

Chemische Untersuchung von *Flemingia Chappar* Ham.: Bestandteile der Wurzel*

Von

D. N. Dhar, R. K. Singh und R. C. Munjal

Aus dem Department of Chemistry, Indian Institute of Technology,
Kanpur-16 (U.P.), India

(Eingegangen am 16. Februar 1971)

Chemical Examination of Flemingia Chappar Ham: Root Constituents

The roots of *F. Chappar* contain an anthocyanin which is similar to but not identical with peonin. Its corresponding anthocyanidin has the following characteristics: R_f , 0.57 (*n*-butanol-acetic acid-water, 4:1:5, *v/v*) and its electronic spectrum shows two broad maxima in the range 428–464 $m\mu$ and 604–620 $m\mu$ respectively. Paper chromatographic analysis indicated the presence of two sugar components, viz., galactose and rhamnose. We confirm the presence of the pterocarpinoid, m. 180° as the root constituent reported earlier by *Chaudhury* et al.⁴ Besides, we have also isolated β -sitosterol and 7-hydroxyflavanone—which *Chaudhury*¹ et al. have isolated from the extractive obtained from the whole plant.

Die Wurzeln von *F. Chappar* enthalten ein Anthocyanin, das dem Päonin ähnlich, aber nicht mit ihm identisch ist. Das entsprechende Anthocyanidin zeigt folgende Charakteristika: R_f 0,57 (*n*-Butanol—Essigsäure—Wasser, 4:1:5, *v/v*) und sein Elektronenspektrum zeigt zwei breite Maxima in den Bereichen 428—464 $m\mu$ bzw. 604—620 $m\mu$. Papierchromatographisch werden zwei Zuckerkomponenten, Galaktose und Rhamnose, aufgefunden. Das Pterocarpinoid, Schmp. 180°, über das schon *Chaudhury* et al.⁴ berichteten, wird als Bestandteil der Wurzel bestätigt. β -Sitosterin und 7-Hydroxyflavon, die *Chaudhury* et al.¹ aus einem von der ganzen Pflanze erhaltenen Extrakt isolierten, fanden sich in der Wurzel.

* Eine Zusammenfassung dieser Arbeit wurde bei der Convention of Chemists, die vom 30. November bis zum 4. Dezember 1970 in Madras (Indien) abgehalten wurde, vorgelegt.

Flemingia Chappar Ham. (Leguminosae) wurde von *Adityachaudhury* und Mitarb.¹⁻⁴ untersucht, die von der Isolierung mehrerer Flavonoide aus verschiedenen Teilen der Pflanze berichten. Einige der bekanntesten Komponenten sind: 2',4'-Dihydroxychalcon², Schmp. 149—150°, 2',6'-Dihydroxy-4'-methoxychalcon¹, Schmp. 153—154° (aus der Gesamtpflanze isoliert), 2',4'-Dihydroxy-5'-methoxychalcon³, Schmp. 158—160° (Blätter und Stamm) und ein Pterocarpinoid, Schmp. 179—180° (Wurzeln). Da bei F. Chappar krebsbekämpfende Eigenschaften festgestellt wurden⁵, haben wir eine Untersuchung der Wurzeln von F. Chappar durchgeführt.

Dabei haben wir in der Wurzel β -Sitosterin und 7-Hydroxyflavanon, Schmp. 184°, gefunden, die *Adityachaudhary* et al. im Extrakt der gesamten Pflanze feststellten¹. Außerdem identifizierten wir zwei Zucker, nämlich Galaktose und Rhamnose; ein Anthocyanin und zwei Verbindungen, Schmp. 78° (aliphatischer Ester) bzw. 210°. Hingegen konnten wir kein Alkaloid in den Wurzeln dieser Pflanze auffinden.

Die Verfasser möchten Dr. *M. M. Dhar*, Central Drug Research Institute, Lucknow, für die Beschaffung des Pflanzenmaterials und Herrn *A. H. Siddiqui* (IIT/K) für die Mikroanalysen ihren herzlichsten Dank aussprechen. Dem Council of Scientific and Industrial Research (India) danken wir für die finanzielle Unterstützung.

