

1994 027 037 01



UOVS - SASOL-BIBLIOTEK



19940270370122000019

HIERDIE EKSEMPLAAR MAG ONDER
GEEN OMSTANDIGHEDE UIT DIE
BIBLIOTEK VERWYDER WORD NIE

**UNIEKE PROROBINETINIENE
UIT
*ROBINIA PSEUDACACIA***

VERHANDELING VOORGELÊ TER VERVULLING VAN DIE
VEREISTES VIR DIE GRAAD

MAGISTER SCIENTIAE

IN DIE DEPARTEMENT CHEMIE,
FAKULTEIT NATUURWETENSKAPPE
VAN DIE
UNIVERSITEIT VAN DIE ORANJE VRYSTAAT
BLOEMFONTEIN

DEUR

JOHAN COETZEE

STUDIELEIER: DR. J.P. STEYNBERG
MEDESTUDIELEIER: PROF. D. FERREIRA

DESEMBER 1993

Universiteit van die
Oranje-Vrystaat
E. L. VAN WAGENINGEN
- 7 JUN 1994
UOVS - COL BIBLIOTEEK

T 547.783 COE

DANKBETUIGINGS

Hiermee wens ek my opregte dank en waardering te betuig aan:

My Skepper vir die genade, krag en seën gedurende hierdie studie;

Dr. J.P. Steynberg en Prof. D. Ferreira as studieleiers vir hul bekwame leiding, opbouende kritiek en bereidwillige hulp tydens hierdie studie;

Dr. J.M. Steyn – Departement Farmakologie, U.O.V.S. vir die afname van massaspektra;

Personeel en mede-nagraadse studente van die Departement Chemie vir die aangename gees van samewerking;

Mej. M. Marais vir haar bekwame tikwerk.

J. COETZEE

INHOUDSOPGAWE

| | Bladsy |
|--|--------|
| SAMEVATTING | (i) |
| LITERATUUROORSIG | |
| 1. Flavanoïede uit die kernhout van <i>Robinia pseudacacia</i> | 1 |
| 2. Natuurlike proantosianidene met unieke interflavanielbindings | |
| 2.1. Inleiding | 5 |
| 2.2. Klassieke biomimetiese benaderings | 5 |
| 2.3. Biflavanoïede met die terminale eenheid deur die B-ring gekoppel | 8 |
| 2.4. Biflavanoïede met 'n dihidroflavonol as terminale eenheid | 12 |
| 2.5. [4,8]-Gekoppelde bis-fisetinidole | 17 |
| 2.6. Biflavanoïede met 'n flavan-3,4-diol as terminale eenheid | 23 |
| BESPREKING | |
| Inleiding | 28 |
| (a) Biflavanoïede met 'n flavan-3,4-diol as terminale entiteit | |
| 3.1. Robinetinidol-(4 β ,6)-robinetinidol-4 β -ol | 29 |

| | | |
|---|--|----|
| 3.2 | Robinetinidol-(4 β ,6)-robinetinidol-4 α -ol | 33 |
| 3.3 | Robinetinidol-(4 α ,2')-robinetinidol-4 β -ol | 36 |
| 3.4 | Robinetinidol-(4 α ,2')-robinetinidol-4 α -ol | 39 |
| (b) Biflavanoïede met 'n dihidroflavonol as terminale entiteit | | |
| 3.5 | Robinetinidol-(4 α ,2')-dihidrorobinetien | 43 |
| 3.6 | Robinetinidol-(4 β ,6)-(+) -dihidrorobinetien | 49 |
| 3.7 | Robinetinidol-(4 α ,8)-(+) -dihidrorobinetien | 52 |
| (c) Biflavanoïede met 'n flavonol of flavoon as terminale eenheid | | |
| 3.8 | Robinetinidol-(4 α ,2')-robinetien | 56 |
| 3.9 | Robinetinidol-(4 β ,2')-3',4',5',7-tetrahidroksiflavoon | 60 |
| 4. Pogings tot die biomimetiese sintese van prorobinetinidien uit <i>Robinia pseudacacia</i> | | |
| 4.1 | Modelreaksie: Suurgekataliseerde kondensasie van (+) -leukorobinetinidien en pirogallol | 68 |
| 4.2 | Suurgekataliseerde kondensasie van (+) -leukorobinetinidien en (+) -dihidrorobinetien | 73 |

EKSPERIMENTEEL

| | | |
|----|-----------------------------------|----|
| 5. | Standaard eksperimentele tegnieke | 76 |
|----|-----------------------------------|----|

| | | |
|-----|--|----|
| 6. | Verryking van die kernhoutekstrak van <i>Robinia pseudacacia</i> | 81 |
| 7. | Isolasie van flavanoïede uit die kernhout van <i>Robinia pseudacacia</i> | 82 |
| 8. | Verdere isolasie van flavanoïede uit die kernhout van <i>Robinia pseudacacia</i> | 90 |
| 9. | Pogings tot die sintese van geïsoleerde biflavanoïede | |
| 9.1 | Suurgekataliseerde kondensasie van (+)-leukorobinetinidien en pirogallol | 97 |
| 9.2 | Suurgekataliseerde kondensasie van (+)-leukorobinetinidien en (+)-dihidrorobinetien | 99 |

SPEKTROMETRIESE GEGEWENS

KERNMAGNETIESE RESONANSPEKTRA (k.m.r.)

SIRKULÊRE DICHROÏSME (SD)

MASSAPEKTROMETRIE (MS)

LITERATUURVERWYSINGS

SAMEVATTING

SAMEVATTING

Robinia pseudacacia is bekend as 'n harde en duursame houtsoort wat opvallend weerstand teen insekte bied. Tydens 'n vroeëre ondersoek is slegs monomeriese flavanoïede uit die kernhout geïsoleer. Die afwesigheid van potente nukleofiele het die idee laat ontstaan dat dit onwaarskynlik is dat oligomeriese prorobinetinidene betekenisvol in die metaboliese poel van *R. pseudacacia* sal figureer. 'n Aanvanklike chromatografiese herondersoek van die kernhoutekstrak het egter op die teenwoordigheid van 'n lae konsentrasie van oligomeriese flavanoïede gedui. Die potensiaal van moderne chromatografiese en fisiese tegnieke wat die studie van natuurprodukte in lae konsentrasies moontlik maak, die karakterisering van oligomere wat vorm in 'n metaboliese poel sonder 'n tipiese nukleofiele spesie asook die weerstand teen insekte en verrotingsfungi het as stimulas gediens vir 'n herondersoek van die fenoliese komponente in die kernhout van dié boomsoort.

Uitgebreide verryking en fraksionering deur benutting van o.a. Craig teenstroomverdelings-tegnieke en Sephadex LH-20 as chromatografiese substraat en die gevolglike konsentrasie verlaging van die oorheersende metaboliete, (+)-leukorobinetinidien en (+)-dihidrorobinetien, relatief tot die hoër oligomeriese materiaal, het gelei tot identifikasie van 'n verskeidenheid unieke prorobinetinidene. Strukture is bepaal deur benutting van hoofsaaklik hoë resolusie (300 MHz) ^1H k.m.r.- en S.D.-tegnieke en is waar moontlik deur biomimetiese sintese bevestig. Aanwending van die kragtigste van hierdie tegnieke naamlik hoë resolusie ^1H k.m.r.-spektrometrie is vroeër dikwels geïnhibeer deur die verskynsel van dinamiese rotasie-isomerie wat meegebring het dat hoë temperatuur nodig was om rotasie-isomerie om die interflavanielbinding en aldus seinverdubbeling te bowe te kom. Tydens hierdie ondersoek is 'n nuwe benadering gevolg en is veral 2D COSY en n.O.e.-tegnieke aangewend om volledige seintoesegging (identifikasie) van beide rotamere

by kamertemperatuur te bewerkstellig. Ondubbelsinnige identifikasie van rotamere het gedui op insiggewende aspekte rakende voorkeuriëntasies om die interflavanielbinding van hierdie unieke prorobinetinidiene.

Die seldsame reeks B-ring gekoppelde oligomere is uitgebrei deur identifikasie van robinetinidol-(4 α ,2')-robinetinidol-4 β -ol en robinetinidol-(4 α ,2')-robinitinidol-4 α -ol, die eerste B-ring gekoppelde biflavanoïede met 'n flavan-3,4-diol terminale eenheid, asook deur robinetinidol-(4 α ,2')-(+)-dihidorrobinetien wat die eerste biflavanoïed met (+)-dihidorrobinetien as terminale eenheid verteenwoordig. Identifikasie van robinetinidol-(4 α ,2')-robinetien, die eerste B-ring gekoppelde biflavanoïed met robinetien as terminale eenheid, en robinetinidol-(4 β ,2')-3',4',5',7-tetrahidroksiflavoon, wat die eerste biflavanoïed met 'n flavoon terminale eenheid verteenwoordig, het dié seldsame reeks B-ring gekoppelde oligomere verder uitgebrei. Die vorming van robinetinidol-(4 α ,2')-robinetien in lae opbrengste tydens die suurgekataliseerde kondensasie van (+)-leukorobinitinidien en (+)-dihidorrobinetien is waarskynlik toe te skryf aan die deaktivering van selfs die B-ring van die dihidroflavonol deur die karbonielfunksionaliteit.

Die unieke reeks biflavanoïede met 'n flavan-3,4-diol as terminale entiteit is ook uitgebrei deur identifikasie van robinetinidol-(4 β ,6)-robinitinidol-4 β -ol en robinetinidol-(4 β ,6)-robinitinidol-4 α -ol, wat die eerste biflavanoïede van dié tipe met (+)-leukorobinetinidien as terminale eenheid verteenwoordig. Identifikasie van robinetinidol-(4 β ,6)-(+)dihidorrobinetien vul die biflavanoïede met (+)-dihidorrobinetien as terminale eenheid aan. Robinetinidol-(4 α ,8)-(+)dihidorrobinetien verteenwoordig die eerste [4,8]-gekoppelde 5-deoksi-biflavanoïed met 'n dihidroflavonol as terminale eenheid.

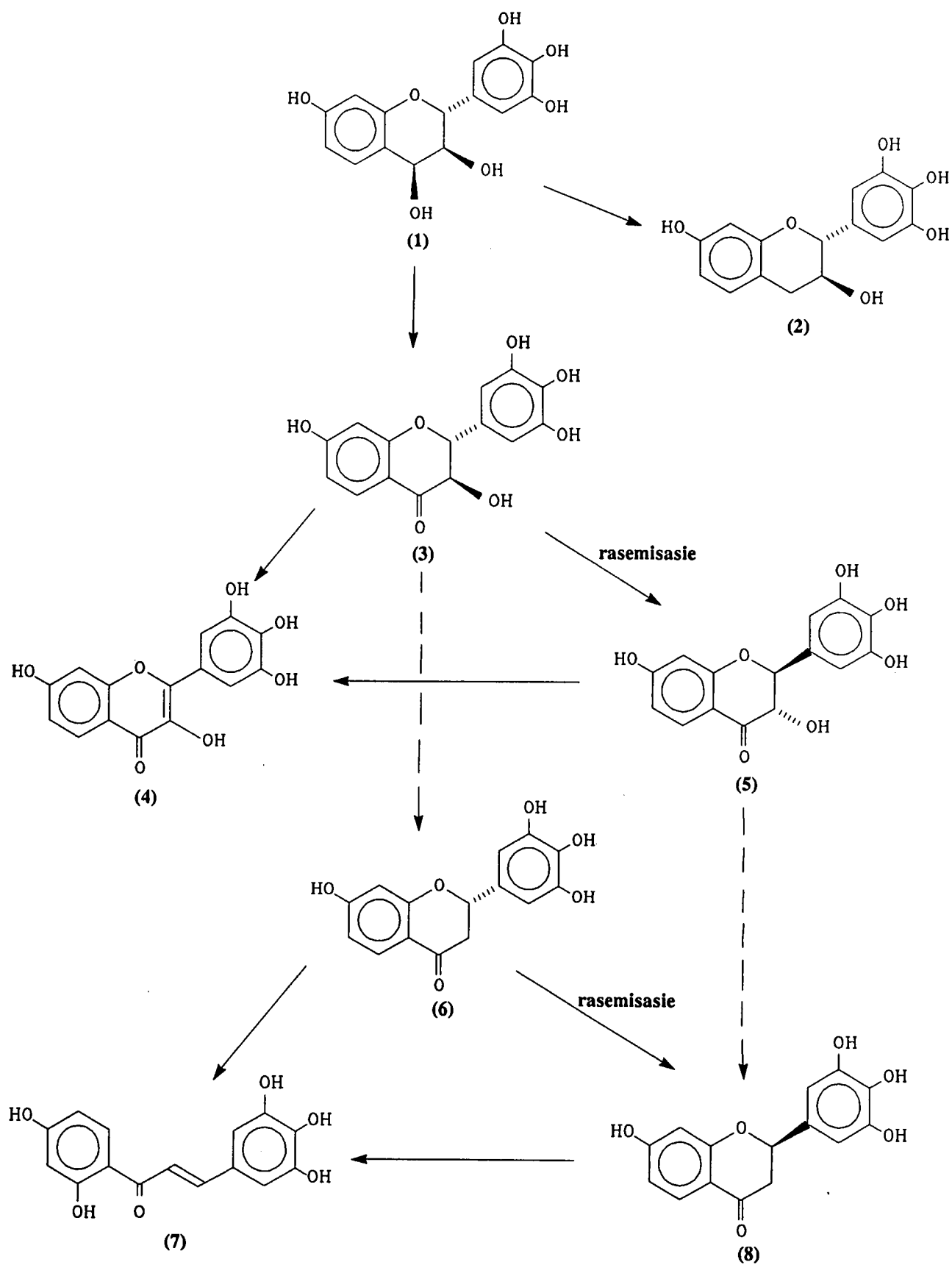
LITERATUUROORSIG

HOOFSTUK 1

FLAVANOÏEDE UIT DIE KERNHOUT VAN *ROBINIA PSEUDACACIA*

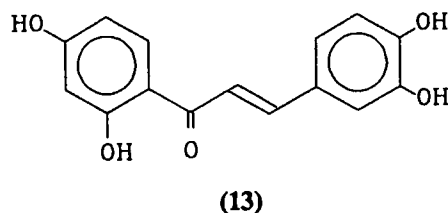
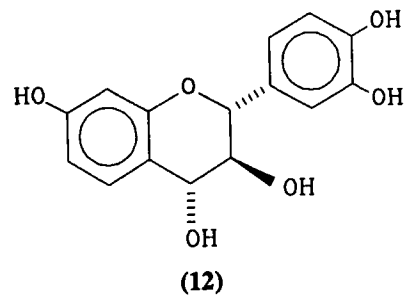
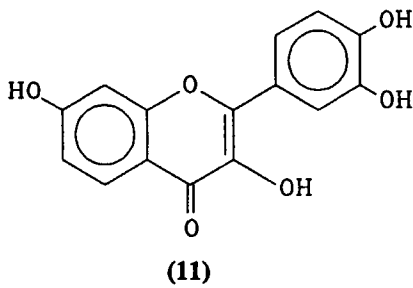
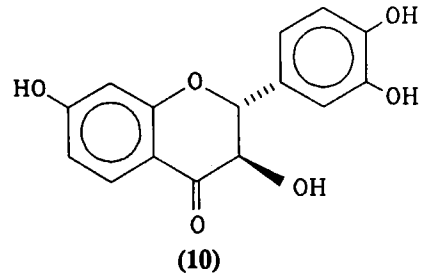
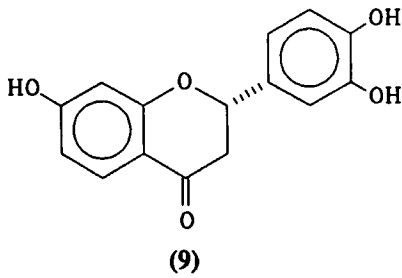
Die welbekende weerstand teen insekte, asook die duursaamheid van die hout van *Robinia pseudacacia* het reeds in 1931¹ gelei tot 'n ondersoek van die metaboliete in die kernhout van die sprinkaanboom. Schmidt *et al.*^{1,2} asook Brass *et al.*³ het in hierdie ondersoek aangetoon dat 3',4',5',7-tetrahidroksiflavanol (robinetien) (4) in beduidende konsentrasie in die kernhout van dié boomsoort aangetref word. Freudenberg *et al.*⁴ het later aangetoon dat robinetien in die kernhout vergesel word deur die naverwante dihidroflavanol (+)-dihidrorobinetien (3). Freudenberg en Roux⁵, wat as deel van strukturebewys die dihidroflavanol met katalitiese hidrogenering omgeskakel het na (±)-3',4',5',7-tetrahidroksiflavan-3,4-diol (1), het aangevoer dat (+)-dihidrorobinetien waarskynlik as 'n gedeeltelik rasemiese mengsel in *Robinia pseudacacia* voorkom. Weinges⁶ het later aangetoon dat (+)-3',4',5',7-tetrahidroksiflavan-3,4-diol (1) inderdaad in die kernhout van die sprinkaanboom aangetref word.

Hierdie aanvanklike werk is in 1961 deur Roux en Paulus⁷ opgevolg met 'n gedetailleerde ondersoek na die metaboliete in die kern- en saphout van *Robinia pseudacacia*. Die metanolekstrak van die kernhout word gedomineer deur 'n naverwante groep flavanoïede gebaseer op resorsinol en pirogallol kerne waaronder (+)-3',4',5',7-tetrahidroksiflavan-3,4-diol (1); (-)-robinetinidol (2); robinetien (4); gedeeltelik rasemiese (+)-dihidrorobinetien (3); (-)-robtien (6) en die 2',3,4',4,5-pentahidroksichalkoon (robtein) (7).

FLAVANOÏEDE UIT *ROBINIA PSEUDACACIA*

Skema 1

Laer konsentrasies van flavanoïede gebaseer op resorsinol- en pirokatesjoltipe A- en B-ringe, naamlik (+)-3',4',7-trihidroksiflavan-3,4-diol (12), (+)-fustien (10), (-)-butien (9), butein (13) en fisetien (11) is ook deur Roux en Paulus⁷ uit die sprinkaanboom geïsoleer.



Die *trans-cis* relatiewe stereochemie vir die flavan-3,4-diol (1) is gebaseer op die gemak waarmee die verbinding 'n isopropilideenderivaat vorm. Latere getuienis het egter daarop gedui dat isopropilideen derivate as sulks nie genoegsame bewys is vir 3,4-*cis* stereochemie nie, aangesien flavan-3,4-diol met 3,4-*trans* stereochemie ook tydens die reaksie *via* 'n aanvanklike 4-C epimerisasie indirek oorsprong gee aan isopropilideenderivate.

Weinges⁶ het voorgestel dat die omskakeling van (+)-dihidorobinetien (3) na (+)-3',4',5',7-tetrahidroksiflavan-3,4-diol (1) na (-)-robinetinidol (2) gemaklik *in vivo* plaasvind. Freudenberg⁴ het soortgelyk aangedui dat die 3',4',5',7-tetrahidroksiflavanol robinetien (4) waarskynlik *in vivo* ontstaan vanuit (+)-dihidorobinetien (3). Roux⁷ het dus voorgestel dat die diverse verskeidenheid van flavanoïede uit *Robinia pseudacacia* waarskynlik die gevolg is van omskakelings soortgelyk aan dié gepostuleer deur Weinges en Freudenberg. Die feit dat (+)-leukorobinetinedien opties suiwer in *R. pseudacacia* voorkom, in teenstelling met die dihidroflavanol wat as rasemiese mengsel geïsoleer is, het die basis gevorm van 'n voorstel deur Roux⁷ (Skema 1) dat die flavan-3,4-diol (1), eerder as die dihidroflavanol (3), die voorloper is waaruit die prorobinetinidien in *Robinia pseudacacia* ontstaan.

HOOFSTUK 2

NATUURLIKE PROANTOSIANIDIENE MET UNIEKE INTERFLAVANIEL-BINDINGS

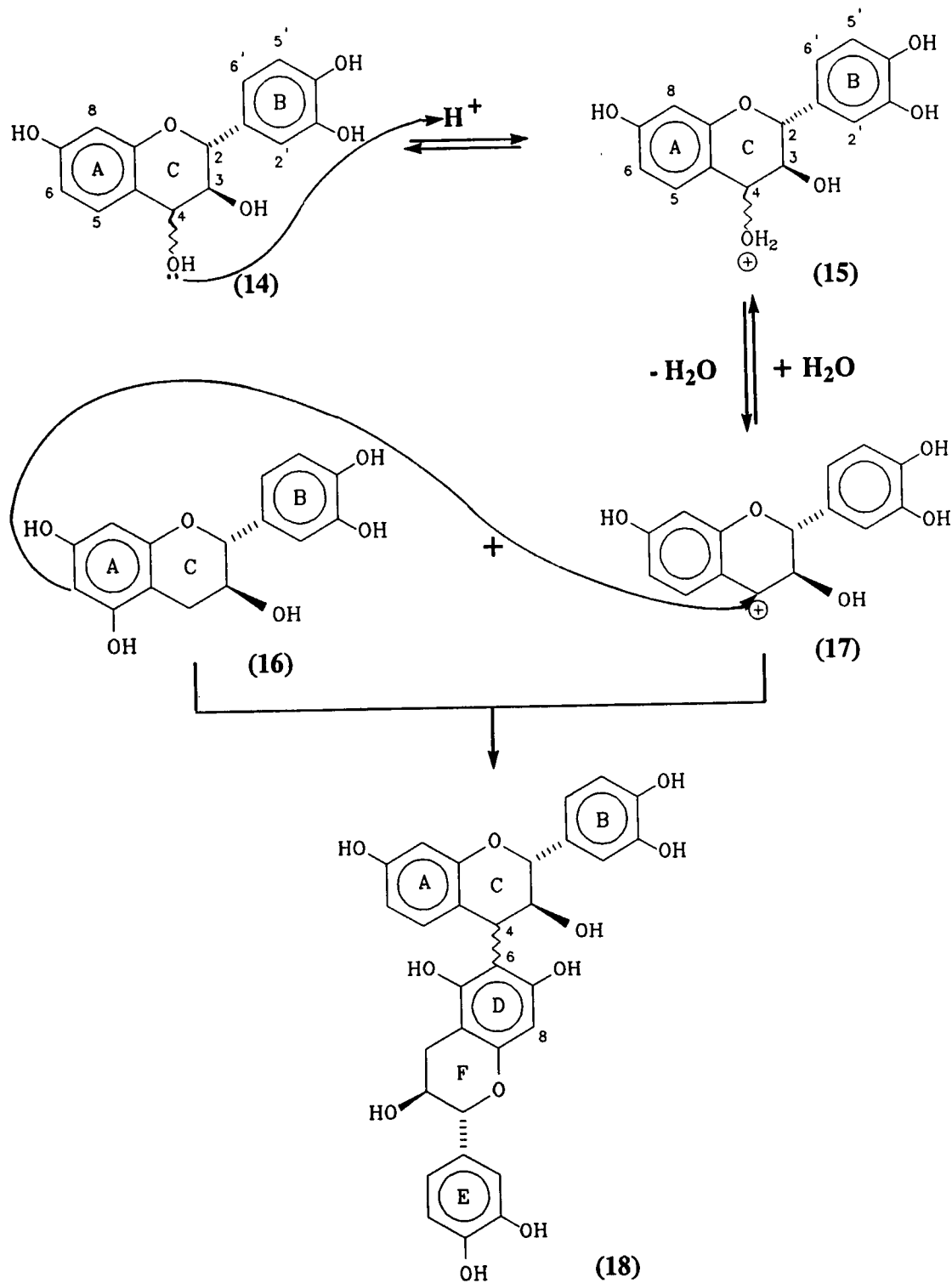
2.1 Inleiding

"Konvensionele" oligoflavanoïede kan biomimeties gesintetiseer word deur nukleofiele aanval van die 6-C(A) of 8-C(A) posisie van 'n flavan-3-ol (16) op die 4-C(C) karbokatioon (17) wat ontstaan as flavan-3,4-diole (14) met milde suur, behandel word⁸ (Skema 2).

Wanneer die nukleofiele flavan-3-ol oor 'n resorsinoltipe A-ring beskik, met ander woorde 'n 5-deoksiverbinding, vind aanval hoofsaaklik vanaf die 6-C(A)-posisie plaas in teenstelling met flavan-3-ole met floroglusinoltipe A-ringe (5-oksiverbindings) waar aanval vanaf beide 6-C(A) en 8-C(A) plaasvind. Met dié biomimetiese benadering kon die oorgrote meerderheid van veral natuurlike bi- en triflavanoïede gesintetiseer word en kon sulke verbindings ten volle gekarakteriseer word, aangesien andersins moeilik bekom-bare strukturele data soos absolute en relatiewe stereochemie vanaf die sintetiese ekwi-valente afgelei kon word.

2.2 Klassieke biomimetiese benaderings

Hoewel biomimetiese sinteses meestal ondubbelsinnige struktuurtoeseggings ten doel het, berus talle van die voorstelle vir *in vivo* biogenetiese roetes op sodanige sintese. Veral twee benaderings om interflavanielbindings te vorm, geniet beduidende aandag.



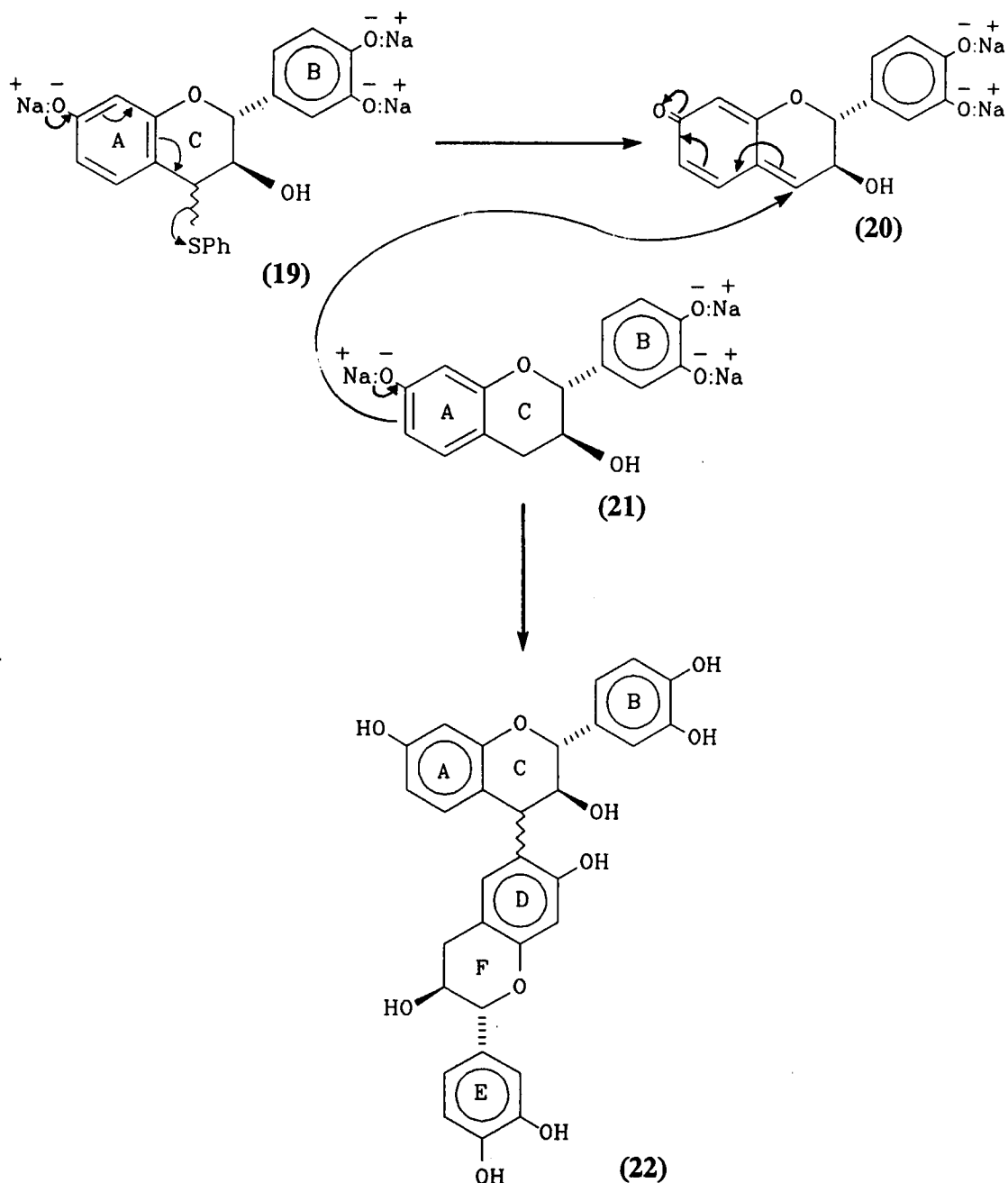
Skema 2

2.2.1 Suurgekataliseerde kondensasie

Die suurgekataliseerde kondensasie berus op die skepping van 'n *p*-hidroksibensiel-C4-karbokatioon (17) vanaf 'n flavan-3,4-diol, gevolg deur nukleofiele aanval van die 6-C(A) of 8-C(A) posisie van 'n flavan-3-ol (Skema 2). Hierdie protokol word met groot sukses toegepas by veral die 5-deoksiverbindings en het tot die daarstel van 'n verskeidenheid komplekse natuurprodukte⁹⁻¹⁶ gelei.

2.2.2 Basisgekataliseerde kondensasie

In teenstelling met protonering onder suurtoestande, vind soutvorming van die fenoliese groepe plaas in alkaliese medium (19) [Skema 3]. In hierdie fenolaatvorm besit die suurstof verhoogde elektronskenkende eienskappe met gevolglike toename in nukleofiliteit van die A-ring funksionaliteit. Attwood *et al*¹⁷ het spektroskopiese bewys gelewer dat die elektrofile spesie tydens basisgekataliseerde kondensasies 'n A-ring kinoonmetied (20) is. Indien 'n relatief goeie verlatende groep [byvoorbeeld S-feniel (19)] op C4 teenwoordig is, sal vorming van die kinoonmetied bevorder word.

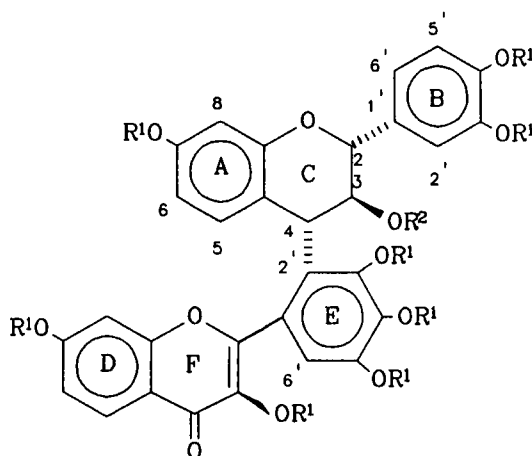
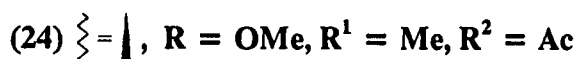
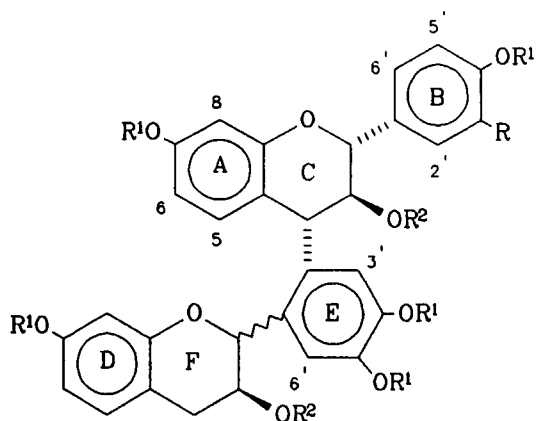


Skema 3

2.3 Biflavanoïede met die terminale eenheid deur die B-ring gekoppel

Die eerste verteenwoordigers van hierdie unieke reeks proantosianidiene is deur Steenkamp *et al*¹⁸ uit die kernhout van *Colophospermum mopane* geïsoleer. Die kompleksiteit van die

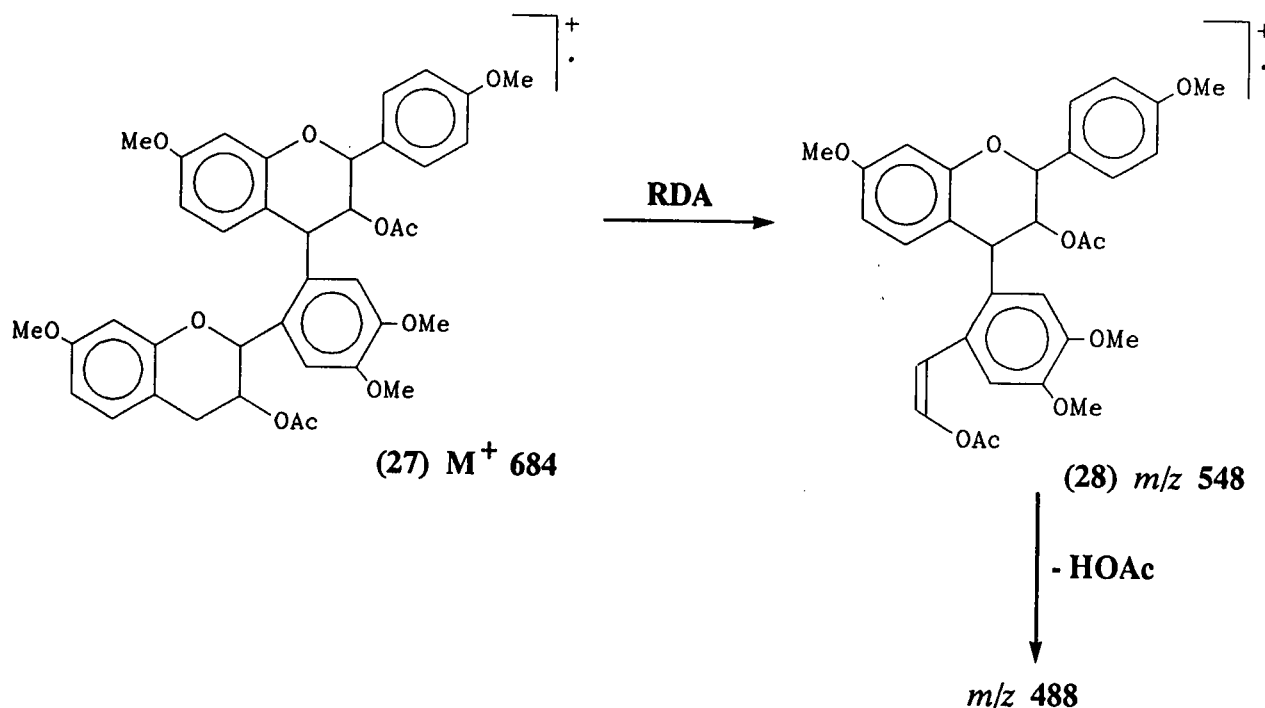
natuurlike mengsel het derivatisering en herhaalde chromatografiese skeiding vereis en die verbindings is dus as die metieleterasetaat derivate gekarakteriseer.



Die ^1H k.m.r. spektra van die metieleterasetate (23)–(25) vertoon in die heterosikliese gebied 'n AMX–sisteem vir die protone van die C–ring asook 'n AMXY–sisteem vir die F–ring protone. Afgesien van die drie ABX–sisteme [AA'BB'–sisteem by B–ring van (25)], vertoon die aromtiese gebied ook twee eenproton singulette [3'–H(E) en 6'–H(E)] wat onderskeidelik verskerp wanneer 4–H(C) en 2–H(F) bestraal word. Bogenoemde waarneming tesame met n.O.e. assosiasie tussen die 3'– en 6'–H(E) singulette elk met 'n enkele metoksisein definieer die interflavanielbinding onomwonde as koppeling vanaf 4–C–(C–ring) na 2'–C(E–ring).

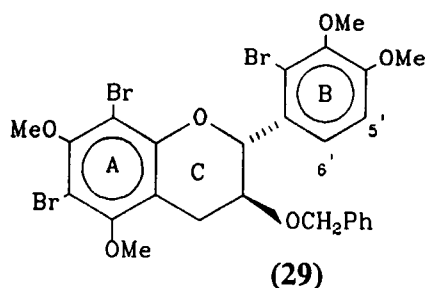
In teenstelling met die ms–spektra van A–ring gekoppelde verbindings, waar die verskynsel nie voorkom nie, toon die ms–spektra van hierdie B–ring gekoppelde verbindings

behalwe die M^+ ioon addisioneel 'n unieke fragment wat ontstaan as gevolg van RDA-fragmentasie van die terminale eenheid gevolg deur asynsuurverlies (Skema 4).

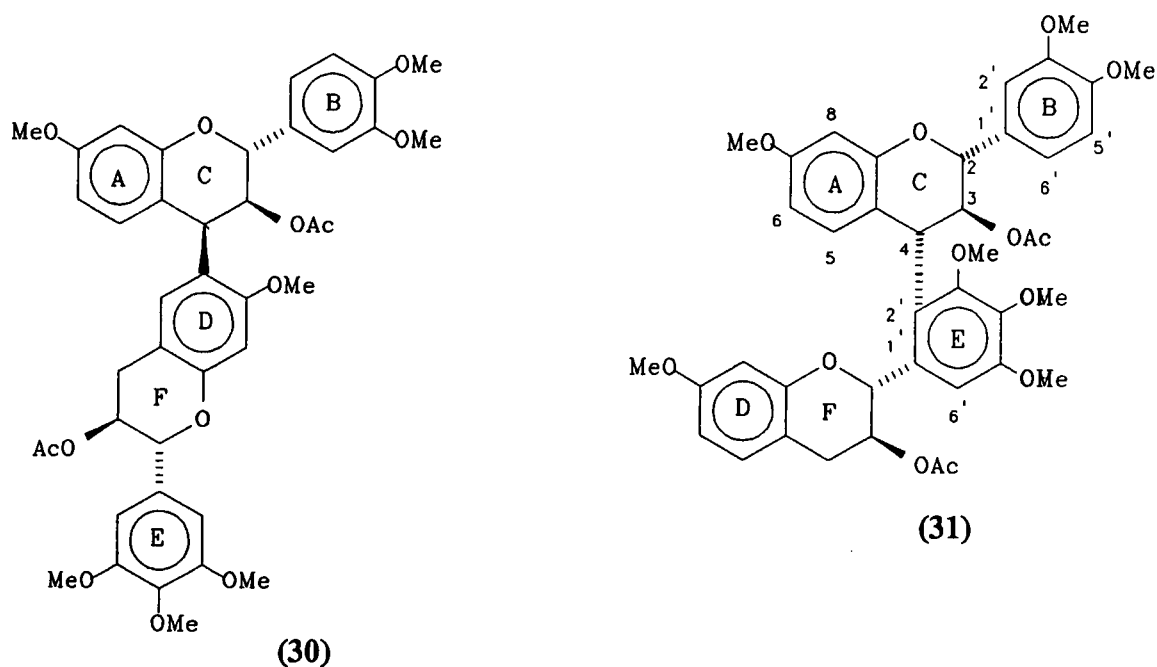


Skema 4

Die B-ring gekoppelde verbindings is uniek aangesien die pirokatesjol B-ring van fisetinidole 'n verminderde nukleofiliteit besit wanneer dit met dié van resorsinoltipe A-ringe vergelyk word. 'n Sintetiese benadering sal 'n verhoogde nukleofiliteit op die pirokatesjol B-ring moet bewerkstellig, of die bensiliese C-4 posisie in die flavan-3,4-diol voorloper omskep in 'n beter elektrofiel. Verder sal die C-6 posisie van fisetinidol, wat die meer potente nukleofiliese posisie is, beskerm of gedeaktiveer moet word om nukleofiele aanval deur die B-ring te bewerkstellig. Die potensiele nukleofiele aard van flavanoïed B-ringe is deur Hundt en Roux¹⁹ tydens brominering van (+)-katesjien bewys, waar onder andere die 2',6,8-tribromoderivaat (29) verkry is.



Malan *et al*²⁰ het tydens die suurgekataliseerde kondensasie van (-)-robinetinidol (2) en (+)-mollisacacidiën (36), met ten doel die sintetiese ekwivalent van die natuurlike (-)-fisetinidol-(4 β ,6)-(-)-robinetinidol (30) egter ook (-)-fisetinidol-(4 α ,2')-(-)-robinetinidol (31) in 'n lae opbrengs uit die komplekse mengsel geïsoleer.



Die ¹H k.m.r. spektrum van die oktametielasetaat (26) vertoon opmerklik een heterosikliese AMX-sisteem en drie aromatiese ABX-sisteme. Die aromatiese ABX-sisteme kan geassosieer word met 'n resorsinol A-ring, 'n pirokatesjol B-ring en 'n resorsinol D-ring. Verder word 'n eenproton singulet in die aromatiese gebied aangetref. Die teenwoordigheid

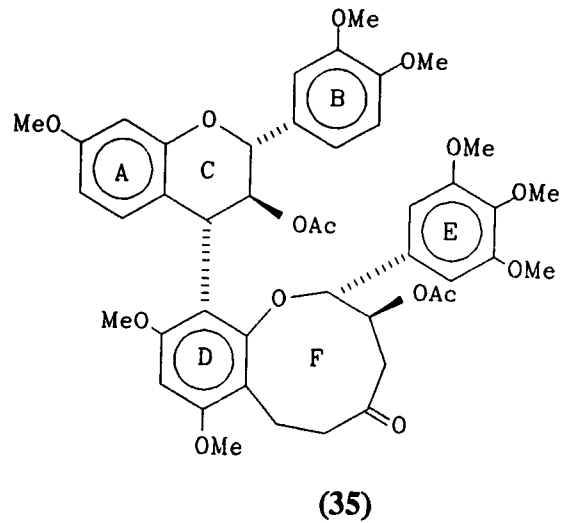
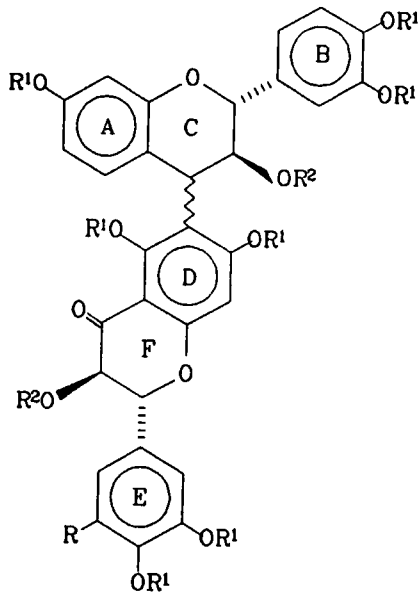
van slegs een heterosikliese AMX-sisteem [$J_{2,3} = J_{3,4} = 9.9$ Hz] en 'n enkele eenproton - singulet in die aromatiese gebied, is karakteriserend van *trans-trans* C-ring stereochemie en 'n C-E-ring interflavanielbinding met fisetinidol en robinetien as die onderskeie flavaniel eenhede.

Tydens bestraling van 2-H(C) in 'n spin-spin ontkoppelingseksperiment het verskerping van 2'-H(B) en 6'-H(B) voorgekom, asook die ontkoppeling van 3-H(C). Bogenoemde waarnemings dien as bewys vir fisetinidol as boonste eenheid. Die afwesigheid van verdere heterosikliese protone in die terminale eenheid van die biflavanoïed, 'n heterosikliese metoksigrup by hoër veld, 'n eenproton singulet en 'n laeveld doeplet wat dui op 'n 4-F karbonielfunksionaliteit, was aanduidend van robinetien as onderste eenheid.

Met bogenoemde in gedagte en na aanleiding van die goeie resultate deur Hemingway *et al*²¹ verkry vir die koppeling van (+)-katesjien, floroglusinol en die selfkondensasie van (-)-epikatesjien-(4 β)-fenielsulfied, onder alkaliese kondisies in vergelyking met suur kondisies, is die koppeling van (-)-fisetinidol, met 'n goeie verlatende groep (S-feniel) op C4, en robinetien onder alkaliese toestande deur Malan²² ondersoek. Die (-)-fisetinidol-(4 α , 2')-robinetien (26) kon na metilering en asetilering slegs in uiters lae opbrengste geïsoleer word, waarskynlik as gevolg van die lae nukleofiliteit van beide die A- en B-ringe van robinetien.

2.4 Biflavanoïede met 'n dihidroflavonol as terminale eenheid

Die eerste natuurlike biflavanoïede met 'n dihidroflavonol as terminale eenheid is deur Malan *et al*²³ uit *Burkea africana* geïsoleer.



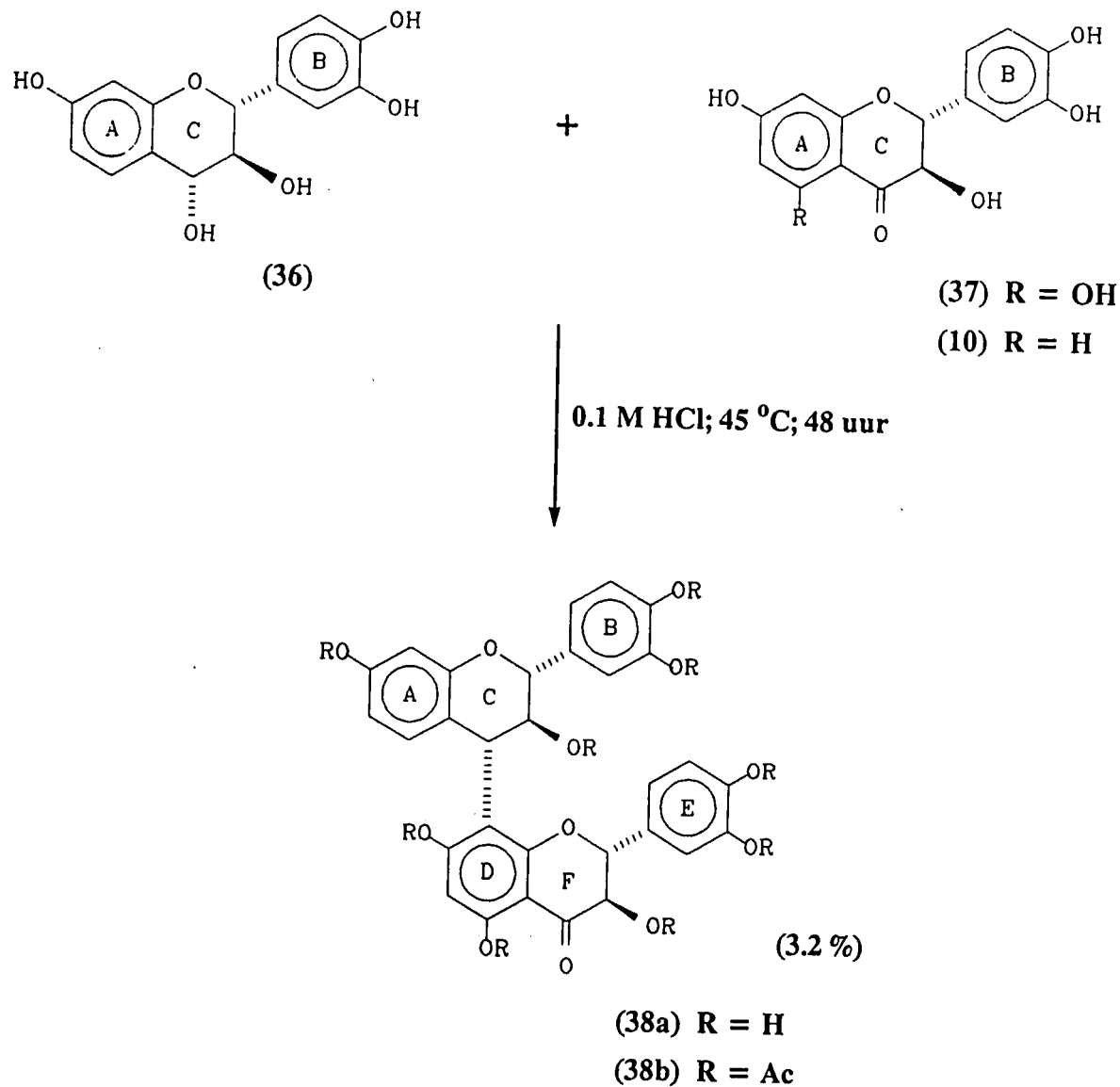
Die 1H k.m.r. spektra van derivate (32), (33) en (34) is gekenmerk deur die teenwoordigheid van slegs vyf heterosikliese protone, 'n AMX-sisteem vir die fisetinidol boonste eenheid en 'n AB-sisteem vir die dihidroflavonol terminale eenheid. Derivaat (32) vertoon drie ABX-sisteme in die aromatiese gebied teenoor die twee ABX-sisteme en 'n tweeproton singulet, karakteristiek van 'n pirogallol tipe ring, van derivate (33) en (34). Deur van spin-spin ontkoppelingseksperimente, met die heterosikliese protone as verwysings resonanse, gebruik te maak, is die aromatiese sisteme gekorreleer met 'n resorsinol A-ring, 'n pirokatesjole B-ring asook 'n pirokatesjole E-ring (32) en 'n pirogallol E-ring [(33) en (34)]. Beduidende n.O.e. assosiasie van die residuele D-ring singulet met net een D-ring metoksigröep bevestig die voorgestelde 4-C(C) \rightarrow 6-C(D) interflavanielbinding.

