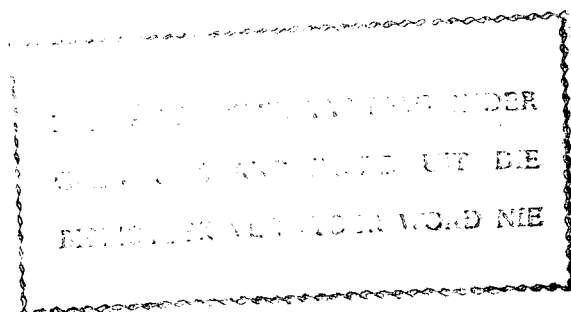




JOVS-SASOL-BIBLIOTEK 0226477



111097192701220000019



Totaalsintese en Toksisiteit van 'n nuwe
12a-O-metielrotenoïed : Fitochemie van
verwante Isoflavonoïede

Proefskrif voorgelê ter vervulling van

die vereistes vir die graad

Philosophiae Doctor

in die

Departement Chemie

Fakulteit Natuurwetenskappe

aan die

Universiteit van die Oranje-Vrystaat

Bloemfontein

deur

MARIA ELIZABETH OBERHOLZER

Promotor: Dr. G.J.H. RALL

Desember 1976

Universiteit van Oos- en Vrystaat BLOEMFONTEIN	
21-06-1977	
KLAS No.	T 547.72 Obe
No.	226477
BIBLIOTHEEK	

HANDELSRECHTE EN
 GEEN OMSTANDIGHEDE LIT DIE
 BIBLIOTHEEK VLEEN DER WORD NIE

Dankbetuigings

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

Dr. G.J.H. Rall, promotor en studieleier, vir sy bekwame en waardevolle leiding, belangstelling, bereidwillige hulp en vir alles wat ek van hom kon leer voor en tydens hierdie ondersoek;

Prof. D.G. Roux vir sy opbouende kritiek, belangstelling en raad;

Proff. J.G. Leipoldt (Departement Chemie, U.O.V.S.) en P.H. Hewitt (Departement Entomologie, U.O.V.S.) vir waardevolle hulp tydens kinetiese- en toksisiteitstudies;

Dr. J.M. Steyn en die personeel van die Departement Farmakologie, U.O.V.S., vir gaschromatografie en die opname van massaspektra;

Mnr. P. van Wyk, Assistent-direkteur (Navorsing) van die Nasionale Parke-raad, Skukuza, vir die versameling en versending van plantmateriaal;

Dosente en mede nagraadse studente vir die aangename gees van samewerking;

Die Raad op Atoomkrag, Pretoria, vir toekenning van 'n voorgraadse beurs;

Die W.N.N.R., Pretoria, vir finansiële hulp deur verskeie nagraadse toekennings;

Shell Suid-Afrika (Edms.) Beperk vir die tweemalige toekenning van 'n
nagraadse Shell-navorsingsbeurs;

Mev. C. Greeff vir haar bekwame tikwerk.

Hierdie proefskrif word aan my ouers opgedra as 'n geringe blyk van
waardering vir hul aanmoediging, belangstelling en bystand tydens die
voorbereiding van hierdie werk.

M.E.O.

Inhoudsopgawe

<u>SAMEVATTING</u>	1
Hoofstuk 1 : <u>INLEIDING</u>	5
Hoofstuk 2 : <u>LITERATUUROORSIG</u>	
A. Rotenoïede	9
B. Isoflavone	36
C. Isoflavanone en isoflavan-4-ole	42
D. Pterokarpane	47
E. Leuko-antosianidiene en stilbene	57
F. Biogenetiese verwantskap tussen rotenoïede, flavonoïede, isoflavonoïede, kumariene en pterokarpane	60
G. Die invloed van rotenoïede op die mitochondriële elektron- en energievervoersisteem. Toksisi- teitsbepalings	79
Hoofstuk 3 : <u>EKSPERIMENTEEL</u>	
A. Standaard eksperimentele tegnieke	92
B. Die isolering en reindaarstelling van die kompo- nente uit <i>N. amboensis</i>	101
C. Struktuurondersoek en omskakelingsreaksies van nuwe komponente uit die bol van <i>N. amboensis</i> .	137
D. Totaalsintese van neobanoon	144
E. Totaalsintese van ambanol	160

F.	Pogings tot die totaalsintese van ambonaan	164
G.	Struktuurondersoek van genistein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied en daidzein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied	167
H.	Struktuurondersoek en omskakelingsreaksies van 3,4-gesubstitueerde flavane	169
I.	Relatiewe toksisiteitsbepalings van sommige rotenoïede	171

Hoofstuk 4 : BESPREKING

A.	Struktuuropklaring en stereochemie van 12a-gesubstitueerde- en dehidrorotenoïede uit <i>N. amboensis</i> . Totaalsintese van neobanoon	175
B.	Struktuuropklaring en stereochemie van isoflavanone. Isolasie van die eerste natuurlike isoflavan-4-ol en 2-metoksi-isoflavanoon. Totaalsintese van ambanol	192
C.	Struktuuropklaring en stereochemie van 'n 6a-hidroksipterokarpaan. Pogings tot totaalsintese van ambonaan	200
D.	Struktuuropklaring en stereochemie van die eerste 3,4-di-O-metielflavaan	204
E.	Isoflavoonglikosides. Analoë verbindings as moontlike biogenetiese voorlopers	206
F.	Toksisiteitsbepalings. Korrelasies tussen biologiese aktiwiteit en strukture	209

Addendum : SPEKTROMETRIESE GEGEWENS

BIBLIOGRAFIE

ERRATA

Samevatting

Hierdie proefskrif behels die chemiese ondersoek van 'n reeks verwante natuurprodukte, waaronder 'n aantal fisiologies aktiewe rotenoïede, uit die bol van *Neorautanenia amboensis*. Tydens die ondersoek is daar ook gepoog om 'n voorstelling, gebaseer op biogenetiese grondslag, van die onderskeie komponente daar te stel. Die relatiewe toksisiteit van sintetiese en natuurlike rotenoïede is bepaal deur die snelheid van inhibisie van sitochroom-c-reduktase te volg terwyl 'n moontlike korrelasie tussen giftigheid en struktuur bespreek word.

N. amboensis behoort tot die Leguminosae plantfamilie wat in Suider Afrika verteenwoordig word deur slegs 'n paar spesies, wat bekend is vanweë die gebruik as visgif van veral *N. ficifolia* en *N. amboensis*. Hierdie aktiwiteit het as stimulus gedien tot die chemiese ondersoek van die plant. Met die toenemende kommer oor besoedeling en die leemte wat ontstaan het met die verdwyning van gechlorineerde insektisiede van die mark, het die vraag na geskikte plaasvervangers, onder andere rotenoon, skerp gestyg veral omdat die toksisiteit van rotenoïede deur oksidatiewe prosesse heeltemal verdwyn na slegs enkele dae en dus geen besoedelingsgevaar inhou nie.

Met behulp van tweedimensionele dunlaag- en papierchromatografie is bepaal dat die benseen- en metanolekstrakte van die plantmateriaal baie komplekse mengsels is en voorlopige skeidings is uitgevoer deur

kolomchromatografie en 'n teenstroomverdeling.

Die isolasie en struktuuropklaring van opties aktiewe (-)-(6aS, 12aS)-neobanoon en (-)-(6aS, 12aS)-12a-hidroksi-isomillettoon, twee 12a-gesubstitueerde rotenoïede, en die bevinding dat beide 'n hoë mate van toksisiteit teenoor *Lucilia sericata* vertoon, het daartoe gelei dat die sintese van neobanoon volgens 'n biogeneties georiënteerde roete (chalkoon → isoflavoön → rotenoïed 12a-gesubstitueerde rotenoïed) aangepak is. Die sintese van neobanoon verteenwoordig die eerste totaalsintese van 'n 12a-O-metielrotenoïed. Tydens die sintese is 'n baie bruikbare hydrae gelewer in die vorming van komplekse chalkone deur die aanwending van "Crown" eters.

Benewens die isolasie van struktuurvariante van isoflavone, pterokarpane en rotenoïede, het hierdie ondersoek ook gelei tot die identifisering van die eerste natuurlike opties aktiewe isoflavan-4-ol, (+)-ambanol. Aan die hand van PMR-spektroskopie is aangetoon dat ambanol die 3,4-*cis* konfigurasie besit. Die struktuur is bevestig deur totaalsintese en omskakelingsreaksies. Identifikasie van hierdie verbinding is van besondere belang, aangesien dit 'n sleutelrol vervul in die biosintese van pterokarpane en by die oksidatiewe interomskakelbaarheid van isoflavonoïede.

Die bol van *N. amboensis* bevat ook drie lede van die seldsame groep 2S-5-deoksi-flavonoïede, naamlik (-)-3',4',7-trihidroksi-2,3-*trans*-flavan-3,4-*cis*-diol, (-)-3',4',7-trimetoksi-2,3-*trans*-flavan-3,4-*cis*-diol en (-)-3,3',4,4'-pentametoksi-2,3-*trans*-3,4-*cis*-flavaan

waarvan laasgenoemde 'n nuwe natuurprodukt verteenwoordig. Die struktuur en stereochemie van laasgenoemde korreleer met spektrometriese analises en is bewys deur omskakeling van eersgenoemde twee verbindings na die pentametoksiderivaat.

Die gesamentlike voorkoms van flavonoïede en isoflavonoïede in *N. amboensis* is van biogenetiese belang, aangesien hierdie verskynsel daarop dui dat flavonoïed en isoflavonoïed biosintese langs gelyksoortige weë kan geskied.

Die pterokarpaanskelet en substitusiepatroon van (-)-(6aR, 11aR)-neobanol, 'n nuwe 12a-hidroksipterokarpaan, is bepaal met behulp van PMR- en massagegewens terwyl die chemiese omskakeling na 'n pterokarpeen die struktuur onteenseglik vasgelê het.

2',7-Dimetoksisophorol en 2'-hidroksi-2-metoksi-4',5'-metileendioksi-6,7,4'',5''-furanoisoflavanon is twee nuwe isoflavanone waarvan laasgenoemde nie alleen die eerste 2-metoksi-isoflavanon is nie, maar ook die eerste verbinding in hierdie klas verteenwoordig wat optiese aktiwiteit vertoon. PMR- sowel as MS-gegevens is in ooreenstemming met die voorgestelde strukture en bevestig die onderskeie substituentte.

Twee nuwe isoflavoonglikosides, daidzein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied en genistein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied, is in relatief hoë konsentrasies geïsoleer. Die aglikoongedeeltes is met behulp van PMR- en MS-spektrometrie gekarakteriseer terwyl die suikers deur middel van hul trimetielsilieleters gaschromatografies bepaal is.

Buitengewoon eenvoudige metaboliete, 6-hidroksi-2,3-dihidrobensofuraan, α -OH, α :5(6-metoksi-2,3-dihidrobensofuraan)-etaan en *p*-metoksi-asetofenoon, tot op hede onbekend in natuurlike bronne, is uit *N. amboensis* geïsoleer. Met betrekking tot die strukture bied hierdie bevindings geen nuwigheid nie, maar die natuurlike voorkoms daarvan mag wel belangrike biogenetiese implikasies inhou, aangesien *p*-metoksi-asetofenoon moontlik as voorloper tot retrochalkone kan dien.

Nadat voorlopige toksisiteitsbepalings belowend geblyk het, is twaalf verskillende rotenoïede getoets met betrekking tot inhibisie van die mitochondriële nikotienamiedadeniendinukleotied oksidasie in die asemhalingstelsel. Met behulp van kinetiese studies kon bepaal word dat rotenoon, natuurlike neobanoon en 12a-hidroksi-isomillettoon van vergelykbare toksisiteit is terwyl dit aan die lig gekom het dat die stereochemie van rotenoïede (6aS, 12aS) 'n bepalende faktor is ten opsigte van hul inhibisievermoë van die mitochondriële elektronvervoersisteem. Hierdie bevinding is gerugsteun deur die feit dat sintetiese, ($\pm$)-neobanoon 'n baie laer fisiologiese aktiwiteit as die natuurprodukt toon, asook deur die verskynsel dat ($-$)-*cis*-12a-hidroksirotenoon die enigste isomeer van die vier 12a-hidroksirotenoondiaastereoïsomere is wat toksisiteit vertoon.

Sedert flavonoïede en verwante verbindings as taksonomiese merkers gebruik is by moderne plantbiochemie ¹ en 'n uitgebreide ondersoek van plantprodukte as anti-kankermiddels van stapel gestuur is ²⁻⁵, het die belangstelling in die inhoudstowwe van die hoër plante geweldig toegeneem. Visgiftigheid by die genera *Mundulea* ⁶⁻¹⁰, *Millettia* ¹¹⁻¹³, *Lonchocarpus* ^{12,14}, *Tephrosia* ^{14,15-20}, *Derris* ^{14,21-23} en *Neorautanenia* ^{24,25}, die wêreldwye besorgheid oor besoedeling en die soektog na geskikte insektisiede het alles bygedra tot 'n fitochemiese ondersoek van die *Neorautanenia* spesies.

Neorautanenia amboensis Schinz, algemeen bekend as die gemsbokboontjie is een van Suidelike Afrika se inheemse plante met verspreiding in Suidwes Afrika, Botswana, Rhodesië en die noordelike dele van Transvaal ^{26,27}.

Neorautanenia amboensis kom voor as groot meerjarige ondergrondse bolle (wat tot 20 kg kan haal) met reguit of krom eenjarige lote. Die blare is drieledig geveer met ovaal lansetvormige skutblare en waaiervormige steunblaartjies. Die leeragtige klein blaartjies is drielobbig getand en bedek met kort wollerige haartjies ²⁷⁻²⁹.

Vanaf Desember tot Februarie verskyn lang trosse blou-pers blomme met 2 - 4 blomme per bundel. Die kelk van die blom is vyftandig, ca. 7 - 9 mm lank terwyl die kroonblare breed en ovaalvormig met breë kante is. Die houtagtige, vaalgeel peule is met syagtige hare

bedek en bevat 'n aantal swart-violet sade. Hierdie peule (7 - 11 sm lank; 1,5 - 2,5 sm breed) is plat, lansetvormig, aan beide kante gespits en word dikwels deur diere gevreet ²⁶⁻²⁸.

Die *Neorautanenia* spesies kom in verskeie streke in die Republiek, Suidwes Afrika, Botswana, Rhodesië en in Sentraal Afrika voor en volgens die Nasionale Herbarium bestaan daar agt spesies ^{25,30} (waarvan slegs *Neorautanenia pseudopachyrrhiza* buite Suid-Afrika ondersoek is ²⁴) naamlik :

- (1) *N. amboensis* Schinz;
- (2) *N. brachypus* (Harms) C.A. Sm;
- (3) *N. coriaceae* C.A. Sm;
- (4) *N. deserticola* C.A. Sm;
- (5) *N. edulis* C.A. Sm;
- (6) *N. ficifolia* (Benth.) C.A. Sm;
- (7) *N. lugardi* (N.E. Br.) C.A. Sm;
- (8) *N. pseudopachyrrhiza* (Harms) Milne Redhead;

wat as volg geklassifiseer kan word :

Orde : Leguminosae
Subfamilie : Fabaceae ²⁶
Genus : *Neorautanenia*

Die noue verwantskap tussen die *Neorautanenia* spesies blyk duidelik uit die wye reeks verwante verbindings wat reeds uit hierdie plante

geïsoleer is (Tabel 1). Die verskil in die basiese isoflavonoïed-patroon van die onderskeie spesies is van taksonomiese belang vir 'n her-klassifikasie van die spesies, daar verskeie taksonome dit eens is dat *N. edulis* en *N. coriaca* variasies van dieselfde spesie is terwyl *N. ficifolia* en *N. deserticola* identies is.

Voorlopige ondersoeke ²⁵ het getoon dat *N. amboensis* 'n besondere groot verskeidenheid van verbindings bevat. Tydens die huidige ondersoek is 'n verdere agt bekende en twaalf nuwe natuurprodukte geïsoleer (Tabel 1). Die strukture van die nuwe verbindings is bo twyfel gestel met behulp van chemiese- en spektroskopiese metodes. Omskakelingsreaksies is toegepas om onderlinge struktuurverwantskappe aan te toon, terwyl totaalsinteses in sommige gevalle tot finale rasionalisering gelei het. Die chemiese ondersoek van die bol van *N. amboensis* het die isolering van rotenoïede tesame met verwante isoflavonoïede behels wat waarskynlik ook hul biogenetiese ontstaan aandui en van taksonomiese betekenis is.

Weens die verwydering van heelwat van die gechlorineerde insekdoders soos DDT, Dieldrin, ens. van die mark, is navorsing na geskikte plaasvervangers gestimuleer. Die gebruik van die inektisied, rotenoon (1) is hoog aan te beveel, aangesien dit geredelik na skadelose produkte oksideerbaar is. In die V.S.A. word dit verbou deur aanplantings van onder andere *Tephrosia vogelii* ³¹⁻³⁵. Aangesien die sintese van rotenoon dusver nie op 'n ekonomiese grondslag bedryf kon word nie, is die ondersoek na komponente uit

N. amboensis geloods met die vooruitsig dat nuwe struktuurvariasies gevind sal word met 'n vergelykbare toksisiteit en wat moontlik vanuit 'n sintetiese oogpunt ekonomies benut kan word.

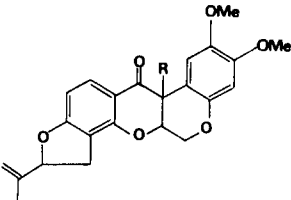
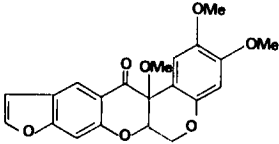
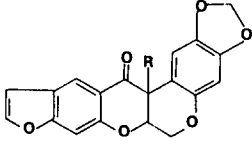
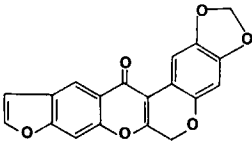
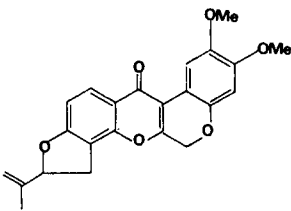
Rotenoïede is reeds uit die volgende plantgenera geïsoleer :

Mundulea ⁶⁻¹⁰, *Pachyrrhizus* ³⁶⁻³⁹, *Derris* ^{14,21-23}.
Dalbergia ^{40,41}, *Neorautanenia* ^{24,25}, *Millettia* ^{11-13,42},
Piscidia ^{12,43}, *Lonchocarpus* ^{12,14}, *Amorpha* ⁴⁴⁻⁴⁷,
Tephrosia ^{14,15-20} en *Stemona* ⁴⁸ waarvan *N. amboensis* dusver by verre die grootste verskeidenheid rotenoïede bevat en ook die eerste plant verteenwoordig waaruit opties aktiewe 12a-metoksirotenoïede tesame met 12a-hidroksirotenoïede geïsoleer is ⁴⁹.

Uit 'n biogenetiese oogpunt beskou is die ontstaan van rotenoïede uit isoflavonoïede aanvaarbaar en ter uitbouing van hierdie basis is die nuwe rotenoïed, neobanoon (4), via 'n biogeneties-georiënteerde weg gesintetiseer.

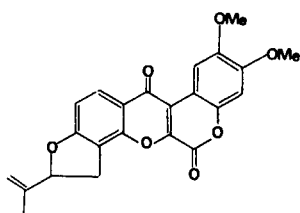
TABEL 1

Tabel van alle verbindings dusver uit die verskillende *Neorautanenia* spesies geïsoleer

		NEORAUTANENIA				
		<i>fictifolia</i>	<i>edulis</i>	<i>amboensis</i>	<i>pachyrrhiza</i>	<i>pseudo-</i>
						Verwysing
VERBINDING						
	Rotenoon (1): R=H	-	-	+	-	49
	12a-Hidroksirotenoon (2): R=OH	-	-	+	-	49
	12a-Metoksirotenoon (3): R=OMe	-	-	+	-	49
	Neobanoon (4)	-	-	+	-	49
	Dolineoon (5): R=H	-	-	+	+	24,329
	12a-Hidroksidolineoon (6): R=OH	-	-	+	-	49
	12a-Metoksidolineoon (7): R=OMe	-	-	+	-	49
	Dehidrodolineoon (8)	-	-	+	-	49
	Dehidrorotenoone (9)	-	-	+	-	49

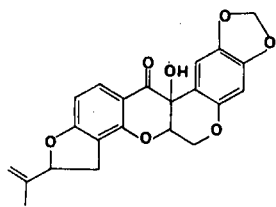
NEORAUTANENIA

Verysing
pseudo-
pachyrrhiza
amboensis
edulis
ficifolia



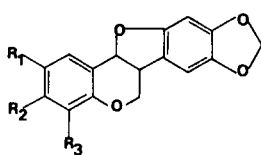
Rotenonol (10)

- - + - 49



12a-Hidroksi-iscamilletoon (11)

- - + - 329

Edulol (12): $R_1 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{Me})_2$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{H}$

- + + - 326, 327

2-Hidroksipterokarpin (13): $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OMe}$; $R_3 = \text{H}$

- + - - 327

Neficin (14): $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{OMe}$; $R_3 = \text{OMe}$

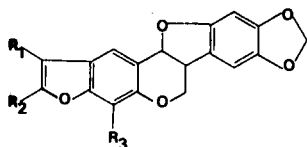
+ - - - 374

2-Metoksipterokarpin (15): $R_1 = \text{OMe}$; $R_2 = \text{OMe}$; $R_3 = \text{H}$

- + - - 373

Neoraukaraan (16): $R_1 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{Me})_2$; $R_2 = \text{OMe}$; $R_3 = \text{OMe}$

- + - - 191

Neodulin (17): $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{H}$

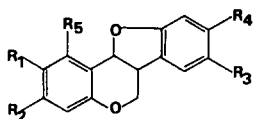
- + + - 25, 324, 325

Ficinil (18): $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{OMe}$

+ - - - 332

Ficifoloon (19): $R_1 = \text{CH}_3$; $R_2 = \text{COOCH}_3$; $R_3 = \text{OMe}$

+ - - - 374

Edulenol (20): $R_1 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{Me})_2$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OMe}$; $R_5 = \text{OMe}$

- + + - 191

Homopterokarpin (21): $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{OMe}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OMe}$; $R_5 = \text{H}$

- - + - 185, 187

Ficifolinol (22): $R_1 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{Me})_2$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{Me})_2$; $R_4 = \text{OH}$; $R_5 = \text{H}$

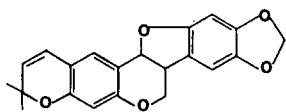
+ - - - 328

Homodudiol (23): $R_1 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{Me})_2$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OH}$; $R_5 = \text{H}$

- + - - 192

Edudiol (24): $R_1 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{Me})_2$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OH}$; $R_5 = \text{OMe}$

- + - - 191

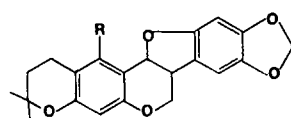


Neorautenaan (25):

- + - - 30

Neorautanenien

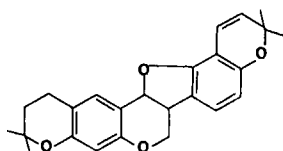
Verwysing
pauciflora
amboensis
edulis
ficiifolia



Neorautaan (26): R=H

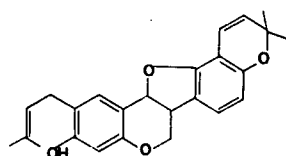
Neorautanin (27): R=OMe

- + - - 373
 - + - - 191



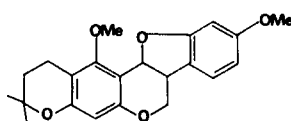
Folinin (28)

+ - - - 328



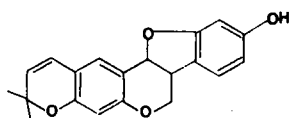
Folitenol (29)

+ - + - 328



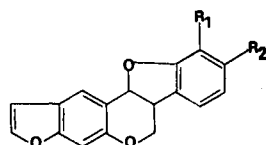
Edulaan (30)

- + - - 191

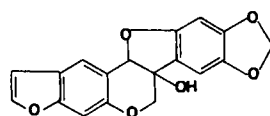


Neorautenol (31)

- + - - 192

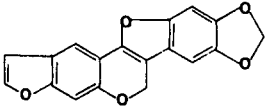
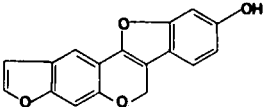
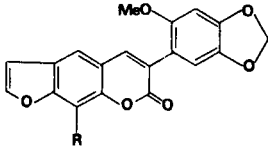
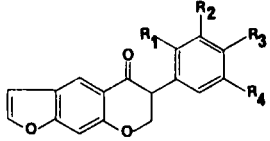
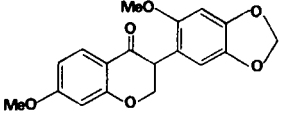
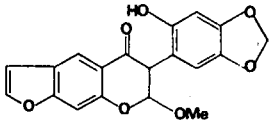
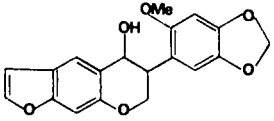
Ambonaan (32): R₁=OMe; R₂=OMeNeodunol (33): R₁=H; R₂=OH

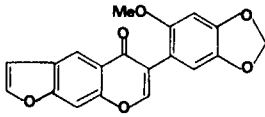
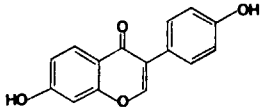
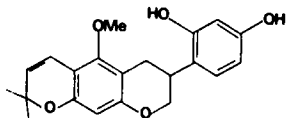
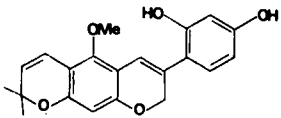
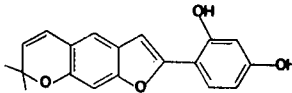
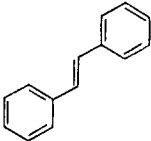
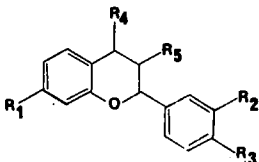
- - + - 326
 - + + - 192



Neobanol (34)

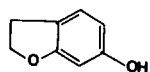
- - + - 329

		Neorautanenina				
		<i>ficifolia</i>	<i>edulis</i>	<i>amboensis</i>	<i>pachyrrhiza</i> - <i>pachyrrhiza</i>	Vermysing
	Neochuleen (35)	-	+	-	-	192
	Neorauteen (36)	-	+	-	-	192
	Pachyrrhizin (37): R=H Neofolin (38): R=OMe	+	+	+	+	24,25, 37,39
	Neotenoon (39): R ₁ =OMe; R ₂ =H; R ₃ ,R ₄ =OCH ₂ O Nepeudin (40): R ₁ =OMe; R ₂ =OMe; R ₃ =OMe; R ₄ =H	+	+	+	+	24,25
	2',7-Dimetoksisophorol (41)	-	-	+	-	179
	2'-Hidroksi-2-metoksi-4',5'-metileendioksi-6,7,4'',5''-furanisoflavanoon (42)	-	-	+	-	
	Ambanol (43)	-	-	+	-	

		Neorautanenia				Verwysing
		<i>fictifolia</i>	<i>edulis</i>	<i>amboensis</i>	<i>pachyrrhiza</i>	
	Dehidroneotenoen (44)	-	+	+	-	24, 37, 39, 147
	Daidzein (45)	-	-	+	-	25
	Neoraufavaan (46)	-	+	-	-	372
	Neoraufaveen (47)	-	+	-	-	30
	Neoraufuraan (48)	-	+	-	-	372
	Trans-stilbeen (49)	-	-	+	-	221
	(-)-3',4',7-Trihidroksi-2,3- <i>trans</i> -flavaan-3,4- <i>cis</i> -diol (50): R ₁ =R ₂ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =OH	-	-	+	-	218, 333
	(-)-3',4',7-Trimetoksi-2,3- <i>trans</i> -flavaan-3,4- <i>cis</i> -diol (51): R ₁ =OMe; R ₂ =OMe; R ₃ =OMe; R ₄ =OH; R ₅ =OH	-	-	+	-	218, 336
	(-)-3,3',4,4',7-Pentametoksi-2,3- <i>trans</i> -3,4- <i>cis</i> -flavaan (52): R ₁ =R ₂ =R ₃ =R ₄ =R ₅ =OMe	-	-	+	-	

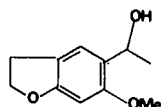
Neorautanenlia

Verwysing
pseudo-
pachyrrhiza
amboensis
edulis
fieri folia



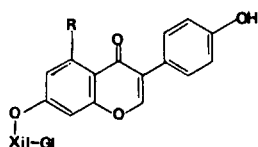
6-Hidroksi-2,3-dihidrobensfuraan (53)

- - + -



α -OH, $\alpha:5$ (6-Metoksi-2,3-dihidrobensfuraan)-etaan (54)

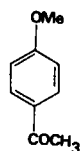
- - + -



Genistein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied (55): R=OH
Daidzein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied (56): R=H

- - + -

- - + -



p-metoksi-asetofenoon (57)

- - + -

A. Rotenoïede

2.1 Inleidend

Vir etlike eeue het inboorlinge in die tropiese dele van die Verre Ooste en Suid Amerika van onder andere giftige plante gebruik gemaak as hulpmiddel vir visvangs en jagdoeleindes. Hierdie toksiese plante, algemeen bekend as "tuba" of "toeba" in Maleis, is almal lede van die familie *Leguminosae* waarvan die genus *Derris*, inheems aan Oos Asië, die hoogste toksisiteit teenoor vis en insekte toon ^{50,51}. Soortgelyke gebruik van die verwante spesies *Lonchocarpus*, *Tephrosia*, *Mundulea* en *Neorautanenia* in Suid Amerika en Suid-Afrika is ook aangeteken ⁵¹.

Die gebruik van wortels van *Derris* spesies as insektisied is lank reeds bekend en reeds so vroeg as 1848 het Oxley getoon dat "tuba"-wortels giftig is teenoor blaarvretende ruspes ⁵⁰. Die gebruik van hierdie plante as insekdoders deur die Chinese en die benutting van die wortels van *Derris elliptica* as visgif deur die Javaanse inboorlinge ²² het daartoe gelei dat Greshoff ²² na 'n chemiese ondersoek in 1890 beweer het dat hy die aktiewe bestanddeel van die *Derris* plant geïsoleer het.

'n Chemiese ondersoek na die aktiewe stof in *Lonchocarpus nicou* ⁵² is gedurende 1892 begin, maar Nagai ^{53,54} het egter eers 'n paar jaar

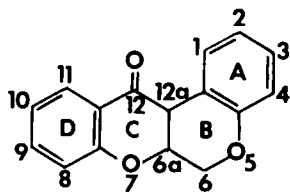
later daarin geslaag om dit in suiwer vorm te isoleer uit *Derris chinensis* wat vir kommersiële doeleindes in Formosa verbou is.

Na aanleiding van die inboorlingwoord "roten" vir *D. chinensis* word die verbinding rotenoon genoem. Dit het later geblyk ⁵⁵ dat "tubotoxin", geïsoleer deur Ishikawa uit *D. elliptica*, identies was met rotenoon.

Die korrekte molekulêre formule vir rotenoon, $C_{23}H_{22}O_6$, is in 1925 deur Takei ⁵⁶ bepaal en is later deur Butenandt ⁵⁷ met behulp van chemiese metodes bevestig. Die voorstelling van struktuur (1) vir rotenoon was die gevolg van baanbrekerswerk deur Robertson ^{58,59}, Butenandt en McCartney ⁶⁰ sowel as Takei *et al.* ^{61,62} wat feitlik gelyktydig die korrekte struktuurformule postuleer het.

2.2. Struktuur en stereochemie van die rotenoïede

Die rotenoïede is 'n groep natuurprodukte met 'n 6a, 12a-dihydro-benspira-an- γ -piroon as basiese skelet en nommeringsstelsel soos aangedui in (a) ⁶⁰.



(a)

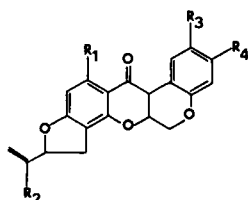
Rotenoïede kan beskou word as isoflavanone met 'n "ekstra" koolstofatoom (C-6) as modifikasie, wat in ooreenstemming is met resente kennis oor die biogenetiese oorsprong van rotenoïede (sien 2.18).

Tot voor hierdie ondersoek was slegs sestiën natuurlike rotenoïede (1, 5, 61 - 74) bekend, uitgesonderd die 12a- α -substitueerde- en dehidrorotenoïede (sien 2.4). Almal bevat 'n katesjol-tipe A-ring (- metoksigroepe in die 2- en 3-posisies, met uitsondering van pachyrrhizoon (64)³⁶, dolineoon (5)²⁴, millettoon (70)^{12,60} en isomillettoon (63)^{12,60} wat die 2,3-metileendioksi analoë verteenwoordig). Die D-ring het gewoonlik resorsinol- of floroglusinol-oksigenering terwyl sommige rotenoïede 'n ekstra E-ring bevat wat chromeen-, dihidrofuraan- en furaananaloë as struktuurvariasies insluit.

2.2.1 Chemiese gedrag

Die teenwoordigheid van die B-ring bring mee dat die chemiese en stereochemiese reaksies van die rotenoïede redelik kompleks is. Sommige van die reaksies van rotenoon wat bygedra het tot die opklaring van die basiese ringsisteem word aangetoon in skema 1.

Dehidrogenasie^{21,70,71} van rotenoon (1) lewer dehidrorotenoïede (9) wat op sy beurt met groot gemak met KOH/etanol na derrissiënsuur (75), sonder verlies van enige koolstofatome^{21,70}, gehidroliseer word. Die reaksie kan beskou word asof dit verloop deur die hidrolitiese splyting van 'n enol-eterbrug in γ -piroonring C en die

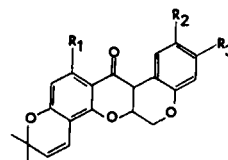


Rotenone (1)⁵³: $R_1 = H$; $R_2 = CH_3$; $R_3 = R_4 = OCH_3$

Sumatrol (61)^{63,64,65}: $R_1 = OH$; $R_2 = CH_3$; $R_3 = R_4 = OCH_3$

Amorphigenin (62)⁴⁴: $R_1 = H$; $R_2 = CH_2OH$; $R_3 = R_4 = OCH_3$

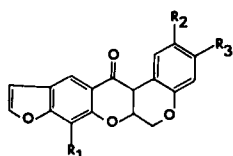
Isomillettoin (63)¹²: $R_1 = H$; $R_2 = CH_3$; $R_3, R_4 = OCH_2O$



Deguelin (68)¹¹: $R_1 = H$; $R_2 = R_3 = OCH_3$

Toxicarol (69)⁶⁶: $R_1 = OH$; $R_2 = R_3 = OCH_3$

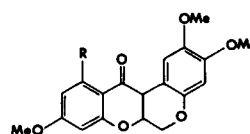
Millettoin (70)¹²: $R_1 = H$; $R_2, R_3 = OCH_2O$



Pachyrrhizone (64)³⁶: $R_1 = OCH_3$; $R_2, R_3 = OCH_2O$

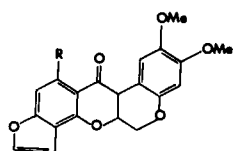
Dolineone (5)²⁴: $R_1 = H$; $R_2, R_3 = OCH_2O$

Erosone (65)³⁹: $R_1 = H$; $R_2 = R_3 = OCH_3$



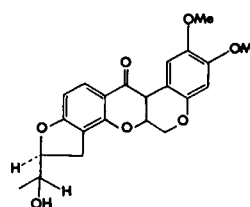
Sermundone (71)⁶⁶: $R = OH$

Munduserone (72)⁶: $R = H$

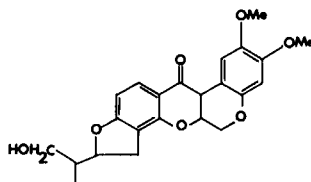


Elliptone (66)^{66,67}: $R = H$

Malaccol (67)^{23,68}: $R = OH$

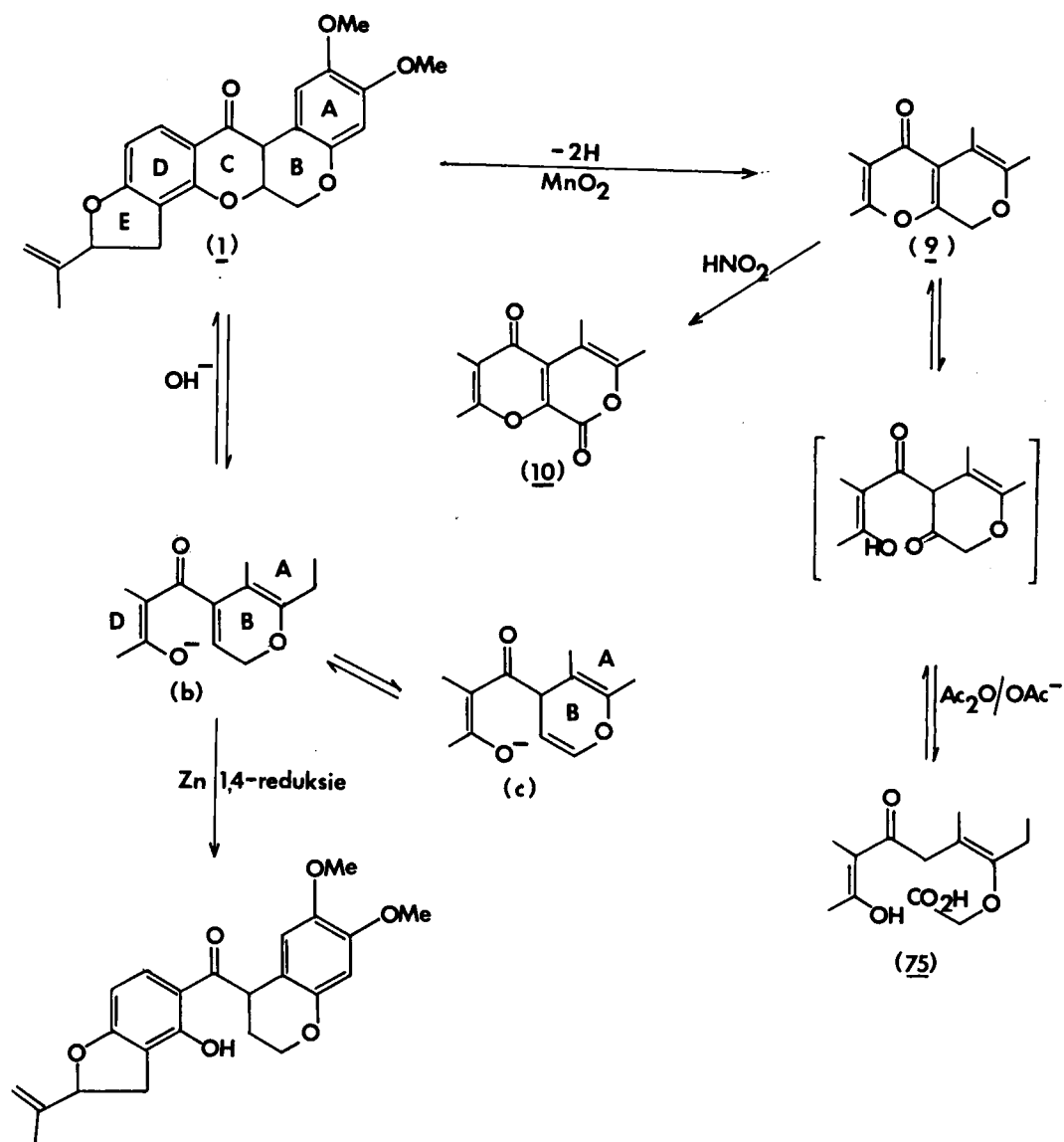


Dalpanol (73)⁴⁰

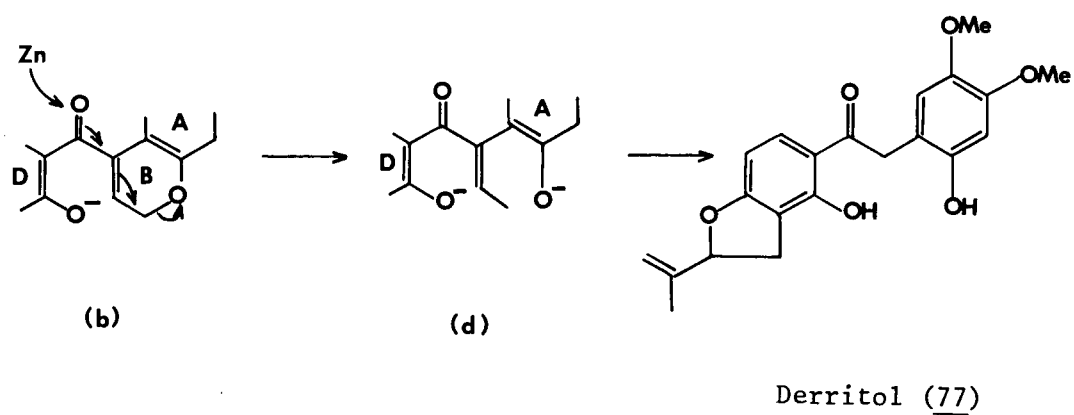


Dihydroamorphigenin (74)⁶⁹

Skema 1.



Rotenol (76)



Derritol (77)

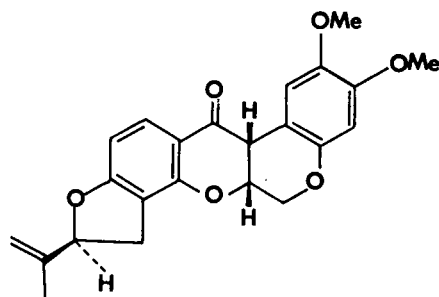
daaropvolgende splyting van die resulterende β -diketoon. Derrisiensuur (75) kan hersikliseer na dehidrorotenoen (9) in teenwoordigheid van asynsuuranhidried en natriumasetaat ⁶¹. Dehidrorotenoïede kan van isoflavone onderskei word deur oksidasie van die metileengroep (C-6) in eersgenoemde met salpetrigsuur na die ooreenstemmende geel ketolaktone (rotenonone) (10) ⁷².

Wanneer rotenoën (1) met sinkpoeier in alkaliese medium behandel word, word rotenol (76) en derritol (77) as produkte verkry ^{59,73}. Hierdie verskynsel is deur Crombie *et al.* ⁷¹ verklaar in terme van die geometrie van die B/C-ringaansluiting in rotenoën. In die eerste stap van die reaksie word rotenoën in alkaliese medium omgeskakel na die ewewig (1) $\rightarrow$ (b) $\rightarrow$ (c), wat bevestig is deur die isolasie van (b) en (c) in die geprotoneerde vorm. Rotenol (76) word dan gevorm deur die 1,4-reduksie van (b) terwyl derritol (77) sy oorsprong het deur 'n aanval van sink (skema 1) soos aangetoon en daaropvolgende prototropiese verskuiwing na (d) met kondensasie van die retroaldol as finale stap.

2.2.2 Stereochemie

Büchi *et al.* ⁷⁴ het vasgestel dat alle getuienis daarop dui dat die B- en C- ringe in rotenoën 'n *cis*-konfigurasie het en hy het die absolute konfigurasie op oortuigende wyse as (6aS, 12aS, 5'R) (figuur e) bepaal.

Die konfigurasies van die twee asimmetriese sentra by 5' en 6a is direk bepaal terwyl dié van die 12a-koolstof afgelei is met behulp van



(e)

chemiese en spektroskopiese getuienis ^{74,75}. Alle rotenoïede wat dusver ondersoek is toon 'n positiewe Cotton-effek ⁷⁶ en sover dit die 6a, 12a asimmetriese sentra betref, vorm hulle een stereochemiese reeks, naamlik (6aS, 12aS) ⁴⁴. In die gevalle van rotenoon (1) en sumatrol (61) is die ORD kurwes gewysig as gevolg van 'n negatiewe bydrae by langer golflengte. Hierdie verskynsel kan toegeskryf word aan die asimmetriese sentrum by C-5' en dit is ook aangetoon dat hierdie twee rotenoïede identiese konfigurasies by C-5' besit ⁶⁵. Unai *et al.* ⁷⁷ het gevind dat die absolute konfigurasie by die 6a-posisie die teken van die Cotton-effek bepaal. Rotenoïede wat 'n negatiewe kurwe toon het die 6a α -konfigurasie terwyl dié wat 'n 6a β -konfigurasie het, 'n positiewe kurwe lewer.

Alhoewel 'n direkte bepaling van die absolute konfigurasie by die 12a-posisie nog nie gedoen is nie, is waardevolle inligting ten opsigte van 'n S-konfigurasie verkry deur chemiese- en IR-ondersoeke ^{61,71,74}. Dit het veral geblyk dat PMR-spektroskopie 'n uiters

belangrike tegniek is vir die vasstelling van die rotenoïedskelet en die stereochemie daarvan ^{75,78,79} (Tabel 2).

PMR- en IR-studies het die finale bewys gelever dat rotenoïede in die termodinamies meer stabiele B/C *cis*-konfigurasie bestaan ^{75,79,80}. Die chemiese verskuiwing van H1 op ring A is diagnosties en kan gebruik word om te onderskei tussen *cis*- en *trans* ringaansluitings ^{49,71}. By rotenoon (1) en *cis*-12a-hidroksirotenoon (2a) resoneer H1 by τ 3,24 en 3,33 respektiewelik terwyl dit in die geval van *trans*-12a-hidroksirotenoon (2b) by τ 2,18 voorkom. Hiervolgens blyk dit duidelik dat die chemiese verskuiwing van H1 deur 'n asimmetriese skermingseffek van die karbonielgroep beïnvloed word as gevolg van die ruimtelike oriëntasie van die karbonielgroep. Omdat H1 amper koplanêr is met die 12-karbonielgroep in byvoorbeeld *trans*-12a-hidroksirotenoon (2b) (waar die molekule vlak is met die B- en C-ringe onderskeidelik in die halfstoel- en vyfpunktoplanêre konformasie), verskyn die sein by 'n laer magneetveld. Dehidroisoro-tenoon (78) (en ander dehidrorotenoïede) verteenwoordig die uiterste geval waar die molekule amper heeltemal vlak is sodat H1 by τ 1,67 resoneer (Tabelle 2 en 3).

In teenstelling hiermee veroorsaak die gevoude molekulêre vorm van die *cis*-verbindinge dat H1 nie meer koplanêr tot die karbonielgroep is nie, maar dat dit naby die nodale vlak van die karboniel se magnetiese skermingsveld lê. As gevolg van hierdie effek verskyn H1 by heelwat hoër veld, ca. τ 3,3 (Tabelle 2 en 3) - vergelyk 12-deoksi-6',7'-dihidrorotenoïede (78) waar die magnetiese skermings-effek van die karbonielgroep afwesig is en H1 by τ 3,34 voorkom.

TABEL 2

PMR-DATA (τ , CDCl_3 , J in Hz) VIR SOMMIGE ROTENOÏDEDE

Verbinding	H1	H4	aks.	H6 ekw.	H6a	H12a	H10	H11	H4' aks.	ekw.	H5'	H7'	C-Me	OMe	OCH ₂ O	H8	Verwysing
Amorphigenin (62)	3,23	3,56					3,51 (J 9)	2,16 (J 9)						6,18 6,22			44
Dalpanol (73)	3,24	3,57	5,40 J _{gem} 12 J _{vis} 3	5,86 J _{vis} 1	5,09		3,53 (J 8)	2,19 (J 8)	6,90 (J 9)	5,34 (J 9)	8,66 8,78			6,22 6,26			40
Deguelin (68)	3,22	3,59	5,38 J _{gem} 11,8 J _{vis} 3,2	5,84 J _{vis} 1	5,10	6,20 (J 4,0)	3,59 (J 9)	2,29 (J 9)	3,39 (J 10,5)		4,47 (J 10,5)		8,56 8,53	6,21 6,25			78
Elliptoon (66)	3,23	3,55	5,29 J _{gem} 11,8 J _{vis} 3,4	5,77 J _{vis} 1	4,93	6,06 (J 4,1)	2,87 (J 8,5)	2,11 (J 8,5)	3,09 (J 3)		2,46 (J 3)			6,22 6,26			78
Millettoon (30)	3,18	3,53	5,42 J _{gem} 12 J _{vis} 3,2	5,87 J _{vis} 1,1	5,11	6,25 (J 4,0)	3,47 (J 8,5 en 0,7)	2,17 (J 8,5)	3,21 (J 10,1 en 0,7)		4,47 (J 10,1)		8,55 8,61		4,09		12
Munduseroon (72)	3,23	3,55	5,40	5,85	5,07	6,17	3,43 (J 9 en 2)	2,15 (J 9)						6,25 6,23		3,60 (J 2)	81
Sumatrol (61)	3,14	3,56	5,44 J _{gem} 11,8 J _{vis} 3,1	5,87 J _{vis} 1,2	5,20	6,20	4,00		7,17 (J 15,2 en 7,8)	6,77 (J 9,5)	4,83 (J 9,5)	4,96 5,10		6,20 6,23			78
Toxicarol* (69)	3,14	3,56	5,40 J _{gem} 12,1 J _{vis} 3,1	5,86 J _{vis} 1,3	5,16	6,20 (J 4,0)	4,06		3,46 (J 10)		4,56 (J 10)		8,57 8,64	6,20 6,23			78

* -OH : -2,49

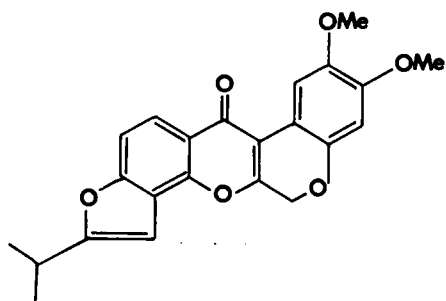
TABEL 3

PMR-DATA (τ , CDCl_3 , J in Hz) VIR 12a-GESUBSTITUEERDE- EN DEHIDROROTENOÏDE

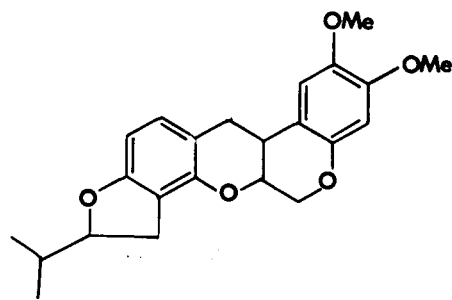
Verbinding	H1	H4	H10	H11	H8	aks.	H6	ekw.	H6a	H4'	H5'	CMe	OMe	OPc	OH	H2'	H3'	OCH ₂ O	=CH ₂	Verwysing
<i>cis</i> -12a-Hidroksirotenoon (2a)	3,33	3,46	3,47 J 9	2,10 J 9			5,36		5,63	6,93	4,67	8,20	6,27 6,17		5,23				4,93	49
<i>cis</i> -12a-Metoksirotenoon (3)	3,17	3,42	3,43 J 9	2,08 J 9			5,37		5,03	6,93	4,65	8,20	6,12 6,20 6,43						4,93	49
<i>trans</i> -12a-Hidroksirotenoon (2b)	2,18	3,63	3,40 J 9	2,13 J 9			5,47		5,05	6,78	4,62	8,25	6,20 6,23		6,60-7,00				4,97	49
<i>cis</i> -12a-Asetoksirotenoon (2c)	3,05	3,46	3,45 J 9	2,07 J 9			5,53		5,53	6,87	4,67	8,20	6,20 6,17	7,83					4,95	49
Dehidroroteno (9)	1,53	3,50	3,10 J 8,5	1,90 J 8,5			5,03			6,73	4,80	8,13	6,00 6,13						4,89	49
<i>cis</i> -12a-Hidroksidolineoon (6)*	3,45	3,50		1,79	2,94		5,49		5,30						5,17	2,27	3,15	4,15		49
<i>cis</i> -12a-Asetoksidolineoon (6a)	3,10	2,95		1,72	3,48	5,47 J _{gem} 13 J _{vis} 2	5,58 J _{gem} 12 J _{vis} 1		4,50					7,84		2,40	3,22	4,10		49
<i>cis</i> -12a-Metoksidolineoon (7)	3,26	3,46		1,75	3,00		5,46		5,33				6,45							
Dehidrodolineoon (8)**	1,68	3,43		1,79	2,23		4,91									2,43	3,22	3,94		49
Tephrosin (81)	3,45	3,54	3,56 J 8,6	2,30 J 8,6			5,55 J _{gem} 12,1 J _{vis} 2,1		5,55	3,42	4,47	8,56 8,62	6,20 6,28			1,96	2,90	4,04		49 78
Dehidrodeguelin (84)	1,55	3,46	3,15 J 8,8	1,97 J 8,8			5,00			3,25	4,29	8,52	6,06 6,15							78
Amorpholoon (89)	1,50	3,27	2,91 J 9	2,00 J 9		6-H:2,06; 6-OH:3,82 J 7			6,70 5,00	4,46 J 8	8,21	6,20 6,20							4,94 J 8	47
Rotenonoon (10)	1,05	3,15	3,04 J 8	1,86 J 8							4,54	8,18	5,99 6,06						4,83	47,48
Stemonasetal (86)	1,67	3,47	3,77	11-OH: -2,80	3,77	6-H:4,03; 6-OCH ₂ CH ₃ :6,17; 6-OCH ₂ CH ₃ :8,80							6,23 6,17							48
Stemonal (87)**	1,38	2,97	3,27 of 3,03 J 2,2		3,27 of 3,03 J 2,2								5,91 5,87 5,82							48

Spektrum afgeneem in:

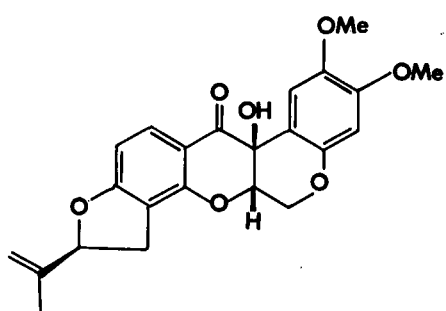
* gedeuteerde CH₃CN
** gedeuteerde DMSO



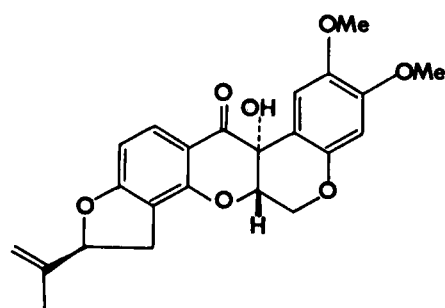
(78)



(79)



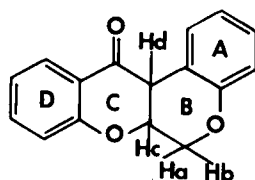
(2a)



(2b)

2.2.3 PMR-spektroskopie

'n Eerste orde analise van die karakteristieke ABCD-sisteem (gevorm deur die protone op C6, C6a en C12a) ter bevestiging van die rotenoïedskelet (80), is deur verskeie werkers gedoen ^{12,78,79}. Hulle bevindings ten opsigte van chemiese verskuiwings en koppelingskonstantes word aangedui in Tabel 4.



(80)

Tabel 4.

<u>Chemiese verskuiwings (τ)</u>	<u>J, Koppelingskonstantes (Hz)</u>
Ha, Hb (multiplet) 5,47	J_{ab} 12Hz
Hc (multiplet) 4,95	J_{ad} 1-2Hz
Hd (kwartet) 5,95	J_{ac} 1,5Hz
	J_{bc} 3Hz
	J_{cd} 4Hz

Die klein koppelingskonstant ($J = 4\text{Hz}$) tussen H6a en H12a, wys eenduidig op 'n *cis*-B/C-ring aansluiting⁷⁹. Volgens molekulêre modelle met sodanige aansluiting is die dehidrale hoek tussen hierdie twee protone *ca.* 40° wat in goeie ooreenstemming is met die waarde van 44° wat volgens die Karplus verhouding bereken is. Verdere bevestiging vir 'n *cis*-B/C-aansluiting is verkry uit 'n analise van die koppelingskonstantes tussen H6a en die twee protone op C6. Uit die Karplus verhouding blyk dit dat vir hierdie koppelingskonstantes ($J = 1,5$ en 3Hz) die dehidrale hoeke tussen H6a en die twee C6-protone $53,5^\circ$ en 65° onderskeidelik moet wees⁷⁹. Hierdie berekende waardes sluit dus die moontlikheid van 'n *trans*-

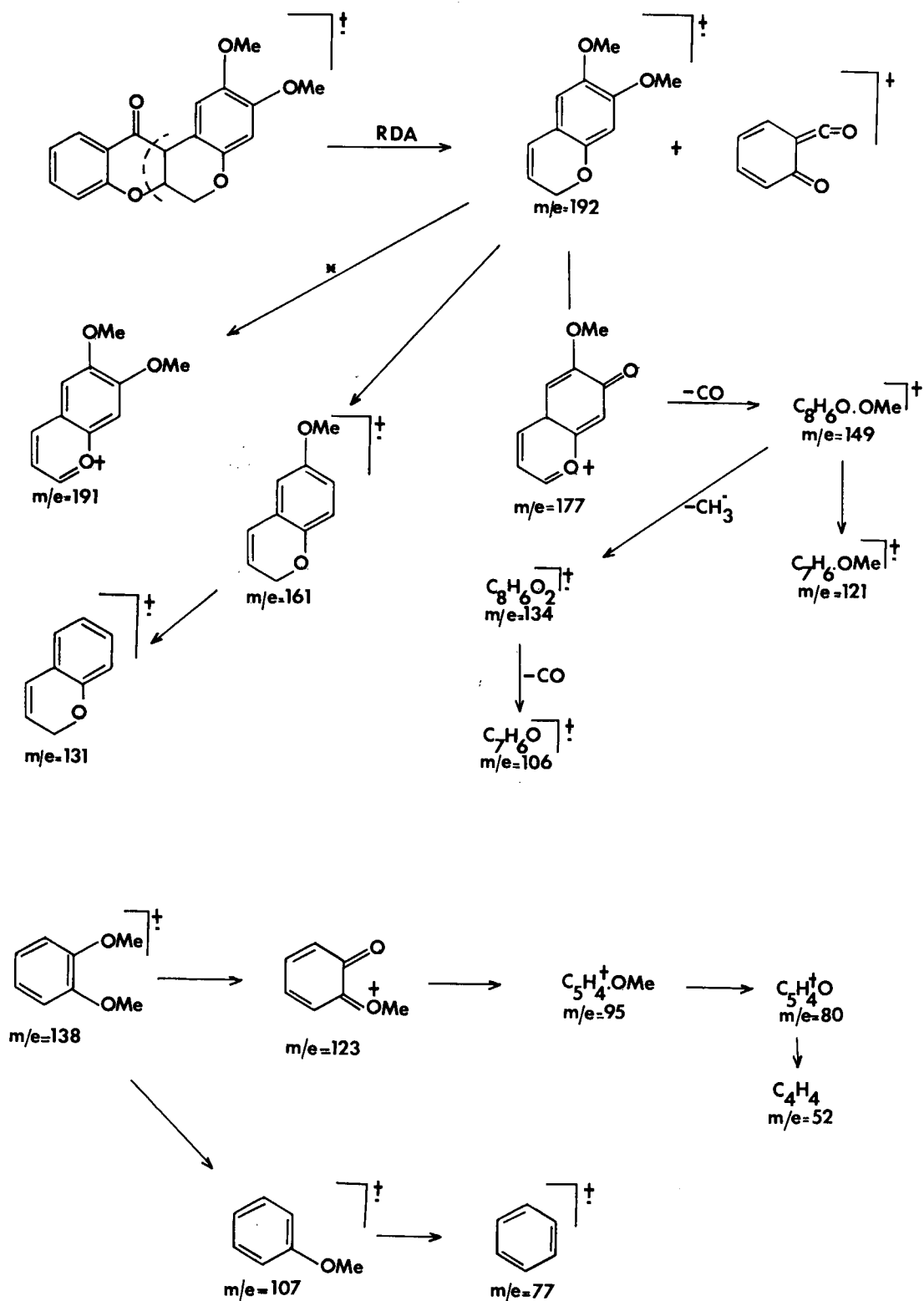
B/C-ringaansluiting formeel uit waar H6a en één van die C6-protone 1,2-*trans*-diaksiaal tot mekaar sou moes wees.

2.2.4 Massaspektrometrie

Die massaspektrometrie van die rotenoïede is onder andere deur Reed en Wilson⁸² ondersoek en daar is gevind dat die fragmentasiepatrone goed korreleer met die strukture. Die uitsonderlike stabiliteit van die rotenoïede, soortgelyk aan die pterokarpane²⁵, en die groot onderlinge ooreenkoms in strukture blyk duidelik uit die verbindings se spektra asook uit hul weerstand teen fragmentasie deur elektron-bombardement. Karakteristiek aan die 2,3-dimetoksierotenoïede is die basispiek by $m/e = 192$ wat ontstaan deur 'n retro Diels-Alder-splyting⁸² (Skema 2). Die C6a-O7- en C12-C12a-bindings word beide geredelik gebreek; een is bensilies en ook α tot 'n karbonielgroep^{83a} en die ander is α tot 'n eter suurstof^{83b}. Die dubbelbinding wat deur fragmentasie gevorm word konjugeer waarskynlik met die benseenring. Die ontstaan van die ander ione word voorgestel in skema 2⁸².

By die 2,3-metileendioksirotenoïede (5), (64) en (70) gee retro Diels-Alder-fragmentasie die verwagte basispiek by $m/e = 176$.

Skema 2



* (Hierdie ongewone fragmentasie word bevestig deur die metastabiele ioon by $m/e = 190$).

2.3 12a-Gesubstitueerde rotenoïede

Die bestaan van 'n 12a-hidroksirotenoïed is reeds in 1930 aangedui toe LaForge en Smith⁸⁴ rotenoloon (dit is 12a-hidroksirotenoon, 2) verkry het uit die oksidasie van rotenoon en gewys het op die bestaan van twee stereoisomere⁸⁵. Clark¹¹ het die sade van *Millettia ferruginea* (Hochst) ondersoek en na bewering onder andere ook tephrosin (81) geïsoleer.

Die vraag of 12a-hidroksirotenoïede werklik natuurprodukte is en of hulle as artefakte gevorm word deur oksidasie van rotenoïede, of nadat die plantmateriaal versamel is, of tydens isoleringsprosesse, het al verskeie kere oorweging geniet^{42,66,86,87}.

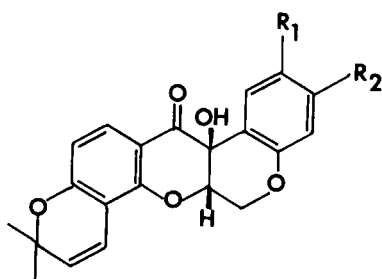
Tephrosin (81) is reeds uit 'n hele aantal plante insluitende *Lonchocarpus nicou*¹⁴⁻¹⁷, *Derris elliptica*¹⁴, *Derris urucu*⁸⁸, *Tephrosia vogelii*¹⁴⁻¹⁷, *Tephrosia obovata*¹⁸ en *Millettia ferruginea*¹¹ geïsoleer, maar daar is nie in een geval melding gemaak van die isolering van opties aktiewe tephrosin (81) nie. Soos ook in Clark¹¹ se geval, is by sommige van bogenoemde isolerings van alkaliese ekstraksie gebruik gemaak. Die gemak van oksidasie van deguelin (68)⁸⁷ na rasemiese tephrosin en rasemiese isotephrosin het die vermoede⁴² dat (+)-tephrosin 'n artefak is, ondersteun.

Ten spyte van hierdie getuienis, dui die isolering van (-)-milletosin (82) en (-)-tephrosin (81) uit *Millettia dura*¹² en (-)-12a-hidroksirotenoon (2a) en (-)-12a-hidroksidolineoon (6) uit

*N. amboensis*⁴⁹ daarop dat hulle wel as natuurprodukte mag voorkom. Vergelykende chromatografiese ondersoek op die oorspronklike ru-ekstrakte het hul bestaan in die plante ondersteun. (-)-12a-Hidroksirotenoon (2a) is ook deur Filho *et al.*⁸⁸ uit *Derris urucu* geïsoleer.

Die isolering van die eerste natuurlike opties rein 12a-metoksirote-noïede, naamlik (-)-12a-metoksirotenoon (3) en (-)-12a-metoksidolineoon (7) tesame met die ooreenstemmende (-)-12a-hidroksirotenoïede uit *N. amboensis*⁴⁹ is 'n verdere bewys ten gunste van die bestaan van 12a-gesubstitueerde rotenoïede as natuurprodukte.

Dusver is slegs ses natuurlike 12a-gesubstitueerde rotenoïede bekend, te wete (-)-tephrosin (81)^{11,14-17,88}, (-)-millettosin (82)¹², (-)-12a-hidroksirotenoon (2),^{49,88}, (-)-12a-hidroksidolineoon (6)⁴⁹, (-)-12a-metoksirotenoon (3)⁴⁹ en (-)-12a-metoksidolineoon (7)⁴⁹.

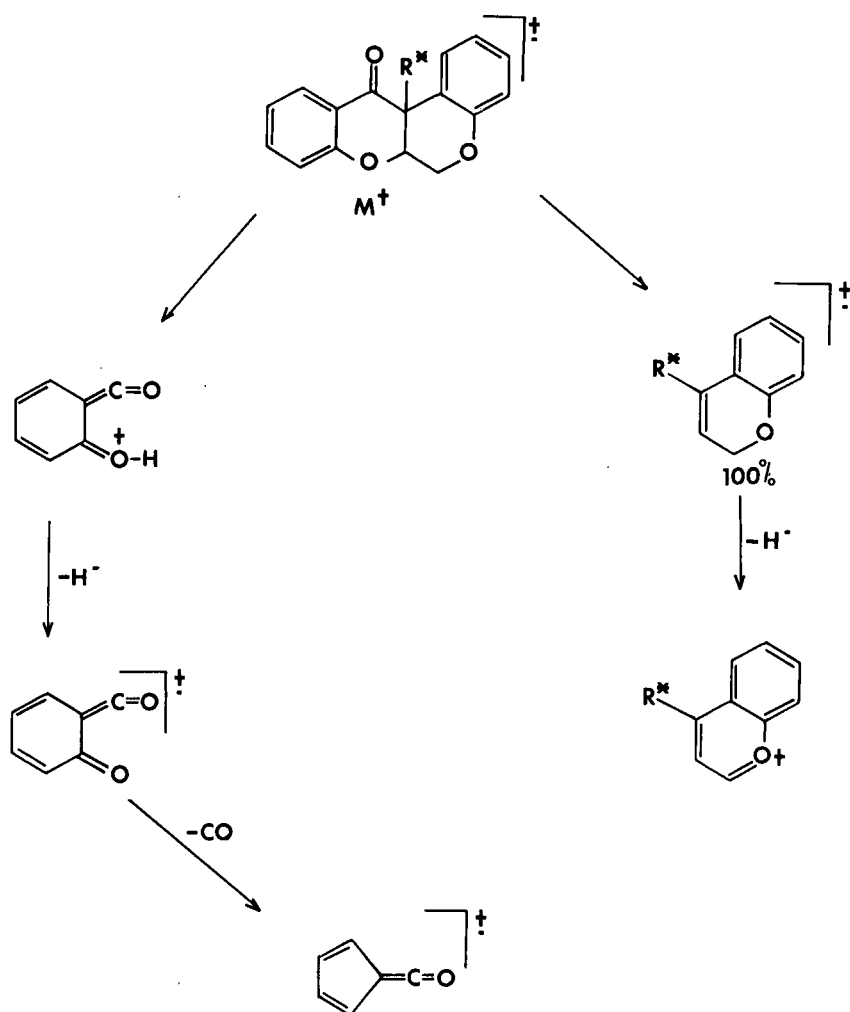


(-)-Tephrosin (81) : $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$

(-)-Millettosin (82) : $R_1, R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$

Chemiese bewys vir die strukture van die 12a-hidroksirotenoïede is gelewer deur omskakeling van die rotenoïede na die ooreenstemmende 12a-hidroksi-rasemate ^{12,49}. Hierdie voorstelling is onderskryf deur 'n vergelyking tussen die massaspektra van die ses 12a-gesubstitueerde rotenoïede waaruit dit ook duidelik geblyk het dat hul fragmentasiepatroon dieselfde is as die wat waargeneem is vir rotenoïede ⁸² (Skema 3).

Skema 3.



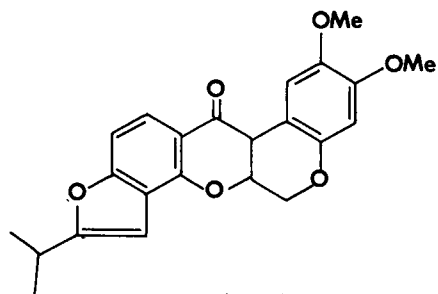
* (waar R = OH of OMe)

Onderskeiding tussen die *trans*- en *cis*-enantiomere was na analogie van rotenoïede relatief eenvoudig vanweë die groot verskille in hul PMR-spektra (Tabel 3). By die *trans*-isomere verskyn H1 by 'n laer veld, aangesien die B- en C-ringe onderskeidelik in die halfstoel- en vyfpunt-koplanêre konformasie bestaan. Dit veroorsaak dat die karbonielgroep baie nader aan, en meer vlakkig met H1 lê sodat sy skermende invloed baie groter is as by die *cis*-vorm, waar H1 by heelwat hoër veld resoneer (Tabel 4).

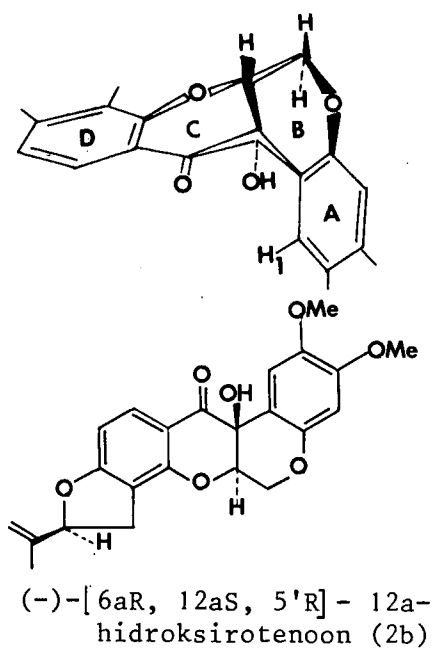
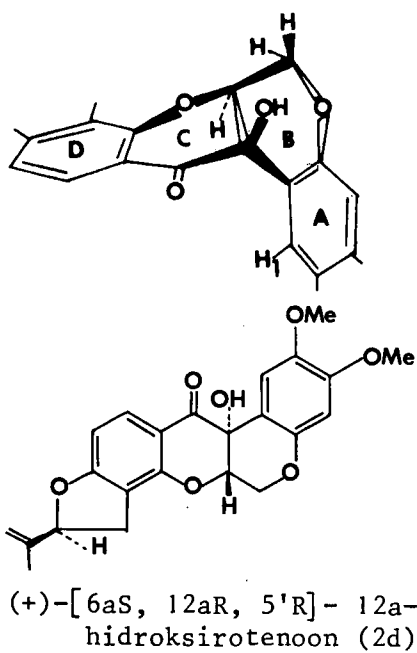
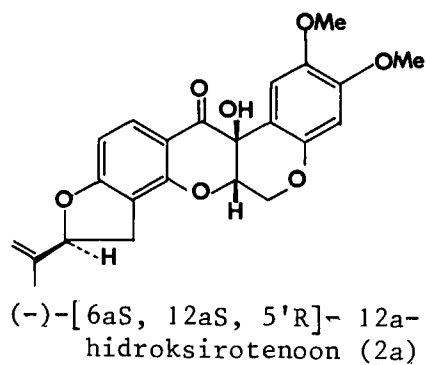
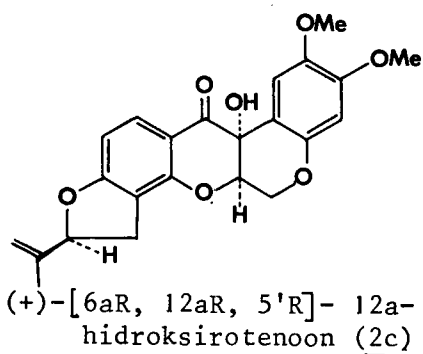
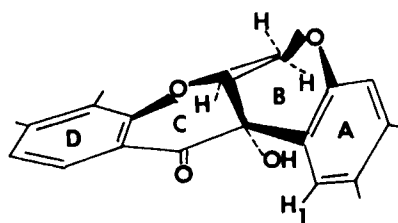
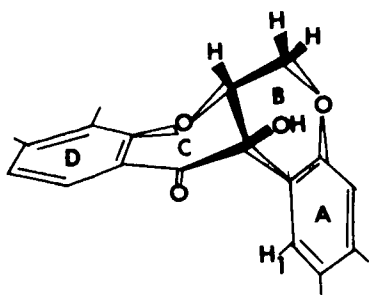
Daar bestaan heelwat redetwis oor die vier isorotenolone, dit is die 12a-hidroksiderivate van (+)-isorotenoen (78a)⁸⁹. Crombie en Godin^{71,87} het met behulp van chemiese en fisiese metodes hul absolute stereochemie bepaal wat dan ook tot die vasstelling van die stereochemie van (+)-tephrosin (81) gelei het. Hulle het berig dat hulle by die alkaliese oksidasie van natuurlike rotenoën (1) vier diastereoisomeriese ketole (2a, 2b, 2c en 2d) verkry het in teenstelling met die bevinding van Takei *et al.*⁹⁰ en Miyano en Matsui^{19,20} wat slegs twee isomeriese rotenolone verkry het. 'n Verdere geskilpunt tussen Crombie en Miyano was hul teenoorgestelde toeseggings van konfigurasie aan die B/C-ringaansluiting. Die *cis*-aansluiting word egter algemeen aanvaar op grond van chemiese en spektrofotometriese getuienis^{66,71,87}.

Deur 'n vergelyking van die ORD-kurwes van (-)-millettosin (82) en (-)-tephrosin (81) is vasgestel dat hulle ooreenstemmende stereochemiese konfigurasies vertoon; maar Ollis *et al.*¹² kon nie bepaal watter een van die twee enantiomere die werklike absolute konfigurasie voorstel nie. Later is met behulp van SD-kurwes, optiese draaiings en PMR-gegevens daarin geslaag om die absolute konfigurasies van die vier

isomeriese 12a-hidroksirotenone te bepaal soos hieronder aangetoon ⁴⁹.



(78a)



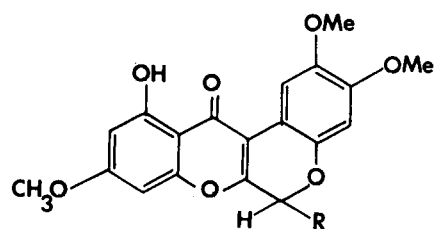
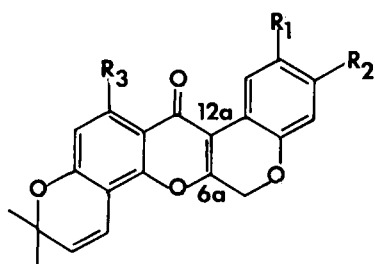
2.4 6a, 12a-Dehidrorotenoïede

Weens die gemak van dehidratering van 12a-hidroksirotenoïede, kon 6a, 12a-dehidrorotenoïede ook miskien beskou word as artefakte.

Benewens die isolering van 6a, 12a-dehidrorotenoïe (9) uit *Millettia ferruginea*¹² en *N. amboensis*⁴⁹ is die volgende 6a, 12a-dehidrorotenoïede ook as natuurprodukte bekend :

6a, 12a-dehidro- α -toxicarol (83) uit *Amorpha fruticosa*⁹¹; 6a, 12a-dehidrodeguelin (84) uit *Millettia dura*¹² en *Tephrosia vogelii*¹⁷; 6a, 12a-dehidromilletteon (85) uit *Piscidia erythrina*⁴³; stemonasetal (86), stemonal (87) en stemonoïe (88) uit *Stemona collinsae* Craib⁴⁸; amorpholoïe (89) en rotenonoïe (10) uit *Amorpha canescens*⁴⁷; dehidrodolienoïe (8) uit *Neorautanenia amboensis*⁴⁹. Hanekom²⁵ wat laasgenoemde spesie ondersoek het, het na bewering drie nuwe dehidrorotenoïede (8, 90 en 91) geïsoleer, maar weens onvoldoende materiaal kon slegs tentatiewe strukture voorgestel word.

PMR-studies^{44, 75, 78} op dehidrototenoïede toon groot verskuiwings soos blyk uit tabel 3 en onderstaande voorbeeld. In die geval van 6a, 12a-dehidroamorphigenin (92) is H1 baie meer ontskerm (τ 1,58) deur die 12-karboniel vanweë die vlakkigheid van die struktuur terwyl H11 by 'n relatief laer τ -waarde verskyn. Die diagnostiese ABCD-multiplet by amorphigenin (62)^{44,75} verval tot 'n skerp 2-proton enkelsein (τ 5,13) as gevolg van die 6-metileengroep.



6a, 12a-dehidro- α -toxicarol (83):

$R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OH}$

Stemonasetal (86) :

6a, 12a-dehidrodeguelin (84):

$R = \text{OCH}_2\text{CH}_3$

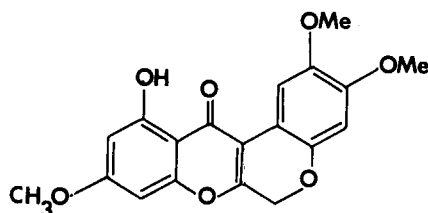
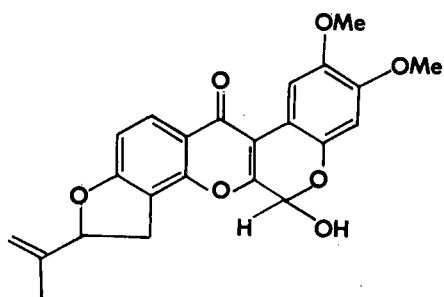
$R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$

Stemonal (87) :

6a, 12a-dehidromillettoon (85):

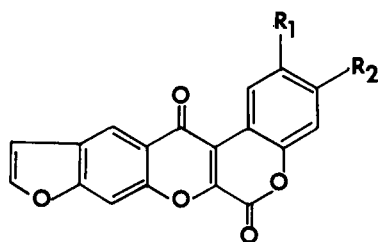
$R = \text{OH}$

$R_1, R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{H}$



Amorpholoon (89)

Stemonoon (88)

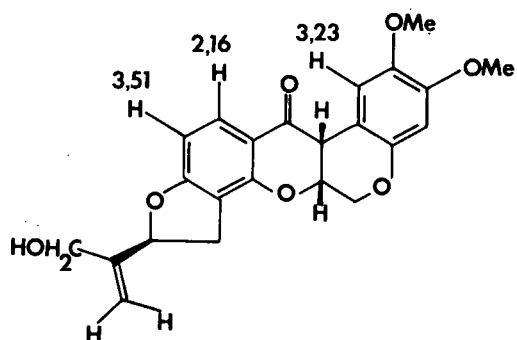


Neboensinoon (90):

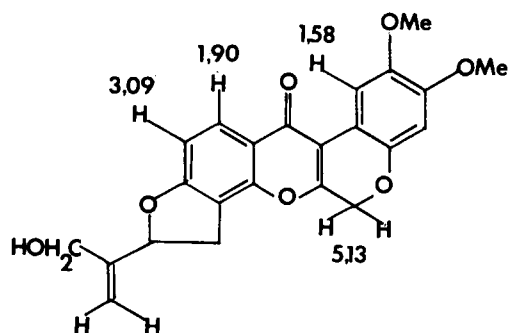
$R_1, R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$

Nambinoon (91):

$R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$



(62)



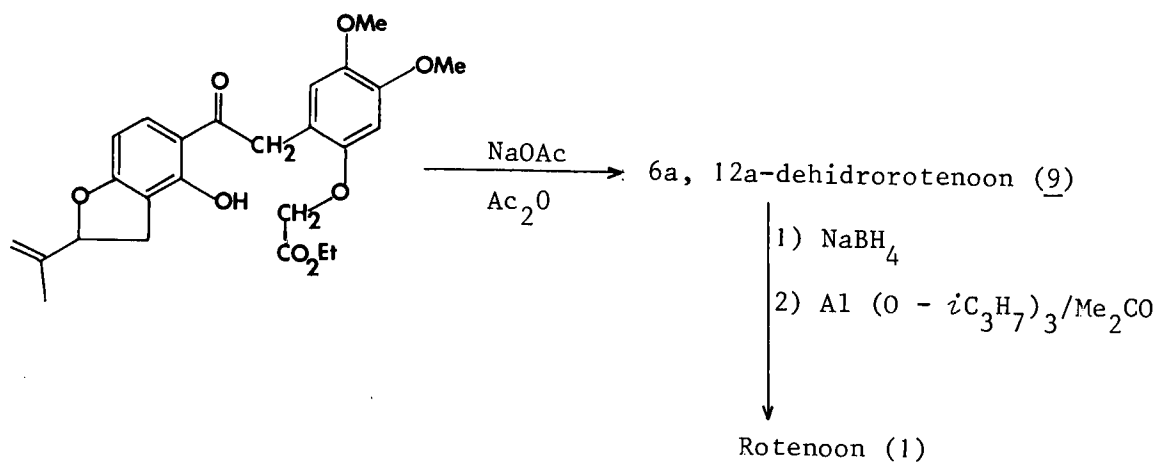
(92)

Die toenemende aantal dehidrorotenoïede wat uit verskillende plantgenera geïsoleer word, kan moontlik 'n aanduiding wees dat hierdie verbindings wêl natuurvoorkomend en nié artefakte is nie - alhoewel afdoende bewyse nog nie beskikbaar is nie.

2.5 Sintetiese roetes tot rotenoïede

Die sintese van rotenoon (1), rotenoïede en hul derivate bring heelwat probleme mee. 'n Sleutelstap in die klassieke maar ook hedendaagse roetes tot die sintese van rotenoïede behels die basiesgekataliseerde ringsluiting van 'n feniel-2-karbetoksimetoksibensielketoon (gewoonlik 'n derrissienuur of -ester) na die ooreenstemmende 6a, 12a-dehidrorotenoïed ^{61,64,68,92-97} (Skema 4).

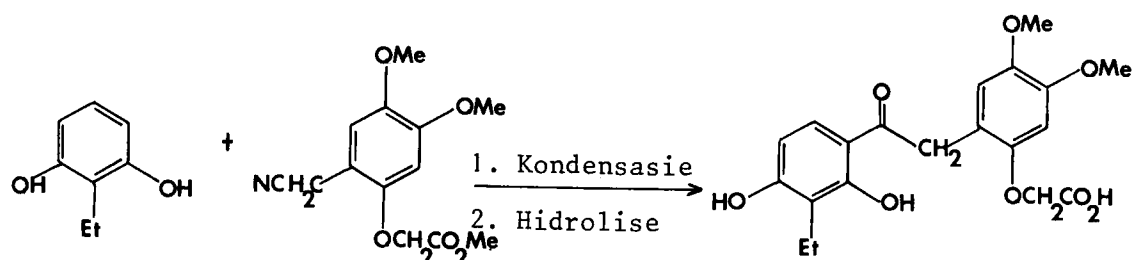
Skema 4



Die verskillende roetes tot die daarstelling van die gesogte derrissienuur behels onder andere :

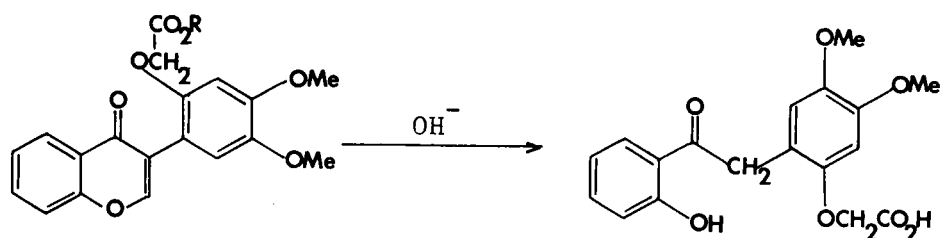
- (i) Hoesch- of meganisties verwante kondensasies vanaf geskikte nitriële 68,92,98-101 (Skema 5);

Skema 5



- (ii) die hidrolise van *o*-metoksikarbonielmetileenisoflavone 102-109 (Skema 6); en

Skema 6



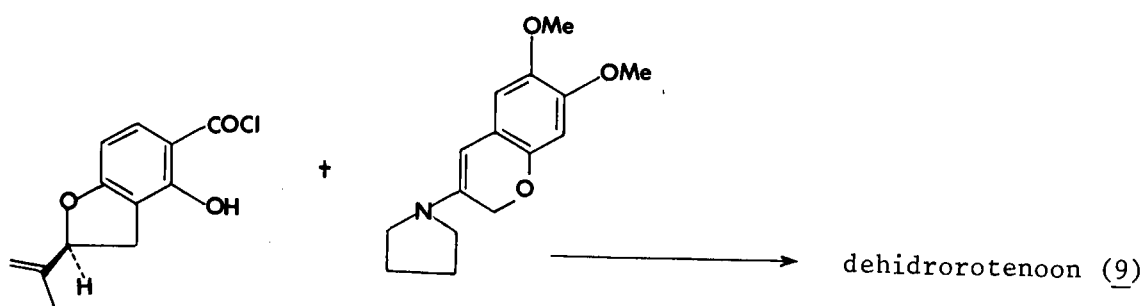
- (iii) vanaf 2,2'-dihidroksideoksibensoïene ^{74,110} (Skema 7).

Skema 7



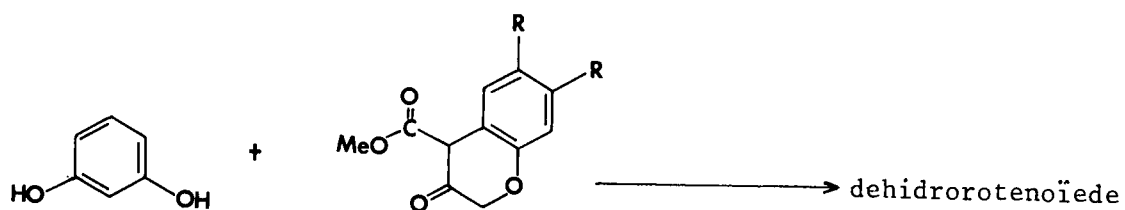
As alternatiewe tot die derrissienuurweg is : (a) die sogenaamde enamien-sintese waar dehidrorotenoïede verkry word deur die enamiene van chroman-3-one met salisiloïelchloriede te behandel 111-113 (Skema 8) sodat die moeilik bekombare ketoon-tussenstappe vermy kan word; en

Skema 8



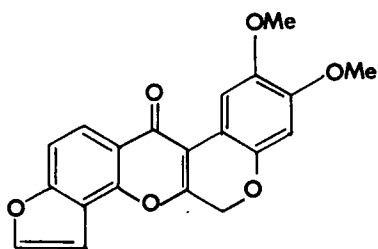
(b) die termiese kondensasie van 4-metoksikarbonielchroman-3-one met *m*-dihidroksifenole 114,115 (Skema 9).

Skema 9

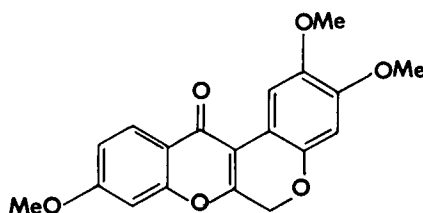


Die belangrikste probleem wat nou nog die sintetiese benadering tot die rotenoïede in die weg gestaan het, was die reduksie van 6a, 12a-dehidroverbindings na 6a, 12a-dihidroderivate. Aangesien daar dikwels funksionele groepe teenwoordig is wat sensitief is teenoor reduksie, word meer as een stap benodig om die gesogte oksidasietoestand te bereik ^{74,116,117}. Baanbrekerswerk in hierdie verband is gedoen deur Miyano en Matsui ^{118,119} wat rotenoon (1) vanaf 6a, 12a-dehidrorotenoïd (9) gesintetiseer het deur reduksie van die karboniel met natriumboorhidried gevolg deur heroksidasie van die resulterende 12-ol. Hierdie elegante metode is ook toegepas by die sinteses van deguelin (68) ¹²⁰, munduseroon (72) ¹²¹ en elliptoon (66) ¹²² (Skema 4). Katalitiese hidrogenering van die dubbelbinding het ook effektief geblyk te wees en is toegepas deur verskeie werkers ^{74,123}. In 1960 voltooi Miyano *et al.* ^{124,125} die eerste totaalsintese van rotenoon (1) nadat hulle ernstige probleme moes oorkom.

Pogings tot sintese van die rotenoïede het veral die afgelope dekade baie aandag geniet en verskeie interessante benaderings is gepubliseer. 'n Nuwe metode vir die bereiding van die derrissiensiurtype verbindings via die ooreenstemmende isoflavone is onafhanklik deur Chandrashekar *et al.* ¹⁰⁴ en Fukui *et al.* ¹⁰³ ontwikkel (Skema 6). Hierdie metode berus daarop dat isoflavone geredelik hidroliseer in basiese medium om derrissiensiuranaloë te lewer wat na siklisering 6a, 12a-dehidrorotenoïede lewer en is toegepas by die sintese van dehidro-elliptoon (93) en dehidromunduseroon (94).



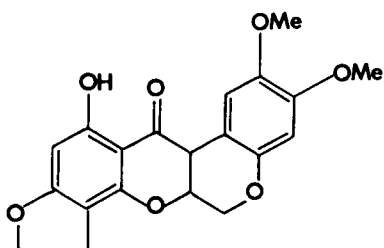
(93)



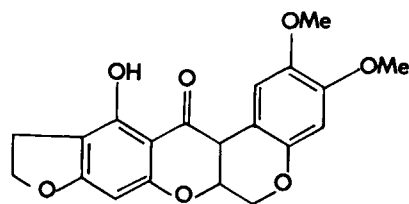
(94)

'n Sintetiese roete wat uit biogenetiese oogpunt aanvaarbaar voorkom (maar wat nog nie gebruik is vir die sintese van natuurlike rotenoïede nie) is waar die 3-etoksimetiel- of 3-bromometiel -6,2'-dihidroksi-isoflavoon onder suurtoestande sikliseer deur die vorming van 'n eterbrug tussen die 2'- en 3-funksionele groepe om 'n 6a, 12a-dehidroverbinding te gee ¹²⁶⁻¹²⁸. Ander interessante ontwikkelings by rotenoïedsintese behels onder andere die gebruik van asetileniese tussenverbindinge ¹²⁹ en die gebruik van polifosforsuur by die asilering van fenole ⁹⁶.

Dusver is geen van die natuurlike 6- of 11-hidroksirotenoïede (byvoorbeeld sumatrol (61), toxicarol (69), malaccol (67), amorpholoon (89), stemonasetal (86), stemonal (87)) sinteties berei nie, maar Ringshaw en Smith ¹³⁰ het daarin geslaag om uit eenvoudige uitgangstowwe twee pentasikliese 11-hidroksirotenoïede, naamlik 4',5'-dihidromalaccol (95) en sy analoog (96) te berei.



(95)



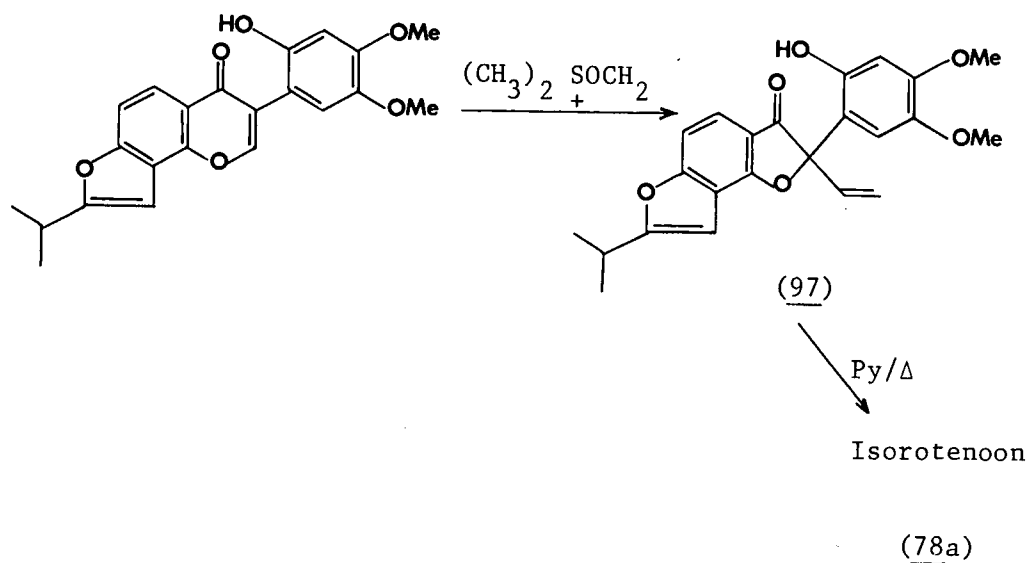
(96)

Die twee ketolaktoon-analoë van stemonal (87) en amorpholoon (89), dit is stemonoon (88) en rotenonoon (10) is verkry uit eersgenoemde twee deur oksidasie met chroomsuur ^{47,48}, terwyl Chubachi en Hamada ¹³¹ (10) ook gesintetiseer het deur die foto-oksigenering van rotenoon (1).

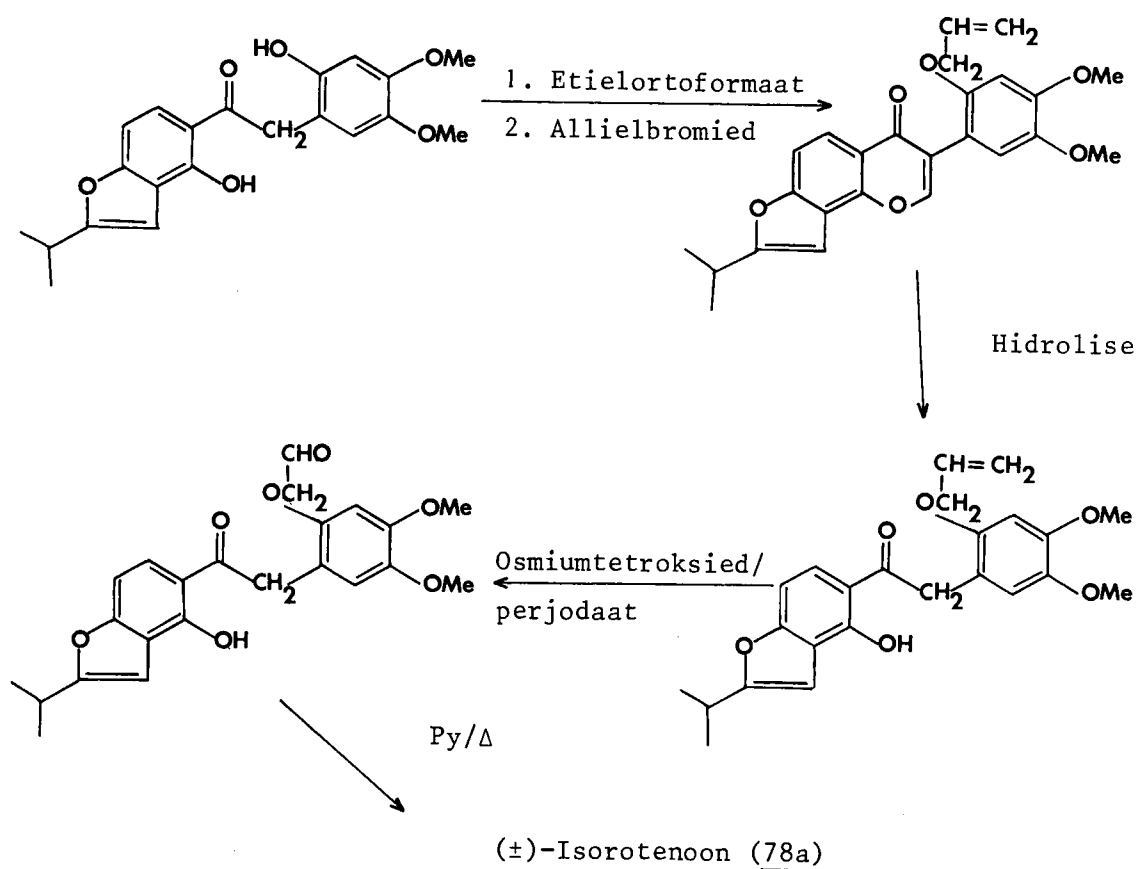
Caplin *et al.* ¹³² se bevinding dat 2-viniel-kumaran-3-one gevorm word wanneer 2'-hidroksi-isoflavone behandel word met dimetielsulfoksonium-metilied, is onlangs op gesofistikeerde wyse deur Crombie *et al.* ¹³³ benut. Hiervolgens is die sintese van isorotenoen (78b) geslaagd uitgevoer deur die kumaranoon (97) in piridien te verhit (Skema 10).

'n Sintetiese roete wat *via* die deoksibensoëen ¹³⁴ direk tot rotenoëde (in die gesogte oksidasietoestand) lei, behels die stappe soos aangedui in Skema 11.

Skema 10



Skema 11



B. Isoflavone

2.6 Isolering, struktuuropklaring en chemie van isoflavone

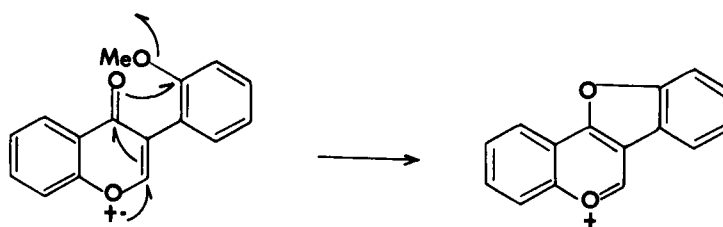
Die eerste isoflavone is min of meer dieselfde tyd as die eerste rotenoïed ontdek. Struktureienskappe wat karakteristiek is aan verbindings wat in die Leguminosae aangetref word, is ook teenwoordig by die isoflavone en is onder andere : (a) afwesigheid van 5-hidroksielfunksies ¹³⁵⁻¹⁴¹; (b) 6-hidroksilering ^{142,143} en (c) 2'-hidroksilering wat in die meer komplekse isoflavone aangetref word ^{24,143-147}. Laasgenoemde kom veral voor in tropiese genera wat ryk is aan rotenoïed-inhoud ¹⁴⁸.

Isoflavone is maklik onderskeibaar van flavone en isoflavanone deur UV- en PMR-spektroskopie. Die eenvoudige isoflavone toon intense absorpsie by *ca.* 255-275 nm. terwyl 'n minder intense band gevind word by *ca.* 310-330 nm. Die posisie van H2 in die PMR-spektra van isoflavone (τ *ca.* 2,20) is karakteristiek en verskil diagnosties van H3 by flavone (τ *ca.* 3,30). Ollis *et al.* ¹² het aangetoon dat PMR-spektroskopie 'n onmisbare instrument in die struktuuropklaring van meer komplekse isoflavone is.

