

## ÜBER DIE FLÜCHTIGEN INHALTSSTOFFE VON *Asa foetida*; ZWEI NEUEN NATÜRLICHEN SCHWEFELVERBINDUNGEN MIT PESTIZIDER WIRKUNG

H. NAIMIE<sup>a\*</sup>, Z. SAMEK<sup>b</sup>, L. DOLEJŠ<sup>b</sup> und Z. ŘEHÁČEK<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institut für Mikrobiologie und

<sup>b</sup>Institut für organische Chemie und Biochemie,

Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften, Prag 6

Eingegangen am 18. Februar 1971

Isolierung und Strukturaufklärung von drei schwefelhaltigen Komponenten des Harzes *Asa foetida* wurde beschrieben. Als erste Verbindung wurde das schon bekannte 2-Butyl-1-propenyl-disulfid (*I*) identifiziert. Den anderen zwei neuen Verbindungen mit pestizider Wirkung konnten auf Grund von spektroskopischen Untersuchungen die Strukturen des 1-(1-Methylthiopropyl)-1-propenyl-disulfids (*Ila*) und des 2-Butyl-(3-Methylthioallyl)-disulfids (*Illa*) zugeschrieben werden.

Als *Asa foetida* oder Asant wird im allgemeinen ein Gummiharz bezeichnet, welches aus verschiedenen *Ferula*-Arten — *Ferula Asa foetida* L., *F. nartex* BOISSIER, *F. foetida* REGEL und *F. alliacea* BOISS — gewonnen wird<sup>2,1</sup>. Die letztgenannte Art liefert die im Handel als Patheni Hing (aus Afghanistan stammend) und Irani Hing (aus Persien stammend) bezeichnete *Asa foetida*<sup>1-3</sup>. Wegen seines starken und charakteristischen Geruchs wird es gegen Hysterie empfohlen und als Gewürz geschätzt<sup>4-7</sup>. Andererseits werden dem Gummiharz sedative und vermifuge Wirkung zugeschrieben<sup>7</sup>. In Afghanistan wird Patheni Hing empirisch seit Jahrhunderten in der volkstümlichen Landwirtschaft als ein Insektizid verwendet.

Die chemische Bearbeitung der flüchtigen Anteile der *Asa foetida* setzte bereits Ende des 18. Jahrhunderts ein<sup>8</sup>. Eine Arbeit von Hlasiwetz<sup>9</sup> aus dem Jahre 1849 kann aber außer Betracht bleiben, da die Ergebnisse sich als falsch herausgestellt haben<sup>20</sup>. Von Bedeutung ist erst eine Arbeit von Semmler<sup>10-12</sup>, der durch fraktionierte Destillation des Öles im Vakuum, außer zwei Terpenen und einer Verbindung der Zusammensetzung  $(C_{10}H_{16}O)_n$ , vier schwefelreiche und stickstofffreie Fraktionen der Zusammensetzung  $C_7H_{14}S_2$  (Kp. 83–84°C/9 Torr),  $C_8H_{16}S_2$  (Kp. 92–96°C/9 Torr),  $C_{16}H_{18}S_2$  (Kp. 112–116°C/9 Torr) und  $C_{11}H_{20}S_2$  (Kp. 126–127°C/9 Torr), erhielt. Versuche zur Strukturaufklärung dieser Schwefelverbindungen hat Semmler nicht unternommen, nur auf Grund der Ergebnisse der Zinkstaubdestillation, bei der ein Schwefelatom entfernt wurde, hat er auf einen Disulfidcharakter geschlossen. Erst Mannich und Fresenius<sup>23</sup> haben der Verbindung  $C_7H_{14}S_2$  die Struktur von 2-Butylpropenyl-disulfid (*I*) zugeschrieben.

Wie es sich zeigte<sup>14,15</sup>, ist die biologische Aktivität gegen einige Mikroorganismen und einige Insekten, auf die Komponenten des wasserdampfflüchtigen Anteiles zurückzuführen. Daher haben wir die Bearbeitung des *Asa-foetida*-öles aufgenom-

\* Jetzige Adresse: Environmental Research and Applications, Inc., Wilton, Conn. 06897, U.S.A.

men und berichten nachfolgend über die Isolierung und Identifizierung der biologisch aktiven Verbindungen.

Als Ausgangsmaterial benutzten wir für alle Versuche käufliche Präparate von Patheni Hing, welche von Kabuler Drogerien bezogen wurden und aus *F. alliacea* Boiss<sup>1-3</sup> (aus Nord-Afghanistan) gewonnen wurden. Im ätherischen Öl, das wir auf übliche Weise durch Wasserdampfdestillation gewonnen haben, wurden dünn-schicht-chromatographisch an Silikagel vier Flecken mit  $R_F$ -Werten 0,79 (Substanz A), 0,55 (Substanz B) 0,40 (Substanz C) und 0,04 (Flecke D), sowie eine kleine Menge am Start stehenbleibender Substanz sichtbar. Nach Eluieren mit Aceton und anschließendem biologischen Test nach Heatley<sup>16,17</sup> waren die Substanzen A, B und C auf *Bacillus subtilis* und *Sacharomyces cerevisiae* aktiv. Anschließend wurde die Frage geprüft, ob die Substanzen A, B und C in der Droge ursprünglich vorhanden sind oder erst während der Aufarbeitung auf enzymatischem oder hydrolytischem Wege entstehen. Zu diesem Zweck wurde die Droge mit peroxidfreiem Äther 24 h bei Zimmertemperatur extrahiert. Das Chromatogramm des Ätherextraktes zeigte Flecken mit gleichen  $R_F$ -Werten wie die Testsubstanzen. Demnach müßten alle 3 aktiven Substanzen schon in der Droge vorhanden sein.

