institute of Brewing.*, **1913**, 19, 261-295
- 24 Hager, H., von Bruchhausen, F., Blümer-Schwinum, B., *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis*, Springer-Verlag
- 25 Schmidsberger, P., *Heilpflanzen*, Gondrom Verlag, Bindlach, **1988**, 95-97
- 26 Schiller, H., Forster, A., Vonhoff, C., Hegger, M., , Biller, A., Winterhoff, H., Sedating effects of *Humulus lupulus L.* extracts, *Phytomedicine*, **2006**, 13, 535-541

- 27 Attele, A.S., Xie, J.-T., Yuan, C.-S., Treatment of insomnia: An alternative approach, *Alternative Medicine Review*, **2000**, 5(3), 249-259
- 28 Schulz, V., Hansel, R., Tyler, V.E., *Rational Phytotherapy: A Physicians' Guide to Herbal Medicine*. 3. Auflage. Berlin, Deutschland, Springer-Verlag, **1998**, 83
- 29 Koetter, U., Schrader, E., Kaufeler, R., Brattström, A., A randomized, double blind, placebo-controlled, prospective clinical study to demonstrate clinical efficacy of a fixed valerian hops extract combination (Ze 91019) in patients suffering from non-organic sleep disorder, *Phytotherapy Research*, **2007**, 21(9), 847-851
- 30 Pschyrembel, *Klinisches Wörterbuch*, 259. Auflage, **2004**, Verlag Walter de Gruyter
- 31 Schmalreck, A.F., Teuber, M., Reininger, W., Hartl, A., Structural features determining the antibiotic potencies of natural and synthetic hop bitter resins, their precursors and derivatives, *Canadian Journal of Microbiology*, **1975**, 21, 205-212
- 32 Teuber, M., Schmalreck, A. F., Membrane leakage in *Bacillus subtilis* 168 induced by the hop constituents lupulone, humulone, isohumulone and humulinic acid, *Archiv für Mikrobiologie*, **1973**, 94, 159-171
- 33 Mizobuchi, S., Sato, Y., A new flavanone with antifungal activity isolated from hops, *Agricultural and Biological Chemistry*, **1984**, 48, 2771-2775
- 34 Avula, B., Ganzera, M., Warnick, J.E., Feltenstein, M.W., Sufka, K.J., Khan, I.A., High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Xanthohumol in rat plasma, urine and fecal samples, *Journal of Chromatographic Sciences*, **2004**, 42, 378-382
- 35 Hanske, L., Hussong, R., Frank, N., Gerhäuser, C., Blaut, M., Braune, A., Xanthohumol does not affect the composition of rat intestinal microbiota, *Molecular Nutrition & Food Research*, **2005**, 49, 827-831
- 36 Buckwold, V.E., Wilson, R.J.H., Nalca, A., Beer, B.B., Voss, T.G., Turpin, J.A., Buckheit, III, R.W., Wie, J., Wenzel-Mathers, M., Walton, E.M., Smith, R.J., Pallansch, M., Ward, P., Wells, J., Chuvala, L., Sloane, S., Paulman, R., Russell, J., Hartman, T., Ptak, R., Antiviral activity of hop constituents against a series of DNA and RNA viruses, *Antiviral Research*, **2004**, 61, 57-62