Aangesien beide flavone en isoflavone deur 'n retro Diels-Alderproses fragmenteer om identiese fragmente te lewer is massaspektrometrie van weinig betekenis as onderskeiding tussen die twee klasse verbindings. Campbell *et al.* ¹⁴⁹ het egter aangetoon dat die teenwoordigheid van 'n 2'-metoksisubstituent in isoflavone hul fragmentasiepatroon grootliks beïnvloed. Hierdie tipe verbindings toon 'n sterk

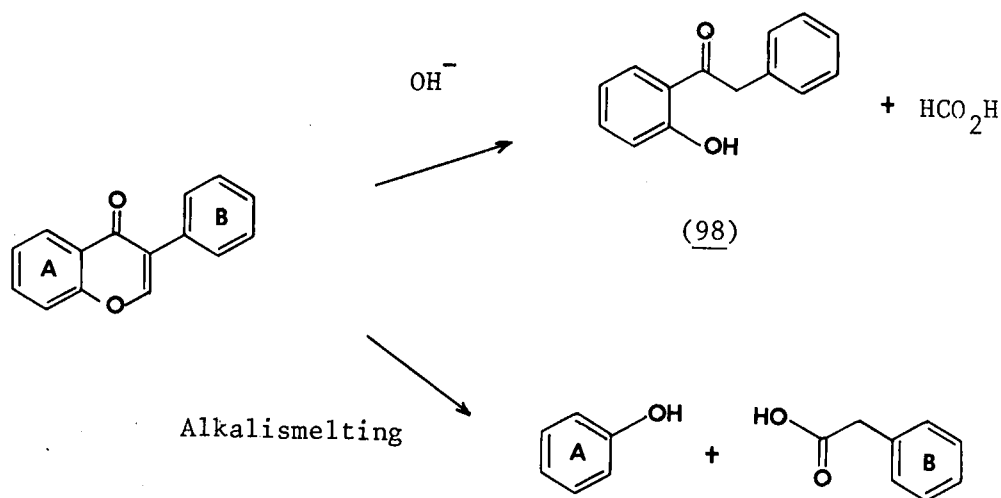
(M-31)-piek wat toe te skryf is aan die verlies van 'n metoksigroep; wat moontlik geskied *via* ringsluiting soos aangetoon in Skema 12.

Skema 12



Chemiese metodes vir die struktuurbevestigings van isoflavone ^{66,150} berus basies daarop dat hulle meer gereedelik hidroliseer in alkaliese medium as die flavone. By milde hidrolise vorm 'n deoksibensoïen (98) (en mieresuur) wat weer met behulp van 'n geskikte reagens teruggeskakel kan word na die isoflavoon (Skema 13).

Skema 13

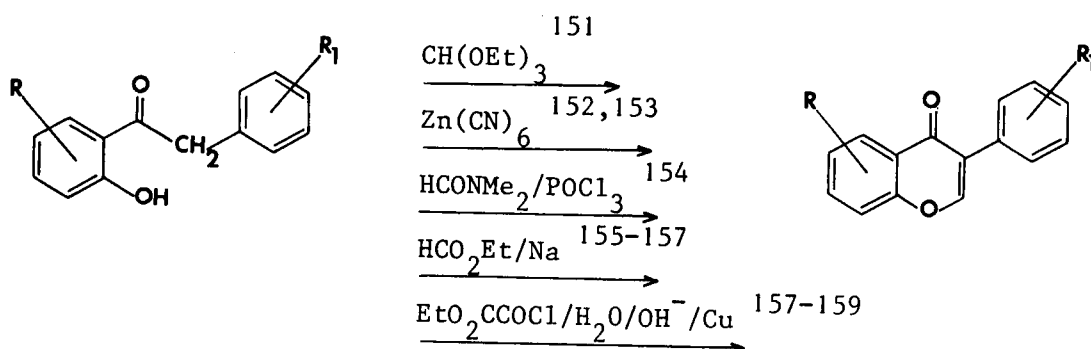


2.7 Sintetiese roetes tot isoflavone

Daar isoflavone dikwels as tussenstap dien in die sintese van isoflavanone, isoflavane en pterokarpane, het pogings tot hul sintese baie aandag geniet ¹⁵⁰.

Die metodes wat tot onlangs die meeste gebruik was, het die ring-sluiting van fenielsienielketone behels (Skema 14).

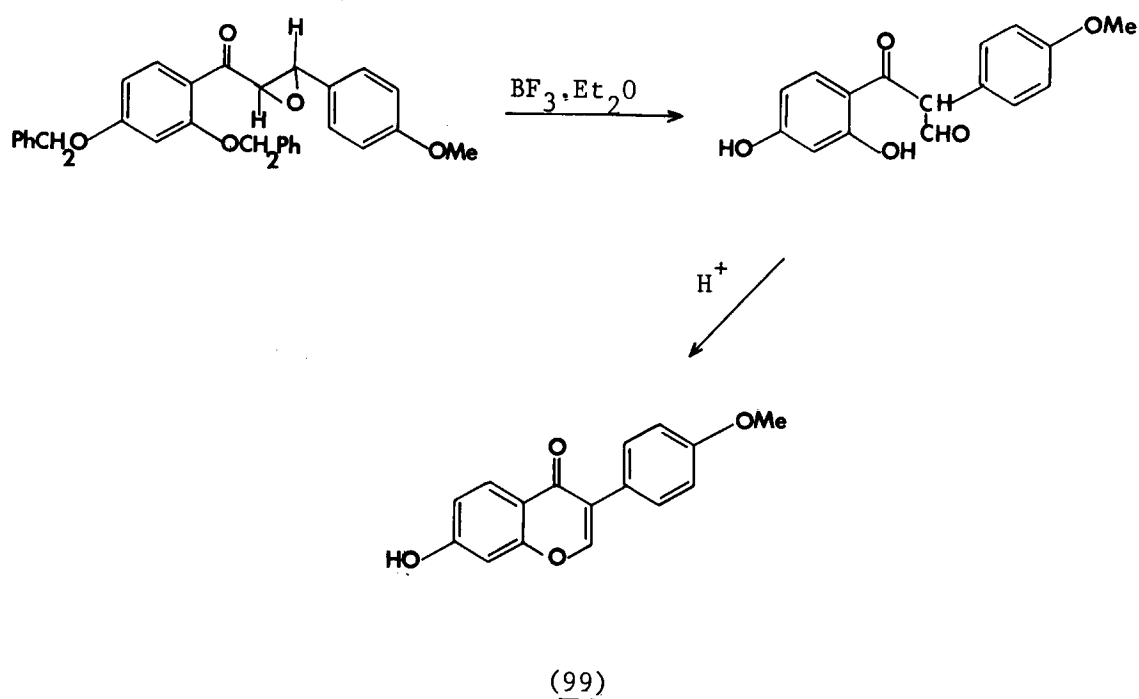
Skema 14



Grover *et al.* ¹⁶⁰ se sintese van formononetin (99) was die eerste geval waar 'n chalkoon omgeskakel is na 'n isoflavoone. Hierdie sintese het die suur- (of Lewissuur-) gekataliseerde herrangskikking van gereedelik bekombare 2'-bensieloksichalkoonepoksiede ^{161,162} behels waar migrering van die fenielsienielgroep saamval met splyting van die bensieloksienielgroep en ringsluiting na die isoflavoone (Skema 15). 'n Belangrike beperking op hierdie metode is dat isoflavone met 'n

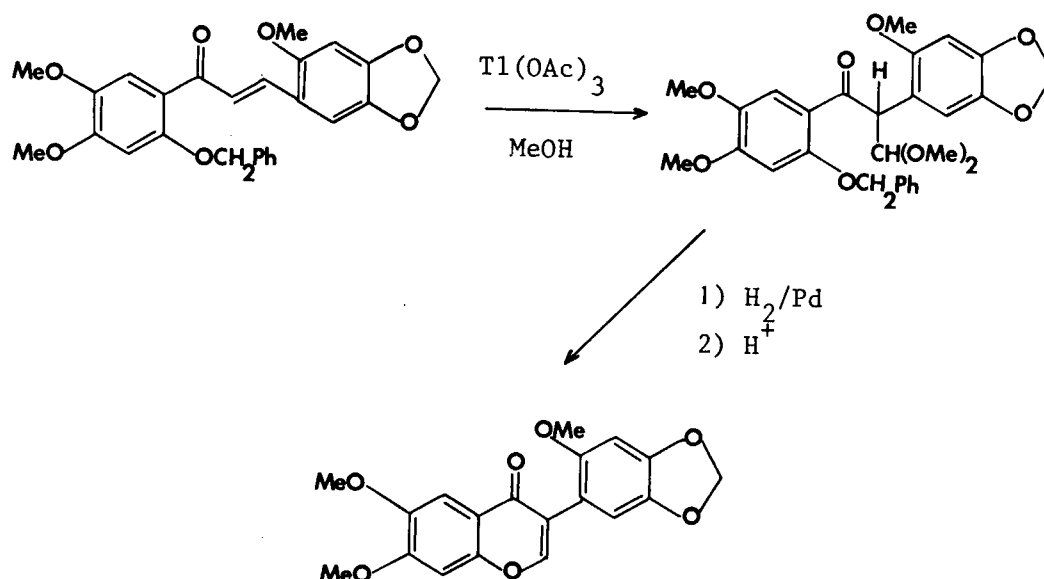
floroglusinol-oksigeneringspatroon nie op hierdie manier sintetiseerbaar is nie ¹⁶³.

Skema 15



'n Belangrike deurbraak in die sintese van isoflavone het plaasgevind toe Ollis *et al.* ¹⁶⁴ aangetoon het dat oksidasie en herrangskikking van 2'-bensieloksichalkone gelyktydig plaasvind by behandeling met tallium (III) asetaat in kokende metanolmedium. 'n Asetaltipe tussenstap word gevorm wat na debensilering en ringsluiting in suurmedium die isoflavoon lewer (Skema 16).

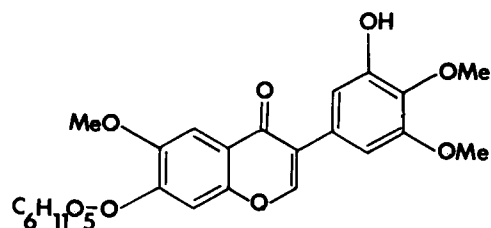
Skema 16



McKillop *et al.* ¹⁶⁵ het later hierdie metode verfyn deur tallium (III) nitraat, in plaas van die asetaat, te gebruik om die oksidatiewe herangskikking van α,β -onversadigde ketone na isoflavone te bewerkstellig (sien 4.2).

2.8 Isoflavoon- en rotenoïedglikosides

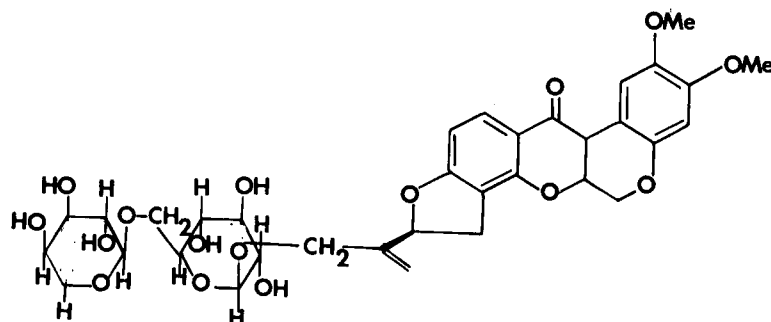
Isoflavoonglikosides is reeds sedert 1893 bekend toe De Laire en Tiemann ¹⁶⁶ iridin (100) uit *Iris florentina* verkry het. Die meerderheid van hierdie klas verbindings is egter eers onlangs geïsoleer ¹⁶⁷⁻¹⁶⁹.



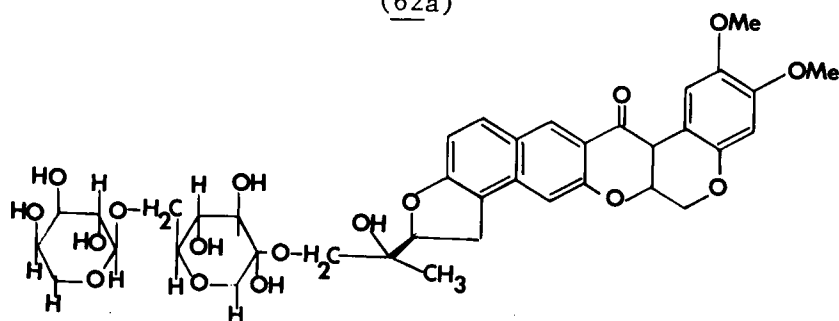
(100)

Die isoflavoonglikosides dusver bekend is oorwegend die 7-glukosides of 7-ramnosielglukosides terwyl die 4'-glukosides en 4'-ramnosielglukosides relatief skaars is.

Benewens die verskillende rotenoïede, 12a-gesubstitueerde- en dehidrorotenoïede is daar twee rotenoïedglikosides bekend wat beide uit *Amorpha fruticosa* geïsoleer is, te wete : amorphin (62a)⁴⁴ en amorphol (62b)^{44a}.



(62a)



(62b)

C. Isoflavanone en isoflavan-4-ole

2.9 Isoflavanone

In die laat veertigerjare het die idee onder chemici begin posvat dat isoflavanone, met 'n gereduseerde piroonringsisteem, en veral dié met 'n 2'-hidroksifunksie, in die natuur behoort voor te kom aangesien dit aanvaar was dat sodanige verbindings as biogenetiese voorlopers tot rotenoïede dien ¹⁷⁰.

Die eerste verbinding van hierdie tipe, naamlik padmakastein (101) ¹⁷¹ is in 1952 uit die bas van *Prunus pudum* (Rosaceae) geïsoleer. Kort hierna het die isolering van ferreirin (102) en homoferreirin (103) uit *Ferreirea spectabilis* ^{172,173} gevolg.

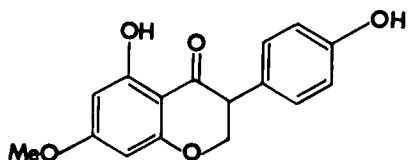
In kontras met die groot aantal natuurlik-voorkomende isoflavone is slegs 'n relatief klein aantal (dertien) isoflavanone en net een isoflavanoon-C-glikosied, dalpanin (104) ¹⁷⁴, bekend.

Die MS- en UV-spektra van isoflavanone verskil nie baie van die van isoflavone nie. PMR-gegewens toon egter 'n diagnostiese ABC-sisteem (τ ca. 5,5) gevorm deur die protone op C2 en C3 van die isoflavanone (in plaas van τ 2,2 van H2 by isoflavone). Dehidrogenasie van isoflavanone met behulp van mangaandioksied lewer die ooreenstemmende isoflavoon waarvan die struktuur op konvensionele wyse opgeklaar kan word ²⁴.

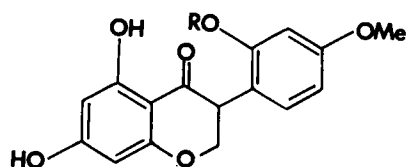
In teenstelling met die flavone, ondergaan isoflavone geredelik katalitiese hidrogenering na isoflavanone ¹⁵⁰ en is dit 'n gerieflike metode tot sintese van laasgenoemde. Toestande vir hierdie reaksie moet goed gekontroleer word aangesien verdere reduksie na die isoflavan-4-ole en uiteindelik na isoflavane maklik kan plaasvind ^{157,175,176}. Farkas *et al.* ¹⁷⁷ en Inoue ¹⁷⁵ het gevind dat katalitiese hidrering van die isoflavoön-asetate beter resultate lewer as met die ooreenstemmende hidroksiverbindings, maar geen aanvaarbare rede vir hierdie verskynsel is aangebied nie.

Reduksie van isoflavone met metaalhidrides gee rasemiese mengsels van isoflavan-4-ole ¹¹⁹ en is dusver nie gebruik vir die sintese van isoflavanone nie. Reaksie tussen 2-hidroksifenielbensielketone en metieljodied lewer direk die isoflavanoon, maar beskerming van hidroksifunksies wat nie aan ringsluiting deelneem nie, is noodsaaklik ¹⁷⁸.

'n Opvallende eienskap van alle bekende natuurlike isoflavanone, met uitsondering van sophorol (105) ¹⁷⁹, is hul optiese onaktiwiteit wat moontlik toe te skryf is aan keto-enol-toutomerie ¹⁸⁰. Dit is verder insiggewend om te let op die buitengewoon hoë persentasie 2'-oksigenering wat by die isoflavanone aangetref word, aangesien dit uit bio-genetiese oogpunt van belang is (sien 2.15).

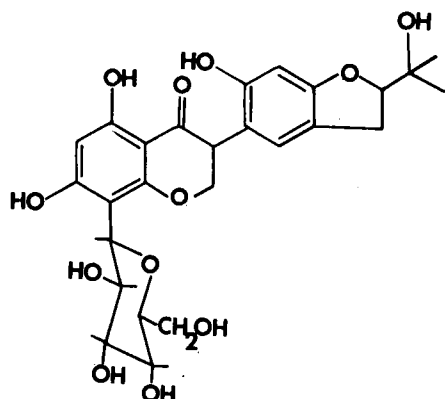


(101)

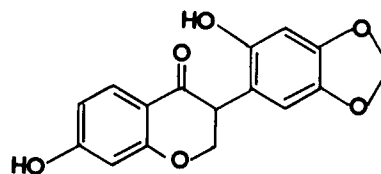


Ferreirin (102) : R = H

Homoferreirin (103) : R = Me



(104)

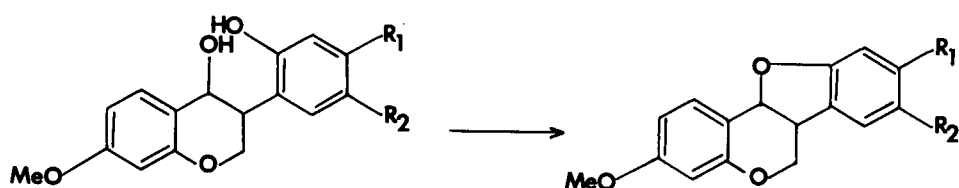


(105)

2.10 Isoflavan-4-ole

Tot voor hierdie ondersoek was geen natuurlike isoflavan-4-ol bekend nie. Daar was wel biogenetiese spekulasies ¹⁸¹ dat pterokarpin (106) en homopterokarpin (21) (wat uit *Pterocarpus indicus* ¹⁸² geïsoleer is) hulle gesamentlike oorsprong vanaf die ooreenstemmende isoflavan-4-ole (107) kan hê deur dehidratering tussen die 4-OH en 2'-fenoliese OH (Skema 17).

Skema 17



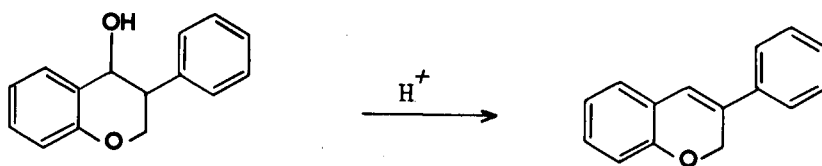
(107)

Pterokarpin (106) : $R_1, R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$

Homopterokarpin (21) : $R_1 = \text{OMe}; R_2 = \text{H}$

'n Studie van nege sintetiese isoflavan-4-ole (verkry deur metaalhidriedreduksie van isoflavanone; sien 2.8 en 2.9) deur Anjaneyulu *et al.* ¹⁸¹ het getoon dat isoflavan-4-ole besonder suursensitief is en *via trans*-watereliminasië isoflav-3-ene (108) vorm (Skema 18).

Skema 18



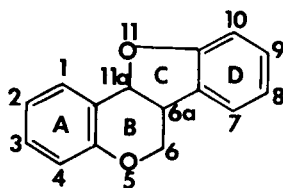
(108)

Die ondersoek na hierdie verbindings is gestimuleer deur die hoë
estrogeniese aktiwiteit van isoflavanone, isoflavene en veral 7,4'-
diasetoksi-2-metielisoflavan-4-ol 183,184.

D. Pterokarpane, 6a-hidroksipterokarpane en 6a, 11a-dehidroptero-
karpane.

2.11 Pterokarpane

Die eerste verbindings met 'n 6a, 11a-dihidro-6H-bensfuro [3,2 - c] [1] benspiraanringsisteem (f), naamlik pterokarpin (106) en homoptero-
karpin (21) is in 1940 deur McGookin *et al.* ¹⁸⁵ geïsoleer en opge-
klaar. Die benaming pterokarpaan met die huidige nommeringsisteem
vir die pterokarpane ¹⁸⁶ is voorgestel deur Harper *et al.* ^{187,188}.



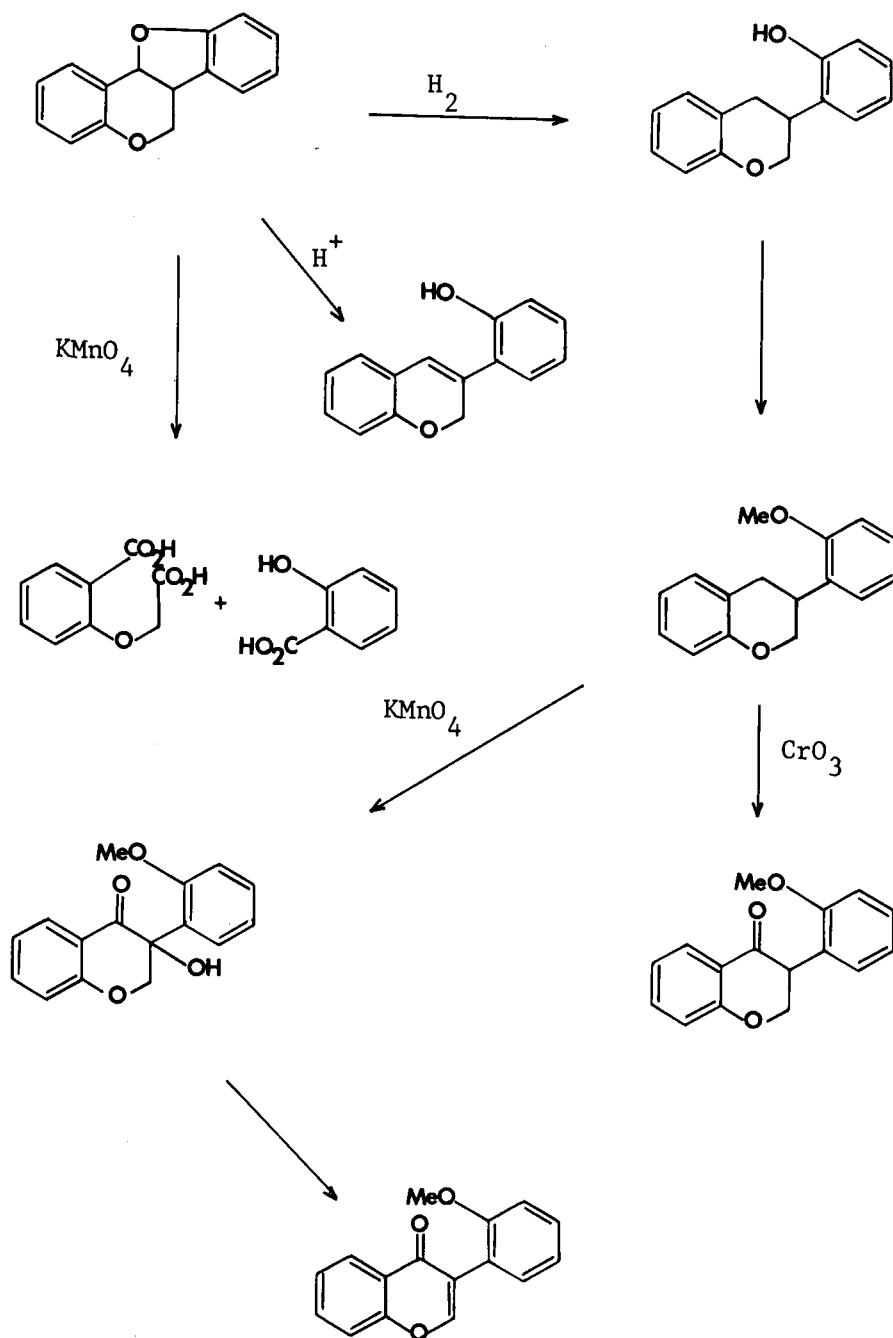
(f)

Die groot aantal pterokarpane wat die afgelope dekade geïsoleer is, het hoofsaaklik uit die kernhout van die tropiese genera van die Leguminosae gekom terwyl sommige selfs buite die sub-familie *Lotoïdae* aangetref is. Die chemiese ondersoek van die *Neorautanenien* spesies deur veral Rall *et al.* ^{189,190} en Brink *et al.* ^{147,191,192} het getoon dat dit 'n besonder ryk bron van pterokarpane is (Tabel 1).

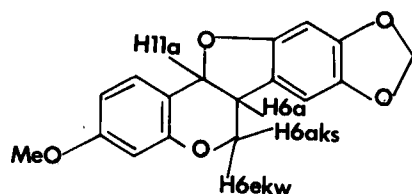
Degradasie-reaksies was van groot hulp by chemiese struktuurbevestigings

van die pterokarpene (Skema 19). Reduktiewe ringopening van die pterokarpene lewer ooreenstemmende 2'-hidroksi-isoflavane ¹⁹³⁻¹⁹⁵ terwyl isoflav-3-ene deur suurgekataliseerde watereliminasië verkry word ^{196,197}.

Skema 19



Die gebruik van protonmagnetiese resonansspektroskopie by die struktuuropklaring van pterokarpane is van groot waarde, aangesien dit die pterokarpaanringsstelsel sowel as die posisies van substituentte vasstel. Pachler en Underwood ¹⁹⁸ het waardevolle werk gedoen deur aan te toon dat die pterokarpaanskelet herken kan word aan die karakteristieke chemiese verskuiwings van die heterosikliese protone wat 'n komplekse vierspin stelsel vorm met langafstandkoppeling wat eerste-orde analise bemoeilik. H11a resoneer as 'n breë doeblet by $\tau = 5,5$ (ca.) terwyl H6ekw, H6aks en H6a aanleiding gee tot drie breë multiplette by $\tau = 5,80$, $6,40$ en $6,55$ (ca.) respektiewelik. Tabel 5 dui PMR-gegevens aan vir (-)-pterokarpin (106).



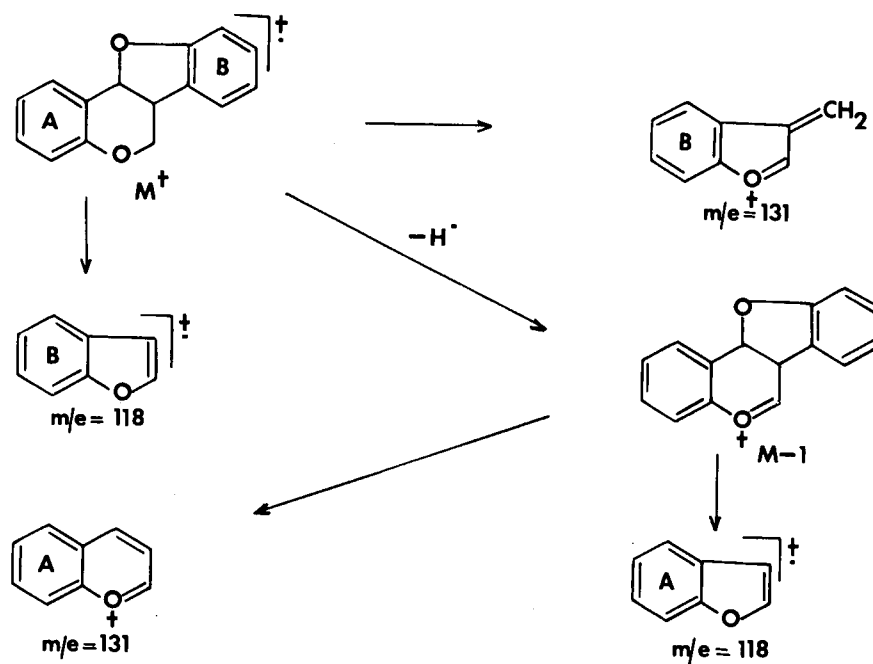
(106)

Tabel 5

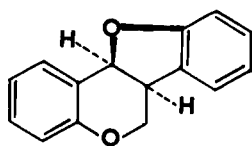
<u>Chemiese verskuiwings (τ)</u>		<u>J, Koppelingskonstantes (Hz)</u>	
H11a	4,45	$J_{6aks, 6ekw}$	10,8
H6a	5,81	$J_{6ekw, 6a}$	10,5
H6aks	6,57	$J_{6aks, 6a}$	5,1
H6ekw	6,37	$J_{6a, 11a}$	6,9
		$J_{11a, 6ekw}$	0,8
		$J_{11a, 6aks}$	0,6

Soos ook by die rotenoïede, vertoon die pterokarpane besondere stabiliteit teenoor elektronbombardement sodat die massaspektra besonder min fragmentasie vertoon ^{25,199}. By feitlik alle pterokarpane is die basispiek die moederioon wat deur homolitiese splyting van die C6-O5- of C6-C6a-bindings aanleiding gee tot twee brokstukke (Skema 20). Karakteristiek by alle pterokarpane is die [M-1] -piek wat gevorm word wanneer 'n waterstofradikaal afgesplits word om oorsprong te gee aan twee brokstukke met relatief hoë intensiteite. Alhoewel massaspektrometrie nie die substitusiepatroon op die pterokarpaanskelet kan aandui nie - (beide ringe kan aanleiding gee tot dieselfde m/e-waarde) ^{193,200}, is deur kombinasie van chemiese en fisiese tegnieke 'n betroubare metode ontwikkel om hierdie probleem te oorbrug. Hidrogenolise van die pterokarpaan-ringsisteem lewer 'n isoflawaan wat die karakteristieke retro Diels-Alder fragmentasie ondergaan wanneer dit onderwerp word aan elektronbombardement ^{193,199}.

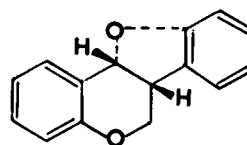
Skema 20



Die absolute konfigurasie van hierdie reeks verbindings is na intensiewe ondersoeke ^{193,201-204} bepaal as 6aR, 11aR vir die linksdraaiende (-)-pterokarpane (g) en 6aS, 12aS vir die regsdraaiende (+)-pterokarpane (h).

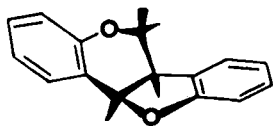


(g)

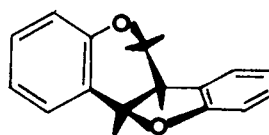


(h)

Pachler en Underwood ¹⁹⁸ se PMR-studies het 'n *cis*-geometrie vir die 6a, 11a-protone bevestig en ook aangetoon dat die verkose konformasie van die pterokarpaanskelet die (6aR, 11aR)-(i) eerder as die (6aS, 12aS)-konformasie (j) is.



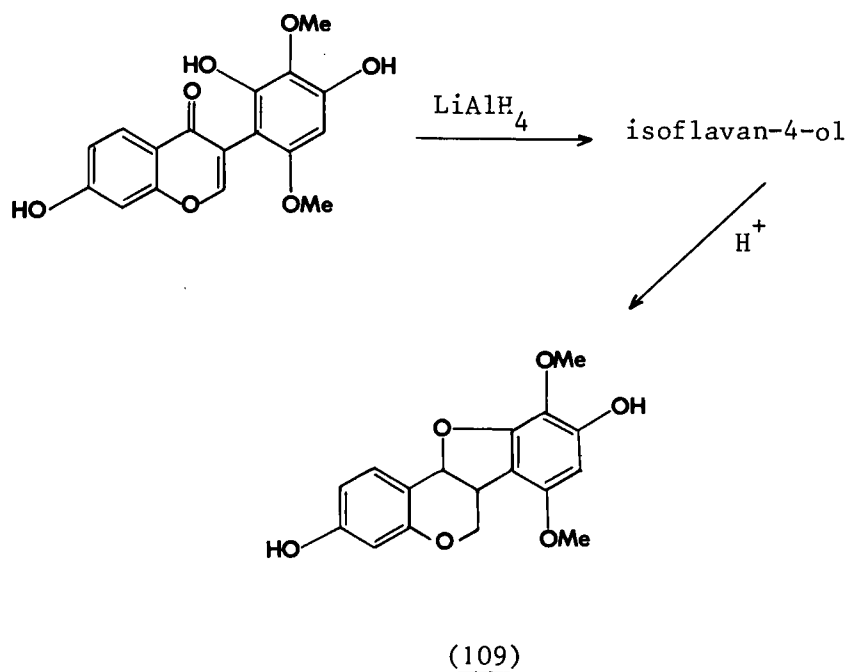
(i)



(j)

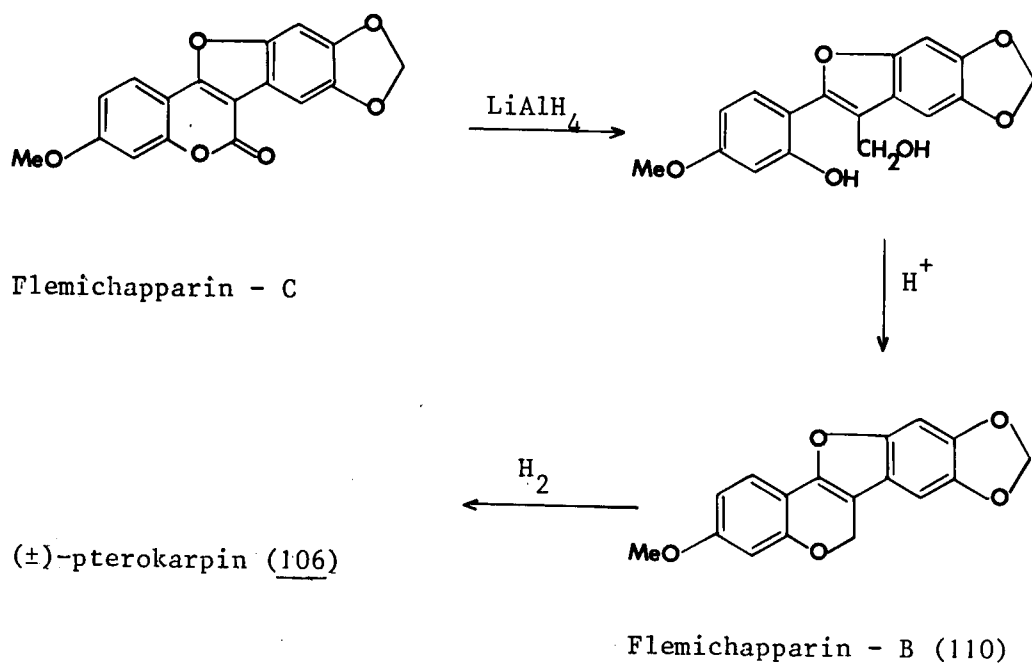
'n Gerieflike metode tot sintese van pterokarpane behels die metaalhidriedreduksie van 2'-hidroksi-isoflavanone na rasemiese mengsels isoflavan-4-ole, gevolg deur suurgekataliseerde ringsluiting na die pterokarpaan ^{205,206} soos geïllustreer deur die sintese van, (+)-philenopteran (109) ²⁰⁷ (Skema 21).

Skema 21



In gevalle waar die ooreenstemmende isoflavone moeilik sintetiseerbaar is, kan kumestane omgeskakel word na pterokarpane (Skema 22) ²⁰⁵. Die 6a, 11a-dehidropterokarpaantussenstap (110) in hierdie skema is eers later erken as 'n natuurproduk ²⁰⁸.

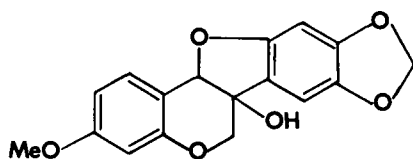
Skema 22



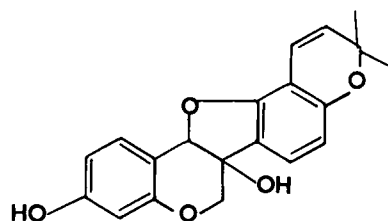
2.12 6a-Hidroksi- en 6a, 11a-dehidropterokarpane

Die isolering van die eerste 6a-hidroksipterokarpaan, pisatin (111), uit swameïnfekteerde *Pisum sativum* ²⁰⁹ het gedui op 'n interessante variasie van die basiese pterokarpinoïede. Dusver is slegs vier natuurlike 6a-hidroksipterokarpane bekend, te wete : pisatin (111) ²⁰⁹ uit *Pisum sativum*; 6a-hidroksiphaseollin (112) uit sojabone ²¹⁰; variablin (113) uit *Dalbergia spruceana* ²¹¹ en tuberosin (114) uit *Pueraria tuberosa* D.C. ²¹².

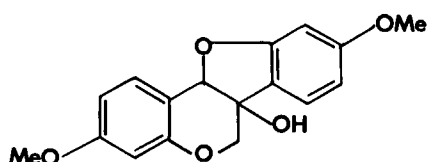
6a, 11a-Dehidropterokarpane (pterokarpene) is ook bekend as natuurprodukte en bevat die 6H-bensfuro-[3,2-c][1]-bensopiraanringsstelsel (k) as basiese skelet.



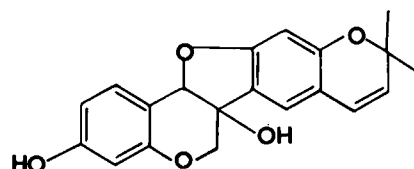
(111)



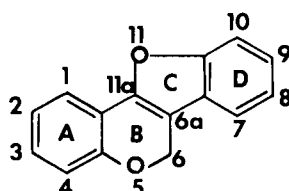
(112)



(113)



(114)

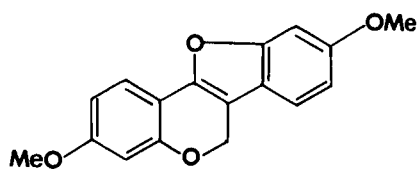


(k)

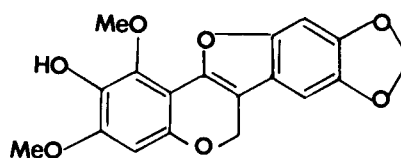
Die pterokarpene is gekleurde verbindings waarvan die UV-data 'n redelike mate van ooreenstemming toon met dié van stilbene. Die vyf verbindings wat reeds in hierdie klas geïsoleer is, is : dehidrohopterokarpin (115) uit *Swartzia madagascariensis*¹⁸⁷ en *Dalbergia decipularis*²¹³; flemichapparin B (110) uit *Flemingia chappar*²⁰⁸; leiocalcyn (116) uit *Swartzia leiocalycina*¹⁹⁴;

neoduleen (35) en neorauteen (36) uit *Neorautanenia edulis* ¹⁹².

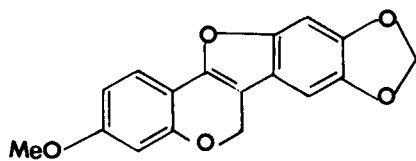
Dit is interessant om daarop te let dat eersgenoemde drie 6a, 11a-dehidropterokarpane saam met die ooreenstemmende kumestane aangetref word 187,194,208,213.



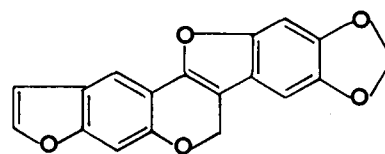
(115)



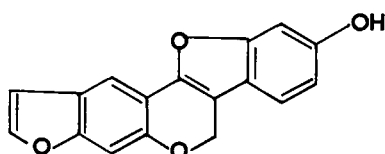
(116)



(110)



(35)

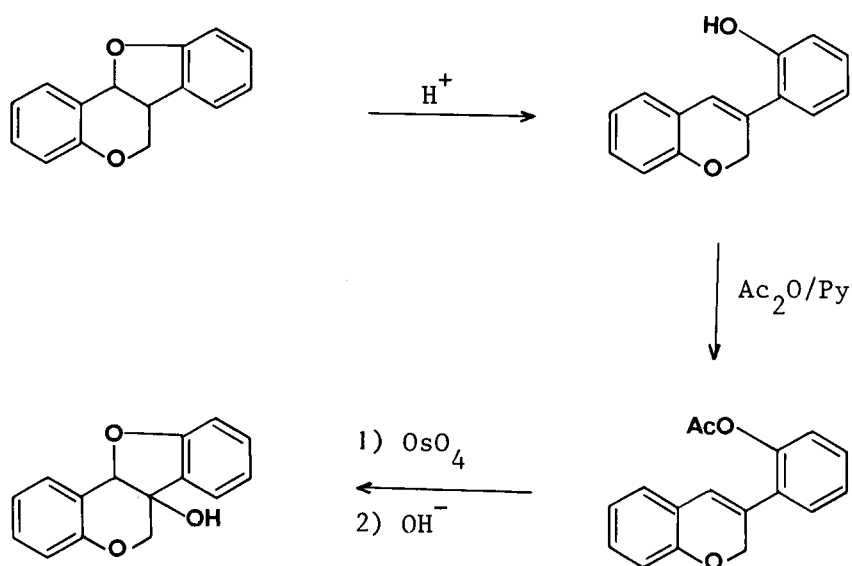


(36)

Die onstabiliteit van die 6a-hidroksipterokarpane in suurmedium is eksperimenteel aangetoon en is kenmerkend van hierdie klas verbindings ^{214,215}. Dit is dan ook die rede waarom eers vermoed is dat 6a, 11a-dehidropterokarpane artefakte is wat gevorm word uit die hidroksiverbindings ²⁰⁹. Alhoewel dit gepostuleer is dat pterokarpene 'n noodsaaklike tussenstap is in die biogenetiese roete isoflavanoon → pterokarpeen → kumestaan ²¹⁶; bestaan geen finale bewys van hul bestaan as natuurprodukte nie ²¹¹.

Bevan *et al.* ²¹⁵ het daarin geslaag om pisatin (111) en variablin (113) onderskeidelik uit pterokarpin (106) en homopterokarpin (21) te sintetiseer *via* isoflav-3-ene soos aangetoon in Skema 23.

Skema 23



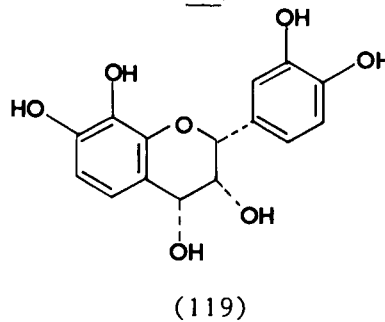
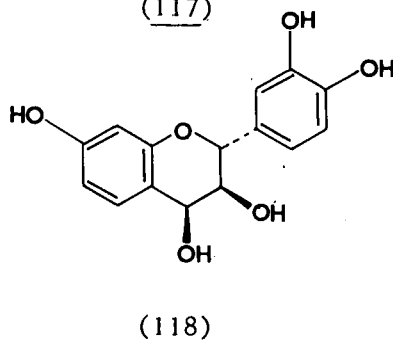
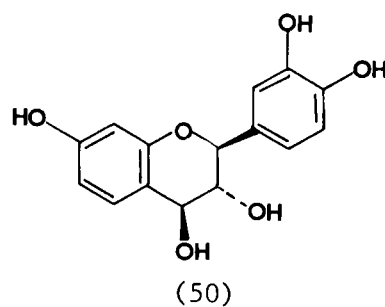
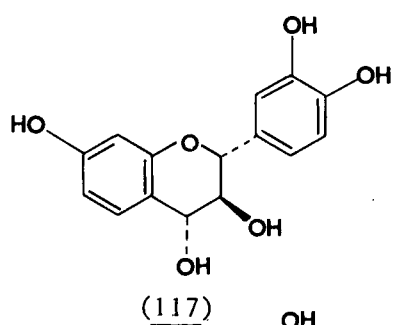
E. Leuko-antosianidiene en stilbene

2.13 Flavan-3,4-diole

Sedert die eerste isolasie en struktuuropklaring van 'n natuurlike flavan-3,4-diol deur King en Bottomley ²¹⁷ het die hoeveelheid literatuur oor hierdie klas verbindings geweldig toegeneem. Weinges *et al.* ²¹⁸ het in 'n waardevolle oorsig die fisiese, chemiese en stereochemiese aspekte van sommige van die flavan-3,4-diole saamgestel en Tabel 6 toon toepaslike data vir etlike van hierdie tipe verbindings.

Tabel 6

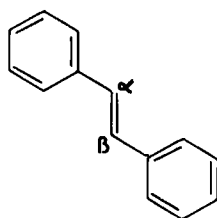
<u>Triviale naam</u>	<u>Hidroksileringspatroon</u>	<u>Absolute konfigurasie</u>
(+)-Mollisacacidien (<u>117</u>)	7, 3', 4'	2R : 3S : 4R
(-)-Leukofisitiniidien (<u>50</u>)	7, 3', 4'	2S : 3R : 4S
(+)-Gleditsin (<u>118</u>)	7, 3', 4'	2R : 3S : 4S
(-)-Melacacidien (<u>119</u>)	7, 8, 3', 4'	2R : 3R : 4R



Dit is noemenswaardig dat die flavan-3,4-diole hoofsaaklik in die bas of hout van die *Acacia*-spesies aangetref word en dus aanleiding gegee het tot 'n intensiewe fitochemiese ondersoek van die Australiaanse spesies van hierdie genus ^{219,220}.

2.14 Stilbene

In die meeste gevalle kom natuurlike stilbene in die meer stabiele *trans*-vorm voor. Die moeder *trans*-stilbeen (49) is deur Asakawa ²²¹ uit *Alnus firma* geïsoleer.



(49)

Stilbeenderivate kom wydverspreid in die planteryk (*Pinaceae*, *Moraceae*, *Saxifragaceae*, *Myrtaceae*, *Polygonaceae*, *Fugaceae*, *Leguminosae*, *Liliaceae* ²²² en die *Betulaceae* ²²³) voor. Die strukture wissel vanaf die basiese stilbeenskelet (*trans* of *cis*) tot polifenole wat as glikosiede en metieleters voorkom. Die besondere belang by stilbene spruit uit die feit dat verskeie stilbeenbevattende houtsoorte, biologiese aktiwiteit besit wat die kernhout beskerm teen houtverrottende fungi en insekte ²²⁴⁻²²⁷ terwyl stilbene van die genus *Pinus* dien as chemotaksonomiese

opspoorders in die *Pinaceae* ²²⁸.

F. Biogenetiese verwantskap tussen rotenoïede, flavonoïede, isoflavonoïede, kumariene en pterokarpane

2.15 Inleiding

Ten spyte van die groot variasie in strukture soos vertoon deur die isoflavonoïede, isoflavone en rotenoïede, is daar wel onderliggende eenvormigheid te bespeur. Een opmerklike verskil wat hierdie iso-verbindings onderskei van die flavonoïede is die vergelykende ooreenkoms van 2'-oksiginasie (Tabel 7). Hierdie patroon is skaars by die flavonoïede alhoewel daar 'n baie groter aantal van hulle bekend is.

Tabel 7

Relatiewe persentasies van posisies wat 'n O-funksie bevat⁸⁶.

Posisie	5	6	7	8	2'	3'	4'	5'	6'
Isoflavone	36	32	100	0	32	4	88	56	0
Rotenoïede	37	0	100	13	100	0	100	100	0
Isoflavonoïede	36	0	100	0	81	9	100	36	0

Hierdie gegewens is 'n sterk aanduiding van 'n noue biogenetiese verwantskap tussen isoflavone en rotenoïede en dit word ondersteun deurdat hulle dikwels in dieselfde plant voorkom. Dit is dus wenslik om ook die biogenese van die flavonoïede te beskou, daar dit bekend is dat die biosintese van beide isoflavonoïede en flavonoïede tot op 'n sekere stadium identies verloop^{229,230}. Dit is taksonomies interessant om daarop te let dat natuurprodukte van hierdie tipe gewoonlik

voorkom in die plante van een familie naamlik die *Leguminosae* terwyl flavonoïede in 'n wye reeks plantfamilies aangetref word ^{86,231}.

Wanneer plante beide flavonoïede en isoflavonoïede bevat ^{7,232,233} is daar dikwels ooreenstemming in die oksiginasiepatroon ²²⁹. Ook hierdie verskynsel dui daarop dat flavonoïed en isoflavonoïed biosintese, of vanaf dieselfde voorlopers, of langs gelyksoortige weë geskied.

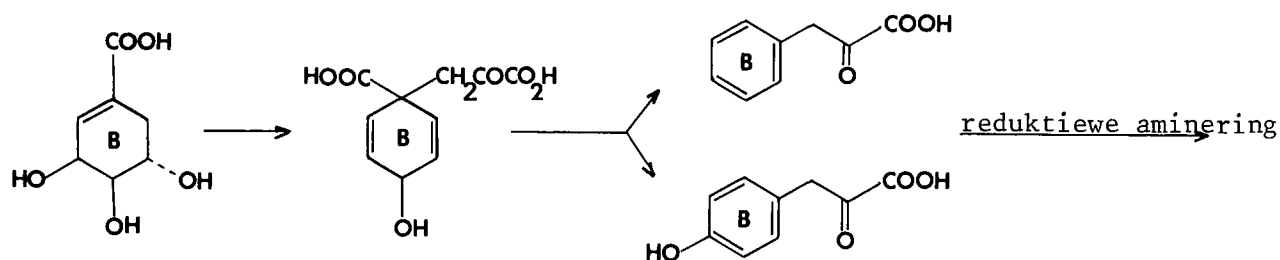
2.16 Biosintese van flavonoïed-verbindings

Die biogenetiese ontstaan van die basiese $C_6-C_3-C_6$ -koolstofskelet van flavonoïede en verwante verbindings is op oortuigende wyse deur Birch ²³⁴ voorgestel alhoewel onsekerheid nog oor die tussenstappe bestaan. Die A-ring ontstaan deur kop-tot-stert kondensasie van die asetaat- of malonaateenhede ^{86,235,236} (C_2 -eenhede) volgens die asetaathipotese ²³⁷ terwyl die B-ring en C_3 -koolstofketting afkomstig is van kaneelsuur (of 'n derivaat daarvan) afgelei van sjikimiensuur ^{6,238} (120). Bevestiging hiervan is uit voedingseksperimente ^{234,235,239} met verskillende plante verkry wat ook getoon het dat 'n aantal C_6-C_3 -verbindings afgelei vanaf sjikimiensuur, byvoorbeeld *p*-kumaarsuur en kaneelsuur, ook as effektiewe voorlopers kan dien terwyl sjikimien-suur self ook geïnkorporeer word ^{86,240,241} (Skema 24).

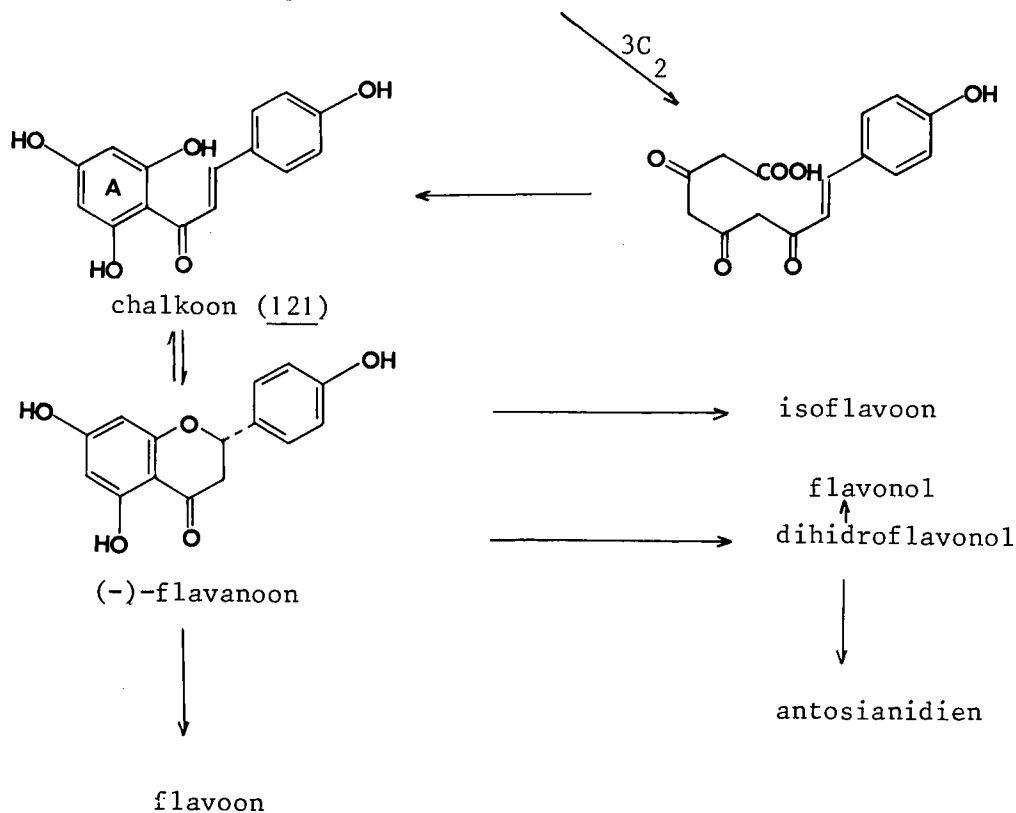
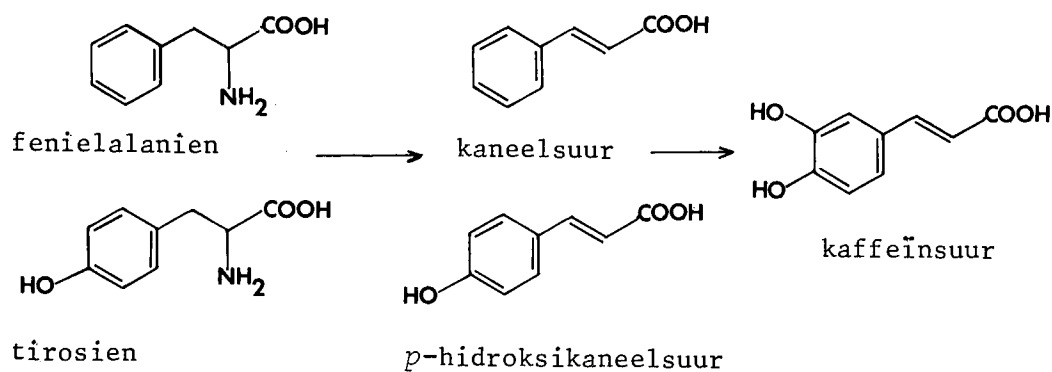
Hoewel die oorsprong van die basiese koolstofskelet bekend is, is eenstemmigheid ten opsigte van die direkte voorloper van flavonoïede eers onlangs bereik. Algemeen word aanvaar dat die C_6-C_3 - en C_6 -eenhede kondenseer om 'n gehidroksileerde chalkoon (121) te vorm wat as tussenprodruk optree waarvandaan die onderskeie $C_6-C_3-C_6$ -produkte dan

vorm 238, 242. In skema 24 word 'n voorstelling gegee van die biogenese van flavonoïede vanaf die asetate en sjikimiensuur.

Skema 24

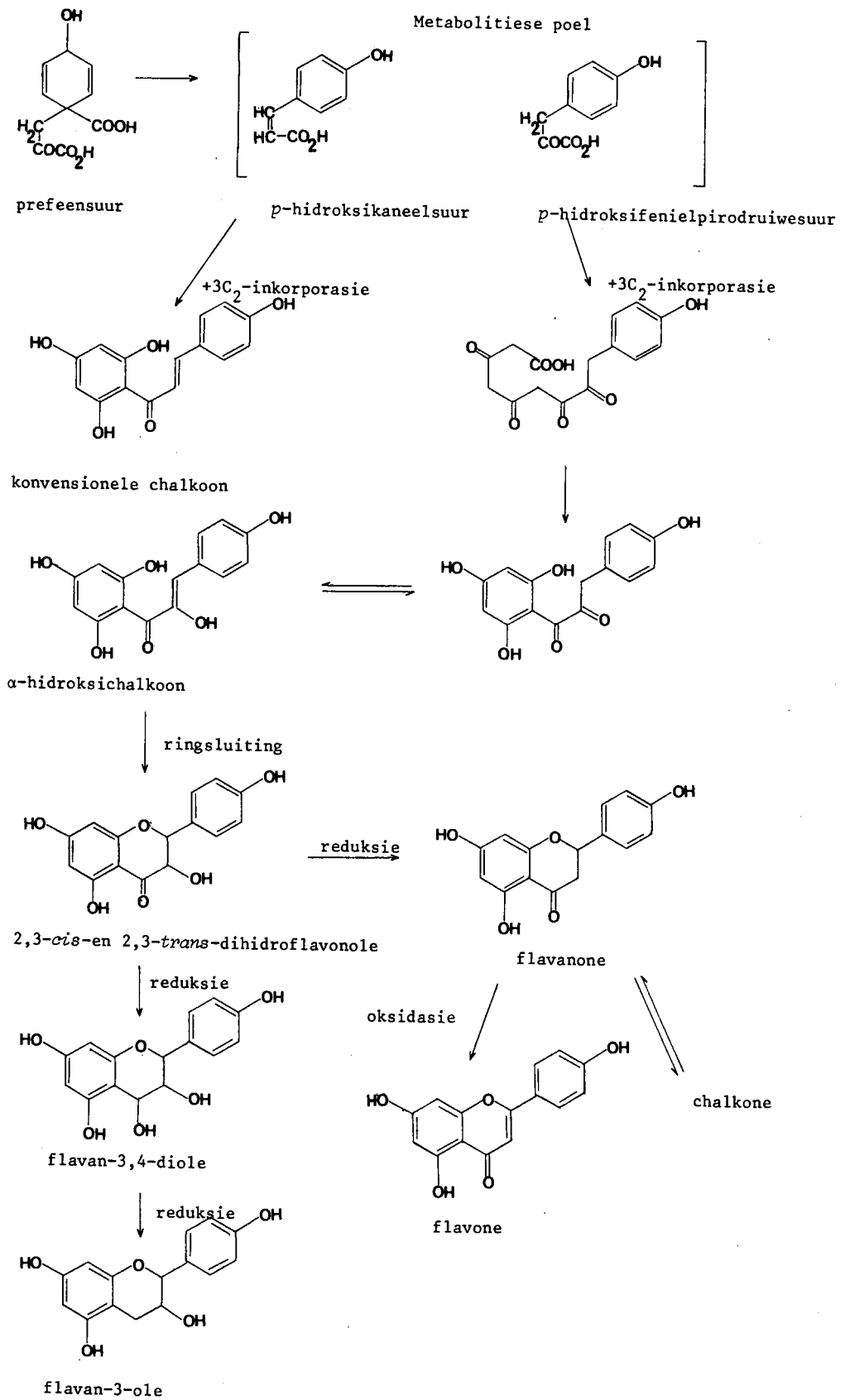


sjikimiensuur (120)



Die isolering van α -hidroksichalkone uit *Trachylobium*²⁴³, *Peltogyne*²⁴⁴ en *Berchemia*^{245,246} spesies het moontlik aanleiding gegee tot 'n belangrike deurbraak betreffende die biosintese van flavonoïede en verwante verbindings. Die gemak waarmee α -hidroksichalkone in biosintetiese skemas ingevoer was, het nuwe lig op biosintetiese tussenstappe gewerp. In sommige gevalle sou α -hidroksichalkone by voorkeur bo konvensionele chalkone as biogenetiese voorlopers kon dien as gevolg van die gemak waardeur 3-hidroksigesubstitueerde flavone, dehidroflavonole, flavan-3,4-diole en flavan-3-ole direk vanaf α -hidroksichalkone verkry kan word. Daar dien gelet te word daarop dat hierdie verbindings slegs *via* hipotetiese roetes vanaf konvensionele chalkone²⁴⁷ verkry kan word (Skema 25).

Skema 25



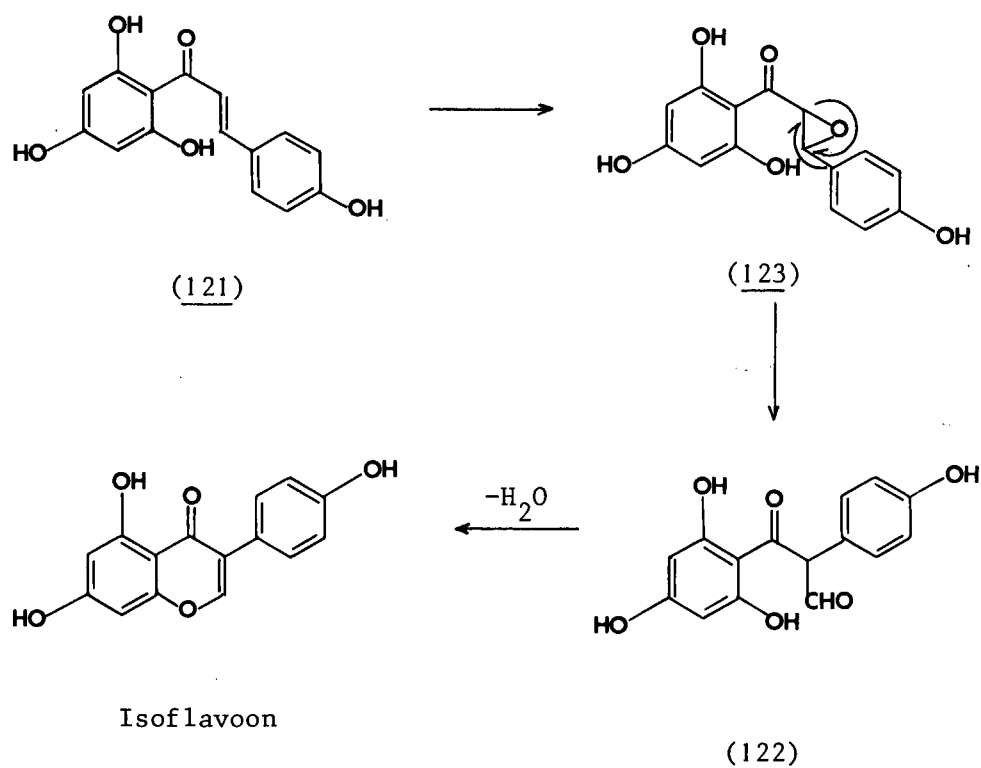
2.17 Biosintese van isoflavonoïede

Grisebach *et al.* ²⁴⁸⁻²⁵³ het bewys dat die chalkoon (121) ook as tussenproduk optree vir die biosintese van die isoflavonoïede.

Vir hierdie biogenetiese proses om plaas te vind, is dit egter nodig dat daar 'n fenielmigrasie moet plaasvind, maar die stadium wanneer die migrasie plaasvind is nog onseker.

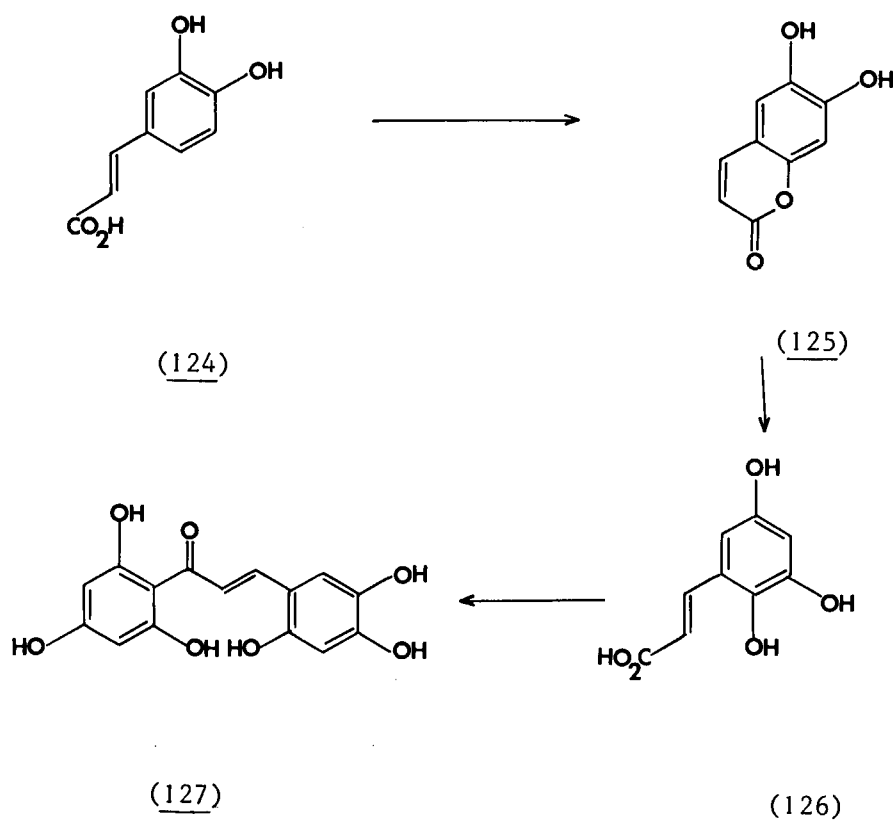
Die eerste van die twee gedagterigtings wat bestaan is dat die chalkoon (121) deur fenielmigrasie oorgaan na die formiêdesoksibensoïen (122) *via* die chalkoonepoksied (123) ^{86,248}. Siklisering van die chalkoon geskied dan deur wateronttrekking (Skema 26).

Skema 26



Aangesien hierdie voorstelling nie die 2'-suurstoffunksie (wat amper deurgaans voorkom) verklaar nie, is voorgestel dat die kaneelsuur-voorloper (124) *via* die kumarien (125) na *o*-kumaarsuur (126) gaan wat op sy beurt met drie asetaateenhede verbind om 'n 2'-hidroksichalkoon (127) te lewer⁸⁶ (Skema 27).

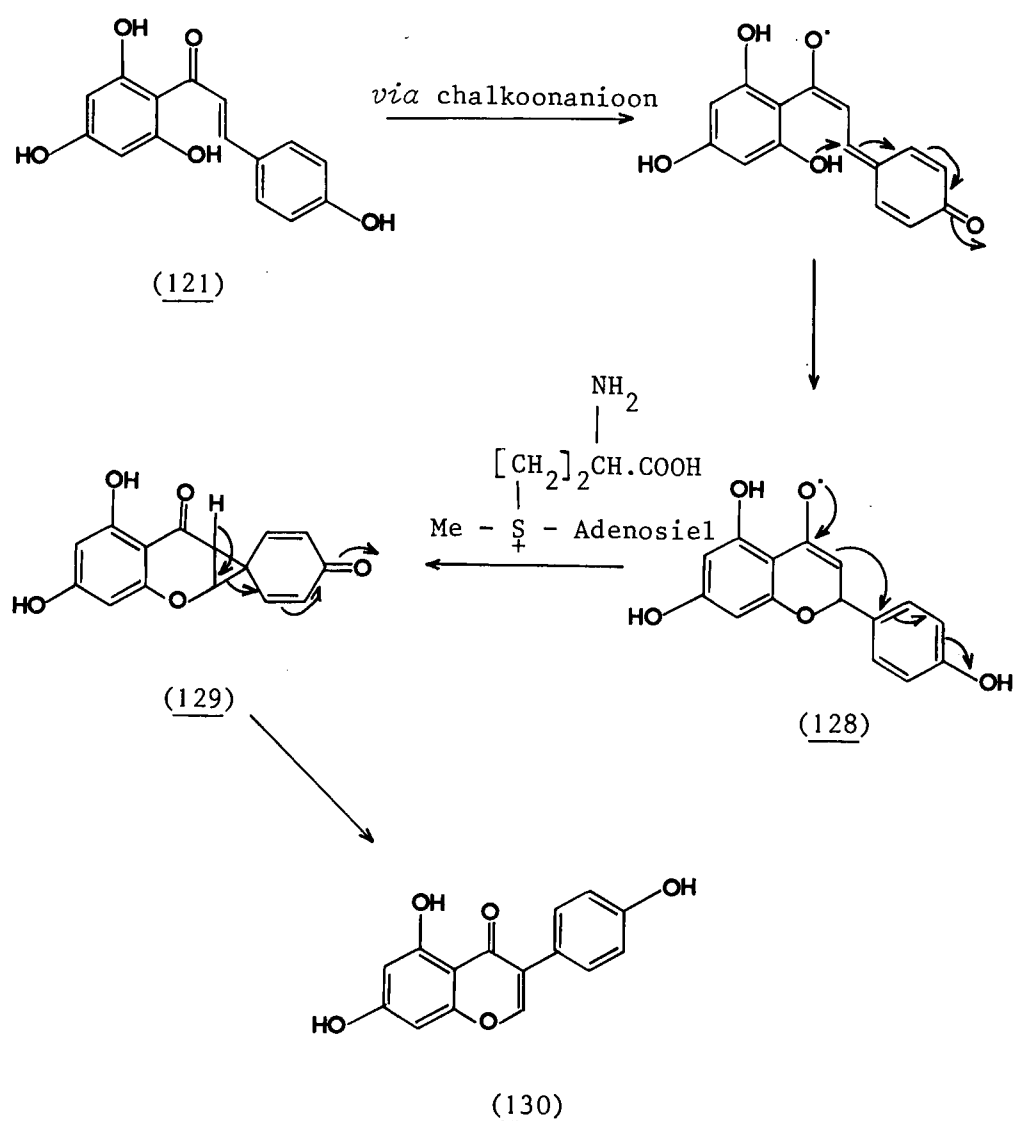
Skema 27



'n Tweede voorstelling is daarop gebaseer dat daar eers 'n heterosikliese ringsisteem gevorm word en dat fenielmigrasie dan plaasvind. Na aanleiding van 'n voorstel deur Pelter *et al.*²⁵⁴ dat

die biogenese van isoflavone deur die migrasie van 'n fenielgroep geskied in *trans*-flavanole het Grisebach *et al.* ²⁴⁸⁻²⁵⁰ hierdie hipotese as onwaarskynlik bewys en voorgestel dat die chalkoon (121) na die spirodiënoon (129) oorgaan en dat fenielmigrasie dan die isoflavoon (130) gee (Skema 28).

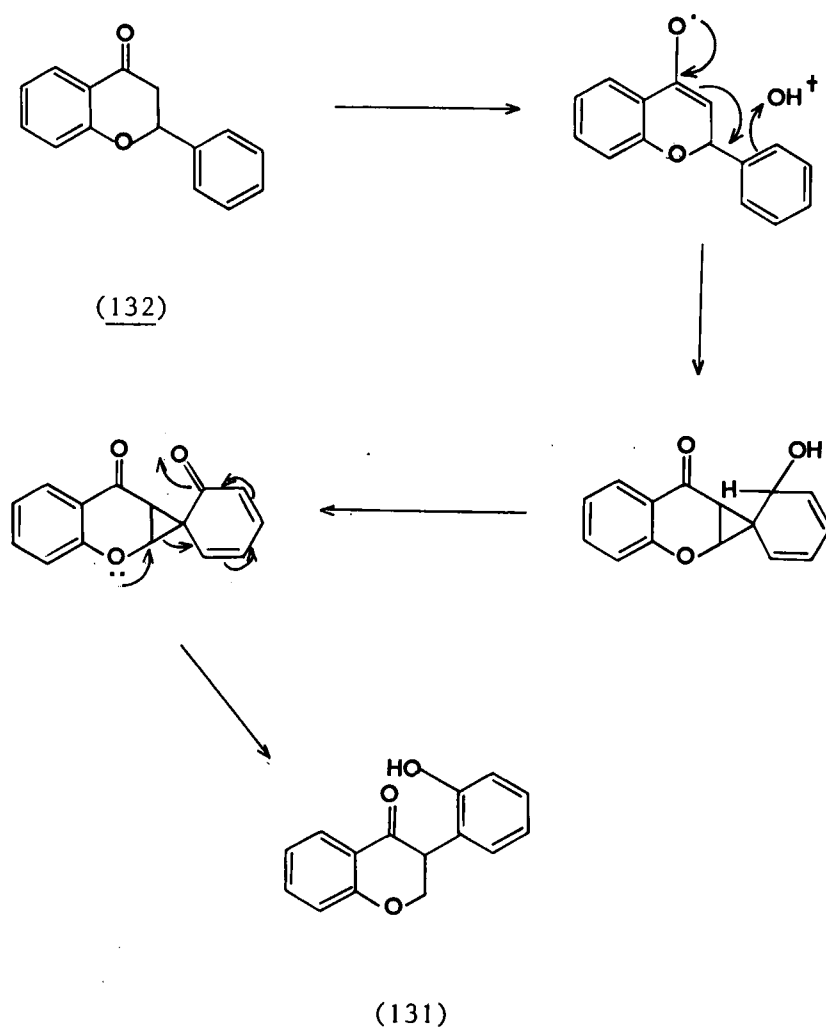
Skema 28



Pelter *et al.* ²⁴² het verder aangetoon dat die teenwoordigheid van 'n 2'-suurstoffunksie die katioon, (128), sal stabiliseer sodat dit die hoë persentasie voorkoms van 2'-hidroksi-(of metoksi)-groepe in isoflavonoïede kan verklaar.

'n Ander verklaring van hierdie 2'-suurstoffunksie is dat die isoflavanoon (131) vanaf die ooreenstemmende flavanoon (132) gevorm word deur die aanval van die biologiese ekwivalent van OH^+ op $\text{C2}'$ ²⁵⁵ (Skema 29).

Skema 29



2.18 Biosintese van rotenoïede

Struktuurverwantskappe, voorkoms en verspreiding in die natuur 23,42,86,146 dui op 'n onteenseglike verband tussen die biosintese van isoflavonoïede en rotenoïede. Vroeëre werk deur Crombie en Thomas ²⁵⁷ is deur Green *et al.* ²⁵⁸ bevestig deurdat die volgende bewys is :

- (a) die biosintese van rotenoon (1) en amorphigenin (62) volg die kenmerke van isoflavonoïedvorming en behels arielmigrasie van C-6a na C-12a van die finale rotenoïed ²⁵⁷⁻²⁵⁹;
- (b) die arielring van fenielalanien voorsien die A-ring van rotenoon; C-1 van fenielalanien word C-12, C-2 word C-12a en C-3 word C-6a;
- (c) daar is arielmigrasie vanaf die oorspronklike C-3 van fenielalanien na die oorspronklike C-2 en
- (d) die "ekstra" koolstof by C-6, sowel as die metoksi-metiel-groepe word voorsien deur metionien ²⁵⁹⁻²⁶⁰.

Hierdie werk het ook Grisebach ⁸⁶ se postulasie vir die opbouproses van die A,C,D-ringsisteem van rotenoïede volgens die isoflavonoïedpatroon onderskryf.

Die sintese van rotenoïede uit 2'-hidroksi-isoflavone en dimetielsulfoksoniummetilied deur Crombie *et al.* ^{261,262} het 'n chemiese analoog

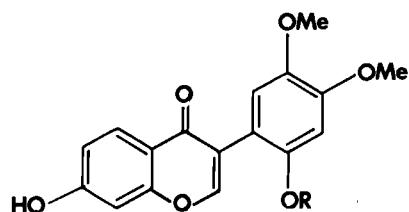
daargestel vir die ensimatiese inbring van 'n metileengroep deur S-adenosielmetionien. Die belangrikheid van 2'-hidroksi-isoflavone in rotenoïed-biosintese is hierdeur bevestig terwyl daar ook vasgestel is dat laasgenoemde proses stereoselektief is, aangesien die hele reeks natuurlike rotenoïede dieselfde absolute stereochemie by C-6a en C-12a besit ⁷⁶.

In 1972 het Crombie en sy medewerkers ^{261,262} na uitgebreide ondersoeke op oortuigende wyse getoon dat daar biogeneties 'n direkte verband tussen rotenoïede en 2'-metoksi-isoflavone bestaan. Die biosintese van amorphigenin (62) vanaf 7-hidroksi-2',4',5'-trimetoksi-isoflavoondien as uitstekende illustrasie van rotenoïedbiosintese.

Tydens hulle pogings om geskikte 2'-metoksi-isoflavone na rotenoïede om te skakel, is insiggewende resultate verkry. Voedingseksperimente het eerstens aangetoon dat inkorporering van die ongeprenileerde gemerkte isoflavoondien (133b) voorkeur geniet bo die geprenileerde isoflavone en dat feitlik alle radioaktiwiteit op C-6 of C-6a gelokaliseer is. Aangesien die oorsprong van C-6a vanaf C-3 van fenielalanien reeds bewys is, is dit redelik om te aanvaar dat die isoflavonoïed se 2'-metoksi-metielgroep spesifiek in die rotenoïed as C-6 geïnkorporeer word. Die proses toon ooreenstemming met die biologiese omskakeling van 'n o-metoksifenol na 'n metileendioksibenseen ²⁶³. Hierdie eksperiment was die eerste direkte demonstrasie van 'n biosintetiese skakel tussen isoflavone en rotenoïede.

Die isolering van isoflavoondien (133a) uit *Amorpha fruticosa* het daarop gedui dat prenilering en gevolglike modifikasie van die E-ring van

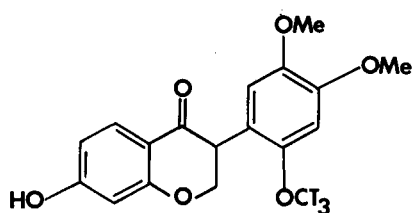
amorphigenin (62) nie by die isoflavonoïedfase plaasvind nie, maar na ringsluiting van die rotenoïedring B ²⁶². Aangesien dit geblyk het dat hierdie isoflavoon (133a) 'n definitiewe verband toon met rotenoïed-biosintese, was dit vreemd dat mevalonsuur, 'n potensiele voorloper van die E-ring, baie lae inkorporasie getoon het. Die moontlikheid het dus ontstaan dat (133a) *via* die ooreenstemmende isoflavanoon (134) na die rotenoïed omgeskakel word. Bewyse het reeds bestaan dat isoflavanone en isoflavone geredelik inter-omskakelbaar is in plante ^{264,265}. Merkingseksperimente het egter getoon dat isoflavoon (133c) meer effektief as isoflavanoon (134) geïnkorporeer word.



R = CH₃ : (133a)

R = ¹⁴CH₃ : (133b)

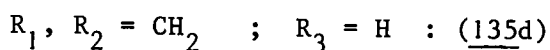
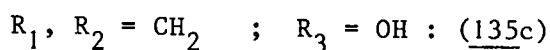
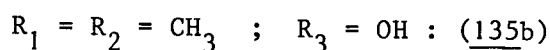
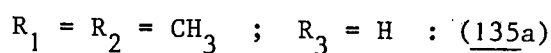
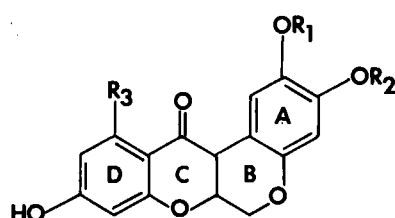
R = CT₃ : (133c)



(134)

Rasionalisering van die voorafgaande gegewens het gelei tot die volgende gevolgtrekkings wat finaal bevestig is deur voedingseksperimente :

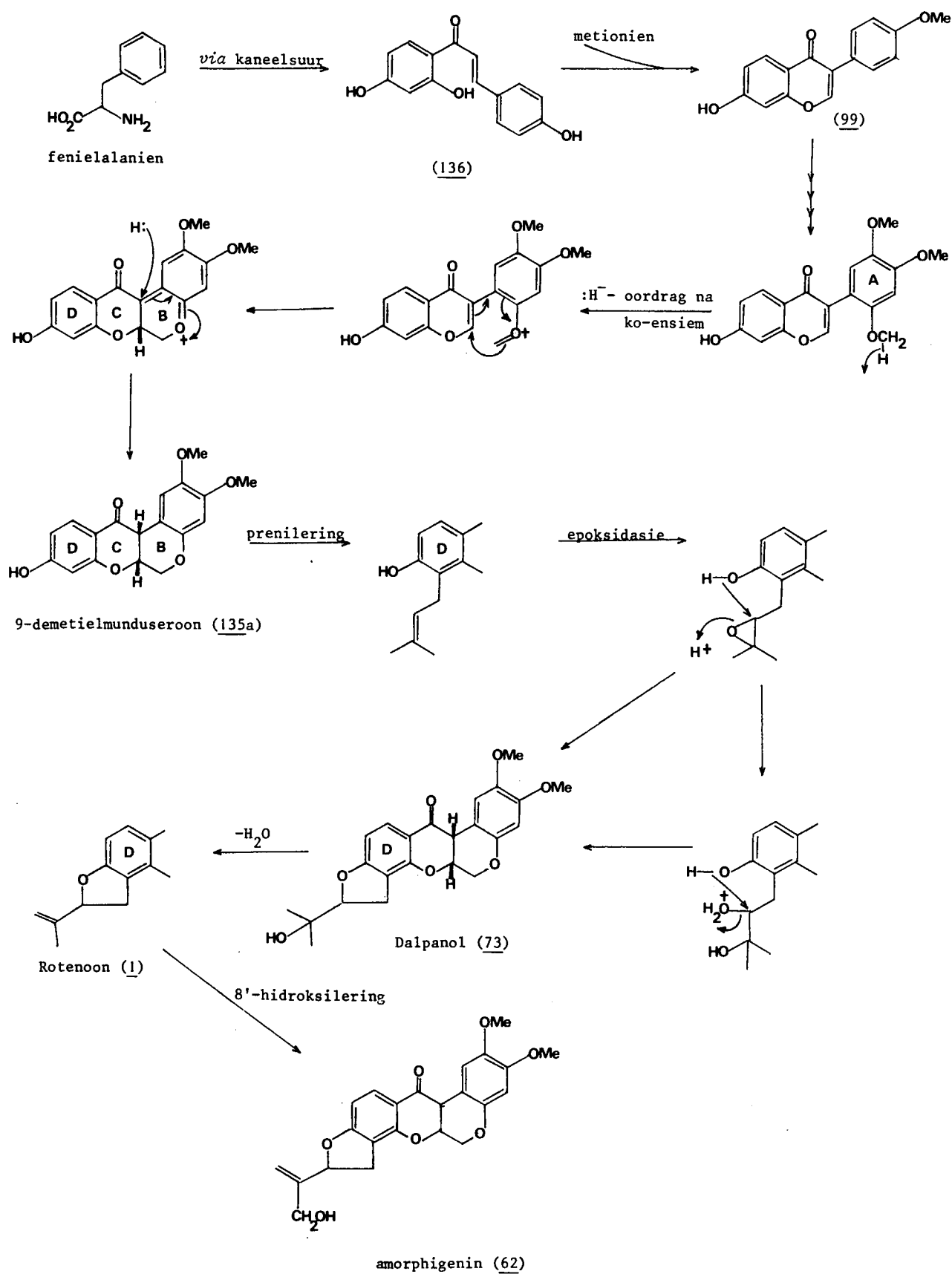
- (a) 9-demetielmunduseroon (135a) gee oorsprong aan rotenoïede wat resorsinoloksigenering op die D-ring en 2,3-dimetoksilering op die A-ring bevat;
- (b) 9-demetielsermundoen (135b) lei tot rotenoïede met 'n floroglusinol-tipe D-ring en 2,3-dimetoksilering op die A-ring; en
- (c) 9-demetielsermundoen en 9-demetielmunduseroon se 2,3-metileendioksianaloë, (135c) en (135d), gee aanleiding tot die vorming van onder andere dolineoon (5) en milletttoon (70).



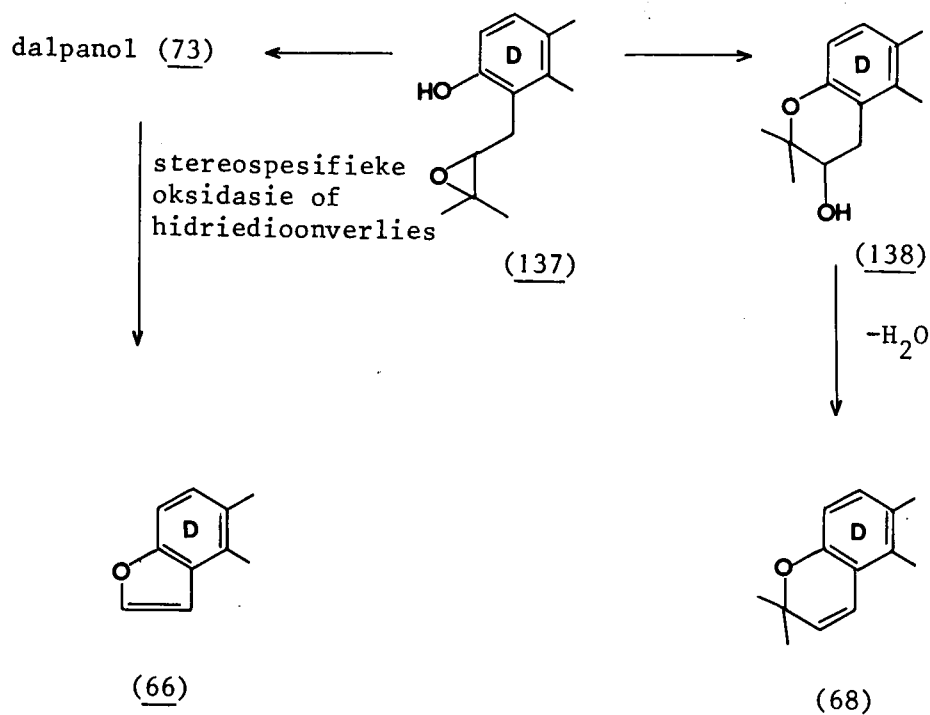
Hierdie waarnemings suggereer dat die biosintese van amorphigenin (62) na die isoflavonoïedfase, as volg verloop : prenilering op C-8; epoksidasie en ringsluiting *via* óf die epoksied, óf sy diol-derivaat, na dalpanol (73). Dehidratering lewer vervolgens rotenoon (1) terwyl C-8'-hidroksilering amorphigenin (62) gee. Skema 30 is opsommend van die verskillende fases.

Alhoewel spekulatief, wil dit voorkom asof elliptoon (66) vanaf dalpanol (73) verkry kan word en dat die alternatiewe siklisering van epoksied (137) *via* (138) na deguelin (68)⁴² kan lei (Skema 31).

Skema 30



Skema 31



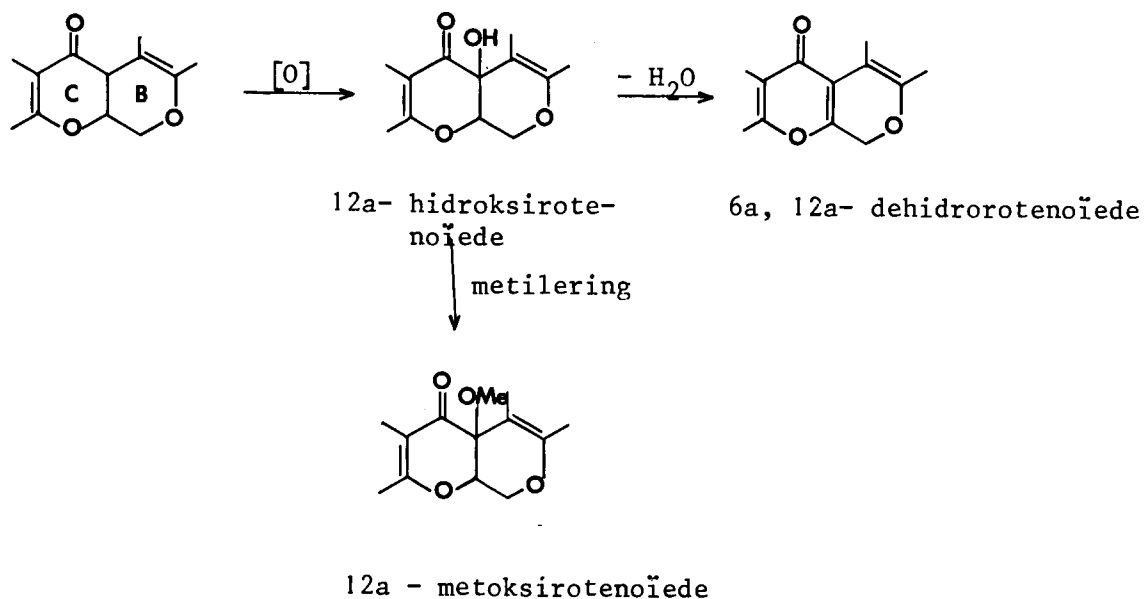
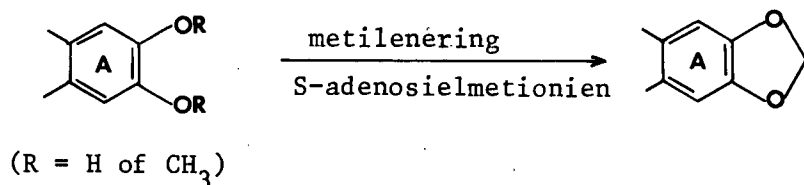
Voortspruitend uit hierdie ondersoek kon Crombie *et al.* ^{133,261,262} ook aantoon dat die substitusie patroon van die isoflavoön (133b) in die voor-rotenoïedfase opgebou word ná die arielmigrasie by die chalkoon → isoflavoön-oorgang en dat (136) die finale voor-migrerings-chalkoon is (Skema 30).

Opsommend kan dus gestel word : (a) die eenvoudige chalkoon (136) is die eerste herkenbare tussenstap; (b) arielmigrasie is geassosieer met 4'-metilering gevolg deur formononetin (99) as volgende stap; (c) oksigenering en metilering (in onbepaalde volgorde) geskied met

behulp van S-adenosielmetionien en lei tot 7-hidroksi-2',4',5-trimetoksi-isoflavone; en (d) omskakeling van laasgenoemde na rotenoïede geskied deur betrokkenheid van die 2'-metoksigroep (Skema 30).

Ander biogenetiese wysigings van die rotenoïedskelet wat aangetref is, word getoon in Skema 32.

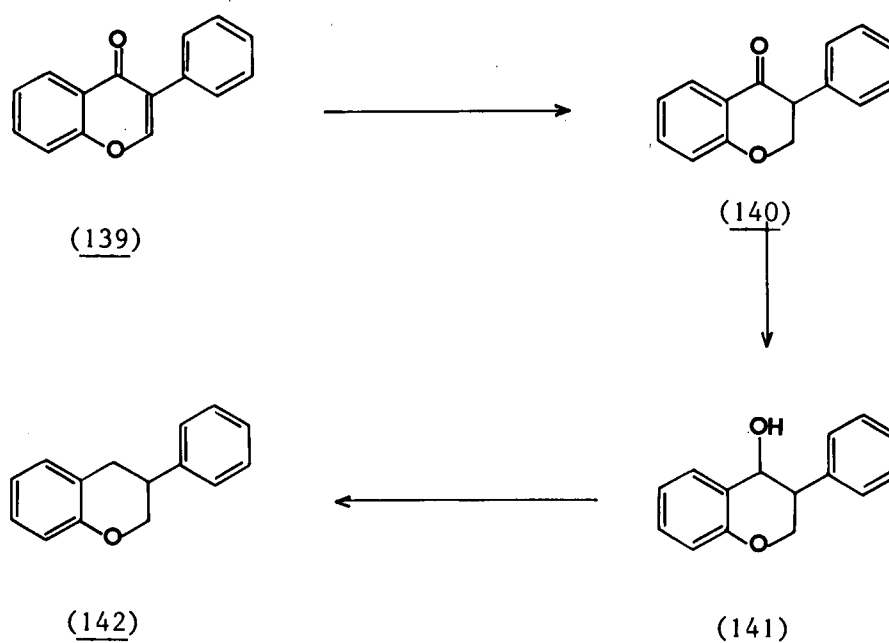
Skema 32



2.19 Biosintese van pterokarpane

King en Bottomley ²¹⁷ se bevinding dat katesjien sy oorsprong het uit die flavonol deur biologiese reduksie van laasgenoemde, dui daarop dat die isoflavanone (140), isoflavane (142) en die isoflavan-4-ole (141) moontlik ook afkomstig is vanaf isoflavone (139). 'n Hele aantal chemiese ekwivalente bestaan vir die opeenvolgende reduksies van isoflavoon $\rightarrow$ isoflavanoon $\rightarrow$ isoflavan-4-ol $\rightarrow$ isoflavan ^{117,157,175-177,181} (Skema 33).

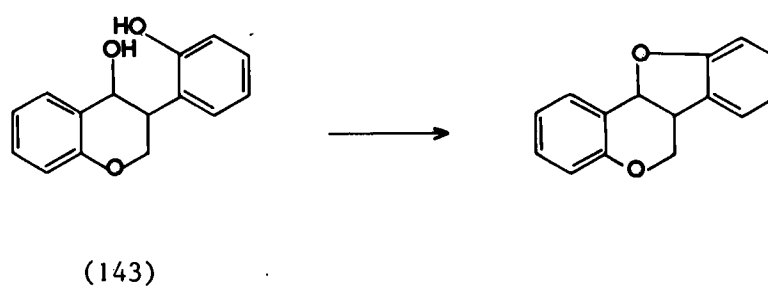
Skema 33



Alhoewel verskeie ander voorstellings gemaak is vir die biogenetiese oorsprong van die pterokarpane ²⁴² wil dit voorkom asof die vorming

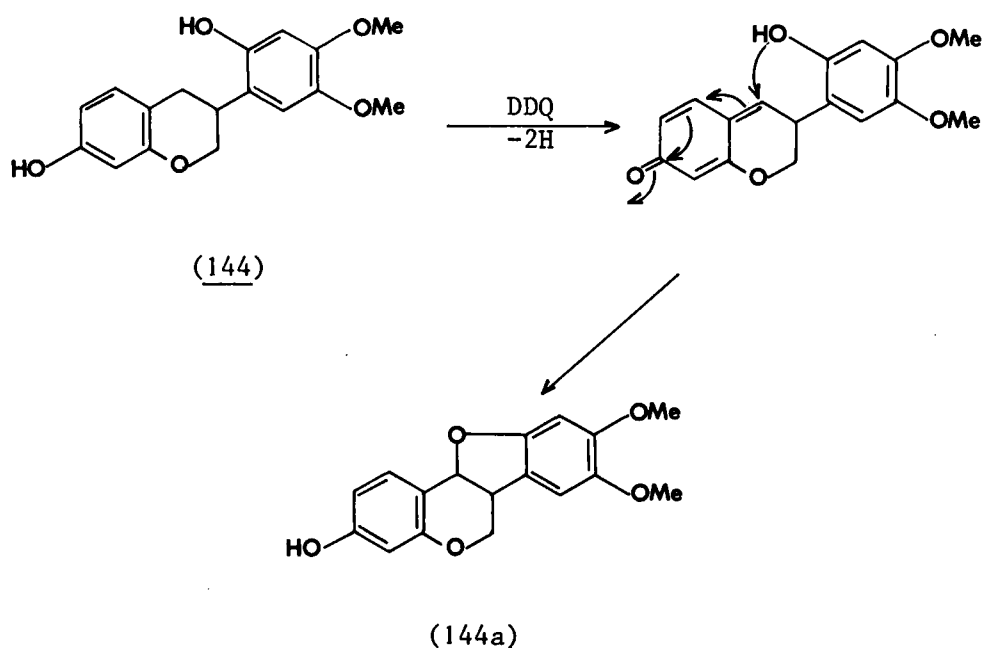
van hierdie verbindings deur reduktiewe siklisering van die ooreenstemmende 2'-hidroksi-isoflavan-4-ole (143) een van die mees aanvaarbare is ^{201,202,217}, aangesien chemiese analoë ¹⁸¹ bestaan wat sodanige ringsluiting rasionaliseer (Skema 34).

Skema 34



Cornia en Merlini ²⁶⁶ het onlangs voorgestel dat die oksidatiewe omskakeling van 2'-hidroksi-isoflavane (144) na pterokarpane (deur inwerking van 2,3-dichloro-5,6-disianobenskiinon) 'n moontlike chemiese analogie vir die ooreenstemmende biogenetiese roete is (Skema 35).

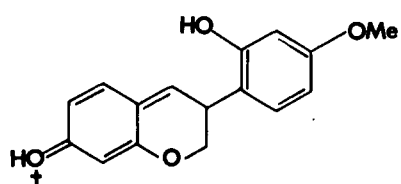
Skema 35



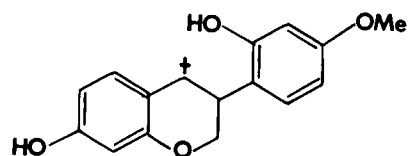
Voedingseksperimente het aangetoon dat pterokarpene en isoflavane interomskakelbaar is in plante, maar inkorporeringsgegevens het daarop gedui dat geeneen van hierdie omskakelings die normale biogenetiese roete tot hulle ontstaan verteenwoordig nie ^{242a}. Resultate het die bestaan van 'n gemeenskaplike tussenstap in die roete na pterokarpene en isoflavane (wat waarskynlik gelyktydig vorm) geïmpliseer. Sodanige tussenverbinding kan voorgestel word as die karboniumioon (144b) of sy mesomeriese vorm (144c) wat afgelei is van die ooreenstemmende isoflavan-4-ol (144d).

Siklisering en protonverlies kan tot die vorming van 'n pterokarpaan lei terwyl die reduktiewe addisie van 'n hidriedioon oorsprong kan gee aan 'n isoflavan. Struktuur (144c) verteenwoordig die geprotoneerde vorm van die kinoonmetiedtussenstap wat gepostuleer ²⁶⁶ is vir die chemiese

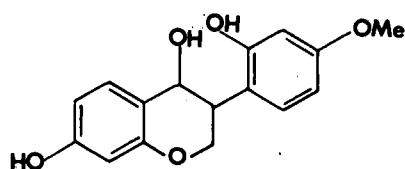
omskakeling van (144) na (144a).



(144c)



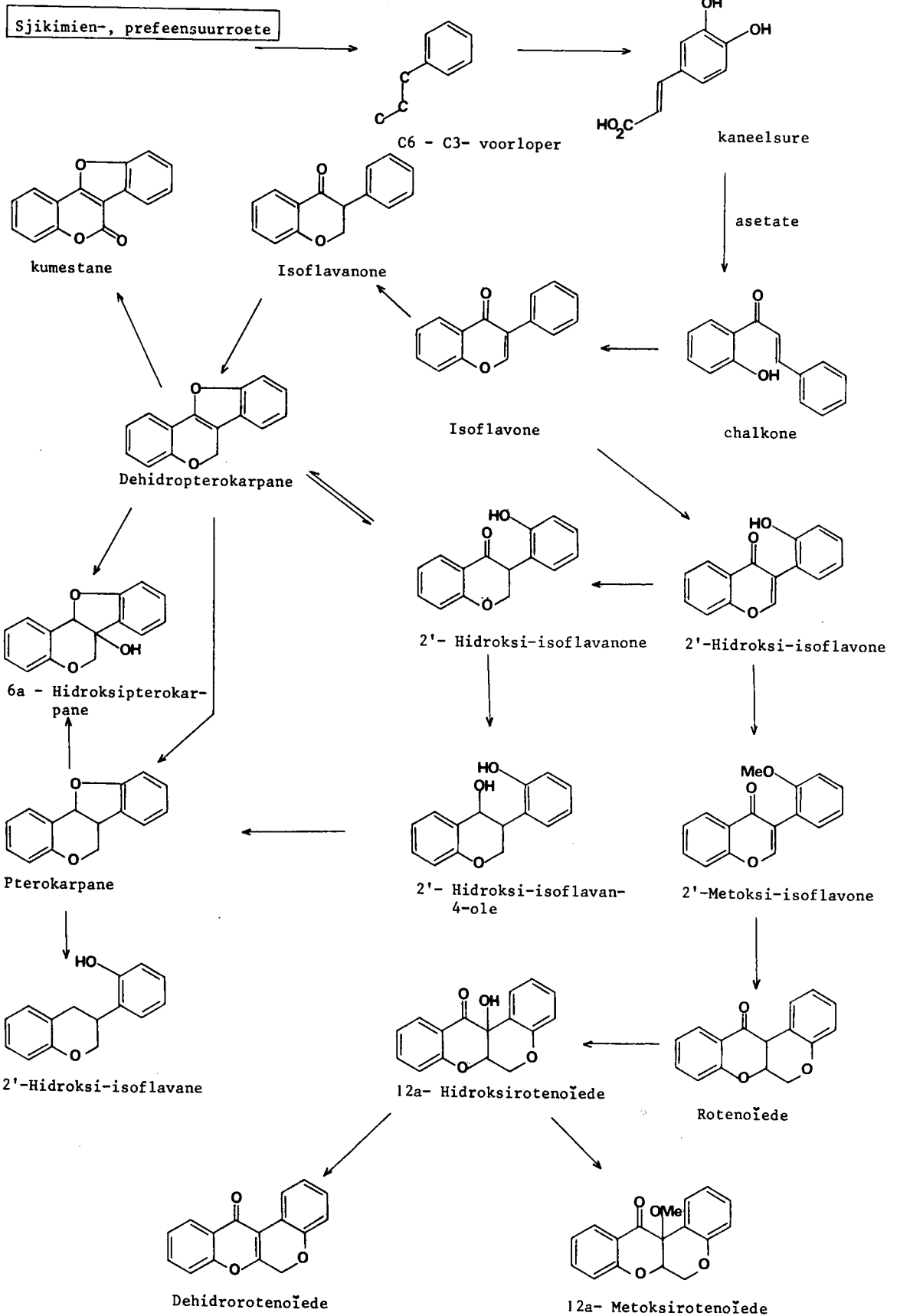
(144b)



(144d)

Skema 36 is opsommend van die moontlike biosintetiese verwantskappe tussen isoflavonoïede, pterokarpane en rotenoïede.

