gelöst durch die Hitzebehandlung des Pflanzenmaterials werden postmortale Prozesse eingeleitet, die zur Bildung dieses seltenen Chromonderivates führen. Dabei muß die Genese von 5,7-Dihydroxychromon-7-rutinosid in engen Zusammenhang mit einem Flavonoidabbau gebracht werden, wobei nach dem augenblicklichen Stand [3,7] wahrscheinlich Flavanonen und Flavonolen die Precursor-Funktion zukommt. Die Frage nach dem Chemismus der Abbaureaktionen und ob ausschließlich enzymatische Reaktionsabläufe oder auch nichtenzymatische Folgereaktionen stattfinden sind Gegenstand weiterer Untersuchungen.

EXPERIMENTELLES

Chemikalien und Geräte. Die Isolierungsmethoden von Eriodictyol und Eriodictyol-7-rutinosid wurden bereits beschrieben [9]. Meerrettichperoxidase (E.C.1.11.1.7) Reinheitsgrad II stammte von der Fa. Boehringer, Mannheim. Die Enzymumsetzungen wurden in einem Beckman DB Spektralphotometer oder im Zeiss Spektralphotometer PMQ II unter Thermostatisierung bei 30° durchgeführt. Die Durchführung der Dünnschichtelektrophorese erfolgte in einem ElphorGerät der Fa. Bender u. Hohbein München mit Polyamid als Sorbens und 6 mM Phosphatpuffer pH 7,8 als Elektrolytlösung (Spannung 120 V).

Pflanzenmaterial. Das Pflanzenmaterial von *M. longifolia* Huds. stammte von einem wildwachsenden Standort bei Aisperg (Kreis Waldshut) im Südschwarzwald; die übrigen Menthaspecies sind aus Kulturen des institutseigenen Versuchsfeldes.

Extraktion des Pflanzenmaterials. 10 g Droge (gefriergetrocknet oder hitzegetrocknet) wurde mit 200 ml MeOH versetzt und 24 Std. am Soxhlet extrahiert. Der methanolische Extrakt wurde 24 Std. bei −20° in der Tiefkühltruhe beiseite gestellt und anschließend 30 min bei 3000 *g* zentrifugiert. Der Überstand wurde am Vakuumrotationsverdampfer zur Sirupdicke eingeengt, 8 Std. mit heißem H_2O digeriert. Die wässrige Phase wurde 30 min bei 3000 *g* zentrifugiert. 30–50 μl des wässrigen, mit H_2O auf 25 ml gebrachten Überstandes wurden jeweils dünnschichtelektrophoretisch [3, 14, 15] auf Chromon- bzw. Eriodictyol-glykosid getestet.

Herstellung der Enzympräparationen. 5 g Frischpflanzen wurden mit 10 g Quarzsand, 30 ml K-phosphatpuffer (0,1 M pH 7,5) und 20 μl Mercaptoäthanol 10 min im Mörser zerrieben und das Homogenat 30 min bei 100000 *g* zentrifugiert (= Rohsaft). Anschließend wurde mit gereinigtem Dowex 1 × 2 (200–400 mesh, Cl^--Form. PO_4^{3-}-äquilibriert) 30 min gerührt (1 g Dowex/10 g Frischgewicht) und durch Glaswolle filtriert. Dann erfolgte eine Ammonsulfatfällung bei 80% Sättigung. Der Niederschlag wurde in Pi-puffer aufgenommen und über Sephadex G-25 medium filtriert (= Sephadexfiltrat). Alle Arbeitsgänge wurden bei 4° ausgeführt.

Enzymtests. 0,5 μMol Eriodictyol- bzw. Eriodictyol-7-rutinosid wurden in 0,25 ml Äthylenglykolmonomethyläther gelöst und nach Zusatz von 5 ml K Pi-puffer (0,1 M pH 7,5) und 3 ml Sephadexfiltrat bei 30° inkubiert. Die Reaktion wurde durch Aufnahme der UV-Spektren im Bereich von 500-220 nm in bestimmten zeitlichen Abständen verfolgt. Die Vergleichsküvetten enthielten den gleichen Ansatz wie die Meßküvette, mit Ausnahme des Substrates. Für den dünnschichtelektrophoretischen Nachweis der Chromonbildung wurden 5 μMol Substrat und 0,3 ml Rohsaft in den obigen Ansatz eingebracht. In bestimmten zeitlichen Abständen wurden 30–50 μl dem Reaktionsansatz entnommen und das Auftreten von 5,7-Dihydroxy chromon-7-rutinosid verfolgt. Der Enzymtest mit Meerrettichperoxidase erfolgte nach der Methode von Bergmeyer [16].

LITERATUR

1. Bourwieg, D. und Pohl, R. (1973) *Planta Med.* **24**, 304.
2. Bourwieg, D., Janistyn, B., Stocker, M. und Pohl, R. (1974) *Arch. Pharmaz.* **307**, 131.
3. Stocker, M. (1975) Dissertation Freiburg.
4. Stocker, M., Janistyn, B. und Pohl, R. (1974) *Arch. Pharmaz.* **307**, 946.
5. Fukushima, S., Noro, T., Saiki, Y., Ueno, A. und Akahori, Y. (1968) *J. Pharm. Soc. (Japan)* **88**, 1135.
6. Pendse, R., Rama Rao, V. und Venkataraman, V. (1973) *Phytochemistry* **12**, 2033.
7. Romussi, R. und Ciarallo, G. (1974) *Phytochemistry* **13**, 177.
8. Birch, A. J. und Thompson, D. J. (1972) *Austr. J. Chem.* **25**, 2731.
9. Bourwieg, D. (1971) Dissertation Freiburg.
10. Hoffmann, W. (1975) Dissertation Freiburg (im Druck).
11. Hösel, W., Frey, G. und Barz, W. (1974) *Phytochemistry* **14**, 417 (und weitere Literaturangaben).
12. Schreiber, W. (1974) *FEBS Letters* **41**, 50.
13. Schreiber, W. (1975) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **63**, 509.
14. Pastuska, G. und Trinks, H. (1961) *Chem. Ztg.* **85**, 535.
15. Pastuska, G. und Trinks, H. (1962) *Chem. Ztg.* **86**, 135.
16. Bergmeyer, U., Gawehn, K. und Grassl, M. (1974) *Methoden der enzymatischen Analyse*, 3. Aufl. Bd. I, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße.

Phytochemistry, 1976, Vol. 15, pp 572–573. Pergamon Press Printed in England

TRI-*O*-METHYLGALANGIN FROM *ANIBA RIPARIA**

NIDIA C. FRANCA, OTTO R. GOTTLIEB,† MAURO T. MAGALHÃES, PAULO H. MENDES,‡ JOSÉ G. S. MAIA, MIRIAM L. DA SILVA‖ and HUGO E. GOTTLIEB§

† Instituto de Química, Universidade de São Paulo; ‡ Empreza Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio de Janeiro; ‖ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil, and § Department of Chemistry, Rice University, Houston, U.S.A.

(*Received* 8 *October* 1975)

Key Word Index—*Aniba riparia*; Lauraceae; tri-*O*-methylgalangin; 3,5,7-trimethoxyflavone; benzyl benzoate; benzaldehyde.

Plant. Aniba riparia (Nees) Mez (Lauraceae), trivial name louro, voucher specimen INPA, Manaus, 46.799, collected at Ducke Forest Reserve, Manaus, Amazonas.

Trunk wood. Vapour entrainment gave essential oil (0.6%), shown to contain benzyl benzoate (74%), a common constituent of *Aniba* species [2], benzaldehyde (10%) and terpenes by GLC and spectra. Benzene extraction gave a partly crystalline mass (1%) which, upon filt-

* Part 33 in the series "The Chemistry of Brazilian Lauraceae". For Part 32 see ref. [1]. Sponsored by Ministério do Planejamento through Academia Brasileira de Ciências and by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

ration and washings with MeOH, led to pure 3,5,7-tri-*O*-methoxyflavone (tri-*O*-methylgalangin, 36%), mp 199–200°, previously unreported as a natural product. The structure was elucidated from its ^{13}CMR spectrum. The carbonyl chemical shift (δ 173.6) and the four peaks (two of double intensity) in the 128–131 ppm region suggested a flavone unsubstituted in the B ring [3–5]. The two high field methines (δ 92.1, 95.5) could be accommodated by a 5,7-dioxygenated ring A. This accounts for the two methoxy carbons absorbing at higher field (δ 55.4, 56.0) and therefore not *ortho*-disubstituted [6], as opposed to the third methoxy carbon (δ 59.7) which can only be located at the highly hindered C-3 position. IR [ν_{max}^{KCl} (cm^{-1}):1638, 1616, 1462, 1450, 1360, 1240, 1223, 1180, 1160, 1125, 1022, 835, 800, 720], ^{1}HMR [δ ($CDCl_3$): 3.83 (*s*, OMe), 3.88 (*s*, OMe), 3.91 (*s*, OMe), 6.26 (*d*, *J* 1.0 Hz), H-6), 6.43 (*d*, *J* 1.0 Hz, H-8), 7.42 (*m*, H-3′,4′,5′), 8.00 (*m*, H-2′,6′)] and MS [*m/e* (%): 312 (25) M, 311 (27), 284 (28), 181 (100), 180 (74), 152 (10), 137 (17), 77 (21)] corroborated the identification.

Comment. The conspicuous secondary metabolites of all *Aniba* species which have so far been analysed are either 2-pyrones or neolignans [2]. *A. riparia*, thus, becomes the first exception.

REFERENCES

1. Franca, N. C., Giesbrecht, A. M., Gottlieb, O. R., Magalhães, A. F., Magalhães, E. G. and Maia, J. G. S. (1975) *Phytochemistry* **14**, 1671.
2. Gottlieb, O. R. (1972) *Phytochemistry* **11**, 1537.
3. Joseph-Nathan, P., Mares, J., Hernandez, M. C. and Shoolery, J. N. (1974) *J. Magn. Reson.* **16**, 447.
4. Kingsbury, C. A. and Looker, J. H. (1975) *J. Org. Chem.* **40**, 1120.
5. Gottlieb, H. E. (1975) Ph.D. Thesis, Indiana University, Bloomington, Ind., U.S.A.; Gottlieb, H. E. and Wenkert, E. (1975) unpublished results.
6. Dhami, K. S. and Stothers, J. B. (1966) *Can. J. Chem.* **44**, 2855.

Phytochemistry, 1976, Vol. 15, pp. 573–574. Pergamon Press. Printed in England.

A METHYLATED CATECHIN AND PROANTHOCYANIDINS FROM THE CELASTRACEAE

FRANCO DELLE MONACHE,* MASSIMO POMPONI,* G. B. MARINI-BETTOLO,* IVAN LEONCIO D'ALBUQUERQUE† and OSVALDO GONÇALVES DE LIMA†

*Centro Chimica dei Recettori del C.N.R., Università Cattolica del S. Cuore, Via Pineta Sacchetti 644, 00168 Roma, Italia;

†Instituto de Antibioticos da Universidade Federal de Pernambuco 50.000 Recife, Brasil.

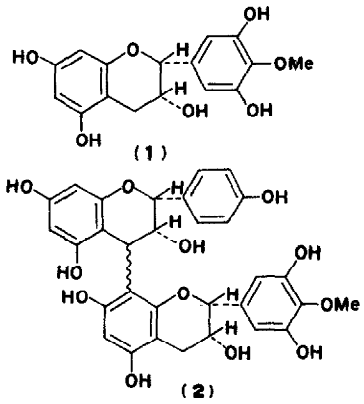
(*Received* 10 *April* 1975)

Key Word Index—*Prionostemma aspera*; *Maytenus rigida*; Celastraceae; (−)-4′-*O*-methyl-epigallocatechin; Ouratea-proanthocyanidins *A* and *B*.

Plant. Prionostemma aspera and *Maytenus rigida*. Voucher specimens Nos. 1374 and 1750 respectively are deposited in the Herbarium of Institute of Antibiotics, UFePe, Recife, (Brasil). *Previous work*. From these and sister species tingenone [1] and/or pristimerin were isolated from the $CHCl_3$-soluble fraction of the methanolic extract of root bark. (For a review of previous studies on Celastraceae, see [2]). No study on the flavanol composition of this family has been reported.

Present work. MeOH extraction of the powdered root bark of *Prionostemma aspera*, or *Maytenus rigida*, and concentration of the extract gave a solid, which was treated with $CHCl_3$ to remove tingenone, pristimerin and other triterpenes [1,3]. The chloroform-insoluble residue was dissolved in acetone, poured into H_2O and extracted with EtOAc. Removal of the solvent gave a pale pink powder, which was chromatographed on silica (deactivated with 5% H_2O). Elution with EtOAc gave a catechin and a mixture of two proanthocyanidins (+ve HCl–vanillin test).

The catechin, $C_{16}H_{16}O_7$, mp 142–4° (H_2O), $[\alpha]_D = -60°$ (EtOH) showed a methoxy group by NMR. An amorphous pentaacetate, a tetra-*O*-methyl ether, mp 160–2°, and a mono-*O*-acetyl-tetra-*O*-methyl derivative were obtained. The above data indicated catechin to be (−)-4′-*O*-methyl-epigallocatechin (**1**), an unusual catechin previously isolated by us [4,5]. Identification was confirmed (mmp NMR, IR, TLC) by comparison with authentic samples of (**1**) and its derivatives.



The mixture of the two proanthocyanidins was separated on cellulose with H_2O. Proanthocyanidin *A*, amorphous powder showing a methoxy group by NMR, gave a nona-*O*-acetylderivative, $C_{49}H_{46}O_{21}$, mp 134–5°, $[\alpha]_D = +25$ ($CHCl_3$); a hepta-*O*-acetylderivative, $C_{38}H_{42}O_{14}$, (M^+ 774), mp 125–7° dec. Proanthocyanidin *B*, amorphous powder, gave a nona-*O*-acetylderivative $C_{49}H_{46}O_{21}$, mp, 171–4°, $[\alpha]_D = +55$ ($CHCl_3$); a hepta-*O*-methyl derivative $C_{38}H_{42}O_{12}$, mp 165–67°, and a di-*O*-acetyl-hepta-*O*-methyl derivative $C_{42}H_{46}O_{14}$ (M^+ 774), mp 164–66°. The above data indicate the two proanthocyanidins to be the C_4-epimeric Ouratea-proanthocyanidin *A* na *B* respectively, isolated by us from *Ouratea*