- 37 Wang, Q, Ding, Z-H., Liu, J-K., Zheng, Y-T., Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent purified from hops *Humulus lupulus*. *Antiviral Research*, **2004**, 64, 189-194
- 38 Vlietinck, A.J., De Brine, T., Apers, S., Pieters, L.A., Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection, *Planta Medica*, **1998**, 64, 97-109
- 39 Ng, T.B., Huang, B., Fong, W.P., Yeung, H.W., Anti-human immunodeficiency virus (anti-HIV) natural products with special emphasis on HIV reverse transcriptase inhibitors, *Planta Medica*, **1997**, 64, 97-109
- 40 Kroll, J., Ranters, H., Rawel, H., Rohn, S., Isoflavone als Bestandteile pflanzlicher Lebensmittel, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, **2004**, 100, 211-224
- 41 Zava, D.T., Dollbaum, C.M., Blen, M., *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*, **1998**, 217, 369-378
- 42 Kuiper, G.G.J.M., Lemmen, J.G., Carlsson, B., Corton, J.C., Safe, S.H., Van der Saag, P.T., Van der Burg, B., Gustafsson, J.-A., Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β , *Endocrinology*, **1998**, 139, 4252-4263
- 43 De Keukeleire, D., Milligan, S.R., De Cooman, L., Heyerick, A., The oestrogenic activity of hops (*Humulus lupulus L.*) revisited, *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, **1997**, 7, 83-86
- 44 Gester, S., Metz, P., Zierau, O., Vollmer, G., An efficient synthesis of the potent phytoestrogens 8-prenylnaringenin and 6-(1,1-dimethylallyl)naringenin by europium(III)-catalyzed Claisen rearrangement, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 1015-1018
- 45 Milligan, S.R., Kalita, J.C., Heyerick, A., Rong, H., De Cooman, L., De Keukeleire, D., Identification of a potent phytoestrogen in hops (*Humulus lupulus L.*) and beer, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **1999**, 83, 2249-2252
- 46 Zierau, O., Hauswald, S., Schwab, P., Metz, P., Vollmer, G., Two major metabolites of 8-prenylnaringenin are estrogenic in vitro, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **2004**, 9, 107-110
- 47 Schaefer, O., Hümpel, M., Fritze-meier, K.-H., Bohlmann, R., Schleuning, W.-D., 8-Prenyl naringenin is a potent ER α selective phytoestrogen present in

- hops and beer, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, **2003**, 84, 359-360
- 48 Milligan, S.R., Kalita, Pocock, V., van de Kauter, V., Stevens, J.F., Deinzer, M.L., Rong, H., De Keukeleire, D., The endocrine activities of 8-prenylaringenin and related hop (*Humulus lupulus L.*) flavanoids, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2000**, 85, 4912-4915
- 49 Kern, S., Der Einfluss von Phytoöstrogenen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren, Vitamin D und K auf den Knochenstoffwechsel und die Mikroarchitektur des Knochens: Untersuchungen am intakten und ovariohysterektomierten Beagle, Inaugural-Dissertation **2004**, Ludwigs-Maximilians-Universität, München
- 50 Gerhauser, C, Alt, A, Heiss, E, et al. Cancer chemopreventive activity of Xanthohumol, a natural product derived from Hop. *Molecular Cancer Therapeutics*, **2002**, 1, 959-969
- 51 Fearon, E.R., Vogelstein, B., A genetic model for colorectal tumorigenesis, *Cell*, **1990**, 61, 759-767
- 52 Miranda, C.L., Aponso, G.L.M., Stevens, J.F., Deinzer, M.L., Buhler, D.R., Prenylated chalcones and flavanones as inducers of quinone reductase in mouse Hepa 1c1c7 cells, *Cancer Letters*, **2000**, 149, 21-29
- 53 Stevens, J.F., Page, J.E., Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health!, *Phytochemistry*, **2004**, 65, 1317-1330
- 54 Miranda, C.L., Stevens, J.F., Helmrich, A., Henderson, M.C., Rodriguez, R.J., Yang, Y.-H., Deinzer, M.L., Barnes, D.W., Buhler, D.R., Antiproliferative and Cytotoxic effects of prenylated flavanoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines, *Food and Chemical Toxicology*, **1999**, 37, 271-285
- 55 Plazar, J., Zegura, B., Lah, T.T., Filipic, M., Protective effects of xanthohumol against the genotoxicity of benzo(a)pyrene (BaP), 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) and *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BOOH) in HepG2 human hepatoma cells, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **2007**, 632, 1-8.
- 56 Delmulle, L., Bellahcene, A., Dhooge, W., Cornhaire, F., Roelens, F., Huvaere, K., Heyerick, A., Castronovo, V., De Keukeleire, D., Anti-proliferative properties of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus L.*) in human prostate cancer cell lines, *Phytomedicine*, **2006**, 13, 732-734