Skema 36

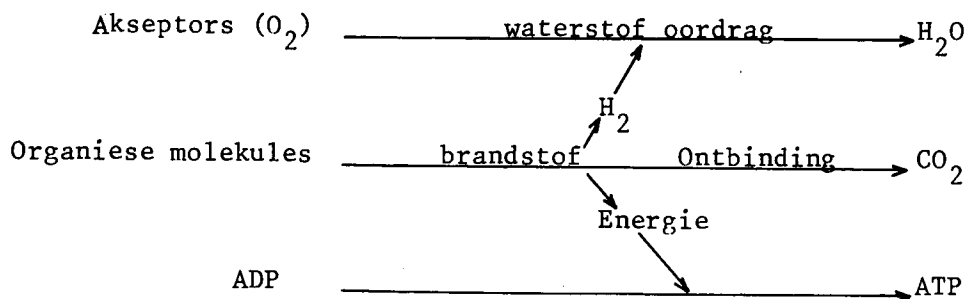


G. Die invloed van rotenoïede op die mitochondriële elektron- en energievervoersisteen. Toksisiteitsbepalings.

2.20 Inleidend ²⁶⁷

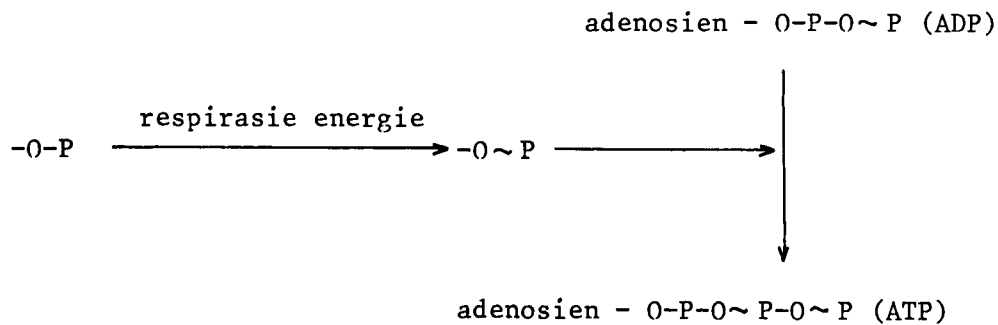
Respirasie kan beskou word as 'n omsetting van die energie-inhoud van organiese molekules na energie vir gebruik in lewende selle. Dit bestaan uit drie onderling verwante prosesse (Skema 37). Fase 1 is waar molekules deur dehidrogenasie in kleiner fragmente afgebreek word om finaal na CO_2 omgeskakel te word. Waterstofoor- drag verteenwoordig die tweede fase en is 'n gevolg van brandstof- ontbinding waarin waterstof vrygestel word wat aan 'n geskikte akseptor heg. As gevolg van brandstofafbreking word energie vryge- stel wat uitsluitlik geberg word deur die adensiendifosfaat (ADP)- adosientrifosfaat (ATP) sisteem.

Skema 37



Respirasie bewerkstellig dus die vorming van hoë energiebindings uit lae energiebindings deur interne herorganisering van 'n brandstof- molekule (Skema 38).

Skema 38

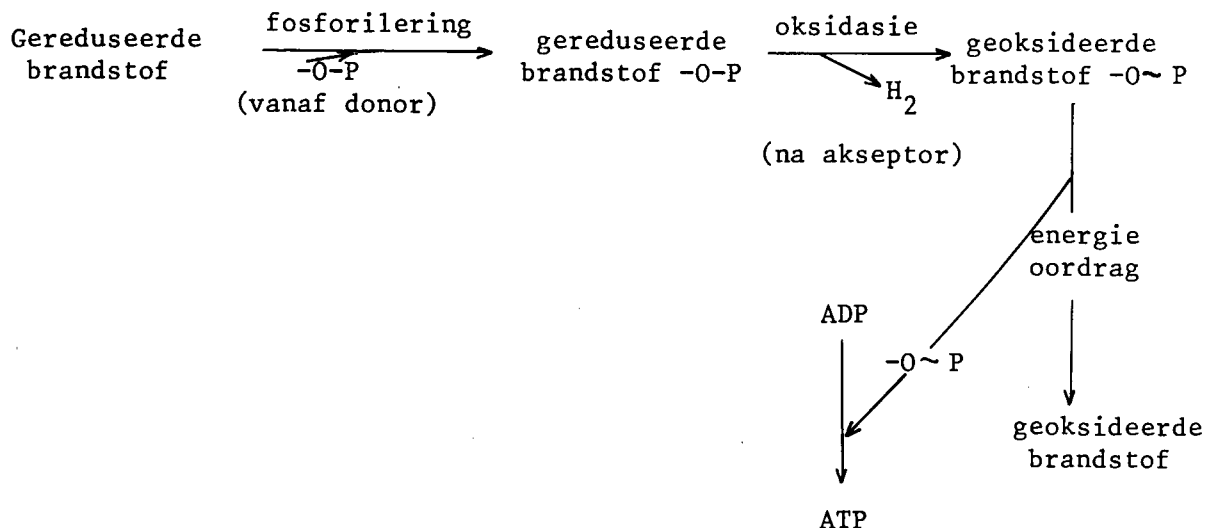


- : lae energiebinding

~ : hoë energiebinding

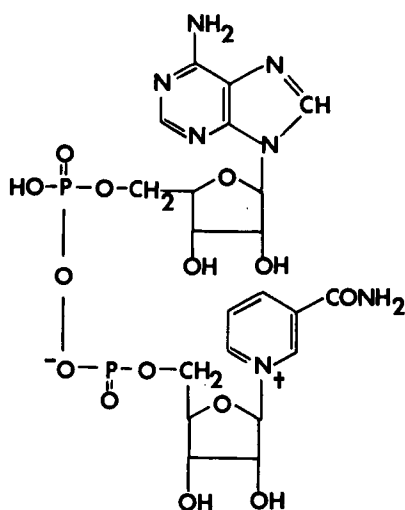
Hierdie skema toon duidelik dat voordat $\text{-O} \sim \text{P}$ -groepe oorgedra kan word aan ADP om ATP te vorm, sodanige groepe eers gevorm moet word. Tydens respirasie vind dit in twee stappe plaas. In die voorbereidende proses word 'n brandstofmolekule gefosforileer deur die aanhegting van 'n fosfaatgroep ($\text{-O}-\text{P}$). Die gefosforileerde brandstof word vervolgens geoksideer deur dehidrogenasie met vrystelling van energie wat binne die brandstofmolekule versprei word en sodoende word $\text{-O}-\text{P}$ omgeskakel na $\text{-O} \sim \text{P}$ wat oorgedra word aan ADP (Skema 39).

Skema 39

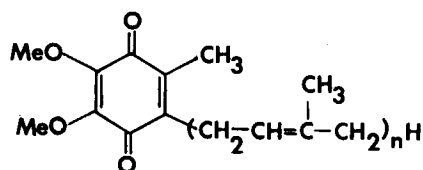


2.21 Mitochondria : Elektron vervoersisteem ²⁶⁸⁻²⁷⁰.

Die respirasieproses in lewende selle word uitgevoer deur 'n hoogs georganiseerde rangskikking van ensieme binne die mitochondria wat in alle plant- en dierselle voorkom en wat onder andere die volgende chemiese verbindings bevat : fosfolipiede, flavien, ko-ensiem Q (ubikinoon) (146), (Fe) sitochrome, nikotienamiedadeniendinukleotied dehidrogenase (NADH-dehidrogenase, 'n hoë molekulêrgewig ysterbevat-tende flavoproteïen wat reduksie van sy flavien-ko-ensiem deur gere-duseerde NAD kataliseer) en NAD (145).



(145)

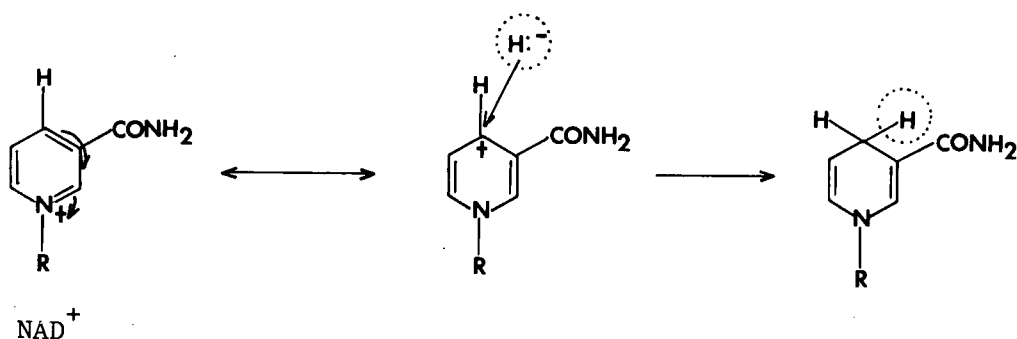
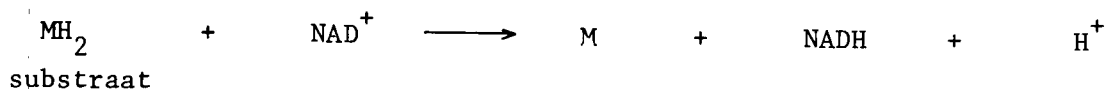


(146)

Biologiese oksidasies (byvoorbeeld respirasie) word gekataliseer deur ensieme wat funksioneer in samewerking met 'n groep ko-ensieme en elektrondraers. Die mees algemene respirasie ko-ensiem is nikotien-amiedadeniendinukleotied (NAD) wat optree as 'n akseptor van elektrone

vanaf die substraat. Wanneer NAD gebind is op 'n geskikte posisie van 'n dehidrogenase proteïen, vind 'n hidriedioon oordrag plaas vanaf die substraat na die nikotienamiedadenieneenheid en 'n proton word vrygestel in die medium. 'n Onderzoek van die ensiemreaksies gekataliseer deur NAD-dehidrogenases toon dat die reaksie die verwydering van die ekwivalent van twee waterstowwe van die substraat behels. Wanneer NAD^+ dus gereduseer word deur 'n 2-elektron oordrag in 'n ensiemreaksie, aksepteer NAD^+ die ekwivalent van 'n hidriedioon vanaf die geoksideerde substraat terwyl 'n proton vrygestel word (Skema 40).

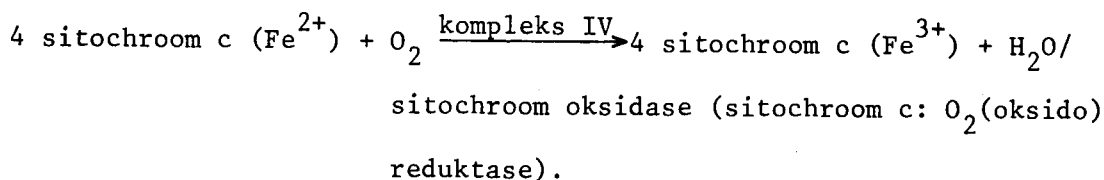
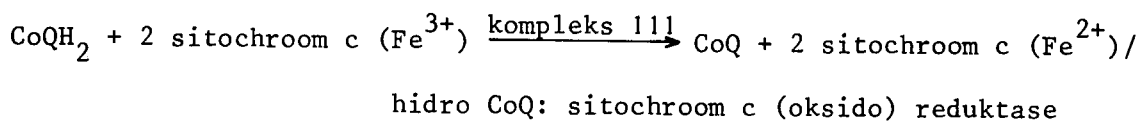
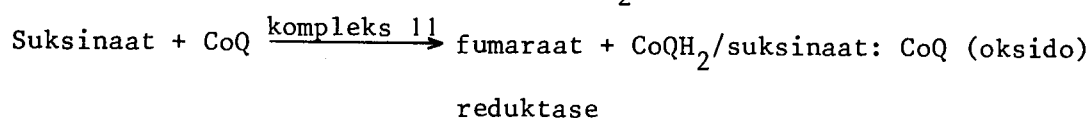
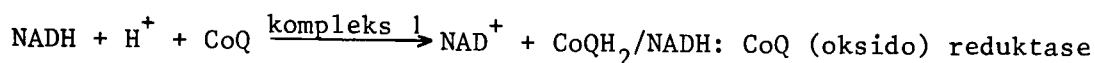
Skema 40



Van verdere belang by respirasie is 'n groep elektrondraers wat in werklikheid nie ensieme is nie. Een van hierdie reeks is 'n hidrofo-biese verbinding, ko-ensiem Q (146), wat 'n relatief stabiele semikinoon vorm by gedeeltelike reduksie en wat kan deelneem aan beide 1- en 2-elektronoordragte. Al die ander elektrondraers (asemhalingdraers)

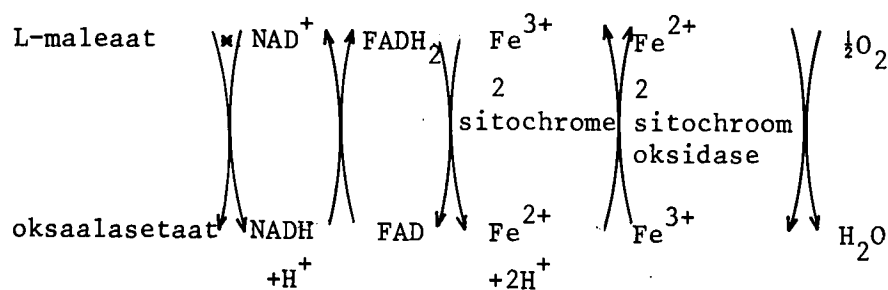
in lewende selle is sitochrome waarvan daar ten minste drie soorte, naamlik sitochroom a, b en c, bestaan. Die sitochrome is rooi, ysterbevattende verbindings wat strukturele ooreenstemming toon met die ysterbevattende gedeelte van hemoglobien in rooibloedselle.

Verskillende benaderings het bygedra om die elektronvervoerketting in mitochondria meer verstaanbaar te maak ²⁷¹⁻²⁷⁷. Fleischer *et al.* ²⁷⁸ het 'n suksesvolle metode daargestel waarvolgens respirasiepartikels verkry kon word, en nadat alle komponente verwyder was wat nie direk met elektronvervoer verband gehou het nie, kon die elektronvervoerpartikels in vier fraksies verdeel word wat elk respektiewelik die volgende karakteristieke reaksies uitvoer ^{276,279-282}.



Dit is duidelik dat hierdie vier komplekse, plus die twee mobiele draers, CoQ en sitochroom c, verantwoordelik is vir al die oksidasie-reduksie reaksies van die elektronvervoersisteem. Skema 41 verteenwoordig 'n vereenvoudigde weergawe van hierdie sisteem.

Skema 41



(* Die pyle toon die vloei van elektrone in die gekoppelde oksidasie-reduksie reaksies).

2.22 Respirasie inhibeerdere

Omdat die elektronvervoersisteen atmosferiese suurstof as fundamentele akseptor vereis, word hierdie patroon van vervoer gedefinieer as 'n aerobiese vorm van respirasie. Indien enige van hierdie aerobiese elektronvervoersteppe gestop word, sal die hele vervoersisteen buite werking wees sodat die energie wat normaalweg voorsien word, nie meer beskikbaar is nie. Reaksieversperrings kan op verskillende maniere ontstaan, byvoorbeeld : inhibeerderebindings van verskeie tipes mag inmeng spesifiek met 'n gegewe vervoerreaksie soos waar sianides die sitochrome inhibeer en dus as gif optree.

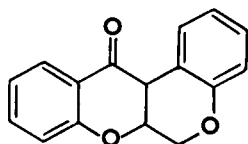
Inhibeerdere het 'n belangrike en nuttige rol gespeel by die ontwikkeling van die mens se begrip van die respirasievermoë van selle ²⁷². Uitbreiding van hierdie studies om 'n aantal addisionele inhibeerdere in te sluit, sowel as spektrofotometriese tegnieke ^{283,284} het 'n waardevolle instrument geword om die elektronvervoerketting by verskillende punte te onderbreek om sodoende die volgorde van die kompo-

nente en hulle manier van interaksie ²⁸⁵ op te klaar.

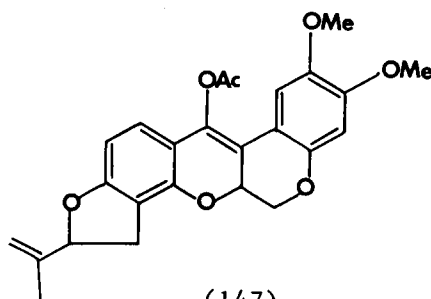
2.23 Rotenoïede as elektroninhibeerders

Verskeie verslae is beskikbaar met betrekking tot die uitwerking van rotenoïede op 'n verskeidenheid van insekspesies ²⁸⁶⁻²⁹⁰, maar daar is weinig gegewens ten opsigte van die nuwer geïsoleerde rotenoïede soos byvoorbeeld dolineoon (5) en munduseroon (72) asook oor die verwantskap tussen strukture en hul toksisiteit.

Fukami *et al.* ²⁹¹ het rotenoon en rotenoonanaloeë getoets teen *Callosobruchus chinensis* en die resultate word aangetoon in Tabel 8. Rotenoon (1) is besonder toksies teenoor 'n groot verskeidenheid insekte, maar die aktiwiteit daarvan wissel met verskillende spesies. Alhoewel die 6a, 12a-dehidrorotoksen-12(6H)-oon (80) ringstruktuur as eerste vereiste gestel is vir die toksisiteit van rotenoïede vanweë die feit dat 6a, 12a-dehidrorotenoon totaal onaktief is, blyk dit dat hierdie faktor nie altyd bepalend is nie, aangesien verbindings met verskillende ringsisteme, soos byvoorbeeld asetielrotenoon (147), ook toksies is.



(80)



(147)

Tabel 8 ²⁹¹

<u>Verbinding</u>	<u>Toksisiteit</u>
rotenoon	100
6',7'-dehidrorotenoen	75
isorotenoen	0
6'-chloro-6',7'-dihidrorotenoen	20
deguelin	60
tetrahidrorotenoen	0
6a, 12a-dehidrorotenoen	0
12a-hidroksitetrahidrorotoksen-	
derivaat van rotenoon	20 - 35
12-asetiel rotenoon	50
rotenoloon I	20 - 30
rotenoloon II	0
6, 6a-dihidrorotoksen-	
derivaat van rotenoon	0

Opmerklik was die feit dat rotenoloon I redelik aktiwiteit toon terwyl rotenoloon II nie toksies is nie. Nadat Crombie *et al.*⁷¹ aangetoon het dat hierdie twee verbindings elk uit twee diastereo-isomere bestaan wat respektiewelik *cis*- en *trans*-B/C-ringaansluitings bevat, was dit duidelik dat die verskille in toksisiteit oorsprong het by die verskille in stereochemie van die verbindings. Fink en Haller²⁹² se bevinding dat (-)-dehidrodeguelin tien keer so toksies is as sy rasemaat, het daarop gedui dat absolute stereochemie ook 'n belangrike rol speel by die toksisiteit van rotenoïede.

Alhoewel dusver geen definitiewe inligting beskikbaar is nie, skyn dit asof epirotenoon (met enantiomeriese konfigurasies by C6a en C12a) onaktief is teenoor insekte ²⁹³.

Strukturele variasies van die E-ring lei tot komplekse veranderinge in biologiese aktiwiteit. So byvoorbeeld is isorotenoen en tetrahidrorotenoen onaktief, terwyl dihidrorotenoen, deguelin en 6'-chloro-6',7'-dihidrorotenoen as toksies beskou kan word. Daar is gevind dat natuurlike elliptoon slegs 20% so toksies is as rotenoon ²⁹⁴ terwyl (-)-munduseroon en amorphin onderskeidelik aktief en onaktief is ^{6,44}.

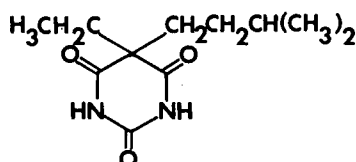
2.24 Wyse van interaksie van rotenoïede met die elektronvervoersisteem.

Reeds so vroeg as 1933 was dit bekend dat die belangrikste uitwerking van rotenoïede op insekte en visse 'n drastiese afname in suurstofopname is ^{295,296}. O'Brien ²⁹⁷ het die kragtige inhiberende aksie van rotenoïede op die respirasieproses van mitochondria breedvoerig bespreek terwyl Fukami en Tomizawa ^{298,299} die eerste was om aan te toon dat die *in vitro* oksidasie van glutamaat in die mitochondriële fraksie van inseksenuwees deur rotenoon geïnhibeer word. Fukami ³⁰⁰ het ook gevind dat daar 'n afname in suurstofopname te bespeur is by die oksidasie van suksinaat in die senuweefsels van *Periplaneta americana* wat met rotenoon ingespuut is terwyl die aktiwiteit van suksiendehidrogenase nie aangetas was nie. Nadat die kragtige inhibering van glutamaat dehidrogenase deur rotenoon waargeneem is, het hulle tot die foutiewe gevolgtrekking gekom dat die toksisiteit van

rotenoon te wyte is aan die inhibering van glutamaat oksidasie na 'n α -ketoglutaraat. Hierdie is egter 'n sekondêre effek wat, volgens Lindahl en Öberg,³⁰¹ veroorsaak word deur die blokkering in die draersisteem tussen glutamaat en suurstof. Buiten die posisie van inhibisie het Fukami²⁹¹ ook 'n korrelasie tussen struktuur en aktiwiteit opgestel (Tabel 9).

Die uitwerking van rotenoon op die respirasie in viskieuse, muislewers en rotlewermitochondria is ook bestudeer³⁰¹ en daar is waargeneem dat die aerobiese oksidasie van piruvaat in laasgenoemde geval volledig deur 6×10^{-7} M rotenoon geïnhibeer is terwyl die oksidasie van suksinaat glad nie geaffekteer is nie. Inhibering van piruvaatoksidase deur rotenoon word nie getermineer deur ontkoppeling van fosforilering met 10^{-4} M NAD nie, maar neem skerp af met addisie van metileenblou (wat NADH_2 terugoksideer na NAD). Hierdie bevindings het daarop gedui dat rotenoon reageer as 'n inhibeerder in die NADH_2 -dehidrogenase gedeelte van die mitochondriële elektronvervoersisteem.

Ter ondersteuning van hierdie gegewens is aangetoon dat rotenoon die nikotienamiedadeniendinukleotied-flaviengekoppelde elektronvervoer in 'n meer spesifieke manier blokkeer as amital (148) wat ook 'n aantal energie oordragsreaksies inhibeer³⁰². Daar is ook bevind dat rotenoon stewig aan die mitochondriële partikels gebind word, in teenstelling met amital (148) en dat die mate van respirasie-inhibering afhanklik is van die konsentrasie van die rotenoon wat bygevoeg word.



(148)

Burgos en Redfearn ²⁹³ het later die posisie van rotenoon se inhiberingsaksie in die elektronvervoersisteen bevestig en ook 'n verwantskap tussen chemiese struktuur en inhiberingspotensiaal van rotenoïede geformuleer (Tabel 9). Dit is interessant om te let op die parallelle verband tussen die graad van inhibering van NADH_2 -oksidasie en insekdodende aktiwiteit.

Addisionele getuienis vir die gelokaliseerde inhiberingsaksie van rotenoon op NADH_2 -oksidasie is voorgelê deur Hull en Whereat ³⁰³ wat aangetoon het dat rotenoon 'n versnellende effek het op vetsuursintese in haashart-mitochondria en dat dit die gevolg is van 'n hoë $\text{NADH}_2 : \text{NAD}^+$ -verhouding wat gehandhaaf word deur rotenoon.

Opsommend kan dit dus gestel word dat rotenoïede optree in die NADH_2 -dehidrogenase gedeelte van die respirasieproses, wat die primêre meganisme vir hul toksisiteit jeens insekte verteenwoordig.

Tabel 9 293

Rotenoïed	Konsentrasie benodig vir 50% inhibering μ mol/mg proteïen
(±)-6a, 12a-dihidrorotoksen-12-(6H)-oon	4000
6,6-dimetiel-6a, 12a-dihidrorotoksen-12(6H)-oon	2000
rotenoon	1,8
deguelin	3,7
elliptoon	3,6
(-)-isorotenoen	21,0
6',7'-dihidrorotenoen	4,8
munduseroon	90,0
sumatrol	3,2
toxicarol	7,3
malaccol	7,9
rotenol	1360
derritol	1270
epirotenoen	2200
(+)-isorotenoen	4000
rotenoon gereduseer met NaBH_4	2,0
epirotenoen gereduseer met NaBH_4	25,0
rotenoon oksiem	103
metielrotenoon	8000

Daar bestaan egter twee faktore waarvoor dusver geen aanvaarbare verklaring bestaan nie :

(1) die selektiewe toksisiteit van rotenoïede teenoor insekte,

visse en soogdiere; en

- (2) die rede waarom rotenoon 'n inhiberingseffek het op suksinaatoksidasie van kakkerlaksenuweefsels wat *in vivo* behandel is daarmee ^{297,304}.

Deur van rotenoon-6a-¹⁴C ³⁰⁵ gebruik te maak, kon Horgan *et al.* ³⁰⁶ aantoon dat rotenoon nie 'n spesifieke, stoïgiometriese of onomkeerbare inhibeerder is nie en dat die binding van rotenoon steeds lineêr toeneem nadat die punt van maksimum respirasie-inhibisie bereik is. Hierdie waarnemings dui daarop dat rotenoon stewig gebind word nie alleen by 'n sekere posisie in die NADH-dehidrogenase segment van die elektronvervoerketting nie, maar ook by ander posisies in die submitochondriële partikels.

A. Standaard Eksperimentele Tegnieke

Tensy anders vermeld is die volgende eksperimentele tegnieke deurgaans tydens hierdie ondersoek toegepas.

3.1 Chromatografiese metodes

(a) Dunlaagchromatografie (DLC)

Preparatiewe en kwalitatiewe dunlaagchromatografie ondersoeke is uitgevoer op glasplate (5 x 20 sm en 20 x 20 sm onderskeidelik) bedek met 'n laag (1 mm) Kieselgel PF₂₅₄ (Merck). Plate is lugdroog gemaak by kamertemperatuur en ongeaktiveerd gebruik. Na ontwikkeling van die plate in 'n ontwikkelingsstelsel is dit gedroog by kamertemperatuur en bande is onderskei met behulp van ultravioletlig (254 nm) of deur bespuiting met 'n sproeiareagens. Die afgemerkte bande is afgeskraap en die verbindings met aseton geëluëer.

(b) Papierchromatografie 307,308

Twee-dimensionele papierchromatogramme is op Whatman no. 1 papier (28,5 x 46 sm) met waterversadigde butan-2-ol (eerste rigting) en 2% (v/v) asynsuuroplossing (tweede rigting) ontwikkel. R_F waardes met betrekking tot die twee oplosmiddels is deurgaans in hierdie

volgorde aangedui. Die komponente is met behulp van fluoressensie onder UV (350 nm) en sproeireagense waargeneem.

(c) Kolomchromatografie (KC)

Kolomskeidings is uitgevoer in kolomme met binnedeursneë wat wissel van 0,5 sm tot 3,5 sm. As skeidingssubstraat is ongeaktiveerde Kieselgel 60 (Merck, korrelgrootte 230 - 400 maas) gepak tot op 'n hoogte van 5 sm tot 70 sm in 'n geskikte ontwikkelingsstelsel, gebruik. Fraksies is opgevang met behulp van 'n Isco Model 272 outomatiese fraksieversamelaar. Die verhouding van materiaal wat geskei word tot substraat het gewissel van ca. 1:20 tot 1:120, afhangende van hoe krities die skeidingsvereiste vir die betrokke komponente is. Die vloeispoed van elke kolom is onderskeidelik gestandaardiseer en het gewissel van 5 ml/30 min tot 15 ml/30 min. Die mengsel van komponente is opgelos in 'n minimum hoeveelheid van die mobiele fase en op die kolom aangebring. In gevalle waar die komponente nie in die fase wou oplos nie, is die materiaal op die minimum hoeveelheid silika geabsorbeer en droog op die kolom aangebring.

(d) Gaschromatografie (GC)

Gaschromatografiese bepalinge is uitgevoer op 'n Varian 2100 gaschromatograaf met 'n vlamionisasie detektor gekoppel aan 'n 3380 A Hewlett Packard integreerder. Die glaskolom (binnedeursnee = 3 mm, lengte ca. 2 m) is gepak met 3% SP - 2100 op 80/100 Supelcon

AW - DMCS.

3.2 Sproeireagense

(i) Ferrichloried/perchloorsuur

Dunlaagchromatogramme is liggies met 'n oplossing van ferrichloried (1 g) in perchloorsuur (250 ml) gesproei en by 120° tot optimum kleurontwikkeling verhit.

(ii) p-Tolueensulfoonsuur 309

Papierchromatogramme is goed gesproei met 'n varsbereide oplossing van p-tolueensulfoonsuur (5 g) in etanol (50 ml) en by 110° verhit tot maksimum kleurontwikkeling.

(iii) Swaelsuur-formaldehyd 310

Dunlaagchromatogramme is liggies met 'n 2% (v/v) oplossing van formaldehyd (40%) in gekonsentreerde swaelsuur gesproei en by 120° C tot maksimum kleurontwikkeling verhit.

(iv) Bis-gediasoteerde bensidien 311,312

Bensidien (5 g) is in HCl (14 ml) opgelos en gedistilleerde water (980 ml) is bygevoeg. Papierchromatogramme is liggies gesproei met 'n varsbereide mengsel (3:2 v/v) van die bensidienoplossing en 10% (g/v) natriumnitrietoplossing en vir ongeveer 1 uur onder lopende

kraanwater gewas.

(v) Antimoon (III) chloried (Carr-Price reagens) ^{313,314}

Antimoon (III) chloried (25 g) is opgelos in chloroform (75 ml) en papierchromatogramme is na besproeiing hiermee verhit vir 10 minute by 100° C en ondersoek onder ultravioletlig (350 nm).

(vi) p-Anisidien ^{315,316}

p-Anisidien hidrochloried (1 g) is opgelos in metanol (10 ml). Butan-1-ol (90 ml) en natriumditionaat (1 g) is bygevoeg en die oplossing is goed geskud. Papierchromatogramme is liggies hiermee gesproei en vir 10 minute by 130° C verhit.

3.3 Chemiese metodes

(a) Asetilering ³¹⁷

Die droë verbinding is in die minimum hoeveelheid piridien (KOH-gedroog) opgelos en asynsuuranhidried (ca. 0,1 ml/1 mg monster) is bygevoeg. Die oplossing is vir ongeveer twee uur onder terugvloei verhit op 'n waterbad. Die reaksiemengsel is opgewerk deurdat fyn ys bygevoeg is. Die amorfe materiaal is met eter geëkstraheer, gewas met yskoue verdunde soutsuur (1 N), versadigde natriumbikarbonaatoplossing en water waarna dit gedroog is oor watervrye natriumsulfaat. Na filtrering is die eterekstrak onder verminderde druk ingedamp.

(b) Metilering met dimetielsulfaat 318

Die droë fenoliese materiaal is in 'n geskikte hoeveelheid droë aseton opgelos, watervrye kaliumkarbonaat (ca. 1 g/200 mg monster) is bygevoeg en die mengsel is onder terugvloei verhit (55° tot 60°) met meganiese roering. Droë, varsgedistilleerde dimetielsulfaat is druppelsgewys bygevoeg en die verloop van die reaksie is gevolg met DLC. Na voltooiing van die reaksie is die reaksiemengsel filtreer, 'n gelyke volume water is bygevoeg en die aseton is onder verminderde druk by 60° afgedamp. 33% Ammoniumhidroksied-oplossing is by die reaksiemengsel gevoeg en oornag met roering laat staan sodat die oormaat dimetielsulfaat kon ontbind. Die reaksiemengsel is geëkstraheer met eter en die gekombineerde eterekstrakte is agtereenvolgens gewas met yskoue verdunde sout-suur (1 N), versadigde natriumbikarbonaatoplossing, water en gedroog oor watervrye natriumsulfaat. Na filtrering is die eterekstrak ingedamp onder verminderde druk.

(c) Metilering met diasometaan 319

Fenoliese materiaal (200 mg) is opgelos in metanol (ca. 50 ml) en afgekoel tot -15° . Diasometaan, ontwikkel deur die reaksie van KOH (8 g) in etanol (48 ml) en water (2 ml) met diazald (N-metiel-N-nitroso-p-tolueensulfoonamied) (7,5 g) in eter (100 ml), is direk in die voorafbereide oplossing oorgestook. Die reaksiemengsel is vir 48 uur by -15° gelaat en die oormaat diasometaan is daarna in 'n vinnige lugstroom by kamertemperatuur afgedamp.

(d) Metilering met metieljodied ³²⁰

Droë fenoliese materiaal (2 g) is opgelos in 'n geskikte hoeveelheid droë aseton, watervrye kaliumkarbonaat is bygevoeg (ca. 1 g/200 mg monster) en die mengsel is onder terugvloei verhit (55° tot 60°) met meganiese roering. Droë, varsgedistilleerde metieljodied (8 ml) is bygevoeg en die verloop van die reaksie is gevolg met DLC. Na ca. 12 uur is die reaksiemengsel filtreer en die aseton onder verminderde druk afgedamp.

(e) Kwalitatiewe toetse vir die teenwoordigheid van 'n rotenoïed-skelet

(i) Durham-toets ³²¹

'n Paar kristalle van die stof is in aseton (1 ml) opgelos en 1:1 $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}$ -oplossing (1 ml) is bygevoeg. Na 30 sekondes is die mengsel met water (8 ml) verdun en gekonsentreerde ammoniumhidroksied (1 ml) is bygevoeg. 'n Diep persblou kleurreaksie is verkry met rotenoïede.

(ii) Rogers en Calamari-toets ³²²

'n Paar kristalle van die stof is opgelos in chloroform (5 ml). Hierby is 'n chloroformoplossing (5 ml) van timol (10 g in 100 ml chloroform) gevoeg asook 'n HNO_3/HCl mengsel (3 ml) (0,2 ml gekonsentreerde HNO_3 + 100 ml gekonsentreerde HCl).

Die mengsel is vir 30 sekondes geskud. 'n Blougroen kleur wat binne twee minute verskyn, dui op 'n rotenoïed.

(f) Kwalitatiewe toets vir die teenwoordigheid van 'n metileen-
dioksigröep : Die Labat-toets 323

'n Spoorhoeveelheid van die verbinding is behandel met gekonsentreerde swaelsuur (2 ml) gevolg deur 'n druppel van 5% alkoholiese gallussuur. 'n Groen kleurreaksie is verkry indien 'n metileendioksigröep teenwoordig is.

3.4 Spektrometriese- en spektroskopiese metodes

(a) Protonmagnetiese resonansspektrometrie (PMR)

Alle PMR-spektra is afgeneem op 'n Varian T-60 of XL-100 spektrometer teen 60 of 100 MHz met gedeutereerde chloroform (CDCl_3) as oplosmiddel en tetrametielsilaan (TMS) as interne standaard (tensy anders vermeld). Chemiese verskuiwings is uitgedruk op die τ -skaal in dele per miljoen (d.p.m.) en koppelingskonstantes (J) is tot $\approx$ 0,2 Hz akkuraat gemeet deur skaaluitbreiding. Die afkortings, s, d, t, dd en m is gebruik om singulet, doeplet, triplet, doeplet van doeplette en multiplet onderskeidelik aan te dui.

(b) Massaspektrometrie (MS)

Akkurate massabepalings en massaspektra is afgeneem op AEI MS-9 en Varian CH - 5 massaspektrometers, beide met dubbele fokus.

(c) Infrarooi-spektroskopie (IR)

Infrarooiabsorpsiespektra is afgeneem óf in oplossing (CHCl_3) óf in vaste fase (KBr-skyfie) met 'n Unicam SP 1000 spektrofotometer.

(d) Ultravioletspektroskopie (UV)

Ultravioletabsorpsiekurwes is met behulp van 'n Perkin-Elmer 402-spektrometer met bypassende Beckman DB-G registreerder (10 dm) afgeneem in spektroskopies suiwer metanol.

(e) Sirkulêre dichroïsme (SD)

SD-kurwes is bepaal met behulp van 'n Jasco J-20 spektropalarimeter in spektroskopies suiwer metanol. Molekulêre elliptisiteit (θ) is bereken volgens die formule :

$$[\theta] = \frac{(L) (\text{Skaalinstelling}) (\text{Molekulêre gewig}) (3300)}{(\text{buislengte in sm}) (\text{konsentrasie in g/l})}$$

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

(f) Optiese rotasies $[\alpha]_D$

Optiese draaiings is gemeet met 'n Hilger-Watts M 412 polarimeter en is gemeet by die D-lyn van natriumlig.

3.5 Smeltpunte (Spt.)

Smeltpunte is bepaal met behulp van óf 'n Reichert "Thermopan" mikroskoop (Kofler "hot stage") óf 'n Mettler FPI outomatiese smeltpuntapparaat en is ongekorrigeerd (alle temperature word aangedui as °C).

B. Die Isolering en Reindaarstelling van die komponente uit
Neorautanenia amboensis.

3.6 Voorbereiding en selektiewe ekstraksie van die plantmateriaal

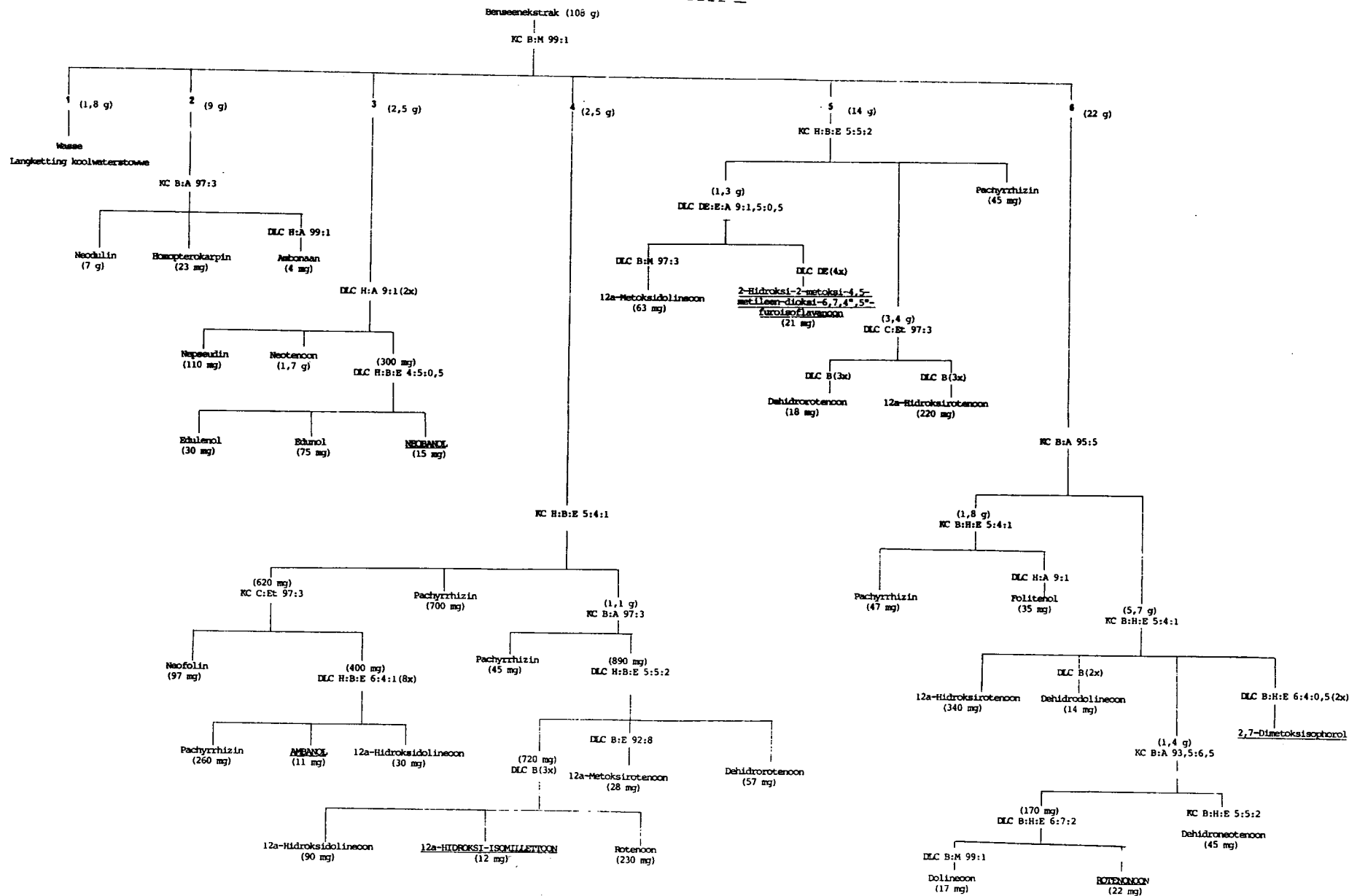
Die bolle van *N. amboensis*, versamel in die Nasionale Krugerwildtuin naby Tshokwane, is ontbas, in dun skywe gekap, vir ca. twee weke luggedroog en fyngemaal (ca. 50 maas) om 17,4 kg plantmateriaal te lewer.

Die gemaalde bol is met hekseen vir 74 uur by ca. 60° in Soxhlet-ekstraktors geëkstraheer. Die droë plantmateriaal (700 g-porsies) is vervolgens met benseen vir 60 uur by 80° geëkstraheer en die rumateriaal (108 g; 0,63% bereken op die totale gewig droë materiaal) is verkry as 'n taai bruin stroop deur die gekombineerde ekstrakte onder verminderde druk by 50° in te damp. Verdere ekstraktering (72 uur, 700 g-porsies) met metanol by ca. 65° het na indamping (verminderde druk, 50°) 'n donkerbruin taai stroop gelever (117 g; 0,68% bereken op die totale gewig droë materiaal).

3.7 Fraksionering van die benseenekstrak deur middel van kolom-
chromatografie

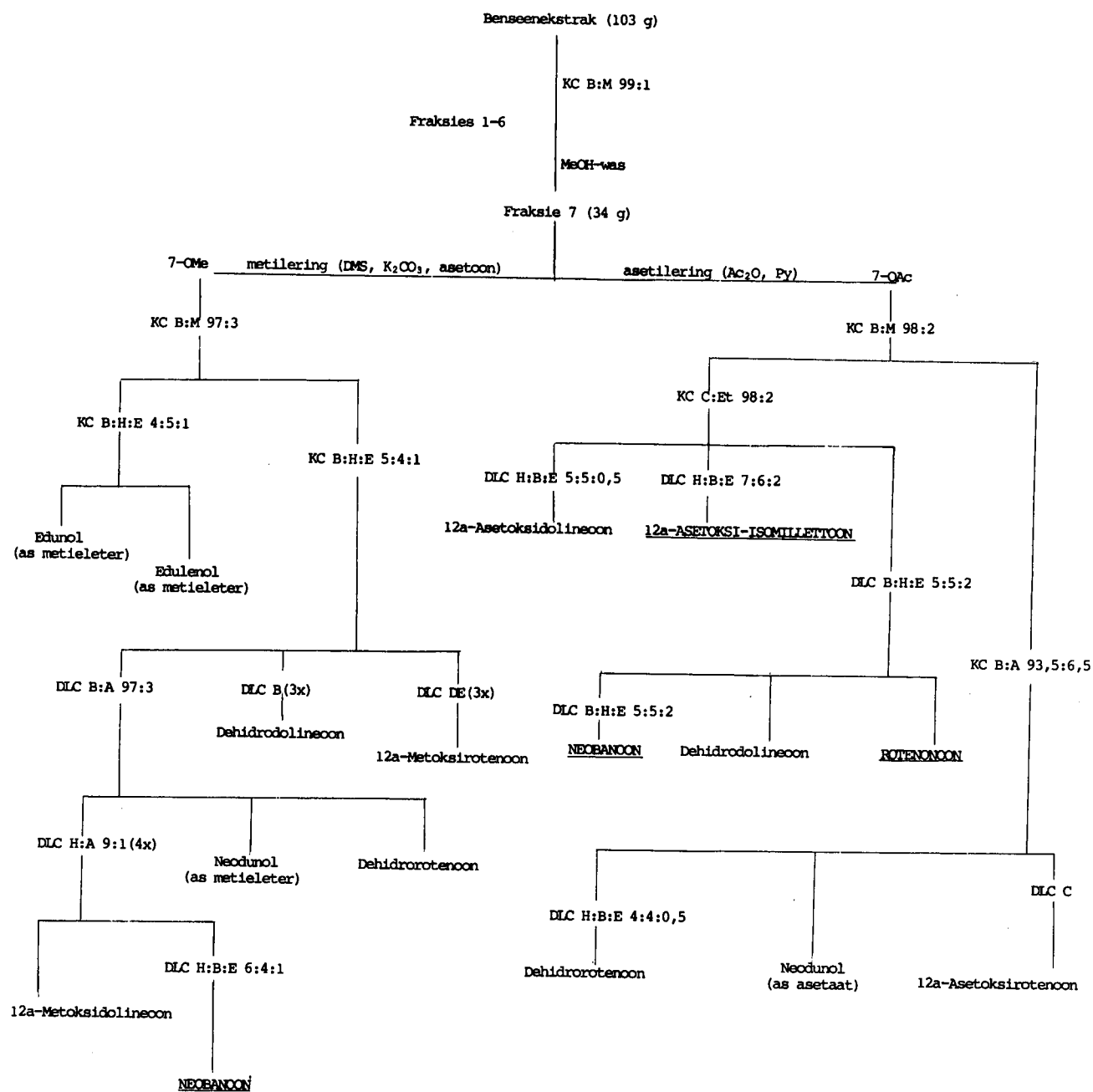
In 'n tipiese geval is 'n 15 g-porsie van die benseenekstrak gechromatografeer op 350 g ongeaktiveerde silika met benseen : metanol 99:1 (v/v) as elueermiddel. Die vloeispoed van die kolomme was deurgaans 15 ml/30 minute en die eluering is gevolg deur middel van

S K E M A 42



3.9 ISOLERING EN REINDAARSTELLING VAN DIE KOMPONENTE UIT FRAKSIE 7

S K E M A 43



kwalitatiewe dunlaagchromatografie van die fraksies.

Hiervolgens kon die benseenekstrak na oordeelkundige kombinasie in sewe fraksies, 1-7, verdeel word. Fraksie 7 is verkry as die metanolwas van die kolomme na chromatografie in bogenoemde loopmiddel (sien skema 42 en 43).

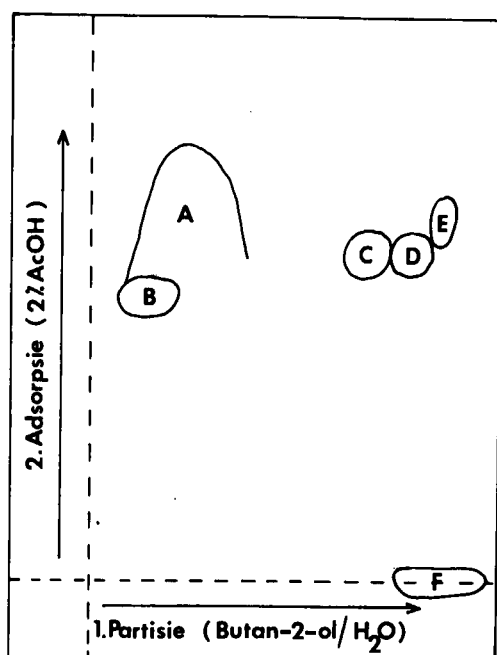
Die volgende afkortings geld vir skema 42 en 43 :

A : asetoon	E : etielasetaat
B : benseen	Et : eter
C : chloroform	H : heksaan
DE : dichlooretaan	M : metanol
DM : dichloormetaan	

3.10 Fraksionering van die metanolekstrak deur middel van 'n teenstroomverdeling

(a) Chromatografiese voorstelling

Figuur 1 is 'n skematiese voorstelling van die verspreiding van die komponente uit die metanolekstrak van die bol van *N. amboensis* na sproeiing met *bis*-gediasoteerde bensidien.



Figuur 1

- A. Genistein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied (55); R_F 0,22 en 0,64; geel[✱], bruin[✱]
- B. Daidzein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied (56); R_F 0,19 en 0,52; geel[✱], bruin[✱]
- C. (-)-3,3',4,4',7-Pentametoksi-2,3-*trans*-3,4-*cis*-flavaan (52); R_F 0,45 en 0,55; bruin⁺
- D. (-)-3',4',7-Trimetoksi-2,3-*trans*-flavan-3,4-*cis*-diol (51); R_F 0,47 en 0,55; wynrooi⁺
- E. (-)-3',4',7-Trihidroksi-2,3-*trans*-flavan-3,4-*cis*-diol (50); R_F 0,52 en 0,60; wynrooi⁺
- F. Mengsel van rotenoïede en isoflavonoïede; R_F 1 en 0; bruin[✱]

Kleurreaksies is verkry na sproeiing met *bis*-gediasoteerde bensidien[✱], *p*-tolueensulfoonsuur⁺, antimoon (III) chloried[✱] en *p*-anisidien[✱] onderskeidelik.

(b) Fraksionering met behulp van 'n teenstroomverdeling (VEDA)

'n Voorlopige teenstroomverdeling (10 buise, water : butan-2-ol : *n*-heksaan 5/4,5/0,5, v/v, as fases) op die metanolekstrak (5 g) het 'n verryking van die hoë R_F -komponente (met betrekking tot papieradsorpsieskeiding) aangetoon.

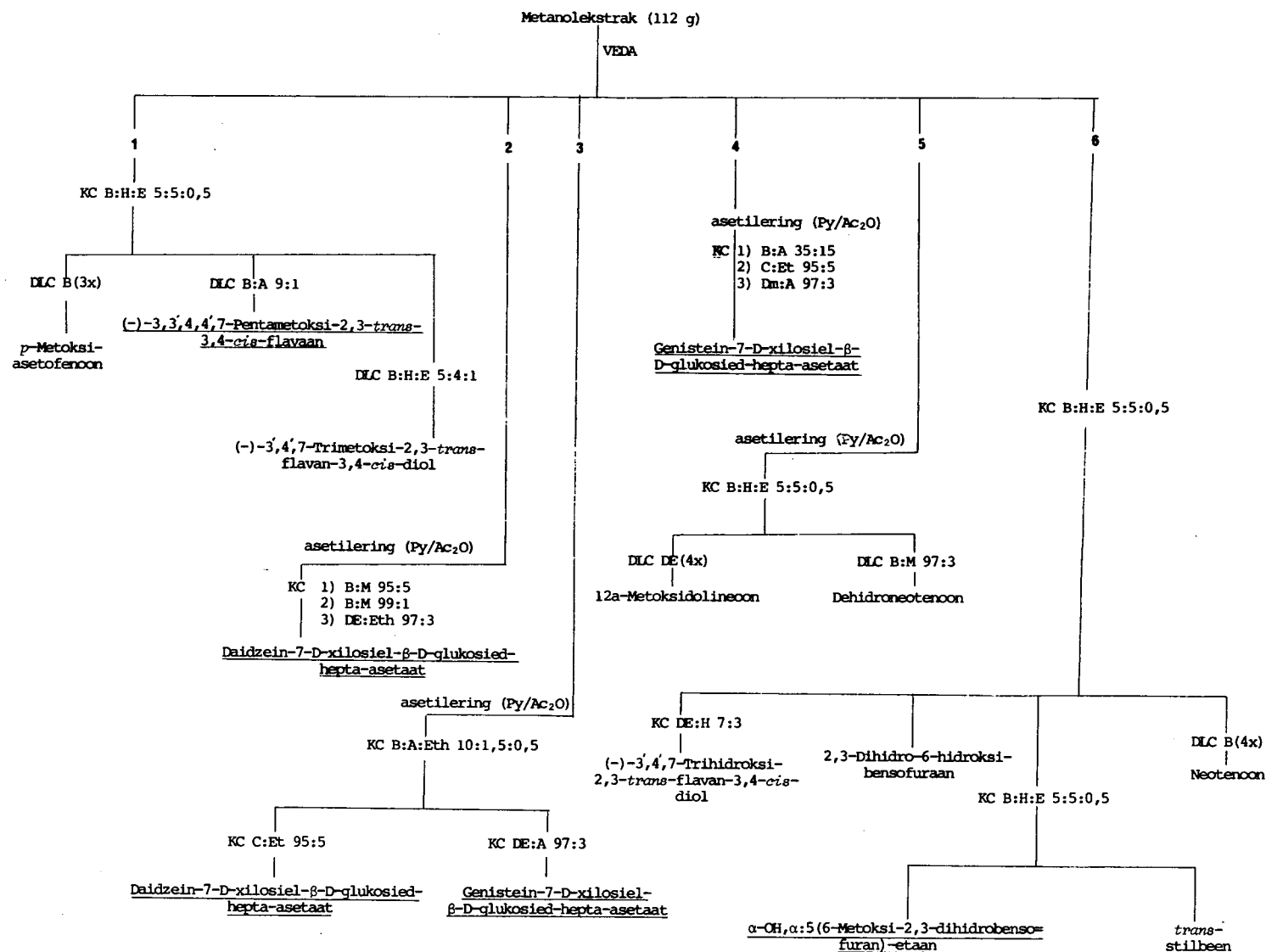
Derhalwe is die metanolekstrak (112 g) opgelos in die onderste fase (125 ml) van 'n water : butan-2-ol : *n*-heksaan (5 : 4,5 : 0,5, v/v)-mengsel opgelos. Na verdere verdunning tot 150 ml is die mengsel in die eerste ses buise van 'n "Quickfit (Model 20) Steady State Distribution" apparaat (25,0 ml per buis) ingevoer. Die boonste en onderste fases van bogenoemde mengsel is vir 'n teenstroomverdeling gebruik en na 103 oordragte is, na aanleiding van tweedimensionele papierchromatografie, die volgende fraksies gekombineer en ingedamp onder verminderde druk by ca. 60° tot bruin, taai strope : 7 - 11 (Fraksie 1, 30 g); 19 - 28 (Fraksie 2, 18 g); 29 - 52 (Fraksie 3, 14 g); 53 - 69 (Fraksie 4, 4 g); 70 - 82 (Fraksie 5, 4 g) en 83 - 103 (Fraksie 6, 12 g) (sien skema 44).

Die volgende afkortings geld vir skema 44 :

A	:	asetoon	Et	:	eter
B	:	benseen	H	:	heksaan
C	:	chloroform	M	:	metanol
DE	:	dichlooretaan	Eth	:	etanol
DM	:	dichloormetaan			
E	:	etielasetaat			

3.11 ISOLERING EN REINDAARSTELLING VAN DIE KOMPONENTE UIT VEDA-FRAKSIES 1-6

S K E M A 44



3.12 Fisiese data van komponente uit die bol van *N. amboensis*
geïsoleer volgens skemas 42 - 44

Neodulin (17) 324, 325

Ontwikkel geelbruin met ferrichloried/perchloorsuur.

Kleurlose naaldjies (uit benseen)

R_F : 0,68 (CHCl_3 : eter 97,5 : 2,5 v/v)

Spt.: 224° (lit. 147 spt. $225,8^\circ$)

$[\alpha]_D^{20}$: $-265,3^\circ$ (c 0,6 in CHCl_3)

M^+ : 308

IR : $\nu_{\text{maks.}}$ (cm^{-1}) 915, 1040, 1166

PMR-spektrum (Plaat 1) :

τ = H1 : 2,30 (s, 1H); H4 : 2,90 (s, 1H); H7 : 3,30 (s, 1H);

H10 : 3,60 (s, 1H); H11a : 4,40 (d, 1H); H6a : 5,80 (m, 1H);

H6 aks, ekw : 6,40 (m, 2H) ; H3' : 3,30 (d, 1H, J2,2);

H2' : 2,45 (d, 1H, J2,2) ; OCH_2O : 4,10 (dd, 2H)

Homopterokarpin (21) 185,187

Ontwikkel helderpienk met ferrichloried/perchloorsuur

Wit naaldjies (uit etanol)

R_F : 0,63 (CHCl_3 : eter 97,5 : 2,5 v/v)

Spt.: 83 - 85° (lit. ¹⁸⁷ spt. 87 - 88°)

$[\alpha]_D^{22}$: -225° (c 0,4 in CHCl_3)

M^+ : 284

IR : $\nu_{\text{maks.}}$ (cm^{-1}) 1620, 1500

UV : $\lambda_{\text{maks.}}$ (nm) 281, 286; $\log \epsilon$ 3,79, 3,85.

PMR-spektrum (Plaat 2) :

$\tau = \text{H1}$: 2,50 (d, 1H, J8)	; H7 : 2,83 (d, 1H, J8) ;
$\text{H2 of } 8^*$: 3,30 (d, 1H, J 2,5)	; $\text{H10,4 en 2 of } 8^*$: 3,50 (m, 3H);
H11a : 4,46 (m, 1H)	; H6 ekw : 5,75 (m, 1H) ;
H6 aks : 6,35 (m, 1H)	; H6a : 6,44 (m, 1H) ;
OMe : 6,23 en 6,20 (s, 3H)	

(* Die seine is nie interpreteerbaar nie, aangesien die twee ABX-sisteme mekaar oorvleuel).

Ambonaan (32) ³²⁶

Ontwikkel groenbruin met ferrichloried/perchloorsuur

Liggeel naaldjies (uit heksaan/asetoon)

R_F : 0,49 (CHCl_3 : eter 97,5 : 2,5 v/v)

Spt. : 124° - 127°

$[\alpha]_D^{26}$: -191° (c 0,08 in CHCl_3)

M^+ : 324

IR : $\nu_{\text{maks.}}$ (cm^{-1}) 1560, 1330, 940

UV : $\lambda_{\text{maks.}}$ (nm) 365, 350, 295, 250, $\log \epsilon$ 3,19; 3,23; 3,57; 3,72.

Analise : Bereken vir $C_{19}H_{16}O_5$ %C = 70,40 ; %H = 4,90

Gevind : %C 70,51 ; %H = 4,93

PMR-spektrum (Plaat 3) :

$\tau = H1 : 2,13$ (s, 1H)	; $H2' : 2,40$ (d, 1H, J2) ;
$H4 : 2,87$ (s, 1H)	; $H7 : 3,05$ (d, 1H, J8) ;
$H3' : 3,23$ (d, 1H, J2)	; $H8 : 3,67$ (d, 1H, J8) ;
$H11a : 4,23$ (d, 1H)	; $H6$ ekw : 5,72 (m, 1H) ;
$H6$ aks : 6,35 (m, 1H)	; $H6a : 6,31$ (m, 1H) ;
$OMe : 6,03$ en $6,13$ (s, 3H)	

Edulenol (20) ¹⁹¹

Ontwikkel helderrooi met ferrichloried/perchloorsuur

Kleurlose rhombiese kristalle (uit benseen)

$R_F : 0,44$ (benseen : heksaan : etielasetaat 5:4:1 v/v)

Spt. : 117° (lit. ¹⁹¹ spt. $118,1^\circ$)

$[\alpha]_D^{22} : -253^\circ$ (c 0,3 in $CHCl_3$)

$M^+ : 368$

PMR-spektrum (Plaat 4) :

$\tau = H7 : 2,87$ (d, 1H, J9)	; $H10 : 3,51$ (d, 1H, J2,5) ;
$H8 : 3,55$ (dd, 1H, J9 en 2,5)	; $H4 : 3,72$ (s, 1H) ;
$H11a : 4,33$ (d, 1H, J6,5)	; $-CH=C : 4,71$ (t, 1H, J6,5) ;
$H6$ ekw : 5,84 (m, 1H)	; $H6$ aks : 6,38 (m, 1H) ;
$H6a : 6,53$ (m, 1H)	; $OMe : 6,26$ en $6,04$ (s, 3H);
$CH_2 : 6,61$ (d, 2H, J6,5)	; $-C=C(CH_3)_2 : 8,27$ en $8,18$ (s, 3H).

Edunol (12) 190,327

Ontwikkel oranjepienk met ferrichloried/perchloorsuur

Wit naalde (met benseen)

R_F : 0,47 (heksaan : benseen : etielasetaat 5:4:1 v/v)

Spt. : 146° (lit. ¹⁹⁰spt. 147°)

$[\alpha]_D^{26}$: -261,9° (c 0,8 in CHCl₃)

M^+ : 352

IR : $\nu_{\text{maks.}}$ (cm⁻¹) 3360, 1400, 1625.

PMR-spektrum (Plaat 5) :

$\tau = H1$: 2,75 (s, 1H)	;	$H4$: 3,53 (s, 1H)	;
$H7$: 3,27 (s, 1H)	;	$H10$: 3,58 (s, 1H)	;
$H11a$: 4,54 (d, 1H)	;	$H6a$: 6,53 (m, 1H)	;
$H6$ ekw : 5,82 (m, 1H)	;	$H6$ aks : 6,38 (m, 1H)	;
OH : 4,55 (s, OH)	;	$-C=C(\underline{CH}_3)_2$: 8,23 (s, 6H)	;
$-CH_2$: 6,67 (d, 2H, J7)	;	$-\underline{CH}=C$: 4,68 (t, 1H, J7)	;
OCH_2O : 4,08 (dd, 2H)			

9-Metoksineodunol (33b) 192

Ontwikkel violet met ferrichloried/perchloorsuur

Wit naalde (uit benseen)

R_F : 0,54 (benseen : heksaan : etielasetaat 5:5:2 v/v)

Spt. : 156 - 158° (lit. ¹⁹²spt. 158,9°)

M^+ : 294

PMR-spektrum (Plaat 6) :

$\tau = H1$: 2,27 (s, 1H)	; $H2^-$: 2,44 (d, 1H, J2,5) ;
$H7$: 2,83 (d, 1H, J9)	; $H4$: 2,88 (s, 1H) ;
$H3^-$: 3,26 (d, 1H, J2,5)	; $H10$: 3,52 (d, 1H, J2,5) ;
$H8$: 3,53 (dd, 1H, J9 en 2,5)	; $H11a$: 4,30 (d, 1H, J6,5) ;
$H6$ ekw : 5,70 (m, 1H)	; $H6$ aks : 6,18 (m, 1H) ;
$H6a$: 6,37 (m, 1H)	; OMe : 6,23 (s, 3H)

9-Asetoksineodunol (33c) ¹⁹²

Ontwikkel oranje-bruin met ferrichloried/perchloorsuur

Wit plaatjies (uit benseen)

R_F : 0,46 ($CHCl_3$: eter 97,5 : 2,5 v/v)

Spt.: 134° (lit. ¹⁹¹ spt. 137°)

M^+ : 322

PMR-spektrum (Plaat 7) :

$\tau = H1$: 2,27 (s, 1H)	; $H2^-$: 2,44 (d, 1H, J2,2) ;
$H7$: 2,77 (d, 1H, J9)	; $H4$: 2,89 (s, 1H) ;
$H3^-$: 3,28 (d, 1H, J2,2)	; $H8$: 3,36 (dd, 1H, J9 en 2,5) ;
$H10$: 3,38 (d, 1H, J2,5)	; $H11a$: 4,29 (d, 1H, J6,5) ;
$H6$ ekw : 5,68 (m, 1H)	; $H6$ aks : 6,25 (m, 1H) ;
$H6a$: 6,35 (m, 1H)	; OAc : 7,75 (s, 3H)

Folitenol (29) ³²⁸

Ontwikkel helder pienk met ferrichloried/perchloorsuur

Kleurlose fyn naaldjies (uit benseen/heksaan)

R_F : 0,54 (chloroform : eter 97,5 : 2,5 v/v)

Spt. : 126° (lit. ³²⁸ spt. 128,5 - 129°)

$[\alpha]_D^{21}$: -233° (c 0,04 in CHCl_3)

M^+ : 390

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 3400, 2900, 2950, 1620, 1450, 1050.

PMR-spektrum (Plaat 8) :

$\tau = \text{H1} : 2,74$ (s, 1H)	;	$\text{H7} : 3,07$ (d, 1H, J8)	;
$\text{H4}^- : 3,48$ (d, 1H, J10,5)	;	$\text{H4} : 3,62$ (s, 1H)	;
$\text{H8} : 3,65$ (d, 1H, J8)	;	$\text{OH} : 4,20$ (br.s, OH)	;
$\text{H3}^- : 4,45$ (d, 1H, J10,5)	;	$\text{H11a} : 4,57$ (d, 1H)	;
$-\text{CH}=\text{C} : 4,72$ (t, 1H, J6,5)	;	$\text{H6 ekw} : 5,83$ (m, 1H)	;
$\text{H6 aks} : 6,36$ (m, 1H)	;	$\text{H6a} : 6,55$ (m, 1H)	;
$\text{CH}_2 : 6,70$ (d, 2H, J6,5)	;	$-\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)_2 : 8,25$ (s, 6H)	;
$2'-\text{CH}_3 : 8,62$ en $8,64$ (s, 3H)			

3-Asetoksifolitenol (29a) ³²⁸

Ontwikkel geelbruin met ferrichloried/perchloorsuur

Geel viskose olie

R_F : 0,68 (benseen : etielasetaat 9:1 v/v)

M^+ : 432

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 2950, 2900, 1760, 1620, 1460

PMR-spektrum (Plaat 9) :

$\tau = H1$: 2,60 (s, 1H)	;	$H7$: 3,07 (d, 1H, J8)	;
$H4$: 3,33 (s, 1H)	;	$H4'$: 3,48 (d, 1H, J10,2)	;
$H8$: 3,67 (d, 1H, J8)	;	$H3'$: 4,45 (d, 1H, J10,2)	;
$H11a$: 4,58 (d, 1H)	;	$-\underline{\text{CH}}=\text{C}$: 4,80 (t, 1H)	;
$H6 \text{ ekw}$: 5,82 (m, 1H)	;	$H6 \text{ aks}$: 6,50 (m, 1H)	;
$H6a$: 6,55 (m, 1H)	;	CH_2 : 6,84 (d, 2H)	;
OAc : 7,77 (s, 3H)	;	$-\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$: 8,34 (s, 6H)	;
$2'-\text{CH}_3$: 8,65 en 8,66 (s, 3H)			

NEOBANOL (34) ³²⁹

Ontwikkel geelbruin met ferrichloried/perchloorsuur

Kleurlose naaldjies (uit asetoon)

R_F : 0,29 (heksaan : benseen : etielasetaat 5:4:0,5 v/v)

Spt : 244 - 246°

$[\alpha]_D^{22}$: -246° (c 0,04 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 910, 1040, 1165, 1510, 1605, 3610

UV : λ_{maks} (nm) 225, 280, 290, 320; $\log \epsilon$: 4,24; 4,43; 3,64; 3,88

MS-spektrum (Plaat 82) :

m/e : 324 (M^+ : 42,7%)	;	323 (100)	;
306 (38,4)	;	305 (11,3)	;
188 (11,7)	;	178 (16,9)	;
175 (6,5)	;	170 (4,2)	;

: 162 (12,8)

Akkurate massa : Vereis vir $C_{18}H_{12}O_6$: 324.06328

Gevind : 324.06417

Analise : Vereis vir $C_{18}H_{12}O_6$: %C = 66,67 %H = 3,73

Gevind : %C = 66,59 %H = 3,85

PMR-spektrum (Plaat 10) :

τ (Piridien- d_5) = H1 : 2,17 (s, 1H) ; H2 τ : 2,27 (d, 1H, J2,2) ;
H4 + 7 : 2,79 (br.s, 2H); H3 τ : 3,24 (d, 1H, J2,2) ;
H10 : 3,40 (s, 1H) ; H11a: 4,07 (s, 1H) ;
OCH₂O : 4,10 (s, 2H) ; 6a-OH : 5,00 (br.s, OH) ;
H6 aks + ekw : 5,46 (s, 2H)

Rotenoon (1) ^{21, 22, 53, 58-61, 74}

Ontwikkel heldergeel met ferrichloried/perchloorsuur

Wit plaatjies (uit benseen/heksaan/etielasetaat)

R_F : 0,38 (heksaan : benseen : etielasetaat 5:5:2 v/v)

Spt : 164° (lit. ⁷⁴ spt. 167°)

$[\alpha]^{22^\circ}$: +118° (c 0,55 in CHCl₃)

IR : ν_{maks}^D (cm⁻¹) 1674 (C=O), 1610, 1511, 909

UV : λ_{maks} (nm) 217, 236, 244, 280, 295; log ϵ 4,47; 4,18; 4,11;
4,23; 3,39

M^+ : 394

PMR-spektrum (Plaat 12) :

τ = H11 : 2,18 (d, 1H, J8) ; H1 : 3,24 (s, 1H) ;
 H10 : 3,52 (d, 1H, J8) ; H4 : 3,57 (s, 1H) ;
 H5' : 4,67 (m, 1H) ; =CH₂ : 4,95 (m, 2H) ;
 H6a : 5,03 (s, 1H) ; H6 aks : 5,37 (m, 1H) ;
 H6 ekw : 5,80 (m, 1H) ; OMe : 6,20 en 6,17 (2s, 2x3H) ;
 H12a^{*} : 6,16 - 6,20 (m, 1H) ; H4' : 6,90 (m, 2H)

(^{*}H12a se posisie is moeilik bepaalbaar aangesien die metoksiseine daarmee oorvleuel).

SD in C₂H₅OH (ϵ 0,0396 : 200 - 230 nm; 0,132 : 230 - 400 nm) :

$[\theta]_{200} + 147\,750$, $[\theta]_{210} - 275\,800$, $[\theta]_{240} + 140\,867$,
 $[\theta]_{250} - 22\,155$, $[\theta]_{280} - 178\,717$, $[\theta]_{295} - 104\,867$,
 $[\theta]_{310} - 75\,327$, $[\theta]_{335} - 5\,908$, $[\theta]_{355} + 19\,201$.

Dolineoon (5)²⁴

Ontwikkel donker bloupers met ferrichloried/perchloorsuur

Wit naaldjies (uit metanol)

R_F : 0,11 (benseen : metanol 99.1 v/v)

Spt. : 205° (lit.²⁴ spt. 233 - 235°)

$[\alpha]_D^{24}$: +32 (ϵ 0,0028 in CHCl₃)

IR : ν_{maks} (cm⁻¹) 1685, 1635, 1587, 1545

UV : λ_{maks} (nm) 207, 237, 275, 300, 340; log ϵ 4,10; 4,46; 3,70;
 3,61; 3,39

M⁺ : 336

PMR-spektrum (Plaat 13) :

$\tau = H_{11} : 1,77$ (s, 1H)	;	$H_2 : 2,45$ (d, 1H, J _{2,2})	;
$H_8 : 2,92$ (s, 1H)	;	$H_3 : 3,25$ (d, 1H, J _{2,2})	;
$H_1 : 3,23$ (s, 1H)	;	$H_4 : 3,55$ (s, 1H)	;
$OCH_2O : 4,17$ (dd, 2H)	;	$H_{6a} : 5,10$ (m, 1H)	;
$H_6 \text{ aks} : 5,57$ (m, 1H)	;	$H_6 \text{ ekw} : 5,90$ (m, 1H)	;
$H_{12a} : 6,15$ (m, 1H)			

12a-Hidroksirotenoon (2a) ^{49,88}

Ontwikkel oranjepers met ferrichloried/perchloorsuur

Liggeel olie

$R_F : 0,68$ (chloroform : eter 97, 5 : 2,5 v/v)

$[\alpha]_D^{22} : -145^\circ$ (c 0,172 in $CHCl_3$)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 3255, 1675, 1615, 1515, 910

UV : λ_{maks} (nm) 206, 235, 295; $\log \epsilon$ 4,56; 4,08; 4,08.

$M^+ : 410$

PMR-spektrum (Plaat 14) :

$\tau = H_{11} : 2,10$ (d, 1H, J ₉)	;	$H_1 : 3,33$ (s, 1H)	;
$H_{10} : 3,47$ (d, 1H, J ₉)	;	$H_5 : 4,67$ (m, 1H)	;
$=CH_2 : 4,93$ (d, 2H)	;	$H_{6a} : 5,03$ (s, 1H)	;
$H_6 \text{ aks en ekw} : 5,36$ (br.d, 2H)	;	$OMe : 6,17 \text{ en } 6,27$ (2s, 2x3 H)	;
$H_4 : 6,93$ (m, 2H)	;	$CH_3 : 8,20$ (s, 3H)	;
$\underline{OH} : 5,23$ (s, OH)			

SD in C_2H_5OH (c 0,00505 : 200 - 225 nm; 0,0505 : 225 - 400 nm) :

$[\theta]_{205} - 152\ 360$	,	$[\theta]_{215} - 76\ 180$	,	$[\theta]_{220} - 106\ 652$	,
$[\theta]_{240} + 73\ 104$	,	$[\theta]_{280} - 44\ 167$	,	$[\theta]_{300} + 6\ 092$	,
$[\theta]_{330} - 39\ 598$	,	$[\theta]_{370} 0$			

12a-Hidroksidolineoon (6) ⁴⁹

Ontwikkel persgeel met ferrichloried/perchloorsuur

Wit rhombiese kristalle (uit chloroform/benseen)

R_F : 0,01 (benseen : etielasetaat 98:2 v/v)

Spt.: 194 - 195°

$[\alpha]_D$: +42° (c 0,52 in $CHCl_3$)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1690, 1635, 1595, 1515, 910

UV : λ_{maks} (nm) 202, 235, 276, 302, 335;

$\log \epsilon$ 4,24; 4,46; 3,74; 3,58; 3,42

M^+ : 352

PMR-spektrum (Plaat 16) :

$\tau(CD_3CN) = H11:1,79$ (s, 1H)	;	$H4:3,50$ (s, 1H)	;
$H1:3,45$ (s, 1H)	;	$H8:2,94$ (s, 1H)	;
$H2':2,27$ (d, 1H, J2,5)	;	$H3':3,15$ (d, 1H, J2,5)	;
$OCH_2O:4,15$ (dd, 2H)	;	$OH:5,17$ (m, OH)	;
$H6a:5,30$ (m, 1H)	;	$H6$ aks en ekw : 5,49 (m, 2H)	

SD in C_2H_5OH (c 0,006 : 200 - 255 nm; 0,06 : 255 - 400 nm) :

$[\theta]_{200} + 116\ 160$	,	$[\theta]_{207} - 96\ 800$	,	$[\theta]_{225} + 106\ 480$	,
$[\theta]_{240} + 96\ 800$	,	$[\theta]_{272} + 35\ 816$	,	$[\theta]_{290} + 12\ 584$	,
$[\theta]_{310} + 44\ 528$	,	$[\theta]_{365} + 11\ 616$			

12a-Metoksirotenoon (3) ⁴⁹

Ontwikkel geelpers met ferrichloried/perchloorsuur

Geel olie

R_F : 0,09 (benseen)

$[\alpha]_D^{22}$: -211° (c 0,9 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1690, 1620, 1510, 910

UV : λ_{maks} (nm) 206, 237, 295; $\log \epsilon$ 4,54

4,23; 4,08

M^+ : 424

PMR-spektrum (Plaat 17) :

τ = H11:2,08 (d, 1H, J9)	;	H1:3,17 (s, 1H)	;
H10:3,43 (d, 1H, J9)	;	H4:3,42 (s, 1H)	;
H5': 4,65 (m, 1H)	;	=CH ₂ :4,93 (m, 2H)	;
H6a:5,03 (m, 1H)	;	H6 aks en ekw :5,37 (m, 2H);	
OMe : 6,12 en 6,20 (2s, 2x3H)	;	12a-OMe : 6,43 (s, 3H)	;
H4': 6,93 (m, 2H)	;	CH ₃ : 8,20 (s, 3H)	

SD in CH_3OH (c 0,00583 : 200 - 230 nm; 0,0583 : 230 - 400 nm) :

$[\theta]_{215} - 180\ 000$	,	$[\theta]_{240} + 72\ 000$	,	$[\theta]_{285} - 50\ 400$	,
$[\theta]_{300} - 16\ 800$	,	$[\theta]_{320} + 38\ 400$	,	$[\theta]_{350} + 12\ 000$	

12a-Metoksidolineoon (7) ⁴⁹

Ontwikkel donker blougroen met ferrichloried/perchloorsuur

Geel olie

R_F : 0,38 (benseen : heksaan : etielasetaat 5:5:2 v/v)

$[\alpha]_D^{22}$: $+58^\circ$ (c 0,650 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1680 (C=O), 1520

UV : λ_{maks} (nm) 203, 237, 275, 302;

$\log \epsilon$ 4,60; 4,67; 4,16; 4,02

M^+ : 366

PMR-spektrum (Plaat 18) :

τ = H11:1,75 (s, 1H)	;	H2":2,43 (d, 1H, J2,2)	;
H8:3,00 (s, 1H)	;	H3":3,22 (d, 1H, J2,2)	;
H1: 3,26 (s, 1H)	;	H4 : 3,46 (s, 1H)	;
OCH_2 0:3,94 (dd, 2H)	;	H6a : 5,33 (m, 1H)	;
H6 aks en ekw : 5,46 (m, 2H)	;	12a-OMe : 6,45 (s, 3H)	

SD in CH_3OH (c 0,00413 : 200 - 245 nm; 0,0413 : 245 - 400 nm) :

$[\theta]_{210} - 47 \ 220$	,	$[\theta]_{230} + 110 \ 180$	,	$[\theta]_{245} - 47 \ 220$	,
$[\theta]_{275} + 3 \ 148$	,	$[\theta]_{310} + 42 \ 498$	,	$[\theta]_{365} - 14 \ 166$	

NEOBANOON (4) ³²⁹

Ontwikkel blougroen met ferrichloried/perchloorsuur

Liggeel olie

R_F : 0,15 (benseen : heksaan : etielasetaat 6:4:0,5 v/v)

$[\alpha]_D^{22}$: $+77^\circ$ (c 0,002 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1680, 1630, 1520 en 1475

UV : λ_{maks} (nm) 275; $\log \epsilon$ 4,81

MS-spektrum (Plaat 69) :

m/e : 382 (M^+ ; 21,2%)	;	351 (3,5)	;
323 (1,9)	;	222 (100)	;
221 (76,2)	;	207 (11,6)	;
192 (5,8)	;	191 (10,9)	;
160 (5,8)	;	132 (34,3)	

Akkurate massa : Vereis vir $C_{21}H_{18}O_7$: 382,1042
 Gevind : 382, 1051

Analise : Vereis vir $C_{21}H_{18}O_7$: %C = 65,96 %H = 4,74
 Gevind : %C = 65,88 %H = 4,82

PMR-spektrum (Plaat 19) :

τ = H11:1,76 (s, 1H)	;	H2':2,44 (d, 1H, J2,2)	;
H8:3,00 (s, 1H)	;	H1:3,33 (s, 1H)	;
H3':3,34 (d, 1H, J2,2)	;	H4 : 3,46 (s, 1H)	;
H6a:5,32 (m, 1H)	;	H6 aks en ekw : 5,47 (m, 2H)	;
OMe:6,17 en 6,24(2s,2x3H)	;	12a-OMe : 6,44 (s, 3H)	

SD in CH_3OH (ϵ 0,00177 : 200 - 245 nm; 0,0177 : 245 - 400 nm) (Plaat 67):

$[\theta]_{200} + 34\ 500$	,	$[\theta]_{205} 0$	,	$[\theta]_{235} - 34\ 500$	,
$[\theta]_{250} 0$	,	$[\theta]_{265} + 6\ 320$	,	$[\theta]_{300} + 8\ 050$	,
$[\theta]_{370} 0$	,	$[\theta]_{380} - 2\ 300$			

12a-Hidroksi-isomillettoon (11) ³²⁹

Kleur oranjepers met ferrichloried/perchloorsuur

Kleurlose glas

R_F : 0,28 (benseen : heksaan : etielasetaat 6:5:1 v/v)

$[\alpha]_D^{24}$: $-235,7^\circ$ (c 0,0035 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1675, 1620, 1498

UV : λ_{maks} (nm) 210, 237, 295;

$\log \epsilon$ 4,50; 4,13; 4,18

MS-spektrum (Plaat 74) :

m/e : 394 (M^+ ; 18,2%)	;	376 (17,7)	;
203 (11,1)	;	192 (100)	;
191 (62,3)	;	174 (6,3)	

Akkurate massa : Vereis vir $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_7$: 394, 1047

Gevind : 394, 1051

Analise : Vereis vir $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_7$: %C = 67,00 %H = 4,60

Gevind : %C = 69,95 %H = 4,68

PMR-spektrum (Plaat 35) :

τ = H11:2,12 (d, 1H, J8)	;	H1:3,40 (s, 1H)	;
H10:3,42 (d, 1H, J8)	;	H4:3,50 (s, 1H)	;
OCH_2 :4,12 (br. s, 2H)	;	H5':4,65 (m, 1H)	;
H6a + 6 aks + 6 ekw + 12a OH : 5,43 (br.s, 4H)			;
H4':6,92 (m, 2H)	;	8'- CH_3 :8,22(br.s, 3H)	;
= CH_2 :4,95(m, 2H)			

SD in CH_3OH (c 0016) (Plaat 68) :

$[\theta]_{240}$	0	,	$[\theta]_{250}$	+ 4 851	,	$[\theta]_{254}$	0	,
$[\theta]_{276}$	- 32 340	,	$[\theta]_{300}$	0	,	$[\theta]_{328}$	-118 041,	
$[\theta]_{370}$	0							

Dehidrorotenoen (9) ^{11,49}

Ontwikkel oranjepers met ferrichloried/perchloorsuur

Liggroen naaldjies (uit benseen)

R_F : 0,20 (chloroform : eter 97,5 : 2,5 v/v)

Spt. : 214 - 217° (lit. ¹¹ spt. 218°)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1645, 1615, 1525, 905

UV : λ_{maks} (nm) 202, 237, 277, 307;

$\log \epsilon$ 4,51; 4,42; 4,35; 4,24

M^+ : 392

PMR-spektrum (Plaat 37) :

τ = H1:1,53 (s, 1H)	;	H11:1,90 (d, 1H, J8)	;
H10:3,10 (d, 1H, J8)	;	H4:3,50 (s, 1H)	;
H5':4,80 (d, 1H)	;	H6:4,89 (d, 2H)	;
OMe:6,00 en 6,13 (2s, 2x3H)	;	H4':6,73 (m, 2H)	;
8'-CH ₃ : 8,13 (s, 3H)			

SD in CH₃OH (ϵ 0,00582 : 200 - 250 nm; 0,0582 : 250 - 400 nm) :

$[\theta]_{210} + 45\ 207$, $[\theta]_{232} - 75\ 345$, $[\theta]_{250} + 7\ 530$,
 $[\theta]_{275} - 67\ 770$, $[\theta]_{290} - 36\ 156$, $[\theta]_{300} - 46\ 686$,
 $[\theta]_{320} - 15\ 060$

Dehidrodolineen (8) ⁴⁹

Ontwikkel vaalpers met ferrichloried/perchloorsuur

Geel naaldjies (uit piridien)

R_F : 0,54 (benseen : hekseen : etielasetaat 5:5:2 v/v)

Spt.: 290 - 291° (ontbind)

$[\alpha]_D^{22}$: 0° (c 0,20 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1650 (C=O), 1510, 1495, 935

UV : λ_{maks} (nm) 215, 237, 275, 310;

$\log \epsilon$ 4,12; 4,06; 3,87; 3,83

M^+ : 334

PMR-spektrum (Plaat 38) :

τ = H1:1,68 (s, 1H)	;	H11:1,79 (s, 1H)	;
H2':1,96 (d, 1H, J1,5)	;	H8:2,23 (s, 1H)	;
H3':2,90 (d, 1H, J1,5)	;	H4:3,43 (s, 1H)	;
OCH_2O :4,04 (dd, 2H)	;	H6:4,91(s,2H)	

Rotenonoon (10) 78,329

Ontwikkel swak met ferrichloried/perchloorsuur en formaldehyd/
swaelsuur

Heldergeel naaldjies (uit dichlooretaan)

R_F : 0,49 (benseen : hekseen : etielasetaat 5:5:2 v/v)

Spt. : 295 - 306°

$[\alpha]_D^{24}$: -62° (c 0,0028 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1750(laktoon), 1630(onversadigde C=O), 1610

UV : λ_{maks} (nm) 217, 265, 295;

$\log \epsilon$ 4,48, 4,29, 4,19

MS-spektrum (Plaat 75) :

m/e : 406 (M^+ ; 100%) ; 392 (30,6) ;
 391 (35,3) ; 363 (3,0) ;
 203 (4,1)

Akkurate massa : Bereken vir $C_{23}H_{18}O_7$: 406, 1051
 Gevind : 406, 1062

Analise : Bereken vir $C_{23}H_{18}O_7$: %C = 67,98 %H = 4,47
 Gevind : %C = 68,05 %H = 4,51

PMR-spektrum (Plaat 39) :

τ = H1:1,02 (s, 1H) ; H11:1,85(br.d, 1H, J8) ;
 H10:3,01 (br.d, 1H, J8) ; H4:3,12(s, 1H) ;
 H5':4,55 (br.dd, 1H, J9 en 17); =CH₂:4,83 (br.s, 2H) ;
 H4':5,00 (s, 2H) ; OMe:5,98 en 6,04 (2s, 2x3H) ;
 CH₃:8,17(2,3H)

Neotenoen (39) ²⁴

Ontwikkel geelgroen met ferrichloried/perchloorsuur

Wit rhombiese kristalle (uit metanol)

R_F : 0,47 (benseen : chloroform 1:1 v/v)

Spt. : 181° (lit. spt. ²⁴ 180,5°)

$[\alpha]_D^{21}$: 0° (c 0,20 in CHCl₃)

IR : ν_{maks} (cm⁻¹) 930, 1033, 1182, 1684, 1623, 1582, 1541

UV : λ_{maks} (nm) 235, 275, 300, 335;

log ϵ 4,68, 3,83, 3,87, 3,61

M^+ : 338

PMR-spektrum (Plaat 40) :

τ = H5:1,67(s, 1H)	;	H2":2,35 (d, 1H, J3)	;
H8:2,85 (s, 1H)	;	H3":3,18(d, 1H, J3)	;
H6':3,30 (s, 1H)	;	H3':3,37 (s, 1H)	;
OCH ₂ O:4,02(s, 2H)	;	H2a,2aks en ekw:5,50(m, 3H);	
OMe:6,20(s, 3H)			

Nepseudin (40) ²⁴

Ontwikkel ligpienk met ferrichloried/perchloorsuur

Kleurlose naalde (uit metanol/chloroform)

R_F : 0,28 (benseen : hekseen : etielasetaat 5:4:1 v/v)

Spt. : 114° (lit. ²⁴ spt. 116°)

$[\alpha]_D^{20}$: 0° (c 0,25 in CHCl₃)

IR : ν_{maks} (cm⁻¹) 1686, 1680 (C=O), 1629, 1605, 1580, 1490

UV : λ_{maks} (nm) 235, 257, 272, 335;

log ϵ 4,74, 4,08, 3,94, 3,61

M^+ : 354

PMR-spektrum (Plaat 41) :

τ = H5:1,70(s, 1H)	;	H2":2,40(d, 1H, J2,5)	;
H3":3,25(d, 1H, J2,5)	;	H8:2,89(s, 1H)	;
H5':3,10(d, 1H, J9)	;	H6':3,34(d, 1H, J9)	;
OMe:6,10(s, 9H)	;	H2a, 2aks en ekw:5,57(m, 3H)	

2',7-Dimetoksisophorol (41) ¹⁷⁹

Ontwikkel geelgroen met ferrichloried/perchloorsuur

Kleurlose naalde (uit asetoon)

R_F : 0,32 (benseen : hekseen : etielasetaat 5:6:1 v/v)

Spt. : 134° (lit. ¹⁷⁹ spt. $136 - 138^\circ$)

$[\alpha]_D^{22}$: 0° (c 0,027 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1670, 1575, 1610, 1510

UV : λ_{maks} (nm) 230, 275, 305;

$\log \epsilon$ 4,27; 4,22; 4,04

MS-spektrum (Plaat 76) :

m/e : 328 (M^+ ; 21,7%) ; 178(93,0) ;
165 (7,6) ; 150(100)

Akkurate massa : Bereken vir $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$: 328.095

Gevind : 328.093

Analise : Bereken vir $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$: %C = 65,85 % H = 4,91

Gevind : %C = 65,79 % H = 4,99

PMR-spektrum (Plaat 42) :

τ = H5:2,07(d, 1H, J8) ; H6:3,39(dd, 1H, J2 en 8) ;
H3':3,47 (s, 1H) ; H6':3,44(s, 1H) ;
H8:3,57 (d, 1H, J2) ; OCH_2 :4,10(s, 2H) ;
H2a,2aks en ekw:5,65(m, 3H) ; OMe:6,17 en 6,27(2xs,2x3H)

2'-Hidroksi-2 metoksi-4',5'-metileendioksi-6,7,4'',5''-furanoisoflavanon

(42)

Ontwikkel blougroen met ferrichloried/perchloorsuur

Wit, rhombiese kristalle (uit benseen)

R_F : 0,27 (benseen : hekseen : etielasetaat 6:4:0,5 v/v)

Spt. : 164 - 166°

$[\alpha]_D^{21}$: -77,5° (c 0,0029 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 3250, 1675, 1625, 1510, 1180, 930

UV : λ_{maks} (nm) 235, 275, 300, 335;

$\log \epsilon$ 4,68, 4,57, 4,31, 4,07

MS-spektrum (Plaat 77) :

m/e	:	354 (M^+ ; 34,7%)	;	194 (73,2)
		179 (52,9)	;	177 (54,7)
		161 (45,1)	;	149 (100)

Akkurate massa : Vereis vir $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_7$: 354.074

Gevind : 354.069

Analise : Vereis vir $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_7$: %C = 64.42 %H = 3,98

Gevind : %C = 64,39 %H = 4,05

PMR-spektrum (Plaat 43) :

τ = H5:1,75(s, 1H) ; H2":2,40(d, 1H, J2,2) ;
 H6":2,87(s, 1H) ; H8:2,90(s, 1H) ;
 H3":3,22(d, 1H, J2,2) ; H3': 3,50 (s, 1H) ;
 OCH₂O:4,07(s, 2H) ; H3:5,15(d, 1H, J12) ;
 H2:5,72(d, 1H, J12) ; OH:6,17(br. s, OH) ;
 OMe:6,40(s, 3H)

SD in CH₃OH (c 0,0019) (Plaat 67) :

$[\theta]_{240} \quad 0 \quad , \quad [\theta]_{245} + 52 \ 104 \quad , \quad [\theta]_{255} \quad 0 \quad ,$
 $[\theta]_{274} -34 \ 167 \quad , \quad [\theta]_{284} \quad 0 \quad , \quad [\theta]_{297} + 22 \ 177 \quad ,$
 $[\theta]_{306} \quad 0 \quad , \quad [\theta]_{325} -36 \ 598 \quad , \quad [\theta]_{355} \quad 0$

Dehidroneotenoen (44) 24,147

Ontwikkel geelbruin met ferrichloried/perchloorsuur

Kleurlose naalde (uit etanol/chloroform)

R_F : 0,10 (benseen : asetoon 92:8 v/v)

Spt. : 239° (lit. ²⁴ spt. 240 - 241°)

IR : ν_{maks} (cm⁻¹) 1660, 1630, 1590, 1550, 1505

UV : λ_{maks} (nm) 240, 310 log : 4,77; 4,31

M^+ : 336

PMR-spektrum (Plaat 49) :

τ (Py-d5) = H2:1,77 (s, 1H) ; H2'':2,09(d, 1H, J2,2) ;
 H5:2,30 (s, 1H) ; H8:2,80(br.s, 1H) ;
 H3'':3,09(d, 1H, J2,2) ; H3':3,20(s, 1H) ;
 OCH₂O:4,04(s, 2H) ; OMe: 6,37(s, 3H) ;
 H6':2,87(s, 1H)

Ambanol (43)

Ontwikkel blou met ferrichloried/perchloorsuur, pers met swaelsuur.

Kleurlose naalde (uit hekseen/asetoon)

R_F : 0,33 (benseen : chloroform 1:1 v/v)

Spt. : 213 - 215°

$[\alpha]_D^{24}$: +6° (c 0,0009 in CHCl₃)

IR : ν_{maks} (cm⁻¹) 2995, 1610, 1490, 1380, 930

UV : λ_{maks} (nm) 207, 247, 255, 300;

log ϵ 4,14, 3,75, 3,74, 3,73

MS-spektrum (Plaat 79) :

m/e	:	340 (M ⁺ ; 18,1%)	;	322 (1,4)	;
		307 (1,1)	;	178 (100)	;
		161 (1)	;	132 (19,7)	;
		146 (1)	;	133 (11,2)	;

Akkurate massa : Vereis vir C₁₉H₁₆O₆ : 340.095
 Gevind : 340.093

Analise : Vereis vir C₁₉H₁₆O₆ : %C = 67,06 %H = 4,74
 Gevind : %C = 66,97 %H = 4,82

PMR-spektrum (Plaat 44) :

$\tau = H2'' : 2,48$ (d, 1H, J2,2) ; $H5 : 2,50$ (s, 1H) ;
 $H8 : 2,95$ (s, 1H) ; $H6' : 3,25$ (s, 1H) ;
 $H3'' : 3,32$ (d, 1H, J2,2) ; $H3' : 3,40$ (s, 1H) ;
 $OCH_2 : 4,07$ (s, 2H) ; $H4 : 5,07$ (m, 1H) ;
 $H2aks$, ekw en $3:5,30-6,20$ (m, 3H) ; $OMe : 6,25$ (s, 3H) ;
 $OH : 8,03$ (br.s, OH)

SD in CH_3OH (c 0,008) (Plaat 68) :

$[\theta]_{210} \quad 0$, $[\theta]_{223} +184 \ 140$, $[\theta]_{238} \quad 0$,
 $[\theta]_{243} + 11 \ 900$, $[\theta]_{250} \quad 0$, $[\theta]_{270} + 53 \ 500$,
 $[\theta]_{276} \quad 0$, $[\theta]_{285} - 95 \ 000$, $[\theta]_{290} - 53 \ 500$,
 $[\theta]_{300} - 29 \ 700$, $[\theta]_{325} - 14 \ 850$, $[\theta]_{350} \quad 0$

Pachyrrhizin (37) ^{37,39}

Ontwikkel groen met ferrichloried/perchloorsuur

Geelgroen naalde (uit benseen)

R_F : 0,35 (benseen : chloroform 1:1 v/v)

Spt. : $206 - 208^\circ$ (lit. ³⁷ spt. 209°)

$[\alpha]_D^{25^\circ} = 0^\circ$ ($CHCl_3$)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 936, 1039, 1191

UV : λ_{maks} (nm) 480; $\log \epsilon$ 3,89

M^+ : 336

PMR-spektrum (Plaat 53) :

$\tau = \text{H3}'' : 3,13(\text{d}, 1\text{H}, J_{2,5})$	;	$\text{H2}'' : 2,25(\text{d}, 1\text{H}, J_{2,5})$	;
$\text{H4} : 2,14(\text{s}, 1\text{H})$	;	$\text{H6}' : 2,27(\text{s}, 1\text{H})$	;
$\text{H5} : 2,47(\text{s}, 1\text{H})$	;	$\text{H8} : 3,07(\text{s}, 1\text{H})$	;
$\text{H3}' : 3,34(\text{s}, 1\text{H})$	;	$\text{OMe} : 6,23(\text{s}, 3\text{H})$	;
$\text{OCH}_2\text{O} : 4,00(\text{s}, 2\text{H})$			

Neofolin (38) ³³²

Ontwikkel groen met ferrichloried/perchloorsuur

Geelgroen naaldjies (uit asetoon)

R_F : 0,30 (benseen : chloroform 1:1 v/v)

Spt. : 187° (lit. ³³² spt. $189,5 - 190,5^\circ$)

$[\alpha]_D^{21}$: 0° (c 0,32 in CHCl_3)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1715, 1295, 1195, 1033, 941

UV : λ_{maks} (nm) 245, 298, 352;

$\log \epsilon$ 4,53, 4,28, 4,11

M^+ : 366

PMR-spektrum (Plaat 54) :

$\tau = \text{H4} : 2,24(\text{s}, 1\text{H})$	;	$\text{H2}'' : 2,32(\text{d}, 1\text{H}, J_{2,5})$	;
$\text{H5} : 2,66(\text{s}, 1\text{H})$	;	$\text{H6}' : 3,11(\text{s}, 1\text{H})$	;
$\text{H3}'' : 3,19(\text{d}, 1\text{H}, J_{2,5})$	;	$\text{H3}' : 3,36(\text{s}, 1\text{H})$	;
$\text{OCH}_2\text{O} : 4,01(\text{s}, 2\text{H})$	;	$8\text{-OMe} : 5,67(\text{s}, 3\text{H})$	;
$2'\text{-OMe} : 6,21(\text{s}, 3\text{H})$			

(-)-3',4',7-Trihidroksi-2,3-trans-flavan-3,4-cis-diol (50) [(-)-leukofisetinidien] 330,331,333

Ontwikkel helderrooi met ferrichloried/perchloorsuur

Liggrys naalde (uit water)

R_F : 0,57 (PC, 2% CH_3COOH)

Spt. : 129° (lit. 333 spt. 130°)

$[\alpha]_D^{25}$: $-12,8^\circ$ (α 0,5 in MeOH)

M^+ : 290

PMR-spektrum (Plaat 55) :

τ (DMF) = H5:2,60(d, 1H, J10,5) ; H2'+5'+6':3,00(br.d, 3H) ;

H6:3,44(dd, 1H, J10,5 en 2,2); H2+3+4+5xOH :

5,00-6,40(m, 8H) ; H8:3,67(d, 1H, J2,2)

Antosianidientoets : 334, 335

2mg (-)-3',4',7-Trihidroksi-2,3 *trans*-flavan-3,4-*cis*-diol (50)

is opgelos in isopropanol-3N-soutzuur (4:1 v/v) en vir 45 minute

in 'n drukkuis by 96° verhit. Die ontwikkelde antosianidien is

in hoë konsentrasie op Whatman Nr. 1 papier (6 x 46 sm) aangewend,

en afwaarts ontwikkel in mieresuur-3N-soutzuur (1:1 v/v). Die

kleurstof migreer as 'n enkele pienk band (R_F 0,56; λ_{maks} 525 nm)

en is ooreenstemmend met fisetinidienchloried (flavilium-3,3',4',7-tetraolchloried).