Hoewel die ^1H k.m.r. spektrum van verbinding (35) groot ooreenkoms getoon het met dié van (32), (33) en (34), het die teenwoordigheid van drie metileenfunksies en die voorkoms van 3-H(F) as 'n multiplet gedui op 'n abnormaliteit in die heterosikliese ring van die terminale eenheid. Verdere ^1H k.m.r. ondersoek het aangedui dat hierdie abnormaliteit toegeskryf kan word aan die proses van metileeninsersie tydens metilering met diasometaan. Metileeninsersie in die heterosikliese C-ring van dihidroflavonole, tydens metilering met diasometaan, is 'n verskynsel wat reeds vroeër deur Brandt *et al*²⁴ beskryf is.

Spin-spin ontkoppelingseksperimente het die teenwoordigheid van fisetinidol as boonste eenheid [bestraling van 2-H(F) lei tot verskerping van 2',6'-H(E)] bevestig. Toeseggings van die onderskeie metileengroepe is moontlik gemaak deur verdere ontkoppelingseksperimente. 'n N.O.e. assosiasie tussen die 9-H(D) singulet en beide metoksigroepe van die D-ring bevestig die voorgestelde koppeling deur 8-C van 'n ampelopsien eenheid.

Hierdie biflavanoïede (32), (33), (34) en (35) is uniek aangesien daar aanvaar is dat dihidroflavonole nie as nukleofiele tydens tannien oligomerisasie kan optree nie. Sodanige aanname spruit uit die feit dat die C-4-karbonielgroep die A-ring deaktiveer ten opsigte van nukleofiele karakter. Die eerste poging tot die sintese van hierdie unieke biflavanoïede is deur Pretorius²⁵ uitgevoer (Skema 5). Die suurgekataliseerde kondensasie van (+)-taksifolien (37) en (+) mollisacacidien (36) het egter slegs die alles- *trans* -koppelingsproduk (38a) in 'n uiters lae opbrengs (3,2%) gelewer (Skema 5).

Geen koppeling kon egter tussen (+)-mollisacacidien (36) en (+)-fustien (10) (5-deoksi-verbinding) onder suurgekataliseerde reaksiekondisies verkry word nie, waarskynlik as gevolg van die verlaagde nukleofiliteit van (+)-fustien in vergelyking met die van (+)-taksifolien.

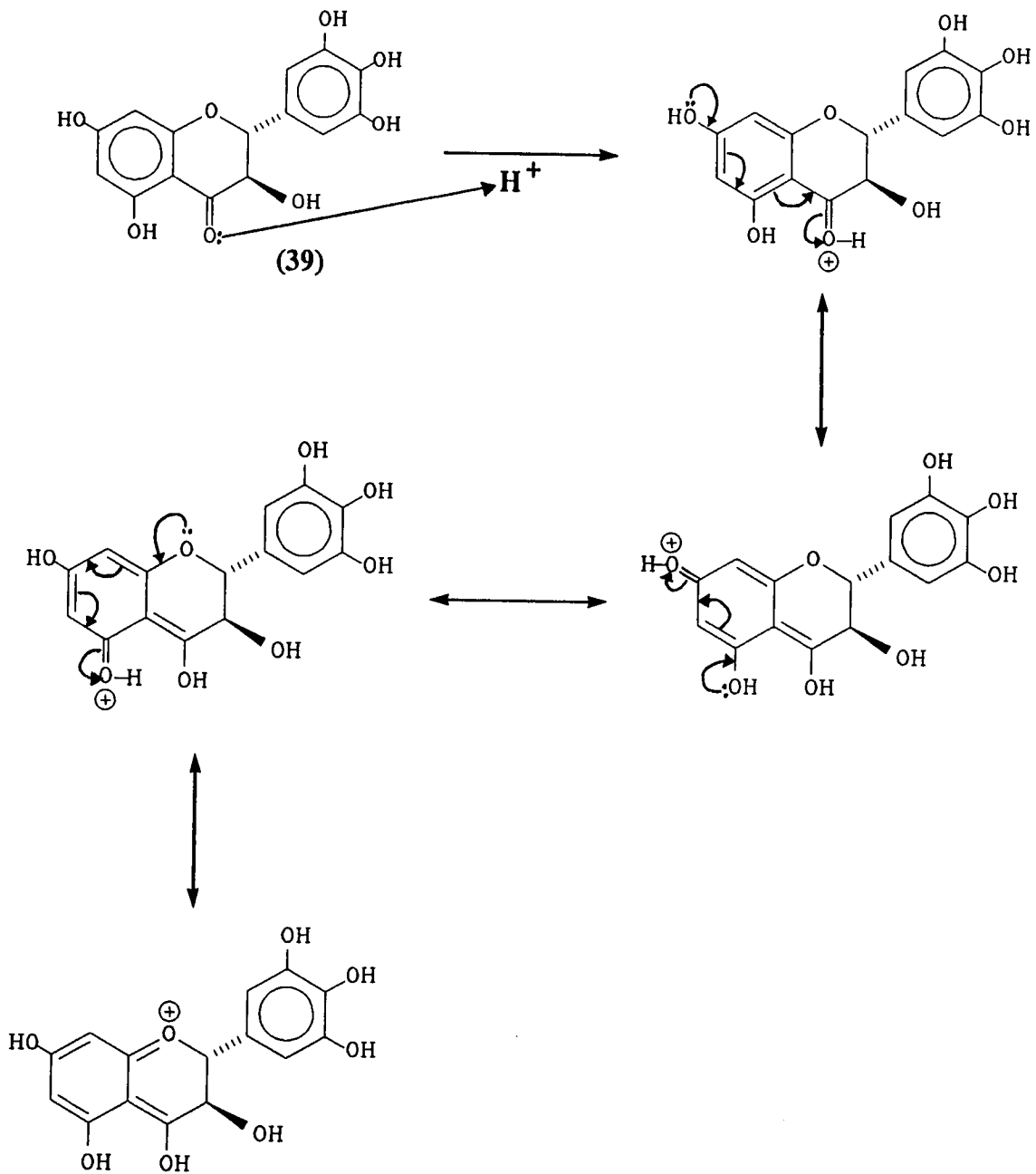


Skema 5

Bogenoemde bevinding deur Pretorius het aanleiding gegee tot 'n verdere ondersoek, deur Malan²², vir die kondensasie van (+)-mollisacacidien (36) en (+)-ampelopsien (39) onder suurtoestande. Ten spyte van 'n variasie van die suursterkte, temperatuur, oplosmiddel sowel as die molverhoudings van die uitgangstowwe, kon geen koppelingsprodukte egter verkry word nie.

'n Verdere poging is deur Malan aangewend na oorweging van die voorstel van Young²⁶, dat onder suurtoestande geen vry karbokatioon op C4 van die elektrofiel voorkom nie, maar wel 'n gepolariseerde C4–OH binding met karbokatioonkarakter. Protonering van die C4–OH groep versterk C4 as elektrofiel en verhoog dus die mate waartoe die C4–OH binding verswak. Die mate van stabilisering van hierdie bensiliese C4–posisie bepaal nou die mate van karbokatioonkarakter wat vertoon word. Die beter stabilisering deur 'n vryfenoliese groep, in vergelyking met dié van 'n metoksigrp, het dus 'n verlaagde karbokatioonkarakter vir die elektrofiel tot gevolg. Deur gevolglik gebruik te maak van gemetileerde (+)–mollisacacidiene is gehoop dat die verhoogde karbokatioonkarakter (reaktiwiteit) van die elektrofiel aanleiding tot kondensasie sou gee.

Die suurgekataliseerde kondensasie van tri-O–metiel-(+)–mollisacacidiene en (+)–ampelopsien (39) is dus deur Malan gepoog. Selfs na die gebruik van verskeie oplosmiddels (byvoorbeeld MeOH) om die gepolariseerde C4–OH binding verder te destabiliseer, en dus die karbokatioon karakter van die elektrofiel verder te verhoog, kon geen positiewe resultate verkry word nie. Verlaagde nukleofiliteit van die dihidroflavonol A–ring weens die elektrononttrekkende effek van die C4–karbonielgroep, verklaar die gebrek aan resultate van hierdie ondersoek. Daar is verder aangevoer dat protonering van die C4–karboniel–groep gereflekteer sal word in 'n verdere verlaging van die nukleofiliteit van die dihidroflavonol (Skema 6).



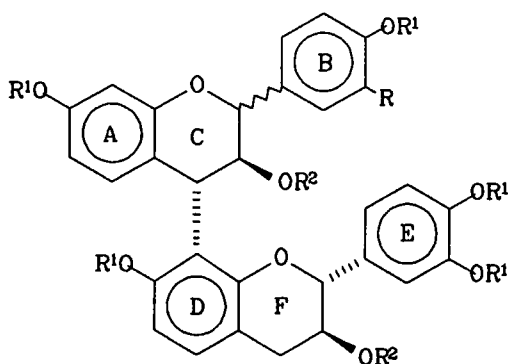
Skema 6

2.5 [4,8]-Gekoppelde *bis*-fisetinidole

Die interflavanielbindingsposisie in alle natuurlike en sintetiese C/D-ring gekoppelde dimeriese profisetinidiene geassosieer met 'n 5-deoksiflavan-3-ol terminale eenheid, is

aanvanklik sonder uitsondering op die 6-C van die resorsinoltipe D-ring aangetref^{9,18}. Hierdie opvallende afwesigheid van [4,8]-gekoppelde analoë in dié groep oligoflavanoïede was in teenstelling met die (-)-fisetinidol-(+)-katesjien profisetinidiene waar die D-ring van die floroglusinoltipe is en beide 6- en 8-C betrokke mag wees by interflavanielbindingsvorming⁹. Die aanvanklike afwesigheid van natuurlike [4,8]-gekoppelde bis-fisetinidole is verklaar in terme van 'n steries meer toeganklike 6-C posisie^{19,27}. Die afwesigheid van enige [4,8]-gekoppelde verbindings tydens die suurgekataliseerde kondensasie van (+)-mollisacacidien met (-)-fisetinidol^{9,28} het egter aangetoon dat dit onwaarskynlik is dat 100% regioselektiwiteit slegs aan 'n verskil in steriese toeganklikheid van die 6 en 8 posisies van (-)-fisetinidol toegeskryf kan word, en dat 'n meer komplekse stereo - elektroniese effek waarskynlik vir hierdie verskynsel verantwoordelik is.

Die eerste natuurlike bis-fisetinidole met 'n unieke [4,8]-interflavanielbinding is onlangs deur Malan *et al* uit *Colophospermum mopane* geïsoleer²⁹.

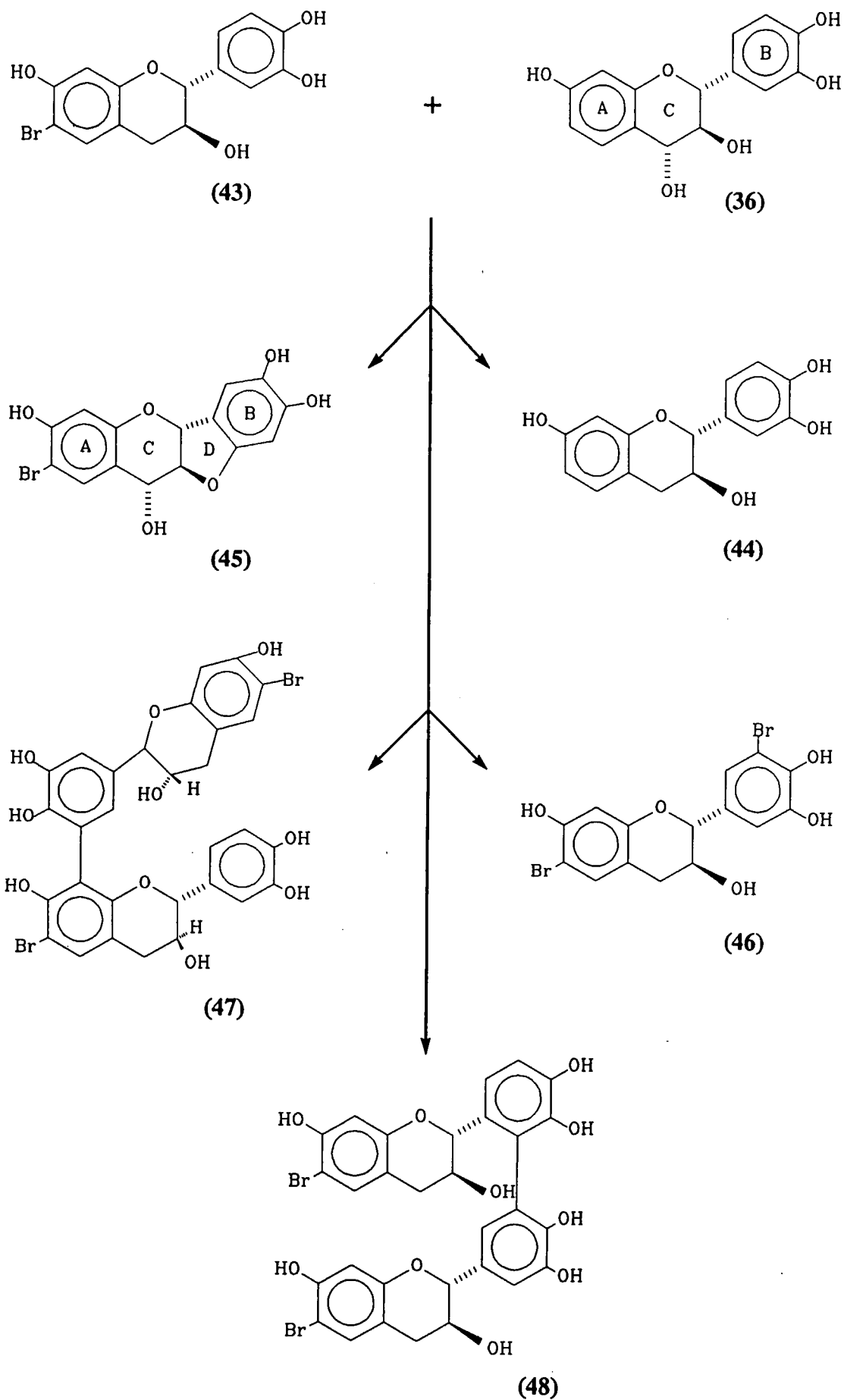


Die ^1H k.m.r. spektra van die metieleterasetaat derivate (40), (41) en (42) vertoon in die aromatiese gebied 'n AB-sisteem sowel as drie ABX-sisteme [2 x ABX-sisteme + 1 x AA'BB' sisteem vir (42)]. 'n Heterosikliese ABX- en ABXY-sisteem word ook waargeneem. Hierdie data korreleer met die teenwoordigheid van twee fisetinidol eenhede wat *via* 4-C (C-ring) en 8-C (D ring) of 2-C (E-ring) gekoppel is. Die [4,8]-interflavanielbinding is egter bevestig deur die waargenome bensiliese koppeling van die lae veld AB-doeplet met 4-CH₂(F). Verdere ondersteunende getuienis is in die chemiese verskuiwing van 3-H(C) (δ 6.12) gevind, wat aanduidend is van 'n 4-gekoppelde flavaniel-eenheid wat by die terminale arielbindingspunt deur twee *orto*-suurstofsubstituente begrens word²⁸.

Identifikasie van die [4,8]-gekoppelde *bis*-fisetinidole het 'n ondersoek, deur Malan³⁰, na 'n geskikte biomimetiese metode vir die sintese van hierdie verbindings genoodsaak. Aangesien die *in vivo* sintese van *bis*-(-)-fisetinidole aanleiding tot regiospesifieke substitusie by 6-C van die (-)-fisetinidol gee^{9,31} was dit nodig om hierdie meer potente nukleofiele posisie te beskerm voor reaksie met 'n flavan-3,4-diol.

Behandeling van 6-bromo-(-)-fisetinidol (43) en (+)-mollisacacidien (36) met 0.1 M HCl by 50°C het egter nie die verwagte koppelingsprodukte, (-)-fisetinidol-(4,8)-6-bromo-(-)-fisetinidol of (-)-fisetinidol-(4,6')-6-bromo-(-)-fisetinidol gelewer nie. Die reaksiemengsel het bestaan uit (-)-fisetinidol (44), die 6-bromo-dihidro-(-)-fisetinidol (45), 5',6-dibromo-(-)-fisetinidol (46), (5',8)-*bis*-6-bromo-(-)-fisetinidol (47) en die (5',5')-*bis*-6-bromo-(-)-fisetinidol (48) [Skema 7].

Die verbindings (44)-(48) [Skema 7] is as die metieleterasetate geïdentifiseer en deur ^1H k.m.r. ont koppelingseksperimente asook massaspektra bevestig.

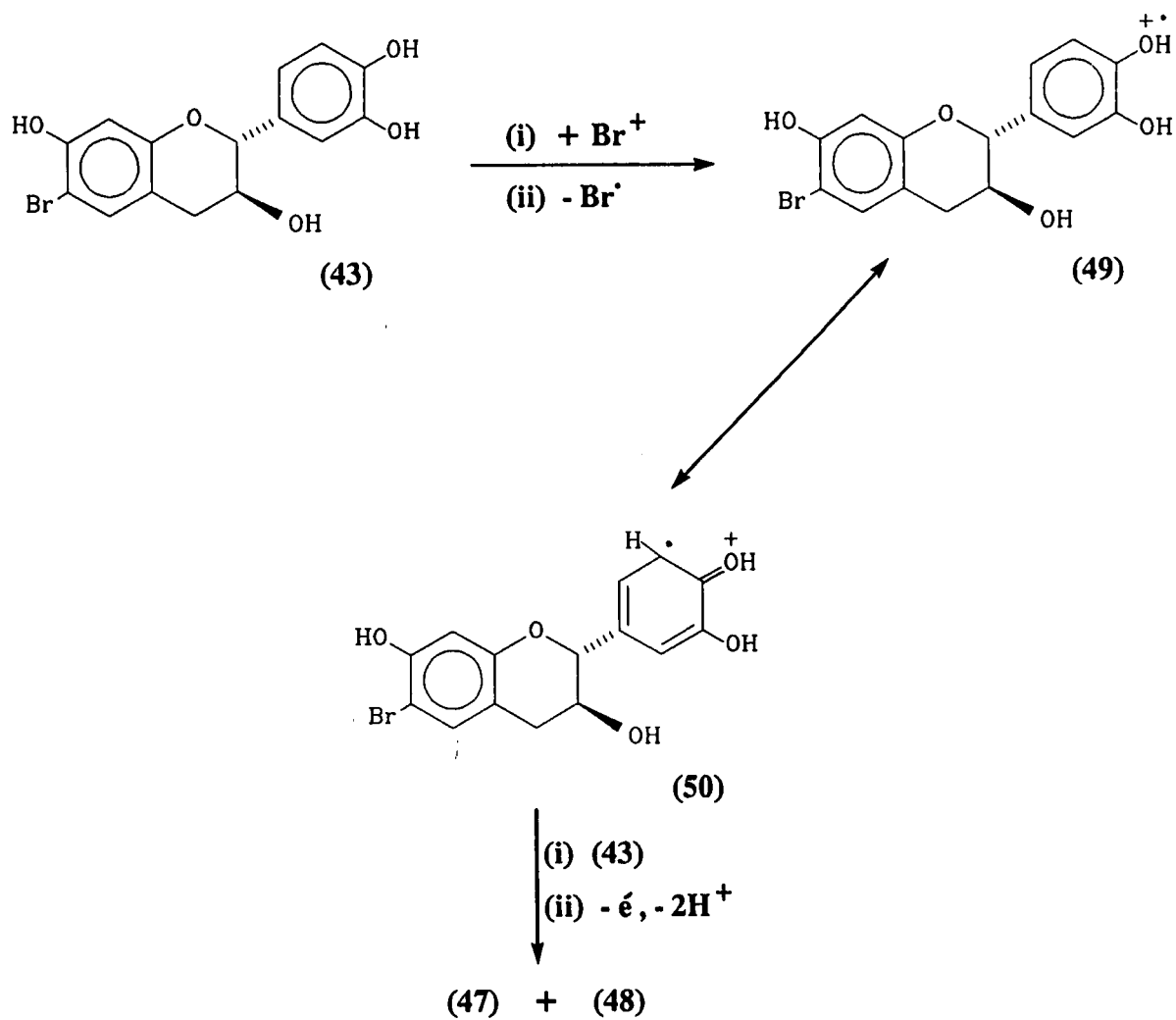


Skema 7

Vorming van (-)-fisetinidol (44) in bogenoemde reaksie dui daarop dat die 5',6-di-bromo-(-)-fisetinidol (46) waarskynlik ontstaan vanuit die 6-bromo-analoog (43) *via* 'n intermolekulêre suurgekataliseerde debrominerings- en 'n herbrominerings-reaksie by 6-C en 'n herbrominerings-reaksie by 5-C(B) soos geïllustreer in die 6-C → 8-C "broomdance" ¹⁹ in 6-bromo-tetra-O-metil-(+)-katesjien. Soortgelyk aan die vorming van dehidro-dikatesjien A in die ensiematiese ³² of fenol-oksidasie ³³ [$K_3Fe(CN)_6$] van (+)-katesjien, ontstaan die 6-bromo-didehidro-(-)-fisetinidol (45) waarskynlik *via* oksidasie van (43) om 'n B-ring *o*-kinoon te lewer gevolg deur 'n 1,4-Michael-addisie van 3-OH(C) en aromatisering.

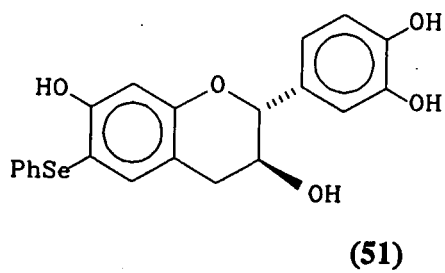
Dieselfde spesie wat oksidasie van die *o*-dihidroksifunksionaliteit in (43) veroorsaak, is waarskynlik verantwoordelik vir die vorming van die bifenieltipe flavanoïede (47) en (48). Hoewel lugoksidasie van 6-bromo-(-)-fisetinidol (43) onder suurtoestande ³⁴ oorsprong kan gee aan die *o*-kinoon is dit egter onwaarskynlik dat suur en lugsuurstof hier as oksideermiddel optree. Geen $C_{(sp^2)}-C_{(sp^2)}$ produkte van tipe (47) is in die reaksie van (-)-fisetinidol en (+)-mollisacacidien onder suurgekataliseerde kondisies ^{9,28} gevind nie. Soortgelyk aan die rol van die nitrosonium-ioon ^{35,36} in die vorming van biariele tydens elektrofiele aromatiese nitring, blyk dit dat die waargenome dimerisering geïnisieer mag word deur 'n bromoniumioon. Aanvanklike elektronoordrag, verkieslik vanaf die elektronryke *O*-dihidroksi-funksionaliteit, lei waarskynlik tot 'n radikaalkatoom van tipe (49) [Skema 8] wat *via* oksidatiewe substitusie by 8-C(A) en 5-C(B) van 6-bromo-(-)-fisetinidol dimeriseer om biflavanoïede (47) en (48) onderskeidelik te lewer.

Hierdie reaksies word waarskynlik deur die teenwoordigheid van suurstof bevorder aangesien die opbrengste van die produkte (45), (47) en (48) aansienlik laer was toe die reaksie onder stikstofatmosfeer herhaal is. Onder neutrale toestande het geen van bogenoemde produkte gevorm nie, wat op die noodsaaklikheid van H^+ in die generering van die bromoniumioon dui.



Skema 8

As verdere poging het Malan³⁰ ook 6-fenielseleniel-(–)-fisetinidol (51) as nukleofiel in 'n suurgekataliseerde kondensasie met (+)-mollisacidiën (36) gebruik.

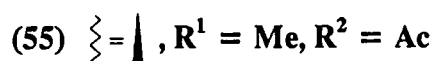
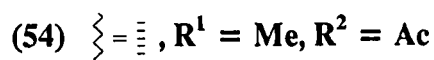
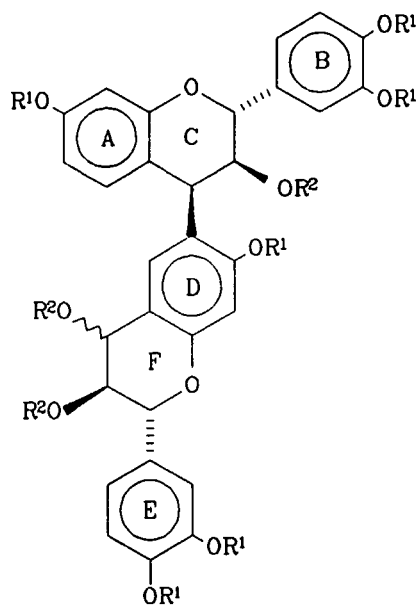
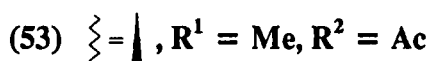
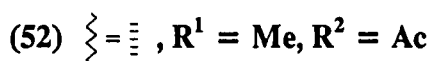
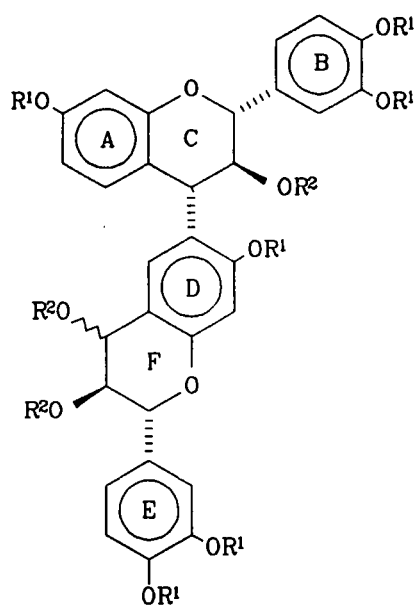


Onder hierdie milde suurtoestande het verlies van die fenielselenogroep vinnig plaasgevind, om (–)-fisetinidol te lewer wat *via* 6–C(A) met die flavan–3,4–diol reaksie ondergaan^{9,28} het. Geen [4,8]–gekoppelde produk kon dus tot sover verkry word nie.

2.6 Biflavanoïede met 'n flavan–3,4–diol as terminale eenheid

Die biomimetiese poel waaruit oligoflavanoïede met 'n $C4_{(sp^3)}-C8/6_{(sp^2)}$ interflavaniël-binding ontstaan, bevat 'n wye verskeidenheid van potensieële nukleofiliese eenhede. Die oorgrote meerderheid van oligoflavanoïede bestaan egter uit 'n flavan–3–ol wat waarskynlik vanaf 'n elektrofiliese flavan–3,4–diol vorm, as herhalende eenheid, en 'n nukleofiliese C4–deoksiflavan–3–ol, met floroglusinol A–ring, as terminale eenheid. Van die mees prominente onder hierdie groepe verbindings is die prosianidiene^{14,37,38} met(+)-katesjien en (–)-epikatesjien samestellende eenhede, die profisetinidiene^{39–41} gebaseer op (–)-fisetinidol en (+)-katesjien, die prorobinetinidiene^{42,43} wat saamgestel is uit (–)-robinetinidol, (+)-katesjien en (+)-gallokatesjien eenhede, asook verskeie ander groepe^{44–47} met beperkte variasie, maar steeds met 'n C4–deoksiflavan–3–ol as terminale eenheid. Voorbeelde waar die terminale eenheid 'n flavan–3,4–diol is, is beperk tot slegs vier dimeriese (52)–(55) en een trimeriese profisetinidien (56) wat deur Viviers *et al* uit die kernhout van *Acacia mearnsii*⁴⁸ geïsoleer is.

Die ¹H KMR spektra van derivate (52), (53), (54) en (55) vertoon drie aromatiiese ABX–sisteme asook twee eenproton aromatiiese singulette. Voorts vertoon die spektra ook drie asetoksi– en ses metoksiresonanse. 'n Spesifieke patroon waargeneem in die heterosikliese gebied van die heksametieletertriasetaat derivate, is sinvol deur Viviers *et al*⁴⁸ aangewend om die voorgestelde strukture te ondersteun. Die 4–H(F)–protone word ontskerm, waarskynlik deur die 4–C(F)–asetoksi, en resoneer as 'n doeblot in die laeveld heterosikliese gebied.



Kenmerkend is dat die kwasi-aksiale 4-H(F)-proton (3',4'-*trans* stereochemie van die F-ring) as 'n verbrede doeblet by laer veld as vir 'n kwasi-ekwatoriale proton (3',4'-*cis* stereochemie van die F-ring) resoneer. In teenstelling hiermee resoneer die aksiale 4-H(C)-proton geassosieer met 'n 3,4-*trans* stereochemie van die C-ring as 'n verbrede doeblet na hoër veld in vergelyking met die kwasi-ekwatoriale proton soos verwag vir 3,4-*cis* C-ring stereochemie.

Die verbreding van die 4-H(C)-proton, geassosieer met 3,4-*trans* stereochemie in vergelyking met 'n 3,4-*cis* stereochemie, is hoofsaaklik aan twee faktore toegeskryf naamlik bensiliese koppeling vanaf 5-H (A-ring), sowel as langafstandkoppeling vanaf die aksiale 2-H(C). Laasgenoemde effek is uiteraard vir die 3,4-*cis* isomeer, waar 4-H(C) aan die teenoorgestelde kant van die vlak van die heterosikliese ring is, minder prominent. Die langafstandkoppeling met 2-H(C) word ook duidelik weerspieël in die verbreding van 2-H(C) by die 3,4-*trans* isomeer in vergelyking met die 3,4-*cis* isomeer. Hierdie oriëntasie wat aanleiding tot die langafstandkoppeling tussen die aksiale 2-H (C-en F-ringe) en die

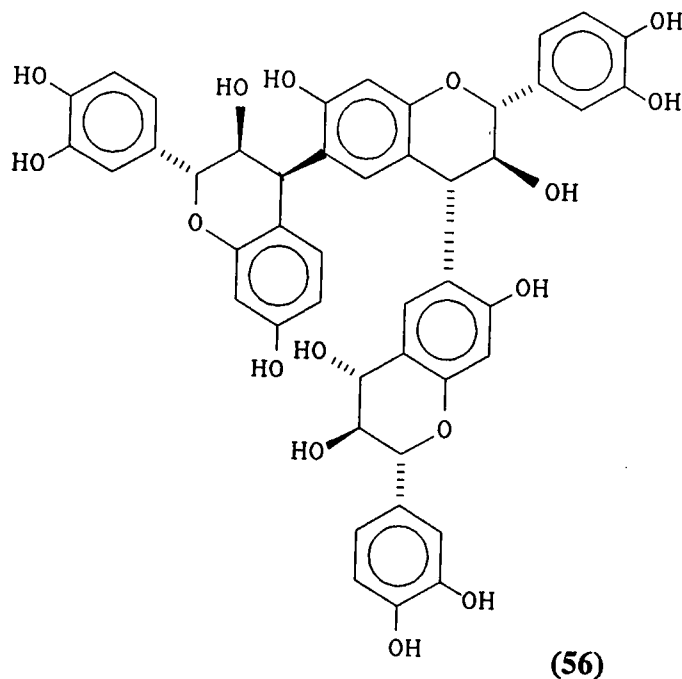
kwasi-aksiale 4-H (C-en F-ringe) in die geval van 3,4-*trans* en 3',4'-*trans* stereochemie gee, mag moontlik die oorsaak wees van die opvallende verskil in chemiese verskuiwing van bogenoemde protone.

Aangesien die beskikbaarheid van hierdie tipe biflavanoïede van kardinale belang is vir die sintese van tetraflavanoïede en hoër oligomere, is die suurgekataliseerde selfkondensasie van (+)-mollisacacidien (36) volledig deur Young⁴⁹ ondersoek. Vroeëre pogings van Botha⁵⁰, Pretorius²⁵ en Van Heerden⁵¹ om selfkondensasie van (+)-mollisacacidien (36) te bewerkstellig, het misluk. Hierdie mislukkings is toegeskryf aan verlaagde nukleofiele karakter van die flavan-3,4-diol A-ring deur deaktivering as gevolg van die 4-oksigenering. Hierdie argument word ondersteun deur die feit dat (-)-fisetinidol onder dieselfde kondisies geredelik koppeling met (+)-mollisacacidien ondergaan⁵⁰.

Met dié ondersoek deur Young⁴⁹ is die invloed van temperatuur en suursterkte op selfkondensasie bepaal. Onder drastiese kondisies (0,5N HCl, 80°C, 5 min) vind kondensasie wel plaas om biflavanoïede (54) [2,3-*trans*-3,4-*cis* : 2,3-*trans*-3,4-*trans*] en (55) [2,3-*trans*-3,4-*cis* : 2,3-*trans*-3,4-*cis*] in baie lae opbrengs te lewer. Omdat slegs die 3,4-*cis* isomere (C-ring) verkry is, is aangeneem dat onder drastiese kondisies die termodinamies meer stabiele produkte vorm. Herhaling onder minder drastiese kondisies (0,1N HCl teen 40°C vir *ca.* 18 uur) het weereens biflavanoïede (54) en (55) gelewer, terwyl die lineêre triflavanoïed (56) ook verkry is.

Hierdie triflavanoïed het waarskynlik ook onder die drastiese toestande gevorm, maar was in 'n te klein hoeveelheid teenwoordig. Met hierdie selfkondensasie reaksie speel beide temperatuur en suursterkte dus 'n belangrike rol. So is daar gevind dat verhitting tot 80°C met 0,1N HCl langer reaksietyd benodig het vir die vorming van oligomere as vir 0,5N HCl

by 80°C. Reaksie by 40°C in 0,5N HCl verloop ook vinniger as met 0,1N HCl. Antosianidienvorming het opmerklik by hoër temperature (80°C) plaasgevind, terwyl dit by 40°C minder prominent was.



As verklarung vir die vorming van slegs die 3,4-*cis* (C-ring) isomere is aangevoer dat die C-4 karbokatioon vanaf die flavan-3,4-diol stadig vorm en dat, alhoewel heterolise voltooi is, die verlatende geprotoneerde hidroksigroep steeds intiem met die karbokatioon geassosieer is, sodat aanval deur die swak nukleofiele spesie van die teenoorgestelde kant plaasvind om inversie tot gevolg te hê. Met die effens verhoogde temperatuur (40°C) is die beweging van die molekule vinniger sodat meer effektiewe botsings per eenheidstyd plaasvind wat veroorsaak dat nukleofiele aanval vinniger op die vormende karbokatioon plaasvind. Die karbokatioon bestaan dus nie lank genoeg vir die verlatende waterenheid om weg te diffundeer nie en dus vind inversie plaas wat ook 'n hoë mate van S_N2 karakter aandui.

Vorming van die 3,4-*trans* (F-ring) triflavanolied (56) kan egter nie deur bostaande argument verklar word nie. Vanaf Dreiding modelle kan gesê word dat dieselfde mate van

steriese verhinderings sou ontstaan tydens vorming van beide *trans* en *cis* isomere en gevolglik kan dit ook nie die verskynsel verklaar nie. Opmerklik is dat al die sintetiese bereide flavanoïede 'n 3,4-*cis* konfigurasie vir die C-ring bevat het. Dit wil dus voorkom asof 'n 3,4-*cis*-konfigurasie van die C-ring verdere kondensasie inhibeer. Hierdie argument kan verder uitgebou word as aanvaar word dat die alles-*trans* biflavanoïed wel vorm, maar verbruik word vir verdere kondensasie. Weens die baie lae opbrengste kan daar egter nie aanvaar word dat enige van die bogenoemde verklarings waterdig is nie.

BESPREKING

HOOFSTUK 3

UNIEKE PROROBINETINIDIENE UIT *ROBINIA PSEUDACACIA*

Inleiding

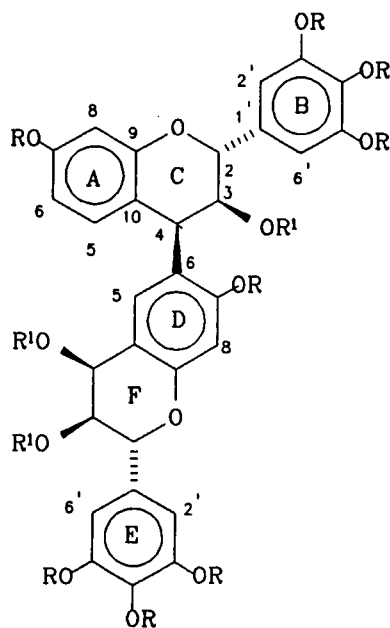
Tydens 'n vroeëre ondersoek met klem op die kernhout van die sprinkaanboom (*Robinia pseudacacia*) het Roux *et al* aangetoon dat (+)-3',4',5',7-tetrahidroksi-flavan-3,4-diol [(+)-leukorobinetinidien] (1) en (+)-3,3',4',5',7-pentahidroksiflavanon [(+)-dihidrobobinetien] (3), tesame met ander monomeriese flavanoïede van die resorsinol A-ring/pirogallol B-ring tipe in die metaboliese poel oorheers. Die afwesigheid van potente nukleofiele in beduidende konsentrasies (sien hoofstuk 1) het die idee laat ontstaan dat dit onwaarskynlik is dat oligomeriese prorobinetinidene betekenisvol in *Robinia pseudacacia* sal figureer. Die welbekende duursaamheid van en weerstand wat die kernhout teen insekte bied, het as stimilus gedien om tydens die huidige studie moderne skeidings- en analitiese metodes aan te wend in 'n herondersoek van die proantosianidene in *Robinia pseudacacia* kernhout. Intensiewe verryking van die kernhoutekstrak het, benewens die bekende monomere, 'n reeks unieke prorobinetinidien biflavanoïede gelewer.

(a) Biflavanoïede met 'n flavan-3,4-diol as terminale entiteit

Die dominante konsentrasie van (+)-leukorobinetinidien tesame met die afwesigheid van enige opsigtelike nukleofiele spesie beklemtoon die waarskynlikheid van selfkondensasie van die flavan-3,4-diol as biogenetiese roete in die kernhout van *Robinia pseudacacia*. Selfkondensasie van flavan-3,4-diole is reeds voorheen gerapporteer met die isolasie van biflavanoïede met terminale 3,4-diol funksionaliteite uit *Acacia mearnsii*⁴⁸ en *A. fasciculifera*⁵². Hierdie seldsame reeks biflavanoïede is tydens die huidige ondersoek aansienlik

uitgebrei met identifikasie van die eerste biflavanoïede met (+)-leukorobinetinidien as terminale eenheid.

3.1 Robinetinidol-(4 β ,6)-robinetinidol-4 β -ol (57)



(57) $R = R^1 = H$

(58) $R = Me, R^1 = Ac$

Die 1H KMR spektrum (KMR-plaat 1, KMR-tabel 1, p 30) van die oktametieleter-triasetaat (58) vertoon in die aromatiese gebied slegs een ABX-sisteem, twee tweeproton singulette asook twee eenproton singulette, terwyl twee AMX-sisteme in die heterosikliese gebied resoneer. Gesamentlik dui hierdie gegewens op 'n biflavanoïed met 'n resorsinol-tipe A-ring, pirogallol-tipe B- en E-ringe, en 'n resorsinol D-ring met 'n 6-C substituent. Die tweede AMX-sisteem in plaas van 'n AMXY-sisteem in die heterosikliese gebied van konvensionele biflavan-3-ol tipe dimere asook die teenwoordigheid van 'n doeblet in die laeveld heterosikliese gebied (δ 6.04, 3.5 Hz) dui op 'n 4-C(F)-asetoksi substituent en bevestig dus die flavan-3,4-diol karakter van die terminale eenheid.

Langafstandkoppeling (${}^4J_{\text{HH}}$) in 'n 2D Cosy eksperiment tussen die laeveld eenproton singulet [δ 6.84] (D-ring) en 4-H(F) sowel as 4-H(C) tesame met swakker maar nietemin beduidende ${}^5J_{\text{HH}}$ koppeling tussen die oorblywende D-ring singulet [δ 6.45] en 4-H(F) ondersteun die voorgestelde 4-C(C) \rightarrow 6-C(D) interflavanielbinding. Bensiliese koppeling (${}^4J_{\text{HH}}$) tussen 2-H(C) en 2'- en 6'-H(B); 4-H(C) en 5-H(A) asook tussen 2-H(F) en 2'- en 6'-H(B) korreleer die aromatiese spinsisteme met die betrokke heterosikliese protone en dien dus as verdere bewys vir die voorgestelde struktuur.

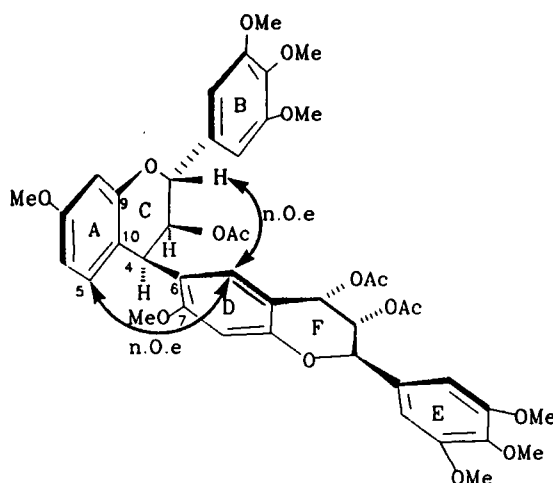
| Ring | H | (58) CDCl ₃ . 296 K |
|------|-----|---|
| A | 5 | 6.73 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.47 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.59 (d, 2.5) |
| B | 2/6 | 6.56 (s) |
| | 6 | — |
| C | 2 | 5.20 (d, 6.0) |
| | 3 | 5.53 (dd, 4.5, 6.0) |
| | 4 | 4.70 (d, 4.50) |
| D | 5 | 6.84 (s) |
| | 6 | — |
| | 8 | 6.45 (s) |
| E | 2/6 | 6.64 (s) |
| | 6 | — |
| F | 2 | 5.15 (d, 10.5) |
| | 3 | 5.45 (dd, 3.5, 10.5) |
| | 4 | 6.04 (d3.5) |
| OMe | | 3.71, 3.78 (x2), 3.80, 3.82, 3.84, 3.86 (x2), (elk s) |
| OAc | | 1.82, 1.83, 2.09 (elk s) |

KMR - tabel 1

Die heterosikliese koppelingskonstantes ($J_{2,3} = 6.0$ en 10.5 Hz, $J_{3,4} = 4.5$ en 3.5 Hz vir die C- en F-ringe onderskeidelik) is in ooreenstemming met *trans-cis* stereochemie van beide C- en F-ringe. Hoewel veral die C-ring abnormale klein koppelingskonstantes vir *trans-cis* stereochemie vertoon, is die 2,4-*trans* verwantskap tussen die B- en D-ringe ondubbelsinnig bevestig deur n.O.e assosiasie tussen 2-H(C) en 5-H(D).

Aangesien die n.O.e. assosiasie tussen 2-H(C) en 5-H(D) heelwat meer beduidend is (6.8%) as dié van 4-H(C) met 2'- en 6'-H(B) (1.2%) is dit duidelik dat hoewel A-konformasies 'n bydrae lewer tot die konformasionele ewewig van die C-ring, die E-konformeer beduidend domineer. Sodanige waarneming is in ooreenstemming met (-)-fisetinidol-4 β -resorsinol modelverbindings waar A-konformasies minder prominent is as by (-)-fisetinidol-4 β -floroglusinol analoë⁵³. Die relatief klein heterosikliese koppelingskonstantes in die geval van die C-ring is dus meer waarskynlik die gevolg van 'n versterkte ringkonformasie (sofa in plaas van halfstoel) as wat dit die oorsaak is van groot bydraes deur A-konformere.

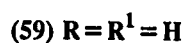
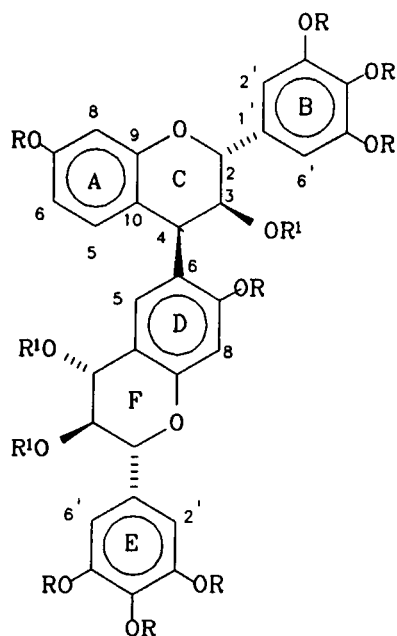
Die beduidende n.O.e. assosiasie van 5-H(D) met 2-H(C) en 5-H(A) tesame met die afwesigheid van enige n.O.e. van 7-OMe (D) met laasgenoemde twee protone suggereer 'n voorkeuroriëntasie om die interflavanielbinding sodanig dat die 10-C(A), 4-C(C), 6-C(D), 7-C(D) dihedriese hoek 'n waarde van $\pm 90^\circ$ [Figuur 1] aanneem. Betekenisvolle voorkeur vir 'n spesifieke oriëntasie om die interflavanielbinding kan moontlik die afwesigheid van seinverdubbeling, soos waargeneem in die ¹H k.m.r. spektrum van (58) [KMR-plaat 1], verklaar.