- 57 Dietz, B.M.; Kang, Y.H.; Liu, G.; Eggler, A.L.; Yao, P.; Chadwick, L. R.; Pauli, G.F.; Farnsworth, N.R.; Mesecar, A.D.; van Breemen, R.B.; Bolton, J.L., Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* Inhibits menadione-induced DNA damage through induction of quinone reductase, *Chemical research in toxicology*, **2005**, 18, 1296-1305
- 58 Delmulle, L., Berghe, T.V., De Keukeleire, D., van den Abeele, P., Treatment of PC-3 and DU145 prostate cancer cells by prenylflavonoids from hop (*Humulus lupulus L.*) induces a caspase-independent form of cell death, *Phytotherapy research*, **2008**, 22 (2), 197-203
- 59 Monteiro, R.; Faria, A.; Azevedo, I.; Calhau, C.J., Modulation of breast cancer cell survival by aromatase inhibiting hop (*Humulus lupulus L.*) flavonoids, *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, **2007**, 105, 124-130
- 60 Gerhäuser, C., Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents, *European journal of cancer*, **2005**, 41, 1941-1954
- 61 Albini, A., Dell'Eva, R., Vene, R., Ferrari, N., Buhler, D.R., Noonan, D.M., Fascina, G., Mechanisms of the antiangiogenic activity by the hop flavonoid xanthohumol: NF-kappaB and Akt as targets, *FASEB Journal*, **2006**, 20, 527-529
- 62 Colgate, E.C., Miranda, C.L., Stevens, J.F., Bray, T.M., Ho, E., Xanthohumol, a prenylflavonoid derived from hops induces apoptosis and inhibits NF-kappa B activation in prostate epithelial cells, *Cancer Letters (Amsterdam, Netherlands)*, **2007**, 246, 201-209
- 63 Pan, L. Becker, H., Gerhaeuser, C., Xanthohumol induces apoptosis in cultured 40-16 human colon cancer cells by activation of the death receptor- and mitochondrial pathway, *Molecular Nutrition & Food Research*, **2005**, 49, 837-843
- 64 Miranda, C.L., Yang, Y.H., Henderson, M.C., et al. Prenylflavonoids from hops inhibit the metabolic activation of the carcinogenic heterocyclic amine 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, mediated by cDNA-expressed human CYP1A2, *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, **2000**, 28, 1297-1302
- 65 Zhao, F., Nozawa, H., Daikonnya, A., Kondo, K., Kitanaka, S., Inhibitors of nitric oxide production from hops (*Humulus lupulus L.*). *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **2003**, 26, 61-65