(-)-3',4',7-Trimetoksi-2,3-trans-flavan-3,4-cis-diol (51) ^{330,331,336}

Ontwikkel helderrooi met ferrichloried/perchloorsuur

Wit naalde (uit etanol)

R_F : 0,32 (1,2-dichlooretaan : asetoon 17:3 v/v)

Spt. : 180° (lit. ³³⁶ spt. $178,5^\circ$)

$[\alpha]_D$: 52° (c 0,052 in MeOH)

M^+ : 332

PMR-spektrum (Plaat 56) :

τ (DMF) = H5:2,67(d, 1H, J8,5) ; H5':2,87(d, 1H, J8,5) ;
H6':2,92(dd, 1H, J8,5 en 2); H2':2,99 (d, 1H, J2) ;
H6:3,34(dd, 1H, J8,5 en 2,2); H8:3,52(d, 1H, J2,2) ;
3+4OH:4,50(br.d, OH) ; H2:4,92(d, 1H, J9,5) ;
H4:5,32(d, 1H, J3,4) ; H3:5,94(dd, 1H) ;
3'+4'OMe:6,12(s, 6H) ; 7OMe:6,19(s, 3H)

(-)-3,3',4,4',7-Pentametoksi-2,3-trans-3,4-cis-flavaan (52)

Ontwikkel bruin met ferrichloried/perchloorsuur

Wit naalde (uit dimetielformamied)

R_F : 0,45 (benseen : asetoon 5:2 v/v)

Spt. : 287°

$[\alpha]_D^{22}$: -132° (c 0,005 in $CHCl_3$)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1645, 1500, 1425, 1250, 1145

MS-spektrum (Plaat 83) :

m/e	:	360 (M^+ ; 37,6%)	;	330 (2,9)	;
		328 (32,7)	;	298 (4,1)	;
		194 (100)	;	166 (92,3)	;
		165 (33,7)	;	180 (32,9)	;
		164 (7,1)	;	161 (6,4)	;
		151 (24,7)	;	137 (18,2)	

Akkurate massa : Vereis vir $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$: 360, 1566
 Gevind : 360, 1570

Analise : Vereis vir $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$: %C = 66,65 % H = 6,71
 Gevind : %C = 66,60 % H = 6,80

PMR-spektrum (Plaat 58) :

τ (DMSO) = H5:2,70(d, 1H, J8)	;	H5'+6':2,90(d, 2H)	;
H2':2,95(d, 1H, J2)	;	H6:3,39(dd, 1H, J8 en 2);	
H8:3,54(d, 1H, J2)	;	H4 [*] : 4,72	;
H2 [*] :4,92(d, 1H, J10)	;	H3 [*] : 5,32	;
3'+4'OMe:6,17(s, 6H)	;	7OMe:6,24(s,34)	;
3+4OMe:6,58(s, 6H)			

(^{*} Vanweë die onoplosbaarheid van (52) is die PMR-spektrum in DMSO afgeneem en is die chemiese verskuiwings en koppelings van H2, H3 en H4 nie onderskeibaar nie. Die benaderde τ -waardes is aangedui).

SD in CH_3OH (c 0,008) (Plaat 68) :

$[\theta]_{200} \quad 0 \quad , \quad [\theta]_{210} - 7\,425 \quad , \quad [\theta]_{220} - 44\,550 \quad ,$
 $[\theta]_{232} - 110\,890 \quad , \quad [\theta]_{240} - 44\,550 \quad , \quad [\theta]_{250} - 1\,485 \quad ,$
 $[\theta]_{270} \quad 0 \quad , \quad [\theta]_{280} - 5\,940 \quad . \quad [\theta]_{285} - 8\,910 \quad ,$
 $[\theta]_{290} - 7\,425 \quad , \quad [\theta]_{300} - 2\,970$

Trans-stilbeen (49) ²²¹

Ontwikkel bruin met swaelsuur/formaldehyd

Blink, wit plaatjies uit etanol

R_F : 0,28 (benseen : hekseen : etielasetaat 5:4:1 v/v)

Spt. : 124° (lit. ²²¹ spt. 125°)

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1610, 1505, 1455, 960

M^+ : 180

PMR-spektrum (Plaat 59) :

τ : $\text{Ha}+\beta$: 2,77 (s, 2H) ; $\text{H}2'-6'$ en 2-6 : 2,30-2,70(m, 10H)

6-Hidroksi-2,3-dihidrobensofuraan (53) ³⁴¹

Ontwikkel persrooi met ferrichloried/perchloorsuur

Liggeel olie (lit. ³⁴¹ kp. $128^\circ/2$ mm)

M^+ : 136

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1510, 1470

UV : λ_{maks} (nm) 325, 287, 265;

$\log \epsilon$ 2,94, 3,56, 3,26

Akkurate massa : Bereken vir $C_8H_8O_2$: 136,052

Gevind : 136,051

PMR-spektrum (Plaat 30) :

τ = H4:3,04(d, 1H, J8)	;	H5:3,62(dd, 1H, J8 en 2)	;
H7:3,63(d, 1H, J2)	;	OH:4,00(br.s, OH)	;
OCH ₂ :5,45(t, 2H, J8)	;	-CH ₂ :6,93(t, 2H, J8)	

α -OH, α :5(6-metoksi-2,3-dihidrobensofuraan)-etaan (54)

Ontwikkel persblou met ferrichloried/perchloorsuur

Wit naaldjies uit etanol

Spt. : 142 - 144°

R_F : 0,43 (benseen : hekseen : etielasetaat 5:4:1 v/v)

M^+ : 194

PMR-spektrum (Plaat 60) :

τ = H4:2,84(s, 1H)	;	H7:4,60(s, 1H)	;
CH:4,92(dd, 1H)	;	OCH ₂ :5,44(t, 2H, J8)	;
OMe:6,20(s, 3H)	;	-CH ₂ :6,84(t, 2H, J8)	;
OH:7,34(br.s, OH)	;	CH ₃ :8,55(d, 3H, J6)	

Genistein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied (as hepta-asetaat geïsoleer) (55)

Ontwikkel groen met ferrichloried/perchloorsuur.

Wit, rhombiese kristalle uit metanol

Spt. : 161,6°

R_F : 0,20 (benseen : metanol 99:1 v/v)

UV : λ_{maks} (nm) 312, 270 (in MeOH + NaOMe)
log ϵ 3,38, 4,09

Analise : Vereis vir C₄₀H₄₂O₂₁ : %C = 55,94 ; %H = 4,93

Gevind : %C = 55,89 ; %H = 4,99

PMR-spektrum (Plaat 61) :

τ = 5-OH:-2,79(s, OH) ; H2'+6':2,36(d, 2H, J8) ;
H3'+5':2,79(d, 2H, J8) ; H8:3,36(d, 1H, J2) ;
H6:3,54(d, 1H, J2) ; H2:1,93(s, 1H) ;
4'-OAc:7,65(s, 3H) ; glukose/xilose-protone:4,52-6,48(13H) ;
glukose/xilose-OAc^e:7,93-7,87(6 x OAc)

Daidzein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied (as hepta-asetaat geïsoleer)(56)

Ontwikkel groen met ferrichloried/perchloorsuur

Geel olie

R_F : 0,19 (benseen : metanol 99:1 v/v)

UV : λ_{maks} (nm) 275;
log ϵ 4,11

Analise : Vereis vir C₄₀H₄₂O₂₀ : %C = 57,00; %H = 5,03

Gevind : %C = 56,91; %H = 5,14

PMR-spektrum (Plaat 62) :

τ = H5:1,75(d, 1H, J8,5) ; H2:1,87 (s, 1H) ;
 H2'+6':2,34(d, 1H, J8,5) ; H3'+5':2,80(d, 2H, J8,5) ;
 H8:2,87(d, 1H, J2) ; H6:2,94(dd, 1H, J8,5 en 2) ;
 4'-OAc:7,64(s, 3H) ; glukose/xilose-protone:4,47-6,20(13H) ;
 glukose/xilose-OAc^e:7,84 - 7,92(6 x OAc)

p-Metoksi-asetofenoon (57)

Ontwikkel bruin/pienk met ferrichloried/perchloorsuur

Wit, plaatjies (uit etanol)

R_F : 0,64 (benseen : asetoon 11:1 v/v)

Spt. : 35° (lit. ³⁷⁵ spt. 38 - 39°)

UV : λ_{maks} (nm) 217, 272;

log ϵ 4,07, 4,22

M⁺ : 150

PMR-spektrum (Plaat 66) :

τ = H2+6:2,07(d, 2H, J8) ; H3+5:3,09(d, 2H, J8) ;
 OMe:6,14(s, 3H) ; COCH₃:7,44(s, 3H)

C. Struktuurondersoek en omskakelingsreaksies van nuwe komponente uit die bol van *N. amboensis*

3.13 Struktuurondersoek van ambanol (43)

(a) Omskakeling van neotenoen (39) na ambanol (43)

KBH_4 (250 mg) ^{119,337-340} is opgelos in 70% waterige etanol (50 ml) waarby KOH (50 mg) gevoeg is as stabiliseerder van die KBH_4 . Neotenoen (39) (250 mg) is in suspensie geplaas in tetrahidrofuraan (20 ml) en dit is oor 'n tydperk van ca. 1 uur by die KBH_4 -oplossing gedrup terwyl by 20° geroer is. Die reaksiemengsel is oornag by 20° geroer waarna versadigde NH_4Cl -oplossing stadig bygedrup is (om die oormaat KBH_4 te vernietig). Die mengsel is geëkstraheer met eter, gewas met water en gedroog oor natriumsulfaat. Indamping onder verminderde druk en herkristallisasie uit metanol het 'n wit stof gelewer (spt. 215°) wat 'n mengsel is van die vier optiese isomere, (43a), (43b), (43c) en (43d), van ambanol.

Preparatiewe DLC van hierdie mengsel in benseen : heksaan : etielasetaat 5:4:1 (v/v) (5x) as loopmiddel het twee bande met R_F 0,22 en 0,20 gelewer wat onderskeidelik die twee pare rasemate verteenwoordig.

Die band met hoër mobiliteit het (±)-ambanol A (mengsel van (43a) en (43b)) as wit rhombiese kristalle (spt. 243-244°) gelewer wat volgens PMR-en MS-data in alle opsigte identies is met natuurlike optiese aktiewe ambanol (sien 3.12) terwyl die tweede band 'n kleurlose olie gelewer het wat die enantiomere-paar B [(43c) en (43d)] verteenwoordig.

PMR-spektrum (Plaat 46) :

τ = H5:2,39(s, 1H)	; H2":2,50(d, 1H, J2)	;
H8:3,02(s, 1H)	; H3":3,34(d, 1H, J2)	;
H6':3,37(s, 1H)	; H3':3,47(s, 1H)	;
OCH ₂ O:4,15(s, 2H)	; H4:5,05(br.d, 1H, J7)	;
H2:5,69(dd, 2H, J6 en 11)	; OMe:6,25(s, 3H)	;
H3:6,44(m, 1H, J7 en 11)	; OH:7,67(br.s, <u>OH</u>)	

(b) Asetilering van ambanol (43)

Asetilering van natuurlike ambanol en ($\pm$)-ambanol A het 4-asetoksi-ambanol (149)A as wit plaatjies (spt. 166 - 168°) gelewer.

Ontwikkel bloupers met ferrichloried/perchloorsuur

R_F = 0,29 (benseen : hekseen : etielasetaat 5:4:1 v/v)

$[\alpha]_D = -214^\circ$ (c 0,0032 in CHCl₃)

IR : ν_{maks} (cm⁻¹) 1720, 1605, 1035, 945

UV : λ_{maks} (nm) 355, 305, 255, 225;
log ϵ 4,31, 4,22, 3,83, 4,05

MS-spektrum (Plaat 80):

m/e	:	382 (M ⁺ ; 36,2%)	;	323 (21,1)	;
		322 (65,7)	;	307 (11,0)	;
		321 (9,7)	;	306 (6,2)	;
		178 (100)	;	146 (3,5)	;
		132 (2,9)			

Akkurate massa : Vereis vir C₂₁H₁₈O₇ : 382.1051
Gevind : 382.1049

PMR-spektrum (Plaat 45) :

τ = H5:2,40(s, 1H)	; H2":2,48(d, 1H, J8,5)	;
H8:2,93(br.s, 1H)	; H3":3,33(d, 1H, J2,5)	;
H6':3,38(s, 1H)	; H3':3,43(s, 1H)	;
H4 :3,71(d, 1H, J4)	; OCH ₂ O:4,08(s, 2H)	;
H2aks,2ekw en 3:5,20-6,30(m, 3H); OMe:6,23(s, 3H)		
OAc:8,13(s, 3H)		

Asetilering van ($\pm$)-ambanol B het 4-asetoksi-ambanol (149)B as amorfe wit poeier gelewer.

PMR-spektrum (Plaat 47) :

τ = H5:2,47(s, 1H)	; H2":2,50(d, 1H, J2)	;
H8:2,97(br.s, 1H)	; J3":3,34(d, 1H, J2)	;
H6':3,37(s, 1H)	; H3':3,47(s, 1H)	;
H4:3,74(d, 1H, J4)	; OCH ₂ O:4,17(s, 2H)	;
H2:5,55(br.d, 2H)	; OMe:6,20(s, 3H)	;
H3:6,37(m, 1H)	; OAc:7,94(s, 3H)	

(c) Bereiding van 3',4'-metileendioksi-2'-metoksi-6,7,4'',5''-furano-isoflav-3 een (150)

Ambanol (43) (200 mg) is met metanol (30 ml) en 10% swaelsuur (2 ml) vir 2 uur onder terugvloei verhit. Die mengsel is afgekoel,by water (150 ml) gevoeg en met eter geëkstraheer. Die gekombineerde eter-ekstrakte is gewas met 5% natriumbikarbonaatoplossing, water en gedroog oor watervrye Na₂SO₄.

Skeiding van die reaksieproduk deur preparatiewe DLC in benseen :
 heksaan : etielasetaat 5:5:2 (v/v) as mobiele fase het 3',4'-
 metileendioksi-2'-metoksi-6,7,4'',5''-furano-isoflav-3-een (150)
 (117 mg) as 'n kleurlose olie gelewer (wat geelbruin ontwikkel met
 formaldehyd/swaelsuur).

R_F : 0,52 (benseen : heksaan : etielasetaat 5:4:1 v/v)

MS-spektrum (Plaat 78) :

m/e	:	322 (M^+ ; 100%)	;	307 (12,2)	;
		306 (8,9)	;	146 (11,2)	;
		132 (23,7)	;	190 (10,1)	;
		321 (2,1)			

Akkurate massa : Vereis vir $C_{19}H_{14}O_5$: 322.0840

Gevind : 322.0838

PMR-spektrum (Plaat 48) :

τ = H2'':2,50(d, 1H, J2,5)	;	H5:2,79(s, 1H)	;
H8 :2,97(s, 1H)	;	H4:3,17(s, 1H)	;
H6'en 3'':3,35(m, 2H)	;	H3':3,47(s, 1H)	;
OCH ₂ :0:4,05(s, 2H)	;	H2:4,97(s, 2H)	;
OMe:6,24(s, 3H)			

(d) Omskakeling van neodulin (17) na 3',4'-metileendioksi-2'-
 metoksi-6,7,4'',5''-furano-isoflav-3-een (150)

Neodulin (17) (500 mg) is met etanol (50 ml), gekonsentreerde sout-
 suur (1 ml) en p-tolueensulfoonsuur (100 mg) vir 15 uur onder terug-
 vloei verhit. Die mengsel is afgekoel, by water (100 ml) gevoeg en

met eter geëkstraheer. Die gekombineerde eterekstrakte is gewas met 3% natriumbikarbonaatoplossing, water en gedroog oor watervrye natriumsulfaat waarna die oplosmiddel onder verminderde druk afgedamp is.

Metilering van die verkreë reaksieproduk volgens die standaard metode met dimetielsulfaat het 3',4'-metileendioksi-2'-metoksi-6,7,4'',5''-furano-isoflav-3 een (150) gelewer wat in alle opsigte ooreenstemmend is met die produk wat vanaf ambanol (43) berei is deur wateronttrekking (sien 3.13c).

3.14. Omskakeling van neobanol (34) na neoduleen (35)

By neobanol (34) (18 mg) is 10% swaelsuur in etanol (ca. 20 ml) gevoeg en vir 2 uur onder terugvloei verhit waarna die reaksiemengsel op soortgelyke wyse as in 3.13c opgewerk is.

Skeiding van die reaksiemengsel deur preparatiewe DLC met benseen : hekasaan 3:1 (v/v) as ontwikkelingsstelsel het neoduleen (35) (13 mg) as fyn wit naaldjies (uit metanol) gelewer.

R_F : 0,72 (benseen : hekasaan 3:1 v/v)

Spt. : 222° (lit. spt. $^{192} 223^\circ$)

Ontwikkel eers groen en dan geel met ferrichloried/perchloorsuur.

UV : λ_{maks} (nm) 224, 252, 294, 346, 364;
log ϵ 4,30, 4,16, 3,84, 4,28, 4,18

M^+ : 306

PMR-spektrum (Plaat 11) :

τ = H1:2,33(s, 1H)	; H2':2,47(d, 1H, J2,2)	;
H4:2,90(s, 1H)	; H7:2,94(s, 1H)	;
H10:3,23(s, 1H)	; H3':3,30(d, 1H, J2,2)	;
OCH ₂ O:3,98(s, 2H)	; 6-CH ₂ :4,45(s, 2H)	

3.15 Asetilering van 12a-hidroksi-isomillettoon (11)

Asetilering van 12a-hidroksi-isomillettoon (11) met asynsuuranhydried/ piridien het 12a-asetoksi-isomillettoon (151) as ligbruin olie gelewer wat oranjepepers ontwikkel met ferrichloried/perchloorsuur.

R_F : 0,57 (benseen : hekseen : etielasetaat 5:4:1 v/v)

$[\alpha]_D^{24}$: -191,9 (c 0,0028 in CHCl₃)

M^+ : 436

PMR-spektrum (Plaat 36) :

τ = H11:2,09(d, 1H, J8)	; H10:3,44(d, 1H, J8)	;
H4:3,50(s, 1H)	; H1:3,09(s, 1H)	;
OCH ₂ O:4,09(br.s, 2H)	; H6a:4,51(m, 1H)	;
H6ekw:5,69(m, 1H)	; H5':4,65(m, 1H)	;
H6aks:5,40(m, 1H)	; H4':6,92(m, 2H)	;
=CH ₂ :4,95(br.d, 2H)	; OAc:7,85(s, 3H)	;
8'-Me:8,23(br.s, 3H)		

3.16 Omskakeling van dehidrorotenoen (9) na rotenonoen (10)

Dehidrorotenoen (9) (20 mg) is opgelos in warm asynsuur (5 ml) en afgekoel in 'n vriesmengsel tot -5°. Varsbereide *n*-amielnitriet ⁵²

(0,75 ml) is bygevoeg waarna die mengsel vir 1 uur by 0° geroer is en toegelaat is om kamertemperatuur te bereik. Die reaksiemengsel is met benseen geëkstraheer, gewas met water, gedroog oor watervrye natriumsulfaat en ingedamp onder verminderde druk om na kristallisatie uit dichlooretaan rotenonoon (10) (11 mg) as geel naalde te lewer wat in alle opsigte ooreenstem met die natuurproduk (sien 3.12).

D. Totaalsintese van neobanoon (4)

3.17 6-Hidroksi-2,3-dihidrobensfuraan-3-oon (152) ³⁴¹

Chloroasetielchloried (28 g) is drupsgewys oor 'n tydperk van 90 min by 'n geroerde mengsel van resorsinol (22 g) en aluminiumchloried (33 g) in nitrobenseen (250 ml) gevoeg terwyl die temperatuur tussen 50° en 55° gehou is. Nadat die addisie voltooi is, is die reaksie-mengsel vir 'n verdere 15 min by dieselfde temperatuur geroer, afgekoel, by 'n oormaat verdunde soutsuur en fyn ys gevoeg en oornag laat staan. Die organiese laag is van die waterlaag geskei en met 1N waterige natriumhidroksied geëkstraheer. Die gekombineerde alkali-ekstrakte is aangesuur met gekonsentreerde soutsuur; die gevormde presipitaat affiltreer en met koue water gewas. Die kristallyne produk is opgelos in etanol en met dierkool vir 30 min onder refluxs geplaas. Die dierkool is affiltreer deur 'n kort kolom Celite en die oplosmiddel afgedamp onder verminderde druk. Herkristallisasie (2 x) uit metanol/piridien het 6-hidroksi-2,3-dihidrobensfuraan-3-oon (152) (12,7 g) as geelbruin plaatjies met spt. 245 - 246° (lit. ³⁴¹ spt. 245°) gelewer.

IR : $\overset{\text{KBr}}{\nu}_{\text{maks}} \text{ (cm}^{-1}\text{)} \quad 3150, 1680, 1480$

UV : $\lambda_{\text{maks}} \text{ (nm)} \quad 320, \quad 275;$

$\log \epsilon \quad 3,64, \quad 3,55.$

$M^+ : 150$

PMR-spektrum (Plaat 31) :

τ (piridien) = OH:2,05(br. s, OH) ; H4:3,58(d, 1H, J8) ;
H5:4,42(dd, 1H, J8 en 2); H7:4,48(d, 1H, J2) ;
CH₂:6,55(s, 2H)

3.18 a) 6-Hidroksi-2,3-dihidrobensfuraan (53)

'n Mengsel van hidrasien hidraat (90%, 7 ml) en 6-hidroksi-2,3-dihidrobensfuran-3-oon (152) (10 g) in etanol (50 ml) is onder terugvloei gekook vir 1 uur waarna die oplosmiddel afgedamp is. 'n Oplossing van kaliumhidroksied (10 g) in diëtileen glikol (80 ml) is bygevoeg en die mengsel is vir 90 min. by 190° verhit. Na afkoeling is die reaksiemengsel aangesuur met verdunde soutsuur, geëkstraheer met eter, gewas met water en gekonsentreer tot 'n taai swart stroop wat na KC met hekseen : benseen : etielasetaat 5:5:2 (v/v) as mobiele fase twee produkte gelewer het. Die verbinding met laer mobiliteit, 6-hidroksi-2,3-dihidrobensfuraan (53), is verkry as liggeel olie (4,4 g) (lit. ³⁴¹ kp. 128°/2 mm).

IR : ν_{maks} (cm⁻¹) 1510, 1470
UV : λ_{maks} (nm) 325, 287, 265;
log ϵ 2,94, 3,56, 3,26

Akkurate massa : Bereken vir C₈H₈O₂ : 136,052
Gevind : 136,051

PMR-spektrum (Plaat 30) :

τ = H4:3,04(d, 1H, J8) ; H5:3,62(dd, 1H, J8 en 2);
H7:3,63(d, 1H, J2) ; OH:4,00(br.s, OH) ;
OCH₂:5,45(t, 2H, J8) ; CH₂:6,93(t, 2H, J8)

b) 6-Hidroksibensfuraan (153)

Die verbinding met hoër mobiliteit uit bogenoemde kolom (sien 3.18a), is verkry as liggeel olie (180 mg) wat nie kristallyn verkry kon word nie (lit. ³⁴² spt. 56°).

PMR-spektrum (Plaat 30a) :

τ = H4:2,70(d, 1H, J6) ; H2 en 5:3,17(dd, 2H) ;
H7:3,37(d, 1H, J:6) ; H3:3,70(d, 1H, J2) ;
OH:5,50(br.s, OH)

3.19 5-Asetiel-6-hidroksi-2,3-dihidrobensfuraan (154)

Droë soutsuurgas is vir 4 uur gelei deur 'n mengsel van 6-hidroksi-2,3-dihidrobensfuraan (53) (12 g), droë asetonitriël (7 g), droë eter (80 ml) en varsgesmelte sinkchloried (35 g) wat by 0° gehou is in 'n ysbad. Die reaksiemengsel is vir 'n verdere 20 uur by 0° gehou, ys (100 g) is bygevoeg en die gevormde blou presipitaat is affiltreer, met 'n klein hoeveelheid eter gewas en gehidroliseer op 'n waterbad deur die byvoeging van 2N swaelsuur (100 ml). Die resulterende oplossing is geëkstraheer met benseen, gewas met 'n 3% natriumbikarbonaatoplossing, water, gedroog oor watervrye natriumsulfaat en die oplosmiddel onder verminderde druk ingedamp. Na herkristallisasie uit metanol is 5-asetiel-6-hidroksi-2,3-dihidrobensfuraan (154) verkry as wit naalde (7,2g) met spt. 107 - 108° (lit. ³⁴¹ spt. 107 - 108°).

M⁺ : 178

PMR-spektrum (Plaat 29) :

τ = OH:-3,03(s, OH) ; H4:2,48(br.s, 1H) ;
H7:3,70(s, 1H) ; OCH₂:5,35(t, 2H, J8) ;
CH₃:7,47(s, 3H) ; CH₂:6,87(t, 2H, J8)

3.20 5-Asetiel-6-hidroksibensfuraan (155)

'n Mengsel van dichlorodisianobenskinoon (13 mmol, 3 g) en 5-asetiel-6-hidroksi-2,3-dihydrobensfuraan (154) (11 mmol, 2 g) in droë benseen (30 ml) is vir 3 uur onder terugvloei gekook. Metanol (30 ml) is bygevoeg en die oplosmiddels afgedamp. Die mengsel is op 'n kolom geskei in benseen : hekseen : etielasetaat 5:5:3 (v/v) en het 5-asetiel-6-hidroksibensfuraan (155) (1,5 g) as liggeel kristalle gelever (spt. 94 - 95° (lit. ³⁴¹ spt. 96°)).

IR : ν_{maks} (cm⁻¹) 3080, 1650, 1550

UV : λ_{maks} (nm) 345, 275;

log ϵ 3,70, 3,84

M⁺ : 176

PMR-spektrum (Plaat 28) :

τ = OH:-2,46(s, OH) ; H4:2,13(s, 1H) ;
H2:2,50(d, 1H, J2) ; H7:3,03(s, 1H) ;
H3:3,32(d, 1H, J2) ; CH₃:7,38(s, 3H)

3.21 5-Asetiel-6-metoksimetoksibensfuraan (156) ³⁴³

'n Mengsel van 5-asetiel-6-hidroksibensfuraan (155) (2 g) en kaliumhidroksied (638 mg) in water/metanol (30 ml) is vir 1 uur op 'n waterbad verhit. Die oplosmiddels is afgedamp en die residu oornag by 120° onder vakuum gedroog. 18-Crown-6 (700 mg) is opgelos in

droë asetonitriël en die kaliumsout van (155) bygevoeg. Die oplossing is vir 30 min. geroer, chlorodimetieletter (980 mg) is bygevoeg en die reaksiemengsel is vir 'n verdere uur by kamertemperatuur geroer. Na voltooiing van die reaksie is 7% waterige kaliumhidroksied bygevoeg en die organiese oplosmiddels verwyder. Die waterfase is geëkstraheer met eter, gewas met water, gedroog, gekonsentreer en het 5-asetiel-6-metoksimetoksibensfuraan (156) (1,5 g) as geel olie gelever.

Akkurate massa : Vereis vir $C_{12}H_{12}O_4$: 220.073

Gevind : 220.072

Analise : Vereis vir $C_{12}H_{12}O_4$: %C = 65,44 % H = 5,49

Gevind : %C = 65,31 % H = 5,57

PMR-spektrum (Plaat 27) :

τ = H4:2,03(s, 1H)	; H2:2,38(d, 1H, J2)	;
H7:2,68(s, 1H)	; H3:3,27(d, 1H, J2)	;
OCH_2OCH_3 :4,70(s, 2H)	; OMe:6,47(s, 3H)	;
CH_3 :7,32(s, 3H)		

3.22 Veratrool (156)

Pirokatesjol is met metieljodied gemetileer volgens die standaard metode (sien 3.3d) en het veratrool as geel olie gelever.

M^+ : 138

PMR-spektrum :

τ = H3,4,5 en 6:3,05(br.s, 4H) ; OMe:6,12(s, 6H)

3.23 3,4-Dimetoksinitrobenseen (157) ³⁴⁴

Veratrool (156) (10 g) in klein porsies by 'n afgekoelde oplossing (0°) van salpetersuur (10 ml) en water (10 ml) gevoeg. Die oplossing is oornag by kamertemperatuur geroer waarna die presipitaat affiltreer, gewas en uit etanol geherkristalliseer is om 3,4-dimetoksinitrobenseen (157) (9,7 g) as blink geelbruin kristalle te lewer met spt. 98 - 99° (lit. ³⁴⁵ spt. 98°).

M⁺ : 183

PMR-spektrum :

τ = H2:1,98(d, 1H, J2) ; H4:2,17(dd, 1H, J2 en 8) ;
3-OMe:5,97(s, 3H) ; 4-OMe:6,00(s, 3H)

3.24 3,4-Dimetoksi-anilien (158) ³⁴⁶

Natriumsulfied (62 g) en 3,4-dimetoksinitrobenseen (157) (25 g) in water (20 ml) is agtereenvolgens vir 1 uur gekook en vir 1 uur gestoom-distilleer. Die mengsel is afgekoel, met chloroform geëkstraheer en gewas met 3N soutsuur. Die waterfase is alkalies gemaak, geëkstraheer met etielasetaat, ingedamp onder verminderde druk en oorgebring op 'n kolom met benseen : asetoon 8:1,5 (v/v) as mobiele fase. 3,4-Dimetoksi-anilien (158) (8,0 g) is verkry as grys plaatjies met spt. 86 - 87° (lit. ³⁴⁷ spt. 85 - 86°).

M⁺ : 153

PMR-spektrum :

τ = H6:3,29(br. d, 1H, J8) ; H2:3,72(br. s, 1H) ;
 H5:3,80(br. d, 1H, J8) ; OMe:6,24(s, 6H) ;
 NH_2 :6,45(s, 2H)

3.25 3,4-Dimetoksifenol (159) ³⁴⁶

'n Oplossing van 3,4-dimetoksi-anilien (158) (5 g) in water (70 ml) en gekonsentreerde swaeluur (8 ml) is tot -10° afgekoel en gediasotier deur die byvoeging van 16% waterige natriumnitriet (15 ml). Nadat die oplossing vir 2 uur op 'n stoombad verhit is, is dit afgekoel, versadig met ammoniumsulfaat en geëkstraheer met eter. Die gekombineerde eterekstrakte is gewas met water, gedroog oor natriumsulfaat, gekonsentreer en het na KC in benseen : asetoon 9:2 (v/v) 3,4-dimetoksifenol (159) (3,7 g) as kleurlose plaatjies met spt. $45 - 46^\circ$ (lit. ³⁴⁶ spt. 46°) gelewer.

Akkurate massa	:	Bereken vir $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_3$	:	154.063
Gevind	:		:	154.063

PMR-spektrum (Plaat 34) :

τ = H5:3,25(d, 1H, J8,5) ; H6:3,63(dd, 1H, J8,5 en 2) ;
 H2:3,48(d, 1H, J2) ; OH:4,00-5,00(br.s, OH) ;
 OMe:6,22 en 6,25(2s, 2x3H)

3.26 4,5-Dimetoksi-2-hidroksibensaldehyd (160)

Droë soutsuurgas is vir 5 uur deur 'n mengsel van 3,4-dimetoksifenol (159) (4,1 g), waterstofsianied (10 ml), droë eter (100 ml) en sinksianied (7 g) by 0° geborrel. Die reaksiemengsel is vir 'n

verdere 12 uur by -5° gehou, die groen vaste stof is affiltreer, gewas met eter, opgelos in water (100 ml) en op 'n stoombad gehidroli-seer vir 30 min. Ekstraksie met chloroform, verwydering van die oplosmiddel en KC in benseen : heksaan : etielasetaat 5:5:3 (v/v) het 4,5-dimetoksi-2-hidroksibensaldehyd (160) (3,7 g) as fyn, kleurlose naalde, spt. $105 - 106^{\circ}$ (lit. ³⁴⁸ spt. 105°) gelewer.

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 3000, 2860, 1670, 1590

UV : λ_{maks} (nm) 345, 275;

$\log \epsilon$ 3,59, 3,75

M^{+} : 182

PMR-spektrum (Plaat 33) :

$\tau = \text{OH}:-1,43(\text{br. s, OH})$; $\text{CHO}:0,03(\text{s, 1H})$;

$\text{H}_6:3,07(\text{s, 1H})$; $3\text{H}:3,53(\text{s, 1H})$;

$\text{OMe}:6,07 \text{ en } 6,13(2\text{s, } 2 \times 3\text{H})$

3.27 4,5-Dimetoksi-2-metoksimetoksibensaldehyd (161) ³⁴³

Deur die eksperimentele prosedure vir metoksimetilering soos in 3.21 te gebruik, is 4,5-dimetoksi-2-metoksimetoksibensaldehyd (161) in 84% opbrengs as geel naalde (uit benseen) (spt. $54 - 55^{\circ}$) vanaf 4,5-dimetoksi-2-hidroksibensaldehyd (160) verkry.

Akkurate massa : Vereis vir $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$: 226.084

Gevind : 226.085

Analise : Vereis vir $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$: %C = 58,40 %H = 6,23

Gevind : %C = 58,31 %H = 6,32

PMR-spektrum (Plaat 32) :

$\tau = \underline{\text{CHO}}:-0,35(\text{s}, 1\text{H})$; $\text{H6}:2,72(\text{s}, 1\text{H})$;
 $\text{H3}:3,22(\text{s}, 1\text{H})$; $\text{OCH}_2\text{OCH}_3:4,73(\text{s}, 2\text{H})$;
 $\text{OMe}:6,07 \text{ en } 6,15(2\text{s}, 2 \times 3\text{H})$; $\text{OCH}_2\text{OCH}_3:6,47(\text{s}, 3\text{H})$

3.28 2,2'-Dimetoksimetoksi-4,5-dimetoksi-4',5',4'',5''-furanochalkoon
(162)

'n Mengsel van 5-asetiel-6-metoksimetoksibensfuraan (156) (500 mg) in etanol (10 ml) en 70% (g/v) waterige kaliumhidroksied (10 ml) is vir 15 min by kamertemperatuur geroer. 4,5-Dimetoksi-2-metoksimetoksibensaldehid (161) (513 mg) in etanol (10 ml) is bygevoeg en die reaksiemengsel is vir 2 uur geroer. Verwydering van die oplosmiddel onder verminderde druk en herkristallisasie uit metanol het 2,2'-dimetoksimetoksi-4,5-dimetoksi-4',5',4'',5''-furanochalkoon (162) (800 mg) as fyn, geel naaldjies, spt. $119 - 121^{\circ}$, gelever.

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1660, 1630, 1610, 1580, 1520, 1480,
1295

UV : λ_{maks} (nm) 370, 303, 270;
 $\log \epsilon$ 3,92, 3,77, 3,91

Akkurate massa : Vereis vir $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_8$: 428.147
Gevind : 428.148

Analise : Vereis vir $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_8$: %C = 64,47 %H = 5,64
Gevind : %C = 64,32 %H = 5,71

MS-spektrum:

m/e	:	428 (M^+ ; 32,6%)	;	367(44,9)	;
		351 (34,7)	;	323 (20,7)	;
		322 (27,8)	;	223 (5,2)	;
		205 (100)	;	192 (28,8)	;
		191 (34,5)	;	177 (15,8)	;
		161 (41,7)			

PMR-spektrum (Plaat 26) :

$\tau = H\alpha$:1,98(d, 1H, J_{vis} 15)	;	$H6'$:2,18(s, 1H)	;
$H2''$:2,38(d, 1H, $J2$)	;	$H8$:2,73(d, 1H, J_{vis} 15)	;
$H3'$:2,65(s, 1H)	;	$H6$:2,87(s, 1H)	;
$H3$:3,23(s, 1H)	;	$H3''$:3,25(d, 1H, $J2$)	;
$2'-OCH_2OCH_3$:4,70(s, 2H)	;	$2-OCH_2OCH_3$:4,82(s, 2H)	;
OMe:6,10 en 6,13(2s, 2x3H)	;	$2'-OCH_2OCH_3$:6,48 (s, 3H);	
$2-OCH_2OCH_3$:6,52(s, 3H)			

3.29 4',5'-Dimetoksi-2'-hidroksi-6,7,4'',5''-furanoisoflavoön (163) ¹⁰⁵

2,2'-Dimetoksimetoksi-4,5-dimetoksi-4',5',4'',5''-furanochalkoon (162) (800 mg) gesuspendeer in droë metanol (100 ml), is met thallium (III) nitraat (1,3 g) vir 1 uur geroer terwyl die oplossing van oranje na feitlik kleurloos verander het ²⁰⁷. Die mengsel is vervolgens met 10% (v/v) soutsuur (10 ml) aangesuur en vir 4 uur by 96° verhit. Ekstraksie met etielasetaat gevolg deur KC in benseen : hekseen : etielasetaat 5:5:3 (v/v) het by kristallisasie uit metanol kleurlose plaatjies (200 mg), spt. 207 - 209° (lit. ¹⁰⁵ spt. 200 - 201°) gelewer.

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1610, 1590, 1520 en 1450
 UV : λ_{maks} (nm) 300, 270;
 $\log \epsilon$ 3,69, 3,84.

Akkurate massa : Bereken vir $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_6$: 338,079
 Gevind : 338,079

MS-spektrum (Plaat 70) :

m/e : 338 (M^+ , 100%) ; 323 (91,5)
 178 (22,8) ; 161 (18,9)

PMR-spektrum (Plaat 25) :

τ = H2:1,47(s, 1H) ; H5:1,83(s, 1H) ;
 H2":2,28(d, 1H, J2) ; H8:2,43(br. s, 1H) ;
 H3":3,12(d, 1H, J2) ; H6':3,30(s, 1H) ;
 H3':3,34(s, 1H) ; 5'-OMe:6,13(s, 3H) ;
 4'-OMe:6,17(s, 3H)

Die aroëlbensfuraan, 3-(2-hidroksi-4,5,4',5'-furobensoëel)-5,6-dimetoksibensfuraan (164), is verkry as byproduk wat by herkrystalisasie uit metanol/benseen geel plaatjies met spt. 159 - 161° gelewer het.

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 3010, 1630, 1610, 1590, 1445, 1320
 UV : λ_{maks} (nm) 345, 330, 312, 300, 283, 270;
 $\log \epsilon$ 3,94, 3,98, 3,68, 3,58, 3,61, 3,43

Analise : Vereis vir $C_{19}H_{14}O_6$: %C = 67,45 %H = 4,17
Gevind : %C = 67,30 %H = 4,23

Akkurate massa :

Vereis vir $C_{19}H_{14}O_6$: 338,079
Gevind : 338,079

PMR-spektrum (Plaat 24) :

τ = H6:2,09(s, 1H) ; H2':2,42(d, 1H, J2) ;
H3':3,22(d, 1H, J2) ; H2 en 4:2,84(s, 2H) ;
H3 en 7:2,94(s, 2H) ; OH:2,84(s, OH) ;
OMe:6,09(s, 6H)

3.30 2-(2'-Hidroksi-4',5'-dimetoksifeniel)-2-vinielbenso

[1,2-b:5,4-b']difuraan-3[2H]-oon (165)

Trimetielsulfoksoniumjodied (180 mg), natriumhidried (20 mg) en droë dimetielsulfoksied is vir 15 min. onder droë stikstof geroer. Na byvoeging van 4',5'-dimetoksi-2'-hidroksi-6,7,4'',5''-furanoiso-flavoon (163) (230 mg) is die mengsel vir 2,5 uur by kamertemperatuur geroer, verdun met water, aangesuur met 3N soutsuur en geëkstraheer met etielasetaat. Die gekombineerde ekstrakte is gewas met 1% waterige natriumbikarbonaat, gedroog oor watervrye natriumsulfaat en gekonsentreer. KC van die reaksiemengsel in benseen : metanol 9:1 (v/v) as mobiele fase het 2-(2'-hidroksi-4',5'-dimetoksifeniel)-2-vinielbenso [1,2-b:5,4-b'] difuraan-3[2H]-oon (165) (150 mg) as liggeel naalde, spt. 134 - 136°, gelewer.

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1690, 1625, 1440
 UV : λ_{maks} (nm) 350, 290, 277;
 $\log \epsilon$ 3,52, 3,80, 3,94

Akkurate massa : Vereis vir $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_6$: 352,095
 Gevind : 352,096

Analise : Vereis vir $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_6$: %C = 68,17 %H = 4,57
 Gevind : %C = 68,02 %H = 4,69

MS-spektrum (Plaat 71) :

m/e : 352 (M^+ ; 100%) ; 337 (21,8) ;
 192 (11,4) ; 191 (30,7) ;
 177 (7,8) ; 161 (46,3) ;
 149 (16,4) ; 133 (11,4)

PMR-spektrum (Plaat 23) :

τ = OH:1,33(br. s, OH) ; H4:2,13(s, 1H) ;
 H6:2,40(d, 1H, J2,2) ; H6':2,72(s, 1H) ;
 H8:2,90(s, 1H) ; H5:3,23(d, 1H, J2,2) ;
 H3':3,43(s, 1H) ; $-\text{CH}=$:3,88(t, 1H, J_{cis} 10,5 en J_{trans} 17);
 $=\text{CH}_2$:5,40 en 5,70(2dd, 2x1H, J_{cis} 10,5, J_{trans} 17 en J_{gem} 1);
 OMe:6,20(s, 6H)

3.31 Erosone (166)

2-(2-Hidroksi-4,5-dimetoksifeniel)-2-vinielbenso[1,2-b:5,4-b']
 difuran-3[2H]-oon (165) (80 mg) is oornag by 100° in droë piridien
 (3 ml) in 'n geseëlde glasbuis verhit. Verwydering van die oplosmiddel.
 KC in chloroform : eter 97:3 (v/v) en herkristallisasie uit chloroform

het liggeel kristalle (53 mg), spt. 214 - 216°, (lit. ³⁹ spt. 218°)
gelewer.

IR	: ν_{maks} (sm^{-1})	1685,	1635,	1525,	1475
UV	: λ_{maks} (nm)	340,	276,	305;	
	$\log \epsilon$	3,41,	3,85,	3,51	

Akkurate massa : Vereis vir $C_{20}H_{16}O_6$: 352,095
Gevind : 352,096

PMR-spektrum (Plaat 22) :

τ = H11:1,78(s, 1H) ; H2':2,45(d, 1H, J2) ;
 H8:2,95(s, 1H) ; H1:3,23(s, 1H) ;
 H3':3,28(d, 1H, J2) ; H4:3,53(s, 1H) ;
 H6a:4,95(m, 1H) ; H6 aks:5,34(d, 1H, J13) ;
 H6ekw:5,83(dd, 1H, J13) ; H12a:6,10(d, 1H, J_{6a,12a}⁵) ;
 OMe:6,22 en 6,27(2s, 2x3H)

3.32 12a-Hidroksi-erosone (167)

By erosone (166) (25 mg) in etanol (50 ml) is 10% natriumhidroksied-oplossing (1 ml) gevoeg. Suurstof is vir 12 uur deur die oplossing geborrel terwyl magneties geroer is. Die reaksiemengsel is aangesuur met verdunde soutsuur en geëkstraheer met etielasetaat. Die gekombineerde ekstrakte is agtereenvolgens gewas met natriumbikarbonaatoplossing, water en gedroog oor natriumsulfaat. Verwydering van die oplosmiddel gevolg deur KC in chloroform: eter 97:3 (v/v) het 12a-hidroksi-erosone (167) (20 mg) as geel naaldjies uit chloroform/eter, spt. 185 - 187⁰, gelewer.

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 3508, 3200, 1692, 1630, 1595, 1515, 910
 UV : λ_{maks} (nm) 277, 306, 330;
 $\log \epsilon$ 3,82, 3,56, 3,42

Akkurate massa : Vereis vir $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_7$: 368,099
 Gevind : 368,010

Analise : Vereis vir $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_7$: %C = 65,21 %H = 4,37
 Gevind : %C = 65,11 %H = 4,52

MS-spektrum (Plaat 72) :

m/e	:	368 (M^+ : 29,7%)	;	350 (1,9)	;
		208 (100)	;	207 (22,7)	;
		193 (15,3)	;	165 (5,3)	;
		161 (26,5)	;	160 (15,4)	;
		132 (5,2)			

PMR-spektrum (Plaat 21) :

τ = H11:1,87(s, 1H)	;	H2':2,52(d, 1H, J2)	;
H8:3,05(s, 1H)	;	H3':3,34(d, 1H, J2)	;
H1:3,52(s, 1H)	;	H4:3,57(s, 1H)	;
12a-OH:5,67(br.s, OH)	;	H6aks, 6 ekw en 6a:5,50(m, 3H)	;
OMe:6,28 en 6,38(2s, 2x3H)			

3.33 12a-Asetoksi-erosone (168)

Asetilering van 12a-hidroksi-erosone (167) (20 mg) met asynsuuranhidried in piridien (2 ml) het 12a-asetoksi-erosone (168) (19 mg) as liggeel olie gelewer.

Akkurate massa : Vereis vir $C_{22}H_{18}O_8$: 410.100
 Gevind : 410.101

Analise : Vereis vir $C_{22}H_{18}O_8$: %C = 64,38 %H = 4,42
 Gevind : %C = 64,22 %H = 4,53

MS-spektrum (Plaat 73) :

m/e	:	410 (M^+ : 36,9)	;	351 (20,2)	;
		350 (57,8)	;	349 (8,9)	;
		321 (8,5)	;	250 (100)	;
		208 (92,8)	;	207 (27,3)	;
		193 (7,7)	;	192 (15,3)	;
		190 (6,4)	;	161 (4,2)	;
		160 (5,8)			

PMR-spektrum (Plaat 20) :

τ = H11:1,77(s, 1H)	;	H2':2,47(br.d, 1H, J _{2,2});
H8:2,98(s, 1H)	;	H1:3,12(s, 1H)
H3':3,25(d, 1H, J _{2,2})	;	H4:3,50(s, 1H)
H6a:4,53(m, 1H)	;	H6aks:5,38(dd, 1H, J _{aks,ekw} ¹³)
H6ekw:5,67(dd, 1H, J _{aks,ekw} ¹³); OMe:6,20 en 6,25(2s, 2x3H)	;	
OAc:7,87(s, 3H)		

3.34 Neobanoon (4)

Metilering van 12a-hidroksi-erosone (167) (10 mg) met metieljodied en kaliumkarbonaat in droë asetoon het neobanoon (4) (7 mg) as liggeel olie gelewer wat volgens PMR- en MS-spektra identities is met die geïsoleerde natuurprodukt (sien 3.12).

E. Totaalsintese van ambanol (43)

3.35 2-Hidroksi-4,5-metileendioksibensaldehyd (169)

Droë soutsuurgas is vir 4 uur deur 'n mengsel van 3,4-metileendioksifenol (10 g), waterstofsianied (14 ml), droë eter (200 ml) en sinksianied (12 g) by 0° geborrel. Nadat die reaksiemengsel vir 'n verdere 12 uur by -5° gehou was, is die groen vaste stof affiltreer, gewas met eter, opgelos in water (150 ml) en op 'n stoombad vir 30 min. gehidroliseer. Stoomdistillasie vir 5 uur het 2-hidroksi-4,5-metileendioksibensaldehyd (169) (7,7 g) gelewer wat as wit naalde uit eter gekristalliseer het, spt. 125 - 126° (lit. ³⁷⁶ spt. 125 - 126°).

M⁺ : 166

PMR-spektrum (Plaat 52) :

τ = OH:-1,18(s, OH)	; CHO:0,32(s, 1H)	;
H6:3,15(s, 1H)	; H3:3,54(s, 1H)	;
OCH ₂ O:3,97(s, 2H)		

3.36 2-Metoksi-4,5-metileendioksibensaldehyd (170)

Metilering van 2-hidroksi-4,5-metileendioksibensaldehyd (169) (2 g) met dimetielsulfaat het 2-metoksi-4,5-metileendioksibensaldehyd (170) (1,8 g) as fyn naalde uit metanol/heksaan, spt. 113 - 114° (lit. ³⁷⁶ 111,5 - 112°) gelewer.

M⁺ : 180

PMR-spektrum (Plaat 51) :

τ = CHO:-1,03(s, 1H) ; H6:3,10(s, 1H) ;
H3:3,44(s, 1H) ; OCH₂O:3,97(s, 2H) ;
OMe:6,10(s, 3H)

3.37 2-Metoksi-2'-metoksimetoksi-4,5-metileendioksi-4',5',4'',5''-furanochalkoon (171)

'n Mengsel van 5-asetiel-6-metoksimetoksibensfuraan (156) (1 g) (sien 3.18 - 3.20) in etanol (15 ml) en 70% (g/v) waterige kaliumhidroksied (10 ml) is vir 15 min. by kamertemperatuur geroer. 2-Metoksi-4,5-metileendioksibensaldehid (170) (820 mg) in etanol (10 ml) is bygevoeg waarna die reaksiemengsel vir 18 uur geroer is. Verwydering van die oplosmiddel onder verminderde druk, KC in benseen: hekseen : etielasetaat 5:5:3 (v/v) en herkristallisasie uit metanol het 2-metoksi-2'-metoksimetoksi-4,5-metileendioksi-4',5',4'',5''-furanochalkoon (171) (1,1 g) as heldergeel naalde, spt. 119 - 121° gelewer.

IR : ν_{maks} (cm⁻¹) 1665, 1630, 1605, 1580, 1515,
1470, 1285

UV : λ_{maks} (nm) 370, 305, 275;
log ϵ 4,21, 4,11, 4,19

Akkurate massa : Vereis vir C₂₁H₁₈O₇ : 382,1051
Gevind : 382,1048

Analise : Vereis vir C₂₁H₁₈O₇ : %C = 65,96 %H = 4,74
Gevind : %C = 65,89 %H = 4,79

MS-spektrum (Plaat 81) :

m/e	:	382 (M^+ : 23,4%) ;	352 (100) ;
		351 (16,5)	; 337 (65,8) ;
		338 (19,7)	; 321 (9,5) ;
		307 (11,6)	; 205 (11,7) ;
		177 (10,4)	; 161 (66,9) ;
		147 (12,6)	; 133 (18,7)

PMR-spektrum (Plaat 50) :

$\tau = H\alpha$:2,00(d, 1H, J15)		; H6':2,20(s, 1H)		;
H2'':2,42(d, 1H, J2,2)		; H3':2,64(s, 1H)		;
H β :2,79(d, 1H, J15)		; H6:2,94(s, 1H)		;
H3'':3,27(d, 1H, J2,2)		; H3:3,52(s, 1H)		;
OCH ₂ O:4,07(s, 2H)		; OCH ₂ OCH ₃ :4,74(s, 2H)		;
OMe:6,25(s, 3H)		; OCH ₂ OCH ₃ :6,50(s, 3H)		

3.38 2'-Metoksi-4',5'-metileendioksi-6,7,4'',5''-furanoisoflavoon
(dehidroneotenoen) (44)

2-Metoksi-2'-metoksimetoksi-4,5-metileendioksi-4',5',4'',5''-furano-chalkoon (171) (670 mg) gesuspendeer in droë metanol (100 ml), is met tallium (III) nitraat (1,1 g) vir 18 uur geroer ²⁰⁷. Die reaksie-mengsel is vervolgens opgewerk soos in 3.29 om na KC in chloroform : eter 97:3 (v/v) dehidroneotenoen (44) (380 mg) te lewer, spt. 236 - 238° (lit. ²⁴ spt. 240 - 241°). Die fisiese data van hierdie sintetiese produk, is ooreenstemmend met dié van die natuurproduk (sien 3.12).

3.39 Ambanol (43)

Reduksie van dehidroneotenoen (44) met natriumboorhidried by 60°C
op soortgelyke wyse as in 3.13a het 'n mengsel van die optiese isomere,
(43a), (43b), (43c) en (43d) van ambanol gelewer (sien 3.13).

F. Pogings tot die totaalsintese van ambonaan (32)

3.40 2-Hidroksi-3,4-dimetoksibensaldehyd (172)

Herhaling van die Gattermanreaksie (sien 3.25) op 2,3-dimetoksifenol (10 g) het 2-hidroksi-3,4-dimetoksibensaldehyd (172) (7,7 g) as roomkleurige naalde na KC in benseen : heksaan : etielasetaat 5:5:3, spt. 71 - 72° gelewer.

M⁺ : 182

PMR-spektrum (Plaat 63) :

τ = OH:-1,12(s, OH) ; CHO:0,24(s, 1H) ;
H6:2,70(d, 1H, J9) ; H5:3,40(d, 1H, J9) ;
OMe:6,09 en 6,14(2s, 2x3H)

3.41 2-Metoksimetoksi-3,4-dimetoksibensaldehyd (173)

Deur die eksperimentele prosedure vir metoksimetilering soos in 3.21 te gebruik, is 2-metoksimetoksi-3,4-dimetoksibensaldehyd (173) in 78% opbrengs as wit plaatjies (spt. 48 - 50°) vanaf 2-hidroksi-3,4-dimetoksibensaldehyd (172) verkry.

Akkurate massa : Vereis vir C₁₁H₁₄O₅ : 226,084
Gevind : 226,083

Analise : Vereis vir C₁₁H₁₄O₅ : %C = 58,40 %H = 6,23
Gevind : %C = 58,24 %H = 6,29

PMR-spektrum (Plaat 64) :

τ = CHO:-0,96(s, 1H) ; H6:2,33(d, 1H, J8,5) ;
 H5:3,20(d, 1H, J8,5) ; OCH_2OCH_3 :4,70(s, 2H) ;
 OMe:6,05 en 6,13(2s, 2x3H) ; OCH_2OCH_3 :6,41(s, 3H)

3.42 2,2'-Dimetoksimetoksi-3,4-dimetoksi-4',5',4'',5''-furanochalkoon
(174)

Kondensasie tussen 5-asetiel-6-metoksimetoksibensfuraan (156) (1,14 g)
 (sien 3.17 - 3.21) en 2-metoksimetoksi-3,4-dimetoksibensaldehyd (173)
 (1,17 g) volgens die metode by 3.28 het 2,2'-dimetoksimetoksi-3,4-
 dimetoksi-4',5',4'',5''-furanochalkoon (174) (1,41 g) as geel plaatjies
 na KC in chloroform : eter 97:3 (v/v) spt. 182 - 184°, gelewer.

IR : ν_{maks} (cm^{-1}) 1665, 1625, 1605, 1580, 1520,
 1480, 1290

UV : λ_{maks} (nm) 372, 305, 270;
 $\log \epsilon$ 3,97, 3,81, 4,01

Akkurate massa : Vereis vir $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_8$: 428,147
 Gevind : 428,146

Analise : Vereis vir $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_8$: %C = 64,47 %H = 5,64
 Gevind : %C = 64,35 %H = 5,75

MS-spektrum :

m/e : 428 (M^+ : 2,3%) ; 383 (18,6) ;
 367 (24,8) ; 351 (35,9) ;
 323 (12,5) ; 322 (21,2) ;
 223 (3,5) ; 205 (100) ;

192 (21,2)	;	191 (25,1)	;
177 (10,2)	;	161 (40,2)	

PMR-spektrum (Plaat 65) :

$\tau = H\alpha:1,95(d, 1H, J15)$	;	$H6':2,15(s, 1H)$	;
$H2'':2,35(d, 1H, J2,2)$	;	$H6:2,54(d, 1H, J8,5)$	;
$H3':2,57(s, 1H)$	;	$H\beta:2,64(d, 1H, J15)$	;
$H5:3,22(d, 1H, J8,5)$	;	$H3'':3,22(d, 1H, J2,2)$	;
$OCH_2OCH_3:4,70 \text{ en } 4,79(2s, 2 \times 2H); OMe:6,10 \text{ en } 6,14(2s, 2 \times 3H);$			
$OCH_2OCH_3:6,47 \text{ en } 6,54(2s, 2 \times 3H)$			

G. Struktuurondersoek van genistein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied (55)
en daidzein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied (56) uit *N. amboensis*

3.43 Hidrolise van genistein- en daidzein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied-
hepta-asetaat (55a) en (56a)

(55a) en (56a) is vir 4 uur by 96° verhit in 'n mengsel van metanol en NH_4OH . Die mengsel is afgekoel en aangesuur met verdunde HCl . Verwydering van die oplosmiddels het (55) en (56) as geel olie en geel kristalle (spt. $226 - 229^{\circ}$) onderskeidelik gelever.

3.44 Hidrolise van genistein- en daidzein-7-D-xilosiel- β -D-glukosied
(55) en (56). Vorming van trimetielsiliel-derivate van die
suikers.

(55) en (56) is 6 uur by 96° verhit in 'n mengsel van $6\text{N H}_2\text{SO}_4$ en metanol⁴⁴. Die mengsel is geneutraliseer met K_2CO_3 en die oplosmiddels is verwyder.

By die droë suikermengsel (20 mg) is 1,5 ml "Tri-Sil 'Z'" (1,5 mg N-trimetielsilielimidiasool/1 ml piridien, verkry vanaf Pierce Chemical Company) gevoeg en die mengsel is verhit by $60 - 70^{\circ}$ totdat die vaste stof volledig opgelos het (die TMS-derivate het binne 'n paar minute volledig gevorm).

3.45 Gaschromatografiese bepaling van die TMS-derivate van glukose
en xilose

Die TMS-derivate is direk na bereiding onderwerp aan gaschromatografie.

Met behulp van 'n 80/100 Supelcon AW-DMCS kolom by 155° (isotermies), is die suierkomponente na verdunning met heksaan bepaal as β -D-glukose-TMS-eter (T 7.70) en D-xilose-TMS-eter (T 2.07). Die retensietye van standaard β -D-glukose-TMS-en D-xilose-TMS-eter ("Sugar SilTM Kit" verkry vanaf Pierce Chemical Company) is bepaal met dieselfde kolom (T β -D-glukose 7.73 en T_{D-xilose} 2.20) en is in goeie ooreenstemming met dié van die natuurprodukte.

H. Struktuurondersoek en omskakelingsreaksies van 3,4-gesubstitueerde flavane

3.46 Metilering van (-)-3',4',7-trihidroksi-2,3-trans-flavaan-3,4-cis-diol (50)

Metilering van (50) (50 mg) met diasometaan het (-)-3',4',7-trimetoksi-2,3-trans-flavan-3,4-cis-diol (51) ³³⁶ (42 mg) gelewer wat in alle opsigte identies is met die natuurproduk (sien 3.12 en PMR-plaat 56).

3.47 Asetilering van (-)-3',4',7-trimetoksi-2,3-trans-flavaan-3,4-cis-diol (51)

Asetilering van sintetiese en natuurlike (51) met asynsuuranhidried/piridien het 'n amorfe diasetaat ³³⁶ (-)-3',4',7-trimetoksi-2,3-trans-3,4-cis-diasetaat (175) gelewer.

M⁺ : 416

Die PMR-spektrum is afgeneem in CDCl₃ (plaat 57) en lewer saam met literatuurgegewens 'n bevestiging vir die struktuur en relatiewe konfigurasie.

τ = H5:2,72(d, 1H, J8)	; H5':2,90(d, 1H, J8)	;
H6':3,10(dd, 1H, J8 en 2)	; H2':3,00(d, 1H, J2)	;
H6:3,39(dd, 1H, J8 en 2)	; H8:3,47(d, 1H, J2)	;
H4:3,79(d, 1H, J3,3)	; H3:4,47(dd, 1H, J10,5 en 3,3)	;
H2:4,77(d, 1H, J10,3)	; 3'+4'OMe:6,09(s, 6H)	;
7OMe:6,24(s, 3H)	; 4OAc:7,87(s, 3H)	;
3OAc:8,17(s, 3H)		

3.48 Metilering van (-)-3',4',7-trimetoksi-2,3-trans-flavaan-
3,4-cis-diol (51)

Metilering van (51) (80 mg) met behulp van dimetielsulfaat het (-)-3,3',4,4',7-pentametoksi-2,3-trans-3,4-cis-flavaan (50 mg) (52) as wit naalde gelewer wat in alle opsigte identies is met die geïsoleerde metieleter (52) (sien 3.12 en PMR-plaat 58).

PMR-spektrometrie bevestig 'n 2,3-trans-3,4-cis-konfigurasie ($J_{2,3}$ 10,3 Hz; $J_{3,4}$ 3,3 Hz).

I. Relatiewe toksisiteitsbepalings van sommige rotenoïede

3.49 Spektrofotometrie en reaksiekinetika

Die reaksiesnelheidskonstante (k) vir die reduksie van ferrisito-chroom c deur nikotienamiedadeniendinukleotied (NADH) is bepaal deur die verdwyning van ferrisitochroom c by 550 nm te volg in 'n Durrum vloeistop-spektrofotometer wat gekoppel is aan 'n Tetronix ossilloskoop. Hierdie apparaat ('n skematiese voorstelling word gegee in figuur m) word gebruik vir reaksies met 'n halfleeftyd van 5 millisekondes tot twee minute. Die oplossings wat moet reageer, word vinnig vanuit twee aparte silinders, F en G, onder 400 kPa druk in sel I gepeers, waar die reaksie plaasvind. Menging van die reagense vind binne 1 millisekonde in H plaas en die reaksieverloop word onmiddellik op die ossilloskoop N geregistreer. Waardes vir optiese digtheid (A) by verskillende tye is verkry vanaf polaroid foto's van die skerm van N (figuur m).

3.50 Voorbereiding van die Asolectin en sitochroom-c-reduktase

Asolectin ('n kommersiële fosfolipied, verkry van Associated Concentrates, Inc., Woodside, New York) is opgelos in *n*-butanol wat 2 mg kaliumdeoksicholaat per 1 mg asolectin bevat. Hierdie oplossing is gedialiseer vir twee weke teen 200 volumes van 'n oplossing wat 0,01 M tris (hidroksimetiel) aminometaan (tris-HCl), pH8, en 0,001 M EDTA in water bevat en wat daaglik vervang is. Die fosfolipied-suspensie is vir 10 minute teen 40,000 omwentelinge per minuut gesentrifugeer op 'n Beckman Model L3-40 ultrasentrifuge waarna die oordekkende vloeistof

vir 30 min, met 'n Branson Sonic/Sonifier B-12 gedisperseer is.

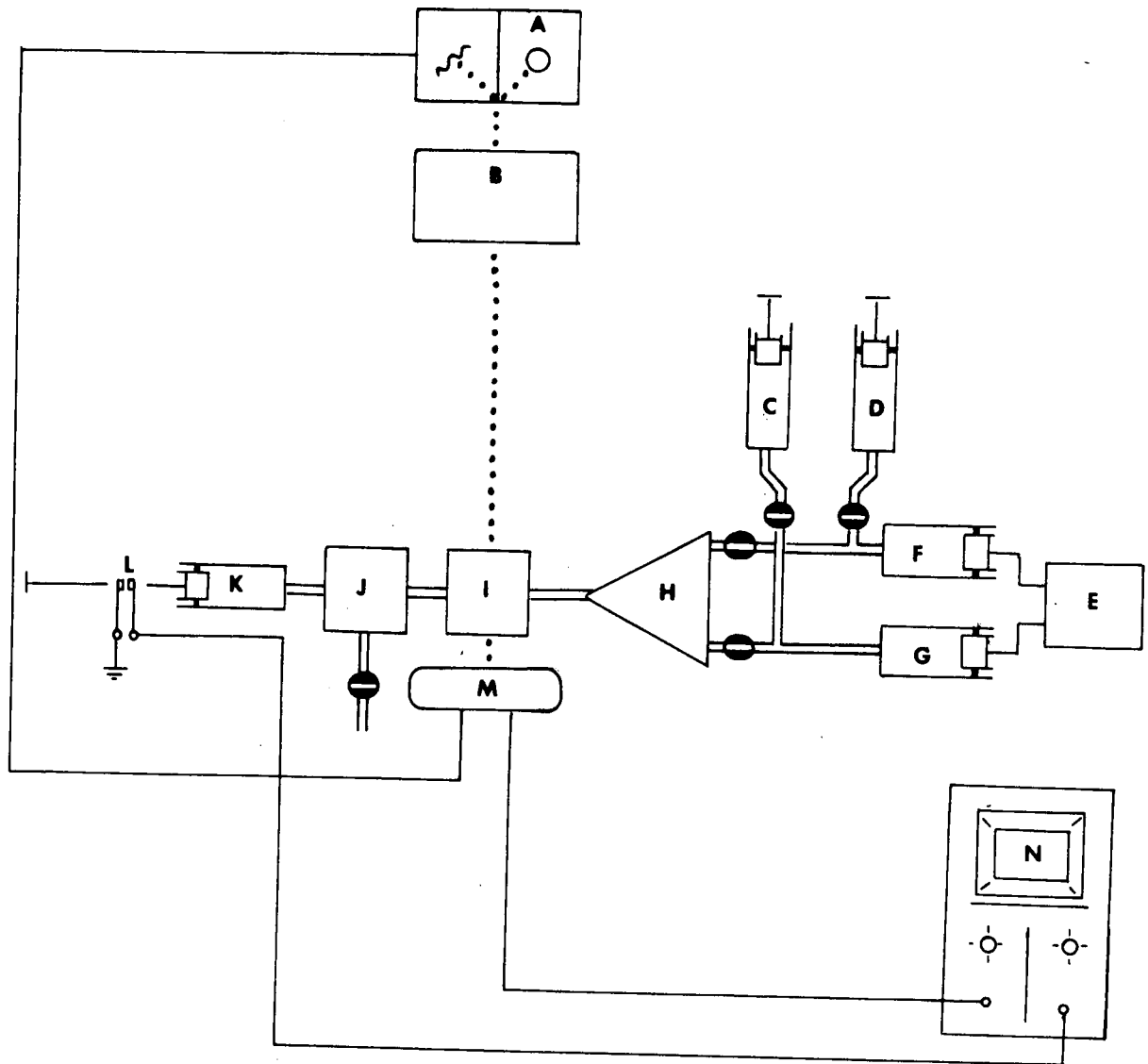
Al die bogenoemde prosedures is uitgevoer in 'n kouekamer by 5°C.

'n Paar minute voor die reaksie begin is, is 1,6 mg ferrisitochroom-c-reduktasie (tipe I, verkry vanaf Sigma) opgelos in 10 ml van 'n waterige oplossing wat 0,05 M tris-HCl, pH8; 0,67 M sukrose en 0,001M histidine bevat.

3.51 Prosedure

'n Mengsel van die volgende oplossings is gemaak : 0,4 ml 1,0 M kaliumfosfaatbuffer, pH8; 0,4 ml 0.1 M natriumasied; 1,2 ml 1% ferrisitochroom c; 0,4 ml asolectin (in 0,001 M EDTA); 0,5 ml 0,01 M NADH; en met gedistilleerde water verdun na 10 ml. Hierdie oplossing en die ensiem is onderskeidelik in silinders F en G van die vloeistop-apparaat geplaas en toegelaat om 38° te bereik. Die reaksie is begin deur 0.25 ml van beide van die oplossings deur te skiet na sel I terwyl dit gevolg is vir 40 sekondes. 'n Grafiek van $\ln \Delta V$ teen tyd het die reaksiesnelheidskonstante (sien 4.16) vir die bepaalde reaksie gegee (figuur o).

Bogenoemde prosedure is herhaal waar verskillende konsentrasies van twaalf rotenoïede (in etanol) by die ensiemoplossing gevoeg is. In 'n tipiese geval is 0,2 ml 5×10^{-4} M rotenoon by 5 ml ferrisitochroom-c-reduktase-oplossing gevoeg en die oplossing vir 15 min by kamertemperatuur geïnkubeer voordat die reaksie begin is.



Figuur m

- A - ligbron
- B - monochromator
- C en D - spuite wat uitgangstowwe bevat
- E - vloeï-inisieerder
- F en G - silinders waaruit reagerende vloeistowwe gepers word
- H - sel waarin vermenging binne 1 millisekonde plaasvind
- I - waarnemingsel
- J - dreineringsstelsel

K	-	stop-silinder
L	-	sneller-skakelaar
M	-	ligstraal-versterker
N	-	ossilloskoop
●	-	klep
...	-	ligbaan
=	-	vloeipad

A. Struktuuropklaring en stereochemie van 12a-gesubstitueerde-
en dehidrorotenoïede uit *N. amboensis* (Schinz). Totaalsintese
van neobanoon

4.1 Die struktuur en chemie van neobanoon (4)

Herhaaldelike kolom- en preparatiewe dunlaagchromatografie op die benseenekstrak van *N. amboensis* het gelei tot die isolasie van neobanoon (4) as 'n liggeel olie. Akkurate massabepaling sowel as verbrandingsanalise het op die molekulêre formule $C_{21}H_{18}O_7$ gedui.

'n Positiewe Durhamtoets 321 het op 'n moontlike rotenoïedskelet gedui waarna gepoog is om die maksimum inligting te verkry deur die aanwending van moderne fisies-chemiese tegnieke terwyl finale struktuurbewys deur middel van sintese verkry is (sien 4.2).

Die UV- en IR-spektra het op die teenwoordigheid van 'n α,β -versadigde karbonielgroep gewys (λ_{maks} 275 nm; $\log \epsilon$ 4,80 en ν_{CO} 1680 cm^{-1}), terwyl die PMR-spektrum (Plaat 19) 'n rotenoïedskelet bevestig het.

Die hoëveld singuletpieke by $\tau 6,17$ (s, 3H) en $\tau 6,24$ (s, 3H) is onderskeidelik aan die twee metoksigroepe op posisies C2 en C3 van die A-ring toegewys. Normaalweg sou verwag word dat hierdie seine opmekaar val, maar as gevolg van asimmetriese skerming, vind ons dat die lyne geskei

is ⁷⁵. Hierdie skeiding van seine kom veral voor by 'n onnatuurlike 12a-spiro-B/C-sisteem waar die chemiese verskuiwing tot 0,23 d.p.m kan wees ⁷⁵.

Die twee aromatiesse protone H1(τ 3,33) en H4(3,46) van ring A resoneer as skerp enkelseine soos verwag. Aangesien die posisie van die H4-sein minder varieer by strukturele veranderinge op C12 en C12a as H1, verskyn eersgenoemde by 'n nagenoeg vaste posisie by die meeste rotonoëde (Tabelle 2 en 3). Die posisie van H1 verskaf sodoende waardevolle inligting in verband met die geometrie van die B/C-ring aansluiting ⁷⁵. In die geval van neobanoon dui H1 se absorpsie dan ook eenduidig op 'n *cis*-B/C-ring aansluiting.

Hierbenewens dui die PMR-spektrum verder op die teenwoordigheid van nog twee aromatiesse protone (τ 1,76 en 3,00) wat as skerp enkelseine resoneer en wat dus 'n lineêre aansluiting van ringe D en E rugsteun. Die E-ring van neobanoon is 'n furaanring wat duidelik deur PMR- en MS-spektroskopie bevestig word. Kenmerkend van die furaanring is die AB-sisteem wat gevorm word deur H2' en H3' wat as twee nou doeblette by τ 2,44 en 3,34 (J2,2) ³³² voorkom. H2' verskyn by laer veld as H3', aangesien ringstromingseffekte veroorsaak dat 'n elektronryk punt op die C2'-posisie geskep word. Die H3'-sein is effens verbreed as gevolg van langafstandkoppeling met H8 ^{350,351}. H8 en H11 verskyn by 'n effens laer veld as normaal (τ 1,76 en 3,00), aangesien ringe D en E 'n bensofuraanringsisteem vorm wat 'n 10 π -aromatiese sisteem is waarin die heteroatoom twee elektrone tot die aromatiesse sisteem bydra ³⁵². Die effek van die suurstofatoom is om die twee koolstofatome naasliggend daaraan relatief elektronryk te maak terwyl die koolstofatome van die benseenring relatief

elektronarm gelaat word ³⁵² en aangesien dit bekend is dat die substituentte van elektronarm koolstofatome by laer veld as normaalweg voorkom ³⁵³, verklaar dit die effens laer veld waarby H8 en H11 resoneer.

Die heterosikliese protone van ringe B en C by die rotenoïede vorm 'n baie komplekse, dog karakteristieke ABCD-sisteem ^{12,354}. Aangesien daar by die meeste rotenoïede oorvleueling van hierdie sisteem met die metoksiseine plaasvind, is dit besonder moeilik om deur middel van analise van die spin-spin-koppelingsisteem enige afleidings in verband met die geometrie van die B/C-ringaansluiting te maak. 'n Faktor wat bydra tot hierdie probleem is dat die seine baie verbreed is en gevolglik bemoeilik dit die bepaling van die koppelingskonstantes.

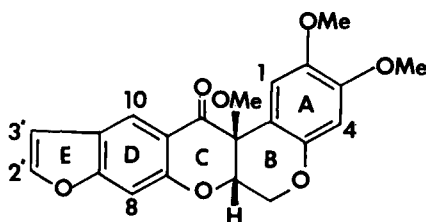
Aangesien hierdie ABCD-patroon met 'n ABC-sisteem (τ 5,03; m, 1H en τ 5,37; m, 2H) vervang was in die PMR-spektrum van neobanoon, was dit voor die handliggend dat die alifatiese metoksigroep (τ 6,44; s, 3H) op die C12a-posisie geplaas kon word. Hierdie toesegging is verder onderskryf deur 'n vergelyking met die PMR-spektra van 12a-metoksirote-noon en 12a-metoksidolineoon (Tabel 3).

Die identifikasie en plasing van die onderskeie substituentte aan die rotenoïedskelet is verkry aan hand van die fragmentasiepatroon (Plaat 69) van neobanoon in die massaspektrometer. Die molekulêre ioon (M^+) by $m/e = 382$ is in ooreenstemming met die voorgestelde formule van $C_{21}H_{18}O_7$ en gee deur 'n R.D.A-splyting van die C12-C12a- en C6a-O7-bindings oorsprong tot brokstukke a ($m/e = 160$) en b ($m/e = 222$) wat as basispiek voorkom. Hierdie bindings word geredelik gebreek; een

is bensilies en ook α tot 'n karbonielgroep ^{83a}, en laasgenoemde is α tot 'n etersuurstof ^{83b}. Fragmente c (m/e = 221) en d (m/e = 207) ontstaan deur H[•] en CH₃[•] verlies vanaf die basispiek respektiewelik, terwyl fragment e (m/e = 132) uit a ontstaan deur CO verlies. Eersgenoemde uitsplitsing van 'n waterstofradikaal is 'n uitsonderlike oorgang en word bevestig deur 'n metastabiele piek by m/e = 221,5.

'n Vergelyking van die PMR-spektra en SD-kurwes van neobanoon (Plate 19 en 67) met ander 12a-gesubstitueerde rotenoïede het 'n *cis*-B/C-ring aansluiting bevestig en gevolglik is die absolute konfigurasie as die normale (+)-[6aS, 12aS] bepaal.

Rasionalisering van die voorafgaande data het gelei tot die volgende struktuurvoorstelling vir neobanoon (4) :



(4)

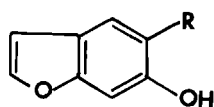
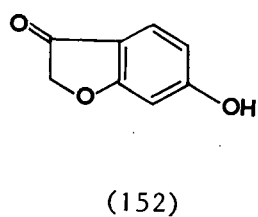
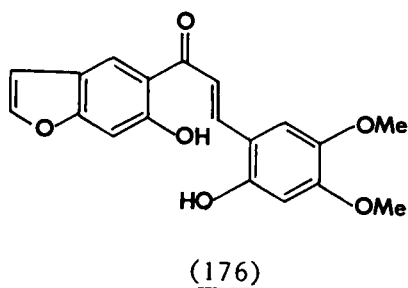
4.2 Die totaalsintese van neobanoon (4)

Die sintese van neobanoon is veral gestimuleer nadat voorlopige toksisiteitstoetse* 'n besonder hoë biologiese aktiwiteit vir hierdie ver-

(* Hierdie toetse is uitgevoer deur Prof. P.H. Hewitt, Departement Entomologie, U.O.V.S.)

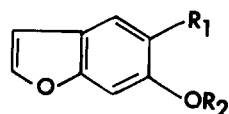
binding aangedui het. Die gesamentlike voorkoms van neobanoon (4) en dehidroneotenoen (44) in *N. amboensis* en Crombie *et al.* 261,262 se bevindings dat [2'-¹⁴C]-metoksi-isoflavone as biogenetiese voorlopers tot [6-¹⁴C]-rotenoïede dien, het daartoe gelei dat die sintese van neobanoon (4) op 'n biogeneties-georiënteerde roete *via* chalkoon en isoflavoon as tussenstappe aangepak is.

Die sintese van chalkoon (176) met 'n bensofuraan A-ring was die eerste oogmerk. 6-Hidrokxi-2,3-dihidrobensofuran-3-oon (152) is deur 'n Friedel Crafts-reaksie met resorsinol en chloroasetielchloried in nitrobenseen berei. Huang-Minlon reduksie op (152) het 'n bevredigende opbrengs 6-hidrokxi-2,3-dihidrobensfuraan (53) (plaat 30; OH : τ4,00, br.s) en spoorhoeveelhede 6-hidroksibensofuraan (153) gelewer, wat 'n 15 - 20% hoër opbrengs was as die alternatiewe metode van katalitiese hidrogenering op dieselfde verbinding. Hoeschkondensasie van (53) het die 5-asetielderivaat (154) (plaat 29; COCH₃ : τ7,47, s) gelewer.



(53) : R = H

(154) : R = COCH₃



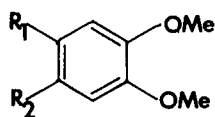
(153) : R₁ = H; R₂ = H

(155) : R₁ = R₁ = COCH₃ ; R₂ = H

DDQ-oksidasie op (154) het 5-asetiel-6-hidroksibensofuraan (155) (plaat 28; $H_2 : \tau 2,50$ en $H_3 : \tau 3,32$, d, J2) gegee wat die A-ring brokstuk verteenwoordig.

Aanvanklike pogings tot sintese van 2-hidroksi-4,5-dimetoksibensaldehyd (160) [B-ring fragment] via 'n aanvanklike Elbs-oksidasie van 2-hidroksi-4-metoksibensaldehyd, het misluk toe die selektiewe metilering van die reaksieproduk ondanks talle pogings nie geslaagd uitgevoer kon word nie. 'n Alternatiewe sintese het die volgende stappe behels :

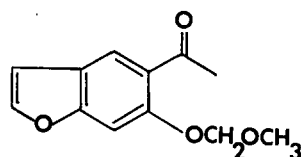
- (a) nitrering van veratrol (156) om 3,4-dimetoksinitrobenseen (157) te gee;
- (b) reduksie met Na_2S na 3,4-dimetoksi-anilien (158) ($NH_2 : \tau 6,45$, s);
- (c) omskakeling deur diasotering na 3,4-dimetoksifenol (159) (plaat 34; $OH : \tau 4,00 - 5,00$), en
- (d) formilering van die fenol deur middel van 'n Gattermanreaksie om 2-hidroksi-4,5-dimetoksibensaldehyd (160) (plaat 33; $CHO : \tau 0,03$, s) in redelike opbrengs te lewer.



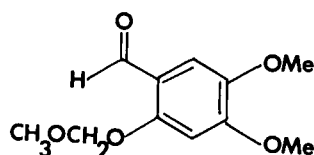
- | | | | | | | | | |
|-------|---|----------------|---|-----------------|---|----------------|---|-----|
| (157) | : | R ₁ | = | NO ₂ | ; | R ₂ | = | H |
| (158) | : | R ₁ | = | NH ₂ | ; | R ₂ | = | H |
| (159) | : | R ₁ | = | OH | ; | R ₂ | = | H |
| (160) | : | R ₁ | = | OH | ; | R ₂ | = | CHO |

Pogings tot die kondensasie tussen brokstukke A (155) en B (160) om chalkoon (176) te vorm, was aanvanklik onsuksesvol. Verskeie werkers het hierdie probleem teengekom en dit is oorbrug deur beskerming van die 2'-hidroksifunksie. As gevolg van die skynbare gemak van vorming en hidrolise van metoksimetoksi-derivate ³⁵⁵⁻³⁵⁷, het hierdie beskermings-tegniek aanloklik voorgekom. Ten spyte van 'n hele aantal verskillende metodes ³⁵⁵⁻³⁵⁷ was die daarstelling van 'n metoksimetoksiderivaat uit brokstuk A onsuksesvol.

Hierdie probleem is suksesvol opgelos deur gebruik te maak van die vermoë van "Crown" eters om alkalimetaal soute op te los in nie-polare oplosmiddels ³⁵⁸. Die gebruik van 18-Crown-6 het verseker dat die opbrengs van die metoksimetoksiderivate besonder goed was (79 - 84%) ³⁴³. Die teenwoordigheid van die metoksimetoksigroepe in beide (156) en (161) blyk duidelik uit die PMR-spektra (plate 27 en 32). By 5-asetiel-6-metoksimetoksibensfuraan (156) resoneer die alifatiese metoksigroep by $\tau 6,47$ (s, 3H) en die OCH_2 verskyn as 'n skerp enkelsein by $\tau 4,70$ (s, 2H). 4,5-Dimetoksi-2-metoksimetoksibensaldehyd (161) toon soortgelyke absorpsies by $\tau 6,47$ (s, 3H) en $\tau 4,73$ (s, 2H).



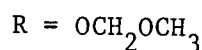
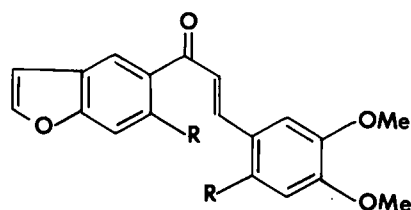
(156)



(161)

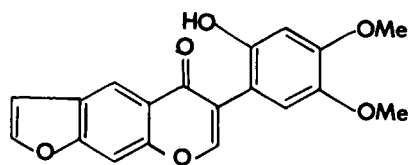
Die Aldolkondensasie tussen (156) en (161) het die chalkoon (162) in 70% opbrengs gelewer wat ten volle onderskryf word deur die PMR-spektrum (plaat 26). Diagnosties van *trans*-chalkone is H_α en H_β wat onderskeidelik by $\tau 1,98$ en $\tau 2,73$ resoneer as doeblette (J_{vis} 15 Hz).

Die massaspektrum van (162) het die struktuur volledig onderskryf met die verwagte basispiek 359,360 by $m/e = 205$, wat vorm deur splyting van die karboniel- α -C-binding.

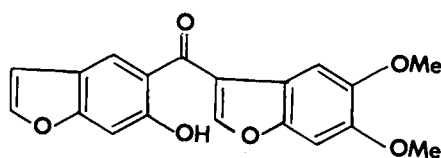


(162)

Oksidatiewe herrangskikking van chalkoon (176) na die isoflavoone (163) met tallium (III) nitraat 207 , het in alle gevalle waar die 2- en 2'-metoksimetoksigroepe verwyder was vóór omskakeling, misluk. In teenstelling hiermee het die omskakeling van (162) 'n mengsel van 'n hele aantal produkte gelewer waarvan die isoflavoone (163) die hoofkomponent was. Die PMR-spektrum met karakteristieke laeveld proton by C2 ($\tau 1,47$, plaat 25) en massaspektrum wat die verwagte R.D.A-fragmentasie na f ($m/e = 161$) en g ($m/e = 178$) (Plaat 70) toon, het die struktuur van (163) bevestig.



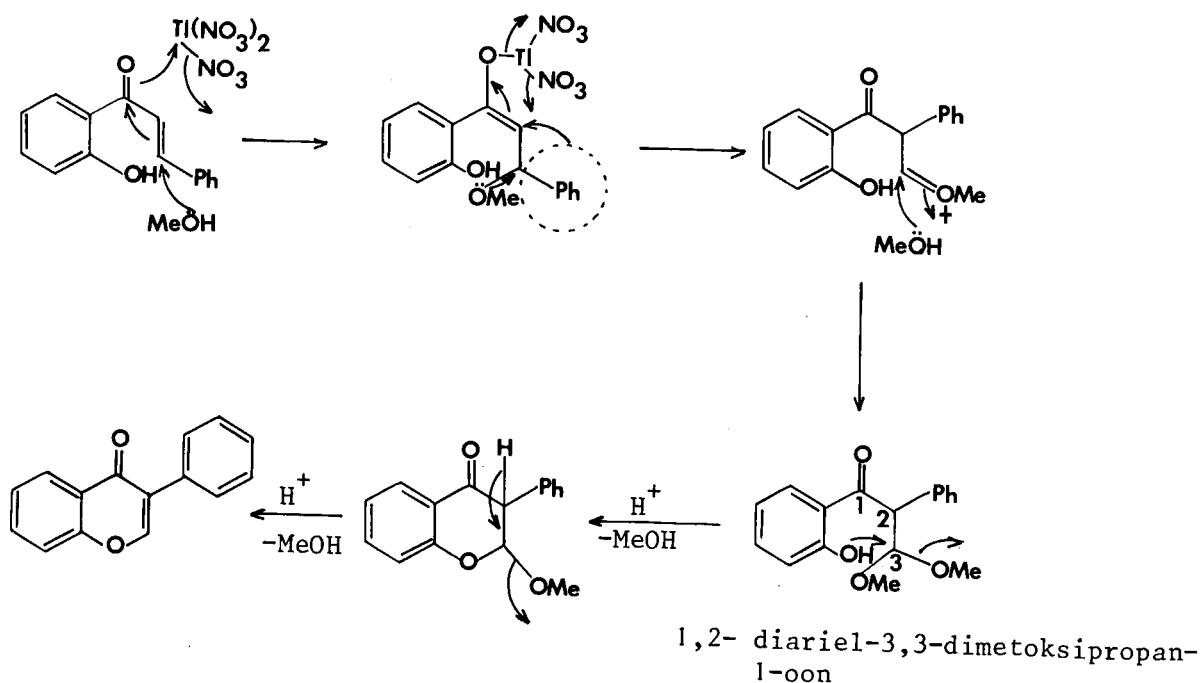
(163)



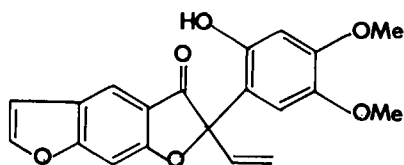
(164)

Die aroïelbensfuraan (164), is as neweproduk geïsoleer waar die H₂ (τ₁,47) absorpsie van die isoflavoon (163) vervang is deur 'n singulet by τ₂,84 in (164) (Plaat 24). Hierdie enkelsein is toegesê aan die 2-proton van die bensfuraan na analogie van die werk gedoen deur Farkas *et al.* 207.

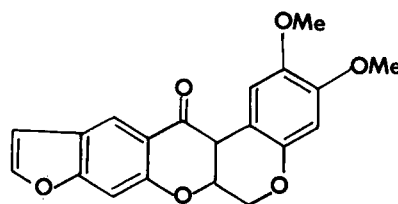
McKillop *et al.* 165 het aangetoon dat die oksidatiewe herrangskikking van α,β-onversadigde ketone *via* 'n asetal-tipe tussenstap ringsluiting in suurmedium ondergaan na die ooreenstemmende isoflavoon. Die meganisme kan moontlik as volg voorgestel word :



Reaksie van dimetielsulfoksoniummetilied met isoflavoön (163) het die nuwe 2-vinielkumaran-3-oon (165) in 83% opbrengs gelewer. Akkurate massabepaling sowel as verbrandingsanalise het die molekulêre formule as $C_{20}H_{16}O_6$ bevestig. Brokstukke h ($m/e = 161$), i ($m/e = 191$), j ($m/e = 192$) en k ($m/e = 337$) in die massaspektrum kon almal gerasionaliseer word vanaf die voorgestelde struktuur (Plaat 71). Die PMR-spektrum (plaat 23) het die struktuur (165) bo alle twyfel gestel. Die furiaanring was identifiseerbaar deur twee nou doeblette by $\tau 3,23$ (H5) en 2,40 (H6) ($J_{2,2}$) terwyl die vier aromatiese protone as enkel-seine by $\tau 3,43$ (H3'), 2,72 (H6'), 2,13 (H4) en 2,90 (H8) voorkom. Die vinielgroep is gekarakteriseer deur 'n doeplet (J_{cis} 10,5 en J_{trans} 17) by $\tau 3,88$ (1H) en twee dubbel doeblette (J_{cis} 10,5, J_{trans} 17 en J_{gem} 1) by $\tau 5,40$ en 5,70 (1H elk) terwyl die oorblywende absorpsies by $\tau 1,33$ (uitruilbaar met D_2O) en $\tau 6,20$ aan die hidroksi-en metoksigrroepe onderskeidelik toegesê is.



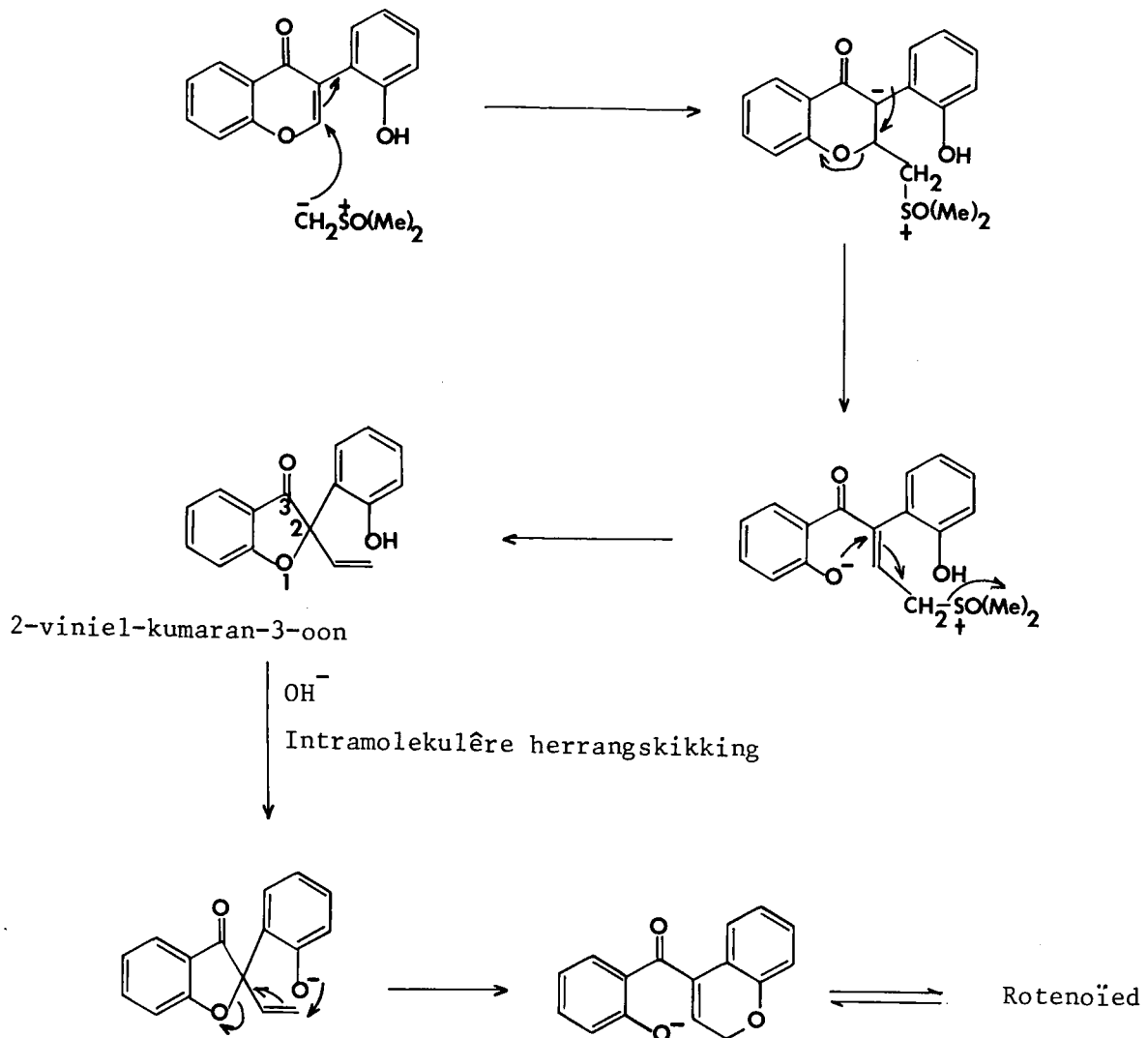
(165)



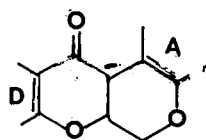
(166)

Verhitting van kumaranoon (165) vir 24 uur by 100° in droë piridien het ($\pm$)-erosone (166) gelewer wat onderskryf is deur PMR- en MS-gegewens (Plaat 22). Die meganisme van hierdie omskakeling is deur Crombie

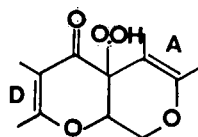
et al. ²⁶¹ as volg gepostuleer :



Lugoksidasie van erosone (166) in alkaliese medium het ($\pm$)-12a-hidroksi-erosone (167) as geel naaldjies gelewer. Hierdie oksidasie geskied waarskynlik *via* die hidroksiperoksiedioon (m) wat gevorm word deur die aanval van molekulêre suurstof op die ioon (1) ⁸⁷.



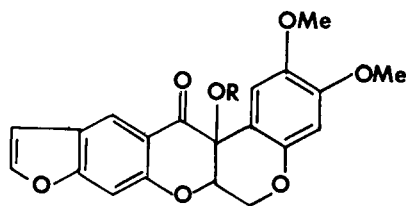
(1)



(m)

Die voorkoms van 'n ABC-sisteem ³⁵⁴ in die PMR-spektrum (plaat 21) van 12a-hidroksi-erosone (167) by τ 5,50 (H6 aks, 6 ekw en 6a, m, 3H) het dié 12a-substitusie bevestig en die fragmentasiepatroon was in ooreenstemming met dié van ander 12a-hidroksirotenoïede (Plaat 72).

Die hidroksigroep is chemies aangetoon deur asetilering met behulp van asynsuuranhidried/piridien om 12a-asetoksi-erosone (168) te lewer, soos geblyk het uit die opwaartse verskuiwing van die M^+ -piek met 42 massa-eenhede op die m/e-skaal (Plaat 73). Die PMR-spektrum van die asetoksiderivaat (168) (plaat 20) toon groot paramagnetiese verskuiwings ($\Delta\tau = .40$ en $.97$) by H1 en H6a wat bevestig dat die asetoksigroep op die 12a-posisie moet wees om vir die skermende effek op H1 verantwoordelik te wees. Die breë singulet van die OH-groep by τ 5,67 (D_2O uitruilbaar) het ook verval en is vervang deur 'n singulet (τ 7,87, 3H).



(167) : R = H

(168) : R = Ac

(4) : R = Me

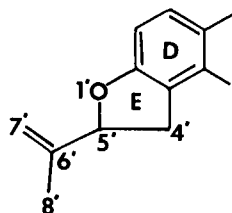
Metilering van die 12a-hidroksifunksie met behulp van metieljodied/
asetoon/kaliumkarbonaat het ($\pm$)-neobanoon (4) gelewer wat volgens
PMR- en MS-spektroskopie in alle opsigte identies met die opties
aktiewe natuurprodukt was. By neobanoon (4) verskyn H1 by heelwat
laer veld (τ 3,33) as by die 12a-hidroksiderivaat (167) (τ 3,52) as
gevolg van die groter skermende effek van die metoksigroep op die
12a-posisie (plate 19 en 21).

Hierdie totaalsintese van neobanoon verteenwoordig die eerste sintese
van 'n 12a-metoksirotenoïed.

4.3 Die struktuur en chemie van 12a-hidroksi-isomillettoon (11)

12a-Hidroksi-isomillettoon (11) ($C_{22}H_{18}O_7$) is geïsoleer as 'n kleurlose glas en gee 'n positiewe Durham toets. Die UV-spektrum (λ_{maks} 210, 237, 295 nm; $\log \epsilon$ 4,50, 4,13, 4,18) en IR-spektrum (ν_{CO} 1675 cm^{-1}) was soortgelyk aan die van ander rotenoïede ³²⁶.

Die PMR-spektrum (plaat 35) het kenmerkende absorpsies van die rotenoonsyketting getoon (Tabelle 2 en 3) (τ 8,22; $C-CH_3$) terwyl die $=CH_2$ -groep as 'n breë doeplet by τ 4,95 resoneer as gevolg van langafstandkoppeling met die C8'-protone van die metielgroep en protone op C4' en C5' asook deur oorvleueling met H6a. Die seine by τ 4,65 (m, 1H) en τ 6,94 (m, 2H) is onderskeidelik toegeken aan H4' en H5' (figuur n).



(n)

Die heterosikliese protone H6a, H6aks en H6ekw vorm 'n ABC-sisteem wat oormekaar val (τ 5,43, br.s, 3H) en dui op 'n 12a-gesubstitueerde rotenoïed. H10 (τ 3,42; d, 1H, J8) en H11 (τ 2,12; d, 1H, J8) op die D-ring vorm 'n AB-sisteem en rugsteun die angulêre aansluiting van ringe D en E. Die karbonielgroep van ring C wat naasliggend tot

H11 lê, veroorsaak 'n aansienlike paramagnetiese verskuiwing terwyl H10 slegs in 'n baie klein mate beïnvloed word. Die chemiese verskuiwing van hierdie sein is meer afhanklik van die aard van die naasliggende suurstoffunksie van ring E, wat diamagneties geskerm word deur 'n dihidrofuraanring of dimetiel-2H-piraanring⁷⁵ en in kleiner mate deur 'n furaanring. Hierdie verskynsel is verenigbaar met die opwekking van ringstroming in laasgenoemde en die skerming van H10 kan beskou word as 'n kompromie tussen die effek van die naasliggende suurstofatoom en die ringstromingseffek.

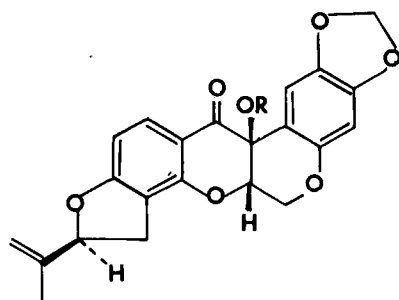
Aangesien die chemiese verskuiwing van 'n metileendioksigrp in feitlik enige tipe van verbinding karakteristiek is^{198, 361-364} naamlik $\tau_{4,00} - 4,10$, is die breë singulet by $\tau_{4,12}$ (2 H) toegeskryf aan die teenwoordigheid van sodanige substituent op C2 en C3 van die A-ring terwyl H1 ($\tau_{3,40}$) en H4 ($\tau_{3,50}$) as enkelseine resoneer.

Die 12a-hidroksigrp ($\tau_{5,43}$, D₂O-uitruilbaar) is chemies aangetoon deur asetilering ($\Delta m = +42$). Die PMR-spektrum van die asetoksiderivaat (151) (Plaat 36), toon die alifatiese asetielmetiel drieprotonsingulet ($\tau_{7,85}$; s, 3H) en die verwagte ontskerming van die 1- en 6a-protone in vergelyking met dié van die hidroksiderivaat (plaat 35).

Die plasing van die onderskeie substituentte aan die rotenoïedskelet is verkry deur die fragmentasiepatroon van 12a-hidroksi-isomillettoon (11) (Plaat 74). Die moederioon (M^+) by $m/e = 394$ is in ooreenstemming met die molekulêre formule en gee oorsprong aan brokstukke 1 ($m/e = 203$) en m ($m/e = 376$). Fragment n ($m/e = 192$) verteenwoordig die basispiek

soos algemeen gevind word by 12a-hidroksirotenoïede met 'n metileen-dioksisubstituent.

Voortspruitend uit die voorafgaande data is die volgende struktuurvoorstelling vir (11) gedoen :



(11) : R = H

(151) : R = Ac

Die PMR-spektrum van 12a-hidroksi-isomillettoon (11) toon 'n *cis*-B/C-ring aansluiting en uit die SD-kurwe (Plaat 68) is die absolute konfigurasie bepaal as (-)-[6aS, 12aS, 5'R]

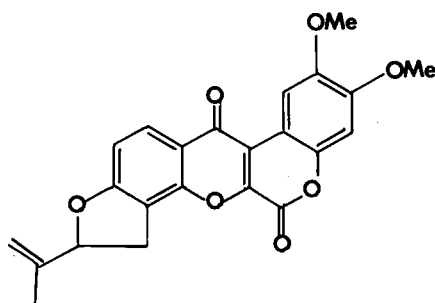
4.5 Die struktuur en chemie van rotenonoon (10)

Sintetiese rotenonoon (10) is lank reeds bekend, maar die natuurprodukt is eers onlangs geïsoleer⁴⁷. Rotenonoon is 'n hoogs onoplosbare stof wat as heldergeel naaldjies uit dichlooretaan kristalliseer. Die IR-spektrum bevestig die teenwoordigheid van twee karbonielgroepe ($\nu_{\text{laktoon C=O}} 1750 \text{ cm}^{-1}$ en $\nu_{\text{onversadigde C=O}} 1630 \text{ cm}^{-1}$).

Die PMR-spektrum (plaat 39) toon dat H1 ($\tau 1,02$) by besonder lae veld resoneer wat in ooreenstemming is met 6a, 12a-dehidrorotenoïede (tabel 3). Die voorkoms van die H10 en H11-doeblette by relatief laer waardes ($\tau 1,85$ en $\tau 3,01$; 2d, 1H elk, $J=8$) vergelyk goed met dehidrorotenonoon (9) terwyl absorpsies van die rotenoonsyketting op die verwagte posisies voorkom.

