

Kryptoäscin A ist also ein Substanzgemisch von mindestens sieben Komponenten, das als wesentliche Bestandteile (40%) Äscin und Äscinmethylester enthält. Die Umwandlung von Kryptoäscin A im Kryptoäscin B ist nur als ein Reinigungsprozeß aufzufassen. Wir danken der Fa. A. Klinge und Co., München, für die Überlassung von Kryptoäscin A und B.

Organisch-Chemisches Institut der Universität, Bonn

RUDOLF TSCHESCHE und UDO AXEN

Eingegangen am 14. Februar 1964

<sup>1)</sup> XIV. Mitteilung: TSCHESCHE, R., E. HENCKEL u. G. SNATZKE: Liebigs Ann. Chem. (im Druck). — <sup>2)</sup> WAGNER, J., u. J. BOSSE: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 322, 254 (1960). — <sup>3)</sup> KUHN, R., u. I. LÖW: a) Liebigs Ann. Chem. 669, 183 (1963); b) Tetrahedron Letters 15, 891 (1964). — <sup>4)</sup> Herrn Prof. KUHN danken wir sehr für die Überlassung von Vergleichssubstanzen und für die freundliche Mitteilung noch unveröffentlichter Ergebnisse. — <sup>5)</sup> TSCHESCHE, R., U. AXEN u. G. SNATZKE: Liebigs Ann. Chem. 669, 171 (1963).

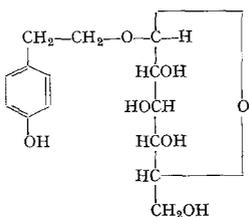
Anmerkung bei der Korrektur (8. 5. 64): Das von R. KUHN u. I. LÖW<sup>3a,b)</sup> aus Äscin isolierte Protoäscigenin und Äscinidin wurde auch von uns aus Äscin (Fa. Madaus) erhalten. Aus den Ergebnissen der Veröffentlichung von R. KUHN und I. LÖW<sup>3a)</sup> und einer Privatmitteilung von R. KUHN<sup>4)</sup> muß geschlossen werden, daß die Zucker-Verknüpfung und die Anordnung der Fettsäuren im Äscin möglicherweise anders sind, als von U. AXEN in seiner Dissertation vorgeschlagen wurde, so daß der Strukturvorschlag für Äscin<sup>5)</sup> korrekturbedürftig erscheint.

#### Zur Konstitution des Salidrosids, eines Phenolglykosids aus *Salix triandra* L.

Aus der Rinde der Mandelweide (*Salix triandra* L.) gelang 1926 BRIDEL und BÉGUIN<sup>1)</sup> die Isolierung eines neuen, nicht kristallisierenden Glykosids (Salidrosid), das bei der fermentativen Spaltung mit Emulsin neben Glucose ein öliges, rosenartig riechendes Aglykon lieferte, das aus Äther/Petroläther in weniger aromatisch reichenden Blättchen kristallisierte. Die Autoren nahmen an, daß es sich dabei um ein Polymerisationsprodukt des öligen Aglykons handelt. Auch RABATÉ<sup>2)</sup>, der das Glykosid später noch in *Salix arbuscula* L. und *Salix glauca* L. nachwies, konnte es nicht zur Kristallisation bringen und auch das Aglykon (Salidrosol), dessen Schmelzpunkt mit 92°C bestimmt wurde, nicht identifizieren.

Die Isolierung des Salidrosids aus der Rinde von *Salix triandra* L. gelang uns nach Abtrennung des Gesamtglykosidkomplexes [Polyamidchromatographie, kontinuierliche Extraktion mit Essigsäureäthylester<sup>3-c)</sup>] durch anschließende Chromatographie an einer Cellulosesäule (Schleicher & Schüll Nr. 123) mit dem Verteilungsmittel n-Butanol/Xylol/Wasser 2:8:8.

