

# Die Flavonoide der Samen von *Medicago × varia* Martyn c. v. Cardinal (Fabaceae)

The Seed-Flavonoids of *Medicago × varia* Martyn c. v. Cardinal (Fabaceae)

Eberhard Gehring\* und Hans Geiger

Institut für Chemie der Universität Hohenheim, Garbenstr. 30, D-7000 Stuttgart 70

Z. Naturforsch. 35 c, 380–383 (1980); eingegangen am 22. Januar 1980

*Medicago × varia* c. v., Fabaceae, Flavonoids, 5-Methoxyflavones, 5-Methoxyflavonols

From the seeds of *Medicago × varia* Martyn c. v. Cardinal have been isolated twenty flavonoids, including four 5-methoxyflavonoids. Four compounds have been obtained the first time from a natural source. The constitution of all compounds is proved.

Im Rahmen unserer Arbeiten über die Flavonoide von Leguminosensamen [1] haben wir die Samen von *Medicago × varia* Martyn c. v. Cardinal untersucht. Durch Kombination verschiedener säulenchromatographischer Methoden konnten die in Tab. I aufgeführten Flavonoide isoliert werden.

Von diesen Verbindungen wurden **2**, **3**, **4**, **9**, **10**, **11**, **12**, **13**, **14** und **15** durch unmittelbaren Vergleich mit Material, dessen Struktur durch <sup>13</sup>C-NMR abgesichert ist [2], identifiziert. **1** wurde mit synthetischem Material [3], **6** mit einem Präparat aus *Eriodictyon glutinosum* Benth. [4] und **19** mit einem Präparat aus *Cereus grandiflorus* [5] identifiziert.

Die Struktur der übrigen Verbindungen wurde auf Grund ihres Fluoreszenzverhaltens [6], ihrer FD- und EI-Massenspektren [7, 8] und von Abbaureaktionen ermittelt. Die spektroskopischen Daten dieser Verbindungen sind in Tab. II zusammengefaßt.

**5** läßt sich zu Luteolin (**3**) entmethylieren; die Stellung der einen, nach dem MS vorhandenen, Methoxylgruppe ergibt sich sowohl aus dem Fluoreszenzverhalten (starke, blaue Fluoreszenz auf dem nur mit EDTA besprühten Chromatogramm), als auch aus dem EI-MS (intensives  $[M-46]^{+}$ -Signal). **5** wurde schon früher in Juncaceen und Cyperaceen nachgewiesen [9, 10]. **7** läßt sich zu **6** und Glucose spalten; nach dem FD-MS zu schließen, ist es ein Monoglucosid; der Ort der Glucosidierung ergibt sich aus dem Fluoreszenzverhalten (mit EDTA besprüht keine Fluoreszenz, daher freie OH-Gruppe

am C-5 und grüne Fluoreszenz nach Besprühen mit Natriumcarbonat, daher freie OH-Gruppe am C-4'). **7** ist schon mehrfach in der Natur aufgefunden worden (vgl. [11]). **8** liefert bei der partiellen Entmethylierung **6**, daher befindet sich eine der beiden auf Grund des EI-MS vorhandenen Methoxylgruppen an C-3'; für die Stellung der zweiten Methoxylgruppe am C-5 gilt entsprechend das für **5** Gesagte. **8** war bislang nur als Syntheseprodukt bekannt [12]. **16** läßt sich alkalisch in **14** und *p*-Cumarsäure spalten. Daß die *p*-Cumarsäure mit der Glucose verestert ist, ergibt sich aus dem im FD-MS auftretenden *p*-Cumaroylanhydroglucosefragment (308 m/e) [7]; zur Ermittlung der Verknüpfungsstelle zwischen Zucker und Säure reichte die vorhandene Substanzmenge leider nicht aus. **16** ist bislang in der Natur noch nicht aufgefunden worden. **17** läßt sich zu Quercetin (**12**) entmethylieren; die eine nach dem EI-MS vorhandene Methoxylgruppe befindet sich nach dem EI-MS (starkes  $[M-46]^{+}$ -signal) und dem Fluoreszenzverhalten (starke, grüngelbe Fluoreszenz auf dem mit EDTA besprühten Chromatogramm) am C-5; es handelt sich bei **17** also um Azaleatin, das erstmalig aus *Rhododendron mucronatum* isoliert worden ist [13]. **18** liefert bei der sauren Hydrolyse **17** und Galactose; nach dem FD-MS ist es ein Monogalactosid; da es auf Grund der starken blauen Fluoreszenz auf dem EDTA-besprühten Chromatogramm keine freien OH-Gruppen an C-3 und C-5 besitzen kann, muß ihm die angegebene Konstitution zukommen; **18** ist erstmalig in der Gattung *Eucryphia* nachgewiesen worden [14]. **20** wird durch Säure zu **19** und Glucose gespalten; nach FD-MS und Fluoreszenzverhalten ist **20** ein 3-Glucosid der angegebenen Konstitution; es wurde erstmalig aus *Argemone mexicana* isoliert [15]. Der Quercetin-5,3'-