Die massaspektrum van rotenonoon is tipierend van die gewone dehidrorotenoïede en weerspieël die stabiliteit van die verbinding jeens elektronbombardement deur die verskynsel dat die molekulêre ioon ook die basispiek verteenwoordig (Plaat 75).

Oksidasie van dehidrorotenonoon (9) met *n*-amielnitriet in asynsuur het 'n produk gelewer wat in alle opsigte identies was met die natuurprodukt (10).



(10)

B. Struktuuropklaring en stereochemie van isoflavanone. Isolاسie van die eerste natuurlike isoflavan-4-ol en 2-metoksi-isoflavanon. Totaalsintese van ambanol.

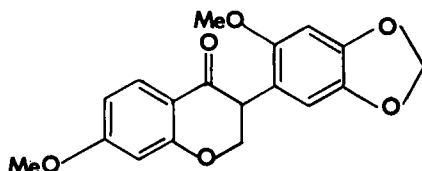
4.6 Die struktuur en chemie van 2',7-dimetoksi-sophorol (41)

2',7-Dimetoksisophorol (41) is as kleurlose naalde (Spt. 134⁰) geïsoleer en alhoewel hierdie verbinding as sintetiese produk bekend is ¹⁷⁹, verteenwoordig hierdie die eerste geval waar dit as natuurproduk verkry is.

Die PMR-spektrum (plaat 42) lewer onteenseglike bewys van 'n isoflavanonstruktuur deur die karakteristieke chemiese verskuiwing van die heterosikliese protone (τ 5,65; ABC-sisteem, m, 3H), terwyl die teenwoordigheid van 'n metileendioksigrup (τ 4,10, s, 2H) en twee metoksi-funksies (τ 6,17 en 6,27, 2s, 3H elk) waargeneem is. Vyf aromatiese protone, waarvan drie 'n ABX-sisteem vorm en twee wat *para*-koppeling vertoon, kon verder onderskei word. Ten einde vir hierdie koppeling-sisteme te verantwoord is 'n metoksigrup op C7 van die C-ring geplaas met die metileendioksigrup en tweede metoksi-funksie op posisies C4', C5' en C2' onderskeidelik van die A-ring. Die H5-doeblet (ontskerm deur die 4-karbonielgrup [bevestig deur 'n C=O-strekkingsvibrasie (1670 cm^{-1}) in die IR-spektrum] verskyn by τ 2,07, d, J8) terwyl H6 (τ 3,39) as doeblet van doeblette resoneer (J2 en 8) as gevolg van *ortho*- en *meta*-koppeling met H5 en H8 (τ 3,57, d, 1H, J2).

Die massaspektrometriese fragmentasiepatroon (Plaat 76) onderskryf die voorgestelde struktuur (41) ($\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$, M^+ 328 - 25%). Fragmentasie

van die O-C2- en C3-C4-bindings vind plaas volgens 'n R.D.A-tipe splyting en gee oorsprong aan fragmente o ($m/e = 150$; die basispiek) en p ($m/e = 178$).



(41)

Die optiese onaktiwiteit van hierdie verbinding is 'n algemene verskynsel by al die bekende natuurlike isoflavanone en kan moontlik toegeskryf word aan keto-enol-toutomerie ¹⁸⁰.

4.7 Die struktuur en chemie van 2'-hidroksi-2-metoksi-4',5'-metileendioksi-6,7,4'',5''-furanoisoflavanoon (42)

'n Vreemde struktuurvariasie van 'n natuurlike isoflavanoon, 2'-hidroksi-2-metoksi-4',5'-metileendioksi-6,7,4'',5''-furanoisoflavanoon (42) is in lae konsentrasie aangetref in die bol van *N. amboensis*. Die metaboliet is as 'n kristallyne verbinding uit die benseenekstrak verkry en lewer geredelik 'n monoasetaat (177).

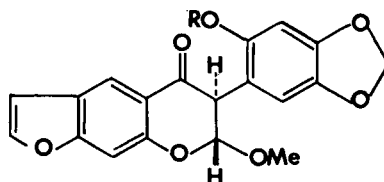
Die PMR-spektrum van die verbinding (42) (plaat 43) toon 'n alifatiese metoksifunksie ($\tau 6,40$; s, 3H), 'n furaanring ($\tau 2,40$ en $3,22$; 2d, 1H

elk, J_{2,2}), 'n metileendioksigröep (τ 4,07; s, 2H), 'n hidroksigröep (τ 6,17; br.s, D₂O uitruilbaar) [bevestig deur 'n OH-strekkingsvibrasie (3250 cm⁻¹) in die IR-spektrum] en vier *para*-gekoppelde protone waarvan een ontskerm is na laer veld deur die karbonielgröep [bevestig deur 'n C=O-strekkingsvibrasie (1675 cm⁻¹)]

Die heterosikliese gebied vertoon uitsluitlik twee doeblette (in plaas van die normale ABC-patroon by isoflavanone) as gevolg van die 2'-metoksifunksie. Die relatiewe 2,3-*trans*-konfigurasie volg vanaf 'n vergelyking van die koppelingskonstant (J_{2,3} 12Hz) tussen H₂ (τ 5,72; d, 1H) en H₃ (τ 5,15; d, 1H, ontskerm deur karbonielgröep). Die spektrum van die 2'-asetiolderivaat (177) toon die asetielmetiel-drieprotonginglet by τ 7,87 (s, 3H).

Massaspektrometrie van (42) (Plaat 77) en die mono-asetaat (152) bevestig die molekulêre massas (C₁₉H₁₄O₇, M⁺ 354 - 34% en C₂₁H₁₆O₈, M⁺ 396 - 32% onderskeidelik) terwyl fragmentasie hoofsaaklik 'n R.D.A-splyting behels wat oorsprong gee aan prominente fragment q (m/e = 161) en fragment r (m/e = 194). Die basispiek (m/e = 149) word gevorm deur agtereenvolgende verlies van CH₃[•] en CH₂O uit laasgenoemde. Veral opmerklik is die hoë intensiteit van brokstuk s (m/e = 323; 87%) wat toe te skryf is aan gemaklike verlies van die labiele 2-OCH₃-gröep.

Die isolasie van (-)-2'-hidroksi-2-metoksi-4',5'-metileendioksi-6,7,4'',5''-furanoisoflavanon verteenwoordig nie alleen die eerste voorbeeld van 'n 2-metoksi-isoflavanon nie, maar is ook die eerste isoflavanon wat optiese aktiwiteit vertoon ($[\alpha]_D^{20}$ - 77,5°; plaat 67).



(42) : R = H

(177) : R = Ac

4.8 Die struktuur en chemie van ambanol (43)

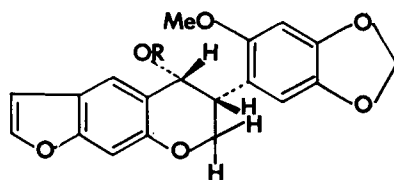
(+)-Ambanol (43) verteenwoordig die eerste isoflavan-4-ol uit natuurlike oorsprong en die struktuurvoorstelling daarvan is gegrond op spektrometriese analyses van die vry fenol en sy asetielderivaat (149) en is gerugsteun deur chemiese omskakelings terwyl 'n sintese die struktuur (43) bo twyfel gestel het.

Die PMR-spektra van ambanol (43) (plaat 44) vertoon 'n metileendioksigrroep, 'n furaanring, 'n metoksigrroep en vier *para*-gekoppelde aromatiese protone. Die teenwoordigheid van 'n bensiliese hidroksifunksie op C4 (τ 8,03; OH, br.s, D₂O uitruilbaar) [bevestig deur 'n OH-strekkingsvibrasie (ν_{OH} 2995 cm⁻¹) in die IR-spektrum] is chemies bevestig deur vorming van 'n monoasetaat (149) (Plaat 45). Die PMR-spektrum toon die verwagte ontskerming van H4 (Δ t 1,36). Verdere bewys is verkry deur die suurgekataliseerde wateronttrekking uit ambanol (43) om die verwagte 3',4'-metileendioksi-2'-metoksi-6,7,4'',5''-furano-isoflav-3-een (150) (Δ m = -18, Plaat 78) te lewer. Die PMR-spektrum van (150) (plaat 48) word gekenmerk deur 'n singulet (τ 4,97; s, 2H) wat in ooreenstemming

is met dié van isoflavene ³⁰.

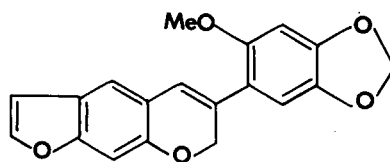
Massaspektrometrie van ambanol (43) (Plaat 79) en sy asetiëlderivaat (149) (Plaat 80) bevestig die molekulêre massas ($C_{19}H_{16}O_6$, M^+ 340 - 18% en $C_{21}H_{18}O_7$, M^+ 382 - 34%) en die toevoeging van slegs een asetiël-groep. Fragmentasie vind plaas *via* 'n aanvanklike R.D.A-splyting om onder andere die basispiek by $m/e = 178$ te gee terwyl die verlies van H_2O uit M^+ lei tot fragment $m/e = 322$.

Die koppelingskonstantes vir die ABXY-sisteem gevorm deur die heterosikliese protone ($J_{2,3}$ 9,5; $J_{3,4}$ 4 Hz) van ambanol (43) en (149) onderskryf 'n 3,4-*cis*-konfigurasie met die heterosikliese ring in 'n vyfpuntkoplanêre konformasie en die dehidrale hoek tussen H3 en H4 *ca.* 40° , wat volgens die Karplusverhouding in ooreenstemming is met die waargenome koppeling. Die A-ring is ekwatoriaal geleë met die 4-hidroksifunksie in 'n kwasi-ekwatoriale posisie sodat die groot waargenome koppeling ($J_{2,3}$ 9,5) toegeskryf is aan die feit dat die dehidrale hoeke van die twee H2-protone met H3 *ca.* 70° en 180° onderskeidelik is ³⁶⁵. Volgens die Karplusverhouding sal laasgenoemde 'n visinale koppeling van 9 - 10 Hz tot gevolg hê terwyl 'n hoek van 70° 'n baie klein koppeling (*ca.* 0,2 Hz) sal veroorsaak.



(43a) : R = H

(149) : R = Ac



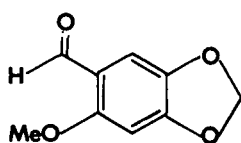
(150)

4.9 Die totaalsintese van ambanol (43)

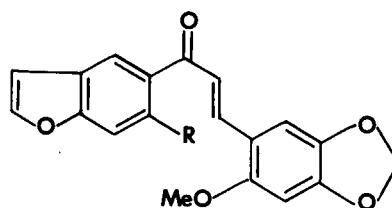
Die finale bewys vir die struktuur van ambanol (43) is deur sintese gelewer.

2-Metoksi-2'-metoksimetoksi-4,5-metileendioksi-4',5',4'',5''-furano-chalkoon (171) is in goeie opbrengs verkry deur kondensasie van 5-asetiel-6-metoksimetoksibensofuraan (156) en 2-metoksi-4,5-metileendioksibensaldehyd (170) (plaat 51) in alkaliese medium. Die PMR-spektrum van (171) (plaat 50) toon H α en H β by τ 2,00 en τ 2,79 onderskeidelik as doeblette (1H elk, J15), terwyl die massaspektrometriese fragmentasiepatroon (Plaat 81) die struktuur onderskryf.

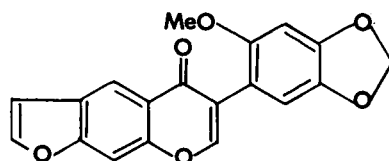
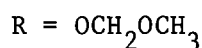
Oksidatiewe herrangskikking van chalkoon (171) met behulp van tallium (III) nitraat ²⁰⁷ in metanol lewer 2'-metoksi-4',5'-metileendioksi-6,7,4'',5''-furanoisoflavoone (44) (dehidroneotenoone) in goeie opbrengs. Die fisiese gegewens van hierdie sintetiese isoflavoone stem in alle opsigte ooreen met dié van die natuurprodukt (sien 3.12).



(170)



(171)



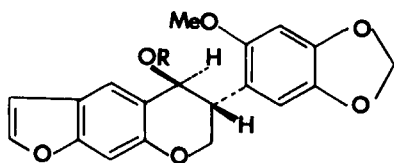
(144)

Natriumboorhidriedreduksie op dehidroneotenoen (44) ³³⁷⁻³⁴⁰ lewer 'n mengsel van vier optiese isomere (43a), (43b), (43c) en (43d), van ambanol wat deur preparatiewe DLC geskei kon word in die twee pare rasemate (43a+b) A en (43c+d) B.

Onderskeiding tussen die 3,4-*cis*-en-*trans*-enantiomere is relatief eenvoudig vanweë die groot verskille in die PMR-spektra van hul asetate (plate 45 en 47). By die 3,4-*trans*-isomere (149c) en (149d) is die heterosikliese ring in 'n vyfpunkkoplanêre konformasie met die dehidrale hoeke tussen H3 en die twee waterstowwe op C2 *ca.* 60° elk sodat 'n baie klein visinale koppeling waargeneem word (in ooreenstemming met die Karplus-verhouding). Hierdie faktor, sowel as die feit dat geminale koppeling tussen die twee C2-waterstowwe ook klein is, veroorsaak dat H2 (τ 5,55, d, J4) as breë doeblat resoneer. Die 3,4-*trans*-karakter word

weerspieël in die koppeling van 4 Hz tussen H3 ($\tau_{6,37}$) en H4 ($\tau_{3,74}$) en is analoog aan die koppelings wat waargeneem word by die diastereoisomeriese flavan-3,4-diole³⁶⁸. Beide die feniel- en hidroksifunksies is in kwasi-ekwatoriale posisies.

Die PMR-spektrum van die *cis*-enantiomere se asetate [(149a) en (149b)] (plaat 45) is identies met dié van die natuurprodukt (sien 4.8), sodat (+)-ambanol (43) dus 'n (+)-3,4-*cis*-isoflavan-4-ol is. (SD-kurwe : Plaat 68).



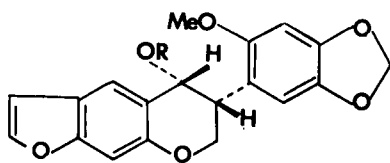
(43c) : R = H

(149c) : R = Ac



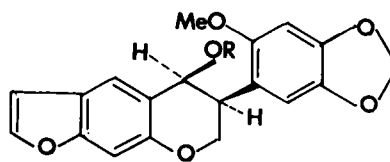
(43d) : R = H

(149d) : R = Ac



(43a) : R = H

(149a) : R = Ac



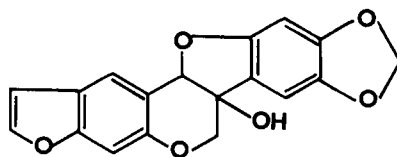
(43b) : R = H

(149b) : R = Ac

C. Struktuuropklaring en stereochemie van 'n 6a-hidroksipterokarpaan.
Pogings tot totaalsintese van ambonaan (32).

4.10 Die struktuur en chemie van neobanol (34)

Verbinding (34) waaraan die triviale naam neobanol toegesê is, het volgens akkurate massabepaling en verbrandingsanalise die molekulêre formule $C_{18}H_{12}O_6$.



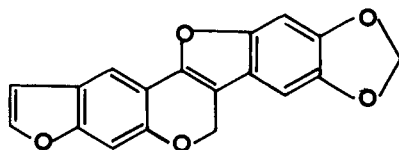
(34)

Die PMR-spektrum (plaat 10) het die teenwoordigheid van 'n furaanring, 'n metileendioksigrp, vier *para*-gekoppelde aromatiese protone en 'n hidroksifunksie ($\tau 5,00$; br. s, OH, D_2O uitruilbaar) aangetoon.

As gevolg van die afwesigheid van die karakteristieke ABC-patroon van pterokarpane¹⁹⁸ is die hidroksigrp op C6a gelokaliseer terwyl H6aks + 6ekw ($\tau 5,46$, s, 2H) en H11a ($\tau 4,07$, s, 1H) as enkelseine resoneer.

Chemiese bevestiging van die tersiêre 6a-hidroksigrp is verkry deur die omskakeling van neobanol (34) na neoduleen (35) soos geblyk het uit

die afwaartse verskuiwing van die M^+ -piek met 18 massaeenhede op die m/e-skaal. Die PMR-spektrum van neoduleen (35) (plaat 11) toon die kenmerkende paramagnetiese verskuiwing ($\Delta\tau_{1,0}$) van die twee protone op C6 na laer veld ($\tau_{4,46}$; s, 2H) wat altyd waargeneem word by omskakeling van 6a-hidroksipterokarpane na pterokarpene ^{214,215}.



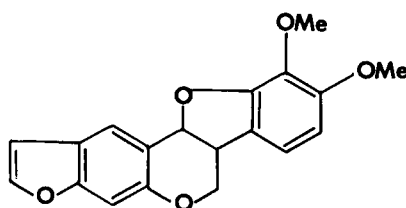
(35)

Die molekulêre massa ($M^+ = 324$) is bevestig deur massaspektrometrie (Plaat 82) en 'n fragmentasiepatroon ooreenstemmend met dié van bekende 6a-hidroksipterokarpane ^{209,210} word vertoon waar H^+ -verlies uit die moederioon oorsprong gee aan die basispiek by m/e = 323. Die fragmentasiepatroon is bevestig deur deuteriumuitruiling in die massaspektrometer.

Vergelyking van die PMR-spektrum en SD-kurwe van neobanol (34) met dié van ander 12a-hidroksipterokarpane toon die normale *cis*-6a, 12a-geometrie en gevolglik is neobanol se absolute konfigurasie bepaal as (-)- [6aR, 12aR].

4.11 Pogings tot totaalsintese van ambonaan (32)

Ambonaan, 'n pterokarpaan met tentatiewe struktuur soos hieronder aangetoon, is geïsoleer uit die hekasaanekstrak van *N. amboensis*. Weens 'n tekort aan voldoende materiaal kon die posisies van die metoksi-funksies op die D-ring slegs met behulp van Ballantine en Pillinger³⁶⁶ se teoretiese chemiese verskuiwings bepaal word en ten einde die struktuur (32) finaal te bevestig is pogings tot die sintese van ambonaan (32) van stapel gestuur.

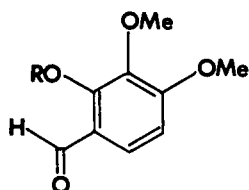


(32)

5-Asetiel-6-metoksimetoksibensfuraan (156) is berei volgens die metode soos reeds beskryf (sien 3.21). 2,3-Dimetoksifenol onderwerp aan 'n Gattermanreaksie het 2-hidroksi-3,4-dimetoksibensaldehyd (172) (plaat 63, τ 0,24 : CHO , s, 1H) gelewer wat omgeskakel is na die ooreenstemmende metoksimetoksiderivaat (173) (plaat 64 : τ 4,70 : OCH_2 , s, 2H en τ 6,41 : OCH_2OCH_3 ; s, 3H).

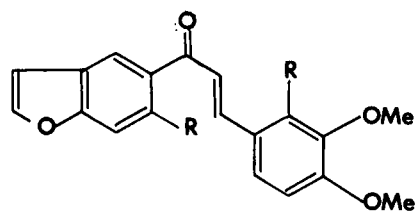
Kondensasie van 5-asetiel-6-metoksimetoksibensfuraan (156) en 2-metoksi-metoksi-3,4-dimetoksibensaldehyd (173) in alkaliese medium het 2,2'-dimetoksimetoksi-3,4-dimetoksi-4',5',4'',5''-furanochalkoon (174) as

heldergeel plaatjies gelewer. Die PMR-spektrum van die chalkoon (174) (plaat 65) is in ooreenstemming met die verwagte struktuur.



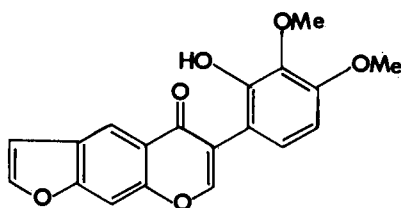
(172) : R = H

(173) : R = OCH₂OCH₃



(174) : R = OCH₂OCH₃

Ondanks verskeie pogings waar reaksiekondisies gevarieer is, kon die oksidatiewe herrangskikking na isoflavoon (178) nie suksesvol uitgevoer word nie. McKillop en Taylor ³⁶⁷ maak ook melding daarvan dat sommige chalkone slegs oorsprong gee aan komplekse mengsels en dat strawwer reaksietoestande geen oplossing bied nie.



(178)

D. Struktuuropklaring en stereochemie van die eerste 3,4-di-O-metiel-flavaan

4.12 Struktuur en chemie van 3,4,3',4',7-pentametoksiflavaan (52)

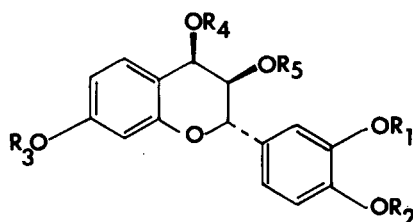
(-)-3,4,3',4',7-Pentametoksi-2,3-*trans*-3,4-*cis*-flavaan (52) is as kristallyne, hoogs onoplosbare verbinding uit die metanolekstrak van die bol van *N. amboensis* na teenstroomverdeling, kolomchromatografie en herkristallisatie uit piridien verkry en verteenwoordig die eerste voorbeeld van 'n flavonoïed uit die *Neorautanenia* spesies.

PMR-spektrometrie van (52) (plaat 58) lewer bewys van twee alifatiese metoksifunksies (τ 6,58; s, 6H) en drie aromatiese metoksigrroepe (τ 6,24, s, 3H en τ 6,17; s, 6H) terwyl die substitusiepatroon bevestig word deur twee en ABC-sisteme vir die A- en B-ringe onderskeidelik. Die relatiewe 2,3-*trans*-3,4-*cis*-konfigurasie ³⁶⁸ volg uit die koppelingskonstantes van die heterosikliese ringprotone ($J_{2,3}$ 9,8; $J_{3,4}$ 3,2 Hz).

Die massafragmentasiepatroon van (52) (Plaat 83) verloop soortgelyk as vir flavaan-3,4-diole ²¹⁸ en onderskryf die voorgestelde struktuur ($C_{20}H_{24}O_6$, M^+ 360 - 37%). Die basispiek by $m/e = 194$ word gevorm deur R.D.A-splyting van die moederioon terwyl die prominente ioon by $m/e = 328$ (32%) sy oorsprong het deur die verlies van MeOH.

Chemiese bewys vir die struktuur van (52) is uitgevoer deur alkilering van natuurlike (-)-3',4',7-trimetoksi-2,3-*trans*-flavaan-3,4-*cis*-diol (51) met behulp van dimetielsulfaat/kaliumkarbonaat om pentametoksiflavaan, (52), te lewer wat in alle opsigte identies is met die natuurprodukt (52).

Deur 'n vergelyking van die PMR-spektrum en SD-kurwe van (52) (Plaat 68) met dié van (-)-7,3',4'-trihidroksi-en-trimetoksi-2,3-*trans*-flavaan-3,4-*cis*-diol (50 en 51) is die absolute konfigurasie van (-)-3,4,3',4',7-pentametoksi-2,3-*trans*-3,4-*cis*-flavaan (52) bepaal as (-)- [2R, 3S, 4S]



(50) : $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$

(51) : $R_1 = R_2 = R_3 = Me$; $R_4 = R_5 = H$

(52) : $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = Me$

Die gesamentlike voorkoms van isoflavonoïede en flavonoïede in *N. amboensis* is biogeneties van belang, aangesien dit as moontlike bewys dien dat flavonoïed en isoflavonoïed biosintese óf vanaf dieselfde voorlopers, óf langs gelyksoortige weë geskied.

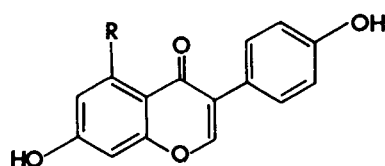
E. Isoflavoonglikosides. Analoeë verbindings as moontlike biogenetiese voorlopers

4.13 Genistein-7-D-xilosiel-β-D-glukosied (55) en daidzein-7-D-xilosiel-β-D-glukosied (56)

Bogenoemde twee glikosides, (55) en (56), is in relatiewe hoë konsentrasies uit die metanolekstrak van *N. amboensis* na teenstroomverdeling en kolomchromatografie verkry.

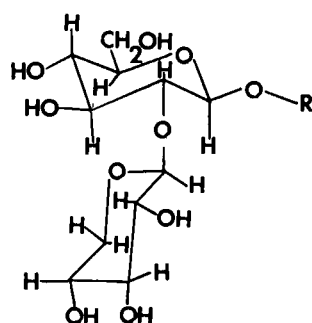
Die aglikoongedeeltes, daidzein (178)³⁶⁹ en genistein (179)³⁶⁹ is gekarakteriseer deur die PMR-spektra³⁴⁹ van die glikosiedasetate (plate 61 en 62) terwyl die suikers gaschromatografies bepaal is deur die retensietye van die trimetielsilielderivate te vergelyk met dié van referensiemonsters. (Orde en koppelingspunte tussen glukose en xilose is spekulatief).

Verbrandingsanalises van genistein-7-D-xilose-β-D-glukosied-hepta-asetaat (55a) en daidzein-7-D-xilose-β-D-glukosied-hepta-asetaat (56a) bevestig die molekulêre massas as $C_{40}H_{42}O_{21}$ en $C_{40}H_{42}O_{20}$ respektiewelik terwyl massaspektrometrie onteenseglik bewys lewer van die aglikoonstrukture (genistein : $C_{15}O_5H_{10}$; M^+ 270 - 100% en daidzein : $C_{15}O_4H_{10}$; M^+ 254 - 100%).



(178) : R = H (Daidzein)

(179) : R = OH (Genistein)



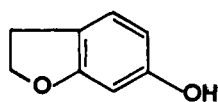
(56) : R = daidzein

(55) : R = genistein

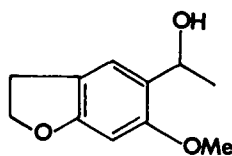
4.14 Dihidrofuraanverbindinge

6-Hidroksi-2,3-dihidrobensofuraan (53) en α -OH, α :5(6-metoksi-2,3-dehidrobensofuraan)-etaan (54), verbindinge ooreenstemmend aan die C- en D-ring hidroksileringspatroon van die meerderheid isoflavonoïede en rotenoïede uit *N. amboensis* onderskeidelik, is uit 'n verrykte teenstroomverdelingsfraksie van die metanolekstrak geïsoleer.

Die voorgestelde struktuur vir (53) vertoon identies(spektrometries)aan sintetiese 6-hidroksi-2,3-dihidrobensofuraan (53) wat verkry is tydens die sintese van neobanoon (sien 3.18) (plaat 30).



(53)



(54)

Die PMR-spektrum (plaat 60) van (54) vertoon, in ooreenstemming met die substitusie van die aromatiese ring, 'n metoksigroep, twee *para*-protone en 'n CH₃-doeblet terwyl die AB-sisteem (gevorm deur H2 en H3) as twee triplete resoneer. H_α verskyn as doeblet van doeblette (τ4,92; dd, 1H) terwyl die hidroksifunksie (τ7,34; OH, br.s.) bevestig is deur deuteriumuitruiling.

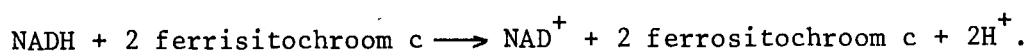
4.15 Eenvoudige metaboliete as moontlike biogenetiese voorlopers

Saitoh *et al.* ³⁷⁰ het aangetoon dat *p*-hidroksi-asetofenoon as biogenetiese voorloper kan dien tot die retrochalkone - (chalkone waarvan die hidroksileringspatroon heeltemal afwyk van die konvensionele). Gesien in hierdie lig kan die isolering van *p*-metoksi-asetofenoon uit *N. amboensis* moontlik van biogenetiese belang wees.

F. Toksisiteitsbepalings. Korrelasies tussen biologiese aktiwiteit en strukture

4.16 Bepaling van reaksiesnelheidskonstantes. Inhiberingseffek van rotenoïede

Die reduksie van ferrisitochroom c deur NADH verloop volgens die reaksie: ³⁷¹



In alle gevalle is die vormingsnelheid (k) van die ferrositochroom c-ione bepaal en kinetiese metings is uitgevoer met wisselende rotenoïedkonsentrasies by konstante temperatuur en ferrisitochroom-c-reduktase-, NADH- en ferrisitochroom c-konsentrasies.

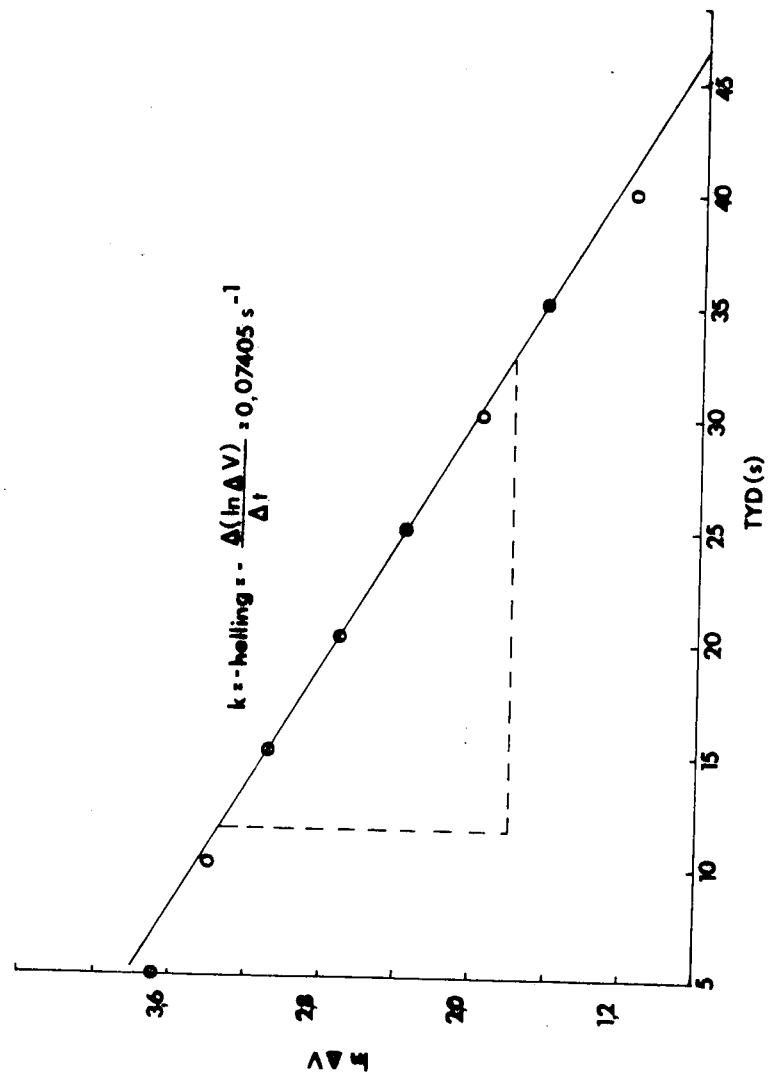
Die resultate vir 'n tipiese bepaling word aangetoon in figuur o :

[sitochroom-c-reduktase] = 0,4 mg/ml

[NADH] = 0,01 M

[Rotenoïed] = 0

Temperatuur = 38°



Figuur 0

Tabel 10

k (reaksiesnelheidskonstante) (seconde ⁻¹) i.t.v:	Rotenoïedkonsentrasie (M)				
	1,36x10 ⁻⁸	2,6x10 ⁻⁷	9,6x10 ⁻⁶	1,92x10 ⁻⁵	0
(+)-rotenoon (1)	0,0566	0,0427	0,0307	0,0117	-
(+)-neobanoon (4)	0,0567	0,0420	0,0306	0,0137	-
(±)-neobanoon (4)	-	-	0,0617	0,0573	-
(-)-12a-Hidroksi-isomillettoon (11)	0,0565	0,0430	0,0347	0,0140	-
(-)-12a-Metoksirotenoon (3)	0,0573	0,0487	0,0347	0,0199	-
(-)- <i>cis</i> -12a-hidroksirotenoon (2a)	-	0,0695	0,0497	0,0316	-
(+)- <i>cis</i> -12a-hidroksirotenoon (2b)	-	-	0,0607	0,0573	-
(-)- <i>trans</i> -12a-hidroksirotenoon (2c)	-	-	-	0,0677	-
(+)- <i>trans</i> -12a-hidroksirotenoon (2d)	-	-	-	0,0652	-
(+)-Dolineoon (5)	-	-	-	0,0683	-
(+)-12a-hidroksidolineoon (6)	-	-	-	0,0642	-
(+)-12a-metoksidolineoon (7)	-	-	-	0,0620	-
Ferrisitochroom-c-reduktase	-	-	-	-	0,0740

Tabel 10 toon die reaksiesnelheidskonstantes (bereken soos in figuur o) vir die twaalf verskillende rotenoïede by verskillende konsentrasies.

Uit tabel 10 kan die volgende afleidings gemaak word :

(a)(+)-rotenoon; (+)-neobanoon en (-)-12a-hidroksi-isomillettoon inhibeer die reaksie tot dieselfde mate en is dus van vergelykbare toksisiteit terwyl (-)-12a-metoksirotenoon effens minder aktief is (sien ook tabel 11);

(b) die absolute konfigurasie van die C6a- en C12a-posisies is van definitiewe belang [soos blyk uit die verskille in aktiwiteit van (2a), (2b), (2c), (2d) en (1)] vir die toksisiteit van rotenoïede. 'n Verklaring vir hierdie verskynsel kan daarin lê dat indien die konfigurasies van H6a en H12a van die normale β -posisie na die α -posisie verander, dan is die stereochemiese konfigurasie wat benodig word vir binding met die ensiem afwesig en die rotenoïed dus relatief onaktief;

(c) variasies van die E-ring sowel as verskille in substituentte op die A-ring van rotenoïede beïnvloed nie hul biologiese aktiwiteit nie;

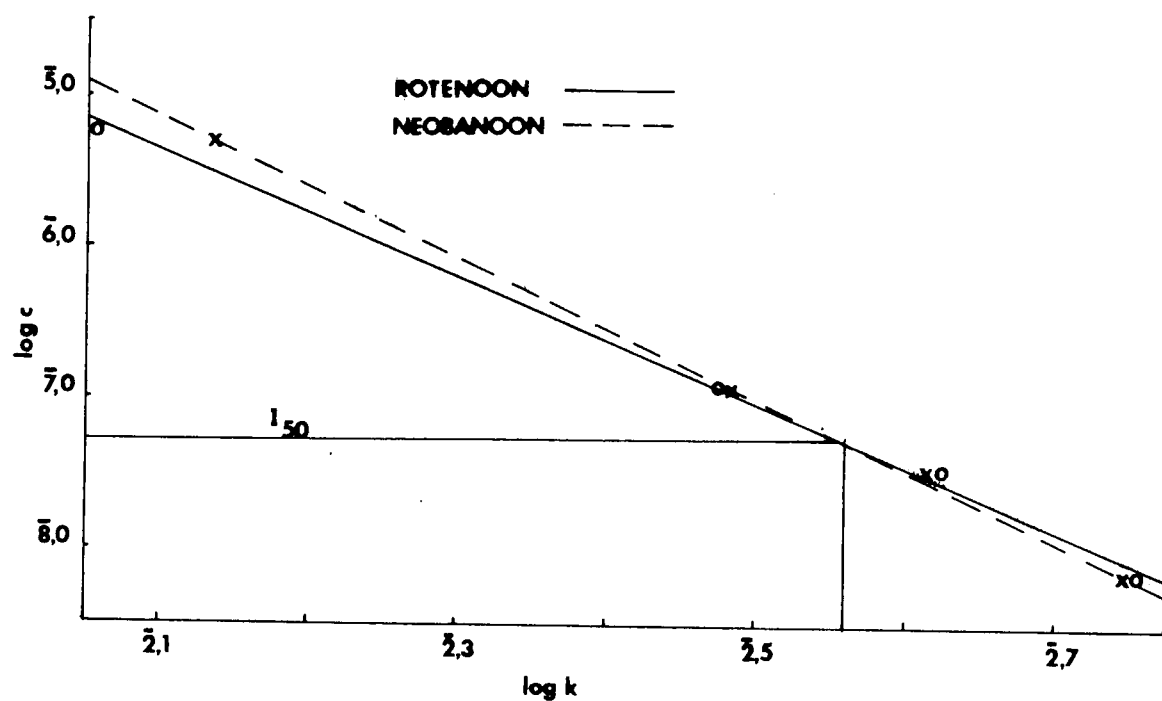
(d) uit die grafieke van $\log c$ vs. $\log k$ (figure p en q, tabel 11) blyk dit dat daar 'n lineêre verband bestaan tussen rotenoïedkonsentrasie en inhiberingsvermoë; en

(e) sintetiese ($\pm$)-neobanoon het 'n lae fisiologiese aktiwiteit in teenstelling met natuurlike (+)-neobanoon wat hoë toksisiteit vertoon.

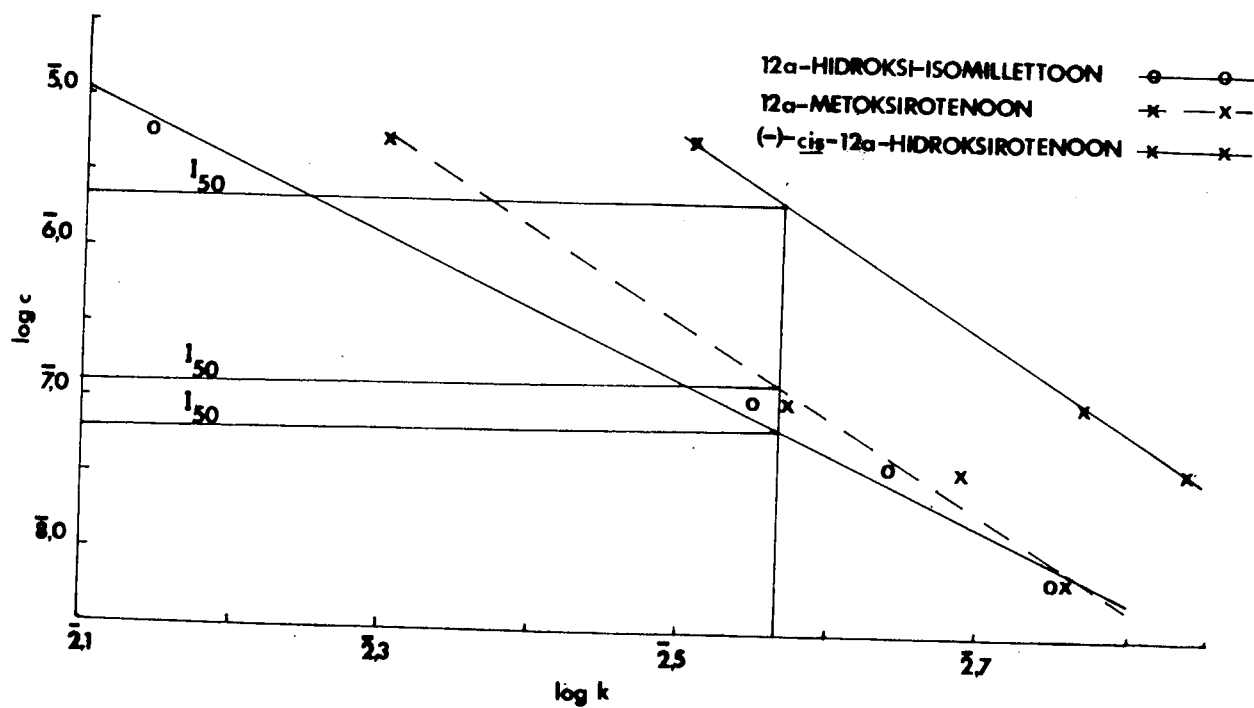
Tabel 11

log c	log k				
	(+)-rotenoon	(+)-neobanoon	(-)-12a-hidroksi- isomillettoon	(-)-12a-metoksi- rotenoon	(-)- <i>cis</i> -12a hidroksirotenoon
$\bar{8}.1335$	$\bar{2}.7528$	$\bar{2}.7527$	$\bar{2}.7520$	$\bar{2}.7522$	-
$\bar{7}.4150$	$\bar{2}.6300$	$\bar{2}.6232$	$\bar{2}.6335$	$\bar{2}.6872$	$\bar{2}.8420$
$\bar{6}.9823$	$\bar{2}.4865$	$\bar{2}.4866$	$\bar{2}.5398$	$\bar{2}.5398$	$\bar{2}.6960$
$\bar{5}.2833$	$\bar{2}.0667$	$\bar{2}.1355$	$\bar{2}.1461$	$\bar{2}.3000$	$\bar{2}.5005$
$I_{50}^* \text{ (M)}$	$1,8 \times 10^{-7}$	$1,8 \times 10^{-7}$	$1,4 \times 10^{-7}$	$7,1 \times 10^{-6}$	$4,2 \times 10^{-5}$

* I_{50} = rotenoïedkonsentrasie benodig vir 50% inhibisie (figure p en q)]



Figuur p



Figuur q

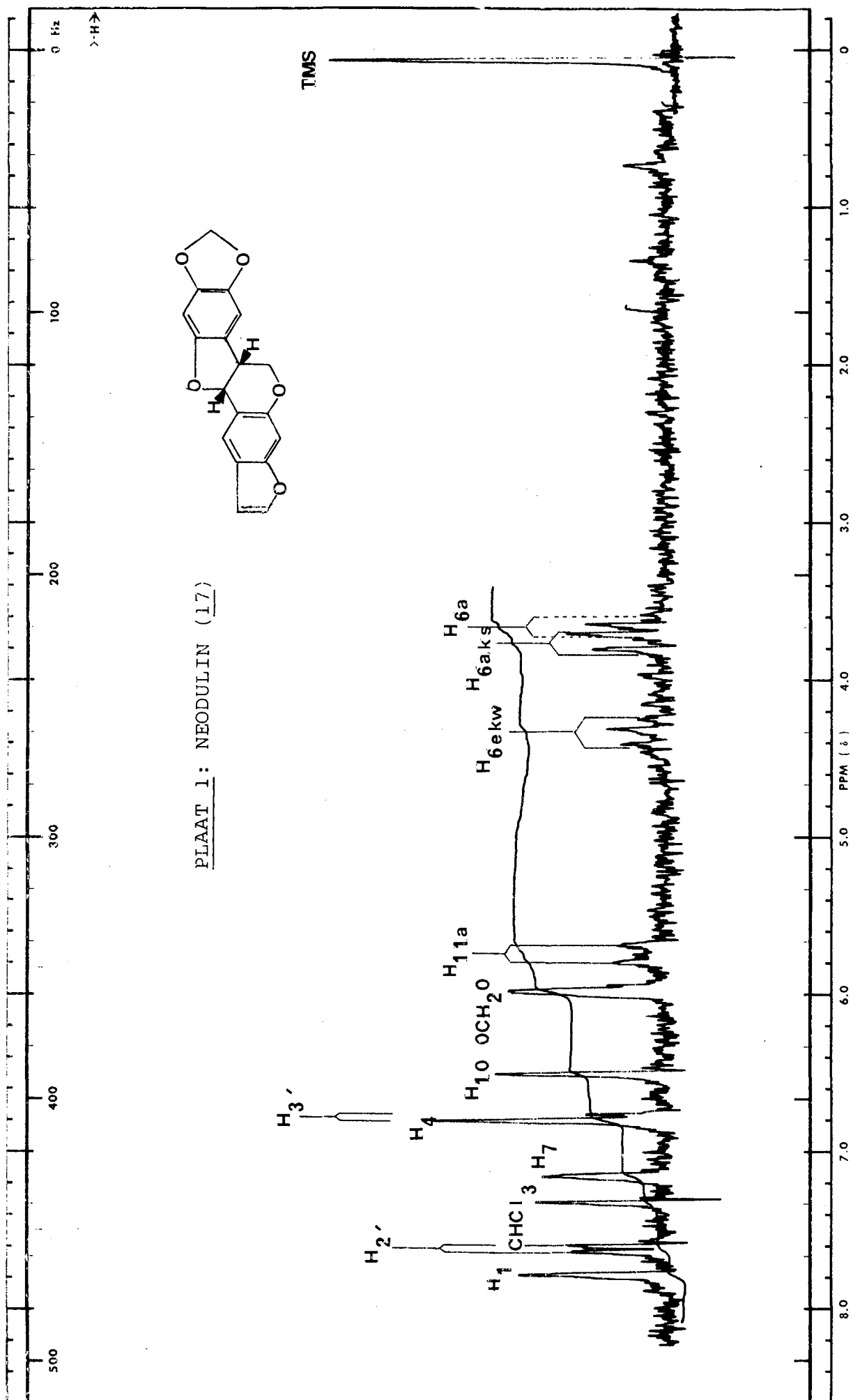
Hierdie spektrofotometrisse gegewens is in ooreenstemming met voorlopige toksisiteitstoetse waar die rotenoïede inwendig aan *Lucilia sericata* toegedien is (tabel 12).

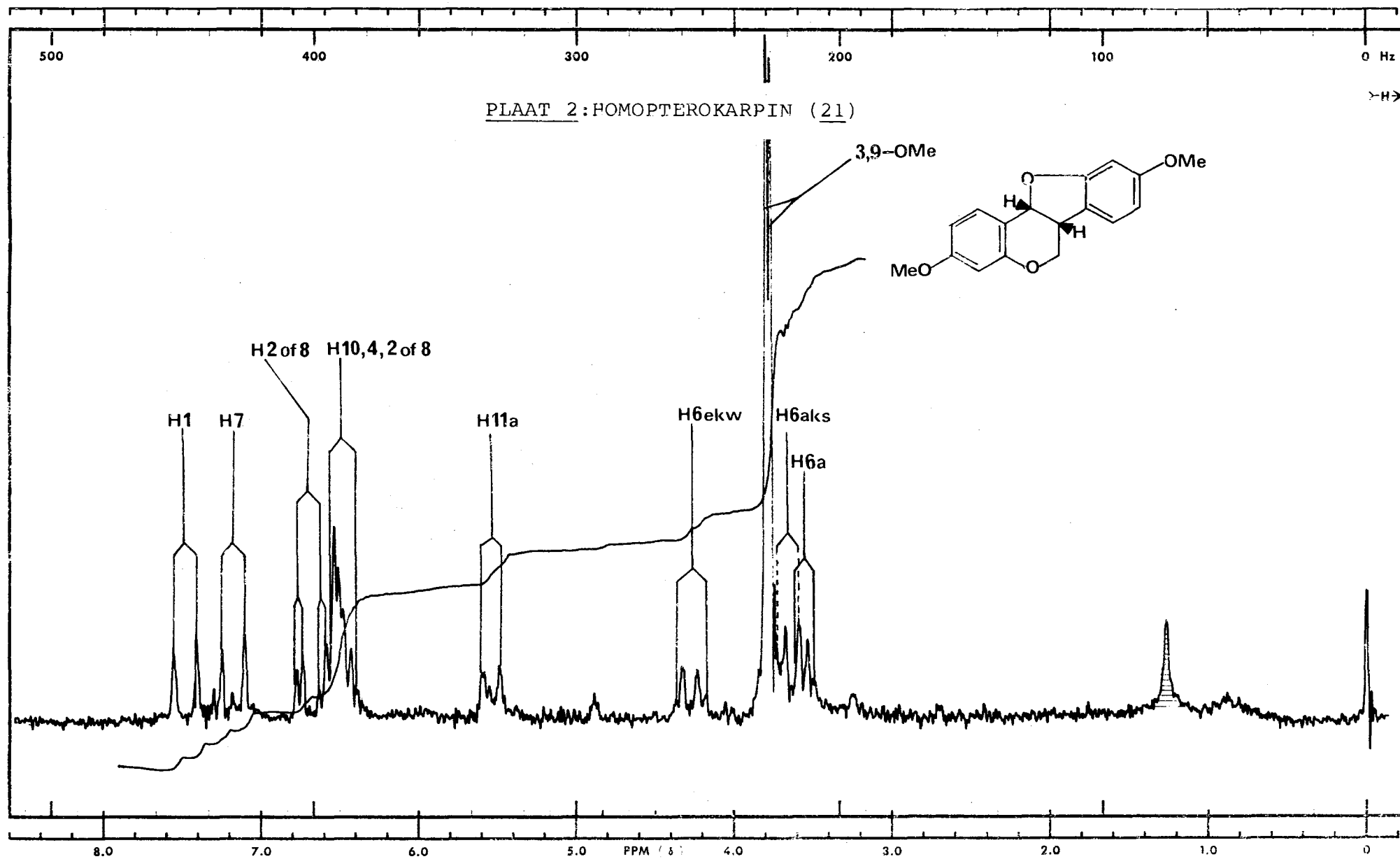
Tabel 12

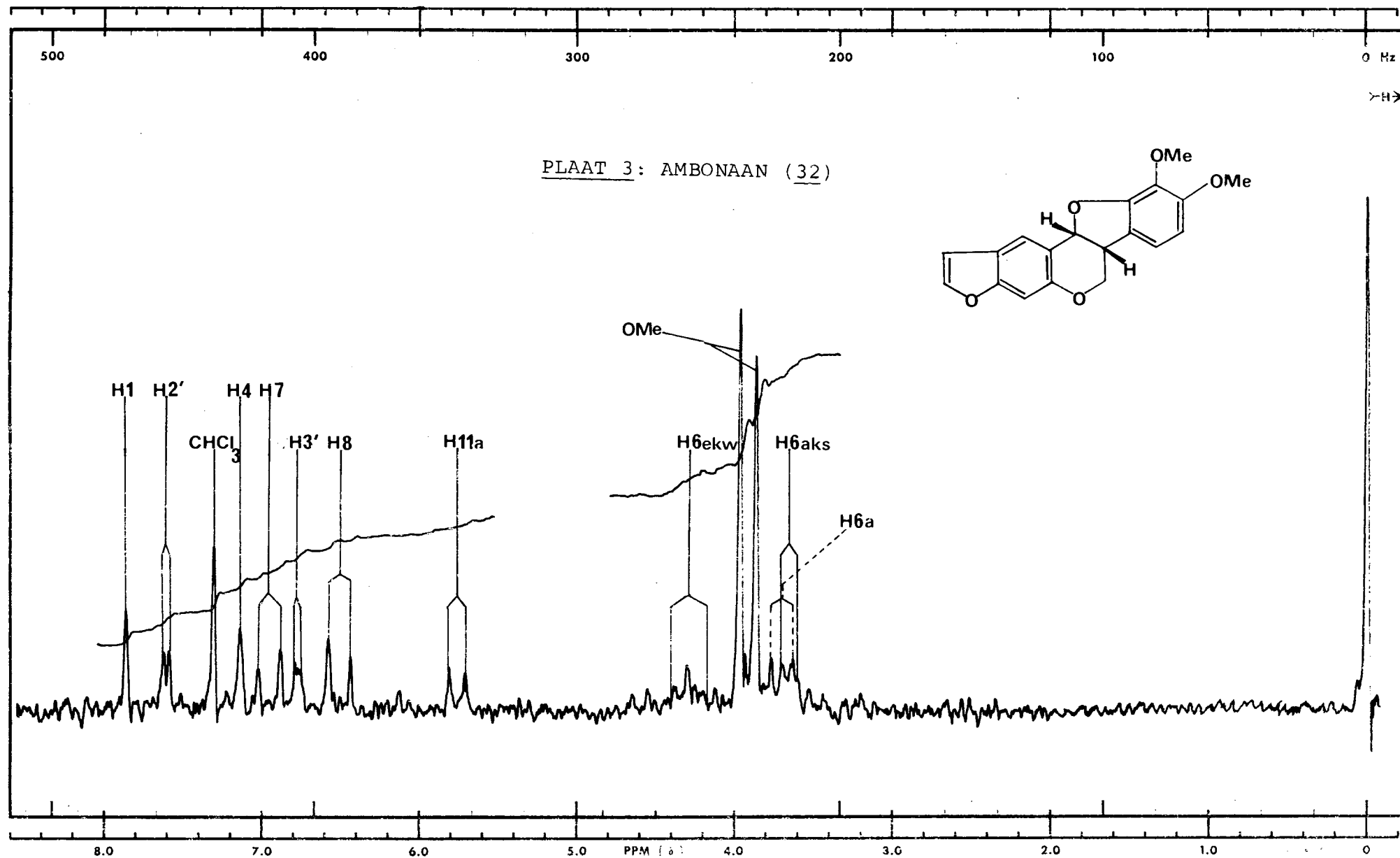
<u>Rotenoïed</u>	<u>Mortaliteit (%)</u>
(+)-rotenoon	100
(+)-neobanoon	100
(-)-12a-hidroksi-isomillettoon	40
(-)-12a-metoksirotenoon	40
(-)- <i>cis</i> -12a-hidroksirotenoon	20
(+)- <i>cis</i> -12a-hidroksirotenoon	0
(-)- <i>trans</i> -12a-hidroksirotenoon	0
(+)- <i>trans</i> -12a-hidroksirotenoon	0
(+)-12a-hidroksidolineoon	0
(+)-12a-metoksidolineoon	0
Rotenonoon	0

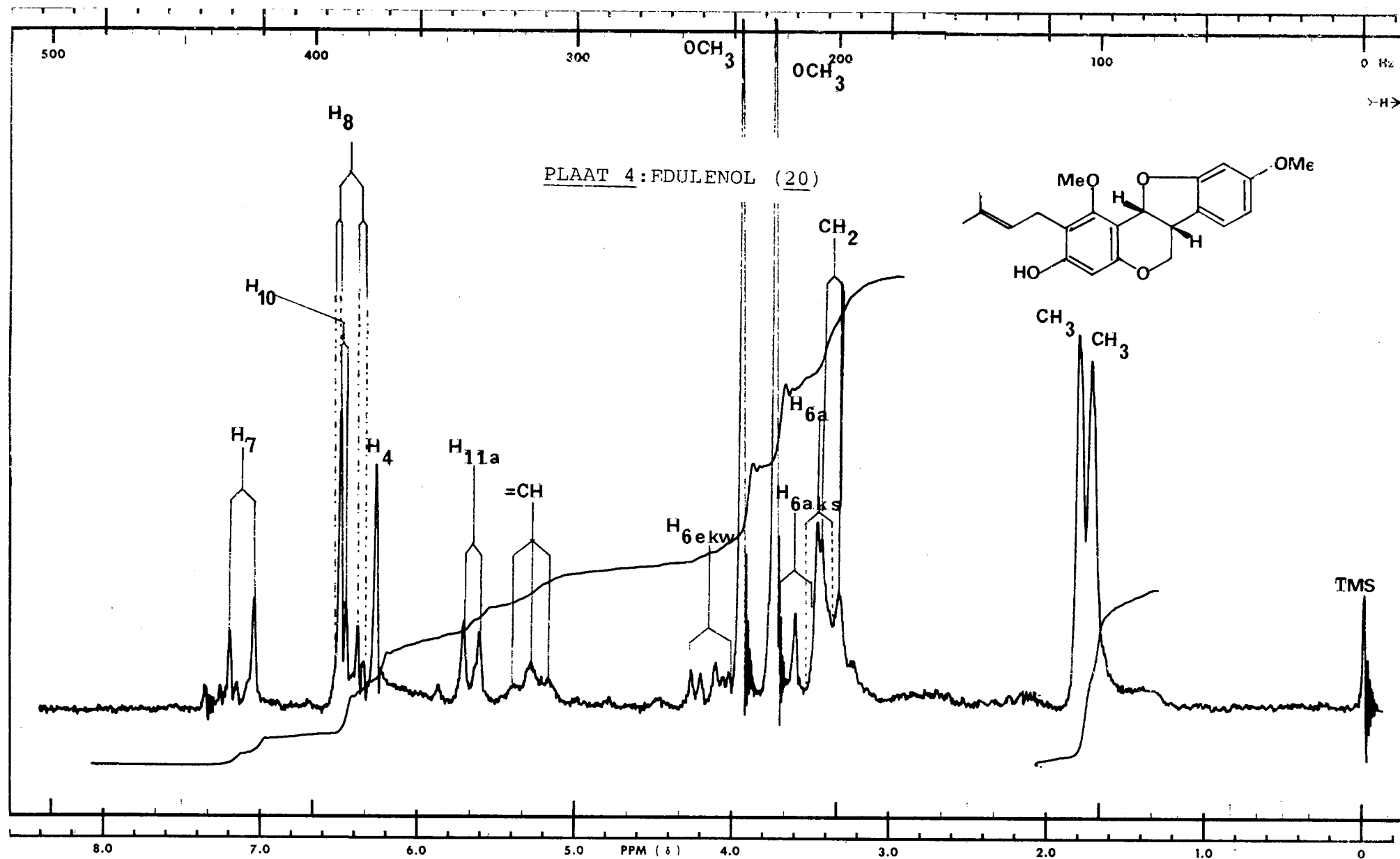
Addendum

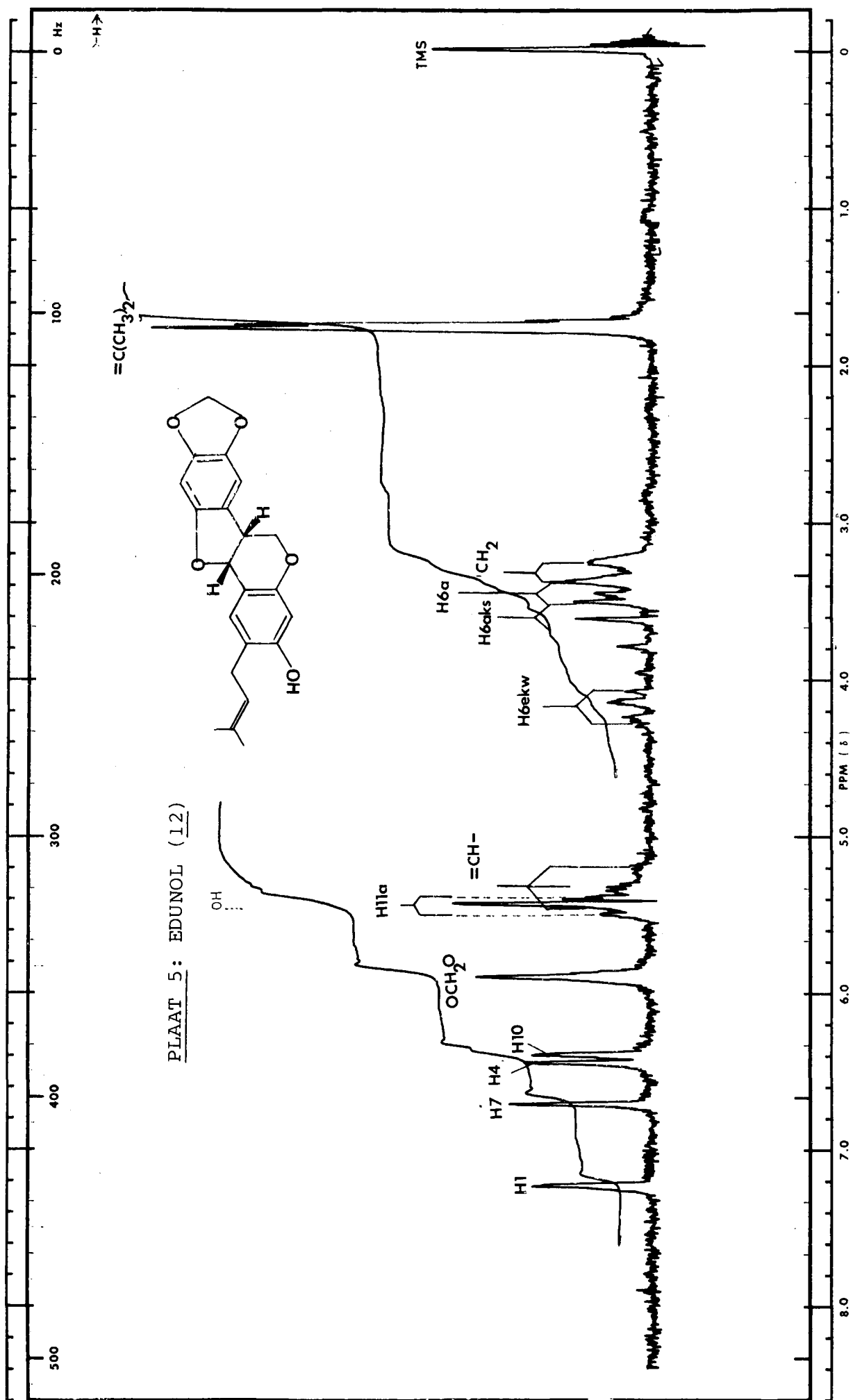
Protonmagnetiese-resonansspektrometrie	:	Plaat 1 - 66
Sirkulêre dichroïsme kurwes	:	Plaat 67 - 68
Massaspektrometrie	:	Plaat 69 - 83

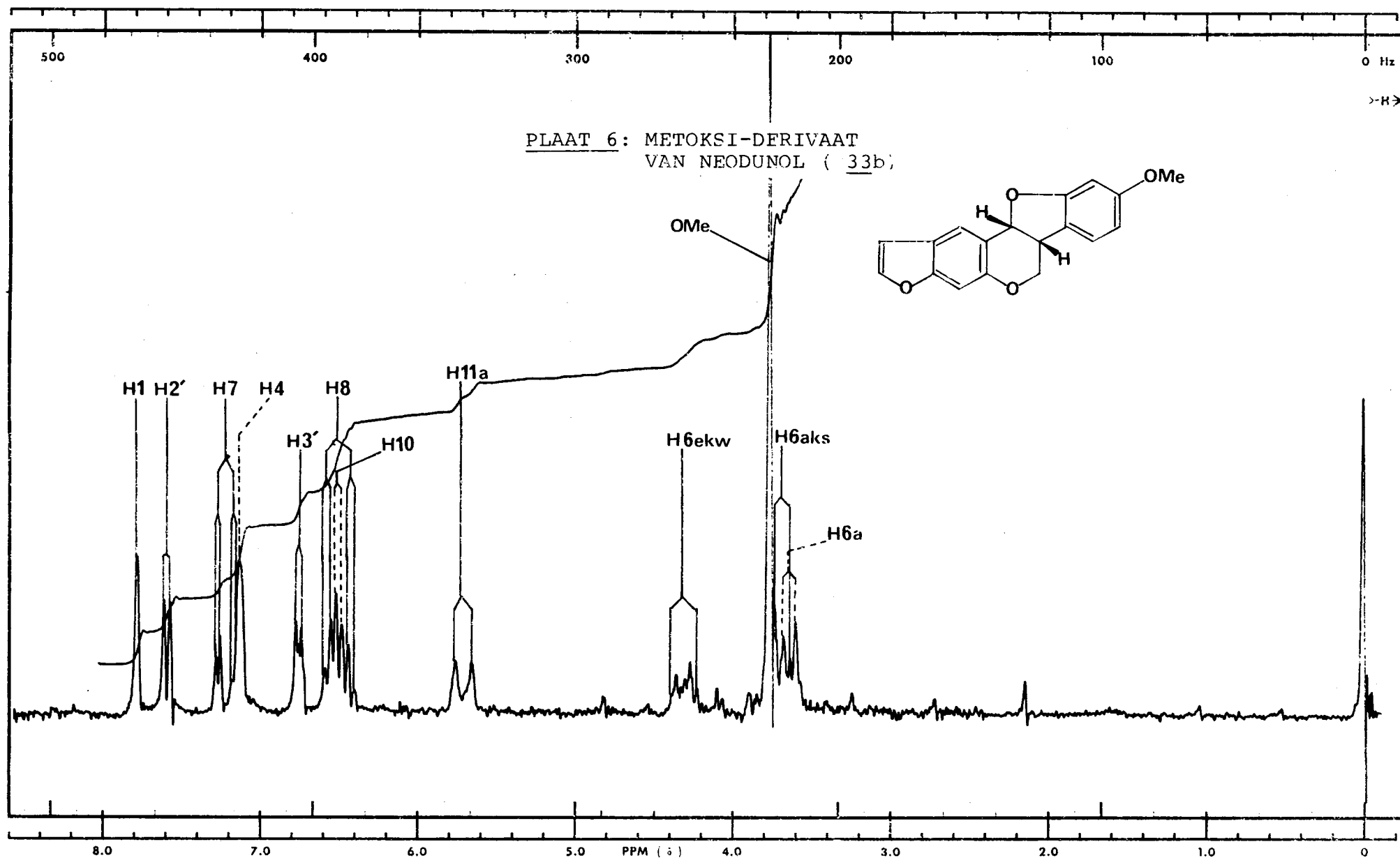


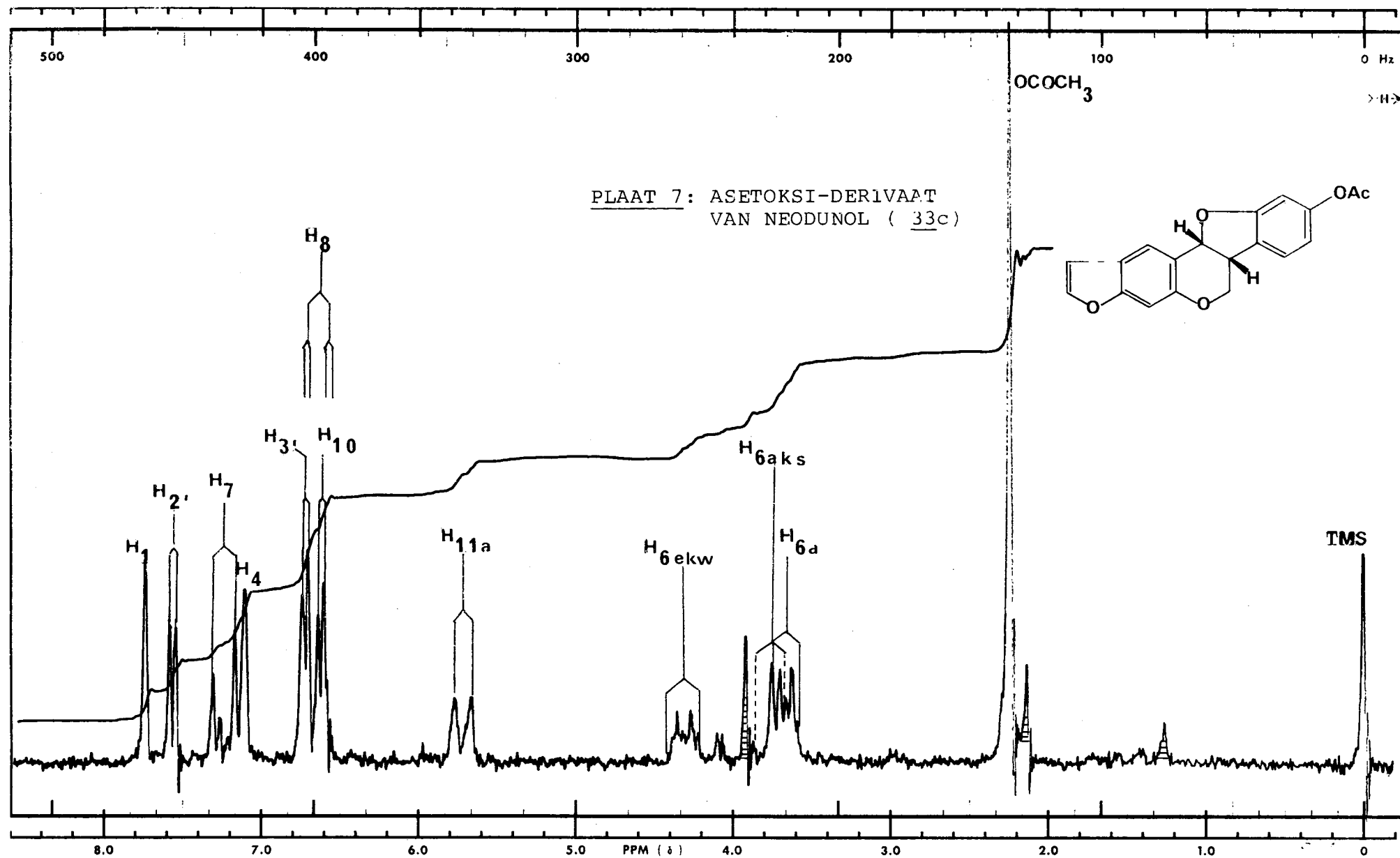


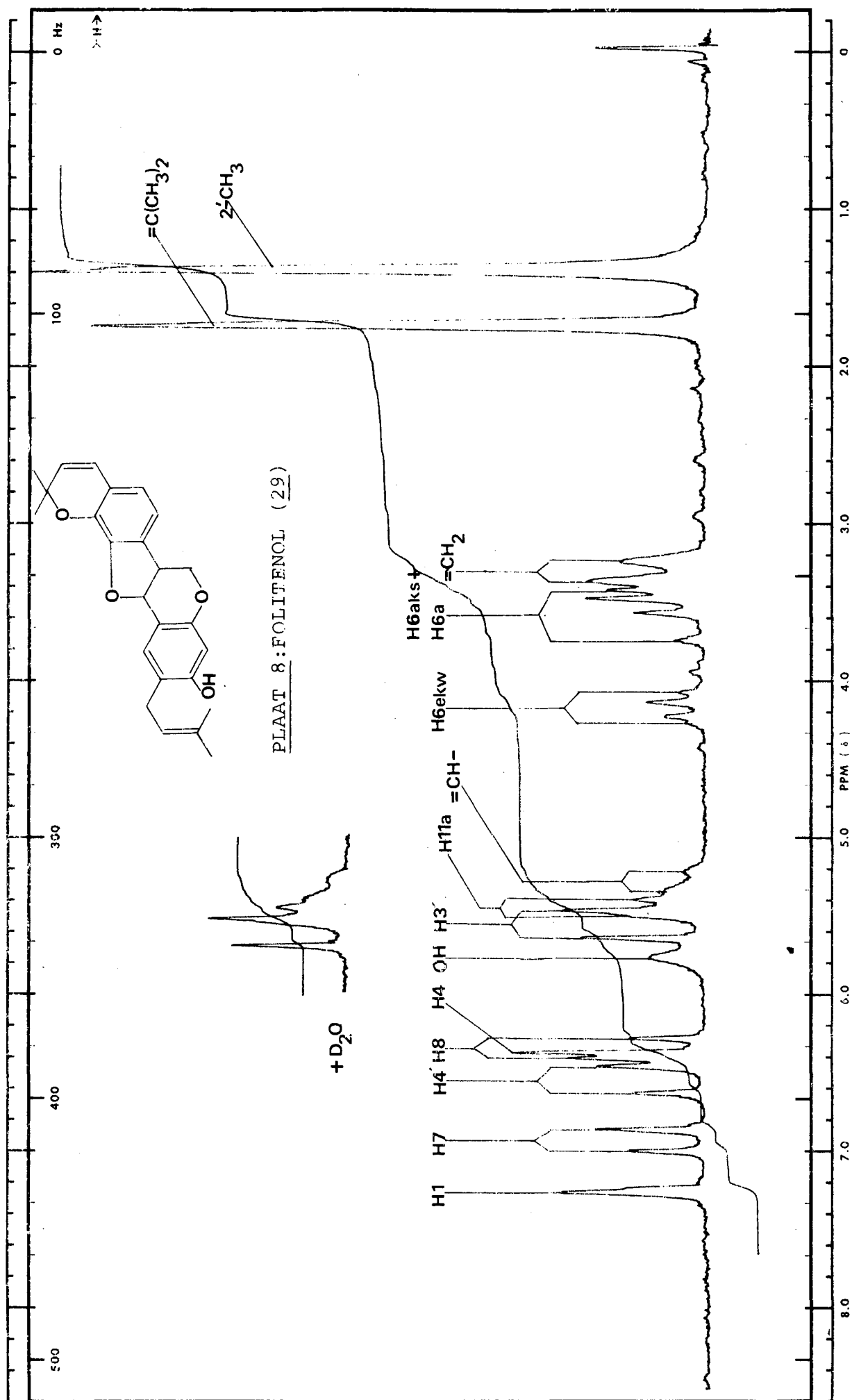


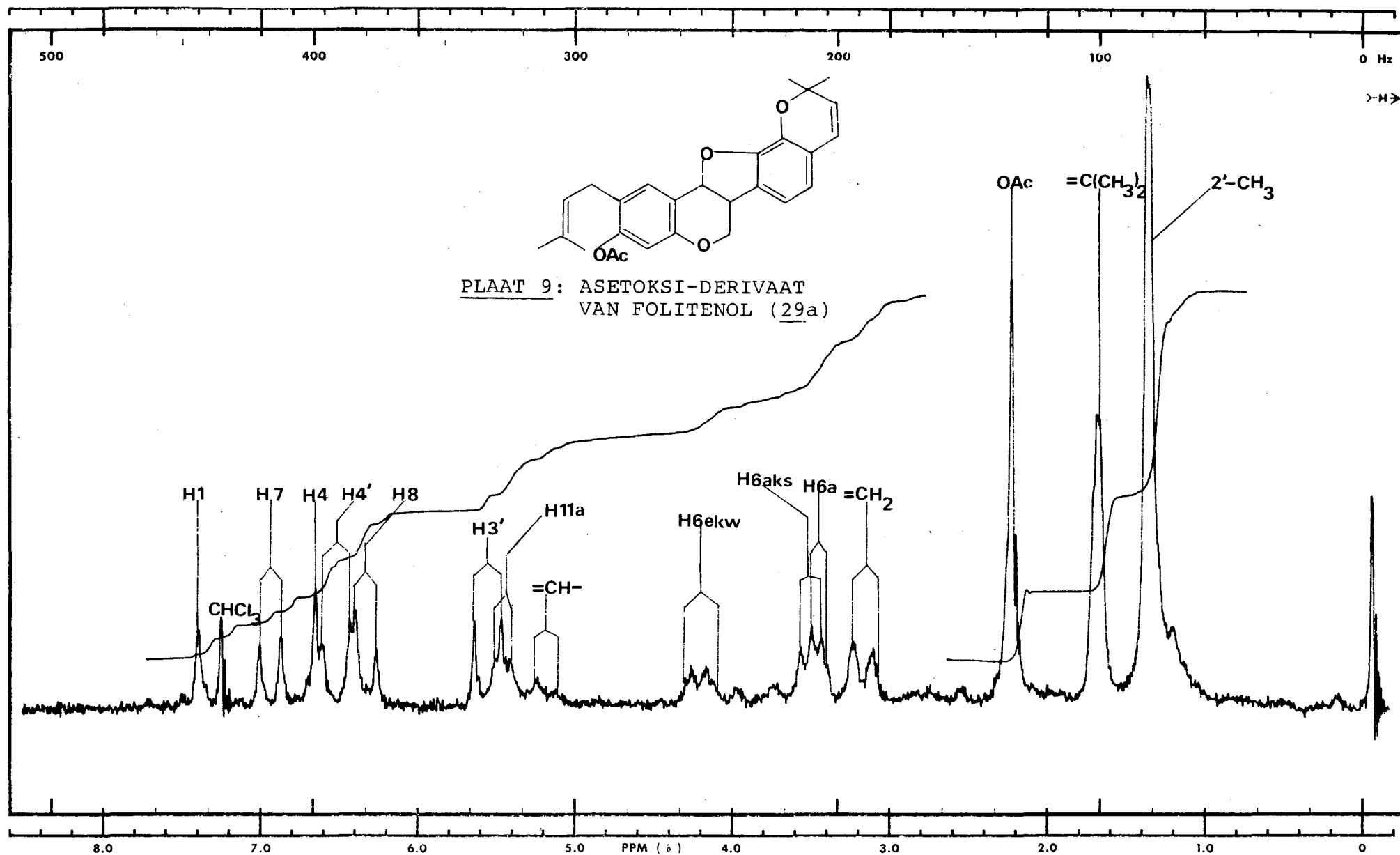


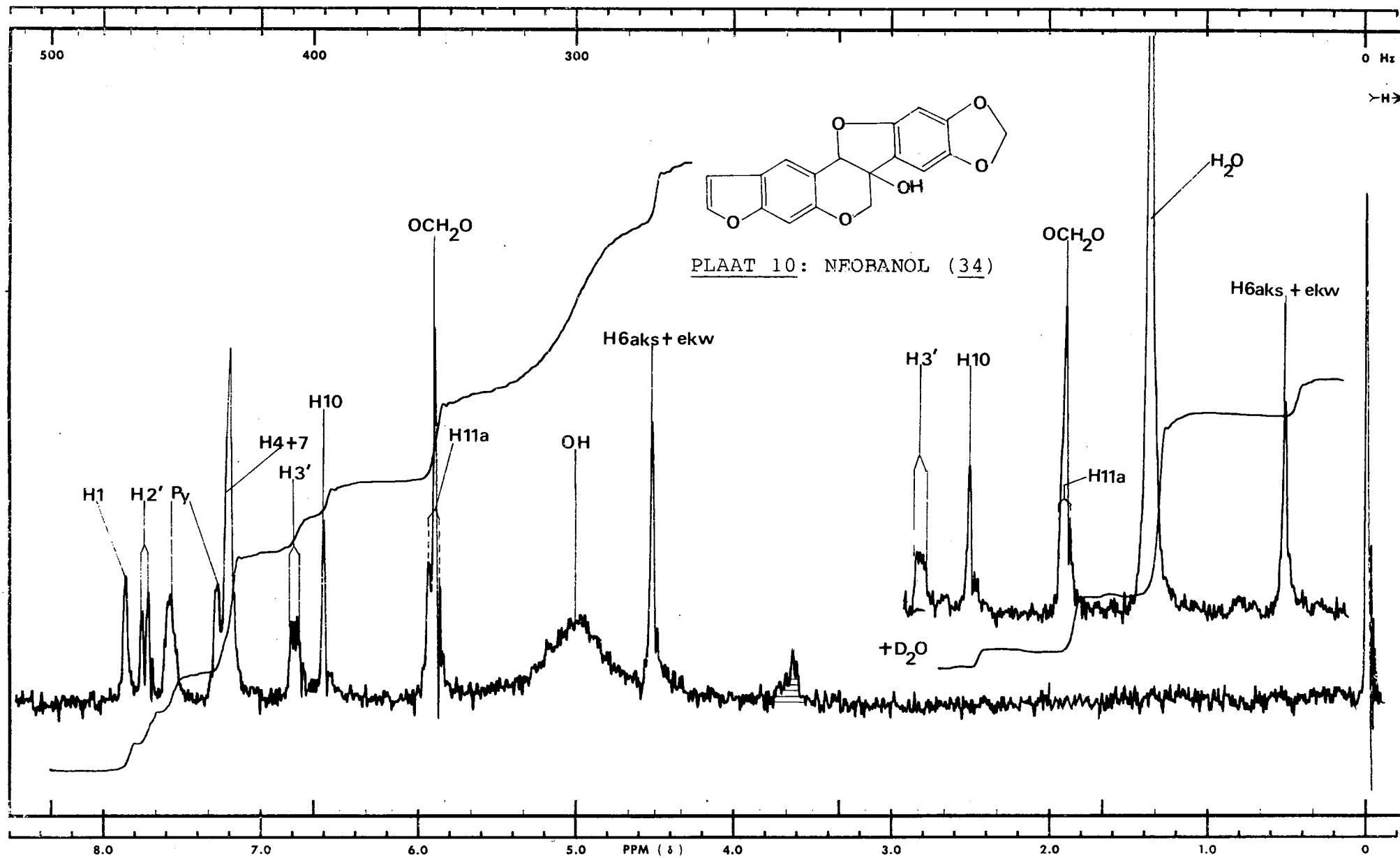


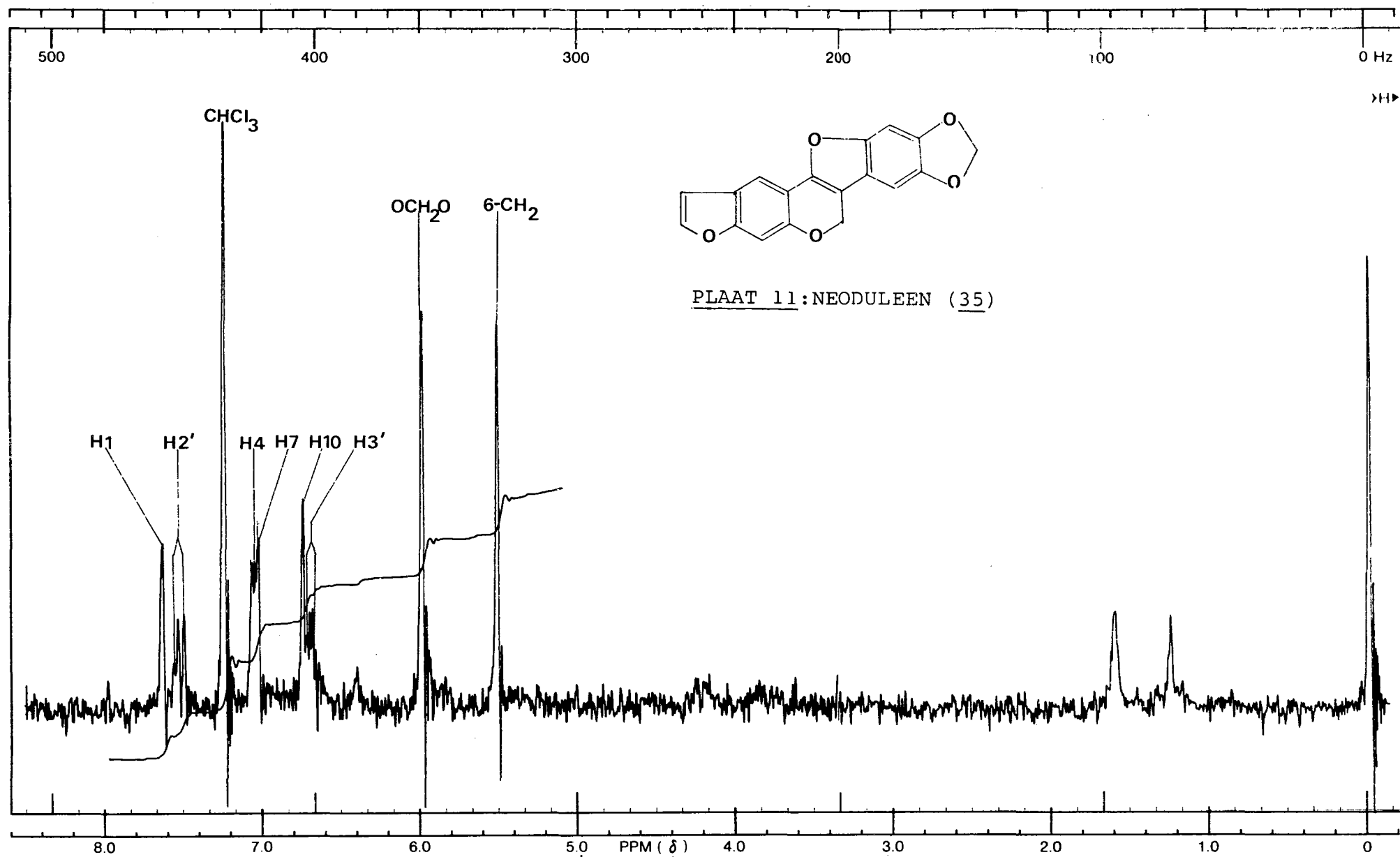




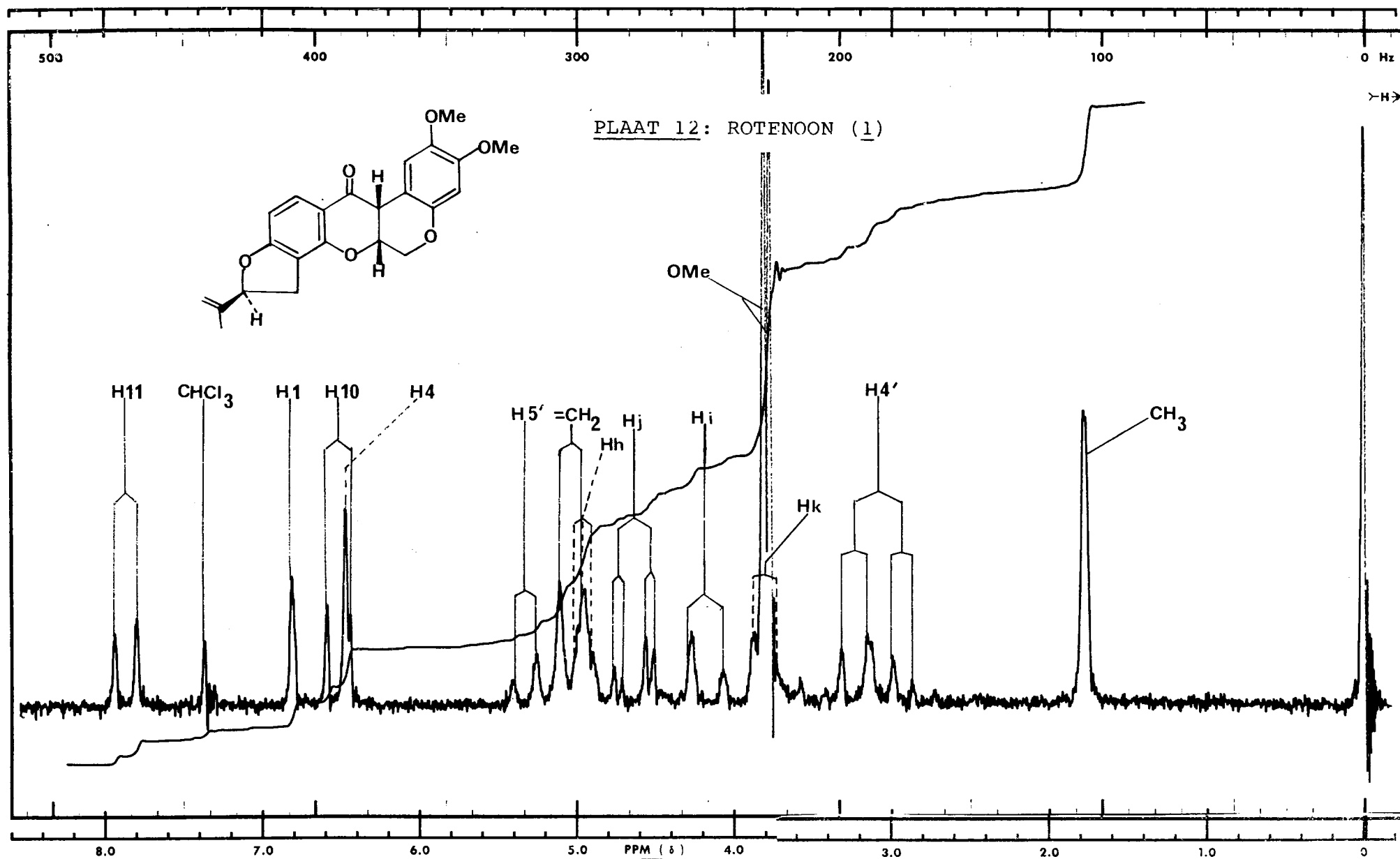


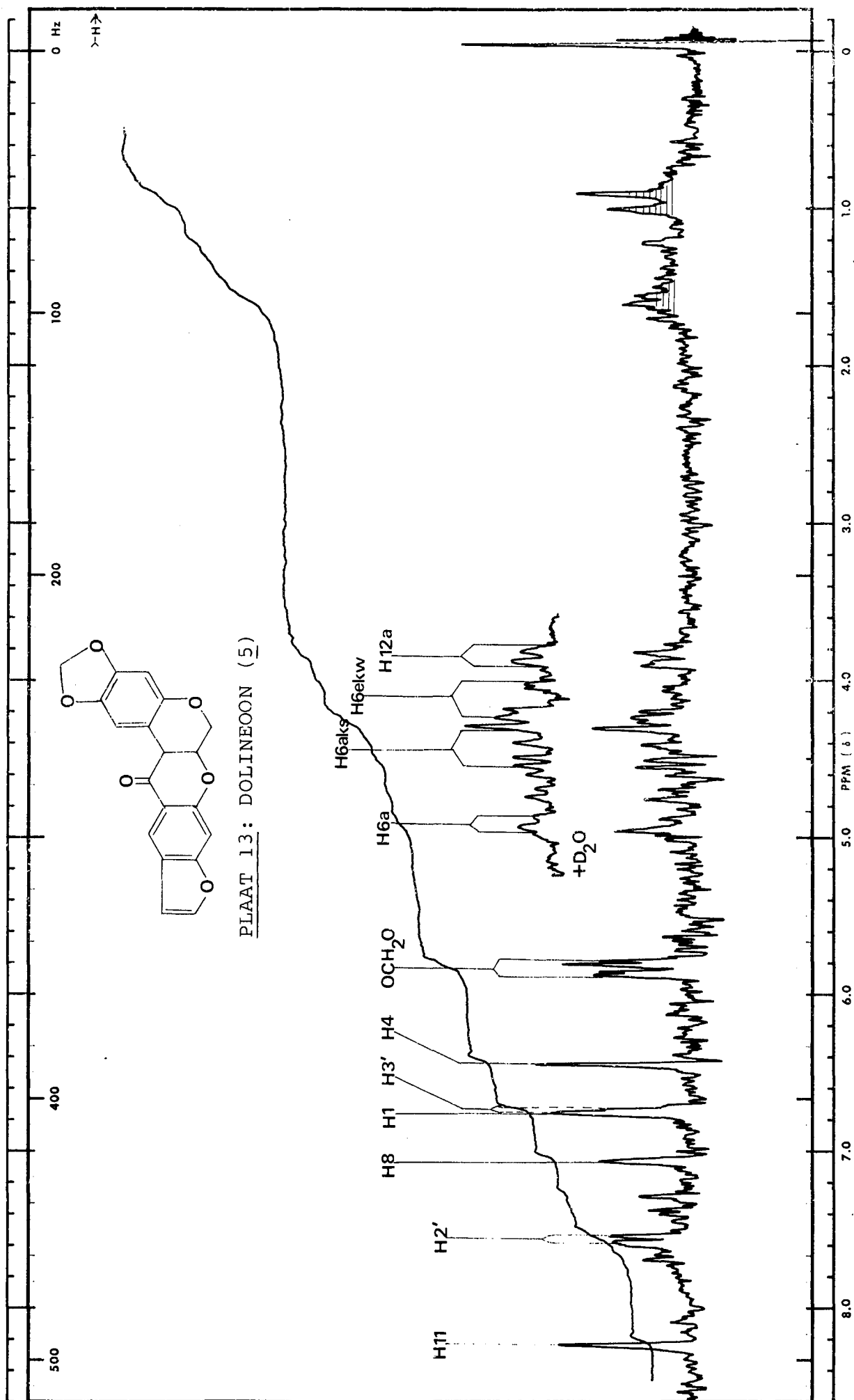


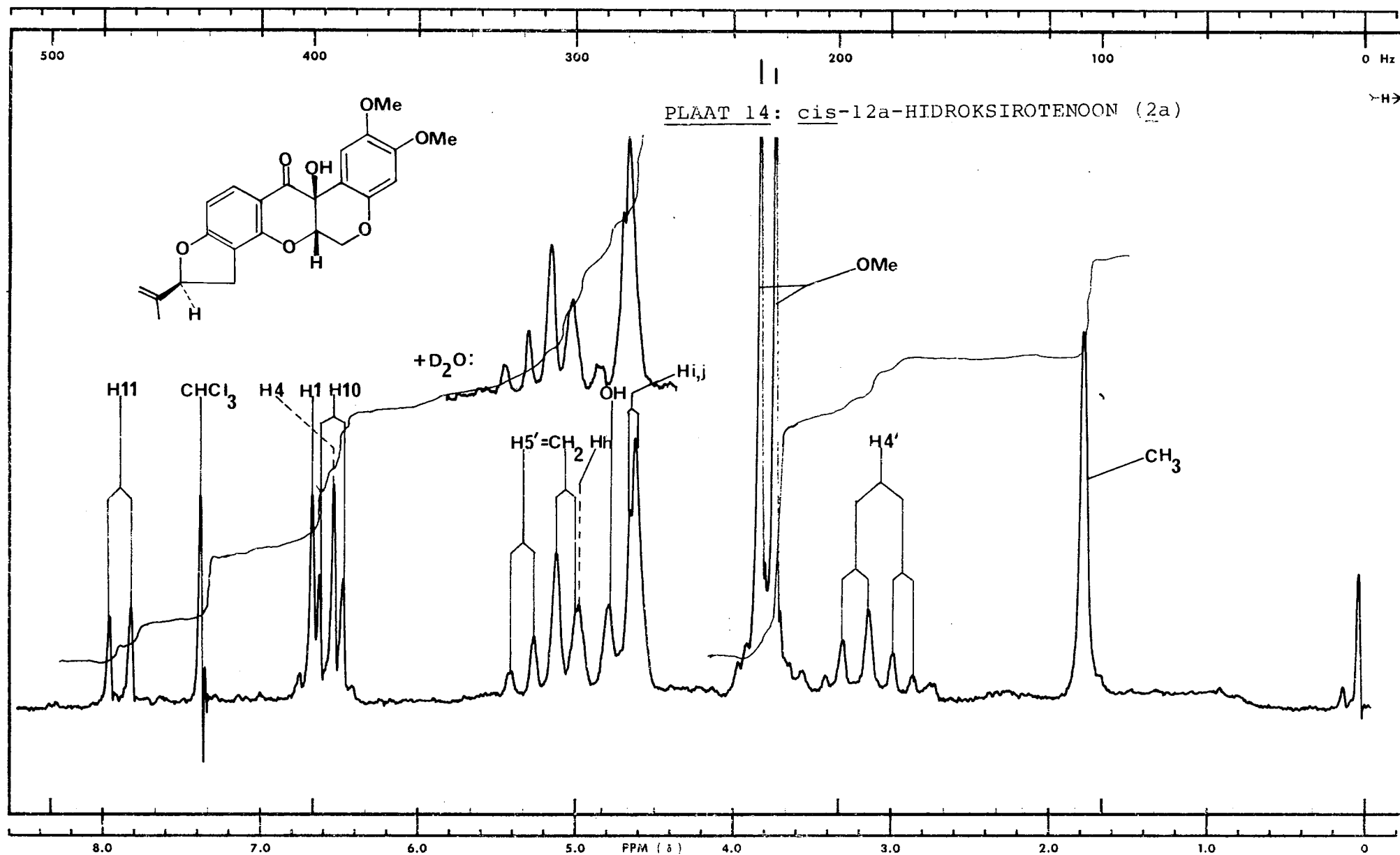


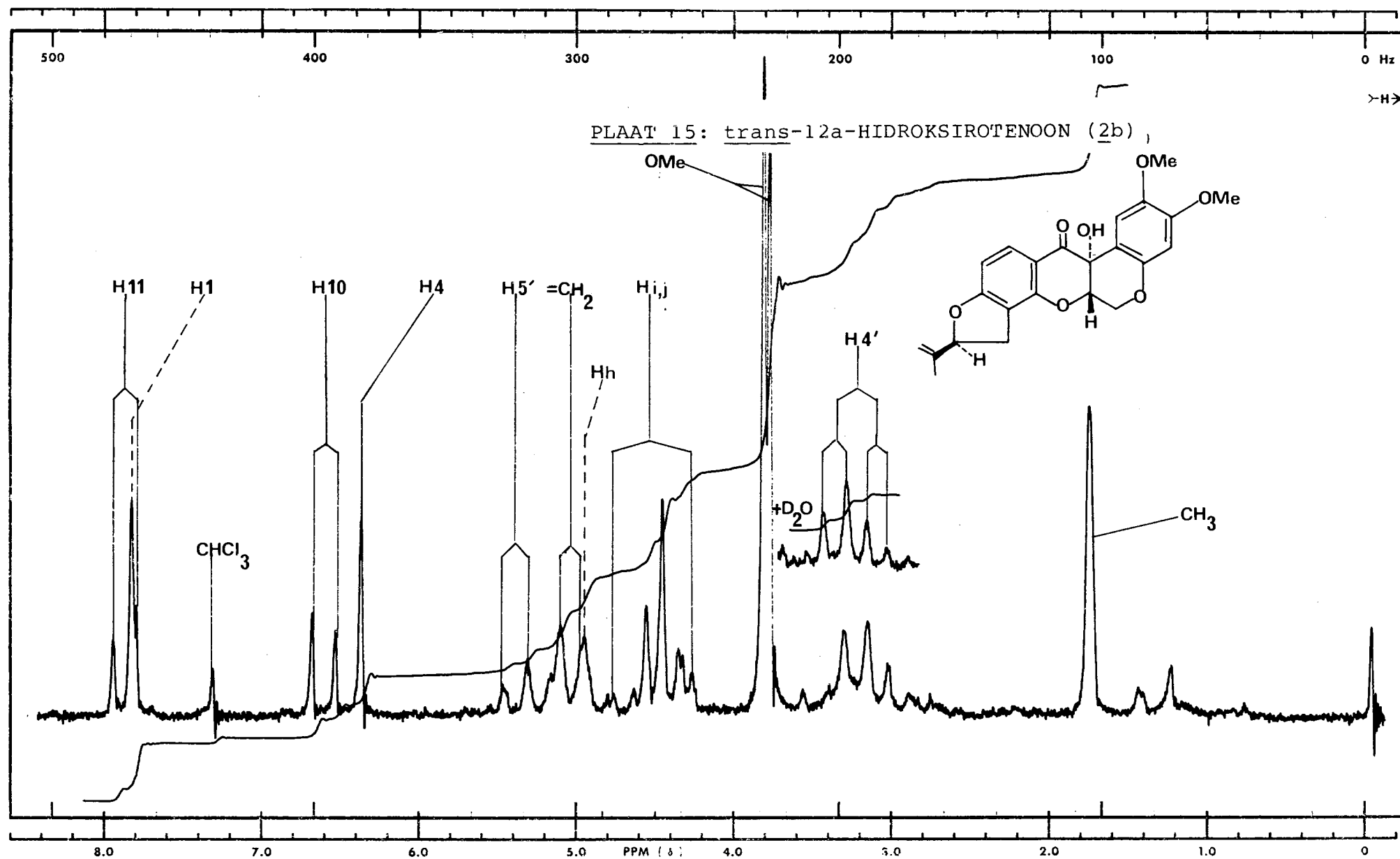


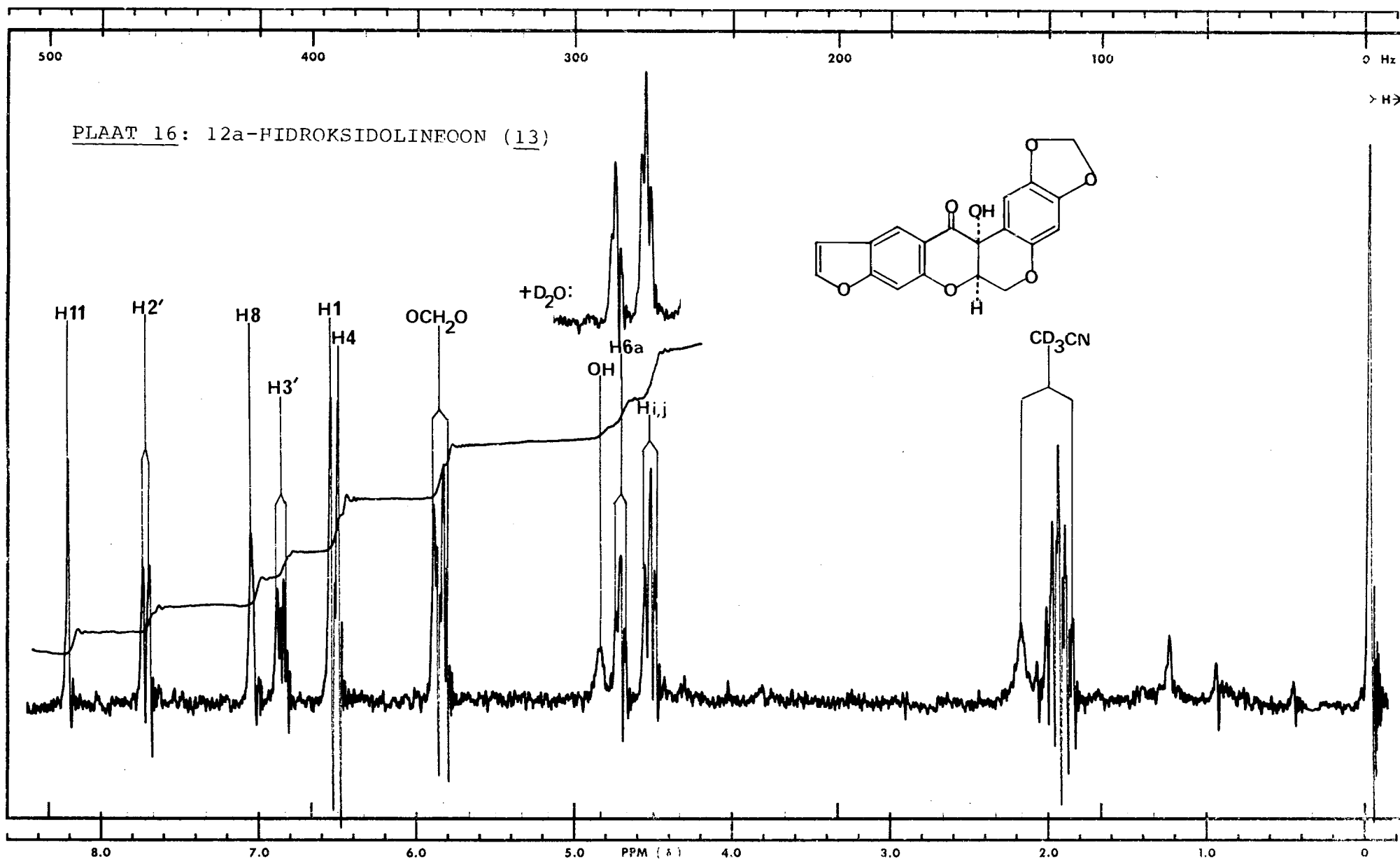
PLAAT 11:NEODULEEN (35)