- 66 Steele, J.C., Phelps,R.J., Simmonds,M.S., Warhurst,D.C., Meyer, D.J., Two novel assays for the detection of haemin-binding properties of antimalarials evaluated with compounds isolated from medicinal plants, *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, **2002**, 50, 25-31
- 67 Li, M., Kenyon,G.L., Cohen,F.E., Chen, X., Gong, B., Dominquez, I.N., Davidson, E., Kurzban, G., Miller, R.E., Nuzum, E.O., In vitro antimalarial activity of chalcones and their derivatives, *Journal of Medicinal Chemistry*, **1995**, 38, 5031-5037
- 68 Liu, M., Wilaierat, P., Go, M.L., Antimalarial Alkoxyated and Hydroxylated Chalcones: Structure-Activity Relationship Analysis, *Journal of Medicinal Chemistry*, **2001**, 44, 4443-4452
- 69 Herath, W., Ferreira, D., Khan, S.I., Khan, I.A., Identification and biological activity of microbial metabolites of xanthohumol, *Chemical & pharmaceutical bulletin (Tokyo)*, **2003**, 51, 1237-1240
- 70 Bois, F., Boumendjel, A., Mariotte, A. M., Gwenaelle, C., Di Petro, A., Synthesis and biological activity of 4-Alkoxy chalcones: Potential hydrophobic modulators of P-Glycoprotein-mediated multidrug resistance, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **1999**, 7, 2691-2695
- 71 Wang, Y., Tan, W., Li, W.Z., Li, Y. A facile synthetic approach to prenylated flavanones: first total syntheses of (+/-)-bonannione A and (+/-)-sophoraflavanone A. *Journal of Natural Products*, **2001**, 64, 196-199
- 72 Suesse, M., Johne, S., Hesse, M., Synthesis and reactions of 2'-substituted isoflavones, *Helvetica Chimica Acta*, **1992**, 75, 457-470
- 73 Harwood, L. M., Loftus, G. C., Oxford, A., Thomson, C., An Improved procedure for cyclisation of chalcones to flavanones using celite supported potassium fluoride in methanol: Total synthesis of Bavachinin. *Synthetic Communications*, **1990**, 20, 649-657
- 74 Bu, X., Zhao, L., Li, Y., A Facile Synthesis of 6-C-Prenylflavanones, *Synthesis*, **1997**, 1246-1248
- 75 Tan, W.-F., Li, W.-D. Z., Li, Y.-L., First total synthesis of (+/-)-Glyflavanones-A, *Synthetic communications*, **2002**, 32 (7), 1077-1083
- 76 Iikubo, K., Ishikawa, Y., Ando, N., Umezawa, K., Nishiyama, S., The first direct synthesis of α -mangostin, a potent inhibitor of the acidic sphingomyelinase, *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 291-293

- 77 Jain, A.C., Zutshi, M.K. Nuclear prenylation of 2-O-Methylphloroacetophenone. *Tetrahedron*, **1972**, 28, 5589-5593
- 78 Hossain, M.A., Selahuddin, S.M., Tarafdar, S.A. Synthesis of 5,7-Dihydroxy-8-C-prenylflavanone, *Pakistan journal of scientific and industrial research*, **2001**, 44(4), 191-193
- 79 Vandewalle, M., On the synthesis of xanthohumol and isoxanthohumol, *Bulletin des societes chimique belges*, **1961**, 70, 163-167
- 80 Kuhnke, J., Bohlmann, F. Synthesis of naturally occurring phloroglucinol derivatives, *Tetrahedron Letters*, **1985**, 26 (33), 3955-3958
- 81 Pisco L, Kordian M, Peseke K, Feist, H., Michalik, D., Estrada, E., Carvalho, J., Hamilton, G., Rando, D., Quincoces, J., Synthesis of compounds with antiproliferative activity as analogues of prenylated natural products existing in Brazilian propolis, *European journal of medicinal chemistry*, **2006**, 41, 401-407
- 82 Lau, C., Belanger, P.C., Dufresne, C., Scheigetz, J., Novel cyclisation of S-(o-acetylyl)dimethylthiocarbamates. A new synthesis of 3-hydroxybenzothiophenes and 2-hydroxythiochromones. *Journal of organic chemistry*, **1987**, 52(9), 1670-1673
- 83 Hadjeri, M., Barbier, M., Ronot, X., Mariotte, A.-M., Boumendjel, A., Boutonnat, J., Modulation of P-Glycoprotein-mediated Multidrug resistance by flavanoid derivatives and analogues, *Journal of Medicinal Chemistry*, **2003**, 46, 2125-2131
- 84 Helesbeux, J.-J., Duval, O., Guilet, D., Se'raphin, D., Rondeaub, D., Richommea, P., Regioselectivity in the ene reaction of singlet oxygen with ortho-prenylphenol derivatives, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 5091-5104
- 85 Mukherjee, S., Kumar, V., Prasad, A.K., Raj, H., Bracke, M.E., Olsen, C.E., Jain, S.C., Parmar, V.S., Synthetic and Biological activity evaluation studies on novel 1,3-Diarylpropenones, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2001**, 9, 337-345
- 86 Lim, S.S., Jung, S.H., Ji, J., Shin, K.H., Keum, S.R., Synthesis of flavonoids and their effects on aldose reductase and sorbitol accumulation in streptozotocin-induced diabetic rat tissues, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **2001**, 53, 653-668
- 87 Duckie, S., Forrest, R., Hadfield, J. A., Kendall, A., Lawrence, N. J., McGown, A. T., Rennison, D., Potent antimitotic and cell growth inhibitory properties of

- substituted chalcones, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **1998**, 8, 1051-1056
- 88 Nielsen, S.F., Larsen, M., Boesen, T., Schonning, K., Kromann, H., Cationic chalcone antibiotics. Design, synthesis, and mechanism of action, *Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, 48, 2667-2677
- 89 Jun, N., Hong, G., Jun, K. Synthesis and evaluation of 2',4',6'-trihydroxychalcones as a new class of tyrosinase inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2007**, 15, 2396-2402
- 90 Nam, N.-H., Hong, D.-H. You, Y.-J., Kim, Y., Bang, S.-C., Kim, H.-M., Ahn, B.-Z., Synthesis and Cytotoxicity of 2,5-Dihydroxychalcones and Related Compounds, *Archives of Pharmacal Research*, **2004**, 27 (6), 581-588
- 91 Nielsen, S.F., Christensen, S.B., Cruciani, G., Kharazmi, A., Liljefors, T., Antileishmanial chalcones: Statistical design, synthesis and three-dimensional quantitative structure-activity relationship analysis, *The Journal of Medicinal Chemistry*, **1998**, 41, 4819-4832
- 92 Vollhardt, K.P.C., Schore, N. E., *Organische Chemie*, 3. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**
- 93 Stevens, J.F., Taylor, A.W., Nickerson, G.B., Ivancic, M., Henning, J., Haunold, A., Deinzer, M.L., Prenylflavonoid variation in *Humulus lupulus*: distribution and taxonomic significance of xanthogalenol and 4'-O-methylxanthohumol, *Phytochemistry*, **2000**, 53 759-775
- 94 Huang, C., Zhang, Z. First total synthesis of (R, S)-8-geranyl-5,7-dihydroxyflavanone, *Indian journal of chemistry*, **1999**, Vol 38B, 1274-1276
- 95 Jayasinghe, L., Balasooriya, B.A., Padmini, W.C., Hara, N., Fujimoto, Y., Geranyl chalcone derivatives with antifungal and radical scavenging properties from the leaves of *Artocarpus nobilis*, *Phytochemistry*, **2004**, 65, 1287-1290
- 96 Schwetlick, K., *Organikum*, 22. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**
- 97 Jain, A.C., Gupta, R.C., Sarpal, P.D., Synthesis of (\pm) Lupinifolin, Di-O-methylxanthohumol and isoxanthohumol and related compounds, *Tetrahedron*, **1978**, 34, 3563-3567
- 98 Kim, S. Ko, H., Son, S., Shin, K.J., Kim, D.J., Enantioselective syntheses of (+)-decursinol and (+)-*trans*-decursidinol, *Tetrahedron Letters*, **2001**, 42(43), 7641-7643

