

C. H. Brieskorn und W. Biechele*)

Flavone aus *Salvia officinalis* L.

22. Mitt. über Inhaltsstoffe von *Salvia* off. L

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg
(Eingegangen am 11. November 1970)

Das Blatt von *Salvia* off. enthält Genkwanin, 6-Methoxygenkwanin, Luteolin, 6-Methoxyluteolin, 6-Methoxyluteolin-7-methyläther und Hispidulin als Flavone, sowie Luteolin, 6-Methoxyluteolin und Luteolin-7-methyläther als Flavonglykoside. Die Flavone lassen sich zwei biosynthetischen Reihen zuordnen. Bei allen aufgefundenen Flavonen ist Ring B nichtmethyliert.

The Flavones from *Salvia officinalis* L.

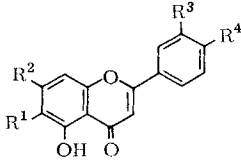
The leaf of *Salvia* off. contains the flavones genkwanin, 6-methoxygenkwanin, luteolin, 6-methoxyluteolin, 6-methoxyluteolin-7-methyl ether and hispidulin as flavone glycones, the flavone glycosides of luteolin, 6-methoxyluteolin and luteolin-7-methyl ether. The flavones belong to two different series. Ring B is not methylated in all compounds.

Die bisherigen Kenntnisse zum Vorkommen von Flavonen in *Salvia* off.¹⁾ bedurften auf Grund der an Rosmarin. off. gewonnenen Ergebnisse²⁾ einer Überprüfung. Aus dem Wasserextrakt des Blattes von *Salvia* off. haben wir 6 Flavone und 8 Flavonglykoside isoliert. Vorteilhafter als der ätherische Auszug ist für die Abtrennung der Aglykone der Wasserextrakt, da er nicht die stark störenden Triterpensäuren enthält. Am Aufbau der Flavonglykoside sind drei Aglykone beteiligt, von denen Luteolin auch nichtglykosidisch gebunden vorkommt.

* Teil der Dissertation W. Biechele, Würzburg 1970.

1 R. Semrau, Über die Flavone in der Familie der Labiäten, Diss. Univ. München 1958.

2 C. H. Brieskorn und H. Michel, *Tetrahedron Letters* 1968, 3447.



Flavone	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Aglykon	Glykoside
6-Methoxygenkwanin	OCH ₃	OCH ₃	H	OH	F ₁ x	–
Genkwanin	H	OCH ₃	H	OH	F ₂ x	–
6-Methoxyluteolin-7-methyläther	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH	F ₃ x	–
Hispidulin	OCH ₃	OH	H	OH	F ₄ x	–
6-Methoxyluteolin	OCH ₃	OH	OH	OH	F ₅ x	–
Luteolin	H	OH	OH	OH	F ₆ x	6 x
Luteolin-7-methyläther	H	OCH ₃	OH	OH	–	x
6-Hydroxyluteolin	OH	OH	OH	OH	–	x

x = Anwesenheit + Anzahl

Die Glykoside wurden durch präparative Schichtchromatographie voneinander getrennt. Hinsichtlich ihres glykosidischen Aufbaus haben wir lediglich Luteolin-7-monoglucosid identifizieren können. Bei den anderen Glykosiden gelang es nur, die Aglykone eindeutig zu kennzeichnen. Eine entsprechende Entscheidung beim Zuckeranteil war nicht möglich, da an den Glykosiden immer noch Spuren des Adsorptionsmaterials Cellulose hafteten. Ihre vollständige Entfernung war wegen der geringen Menge an Glykosiden nicht zu erreichen.

Die Aglykone, dem Wasserextrakt mit Äther entzogen, lassen sich über Polyamidsäulen chromatographisch auftrennen. Semrau¹⁾ gibt auf Grund papierchromatographischer Nachweise Apigenin und Luteolin an. Hiervon können wir lediglich Luteolin bestätigen.

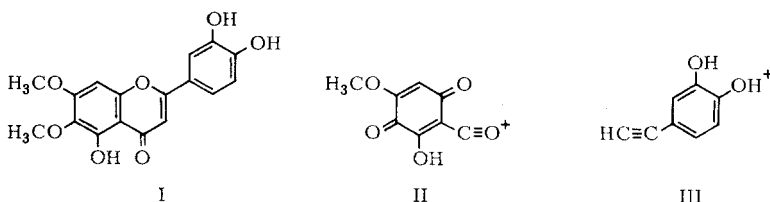
Hispidulin wurde in Labiaten bereits vermutet³⁾, ist jedoch von uns im Salbei erstmals mit Sicherheit nachgewiesen worden*).

6-Methoxy-luteolin-7-methyläther (I) ist mikrokristallin erhalten worden und schmilzt bei 278°. Seine UV-Daten in Äthanol lauten: 255, 277, 343 nm; mit AlCl₃ erfolgt bathochrome Verschiebung nach 262, 288, 360 nm; mit Na-äthylat

3 H. Michel, Zur Kenntnis einiger Flavonoide aus Rosmarin. off. L., Diss. Univ. Würzburg 1968.

* Herrn Prof. Venkataraman, Poona, danken wir für eine Probe authentischen Hispidulins.

nach 400 nm und mit Borsäure-Na-acetat nach 363 nm. Der Molpeak m/e 330 und die Fragmente m/e 181 (II) und m/e 135 (III) des Massenspektrums sichern das Molekulargewicht und die Anordnung der Substituenten in den Ringen A + B. Die Verbindung I zeigt die für 6-Methoxyflavone charakteristische Fragmentierung²⁾.



Den 7-Methyläther des Luteolins sicherten wir durch das UV- und das Massenspektrum. Demethylierung ergab Luteolin. 6-Methoxy-luteolin-7-methyläther und Luteolin-7-methyläther werden bisher in der Literatur noch nicht erwähnt. 6-Hydroxyluteolin stimmte im UV-Spektrum mit einer authentischen Probe überein⁴⁾.

Über das Vorkommen von 6-Methoxy-luteolin in *Salvia* off. ist bereits an anderer Stelle von uns berichtet worden⁵⁾. 6-Methoxy-luteolin und Genkwanin haben wir auch aus den Blättern von Rosmarin. off. isoliert, dessen Inhaltsstoffe mit einigen von *Salvia* off. übereinstimmen. Inzwischen haben wir Genkwanin auch in *Leonurus cardiaca* nachweisen können⁶⁾.

Bei *Salvia* off. ist, wie bereits bei anderen Labiaten gefunden, das gleichzeitige Vorkommen von 5.7-di- und 5.6.7-trisubstituierten Flavonen hervorstechend.

Beim Sichtbarmachen der Flavone auf Polyamidplatten reagieren 6-Methoxyflavone ohne benachbarte OH-Gruppen an C-3' bzw. C-4' mit Diphenylborsäure-β-aminoäthylester (Naturstoffreagens Roth) im UV nur als dunkle Flecke. Eine gelbe oder grüngelbe Fluoreszenz tritt nicht auf.

6-Hydroxyflavone sind im Chromatogramm (Polyamid + 10 % Cellulose) leicht zu übersehen, da sie im UV nach Bedampfen mit Ammoniak nicht fluoreszieren, sondern als dunkle Flecke erscheinen. Mit dem Naturstoffreagens entsteht nur ein schwach oranger Fleck.

4 Herrn Prof. I. B. Harborne, Univ. London Road, Reading, danken wir für Überlassung der Substanz. Einer persönlichen Mitteilung zufolge hat er dieses Flavon in der Zwischenzeit in drei weiteren Labiaten aufgefunden.

5 C. H. Brieskorn und W. Biechele, *Tetrahedron Letters* 1969, 2603.

6 W. Broschek, Zur Kenntnis der petroläther- und ätherlöslichen Inhaltsstoffe des Krautes von *Leonurus cardiaca* L., Diss. Univ. Würzburg 1970.

Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie für Unterstützung der Arbeit durch Sachmittel, Herrn Dr. Jantos, Pharmaz. Chem. Institut der Universität Münster, und der Firma Merck, Darmstadt, für die Anfertigung der Massenspektren.

Beschreibung der Versuche

1.) Isolierung der Flavone

5 kg grobgepulverte Blätter von *Salvia off.* werden mit Wasser 15 Min. ausgekocht, am zweckmäßigsten in kleinen Portionen. Der braune Auszug wird 3 x mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Einengen der vereinigten Ätherauszüge zur Trockne wird der Rückstand über Polyamid (Fa. BASF)* (Säule: 4 cm x 100 cm) chromatographiert. Polyamid wird vorher mit Methanol ausgekocht. Zusatz von 5 % Cellulose zum Polyamid erhöht die Durchlaufgeschwindigkeit. Durch Elution mit Wasser läßt sich zunächst der violett-fluoreszierende Anteil (Phenolcarbonsäuren) abtrennen. Anschließend wird dem Wasser Methanol zugefügt und dessen Anteil nach jeder eluierten Zone um 10 % gesteigert.

UV- und DC-Kontrolle: Polyamid 11 Merck + 10 % Cellulose MN 300.

Fließmittel: Äthylmethylketon/Toluol/Methanol/Wasser/Essigsäure 80 : 10 : 5 : 5 : 3.