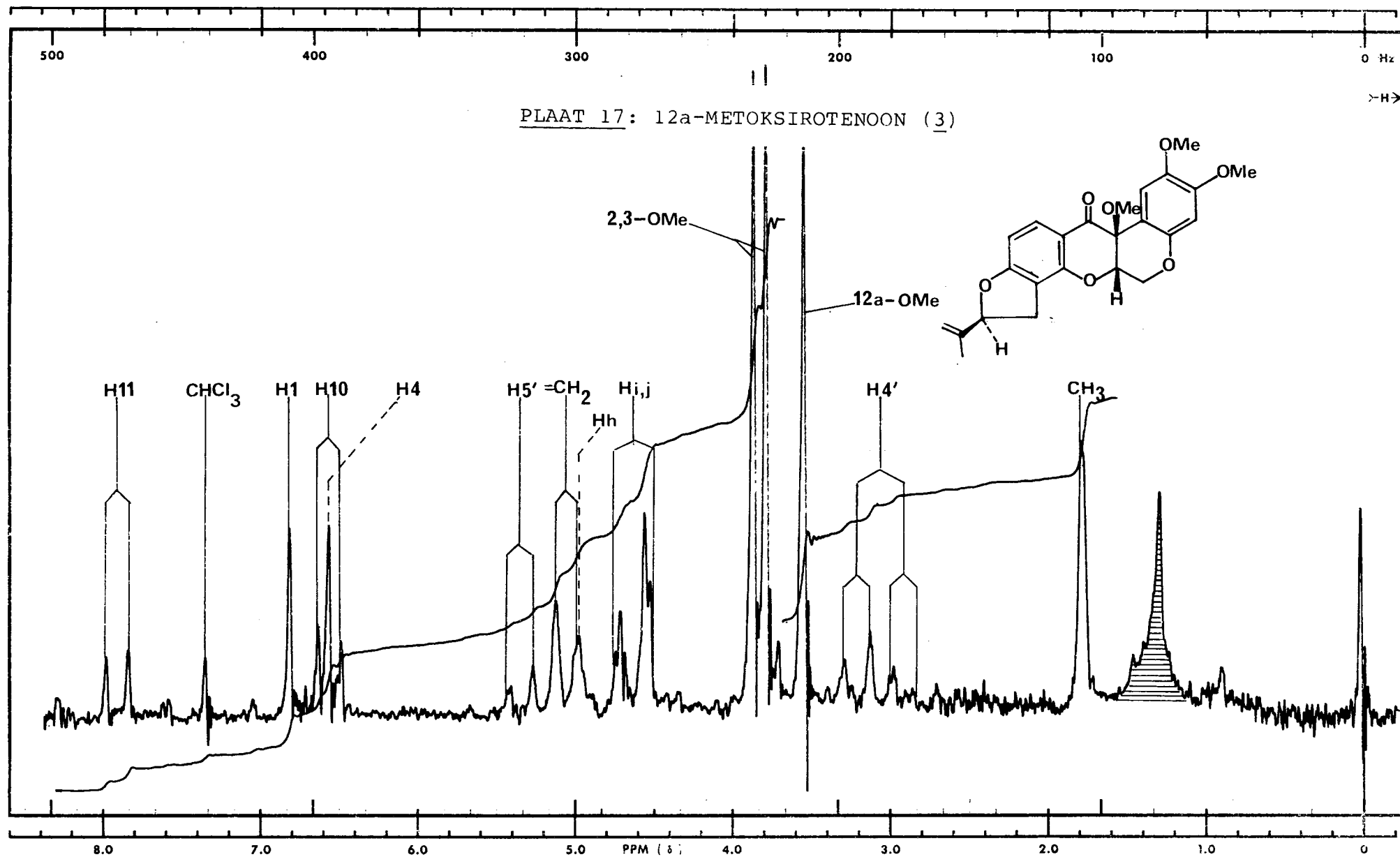


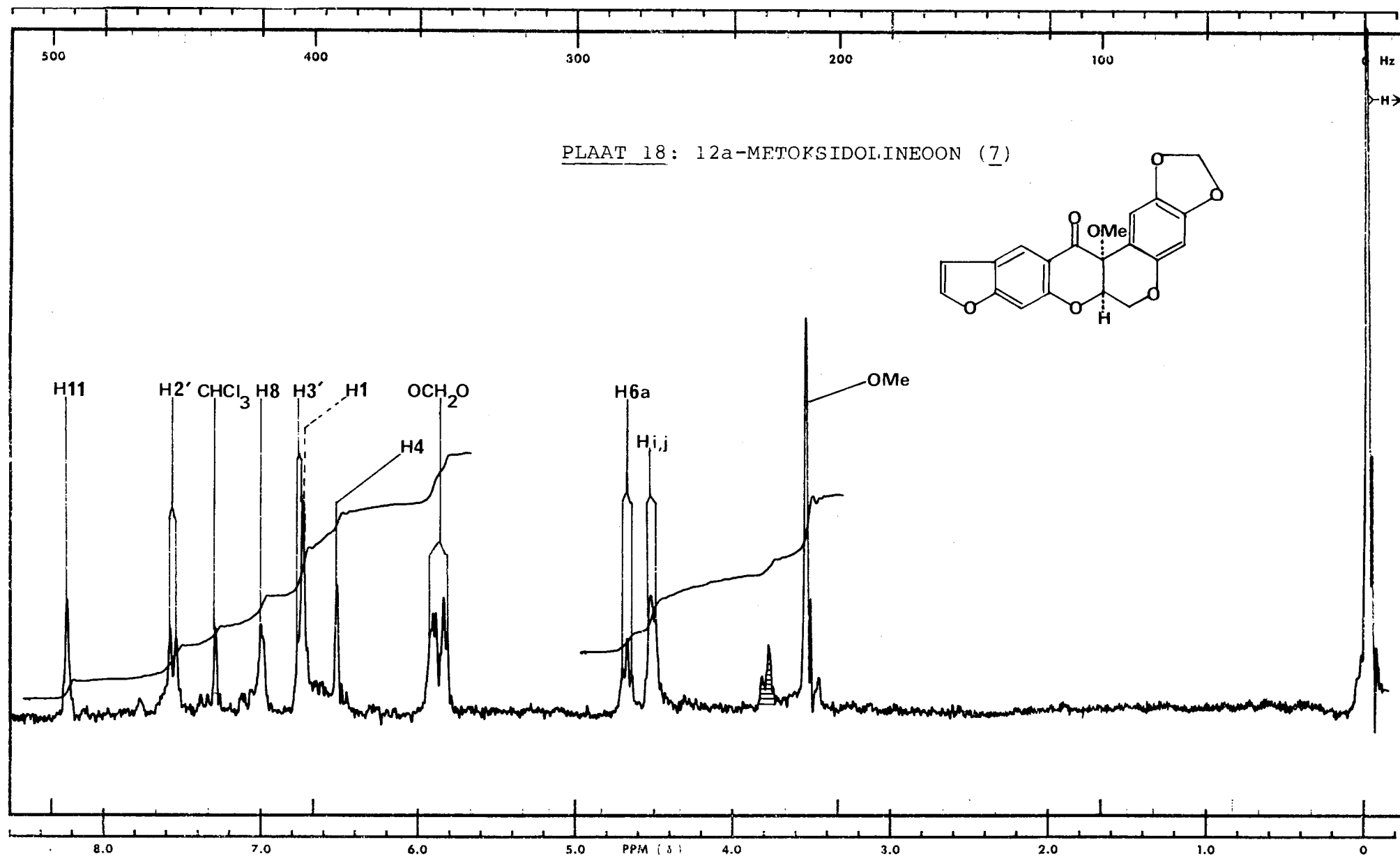


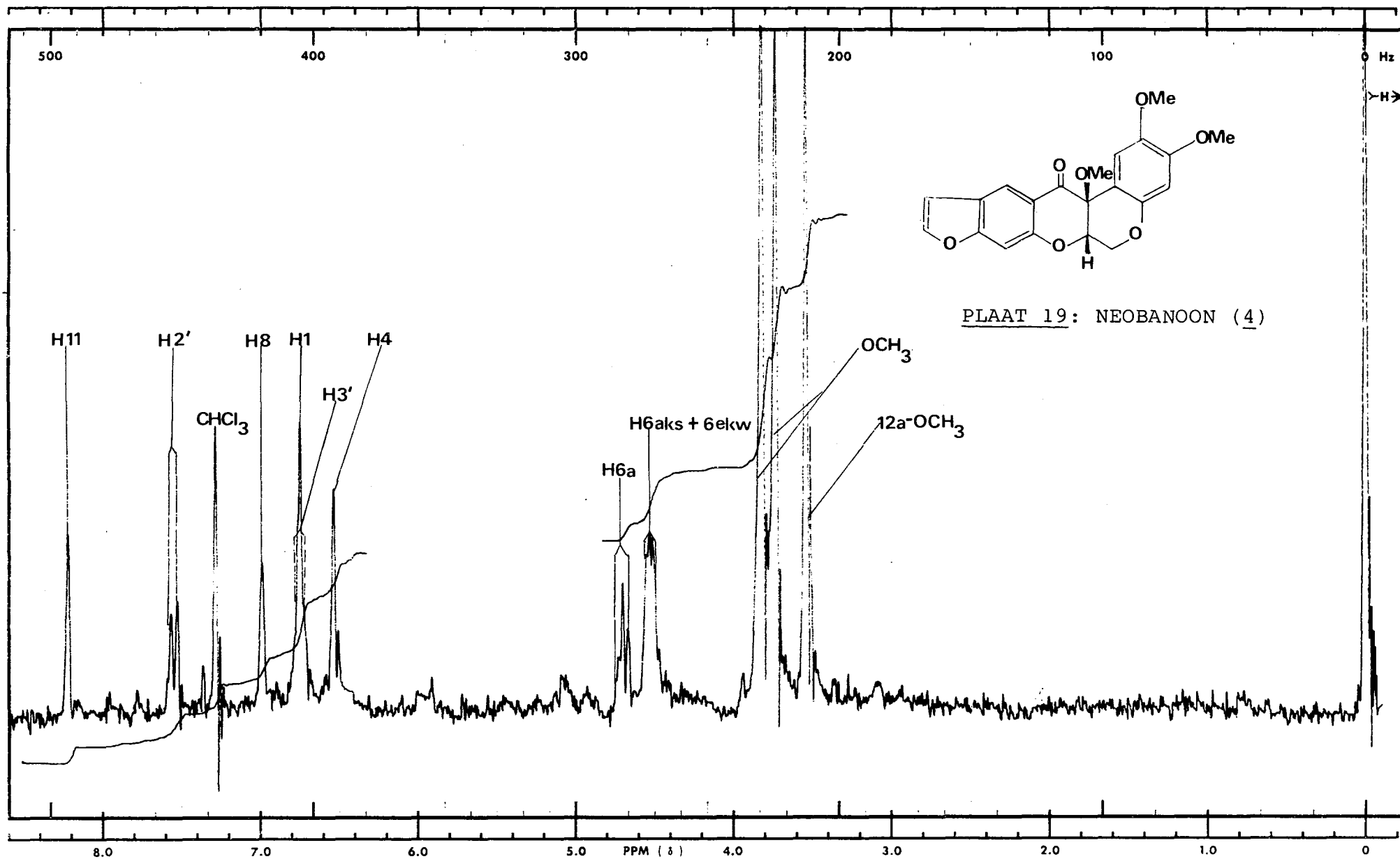




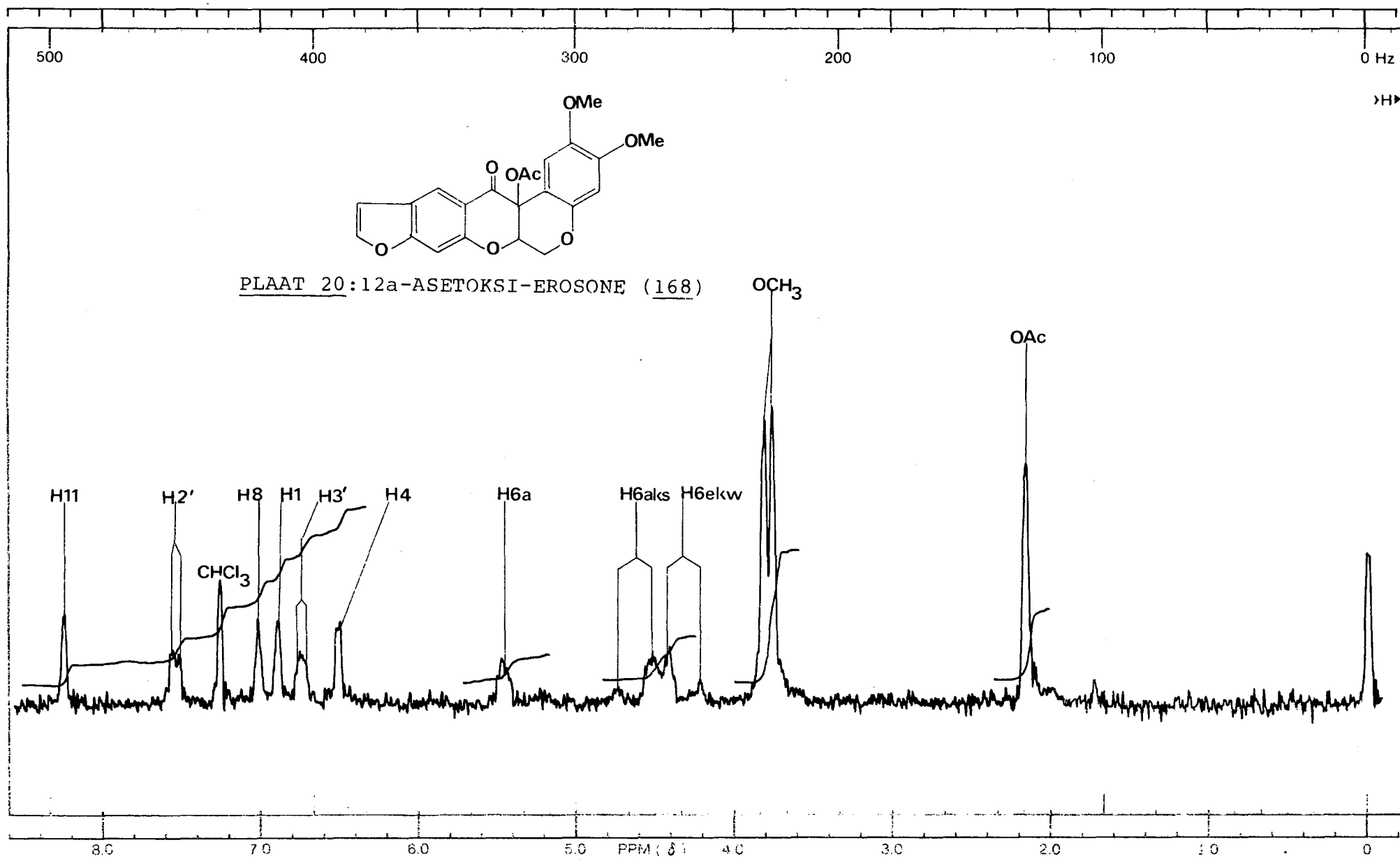


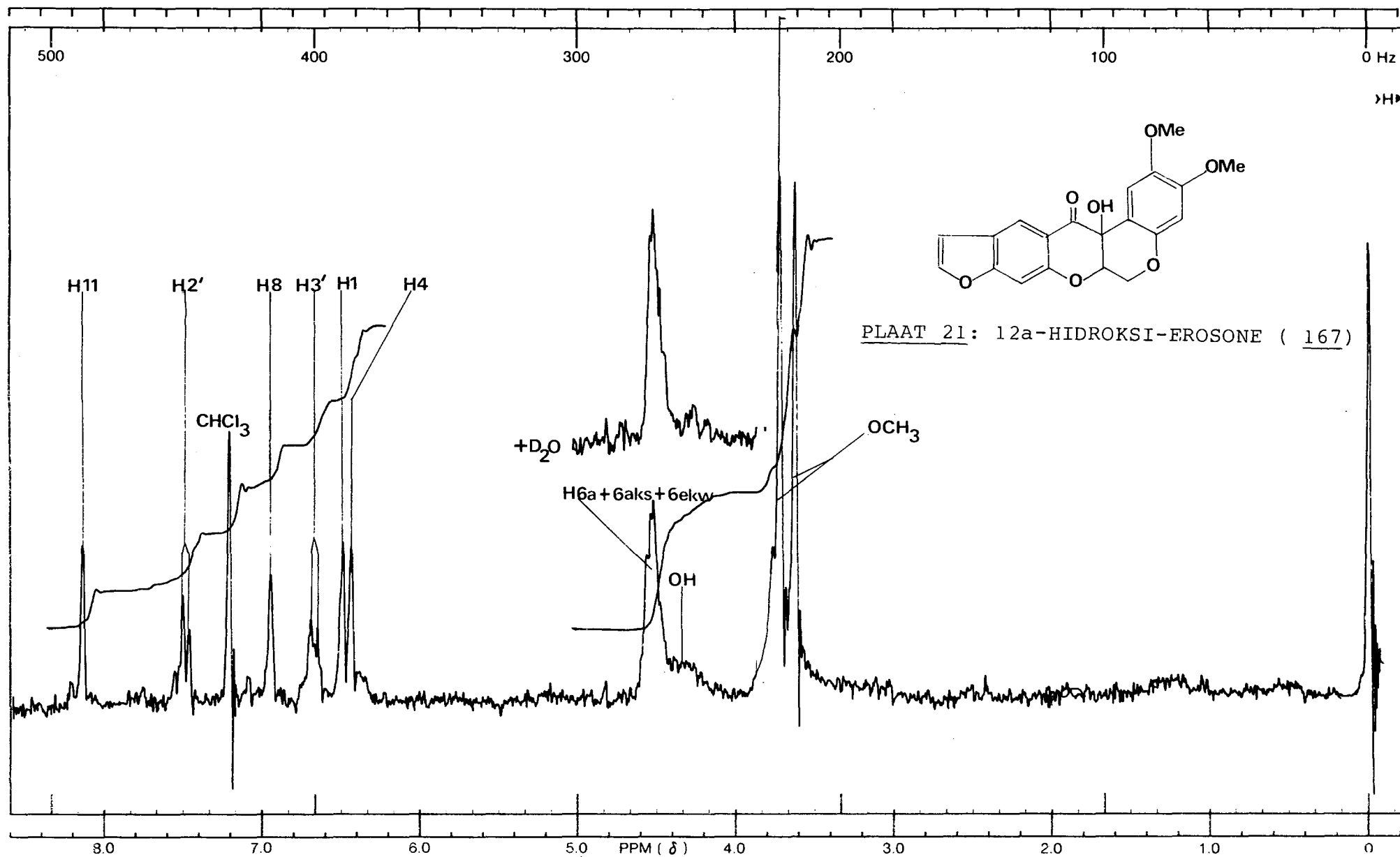


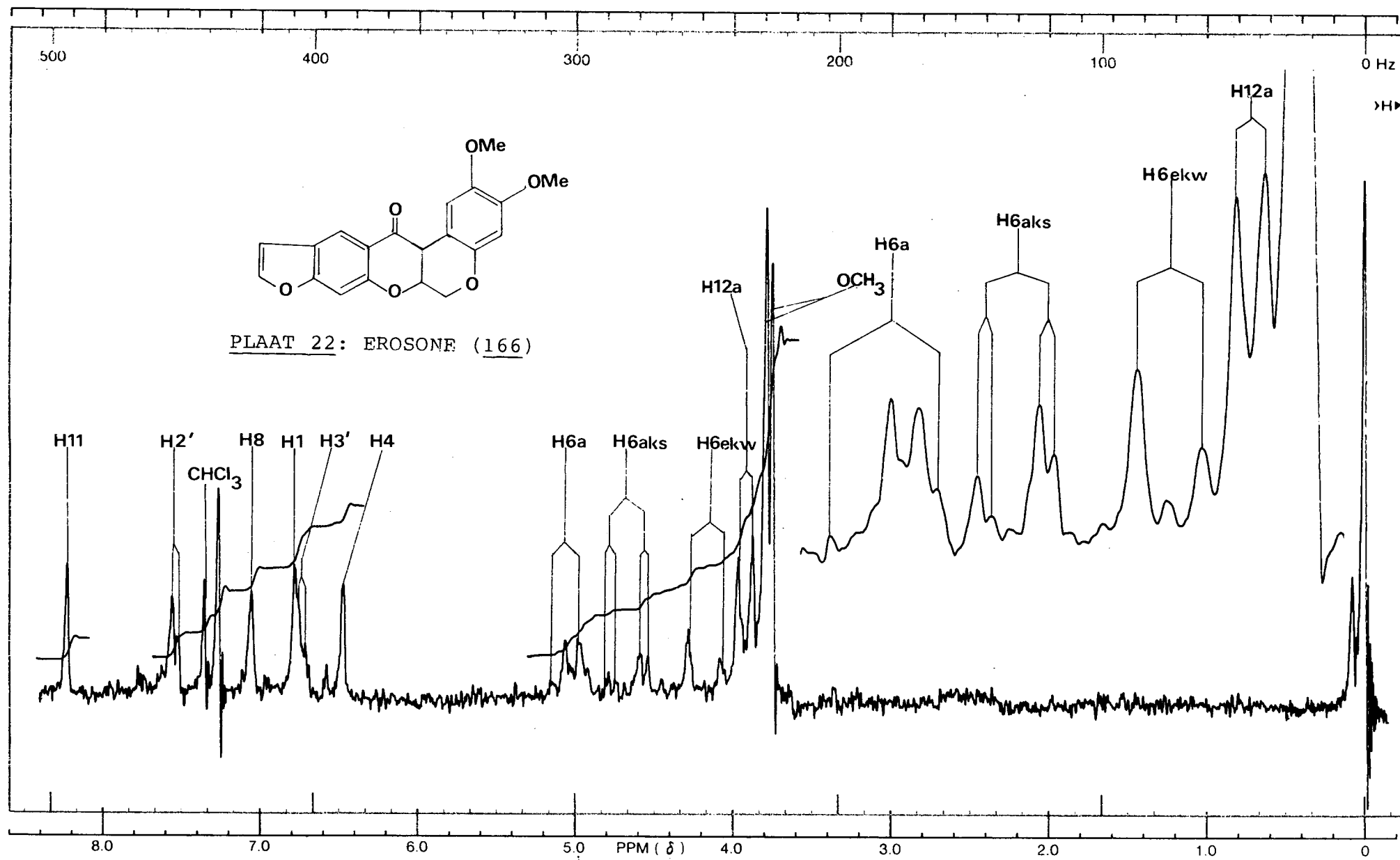


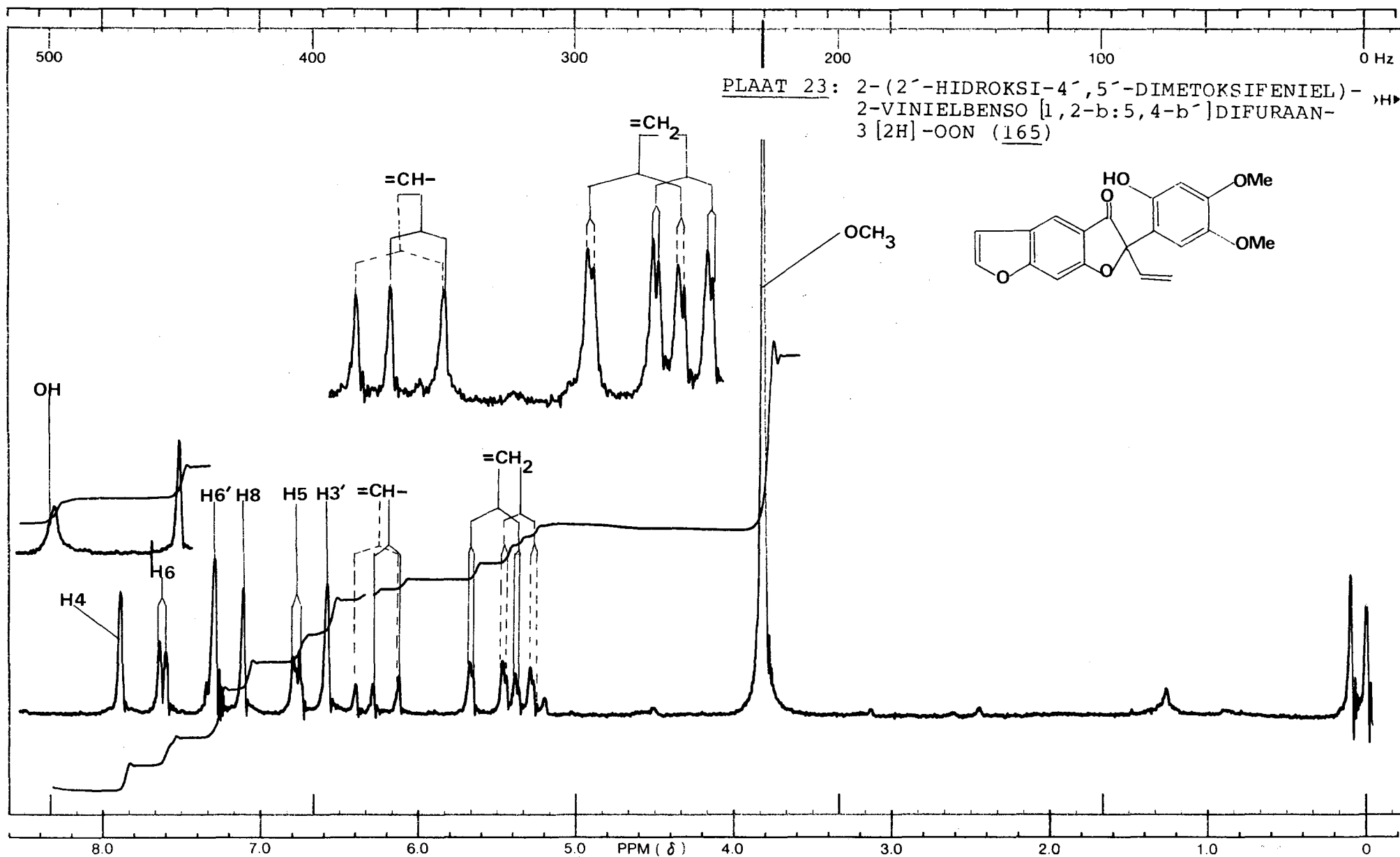


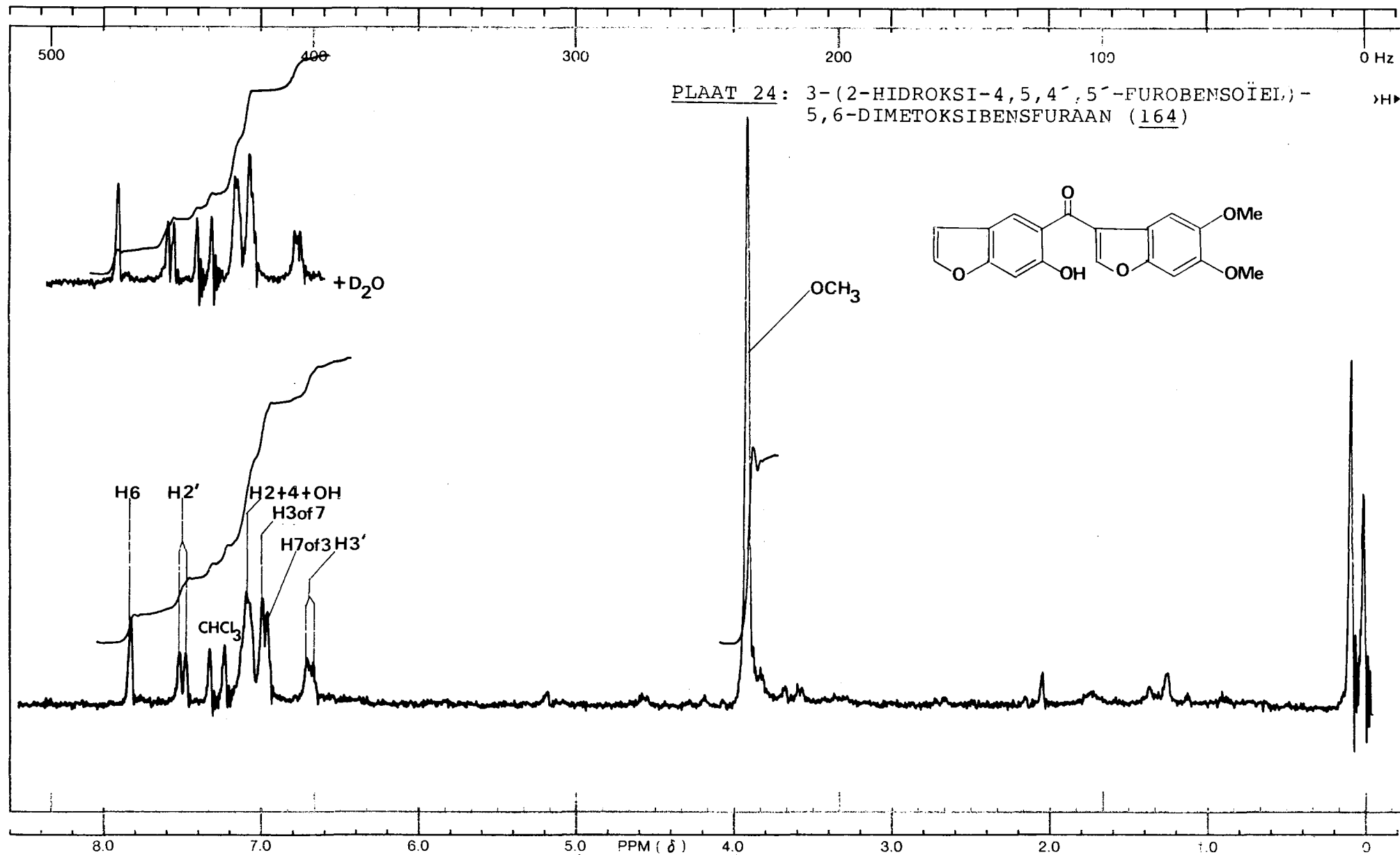
PLAAT 19: NEOBANON (4)

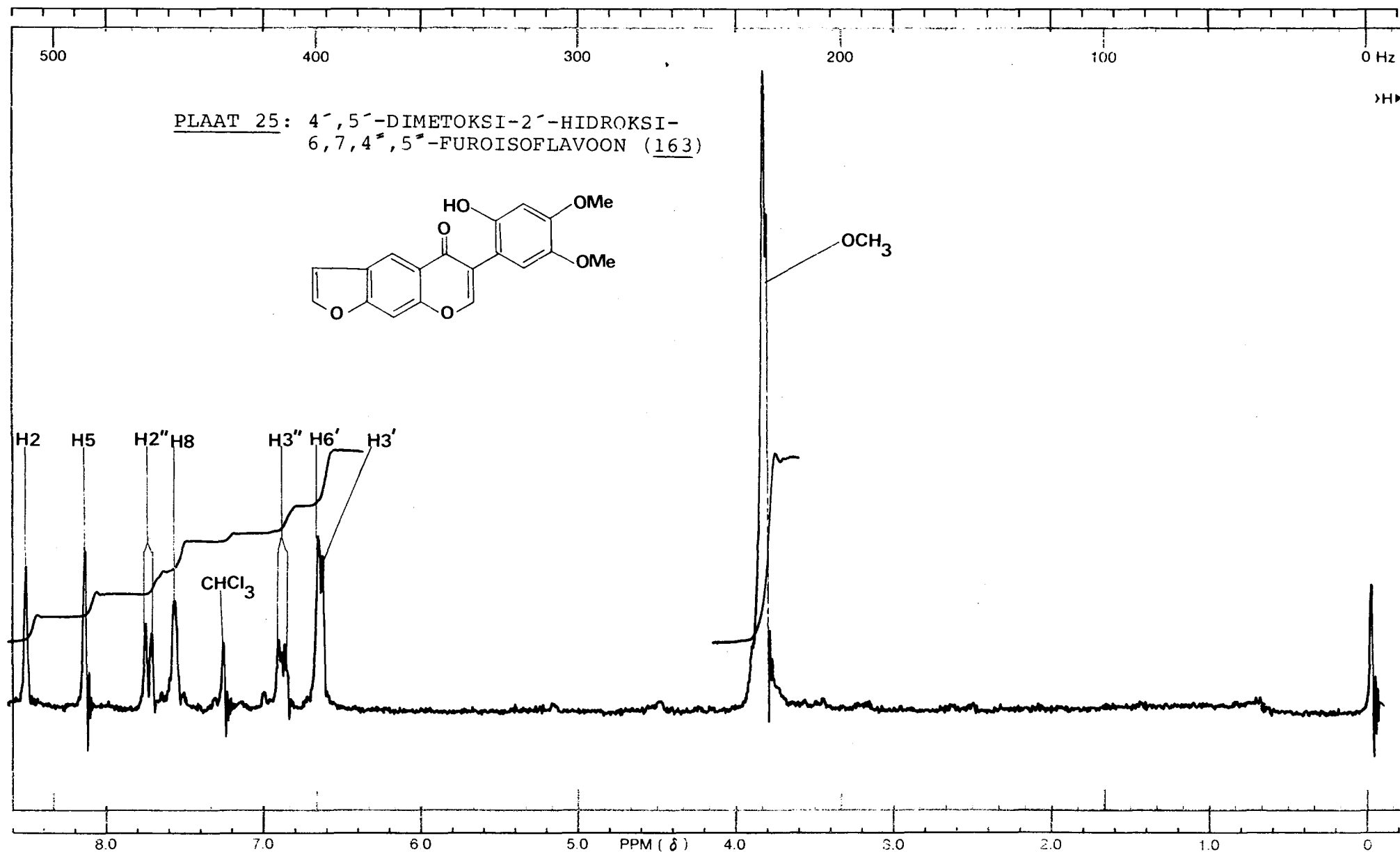


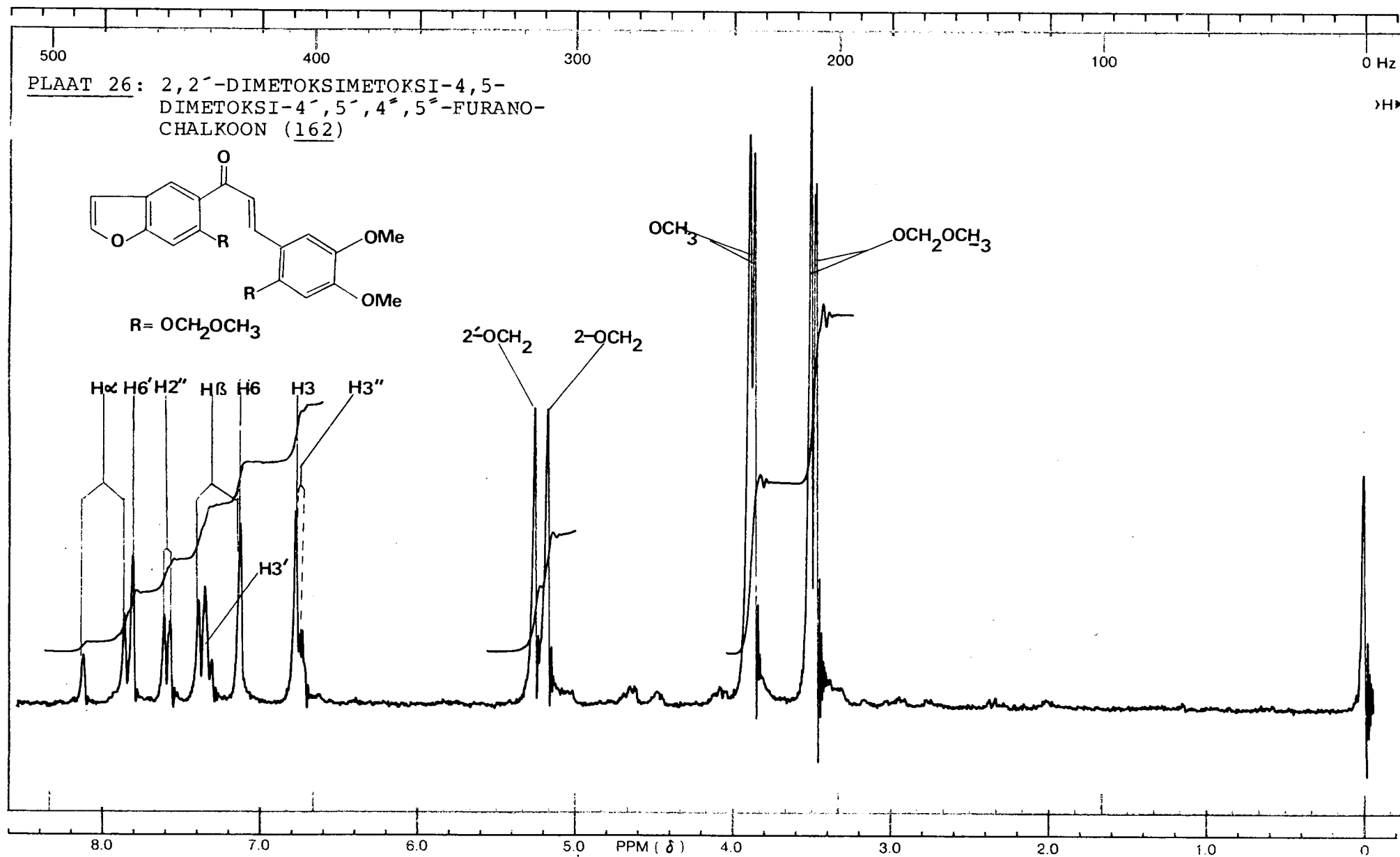


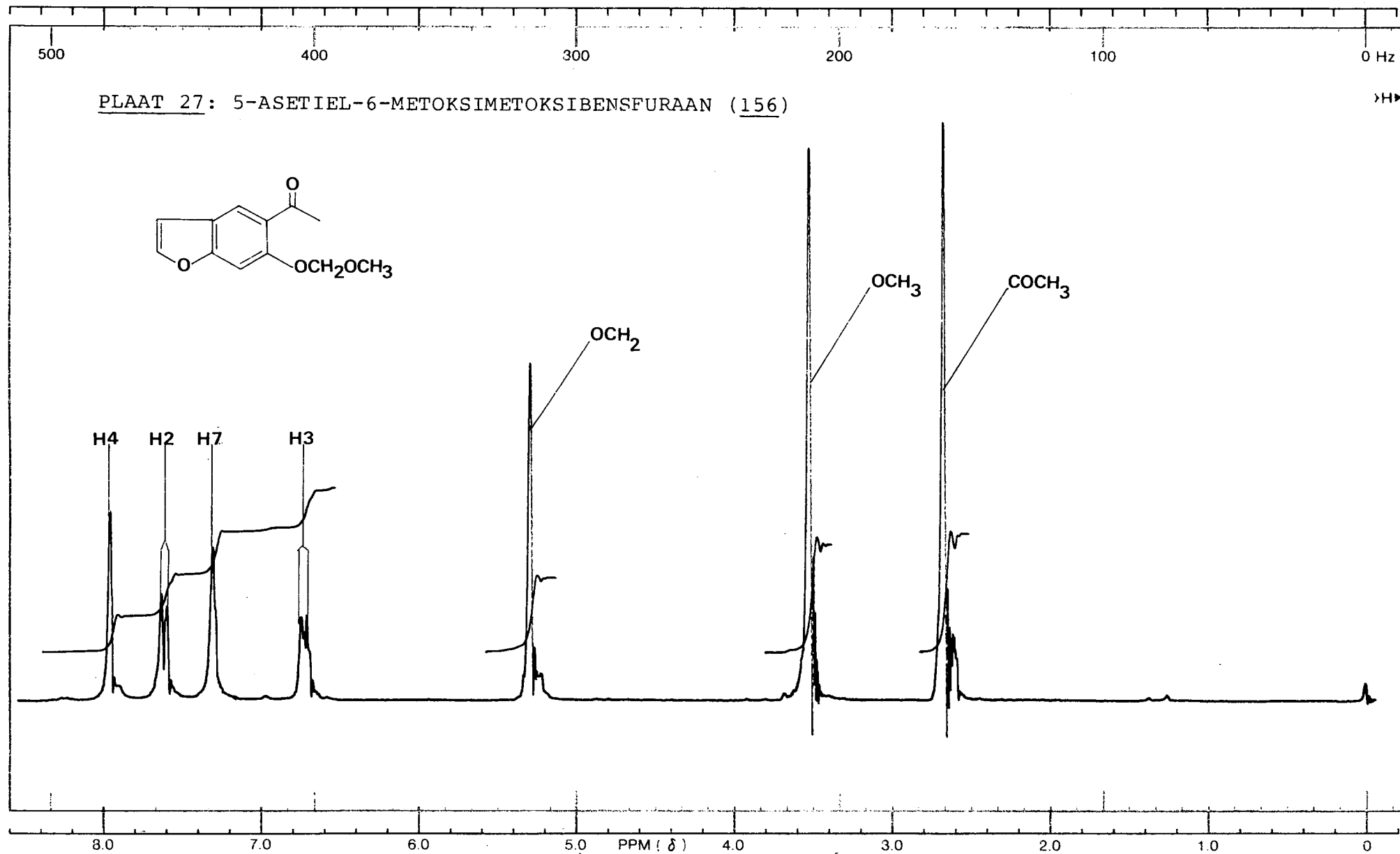


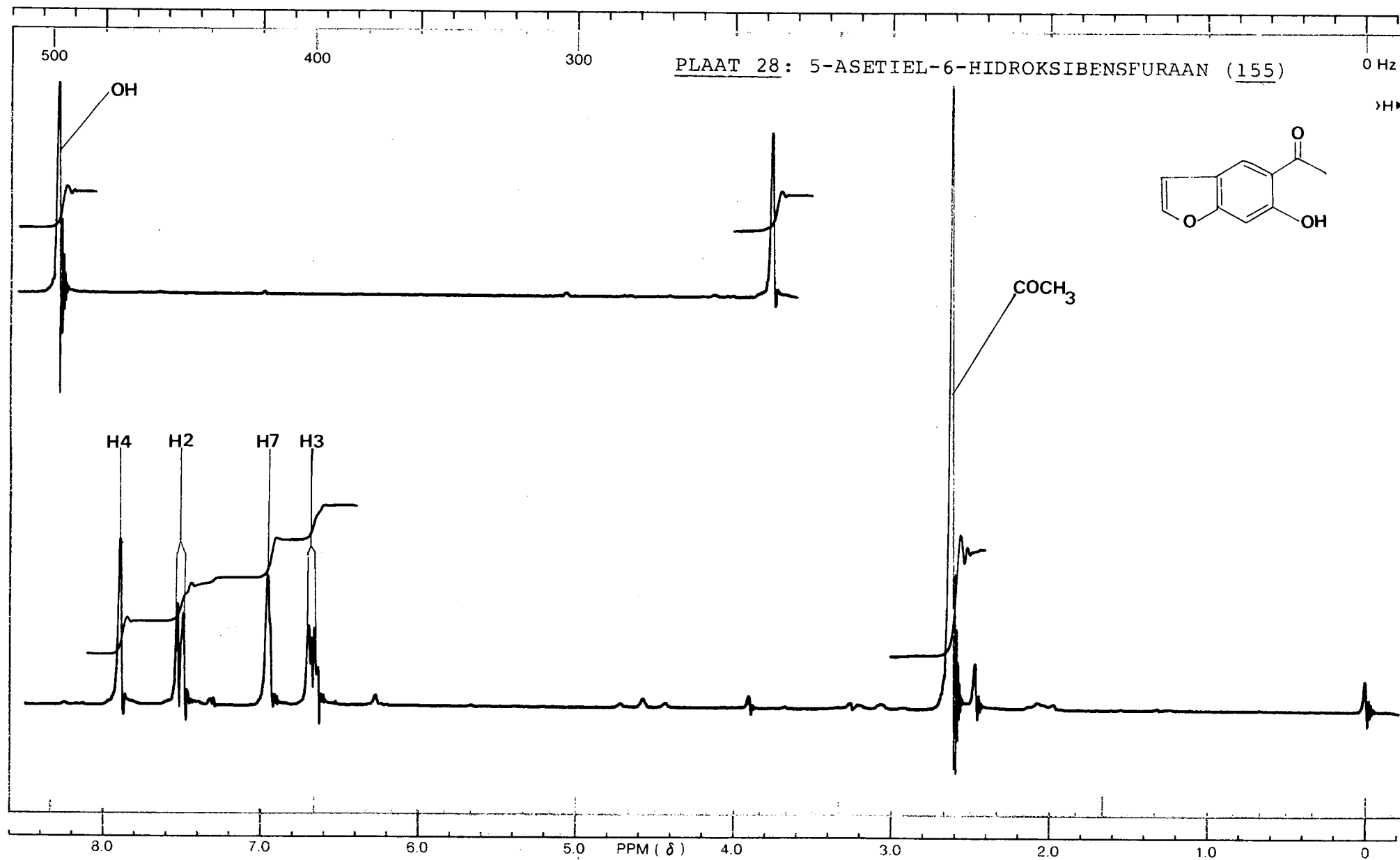


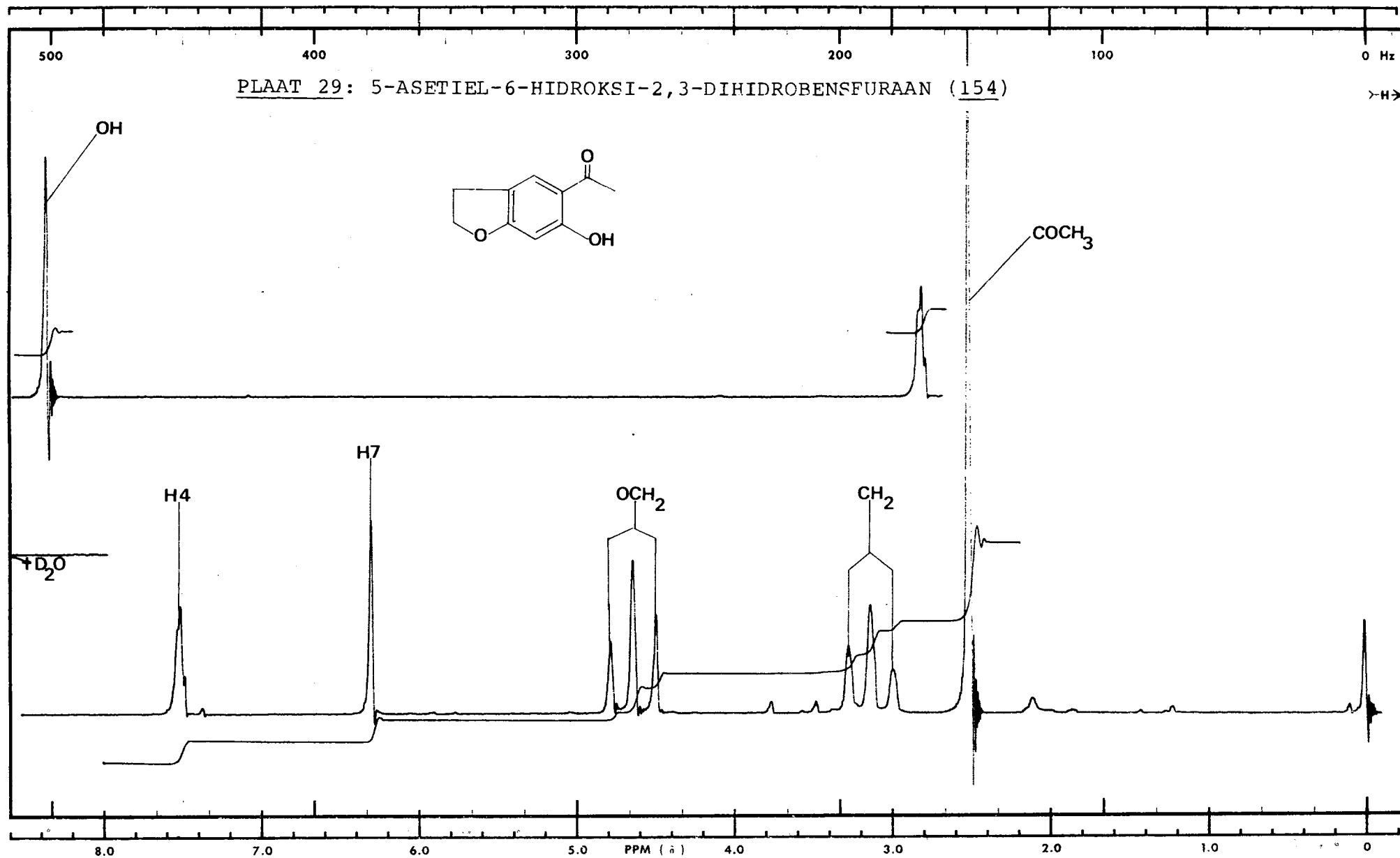


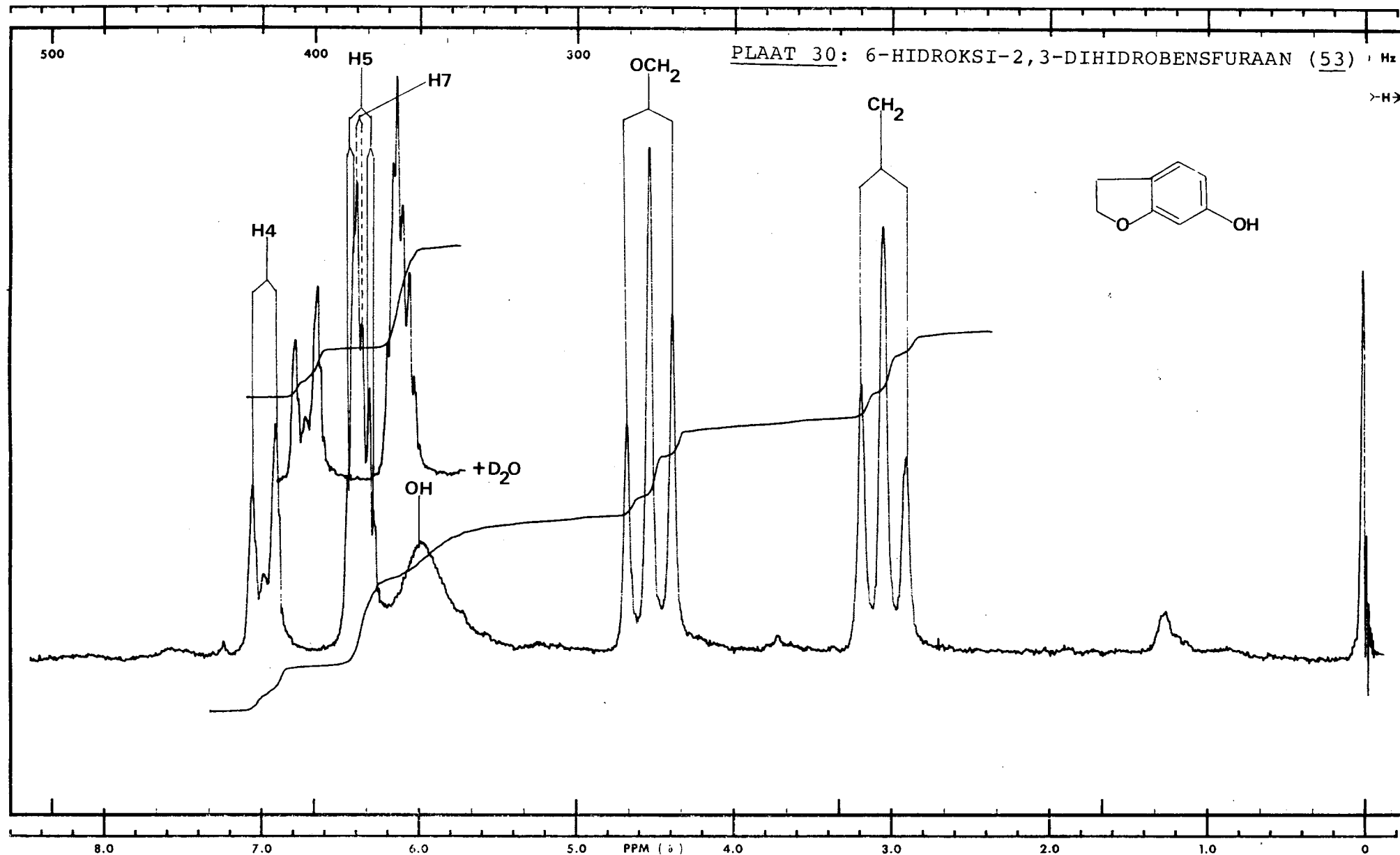


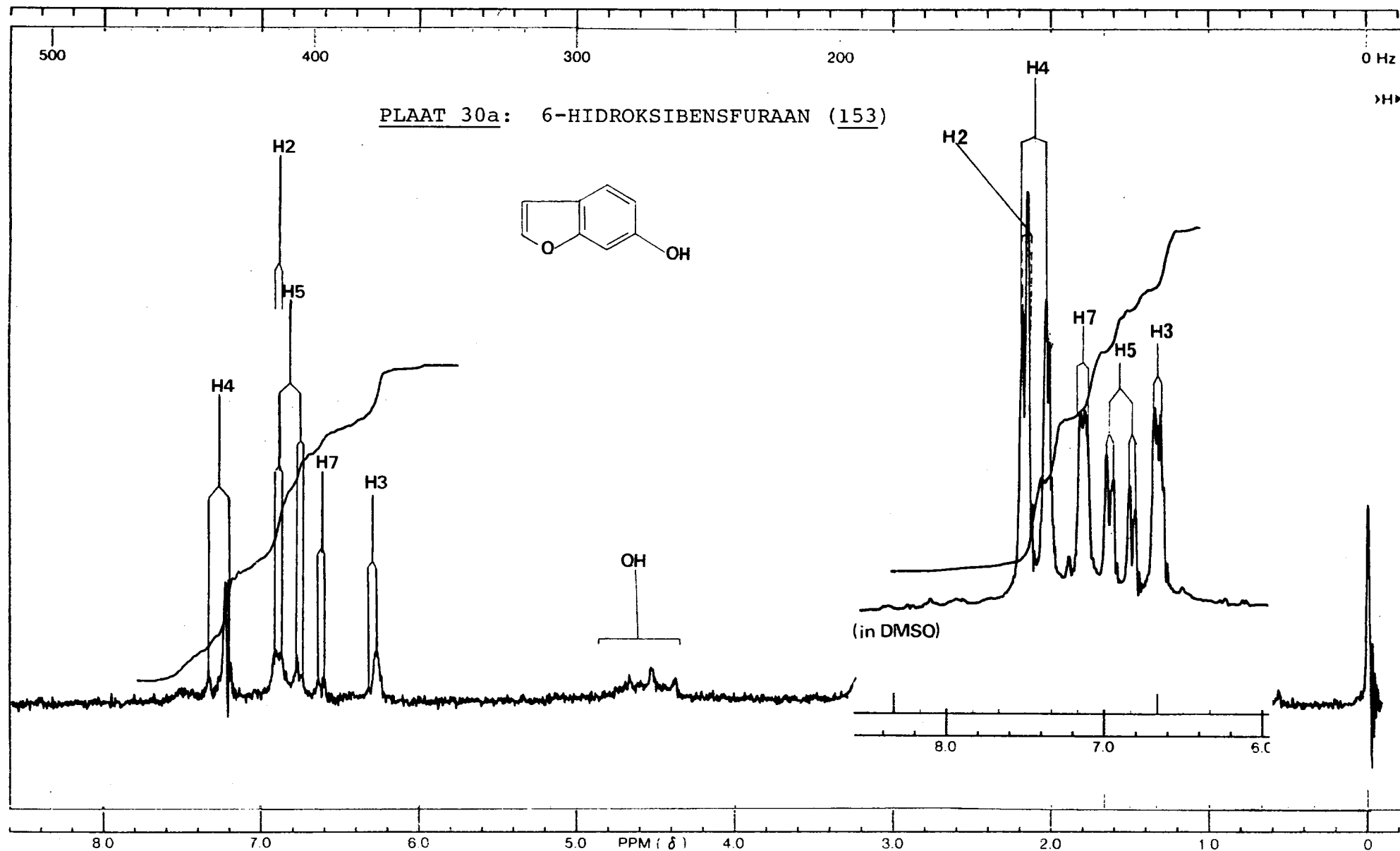


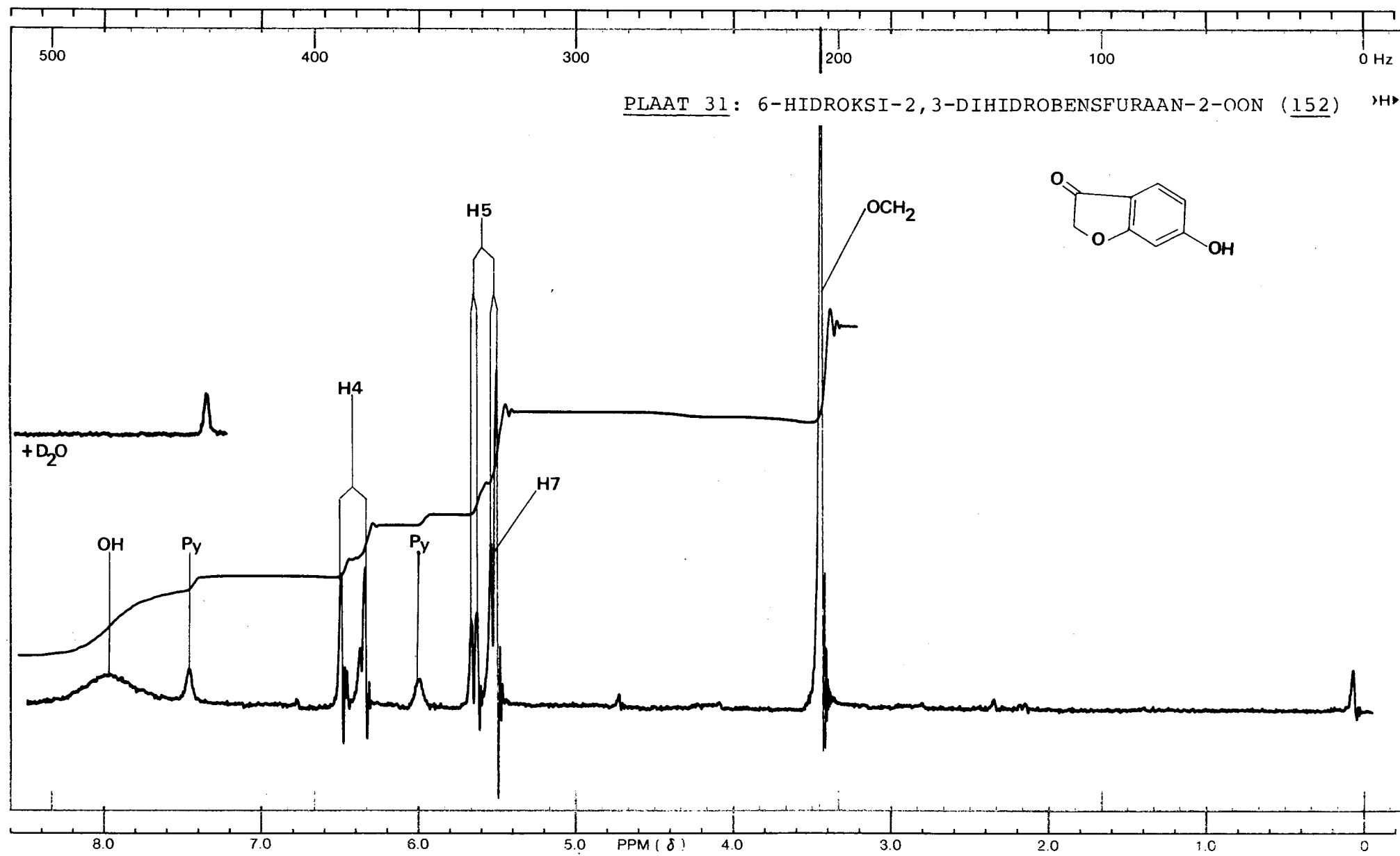








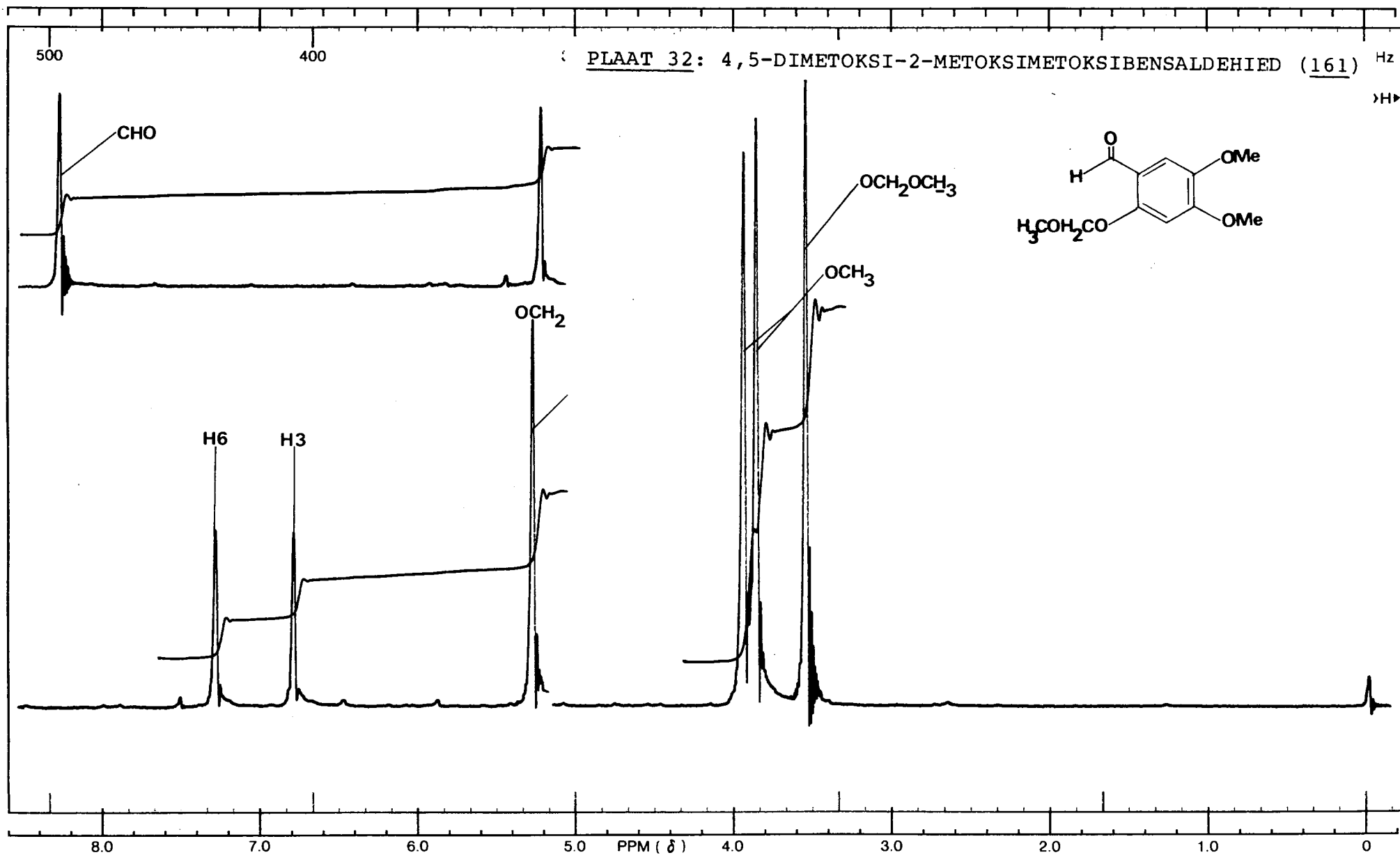




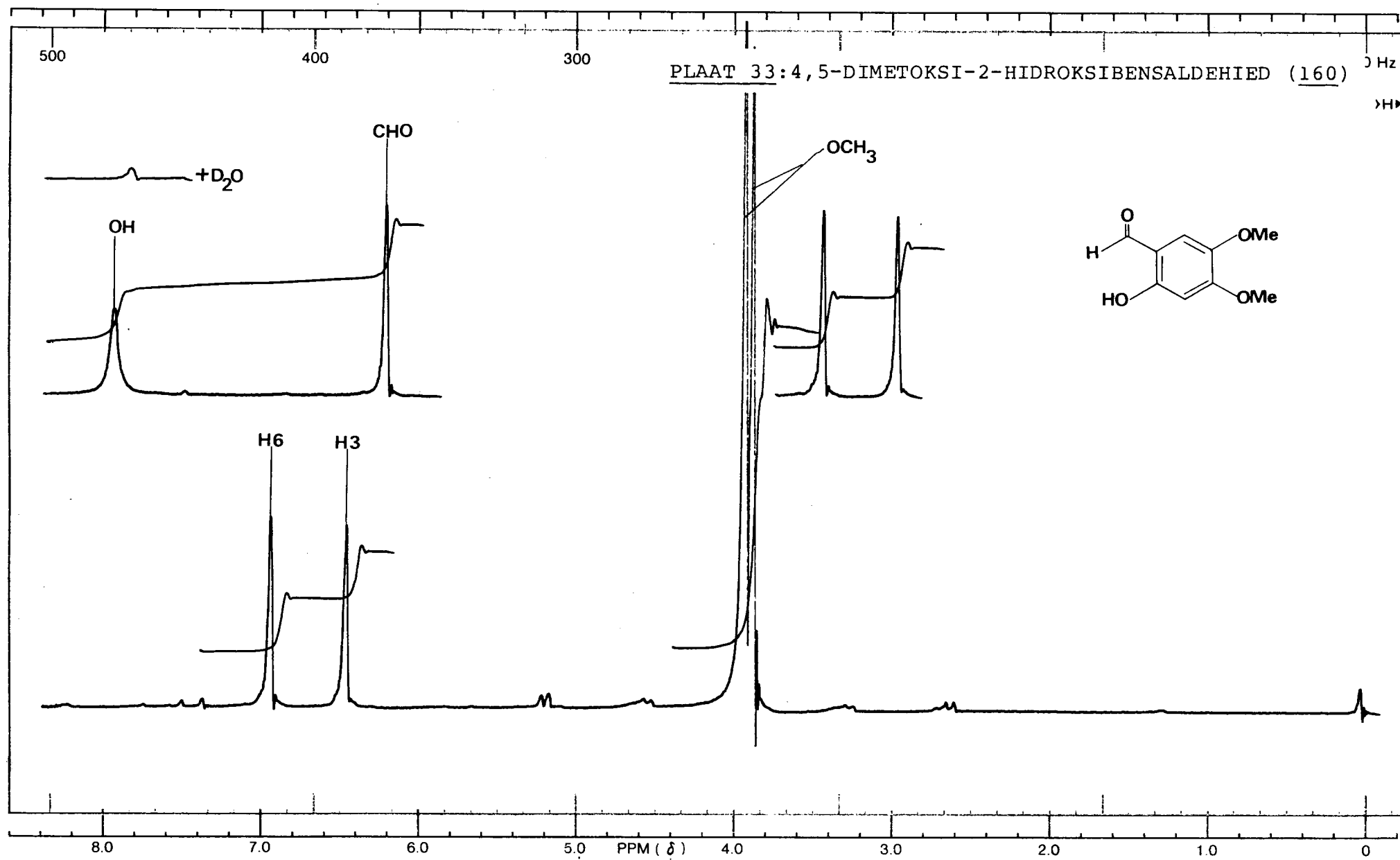
PLAAT 32: 4,5-DIMETOKSI-2-METOKSIMETOKSIBENSALDEHIED (161)

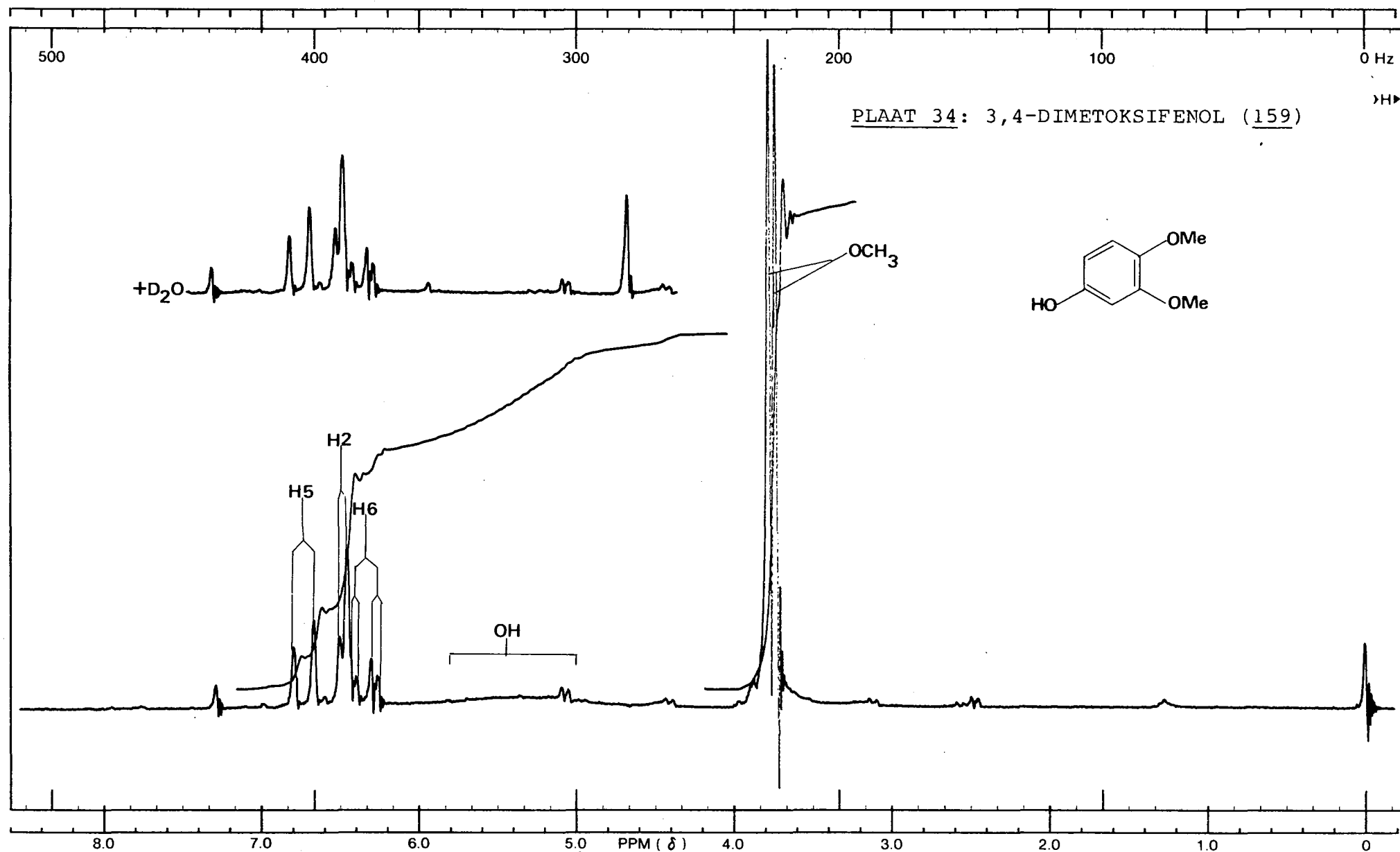
Hz

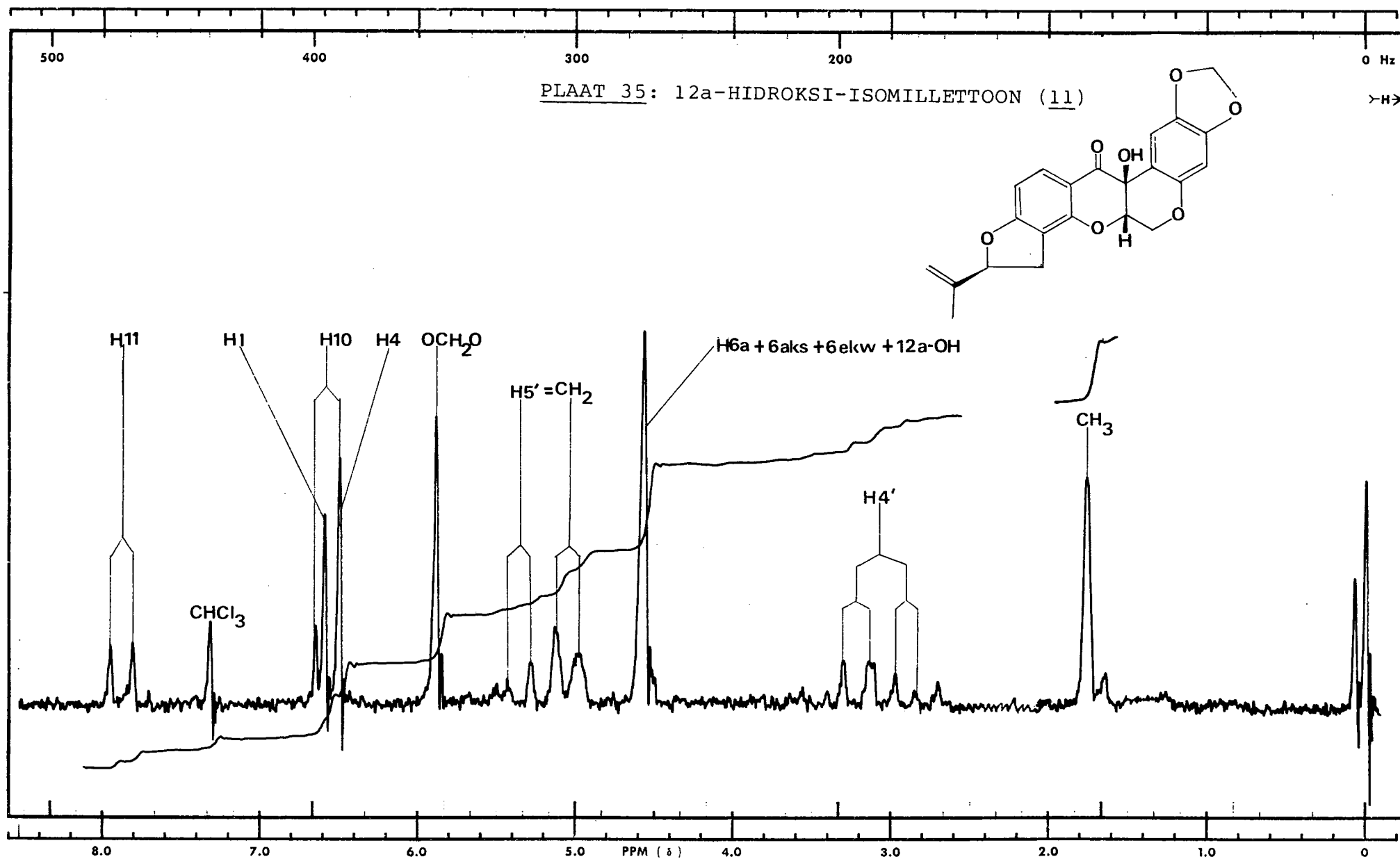
»H»

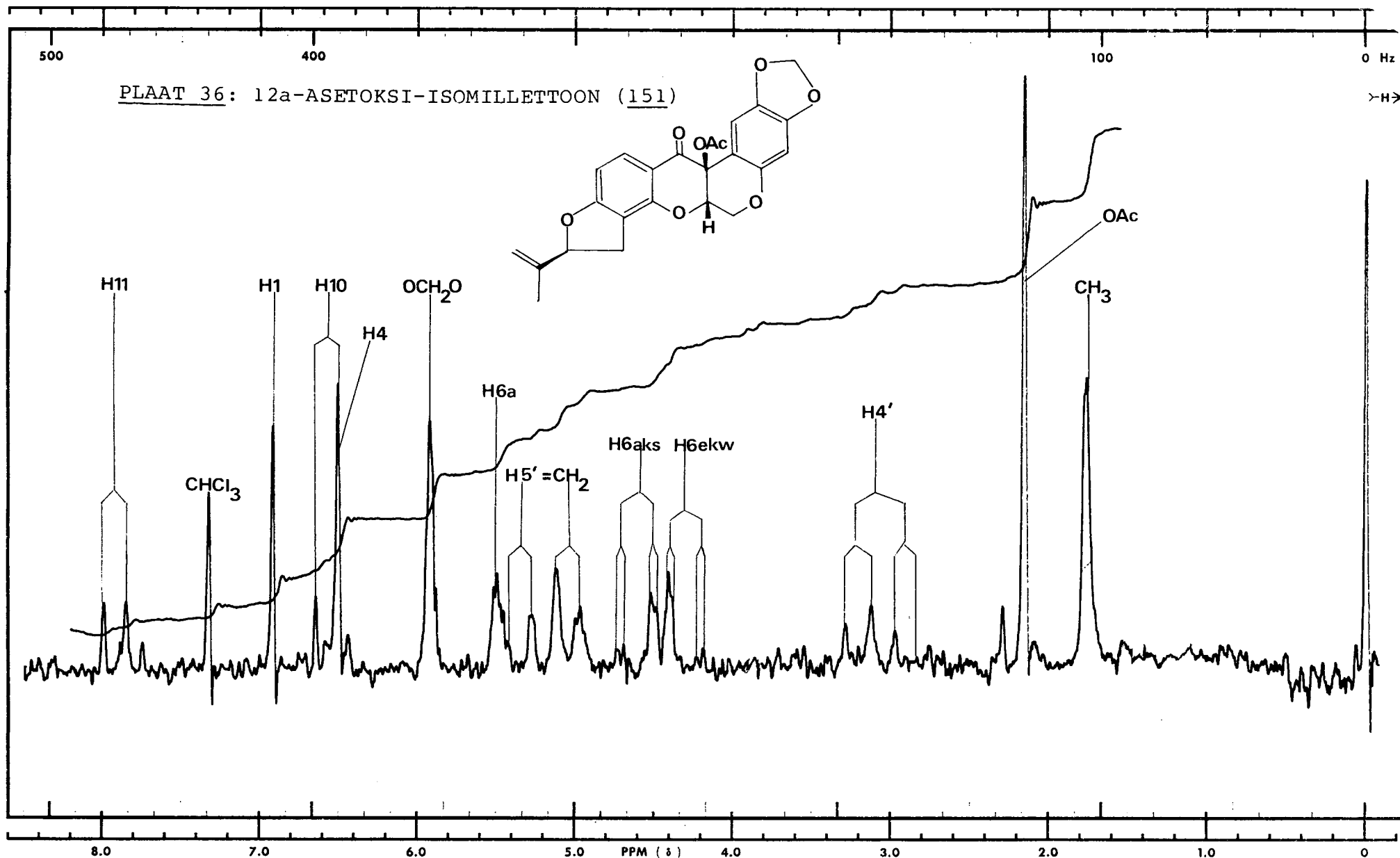


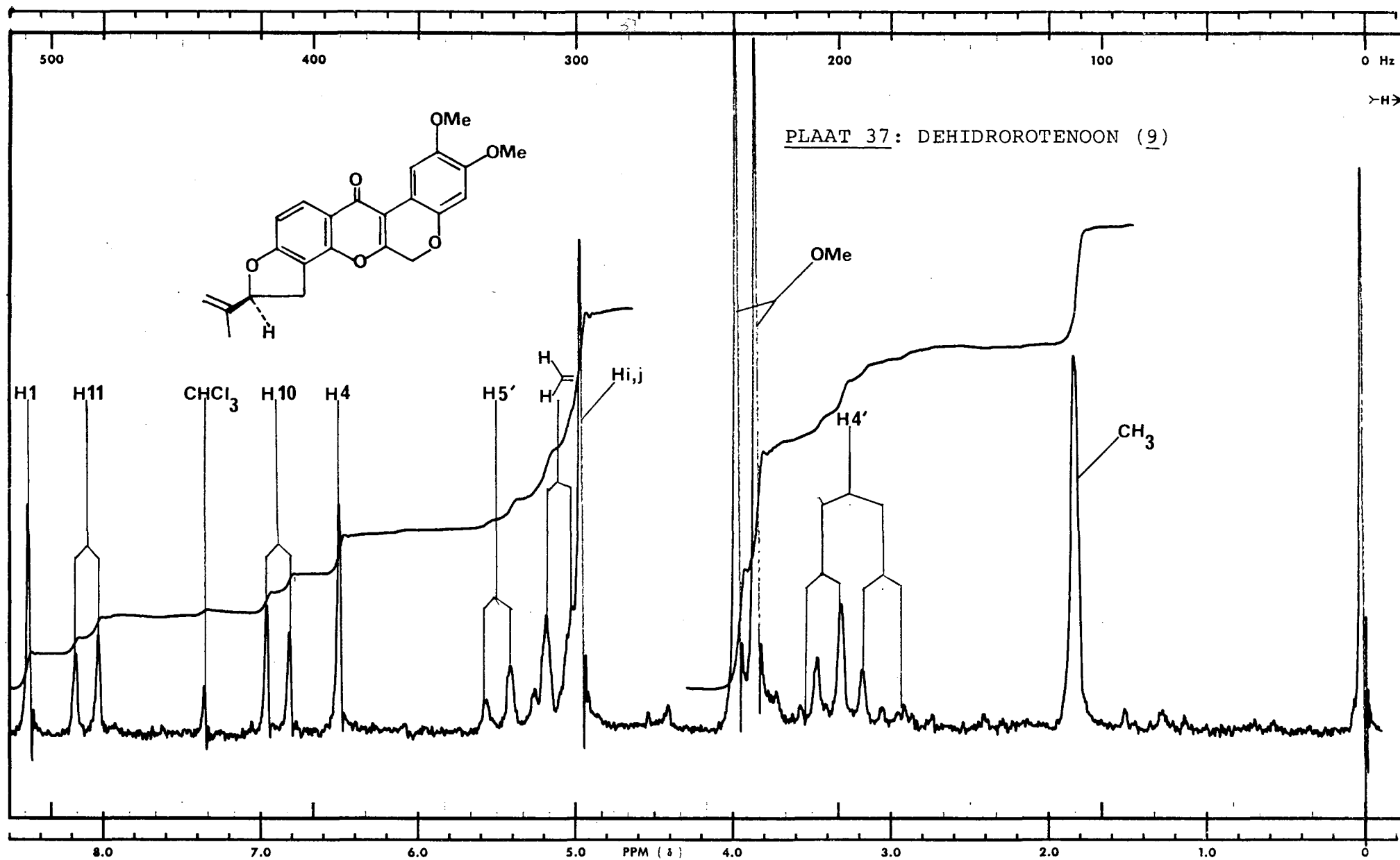
PLAAT 33: 4,5-DIMETOKSI-2-HIDROKSIBENSALDEHIED (160)

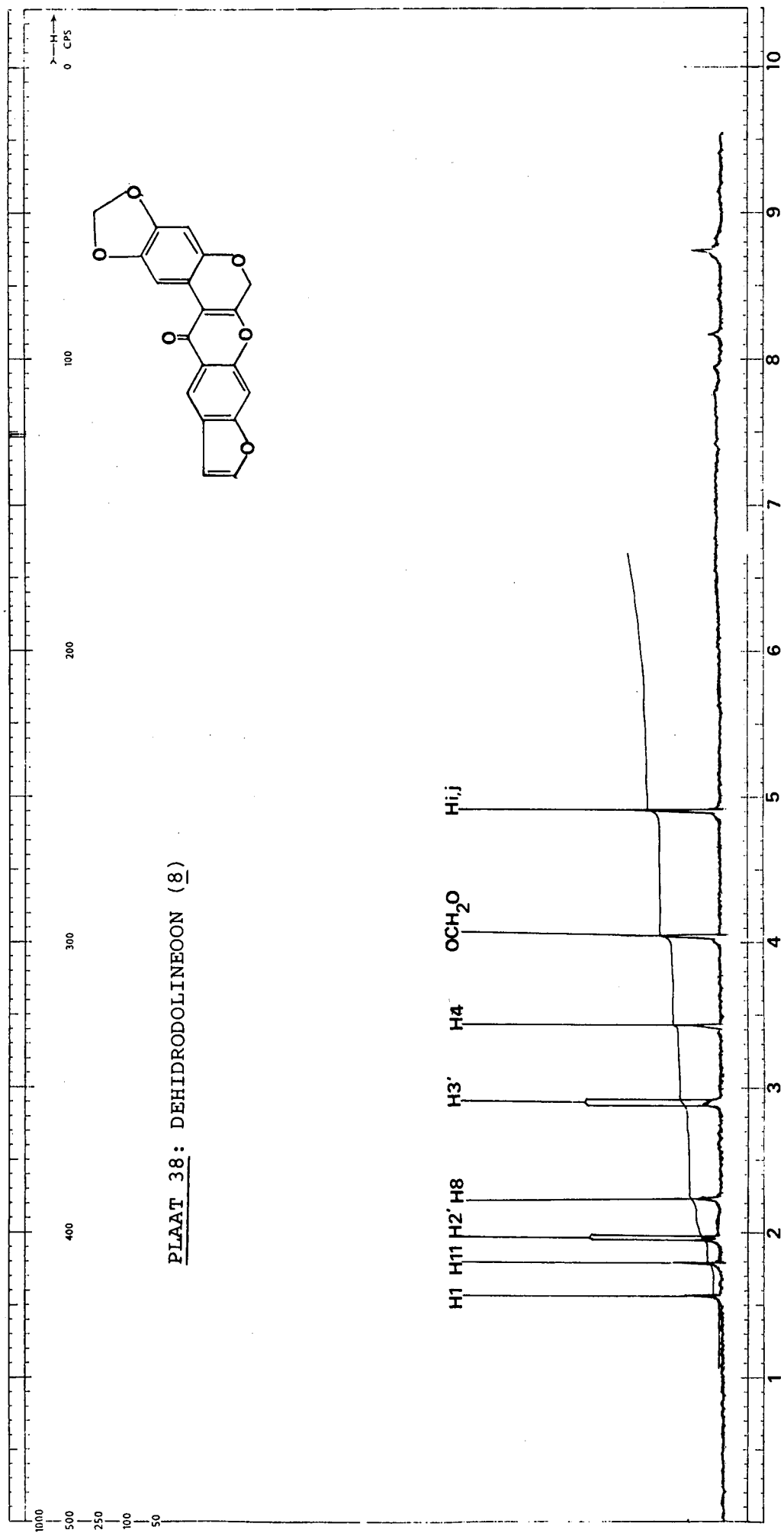




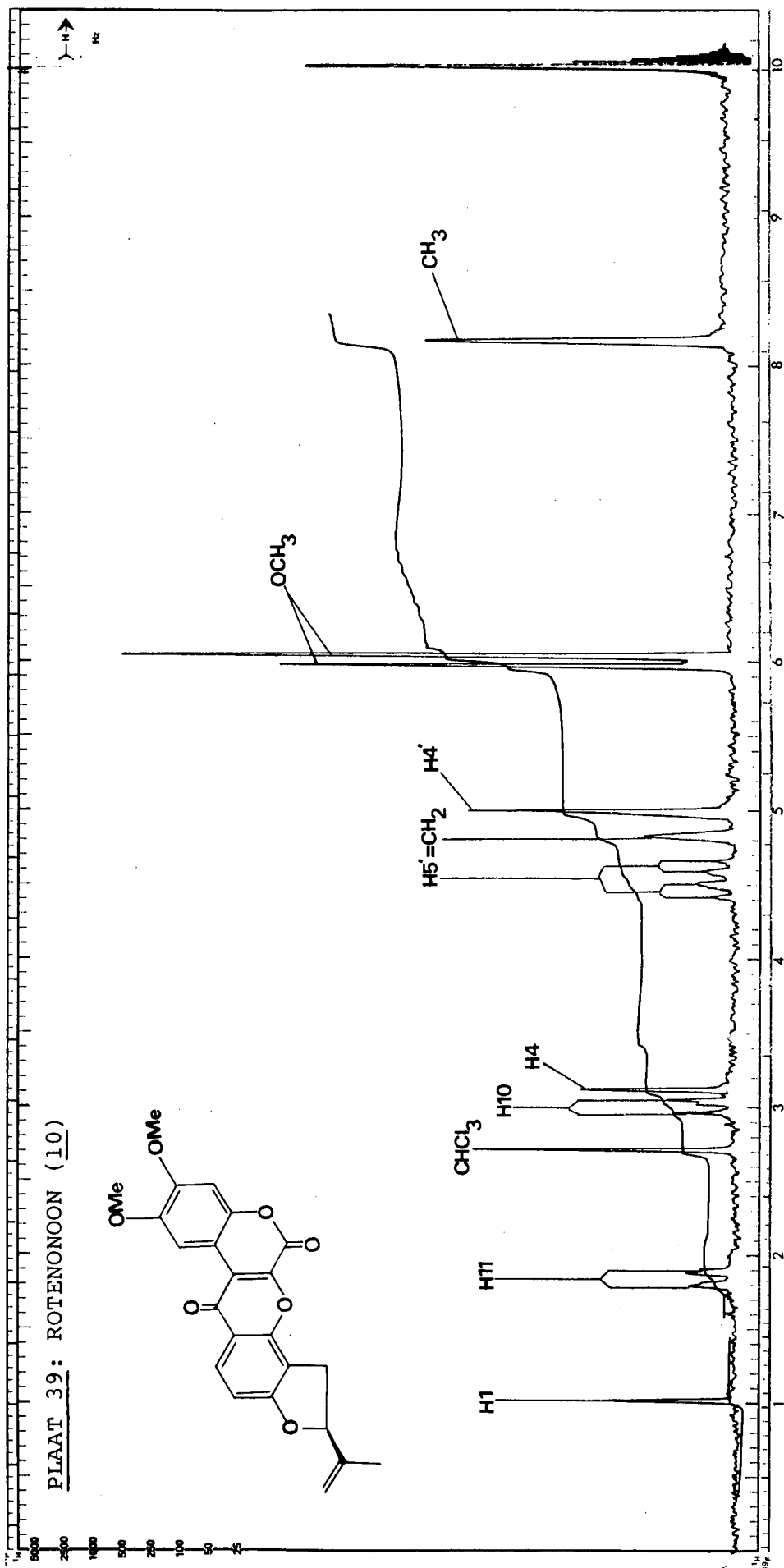
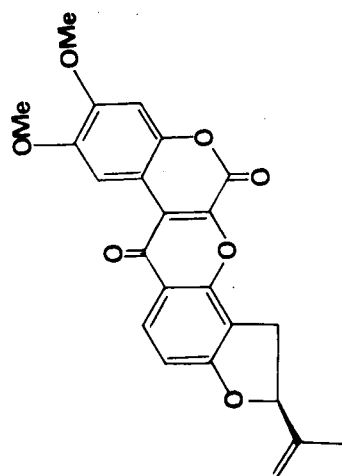