\* Aus der Staatsexamensarbeit von cand. rer. nat. E. G., Hohenheim 1978.

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. Geiger.

0341-0382/80/0500-0380 \$ 01.00/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Tab. I. Ausbeuten und  $R_f$ -Werte der Flavonoide aus *Medicago × varia*. NM = Nitromethan/Methanol (3:4), auf Mikropolyamidfolien (Schleicher und Schüll); EW = wässrige Essigsäure der angegebenen Konzentration, auf Celluloseschichten; BEW = *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (4:1:5; Oberphase), auf Celluloseschichten.

|  |      | Ausbeute<br>[mg/kg] | $R_f \cdot 100$ |     |     |     |    | BEW |  |
|--|------|---------------------|-----------------|-----|-----|-----|----|-----|--|
|  |      |                     | NM              |     | EW  |     |    |     |  |
|  |      |                     | 0%              | 10% | 20% | 40% |    |     |  |
| 7,4'-Dihydroxyflavon                       | (1)  | 5                   | —               | 01  | 05  | 17  | 58 | 96  |  |
| Apigenin                                   | (2)  | 115                 | —               | 00  | 03  | 10  | 48 | 94  |  |
| Luteolin                                   | (3)  | 240                 | —               | 00  | 02  | 07  | 31 | 84  |  |
| Luteolin-7-glucosid                        | (4)  | 125                 | —               | 01  | 04  | 17  | 44 | 51  |  |
| Luteolin-5-methylether                     | (5)  | 325                 | —               | 00  | 02  | 08  | 35 | 68  |  |
| Luteolin-3'-methylether                    | (6)  | 20                  | —               | 00  | 02  | 09  | 42 | 93  |  |
| Luteolin-3'-methylether-7-glucosid         | (7)  | 15                  | —               | 01  | 07  | 21  | 60 | 57  |  |
| Luteolin-5,3'-dimethylether                | (8)  | 130                 | —               | 00  | 03  | 10  | 41 | 74  |  |
| Kämpferol                                  | (9)  | 5                   | —               | 00  | 02  | 07  | 31 | 92  |  |
| Kämpferol-3-glucosid                       | (10) | 15                  | —               | 11  | 31  | 58  | 79 | 77  |  |
| Kämpferol-3-rutinosid                      | (11) | 20                  | —               | 21  | 47  | 71  | 87 | 70  |  |
| Quercetin                                  | (12) | 45                  | —               | 00  | 01  | 05  | 20 | 74  |  |
| Quercetin-3-arabopyranosid (= Guajaverin)  | (13) | 600                 | 49              | 04  | 14  | 36  | 64 | 73  |  |
| Quercetin-3-glucosid                       | (14) | Spur                | 44              | 08  | 25  | 49  | 71 | 72  |  |
| Quercetin-3-galactosid                     | (15) | 2600                | 50              | 07  | 23  | 47  | 70 | 67  |  |
| Quercetin-3-( <i>p</i> -cumaroyl-glucosid) | (16) | 90                  | —               | 02  | 09  | 33  | 68 | 87  |  |
| Azaleatin                                  | (17) | —                   | —               | 00  | 01  | 06  | 21 | 59  |  |
| Azeleatin-3-galactosid                     | (18) | 20                  | —               | 08  | 26  | 48  | 73 | 56  |  |
| Isorhamnetin                               | (19) | —                   | —               | 00  | 01  | 05  | 26 | 88  |  |
| Isorhamnetin-3-glucosid                    | (20) | 10                  | —               | 07  | 25  | 52  | 77 | 74  |  |
| Quercetin-5,3'-dimethylether               | (21) | —                   | —               | 00  | 02  | 04  | 26 | 71  |  |
| Quercetin-5,3'-dimethylether-3-glucosid    | (22) | 54                  | —               | 07  | 27  | 54  | 82 | 62  |  |

Tab. II. Fluoreszenzmaxima und MS-Fragmente derjenigen Flavonoide aus *Medicago × varia*, die nicht durch unmittelbaren Vergleich identifiziert wurden.