Die fraktionierte Destillation des Öles<sup>10,12</sup> zeigte sich wegen starker Zersetzung als ungeeignet und man konnte auf diese Weise nur die Substanz A isolieren. Die Substanzen B und C konnten auch durch wiederholte Rektifikation nicht rein gewonnen werden und wurden erst nach der Reinigung der Fraktionen an Silikagel bzw. Aluminiumoxid erhalten. Viel einfacher verlief die Gewinnung der aktiven Komponenten durch direkte Chromatographie an Silikagel.

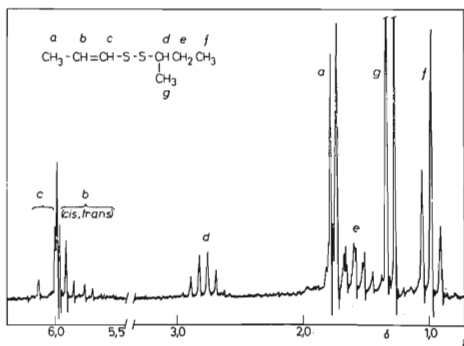


Abb. 1

100 MHz NMR-Spektrum der Substanz A in Deuteriochloroform

Die flüssige Substanz A mit knoblauchartigen Geruch hat die Zusammensetzung  $C_7H_{14}S_2$ . Wie durch das NMR-Spektrum direkt nachgewiesen werden konnte, bestand sie aus einem Gemisch der *cis*- und *trans*-Isomeren von 2-Butyl-1-propenyl-disulfid (I), Ref.<sup>13</sup>.

Das NMR-Spektrum der Substanz A, gemessen auf 100 MHz in einer Deuteriochloroformlösung (innerer Standard Hexamethyldisiloxan), ist in der Abb. 1 gezeigt. Dieses Spektrum konnte mit Hilfe der Doppelresonanztechnik (Indor und Tickling) zugeordnet werden, wobei man zuerst finden konnte, daß die zwei olefinischen Protonen der S-Propenylgruppe im Bereich von 5,52–6,21 p.p.m. ein kompliziertes Multiplet bilden, das einer Superposition von zwei AB-Teilen von zwei verschiedenen  $ABX_3$ -Systemen entspricht. Ein  $ABX_3$ -System ist mit mehr als 50% vertreten, hat  $J_{AB} \cong 14,5$  Hz,  $J_{AX} < 1$  Hz und  $J_{BX} \cong 5$  Hz und entspricht somit der *trans*-S-Propenylgruppe. Das Zweite hat dagegen  $J_{AB} \cong 9,6$  Hz,  $J_{AX} \cong 1,5$  Hz und  $J_{BX} \cong 6,8$  Hz und kann dadurch der *cis*-S-Propenylgruppe zugeordnet werden (die Werte der Kopplungsparameter konnten eindeutig in dem NMR-Spektrum im Hexadeuterio-benzol bestimmt werden). Die Methylprotonen bilden ein Dublett bei 1,76 p.p.m., der hauptsächlich der *trans*-Form angehört. Das Methylsignal der *cis*-Form konnte

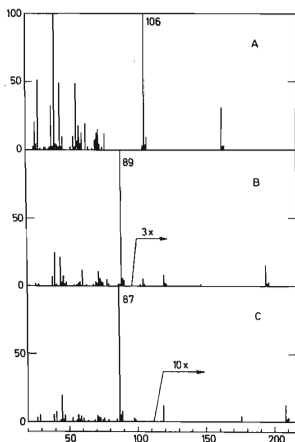


ABB. 2

Massenspektren der Substanzen A, B und C

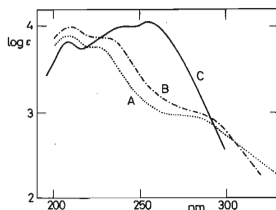


ABB. 3

UV-Spektren der Substanzen A, B und C in Äthanol

nicht eindeutig zugeordnet werden (wegen Überlappung der Methylsignale mit den Signalen der Methylengruppe). Den restlichen Teil des Spektrums bilden die Protonen der S-2-Butylgruppe und zwar ein Sextett des S-CH-Protons bei 2,29 p.p.m. ( $J \cong \cong 7$  Hz), ein Dublett der sek-Methylgruppe bei 1,30 p.p.m. ( $J \cong 7$  Hz) und ein Triplett der endständigen Methylgruppe bei 0,98 p.p.m. ( $J \cong 7$  Hz) (die Signale der Methylenprotonen bilden ein kompliziertes Multiplett im Bereich um 1,59 p.p.m.). Im Einklang mit der Strukturformel I ist auch das Massenspektrum der Substanz A (Abb. 2), das neben der Molekularspitze auf der Massenzahl 162 die Hauptspitze auf MZ 106, die den Ionen "a" zugeordnet werden kann, enthält. Diese Fragmentationen entstehen, wie ein metastabiler Übergang  $m^*/e$  69,2 : 162  $\rightarrow$  106<sup>+</sup> + 56 andeutet, aus dem ionisierten Molekül durch Eliminierung von Butylen.

Die Substanz B wurde als ein Öl der Zusammensetzung C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>S<sub>3</sub> und mit dem typischen *Asa foetida* Geruch erhalten. Man kann daher annehmen, daß diese Substanz das eigentliche Geruchsprinzip von *Asa foetida* darstellt. Im IR-Spektrum zeigte die Substanz B im Vergleich mit dem IR-Spektrum des Disulfids I wiederum zwei ausgeprägte Banden einer *trans*-disubstituierten Doppelbindung bei 942 und 1300 cm<sup>-1</sup> und eine mittelstarke Absorptionsbande nahe 1620 cm<sup>-1</sup>, die auf das Vorhandensein einer Thioenolgruppierung andeuten könnte (vgl. z.B. das IR-Spektrum von Allyldisulfid<sup>18</sup>). Das UV-Spektrum der Substanz B in Äthanol weist ein Maximum bei 210 nm (log  $\epsilon$  4,00) und zwei ausgeprägte Schultern bei 235 und 290 nm (log  $\epsilon$  3,84 bzw. 2,94) auf und es ist, wie aus der Abb. 3 erfolgt, dem UV-Spektrum der Substanz A sehr ähnlich, was auf strukturelle Beziehung beider Substanzen betreffend der Chromophoren hinweist. Genauerem Aufschluß, über die Struktur der Substanz B konnte man aus dem NMR-Spektrum gewinnen.

In diesem Falle hatten wir ein 80 MHz Spektrum zur Verfügung (in Deuteriochloroform), das in Abb. 4 gezeigt ist. Im Bereich von etwa 5,30–6,30 p.p.m. liegt wiederum ein Multiplett von zwei olefinischen Protonen, ähnlich wie im Spektrum der Substanz A. Auch hier läßt sich die Anwesenheit eines ABX<sub>3</sub>-Systems ersehen, wobei die Methylprotonen ein Dublett bei 1,75 p.p.m. ( $J \cong 5,5$  Hz) bilden. Obwohl in diesem Falle keine detailliertere Analyse möglich war, kann man vermuten, daß auch hier analog zu der Substanz A die *cis*- und *trans*-Formen vorliegen. Zum Unterschied zu dem Spektrum der Substanz A (Abb. 1) sind keine Signale der Methylgruppe des Typs S—CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> vorhanden. Es liegt wiederum ein Multiplett eines Methinprotons vor und zwar als Quartett bei 3,67 p.p.m. und gleichzeitig auch ein Multiplett der endständigen primären Methylgruppe als ein Triplett bei 1,04 p.p.m. ( $J \cong 7$  Hz), daß die Anwesenheit einer Ethylgruppe andeutet. Auf Grund dieser Tatsachen kann man nun voraussetzen, daß hier wiederum die Gruppierung S—CH—CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> anwesend ist. Da nun weiter im Spektrum ein Singulett von Protonen vorliegt, dessen chemische Verschiebung von 2,17 p.p.m. auf eine S—CH<sub>3</sub>-gruppe hinweist, kann man zwei mögliche Strukturen *Iia* und *Iib* in Betrachtung ziehen.

Die Struktur *Ila* kann nun auf Grund des UV-Spektrums vorgezogen werden und sie wird auch durch das Massenspektrum der Substanz B (Abb. 2) bestätigt. Die MZ 194 der Molekularspitze und die Intensität der zweiten isotopischen Spitze (MZ 196) entspricht der angenommenen Zusammensetzung  $C_7H_{14}S_3$  der Substanz. Die häufigsten Ionen mit der MZ 89 haben, wie wiederum die Intensität der Spitze bei der MZ 91 andeutet, die Zusammensetzung  $C_4H_9S$ . Deren Bildung kann nur durch die Struktur *Ila* erklärt werden, wobei ihnen die Formulierung „b“ zugeschrieben werden kann.

Die Substanz C stellte ein Öl mit schwachen knoblauchartigen Geruch und mit der Zusammensetzung  $C_8H_{16}S_3$  dar. Das IR-Spektrum der Substanz C zeigte wiederum ausgeprägte Banden einer *trans*-disubstituierten Doppelbindung bei 940 und 1300  $cm^{-1}$  und eine starke Bande bei 1610  $cm^{-1}$ , die ähnlich wie bei der Substanz B auf das Vorhandensein einer Thioenolgruppierung hinweist. Das UV-Spektrum der Substanz C (Abb. 3) zeigte zwei Maxima bei 207 nm und 256 nm ( $\log \epsilon = 3,85$  bzw. 4,07) und eine schwache Schulter bei 238 nm ( $\log \epsilon = 4,02$ ) und entspricht den Substanzen A und B nur in der Lage des ersten Maximum. (UV-Spektren aliphatischer Mono- und Disulfide<sup>18-20</sup>.) Das NMR-Spektrum der Substanz C konnte wiederum bei 100 MHz detailliert analysiert werden (Abb. 5). Seine Analyse ergab, daß auch diese Substanz als ein Gemisch der *cis*- und *trans*-Formen vorliegt und zwar diesmal von Molekülen, die eine  $S-CH=CH-CH_2-S$  Gruppierung enthalten. Die Protonen dieser Gruppierungen bilden zwei verschiedene  $ABX_2$ -Systeme, die leicht durch die vicinale olefinische Kopplung zu charakterisieren sind. Das erste

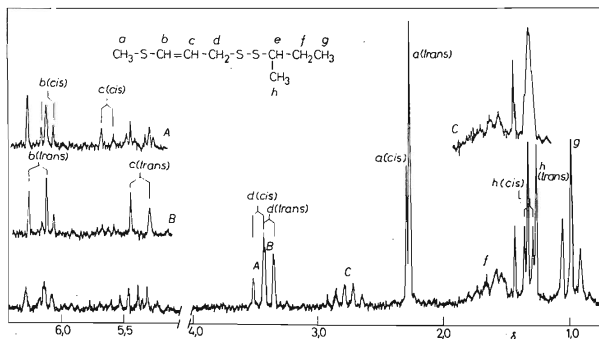


ABB. 4

80 MHz NMR-Spektrum der Substanz B in Deuteriochloroform

System ist charakterisiert durch  $\delta_A = 6,21$  p.p.m.,  $\delta_B = 5,39$  p.p.m.,  $\delta_X = 3,38$  p.p.m. und  $J_{AB} = 15$  Hz,  $J_{BX} = 7-8$  Hz ( $J_{AX} \neq 0$ ) und entspricht demnach der *trans*-Form. Das zweite System charakterisieren  $\delta_A = 6,13$  p.p.m.,  $\delta_B = 5,66$  p.p.m.,  $\delta_X = 3,46$  p.p.m. und  $J_{AB} = 9,5$  Hz und  $J_{BX} = 7-8$  Hz ( $J_{AX} \neq 0$ ), so daß es sich also um die *cis*-Form handelt. Weiter konnte man nachweisen, daß ebenfalls wie in der Substanz A eine S-sek-Butylgruppe vorliegt, deren chemischen Verschiebungen aber diesmal für beide Formen verschwinden sind. Die Zuordnung der Signale der beiden Formen ist leicht zu treffen auf Grund der Tatsache, daß in der Substanz überwiegend die *trans*-Form vertreten ist. Die Zuordnung ist wie folgt: die Signale der Methinprotonen liegen für beide Formen im Bereich von 2,56–2,96 p.p.m., die Signale der endständigen Methylgruppe bilden ein Triplet bei 0,98 p.p.m. ( $J = 7$  Hz), das Dublett der sek-Methylgruppe der *trans*-Form liegt bei 1,29 p.p.m. ( $J = 7$  Hz) und das Dublett der sek-Methylgruppe der *cis*-Form bei 1,31 p.p.m. ( $J = 6,5$  Hz). Die restlichen Protonen bilden dann zwei Singulets, die auf Grund der chemischen Verschiebungen der S—CH<sub>3</sub>-Gruppen zugeordnet werden können und zwar das Signal bei 2,26 p.p.m. der *trans*-Form und das Signal bei 2,28 p.p.m. der *cis*-Form.

Auf Grund dieser Tatsachen ergeben sich principiell vier mögliche Kombinationen dieser Struktureinheiten IIIa–III d, die die Konstitutionsformel der Substanz C darstellen können. Auf Grund des Massenspektrums (Abb. 2) kann nun die Struktur IIIa vorgezogen werden. Die Molekülonen fallen auf die Masse 208. Die Intensität der isotopischen Spitze mit der MZ 210 beträgt 15% der der Hauptspitze und bestätigt so die Anwesenheit von drei Schwefelatomen im Molekül. Das ionisierte Molekül

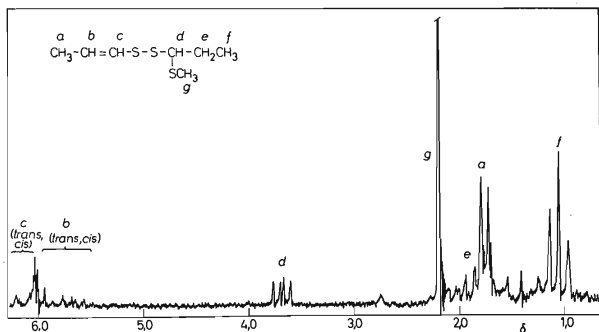


ABB. 5

100 MHz NMR-Spektrum der Substanz C in Deuteriochloroform und einige Doppelresonanzexperimente (die Einstrahlungsposition ist mit A, B, C vermerkt)

zerfällt ( $m^*/e$  364 : 208<sup>+</sup> → 87β + 121) zu Ionen mit der MZ 87, welche die Hauptspitze des Spektrums bilden und für welche nur als eine mögliche Zusammensetzung C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>S in Frage kommt. Diese Zusammensetzung deutet an, daß die Ionen die ungesättigte C<sub>3</sub>- und S-Methylgruppierung enthalten, deren Anwesenheit im Molekül aus den NMR-Daten folgt. Den entstehenden Spaltstück kann man also durch Struktur „c“ formulieren und seine leichte Bildung (Spaltung in der allylischen Lage) als einen Hinweis für die wahrscheinliche Position der Doppelbindung im Molekül der Verbindung C im Sinne der Struktur IIIa betrachten. Das Massenspektrum der Substanz C enthält hohe Spitzen der gesättigten Alkylionen auf den Massenzahlen 29 und 57, während die Spitze bei der MZ 43 praktisch fehlt. Dieses Fragmentierungsbild ist im Einklang mit der Anwesenheit der Isobutylkohlenstoffkette.

TABELLE I

Verlauf der Chromatographie der Fraktion II

Fraktion	Lösungsmittel, ml	Eluat, mg	Gehalt <sup>a</sup>
1—5	Benzin, 50	—	—
6—7	Benzin, 20	91	A
8—10	Benzin, 30	1 548	A + B + C
11—14	Benzin, 40	234	B + C + X
15—18	Benzin, 40	49	C + X
19—22	Benzin, 40	—	—
23—32	Chloroform, 100	45	X
33—38	Chloroform, 60	44	X

<sup>a</sup> Dünnschichtchromatographisch bestimmt, X unbekannte Flecken.

TABELLE II

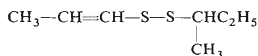
Chromatographische Trennung des aus der Fraktion II gewonnen Substanzgemisches A + B + C (Unterfraktionen 8—10 in Tab. I)

Fraktion <sup>a</sup>	Eluat, mg	Gehalt <sup>b</sup>	Fraktion <sup>a</sup>	Eluat, mg	Gehalt <sup>b</sup>
19—22	54	A	27—32	654,3	B
23—24	46,7	A + B	33—40	177,5	B + C
24—26	100,7	Spuren von A + B	41—47	7	C

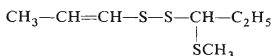
<sup>a</sup> Lösungsmittel Benzin bei 60—80°C, Fraktionen je 10 ml; <sup>b</sup> dünnschichtchromatographisch bestimmt.

Neben den spektroskopischen Untersuchungen wurden auch im beschränkten Umfang einige Versuche zur Charakterisierung der Substanzen A, B und C auf chemischen Wege durchgeführt. Bemerkenswert ist nur die Zinkstaubdestillation, die im Einklang mit den vorgeschlagenen Strukturen nur im Falle der Substanzen A und C erwartungsgemäß das 2-Butylmerkaptan lieferte, und die Reaktion mit Methyljodid, die wiederum im Einklang mit der Anwesenheit einer Thioäthergruppierung nur bei der Substanzen B und C stattfand, wobei man im Falle der Substanz C das Trimethylsulfoniumjodid als Abbauprodukt isolieren konnte.

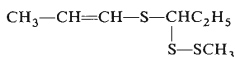
Weitere Schwefelhaltige Stoffe konnten wir nicht aus dem Extrakt von *Asa foetida* isolieren. Es ist möglich, daß die hochsiedenden Stoffen, die von Semmler beschrieben wurden, keine reine Substanzen waren, was der relativ niedrige Schwefelgehalt im Vergleich zu den von uns isolierten Verbindungen, andeutet.



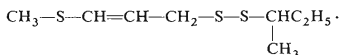
I



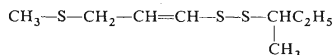
IIa



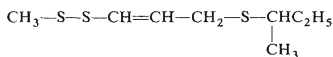
IIb



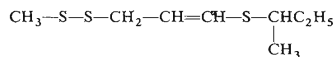
IIIa



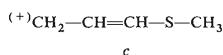
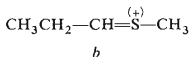
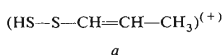
IIIb



IIIc



IIId



## EXPERIMENTELLER TEIL

Alle dünnstichtchromatographische Untersuchungen wurden an fertigen Platten des Typs Siligram-UV<sub>254</sub> (Ref.<sup>21</sup>) und an selbstgestrichenen Platten durchgeführt. Entwicklung der Platten geschah nach der Sättigung der Kammer bei 20°C und die Sichtbarmachung wurde bei Siligram-Platten unter einer Quarzlampe und bei selbstgestrichenen Platten durch Besprühen mit einer Lösung vom Antimonpentachlorid in Tetrachlorkohlenstoff (1 : 4) und anschließende Trocknung bei 120°C (bis zur Erscheinung von 2 schwarzbraunen Flecken) durchgeführt. Als Laufmittel wurde Hexan verwendet. Alle Gaschromatogramme wurden im Pye Argon Gas-



chromatograph (Cambridge) aufgenommen. Als Säule wurde (120 cm Länge und 4 mm innerer Durchmesser) 20% (W/W) Reoplex 400 am Chromosorb W (80–100 Maschengröße) verwendet. Trägergas Argon, Strömungsgeschwindigkeit 150 ml/min. Die IR-Spektren wurden auf einem UR-10 Gerät, die Massenspektren auf einem MCh 1303 Massenspektrometer aufgenommen (Temperatur der Ionenquelle 150°C). Die NMR-Spektren wurden auf dem Varian HA-100 und auf einem tschechoslowakischen Spektrometer (Prototyp der Tesla BS 477-Geräte) für 80 MHz gemessen unter Verwendung von Hexamethyldisiloxan (HMDS) zur internen Standardisierung. Alle Daten der chemischen Verschiebungen sind auf Tetramethylsilan bezogen unter Verwendung von  $\delta(\text{HMDS}) = 0,06$  p.p.m.

#### Gewinnung des ätherischen Öles

Je 100 g *Asa foetida* pulv. wurden 8 Std. lang der Wasserdampfdestillation unterworfen. Die vereinigten Destillate wurden je 4 mal mit peroxidfreiem Diäthyläther ausgeschüttelt. Nach Trocknen der vereinigten Ätherphasen über wasserfreiem Natriumsulfat und Abdampfen des

TABELLE III

Verlauf der Chromatographie der Fraktion III

Fraktion	Lösungsmittel, ml	Eluat, mg	Gehalt <sup>a</sup>
1	Benzin, 50	—	—
2–4	Benzin, 45	1 463	<i>b</i>
5–9	Benzin, 75	434,8	C
10–12	Benzin, 100	—	—
13–16	Benzol, 200	100,6	<i>b</i>
17–20	Äther, 300	89,9	<i>b</i>

<sup>a</sup> Dünnschichtchromatographisch bestimmt; <sup>b</sup> Fraktionen nicht einheitlich.

TABELLE IV

Direkte chromatographische Trennung des ätherische Öles

Fraktion <sup>a</sup>	Eluat, g	$R_F$ -Wert <sup>b</sup>	Fraktion <sup>a</sup>	Eluat, g	$R_F$ -Wert <sup>b</sup>
20–34	2,229	0,79 (A)	61–106	0,9904	0,55 (B) farblos
35–40	—	—	107–112	0,043	0,55 (B) und 0,4 (C)
41–60	0,2149	0,55 (B) schwach gelb gefärbt	113–180	1,38	0,40 (C)

<sup>a</sup> Lösungsmittel Benzin bei 60–80°C, Fraktionen je 20 ml; <sup>b</sup> Dünnschichtchromatographie in n-Hexan.

Lösungsmittels wurde ein gelbgefärbtes Öl mit intensivem Knoblauchgeruch erhalten. Probe I: Ausbeute 11,1% (in bezug auf Droge);  $n_D^{23}$  1,5212;  $[\alpha]_D^{25}$  (Äthanol)  $-14,84^\circ$  ( $c$  1,15; Äthanol) Probe II: Ausbeute 15,6% (in bezug auf Droge);  $n_D^{23}$  1,5323;  $[\alpha]_D^{25}$   $-7,72^\circ$  ( $c$  5,7, Äthanol).

#### Isolierung der Substanzen A, B und C

17,3 g ätherisches Öl wurde im Vakuum bei 0,1 Torr über eine Fraktionierkolonne (20 cm lang) destilliert. Es wurde die Fraktion I bei einer Übergangstemperatur von  $56-70^\circ\text{C}$  (Ausbeute 6,92 g) gesammelt. Ab  $80^\circ\text{C}$  wurde eine zweite gelbe Fraktion II unter Gasentwicklung und starker Zersetzung überdestilliert, Übergangstemperatur  $80-92^\circ\text{C}$ , Ausbeute 3,177 g. Dann wurde wegen starker Zersetzung die Destillation abgebrochen und die in den Destillationskolben zurückbleibenden Stoffe (3,30 g) als Fraktion III bezeichnet. Dünnschicht- und gaschromatographische Untersuchungen zeigten, daß alle drei Fraktionen keine einheitlichen Stoffe darstellen. Fraktion I enthielt als Hauptbestandteil Substanz A, II Substanz B und III Substanz C.

Zur weiteren Reinigung wurden 6,9 g der erhaltenen Fraktion I im Vakuum bei 0,1 Torr über eine Fraktionierkolonne (Länge 40 cm) gereinigt. Wir erhielten ein wasserklares, nach Knoblauch reichendes Öl von Übergangstemperatur  $46-48^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_D^{25}$   $-15,95^\circ$  ( $c$  1,25; Äthanol);  $n_D^{22}$  1,5343; Ausbeute 5,25 g. Molekulargewicht 162 (massenspektroskopisch). Für  $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{S}_2$  (162,25) berechnet: 51,77% C, 8,7% H, 39,53% S; gefunden: 52,48% C, 8,85% H, 39,38% S. Es liegt 2-Butyl-1-propenyl-disulfid (I) vor. IR (Chloroform): 940 und  $1300\text{ cm}^{-1}$  (*trans* R—CH=CH—R'); 1623  $\text{cm}^{-1}$  (C=C—S). UV (Äthanol): Maximum bei 208 nm ( $\log \epsilon = 3,90$ ); zwei Schultern bei 227 und 290 nm ( $\log \epsilon = 3,76$  bzw. 2,88). Retentionsvolumen 285 ml ( $120^\circ\text{C}$ ). Probe I enthielt ca. 56% und Probe II ca. 30,5% (bezogen auf ätherisches Öl) von A.

Die Fraktion II (2,17 g) wurde zuerst an 90 g Aluminiumoxid (Aktivitätsstufe II nach Brockmann, Maschengröße 0,1 mm) unter Verwendung von Benzin und Chloroform als Laufmittel, gereinigt. Der Verlauf der Chromatographie ist in Tabelle I dargestellt. Das aus den Fraktionen 8—10 (Tab. I) gewonnene Substanzgemisch (1,59 g) wurde dann weiter auf 100 g Silikagel (60—120 Mikron, getrocknet bei  $120^\circ\text{C}$ ) getrennt. Elution der Säule mit Benzin bei  $60-80^\circ\text{C}$ ; Fraktionen je 10 ml (Tab. II). Die Fraktionen 27—32 stellten ein farbloses, unangenehm riechendes Öl, identisch dünnschichtchromatographisch mit der Substanz B, dar;  $[\alpha]_D^{25}$   $-8,36^\circ$  ( $c$  2,03; Aceton);  $n_D^{21}$  1,5547; Molekulargewicht 194 (massenspektroskopisch). Für  $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{S}_3$  (194,3) berechnet: 43,27% C, 7,27% H, 49,51% S; gefunden: 43,30% C, 7,19% H, 49,35% S. Es liegt 1-(1-Methylthiopropyl)-1-propenyl-disulfid (IIa) vor. IR (Chloroform): 820, 940, 1300 und  $1340\text{ cm}^{-2}$  (R—CH=CH—R'); 1620  $\text{cm}^{-2}$  (C=C—S). UV (Äthanol): Maximum bei 208 nm ( $\log \epsilon = 4,00$ ) und Schultern bei 235 nm ( $\log \epsilon = 3,84$ ) und 290 nm ( $\log \epsilon = 2,94$ ). Retentionsvolumen 1176 ml ( $128^\circ\text{C}$ ).

Die Fraktion III (2,161 g) wurde an 90 g Aluminiumoxid, (Aktivitätsstufe II nach Brockmann Maschengröße 0,1 mm) gereinigt. Elution der Säule mit Benzin, Benzol und Äther (Tab. III). Die Fraktionen 5—9 enthielten eine farblose ölige Substanz mit schwachen Knoblauchgeruch, dünnschichtchromatographisch identisch mit der Substanz C;  $[\alpha]_D^{25}$   $+35,29^\circ$  ( $c$  1,51; Chloroform);  $n_D^{25}$  1,5483, Molekulargewicht 208 (massenspektroskopisch). Für  $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{S}_3$  (208,2) berechnet: 46,15% C, 7,75% H, 46,10% S; gefunden: 46,78% C, 7,94% H, 45,37% S. Es liegt 2-Butyl-(3-Methylthioallyl)-disulfid (IIIa) vor. IR (Chloroform): 820, 900, 940,  $1300\text{ cm}^{-1}$  (R—CH=CH—R),  $1610\text{ cm}^{-2}$  (C=C—S). UV (Äthanol): Maxima bei 207 und 256 nm ( $\log \epsilon = 3,85$  bzw. 4,07) und eine Schulter bei 238 nm ( $\log \epsilon = 4,02$ ). Retentionsvolumen 1656 ml ( $150^\circ\text{C}$ ).

#### Chromatographie des ätherischen Öles

Zur direkten Trennung des ätherischen Öles wurde 5,67 g des Öles auf 250 g Silikagel (Maschengröße 60—120 Mikron, getrocknet bei  $120^\circ\text{C}$ ) chromatographiert. Elution der Säule mit Benzin

bei 60–80°C (Tab. IV). Es wurden Fraktionen zu 20 ml aufgefangen und dünnschichtchromatographisch geprüft. Wanderungsgeschwindigkeit wurde auf 9–11 Tropfen min geregelt. Die Fraktionen 20–34 (39,3% bezogen auf Rohöl) waren identisch mit der Substanz A. Für  $C_7H_{14}S_2$  (162,2) berechnet: 51,84% C, 8,70% H, 39,46% S; gefunden: 51,98% C, 8,79% H, 39,51% S. Die gelb gefärbten Fraktionen 41–60 (3,7%) enthielten die Substanz B. Die farblose Fraktionen 61–106 (17,5%) darstellten die reine Substanz. Für  $C_7H_{14}S_3$  (194,3) berechnet: 43,27% C, 7,27% H, 49,51% S; gefunden: 43,31% C, 7,35% H, 48,97% S. Die Fraktionen 113–180 (23,4%) bestanden aus der Substanz C. Für  $C_8H_{16}S_3$  (208,2) berechnet: 46,56% C, 7,79% H, 45,9% S, gefunden: 46,15% C, 7,75% H, 46,10% S.

#### Behandlung der Substanzen A, B und C mit Zinkstaub

Substanz A (1,428 g), B (0,8 g) und C (0,92 g) wurden getrennt mit je 3facher Menge Zinkstaub gemischt und unter ständigem Umschwenken in einem mit Rückflußkühler versehenen Microacetylierungskölbchen vorsichtig im Ölband erwärmt. Bei 100°C setzte eine stürmische Reaktion ein, die aber bald abklang. Man erwärmte noch eine Stunde lang bei 140–160°C und destillierte dann die flüchtigen Bestandteile in einem Mikrodestillationsapparat ab. Bei der Rektifikation erhielt man bei den Substanzen A und C eine unangenehm reichende, bei etwa 83–85°C siedende Flüssigkeit, die sich in beiden Fällen als 2-Butylmerkaptan erwies. Für  $C_4H_{10}S$  (90,1) berechnet: 53,26% C, 11,18% H, 35,56% S; gefunden: 53,58% C, 11,3% H, 35,78% S. Die Ausbeute betrug bei der Zinkstaubdestillation von Substanz A 92 mg, bei Substanz C ca. 20 mg. Weitere Abbauprodukte konnten nicht erhalten werden. Von Substanz B war es nicht möglich, bei der Destillation irgendein Abbauprodukt zu erhalten.

#### Behandlung der Substanz C mit Methyljodid

100 mg Substanz C wurden mit 1,5 ml Methyljodid gemischt und 48 Stunden lang im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehengelassen. Neben einem dunkelbräunen Öl fällt aus dem Reaktionsgemisch ein kristalliner Stoff aus. Er wurde abgenutscht und bis zum konstanten Schmelzpunkt aus heißen Äthanol umkristallisiert; Ausbeute 11 mg; 214–215°C (unter Verflüchtigen); Molekulargewicht 204 (Smp. massenspektroskopisch). Für  $C_3H_9JS$  (204,2) berechnet: 17,65% C, 4,41% H; gefunden: 17,67% C, 4,41% H. Massenspektrometrie:  $CH_3J$   $m/e$  142, J 127,  $CH_3SCH_3$  62 und  $CH_3S^+$   $m/e$  47. Es liegt Trimethylsulfoniumjodid vor.

In gleicher Weise wurden Substanz B und A behandelt. Die Reaktion von Substanz B führte mit Methyljodid zu einem schmierigen Reaktionsgemisch, aus dem keine kristallinen Sulfoniumsalze erhalten werden konnten. Substanz A gab unter gleichen Bedingungen keine Reaktion mit Methyljodid.

*Der erste Autor dankt der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, UNESCO und der Universität des 17. November, Prag, für finanzielle Unterstützung.*

#### LITERATUR

1. Watt G.: *The Commercial Products of India*, S. 534. London, 1908; *India Pharmaceutical Codex*, S. 26. New Delhi.
2. Gildemeister E., Hoffmann F.: *Die Ätherischen Öle*, Bd. IV, S. 491. Akademie Verlag, Berlin 1961.
3. Mitra S. N., Chatterjee R. K., Mukherjee D. K.: *J. Proc. Inst. Chemists (India)* 28, 260 (1956).
4. Hauschild F.: *Pharmakologie und Grundlage der Toxikologie*, S. 772. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig 1961.

5. Sreenivasamurthy V., Krishnamurthy K.: *Fond SCI (Mysore)* 8, 284 (1959).
6. Srinivason S., Ramachandra Rao T. N., Sastry I. V. L.: *Food SCI (Mysore)* 8, 289 (1959).
7. Caglioti L., Naff H., Arigoni D., Jeger O.: *Helv. Chim. Acta* 41, 2278 (1958).
8. Günther E.: *The Essential Oils*, Bd. 1V., S. 570. Van Nostrand, New York 1950.
9. Hlasiwetz H.: *Ann. Chem. Pharm.* 71, 23 (1849).
10. Semmler F. W.: *Arch. Pharm.* 229, 1 (1891).
11. Semmler F. W.: *Ber.* 23, 3530 (1890).
12. Semmler F. W.: *Ber.* 24, 78 (1891).
13. Mannich C., Fresenius P.: *Arch. Pharm.* 274, 461 (1936).
14. Naimie H., Sláma K., Ždárek J.: Unveröffentlichte Ergebnisse.
15. Naimie H., Řeháček Z.: Unveröffentlichte Ergebnisse.
16. Heatley N. G.: *Biochem. J.* 38, 61 (1944).
17. Naimie H.: *Angew. Botan.* 38, 1 (1964).
18. Koch H. P.: *J. Chem. Soc.* 1949, 387.
19. Edward A. F., Carmack M.: *J. Am. Chem. Soc.* 71, 231 (1949).
20. Baer J. E., Carmack M.: *J. Am. Chem. Soc.* 71, 1215 (1949).
21. Simonides J., Pliml J., Nádvorník V.: *Tschechoslow. Pat.* PV 4599-66.