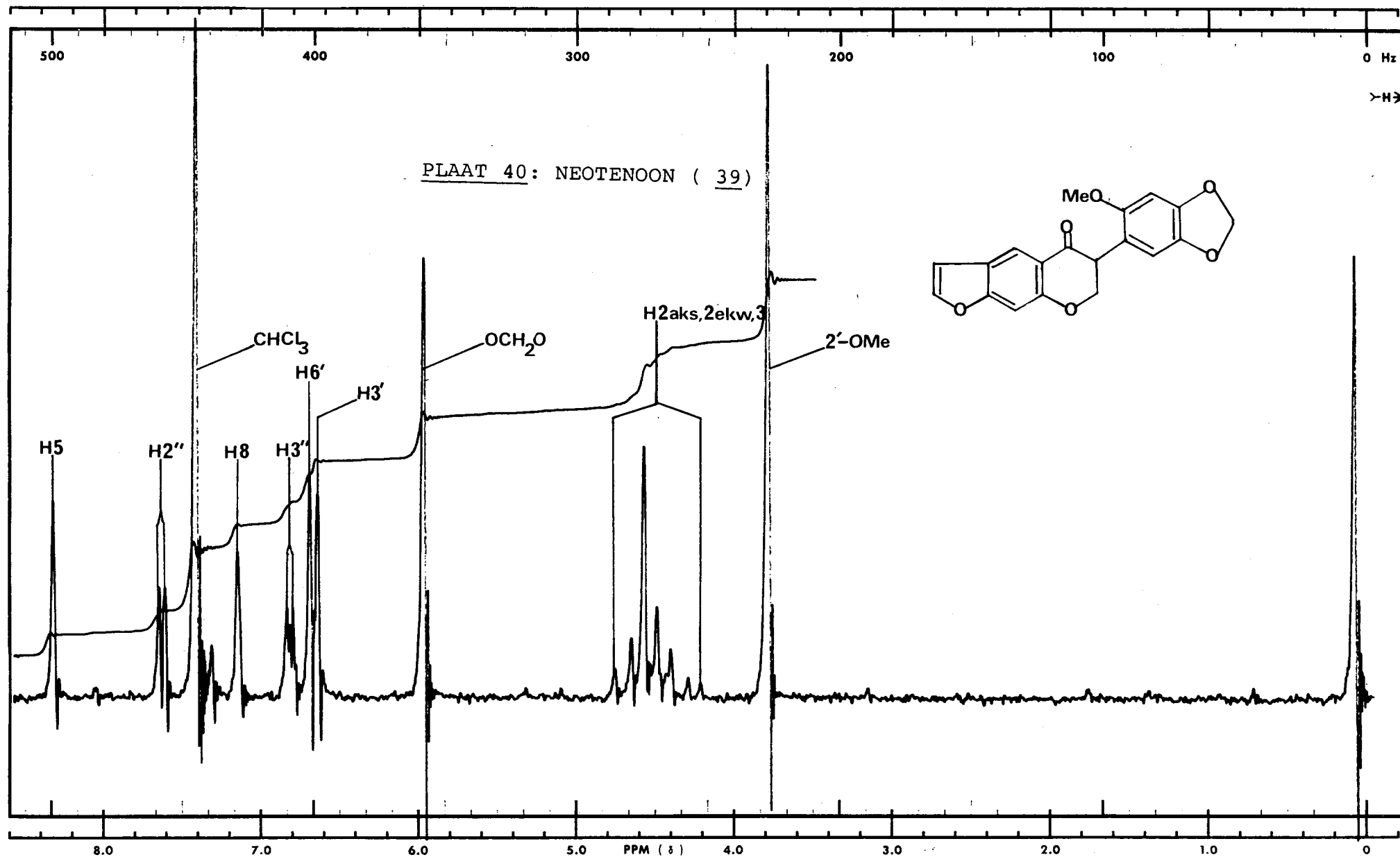


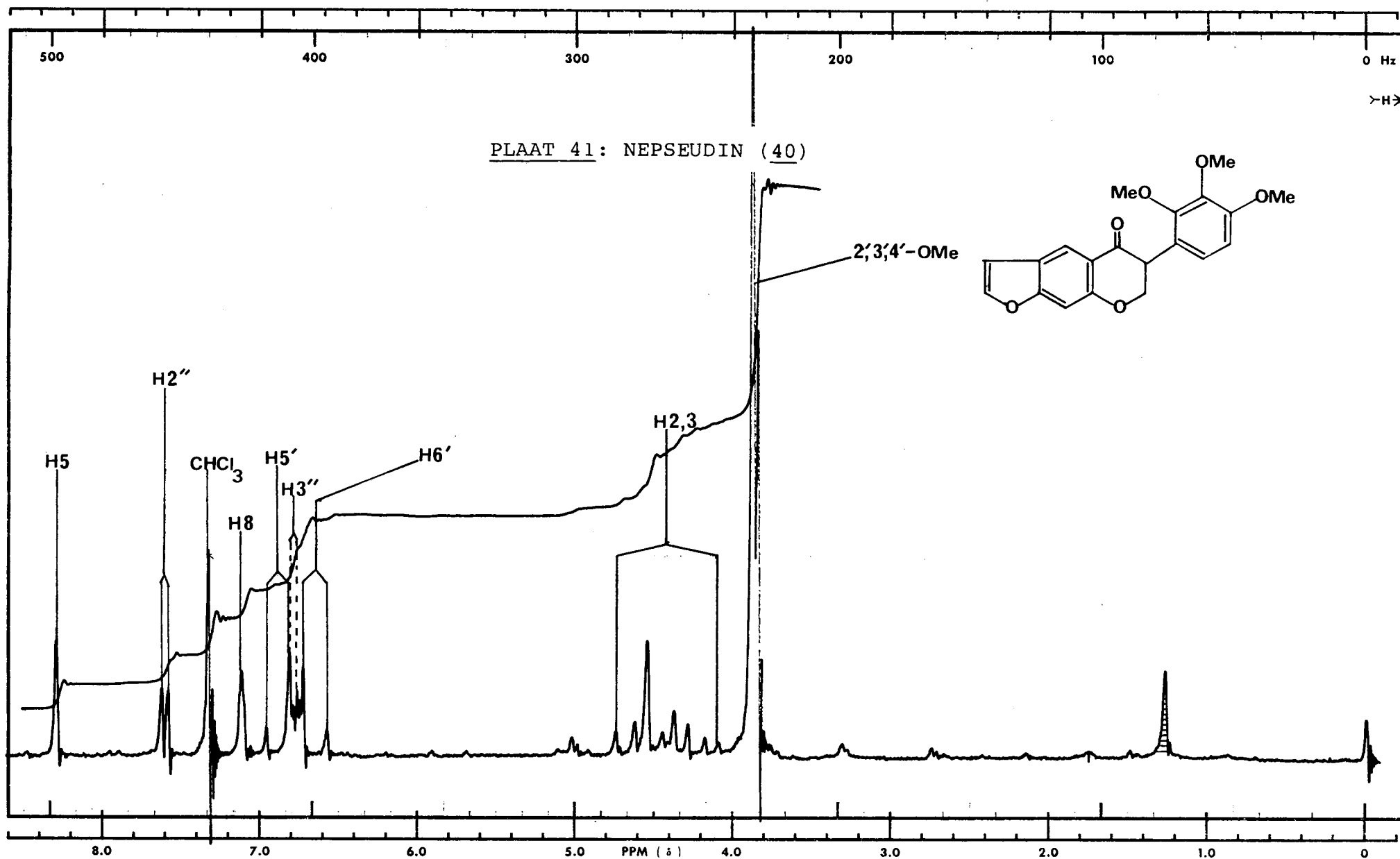


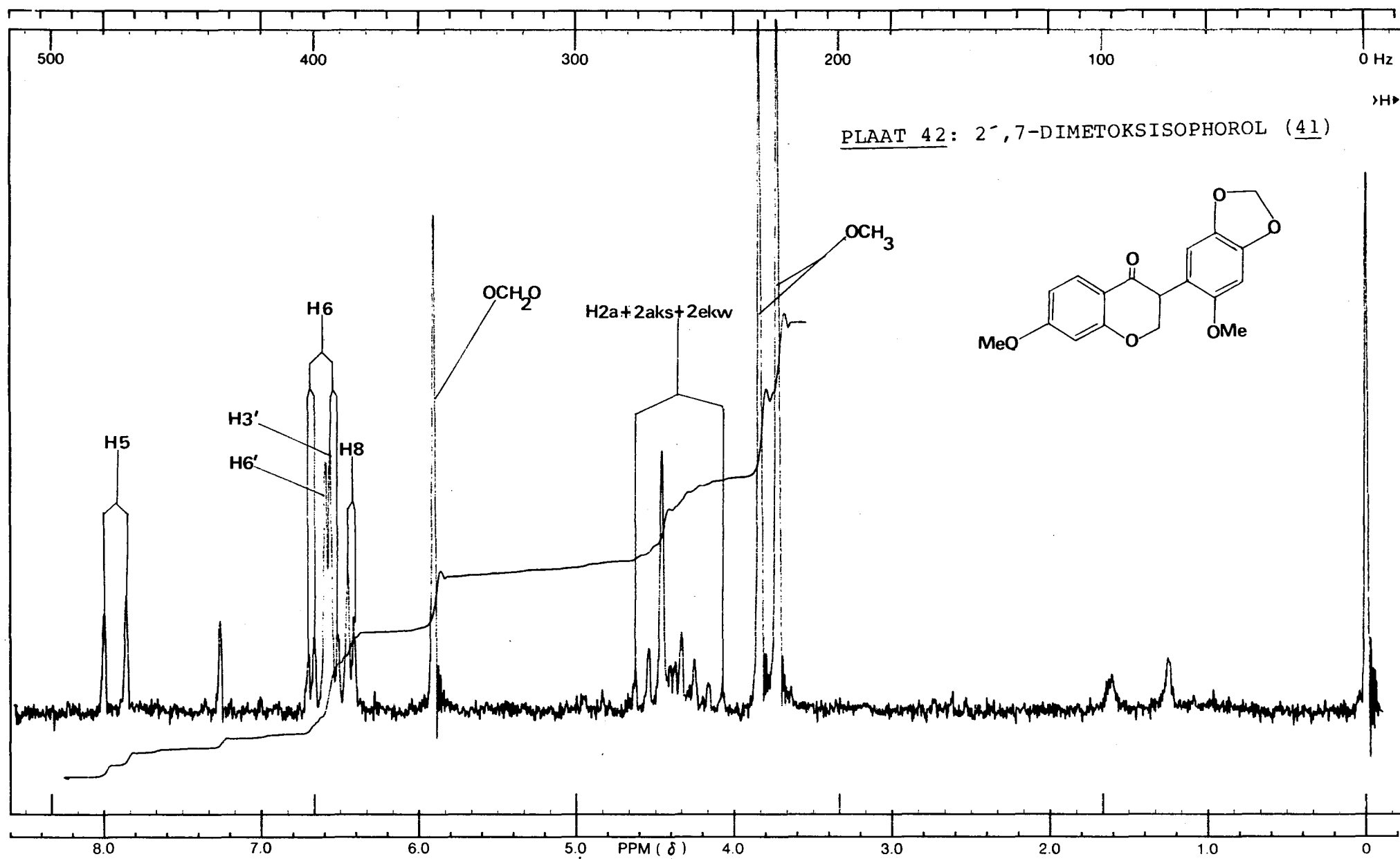


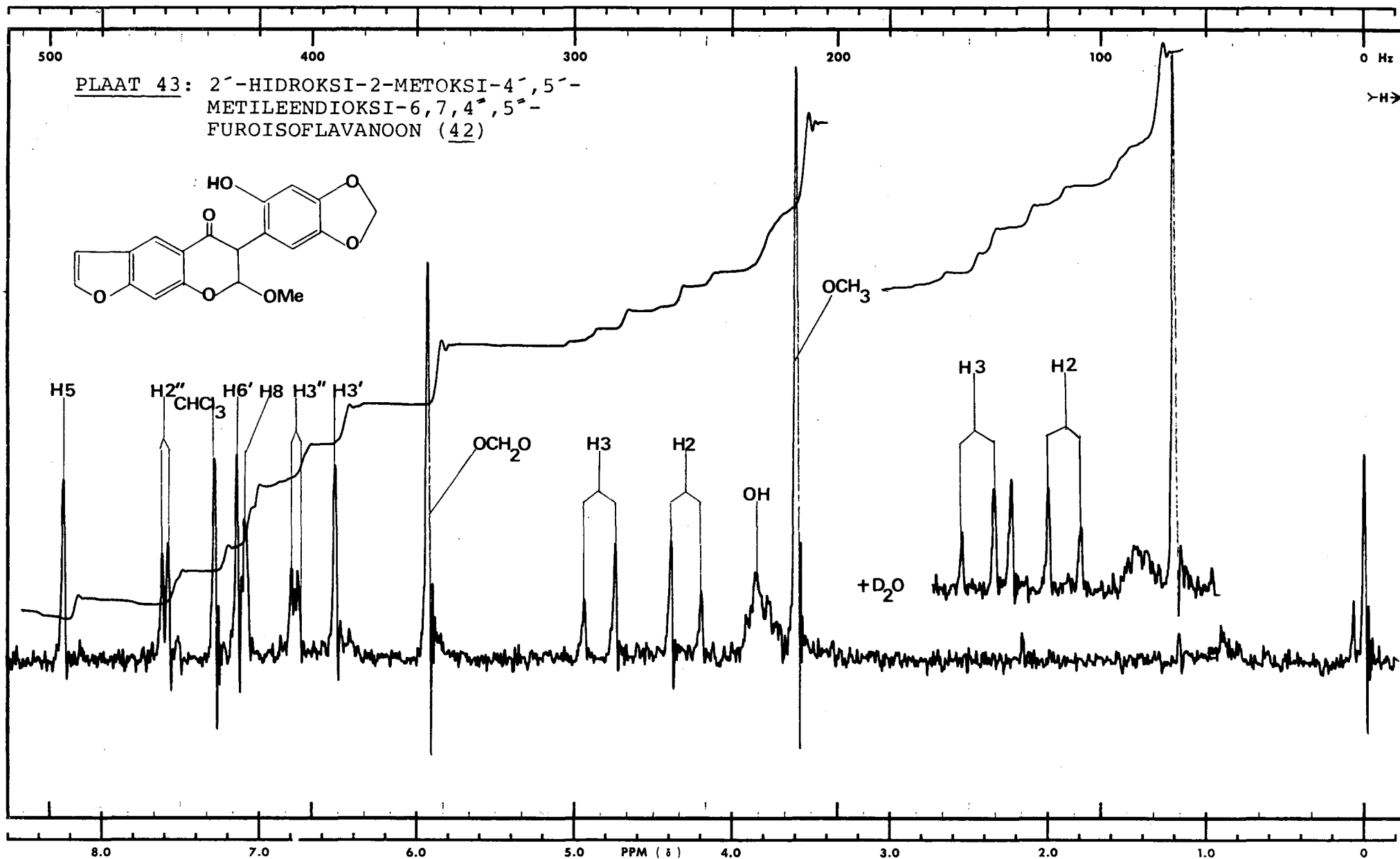
PLAAT 39: ROTENONNOON (10)

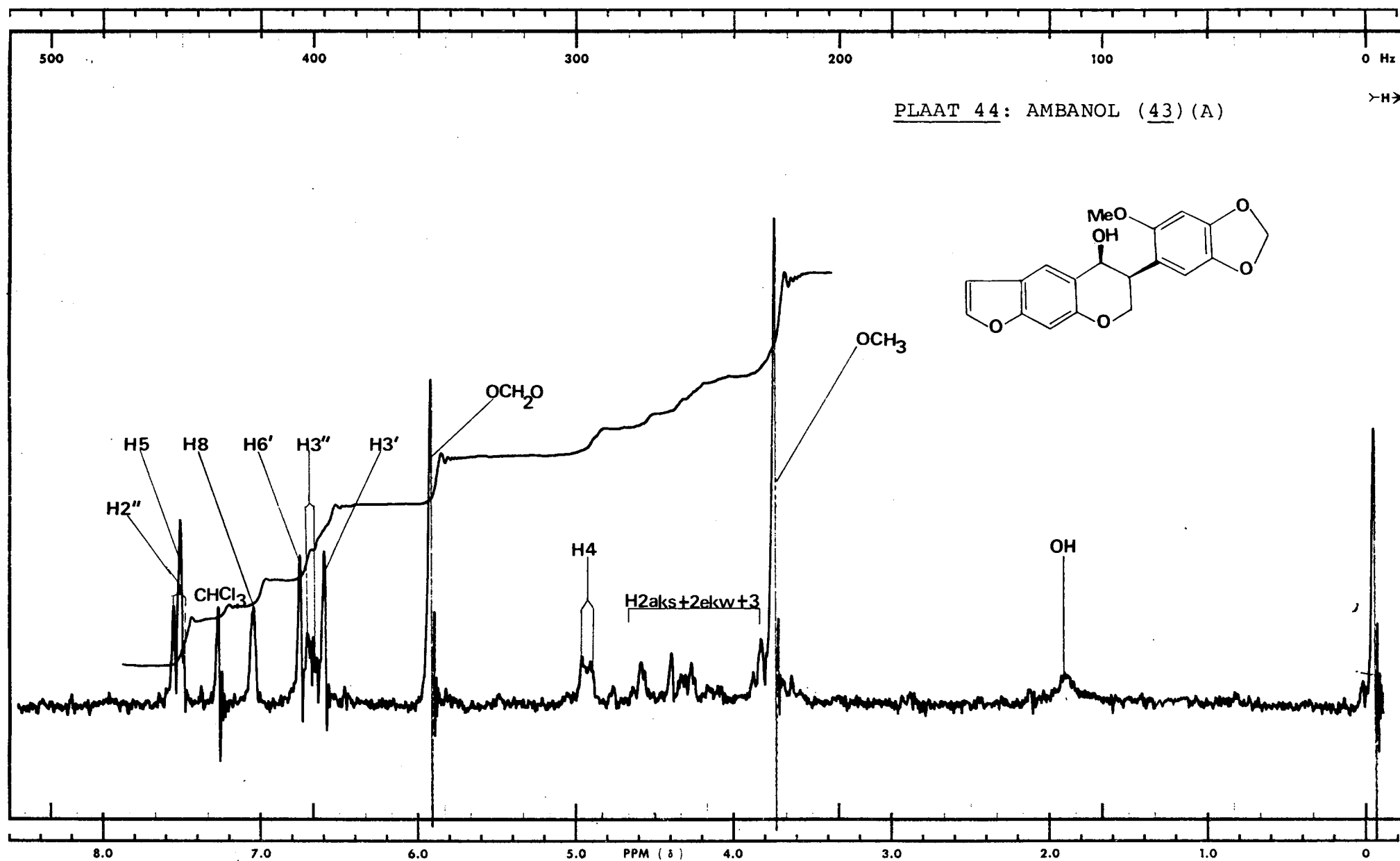


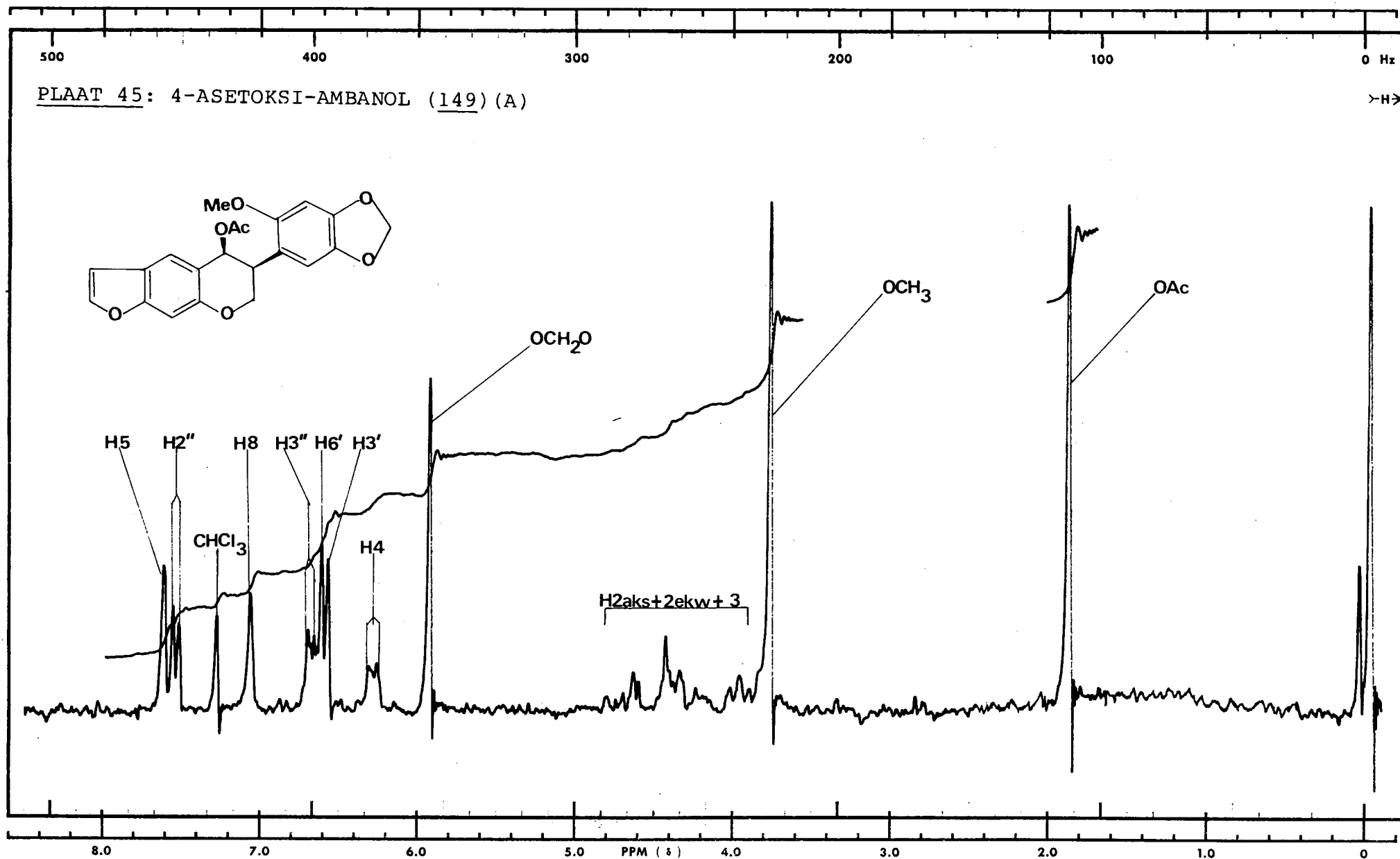


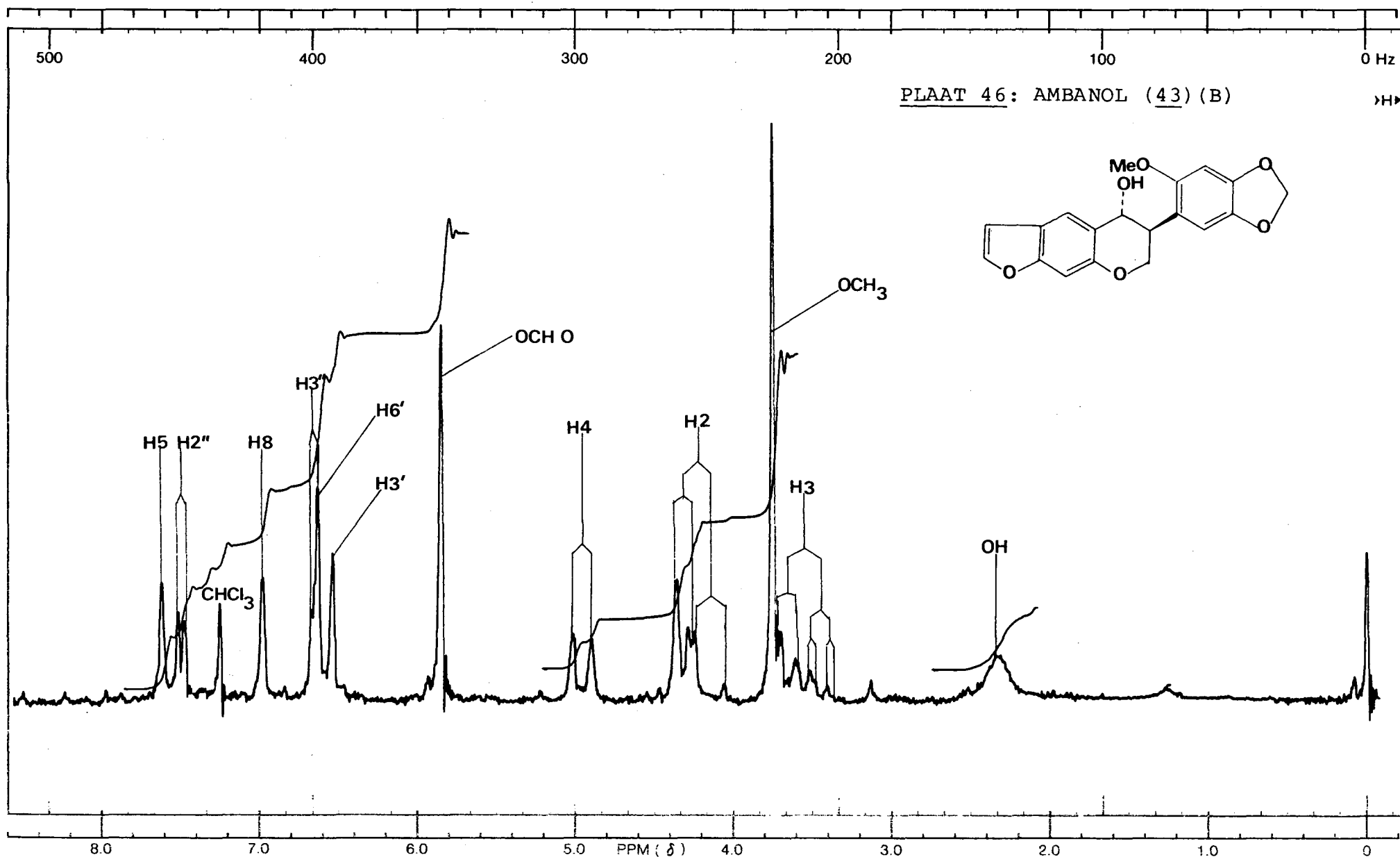


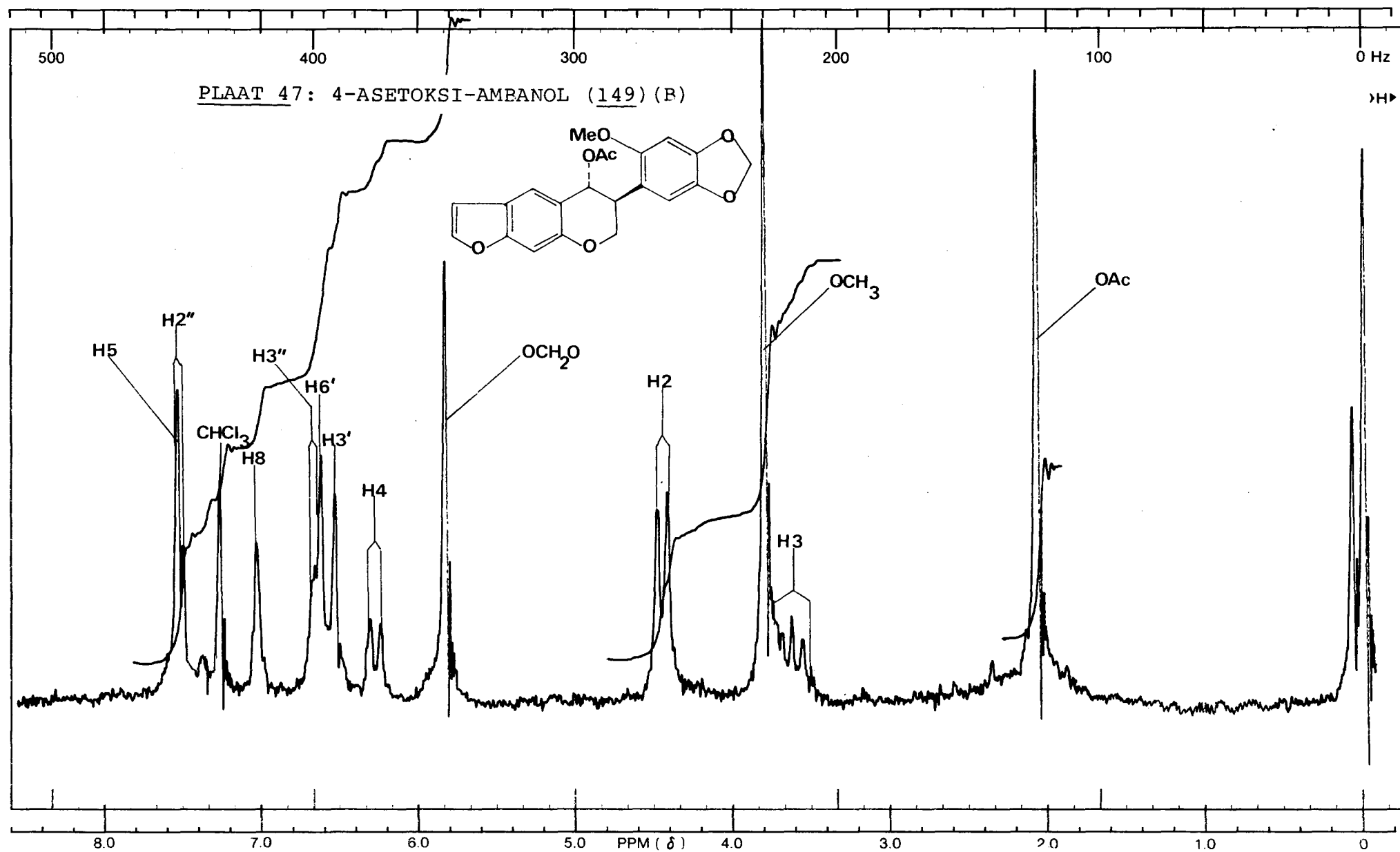


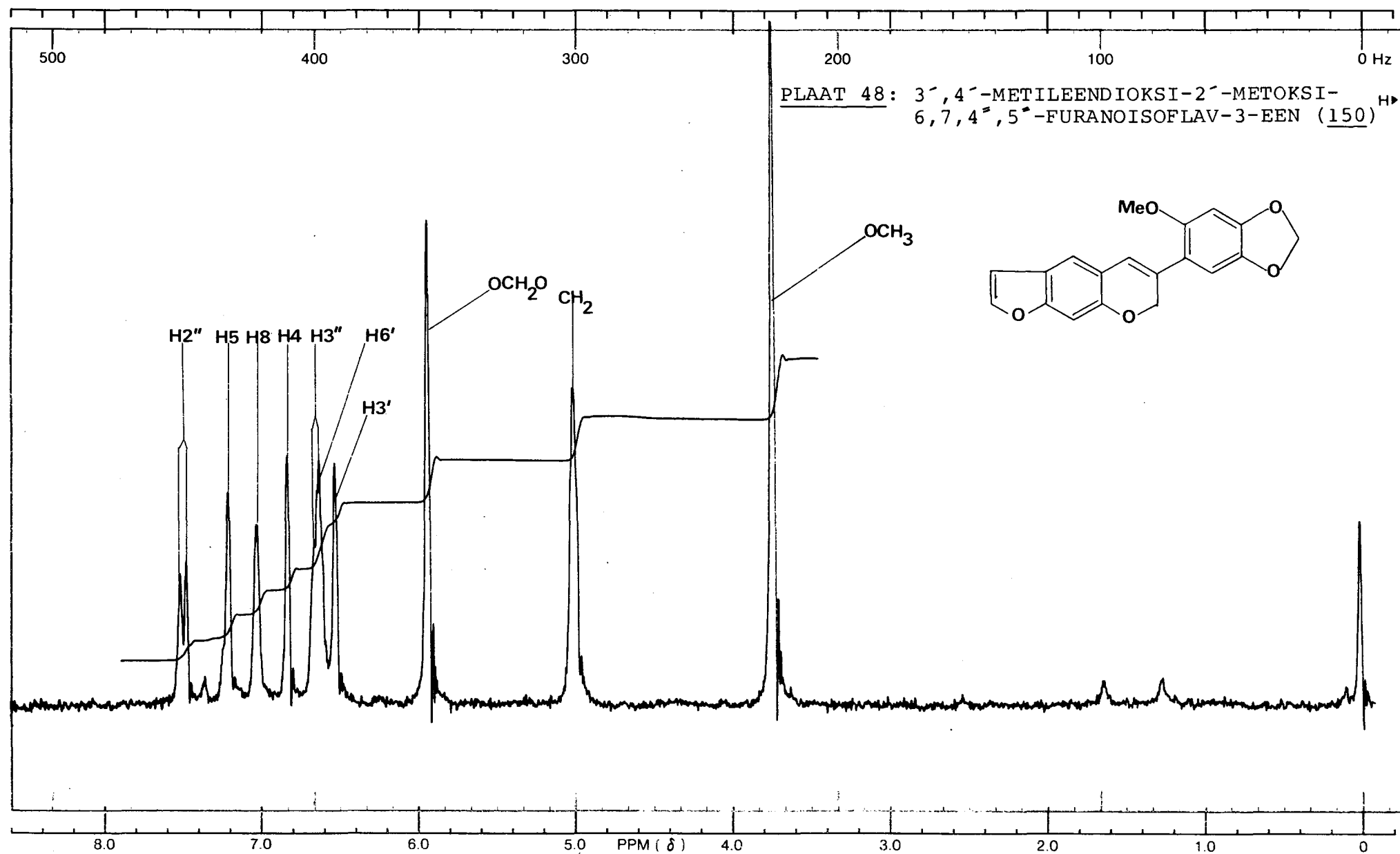


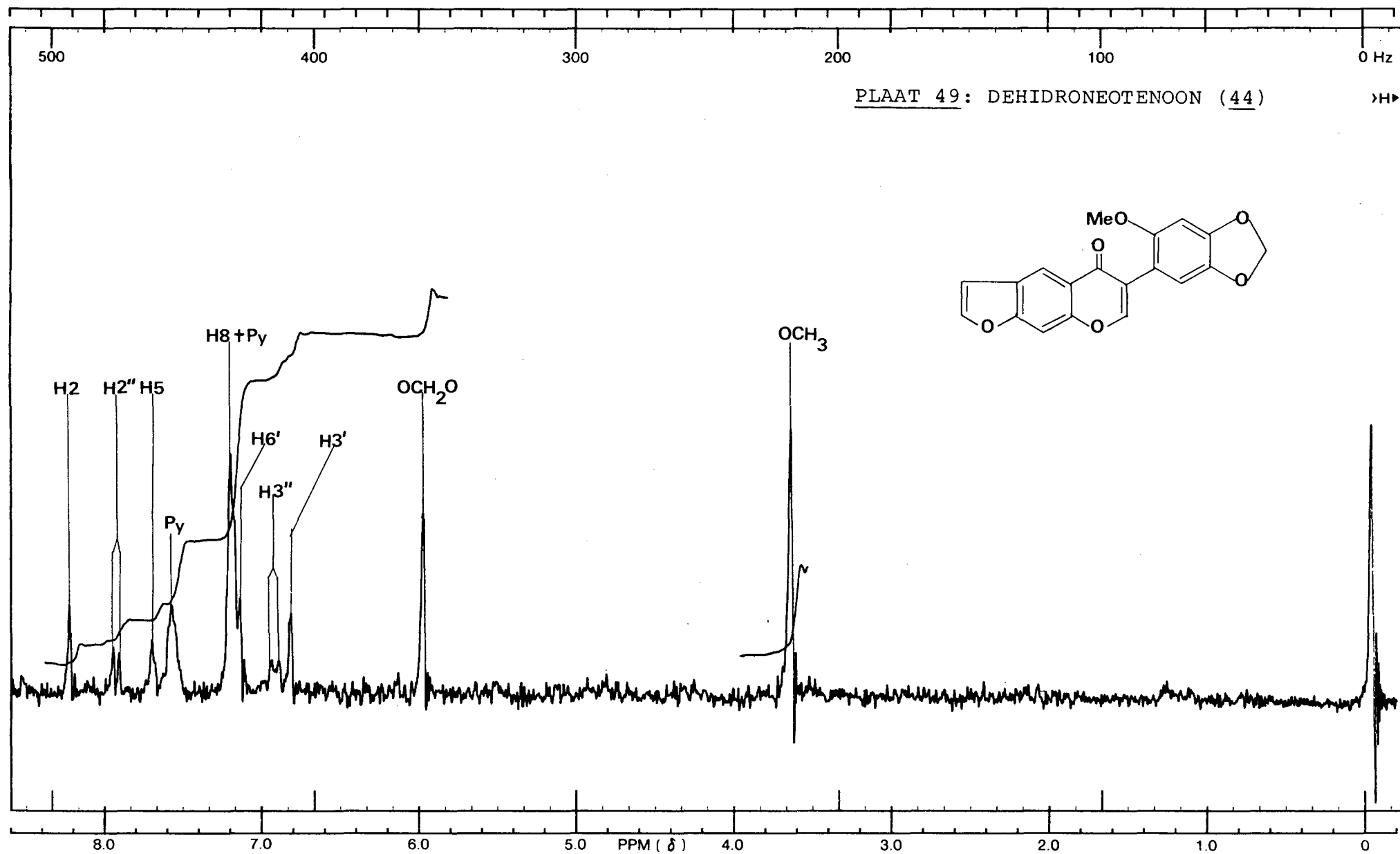


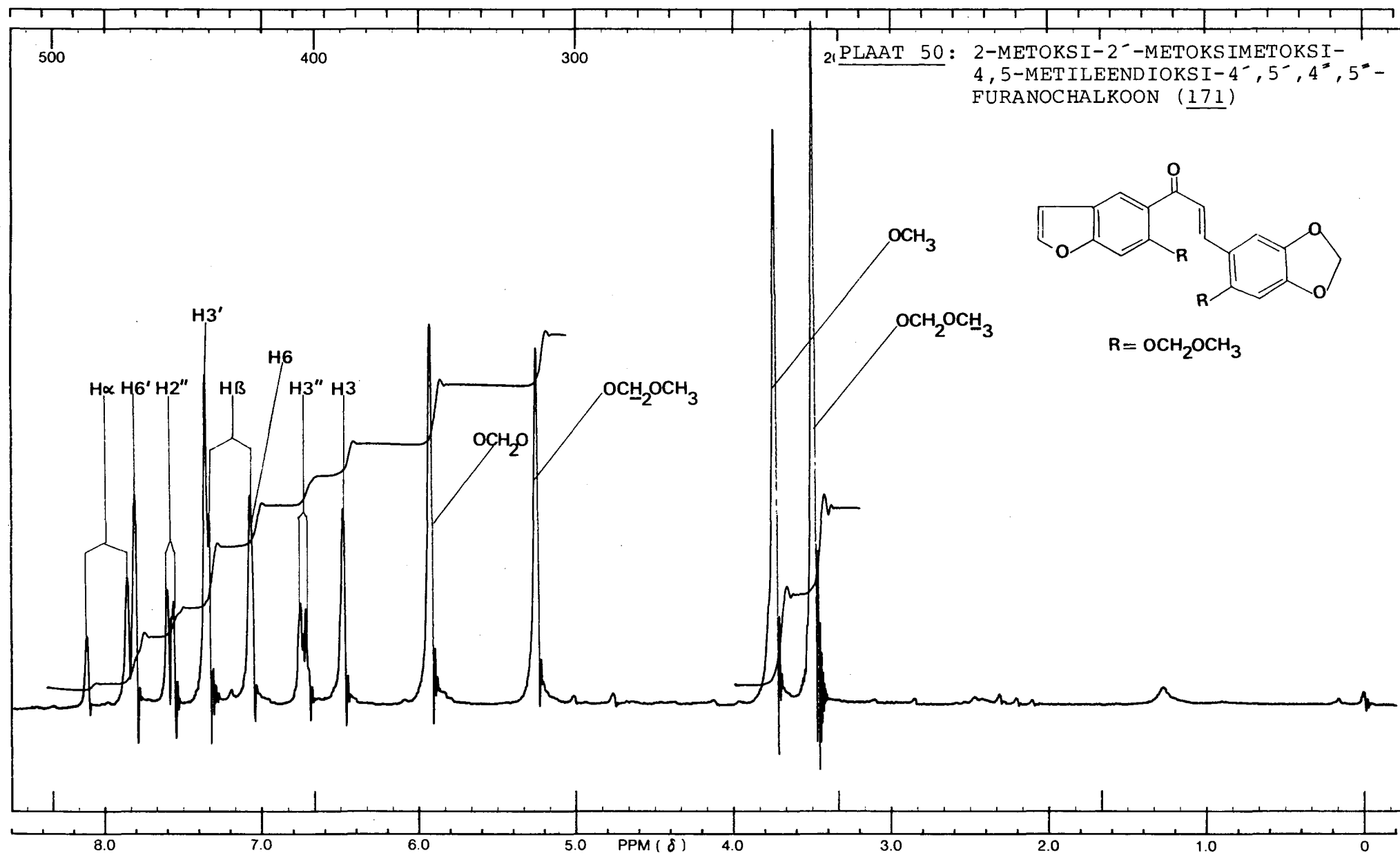




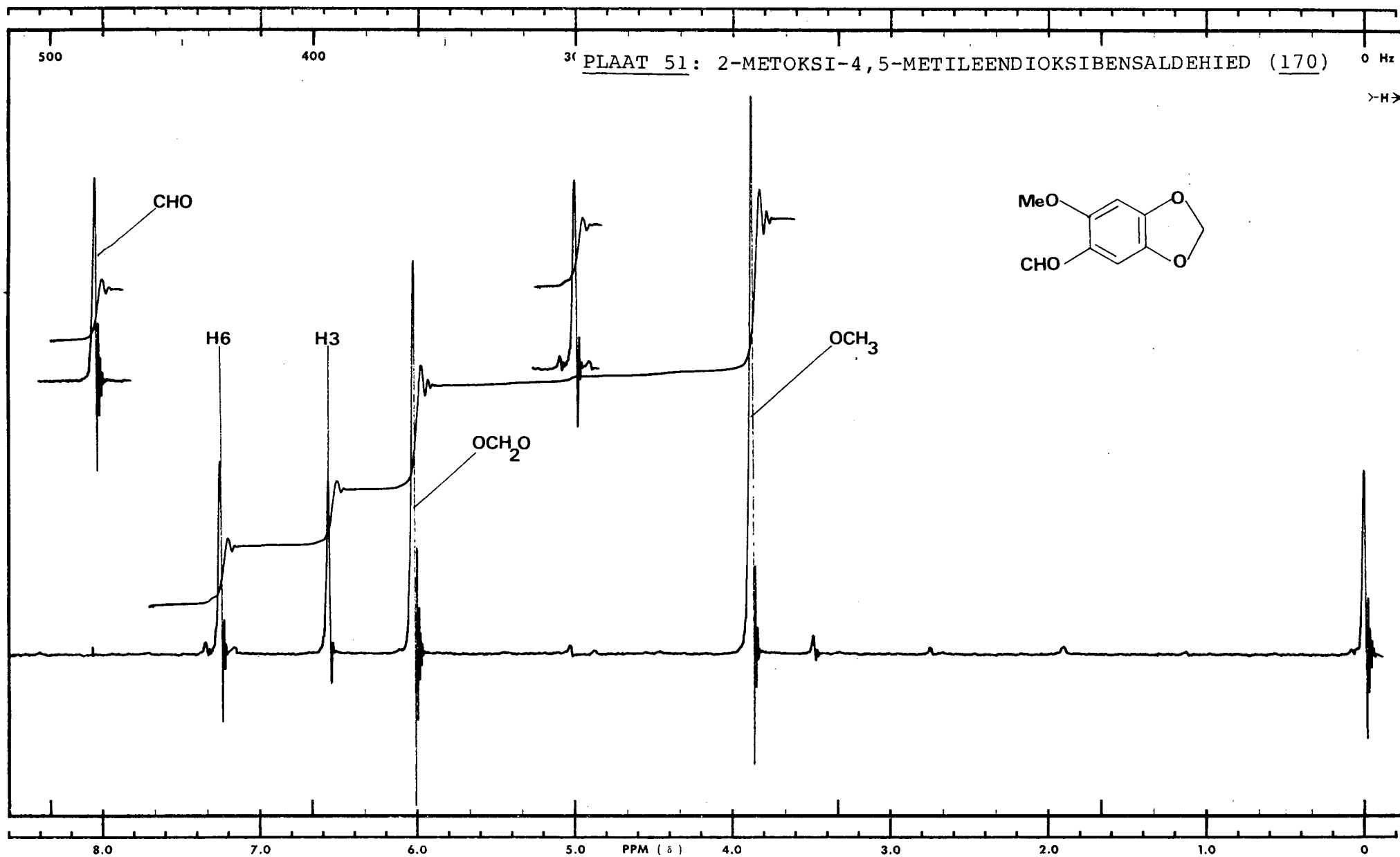




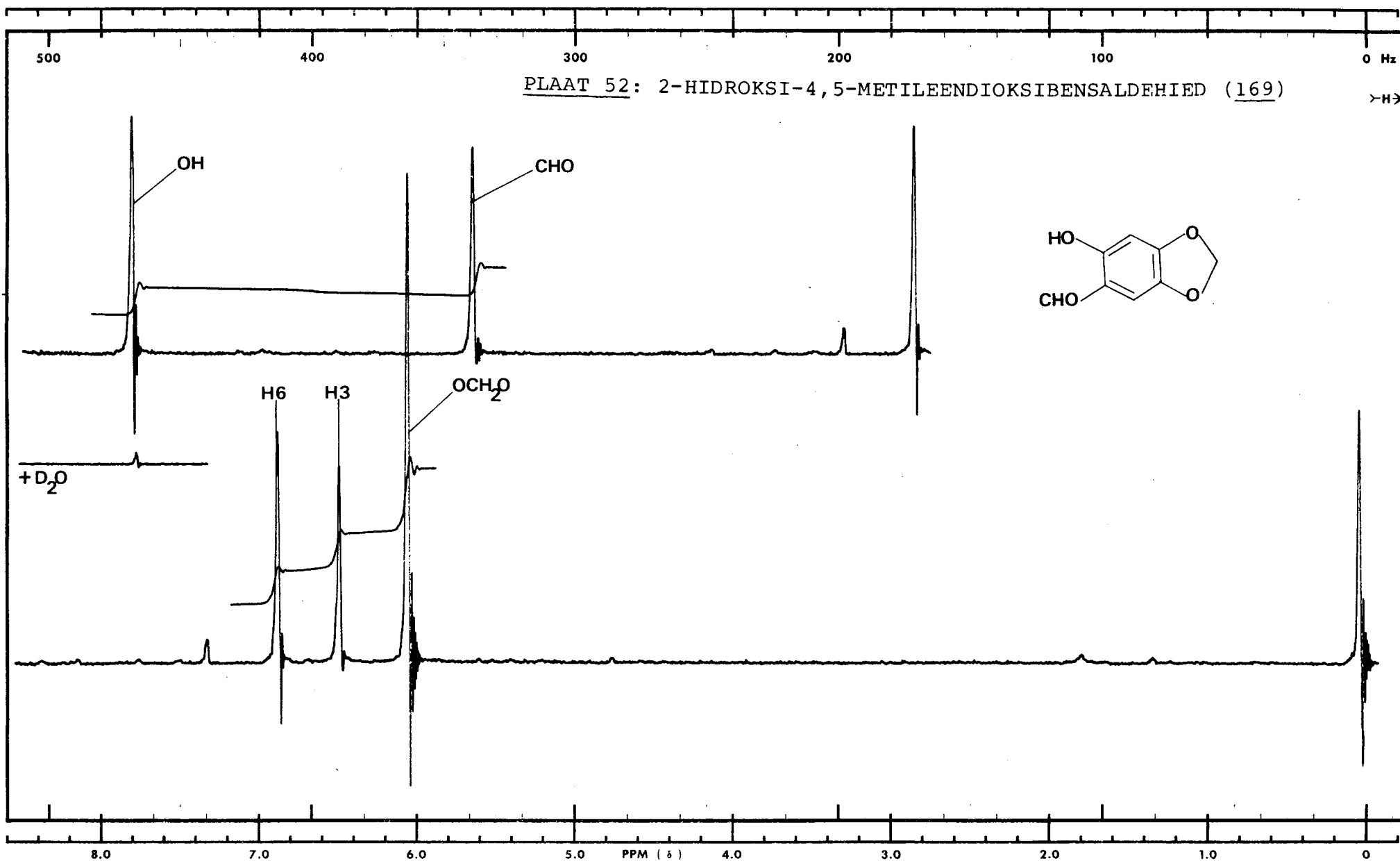




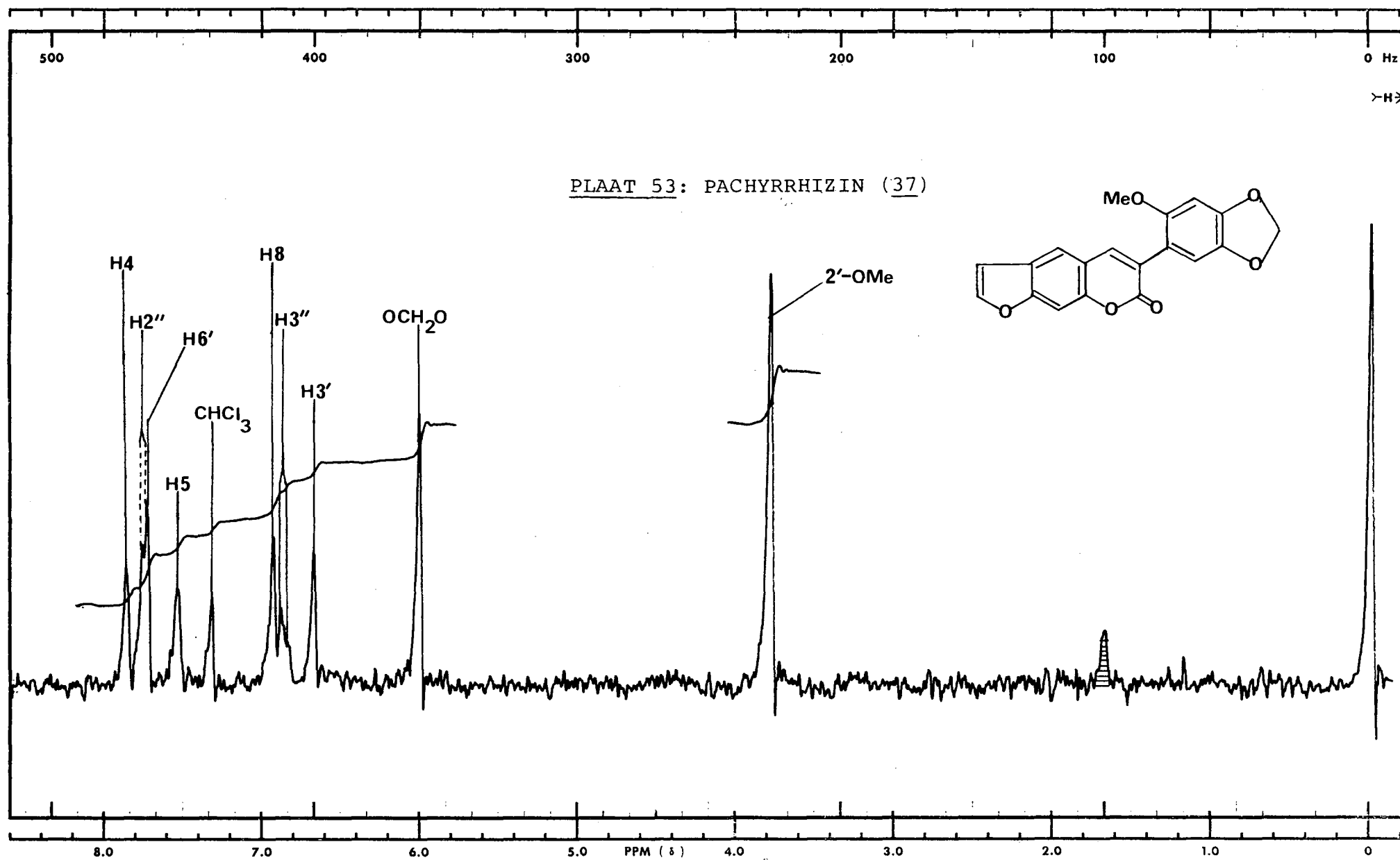
31 PLAAT 51: 2-METOKSI-4,5-METILEENDIOKSIBENSALDEHIED (170)

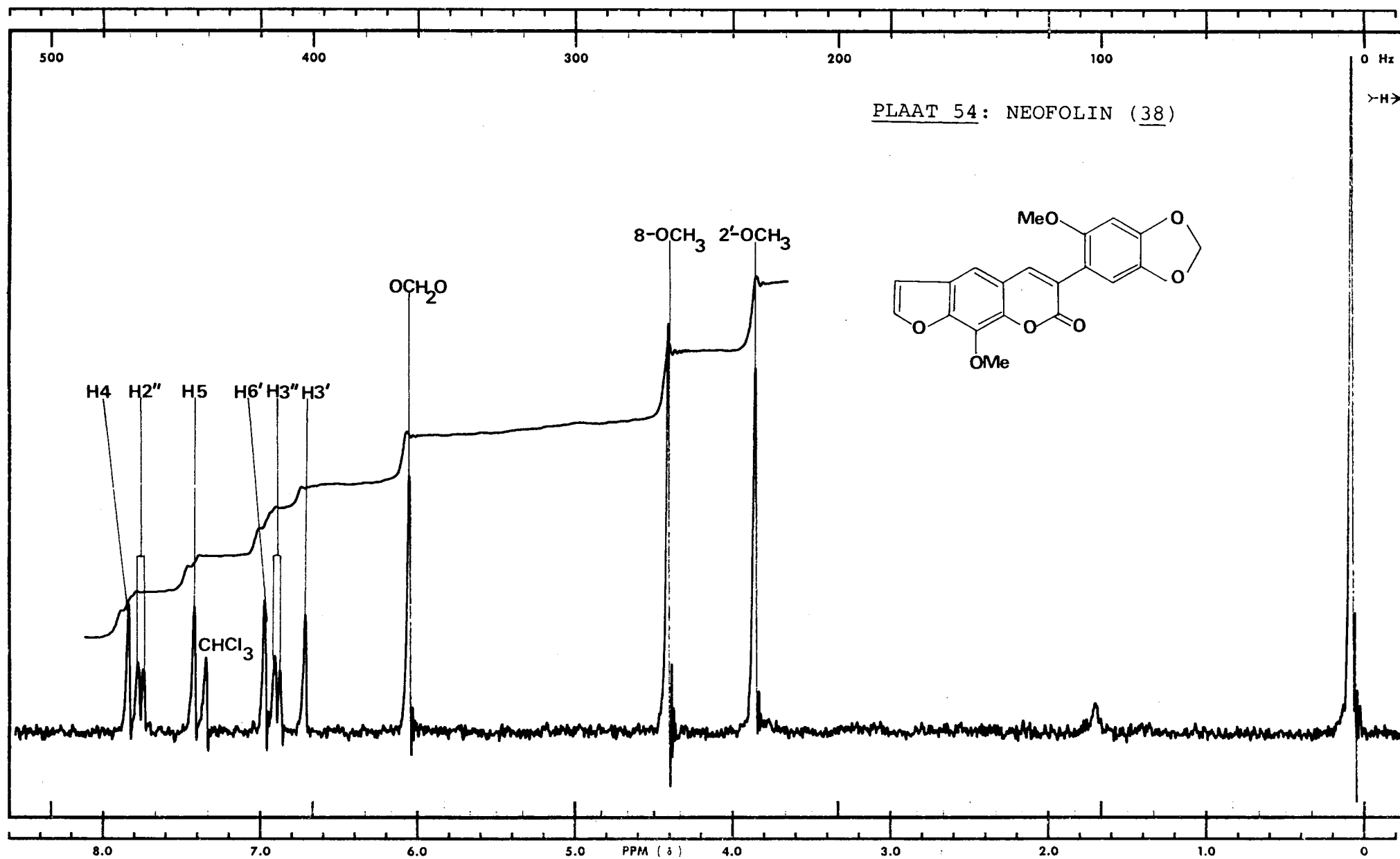


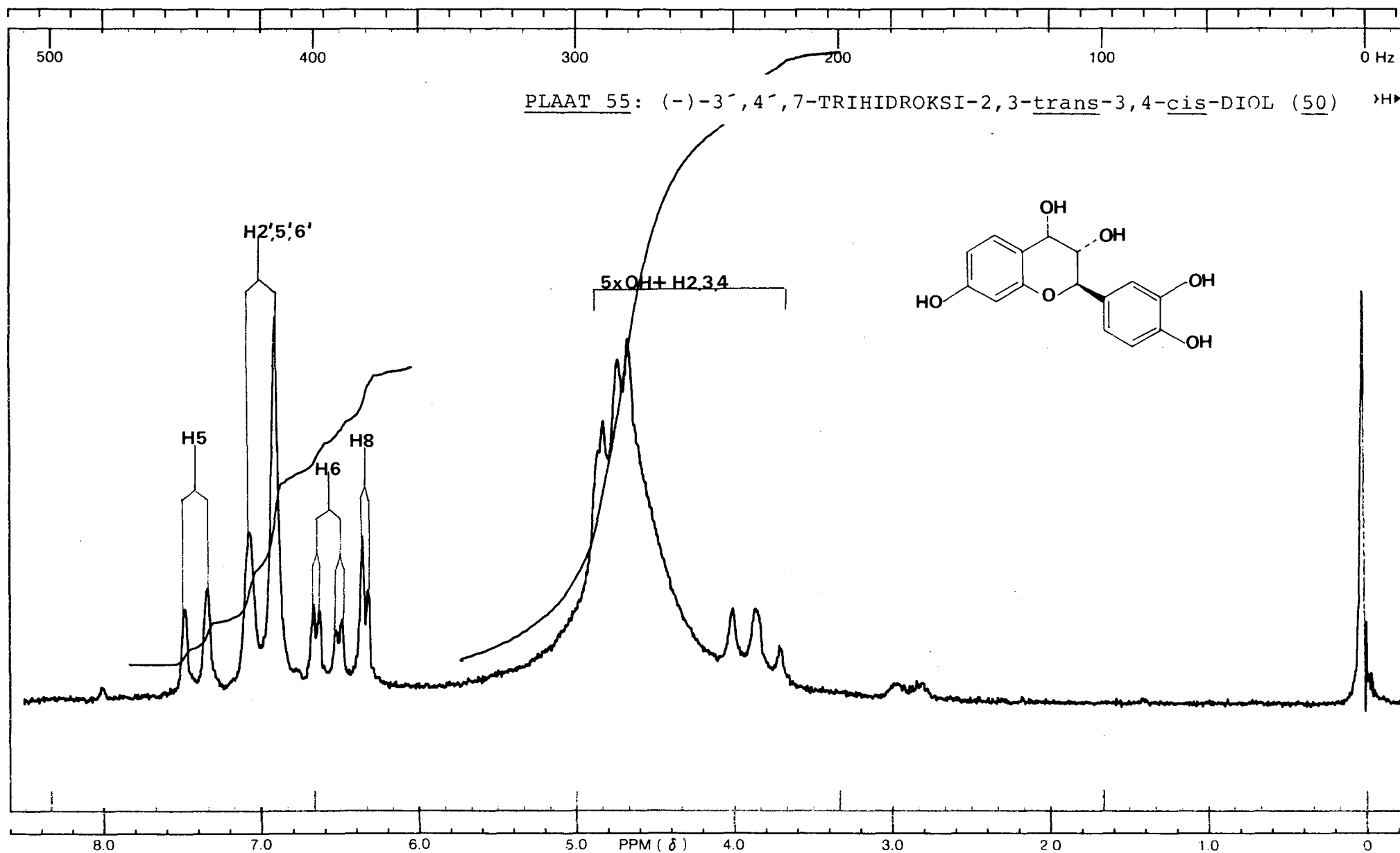
PLAAT 52: 2-HIDROKSI-4,5-METILEENDIOKSIBENSALDEHIED (169)



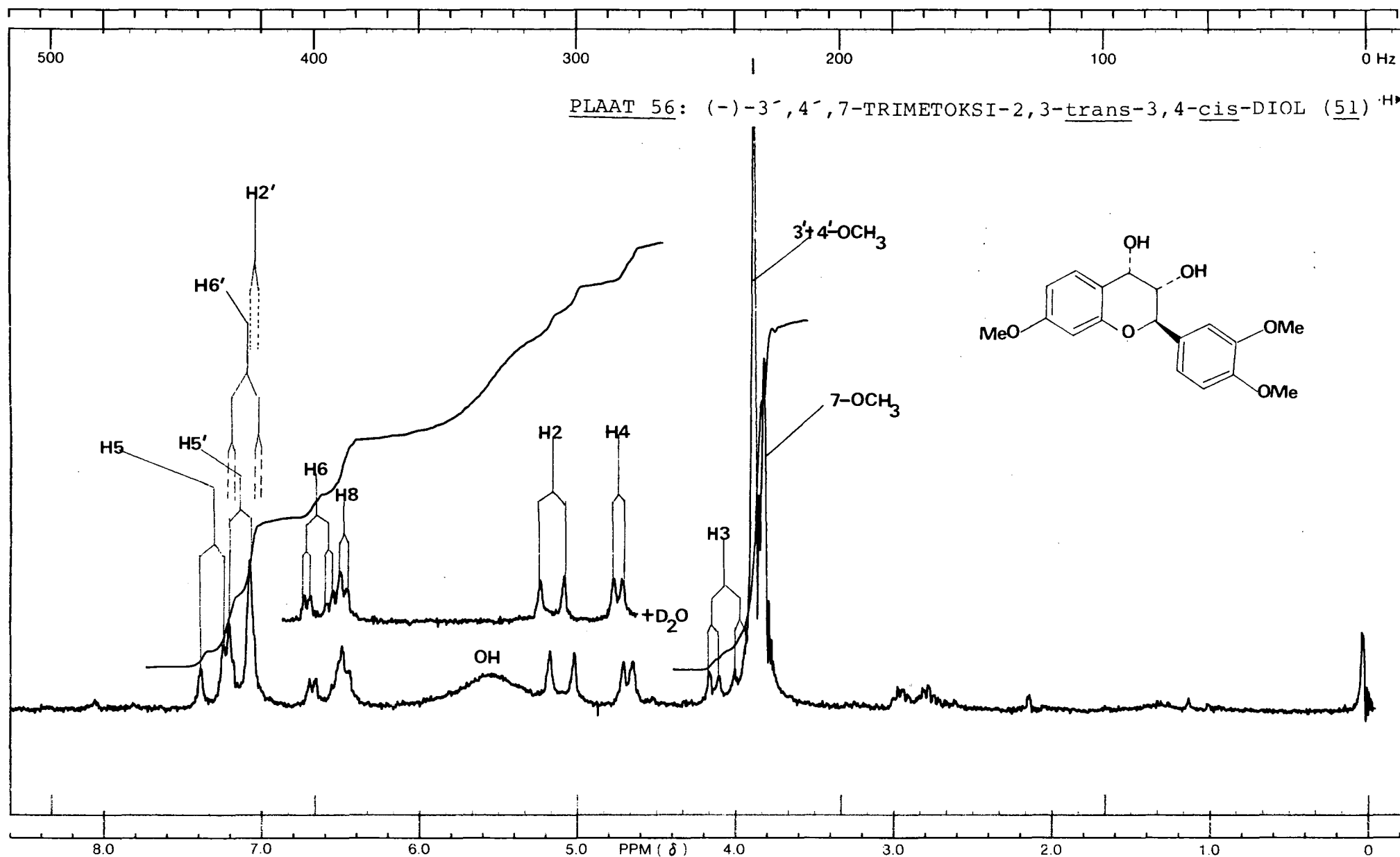
PLAAT 53: PACHYRRHIZIN (37)

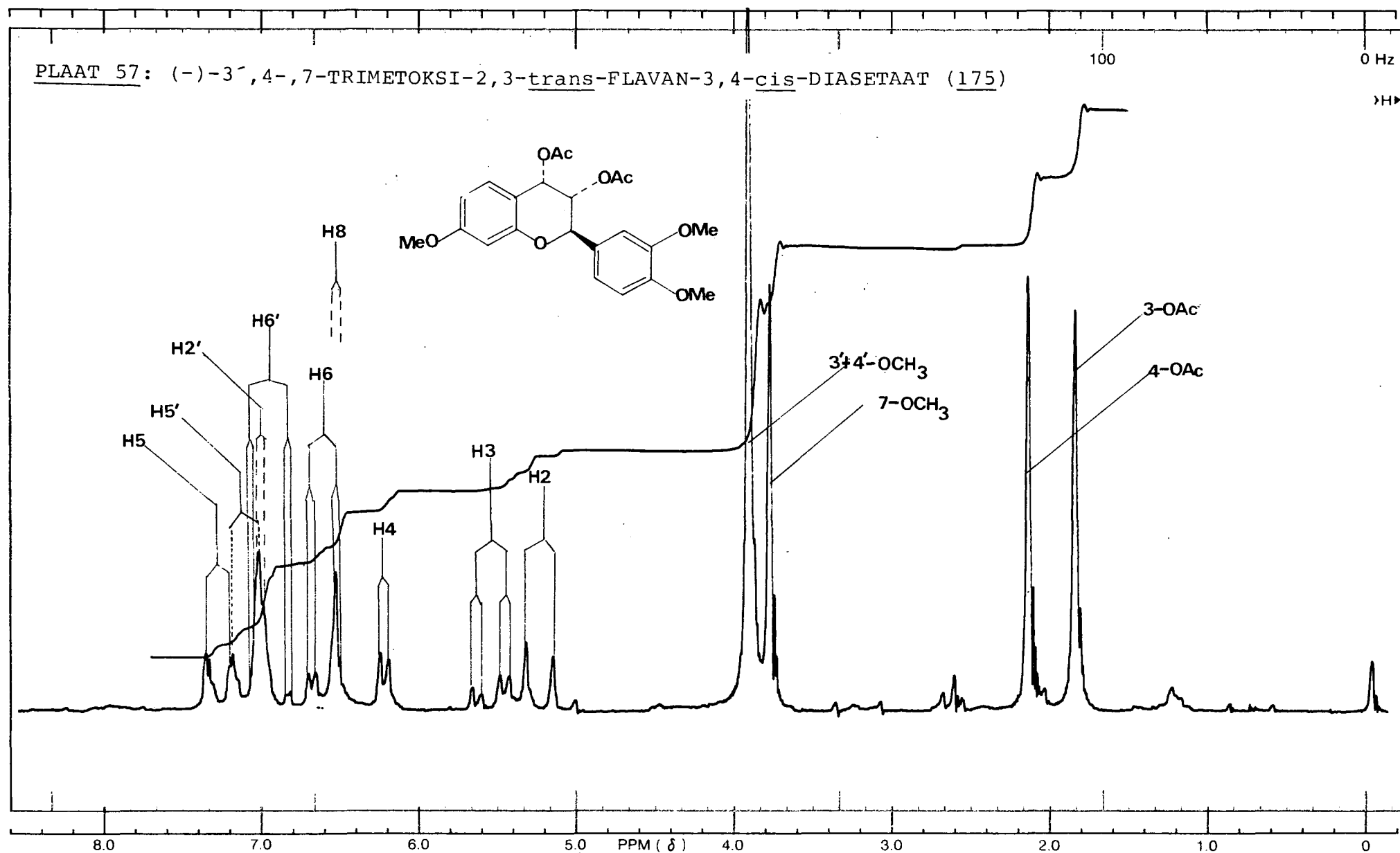


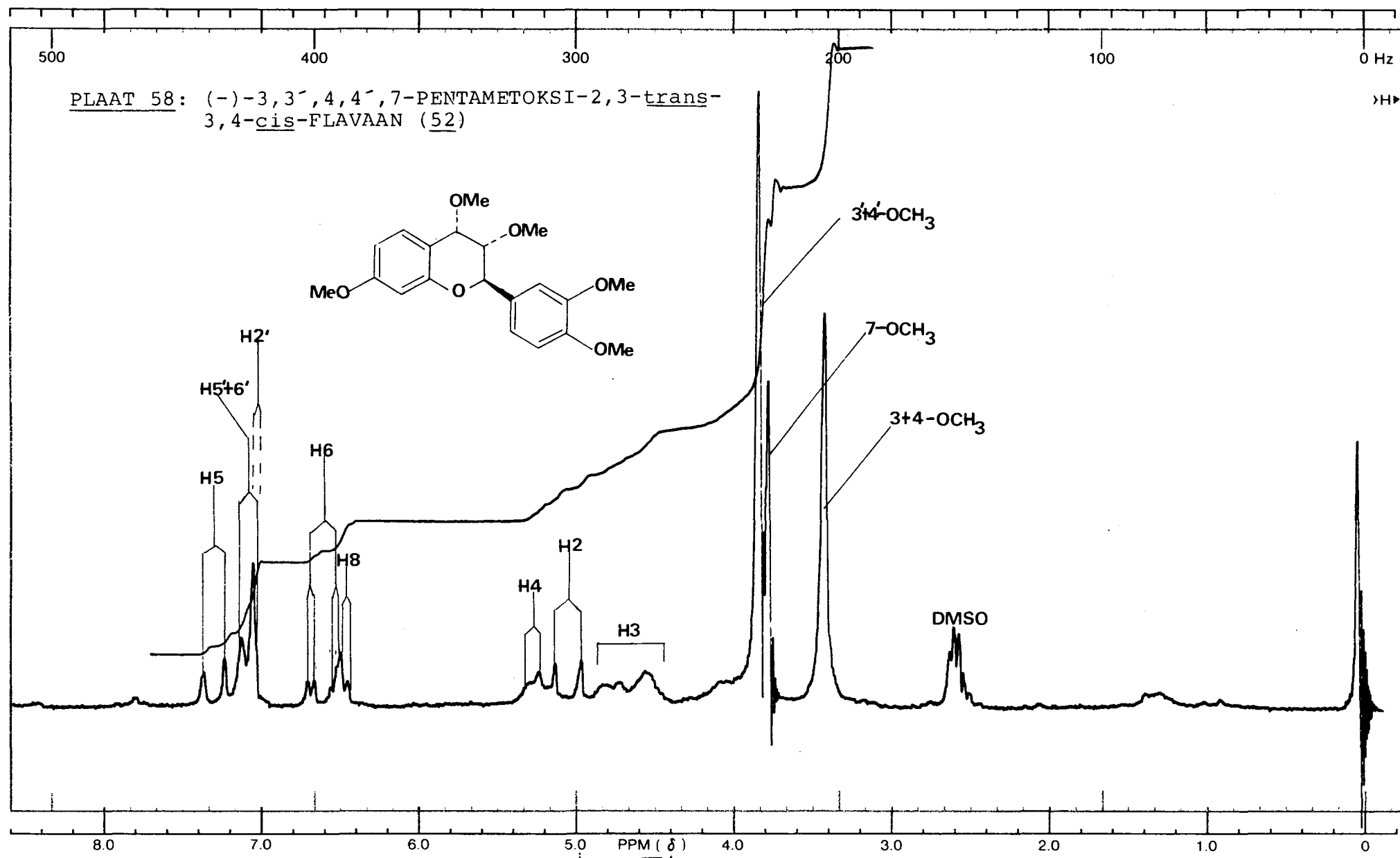


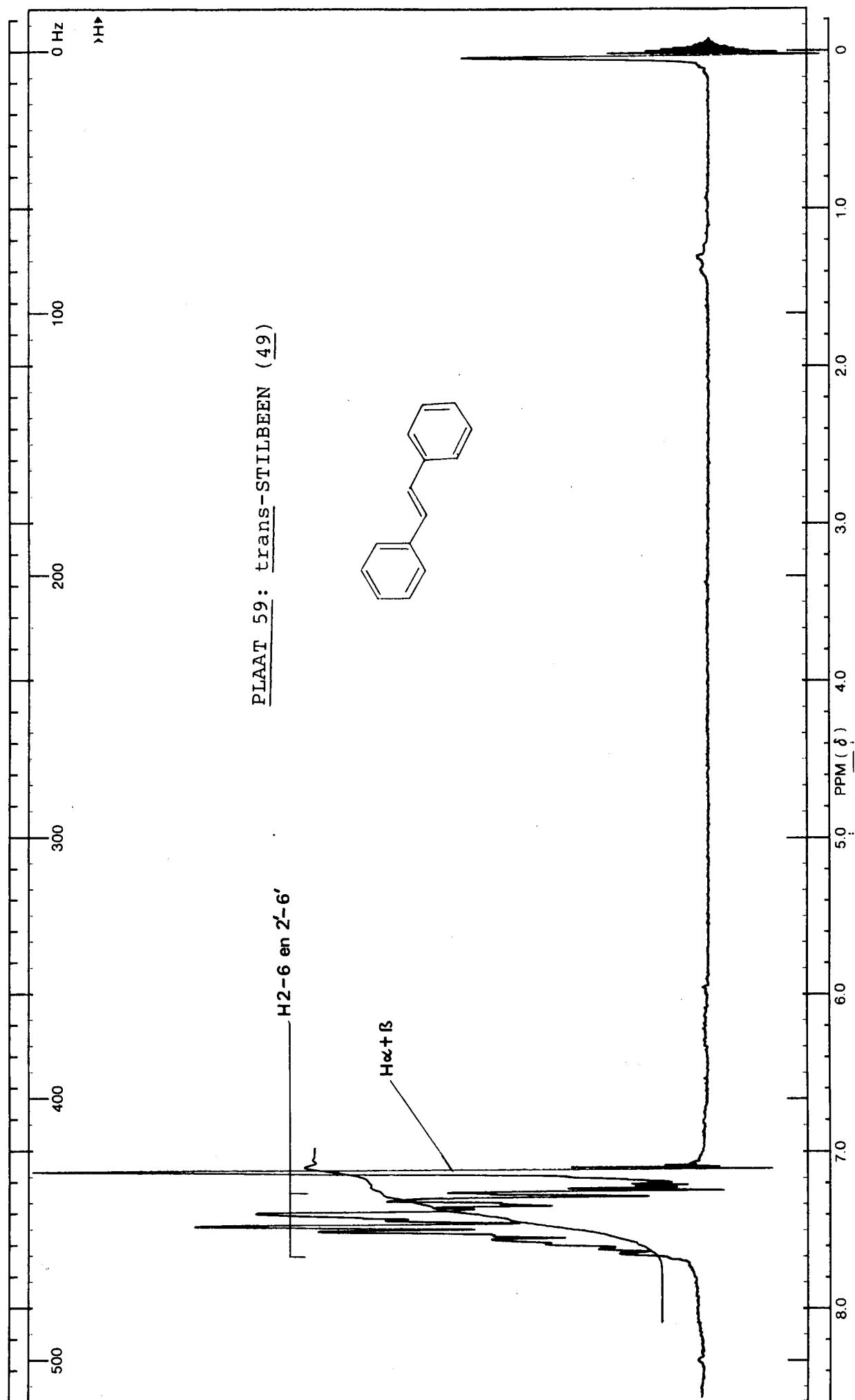


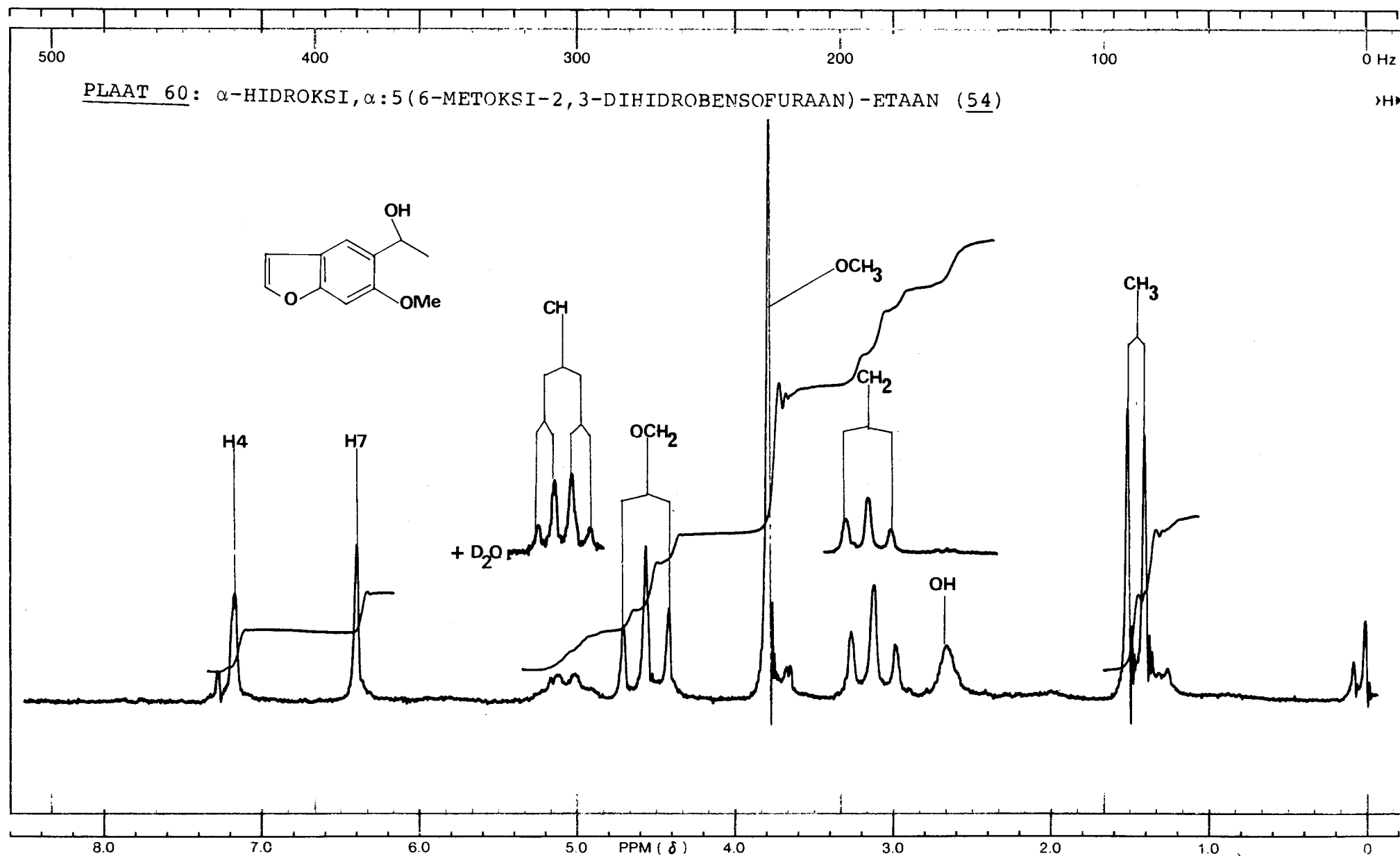
PLAAT 56: (-)-3',4',7-TRIMETOXI-2,3-trans-3,4-cis-DIOL (51) $\cdot H^+$

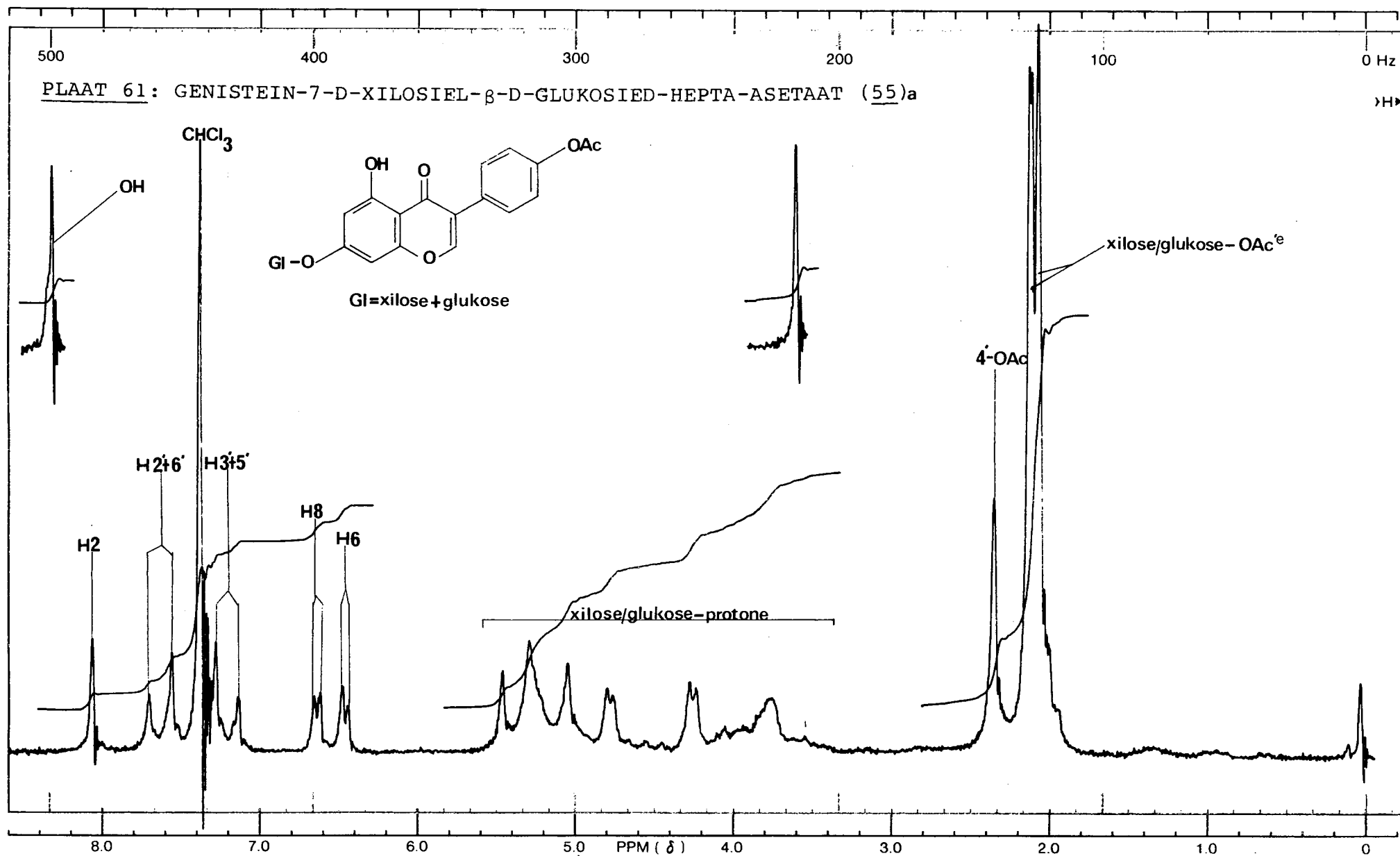


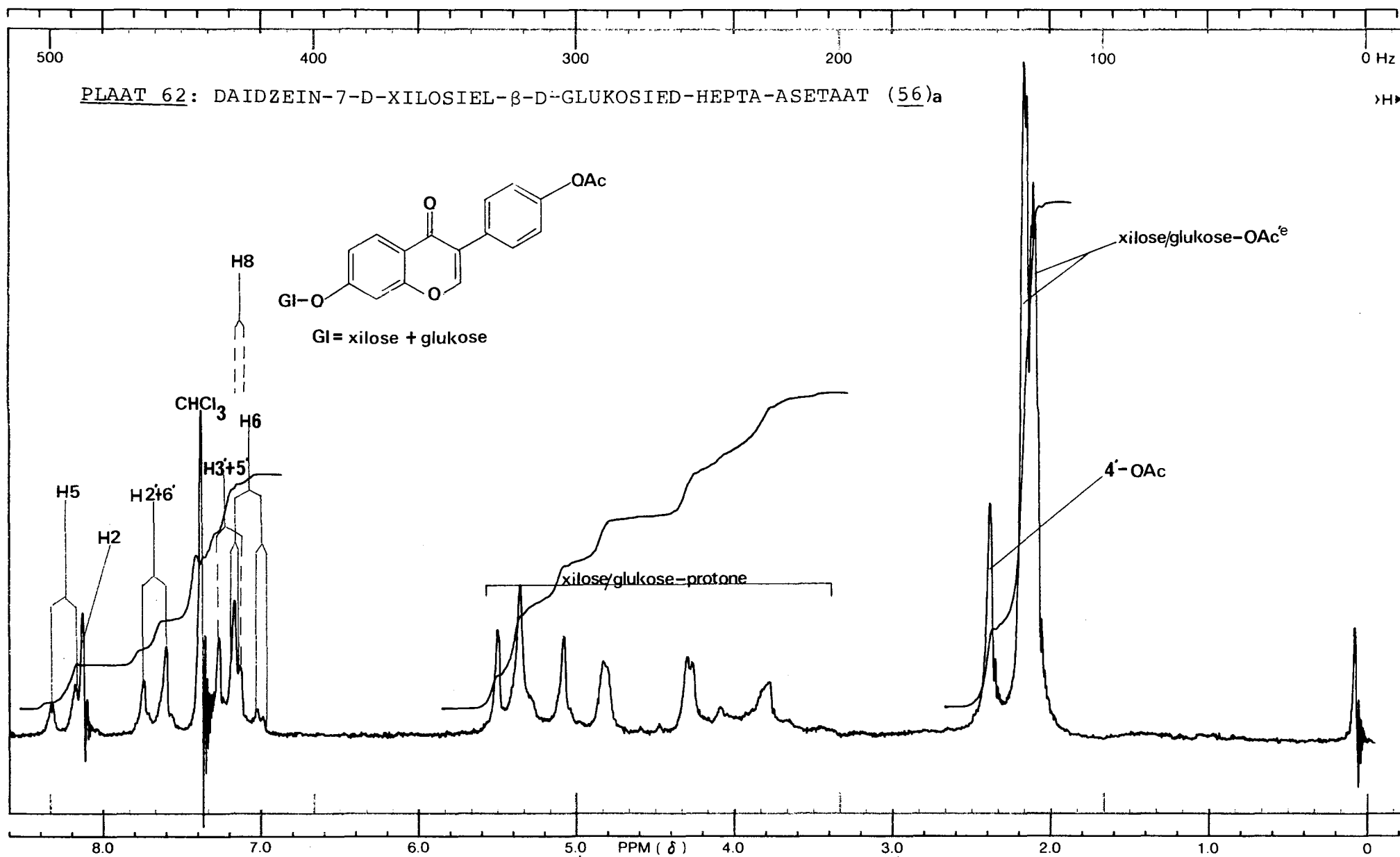


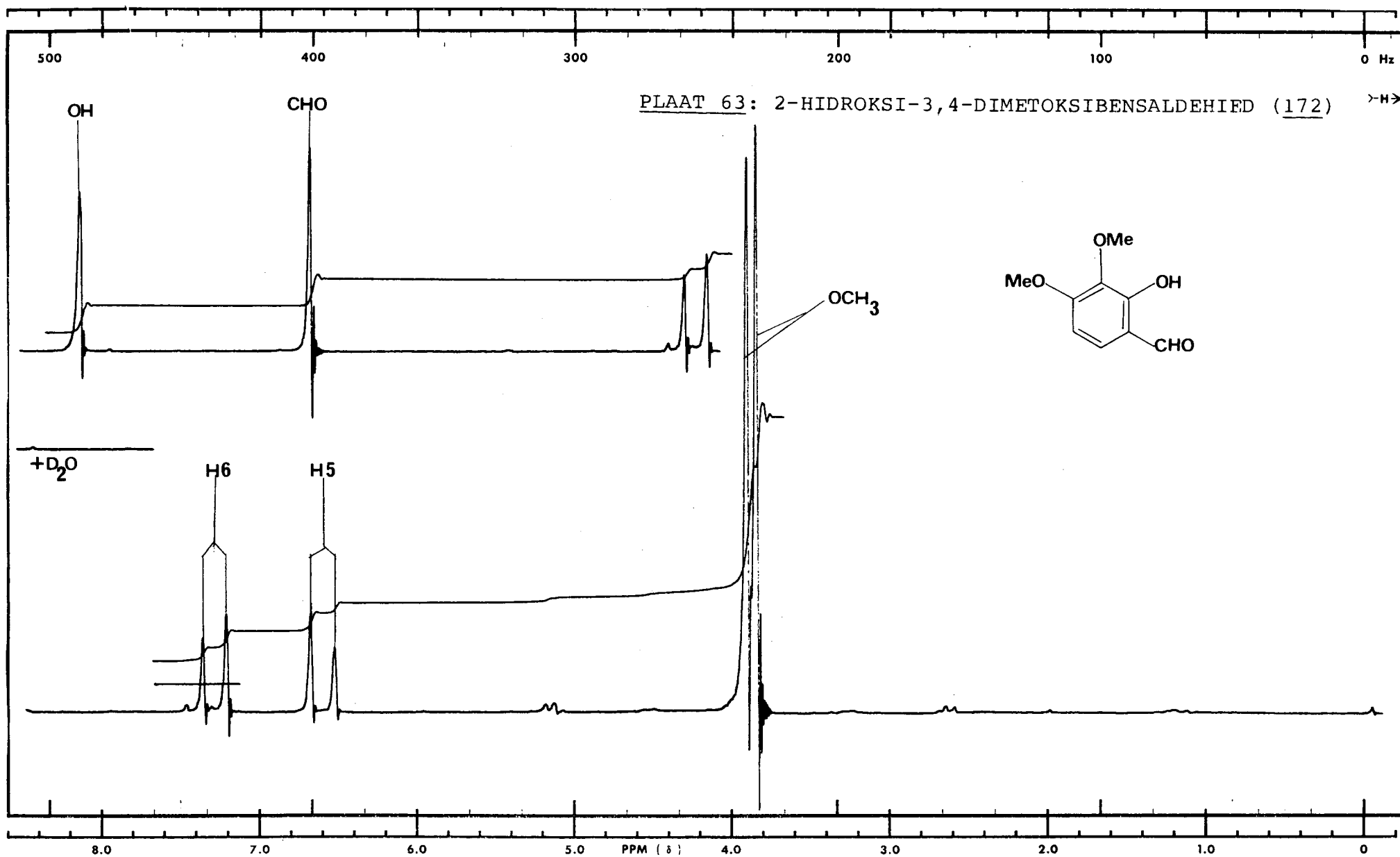




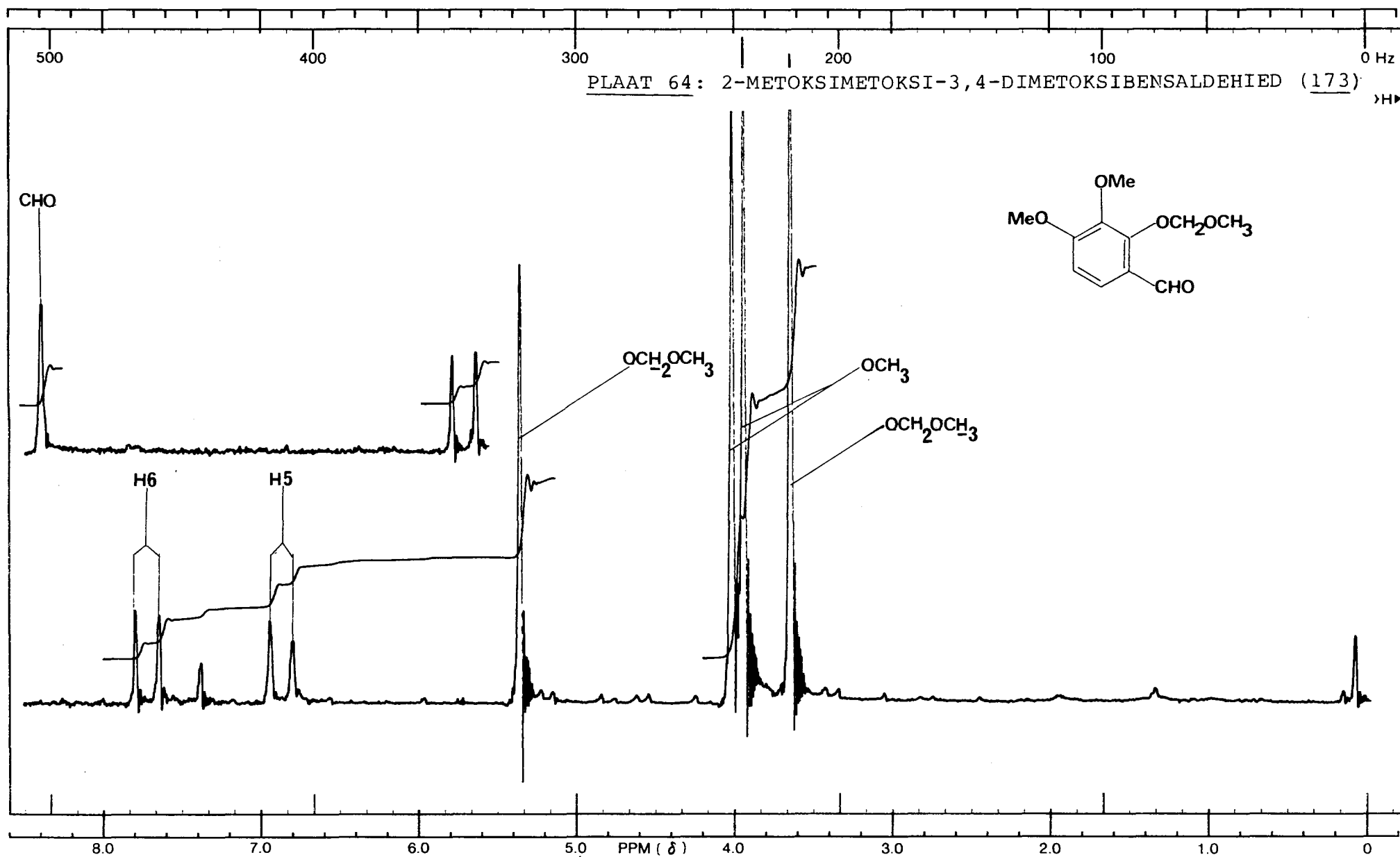


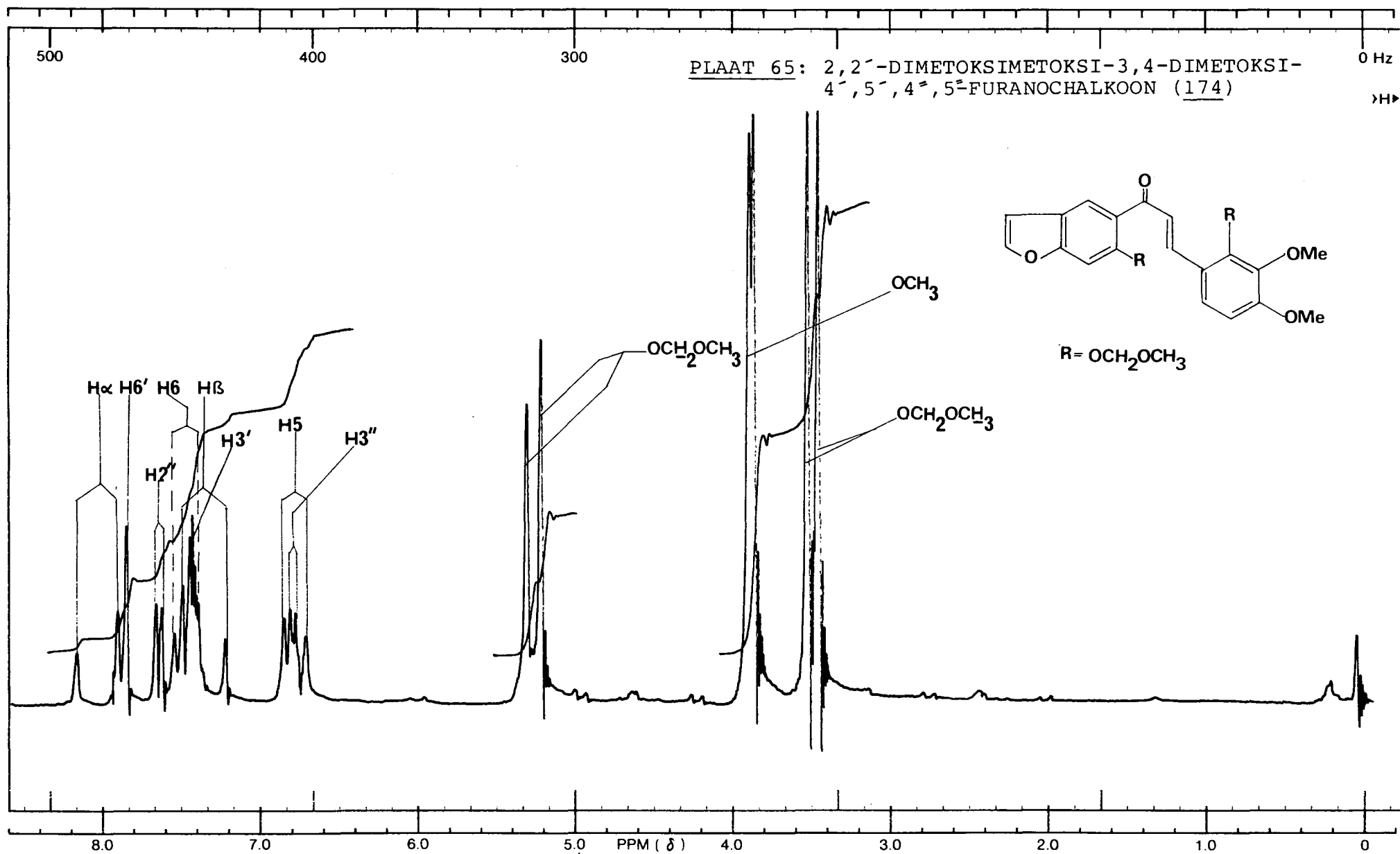


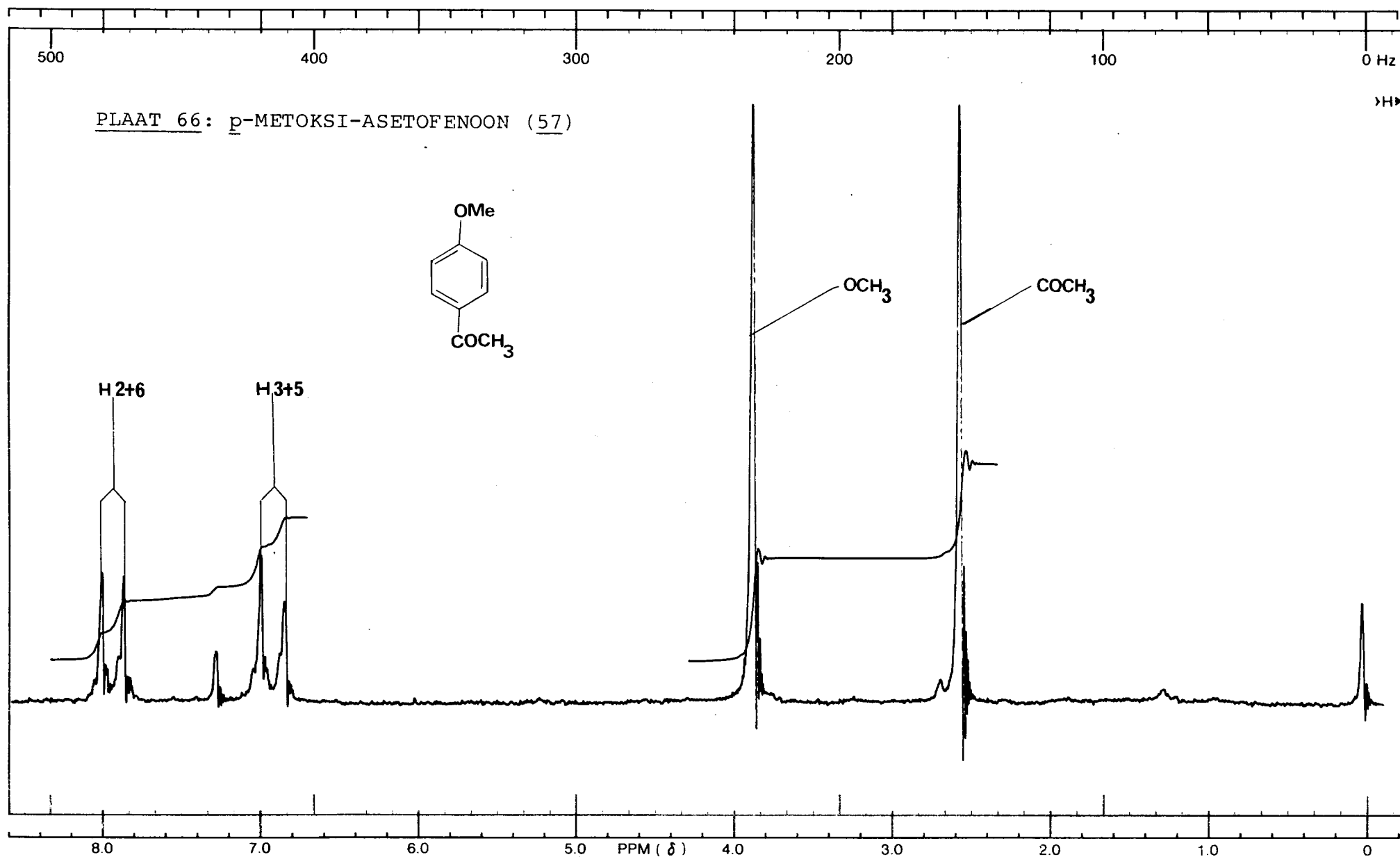




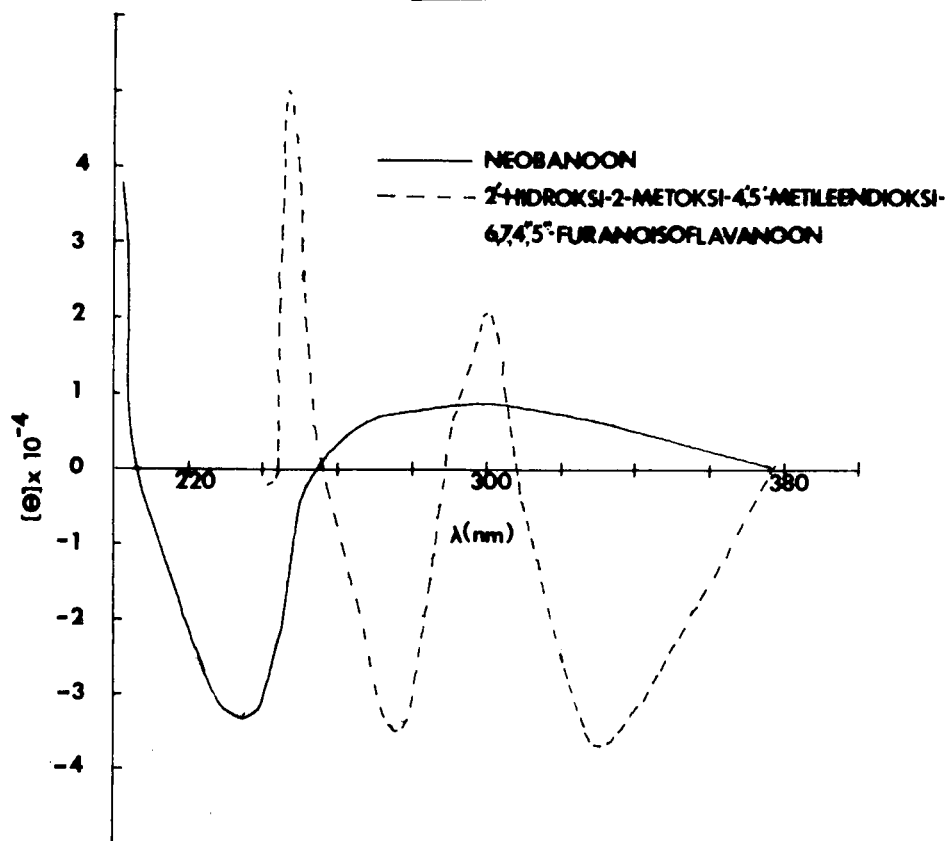
PLAAT 64: 2-METOKSIMETOKSI-3,4-DIMETOKSIBENSALDEHIED (173)