Salidrosid kristallisiert aus Essigsäureäthylester nach Zusatz von Benzin (Sdp. 60 bis 70°C) in kleinen Blättchen vom Schmelzpunkt 159 bis 160°C.  $[\alpha]_D^{20} = -32,1^\circ$  ( $c = 1,26$ ; Wasser). Gef. C: 55,87%, H: 6,72%. Das Glykosid zeigt auf



Papyrogrammen mit dem Verteilungsmittel n-Butanol/Xylol/Essigsäure/Wasser (6:4:2:8) den RF-Wert 0,25 (Schleicher & Schüll 2043 b mgl., aufsteigend). Beim Besprühen mit Millons Reagenz reagiert es bereits bei Zimmertemperatur unter intensiver Rotfärbung (Substitution des Aglykons in 4-Stellung, freie phenolische Hydroxylgruppe). Auch diazotiertes Sulfanilamid gibt sofort Rotfärbung. Das Glykosid wird, wie schon von BRIDEL und BÉGUIN beobachtet, von Emulsin rasch gespalten, wobei ein an Rosen erinnernder Geruch auftritt. Als Spaltprodukt der fermentativen Hydrolyse konnte neben Glucose als Aglykon und Träger des aromatischen Geruchs 4-Hydroxyphenyläthanol (Tyrosol, Schmp. 93°C) nachgewiesen werden. Die Identifizierung des Aglykons erfolgte durch Bestimmung des Mischschmelzpunktes und durch Cochromatographie mit authentischem Material<sup>\*)</sup> (Verteilungsmittel n-Butanol/Xylol/Essigsäure/Wasser 2:8:2:8). Auch die IR-Spektren von Aglykon und der Vergleichssubstanz zeigten weitgehende Übereinstimmung.

Aufgrund unserer Untersuchungsergebnisse schreiben wir dem Salidrosid ( $C_{14}H_{20}O_7$ , Mol.-Gew. 300,3) die Konstitution eines 2-(4-Hydroxyphenyl)-äthanol-1- $\beta$ -D-glucopyranosids zu.

Wie das ebenfalls in *Salix triandra* L. vorkommende Triandrin<sup>3a)</sup> und das vor kurzem von uns aus *Salix viminalis* L. isolierte Vimalin<sup>3b)</sup> gehört auch Salidrosid zu einer neuen

Gruppe von Phenolglykosiden, die den Zucker nicht über die phenolische Hydroxylgruppe, sondern über die primäre alkoholische Hydroxylgruppe des Aglykons gebunden enthalten.

Das mit Essigsäureanhydrid-Pyridin dargestellte Pentacetylderivat konnte nicht kristallin erhalten werden.

Nach den Beobachtungen von BRIDEL und BÉGUIN<sup>1)</sup> ist der Salidrosidgehalt von *Salix triandra* L. abhängig vom Geschlecht der Pflanzen; die Rinden männlicher Exemplare sollen glykosidreicher sein. Wir können diese Angaben bestätigen, allerdings nur in bezug auf das Vorkommen des Salidrosids. Das ebenfalls in *Salix triandra* L. vorkommende Triandrin ist demgegenüber in den Rinden weiblicher Pflanzen in größerer Menge enthalten. In den Mitte Dezember geernteten Rinden konnten wir (bez. auf wasserfreie Droge) bei männlichen Pflanzen 0,31% Triandrin und 0,95% Salidrosid, bei weiblichen Pflanzen 0,83% Triandrin und 0,51% Salidrosid nachweisen. Der Gehalt der Rinden an Salicin lag unter 0,01%.

Pharmazeutisches Institut der Universität, Leipzig

H. THIEME

Eingegangen am 2. März 1964

<sup>\*)</sup> Herrn Dr. M. STOLL, Genf, danken wir für die Überlassung einer Vergleichsprobe.

<sup>1)</sup> BRIDEL, M., u. C. BÉGUIN: Compt. rend. 183, 231 (1926). — <sup>2)</sup> RABATÉ, J.: Bull. soc. chim. biol. 17, 439 (1935). — <sup>3)</sup> THIEME, H.: Naturwissenschaften a) 50, 571 (1963); b) 51, 217 (1964); — c) Pharmazie (im Druck).

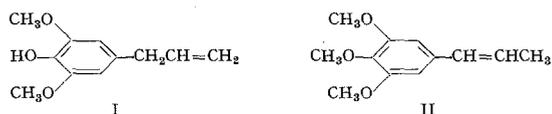
#### Isolation of Methoxyeugenol and *trans*-Isoelemicin from Oil of Nutmeg

Nutmeg, the seed of the tree *Myristica fragrans*, has long been known as an intoxicating substance. Attempts to assign its psychotropic effects to the myristicin content have been unsuccessful. Studies have shown this aromatic component to be inadequate in reproducing the toxic syndrome of the natural mixture<sup>1)</sup>. The first thorough analysis of the volatile oils in nutmeg, that of POWER and SALWAY<sup>2)</sup>, still stands as the primary reference for the identity of the many components. Recently the techniques of gas liquid chromatography have been employed in the analysis of the terpene fraction<sup>3)</sup> and have established the presence of elemicin<sup>4)</sup>.