Experimenteller Teil

Die Bestimmung der Schmelzpunkte erfolgte mit einer Fisher-Jones-Schmelzpunktsapparatur. Die Werte sind unkorrigiert. Die UV-Spektren wurden in äthanol. Lösungen mit einem Beckman DB UV-Spektrophotometer aufgenommen. Die IR-Spektren von KBr-Preßlingen wurden mit einem Perkin-Elmer 521 IR-Spektrophotometer aufgezeichnet. Die Aufnahme der NMR-Spektren wurde mit einem Varian A 60 D NMR-Spektrometer (am CDRI, Lucknow) durchgeführt, wobei CDCl_3 als Lösungsmittel und *TMS* als innerer Standard verwendet wurde. Die in der vorliegenden Untersuchung verwendete Flemingia Chappar wurde im Dezember 1967 von dem Botaniker, Herrn *K. K. Singh* (CRDI, Lucknow), in Khunti-Ranchi (Bihar) geerntet.

¹ *N. Adityachaudhury*, *C. L. Kirtaniya* und *B. Mukherjee*, Abstr. of papers, 56th Indian Sci. Congress, Bombay, 127 (1969).

² *N. Adityachaudhury*, *C. L. Kirtaniya* und *B. Mukherjee*, *J. Indian Chem. Soc.* **46**, 964 (1969).

³ *N. Adityachaudhury*, *C. L. Kirtaniya* und *B. Mukherjee*, *J. Indian Chem. Soc.* **47**, 508 (1970).

⁴ *N. Adityachaudhury* und *P. K. Gupta*, *Chem. & Ind.* **1970**, 745.

⁵ *M. M. Dhar*, Private Communication.

Die gepulverten Wurzeln von *F. Chappar* (1,2 kg) wurden mit Petroläther (60—80°) extrahiert. Der Extrakt (5,6 g) wurde in Diäthyläther nacheinander mit 5proz. NaHCO₃, Na₂CO₃ und NaOH gewaschen. Die in der äther. Schicht zurückbleibende neutrale Fraktion wurde mit Wasser und gesätt. NaCl-Lösung gewaschen und über wasserfr. Na₂SO₄ getrocknet. Der Äther wurde abdestilliert und der Rückstand (2,76 g) auf Aluminiumoxyd nach *Brockmann* (150 g) chromatographiert (siehe unten). Die entfetteten Wurzeln wurden erschöpfend mit Aceton (Soxhlet), Benzol und abschließend mit Essigester extrahiert.

Feststoff, Schmp. 78° (Ester)

Die neutrale Fraktion (Petrolätherextrakt), die auf Aluminiumoxyd chromatographiert (siehe oben) und mit Petroläther eluiert wurde, lieferte einen wachsartigen Feststoff (0,72 g); Schmp. (aus CHCl₃/Methanol) 78°. Auf einer Silicagel-Mikrochromatographieplatte gibt die weiße Verbindung mit Benzol-Äther³ (4 : 1; *v/v*) nur einen Fleck (Joddämpfe zur Sichtbarmachung). Die *Liebermann—Burchardt*-Reaktion verläuft negativ. IR-Messungen weisen auf einen geradkettigen, gesätt. Ester hin: ν_{\max}^{KBr} 2899 (CH-Streckschwingung von CH₃), 2825 cm⁻¹ (CH-Streckschwingung von CH₂), 1471, 1460 (Methylen-Knick- und Kippschwingungen)⁸, 1739 cm⁻¹ (gesätt. Ester) und Dublett bei 723 und 735 cm⁻¹ (Methylen-Kippschwingungen)⁹.

Eine Analyse wurde nicht durchgeführt.