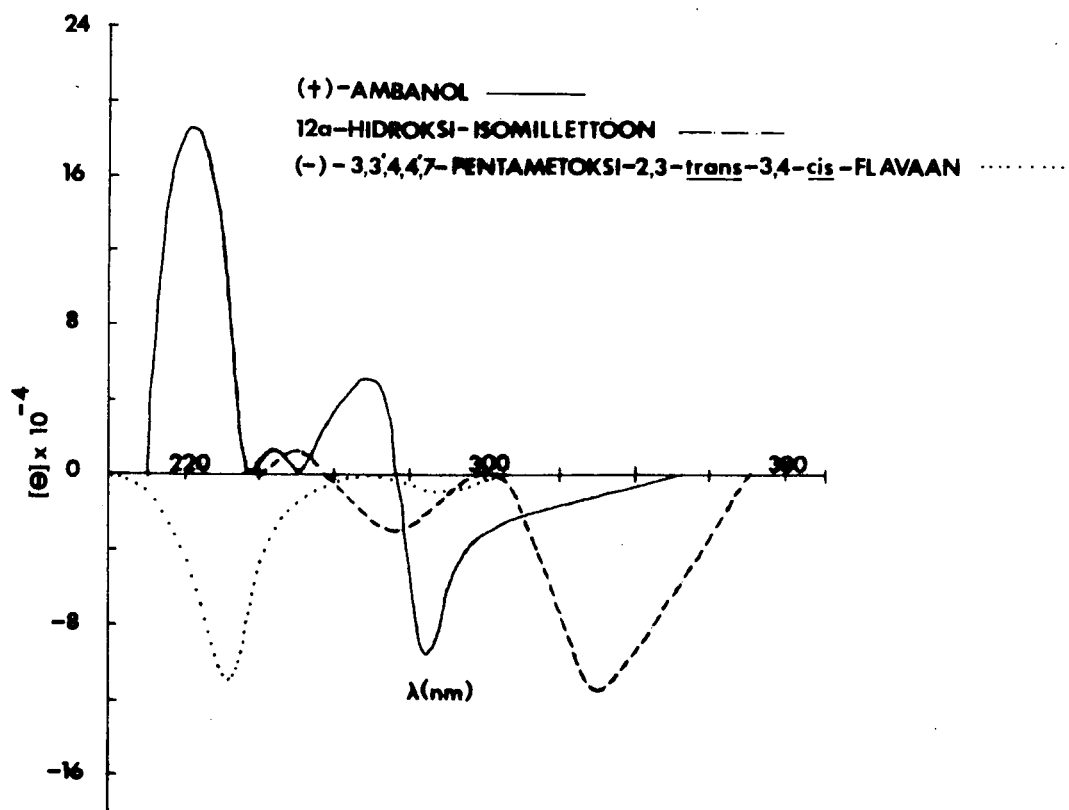


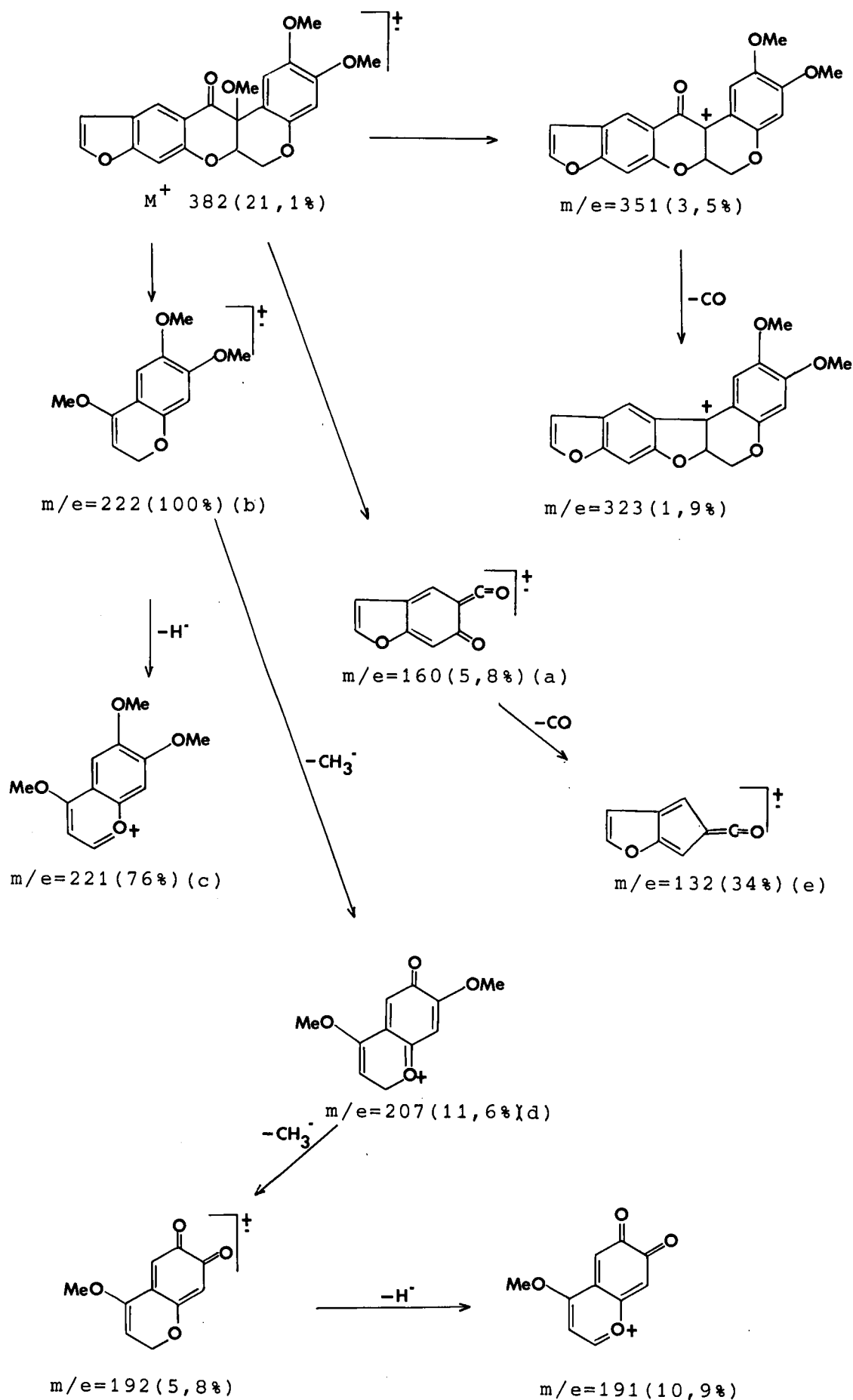


PLAAT 67

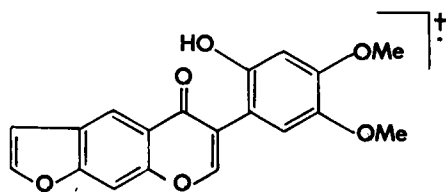


PLAAT 68

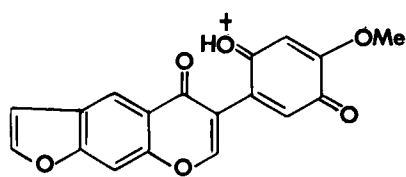
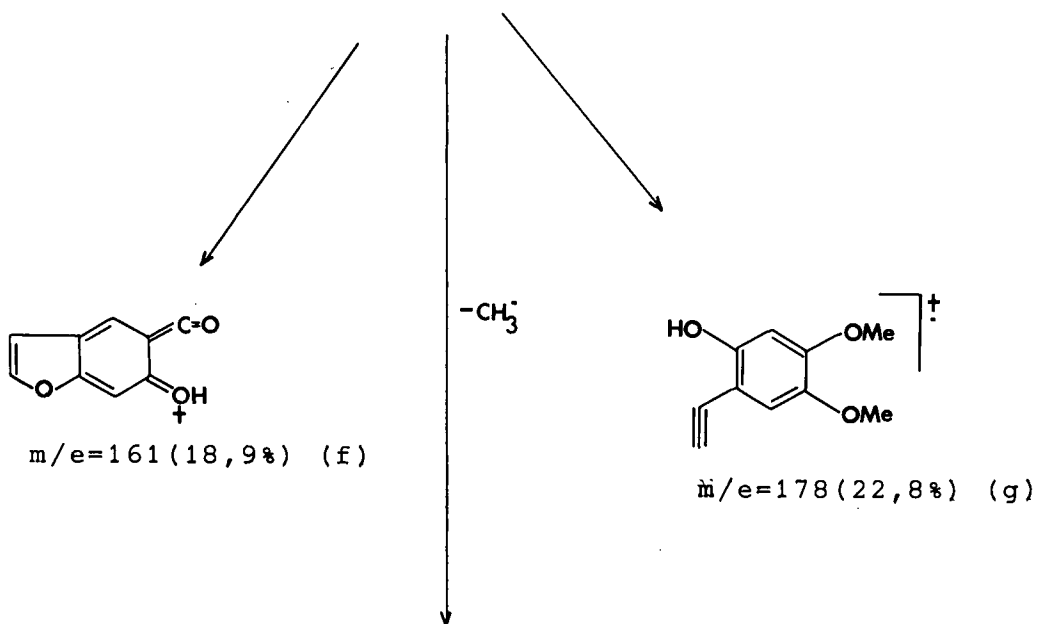




PLAAT 70: 2'-HIDROKSI-4,5-METILEENDIOKSI-6,7,4'',5''-FURANO-
ISOFLAVOON (163)

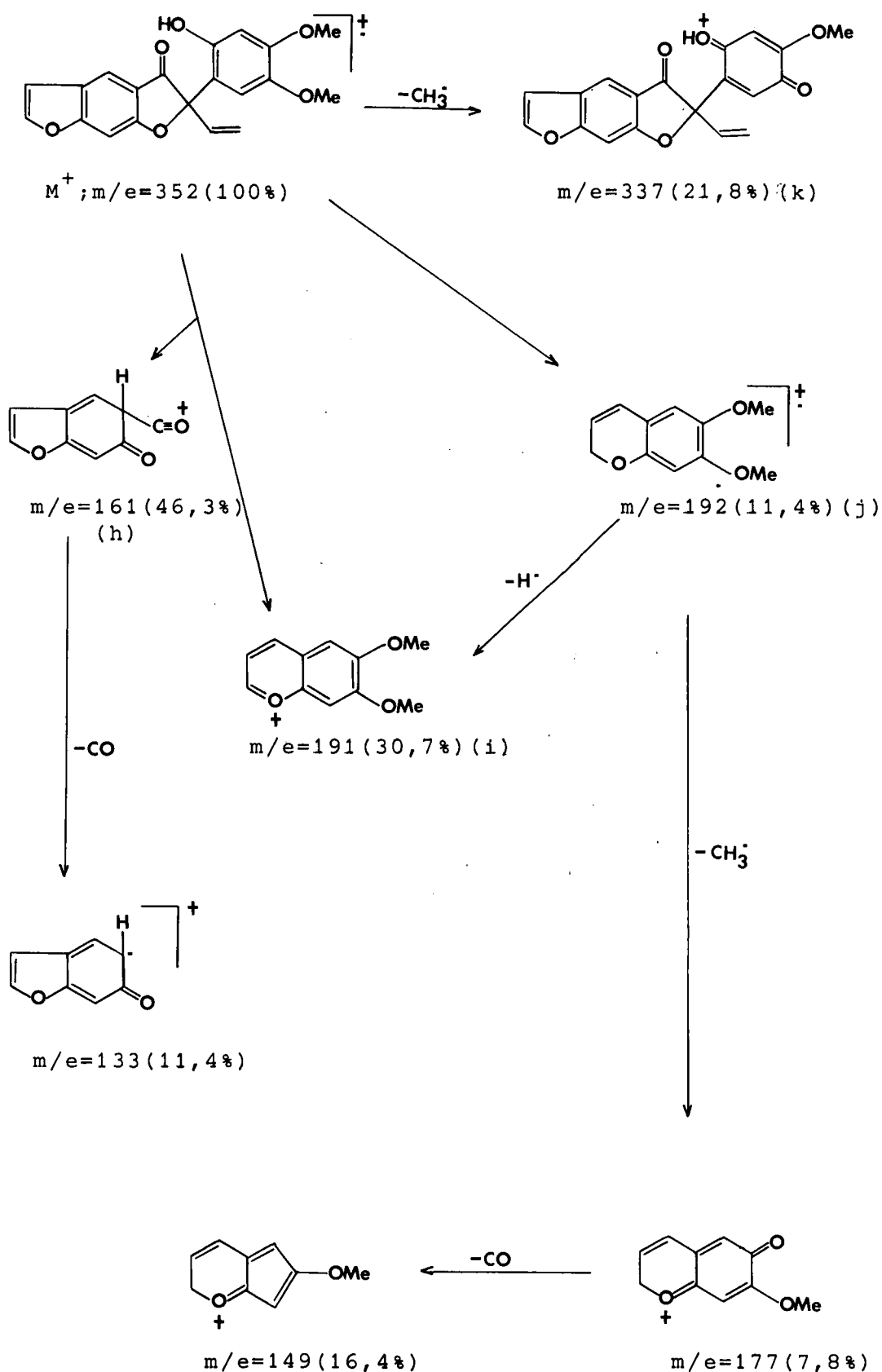


M^+ ; $m/e=338$ (100%)



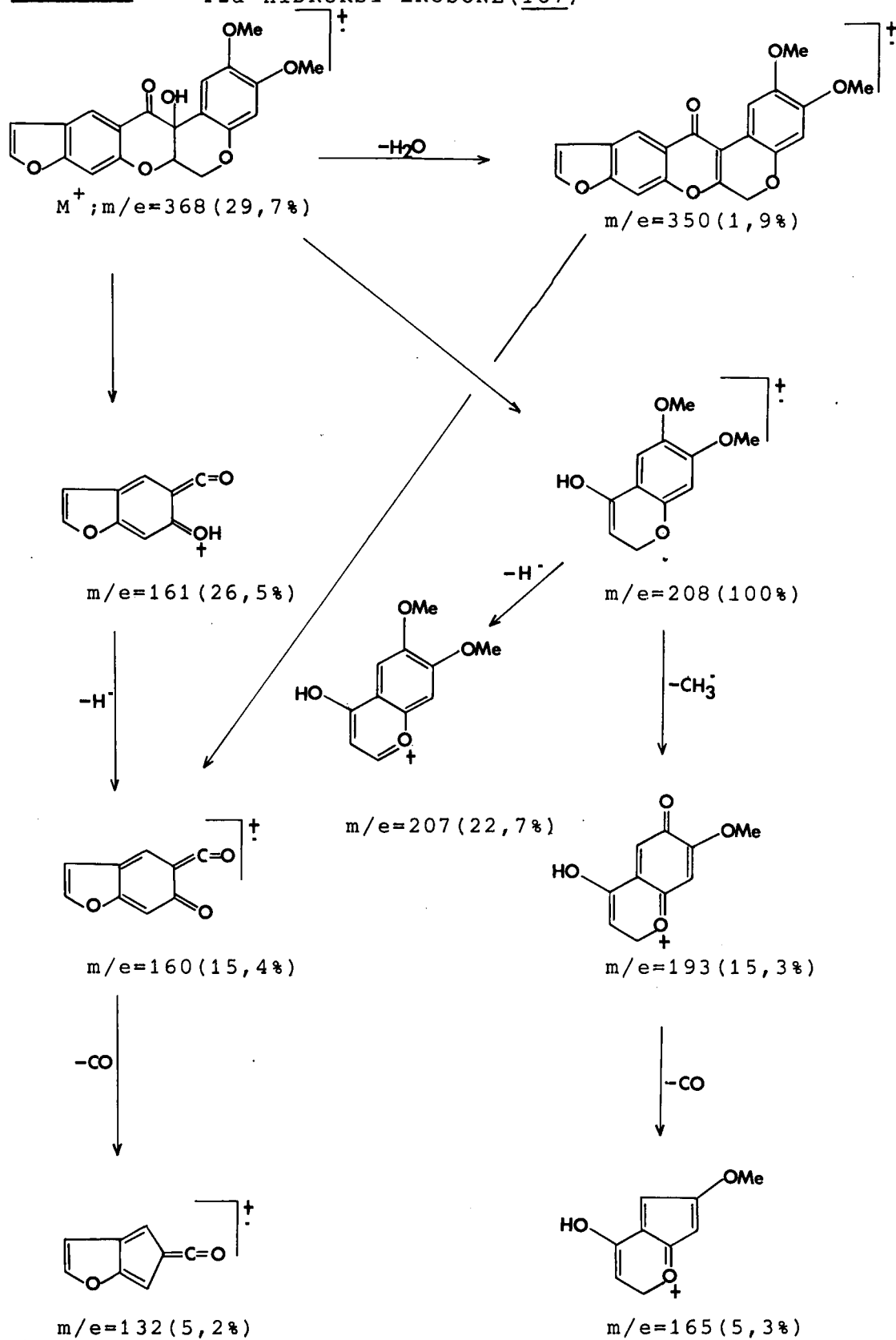
$m/e=323$ (91,5%)

PLAAT 71: 2-(2'-Hidroksi-4',5'-dimetoksifeniel)-2-vinielbenso=
[1,2-b:5,4-b']difuraan-3[2H]-oon (165)

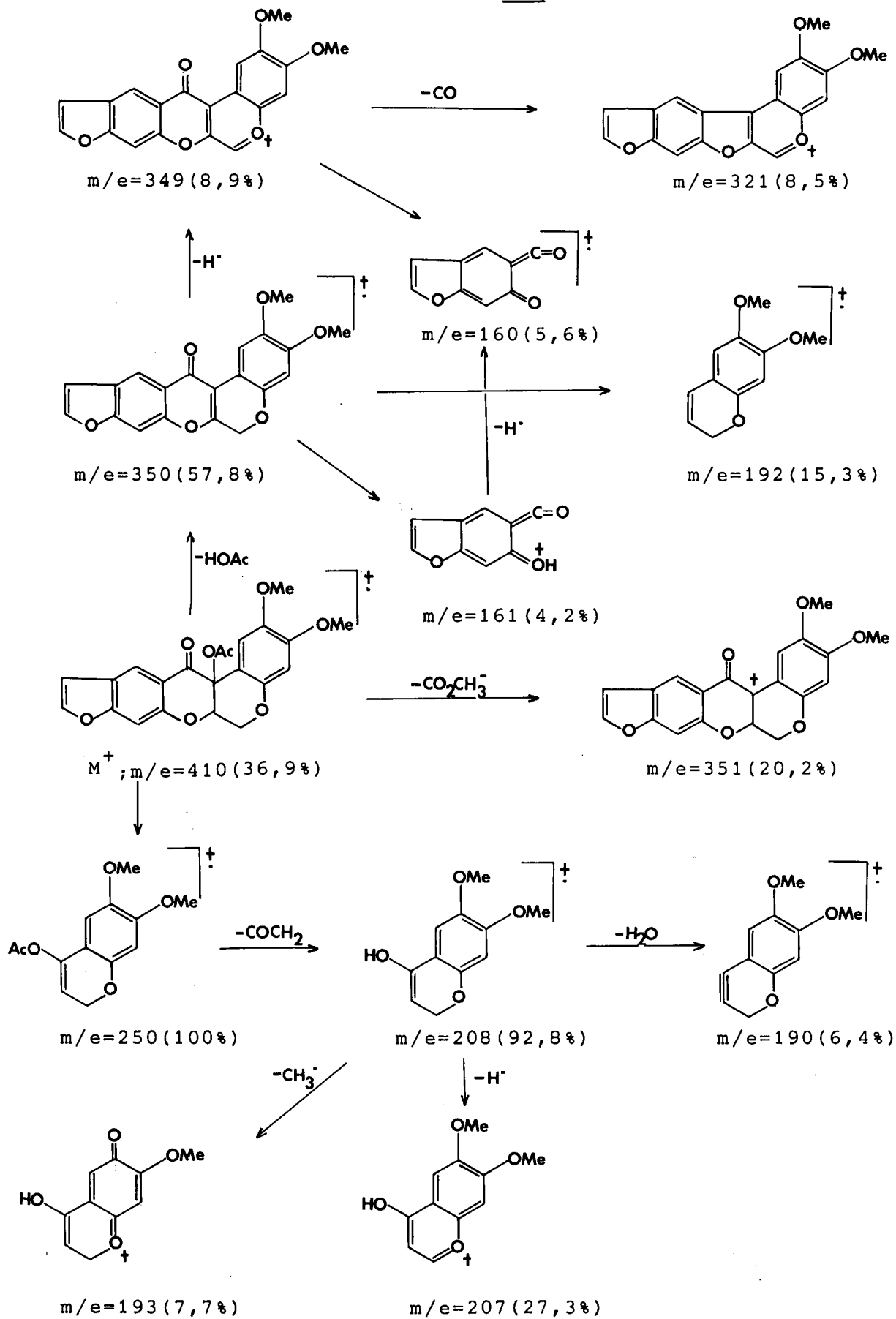


PLAAT 72:

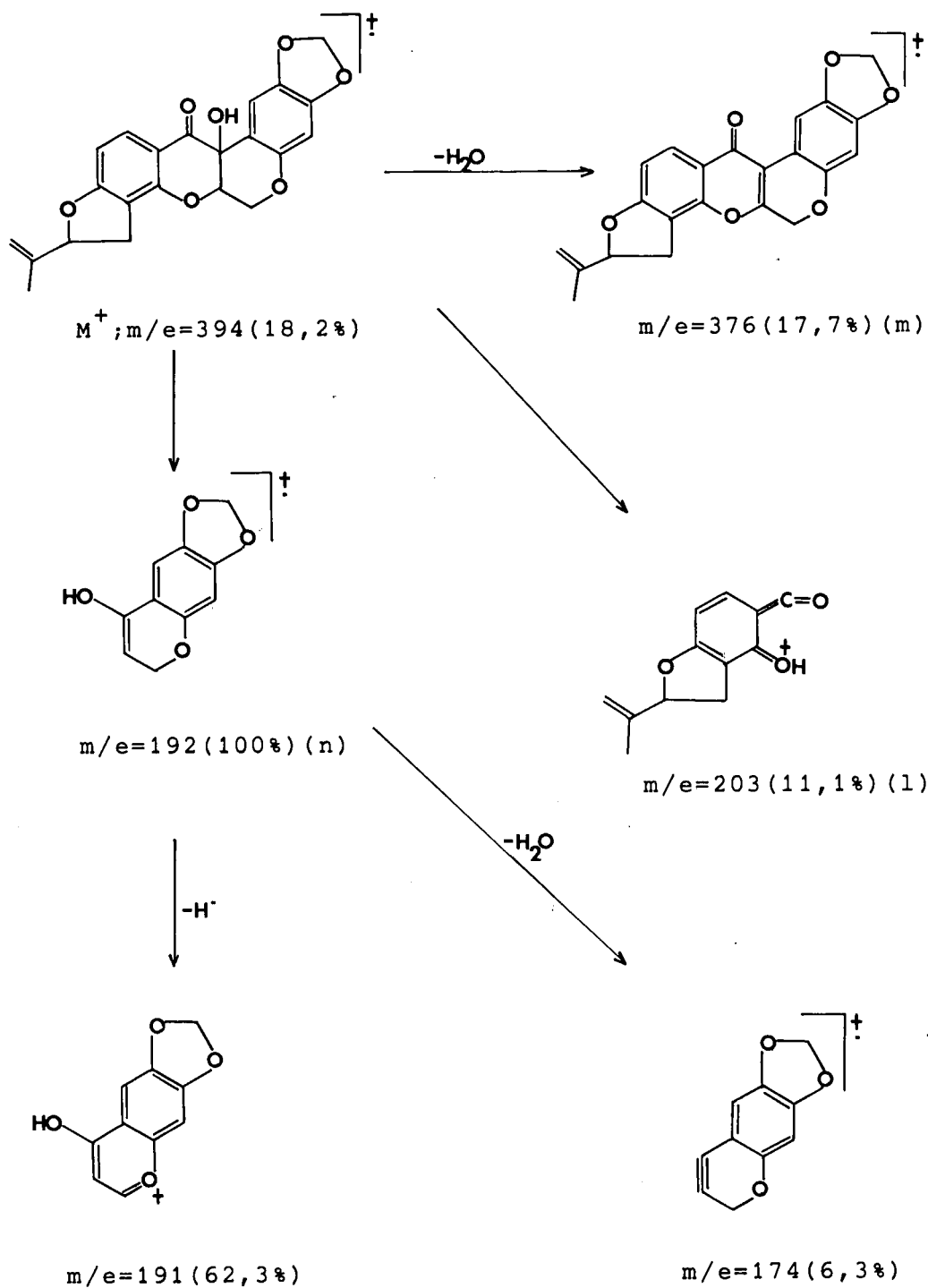
12a-HIDROKSI-EROSONE (167)



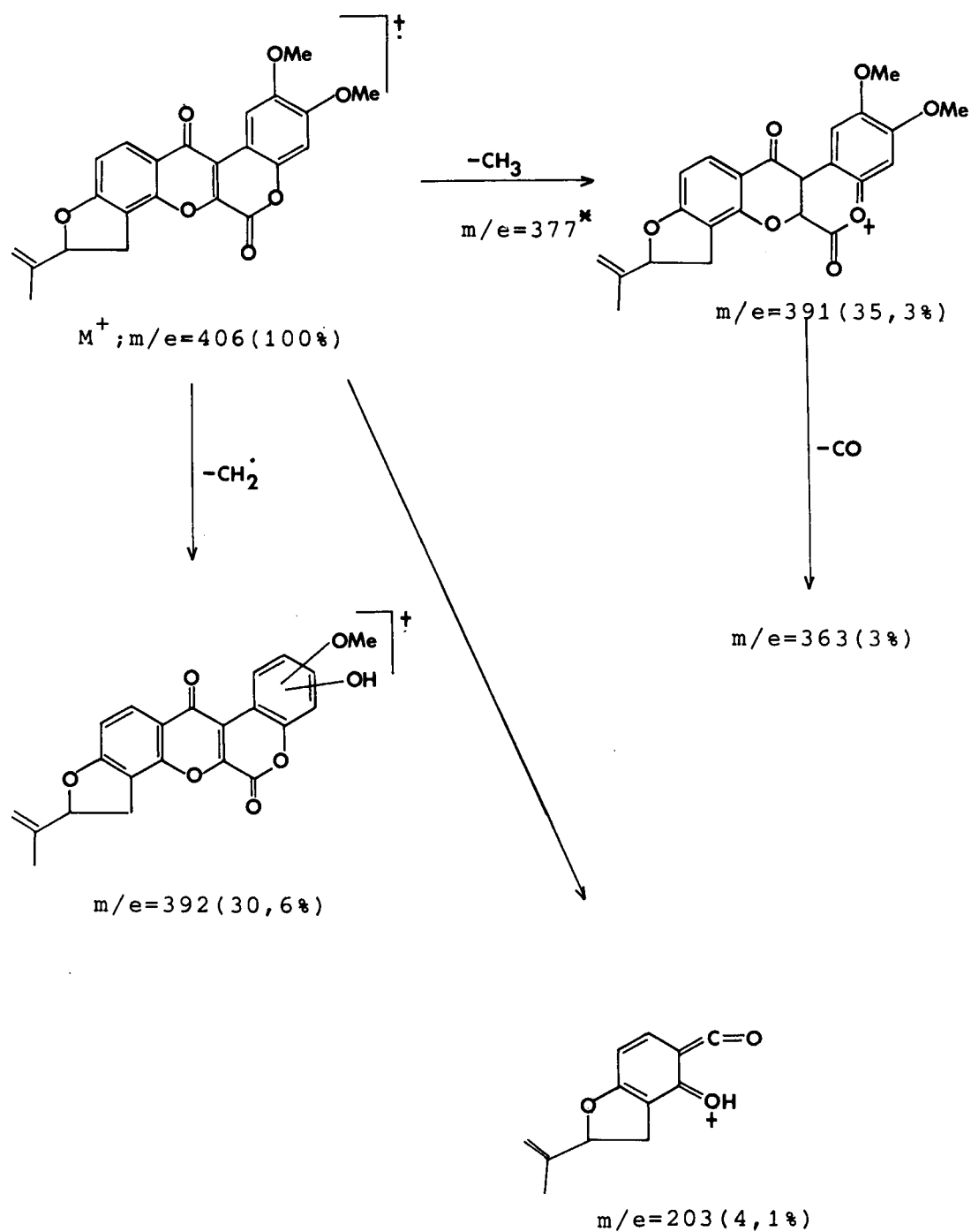
PLAAT 73: 12a-ASETOKSI-EROSONE (168)



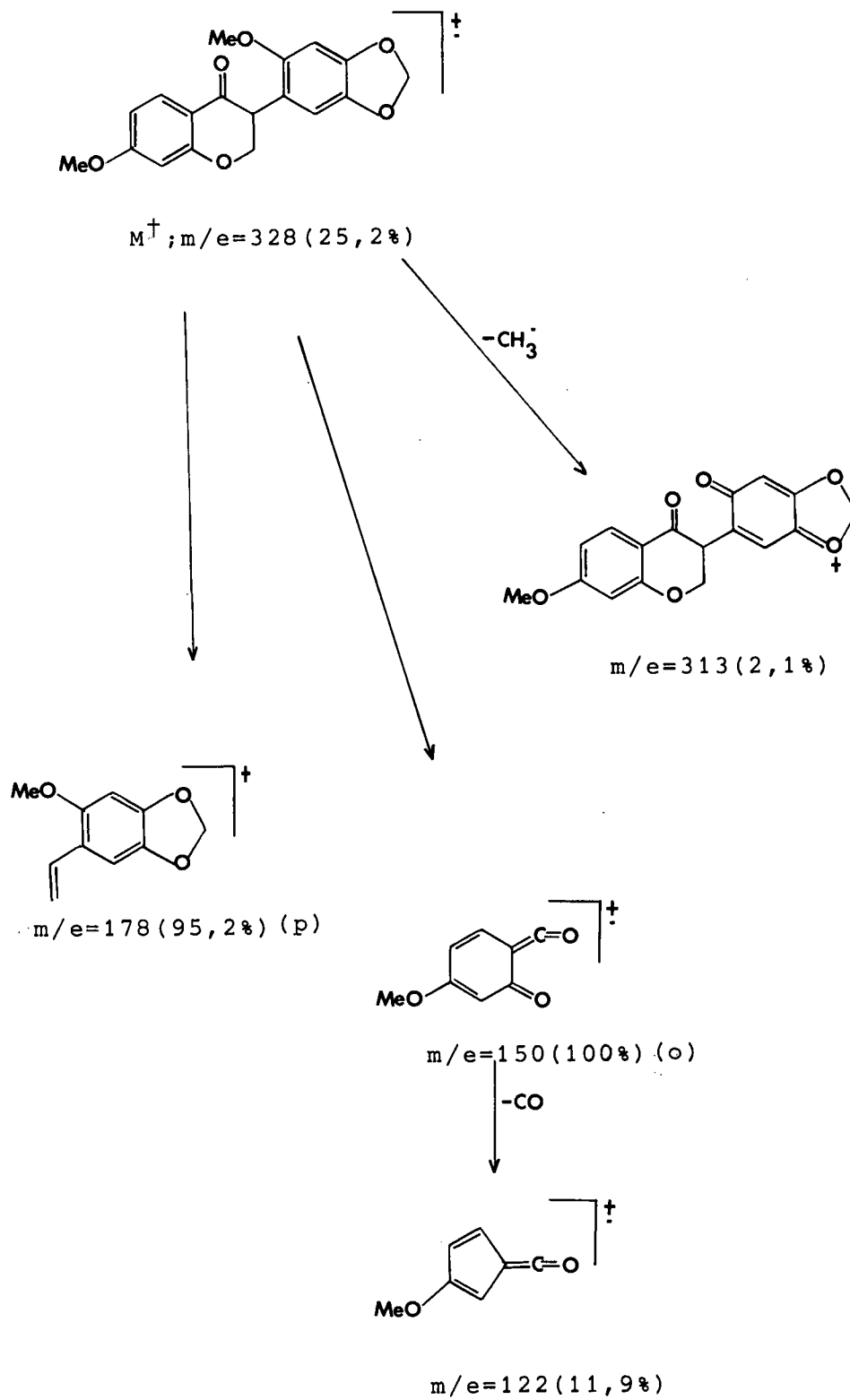
PLAAT 74: 12a-HIDROKSI-ISOMILLETTOON (11)



PLAAT 75: ROTENONON (10)

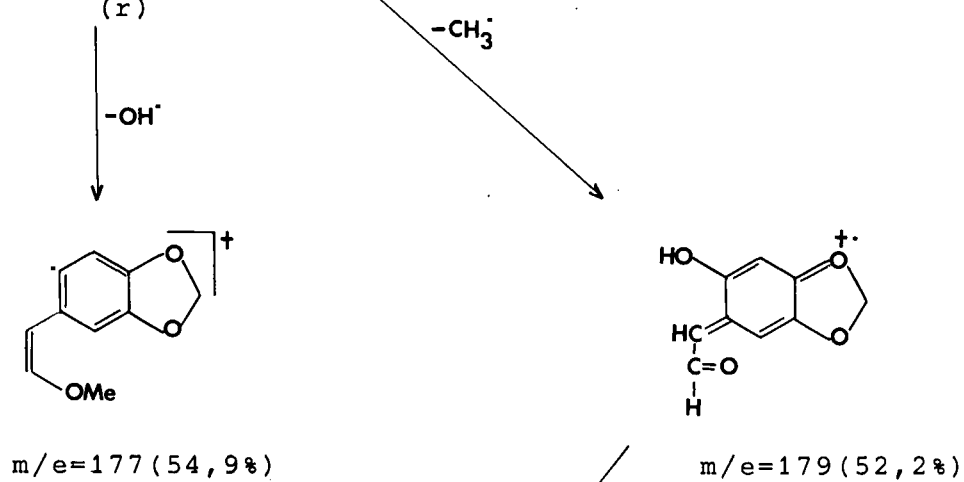
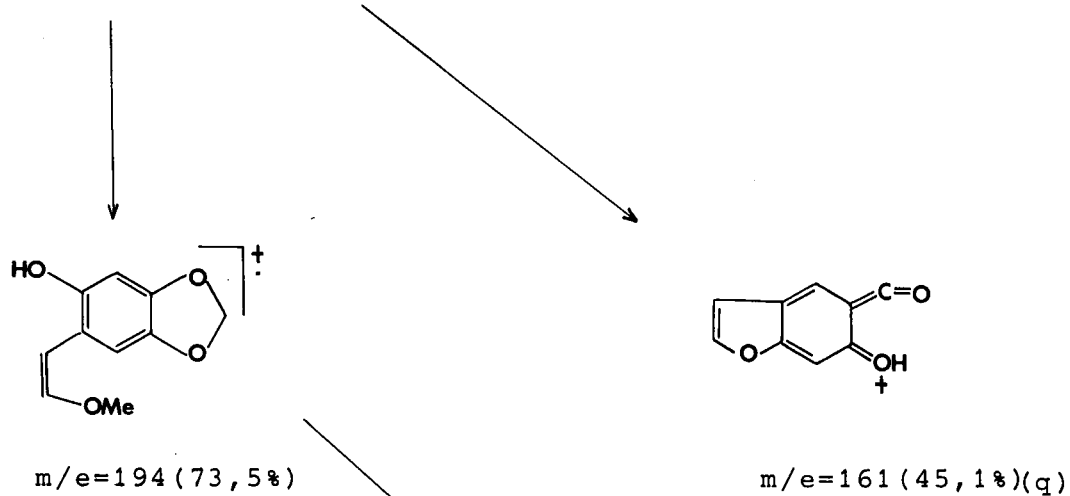
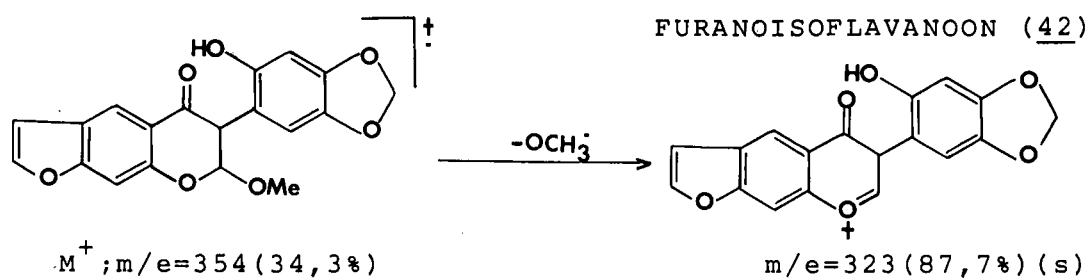


PLAAT 76: 2',7-DIMETOKSISOPHOROL (41)

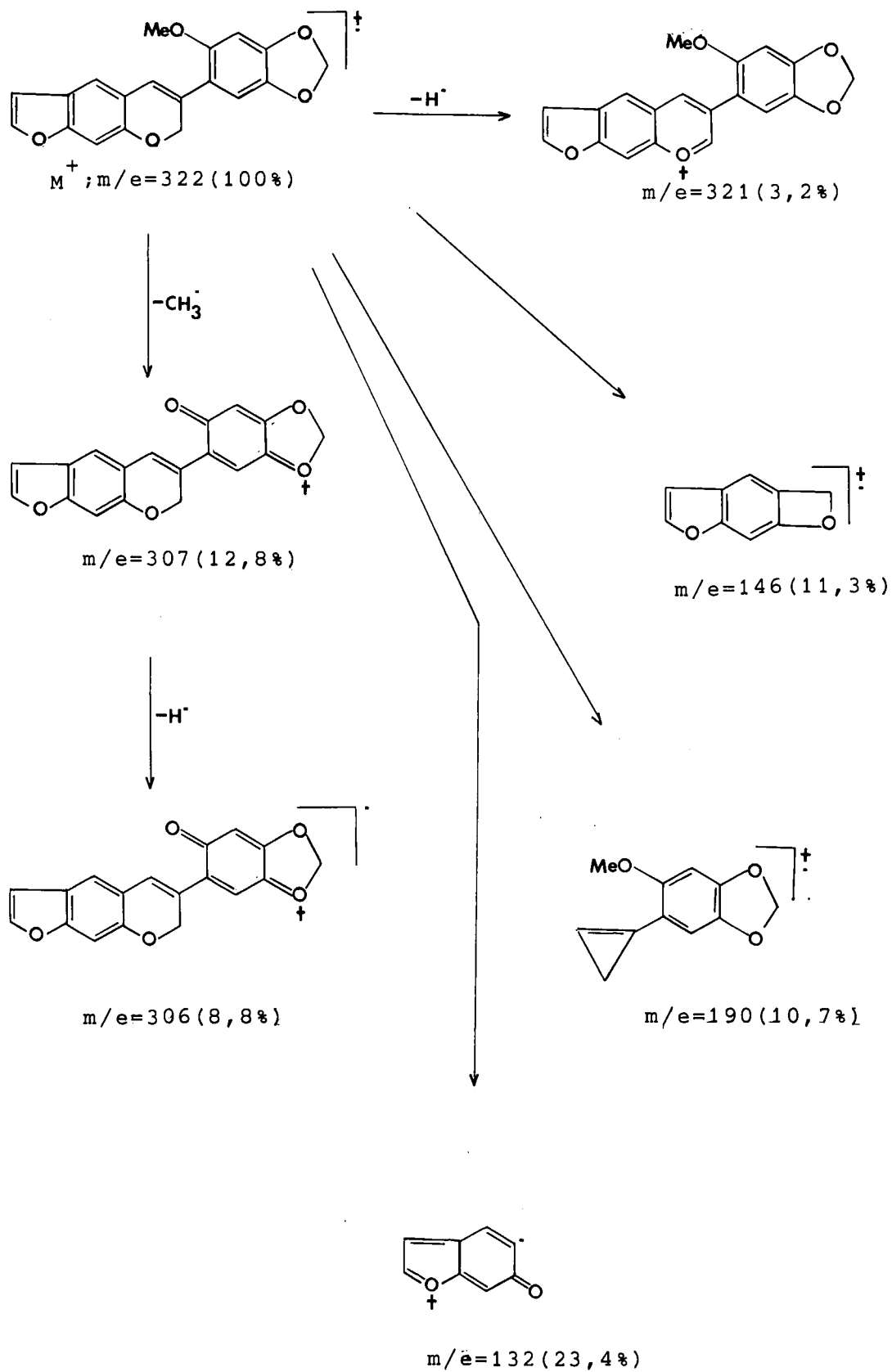


PLAAT 77: 2'-HIDROKSI-2-METOKSI-4',5'-METILEENDIOKSI-6,7,4'',5''-

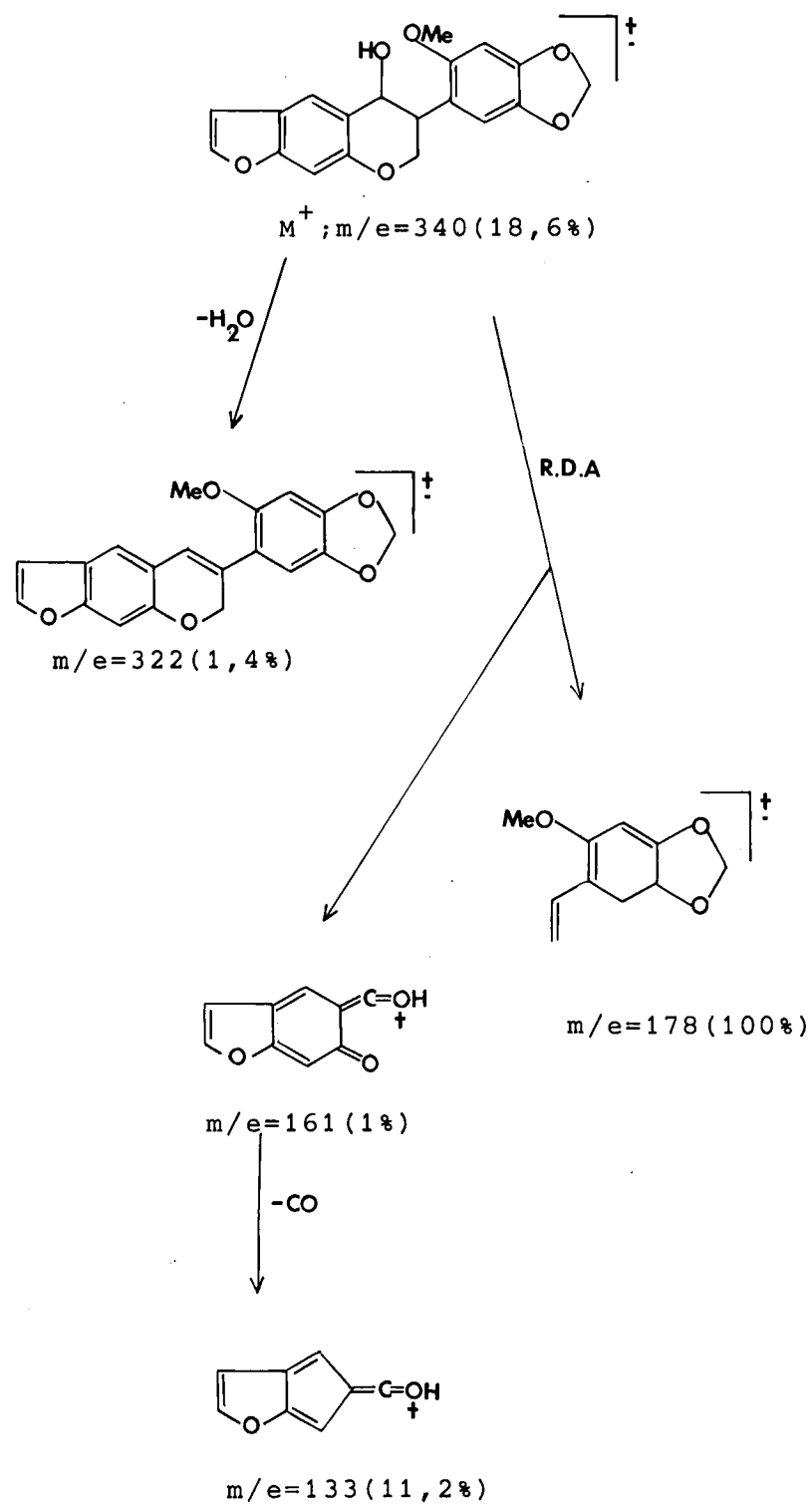
FURANOISOFLAVANOON (42)



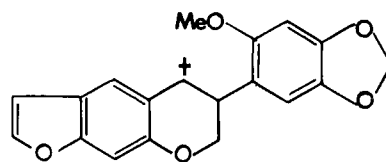
PLAAT 78: 3',4'-METILEENDIOKSI-2'-METOKSI-6,7,4',5'-FURANO-ISO-
FLAV-3-EEN (150)



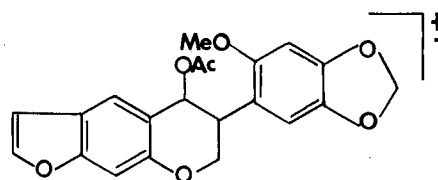
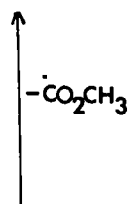
PLAAT 79: AMBANOL (43)



PLAAT 80: AMBANOL-ASETAAT (149)

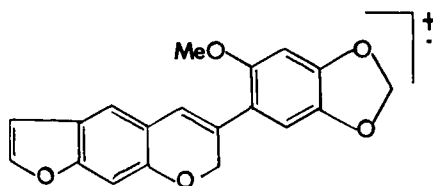


$m/e=323 (21\%)$

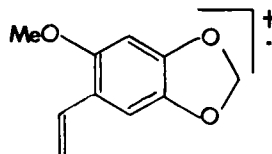


$M^+; m/e=382 (34\%)$

$-CH_3CO_2H$



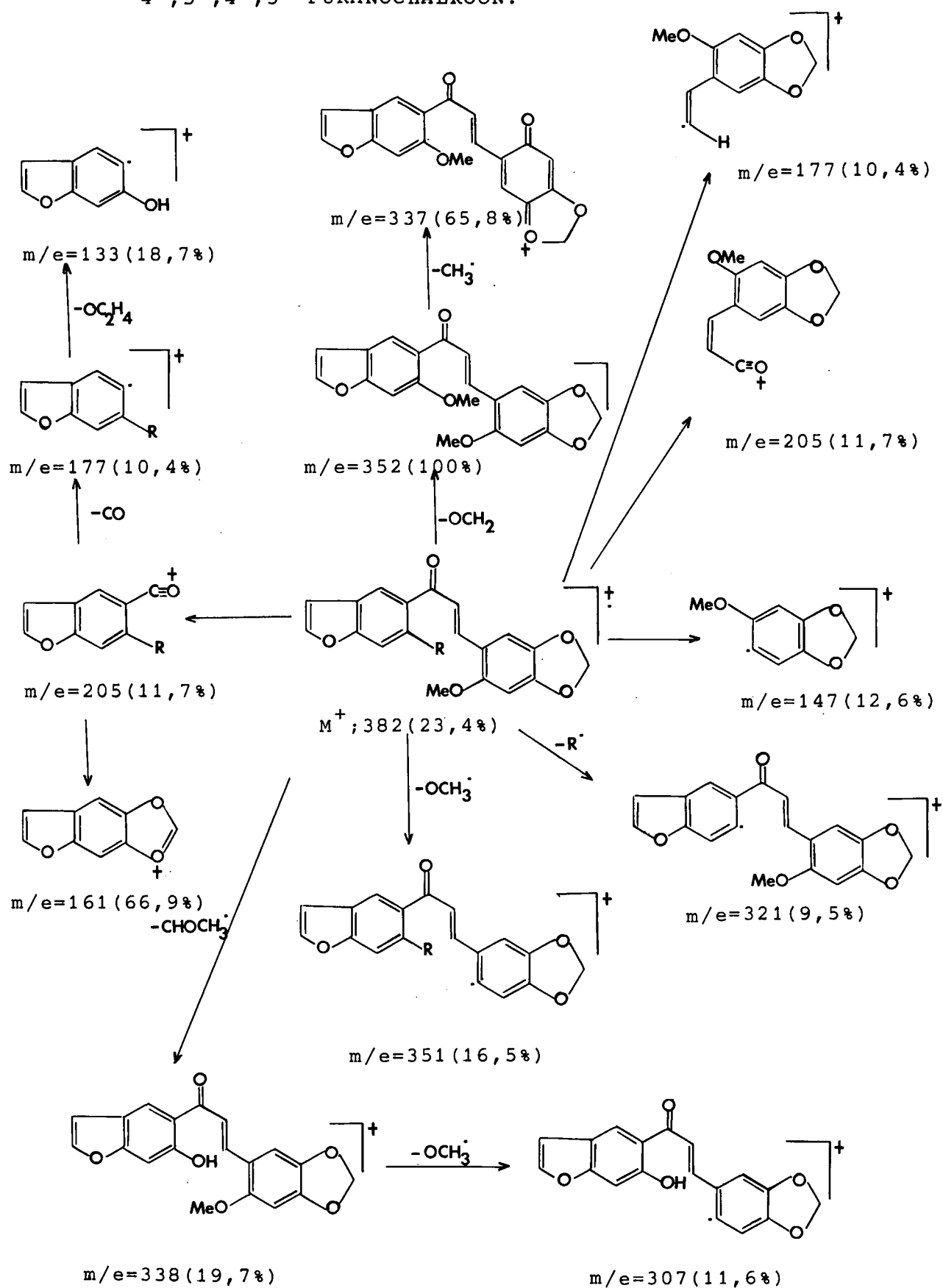
$m/e=322 (65, 7\%)$



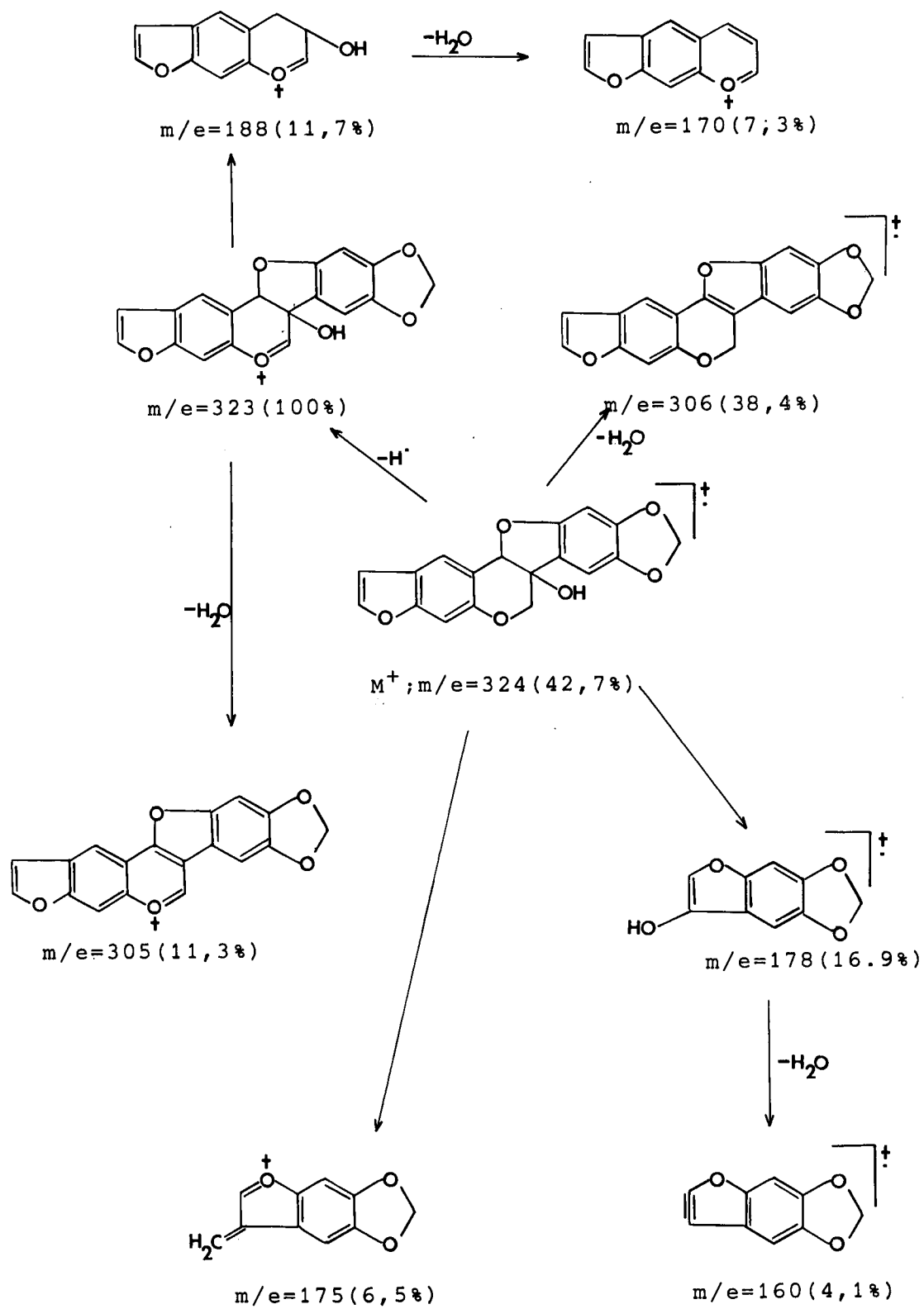
$m/e=178 (100\%)$

PLAAT 81: $R = \text{OCH}_2\text{OCH}_3$

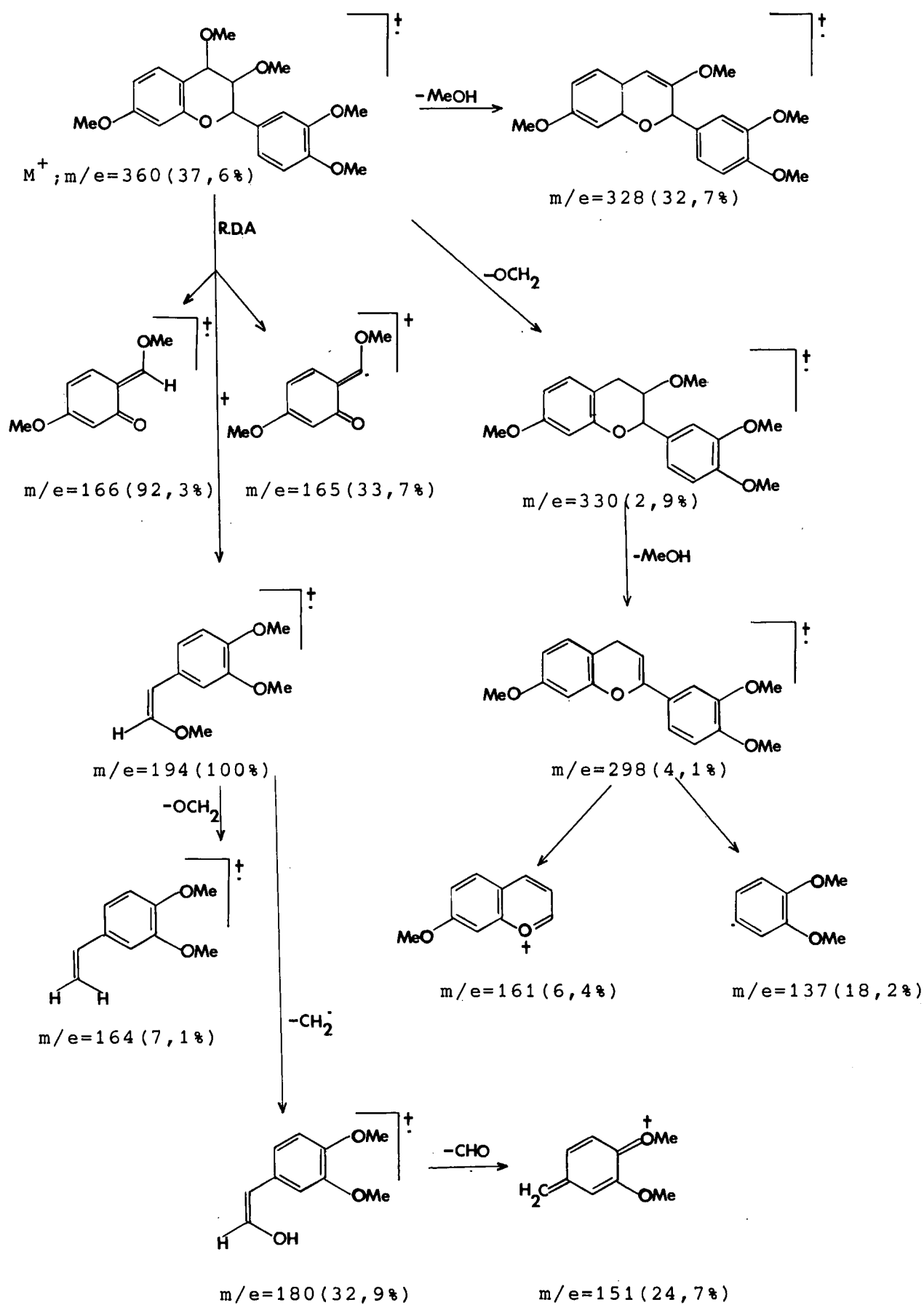
2'-METOKSIMETOKSI-2-METOKSI-4,5-METILEENDIOKSI-
4',5',4'',5''-FURANOCHALKOON.



PLAAT 82: NEOBANOL (34)



PLAAT 83: (-)-3,3',4,4',7-PENTAMETOKSIFLAVAAN (52)



Bibliografie

1. T. SWAIN, *"Chemical Plant Taxonomy"*, 1963, Academic Press, London.
2. J.F. MORTON, *Quart. J. Crude Drug Res.*, 1972, 12, 1829.
3. S.M. KUPCHAN, C.W. SIEGEL, J.R. KNOX EN M.S. UDAYAMURTHY, *J. Org. Chem.*, 1969, 34, 1460.
4. S.M. KUPCHAN EN E. BAUERSCHMIDT, *Phytochemistry*, 1971, 10, 664.
5. L.W. WATTENBERG EN J.L. LEONG, *Cancer Res.*, 1970, 30, 1922.
6. N. FINCH EN W.D. OLLIS, *Proc. Chem. Soc.*, 1960, 176.
7. B.F. BURROWS, W.D. OLLIS, N. FINCH EN I.O. SUTHERLAND, *Proc. Chem. Soc.*, 1959, 150.
8. H.L. HALLER, L.D. GOODHUE EN H.A. JONES, *Chem. Rev.*, 1942, 30, 33.
9. N.L. DUTTA, *J. Indian Chem. Soc.*, 1956, 33, 716.
10. N.L. DUTTA, *ibid.*, 1959, 36, 165.
11. E.P. CLARK, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1943, 65, 27.
12. W.D. OLLIS, C.A. RHODES EN I.O. SUTHERLAND, *Tetrahedron*, 1967, 23, 4741.

13. W.D. OLLIS, "Proceedings of the Symposium on Phytochemistry", 1961, Hong Kong University Press, p.128.
14. E.P. CLARK, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1931, 53, 729.
15. M. HANRIOT, *Compt. rend. Acad. Sci. Paris*, 1907, 144, 150.
16. R.R. LE G. WORSLEY, *Ann. Appl. Biol.*, 1934, 21, 649.
17. S. RANGASWAMI EN B.V. RAMA SASTRY, *Indian J. Pharm.*, 1956, 18, 339;
(vgl: *Chem. Abstr.*, 1957, 51, 2234).
18. Y. CHEN EN H. HSU, *Yakugaku Zasshi*, 1958, 78, 198 (vgl: *Chem. Abstr.*, 1958, 52, 9520).
19. M. MIYANO, T. NISHIKUBO EN M. MATSUI, *Chem. Ber.*, 1960, 93, 1746.
20. M. MIYANO EN M. MATSUI, *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1958, 22, 335.
21. S. TAKEI, *Chem. Ber.*, 1928, 61, 1003.
22. M. GRESHOFF, *Chem. Ber.*, 1890, 23, 3538.
23. S.H. HARPER, *J. Chem. Soc.*, 1940, 309, 1178.
24. L. CROMBIE EN D.A. WHITING, *J. Chem. Soc.*, 1963, 1569.

25. E.C. HANEKOM, "Investigation of the Extractives of *Neorautanenia amboensis* Schinz with special reference to Nuclear magnetic resonance studies on Hydroxybenzofurans", 1967, D.Sc.-proefskrif, U.O.V.S.
26. Persoonlike mededeling : E.A. MARSHALL, Nasionale Instituut vir Plantkunde, Pretoria.
27. C.A. SMITH, "Common names of South African Plants; - Bot. Surv. memoir", 1966, 35, 225.
28. "Bull, Herb. Boiss.", 1899, 7, 35.
29. A. SCHREIBER, "Prodronus fl. S.W. Afr.", 1970, 60, 91.
30. A.J. BRINK, "Pterokarpane en verwante verbindings uit die bas van *Neorautanenia edulis* C.A. Sm", 1971, D.Sc.-verhandeling, U.O.V.S.
31. Uit "Bureau of the Census Reports", FT 110 en FT 246.
32. M.H. GASKINS, G.A. WHITE, F.W. MARTIN, N.E. DELFEL, E.G. RUPPEL EN D.K. BARNES, "Technical Bulletin 1445 U.S. Dept. of Agriculture".
33. P.E. LINDAHL EN K.E. OBERG, *Nature*, 1960, 187, 784.
34. G. PALMER, D.J. HORGAN EN H. TISDALE, *J. Biol. Chem.*, 1960, 243, 844.
35. J. FUKAMI, T. SHISHIDO, K. FUKUNAGA EN J.E. CASIDA, *J. Agric. Food Chem.*, 1969, 17, 1217.

36. H. BICKEL EN H. SCHMID, *Helv. Chim. Acta*, 1953, 36, 664.
37. E. SIMONITSCH, H. FREI EN H. SCHMID, *Mh. Chem.*, 1957, 88, 541.
38. J. EISENBEISS EN H. SCHMID, *Helv. Chim. Acta*, 1952, 42, 61.
39. L.B. NORTON EN R. HANSBERRY, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1945, 67, 166, 1609.
40. L. CROMBIE, D. ADINARAYANA, M. RADHAKRISHNIAH, R.J. RAJASEKHARA RAO EN R. CAMPBELL, *J. Chem. Soc. (C)*, 1971, 1, 29.
41. J.S. GAMBLE, "*Flora of Madras*", 1, 267.
42. L. CROMBIE, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe*, 1963, 21, 275.
43. C.P. FALSHAW, W.D. OLLIS, J.A. MOORE EN K. MAGNUS, *Tetrahedron Suppl. Nr. 7*, 1966, 333.
44. J. CLAISSE, L. CROMBIE EN R. PEACE, *J. Chem. Soc.*, 1964, 6023.
- 44a. A.U. KASYMOV, E.S. KONDRATENKO EN N.K. ABUBAKIROV, *Khim. Priir. Soedin.* 1974, 4, 464.
45. F. ACREE, M. JACOBSON EN H.L. HALLER, *Science*, 1944, 99, 99.
46. F. ACREE, M. JACOBSON EN H.L. HALLER, *J. Org. Chem.*, 1943, 8, 572.
47. D.M. PIATAK, G.A. FLYNN EN P.D. SORENSEN, *Phytochemistry*, 1975, 14, 1391.

48. D. SHIENGTHONG, T. DONAVANIK, V. UAPRASET EN S. ROENGSUMRAN,
Tetrahedron Letters, 1974, 23, 2015.
49. M.E. OBERHOLZER, G.J.H. RALL EN D.G. ROUX, *ibid.*, 1974, 25, 2211.
50. R.C. ROARK, *U.S. Dept. Agr. Misc. Publ.* 1932, nr. 120.
51. H. FUKAMI EN M. NAKAJIMA, "*Naturally Occurring Insecticides*",
geredigeer : M. JACOBSON EN D.G. CROSBY; Marcel Dekker Inc.
New York.
52. E. GEOFFROY, *Ann. Inst. Colon. Marseilles*, 1896, 2, 1.
53. K. NAGAI, *J. Tokyo Chem. Soc.*, 1902, 23, 740.
54. K. NAGAI, *ibid.*, 1912, 23, 744.
55. T. KARIYONE EN S. KONDO, *J. Pharm. Soc. Japan*, 1925, 518, 376.
56. S. TAKEI, *Biochem. Z.*, 1925, 157, 1.
57. A. BUTENANDT, *Annalen*, 1928, 464, 253.
58. A. ROBERTSON, *J. Chem. Soc.*, 1932, 1380.
59. F.B. LaFORCE EN H.L. HALLER, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1932, 54, 810.
60. A. BUTENANDT EN W. MCCARTNEY, *Annalen*, 1932, 494, 17.

61. S. TAKEI, S. MIYAJIMA EN M. ŌNO, *Chem. Ber.*, 1932, 65, 1041.
62. S. TAKEI EN M. KOIDE, *Chem. Ber.*, 1929, 62, 3030.
63. A. ROBERTSON EN G.L. RUSBY, *J. Chem. Soc.*, 1937, 497.
64. A. ROBERTSON, T. KENNY EN S. GEORGE, *J. Chem. Soc.*, 1939, 1601.
65. L. CROMBIE EN R. PEACE, *J. Chem. Soc.*, 1961, 5445.
66. F.M. DEAN, "*Naturally Occurring Oxygen Ring Compounds*", 1963
Butterworths, London, pp.501-518.
67. S.H. HARPER, *J. Chem. Soc.*, 1932, 1424.
68. S.H. HARPER, *ibid.*, 1942, 593.
69. A.U. KASYMOV, E.S. KONDRATENKO EN N.K. ABUBAKIROV, *Khim. Prir.
Soedin.*, 8, 115; (*vgl. Chem. Abstr.*, 77, 85584).
70. S. TAKEI, S. MAYAJIMA EN M. ŌNO, *Chem. Ber.*, 1931, 64, 248.
71. L. CROMBIE, L. GODIN, D.A. WHITING EN K.S. SIDDALINGAIAH, *J. Chem.
Soc.*, 1961, 2876.
72. E. WONG, "*The Flavonoids*", 1975, geredigeer : J.B. HARBORNE, T.J. MABRY
EN H. MABRY; Chapman and Hall, London.
73. F.B. LaFORGE EN L.E. SMITH, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1929, 51, 2574.

74. G. BÜCHI, L. CROMBIE, P.J. GODIN, J.S. KALTENBRONN, K.S. SIDDALINGAIAH EN D.A. WHITING, *J. Chem. Soc.*, 1961, 2843.
75. L. CROMBIE EN J.W. LOWN, *J. Chem. Soc.*, 1962, 775.
76. C. DJERASSI, W.D. OLLIS EN R.C. RUSSEL, *J. Chem. Soc.*, 1961, 1448.
77. T. UNAI, I. YAMAMOTO, H. CHENG EN J.E. CASIDA, *Agric. and Biol. Chem.*, 1973, 37(2), 387.
78. D.G. CARLSON, D. WEISLEDER EN W.H. TALLENT, *Tetrahedron*, 1973, 29, 2731.
79. D.L. ADAMS, L. CROMBIE EN D.A. WHITING, *J. Chem. Soc. (C)*, 1966, 542.
80. G. BÜCHI, J.S. KALTENBRONN, L. CROMBIE, P.J. GODIN EN D.A. WHITING, *Proc. Chem. Soc.*, 1960, 274.
81. F. FUJITA, N. NAKATANI EN M. MATSUI, *Agric. and Biol. Chem.* 1973, 37(7), 1737.
82. R.I. REED EN J.W. WILSON, *J. Chem. Soc.*, 1963, 5949.
83. J.H. BEYNON, "Mass Spectrometry and its application to Organic Chemistry", 1960, Elsevier, London, (a) p.354; (b) p.363.
84. F.B. LaFORCE EN L.E. SMITH, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1930, 52, 3603.
85. F.B. LaFORCE EN L.E. SMITH, *ibid.*, 1930, 52, 1088.

86. H. GRISEBACH EN W.D. OLLIS, *Experientia*, 1961, 17, 4.
87. L. CROMBIE EN P.J. GODIN, *J. Chem. Soc.*, 1961, 2861.
88. R. BRAZ FILHO, O.R. GOTTLIEB, A.P. MOURÃO, A.I. DA ROCHA EN F.S. OLIVEIRA, *Phytochemistry*, 1975, 14, 1454.
89. F.B. LaFORGE EN H.L. HALLER, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1934, 56, 1620.
90. S. TAKEI, S. MIYAJIMA EN M. ŌNO, *Chem. Ber.*, 1933, 66, 482.
91. J. REISCH, M. GOMBOS, K. SZENDREI EN I. NOVÁK, *Phytochemistry*, 1976, 15, 234.
92. A. ROBERTSON, *J. Chem. Soc.*, 1933, 489.
93. F.B. LaFORGE H.L. HALLER EN L.E. SMITH, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1931, 53, 4400.
94. E.P. CLARK, *ibid*, 1931, 53, 313.
95. M. MIYANO, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1965, 87, 3962.
96. N. NAKATANI EN M. MATSUI, *Agric. and Biol. Chem. Japan*, 1968, 32, 769.
97. N. NAKATANI EN M. MATSUI, *ibid.*, 1969, 33, 110.
98. A. ROBERTSON, *J. Chem. Soc.*, 1933, 1163.

99. T.S. KENNY, A. ROBERTSON EN S.W. GEORGE, *ibid.*, 1939, 1610.
100. K. FUKUI, M. NAKAYAMA, M. HATANAKA, T. OKAMOTO EN Y. KAWASE, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1963, 36, 397.
101. K. FUKUI, M. NAKAYAMA, A. TANAKA EN S. SASATAMI, *ibid.*, 1965, 38, 845.
102. T. HARANO, *ibid.*, 1970, 43, 1560.
103. K. FUKUI, M. NAKAYAMA EN T. HARANO, *Experientia*, 1967, 23, 613.
104. V. CHANDRASHEKAR, M. KRISHNAMURTI EN T.R. SESHADRI, *Tetrahedron*, 1967, 23, 2505.
105. V. CHANDRASHEKAR, M. KRISHNAMURTI EN T.R. SESHADRI, *Current Sci.*, 1967, 36, 623.
106. V. CHANDRASHEKAR, M. KRISHNAMURTI EN T.R. SESHADRI, *ibid.*, 1965, 34, 479.
107. K. FUKUI, M. NAKAYAMA EN T. HARANO, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1969, 42, 199, 233.
108. K. FUKUI, M. NAKAYAMA EN T. HARANO, *Experientia*, 1969, 25, 789.
109. M. KRISHNAMURTI, Y.R. SAMBHY EN T.R. SESHADRI, *Indian J. Chem.*, 1971, 9, 297.
110. F.B. LaFORGE, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1935, 55, 3040.

111. M. MIYANO, *ibid.*, 1965, 87, 3958.
112. M. MIYANO, *J. Org. Chem.*, 1970, 35, 246.
113. M. UCHIYAMA, M. OHHASHI EN M. MATSUI, *Agric. and Biol. Chem. Japan*, 1966, 30, 1145.
114. M. BARAN-MARSZAK, J. MASSICOT EN D. MOLHO, *Bull. Soc. chim. France*, 1971, 191.
115. R. VERHÉ EN N. SCHAMP, *Experientia*, 1975, 31, 759.
116. H. FUKAMI, S. TAKAHASHI, K. KONISHI EN M. NAKAJIMA, *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1960, 24, 123.
117. E.P. CLARK, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1931, 53, 2264.
118. M. MIYANO EN M. MATSUI, *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1958, 22, 128.
119. M. MIYANO EN M. MATSUI, *Chem. Ber.* 1958, 91, 2044.
120. H. FUKAMI, J. ODA, G. SAKATA EN M. NAKAJIMA, *Agric. and Biol. Chem. Japan*, 1961, 25, 252.
121. J.R. HERBERT, W.D. OLLIS EN R.C. RUSSEL, *Proc. Chem. Soc.*, 1960, 177.

122. H. FUKAMI, G. SAKATA EN N. NAKAJIMA, *Agric. and Biol. Chem.* 1965, 29, 82.
123. O. DANN EN G. VOLZ, *Annalen*, 1960, 631, 111.
124. M. MIYANO, A. KOBAYASHI EN M. MATSUI, *Agric. and Biol. Chem.*, 1960, 24, 540.
125. M. MIYANO, A. KOBAYASHI EN M. MATSUI, *ibid*, 1961, 25, 673.
126. Y. KAWASE EN C. NUMATA, *Chem. Ind.*, 1961, 1361.
127. A.C. METHA EN T.R. SESHADRI, *Proc. Indian Acad. Sci.*, 1955, 42, 192.
128. P.S. SARIN, J.M. SEHGAL EN T.R. SESHADRI, *ibid.*, 1958, 47A, 292.
129. H. OMOKAWA EN K. YAMASHITA, *Agric. and Biol. Chem.*, 1973, 37(1), 195.
130. D.J. RINGSHAW EN H.J. SMITH, *J. Chem. Soc. (C)*, 1968, 102.
131. M. CHUBACHI EN M. HAMADA, *Chem. Lett.*, 1974, 5, 397; (*vgl. Chem. Abstr.*, 1974, 81, 37491j).
132. G.A. CAPLIN, W.D. OLLIS EN I.O. SUTHERLAND, *J. Chem. Soc. (C)*, 1968, 2302.
133. L. CROMBIE, P.W. FREEMAN EN D.A. WHITING, *Chem. Comm.* 1970, 563.

134. D. CARSON, W.M. CASS, L. CROMBIE EN D.A. WHITING, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 1975, 19, 802.
135. M. SHABBIR EN A. ZAMAN, *Tetrahedron*, 1970, 26, 5041.
136. S.F. DYKE, W.D. OLLIS EN M. SAINSBURY, *Proc. Chem. Soc.*, 1963, 179.
137. W.A.L. KAPOOR, A. AEBI EN J. BÜCHI, *Helv. Chim. Acta*, 1957, 40, 1574.
138. J.A. MOORE EN S. ENG, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1956, 78, 395.
139. G.A. STAMM, H. SCHMID EN J. BÜCHI, *Helv. Chim. Acta*, 1958, 41, 2006.
140. R.J. HIGHET EN P.F. HIGHET, *J. Org. Chem.*, 1967, 32, 1055.
141. G.A. RANGASWAMI EN B.V.R. SASTRY, *Arch. Pharm.*, 1959, 292, 170.
142. P. CRABBÉ, P.R. LEEMING EN C. DJERASSI, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1958, 80, 5258.
143. L.H. BRIGGS EN B.F. CAIN, *Tetrahedron*, 1959, 6, 143.
144. T.M. MAGALHAES EN O.R. GOTTLIEB, *J. Org. Chem.*, 1961, 26, 2449.
145. R. BRAZ FILHO, M.E.L. ALMEIDA EN O.R. GOTTLIEB, *Phytochemistry*, 1973, 12, 1187.

146. S.H. HARPER EN W.G.E. UNDERWOOD, *J. Chem. Soc.*, 1965, 4203.
147. C. V.D.M. BRINK, J.J. DEKKER, E.C. HANEKOM, D.H. MEIRING EN G.J.H. RALL, *J.S. African Chem. Inst.*, 1965, 18, 21.
148. J.B. HARBORNE, "*Comparative Biochemistry of the Flavonoids*", 1967, Academic Press, London.
149. R.V.M. CAMPBELL, S.H. HARPER EN A.D. KEMP, *J. Chem. Soc. (C)*, 1969, 1787.
150. T.A. GEISSMAN (redakteur), "*The Chemistry of Flavonoid Compounds*", 1962, Pergamon Press, Oxford, pp.353-405.
151. S.A. KAGAL, S.A. KARMARKAR EN K. VENKATARAMAN, *Proc. Indian Acad. Sci.*, 1956, 44A, 36.
152. L. FARKAS, *Chem. Ber.*, 1957, 90, 2940.
153. L. FARKAS, Á. MAJOR, L. PALLOS EN J. VÁRADY, *Chem. Ber.* 1959, 91, 2858.
154. S.A. KAGAL, P.M. NAIR EN K. VENKATARAMAN, *Tetrahedron Letters*, 1962, 593.
155. H.S. MAHAL, H.S. RAI EN K. VENKATARAMAN, *J. Chem. Soc.*, 1934, 1120.
156. H. SUGINOME EN T. IWADARE, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1966, 39, 1535.

157. L. FARKAS, A. GOTTSEGEN, M. NÓGRÁDI EN S. ANTUS, *J. Chem. Soc. (C)*, 1971, 1994.
158. W. BAKER, J. CHADDERTON, J.B. HARBORNE EN W.D. OLLIS, *J. Chem. Soc.*, 1953, 1852.
159. W. BAKER, D.F. DOWNING, A.J. FLOYD, B. GILBERT, W.D. OLLIS EN R.S. RUSSEL, *J. Chem. Soc. (C)*, 1970, 1219.
160. S.K. GROVER, A.C. JAIN EN T.R. SESHADRI, *Indian J. Chem.*, 1963, 1, 517.
161. S.C. BHARA, A.C. JAIN EN T.R. SESHADRI, *Tetrahedron*, 1964, 20, 1141.
162. S.C. BHARA, A.C. JAIN EN T.R. SESHADRI, *ibid.*, 1965, 21, 963.
163. A.C. JAIN, P.D. SARPAL EN T.R. SESHADRI, *Indian J. Chem.*, 1965, 3, 369.
164. W.D. OLLIS, K.L. ORMAND EN I.O. SUTHERLAND, *J. Chem. Soc. (C)*, 1970, 119.
165. A. McKILLOP, B.P. SWANN EN E.C. TAYLOR, *Tetrahedron Letters*, 1970, 5281.
166. G. DE LAIRE EN F. TIEMANN, *Chem. Ber.*, 1893, 26, 2010.
167. K.R. MARKHAM, T.J. MABRY EN W.T. SWIFT, *Phytochemistry*, 1970, 9, 2359.

168. W.A. DEMENT EN T.J. MABRY, *Phytochemistry*, 1972, 11, 1089.
169. A.B. BECK, *Aust. J. Chem.*, 1964, 15, 223.
170. T.R. SESHADRI, "Symposium on Phytochemistry", 1961, Hong Kong, pp.145-163.
171. N. NARASIMHACHARI EN T.R. SESHADRI, *Proc. Indian Acad. Sci.*, 1952, 35A, 202.
172. F.E. KING, M.F. GRUNDON EN K.G. NEIL, *J. Chem. Soc.*, 1952, 4580.
173. F.E. KING EN K.G. NEIL, *J. Chem. Soc.*, 1952, 4752.
174. D. ADINARAYANA EN J.R. RAO, "8th Internatl. Symposium on the Chemistry of Natural Products (IUPAC) Abstracts", 1972, 96.
175. N. INOUE, *Sci. Reports. Tóko-hu Univ., 1st Ser.*, 1961, 45, 63.
176. N. INOUE, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1964, 37, 601.
177. L. FARKAS, M. NÓGRÁDI, S. ANTUS EN A. GOTTSEGEN, *Tetrahedron*, 1969, 25, 1013.
178. S.K. AGARWAL, S.K. GROVER EN T.R. SESHADRI, *Indian J. Chem.*, 1969, 7, 1059.
179. H. SUGINOME, *J. Org. Chem.*, 1959, 24, 1655.

180. J.W. CLARK-LEWIS, *Rev. Pure Appl. Chem. Australia*, 1962, 12, 96.
181. A.S.R. ANJANEYULU, C. SRI KRISHNA EN L. RAMACHANDRA ROW, *Tetrahedron*, 1965, 21, 2677.
182. A. ROBERTSON EN W.B. WHALLEY, *J. Chem. Soc.*, 1954, 1440.
183. R.B. BRADBURY EN D.E. WHITE, *ibid.*, 1953, 871.
184. R.A. MICHELI, A.N. BOOTH, A.L. LIVINGSTONE EN M.E. BICKOFF, *J. Medicinal Pharm. Chem.*, 1961, 5, 321.
185. A. MCGOOKIN, A. ROBERTSON EN W.B. WHALLEY, *J. Chem. Soc.*, 1940, 787.
186. H. SUGINOME, *Experientia*, 1962, 18, 163.
187. S.H. HARPER, A.D. KEMP, W.G.E. UNDERWOOD EN R.V.M. CAMPBELL, *J. Chem. Soc. (C)*, 1969, 1109.
188. S.H. HARPER, A.D. KEMP EN W.G.E. UNDERWOOD, *Chem. and Ind.*, 1965, 562.
189. G.J.H. RALL, J.P. ENGELBRECHT EN A.J. BRINK, *Tetrahedron*, 1970, 26, 5007.
190. G.J.H. RALL, J.P. ENGELBRECHT EN A.J. BRINK, *J.S. African Chem. Inst.*, 1971, 24, 56.

191. A.J. BRINK, G.J.H. RALL EN J.C. BREYTENBACH, *Phytochemistry*, 1976, (in die pers).
192. A.J. BRINK, G.J.H. RALL EN J.P. ENGELBRECHT, *Phytochemistry*, 1974, 13, 1581.
193. A. PELTER EN P.I. AMENECHI, *J. Chem. Soc. (C)*, 1969, 887.
194. D.M.X. DONNELLY EN M.A. FRITZGERALD, *Phytochemistry*, 1971, 10, 3147.
195. K.K. PURUSHOTHAMAN, V.M. KISHORE, V. NARAYANASWAMI EN J.D. CONNOLLY, *J. Chem. Soc. (C)*, 1971, 2420.
196. J.B.-son BREDENBERG EN P.K. HIETALA, *Acta Chem. Scand.*, 1961, 15, 696.
197. C.W.L. BEVAN, A.J. BIRCH, B. MOORE EN S.K. MUKERJEE, *Tetrahedron Letters*, 1962, 673.
198. K.G.R. PACHLER EN W.G.E. UNDERWOOD, *Tetrahedron*, 1967, 23, 1817.
199. A. PELTER, P. STANTON EN M. BARBER, *J. Heterocyclic Chem.*, 1965, 2, 262.
200. W.D. OLLIS, *Experientia*, 1966, 22, 777.
201. H. SUGINOME, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1966, 39, 409.
202. H. SUGINOME, *ibid.*, 1966, 39, 1544.

203. S. ITO, Y. FUJISE EN A. MORI, *Chem. Comm.*, 1965, 595.
204. L. VERBIT EN J.W. CLARK-LEWIS, *Tetrahedron*, 1968, 24, 5519.
205. K. FUKUI EN M. NAKAYAMA, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1968, 41, 1385.
206. M. UCHIYAMA EN M. MATSUI, *Agric. and Biol. Chem.* 1967, 31, 1490.
207. L. FARKAS, A. GOTTSEGEN, M. NÓGRÁDI EN S. ANTUS, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1974, 305.
208. N. ADITYACHAUDHURY EN P.K. GUPTA, *Phytochemistry*, 1973, 12, 425.
209. D.R. PERRIN EN W. BOTTOMLEY, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1962, 84, 1919.
210. J.J. SIMS, N.T. KEEN EN V.K. HONWAD, *Phytochemistry*, 1972, 11, 827.
211. W.D. OLLIS, "Recent Advances in Phytochemistry", 1968, geredigeer:
T.J. MABRY, R.E. ALSTON EN V.C. RUNECKLES; Appleton-Century-
Crofts, New York, Vol. 1, pp.329-378.
212. B.S. JOSHI, V.N. KAMAT EN T.R. GOVINDACHARI, *Indian J. Chem.*, 1972,
10, 112.
213. R.D. ALENCAR, R. BRAZ FILHO EN O.R. GOTTLIEB, *Phytochemistry*, 1972,
11, 1517.
214. D.D. PERRIN EN D.R. PERRIN, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1962, 84, 1922.

215. C.W.L. BEVAN, A.J. BIRCH, B. MOORE EN S.K. MUKERJEE, *J. Chem. Soc.*, 1964, 5991.
216. P.M. DEWICK, W. BARZ EN H. GRISEBACH, *Chem. Comm.*, 1969, 466.
217. F.E. KING EN W. BOTTOMLEY, *J. Chem. Soc.*, 1954, 1399.
218. K. WEINGES, W. BAHR, W. EBERT, K. GORITZ EN H.D. MARX, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe*, 1969, 27, 158.
219. J.W. CLARK-LEWIS EN I. DAINIS, *Austral. J. Chem.*, 1967, 20, 2191.
220. M.D. TINDALE EN D.G. ROUX, *Phytochemistry*, 1969, 8, 1713.
221. Y. ASAKAWA, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1970, 43, 575.
222. G. BILLEK, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe*, 1964, 22, 115.
223. Y. ASAKAWA, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1971, 44, 2761.
224. H. ERDTMAN EN E. RENNERFELT, *Svensk Papperstidn.*, 1944, 47, 45.
225. E. RENNERFELT, *Svensk Bot. Tidskr.*, 1943, 37, 83.
226. E. RENNERFELT, *ibid.*, 1945, 39, 311.
227. R.A. BARNES EN N.N. GERBER, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1955, 77, 3259.

228. G. LINDSTEDT EN A. MISIORNY, *Acta Chem. Scand.*, 1951, 5, 121.
229. T.A. GEISSMAN EN E. HINREINER, *Botan. Rev.*, 1952, 18, 77.
230. W.B. WHALLEY, *Chem. and Ind.*, 1956, 1049.
231. W.D. OLLIS, "*The Chemistry of Flavonoid Compounds*", 1962, gere-
digeer: T.A. GEISSMAN; MACMILLAN, New York, p.360.
232. L.H. BRIGGS, B.F. CAIN EN T.P. CEBALO, *Tetrahedron*, 1959, 7, 262.
233. B.F. BURROWS, W.D. OLLIS EN L.M. JACKMAN, *Proc. Chem. Soc.*, 1960,
177.
234. A.J. BIRCH, "*Biosynthetic Relations of Some Natural Phenolic and
Enolic Compounds*", *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe*, 1957, 14,
186.
235. H. GRISEBACH, *Z. Naturforsch.*, 1957, 12b, 227, 597.
236. H. GRISEBACH, *ibid.*, 1958, 13b, 335.
237. A.J. BIRCH EN F.W. DONOVAN, *Austral. J. Chem.*, 1953, 6, 360.
238. T.A. GEISSMAN, "*Biogenesis of Natural Compounds*", 1967, red.
P. BERNFIELD, Pergamon Press, p.772.
239. E.W. UNDERHILL, J.E. WATKIN EN A.C. NEISH, *Canad. J. Biochem.
Physiol.*, 1957, 35, 219, 229.

240. H. GRISEBACH EN W. BARZ, *Naturwiss.*, 1969, 56, 538.
241. H. GRISEBACH, "*The Chemistry of Natural Phenolic Compounds*", 1961, geredigeer : W.D. Ollis; Pergamon Press, p.60.
242. A. PELTER, J. BRADSHAW EN R.F. WARREN, *Phytochemistry*, 1971, 10, 835.
- 242a. P.M. DEWICK EN M. MARTIN, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 1976, 637.
243. J.P. VAN DER MERWE, D. FERREIRA, E.V. BRANDT EN D.G. ROUX, *Chem. Comm.*, 1972, 521.
244. E. MALAN EN D.G. ROUX, *Phytochemistry*, 1974, 13, 1575.
245. F. DU R. VOLSTEEDT, G.J.H. RALL EN D.G. ROUX, *Tetrahedron Letters*, 1973, 12, 1001.
246. F. DU R. VOLSTEEDT, G.J.H. RALL, D. FERREIRA EN G.D. ROUX, (Ongepubliseerde werk).
247. D.G. ROUX EN D. FERREIRA, *Phytochemistry*, 1974, 13, 2039.
248. H. GRISEBACH EN N. DOERR, *Naturwiss.*, 1959, 17, 514.
249. H. GRISEBACH, *Z. Naturforsch.* 1959, 14b, 802.
250. H. GRISEBACH EN N. DOERR, *ibid.*, 1960, 15b, 284.

251. H. GRISEBACH EN L. PATSCHKE, *Chem. Ber.*, 1960, 93, 2326.
252. L. PATSCHKE, W. BARZ EN H. GRISEBACH, *Z. Naturforsch.*, 1966, 21b, 201.
253. L. PATSCHKE, W. BARZ EN H. GRISEBACH, *ibid.*, 1964, 19b, 1110.
254. A. PELTER EN P. STANTON, *J. Chem. Soc. (C)*, 1966, 701.
255. A. PELTER, *Tetrahedron Letters*, 1968, 897.
256. W. BARZ EN H. GRISEBACH, *Z. Naturforsch.*, 1967, 22, 627.
257. L. CROMBIE EN M.B. THOMAS, *J. Chem. Soc., (C)*, 1967, 1796.
258. C.L. GREEN, L. CROMBIE EN D.A. WHITING, *Chem. Comm.*, 1968, 23.
259. C.L. GREEN, L. CROMBIE EN D.A. WHITING, *J. Chem. Soc. (C)*, 1968, 3029.
260. M. HAMADA EN M. CHUBACHI, *Agric. and Biol. Chem. Japan.*, 1969, 33, 793.
261. L. CROMBIE, P.W. FREEMAN EN D.A. WHITING, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1973, 1277.
262. L. CROMBIE, P.M. DEWICK EN D.A. WHITING, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1973, 1285.
263. D.H.R. BARTON, G.W. KIRBY EN J.B. TAYLOR, *Proc. Chem. Soc.*, 1962, 340.

264. H. GRISEBACH EN H. ZILG, *Z. Naturforsch.*, 1968, 23b, 494.
265. J. BERLIN, P.M. DEWICK, W. BARZ EN H. GRISEBACH, *Phytochemistry*, 1972, 11, 1689.
266. M. CORNIA EN L. MERLINI, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 1975, 428.
267. P.W. WEISZ, "*Elements of Biology*", 1969, McGraw-Hill.
268. A. WHITE, P. HANDLER EN E. SMITH, "*Principles of Biochemistry*", 1968, McGraw-Hill, New York.
269. H. MAHLER EN E. CORDES, "*Biological Chemistry*", 1966, Harper en Row.
270. E. CONN EN P. STUMPF, "*Outlines of Biochemistry*", 1968, Wiley, New York.
271. D.E. GRIFFITHS, "*Essays in Biochemistry : Oxidative Phosphorylation*", geredigeer: P.N. Campbell en D. Greville.
272. L. ERNSTER EN C.P. LEE, *Ann. Rev. Biochem.*, 1963, 33, 579.
273. V. MASSEY EN C. VEEGER, *ibid.*, 1962, 32, 579.
274. A.L. LEHNINGER EN C.L. WADKINS, *ibid.*, 1962, 31, 47.
275. E. RACHER, *Adv. Enzymol.*, 1961, 23, 323.

276. D.E. GREEN, D.C. WHARTON, *Biochem. Z.*, 1963, 338, 335.
277. D.E. GREEN, R.F. GOLDBERGER, "*Molecular insight into Living Processes*", 1967, Academic Press, New York.
278. S. FLEISCHER, H. KLOUWEN EN G. BRIERLY, *J. Biol. Chem.*, 1961, 236, 2937.
279. A. TZAGOLOFF, P.C. YANG, D.C. WHARTON EN J.S. RIESKE, *Biochem. Biophys. Acta*, 1965, 96, 1.
280. E. HAGAKI EN L.P. HAGER, *Fed. Proc.*, 1965, 24, 544.
281. G. FERNANDEZ-MORGAN, T. ODA, V. BLAIR EN D.E. GREEN, *J. Cell Biol.*, 1964, 22, 63.
282. G. FERNANDEZ-MORGAN, T. ODA, V. BLAIR EN D.E. GREEN, *Biochemistry*, 1963, 2, 756.
283. E.C. SLATER, *Adv. Enzymol.*, 1958, 20, 147.
284. B. CHANCE EN G.R. WILLIAMS, *ibid.*, 1956, 17, 65.
285. B. CHANCE EN G. HOLLUNGER, *J. Biol. Chem.*, 1963, 418 - 445.
286. L. FEINSTEIN EN M. JACOBSON, "*Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*", 1953, geredigeer: L. Zechmeister; Springer Verlag, vol. 10, p.436.

287. A.W.A. BROWN, *"Insect Control by Chemicals"*, 1951, Wiley, New York.
288. H.H. SHEPARD, *"The Chemistry and Action of Insecticides"*, 1951, McGraw-Hill, New York, p.171.
289. R.L. METCALF, *"Organic Insecticides"*, 1955, Interscience New York, p.23.
290. W.O. NEGHERBON, *"Handbook of Toxicology"*, 1959, Saunders, Philadelphia, vol. 3, p.661.
291. J. FUKAMI, T. NAKATSUGAWA EN T. NARAHASHI, *Japan J. Appl. Entomol. Zool.*, 1959, 3, 259.
292. D.E. FINK EN H.L. HALLER, *J. Econ. Entomol.*, 1936, 29, 594.
293. J. BURGOS EN E.R. REDFEARN, *Biochim. Biophys. Acta*, 1965, 110, 475.
294. J. MARTIN, *Ann. Appl. Biol.*, 1942, 29, 69.
295. N. TISEHLER, *J. Econ. Entomol.*, 1935, 28, 215.
296. R. DANNEEL, *Z. Vergl. Physiol.*, 1933, 18, 524.
297. R.D. O'BRIEN, *Ann. Rev. Entomol.*, 1966, 11, 369.
298. J. FUKAMI EN C. TOMIZAWA, *Bôtyû Kagaku*, 1956, 21, 122.

299. J. FUKAMI, *ibid.*, 1956, 21, 129.
300. J. FUKAMI, *Japan J. Appl. Entomol. Zool.*, 1954, 19, 29, 148.
301. P.E. LINDAHL EN K.E. OBERG, *Exp. Cell Res.*, 1961, 23, 228.
302. L. ERNSTER, G. DALLNER EN G.F. AZZONE, *J. Biol. Chem.*, 1963, 238, 1124.
303. F.E. HULL EN A.F. WHEREAT, *J. Biol. Chem.*, 1967, 242, 4023.
304. R.D. O'BRIEN, "Insecticides : Action and Metabolism:", 1967, Academic Press, New York, p.159.
305. Y. NISHIZAWA EN J.E. CASIDA, *J. Agric. Food Chem.*, 1965, 13, 522.
306. D.J. HORGAN, T.P. SINGER EN J.E. CASIDA, *J. Biol. Chem.*, 1968, 243(4), 834.
307. E.C. BATE-SMITH, *Nature*, 1948, 161, 835.
308. D.G. ROUX EN S.R. EVELYN, *J. Chromatog.*, 1958, 1, 537.
309. D.G. ROUX, *Nature*, 1957, 180, 973.
310. D.G. ROUX EN H.M. SAAYMAN, *Biochem. J.*, 1965, 96, 36.
311. G. LINTSTEDT, *Acta. Chem. Scand.*, 1940, 4, 65.

312. D.G. ROUX EN E.A. MAIHS, *J. Chromatog.*, 1960, 4, 65.
313. E. STAHL, *Chem.-Ztg.* 1958, 82, 323.
314. K. TAKEDA, S. HARA, A. WADA EN N. MATSUMOTO, *J. Chromatog.* 1963, 11, 562.
315. R.C. BEAN EN G.C. PORTWE, *Analyt. Chem.*, 1959, 31, 1929.
316. L. HOUGH, J.K.N. JONES EN W.H. WADMAN, *J. Chem. Soc.*, 1950, 1702.
317. F.E. KING EN W. BOTTOMLEY, *Chem. and Ind.*, 1953, 1368.
318. H.L. HERGERT, P. COAD EN A.V. LOGAN, *J. Org. Chem.*, 1956, 21, 304.
319. A.I. VOGEL, "A Textbook of Practical Organic Chemistry", 1967, Longmans, London, p.971.
320. F.S.H. HEAD EN A. ROBERTSON, *J. Chem. Soc.*, 1930, 2434, 2438.
321. H.A. JONES EN C.M. SMITH, *Ind. and Eng. Chem. Anal. Ed.*, 1933, 5, 75.
322. S. ROGERS EN J. CALAMARI, *ibid.*, 1936, 8, 135.
323. J.A. LABAT, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1933, 15, 1344.

324. D.H. MEIRING, "Chemiese ondersoek na die inhoudstowwe uit *Neorautanenia edulis* C.A. Sm", 1966, D.Sc.-proefskrif, U.O.V.S.
325. B.L. VAN DUUREN, *J. Org. Chem.*, 1961, 26, 5013.
326. M.E. OBERHOLZER, "Cis-12 α -hidroksi-, 12 α -metoksi- en dehidrorotenoïede. Chemiese verwantskappe en stereochemie", 1973, M.Sc.-verhandeling, U.O.V.S.
327. A.J. BRINK, "Struktuurondersoek van inhoudstowwe uit *Neorautanenia edulis* C.A. Sm", 1969, M.Sc.-verhandeling, U.O.V.S.
328. C. V.D. M. BRINK, J.P. ENGELBRECHT EN D.E. GRAHAM, *J.S. African Chem. Inst.*, 1970, 23, 24.
329. M.E. OBERHOLZER, G.J.H. RALL EN D.G. ROUX, *Phytochemistry*, 1976, 15, 1283.
330. J.W. CLARK-LEWIS, L.M. JACKMAN EN T.M. SPOTSWOOD, *Austral. J. Chem.*, 1964, 17, 632.
331. J.W. CLARK-LEWIS, *ibid.*, 1968, 21, 2059.
332. C. V.D. M. BRINK, W. NEL, G.J.H. RALL, J.C. WEITZ EN K.G.R. PACHLER, *J.S. African Chem. Inst.*, 1966, 19, 24.
333. J.W. CLARK-LEWIS EN D.G. ROUX, *J. Chem. Soc.*, 1959, 1402.
334. M. TSWETT, *Biochem. Z.*, 1914, 58, 225.

335. W. PIGMAN, B. ANDERSON, R. FISCHER, M.A. BUCHANAN EN B.L. BROWNING,
Tappi, 1954, 36, 4.
336. I.C. DU PREEZ EN D.G. ROUX, *J. Chem. Soc. (C)*, 1970, 1800.
337. S.W. CHAIKEN EN W.G. BROWN, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1949, 71, 122.
338. N.G. GAYLORD, "Reduction with Complex Metal Hydrides", Interscience,
pp. 283, 713, 1007.
339. H.C. BROWN, *Org. Reactions*, 1951, 6, 469.
340. H.C. BROWN, *J. Chem. Educ.* 1961, 38, 173.
341. J.S.H. DAVIES, P.A. MCCREA, W.L. NORRIS, G.R. RAMAGE, *J. Chem. Soc.*,
1950, 3206.
342. P. KARRER, A. GLATTFELDER EN Fr. WIDMER, *Helv. Chim. Acta*, 1920,
3, 541.
343. G.J.H. RALL, M.E. OBERHOLZER, D. FERREIRA EN D.G. ROUX,
Tetrahedron Letters, 1976, 13, 1033.
344. D. CARDWELL EN R. ROBERTSON, *J. Chem. Soc.*, 1915, 107, 257.
345. L.L. SERGEEVA EN N.N. SHORYGINA, *Izvest. Adad. S.S.R., Ser. khim*,
1965, 9, 1630; (vgl : *Chem. Abstr.*, 1966, 64, 1992 e).
346. R.G. FARGHER, *J. Chem. Soc.*, 1920, 117, 869.

347. C. ALBERTI EN C. TIRONI, *Farmaco (Pavia) Ed. Sci.*, 1964, 19, 459; (vgl : *Chem. Abstr.*, 1964, 61, 5633f).
348. F.S.H. HEAD EN R. ROBERTSON, *J. Chem. Soc.*, 1930, 2440.
349. N. NAIM, B. GESTETNER, I. KIRSON, Y. BIRK EN A. BONDI, *Phytochemistry*, 1973, 12, 169.
350. E.V. LASSAK EN J.T. PINHEY, *J. Chem. Soc. (C)*, 1967, 200.
351. J.A. ELVIDGE EN R.G. FOSTER, *J. Chem. Soc.*, 1963, 590.
352. M.H. PALMER, "The Structure and Reactions of Heterocyclic Compounds", 1967, Edward Arnold Ltd., London, pp.305-306.
353. G.H.STOUT, V.F.STOUT EN M.J. WELSH, *Tetrahedron*, 1963, 19, 667.
354. L.M. JACKMAN EN S. STERNHELL, "Applications of Nuclear Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry", 1969, Pergamon Press, p.129.
355. V.T. RAMAKRISHNAN EN J. KAGAN, *J. Org. Chem.*, 1970, 35, 2901.
356. T. OYAMADA EN H. BABA, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1966, 39, 507.
357. C. ENEBÄCH, *Soc. Sci. Fennica, Commentationes Phys.-Math.*, 1963, 28, 95.
358. J.J. CHRISTENSEN, D.J. EATOUGH EN R.M. IZATT, *Chem. Rev.*, 1974, 74, 351.

359. T. FURUYA, K. MATSUMOTO EN M. HIKICHI, *Tetrahedron Letters*, 1971, 2567.
360. C. VAN DE SANDE, J.W. SERUM EN M. VANDEWALLE, *Org. Mass Spectrometry*, 1972, 6, 1333.
361. J.B.-son BREDEBERG EN J.N. SCHOOLERY, *Tetrahedron Letters*, 1961, 285.
362. J.S.P. SCHWARZ, A.J. COHEN, W.D. OLLIS, E.A. KACZKA EN L.M. JACKMAN, *Tetrahedron*, 1964, 20, 1317.
363. A.J. EAST, W.D. OLLIS EN R.E. WHEELER, *J. Chem. Soc. (C)*, 1969, 365.
364. I. FLEMING EN D.H. WILLIAMS, "*Spectroscopic methods in Organic Chemistry*", 1966, McGraw-Hill, p.127.
365. A.S.R. ANJANEYULU, M. GOPALA RAO, L. RAMACHANDRA ROW EN C. SRI KRISHNA, *Tetrahedron Letters*, 1966, 27, 3199.
366. J.A. BALLANTINE EN C.T. PILLINGER, *Tetrahedron*, 1967, 23, 1691.
367. A. McKILLOP EN E.C. TAYLOR, *Endeavour*, 1976, 35(125), 88.
368. S.E. DREWES EN D.G. ROUX, *Biochem. J.*, 1965, 94, 482.
369. J.B. HARBORNE, *Phytochemistry*, 1969, 8, 1449.
370. T.M. SAITOH, S. SHIBATA, U. SANKAWA, T. FURUYA EN S. AYABE, *Tetrahedron Letters*, 1975, 50, 4463.

371. S.P. COLOWICK EN N.O. KAPLAN, *"Methods in Enzymology : Oxidation and Phosphorylation"*, geredigeer : R.W. ESTABROOK EN M.E. PULLMANN; 1967, Academic Press, New York, vol. 10, pp.225-231.
372. A.J. BRINK, G.J.H. RALL EN J.P. ENGELBRECHT, *Tetrahedron*, 1974, 30, 311.
373. G.J.H. RALL, A.J. BRINK EN J.P. ENGELBRECHT, *J.S. African Chem. Inst.*, 1972, 25, 25.
374. J.P. ENGELBRECHT, *"Struktuurondersoek van nuwe Pterokarpane"*, 1967, D.Sc.-verhandeling, U.O.V.S.
375. J.H. SIMONS, D.I. RANDALL EN S. ARCHER, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1939, 61, 1795.
376. K.N. CAMPBELL, P.F. HOPPER EN B.K. CAMPBELL, *J. Org. Chem.*, 1951, 16, 1736.
-