By means of fractional distillation *in vacuo*, approximately ten pounds of Oil of Nutmeg (G. Lueders and Co., U.S.P.W.I.) was separated into three fractions. Fraction A represents the combination of several distillation cuts up to 114° at 2 mm/Hg and consisted primarily of terpenes; Fraction B, b. p. 114—119° at 2 mm/Hg, was the myristicin fraction and consisted predominantly of myristicin and elemicin; Fraction C was the heavy oil obtained from the distillation residue after the removal of myristic acid by extraction with ammonium hydroxide.

Initial analysis of the latter two fractions was conducted with a G.L.C. column employing polyethylene glycol 20 M as a liquid substrate on acid-washed Chromasorb W, which achieved a complete separation of elemicin and myristicin. The quantities of these components, as determined by planimetry of the recorded G.L.C. chromatograms, are listed in Table 1. In fraction B, a small following peak was observed and readily identified as isoeugenol. Fraction C revealed, in addition to these components, two slower moving peaks of a size sufficient to warrant isolation and identification.

The first of these possessed two methoxyl groups and an allyl chain (by N.M.R. analysis) as well as an exchangeable proton. The infrared spectrum was identical to that of 2,6-dimethoxy-4-allyl phenol (methoxyeugenol) (I) obtained by the Claisen rearrangement of the allyl ether of 2,6-dimethoxyphenol<sup>5)</sup>.



This structural assignment was further confirmed by the undepressed melting point (73—74°) of the mixture of benzoates prepared separately from a synthetic sample [73.5—74°, literature value 76—77°<sup>6)</sup>] and from the isolate from fraction C (73—74°). The infrared spectrum of the second unknown compound was identical to that obtained from *trans*-isoelemicin (II), and a dibromo derivative was prepared with

a melting point (85.5–86.5°) undepressed (86–87°) by admixture with an authentic sample [86.5–87°, literature value 89–90°<sup>7)</sup>].

A specific search was made for the corresponding isomerization product of myristicin, *trans*-isomyristicin, as well as for yet more highly methoxylated analogs such as are found in Oil of Parsley. G.L.C. columns were selected (silicone SE-30, silicone SF-96, and ethylene glycol succinate) which allowed each of the substances tested (*trans*-isomyristicin, 2,3,4,5-tetramethoxy allylbenzene, and apiole) to emerge at times different from the identified components of fraction C. The absence of these peaks in fraction C established the maximum concentration of these substances in Oil of Nutmeg (if present at all) as 0.005, 0.001 and 0.001%, respectively. Three trace components (representing 0.04% of the total oil) are recorded in the Table. They appear to be carbonyl-containing materials, and their structures were not determined.

Table. Components of Oil of Nutmeg, in order of emergence from polyethylene glycol 20 M

Component	Fraction (gms.)			% in total orig. Oil of Nutmeg
	A	B	C	
before elemicin . . .	4055.2	5.3	1.9	90.83 %
elemicin . . . . .	2.5	52.4	36.9	2.05 %
myristicin . . . . .	26.7	195.1	16.6	5.33 %
isoeugenol . . . . .	2.2	6.2	0.3	0.19 %
<i>trans</i> -isoelemicin . . .	0	0	3.8	0.08 %
methoxyeugenol . . .	0	0	11.0	0.25 %
unidentified (after elemicin) . .	0	0	1.6	0.04 %
myristic acid . . . . .			55.0	1.23 %

*trans*-isoelemicin has been previously observed in plant extracts, both in *Cymbopogon georgii* HONDA<sup>8)</sup> and in *Backhousia myrtifolia*<sup>9)</sup>. Its presence in nutmeg cannot be an artifact due to accidental isomerization, for isomyristicin, which should be similarly generated from the more plentiful myristicin, is absent. Methoxyeugenol, on the other hand, has never before been observed in any natural extract. Its structural relationship to eugenol is identical to that of elemicin to methyleugenol, as well as that of myristicin to safrole, thus suggesting that its origin in nutmeg may be ascribed to existing biogenetic pathways.

Research Laboratories, The Dow Chemical Company, Walnut Creek, California, U.S.A.

A. T. SHULGIN and H. O. KERLINGER

Eingegangen am 21. Februar 1964

<sup>1)</sup> TRUITT jr. E. B., E. CALLOWAY III, M. C. BRAUDE, and J. C. KRANTZ jr.: J. Neuropsychiat. 2, 205 (1961). — SHULGIN, A. T.: Mind 1, 299 (1963). — <sup>2)</sup> POWER, F. B., and A. H. SALWAY: J. Chem. Soc. 91, 2037 (1907). — <sup>3)</sup> LEE, G. D., F. L. KAUFFMAN, J. W. HARLAN, and W. NIEZABITOWSKI: Internat. Gas Chromatography Symp., ISA Proceedings 301 (1961). — BEJNAROWICZ, E. A., and E. R. KIRCH J. Pharm. Sci. 52, 988 (1963). — <sup>4)</sup> SHULGIN, A. T.: Nature 197, 379 (1963). — <sup>5)</sup> MAUTHNER, F.: Liebigs Ann. Chem. 414, 244 (1918). — <sup>6)</sup> HAHN, G., and H. WASSMUTH: Chem. Ber. B 67, 696 (1934). — <sup>7)</sup> SEMMLER, F. W.: Chem. Ber. 41, 2183 (1908). — <sup>8)</sup> KARIYONE, T., and A. MAJIMA: J. Pharm. Soc. Japan 55, 41 (1935). — <sup>9)</sup> PENFOLD, A. R., H. H. G. MCKERN, and M. C. SPIES: J. Proc. Roy. Soc. N. S. Wales 87, 102 (1953). — HELLYER, R. O., H. H. G. MCKERN and J. L. WILLIS: J. Proc. Roy. Soc. N. S. Wales 89, 30 (1955).

Über die Wirkstoffe der diaphoretischen Drogen des DAB 6

Außer den bisher bekannten Inhaltsstoffen aus den Gruppen der Hydroxyzimtsäurederivate und Flavonolfarbstoffe der Holunderblüten (Flores Sambuci DAB 6, Sambucus nigra L.) Rutin<sup>1)</sup>, Isoquercitrin<sup>2)</sup>, Chlorogensäure und Kaffeesäure<sup>3)</sup> wurden weitere Verbindungen nachgewiesen, die einer entsprechenden parallelen Reihe zugeordnet werden können. Mittels chromatographischer Vortrennung an Cellulosesäulen und weiterer aufsteigender papierchromatographischer Auftrennung, entwickelt mit Essigsäure-Wasser-Gemischen 6:4 v, v und 15:85 v, v, sowie Methanol-Wasser 1:1 v, v und Partridge-Gemisch wurden p-Cumarsäure und Astragalin (Kämpferol-3-glukosid) sowie in geringer Menge auch freies Kämpferol neben freiem Quercetin nachgewiesen. Außerdem wurde noch ein weiterer Fleck beobachtet, der jedoch aus Materialmangel bisher nicht eindeutig bestimmt werden konnte, der aber mehreren Anzeichen nach auf das Vorhandensein von Nicotiflorin (Kämpferol-3-rhamnoglukosid) zurückzuführen sein wird.

In den offiziellen Lindenblüten von Tilia platyphyllos Scop. wurden Chlorogensäure, Kaffeesäure und p-Cumarsäure in entsprechender Weise nachgewiesen. Gegenüber den Ermittlungen von HÖRHAMMER, STICH und WAGNER<sup>4)</sup>, die eine Reihe von Flavonolfarbstoffen aus der nicht offiziellen Tilia argentea Desf. isolierten und auch auf die offiziellen Lindenblüten übertrugen, ergaben sich geringfügige Unterschiede, die aber auf intraspezifische Differenzierungen zurückzuführen sein dürften. In den hier untersuchten Drogen gelang es nur, Glykoside des Quercetins und Kämpferols aufzufinden; die Glykoside A1 und A2 waren nicht nachweisbar.

Mit Hilfe des Keeler-Polygraphen wurde nachgewiesen, daß die Flavonolglykoside für die schweißtreibende Wirkung der untersuchten Heilpflanzen verantwortlich zu machen sind. Vermutlich wird deren Wirkung durch die Hydroxyzimtsäuren noch gesteigert. Ausführliche Angaben zu diesen Untersuchungen werden in Kürze mitgeteilt werden.

2 Hamburg-Rissen, Wedeler Landstr. 71

KLAUS J. SCHMERSAHL

Eingegangen am 31. Dezember 1963

<sup>1)</sup> LLOYD, J. U.: Am. J. Pharm. 93, 40–43 (1921). — <sup>2)</sup> STROH, H.-H.: Naturwissenschaften 45, 547–548 (1958). — <sup>3)</sup> SVENDSEN, A. B.: Pharmac. Acta Helv. 26, 253–258 (1951). — <sup>4)</sup> HÖRHAMMER, L., L. STICH u. H. WAGNER: Naturwissenschaften 46, 358 (1959).

Wirkung von Dinitrophenol, Azid und Anaerobiose auf die Zinkaufnahme durch Algen

Die Aufnahme von Kalium durch Pflanzenzellen, die auf aktivem Transport beruht, wird durch Anaerobiose weitgehend unterdrückt<sup>1), 2)</sup>. Ebenso wirken Atmungsgifte<sup>2–4)</sup>, Offenbar genügt Adenosintriphosphat (ATP) aus der Phosphorylierung oder aus etwaigen anaeroben Prozessen<sup>5), 6)</sup> nicht als Quelle freier Energie für den aktiven Transport.

Es ist bekannt, daß nicht nur Kalium, sondern auch viele Schwermetalle durch Pflanzenzellen stark angereichert werden. Jedoch haben wir nun jedenfalls in bezug auf die Aufnahme von Zink durch *Chlorella vulgaris* festgestellt, daß der Mechanismus sich von dem der Aufnahme von Kalium grundlegend unterscheidet. Die Aufnahme von Zink wird nämlich durch die Atmungsgifte Dinitrophenol (DNP) oder Azid sowie auch durch Anaerobiose nicht beeinflusst.

Suspensionen von 310 mg *Chlorella* (Frischgewicht) in 10 ml m/10 Natriumazetat-Puffer-Lösung (pH 6,0) wurden bei Zimmertemperatur 15 Std in diffusem Licht geschüttelt. Die Lösung war in einer Reihe in bezug auf Zinkchlorid 10<sup>-8</sup> molar, in einer anderen Reihe 10<sup>-3</sup> molar. Das Zink in jedem Röhrchen war mit etwa 2,1 Mikrocurie Zink-65 (Halbwertszeit 245 Tage) markiert. Zu

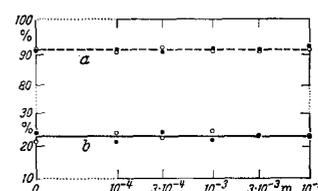


Fig. 1

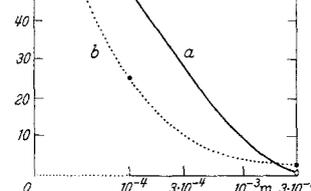


Fig. 2

Fig. 1. Abhängigkeit der Aufnahme von Radiozink durch *Chlorella* (Ordinate) von der Azid- bzw. Dinitrophenolkonzentration (Abszisse). a [Zn] = 10<sup>-8</sup> molar; b [Zn] = 10<sup>-3</sup> molar. o Na-Azid, • Dinitrophenol

Fig. 2. Abhängigkeit der Aufnahme von Radiokalium durch *Chlorella* (Ordinate) von der Azid- bzw. Dinitrophenolkonzentration (Abszisse). a Na-Azid; b Dinitrophenol

Versuchsende wurden die Algen niedertourig abzentrifugiert, und 5 ml des Überstandes wurden mit dem Flüssigkeitszählrohr gemessen. Fig. 1 zeigt die Ergebnisse in Abhängigkeit von den Konzentrationen des DNP oder NaN<sub>3</sub>.

In schroffem Gegensatz dazu wurde in analogen Versuchen mit Kalium-42 (Halbwertszeit 12,5 Std) starke Hemmung durch die Gifte erzielt. Die Kaliumlösung war 1,7 · 10<sup>-4</sup> molar, die Aktivität pro Röhrchen betrug zu Versuchsbeginn etwa 0,3 Mikrocurie, und die Versuchsdauer war 24 Std. Die Daten sind in der Fig. 2 dargestellt.