Figuur 1: Voorstelling van voorkeurorientasie om die interflavanielbinding by dimeer (58).

Viviers *et al*⁴⁸ het aangetoon dat die absolute stereochemie by die dubbel bensiliese posisie [4-C(C)] die teken van die Cotton effek bepaal indien die verwagte effek by 4-C(C) en 4-C(F) in 'n biflavanoïed met terminale flavan-3,4-diol funksionaliteit opponerend sou wees volgens die aromatiese kwadrantreeël. Die intense positiewe Cotton effek by 241 nm [SD-plaat 1] is egter in die geval van (58) in ooreenstemming met die voorgestelde struktuur waar die effekte versterkend optree (sien latere bespreking). Die absolute stereochemie van (58) volg dus as 2*R*, 3*S*, 4*S* : 2*R*, 3*S*, 4*S*.

'n Massaspektrometriese fragmentasiespektrum [MS-skema 1, MS-tabel 1] van biflavanoïed (58) vertoon asynsuurverlies ($M^+ - 60$; 772; 27%) gevolg deur die verlies van 'n asetoksiradikaal ($M^+ - 119$; 713; 42%) en 'n daaropvolgende asynsuurverlies ($M^+ - 179$; 653; 4.2%). RDA-fragmentasie van die boonste sowel as die terminale eenheid lewer in beide gevalle die kenmerkende m/z 252 fragment wat die substitusie van die onderskeie eenhede se B-ringe bevestig. Horisontale splyting lewer 'n verdere bevestiging van die struktuur naamlik fragmente 387 (58%) vir die robinetinidol gedeelte en 445 (2.4%) vir die (+)-leukorobinetinidien moïeteit.

3.2 Robinetinidol-(4 β ,6)-robinetinidol-4 α -ol (59)

Benewens 'n verskil in die grootte van die koppelingskonstantes van een van die heterosikliese AMX-sisteme, $J_{2,3} = 10.5$ Hz en $J_{3,4} = 3.5$ Hz vir die F-ring van (58) in teenstelling met $J_{2,3} = 10.0$ Hz en $J_{3,4} = 8.0$ Hz vir verbinding (60), is die inligting in die 1H k.m.r. spektrum van die oktameteleertriasetaat (60) [KMR-plaat 2, KMR-tabel 2, p 34] identies aan dié vir die robinetinidol-(4 β ,6)-robinetinidol-4 β -ol (58). Soos in die geval van verbinding (58) is onderskeid tussen die C- en F-ring heterosikliese sisteme gebaseer op die $^4J_{HH}$ bensiliese koppeling wat in 'n 2D Cosy eksperiment waargeneem word tussen 5-H(A) (δ 6.85, $J = 8.5$ Hz) en 4-H(C) en tussen 5-H(D) [δ 7.21, $J = \sim 1$ Hz] en 4-H(F) sowel as 4-H(C). Die relatiewe ontskerming van 4-H(F) [δ 6.54] is, soos voorheen, in ooreenstemming met 'n 4-(F) asetoksisubstituent, terwyl n.o.e. assosiasie tussen 7-OMe (D) en 8-H(D) die toesegging van 5- en 8-H(D) gebaseer op langafstandkoppeling in 'n 2D Cosy eksperiment bevestig.

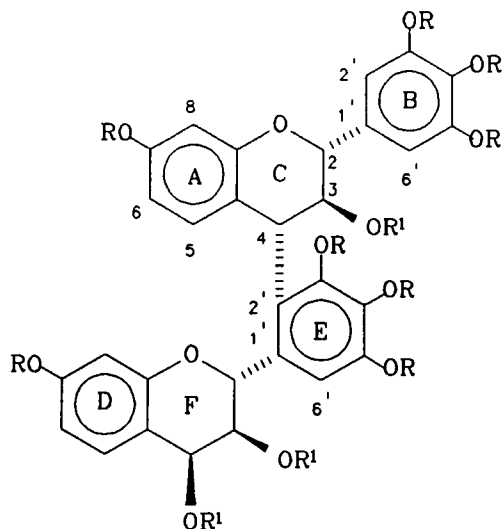
Analoog aan verbinding (58) dui sterk n.O.e. assosiasie tussen 5-H(D) en 2-H(C) (3.3%) tesame met swakker assosiasie tussen 2',6'-H(B) en 4-H(C) (1.1%) nie net op 'n voorkeur E-konformasie van die C-ring nie, maar bevestig dit ook die voorgestelde *trans* oriëntasie van die B- en D-ringe. Die sterk n.O.e. assosiasie van 5-H(D) met 2-H(C) in samehang met die afwesigheid van 'n n.O.e. effek tussen laasgenoemde resonans en 7-OMe (D), dui waarskynlik op 'n voorkeuriëntasie om die interflavanielbinding (sien, voorafgaande bespreking) en kan die afwesigheid van seinduplisering in die ¹H k.m.r. spektrum van verbinding (60) verklaar.

| Ring | H | (60) C ₆ D ₆ , 296 K |
|------|-----|---|
| A | 5 | 6.85 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.50 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.83 (d, 2.5) |
| B | 2/6 | 6.79 (s) |
| | 6 | — |
| C | 2 | 5.60 (d, 7.0) |
| | 3 | 6.04 (dd, 5.0, 7.0) |
| | 4 | 5.21 (d, 5.0) |
| D | 5 | 7.21 (s) |
| | 6 | — |
| | 8 | 6.42 (s) |
| E | 2/6 | 6.68 (s) |
| | 6 | — |
| F | 2 | 4.67 (d, 10.0) |
| | 3 | 5.95 (dd, 8.0, 10.0) |
| | 4 | 6.54 (d, 8.0) |
| OMe | | 3.13, 3.27, 3.30 (x2), 3.44 (x2), 3.80, 3.81, (elk s) |
| OAc | | 1.43, 1.67, 1.71 (elk s) |

KMR - tabel 2

Volgens die aromatiese kwadrantreeël sal die verwagte Cotton effekte by 4-C(C) en 4-C(F) opponerend wees, maar aangesien die Cotton-effek by 4-C(C) die dominante bydrae lewer (sien voorafgaande bespreking) is die intensiteit van die positiewe Cotton effek wat die SD-spektrum van verbinding (60) [SD-Plaat 2] in die 240 nm gebied toon minder intens as wat vir isomeer (58), waar die verwagte Cotton effekte by 4-(C) en 4-C(F) versterkend is, waargeneem is. Uit die heterosikliese koppelingskonstantes asook die positiewe Cotton effek by 240 nm volg die absolute stereochemie van verbinding (60) as 2*R*, 3*S*, 4*S* : 2*R*, 3*S*, 4*R*.

Die massaspektrum van verbinding (60) (MS-skema 1, MS-tabel 1) bevestig die M^+ -ioon en toon ook die kenmerkende m/z 252 fragment (wat die substitusiepatroon van die B- en E-ringe bevestig) wat volg uit RDA-fragmentasie van die boonste asook terminale eenhede. Analooq aan isomeer (58) is die fragmente m/z 772, 713 en 653, wat volg uit asynsuurverlies en die verlies van 'n asetoksiradikaal, prominent. Die fragmente m/z 387, wat die robinetinidol gedeelte bevestig, en m/z 445, wat die leukorobinetinidien moïeteit verteenwoordig, volg uit horisontale splyting en lewer verdere bevestiging vir die struktuur van (60).

3.3 Robinetinidol-(4 α ,2')-robinetinidol-4 β -ol (61)(61) $R = R^1 = H$ (62) $R = Me, R^1 = Ac$

Die aromatiese resonanse naamlik twee ABX-sisteme, 'n eenproton singulet en 'n tweeproton singulet, word in die 1H k.m.r. spektrum van verbinding (62) [KMR-plaat 3, KMR-tabel 3, p 38] deur twee heterosikliese AMX-sisteme asook agt metoksi- en drie asetoksiseine vergesel. Gesamentlik dui hierdie gegewens op 'n biflavanoïed met 'n terminale flavan-3,4-diol eenheid en 'n C- \rightarrow E-ring koppelingswyse.

Differensiasie tussen die ABC en DEF eenhede is gebaseer op 'n 2D Cosy eksperiment wat benewens die $^4J_{HH}$ bensiliese koppeling van 4-H(C) en 4-H(F) met onderskeidelik 5-H(A) en 5-H(D) ook koppeling van 2-H(C) met 'n tweeproton singulet en van 2-H(F) met 'n eenproton singulet toon. Die teenwoordigheid van 'n 4-C(F)-asetoksisubstituent word duidelik weerspieël in die ontskerming van 4-H(F) (δ 6.28) en 5-H(D) (δ 7.20) relatief tot 4-H(C) (δ 4.68) en 5-H(A) (δ 6.90).

Die grootte van die heterosikliese koppelingskonstantes is in ooreenstemming met *trans-trans* [$J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz] en *trans-cis* [$J_{2,3} = 10.5$ Hz; $J_{3,4} = 3.5$ Hz] relatiewe stereochemie van die C- en F-ringe onderskeidelik.

Ondubbelsinnige bevestiging vir die voorgestelde 4-C(C) → 2-C(E) interflavanielbinding volg uit duidelike n.O.e. assosiasie van 3-OMe(E) met 5-H(A) en 3-H(C). Die afwesigheid van sterk n.O.e. assosiasie tussen 3-OMe(E) en 4-H(C) is waarskynlik die gevolg van 'n voorkeuriëntasie om die interflavanielbinding (sien latere bespreking).

In teenstelling met analoë (58) en (60), waar die terminale flavan-3,4-diol deur die A-ring gekoppel is en waar een oriëntasie om die interflavanielbinding oorheers, toon die ¹H k.m.r. spektrum van (62) volledige seinduplisering as gevolg van dinamiese rotasie-isomerie by kamertemperatuur [KMR-plaat 3]. Op 'n soortgelyke wyse as vir die dominante rotameer is volledige seintoesegging van die mindere rotameer met behulp van 'n Cosy eksperiment uitgevoer [KMR-plaat 3, KMR-tabel 3, p 38]. N.O.e. assosiasie van 3-OMe(E) met 3-H(C) in die hoofrotameer en van 3-OMe(E) met 4-H(C) in die mindere rotameer karakteriseer die voorkeuriëntasie (rotameerverhouding *ca* 70:30) om die interflavanielbinding as sodanig dat die 10-C(A), 4-C(C), 2-C(E), 3-C(E) dihedriese hoek 'n waarde van ongeveer +90° aanneem (sien bespreking 3.1).

Alhoewel die stereochemie by 4-C(C) en 4-C(F) opponerend is word aanvaar dat, soortgelyk aan analoë (58) en (60) die Cotton effek hoofsaaklik deur die absolute stereochemie by 4-C(C) bepaal word. Die sterk negatiewe Cotton effek by 242 nm [SD-Plaat 3] in die geval van verbinding (62) dui op 'n 4 α -oriëntasie en dus *R* absolute konfigurasie by C4. Indien aanvaar word dat selfkondensasie van die flavan-3,4-diol biogeneties oorsprong gee aan dimeer (62), behoort die boonste- en terminale eenhede dieselfde 2,3 absolute stereochemie te toon. In samehang met die heterosikliese koppelingskonstantes en die sterk

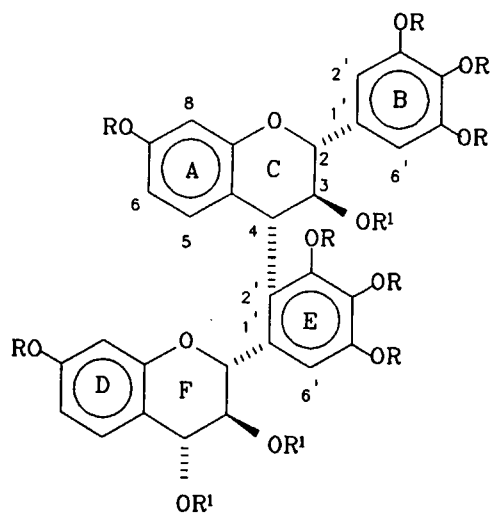
| Ring | H | (62) CDCl ₃ . 296 K | (62)* CDCl ₃ . 296 K |
|------|-----|---|---|
| A | 5 | 6.90 (d, 8.5) | 6.57 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.48 (dd, 2.5, 8.5) | 6.41 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.55 (d, 2.5) | 6.47 (d, 2.5) |
| B | 2/6 | 6.71 (s) | 6.54 (s) |
| | 6 | – | – |
| C | 2 | 4.83 (d, 9.5) | 4.87 (d, 9.5) |
| | 3 | 6.05 (t, 9.5) | 5.96 (t, 9.5) |
| | 4 | 4.68 (d, 9.5) | 5.25 (d, 9.5) |
| D | 5 | 7.20 (d, 8.5) | 7.06 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.55 (dd, 2.5, 8.5) | 6.50 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.36 (d, 2.5) | 6.62 (d, 2.5) |
| E | 2/6 | – | – |
| | 6 | 6.56 (s) | 6.78 (s) |
| F | 2 | 5.73 (d, 10.5) | 5.20 (d, 10.5) |
| | 3 | 5.92 (dd, 3.5, 10.5) | 5.69 (dd, 3.5, 10.5) |
| | 4 | 6.28 (d, 3.5) | 6.04 (d, 3.5) |
| OMe | | 3.23 (3-E), 3.69 (5-E), 3.72 (7-D), 3.74 (7-A), 3.82 (4-B), 3.87 (3, 5-B) (elk s) | 3.67 (7-D), 3.68 (7-A), 3.76 (3, 5-B), 3.79 (5-E), 3.80 (4-B), 3.94 (3-E) (elk s) |
| OAc | | 1.70, 1.92, 2.09 (elk s) | 1.69, 1.77, 1.84 (elk s) |

* Seine van mindere rotameer

negatiewe Cotton effek by 242 nm volg die absolute stereochemie van (62) dus as $2R, 3S, 4R : 2R, 3S, 4S$.

Die massaspektrum van (62) [MS-Skema 2, MS-Tabel 2] vertoon weer die m/z 387 en 445 fragmente wat volg uit horisontale splyting asook m/z 772, 713 en 653 fragmente wat deur asynsuurverlies en die verlies van 'n asetoksiradikaal gerasionaliseer word. RDA-fragmentasie van die boonste eenheid lewer die m/z 252 fragment wat as bevestiging vir die B-ring substitusiepatroon dien.

3.4 Robinetinidol-($4\alpha, 2'$)-robinetinidol- 4α -ol (63)



(63) $R = R^1 = H$

(64) $R = Me, R^1 = Ac$

Soos in die geval van dimere (58) en (60), toon 'n vergelyking van die 1H k.m.r. spektrum van die oktametieletertriasetaat (64) [KMR-plaat 4, KMR-tabel 4, p 41] met dié van robinetinidol-($4\alpha, 2'$)-robinetinidol- 4β -ol (62) [KMR-plaat 3, KMR-tabel 3, p 38] slegs 'n verskil in die grootte van die koppelingskonstantes vir een van die heterosikliese

AMX-sisteme. By hierdie AMX-sisteem is die koppelingskonstantes [$J_{2,3} = 10.0$ Hz en $J_{3,4} = 7.5$ Hz] aanduidend van alles *trans* relatiewe stereochemie in teenstelling met *trans-cis* stereochemie [$J_{2,3} = 10.5$ Hz en $J_{3,4} = 3.5$ Hz] by die F-ring van verbinding (62). Soortgelyk aan (62) is onderskeid tussen die C- en F-ring heterosikliese sisteme gebaseer op die $^4J_{HH}$ bensiliese koppeling van 4-H(C) en 4-H(F) met onderskeidelik 5-H(A) en 5-H(D) asook koppeling van 2-H(C) met 'n tweeproton singulet en van 2-H(F) met 'n eenproton singulet. Die teenwoordigheid van 'n 4-(F) asetoksisubstituent word verder weerspieël in die ontskerming van 4-H(F) (δ 6.31) en 5-H(D) (δ 7.08) relatief tot 4-H(C) (δ 4.55) en 5-H(A) (δ 6.82).

Analoog aan verbinding (62) vertoon die 1H k.m.r. spektrum van (64) volledige seinduplisering as gevolg van dinamiese rotasie-isomerie by kamertemperatuur. In die 1H k.m.r. spektrum in $CDCl_3$ [KMR-plaat 4, KMR-tabel 4, p 41] is volledige seintoeseegging van die mindere rotameer nie moontlik nie, maar in $(CD_3)_2SO$ [KMR-plaat 5, KMR-tabel 4, p 41] was toeseegging wel op soortgelyke wyse as vir die dominante rotameer uit 'n Cosy eksperiment moontlik. N.O.e. assosiasie (in $CDCl_3$) van 3-OMe(E) met 3-H(C) in die hoofrotameer en van 3-OMe(E) met 4-H(C) in die mindere rotameer karakteriseer, analoog aan dimere (58) en (60), die voorkeuroriëntasie (rotameer-verhouding *ca* 80:20) om die interflavanielbinding as sodanig dat die 10-C(A); 4-C(C); 2-C(E); 3-C(E) dihedriese hoek 'n waarde van ongeveer $+90^\circ$ aanneem (sien bespreking 3.1).

| Ring | H | (64) CDCl ₃ . 296 K | (64) (CD ₃) ₂ SO. 296 K | (64)* (CD ₃) ₂ SO. 296 K |
|------|-----|--|--|---|
| A | 5 | 6.82 (d, 8.5) | 6.74 (d, 8.5) | 6.49– 6.54 |
| | 6 | 6.46 (dd, 2.5, 8.5) | 6.53 (dd, 2.5, 8.5) | |
| | 8 | 6.55 (d, 2.5) | 6.52 (d, 2.5) | |
| B | 2/6 | 6.70 (s) | 6.71 (s) | 6.49 (s) |
| | 6 | – | – | – |
| C | 2 | 4.78 (d, 9.5) | 4.93 (d, 9.5) | 4.95 (d, 9.5) |
| | 3 | 5.98 (t, 9.5) | 5.84 (t, 9.5) | 5.57 (t, 9.5) |
| | 4 | 4.55 (d, 9.5) | 4.71 (d, 9.5) | 5.13 (d, 9.5) |
| D | 5 | 7.08 (d, 8.5) | 7.13 (d, 8.5) | 7.01 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.58 (dd, 2.5, 8.5) | 6.63 (dd, 2.5, 8.5) | 6.61 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.37 (d, 2.5) | 6.36 (d, 2.5) | 6.41 (d, 2.5) |
| E | 2/6 | – | – | – |
| | 6 | 6.69 (s) | 6.74 (s) | 6.88 (s) |
| F | 2 | 5.54 (d, 10.0) | 5.72 (d, 10.0) | 4.86 (d, 10.0) |
| | 3 | 5.95 (dd, 7.5, 10.0) | 5.85 (dd, 7.5, 10.0) | 5.61 (dd, 7.5, 10.0) |
| | 4 | 6.31 (d, 7.5) | 6.26 (d, 7.5) | 5.48 (d, 7.5) |
| OMe | | 3.23, 3.73, 3.74, 3.77 (x2), 3.82, 3.87 (x2) (elk s) | | |
| OAc | | 1.71, 1.86, 2.08 (elk s) | | |

* Seine van mindere rotameer

Die meer intense negatiewe Cotton-effek by 240 nm van verbinding (64) [SD-Plaat 4] in vergelyking met dié van (62) [SD-Plaat 3] korreleer met dieselfde absolute stereochemie wat nou by C-4 en F-4 voorkom en versterkend behoort te wees (sien voorafgaande bespreking). As aanvaar word dat dieselfde 2,3 absolute stereochemie deur die boonste sowel as terminale eenhede vertoon word as gevolg van selfkondensaie van die diol, dui die sterk negatiewe Cotton effek tesame met die heterosikliese koppelingskonstantes op 2*R*; 3*S*; 4*R*: 2*R*; 3*S*; 4*R* absolute stereochemie vir verbinding (64).

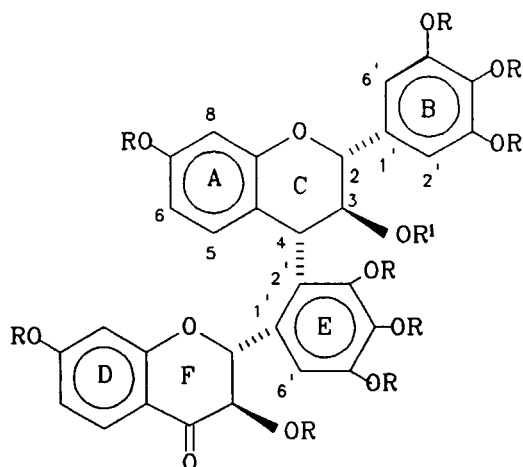
Identiese massa fragmente aan dié van isomeer (62) word in die massaspektrum van (64) [MS-Skema 2, MS-Tabel 2] waargeneem en dien dus as verdere bevestiging vir die voorgestelde struktuur van (64).

Die seldsame groep B-ring gekoppelde oligomere^{23,29} is dus tydens hierdie ondersoek uitgebrei deur isolasie van twee verdere unieke biflavanoïede (62) en (64) waar die terminale eenhede bestaan uit 'n flavan-3,4-diol wat deur die B-ring gekoppel is.

(b) Biflavanoïede met 'n dihidroflavonol as terminale entiteit

Die eerste natuurlike profisetinidiene met 'n dihidroflavonol as terminale flavaniel eenheid is deur Malan *et al*²³ geïdentifiseer tydens die isolasie van sulke biflavanoïede gebaseer op (+)-taksifolien [(2*R*,3*R*)-2,3-*trans*-3',4',5,7-tetrahidroksidihidroflavonol] en (+)-ampelopsien (39), uit die kernhout van *Burkea africana*. Hierdie unieke reeks biflavanoïede is tydens die huidige ondersoek aansienlik uitgebrei met die isolasie van die eerste biflavanoïede met (+)-dihidrorobinetien as terminale eenheid.

3.5 Robinetinidol-(4 α ,2')-(+)-dihidrorobinetien (65)



(65) $R = R^1 = H$

(66) $R = Me, R^1 = Ac$

Die robinetinidol-(4 α ,2')-(+)-dihidrorobinetien dimeer (65) is as die vryfenol [KMR-plaat 7, KMR-tabel 5, p 45] geïsoleer en gekarakteriseer. Aangesien die metoksisiese as geskikte verwysingsresonanse gebruik word tydens opklaring van 1H k.m.r. spektra, is die nonametieseleterasetaat (66) berei om bevestiging van die struktuur deur toepaslike n.O.e. eksperimente moontlik te maak. Vanweë die isolasie van die vryfenol (65) is dit duidelik dat 3-OMe(F) ontstaan na diasometaan metilering van 3-OH(F) [α t.o.v. karbonielfunksionaliteit].

Die een asetoksi- en negte metoksiresonanse in die 1H k.m.r. spektrum van verbinding (66) [KMR-plaat 6, KMR-tabel 5, p 45] word in die arometiese gebied vergesel deur twee ABX-sisteme, 'n tweeproton singulet en 'n eenproton singulet asook 'n enkele AMX-sisteem en 'n AB-sisteem in die heterosikliese gebied. Die teenwoordigheid van slegs vyf heterosikliese protone asook die kenmerkende AB-sisteem ($\delta = 4.37$ en 5.74 ; $J = 9.5$ Hz) dui op die teenwoordigheid van 'n dihidroflavonol eenheid. Hierdie 1H k.m.r. gegewens is in ooreenstemming met 'n biflavanoïed met resorsinoltipe A- en D-ringe, pirogalloltipe B- en E-ringe en 'n 4-C(C) \rightarrow 2-C(E) interflavanielbinding.

Langafstandkoppeling (${}^4J_{\text{HH}}$) in 'n 2D Cosy spektrum tussen die aromatiese tweeproton singulet [2',6'-H(B)] en 2-H(C), 5-H(A) en 4-H(C) asook tussen 6'-H(E) en 2-H(F) korreleer die onderskeie aromatiese spinsisteme met die betrokke heterosikliese protone en bevestig die toeseggings vir 2-H(C), 4-H(C), 2-H(F) en 3-H(F) onderskeidelik. Die plasing van die oorblywende ABX-sisteem met behulp van langafstandkoppeling is onmoontlik. Die teenwoordigheid van 'n AB-sisteem [J 9.5 Hz] in die heterosikliese gebied bevestig die dihidroflavonol eenheid en gevolglik maak die opvallende ontskerming (δ 7.86) van 5-H(D) [β ten opsigte van die karbonielfunksionaliteit], wat tiperend van dihidroflavanele is, die ondubbelsinnige plasing van die D-ring ABX-sisteem moontlik.

Die heterosikliese koppelingskonstantes [$J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz (C-ring); $J_{2,3} = 9.5$ Hz (F-ring)] dui op alles *trans* relatiewe stereochemie vir beide C en F-ringe. Die 2,4-*cis* oriëntasie van die C-ring substituentte word bevestig deur n.O.e. assosiasie tussen 2-H(C) en 4-H(C).

Opmerklik in die ${}^1\text{H}$ k.m.r. spektrum van (66) is die afwesigheid van enige seinverdubbeling en dus rotasie-isomerie op die k.m.r. tydskaal. Aanvanklike analise met Dreiding modelle toon aan dat vryrotasie om die interflavanielbinding redelik gemaklik behoort plaas te vind. Die getuienis verkry uit 'n omvattende ${}^1\text{H}$ k.m.r. studie (n.O.e.) is egter, soos in die geval van verbindings (58) en (60), meer in ooreenstemming met 'n voorkeur vir 'n spesifieke konformasie as met vryrotasie om die interflavanielbinding.

Duidelike n.O.e. assosiasie van 3-OMe(E) met slegs 3-H(C) maar nie met 4-H(C) nie, dui op 'n voorkeuroriëntasie om die interflavanielbinding sodanig dat die 10-C(A), 4-C(C), 2-C(E), 3-C(E) dihedriese hoek 'n waarde van *ca* 90° aanneem (Figuur 2). Verdere bevestiging vir die voorgestelde konformasie volg uit n.O.e. assosiasie van 3-H(F) met slegs 4-H(C) en nie met 3-H(C) soos wat verwag sou word indien rotasie om die

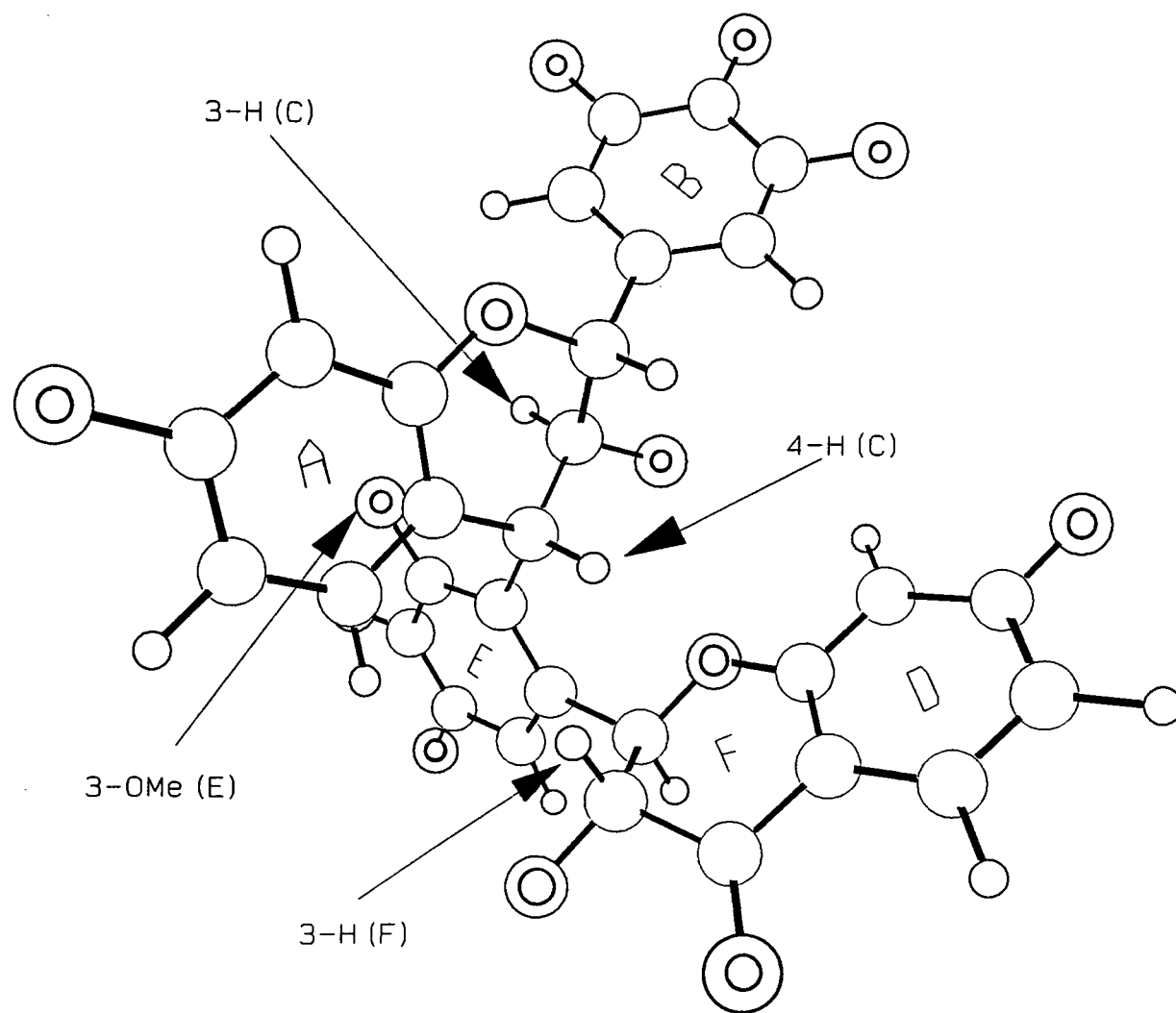
| Ring | H | (65) (CD ₃) ₂ CO, 296 K | (66) CDCl ₃ , 296 K |
|------|-----|--|---|
| A | 5 | 6.69 (d, 8.0) | 6.78 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.26 (dd, 2.5, 8.0) | 6.44 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.33 (d, 2.5) | 6.55 (d, 2.5) |
| B | 2/6 | 6.53 (s) | 6.68 (s) |
| | 6 | — | — |
| C | 2 | 4.45 (d, 9.5) | 4.79 (d, 9.5) |
| | 3 | 4.63 (t, 9.5) | 6.02 (t, 9.5) |
| | 4 | 4.46 (d, 9.5) | 4.60 (d, 9.5) |
| D | 5 | 7.72 (d, 8.5) | 7.86 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.60 (dd, 2.5, 8.5) | 6.63 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.33 (d, 2.5) | 6.34 (d, 2.5) |
| E | 2/6 | — | — |
| | 6 | 6.88 (s) | 6.66 (s) |
| F | 2 | 4.65 (d, 11.5) | 4.37 (d, 9.5) |
| | 3 | 5.69 (d, 11.5) | 5.74 (d, 9.5) |
| | 4 | — | — |
| OMe | | — | 3.23(3-E), 3.61(3-F), 3.74 (7-A), 3.76(7-D), 3.78(4-E), 3.81(4-B), 3.83(5-E), 3.86(x2)(3,5-B) (elk s) |
| OAc | | — | 1.66 (s) |

KMR - tabel 5

interflavanielbinding vrylik, relatief tot die k.m.r. tydskaal, sou plaasvind nie. Die feit dat 2-H(F) slegs assosiasie met 6'-H(E) toon en dat opvallend geen n.O.e. tussen eersgenoemde proton en die heterosikliese protone van die "boonste" eenheid waargeneem is nie, is waarskynlik die gevolg van 'n oriëntasie om die 1-C(E), 2-C(F) binding sodanig dat die afstotende interaksie tussen die lywige 3-OAc(C) en 3-OMe(F) groepe geminimiseer word (Figuur 2).

Tydens 'n onlangse ^1H k.m.r. studie van voorkeuroriëntasies om die interflavanielbinding van profisetinidien dimere⁵⁵ is bevind dat voorspellings gegrond op eenvoudige stereochemiese analise met behulp van Dreiding modelle selde akkuraat blyk te wees. Meer komplekse kragte soos π - π en π -alkiel interaksies⁵⁶ asook 'n delikate wisselwerking tussen die oplosmiddel en die "blootgestelde" oppervlak van die tannien molekule speel waarskynlik 'n beduidende rol in die bepaling van voorkeur konformere by flavanoïede. Die beduidende skerming van 3-OMe(E) (δ 3.23) [KMR-plaat 6] dien nie net as verdere getuienis vir die voorgestelde konformasie van (66) nie (Figuur 2), maar dui ook op die moontlike bestaan van 'n aantrekkende π -alkiel interaksie tussen dié metoksigrp en die A-ring.

Die afwesigheid van seinverdubbeling in die ^1H k.m.r. spektrum van (66) [KMR-plaat 6] is dus nie soseer as gevolg van vryrotasie om die interflavanielbinding nie, maar kan volgens duidelike n.O.e. getuienis toegeskryf word aan 'n aspek wat dikwels oor die hoof gesien word in die konformasionele analise van flavanoïede naamlik beduidende voorkeur vir 'n spesifieke oriëntasie selfs in gevalle waar rotasie om die interflavanielbinding gemaklik behoort plaas te vind.



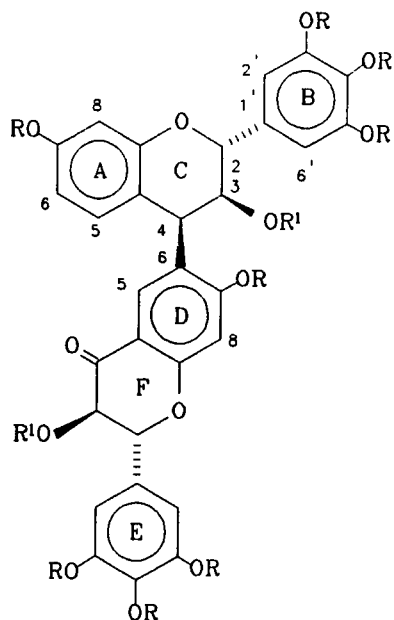
Figuur 2:

3D voorstelling van Robinetinidol-(4 α ,2')-(+)-dihidrorobinetien (66)
 [Methyl- en asetielgroepen weggelaten ter wille van duidelijkheid].

Die sterk negatiewe Cotton effek van verbinding (66) by 239 nm [Sd-Plaat 5] dui volgens die aromatiese kwadrantreeël op 'n 4α -oriëntasie en dus R absolute konfigurasie by C-4 en volg die absolute stereochemie van die boonste eenheid dus as $2R, 3S, 4R$. Van der Westhuizen *et al*⁵⁹ se resultate op (+)- en (-)-fustien het getoon dat die absolute stereochemie van 'n dihidroflavonol van die Cotton effek in die 300–340 nm gebied afgelei kan word volgens die aromatiese kwadrantreeël. Dienooreenkomstig dui die negatiewe Cotton effek by 306 nm in die Sd-spektrum van (66) [Sd-plaat 5] op $2R, 3R$ absolute stereochemie van die F-ring en volg die absolute stereochemie van verbinding (66) dus as $2R, 3S, 4R$ (C-ring) : $2R, 3R$ (F-ring).

Die massaspektrum van biflavanoïed (66) [MS-skema 3] vertoon twee prominente fragmente m/z 700 en m/z 669 wat deur asynsuurverlies vanaf die molekulêre ioon gevolg deur verlies van 'n metoksiradikaal gerasionaliseer kan word. RDA-fragmentasie van die ABC-eenheid lewer die m/z 252 fragment wat bewys lewer, van die pirogallol B-ring. Op soortgelyke wyse lewer RDA-fragmentasie van die terminale eenheid die m/z 150 fragment wat bevestiging van die karbonielfunksionaliteit asook die C- na E-ring interflavanielbinding lewer. Horisontale splyting lewer fragmente 387 en 373 wat die robinetinidol en dihidrorobinetien eenhede onderskeidelik bevestig en sodoende verdere bewys lewer van die voorgestelde struktuur van (66).

Die seldsame groep B-ring gekoppelde oligomere^{23,29} is dus verder uitgebrei (sien paragraaf 3.4) deur die isolasie van dimeer (65) wat die eerste B-ring gekoppelde biflavanoïed met 'n dihidroflavonol terminale eenheid verteenwoordig.

3.6 Robinetinidol-(4 β ,6)-(+)–dihidrorobinetien (67)(67) $R = R^I = H$ (68) $R = Me, R^I = Ac$

Analoog aan dimeer (66) kom daar in die heterosikliese gebied van die 1H k.m.r. spektrum van die oktametieleterdiasetaat (68) [KMR–plaat 8, KMR–tabel 6, p 50] slegs vyf heterosikliese protone voor. Die aromatiese gebied van die spektrum toon egter slegs een ABX–sisteem terwyl daar twee tweeproton singulette en twee eenproton singulette voorkom. Gesamentlik dui hierdie gegewens, soos by dimeer (66), op 'n biflavanoïed met 'n dihydroflavonol terminale eenheid, maar met 'n 4–C(C) \rightarrow 6–C(D) interflavanielbinding in die geval van (68).

Onderskeid tussen en korrelasie van die heterosikliese protone met die aromatiese sisteme is gebaseer op die $^4J_{HH}$ bensiliese koppeling wat in 'n 2D Cosy eksperiment waargeneem word tussen 5–H(A) [δ 6.68, $J = 8.5$ Hz] en 4–H(C), 5–H(D) [δ 7.50, $J = \approx 1$ Hz] en 4–H(C), 2',6'–H(B) [δ 6.56, $J = \approx 1$ Hz] en 2–H(C) asook tussen 2',6'–H(E) [δ 6.69, $J = \approx 1$ Hz] en 2–H(F). Die langafstandkoppeling ($^4J_{HH}$) tussen 5–H(D) [δ 7.50] en 4–H(C) en tussen

8-H(D) [δ 6.50] en 'n metokseisein ($^5J_{\text{HH}}$) fasiliteer onderskeid tussen 5-H(D) en 8-H(D) en bevestig die 4-C(C) \rightarrow 6-C(D) interflavanielbinding. Op 'n soortgelyke wyse onderskei $^4J_{\text{HH}}$ -koppeling tussen 2',6'-H(B) en 2-H(C) asook tussen 2',6'-H(E) en 2-H(F) tussen die spinsisteme van die B- en E-ringe. Die relatiewe ontserming van 5-H(D) [δ 7.50] is, soos voorheen, in ooreenstemming met 'n F-4 karbonielfunksionaliteit.

| Ring | H | (68) CDCl_3 , 296 K |
|------|-----|---|
| A | 5 | 6.68 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.45 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.56 (d, 2.5) |
| B | 2/6 | 6.56 (s) |
| | 6 | — |
| C | 2 | 5.12 (d, 7.5) |
| | 3 | 5.57 (dd, 5.0, 7.5) |
| | 4 | 4.77 (d, 5.0) |
| D | 5 | 7.50 (s) |
| | 6 | — |
| | 8 | 6.50 (s) |
| E | 2/6 | 6.69 (s) |
| | 6 | — |
| F | 2 | 5.36 (d, 12.5) |
| | 3 | 5.78 (d, 12.5) |
| OMe | | 3.77, 3.79 (x2), 3.81 3.82, 3.86, 3.87 (x2) (elk s) |
| OAc | | 1.80, 2.03 (elk s) |

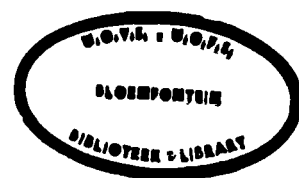
KMR - tabel 6

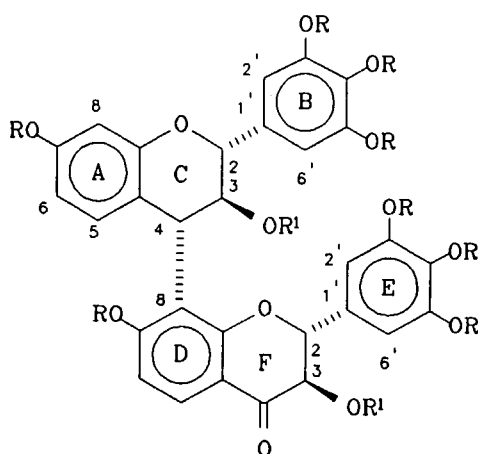
Die heterosikliese koppelingskonstantes vir die C-ring [$J_{2,3} = 7.5$ Hz en $J_{3,4} = 5.0$ Hz] is in ooreenstemming met *trans-cis* relatiewe stereochemie terwyl dié van die F-ring [$J_{2,3} = 12.5$ Hz] op *trans* stereochemie dui. Die 2,4-*trans* verwantskap tussen die B- en D-ringe is ondubbelsinnig bevestig deur n.O.e. assosiasie tussen 2-H(C) en 5-H(D).

Die beduidende n.O.e. assosiasie van 5-H(D) met 2-H(C) tesame met die afwesigheid van enige n.O.e. van 7-OMe(D) met laasgenoemde protone suggereer, soos by (58) [paragraaf 3.1], weer 'n voorkeuriëntasie om die interflavanielbinding sodanig dat die 10-C(A), 4-C(C), 6-C(D), 7-C(D) dihedriese hoek 'n waarde van *ca* 90° aanneem. Sodanige voorkeuriëntasie kan moontlik ook, soos verduidelik in die geval van (58), die afwesigheid van seinverdubbeling in die ^1H k.m.r. spektrum van dimeer (68) [KMR-plaat 8] verklaar.

Volgens die aromatiese kwadrantreël dui die sterk positiewe Cotton effek van verbinding (68) by 242 nm [Sd-plaat 6] op 'n 4β -oriëntasie en dus *S* absolute konfigurasie by C-4. Die negatiewe Cotton effek by 309 nm in die Sd-spektrum van (68) [Sd-plaat 6] dui op *2R,3R* absolute stereochemie vir die F-ring en volg die absolute stereochemie van (68) dus as *2R, 3S, 4S* (C-ring) : *2R, 3R* (F-ring).

Die massaspektrum van (68) [MS-Skema 4] vertoon twee prominente fragmente m/z 728 en 668 wat deur opeenvolgende asynsuurverlies gerasionaliseer kan word. RDA-fragmentasie van die boonste sowel as onderste eenhede lewer die m/z 252 en 536 fragmente wat die B- en E-ring substitusiepatroon asook die C- → D-ring interflavanielbinding bevestig. Horisontale splyting lewer, analoog aan (66), fragmente 387 en 401 wat die robinetinidol en dihidrorobinetien eenhede bevestig.



3.7 Robinetinidol-(4 α ,8)-(+)—dihidrorobinetien (69)(69) $R = R^1 = H$ (70) $R = Me, R^1 = Ac$

Die 1H k.m.r. spektrum [KMR—plaat 9, KMR—tabel 7, p 53] van biflavanoïed (70) toon, analoog aan dié van (66) en (68), slegs vyf heterosikliese protone bestaande uit 'n AMX—sisteem en 'n AB—sisteem. In die aromatiese gebied word egter slegs een ABX—sisteem, twee tweeproton singulette en 'n AB—sisteem waargeneem. In geheel dui hierdie gegewens op 'n biflavanoïed met resorsinoltipe A— en D—ringe (D—ring gesubstitueerd) en 'n 4—C(C) \rightarrow 8—C(D) interflavanielbinding met 'n dihydroflavonoltipe terminale eenheid.

Korrelasie tussen die betrokke aromatiese— en heterosikliese sisteme is bewerkstellig met langafstandkoppeling ($^4J_{HH}$) tussen 2—H(C) en 2',6'—H(B), 4—H(C) en 5—H(A) asook tussen 2—H(F) en 2',6'—H(E). Prominente n.O.e. assosiasie tussen 7—OMe(D) en 6—H(D) [δ 6.76] tesame met die chemiese verskuiwing van 5—H(D) [δ 7.90] bevestig die 4—C(C) \rightarrow 8—C(D) interflavanielbinding asook die F—4 karbonielfunksionaliteit. Verdere onder-

steunende getuienis vir die voorgestelde koppelingswyse word in die chemiese verskuiwing van 3-H(C) [δ 6.14] gevind, wat aanduidend is van 'n 4-gekoppelde flavaniel-eenheid wat by die arielbindingspunt deur twee *ortho*-suurstofsubstituentte begrens word.⁵⁴

| Ring | H | (70) CDCl ₃ , 296 K |
|------|-----|---|
| A | 5 | 6.62 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.46 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.41 (d, 2.5) |
| B | 2/6 | 6.34 (s) |
| | 6 | — |
| C | 2 | 4.86 (d, 10.0) |
| | 3 | 6.14 (t, 10.0) |
| | 4 | 4.98 (d, 10.0) |
| D | 5 | 7.90 (d, 9.0) |
| | 6 | 6.76 (d, 9.0) |
| | 8 | — |
| E | 2/6 | 6.35 (s) |
| | 6 | — |
| F | 2 | 5.39 (d, 12.0) |
| | 3 | 5.46 (d, 12.0) |
| OMe | | 3.58(x2)(3,5-B), 3.70(x2)(3,5-E), 3.73(7-A), 3.75(4-E), 3.80(4-B), 3.95(7-D), (elk s) |
| OAc | | 1.54, 2.01 (elk s) |

KMR - tabel 7

Die relatiewe 2,3-*trans* stereochemie van die F-ring word uit die orde van die koppelingskonstantes [$J_{2,3} = 12.0$ Hz] afgelei. Die heterosikliese koppelingskonstantes vir die C-ring ($J_{2,3} = J_{3,4} = 10.0$ Hz) is in ooreenstemming met alles-*trans* relatiewe stereochemie. Die 2,4-*cis* verwantskap tussen die B- en D-ringe is bevestig deur n.O.e. assosiasie tussen 4-H(C) en 2-H(C).

Die n.O.e. assosiasie tussen 7-OMe(D) en 4-H(C), 8-H(A) en 2',6'-H(E) tesame met 'n swak dog betekenisvolle n.O.e. tussen 7-OMe(A) en 2',6'-H(E) asook die afwesigheid van enige n.O.e. tussen 7-OMe(D) en 3-H(C) dui op 'n voorkeuroriëntasie om die interflavanielbinding, sodanig dat die 10-C(A), 4-C(C), 8-C(D), 9-C(D) dihedriese hoek 'n waarde van *ca* -90° aanneem. Soortgelyk as wat vir die fisetinidol-(4 α ,8)-katesjien profisetinidien biflavanoïede waargeneem is⁵⁵, is die konformeer met hoogste steriese kongestie die voorkeurkonformasie. 'n Totale voorkeuroriëntasie (soos gedefinieer uit n.O.e. getuienis) is waarskynlik weer verantwoordelik vir die afwesigheid van seinverdubbeling in die ¹H k.m.r. spektrum van (70) [KMR-plaat 9]. Dit is interessant om daarop te let dat die metieleterasetaat derivaat van die analoë fisetinidol-(4 α ,8)-fisetinidol biflavanoïed by dieselfde kondisies (CDCl₃, 296K) geen rotasie isomere toon nie³⁰, terwyl die fisetinidol-(4 α ,8)-katesjien derivaat by kamertemperatuur in CDCl₃ duidelik twee rotamere vertoon⁵⁵. Die "omgewing" van die interflavanielbinding in al drie hierdie molekule is identies en dit is dus duidelik dat 'n beter begrip van die faktore wat 'n voorkeurkonformasie by oligomeriese flavanoïede bepaal heelwat meer navorsing vereis.