- 99 Tabata, N., Ito, M., Comoda, H., Omura, S., Xanthohumols, diacylglycerol acyltransferase inhibitors, from *Humulus lupulus*, *Phytochemistry*, **1997**, 46(4), 683-687
- 100 Wang, W.S., Ye, Y.-H., Zhou, Y.-W., New prenylchalcones from the hops of *Humulus lupulus*, *Journal of Asian natural Products*, **2008**, 10(6), 485-490
- 101 Mosmann, T., Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, **1983**, 65, 55-63
- 102 Gerhäuser, C., Broad spectrum antiinfective potential of xanthohumol from hop (*Humulus lupulus L.*) in comparison with activities of other hop constituents and xanthohumol metabolites, *Molecular Nutrition & Food Research*, **2005**, 49, 827-831
- 103 Gerhäuser, C., Frank, N., Xanthohumol, a new all-rounder?, *Molecular Nutrition & Food Research*, **2005**, 49, 821-823
- 104 Stevens, J.F., Ivancic, M., Hsu, V.L., Deinzer, M.L., Prenylflavonoids from *Humulus lupulus*, *Phytochemistry*, **1997**, 44 (8), 1575-1585
- 105 Gordon, M., Dietary antioxidants in disease prevention, *Natural Product Reports*, **1996**, 13(4), 265-273
- 106 Babior, B.M., Phagocytes and Oxidative Stress, *The American Journal of Medicine*, **2000**, 109, 33-44
- 107 Plecko, T., Rügauer, M., Kruse-Jarres, J.D.: Der oxidative Stress. *Klinische Chemie*, **1998**; 13: 624-630
- 108 Siems WG, Sommerburg O, Mayer H, Grune T: Die wichtigsten Radikalquellen im menschlichen Organismus. *Pharmazeutische Zeitung*, **1998**, 143, 1515-1527
- 109 Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T.C., Abramo, K.H., Levin, E.D., Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging pi-scine model systems, *Environ Health Perspect*, **1998**, 106(7): 375-384
- 110 Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., *Free radicals in biology and medicine*, 3. Auflage **1999**, Oxford University Press
- 111 Halliwell, B., Gutteridge, J.M., Cross, C.E., *Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? The Journal of laboratory and clinical medicine*, **1992**, 119(6), 598-620

- 112 Cao, G., Alessio, H.M., Cutler, R.G., Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants, *Free radical biology & medicine*, **1993**, 14, 303-311
- 113 Rosini, M., Andrisano, V., Bartolini, M., Bolognesi, M.L., Hrelia, P., Minarini, A., Tarozzi, A., Melchiorre, C., Rational approach to discover multipotent anti-Alzheimer drugs. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, 48, 360-363
- 114 Halliwell, B., How to characterize a biological antioxidant, *Free Radical Research Communications*, **1990**, 9(1), 1-32
- 115 Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Prior, R.L., Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2001**, 49, 4619-4626
- 116 Davalos, A., Gomez-Cordoves, C., Bartolome, B., Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2004**, 52, 48-54
- 117 Crozier, A., Yokota, T., Jaganath, I.B., Marks, S., Saltmarsh, M., Clifford, M.N., In *Plant Secondary Metabolites*; Crozier A.; Clifford M. N.; Ashihara H. (Eds.) Blackwell Publishing: Oxford, **2006**; 208-288
- 118 Gerhäuser, C., Alt, A., Heiss, E., Gamal Eldeen, A., Klimo, K., Knauff, J., Neumann, I., Scherf, H.R., Frank, N., Bartsch, H., Becker, H., *Molecular cancer therapeutics*, **2002**, 1, 959-969
- 119 Miranda, C.L., Stevens, J.F., Ivanov, V., McCall, M., Frei, B., Deinzer, M.L., Buhler, D.R., Antioxidant and Prooxidant Actions of Prenylated and Nonprenylated Chalcones and Flavanones in Vitro, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2000**, 48, 3876-3884
- 120 Vogel, S., Ohmayer, S., Brunner, G., Heilmann, J., Natural and non-natural prenylated chalcones: Synthesis, cytotoxicity and anti-oxidative activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2008**, 16(8), 4286-4293
- 121 Heilmann, J., Wasescha, M.R., Schmidt, T.J., The influence of glutathione and cysteine levels on the cytotoxicity of helenanolide type sesquiterpene lactones against KB cells, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2001**, 9(8), 2189-2194

J Anhang

1 Verwendete Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AAPH	2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochlorid
abs	absolut
AUC	area under curve
B-PE	B-Phycoerythrin
bzw.	beziehungsweise
C	Kohlenstoff
CDCl ₃	Chloroform deuteriert
CI	chemische Ionisation
COSY	Correlated Spectroscopy
Cox	Cyclooxygenase
δ	chemische Verschiebung
d	Dublett
2 d	zweidimensional
dd	Dublett vom Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DMSO-d ₆	Dimethylsulfoxid, vollständig deuteriert
EC ₅₀ -Wert	Konzentration, bei der die Produktion eines Nachweisproteins um 50% gehemmt wird
EE	Ethylacetat
EI	Elektronische Ionisierung (positiver Modus:EI+)
em	Emission
eq	Äquivalent
ER	Estrogenrezeptor
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
ex	Anregung (excitation)
FCS	fetal calf serum
Ger	Geranyl

