

Da auch mit diesen Methoden die Substitution der Flavonoid-3-Stellung nicht immer eindeutig geklärt werden konnte, wurde zur Verifizierung zusätzlich der Nuclear-Overhauser-Effect ausgenutzt.

Aufgrund der erhaltenen Daten konnten folgende Verbindungen identifiziert werden:

**In der Wasserfraktion:** p-Cumaroyl-1-O-β-D-glucopyranosid, Feruloyl-1-O-β-D-glucopyranosid, 2-O-p-Cumaroyl-3-O-acetyl-weinsäure

**In der Methanol-Fraktion:** 3', 4', 5, 7-Tetrahydroxy-6-methoxy-flavon-3-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-[β-D-apiofuranosyl(1→2)]-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-(2''''p-cumaroylglucopyranosyl)(1→6)-[β-D-apiofuranosyl(1→2)]-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-(2''''feruloylglucopyranosyl)(1→6)-[β-D-apiofuranosyl(1→2)]-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-(2''''p-cumaroylglucopyranosyl)(1→6)-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-(2''''feruloylglucopyranosyl)(1→6)-β-D-glucopyranosid, 4', 5, 7-Trihydroxy-3', 6-methoxy-flavon-3-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-[β-D-apiofuranosyl(1→2)]-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-(2''''p-cumaroylglucopyranosyl)(1→6)-[β-D-apiofuranosyl(1→2)]-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-(2''''feruloylglucopyranosyl)(1→6)-[β-D-apiofuranosyl(1→2)]-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-(2''''p-cumaroylglucopyranosyl)(1→6)-β-D-glucopyranosid, 3-O-β-D-(2''''feruloylglucopyranosyl)(1→6)-β-D-glucopyranosid,

**In der sauren Methanol-Fraktion:** 3', 5, 7-Trihydroxy-3, 6-dimethoxy-flavon-4'-O-β-D-glucuronid, 5, 7-Dihydroxy-3, 3', 6-dimethoxy-flavon-4'-O-β-D-glucuronid, 3', 5-Dihydroxy-3-methoxy-6:7-methylenedioxy-flavon-4'-O-β-D-glucuronid, 5-Hydroxy-3, 3'-dimethoxy-6:7-methylenedioxy-flavon-4'-O-β-glucuronid

#### Literatur

- Winter M, Herrmann K (1986) J. Agric. Food Chem: 616–620
- Aritomi M. (1986) Phytochemistry: 231–234

## Antioxidative Eigenschaften der Isoflavone und ihrer Metabolite

C. E. Rüfer, G. Rechkemmer und S. E. Kulling  
Institut für Ernährungsphysiologie, Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe

Isoflavone gehören zur Gruppe der Phytoestrogene und sind vor allem in Soja, einigen Bohnen-Sorten und in Kleesprossen zu finden. Aus eigenen Untersuchungen und den Studien anderer Arbeitsgruppen ist bekannt, dass diese Verbindungen nach Aufnahme in den Körper einer umfangreichen Metabolisierung unterliegen. So wird Daidzein durch die intestinale Darmflora über Dihydrodaidzein zu O-Demethylangolensin oder zu Equol verstoffwechselt. Genistein wird stattdessen über Dihydrogenistein zu 6'-Hydroxy-O-Demethylangolensin und weiter – unter Spaltung des Isoflavongerüsts – zum biologisch inaktiven p-Ethylphenol metabolisiert. Darüber hinaus werden sowohl Daidzein als auch Genistein *in vivo* durch Cytochrom-P450-Enzyme der Leber vor allem an der C6- und C8-Position des A-Ringes als auch der C3'-Position des B-Ringes hydroxyliert [1, 2].

Die in der Literatur für Genistein und Daidzein beschriebenen protektiven Wirkungen werden u.a. auch mit deren antioxidativem Potential in Zusammenhang gebracht, das bereits in verschiedenen Assays nachgewiesen wurde [3]. Wir haben deshalb die antioxidative Kapazität der für den Menschen relevanten Metabolite dieser beiden Soja-Isoflavone untersucht. Des Weiteren haben wir Glycitein, das dritte in Soja vorkommende Isoflavon, und Biochanin A, das 4'-O-Methylderivat von Genistein, auf ihr antioxidatives Potential geprüft.