Die sterk negatiewe Cotton effek wat verbinding (70) by 238 nm vertoon [Sd-plaat 7] dui volgens die aromatiese kwadrantreeël op 'n 4 α -oriëntasie en dus *R* absolute konfigurasie by C4. Die absolute stereochemie van die "boonste" eenheid volg dus as 2*R*, 3*S*, 4*R*. Die addisionele negatiewe Cotton effek by 306 nm [Sd-plaat 7] dui op 2*R*, 3*R* absolute stereo-

chemie vir die F-ring en volg die absolute stereochemie van (70) dus as 2*R*, 3*S*, 4*R* (C-ring) : 2*R*, 3*R* (F-ring).

Die prominente fragmente m/z 728 en 669, wat deur asynsuurverlies en die verlies van 'n asetoksiradikaal gerasionaliseer word, kom in die massaspektrum van verbinding (70) [MS-skema 5] voor. RDA-fragmentasie lewer die m/z 252 fragment wat die substitusiepatroon van die B- en E-ringe ondersteun. Opeenvolgende RDA-fragmentasie gevolg deur splyting lewer die m/z 149 fragment wat die F-4 karbonielfunksionaliteit bevestig. Horisontale splyting lewer fragment 387 en 401 wat onderskeidelik die robinetinidol en dihidrorobinetien eenhede bevestig.

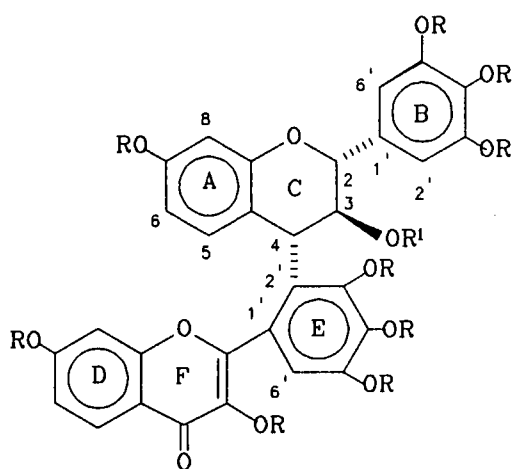
In alle natuurlike en sintetiese C/D-ringe gekoppelde dimeriese flavanoïede geassosieer met 'n 5-deoksi terminale eenheid, was die bindingsposisie tot onlangs sonder uitsondering op 6-C van die resorsinol-tipe D-ring.^{9,18} Hierdie opvallende afwesigheid van [4,8]-gekoppelde analoë in die groep oligoflavanoïede was in teenstelling met biflavanoïede waar die D-ring van die floroglusinol-tipe is en beide 6- en 8-C betrokke mag wees by interflavaniel bindingsvorming. Die eerste komponente van hierdie seldame groep [4,8]-gekoppelde 5-deoksi-oligoflavanoïede is deur Malan *et al* uit *Colophospermum mopane* geïsoleer²⁹. Tydens hierdie ondersoek is dié seldame groep [4,8]-gekoppelde verbindings uitgebrei met die isolasie van verbinding (69), wat die eerste [4,8]-gekoppelde 5-deoksi-biflavanoïed met 'n dihidroflavonol as terminale eenheid verteenwoordig.

(c) Biflavanoïede met 'n flavonol of flavoon as terminale eenheid

Die voorkoms, verspreiding en sintese van biflavanone en flavoon-flavoon biflavanoïede bied 'n wye navorsingsveld wat deur verskeie navorsers ondersoek is⁵⁷. Biflavanoïede met

'n flavonol as terminale eenheid en verskillende interflavanielbindingsposisies kom ook voor. Vorming van hierdie tipe biflavanoïede word in terme van oksidatiewe koppeling van twee chalkooneenhele verklaar.⁵⁵

3.8 Robinetinidol-(4 α ,2')-robinectien (71)



(71) $R = R' = H$

(72) $R = Me, R' = Ac$

Die 1H k.m.r. spektrum van die nonametieseterasetaat (72) [KMR-plaat 10, KMR tabel 8, p 57] toon opmerklik slegs een heterosikliese AMX-sisteem ($J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz). Twee ABX-sisteme tesame met 'n tweeproton singulet en 'n eenproton singulet kom in die aromatiese gebied voor. Hierdie gegewens is in ooreenstemming met wat verwag sou word vir 'n biflavanoïed met resorsinoltipe A- en D-ringe, pirogalloltipe B- en E-ringe en 'n 4-C(C) \rightarrow 2-C(E) interflavanielbinding met 'n flavonol terminale eenheid.

Langafstandkoppeling ($^4J_{HH}$) in 'n 2D Cosy spektrum tussen die aromatiese tweeproton singulet [2',6'-H(B)] en 2-H(C) asook tussen 5-H(A) en 4-H(C) maak korrelasie tussen die A-en C-ringe sowel as C- en B-ringsisteme moontlik. Die afwesigheid van enige verdere heterosikliese protone dui op 'n flavonol terminale eenheid en gevolglik is die

residuele aromatische ABX-sistecm aan die D-ring toegesê. Die tiperende ontskerming van 5-H(D) [δ 8.19] is inderdaad in ooreenstemming met 'n F-4 karbonielfunksionaliteit. Die teenwoordigheid van 'n eenproton singulet, wat prominente n.O.e. assosiasie met 3-OMe(F) asook met 5-OMe(E) vertoon, in samehang met die n.O.e. assosiasie tussen 3-OMe(E) en 3-H(C) [sien later], bevestig die 4-C(C) \rightarrow 2-C(E) interflavanielbinding.

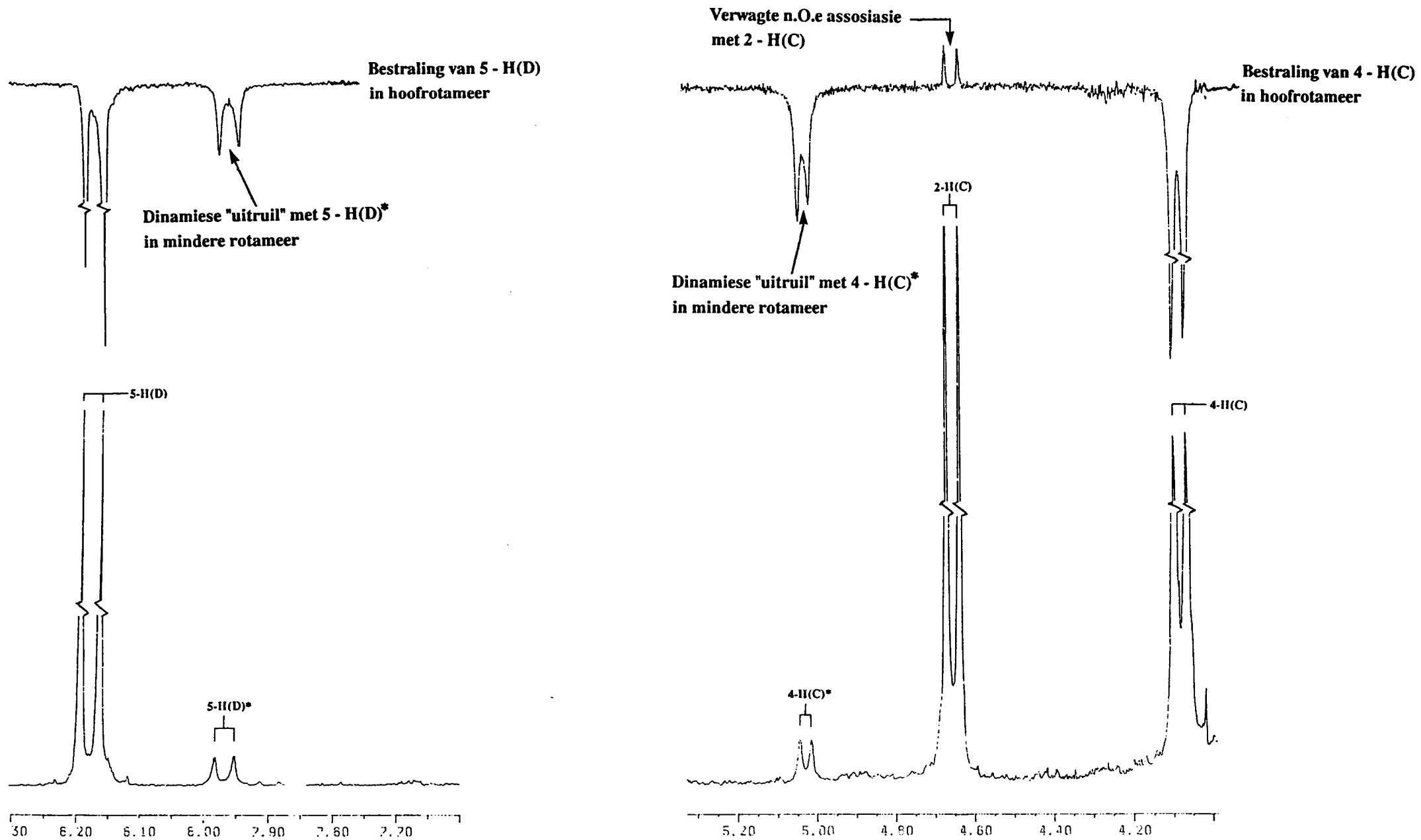
| Ring | H | (72) CDCl ₃ , 296 K |
|------|-----|---|
| A | 5 | 7.04 (d, 9.0) |
| | 6 | 6.49 (dd, 2.5, 9.0) |
| | 8 | 6.51 (d, 2.5) |
| B | 2/6 | 6.62 (s) |
| | 6 | — |
| C | 2 | 4.65 (d, 9.5) |
| | 3 | 5.95 (t, 9.5) |
| | 4 | 4.09 (d, 9.5) |
| D | 5 | 8.19 (d, 9.0) |
| | 6 | 6.98 (dd, 2.5, 9.0) |
| | 8 | 6.71 (d, 2.5) |
| E | 2 | — |
| | 6 | 6.67 (s) |
| OMe | | 3.30 (3-E), 3.74 (7-A), 3.79 (4-B), 3.82 (7-D), 3.83(x2) (3, 5-B), 3.85 (4-E), 3.86 (5-E), 3.87(3-F)(elk s) |
| OAc | | 1.61 (s) |

KMR - tabel 8

Die heterosikliese koppelingskonstantes vir die C-ring [$J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz] dui op alles *trans* relatiewe stereochemie. Die 2,4-*cis* oriëntasie van die B- en E-ringe is weereens bevestig deur n.O.e. assosiasie tussen 2-H(C) en 4-H(C).

Aangesien vryrotasie om die interflavanielbinding uit analise met Dreiding modelle, soos by verbinding (70), redelik gemaklik behoort plaas te vind, is die afwesigheid van seinverdubbeling in die ^1H k.m.r. spektrum van (72) nie ongewoon nie. Duidelike n.O.e. assosiasie van 3-OMe(E) met 3-H(C) maar nie met 4-H(C) nie, dui analoog aan (70) op 'n voorkeuroriëntasie om die interflavanielbinding sodanig dat die 10-C(A), 4-C(C), 2-C(E), 3-C(E) dihedriese hoek 'n waarde van *ca* 90° aanneem (Figuur 2). Hierdie aansienlike voorkeur vir 'n spesifieke oriëntasie kan, soos vryrotasie om die interflavanielbinding, die afwesigheid van seinverdubbeling in die ^1H k.m.r. spektrum van (72) verklaar.

Waarneming van 'n tweede rotameer $< 1\%$ in die ^1H k.m.r. spektrum van (72) (figuur 3) bevestig die voorstel dat voorkeur vir een spesifieke konformasie eerder as vinnige rotasie om die interflavanielbinding verantwoordelik is vir die afwesigheid van seinverdubbeling in die geval van (72). Die teenwoordigheid van 'n tweede rotameer in baie lae konsentrasie is bevestig tydens 'n n.O.e. eksperiment waarin die kenmerkende dinamiese "uitruil" van soortgelyke resonanse (figuur 3) waargeneem is.⁵⁵



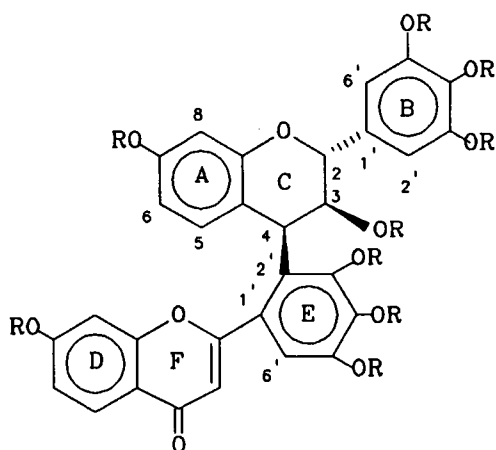
Figuur 3: Bevestigende getuieis vir die bestaan van 'n mindere rotameer in die geval van struktuur (72): Dinamiese "uitruil" van resonanse soos waargeneem tydens 'n n.O.e. studie (* Verteenwoordig mindere rotameer).

Die sterk negatiewe Cotton effek van dimeer (72) by 240 nm [Sd-plaat 8] dui volgens die aromatiese kwadrantreël op 'n 4α -oriëntasie en dus *R* absolute konfigurasie by C4 en volg die absolute stereochemie van (72) dus as *2R, 3S, 4R*.

Die massaspektrum van biflavanoïed (72) [MS-skema 6] vertoon fragmente m/z 698 en 667 wat in terme van asynsuurverlies en die verlies van 'n metoksiradikaal gerasionaliseer word. RDA-fragmentasie van die boonste eenheid lewer fragment m/z 252 wat die substitusie van die B-ring bevestig. RDA-fragmentasie van die terminale eenheid lewer fragmente m/z 608 en 150 wat bewys lewer van die flavonoleenheid sowel as die C- na E-ring interflavanielbinding. Bevestiging van die robinetinidol en robinetien eenhede word onderskeidelik verkry uit fragmente 387 en 377 wat deur horisontale splyting gelever word.

Die unieke groep B-ring gekoppelde oligomere^{23,29} word dus verder uitgebrei (sien ook paragrawe 3.4 en 3.5) met die identifikasie van dimeer (72) wat die eerste B-ring gekoppelde biflavanoïed met robinetien as terminale eenheid verteenwoordig.

3.9 Robinetinidol-($4\beta,2'$)- $3',4',5',7$ -tctrahidroksiflavoon (73)



(73) $R = H$
 (74) $R = Me$

Die heterosikliese gebied van die ^1H k.m.r. spektrum van nonameteleter (74) [KMR-plaat 11, KMR-tabel 9, p 62] vertoon slegs vier protone terwyl daar in die aromtiese gebied twee ABX-sisteme, 'n tweeproton singulet en 'n eenproton singulet resoneer. Die teenwoordigheid van slegs vier heterosikliese protone, waarvan een as 'n singulet by laeveld heterosikliese gebied (δ 5.11) [viniliese H] resoneer, dui op 'n biflavanoïed met 'n flavoon as terminale eenheid.

Die enkele heterosikliese AMX-sisteem sowel as die twee aromtiese ABX-sisteme is geïdentifiseer na aanleiding van ontkoppelings waargeneem in 'n "Homodec" eksperiment. Die verskerping van 5-H(A) tydens die bestraling van 4-H(C) tesame met die verskerping van die tweeproton singulet [2',6'-H(B)] tydens die bestraling van 2-H(C) het die A- en C- sowel as C- en B-ringsisteme gekorreleer. Die teenwoordigheid van 'n heterosikliese eenproton singulet [3-H(F)] wat verskerp (koppeling deur 5-bindings) tydens die bestraling van die aromtiese eenproton singulet [6'-H(E)] (homo-alliliese verwantskap) is in ooreenstemming met 'n flavoon terminale eenheid. Die chemiese verskuiwing van 5-H(D) [δ 7.65] is in ooreenstemming met die van 'n proton in 'n *peri*-posisie ten opsigte van 'n karbonielfunksionaliteit en is die residuele ABX-sisteem gevolglik aan die D-ring toegesê.

Alhoewel die heterosikliese koppelingskonstantes vir die C-ring [$J_{2,3} = 2.5$ Hz, $J_{3,4} = 3.5$ Hz] "abnormaal" is vir *trans-cis* stereochemie, het n.O.e. assosiasie tussen 4-H(C) en 2',6'-H(B) die *trans* verwantskap tussen die B- en E-ringe bevestig asook daarop gedui dat hierdie "abnormale" koppelingskonstantes toe te skryf is aan 'n groot bydrae van die A-konformasie eerder as aan 'n verstelde ringkonformasie.

| Ring | H | (74) CDCl ₃ , 296 K |
|------|-----|--|
| A | 5 | 6.77 (dd, 1.0, 8.5) |
| | 6 | 6.47 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.38 (d, 2.5) |
| B | 2/6 | 6.65 (s) |
| C | 2 | 5.23 (d, 2.5) |
| | 3 | 4.60 (dd, 2.5, 3.5) |
| | 4 | 4.05 (dd, 1.0, 3.5) |
| D | 5 | 7.65 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.57 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 5.44 (d, 2.5) |
| E | 2 | — |
| | 6 | 7.14 (s) |
| F | 3 | 5.11 (s) |
| OMe | | 3.67, 3.68, 3.72(x3), 3.75, 3.87, 3.92, 3.94 (elk s) |

KMR - tabel 9

Die sterk positiewe Cotton effek van verbinding (74) by 240 nm [Sd-plaat 9] dui volgens die aromatiese kwadrantreeël op 'n 4β -oriëntasie en aldus op *S* absolute konfigurasie by C4 en volg die absolute stereochemie van (74) dus as *2R*, *3S*, *4S*.

Die massaspektrum van dimeer (74) [MS-skema 7] bevestig die M^+ 700 (8.1%) ioon. RDA-fragmentasie van die terminale eenheid lewer fragmente m/z 550 en 150 wat die flavoon eenheid sowel as die C- na E-ring interflavaniëlbinding bevestig. RDA-fragmentasie van die boonste eenheid lewer fragment m/z 224 wat bewys lewer van die piro-

gallol B-ring. Horisontale splyting lewer fragmente m/z 360 en 340 wat onderskeidelik bevestiging bied vir die robinetinidol- en flavoon eenhede.

Verbinding (74) is dus die eerste biflavanoïed met 'n flavoon terminale eenheid.

HOOFSUK 4

POGINGS TOT DIE BIOMIMETIESE SINTESE VAN PROROBINETINIDIENE UIT *ROBINIA PSEUDACACIA*

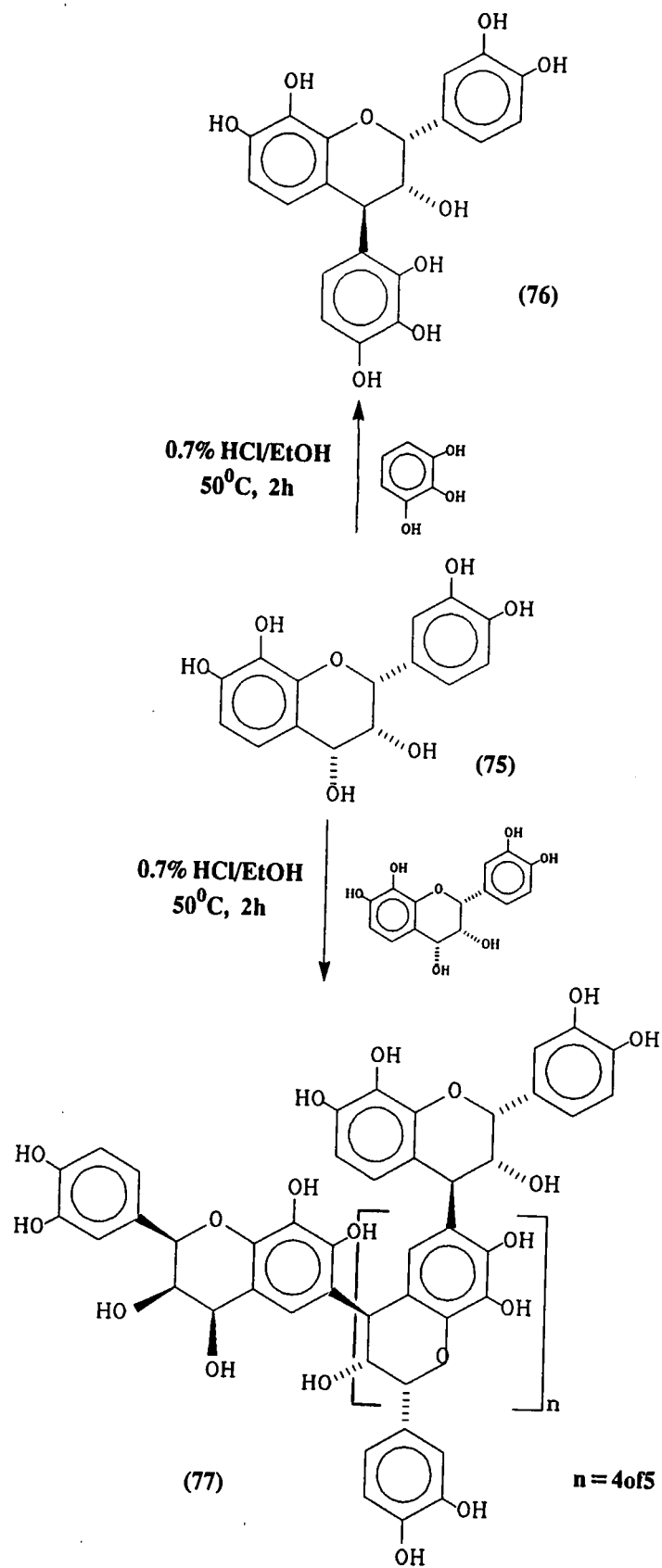
Tydens die huidige ondersoek is verskeie unieke prorobinetinidien biflavanoïede met flavan-3,4-diol, dihidroflavonol, flavonol en flavoon terminale eenhede uit *Robinia pseud-acacia* geïsoleer en hoofsaaklik met behulp van hoë resolusie ¹H k.m.r. geïdentifiseer. Aangesien relatief min betreffende die chemie van hierdie verbindings bekend is en aangesien ondubbelsinnige toesegging van absolute stereochemie van veral die terminale eenhede slegs met behulp van sintese gedoen kan word, is 'n geskikte biomimetiese sintese vir sodanige verbindings genoodsaak. Tiperend van hierdie verbindings is die herhaling van robinetinidol (2) as "boonste" eenheid wat op verskeie koppelingswyses (4 → 6, 4 → 8, asook 4 → 2') aan (+)-leukorobinetinidien (1), (+)-dihidrorobinetien (3), robinetien (4) of 3',4',5',7-tetrahidroksiflavoon gekoppel is. Die flavan-3,4-diol, (+)-leukorobinetinidien (1), wat in hoë konsentrasies in *R. pseudacacia* voorkom, is dus die aangewese elektrofiel en is die uitdaging tydens bogemelde biomimetiese sinteses die skepping van 'n interflavanielbinding tussen C4 van (+)-leukorobinetinidien en 'n pirogallol-(verbindings 62, 64, 66, 72 en 74) of 'n resorsinoltipe (verbindings 58, 60, 68 en 70) nukleofiel.

Die (-)-fisetinidol-(4 α ,2')-(-)-robinetinidol (31) dimeer [sien 2.3] verteenwoordig die enigste sintetiese produk waar 'n pirogallol-tipe B-ring as nukleofiel opgetree het, en is deur Malan *et al*²⁰ in lae konsentrasie geïsoleer tydens die suurgekataliseerde kondensasie van (+)-mollisacacidien (36) en (-)-robinetinidol (2). Pogings deur Malan²² tot die kondensasie van (+)-mollisacacidien (36) en die dihidroflavonol (+)-ampelopsien (39) onder suur kondisies (0,1 M HCl, 46 uur) [sien 2.4] het na variasie van suurstrekte, temperatuur, oplosmiddel en selfs molverhoudings geen positiewe resultate gelewer nie.

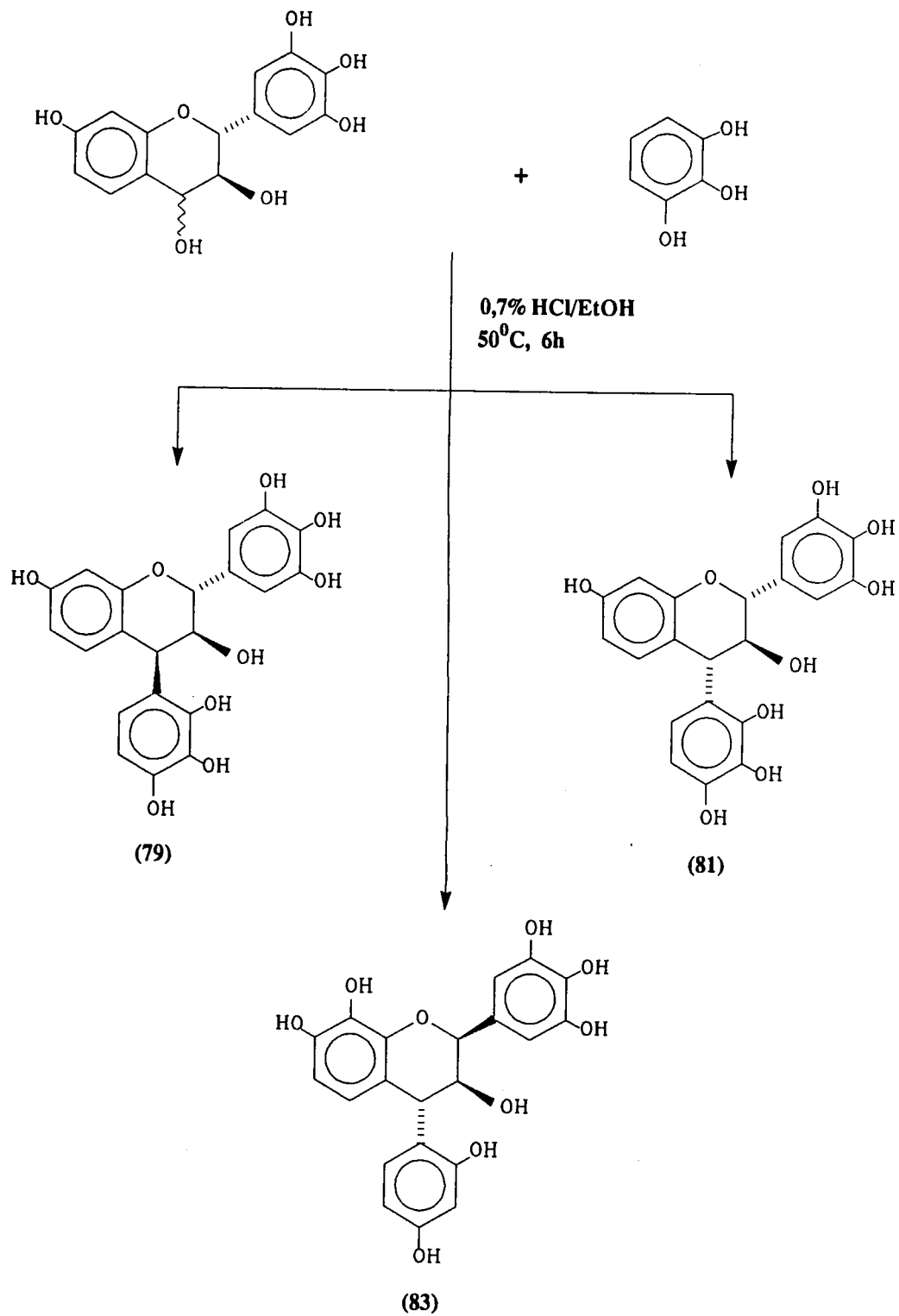
Die verlaagde nukleofiliteit van die dihidroflavonol A-ring is as verklaring vir die gebrek aan koppeling aangevoer.

Foo *et al*⁵⁸ het met sukses suurgekataliseerde kondensasie tussen (–)-melacacidien [(–)-2,3-*cis*-3,4-*cis*-flavan-3,3',4,4',7,8-heksaol] (75) en pirogallol bewerkstellig (Skema 9). Tydens die reaksie tree die pirogallol A-ring van (–)-melacacidien (75) ook as nukleofiel op en is selfkondensasie van die flavan-3,4-diol waargeneem (Skema 9). Dit blyk dus dat pirogallol oor voldoende nukleofiele karakter beskik om met sukses in die voorgestelde biomimetiese sintese aangewend te word.

Met die oog op die sintese van sommige geïsoleerde prorobinetinidien, asook na aanleiding van die gebrek aan bevredigende resultate op die gebied van flavan-3,4-diol-dihydroflavonol kondensasie, het as motivering gedien om die suurgekataliseerde kondensasie van (+)-leukorobinetien (1) en (+)-dihidrorobinetien (3) te ondersoek. Na aanleiding van die resultate van Foo⁵⁸ is identiese reaksiekondisies benut. Ten einde meer insae betreffende die toepassings van hierdie kondisies op prorobinetinidien te verkry, is besluit om die kondensasie van (+)-leukorobinetinidien en pirogallol as modelreaksie onder soortgelyke kondisies te ondersoek (Skema 10).



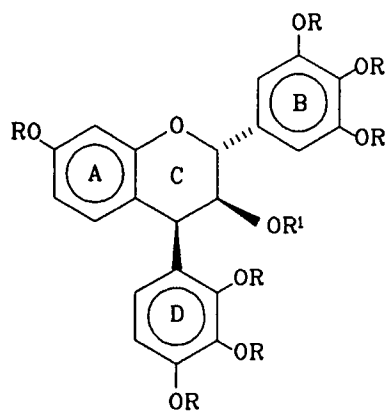
Skema 9



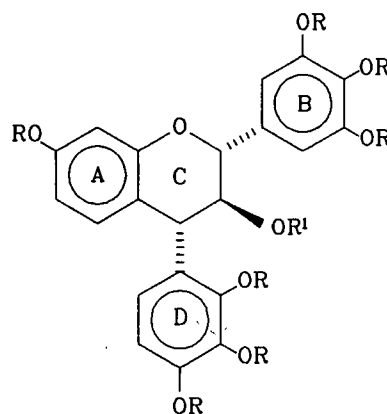
Skema 10

4.1 Modelreaksie : Suurgekataliseerde kondensasie van (+)-leukorobinetinidien en pirogallol

Onder kondisies soorgelyk aan dié deur Foo⁵⁸ gebruik [0,7% HCl/etanol, 50°C, 2 uur] lewer die suurgekataliseerde kondensasie van (+)-leukorobinetinidien en pirogallol (Skema 10) die twee "verwagte" produkte (79) en (81), waar die nukleofiel (pirogallol) die gevormde karbokatioon vanaf beide die α - en β -vlakke aangeval het, asook 'n verdere "onbekende" verbinding (83).



(79) $R = R^1 = H$
 (80) $R = Me, R^1 = Ac$



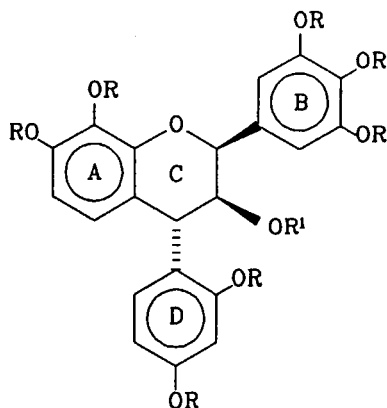
(81) $R = R^1 = H$
 (82) $R = Me, R^1 = Ac$

Ten einde karakterisering met behulp van hoë resolusie ¹H k.m.r. te vergemaklik is die verbindings as heptameteleterasetate geïdentifiseer. "Homodec"- en n.O.e. eksperimente, waarin 2- en 4-H(C) en metoksiresonanse as verwysingseine gedien het, is gebruik in die strukturbepaling van verbindings (80) en (82).

Die teenwoordigheid van "konvensionele" A-ringe is deur n.O.e. assosiasie van 7-OMe (A) met 8-H(A) in die geval van beide (80) en (82) bevestig. Uit die bensiliese koppeling tussen 2-H(C) en 2',6'-H(B) en tussen 4-H(C) en beide 5-H(A) en 6-H(D), in 'n "homodec" eksperiment, is die posisies van die B- en D-ringe ondubbelsinnig bevestig.

Die AB-sisteem van die D-ring bevestig die posisie van koppeling op die pirogallolring. Die heterosikliese koppelingskonstantes ($J_{2,3} = 8.0$ Hz, $J_{3,4} = 5.5$ Hz) in die ^1H k.m.r. spektrum van (80) [KMR-plaat 12, KMR-tabel 10, p 70] dui op *trans-cis* relatiewe stereochemie, terwyl dit ($J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz) in die ^1H k.m.r. spektrum van (82) [KMR-plaat 13, KMR-tabel 10, p 70] op alles *trans* stereochemie dui. Die 2,4-*trans* verwantskap tussen die B- en D-ringe van (80) is deur n.O.e. assosiasie van 2-H(C) met 6-H(D) bevestig, terwyl die 2,4-*cis* verwantskap daarvan by (82) deur n.O.e. van 2-H(C) met 4-H(C) bevestig is. Die negatiewe Cotton effek by 238 nm in die Sd-spektrum van (82) [Sd-plaat 11] dui op 'n 4α -arielsubstituent en volg die absolute stereochemie van (82) dus as 2*R*, 3*S*, 4*R*, terwyl die positiewe Cotton effek van (80) [Sd-plaat 10] op 'n 4β -arielsubstituent en dus 2*R*, 3*S*, 4*S* absolute stereochemie dui.

Die ^1H k.m.r. spektrum van die verdere reaksieproduk (84) [KMR-plaat 14, KMR-tabel 11, p 71] vertoon in samehang met die enkele asetoksisein en 'n heterosikliese AMX-sisteem ook ses metoksiseine waarvan een vir twee ekwivalente metoksisubstituentte integreer. 'n Tweeproton singulet in die aromatiese gebied tesame met gemelde sesproton metoksiresonans dui op 'n "konvensionele" pirogallol B-ring terwyl die teenwoordigheid van 'n aromatiese AB-sisteem op 'n pirogallol-ring met 'n alternatiewe modus van substitusie dui. Die aromatiese ABX-sisteem is in ooreenstemming met 'n gesubstitueerde resorsinol-ring hetsy as deel van 'n konvensionele A-ring of as 'n "vrygestelde" entiteit.



(83) $R = R^1 = \text{H}$

(84) $R = \text{Me}$, $R^1 = \text{Ac}$

| Ring | H | (80) CDCl ₃ . 296 K | (82) CDCl ₃ . 296 K |
|------|-----|--|---|
| A | 5 | 6.77 (d, 8.5) | 6.63 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.47 (dd, 2.5, 8.5) | 6.43 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 8 | 6.56 (d, 2.5) | 6.51 (d, 2.5) |
| B | 2/6 | 6.57 (s) | 6.69 (s) |
| | 6 | – | – |
| C | 2 | 5.10 (d, 8.0) | 4.96 (d, 9.5) |
| | 3 | 5.49 (dd, 5.5, 8.0) | 5.67 (t, 9.5) |
| | 4 | 4.68 (d, 5.5) | 4.55 – |
| D | 5 | 6.58 (d, 8.5) | 6.58 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.62 (d, 8.5) | 6.77 (d, 8.5) |
| OMe | | 3.77 (7-A), 3.78 (2-D), 3.79(x2) (3, 5-B), 3.81 (4-B), 3.83 (3-D), 3.87 (4-D), (elk s) | 3.73 (7-A), 3.81 (4-D), 3.82(x2) (2, 3-D), 3.84 (4-B), 3.86(x2) (3, 5-B), (elk s) |
| OAc | | 1.83 (s) | 1.65 (s) |

KMR - tabel 10

Soortgelyk as in die geval van (80) en (82) berus die ondubbelsinnige plasing van die ringe op "homodec"- en n.O.e. eksperimente. N.O.e. assosiasie van 'n metoksigröep na die *m*-doeplet van die ABX-sisteem tesame met die n.O.e. van 'n ander metoksiresonans na dieselfde *m*-doeplet asook na die doeplet van doeblette (ABX-sisteem) dui op 'n vrygestelde resorsinol-ring. Die bensiliese koppeling, vanaf 'n "hömodec" eksperiment, tussen 2-H(C) en 'n tweeproton singulet [2',6'-H(B)] asook tussen 4-H(C) en beide *o*-doeblette van die ABX- en AB-sisteme onderskeidelik, maak die plasing van die 2- en 4-arielsubstituentte moontlik.

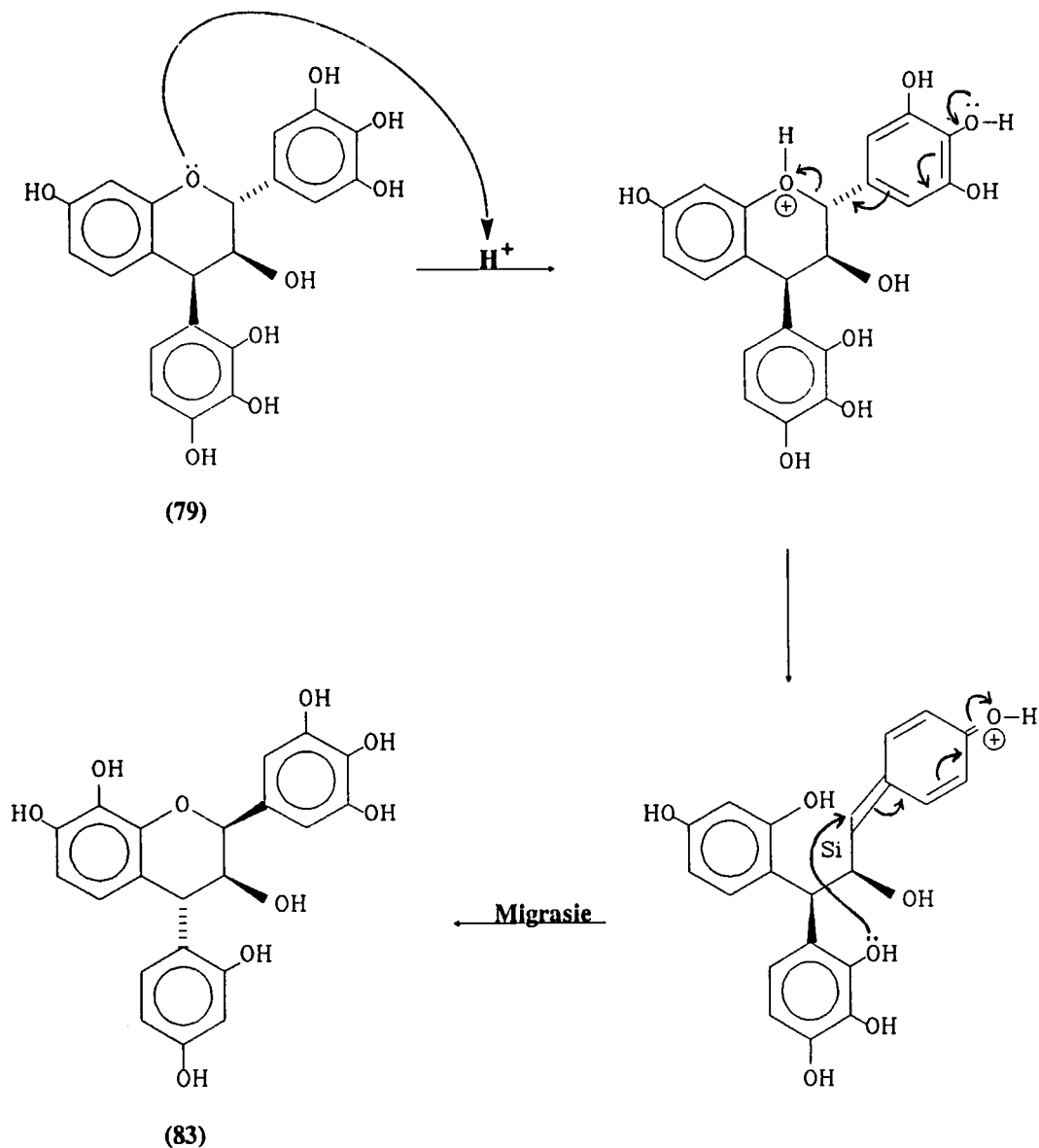
| Ring | H | (84) CDCl ₃ , 296 K |
|------|-----|---|
| A | 5 | 6.67 (d, 8.5) |
| | 6 | 6.55 (d, 8.5) |
| B | 2/6 | 6.56 (s) |
| | 6 | — |
| C | 2 | 5.01 (d, 1.0) |
| | 3 | 5.43 (dd, 1.0, 2.0) |
| | 4 | 4.46 (d, 2.0) |
| D | 3 | 6.51 (d, 2.5) |
| | 5 | 6.37 (dd, 2.5, 8.5) |
| | 6 | 6.59 (d, 8.5) |
| OMe | | 3.78 (4-D), 3.79(x2) (3, 5-B), 3.80 (7-A), 3.87 (2-D), 3.88 (8-H), 3.97 (4-B), (elk s) |
| OAc | | 1.89 (s) |

KMR - tabel 11

Die heterosikliese koppelingskonstantes ($J_{2,3} = 1.0 \text{ Hz}$, $J_{3,4} = 2.0 \text{ Hz}$) is in ooreenstemming met *cis-trans* stereochemie. Die 2,4-*trans* verwantskap tussen die B- en D-ringe word dan ook bevestig deur n.O.e. assosiasie tussen 2-H(C) en 6-H(D). Hierdie n.O.e. dui op 'n voorkeur E-konformasie van die C-ring met die 4-resorsinol substituent in 'n kwasi-aksiale oriëntasie.

Verbinding (84) ontstaan waarskynlik uit fisetinidol-4 β -pirogallol (79) via 'n piraanring herrangskikkingsreaksie (Skema 11). Hoewel 'n soorgelyke suurgekataliseerde-C-ring isomerisasie, benewens ander reaksies, deur Young *et al*⁶⁵ waargeneem is tydens die blootstelling van fisetinidol-4 α -katesjien aan suur onder redelik drastiese kondisies (EtOH/ClCH₂COOH/refluks 24 uur) is bogemelde reaksie uniek aangesien dit die eerste geval verteenwoordig waar piraanring isomerisasie waargeneem is by die milde kondisies wat normaalweg gebruik word om interflavanielbindingsvorming teweeg te bring. Die rede hiervoor is waarskynlik die verhoogde elektronvrystelling van die pirogallol- in vergelyking met resorsinolring, waardeur kinoonmetiedvorming bevoordeel word.

Die absolute stereochemie vir verbinding (84) is afgelei van wat verwag word as verbinding (79) piraanring-isomerisasie ondergaan. Dit word egter nie ondersteun deur die swak gedefinieerde positiewe Cotton effek wat die Sd-spektrum van (84) [Sd-plaat 12] in die 244 nm gebied vertoon nie. Hoewel hierdie aspek nie verder tydens hierdie studie ondersoek is nie, is "omgekeerde" Cotton effekte al by geleentheid vir 4-resorsinolflavan-3-ole waargeneem⁶⁶.



Skema 11

4.2 Suurgekataliseerde kondensasie van (+)-leukorobinetinidien en (+)-dihidrorobinetien

Tydens 'n vroeëre ondersoek waar daar gepoog is om suurgekataliseerde kondensasie (0.1M HCl; 45°C; 48 uur) tussen (+)-mollisacacidiën (36) en (+)-taksifolien (37) te bewerkstellig, het Pretorius²⁵ slegs die alles-*trans* dimeer in 'n uiters lae konsentrasie geïsoleer. Geen koppelingsprodukte kon uit die gepoogde kondensasie tussen (+)-mollisacacidiën en (+)-fustien (5-deoksi analoog) verkry word nie. Soortgelyke resultate is later deur Malan *et. al.*²² waargeneem toe geen biflavanoidede uit 'n suurgekataliseerde kondensasiereaksie

van (+)-mollisacacidiën en (+)-ampelopsien [3',4',5,5',7-pentahidroksi-dihydroflavonol] (39) geïsoleer kon word nie.

Hoewel die bevindinge van veral Malan *et. al.*²² reeds tot 'n groot mate aandui wat tydens so 'n reaksie verwag kan word, is daar tydens hierdie studie nietemin gepoog om suurgekataliseerde kondensasie tussen (+)-leukorobinetinidien en (+)-dihidrorobinetien te bewerkstellig. Die uitgangstowwe (1:2 mol) is in 0.7% HCl/EtOH opgelos en vir 8h onder argonatmosfeer by 50°C geroer. In teenstelling met die modelreaksie, waar pirogallol beduidend as nukleofiel opgetree het, is die B-ring gekoppelde produk tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-penta-O-metiel-(+)-dihidrorobinetien (66) na metilering en asetilering slegs in lae konsentrasie (3.1%) uit die reaksiemengsel geïsoleer. Verbinding (66) word in die reaksiemengsel vergesel (ook in lae konsentrasie) deur 'n biflavanoïed met 'n flavonol as terminale eenheid. Hierdie verbinding is as tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-penta-O-metiel-robinetinien (72) na metilering en asetilering geïdentifiseer. Die ¹H k.m.r. data van verbindings (66) en (72) sowel as die Sd-spektra is identies aan die vir derivate van die natuurprodukte uit *R. pseudacacia* en kon die absolute stereochemie van die ooreenkomstige natuurprodukte dus ondubbelsinnig bevestig word.

Benewens die reeds gemelde biflavanoïede het die reaksiemengsel bestaan uit die oorblywende dihidrorobinetien asook polimeriese materiaal wat waarskynlik die gevolg is van ongekontroleerde selfkondensasie van die flavan-3,4-diol⁴⁹. Hoewel verdere studie nodig is om die betrokke verskynsel te verklaar blyk dit, veral as hierdie resultate met dit wat tydens die modelreaksie waargeneem is, vergelyk word, asof die 4-C(C) karboniel-funksionaliteit in (+)-dihidrorobinetien selfs die pirogallol B-ring deaktiveer ten opsigte van nukleofiliteit. Die feit dat robinetinidol-(4 α ,2')-robinetinien ook tydens die reaksie

vorm, is tot 'n mate bevestigend van 'n voorstel deur Roux et. al.⁷ dat die metaboliese diversiteit in *R. pseudacacia* waarskynlik die gevolg van gemaklike "interomskakeling" van verbindings is.

EKSPERIMENTEEL

HOOFSTUK 5

STANDAARD EKSPERIMENTELE TEGNIEKE

Die volgende standaard eksperimentele tegnieke is, tensy anders vermeld, algemeen tydens hierdie ondersoek toegepas.

5.1 Chromatografiese metodes

5.1.1 Papierchromatografie⁶⁰

Twee-dimensionele papierchromatogramme is op Whatman nr. 1 papier (46 x 28.5 cm) in twee rigtings ontwikkel met onderskeidelik waterversadigde butan-2-ol (eerste rigting) en 2% (v/v) asynsuuroplossing (tweede rigting). Na droging in 'n vinnige lugstroom is die chromatogramme met UV-lig en sproeireagense ondersoek.