H	Wasserstoff
HCV	Hepatitis C Virus
HIV	human immunodeficiency virus
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HOAc	Essigsäure
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
HSV	Herpes simplex Virus
Hz	Hertz
IC ₅₀	Konzentration, die zu einer 50%-igen Verringerung der Messgröße führt
in vivo	Im lebenden Organismus durchgeführt
J	NMR-Kopplungskonstante
kDa	kilo Dalton
konz.	Konzentriert
Lit	Literatur
Lsg.	Lösung
LM	Lösungsmittel
m	Multiplett
M	molar, mol/L
M ⁺	Molekülion
MeOH	Methanol
MEM	Modified Eagles Medium
MEM	2-Methoxyethoxymethyl
MG	Molekulargewicht
MHK	Minimale Hemm-Konzentration
MHz	Megahertz
MOM	Methoxymethoxy
MS	Massenspektrometrie
m/z	Verhältnis von Masse (u) zu Ladung (e)
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromid
N	normal
NMR	Nuclear magnetic resonance
NOESY	Nuclear Overhauser and Exchange Spectroscopy

ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
p 53	Protein mit Molekulargewicht 53 kDa
p.a.	pro analysis
PBS	phosphat buffered saline
PE	Petrolether 40/60
Pr	Prenyl
ppm	parts per million
ROS	Reactive Oxygen Species
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SC	Säulenchromatographie
Schmp.	Schmelzpunkt
t	Triplett
Tab.	Tabelle
TE	Trolox-Äquivalente
Temp	Temperatur
THF	Tetrahydrofuran
Trolox	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-Carbonsäure
UpM	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett (190 - 400 nm)
v/v	Volumenanteile
µg	Mikrogramm
µMol	Mikromol
Xan	Xanthohumol
z.B.	zum Beispiel

2 Publikationsübersicht

Vogel, S., Ohmayer, S., Brunner, G., Heilmann, J.: Natural and non-natural prenylated chalcones: Synthesis, cytotoxicity and anti-oxidative activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, 16(8), 4286-4293

Vogel, S., Heilmann, J.: Synthesis, cytotoxicity and anti-oxidative activity of minor prenylated chalcones from *Humulus lupulus*, *Journal of Natural Products* **2008**, *accepted*

Vogel, S., Kaufmann, D., Pojorova, M., Müller, C., Pfaller, T., Kühne, S., Bednarski, P.J., von Angerer, E.: Arozyll hydrazones of 2-phenylindole-3-carbaldehydes as novel antimitotic agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, 16(12), 6436-6447

Kaufmann, D., Pojorova, M., Vogel, S., Liebl, R., Gastpar, R., Gross, D., Nishino, T., Pfaller, T., von Angerer, E.: Antimitotic activities of 2-phenylindole-3-carbaldehydes in human breast cancer cells. *Medicinal Chemistry*, **2007**, 15(15), 5122-5136

Hartkorn, A., Hoffman, F., Ajamieh, H., Vogel, S., Heilmann, J., Gerbes, A.L., Zahler, S., Vollmer, A.M.: Xanthohumol is not protective in hepatic ischemia reperfusion injury despite its antioxidant effects are undisputable. *Cellular and Molecular Life Sciences*. Submitted (**2008**)

Abstract

Vogel, S.; Heilmann J.: Synthesis of prenylated hop chalcones and evaluation of their cytotoxic activity. *Planta Med.*, **2007**, 73, 953.

Poster

Vogel, S., Heilmann, J.: Synthesis of prenylated hop chalcones and evaluation of their cytotoxic activity. International Congress and 55th annual meeting of the Society for Medical Plant Research, 2.-6. September 2007, Graz, Österreich