β-Sitosterin

Eluiert man die Säule nach Entfernung der oben beschriebenen Esterfraktion weiter mit Petroläther—Benzol (3 : 1; *v/v*), erhält man einen weißen, kristallinen Feststoff (0,52 g) mit positiver *Liebermann—Burchardt*-Reaktion. Er wurde durch abermaliges Chromatographieren über Al₂O₃ gereinigt und kristallisierte aus CHCl₃—CH₃OH; Nadeln, Schmp. 137—138°. Die Identität mit β-Sitosterol wurde durch Mischschmelzpunkt und durch die Bildung des Acetylderivates (siehe unten) nachgewiesen.

Ein Gemisch aus dem Sterin (0,112 g), Ac₂O (2,5 ml) und Pyridin (1 ml) wurde unter Rückfluß 2 Stdn. auf 140° erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde in eiskaltes Wasser (110 ml) gegossen, der Feststoff abzentrifugiert und in Äther aufgenommen. Anschließend wurde mit 30 ml 2proz. HCl, hierauf mit Wasser (2 × 25 ml) solange gewaschen, bis die Waschlösung neutrale Reaktion gegen Lackmus zeigte. Die äther. Lösung wurde getrocknet (MgSO₄) und eingedampft: 0,14 g Acetat. Nach mehrmaligem Umkristallisieren (Methanol) Schmp. 125—126°; dünnschichtchromatographisch einheitlich, ν_{\max}^{KBr} 2965, 2955, 2944, 2876 (s); 2855, 2840 (sh), 1744 (s) (funktionelle Gruppe eines Esters), 1472 (m), 1464, 1452, 1395, 1390 (sh), 1385 (m) (anguläre Methylgruppe), 1270 (s), 1260 (sh), 1250 (Acetat), 1200, 1205, 1142, 1095 (w), 1045,

⁶ *K. Hayashi, Y. Abe, T. Noguchi* und *K. Suzushine*, Pharm. Bull. Japan **1**, 130 (1953); Chem. Abstr. **50**, 14035e (1956).

⁷ *K. Peach* und *M. V. Tracey*, Modern Methods of Plant Analysis, Vol. II, S. 10. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer. 1955.

⁸ *R. G. Sinclair, A. F. Mc Kay* und *R. N. Jones*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 2570 (1952).

⁹ *G. B. B. M. Sutherland*, Disc. Faraday Soc. **9**, 274 (1950).

1030 (Ester), 980 und 965 cm^{-1} (olefin. CH-Knickschwingungen aus der Ebene).

Feststoff, Schmp. 210°

Nach abermaligem Chromatographieren der „neutralen“ Anteile (Petrolätherextrakt) erhielten wir beim Eluieren mit Benzol—Äther (1:1) als nächste eine Fraktion, die einen farblosen Feststoff (0,89 g) lieferte. Dieser wurde nochmals über Aluminiumoxyd chromatographiert und kristallisierte aus Petroläther in Form eines weißen Pulvers, das Polymorphie zeigte. Die Verbindung schmilzt zunächst bei 195° C, die Schmelze wandelt sich sofort in Nadeln um, Schmp. 210°. Das Verhalten des Stoffes bei Dünnschichtchromatographie beweist seine Homogenität. Auf einer Silicagelchromatographieplatte entsteht ein einziger Fleck (der im UV fluoresziert). Die Analyse lieferte folgende Werte: C 79,13, H 12,29 und O 7,78%.

$\overset{\text{KBr}}{\text{max}}$ 3226, 2907 (s), 2825 (sh), 1639 (m), 1486, 1466 (sh), 1449 (s), 1383 (sh) 1374 (s), 1361, 1325, 1299 (w), 1190, 1105 (m), 1045 (s), 1036 (sh), 1017 (m), 998 (w), 985 (m), 973 (w), 948, 920 (m), 885 (s) cm^{-1} .