Dabei wurden von uns zwei verschiedene Testsysteme eingesetzt: Zum einen der ORAC-Test (Oxygen Radical Absorbance Capacity), der die Fähigkeit von Substanzen bestimmt, im wässrigen System Peroxylradikale in Vergleich zum Standard-Antioxidans Trolox abzufangen. Detektiert wird eine Fluoreszenzabnahme des Proteins R-Phycocerythrin nach dessen oxidativer Schädigung. Zum anderen haben wir das Potential der Verbindungen untersucht, in humanen LDL (*low density lipoproteins*) die Lipidperoxidation zu inhibieren. Gemessen wird hier die Absorptionzunahme bei 234 nm durch Bildung von konjugierten Dien-Strukturen nach Oxidation der Fettsäuren mit Kupfer(II)-Ionen.

Es zeigte sich in beiden Testsystemen, dass eine Methoxygruppe wie sie bei Biochanin A vorkommt, im Vergleich zu einer Hydroxylgruppe in der gleichen Position, zu einer Verringerung der antioxidativen Kapazität führt. Glycitein zeigt im ORAC-Test die schwächste antioxidative Wirkung, bei der Lipidperoxidation ist sie jedoch mit der von Genistein vergleichbar. Die oxidativen Metabolite von Daidzein mit drei Hydroxylgruppen zeigen ähnliche antioxidative Eigenschaften wie Genistein. 3'-Hydroxy-Genistein, ein oxidativer Metabolit von Genistein, erwies sich als stärkstes Antioxidans. Die reduktiven Metabolite von Daidzein und Genistein zeigen dagegen fast immer eine schwächere antioxidative Wirkung als die Ausgangsverbindungen. Eine Ausnahme bildet Equol, das eine ähnliche Kapazität wie Genistein aufweist und auch in der Literatur als gutes Antioxidans beschrieben ist.

#### Literatur:

- Heinonen S et al. (1999) Anal Biochem, 274: 209–211.
- Kulling SE, Honig DM, Metzler M (2001) J Agric Food Chem, 49: 3024–3033.
- Harper A et al. (1999) Free Rad Res, 31: 149–160

## Analysis of Diacylhydrazines – methodology and residue data

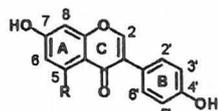
E. Scherbaum und M. Anastassiades  
Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, Fellbach

Diacylhydrazines (tebufenozide, halofenozide und methoxyfenozide) are used in fruits, vegetables and eines cultures against lepidopteran pests. They act as nonsteroidal insect growth regulators causing fatal premature moulting of the larvae. While tebufenozide is already widely in use, methoxyfenozide and halofenozide, the newer diacylhydrazines, are only registered in few countries yet.

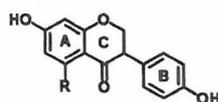
Analysis: The compounds, having intermediate polarity, are easily extractable using common multiresidue methods. However, the analysis by gaschromatography is difficult. For this reason we have employed LC/MS for quantitative analysis.

#### Rapid SFE-LC/MS method:

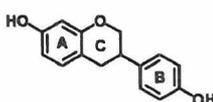
The conditions of Sample preparation and extraction are identical with those used in the multiresidue procedure used in our laboratory: The comminuted Sample is mixed with Hydromatrix and filled in an extraction thimble. Extraction is automatically performed with supercritical CO<sub>2</sub> at 330 bar and 55°C (flow rate 1.8 mL/min). The extract is collected on a solid phase trap (ODS) and rinsed to a vial with 1.5 ml acetonitrile. LC/MS is performed with using a Single quadrupole Instrument and Zorbax XDB



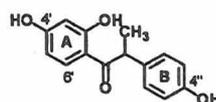
Daidzein: R=H  
Genistein: R=OH



Dihydrodaidzein: R=H  
Dihydrogenistein: R=OH



Equol



O-Demethylangolensin