5.1.2 Dunlaagchromatografie (DLC)

- (i) Kwalitatiewe dunlaagchromatografiese ondersoeke is op plastiekplaatjies (4 x 5cm) bedek met 'n (0.25 mm) laag Kieselgel PF₂₅₄ (Merck) uitgevoer.
- (ii) Bereidende skaal DLC is op glasplate (200 x 200 mm) bedek met 'n laag (1.0 mm) ongeaktiveerde Kieselgel (Merck PF₂₅₄), wat by kamertemperatuur gedroog is, uitgevoer. (100 g Kieselgel in 230 ml gedistilleerde water per vyf plate). Na ontwikkeling in 'n spesifieke eluermiddel is die plate in 'n lugstroom by kamertemperatuur gedroog, die bande deur middel van formaldehid-swaelsuur as sproeireagens en UV-lig (254 nm) onderskei, afgeskraap en die verbindings met asetoon geëlueer.

Mikro skeidings is op "Merck TLC plates : Silica gel 60 PF₂₅₄ precoated (0.25 mm)" gedoen. Die belading per plaat was 1.5 – 2.5 mg.

5.1.3 Kolomchromatografie

Kolomme met 'n binnedeursnee wat wissel van 3.5 – 5.0 cm en lengte tussen 50 – 190 cm is met 'n suspensie van Sephadex LH₂₀ in die elueermiddel gepak. Sephadex LH₂₀ word voorberei deur vir 24 uur in die elueermiddel te laat staan. Die ru-ekstrak word in die minimum hoeveelheid elueermiddel opgelos en op die kolom aangewend. Kolomme is ontwikkel teen 'n vloeispoed van ongeveer 20 ml per 30 minute en fraksies is met 'n ISCO (model 273) outomatiese fraksieversamelaar opgevang.

5.2 Sproeireagense

5.2.1 Ammoniakaliese silwernittraat⁶¹

Die reagens is berei deur gekonsentreerde ammoniakoplossing by 'n silwernittraatoplossing (4g AgNO₃ in 50 ml gedistilleerde water) te voeg totdat die gevormde silweroksied net oplos. Papierchromatogramme is liggies gesproei, met water gewas (3x) en die oormaat reagens met behulp van 'n 1% (m/v) natriumtiosulfaatoplossing vernietig. Die chromatogramme is vir *ca* 1 uur onder lopende kraanwater gewas en by kamertemperatuur gedroog.

5.2.2 Formaldehyd-swaelsuur⁶²

Dunlaagchromatogramme is liggies met 'n 2% (v/v) oplossing van formaldehyd (40%) en gekonsentreerde swaelsuur gesproei en met behulp van 'n bunsenbrander liggies tot optimum kleurontwikkeling verhit.

5.3 Chemiese metodes

5.3.1 Metilering met diasmetaan⁶³

Fenoliese materiaal (50–200 mg) is in metanol (*ca* 50 ml) opgelos en afgekoel tot -10°C . Diasmetaan, ontwikkel deur die reaksie van 50 ml etanoliese kaliumhidroksiedoplossing (8g kaliumhidroksied per 100 ml 90% (v/v) etanol) met N-metiel-N-nitroso-*p*-tolueensulfoonamied (Diazald) (20g) in dietieleter (100 ml), is in eterige oplossing stadig in die voorafbereide monsteroplossing gestook. Die reaksiemengsel is vir 48 uur by -15°C gelaat en die oormaat diasmetaan is daarna in 'n vinnige lugstroom by kamertemperatuur verwyder.

5.3.2 Asetilering⁶⁴

Droë fenoliese materiaal is in 'n minimum hoeveelheid piridien opgelos en asynsuur-anhidried (2 druppels per druppel piridien) bygevoeg en vir *ca* 48 uur by ongeveer 40°C gelaat. Die reaksie is beëindig deur byvoeging van verkrummelde ys en die oormaat piridien is verwyder deur herhaaldelik met koue, gedistilleerde water te was.

5.4 Spektrometriese en spektroskopiese metodes

5.4.1 Kernmagnetiese resonansspektrometrie (k.m.r.)

- (i) K.m.r.-spektra is afgeneem in deuteriochloroform (CDCl_3), deuteriobenseen (C_6D_6) en deuterioasetoon [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] op 'n Bruker AM-300 spektrometer. Tetrametiel silaan (TMS) is as interne standaard gebruik. Chemiese verskuiwings is deurgaans uitgedruk in dele per miljoen (d.p.m) op die δ -skaal met koppelingskonstantes (J)

tot 0.2 Hz noukeurig aangegee.

- (ii) Die volgende afkortings word gebruik : s-singulet, d-doeblet, dd-doeblet van doeblatte, t-triplet, m-multiplot. Die afkorting vbr. dui aan dat die sein verbreed is. Tensy anders vermeld, word die CDCl_3 spektra by 296 K vir besprekingsdoeleindes gebruik.

5.4.2 Massaspektrometrie (MS)

Fragmentasiespektra en akkurate massabepalings is op 'n Varian CH-5 massaspektrometer (dubbele fokus) gedoen, terwyl "Field Desorption Ionization" (FD) spektra op 'n Varian MAT-212 spektrometer afgeneem is.

5.4.3 Sirkulêre dichroïsme (SD)

SD-kurwes is bepaal met behulp van 'n Jasco J-20 spektropolarimeter vir oplossings in metanol. Die molekulêre elliptisiteit (θ) is bereken volgens die formule:

$$\theta_{\lambda} = \frac{(L)(\text{skaal instelling}) \times (\text{molekulêre massa}) \times (100)}{(\text{buislengte in cm}) \times (\text{konsentrasie in g/L})}$$

waar L = verskil in lesing tussen dié van die verbinding in oplossing en dié van die oplosmiddel.

5.5 Afkortings

Die volgende afkortings word vir oplosmiddels gebruik tydens beskrywing van

ontwikkelingsisteme vir dlc-skeidings.

A = aseton

B = benseen

C = chloroform

EA = etielasetaat

H = heksaan

M = metanol

MEK = metieletielketoon

T = toluen

HOOFSUK 6

VERRYKING VAN DIE KERNHOUTEKSTRAK VAN *ROBINIA PSEUDACACIA*

Koue ekstraksies is oor 'n periode van 7 dae met asetoon : water (1:1, v/v) op die kernhoutboorsels (8902,8 g) van *Robinia pseudacacia* uitgevoer. Die asetoon is onder verminderde druk by 45°C verwyder. 'n Geelbruin ru-ekstrak (553,9 g) is na vriesdroging verkry. Die fenoliese materiaal (4 x 80 g) is in die onderste fase (100 ml) van 'n versadigde water : butan-2-ol : *n*-heksaan mengsel (5:4:1, v/v/v) opgelos en in die eerste buis van 'n 20 buis Craig opstelling gevoer. Die boonste en onderste fase van bogenoemde mengsel is vir teenstroomverdeling gebruik met 20 oordragte van die boonste fase. Na 'n kwalitatiewe papierchromatografiese ondersoek is die fraksies as volg gekombineer:

| | | | | |
|-----|------------|-------------|--------|-----------|
| 6.1 | FRAKSIE 1: | buis 1-2; | 94,6 g | |
| | FRAKSIE 2: | buis 3-5; | 41,9 g | (Kolom B) |
| | FRAKSIE 3: | buis 6-9; | 47,3 g | (Kolom A) |
| | FRAKSIE 4: | buis 10-13; | 47,6 g | |
| | FRAKSIE 5: | buis 14-20; | 47,2 g | |

Fraksie 3 (Kolom A) sowel as fraksie 2 (Kolom B) is vervolgens aan kolomchromatografie onderwerp.

HOOFSTUK 7

ISOLASIE VAN FLAVANOÏEDE UIT DIE KERNHOUT VAN *ROBINIA PSEUDACACIA*

'n Gedeelte (20 g) van fraksie 3 is met behulp van kolomchromatografie (Kolom A) met Sephadex LH-20 as stasionêre fase (5 x 170 cm kolom, vloeispoed-20 ml/30 min) en etanol as elueermiddel geskei. Na oordeelkundige kombinasie met behulp van dlc (benseen : asetoon : metanol) [6:3:1, v/v/v] is die volgende fraksies verkry:

| Fraksie Nommer | Proefbuis Nommer | Opbrengs (mg) |
|-------------------|---------------------|------------------|
| A1 | 1- 29 | 184.8 |
| A2 | 30- 90 | 2277.9 |
| A3 | 91- 129 | 118.9 |
| A4 | 130- 200 | 93.5 |
| A5 | 201- 356 | 438.6 |
| A6 | 357- 434 | 556.6 |
| A7 | 435- 506 | 482.1 |
| A8 | 507- 552 | 217.1 |
| A9 | 553- 652 | 807.1 |
| A10 | 653- 748 | 468.8 |
| A11 | 749- 796 | 394.9 |
| A12 | 797- 876 | 326.4 |

Tabel 1

'n Aanvanklike ondersoek het daarop gelei dat fraksies A1-A4 hoofsaaklik uit bekende monomeriese flavanoïede⁷ bestaan en is gevolglik nie verder ondersoek nie.

7.1 Metaboliete van fraksie A5

Metilering van 'n gedeelte (160 mg) van fraksie A5 [Tabel 1], gevolg deur dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) lewer twee beduidende fraksies: A5.1 (R_f 0.33, 8 mg) en A5.2 (R_f 0.10, 11 mg). Die res van gemetileerde fraksie A5 het op hoër oligomeriese materiaal gedui en is nie verder ondersoek nie, aangesien dit nie die doelwit tydens die huidige ondersoek was nie.

Verdere dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) van fraksie A5.1 lewer band A5.1.1 (R_f 0.56, 6.1 mg) wat nie asetilering ondergaan nie. 'n Opvolgende dlc-skeiding (H:B:A:M, 40:40:15:5, v/v/v/v) lewer band A5.1.1.1 (R_f 0.49, 4 mg).

7.1.1 3',4',5',7-Tetrametoksi-2'-[(2*R*, 3*S*, 4*S*)-2,3-*trans*-3,4-*cis*-3',4',5',7-pentametoksiflavan-4-iel]-flavoon (74)

Die R_f 0.49 band A5.1.1.1 lewer die titelverbinding as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

^1H k.m.r. data, KMR-plaat 11, KMR-tabel 6

MS-skema 7, MS-tabel 5

Sd-plaat 9

Asetilering van fraksie A5.2 [paragraaf 6.1] gevolg deur verdere dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer band A5.2.1 (R_f 0.33, 9.5 mg).

7.1.2 (2*R*, 3*S*, 4*R*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-6-[(2*R*, 3*S*, 4*S*)-2,3-*trans*-3,4-*cis*-3-
asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-3,4-diasetoksi-3',4',5',7-
tetrametoksiflavaan (60)

Die R_f 0.33 band A5.2.1 lewer die titelverbinding as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

^1H k.m.r. data, KMR-plaat 2, KMR-tabel 1

MS-skema 1, MS-tabel 1

Sd-plaat 2

7.2 Metaboliete van fraksie A6

Metilering van 'n gedeelte (160 mg) van fraksie A6 [Tabel 1], gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer slegs een beduidende fraksie, A6.1 (R_f 0.26, 14 mg). Die res van gemetileerde fraksie A6 dui op hoër oligomeriese materiaal en is gevolglik nie verder ondersoek nie.

Verdere dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) van fraksie A6.1 lewer band A6.1.1 (R_f 0.25, 12 mg). Asetilering van band A6.1.1 gevolg deur dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) lewer fraksie A6.1.1.1 (R_f 0.23, 9.7 mg).

7.2.1 3,3',4',5',7-Pentametoksi-2'-[(2*R*, 3*S*, 4*R*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-flavoon (72)

Die R_f 0.23 band A6.1.1.1 lewer die titelverbinding as 'n *geelwit amorfe vaste stof*.

^1H k.m.r. data, KMR-plaat 10, KMR-tabel 6

MS-skema 6, MS-tabel 4

Sd-plaat 8

7.3 **Metaboliete van fraksie A7**

Metilering van 'n gedeelte (160 mg) van fraksie A7 [Tabel 1], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 40:40:13:7, v/v/v/v) lewer twee beduidende fraksies, A7.1 (R_f 0.43, 20 mg) en A7.2 (R_f 0.50, 11 mg).

Verdere dlc-skeiding (B:A, 8:2, v/v) van fraksie A7.1 lewer band A7.1.1 (R_f 0.28, 16 mg). Asetilering van band A7.1.1 gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer band A7.1.1.1 (R_f 0.32, 12 mg).

7.3.1 (2*R*, 3*S*, 4*R*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-2'-[(2*R*, 3*S*, 4*R*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-3,4-diasetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavaan (64)

Die R_f 0.32 band [paragraaf 6.3] lewer die oktameteletertriasetaat as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

^1H k.m.r. data, KMR-plate 4 en 5, KMR-tabel 3

MS-skema 2, MS-tabel 2

Sd-plaat 4

Verdere dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) van fraksie A7.2 lewer band A7.2.1 (R_f 0.24, 10 mg). Asetilering van hierdie band gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer 'n R_f 0.32 band. Hierdie fraksie lewer 'n verdere monster van die 3',4',5',7-Tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3,3',4',5',7-penta-O-metiel-robinetien (72).

7.4 Metaboliete van fraksie A8

Metilering van 'n gedeelte (160 mg) van fraksie A8 [Tabel 1], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 40:40:15:15) lewer 'n enkele fraksie, A8.1. Na asetilering en dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) is 'n R_f 0.32 band verkry wat 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol(4 α ,2')-3',4',5',7-tetra-O-metiel-3,4-di-O-asetiel-robinetinidol-4 α -ol (64) gelewer het. Die res van gemetileerde fraksie A8 dui op hoër oligomeriese materiaal en is nie verder ondersoek nie.

7.5 Metaboliete van fraksie A9

Metilering van 'n gedeelte (160 mg) van fraksie A9 [Tabel 1], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 40:40:13:7, v/v/v/v) lewer drie beduidende fraksies, A9.1 (R_f 0.48, 39 mg), A9.2 (R_f 0.41, 20 mg) en A9.3 (R_f 0.38, 14 mg).

Verdere dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) van fraksie A9.1 lewer band A9.1.1 (R_f 0.41, 37 mg). Asetilering van band A9.1.1 gevolg deur dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v)

lewer 'n R_f 0.37 band wat 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3,3',4',5',7-penta-O-metiel-robinetien (72) gelewer het.

Verdere dlc-skeiding (B:A:, 9:1, v/v) van fraksie A9.2 lewer band A9.2.1 (R_f 0.28, 16 mg). Asetilering gevolg deur dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) lewer band A9.2.1.1 (R_f 0.31, 12 mg).

7.5.1 (2*R*, 3*S*, 4*S*)-2,3-*trans*-3,4-*cis*-2'-[(2*R*, 3*S*, 4*R*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-3,4-diasetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavaan (62)

Die R_f 0.31 band A9.2.1.1 [paragraaf 6.5] lewer die oktametieletertriasetaat as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

^1H k.m.r. data, KMR-plaat 3, KMR-tabel 2

MS-skema 2, MS-tabel 2

Sd-plaat 3

Dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) van fraksie A9.3 [paragraaf 6.5] lewer band A9.3.1 (R_f 0.57, 9.0 mg) wat nie asetilering ondergaan nie. Verdere dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) lewer band A9.3.1.1 (R_f 0.38, 7.0 mg). Hierdie band lewer 'n verdere monster van 3,3',4',5',7-pentametoksi-2'-[(2*R*,3*S*,4*R*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-flavoon (72).

7.6 Metaboliete van fraksie A10

Metilering van 'n gedeelte (100 mg) van fraksie A10 [Tabel 1], gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 8:2, v/v) lewer twee beduidende fraksies, A10.1 (R_f 0.46, 7.0 mg) en A10.2 (R_f 0.34, 20 mg).

Asetilering van fraksie A10.1 lewer na dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) 'n verdere monster van die 3,3',4',5',7-pentametoksi-2'-[(2R,3S,4R)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-flavoon (72).

Verdere dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) van fraksie A10.2 lewer band A10.2.1 (R_f 0.30, 14 mg). Asetilering gevolg deur dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) lewer 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol(4 α ,2')-3',4',5',7-tetra-O-metiel-3,4-di-O-asetiel-robinetinidol-4 α -ol (64).

7.7 Metaboliete van fraksie A11

Blootstelling van 'n gedeelte (100 mg) van fraksie A11 [Tabel 1] aan verdere kolomchromatografie met Sephadex LH-20 as stasionêre fase (2.5 cm x 75 cm kolom), vloeispoed-20 ml/30 min) en etanol : water (1:1, v/v) as elueermiddel, lewer vryfenoliese fraksie A11.1 (20 mg). Die res van die materiaal dui op hoër oligomere en is nie verder ondersoek nie.

7.7.1 (2*R*, 3*R*)-2,3-*trans*-2'-[(2*R*, 3*S*, 4*R*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-3,3',4',5',7-pentahidroksiflavan-4-iel]-3',4',5',7-tetrahidroksidihidroflavonol (65)

Vryfenoliese fraksie A11.1 lewer die titelverbinding as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

¹H k.m.r. data, KMR-plaat 7, KMR-tabel 4

Metilering van 'n gedeelte (10 mg) van fraksie A11.1 lewer na dlc-skeiding (B:A, 8:2, v/v) band A11.1.1 (*R_f* 0.40, 9.0 mg). Asetilering van band A11.1.1 gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer band A11.1.1.1 (*R_f* 0.38, 9.0 mg).

7.7.2 (2*R*, 3*R*)-2,3-*trans*-2'-[(2*R*, 3*S*, 4*R*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-3',3',4',5',7-pentametoksiflavoone (66)

Die *R_f* 0.38 band lewer die titelverbinding as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*. Dit verteenwoordig die metieleterasetaatderivaat van robinetinidol-(4 α ,2')-(+)-dihidrorobinetien (65) en bevestig aldus die vryfenol se struktuur.

7.8 Metaboliete van fraksie A12

Na metilering van 'n gedeelte (160 mg) van fraksie A12 [Tabel 1] dui dit op hoër oligomeriese materiaal en is gevolglik nie verder ondersoek nie.

HOOFSTUK 8

VERDERE ISOLASIE VAN FLAVANOÏEDE UIT DIE KERNHOUT VAN *ROBINIA PSEUDACACIA*

'n Gedeelte (20 g) van fraksie 2 [paragraaf 6.1] is met behulp van kolomchromatografie (Kolom B) met Sephadex LH-20 as stasionêre fase (5 x 170 cm kolom, vloeispoed-20 ml/30 min) en etanol as elueermiddel geskei. Na oordeelkundige kombinasie met behulp van dlc (benseen : asetoon : metanol) [6:3:1, v/v/v] is die volgende fraksies verkry:

| Fraksie Nommer | Proefbuis Nommer | Opbrengs (mg) |
|-------------------|---------------------|------------------|
| B1 | 1- 128 | 241.2 |
| B2 | 129- 161 | 2669.4 |
| B3 | 162- 267 | 391.3 |
| B4 | 268- 336 | 319.3 |
| B5 | 337- 372 | 402.2 |
| B6 | 373- 400 | 326.6 |
| B7 | 401- 466 | 788.9 |
| B8 | 467- 503 | 426.8 |
| B9 | 504- 528 | 540.2 |
| B10 | 529- 612 | 1674.4 |
| B11 | 613- 651 | 483.3 |
| B12 | 652- 716 | 871.6 |

Tabel 2

'n Aanvanklike ondersoek het daarop gedui dat fraksies B1-B4 hoofsaaklik uit bekende monomeriese flavanoïede⁷ bestaan en is gevolglik nie verder ondersoek nie.

8.1 Metaboliete van fraksie B5

Metilering van 'n gedeelte (160 mg) van fraksie B5 [Tabel 2], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 40:40:12:8, v/v/v/v) lewer 'n beduidende fraksie: B5.1 (R_f 0.40, 10 mg). Metilering gevolg deur dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) lewer band B5.1.1 (R_f 0.30, 8.0 mg). Na asetilering van band B5.1.1 is 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3',4',5',7-tetra-O-metiel-3,4-di-O-asetiel-robinetinidol-4 α -ol (64) verkry. Die res van die gemetileerde fraksie B5 het gedui op hoër oligomeriese materiaal en is gevolglik nie verder ondersoek nie.

8.2 Metaboliete van fraksie B6

Metilering van 'n gedeelte (160 mg) van fraksie B6 [Tabel 2], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 44:42:8:6, v/v/v/v) lewer 'n enkele beduidende fraksie, B6.1 (R_f 0.22, 36 mg).

Verdere dlc-skeiding (H:B:A:M, 40:30:13:7, v/v/v/v) van fraksie B6.1 lewer band B6.1.1 (R_f 0.45, 32 mg). Asetilering gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer band B6.1.1.1 (R_f 0.26, 31 mg).

8.2.1 (2*R*, 3*R*)-2,3-*trans*-8-[(2*R*, 3*S*, 4*R*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavanon (70)

Die R_f 0.26 band B6.1.1.1 [paragraaf 7.2] lewer die titelverbinding as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

¹H k.m.r. data, KMR-plaat 9, KMR-tabel 5

MS-skema 5, MS-tabel 4

Sd-plaat 7

8.3 Metaboliete van fraksie B7

Metilering van 'n gedeelte (100 mg) van fraksie B7 [Tabel 2], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 44:42:8:6, v/v/v/v) lewer twee beduidende fraksies, B7.1 (R_f 0.17, 38 mg) en B7.2 (R_f 0.23, 14 mg).

Asetilering van fraksie B7.1 gevolg deur verdere dlc-skeiding [B:A, 9:1(x2), v/v] lewer band B7.1.1 (R_f 0.39, 20 mg). Verdere dlc-skeiding (T:MEK, 85:15(x5), v/v) van band B7.1.1 lewer twee fraksies nl: B7.1.1.1 (R_f 0.52, 10 mg) en B7.1.1.2 (R_f 0.56, 8.2 mg)

8.3.1 (2*R*, 3*S*, 4*S*)-2,3-*trans*-3,4-*cis*-6-[(2*R*, 3*S*, 4*S*)-2,3-*trans*-3,4-*cis*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-3,4-diasetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavaan (58)

Die R_f 0.52 band lewer die titelverbinding as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

¹H k.m.r. data, KMR-plaat 1, KMR-tabel 1

MS-skema 1, MS-tabel 1

Sd-plaat 1

Die R_f 0.56 band lewer 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4β,2')-3',4',5',7-tetra-O-metiel-3,4-di-O-asetiel-robinetinidol-4α-ol (60).

Asetilering van fraksie B7.2 [paragraaf 7.3] gevolg deur verdere dlc-skeiding (H:A:EA, 60:20:15(x2), v/v/v) lewer twee beduidende bande naamlik B7.2.1 (R_f 0.35, 3.0 mg) en B7.2.2 (R_f 0.46, 7.0 mg).

8.3.2 (2*R*, 3*R*)-2,3-*trans*-6-[(2*R*, 3*S*, 4*S*)-2,3-*trans*-3,4-*cis*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavan-4-iel]-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksiflavanoon (68)

Die R_f 0.35 band lewer die titelverbinding as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

^1H k.m.r. data, KMR-plaat 8, KMR-tabel 5

MS-skema 4, MS-tabel 3

Sd-plaat 6

Die R_f 0.46 band lewer 'n verdere monster van die 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3',4',5',7-tetra-O-metiel-3,4-di-O-asetiel-robinetinidol-4 β -ol (62).

8.4 Metaboliete van fraksie B8

Metilering van 'n gedeelte (100 mg) van fraksie B8 [Tabel 2], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 44:42:8:6(x2), v/v/v/v) lewer 'n enkele beduidende fraksie, B8.1 (R_f 0.35, 10 mg). Die res van gemetileerde materiaal blyk hoër oligomere te wees en is gevolglik nie verder ondersoek nie.

Asetilering van fraksie B8.1 lewer na dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) band B8.1.1 (R_f 0.45, 9.0 mg). Hierdie band B8.1.1 lewer 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-

asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3',4',5',7-tetra-O-metiel-3,4-di-O-asetiel-robinetinidol-4 β -ol (62).

8.5 Metaboliete van fraksie B9

Metilering van 'n gedeelte (100 mg) van fraksie B9 [Tabel 2], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 44:42:8:6(x2), v/v/v/v) lewer twee beduidende fraksies, B9.1 (R_f 0.46, 35 mg) en B9.2 (R_f 0.53, 15 mg).

Verdere dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) van fraksie B9.1 lewer 'n enkele beduidende band B9.1.1 (R_f 0.44, 31 mg). Asetilering van hierdie band lewer 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3,3',4',5',7-penta-O-metiel-robinetien (72).

Verdere dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) van fraksie B9.2 lewer band B9.2.1 (R_f 0.60, 14 mg). Asetilering van band B9.2.1 gevolg deur dlc-skeiding (H:A:EA, 65:20:15, v/v/v) lewer band B9.2.1.1 (R_f 0.38, 11 mg), wat 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3',4',5',7-tetra-O-metiel-3,4-di-O-asetiel-robinetinidol-4 α -ol (64) gelewer het.

8.6 Metaboliete van fraksie B10

Metilering van 'n gedeelte (100 mg) van fraksie B10 [Tabel 2], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 44:42:8:6, v/v/v/v) lewer drie beduidende fraksies, B10.1 (R_f 0.31, 21 mg), B10.2 (R_f 0.35, 20 mg) en B10.3 (R_f 0.44, 10 mg).

Asetilering van fraksie B10.1 gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) gee band B10.1.1 (R_f 0.32, 19 mg) wat 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3',4',5',7-tetra-O-metiel-3,4-di-O-asetiel-robinetinidol-4 α -ol (64) gelewer het.

Asetilering van fraksie B10.2 gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer band B10.2.1 (R_f 0.36, 18 mg) wat 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3',4',5',7-tetra-O-metiel-3,4-di-O-asetiel-robinetinidol-4 β -ol (62) verteenwoordig.

Asetilering van fraksie B10.3 gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer band B10.3.1 (R_f 0.40, 8.6 mg) wat 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3,3',4',5',7-penta-O-metiel-robinetien (72) gegee het.

8.7 Metaboliete van fraksie B11

Metilering van 'n gedeelte (100 mg) van fraksie B11 [Tabel 2], gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 44:42:8:6(x2), v/v/v/v) lewer 'n enkele beduidende fraksie, B11.1 (R_f 0.49, 9 mg). Die res van gemetileerde materiaal dui op hoër oligomere en is gevolglik nie verder ondersoek nie.

Asetilering van fraksie B11.1 gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer band B11.1.1 (R_f 0.38, 6.8 mg) wat 'n verdere monster van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3,3',4',5',7-penta-O-metiel-(+)-dihidrorobinetien (66) gegee het.

8.8 Metaboliete van fraksie B12

Na metilering van 'n gedeelte (100 mg) van fraksie B12 [Tabel 2] dui dit op hoër oligomeriese materiaal en is gevolglik nie verder ondersoek nie.

HOOFSTUK 9

POGINGS TOT DIE SINTESE VAN GEÏSOLEERDE BIFLAVANOÏEDE

Kondensasiereaksies van (+)-leukorobinetinidien met pirogallol asook met (+)-dihidrorobinetien is onder suurtoestande ondersoek.

9.1 Suurgekataliseerde kondensasie van (+)-leukorobinetinidien en pirogallol

'n Mengsel van (+)-leukorobinetinidien (1) [100 mg] en pirogallol (300 mg) is in 0,7% etanoliese HCl (25 ml) vir twee ure by kamertemperatuur geroer, waarna die temperatuur tot 50°C verhoog is en die mengsel vir 'n verdere 4 ure geroer is. Water (200 ml) is bygevoeg, waarna die reaksiemengsel met etielasetaat (5 x 100 ml) geëkstraheer is. Droging (Na₂SO₄) van die gekombineerde ekstrakte en indamping onder vakuum het 'n donkerbruin poeier (370 mg) gelewer. Kolomchromatografiese skeiding (Sephadex LH-20, 5 x 90 cm kolom, vloeispoed-20 ml/30 min) met etanol : water (1:1, v/v) as elueermiddel het drie fraksies gelewer.

Fraksie 1 bestaan uit ongereageerde pirogallol (222 mg).

Metilering van fraksie 2 (38 mg) gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer fraksies by R_f 0.13 (5 mg) en R_f 0.23 (22 mg) onderskeidelik. Asetilering van die R_f 0.13 fraksie lewer 'n band (B:A, 9:1, v/v) by R_f 0.52 (5 mg), terwyl asetilering van die R_f 0.23 fraksie 'n band (B:A, 9:1(x2), v/v) by R_f 0.56 (22 mg) lewer.

9.1.1 (2*R*, 3*S*, 4*R*)-2,3-*cis*-3,4-*trans*-3-asetoksi-3',4',5',7,8-pentametoksi-4 α -
(2,4-dimetoksifeniel)flavaan (84)

Die R_f 0.52 band lewer die titelverbinding as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

¹H k.m.r. data, KMR-plaat 14, KMR-tabel 11

Sd-plaat 12

9.1.2 (2*R*, 3*S*, 4*S*)-2,3-*trans*-3,4-*cis*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksi-4 β -
(2,3,4-trimetoksifeniel)flavaan (80)

Die R_f 0.56 band lewer die titelverbinding as 'n *ligbruin amorfe vaste stof*.

¹H k.m.r. data, KMR-plaat 12, KMR-tabel 10

Sd-plaat 10

Metilering van kolomfraksie 3 (10 mg) [paragraaf 9.1] gevolg deur dlc-skeiding (B:A, 9:1, v/v) lewer 'n enkele band by R_f 0.16 (8 mg). Asetilering van hierdie band lewer na dlc-skeiding (B:A, 9:1(x2), v/v) 'n band by R_f 0.57 (7 mg).

9.1.3 (2*R*, 3*S*, 4*S*)-2,3-*trans*-3,4-*trans*-3-asetoksi-3',4',5',7-tetrametoksi-4 α -
(2,3,4-trimetoksifeniel)flavaan (82)

Die R_f 0.57 band lewer die titelverbinding as 'n *geelwit amorfe vaste stof*.

¹H k.m.r. data, KMR-plaat 13, KMR-tabel 10

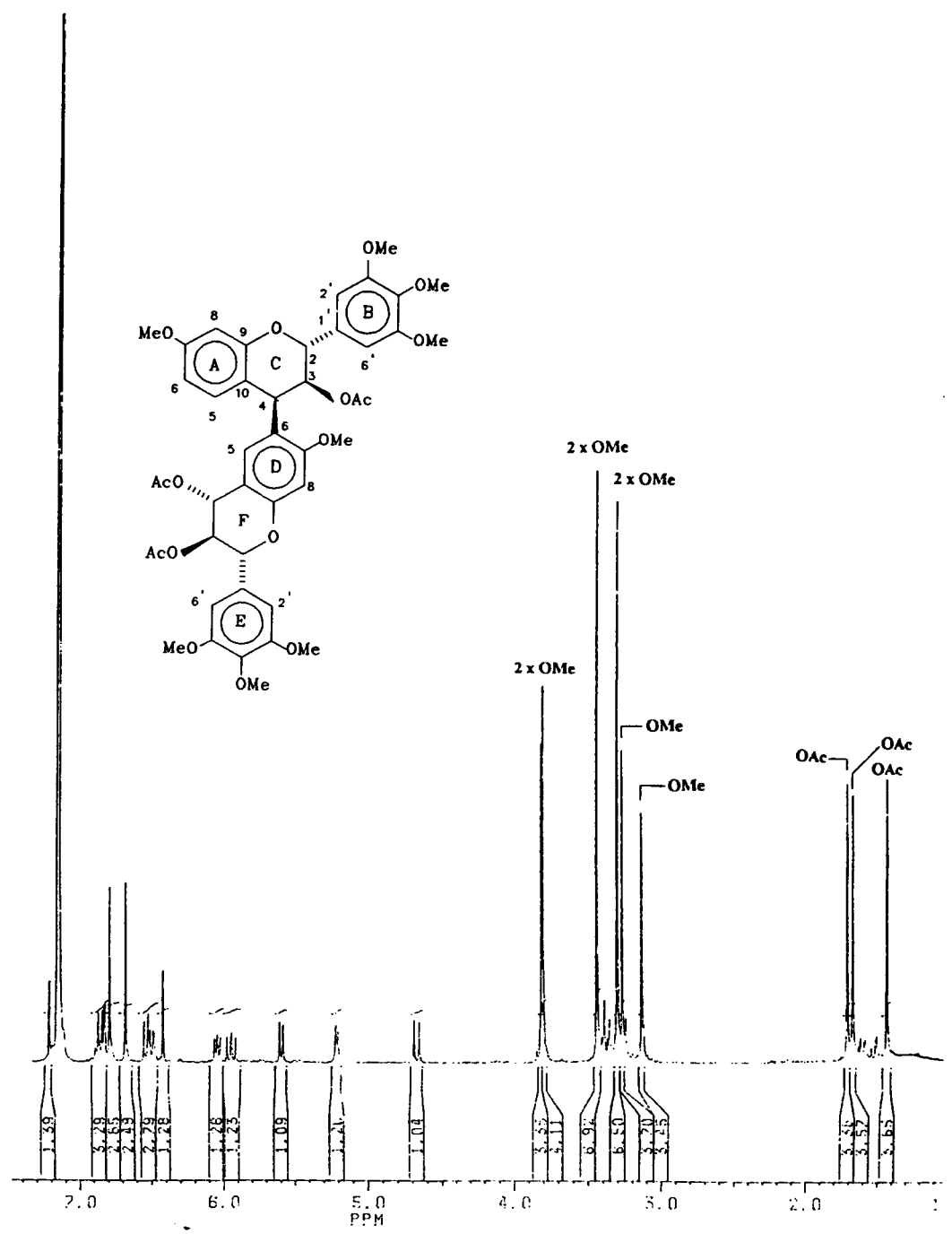
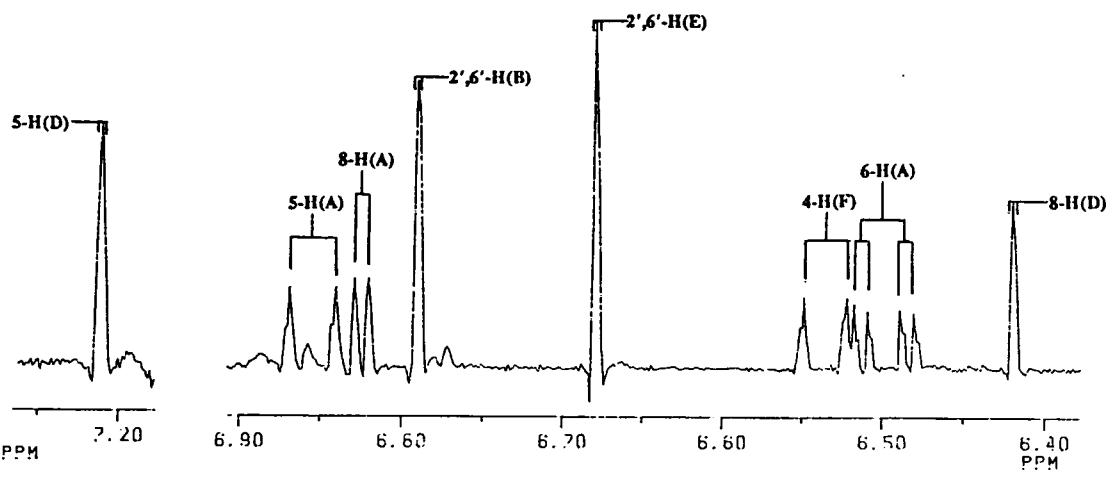
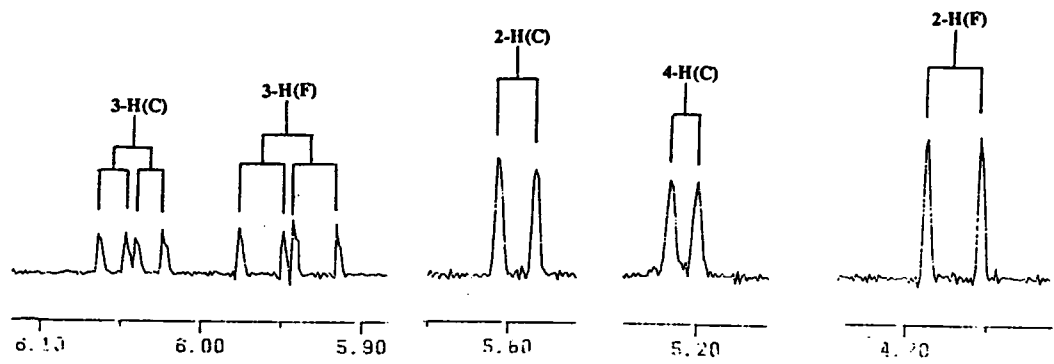
Sd-plaat 11

9.2 Suurgekataliseerde kondensasie van (+)-leukorobinetinidien en (+)-dihidro-robinetien

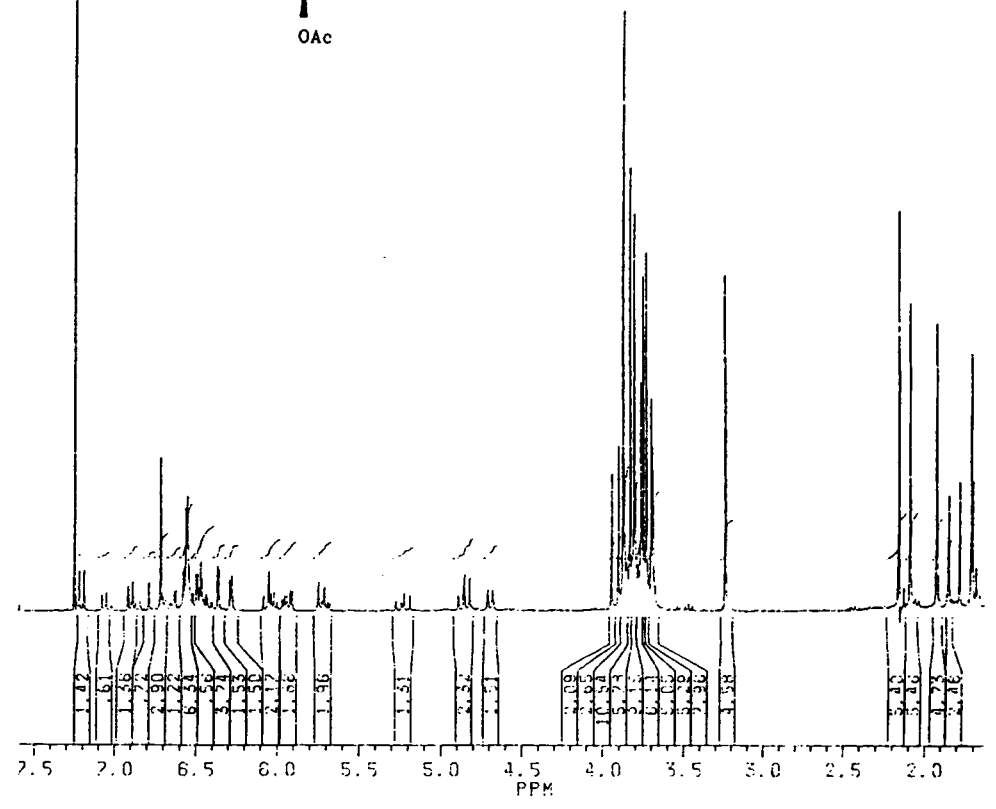
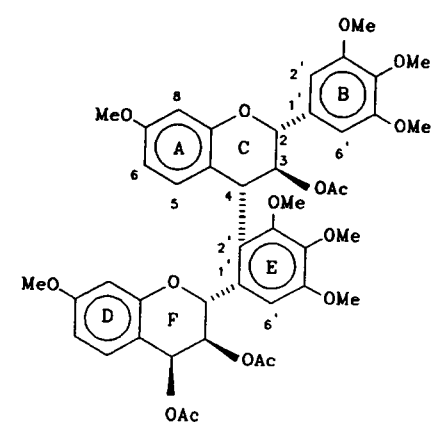
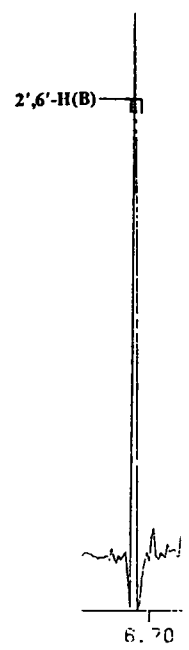
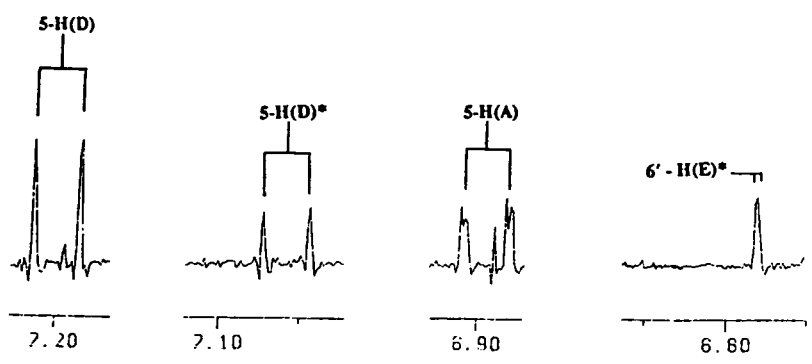
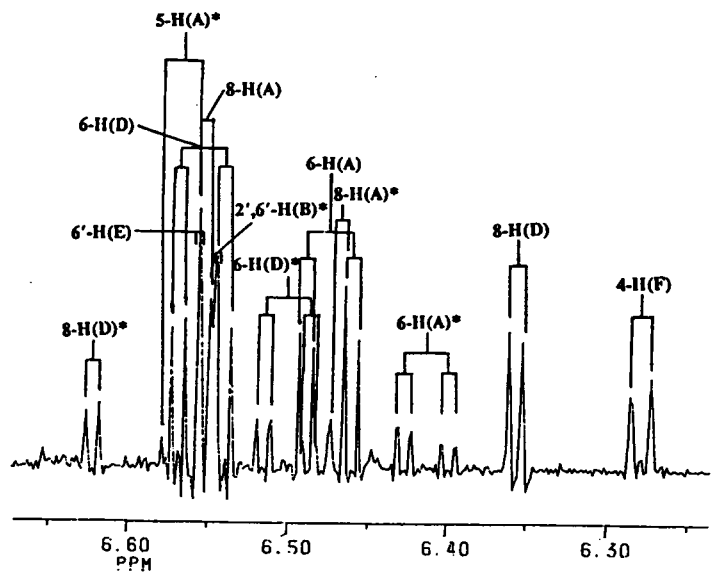
'n Mengsel van (+)-leukorobinetinidien (1) [300 mg] en (+)-dihidrorobinetien (3) [600 mg] is in 0,7 % etanoliese HCl (100 ml) vir 15 uur by 50°C onder 'n argonatmosfeer geroer. Die reaksiemengsel is met ys afgekoel en met etielasetaat (6 x 150 ml) geëkstraheer. Nadat die etielasetaat gedroog (Na₂SO₄) en onder verminderde druk ingedamp is, is 'n rooibruin poeier (684,4 mg) verkry.

Metilering van 'n gedeelte (200 mg) van die reaksieproduk gevolg deur dlc-skeiding (H:B:A:M, 42:42:10:6, v/v/v/v) lewer 'n uiters lae opbrengs van die "verwagte" produk 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3,3',4',5',7-penta-O-metiel-(+)-dihidrorobinetien (66) [6 mg] asook 'n klein hoeveelheid van 3',4',5',7-tetra-O-metiel-3-O-asetiel-robinetinidol-(4 α ,2')-3,3',4',5',7-penta-O-metiel-robinetien (72) [4 mg]. Vanweë die groot oormaat (+)-dihidrorobinetien teenwoordig, is dit ook uit die reaksiemengsel geïsoleer.

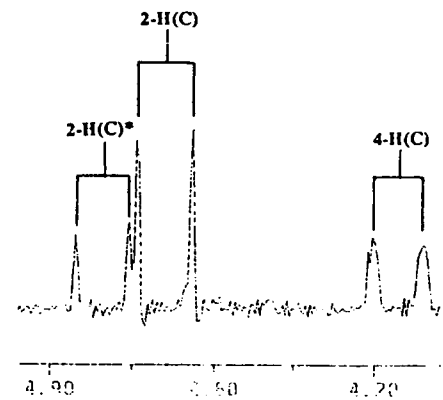
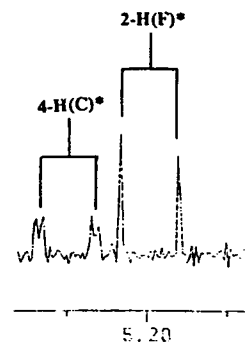
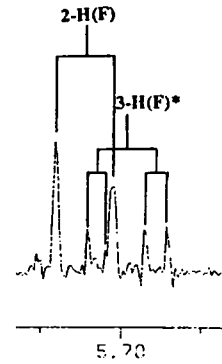
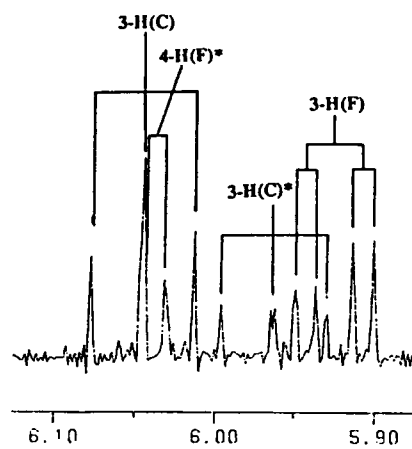
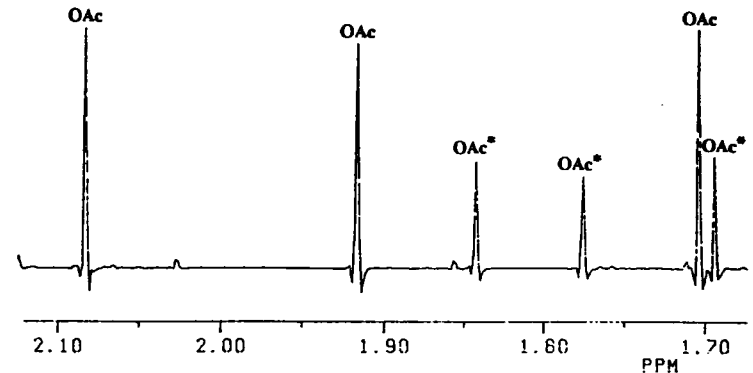
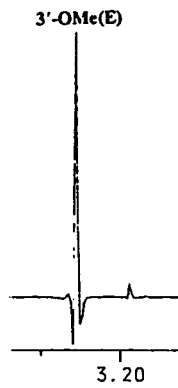
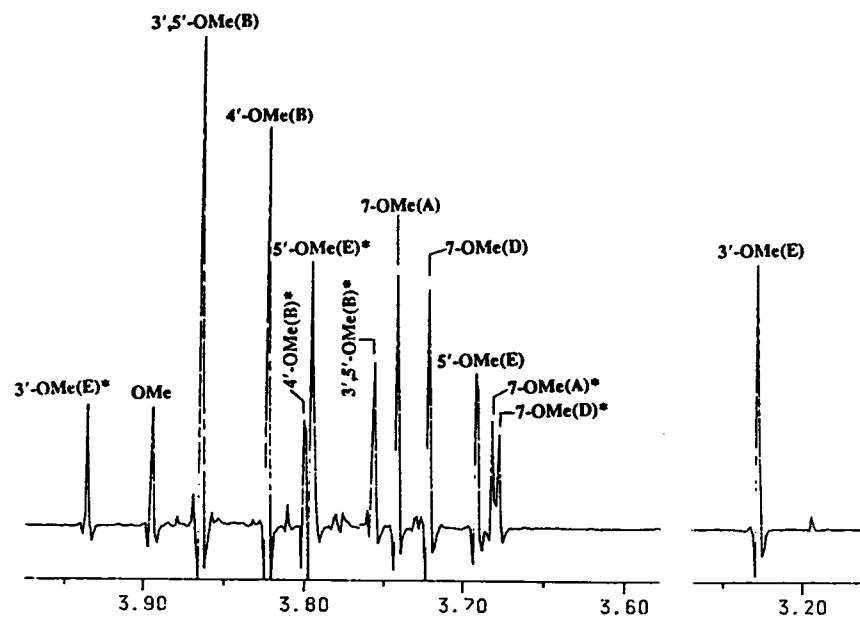
KERNMAGNETIESE RESONANSSPEKTRA



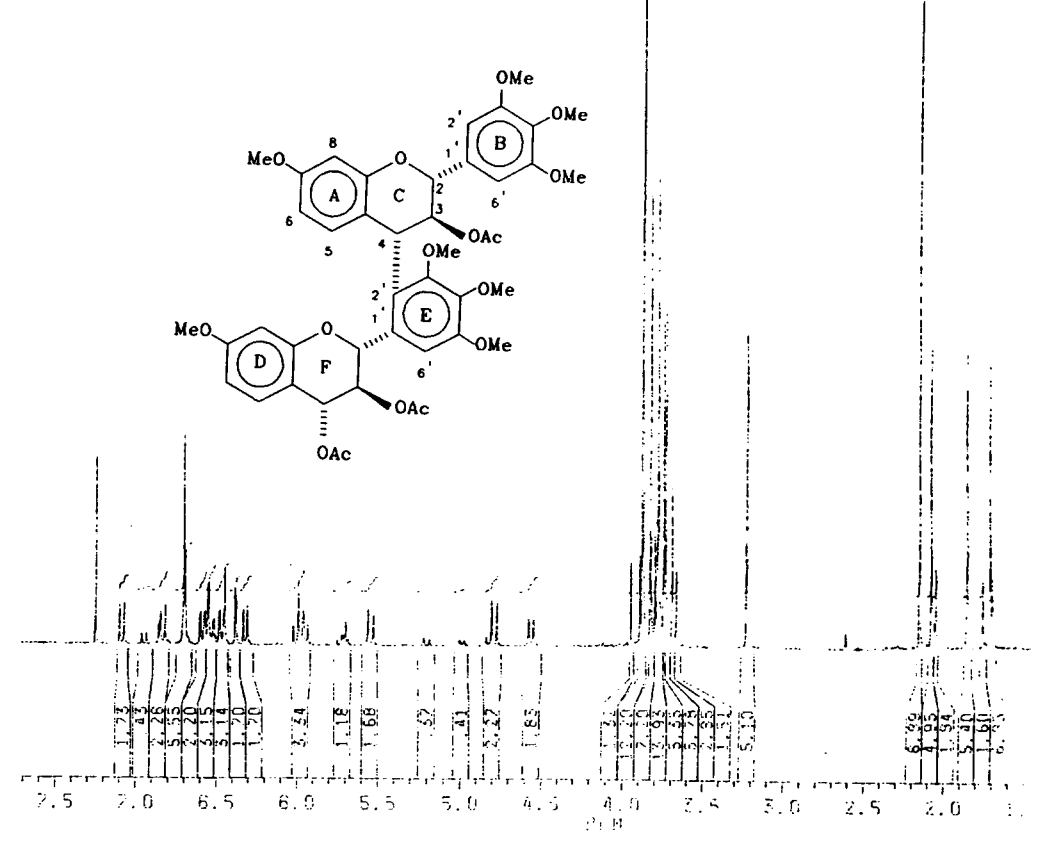
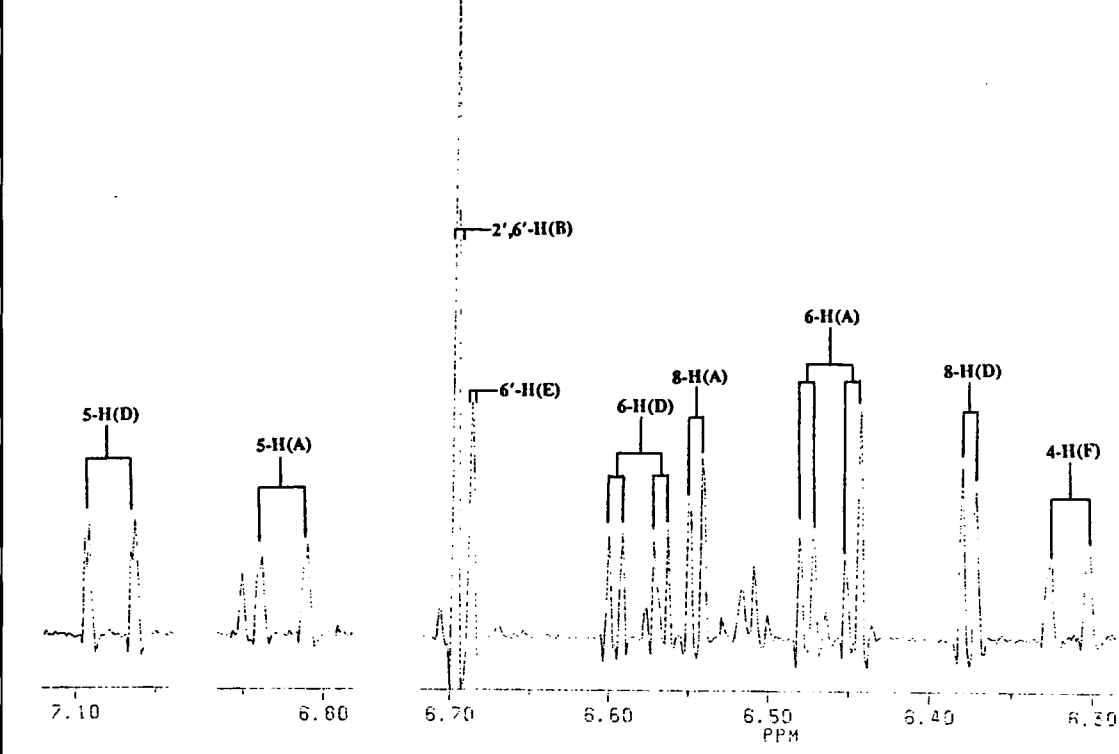
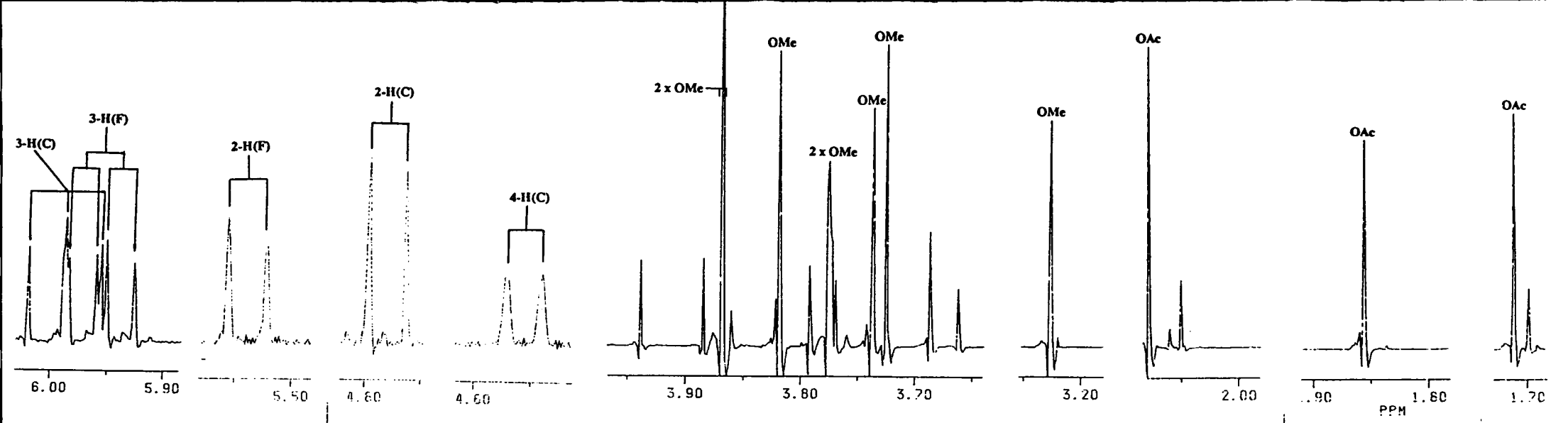
KMR - plaat 2



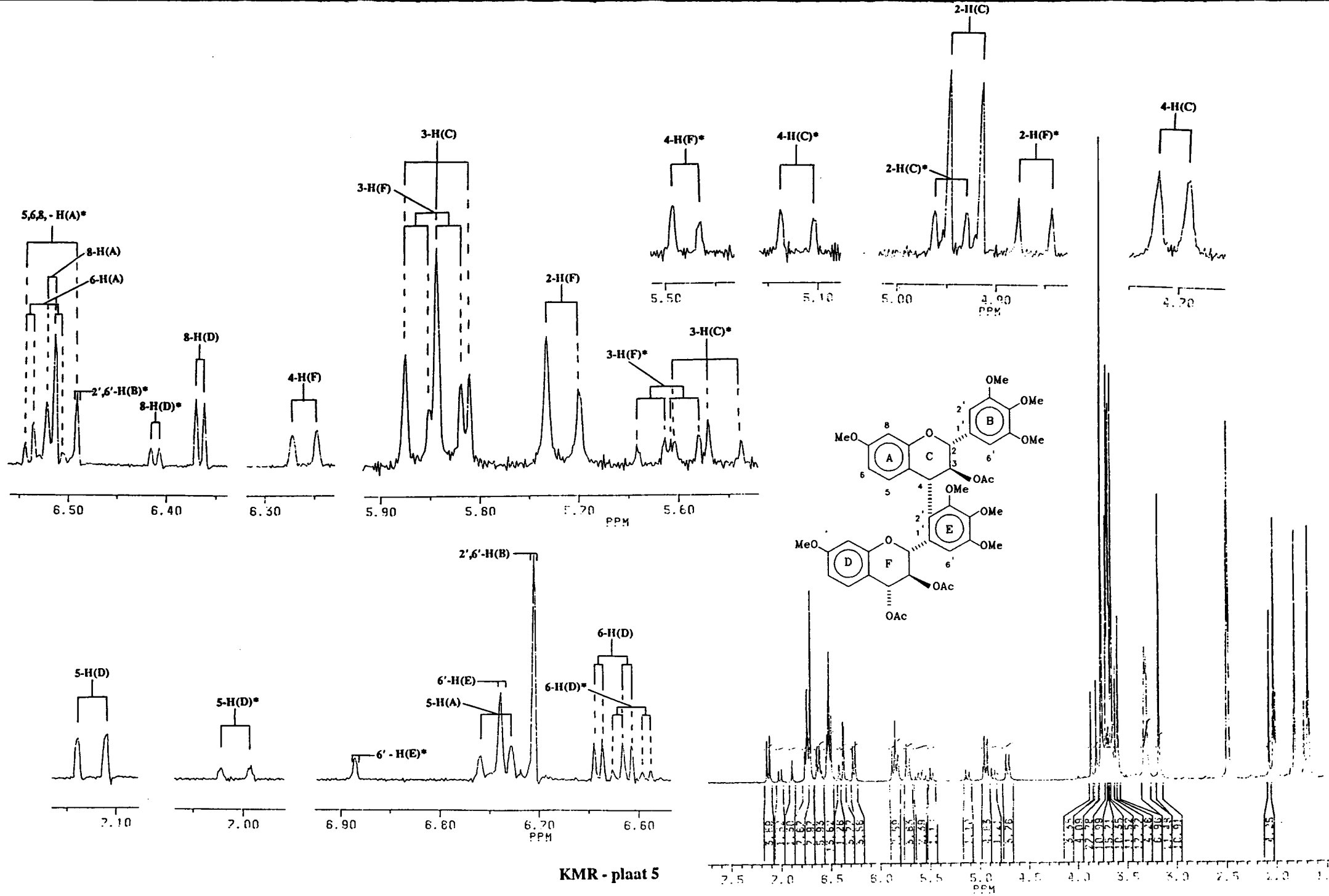
KMR - plaat 3



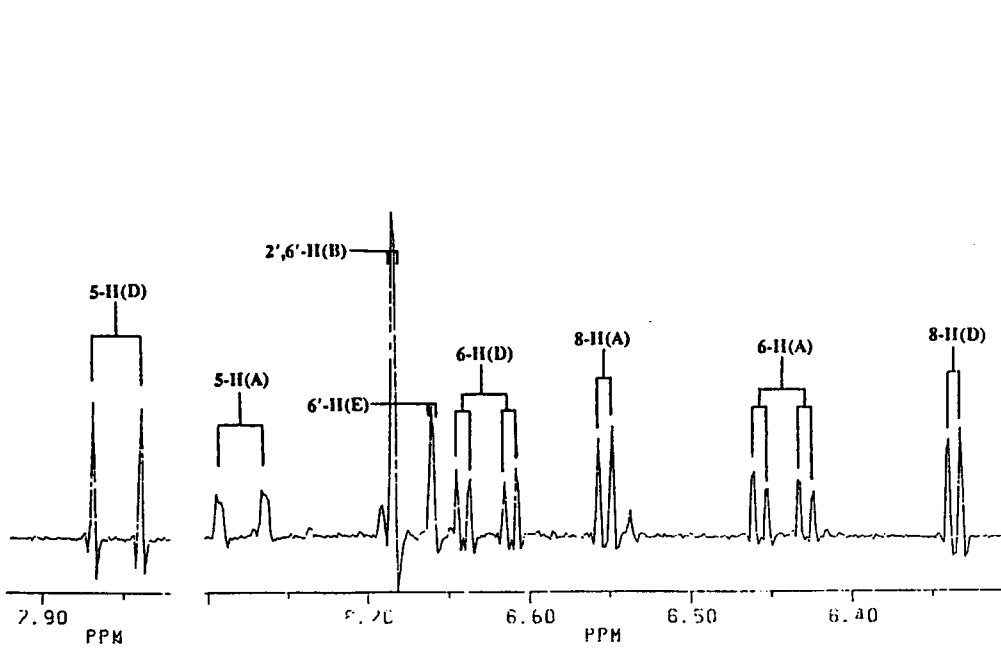
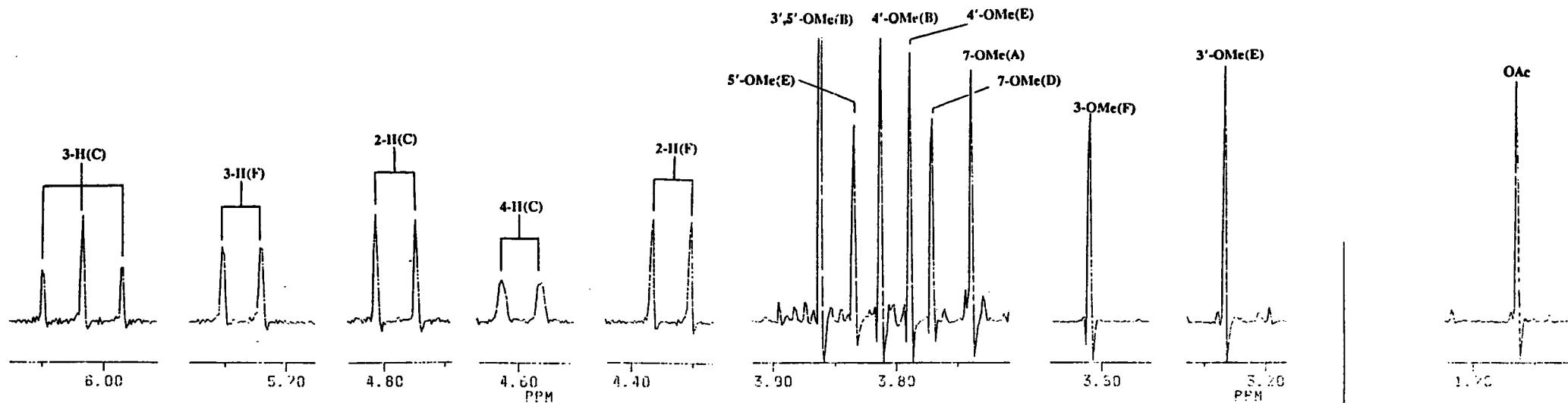
KMR - plaat 3 (vervolg)



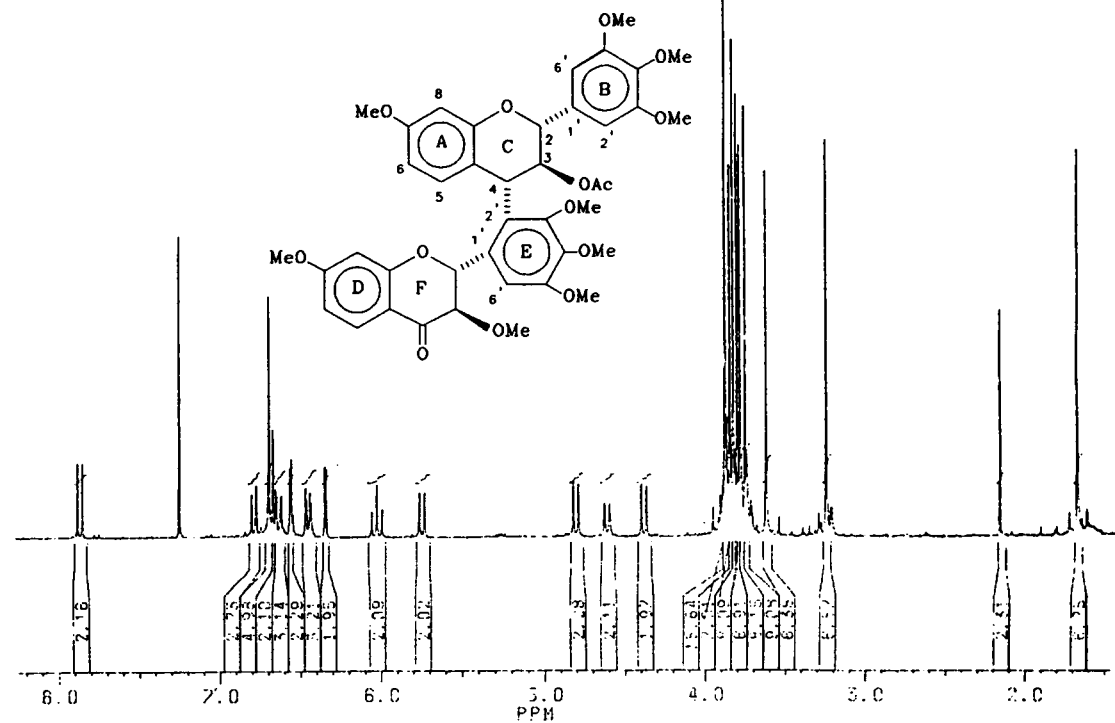
KMR - plaat 4

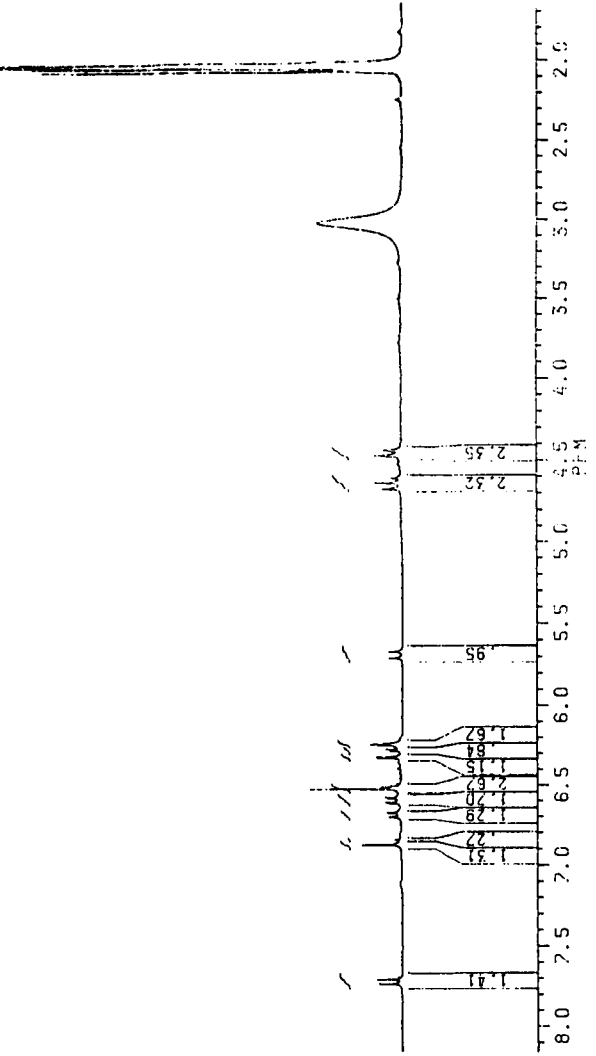
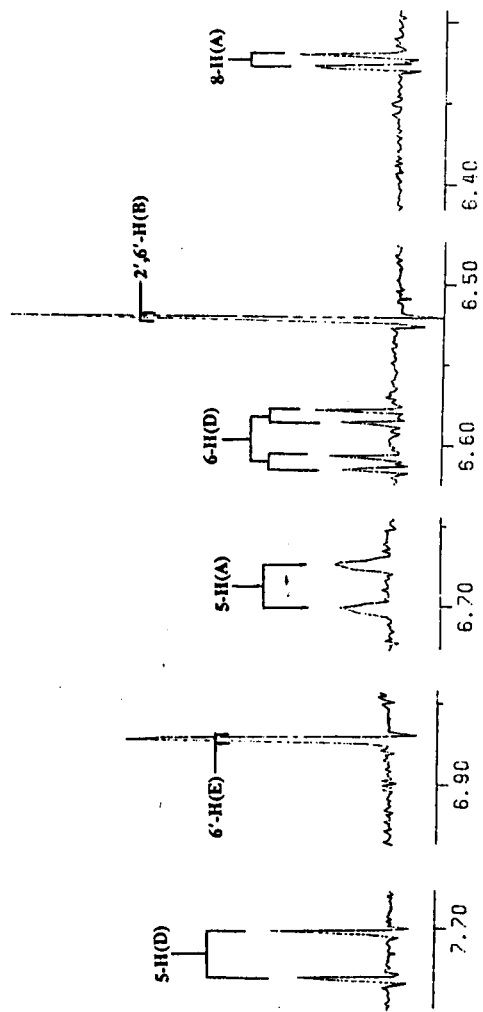
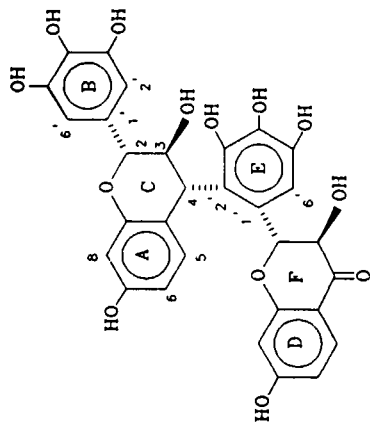
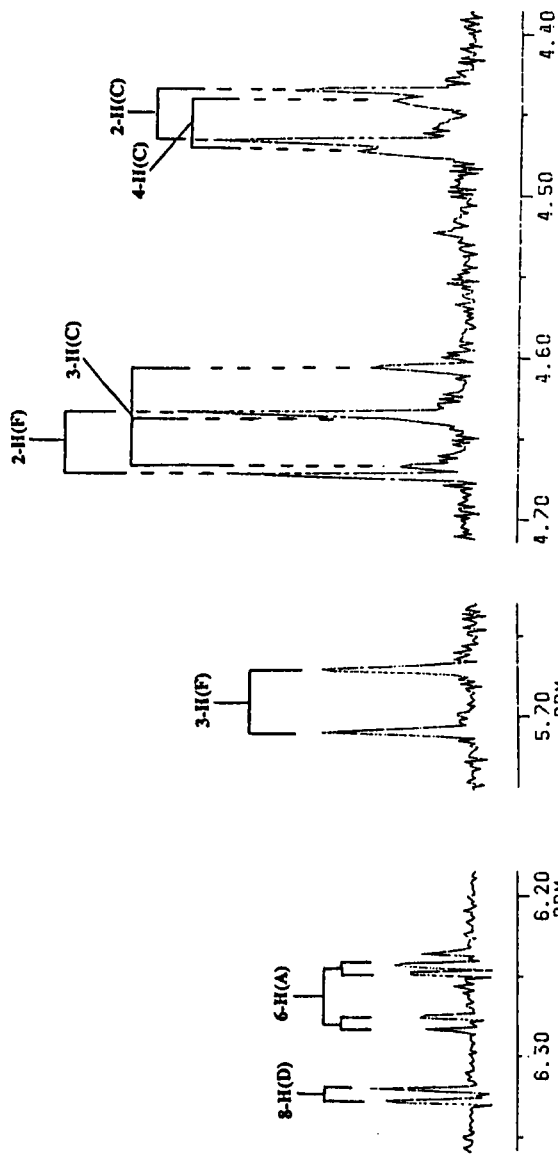


KMR - plaat 5

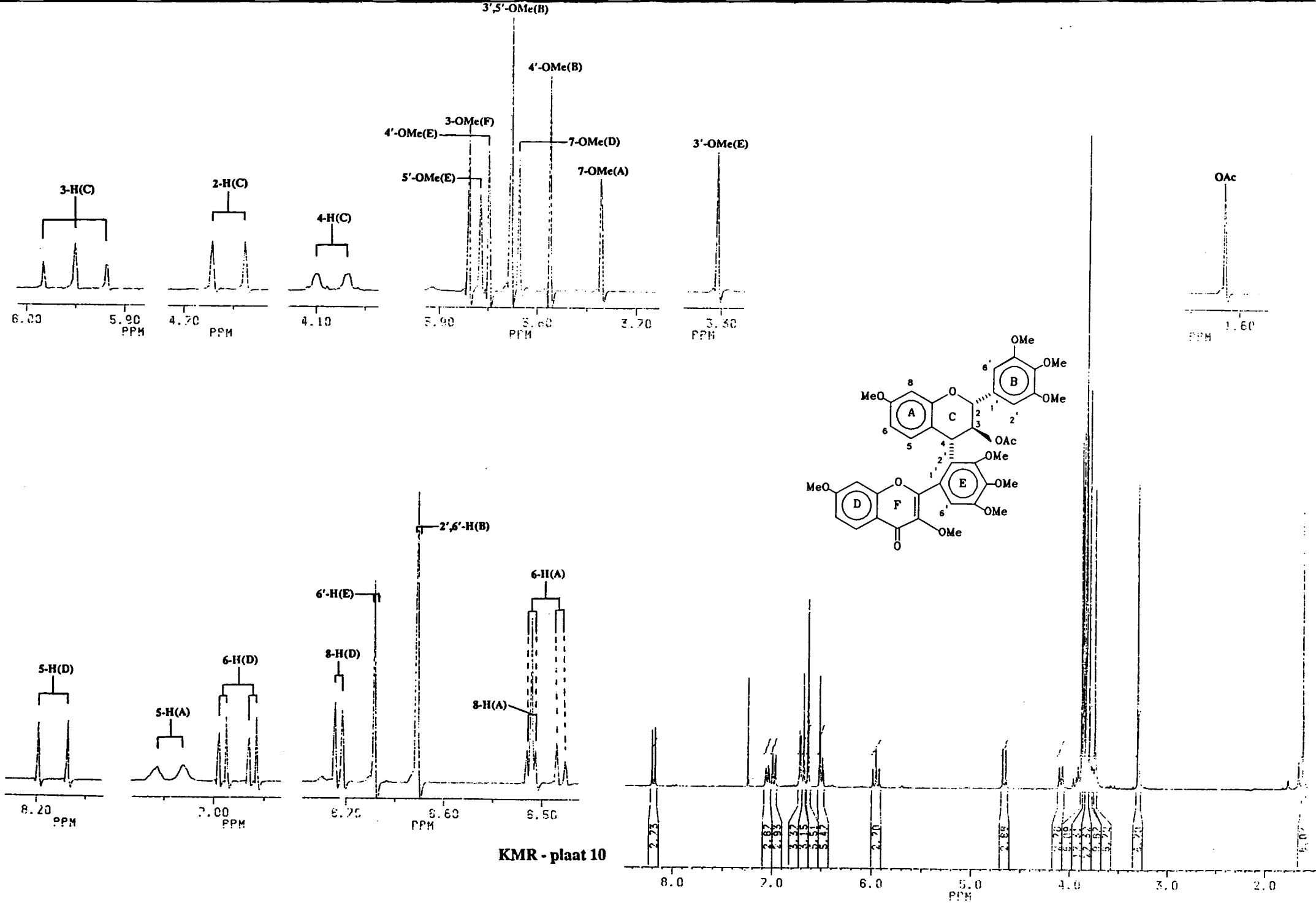


KMR - plaat 6

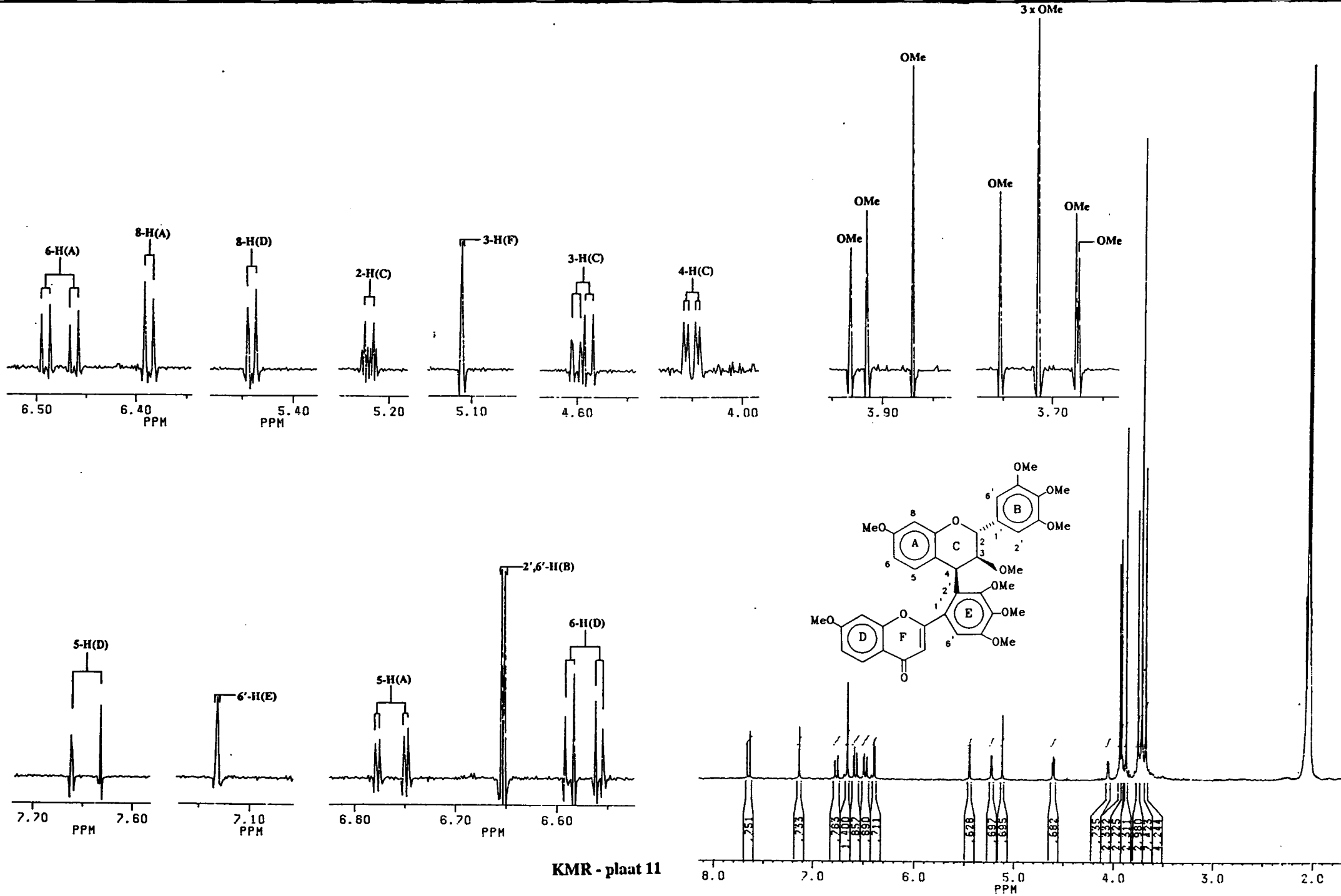




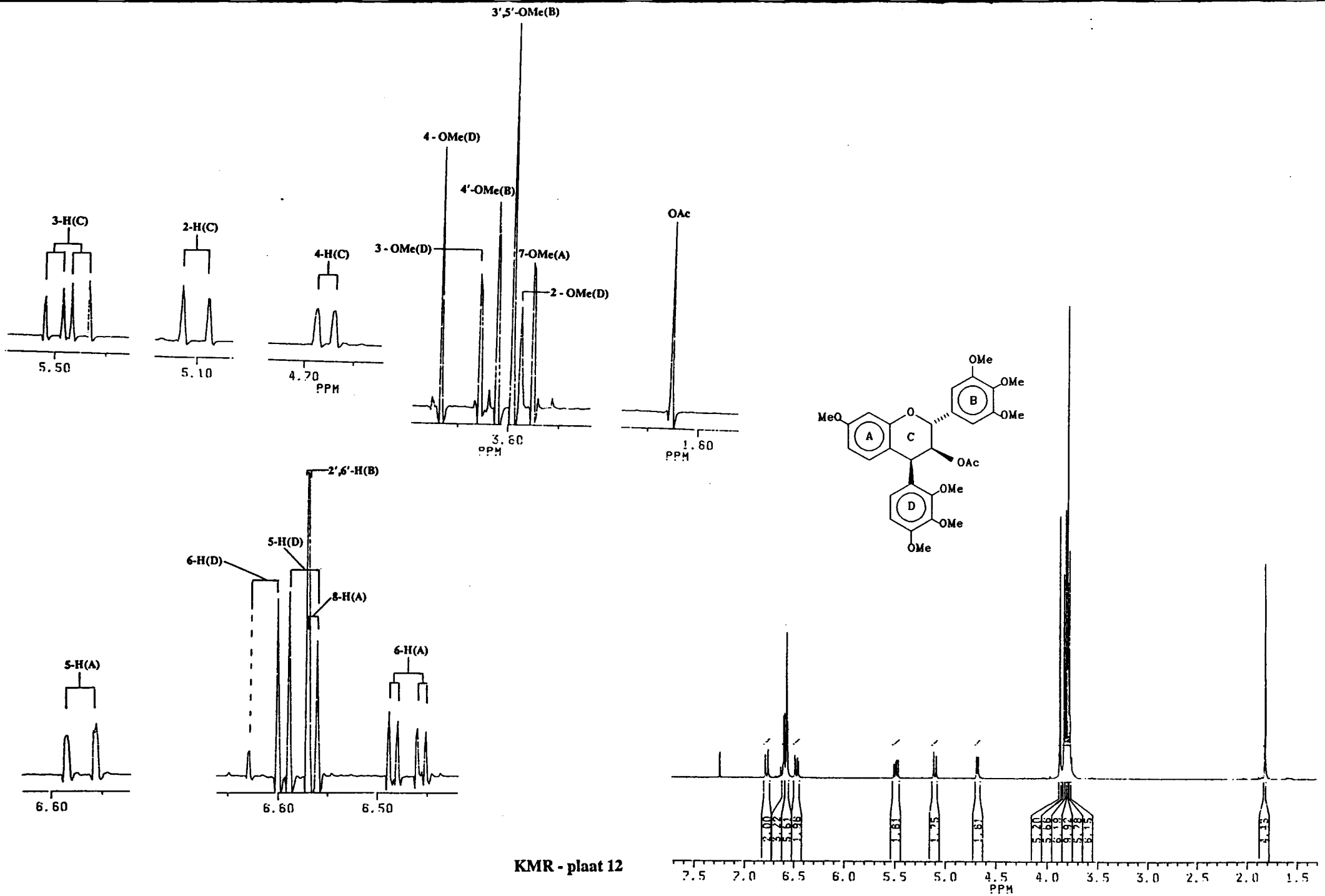
KMR - plaat 7



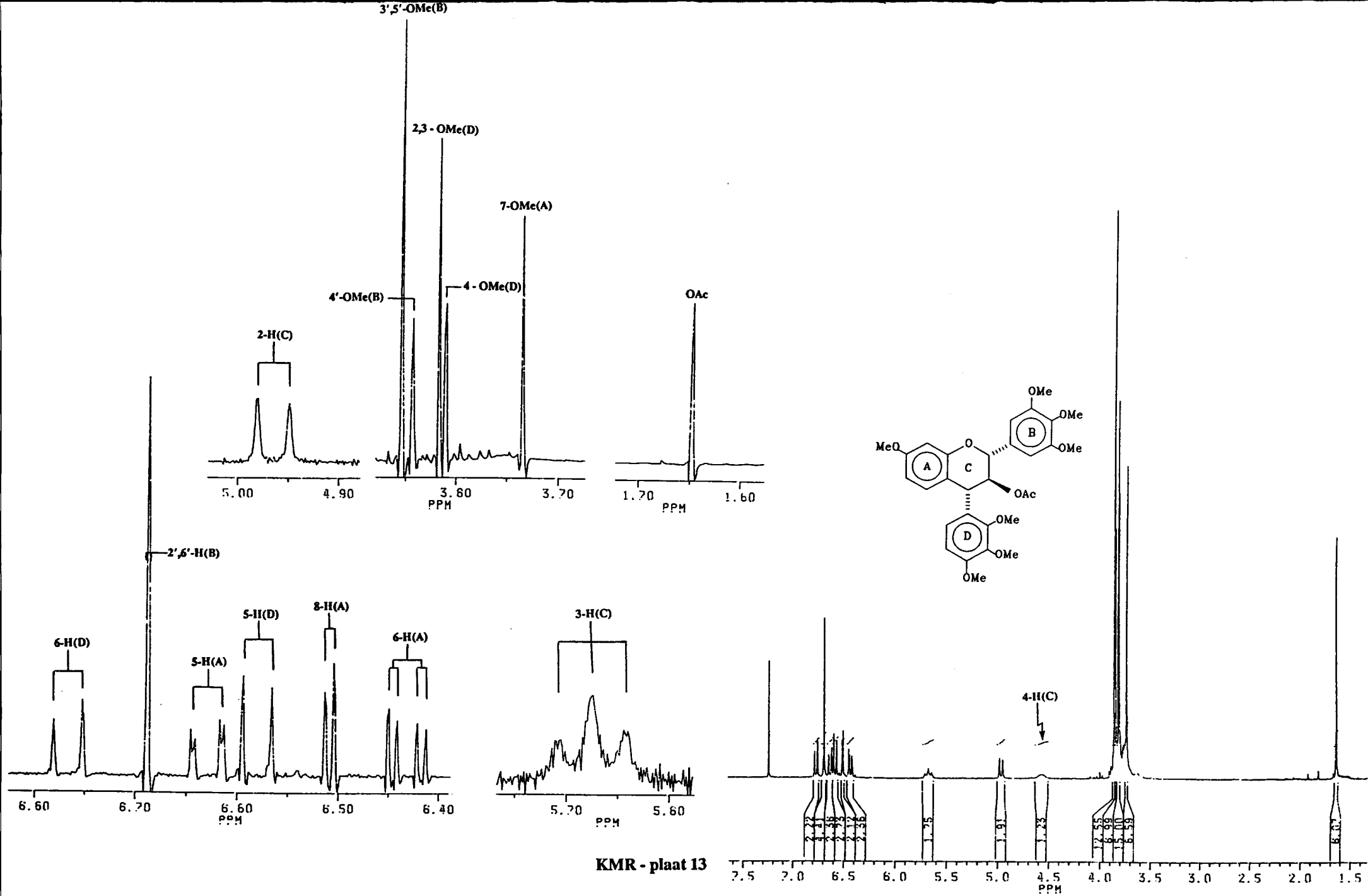
KMR - plaat 10



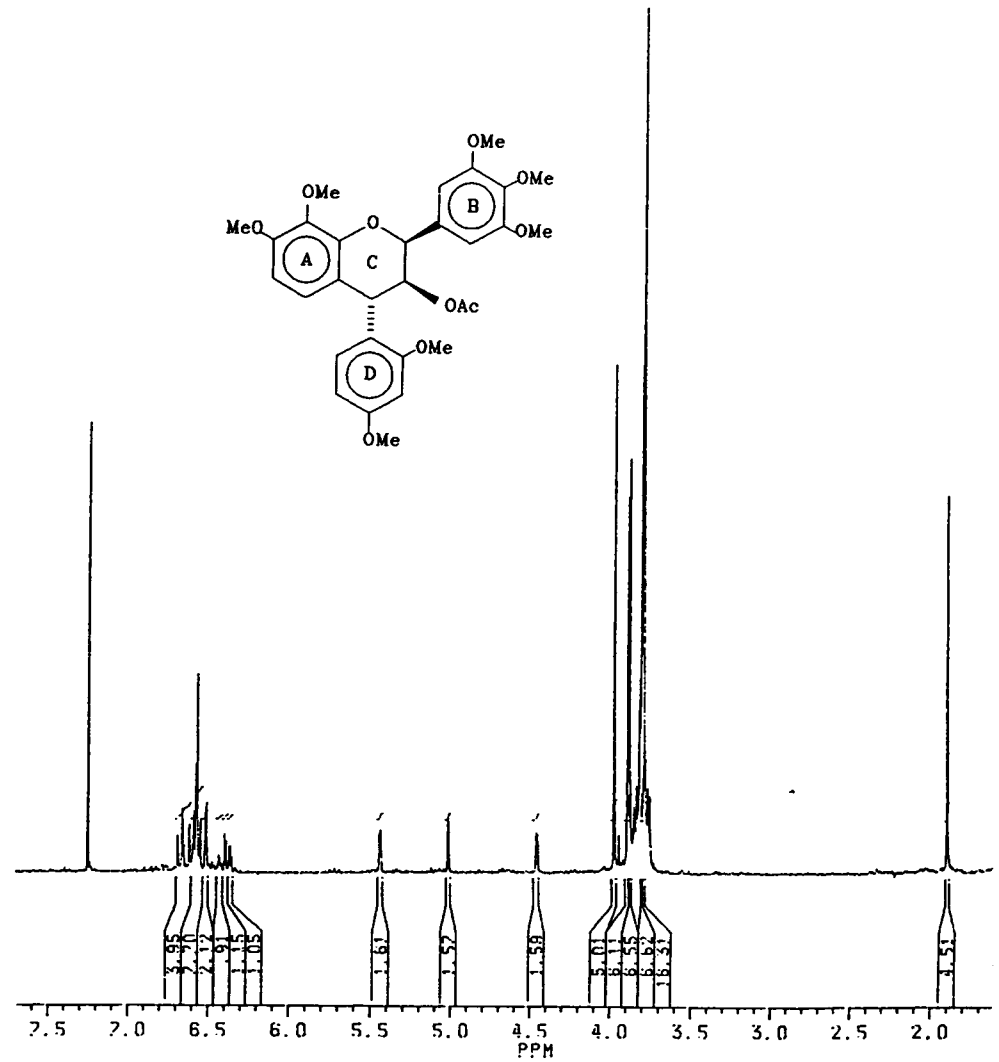
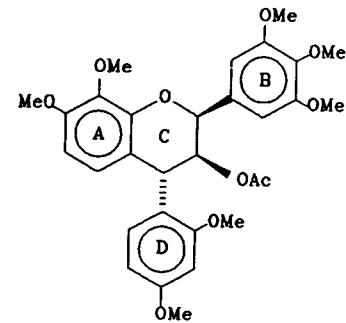
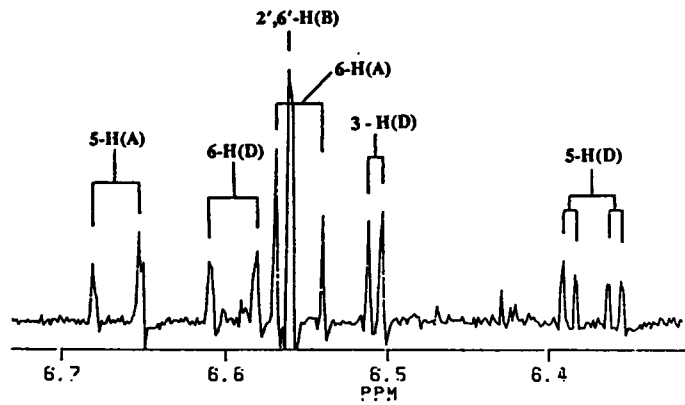
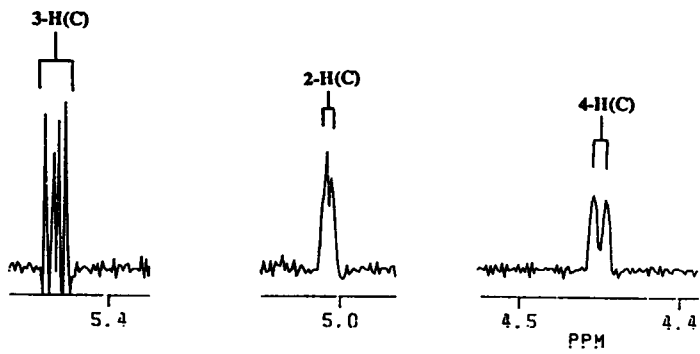
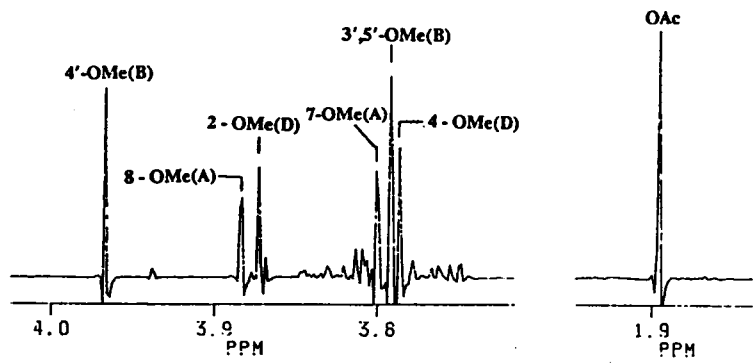
KMR - plaat 11