Anthocyanidin

Der aus den entfetteten Wurzeln von F. Chappar erhaltene dunkelrote Acetonextrakt enthielt ein Anthocyanin. Wir konnten es direkt aus der Wurzel nach der Methode von *Hayashi* et al.⁶ isolieren. Die Wurzel (5 g) wurde mit 20 ml 1proz. methanol. HCl stehengelassen, der Extrakt mit 10 ml 20proz. HCl verdünnt und auf dem Wasserbad, zuletzt 1 Minute über offener Flamme erhitzt; eine leuchtendrote Färbung entstand. Das Anthocyanidin wurde mit Isoamylalkohol extrahiert. Der Extrakt wurde mit Äther verdünnt und mit Wasser extrahiert. Die wäßr. Schicht färbt sich bei Zusatz von Na_2CO_3 blau. Ein in das Anthocyanidin getauchter Streifen Filterpapier färbt sich rosa und wird unter der Einwirkung von Ammoniakdämpfen graublau. Das Flavonoid ergibt mit Bleiacetatlösung eine blaugraue Färbung. In vielen seiner Eigenschaften ähnelt es dem Päonin.

Das Anthocyanidin (roh) wurde auf Whatman-Papier No. 1 mit Butanol—Essigsäure—Wasser (4:1:5; *v/v*) chromatographiert; Entwicklungsdauer 10½ Stdn. Der rosa Streifen (R_f 0,57) wurde aus dem Papierchromatogramm ausgeschnitten, mit 95proz. Äthanol eluiert; das Spektrum im sichtbaren Bereich und im UV zeigt zwei breite Maxima bei 428—464 μ bzw. 604—620 μ . Das Anthocyanidin wurde nicht analysiert, kein Schmp. bestimmt.

Galaktose und Rhamnose

Der Acetonextrakt wurde mehrmals mit Äther gewaschen. Der in Äther unlösliche Anteil wurde durch kurzes Erhitzen (30 Min.) mit 2N-HCl auf dem Wasserbad hydrolysiert, die Säure über einen Ionenaustauschersäule (Duolite A₇) entfernt und die Lösung im Vak. eingeeengt. Das Hydrolysat wurde einer papierchromatographischen Analyse (Whatman-Papier Nr. 1) unterworfen [n-Butanol—Essigsäure—Wasser (4:1:5, *v/v*), Entwicklungsdauer 18 Stdn.]. Das Papierchromatogramm wurde bei Zimmertemp. getrocknet, mit Anilinhydrogenphthalat⁷ besprüht und bei 110° 15 Min. getrocknet. Mit Hilfe von Bezugsubstanzen identifizierten wir zwei Flecke als Galaktose bzw. Rhamnose. Durch Verwendung eines anderen Lösungs-

mittelsystems, nämlich Essigester—Essigsäure—Wasser (3 : 1 : 3, *v/v*), bestätigten wir die Identität dieser beiden Zucker.

Pterocarpinoid, Schmp. 180°

Der Benzolextrakt wurde über Aluminiumoxyd chromatographiert. Nach dem Eluieren mit Petroläther—Benzol (4 : 1) erhielten wir einen Feststoff, der aus Methanol in Form schmaler, seidiger Nadeln kristallisierte. Dünnschichtchromatographische Analyse ließ darauf schließen, daß es sich um ein Gemisch zweier Komponenten handelte. Anschließende Reinigung durch präparative Dünnschichtchromatographie lieferte Pterocarpinoid, Schmp. 180°, IR- und NMR-Messungen dieser Substanz stimmten mit den in der Literatur angegebenen Werten⁴ überein.

7-Hydroxyflavanon

Der Essigesterextrakt wurde über neutralem Aluminiumoxyd (*Brockmann*) chromatographiert. Beim Eluieren mit Petroläther—Benzol (3 : 1) erhielten wir einen kristallinen Feststoff, der auf einer Silicagel-Mikrochromatographierplatte drei Flecke zeigte (im UV sichtbar gemacht). Die Isolierung der reinen Hauptkomponente erfolgte durch präparative Dünnschichtchromatographie über Silicagel, mit einem Benzol—Äther-Gemisch (4 : 1, *v/v*). 7-Hydroxyflavanon kristallisierte in Nadeln (*MeOH*), Schmp. 184°. Die Verbindung zeigt mit konz. H₂SO₄ eine rötlichgelbe Färbung.