

Ferdinand Bohlmann, Ludwig Fanghänel, Manfred Wotschokowsky und Joachim Laser

Polyacetylenverbindungen, 154¹⁾

Über die Isolierung weiterer Acetylenverbindungen aus *Äthusa cynapium* L. und über die Biogenese der Hauptinhaltsstoffe

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin

(Eingegangen am 25. Januar 1968)

■ Eine erneute Untersuchung der Inhaltsstoffe von *Äthusa cynapium* L. zeigt, daß neben den Hauptpolyinen in kleinen Mengen zahlreiche weitere Verbindungen vorkommen (**2**, **3**, **10**, **11**, **13**, **19–23**, **25**, **29**, **35**), die biogenetisch interessante Zusammenhänge vermuten lassen. Durch Verfütterung der ³H-markierten Verbindungen [14-³H]-**40** und [1-³H]-**2** läßt sich die Biogenese der Hauptinhaltsstoffe weitergehend sicherstellen.

■ *Äthusa cynapium* L. (Hundspetersilie) gehört zu den Umbelliferen mit besonders hohem Gehalt an Acetylenverbindungen²⁾. Da uns eine größere Menge oberirdischer Teile zur Verfügung gestellt wurde³⁾, war es wünschenswert, durch erneute Untersuchung festzustellen, ob diese Pflanze weitere Substanzen in kleiner Menge enthält, die evtl. besonders in biogenetischer Hinsicht interessant sein könnten.

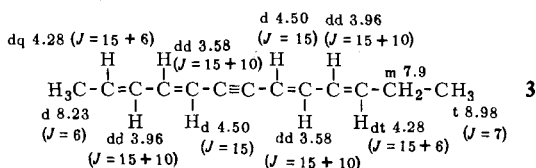
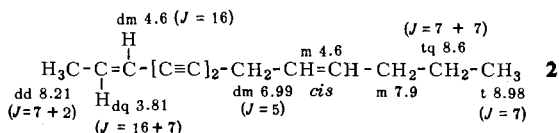
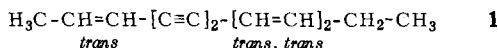
Die sorgfältige Auftrennung der Kohlenwasserstoffe ergibt, daß neben dem Hauptinhaltsstoff Äthusin (**1**)²⁾ zwei weitere Acetylenverbindungen vorliegen. Während die eine Verbindung das typische UV-Spektrum eines Endiins aufweist (280, 265, 250 m μ), handelt es sich bei der zweiten Verbindung offensichtlich um ein Dien-in-dien (λ_{\max} = 337, 315 m μ). Beide Substanzen geben bei der Perhydrierung n-Tridecan, während die IR-Spektren das Vorliegen einer *trans*-disubstituierten Doppelbindung bzw. einer *trans,trans*-Diengruppierung erkennen lassen. Die NMR-Spektren sowie auch die Massenspektren sind nur vereinbar mit den Strukturen **2** und **3**.

¹⁾ 153. Mittell.: F. Bohlmann und H.-Ch. Hummel, Chem. Ber. **101**, 2506 (1968), vorstehend.

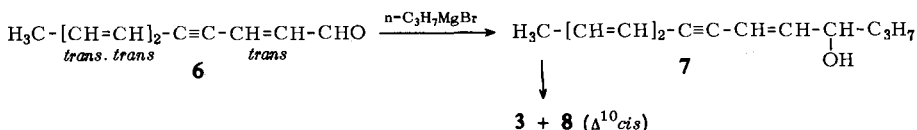
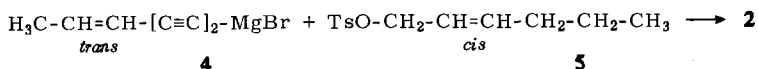
²⁾ F. Bohlmann, H. J. Koch, S. Köhn und W. Herfurt, Chem. Ber. **97**, 2598 (1964); F. Bohlmann, C. Arndt, H. Bornowski und P. Herbst, ebenda **93**, 981 (1960).

³⁾ Wir danken Herrn Dr. C. Müller, Chem. Pharm. Fabrik, Göppingen, für die Überlassung des Pflanzenmaterials.

Es handelt sich also in beiden Fällen um Dihydroäthusine, deren Struktur durch Synthese endgültig sichergestellt werden kann.



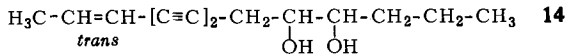
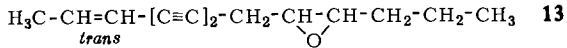
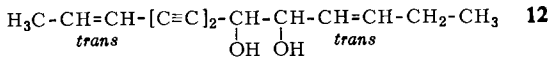
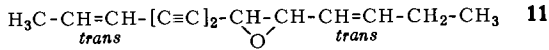
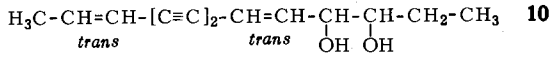
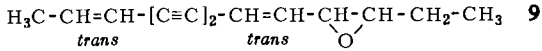
2 erhält man durch Umsetzung der Grignard-Verbindung **4** mit dem Tosylat **5**, während **3** ausgehend vom Aldehyd **6** über das Carbinol **7** durch Wasserabspaltung darstellbar ist. Durch Chromatographie und Kristallisation läßt sich das „all^c-trans-Isomere **3** aus dem erhaltenen Gemisch mit **8** abtrennen.



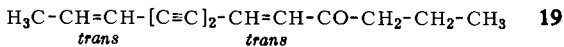
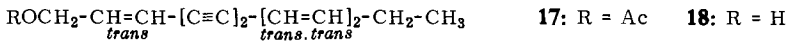
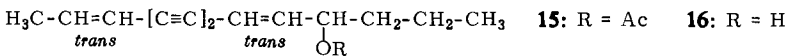
Die synthetisch erhaltenen Verbindungen stimmen in allen Eigenschaften mit denen der Naturstoffe überein.

Die sich an die Kohlenwasserstoffe **1**–**3** anschließende Fraktion enthält in kleinen Mengen mehrere nicht rein isolierbare Verbindungen, die jedoch durch saure Hydrolyse in 1.2-Diole übergeführt werden können, so daß primär Epoxide vorgelegen haben müssen.

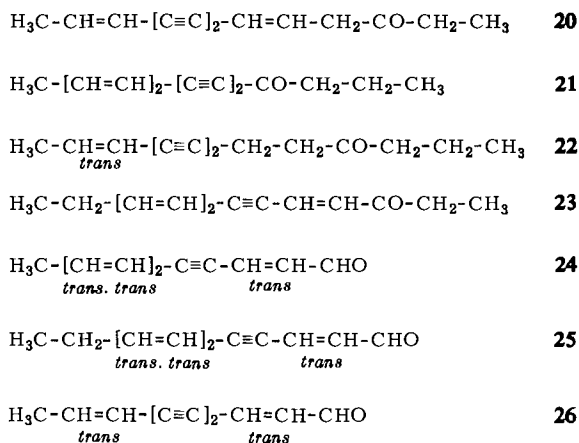
Die Dünnschichtchromatographie ergibt schließlich weitgehend getrennt drei Diole, von denen zwei das UV-Spektrum eines Endiins erkennen lassen, während das dritte Diol einen En-diin-en-Chromophor enthält und somit offensichtlich aus dem schon früher beschriebenen Äthusinepoxid **9**²⁾ hervorgegangen ist. Die Perjodsäure-spaltung der Endiin-diole ergibt nach Boranat-Reduktion und Hydrierung n-Octanol-(1) bzw. n-Nonanol-(1), so daß die Epoxide **11** und **13** als Naturstoffe vorgelegen haben:



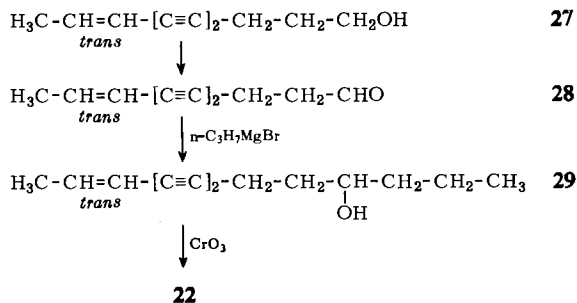
Recht komplex ist auch die anschließende Fraktion, die verschiedene Ester und Carbonylverbindungen enthält. Erst nach vorsichtiger Verseifung bzw. nach Boranat-Reduktion läßt sich eine weitgehende Auftrennung der einzelnen Verbindungen erreichen. Während die Acetate **15** und **17** schon früher isoliert wurden²⁾, enthält die aus den Carbonylverbindungen erhaltene Alkohol-Fraktion neben Äthusanol B²⁾ (**18**) auch Äthusanol A (**16**)²⁾, so daß auch das schon synthetisch erhaltene Keton **19**²⁾ als Naturstoff vorkommt.



Daneben kommen jedoch weitere Carbonylverbindungen vor. Bei den reduzierten Verbindungen handelt es sich um verschiedene En-dii-ene, Dien-in-ene, ein Dien-diin sowie ein Endiin, die jedoch nicht völlig rein erhalten werden konnten. Nach mehrfacher dünnschichtchromatographischer Trennung erhielt man schließlich weitgehend einheitliche Alkohole, deren Strukturen durch Gaschromatographie der Hydrierungsprodukte sowie durch Reoxydationsversuche mit Mangandioxid bzw. durch Massenspektroskopie weitgehend gesichert werden. Es handelt sich demnach um die folgenden Verbindungen, wobei die Strukturen **20**, **21** und **23** unsicher sind:



Die Struktur **22** läßt sich durch Vergleich mit dem synthetisch dargestellten Keton sicherstellen. Ausgehend von Decen-(8)-diin-(4.6)-ol-(1) (**27**) erhält man nach Oxydation zum Aldehyd **28** und Umsetzung mit Propylmagnesiumbromid das Carbinol **29**, das nach Oxydation ein Keton liefert, das in allen Eigenschaften mit dem Naturstoff **22** übereinstimmt.



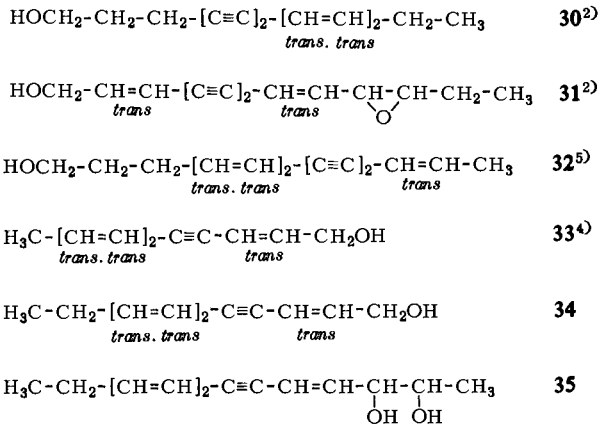
Ebenfalls ist der aus **24** durch Boranat-Reduktion erhaltene Alkohol **33** identisch mit authentischem Material⁴⁾.

In der Alkohol-Fraktion findet man neben den bereits bekannten Verbindungen **16**²⁾, **18**²⁾, **30**²⁾, **31**²⁾ und **32**⁵⁾ drei weitere Alkohole, die mit den Reduktionsprodukten aus **22**, **24** und **25** identisch sind. Es handelt sich demnach um die Verbindungen **29**, **33** und **34**.

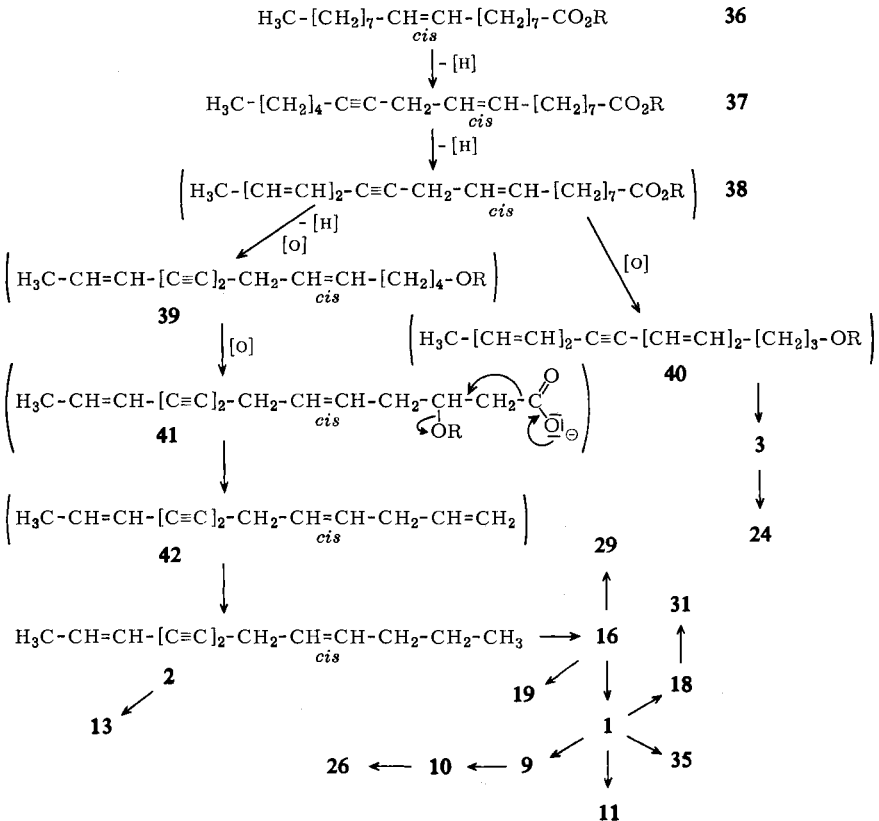
Die polarsten Fraktionen enthalten schließlich noch neben dem bereits früher isolierten Diol **10**²⁾ das Diol **35**, das mit Perjodat den Aldehyd **25** liefert. Daneben isoliert man noch kleine Mengen an Phenacetin, das wir auch schon in verschiedenen Compositen beobachtet haben.

⁴⁾ F. Bohlmann, K.-M. Kleine und H. Bornowski, Chem. Ber. **98**, 369 (1965).

⁵⁾ F. Bohlmann, H. Bornowski und C. Arndt, Chem. Ber. **99**, 2828 (1966).

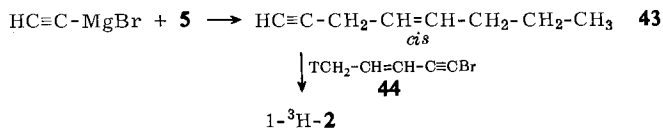


Nach unseren Erfahrungen über die Biogenese anderer Polyine war es naheliegend, daß die Acetylenverbindungen der *Äthusa cynapium* L. ebenfalls aus Vorstufen mit isolierter *cis*-Doppelbindung wie z. B. **2** gebildet werden. Wenn man weiterhin annimmt, daß **2** wahrscheinlich aus Ölsäure entsteht, wäre das folgende Schema für die Biogenese der *Äthusa*-Polyine gut denkbar:



Zur Prüfung dieses Schemas haben wir sowohl **40**⁶⁾ als auch **2** ³H-markiert dargestellt.

Der durch Umsetzung von **5** mit Acetylenmonomagnesiumbromid erhaltene Kohlenwasserstoff **43** liefert mit [³H]-1-Brom-penten-(3)-in-(1) (**44**) das ³H-markierte **2**:



Sowohl [¹⁴-³H]-**40** als auch [¹-³H]-**2** haben wir an intakte Pflanzen *Äthusa cynapium* L. verfüttert und die Hauptinhaltsstoffe isoliert und bis zur konstanten Aktivität gereinigt.

Das Ergebnis der Verfütterung von [¹-³H]-**2** zeigt, daß sowohl **16** als auch **18** und **1** aus **2** gebildet werden. Die gleichen Ergebnisse erhält man bei Verfütterung von [¹⁴-³H]-**40**, so daß man annehmen darf, daß damit die vermutete Biogenesefolge wirklich zutrifft. Der Kohlenwasserstoff **3** ist in beiden Fütterungen inaktiv, so daß diese Verbindung offenbar nicht durch biologische Hydrierung eines En-diin-diens gebildet wird, sondern daß wahrscheinlich schon vorher evtl. bei **38** eine Verzweigung des Biogeneseweges eintritt. Auffällig ist, daß die wahrscheinlich primär gebildete Vinylverbindung **42** biologisch hydriert wird. Das gleiche trifft für alle bisher untersuchten Acetylenverbindungen aus Umbelliferen zu, während bei den Compositen gerade die endständige Vinylgruppe charakteristisch ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem ERP-Sondervermögen danken wir für die Förderung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Die UV-Spektren wurden in Äther im Beckman DK 1, die IR-Spektren in CCl₄ im Beckman IR 9, die NMR-Spektren in CCl₄ mit TMS als innerem Standard im Varian HA 100 und die Massenspektren im MS 9 der Firma AEI aufgenommen. Für die Säulenchromatographie benutzte man Al₂O₃ (schwach sauer, Akt.-St. II) und für die Dünnschichtchromatographie Kieselgel HF 254. Die Gaschromatogramme wurden im Perkin-Elmer F 7 mit einer 30proz. Carbowachs 20 M-Säule mit Wasserstoff als Trägergas ausgeführt. Perhydrierungen führte man stets in Äther unter Zusatz von 1% Eisessig mit Palladium auf BaSO₄ (5proz.) aus. Die Aktivitätsmessungen wurden im Szintillationsgerät der Firma Beckman ausgeführt.

Isolierung der Inhaltsstoffe der oberirdischen Teile von Äthusa cynapium L.: 20 kg frisch zerkleinerte oberirdische Teile extrahierte man zweimal mit Äther/Petroläther (1 : 3). Den Extrakt digerierte man mit 500 ccm Methanol und filtrierte die in der Kälte unlöslichen Anteile ab. Den Eindampfrückstand (41 g) chromatographierte man an 750 g Al₂O₃ mit Petroläther, dem steigende Mengen Äther zugesetzt wurden. Die erhaltenen Fraktionen wurden mehrfach rechromatographiert und z. T. durch DC weiter aufgetrennt. Man erhielt schließlich 13,5 g **1**, 3,5 g **2**, 100 mg **3**, ein Gemisch (A) von ca. 15 mg **9**, 5 mg **11** und 5 mg **13** sowie (B) von 50 mg **15**, 50 mg **17**, 25 mg **18**-Aldehyd, 20 mg **19**, 2 mg **20**, 2 mg **21**, 15 mg **22**, 10 mg **23**, 15 mg

⁶⁾ F. Bohlmann, M. Wotschokowsky, J. Laser, Ch. Zdero und K.-D. Bach, Chem. Ber. **101**, 2056 (1968).

24, 15 mg 25 und 30 mg 26. Die Alkohol-Fraktion enthielt 4 g 16, 2.5 g 18, 40 mg 30, 30 mg 31, 35 mg 32, 6 mg 29, 4 mg 33 und 4 mg 34. Die polarste Fraktion ergab schließlich 20 mg 10, 10 mg 35 und 25 mg Phenacetin.

Das Epoxid-Gemisch (A) wurde in Dioxan und 10proz. H_2SO_4 (4 : 1) 15 Min. auf 50° erwärmt und die erhaltenen Dirole durch DC (Äther) aufgetrennt. Diese wurden jeweils mit Perjodsäure gespalten und die erhaltenen Aldehyde mit Boranat reduziert. Nach Perhydrierung identifizierte man die erhaltenen Alkohole gaschromatographisch.

Das Gemisch B wurde zunächst mit 5proz. methanol. Kalilauge 10 Min. bei 50° verseift und die erhaltenen Alkohole durch Chromatographie abgetrennt (16 und 18). Anschließend reduzierte man die unpolaren Anteile in Methanol mit Natriumborant (10 Min., 20°) und trennte die erhaltenen Alkohole durch mehrfache DC (Äther/Petroläther 1 : 2). Die einzelnen Alkohole wurden jeweils mit der 20fachen Menge MnO_2 in Äther gerührt, wobei alle Alkohole oxidiert wurden, bis auf die den Ketonen 20 und 22 entsprechenden.

Tridecadien-(2t.9c)-diin-(4.6) (2): Farbloses Öl, Sdp._{0.4} 80° (Luftbadtemp.).

UV: λ_{max} 280.5, 264.5, 250, 238, 227 $m\mu$ ($\epsilon = 13700, 18000, 11800, 5300, 2000$).

IR (Film): *trans*-CH=CH— 3030, 1645, 955; —C≡C— 2240, 2150; *cis*-CH=CH— 730/cm.

$C_{13}H_{16}$ (172.3) Ber. C 90.63 H 9.37 Gef. C 89.61 H 9.93

Synthese von 2: 4.3 g *cis*-Hexen-(2)-ol-(1) in 50 ccm absol. Äther rührte man bei —10° mit 11.2 g gepulvertem KOH und tropfte portionsweise 8.2 g *Tosylchlorid* in 100 ccm Äther hinzu. Nach 5stdg. Rühren bei 0° wurde die Ätherphase neutralgewaschen und der Eindampfrückstand in absol. THF mit der äquivalenten Menge einer Grignard-Lösung aus *Hepten-(5t)-diin-(1.3)* unter Zusatz von 50 mg Cu_2Cl_2 bei 60° umgesetzt. Das Reaktionsprodukt reinigte man durch Chromatographie. Mit Petroläther erhielt man 2 in einer Ausb. von 71%, identisch nach UV-, IR- und NMR-Spektrum mit dem Naturstoff.

all-trans-Tridecatetraen-(2.4.8.10)-in-(6) (3): Farblose Kristalle aus Petroläther, Schmp. 35°.

UV: λ_{max} 337, 315 $m\mu$ ($\epsilon = 60800, 55900$).

IR: *trans.trans*-[CH=CH]₂— 3030, 1645, 990; —C≡C— 2190/cm.

$C_{13}H_{16}$ (172.3) Ber. C 90.63 H 9.37 Gef. C 90.60 H 9.73

Synthese von 3: 10.8 g *Decatrien-(2t.6t.8t)-in-(4)-al-(1)* (6) in 50 ccm absol. THF tropfte man unter Rühren bei 40° zu einer Grignard-Lösung aus 14.5 g *n*-Propylbromid. Das Reaktionsprodukt chromatographierte man an Al_2O_3 . Mit Äther/Petroläther (1 : 4) erhielt man 8 g 7, das in 250 ccm Benzol mit 675 mg *p*-Toluolsulfonsäure 30 Min. zum Sieden erhitzt wurde. Nach Chromatographie des Reaktionsproduktes mit Petroläther erhielt man das *cis-trans*-Isomeren-Gemisch von 3 und 8, Ausb. 55%. Zur Isomerentrennung wurde das Gemisch an $AgNO_3$ -imprägniertem SiO_2 mit Äther/Petroläther (1 : 10) getrennt. Die unpolarsten Fraktionen enthielten das *all-trans*-3, farblose Kristalle aus Petroläther, Schmp. 35°, identisch nach UV-, IR- und NMR-Spektrum mit natürlichem 3.

5.6-Epoxy-äthusin (11): Farbloses Öl, das nach saurer Hydrolyse das ölige Diol 12 ergab.

UV: λ_{max} 282, 266, 252, 240, 228 $m\mu$.

$C_{13}H_{16}O_2$ Ber. 204.115 Gef. 204.116 (massenspektroskop.)

Nach Perjodat-Spaltung, Reduktion und Hydrierung erhielt man *n*-Octanol-(1)⁷⁾.

⁷⁾ Gaschromatographisch identifiziert.

4,5-Epoxy-tridecen-(11)-diin-(7,9) (**13**): Nicht rein erhaltenes Öl, das nach saurer Hydrolyse ein Diol mit UV-Maxima bei 312, 293, 276 und 260 m μ ergab. Nach Perjodatspaltung, Reduktion und Hydrierung erhielt man *n-Nonanol-(1)*⁷⁾.

Tridecadien-(9,11)-diin-(5,7)-on-(4) (**21**): Nicht rein erhaltenes Öl, das nach Reduktion und Hydrierung *n-Tridecanol-(4)* ergab⁷⁾.

Tridecen-(11t)-diin-(7,9)-on-(4) (**22**): Nicht rein erhaltenes Öl, identisch nach UV- und IR-Spektrum mit synthetischem Material. Nach Reduktion (λ_{\max} 280.5, 265, 250.5, 237, 225 m μ) und Hydrierung erhielt man *n-Tridecanol-(4)*⁷⁾.

Synthese von 22: 6.87 g **27** und 28.8 g Dicyclohexylcarbodiimid wurden in 110 ccm absol. Äther mit 2.28 g H₃PO₄ in 110 g Dimethylsulfoxid versetzt und 12 Std. bei 20° gerührt. Anschließend schüttelte man mit verd. Schwefelsäure und chromatographierte das Reaktionsprodukt mit Äther/Petroläther (1:4) und erhielt in 55 proz. Ausb. **28**.

IR: $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 2240, 2150; —CHO 2720, 1730; *trans*- $\text{CH}=\text{CH—}$ 1630, 950/cm.

3.73 g **28** in 15 ccm absol. THF tropfte man bei 40° zu einer Grignard-Lösung aus 5.1 g *n-Propylbromid*. Das Reaktionsprodukt chromatographierte man an Al₂O₃ mit Petroläther/Äther (2:1) und erhielt 3.08 g **29** (63.5%).

UV: λ_{\max} 280, 265, 250, 237, 225 m μ ($\epsilon = 14400, 18600, 12400, 5400, 2200$).

IR: —OH 3640; $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 2240, 2150; *trans*- $\text{CH}=\text{CH—}$ 1635, 955/cm.

C₁₃H₁₈O (190.3) Ber. C 82.05 H 9.54 Gef. C 81.96 H 9.65

Zu 2.85 g **29** in 4.5 ccm Aceton tropfte man bei 5–10° eine Lösung von 1.3 g *Chromsäure* in 3.8 ccm Wasser und 1.1 ccm Schwefelsäure. Nach 30 min. Rühren verdünnte man mit Wasser und nahm in Äther auf. Das Oxydationsprodukt gab nach Chromatographie mit Petroläther/Äther (4:1) 1.94 g **22** (69%).

UV: λ_{\max} 280.5, 265, 251, 238, 226 m μ ($\epsilon = 14200, 18500, 12400, 5400, 2300$).

IR: $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 2250, 2160; >C=O 1725; *trans*- $\text{CH}=\text{CH—}$ 1635, 935/cm.

NMR: CH₃—CH₂—CH₂—CO— τ 9.11 (3) ($J = 6$), m 8.4 (2), m 7.6 (2); —CH₂—CH₂—[C=C]₂—CH=CH—CH₃ m 7.6 (4), dq 4.60 (1) ($J = 15$ und 1), dq 3.82 (1) ($J = 15$ und 6), dd 8.20 (3) ($J = 7$ und 1).

C₁₃H₁₆O (188.3) Ber. C 82.93 H 8.56 Gef. C 83.07 H 8.53

Tridecatrien-(4,8,10)-in-(6)-on-(3) (**23**): Nicht rein erhaltenes Öl. UV: λ_{\max} (342), 331 m μ . Nach Reduktion (λ_{\max} 308, 292 m μ ; IR: —OH 3620; $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 2100; *trans*- $\text{CH}=\text{CH—}$ 960; *trans.trans*-[CH=CH]₂— 992/cm) und Hydrierung erhielt man *n-Tridecanol-(3)*⁷⁾.

Decatrien-(2t,6t,8t)-in-(4)-al-(1) (**24**): Nicht rein erhaltenes Öl. UV: λ_{\max} (342), 330 m μ . Nach Reduktion (C₁₀H₁₂O Ber. 148.081 Gef. 148.088 (massenspektroskop.); λ_{\max} 307.5, 291 m μ ; IR: —OH 3640; $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 2220; *trans*- $\text{CH}=\text{CH—}$ 955; *trans.trans*-[CH=CH]₂— 988/cm) und Hydrierung erhielt man *n-Decanol-(1)*⁷⁾.

Undecatrien-(2,6,8)-in-(4)-al-(1) (**25**): Nicht rein erhaltenes Öl. UV: λ_{\max} (342), 330 m μ . Nach Reduktion (C₁₁H₁₄O Ber. 162.104 Gef. 162.104 (massenspektroskop.); IR: —OH 3640; $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 2220; *trans*- $\text{CH}=\text{CH—}$ 955; *trans.trans*-[CH=CH]₂— 990/cm. NMR: —CH=CH—CH₂OH dd τ 5.88 (2) ($J = 5$ und 1); CH₃—CH₂—CH= t 8.98 (3) ($J = 7$), dq 7.88 (2) ($J = 7$), m 3.8 bis 4.5 (6) und Hydrierung erhielt man *n-Undecanol-(1)*⁷⁾.

Tridecen-(11)-diin-(7,9)-ol-(4) (**29**): Nicht rein erhaltenes Öl, identisch nach UV- und IR-Spektrum mit synthetischem Material.

NMR: $\text{CH}_3\text{-CH=CH-}$ dd τ 8.20 (3) ($J = 7$ und 1.5), dq 3.81 (1) ($J = 16$ und 7), dq 4.55 (1) ($J = 16$ und 1.5); $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ t 7.59 (2) ($J = 6$), m 8.5 (2), m 6.35 (1), s (br) 8.75 (1), m 8.5 (4), t 9.10 (3) ($J = 6$).

Nach Hydrierung erhielt man *n*-Tridecanol-(4)⁷⁾.

Decatrien-(2.6.8)-in-(4)-ol-(1) (33): Nicht völlig rein erhaltenes Öl, identisch nach UV- und IR-Spektrum mit authentischem Material⁴⁾.

Undecatrien-(2.6.8)-in-(4)-ol-(1) (34): Nicht rein erhaltenes Öl. UV: λ_{max} 307, 291 m μ . Identisch mit dem Reduktionsprodukt aus 25.

Tridecatrien-(4.8.10)-in-(6)-diol-(2.3) (35): Nicht rein erhaltenes Öl, λ_{max} 310, 292 m μ , das mit *Perjodat* einen Aldehyd ergab (λ_{max} (340), 330 m μ), der mit 25 nach UV- und IR-Spektrum identisch ist.

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}$ Ber. 160.0888 Gef. 160.0885 (massenspektroskop.)

Synthese von [1-³H]-2: Zu einer Lösung von 10 mg Cu_2Cl_2 und 100 mg Hydroxylaminhydrochlorid in 8 ccm DMF und 2 ccm Methanol gab man 130 mg *Octin-(1)-en-(4c)* (43) in 7 ccm Methanol und 0.4 ccm 50proz. Äthylamin. Bei 30° tropfte man innerhalb von 1 Stde. unter Rühren 1 mMol [5-³H]-1-Brom-penten-(3)-in-(1) (44) in 3 ccm Methanol und 2.5 ccm Äther hinzu. Nach 1stdg. Rühren bei 30° nahm man in Äther auf und dampfte die neutralgewaschene Lösung ein. Den Rückstand reinigte man durch Dünnschichtchromatographie an AgNO_3 -imprägnierten Kieselgelplatten (Laufmittel Petroläther/Äther 20 : 1). Das erhaltene *1-³H-2* zeigte eine spezif. Akt. von $7.0 \cdot 10^9$ ipm/mMol und war nach UV- und IR-Spektrum identisch mit inaktivem Material.

*Verfütterung von [1-³H]-2 bzw. [14-³H]-40 an *Äthusa cynapium* L.*: Intakte Pflanzen stellte man für 48 Stdn. in eine Emulsion von 6.7 mg [1-³H]-2 ($1.4 \cdot 10^8$ ipm) in 0.5 ccm Baumwollsaatöl in 500 ccm Wasser (Saccharosemonostearat als Emulgator). Die Wurzeln (45 g) und die oberirdischen Teile (285 g) extrahierte man getrennt dreimal mit Äther und chromatographierte die erhaltenen Extrakte. Die Hauptverbindungen reinigte man bis zur konstanten Aktivität.

Analog verfütterte man 7 mg [14-³H]-40 ($2.42 \cdot 10^8$ ipm) und extrahierte nach 45stdg. Fütterungsdauer die Wurzeln (75 g) und die oberirdischen Teile (635 g) wie oben. Die Tabelle zeigt die gefundenen Aktivitäten.

Verfütterung von [1-³H]-2 bzw. [14-³H]-40

Isolierte Substanz	[1- ³ H]-2		[14- ³ H]-40	
	mg	spezif. Akt. [tpm/mMol]	mg	spezif. Akt. [tpm/mMol]
16 ⁸⁾	0.7	$1.36 \cdot 10^8$	0.9	$3.61 \cdot 10^7$
16 ⁹⁾	22.3	$3.63 \cdot 10^5$	40.6	$8.26 \cdot 10^4$
18 ⁸⁾	—	—	0.54	$2.8 \cdot 10^7$
18 ⁹⁾	31.0	$5.8 \cdot 10^5$	57	$1.56 \cdot 10^5$
1 ⁸⁾	30	$2.56 \cdot 10^6$	44.5	$7.03 \cdot 10^6$
1 ⁹⁾	419	$5.1 \cdot 10^3$	1000	$5.91 \cdot 10^3$
3 ⁹⁾	26	—	5.65	inaktiv

⁸⁾ Aus Wurzeln.

⁹⁾ Aus oberirdischen Teilen.