KMR - plaat 12

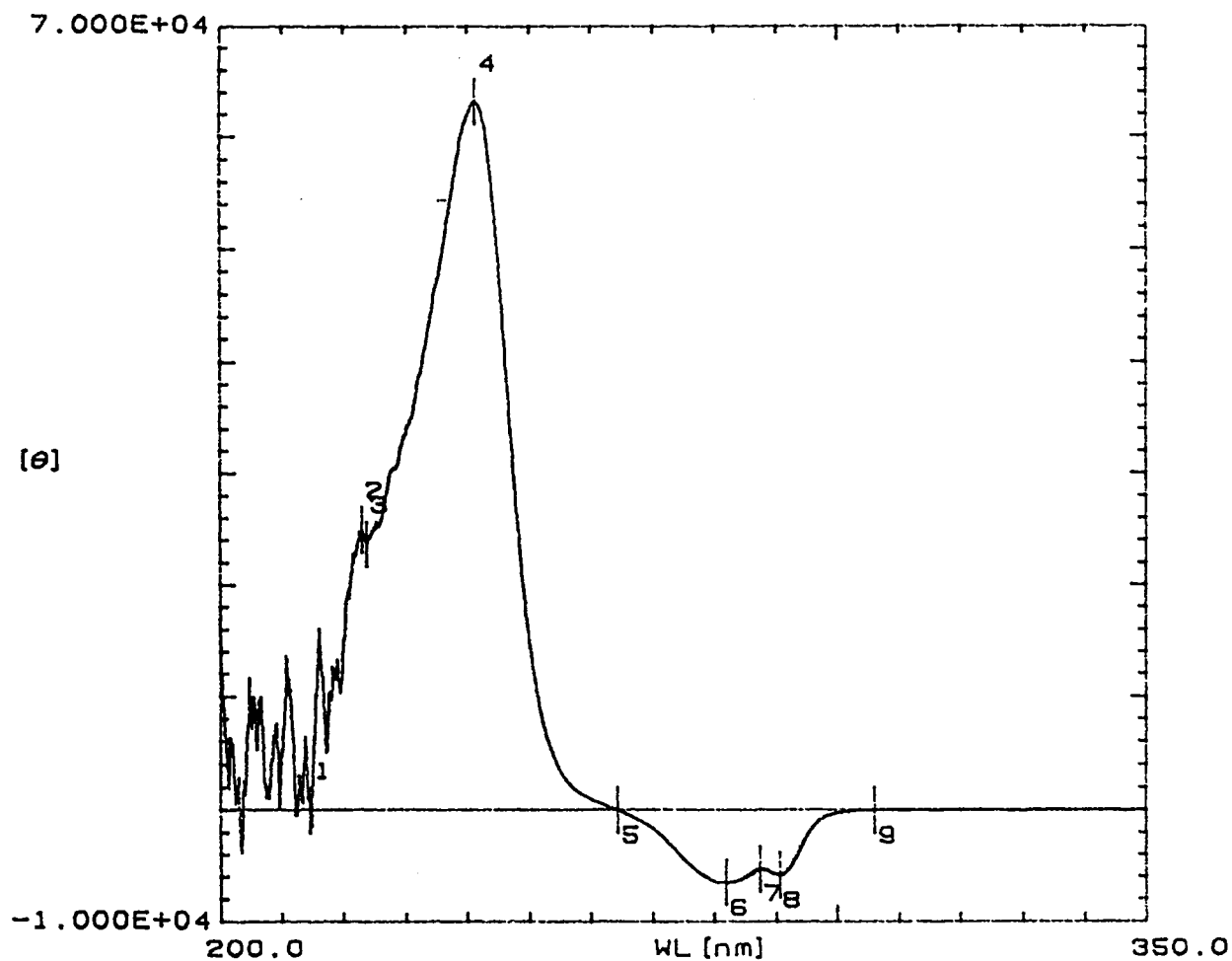


KMR - plaat 13

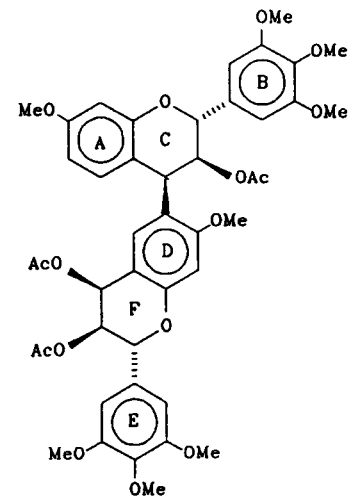


KMR - plaat 14

SIRKULÊRE DICHROÏSME

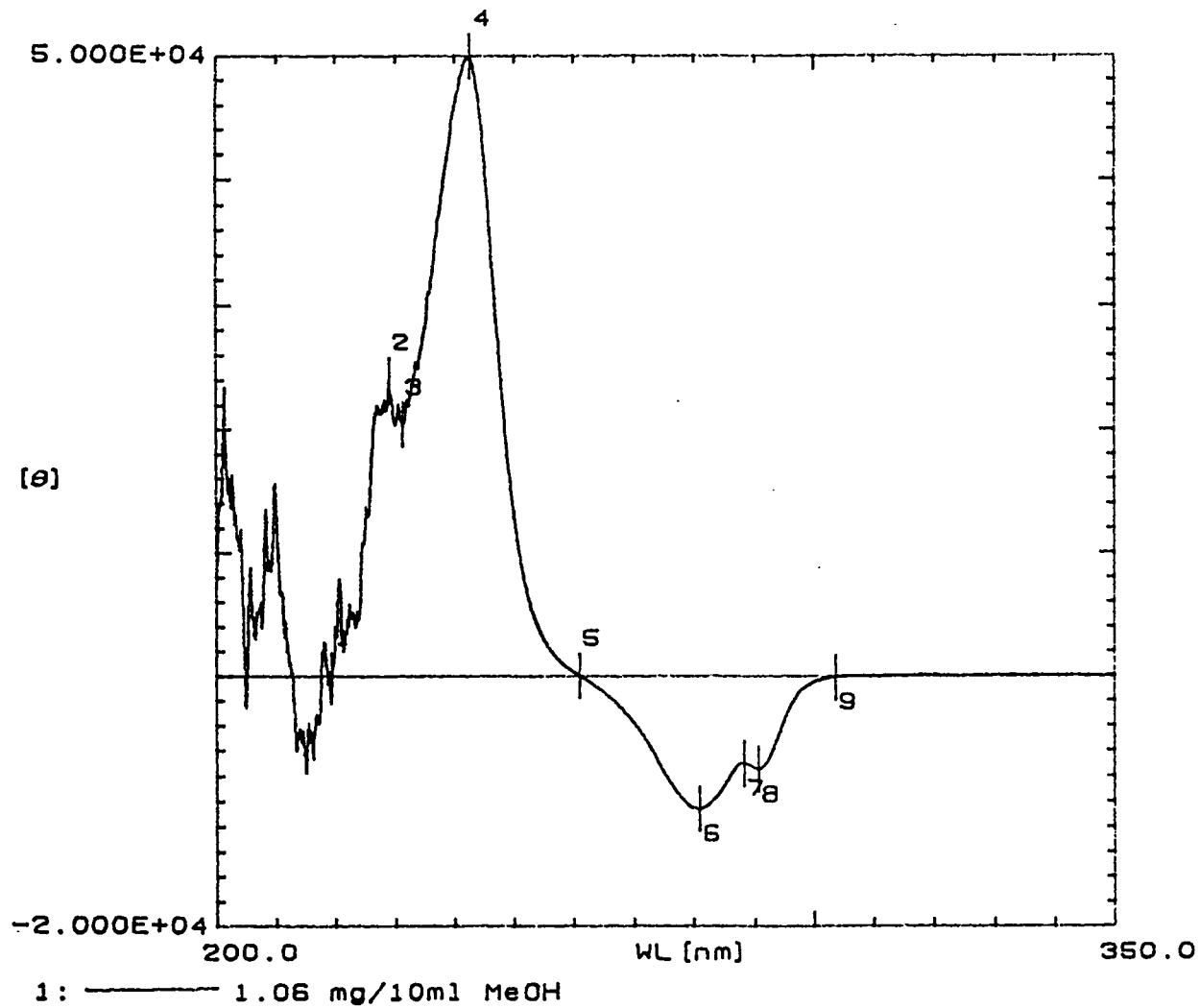


| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 214.70 nm | 2.574E+00 |
| 2 | 223.00 nm | 2.496E+04 |
| 3 | 223.80 nm | 2.367E+04 |
| 4 | 241.30 nm | 6.314E+04 |
| 5 | 264.40 nm | -5.333E+00 |
| 6 | 282.00 nm | -6.622E+03 |
| 7 | 287.50 nm | -5.259E+03 |
| 8 | 290.60 nm | -5.831E+03 |
| 9 | 306.10 nm | -1.338E+00 |

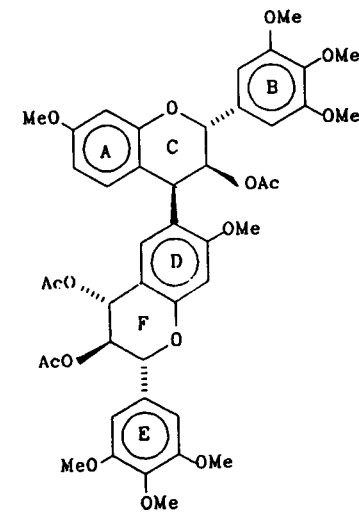


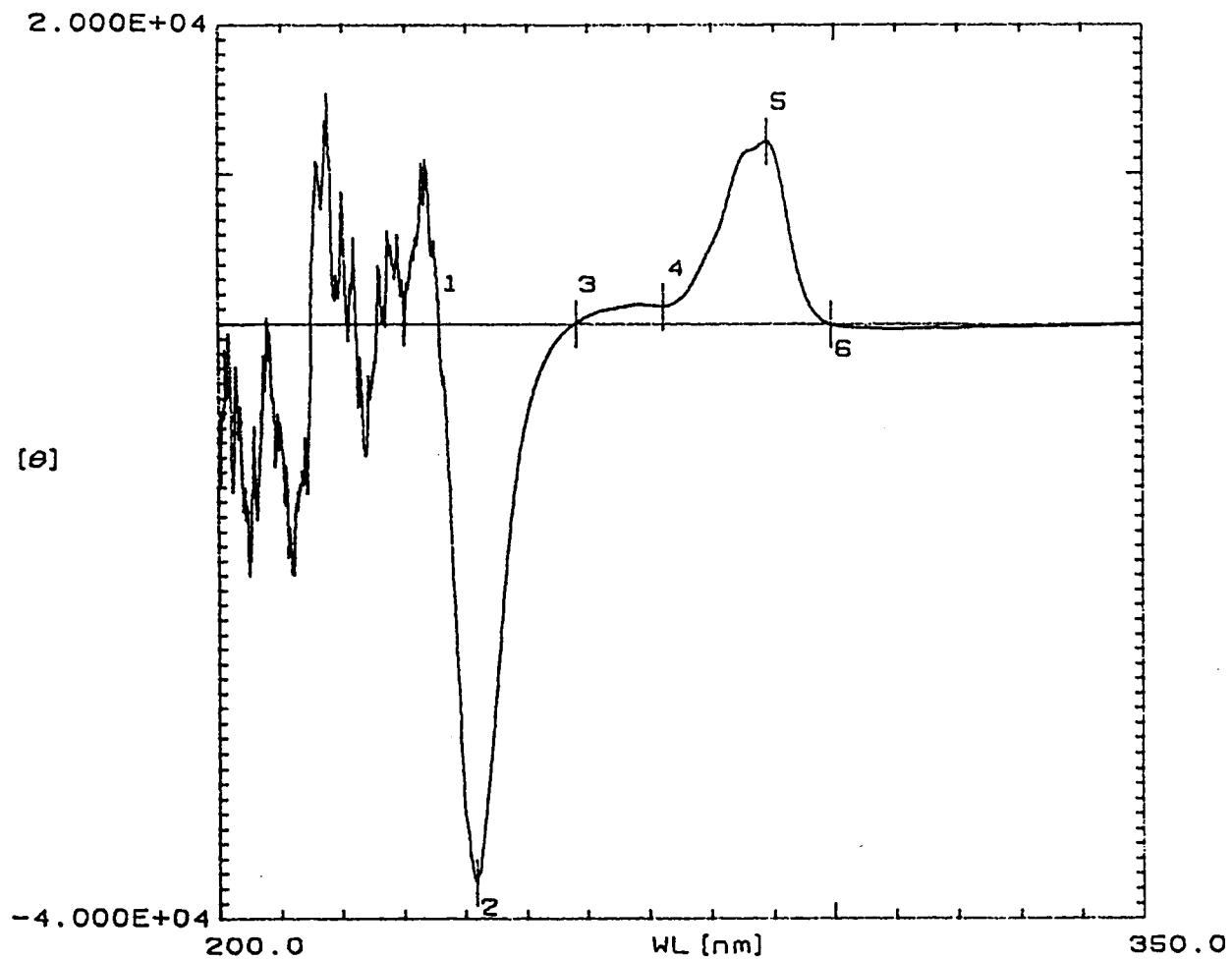
8: ——— 1.24 mg/10ml MeOH

SD - plaat 1

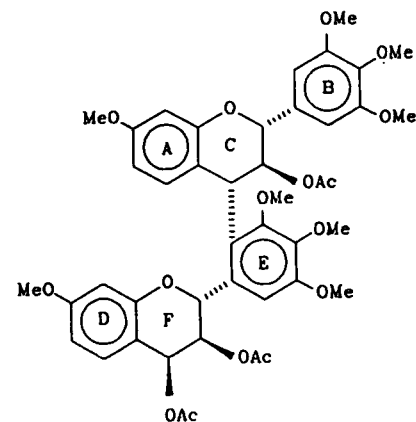


| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 219.40 nm | 1.320E+02 |
| 2 | 229.00 nm | 2.400E+04 |
| 3 | 231.20 nm | 2.042E+04 |
| 4 | 242.60 nm | 4.994E+04 |
| 5 | 260.90 nm | 1.565E+01 |
| 6 | 280.90 nm | -1.056E+04 |
| 7 | 288.30 nm | -6.980E+03 |
| 8 | 290.70 nm | -7.448E+03 |
| 9 | 303.60 nm | -1.052E+02 |

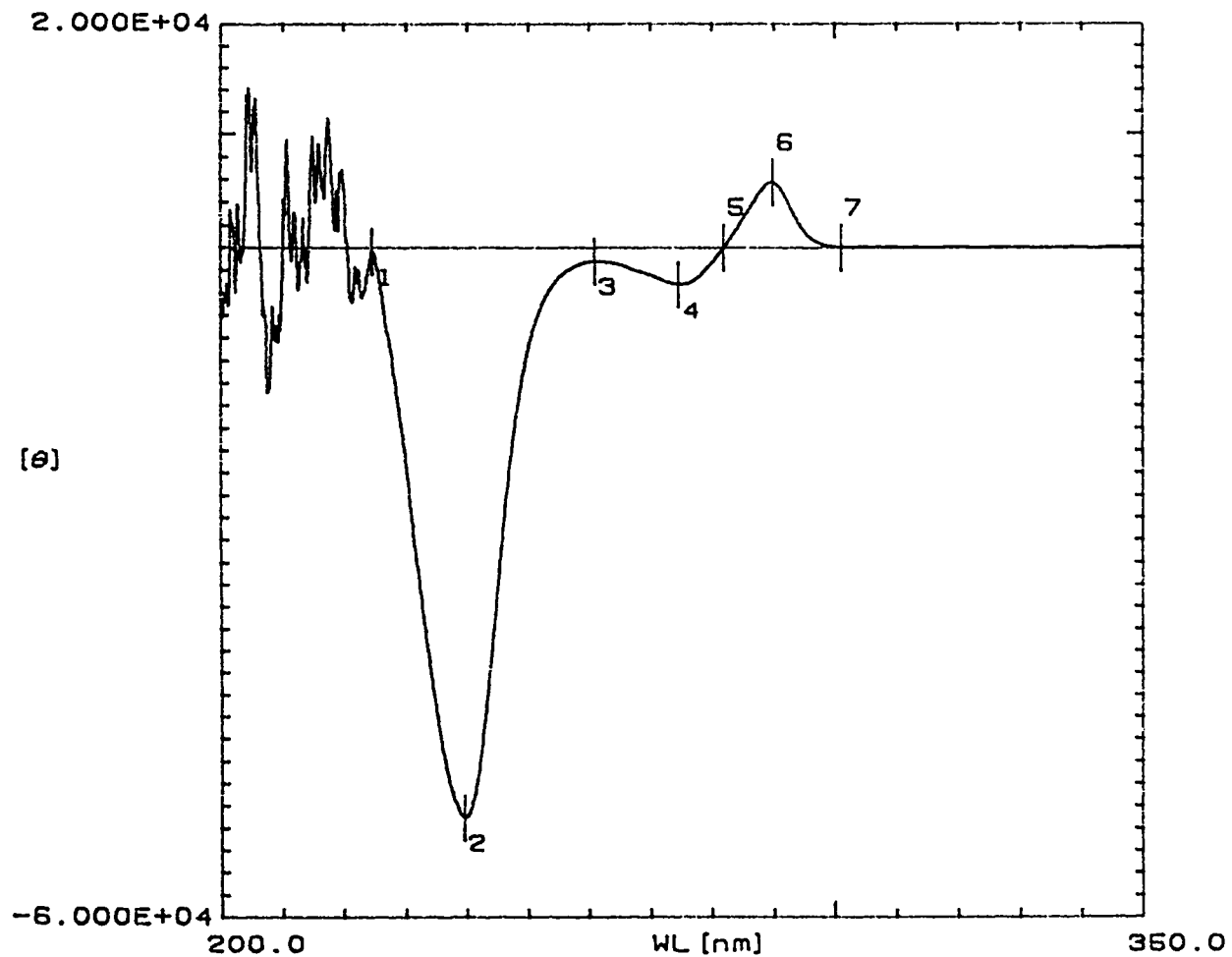




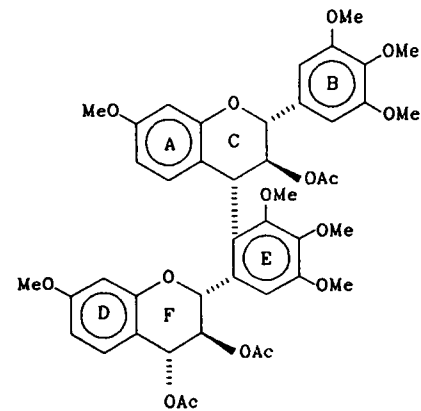
| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 235.90 nm | 1.256E+02 |
| 2 | 241.90 nm | -3.755E+04 |
| 3 | 258.20 nm | 9.176E+00 |
| 4 | 272.40 nm | 1.144E+03 |
| 5 | 289.00 nm | 1.213E+04 |
| 6 | 299.60 nm | -2.423E+01 |



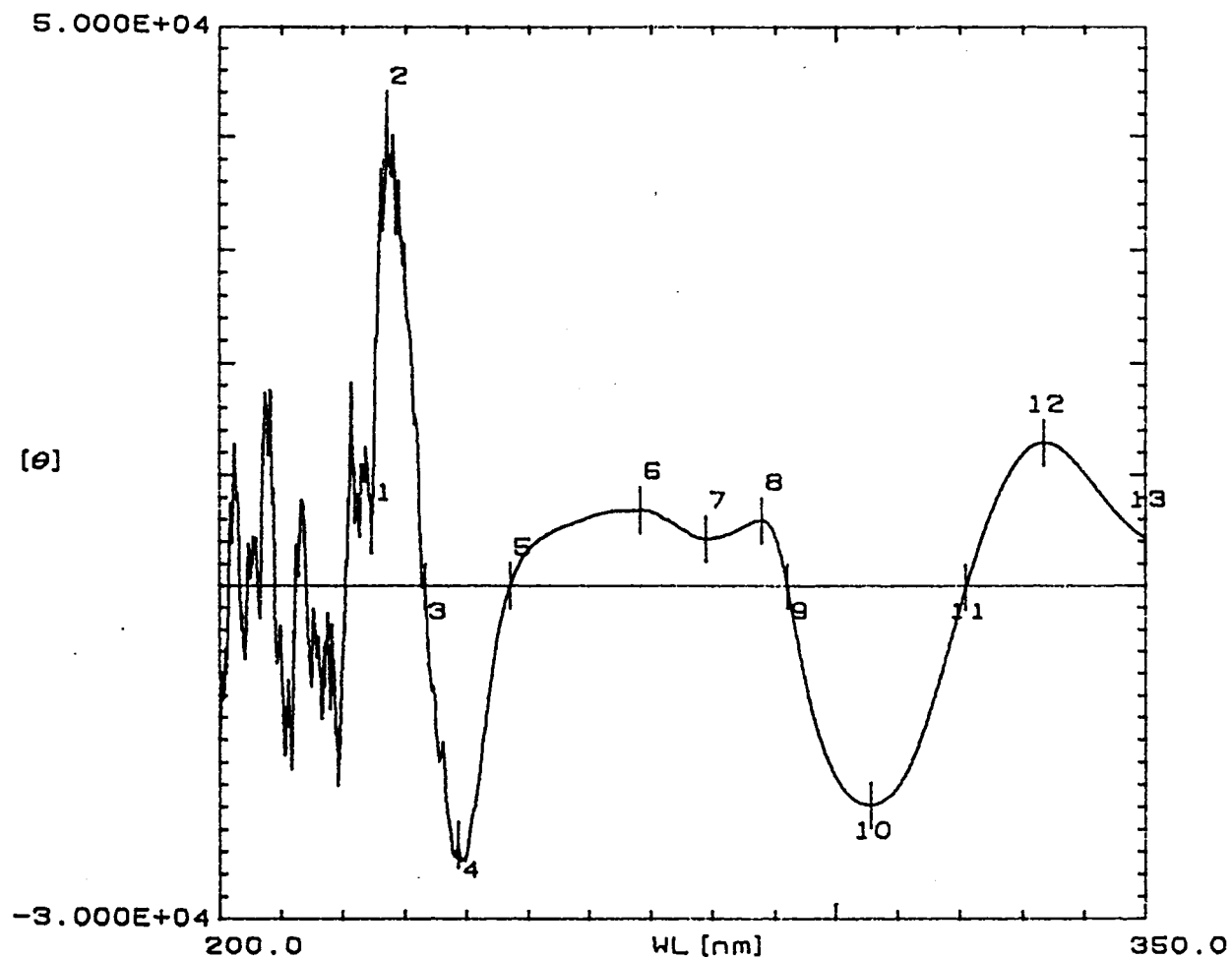
6: ——— 1.45 mg/10ml MeOH



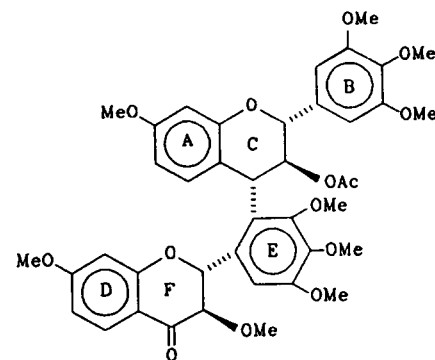
| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 224.80 nm | -3.121E+02 |
| 2 | 239.60 nm | -5.106E+04 |
| 3 | 261.00 nm | -1.221E+03 |
| 4 | 274.60 nm | -3.278E+03 |
| 5 | 281.90 nm | 5.673E+00 |
| 6 | 289.90 nm | 5.741E+03 |
| 7 | 301.10 nm | 1.822E+01 |



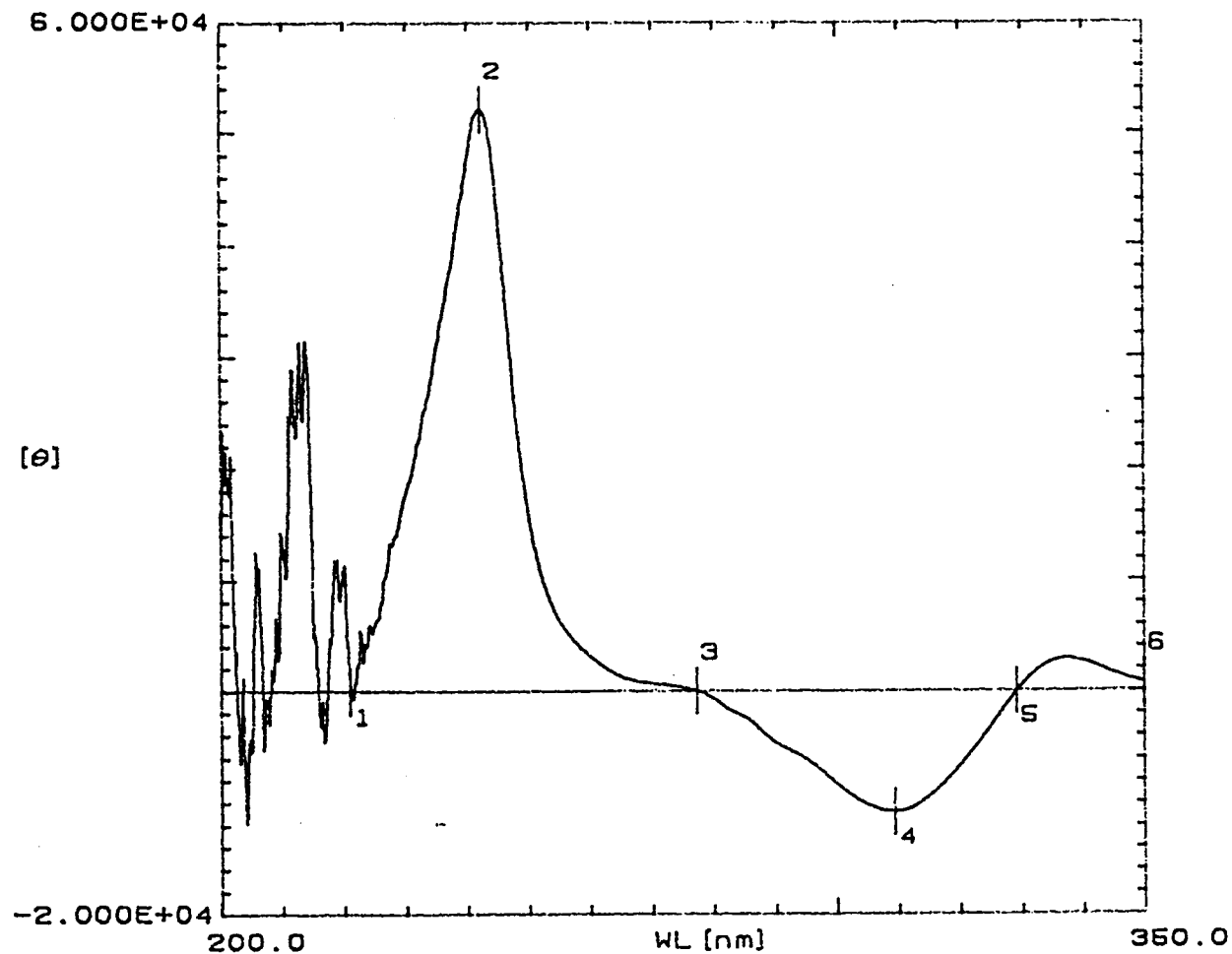
7: ——— 1.35 mg/10ml MeOH



| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 224.80 nm | 4.999E+03 |
| 2 | 227.10 nm | 4.201E+04 |
| 3 | 233.40 nm | -1.117E+02 |
| 4 | 238.70 nm | -2.333E+04 |
| 5 | 247.10 nm | 2.507E+01 |
| 6 | 268.30 nm | 6.860E+03 |
| 7 | 279.00 nm | 4.251E+03 |
| 8 | 288.00 nm | 5.879E+03 |
| 9 | 292.10 nm | -5.620E+01 |
| 10 | 305.70 nm | -1.982E+04 |
| 11 | 321.00 nm | -7.503E+01 |
| 12 | 333.40 nm | 1.292E+04 |
| 13 | 350.00 nm | 4.340E+03 |

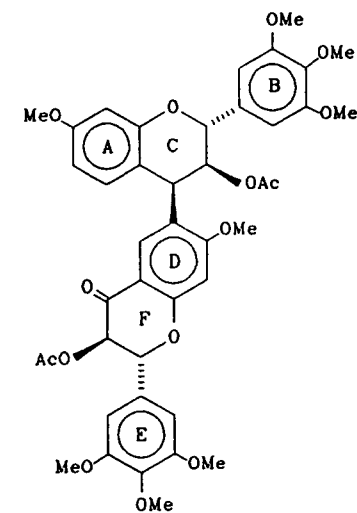


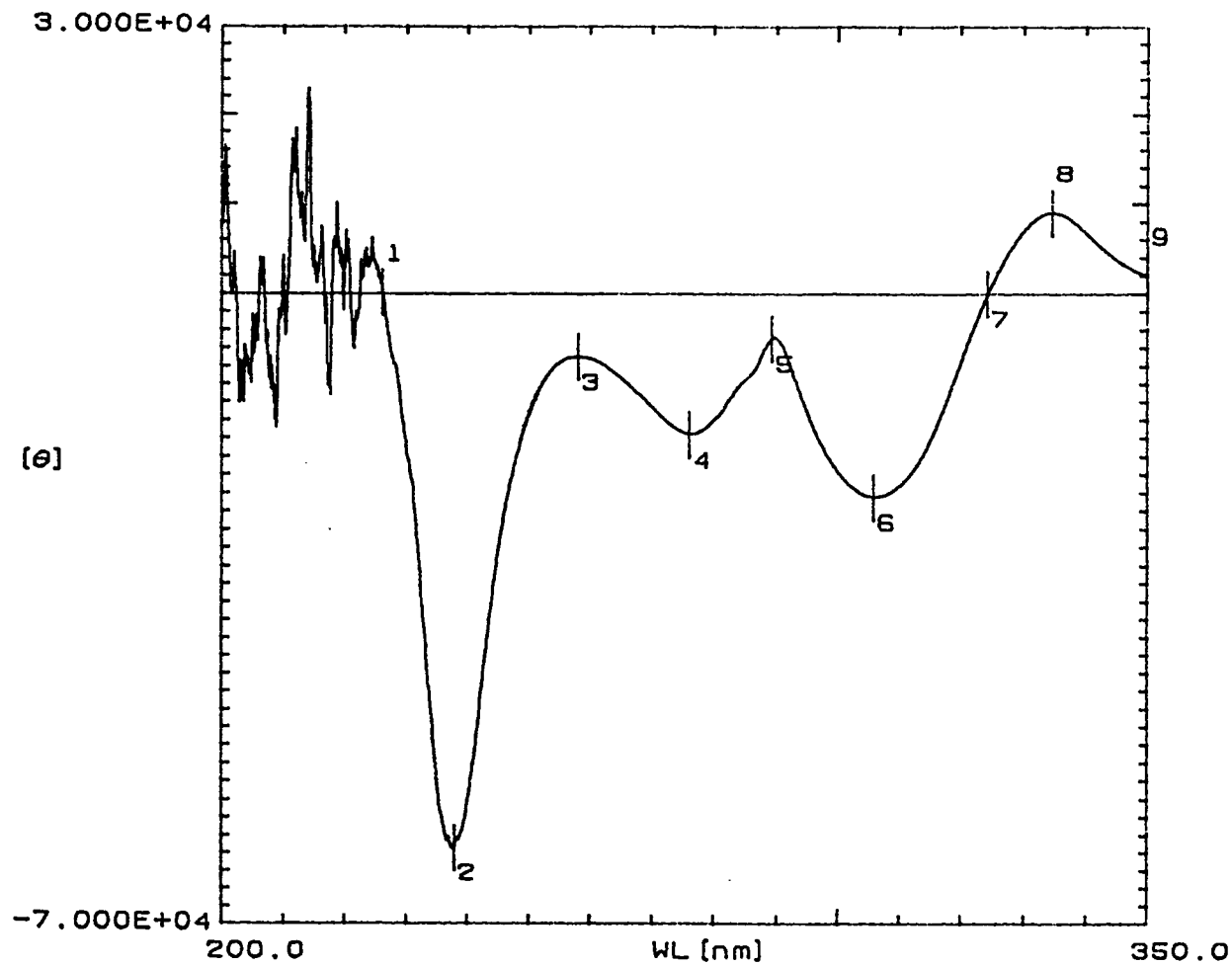
4: ——— 1.25 mg/10ml MeOH



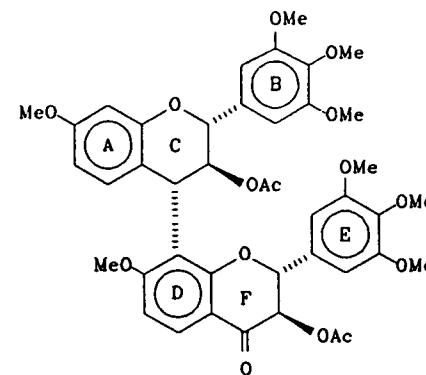
2: ——— 1.11 mg/10ml MeOH

| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 221.10 nm | -7.041E+01 |
| 2 | 242.20 nm | 5.211E+04 |
| 3 | 277.30 nm | 7.644E+00 |
| 4 | 309.40 nm | -1.080E+04 |
| 5 | 329.20 nm | -1.026E+01 |
| 6 | 350.00 nm | 7.458E+02 |

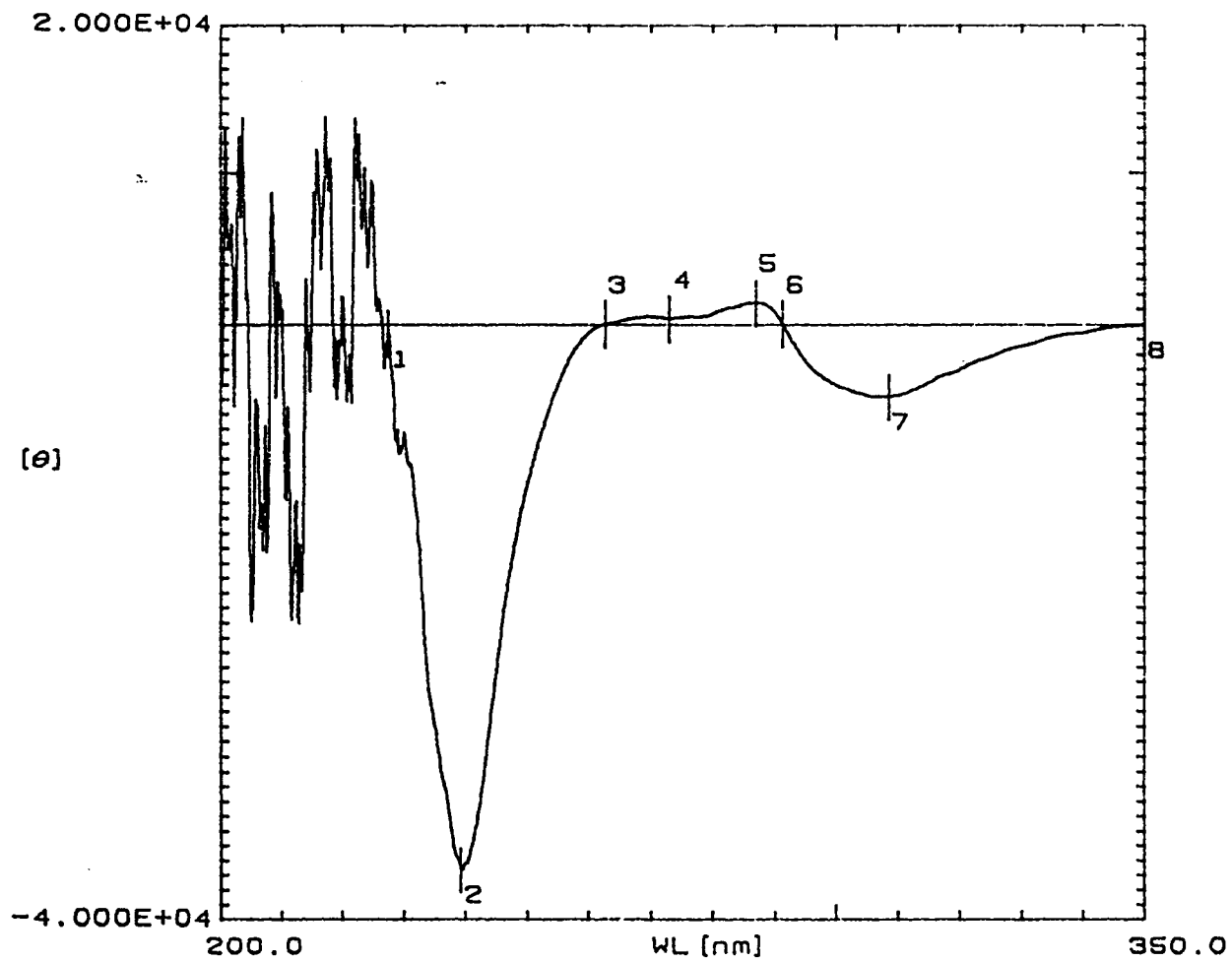




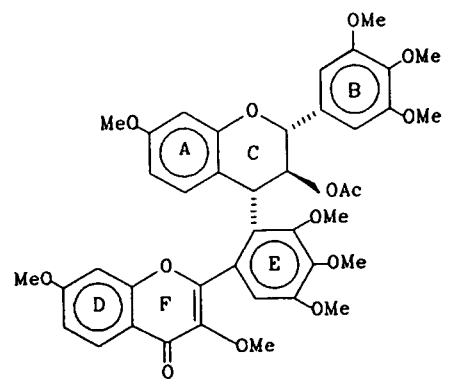
| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 226.20 nm | 1.389E+02 |
| 2 | 238.00 nm | -6.139E+04 |
| 3 | 258.10 nm | -7.027E+03 |
| 4 | 276.00 nm | -1.556E+04 |
| 5 | 289.30 nm | -4.989E+03 |
| 6 | 305.90 nm | -2.246E+04 |
| 7 | 324.30 nm | -3.720E+01 |
| 8 | 334.60 nm | 9.072E+03 |
| 9 | 350.00 nm | 2.050E+03 |



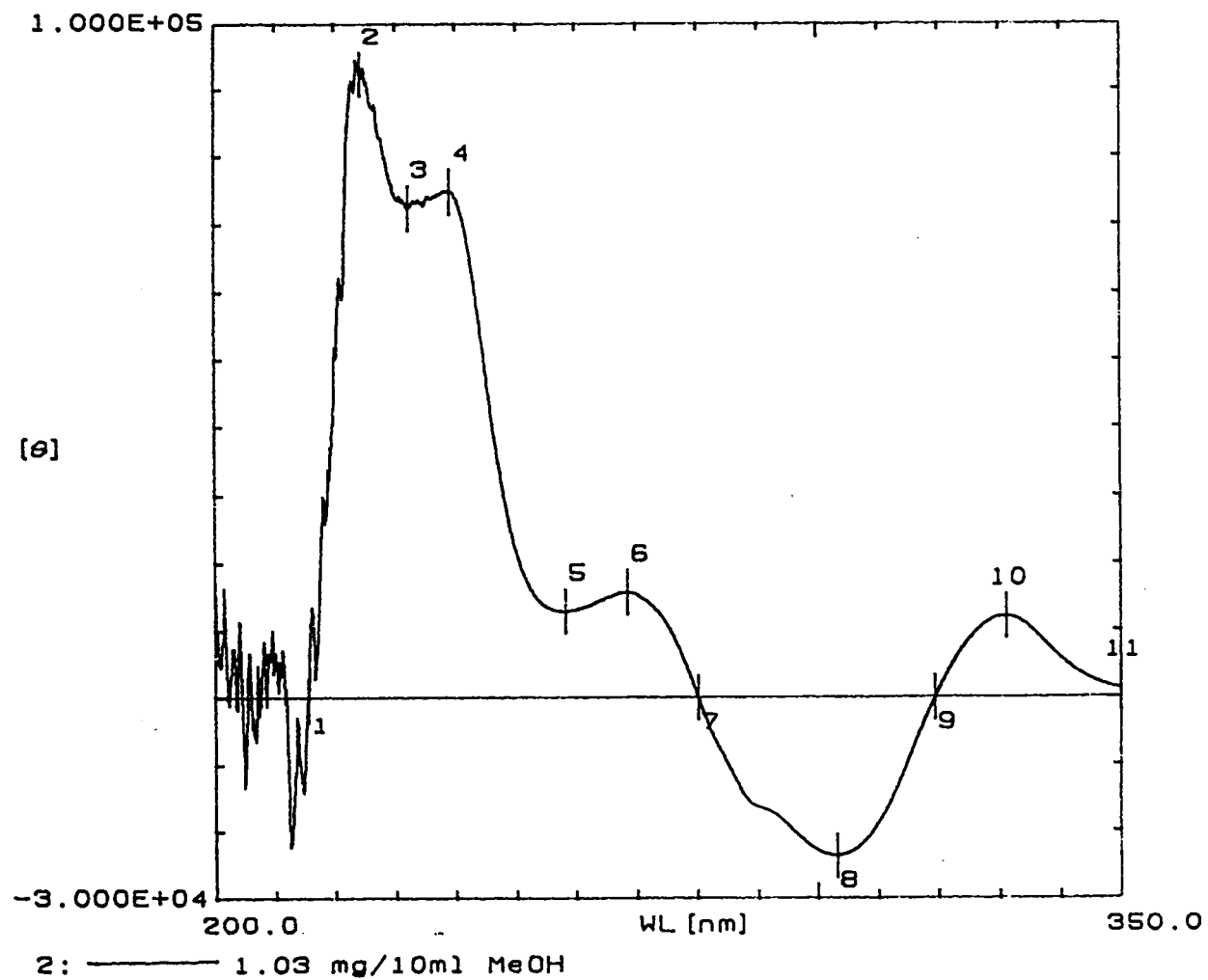
3: ——— 1.31 mg/10ml MeOH



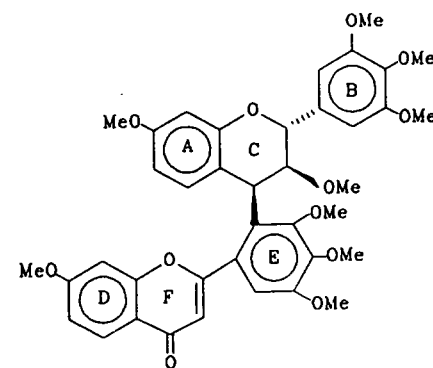
| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 227.60 nm | -5.887E+02 |
| 2 | 239.40 nm | -3.661E+04 |
| 3 | 262.60 nm | 6.229E+00 |
| 4 | 273.00 nm | 3.587E+02 |
| 5 | 286.90 nm | 1.420E+03 |
| 6 | 291.30 nm | 2.602E-01 |
| 7 | 308.50 nm | -4.852E+03 |
| 8 | 350.00 nm | -2.775E+01 |



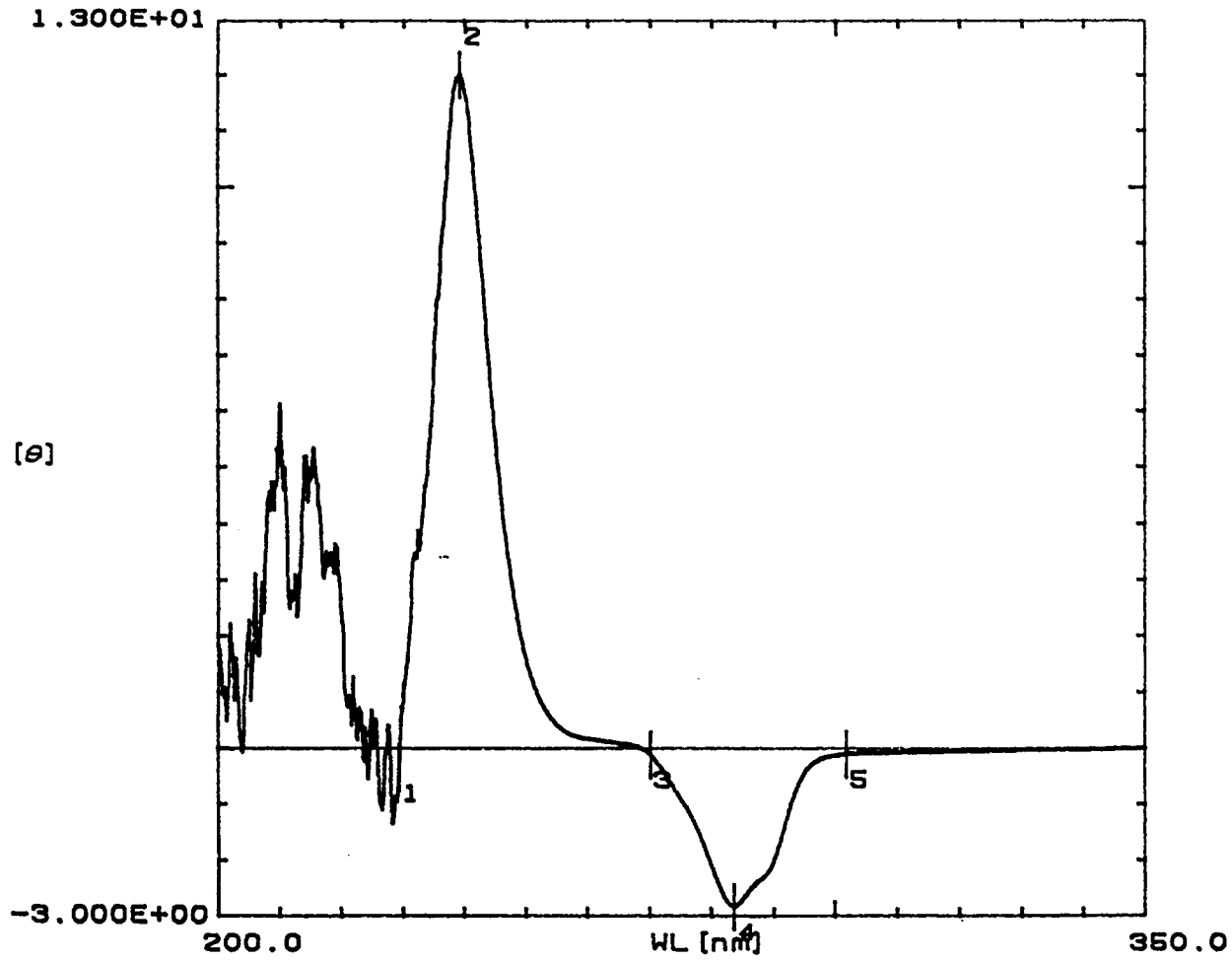
5: ————— 1.03 mg/10ml MeOH



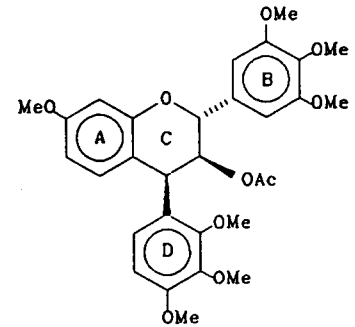
| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 215.40 nm | -4.389E+02 |
| 2 | 224.20 nm | 9.237E+04 |
| 3 | 232.20 nm | 7.241E+04 |
| 4 | 239.10 nm | 7.487E+04 |
| 5 | 258.20 nm | 1.288E+04 |
| 6 | 268.50 nm | 1.568E+04 |
| 7 | 280.10 nm | -4.196E+01 |
| 8 | 303.10 nm | -2.366E+04 |
| 9 | 319.30 nm | -5.552E+01 |
| 10 | 331.10 nm | 1.214E+04 |
| 11 | 350.00 nm | 1.314E+03 |



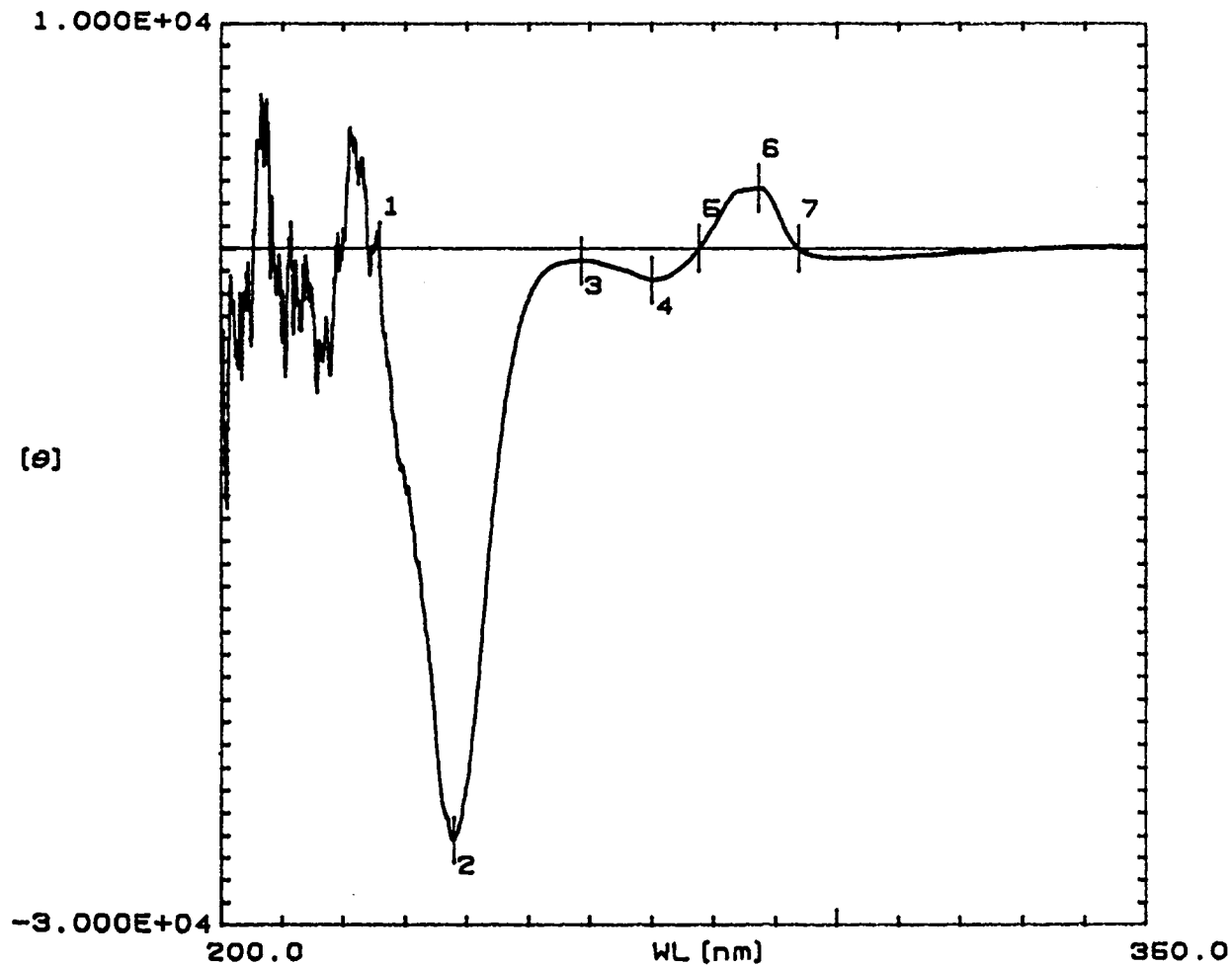
SD - plaat 9



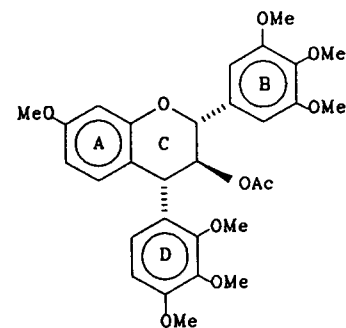
| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 229.30 nm | -3.504E-01 |
| 2 | 239.20 nm | 1.201E+01 |
| 3 | 270.10 nm | -1.111E-01 |
| 4 | 283.60 nm | -2.822E+00 |
| 5 | 301.80 nm | -1.004E-01 |



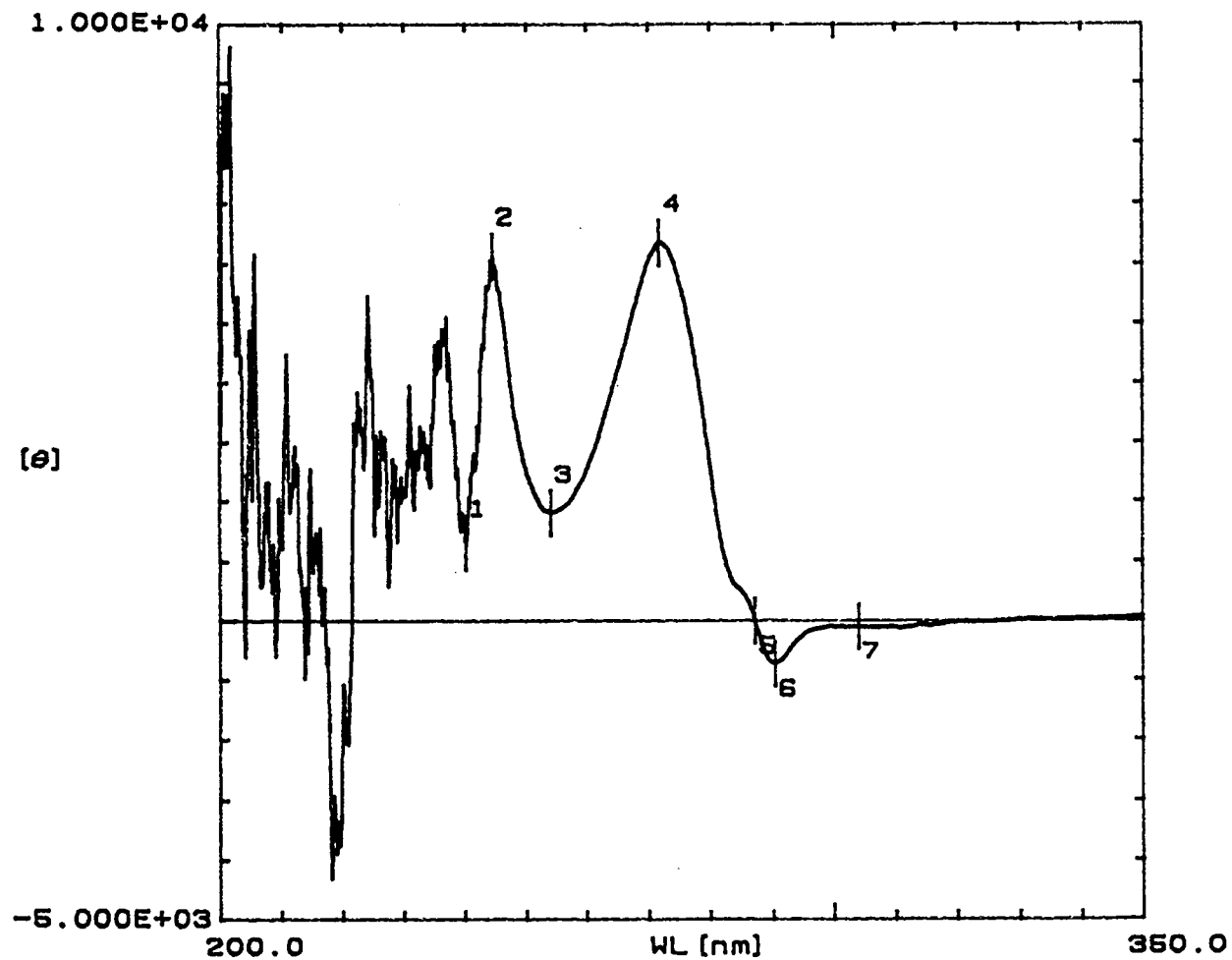
1: ——— 1.34 mg/10ml MeOH



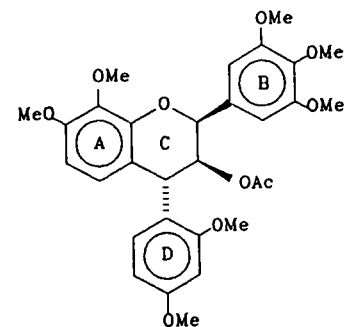
| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 226.00 nm | 1.364E+02 |
| 2 | 238.00 nm | -2.620E+04 |
| 3 | 258.70 nm | -5.426E+02 |
| 4 | 270.20 nm | -1.397E+03 |
| 5 | 277.80 nm | 1.879E+01 |
| 6 | 287.30 nm | 2.668E+03 |
| 7 | 293.80 nm | 2.654E+00 |



2: ——— 1.25 mg/10ml MeOH

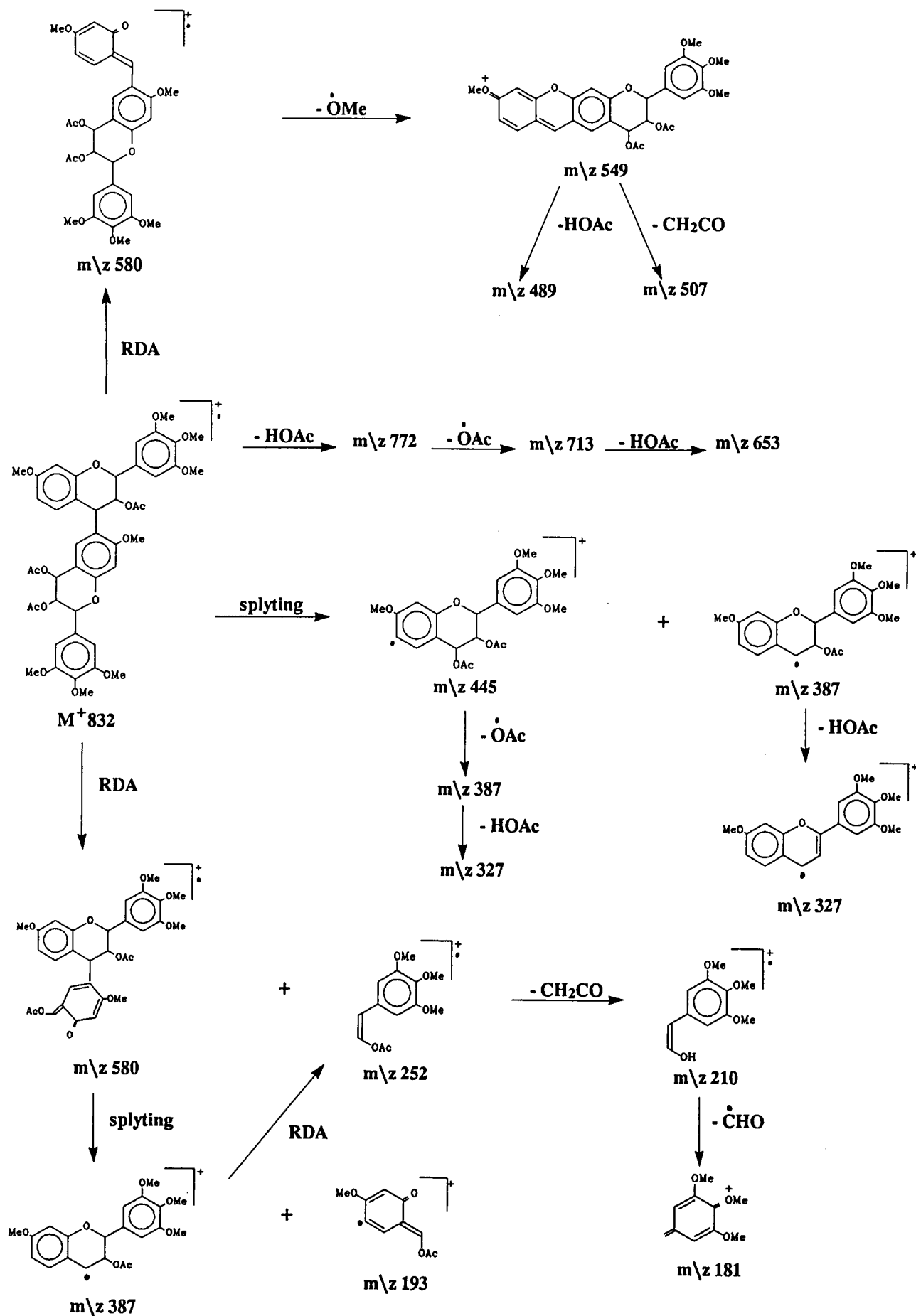


| No. | Wavelength | Value |
|-----|------------|------------|
| 1 | 240.20 nm | 1.235E+03 |
| 2 | 244.60 nm | 6.122E+03 |
| 3 | 254.20 nm | 1.807E+03 |
| 4 | 271.90 nm | 6.348E+03 |
| 5 | 287.20 nm | -6.899E+00 |
| 6 | 290.40 nm | -7.346E+02 |
| 7 | 304.10 nm | -1.037E+02 |



7: ——— 2.01 mg/10ml MeOH

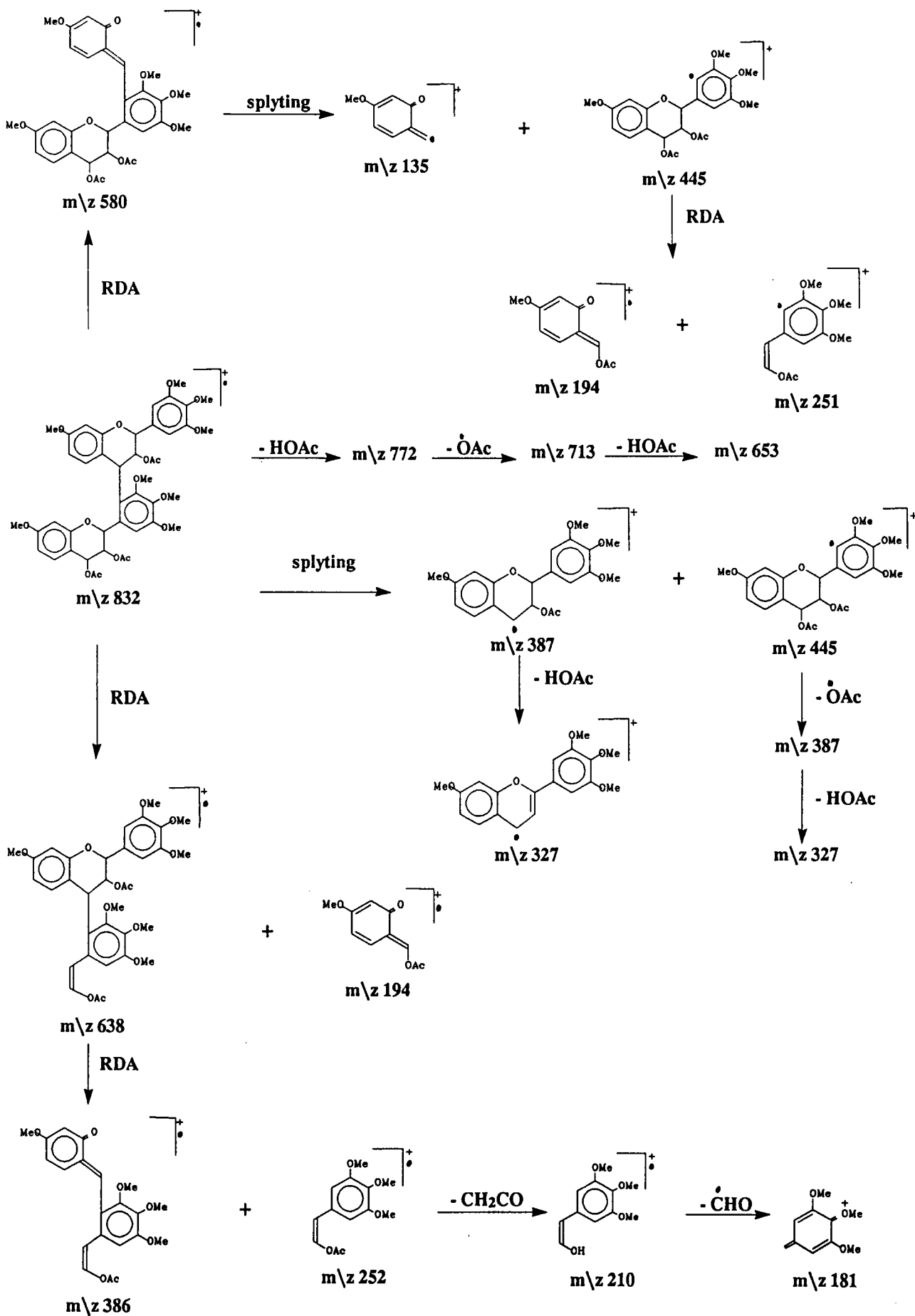
MASSASPEKTROMETRIE



MS - skema 1

| Fragment m/z | Persentasie voorkoms | |
|-----------------------|----------------------|-------|
| | (58) | (60) |
| 832 (M ⁺) | 1.8 | 1.1 |
| 772 | 27.0 | 18.0 |
| 713 | 42.0 | 34.0 |
| 653 | 4.2 | 3.2 |
| 549 | 6.9 | 4.9 |
| 507 | 13.0 | 13.0 |
| 489 | 4.7 | 4.6 |
| 445 | 2.4 | 1.4 |
| 387 | 58.0 | 57.0 |
| 327 | 100.0 | 100.0 |
| 252 | 24.0 | 6.8 |
| 210 | 13.0 | 10.0 |
| 193 | 3.8 | 3.0 |
| 181 | 30.0 | 28.0 |

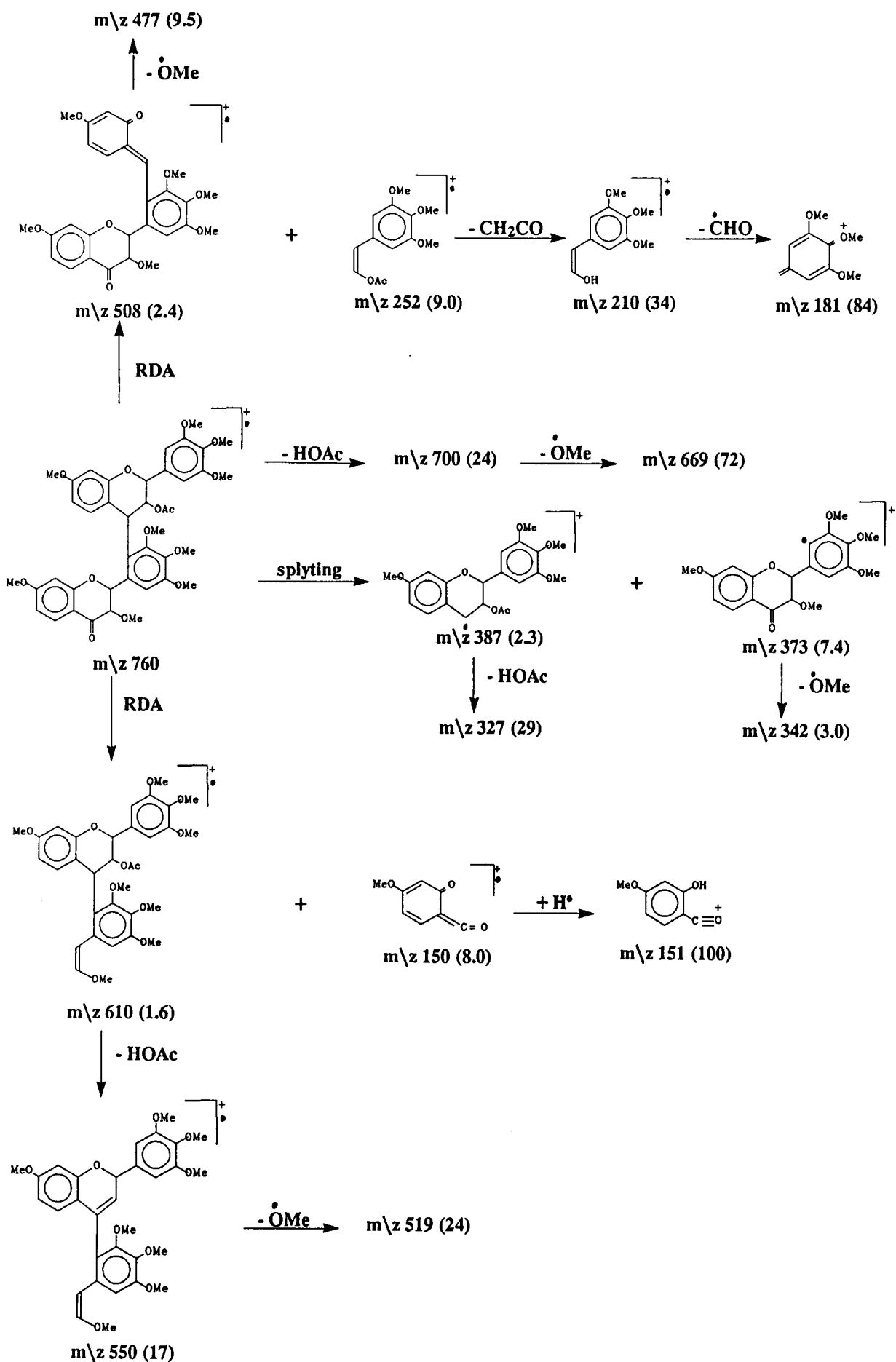
MS - tabel 1



MS - skema 2

| Fragment m/z | Persentasie voorkoms | |
|-----------------------|----------------------|-------|
| | (62) | (64) |
| 772 (M ⁺) | 9.2 | 8.2 |
| 713 | 10.0 | 11.0 |
| 653 | 63.0 | 100.0 |
| 638 | 4.3 | 2.1 |
| 445 | 7.2 | 4.7 |
| 387 | 6.2 | 7.5 |
| 386 | 3.6 | 3.9 |
| 327 | 100.0 | 87.0 |
| 252 | 11.0 | 7.5 |
| 210 | 33.0 | 28.0 |
| 194 | 3.7 | 2.7 |
| 181 | 66.0 | 73.0 |
| 135 | 4.9 | 4.2 |

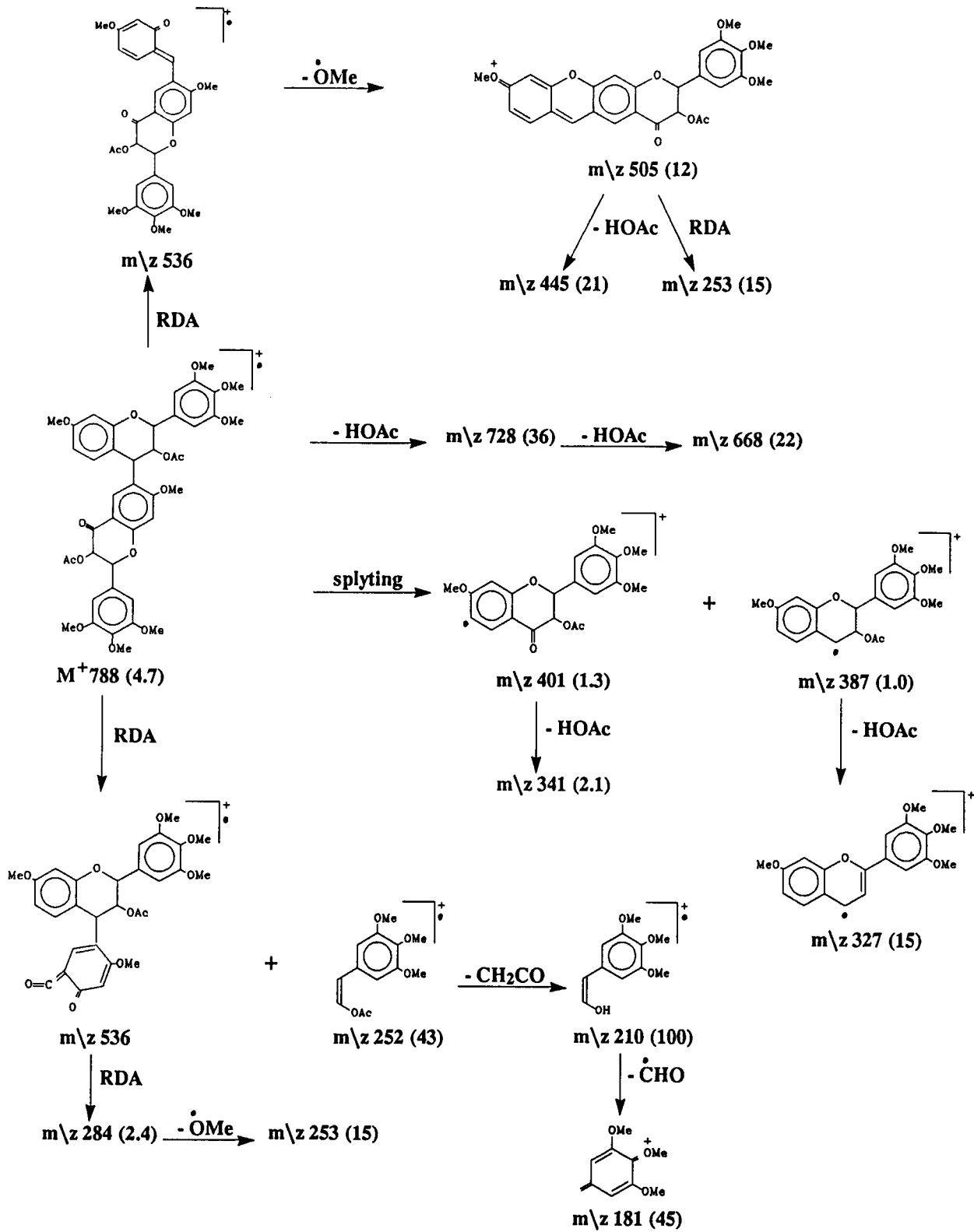
MS - tabel 2



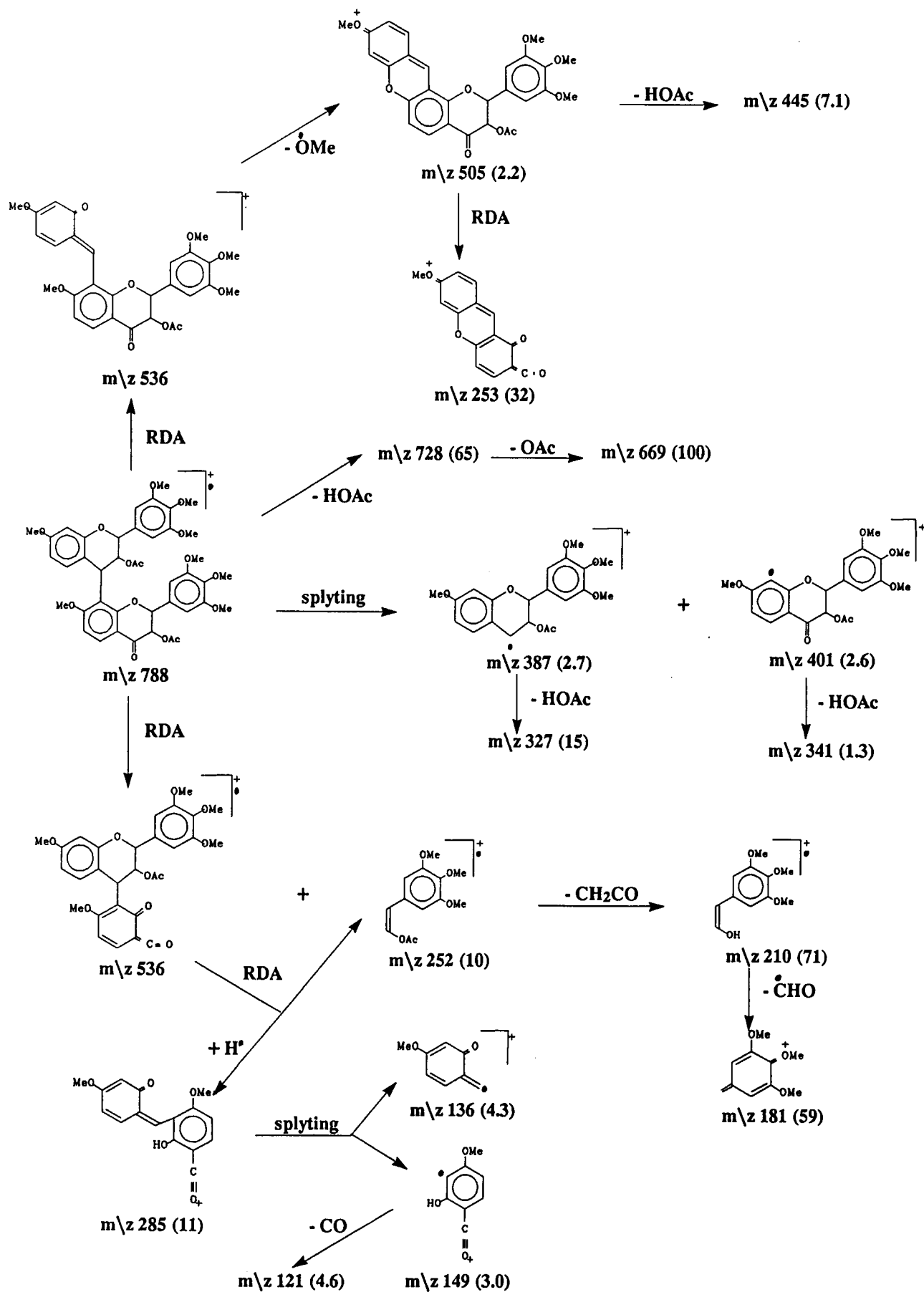
MS - skema 3

| (66) | | (68) | |
|----------------------|-------------|----------------------|-------------|
| Fragment(m/z) | Voorkoms(%) | Fragment(m/z) | Voorkoms(%) |
| 760(M ⁺) | — | 788(M ⁺) | 4.7 |
| 700 | 24.0 | 728 | 36.0 |
| 669 | 72.0 | 668 | 22.0 |
| 610 | 1.6 | 536 | — |
| 550 | 17.0 | 505 | 12.0 |
| 519 | 24.0 | 445 | 21.0 |
| 508 | 2.4 | 401 | 1.3 |
| 387 | 2.3 | 387 | 1.0 |
| 373 | 7.4 | 341 | 2.1 |
| 342 | 3.0 | 327 | 15.0 |
| 327 | 29.0 | 284 | 2.4 |
| 252 | 9.0 | 253 | 15.0 |
| 210 | 34.0 | 252 | 43.0 |
| 181 | 84.0 | 210 | 100.0 |
| 151 | 100.0 | 181 | 45.0 |
| 150 | 8.0 | | |

MS - tabel 3



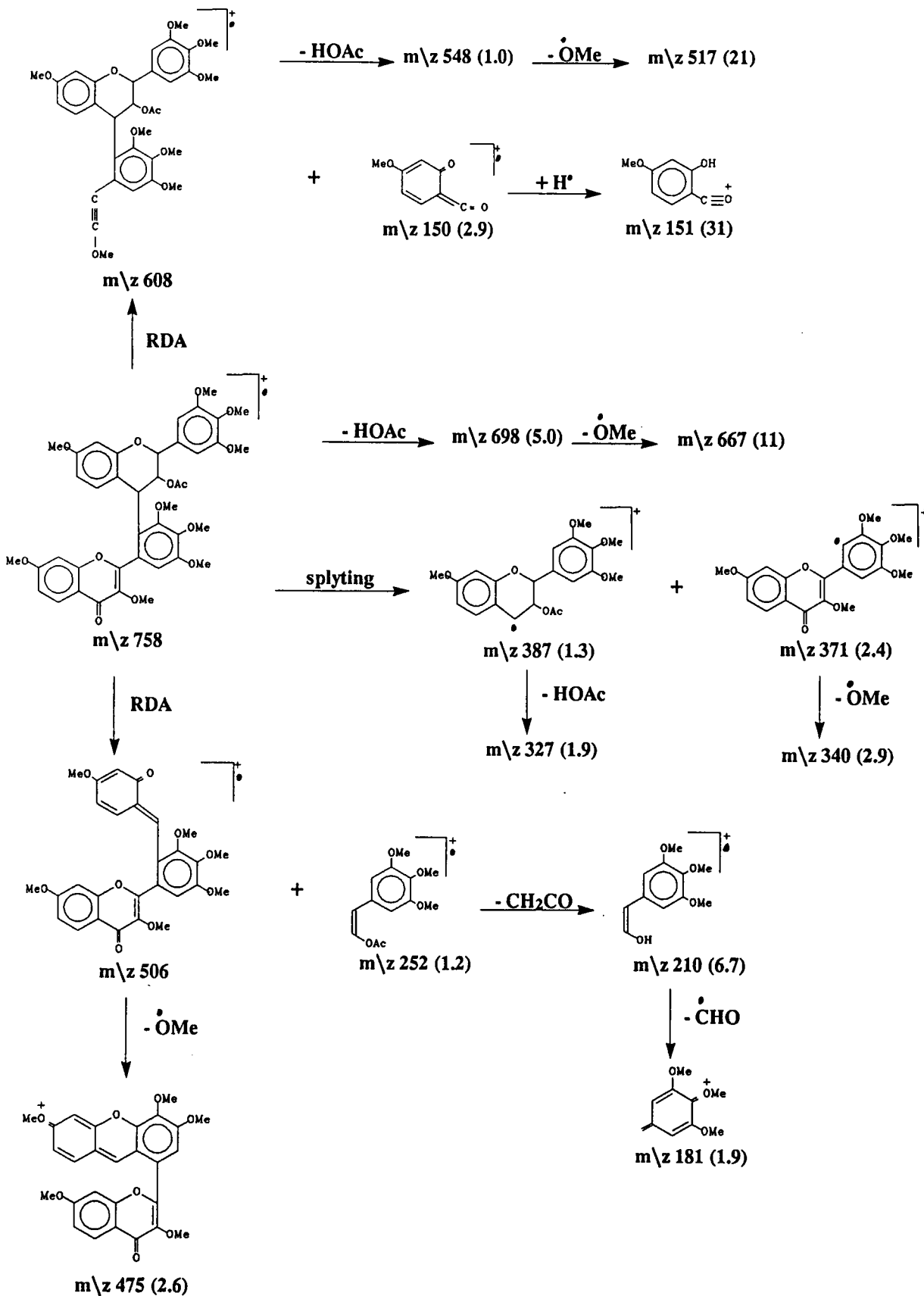
MS - skema 4



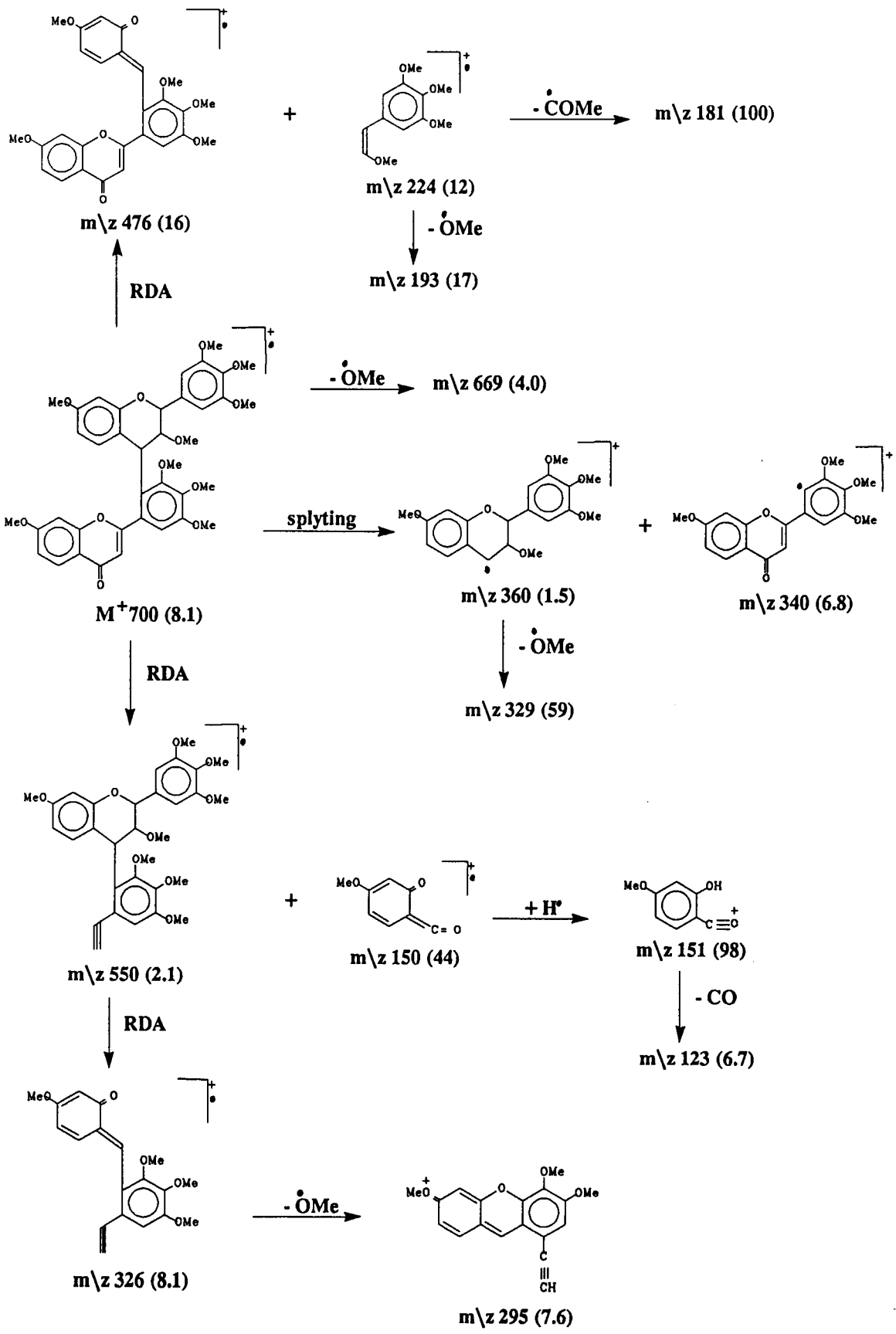
MS - skema 5

| (70) | | (72) | |
|----------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| Fragment(m/z) | Voorkoms(%) | Fragment(m/z) | Voorkoms(%) |
| 788(M ⁺) | - | 758 (M ⁺) | - |
| 728 | 65.0 | 698 | 5.0 |
| 669 | 100.0 | 667 | 11.0 |
| 536 | - | 608 | - |
| 505 | 2.2 | 548 | 1.0 |
| 445 | 7.1 | 517 | 21.0 |
| 401 | 2.6 | 506 | - |
| 387 | 2.7 | 475 | 2.6 |
| 341 | 1.3 | 387 | 1.3 |
| 327 | 15.0 | 371 | 2.4 |
| 285 | 11.0 | 340 | 2.9 |
| 253 | 32.0 | 327 | 1.9 |
| 252 | 10.0 | 252 | 1.2 |
| 210 | 71.0 | 210 | 6.7 |
| 181 | 59.0 | 181 | 1.9 |
| 149 | 3.0 | 151 | 31.0 |
| 136 | 4.3 | 150 | 2.9 |
| 121 | 4.6 | | |

MS - tabel 4



MS - skema 6



| (74) | |
|-----------------------|-------------|
| Fragment(m/z) | Voorkoms(%) |
| 700 (M ⁺) | 8.1 |
| 699 | 4.0 |
| 550 | 2.1 |
| 476 | 16.0 |
| 360 | 1.5 |
| 340 | 6.8 |
| 329 | 59.0 |
| 326 | 8.1 |
| 295 | 7.6 |
| 224 | 12.0 |
| 193 | 17.0 |
| 181 | 100.0 |
| 151 | 98.0 |
| 150 | 44.0 |
| 123 | 6.7 |

MS - tabel 5

LITERATUURVERWYSINGS

VERWYSINGS

1. L. Schmidt en K. Pietsch, *Mh. Chem.*, 1931, 57, 305.
2. L. Schmidt en F. Tadros, *Ber. dtsh. chem. Ges.*, 1932, 65, 1689.
3. K. Brass en H. Kranz, *Liebigs Ann. chem.*, 1932, 499, 175.
4. K. Freudenberg en L. Hartmann, *Liebigs Ann. chem.*, 1954, 587, 207.
5. K. Freudenberg en D.G. Roux, *Naturwissenschaften*, 1954, 41, 450.
6. K. Weinges, *Liebigs Ann. chem.*, 1958, 615, 203.
7. D.G. Roux en E. Paulus, *Biochem. J.*, 1962, 82, 324.
8. T.A. Geissmann en N.N. Yoshimura, *Tetrahedron Letters*, 1966, 24, 2669.
9. J.J. Botha, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1981, 1235.
10. D.G. Roux, *Chem. and Ind.*, 1958, 161.
11. J.J. Botha, D.A. Young, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1987, 535.
12. J.J. Botha, D.A. Young, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1981, 1213.
13. E. Haslam, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1974, 595.
14. A.C. Fletcher, L.J. Porter, E. Haslam en R.K. Gupta, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1977, 1628.
15. L.J. Porter en L.Y. Foo, *Phytochemistry*, 1982, 2947.
16. L. Lurd en R. Lundin, *Tetrahedron*, 1988, 24, 2563.
17. M.R. Attwood, B.R. Brown, S.G. Lisseter, C.L. Torrero, P.M. Weaver, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1984, 177.
18. J.A. Steenkamp, J.C.S. Malan, D.G. Roux en D. Ferreira, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1988, 1325.
19. H.K.L. Hundt en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1981, 1227.
20. J.C.S. Malan, J.A. Steenkamp, D.A. Young en D. Ferreira, *Tetrahedron*, 1989, 45, 7859.
21. R.W. Hemingway en L.Y. Foo, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1983, 1635.
22. J.C.S. Malan, *Die eerste konvensionele C-ring geisomeriseerde profisetinidiene met 'n dihidroflavonol as nukleofiele entiteit*, M.Sc.-verhandeling, U.O.V.S., 1986.

23. J.C.S. Malan, D.A. Young, J.A. Steenkamp en D. Ferreira, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1988, 2567.
24. E.V. Brandt, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1971, 116.
25. P.J. Pretorius, *Modelverbindings in tanniensintese : Die konformasie van vryfenoliese eenhede*, M.Sc.-verhandeling, U.O.V.S. 1980.
26. D.A. Young, *Profisetinidiene : Die eerste sintese van tetraflavanoïede : Bi- en triflavanoïede met terminale diolfunksie*, Ph.D.-proefskrif, U.O.V.S., 1984.
27. J.J. Botha, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1978, 698.
28. J.A. Steenkamp, D. Ferreira en D.G. Roux en , *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1983, 23.
29. J.C.S. Malan, J.A. Steenkamp, J.P. Steynberg, D.A. Young, E.V. Brandt en D. Ferreira, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1990, 209.
30. J.C.S. Malan, *Struktuur en sintese van bis-fisetinidol tipe flobatanniene. Die eerste C-8 gesubstitueerde 5-deoksi oligoflavanoïede*. Ph.D.-proefskrif, U.O.V.S., 1989.
31. I.C. du Preez, *Mono- en polimeriese flavanoïede uit Acacia en Colophospermum spesies*, D.Sc.-verhandeling, U.O.V.S., 1971.
32. K. Weinges, W. Elbert, D. Huthwilker, H. Mattauch en J. Perner, *Liebigs Ann. chem.*, 1969, 726, 114.
33. D.A. Young, E. Young, D.G. Roux, E.V. Brandt en D. Ferreira, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1987, 2345.
34. J. Sternhouse en C.E. Groves, *Liebigs Ann. chem.*, 1878, 194, 202.
35. L. Ebersson en F. Radner, *Acc. Chem. Res.*, 1987, 20, 53.
36. F. Radner, *J. Org. Chem.*, 1988, 53, 702,
37. K. Weinges, W. Kaltenhauser, H.D. Max, E. Nader, F. Nader, J. Perner en D. Seiler, *Liebigs Ann. chem.*, 1968, 711, 184.
38. R.S. Thompson, D. Jacques, E. Haslam en R.J.N. Tanner, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1972, 1387.
39. S.E. Drewes, D.G. Roux, H.M. Saayman, S.H. Eggersen en J. Feeney, *J. Chem. Soc. (C)*, 1967, 1302.
40. M.D. Tindale en D.G. Roux, *Phytochemistry*, 1974, 13, 829.
41. J.J. Botha, P.M. Viviers, D.A. Young, I.C. du Preez, D. Ferreira, D.G. Roux en W.E. Hull, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1982, 527.
42. H.M. Saayman en D.G. Roux, *Biochem. J.*, 1965, 97, 794.

43. P.M. Viviers, J.J. Botha, D. Ferreira, D.G. Roux en H.M. Saayman, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1983, 17.
44. C.J. Ellis, L.Y. Foo en L.J. Porter, *Phytochemistry*, 1983, 22, 483.
45. R.K. Gupta en E. Haslam, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1981, 1148.
46. H. Pelter, P.I. Amenechi, R. Warren en S.H. Harper, *J. Chem. Soc. (C)*, 1969, 2527.
47. L.Y. Foo, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1986, 236.
48. P.M. Viviers, D.A. Young, J.J. Botha, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1982, 535.
49. D.A. Young, *Isolasie, absolute konfigurasie en sintese van oligomeertanniene : Die eerste triflavanoïed met terminale diolfunksie*, M.Sc.-verhandeling, U.O.V.S., 1981.
50. J.J. Botha, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1978, 700.
51. F.R. van Heerden, *Die struktuur, stereochemie en sintese van 'n verskeidenheid fisiologies-aktiewe plantfenole*, Ph.D.-proefskrif, U.O.V.S., 1980.
52. F.R. van Heerden, E.V. Brandt, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1981, 2483.
53. J.P. Steynberg, E.V. Brandt, M.J.H. Hoffman, R.W. Hemingway en D. Ferreira, *Plant Polyphenols, Synthesis, Properties, Significance*, ed. R.W. Hemingway en P.E. Laks, Plenum Press, New York en London, 1992, 801.
54. J.H. van der Westhuizen, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1981, 1220.
55. J.P. Steynberg, E.V. Brandt en D. Ferreira, *Magnetic Resonance in Chemistry, Conformational analysis of oligomeric flavanoids, Part 2*, In voorbereiding.
56. J.P. Steynberg, E.V. Brandt en D. Ferreira, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1991, 1569.
57. E. Haslam, *The Flavanoids*, ed. J.B. Harborne, T.J. Mabry en H. Mabry, Chapman and Hall Ltd. 1975, 505.
58. L.Y. Foo, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1985, 1273.
59. J.H. van der Westhuizen, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1980, 1003.
60. E.C. Bate-Smith, *Nature*, 1948, 161, 835.
61. S.M. Partridge, *Biochem. J.*, 1948, 42, 238.
62. D.G. Roux en H.M. Saayman, *Biochem. J.*, 1965, 96, 36.



63. A.I. Vogel, *Textbook of Practical Organic Chemistry*, Longmans, London, 1967, 979.
64. F.E. King en W. Bottomley, *Chem. and Ind.*, 1953, 1368.
65. D.A. Young, A. Cronje, A.L. Botes, D. Ferreira en D.G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1985, 2521.
66. J.P. Steynberg, J.F.W. Burger, D.A. Young, E.V. Brandt, D. Ferreira, *Heterocycles*, 1989, 28, 923.