Bei einer Methanolkonzentration von 30 % fällt das erste Flavon (F_1) an. Die einzelnen Flavon-Fractionen werden gefriergetrocknet und das leichte, hellgelbe Pulver über eine kleine Sephadex-LH 20-Säule mit Methanol als Elutionsmittel von hochmolekularen Begleitstoffen gereinigt. Beim langsamen Verdunsten des Lösungsmittels kristallisieren die Flavone. Nach dem DC enthalten die Fractionen mit dem Flavon F_4 noch Spuren von F_3 . Die Auftrennung gelingt über ca. 50 Polyamid-Platten. Zum Auskratzen der beiden Zonen wird unter UV-Licht gearbeitet.

2.) Isolierung der Glykoside

3 kg grobgepulverte Blätter werden zur Abtrennung der Flavone mit Petroläther und Äther erschöpfend Soxhletiert (DC-Kontrolle). Aus dieser vorextrahierten Droge wird wie unter 1) ein Wasserextrakt bereitet, dieser gefriergetrocknet und über Polyamid chromatographiert. (Säule 6 cm x 150 cm). Methanol eluiert zunächst die Phenolcarbonsäuren. Die folgenden gelben Methanolfractionen (Shinoda-positiv) werden zur Trockne eingeeengt und auf Papier (MN 264) zweidimensional chromatographiert

1. Laufrichtung: Butanol/Eisessig/Wasser 3 : 1 : 1 2. Laufrichtung: 15proz. Essigsäure.
Acht sich teilweise überdeckende Glykosidflecke werden mit Naturstoff-Reagens Roth sichtbar gemacht.

Eine sc Trennung des Glykosidgemisches über Cellulose mit diversen Laufmitteln war nicht möglich. Über Cellulose-Dickschichtplatten (Laufmittel Aceton/Wasser 30:70) ließen sich die einzelnen Komponenten präparativ isolieren. Hierbei hat sich bewährt, die Cellulose MN 300 nach dem Anschlammern in Wasser 10 Min. mit dem Ultra-Turrax zu homogenisieren.

Unter UV werden die einzelnen Zonen ausgekratzt und mit Methanol eluiert. Die Glykoside konnten nicht ganz frei von Cellulose erhalten werden.

3.) Hydrolyse der Glykoside

Die Eluate der einzelnen Glykoside werden auf 10 ml eingeeengt, mit 10 ml Wasser und 1 ml konz. Salzsäure versetzt und solange auf einem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt, bis vollständige

* Wir danken für die kostenlose Überlassung des Polyamidpulvers.

Hydrolyse eingetreten ist (DC). Das Hydrolysat wird mit Wasser auf 40 ml verdünnt und über Polyamid sc (Säule 1 cm x 6 cm) gereinigt. Die Säule wird zunächst mit Wasser ausgewaschen, bis das Eluat neutral reagiert. Das fest adsorbierte Flavon wird anschließend mit reinem Äthanol von der Säule eluiert. Durch DC werden die erhaltenen Aglykone identifiziert.

4.) Demethylierung

1 mg Luteolin-7-methyläther wird mit 3 ml Bromwasserstoffsäure (47,5 %) 30 Min. in siedendem Wasser erwärmt. Mit 10 ml Äthylacetat wird ausgeschüttelt und die organische Phase 2 x mit Wasser gewaschen. Auf Polyamid-Platten war das demethylierte Produkt mit Luteolin identisch.

Anschrift: Prof. Dr. C. H. Brieskorn, 87 Würzburg, Landwehr

[Ph 959]

R. Rümmler und R. Haller

NMR-Spektroskopische Untersuchungen an diastereomeren 1-Dimethylamino-2-methyl-3,3-diphenyl-alkanolen-(4)

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Eingegangen am 2. Oktober 1970)

1-Dimethylamino-2-methyl-3,3-diphenyl-pentanol-(4) und die beiden diastereomeren 1-Dimethylamino-2-methyl-3,3-diphenyl-hexanole-(4) (2S,4R/2R,4S : α -Isomethadol und 2S,4S/2R,4R : β -Isomethadol) werden als freie Basen $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch untersucht, unter besonderer Berücksichtigung der Spektren der Methin- und Methylenprotonen.

NMR-Study of Diastereoisomeric 1-Dimethylamino-2-methyl-3,3-diphenyl-alkane-4-ols

$^1\text{H-NMR}$ -spectra are recorded of 1-dimethylamino-2-methyl-3,3-diphenyl-pentanol-(4) and the two diastereoisomeric 1-dimethylamino-2-methyl-3,3-diphenyl-hexanols-(4) (2S,4R/2R,4S : α -isomethadol and 2S,4S/2R,4R : β -isomethadol) as the free bases. Especially, $^1\text{H-NMR}$ data of the methine and methylene protons of the chain are given.