

# *n*-Alkylphenole aus *Schinus terebinthifolius* RADDI (Anacardiaceae)

*n*-Alkylphenols from *Schinus terebinthifolius* RADDI (Anacardiaceae)

G. Skopp<sup>a</sup>, H.-J. Opferkuch<sup>b</sup> und G. Schwenker<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Pharm.-chem. Institut der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 364, D-6900 Heidelberg

<sup>b</sup> Institut für Biochemie, Deutsches Krebsforschungszentrum, Im Neuenheimer Feld 280, D-6900 Heidelberg

Z. Naturforsch. **42c**, 7–16 (1987); received July 3, 1986

Dedicated to Professor Erich Hecker on the occasion of his 60th birthday

*Schinus terebinthifolius* RADDI, *n*-Alkylphenols, <sup>1</sup>H-NMR Experimental and Calculated Spectra, Skin Irritation

The isolation of *n*-alkylphenols from the drupes of *Schinus terebinthifolius* is described for the first time. The <sup>1</sup>H-NMR parameters, especially those for the triolefinic and monoolefinic components, are presented. Structures were proved by calculated spectra. Skin irritating activities were determined

## Einleitung

Vor wenigen Jahren tauchte im Handel ein Gewürz unter der Bezeichnung „Rosa Pfeffer“ oder „Rosa Beeren“ auf. Es handelt sich dabei um die leuchtend rot gefärbten, etwa 4–5 Millimeter großen, einsamigen Steinbeeren von *Schinus terebinthifolius* RADDI. Diese in Brasilien und Paraguay heimische Anacardiacee wird auf der Iberischen Halbinsel [1], in Afrika und in Florida [2] kultiviert.

In der – im übrigen sehr spärlichen – Literatur über *S. terebinthifolius* wird oft über Anwendungen in der brasilianischen und afrikanischen Volksmedizin berichtet. Äußerlich angewendet soll die Rinde rheumatische Beschwerden und Gicht lindern, ihrer inneren Anwendung wird eine stimulierende und aufbauende Wirkung zugeschrieben [3]. Blätter und Früchte werden Bädern zur Heilung von Wunden und Geschwüren zugesetzt, die Früchte allein haben Eingang in die Tumorbehandlung gefunden [4].

Die Früchte entwickeln ein süßliches, wacholderähnliches Aroma, ein scharfer Geschmack bleibt aber aus. Später verspürt man eine leichte Reizung der Mundschleimhaut. Aufgrund dieser irritierenden Wirkung und chemotaxonomischer Gesichtspunkte vermutete Stahl [5], die Droge enthalte langkettige *n*-Alkylphenole. Stahl konnte Cardanol 15:1 (*n*-7)

auch isolieren und durch ein Massen- und ein Infrarot-Spektrum charakterisieren [6]. *n*-Alkylphenole treten, soweit dies bis heute bekannt ist, selten als Individuen auf, ihre Bildung in der Pflanze führt meist zur Ausbildung eines ganzen Bündels strukturell eng verwandter Verbindungen. Es treten Variationen der Länge der Seitenkette (13 bis 19 Kohlenstoffatome), der Anzahl der Doppelbindungen (maximal 3 Doppelbindungen) und des Substitutionsmusters am aromatischen Ring auf, das entsprechend der Biosynthese nach dem Acetogenin-Schema [7] vorgegeben ist.

Es sollte die mögliche Vielfalt der *n*-Alkylphenole von *S. terebinthifolius* abgeklärt und isolierte Verbindungen weitestgehend spektroskopisch charakterisiert werden. Da sich dieses Gewürz zunehmender Beliebtheit in der „Nouvelle Cuisine“ erfreut, erschien es angezeigt, die irritierende Aktivität durch Tests am Mäuseohr zu bestimmen [8].

## Material und Methoden

### Pflanzenmaterial

Die gefriergetrockneten Steinfrüchte von *S. terebinthifolius* stammten von der Fa. Carla (Saarbrücken), das Herkunftsland ist die Insel Réunion. Die Identifizierung erfolgte durch Vergleich von aus der Ware nicht ausgelesenen Blattstücken mit Herbarmaterial; eine Bestimmung anhand der Früchte ist sehr unsicher.

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. G. Schwenker.

Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, D-7400 Tübingen  
0341–0382/87/0100–0007 \$ 01.30/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

*Analytische und präparative Methoden*

Alle Lösungsmittel wurden nach Standardmethoden gereinigt.

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen:

DC 1. DC-Fertigplatten, Kieselgel 60 F<sub>254</sub> der Fa. Merck (Darmstadt).

Fließmittel Fl 1: Petrolether (40–60 °C)/Ether 70:30; Fl 2: Dichlormethan/Ethylacetat 80:20.

Detektion: UV 254 nm/Sprühareagenz: Echtblausalz B, 0,1 N NaOH.

DC 2. DC-Fertigplatten, Kieselgel RP-8 F<sub>254</sub> der Fa. Merck (Darmstadt).

Fließmittel: Acetonitril/Wasser 85:15–60:40.

Detektion: analog 1.

Präparative Trennungen:

S 1: Säule mit Kühlmantel, Ø 3 cm, Länge 100 cm. 250 g Kieselgel 60, 0,0063–0,2 mm der Fa. Macherey-Nagel (Düren).

Elutionsmittel: Petrolether (40–60 °C) (P) – Ether (E) Gradient. P 500 ml; P/E 9:1 1500 ml; P/E 8,5:1,5 1000 ml; P/E 8:2. 1000 ml; P/E 7:3 1000 ml; P/E 6:4 1000 ml.

Tropfgeschwindigkeit: 1 ml/min.

Fraktionsgröße: 15 ml.

S 2: Säule Ø 2 cm, