

a synthetic medium having the following composition: mineral sol of Heller [15] (100 ml), thiamine (1 mg), glucose (50 g), and 2 × dist. H₂O (900 ml). Cells were harvested during the exponentially growing phase. Cells (100 g) were ground in a mortar at 0° with 1 vol. of medium containing: 0.1 M Tris-HCl, 1 mM EDTA, 10 mM mercaptoethanol, 0.5 M sucrose, final pH 7.5. Homogenate was squeezed through 2 layers of cheese-cloth and centrifuged at 6000 *g* for 10 min. Supernatant was centrifuged at 105000 *g* for 60 min. Soluble supernatant was removed and microsomal pellets suspended in 5 ml medium containing: 0.1 M Pi buffer, 2.5 mM mercaptoethanol, 4 mM MgCl₂, final pH 7.5 and dispersed in a Potter-Elvehjem homogenizer. Because of progressive acidification, the pH was adjusted to 7.5 with a 1 M Tris soln.

Enzymatic assays. *Incubation of squalene epoxide.* Dispersed microsomal pellets (4.5 ml; 4 mg protein/ml) were incubated with squalene-(11, 12-³H)-2,3-epoxide (12 · 10⁶ dpm; 250 μM) dissolved in 0.5 ml 0.1 M Pi buffer containing 1% Tween-80 for 4 hr at 31°. The reaction was terminated by the addition of 20% KOH in EtOH (1 vol.). In one expt a duplicate consisting of particles boiled for 30 min was used. Protein was quantitated by the procedure of Lowry *et al.* [16].

Incubation of mevalonate. A 6000 *g* supernatant (20 ml) was incubated in the presence of ATP (3.6 mM), NADPH (1.2 mM), MgCl₂ (4 mM) and mevalonate. 5-¹⁴C (10 μCi) for 30 min at 30°C. The reaction was terminated by the addition of 20% KOH in EtOH (1 vol.).

Analytical procedure. The incubation mixture was extracted 5 × with petrol (1 vol.). Combined extracts were dried, evaporated and subjected to Si gel TLC (CH₂Cl₂, two migrations). The band (*R_f* 0.35) containing 4,4-dimethyl sterols was eluted and acetylated. Acetylated materials was chromatographed on AgNO₃-Si gel plates using C₆H₆-cyclohexane (3:7; continuous development for 16 hr), 3 bands containing respectively 24-methylene cycloartenyl acetate (*R_f* 0.20), cycloartenyl acetate (*R_f* 0.45) and the amyrin acetates (*R_f* 0.80) were obtained, and material in the band containing the amyrin acetates was treated with a saturated soln of *p*-nitroperbenzoic acid in Et₂O (1 ml) over a period of 2 days at room temp. [16]. The Et₂O soln was washed with Na₂S₂O₃ and Na₂CO₃ solns, dried, concd and subjected to TLC (CH₂Cl₂, 1 migration). The band containing unreacted acetate (*R_f* 0.75) and epoxidized acetate (*R_f* 0.50) were eluted and α-amyirin acetate and β-amyirin acetate epoxide respec-

tively added as carriers. The 2 samples were recrystallized 4 × from MeOH.

Acknowledgements—This investigation was supported by grant 73-7-1234 from the Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique. We thank Professor G. Ourisson for a generous gift of α-amyirin and Professor D. Arigoni for helpful discussions. We are indebted to Mrs. P. Schmitt for culturing the cells.

REFERENCES

1. Eschenmoser, A., Ruzicka, L., Jeger, O. and Arigoni, D. (1955) *Helv. Chim. Acta* **38**, 1890.
2. Rees, H. H., Mercer, E. I. and Goodwin, T. W. (1966) *Biochem. J.* **99**, 726.
3. Rees, H. H., Britton, G. and Goodwin, T. W. (1968) *Biochem. J.* **106**, 659.
4. Barton, D. H. R., Jarman, T. R., Watson, K. G., Widdowson, D. A., Boar, R. B. and Damps, K. (1974) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 861.
5. Corey, E. J. and Ortiz de Montellano, P. R. (1967) *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 3362.
6. Strüby, K., Janiszowska, W. and Kasparyk, Z. (1972) *Phytochemistry* **11**, 1733.
7. Kasparyk, Z., Śliwowski, J. and Skwarko, B. (1972) *Phytochemistry* **11**, 1961.
8. Seo, S., Tomita, Y. and Tori, K. (1975) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 270.
9. Atallah, A. M., Aexel, R. T., Ramsey, R. B. and Nicholas, H. J. (1975) *Phytochemistry* **14**, 1529.
10. Dean, P. D. G. (1971) *Steroidologia* **2**, 143.
11. Schmitt, P. and Benveniste, P. unpublished results.
12. Heintz, R. and Benveniste, P. (1974) *J. Biol. Chem.* **249**, 4267.
13. Biellmann, J. F. and Ducep, J. B. (1969) *Tetrahedron Letters* **42**, 3707.
14. Van Tamelen, E. E. and Curphey, T. J. (1962) *Tetrahedron Letters* 121.
15. Gautheret, R. J. (1959) *La Culture des Tissus Végétaux*, p. 52. Masson, Paris.
16. Arigoni, D. Personal communication.

INHALTSSTOFFE DER GATTUNG *POLYMNIA*

FERDINAND BOHLMANN und CHRISTA ZDERO

Institut für Organische Chemie der Technischen Universität, 1000 Berlin 12, Straße des 17. Juni 135, W. Germany

(Eingegangen 31 August 1976)

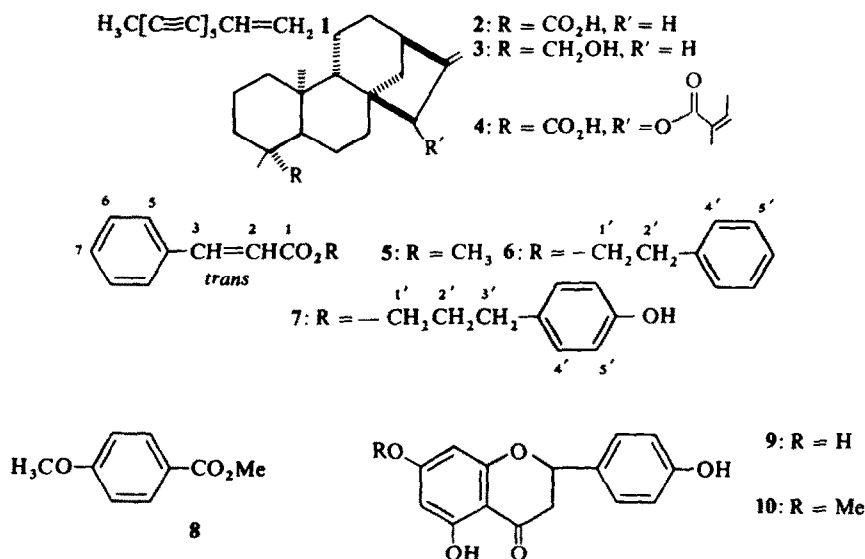
Key Word Index—*Polymnia fruticosa*; *P. pyramidalis*; Compositae; new cinnamic esters.

Aus der Gattung *Polymnia*, die zur zweiten Untergruppe des Subtribus *Melampodiinae* gehört [1], sind bereits mehrere Arten untersucht. Man findet hier neben dem weitverbreiteten Pentainen 1 [2] vor allem verschiedene Germacrolide [3, 4] sowie einmal ein Eudesmanolide [4].

Die Wurzeln von *P. fruticosa* enthalten ebenfalls 1 sowie in relativ hoher Konzentration Kaurensäure [2]

und die Derivate 3 und 4 [5]. Die oberirdischen Teile lieferten die Ester 5-8 sowie die Flavanone Naringenin 9 und Sakuranetin 10. 6 und 7 sind bisher nicht als Naturstoffe isoliert worden, ihre Konstitutionen folgen eindeutig aus den spektroskopischen Daten.

Die Wurzeln von *P. pyramidalis* enthalten ebenfalls 1-4, während die oberirdischen Teile 2 und 6 ergeben. In beiden Arten konnten keine Sesquiterpenlactone



¹H-NMR-Daten für 6 und 7 (δ-Werte, CDCl₃, TMS als innerer Standard)

	6	J (Hz)	7	J (Hz)
2-H	d 6.41	2,3 = 16	d 6.46	2,3 = 16
3-H	d 7.67		d 7.69	
5-H	m 7.51		m 7.54	
6-H	m 7.39	1',2' = 7	m 7.40	1',2' = 6.5
7-H				
1'-H	t 4.43		t 4.23	2',3' = 7
2'-H	t 3.02		tt 2.00	
3'-H			t 2.69	
4'-H	m 7.28		d 7.08	4',5' = 8
5'-H			d 6.79	
6'-H				

gefunden werden, das gilt auch für *P. canadensis* L., bei der nur ein Flavon isoliert werden konnte [4]. Offenbar ist die Situation in dieser Gattung chemisch nicht einheitlich. Vielleicht bildet diese Gattung einen Übergang zur ersten Gruppe der Subtribus, bei *Melampodium* [6], *Acanthospermum* [7] sind Germacrolide offensichtlich charakteristisch, während für Gattungen der zweiten Gruppe, *Espeletia* [8] und *Siegesbeckia* [9] Diterpene typisch zu sein scheinen. Der einzige bisher untersuchte Vertreter der Gattung *Trigonospermum*, *T. melampodoides* DC ergab ebenfalls nur 1, das offenbar in allen Arten der Subtribus zu finden ist.

EXPERIMENTELLES

Pflanzen und Herkunft: *Polymnia fruticosa* Benth. und *P. pyramidalis* Triana, Dr. R. King, Smithsonian Institution, Washington, in Ecuador gesammelt, Herbar Nr. 6971 und 6986.
IR. Beckman IR 9, CCl₄; ¹H-NMR: Bruker WH 270, CDCl₃; **MS.** Varian MAT 711, 70 eV, Direkteinlaß. Die luftgetrockneten Pflanzenteile extrahierte man mit Ether-Petrolether (1:2) trennte die erhaltenen Extrakte durch SC (Si gel, Akt. St. II) und weiter durch DC (Si gel, GF 254). Als Laufmittel dienten Ether-Petrolether (30–60°) (=E-PE)-Gemische. 90 g Wurzeln von *P. fruticosa* ergaben 3 mg 1, 500 mg 2, 25 mg 3 und 30 mg 4. 70 g oberirdischer Teile lieferten 60 mg 6 (E-PE 1:20), 20 mg 5,

5 mg 8, 80 mg 7 (E-PE 1:3), 20 mg 10 und 20 mg 9. 50 g Wurzeln von *P. pyramidalis* ergaben 1 mg 1, 100 mg 2, 20 mg 3 und 10 mg 4. 110 g oberirdischer Teile lieferten 50 mg 6 und 100 mg 2. 100 g Wurzeln von *Trigonospermum melampodoides* DC. (Prof. Dr. B. Turner, Univ. of Austin at Texas, Herbar Nr. 1754) ergaben nur 0.6 mg 1.

Zimtsäure-(2-phenylethyl)ester (6). Farblose Kristalle aus PE, Schmp. 54°. IR: C=CCO₂R 1715, 1635; Aromat 3062, 3030, 1580, 1500, 1455, 1305 cm⁻¹. MS: M⁺ m/e 252.115 (1%) (ber. für C₁₇H₁₆O₂ 252.115); C₆H₅CH=CHCO⁺ 131 (95); C₆H₅-CH=CH₂⁺ 104 (100); 131 —CO 103 (42).

Zimtsäure-3-(4'-hydroxyphenyl)-propyl-ester (7). Zähes, farbloses Öl, IR: OH 3620; C=CCO₂R 1720, 1645; Aromat 1615, 1520 cm⁻¹. MS: M⁺ m/e 282.126 (2%) (ber. für C₁₈H₁₈O₃ 282.126); C₆H₅CH=CH₂⁺ 134 (100) (McLafferty-Spaltung); PhCH=CHCO⁺ 131 (22).

Anerkennung—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Förderung dieser Arbeit.

LITERATUR

1. Stuessy, T. F. (1975) *Symposium on Biology and Chemistry of Compositae*, Reading.
2. Bohlmann, F., Burkhardt, T. und Zdero, C. (1973) *Naturally Occurring Acetylenes*. Academic Press, London.
3. Herz, W. und Bhat, S. V. (1973) *Phytochemistry* **12**, 1737.
4. Herz, W. und Bhat, S. V. (1970) *J. Org. Chem.* **35**, 2605.
5. Pakrashi, S. C., Dastidar, P. P. G. und Ali, E. (1971) *Indian J. Chem.* **9**, 84.
6. Fischer, N., Wiley, K., Lin, H. Kariman, K. und Politz, S. (1975) *Phytochemistry* **14**, 2241.
7. Herz, W. und Kalynarajam, P. (1975) *J. Org. Chem.* **40**, 3486.
8. Ussubillaga, A. und Morales, M. A. (1972) *Phytochemistry* **11**, 1856; Piozzi, F. (1968) *Gazz. Chim. Ital.* **98**, 907; Bohlmann, F. und Rao, N. (1973) *Chem. Ber.* **106**, 3035; Kloss, P. (1969) *Arch. Pharm.* **302**, 376; Brieskorn, C. H. und Poehlmann, E. (1969) *Chem. Ber.* **102**, 2621; Ussubillaga, A. und Morales, M. A. (1970) *Rev. Latinoamer. Quim.* **128**; Perez Rodriguez, N. (1972) *Rev. Fac. Farm. Univers. Los Andes* **9**, 69; Morales, M. A., Ussubillaga, A., Banerjee, A. K. und Nakano, T. (1973) *Planata Med.* **24**, 243; Ussubillaga, A., de Hernandez, J., Perez, N. und Kiriakidis, M. (1973) *Phytochemistry* **12**, 2999.
9. Murakami, T., Isa, T. und Satake, T., (1973) *Tetrahedron Letters* **4991**; Canonica, L. und Rindone, B. (1969) *Tetrahedron Letters* **4801**.