EDTA = mit 0,2 M Ethylen diamintetraessigsäure-Dinatriumsalz in Wasser besprüht

NA = mit 1-proz. Lösung von Triphenylborsäure- $\beta$ -aminoethylester in Methanol besprühtNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> = mit 5-proz. Lösung von Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in Wasser besprüht.

|  |      | Fluoreszenzmaxima [nm] |     | MS-Schlüsselfragmente [m/e]     |                |                      |                |                     |                                  |                              |     |
|--|------|------------------------|-----|---------------------------------|----------------|----------------------|----------------|---------------------|----------------------------------|------------------------------|-----|
|  |      | EDTA                   | NA  | FD                              |                | EI                   |                |                     |                                  |                              |     |
|  |      |                        |     | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | M <sup>±</sup> | Aglykon <sup>±</sup> | M <sup>±</sup> | (M-46) <sup>±</sup> | (A <sub>1</sub> +H) <sup>±</sup> | B <sub>1</sub> <sup>·+</sup> |     |
| Luteolin-5-methylether                     | (5)  | 440                    | 490 | 480                             |                |                      | 300            | 254                 | 167                              | 134                          | 137 |
| Luteolin-3'-methylether-7-glucosid         | (7)  | keine                  | 500 | 490                             | 462            | 300                  |                |                     |                                  |                              |     |
| Luteolin-5,3'-dimethylether                | (8)  | 430                    | 430 | 490                             |                |                      | 314            | 268                 | 167                              | 148                          | —   |
| Quercetin-3-( <i>p</i> -cumaroyl-glucosid) | (16) | keine                  | 565 | 520                             | 610            | 302                  |                |                     |                                  |                              |     |
| Azaleatin                                  | (17) | 540                    | 560 | 512                             |                |                      | 316            | 270                 | 167                              | —                            | 137 |
| Azeleatin-3-galactosid                     | (18) | 445                    | 505 | 495                             | 478            | 316                  |                |                     |                                  |                              |     |
| Isorhamnetin-3-glucosid                    | (20) | keine                  | 520 | 510                             | 478            | 316                  |                |                     |                                  |                              |     |
| Quercetin-5,3'-dimethylether               | (21) | 540                    | 525 | 505                             |                |                      | 300            | 284                 | 167                              | —                            | 151 |
| Quercetin-5,3'-dimethylether-3-glucosid    | (22) | 440                    | 445 | 505                             | 492            | 330                  |                |                     |                                  |                              |     |

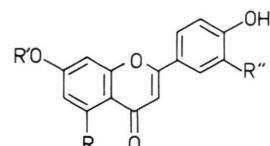
dimethylether (**21**) war bislang nur als Syntheseprodukt bekannt [16]; die 5-Stellung der einen Methoxylgruppe ergibt sich aus dem Fluoreszenzverhalten (starke, gelbgrüne Fluoreszenz auf dem EDTA-besprühten Chromatogramm) und dem EI-MS (intensives  $[M-46]^{+}$ -Signal); die 3'-Stellung der zweiten Methoxylgruppe wird durch die partielle Entmethylierung von **21** zu Isorhamnetin (**19**) bewiesen. **22** liefert bei der sauren Hydrolyse das Aglykon **21** und Glucose; nach dem FD-MS ist es ein Monoglucosid; die 3-Stellung des Zuckers ergibt sich wie bei **18** aus dem Fluoreszenzverhalten; **22** war bislang unbekannt.

Betrachtet man die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung vom Standpunkt der Chemotaxonomie, so fällt vor allem das reichliche Vorkommen von 5-Methoxyflavonoiden (**5**, **8**, **18** und **22**) auf. Diese Verbindungen schienen nach bisherigen Erfahrungen (vgl. [9, 10] sowie [17]) hauptsächlich in anderen Familien vorzukommen. Eine eingehende Diskussion der Ergebnisse ist erst nach der Untersuchung der Samen weiterer Sorten möglich.

### Isolierung der Flavonoide

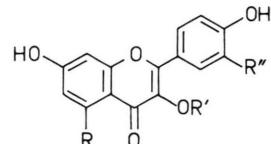
1 kg feingemahlene Samen von *Medicago × varia* Martyn c. v. Cardinal werden erst mit Petrolether entfettet und hernach durch Perkolation mit wassergesättigtem 2-Butanon erschöpfend extrahiert. Der Eindampfrückstand des Perkolats wurde, wie früher beschrieben [18], an einer Polyamidsäule mit Wasser, dem steigende Mengen Aceton zugefügt wurden, chromatographiert. Die verschiedenen Flavonoide wurden mit starken Überschneidungen in der Reihenfolge **22** > **11** = **7** > **18** > **4** > **10** = **20** = **15** + **14** > **13** > **16** = **8** > **1** = **5** > **9** = **6** > **2** = **3** = **12** eluiert.

Die weitere Auftrennung erfolgte an Säulen von Sephadex LH 20 mit den Elutionsmitteln Aceton/Methanol/Wasser (2:1:1) (Reihenfolgen der Elution: Polymere > **22** > **11** = **7** > **18** > **10** = **20** > **15** + **14** > **13** und Polymere > **8** > **20** = **13** = **16** > **5** = **1** > **6** > **2** > **3** = **9** > **15**) und Methanol/Wasser (7:3) (Reihenfolgen der Elution: **22** > **11** > **7** = **18** > **10** = **20** = **4** > **15** + **14** > **13** und **8** > **15** + **14** > **5** > **1** > **16** > **6** > **2** > **3** > **9** > **12**), sowie an einer Cellulosesäule mit dem Elutionsmittel Aceton/Eisessig/Wasser (20:5:80) [18] (Reihenfolge der Elution: **20** > **10** > **15** > **4**) und an Polyvinylpyrrolidin-



- 1:  $R=R'=R''=H$       5:  $R=OCH_3; R'=H; R''=OH$   
 2:  $R=OH; R'=R''=H$       6:  $R=OH; R'=H; R''=OCH_3$   
 3:  $R=R''=OH; R'=H$       7:  $R=OH; R'=glc; R''=OCH_3$   
 4:  $R=R''=OH; R'=glc$       8:  $R=R''=OCH_3; R'=H$

Formelschema 1.



- 9:  $R=OH; R'=R''=H$       16:  $R=R'=OH; R'=$   
 10:  $R=OH; R'=glc; R''=H$       17:  $R=OCH_3; R'=H; R''=OH$   
 11:  $R=OH; R'=rut; R'=H$       18:  $R=OCH_3; R'=gal; R''=OH$   
 12:  $R=R''=OH; R'=H$       19:  $R=OH; R'=H; R''=OCH_3$   
 13:  $R=R''=OH; R'=ara$       20:  $R=OH; R'=glc; R''=OCH_3$   
 14:  $R=R''=OH; R'=glc$       21:  $R=R''=OCH_3; R'=H$   
 15:  $R=R''=OH; R'=gal$       22:  $R=R''=OCH_3; R'=glc$

Formelschema 2.

donsäulen (Polyclar AT) mit Methanol/Wasser (7:3) als Elutionsmittel (Reihenfolgen der Elution: **7** > **22** > **11** > **18**, **20** > **10** > **15**, **1** > **5** und **2** > **3** > **9** > **12**).

Durch geeignete Kombination der vorstehend angegebenen chromatographischen Methoden wurden die in Tab. I aufgeführten Flavonoide isoliert. **1**, **2**, **3**, **4**, **6**, **9**, **10**, **11**, **12**, **13**, **14**\*, **15** und **19** wurden durch  $R_f$ -Werte, Schmp. sowie IR- und Fluoreszenzspektren mit authentischem Material [2–5] identifiziert. Die übrigen Flavonoide sind nachfolgend beschrieben.

5-O-Methyluteolin (**5**) kristallisiert aus Methanol/Wasser in langen, dünnen, blaßgelben Nadeln vom Schmp. 290–292 °C (zers.).

$C_{16}H_{12}O_6$  (300,3) Gef.:  $M_r = 300$  (EI-MS).

3'-O-Methyluteolin-7-glucosid (= Chrysoeriol-7-glucosid) (**7**). Aus wasserhaltigem Methanol kleine hellgelbe Drusen vom Schmp. 232–234 °C.  $C_{22}H_{12}O_6$  (462,4) Gef.:  $M_r = 462$  (FD-MS).

5,3'-di-O-Methyluteolin (**8**). Aus Methanol/Wasser dünne, blaßgelbe Nadeln vom Schmp. 293 bis 294 °C (zers.) (Lit. [12]: 273–276 °C).

$C_{17}H_{14}O_6$  (314,3) Gef.:  $M_r = 314$  (EI-MS).

\* **14** wurde nur chromatographisch in den Mutterlaugen von **15** nachgewiesen.

Quercetin-3-(*p*-cumarylglucosid) (**16**). Aus Methanol/Wasser kurze, gelbe Nadelchen vom Schmp. 245–247 °C (zers.).  
 $C_{30}H_{26}O_{14}$  (610,5) Gef.:  $M_r = 610$  (FD-MS).

Azaleatin (**17**). Entsteht bei der sauren Hydrolyse von **18** und kristallisiert aus wässrigem Methanol in gelben Nadelchen, die sich ab 300 °C unter Braufärbung zersetzen. (Lit.-Schmp.: ca. 320 [13]).  
 $C_{16}H_{12}O_7$  (316,3) Gef.:  $M_r = 316$  (EI-MS).

Azaleatin-3-galactosid (**18**). Aus Methanol/Wasser flache, hellgelbe Nadelchen vom Schmp. 206 bis 208 °C (zers.).  
 $C_{22}H_{22}O_{12}$  (478,4) Gef.:  $M_r = 478$  (FD-MS).

Isorhamnetin-3-glucosid (**20**). Aus Methanol/Wasser gelbe, kugelige Kristallaggregate vom Schmp.

181–182 °C (zers.) (Lit. [15]: 165–167 °C).  
 $C_{22}H_{22}O_{12}$  (478,4) Gef.:  $M_r = 478$  (FD-MS).

5,3'-di-O-Methylquercetin (**21**). Entsteht bei der sauren Hydrolyse von **22**. Aus Methanol/Wasser Rosetten von flachen, gelben Nadeln. Schmp.: 320 bis 322 °C (zers.) (Lit. [16]: 314–317 °C).  
 $C_{17}H_{14}O_7$  (330,3) Gef.:  $M_r = 330$  (EI-MS).

5,3'-di-O-Methylquercetin-3-glucosid (**22**). Aus Methanol/Wasser blaßgelbe Nadelchen vom Schmp. 257–258 °C (zers.).  
 $C_{23}H_{24}O_{12}$  (492,4) Gef.:  $M_r = 492$  (FD-MS).

#### Danksagung

Herrn G. Swinger danken wir für die Aufnahme der Massenspektren.

- [1] A. Traub u. H. Geiger, Z. Naturforsch. **30 c**, 823 (1975).
- [2] K. R. Markham, B. Ternai, R. Stanley, H. Geiger u. T. J. Mabry, Tetrahedron **34**, 1389 (1978).
- [3] St. v. Kostanecki u. F. W. Osius, Ber. dtsch. chem. Ges. **32**, 325 (1899).
- [4] F. B. Power u. F. Tutin, Proc. Am. Pharm. Assoc. **54**, 352 (1906).
- [5] L. Hörhammer, H. Wagner, H. G. Arndt, H. Kraemer u. L. Farkas, Tetrahedron Letters **1966**, 567.
- [6] H. Homberg u. H. Geiger, Phytochemistry, im Druck.
- [7] H. Geiger u. G. Swinger, Phytochemistry, im Druck.
- [8] T. J. Mabry u. K. R. Markham, The Flavonoids (J. B. Harborne, T. J. Mabry u. H. Mabry, Hrsg.), S. 78 uff., Chapman and Hall, London 1975.
- [9] Ch. A. Williams u. J. B. Harborne, Biochem. Syst. Ecol. **3**, 181 (1975).
- [10] Ch. A. Williams u. J. B. Harborne, Biochem. Syst. Ecol. **5**, 45 (1977).
- [11] J. S. Challice u. A. H. Williams, Phytochemistry **7**, 1781 (1968).
- [12] B.-G. Österdahl, Acta Chem. Scand. **B 30**, 867 (1976).
- [13] E. Wada, J. Am. Chem. Soc. **78**, 4725 (1956).
- [14] E. C. Bate-Smith, S. M. Davenport u. J. B. Harborne, Phytochemistry **6**, 1407 (1967).
- [15] W. Rahman u. M. Ilyas, J. Org. Chem. **27**, 153 (1962).
- [16] L. Farkas, B. Vermes u. M. Nögrádi, Chem. Ber. **105**, 3505 (1972).
- [17] J. B. Harborne, Phytochemistry **8**, 419 (1969).
- [18] S. Beckmann u. H. Geiger, Phytochemistry **7**, 1667 (1968).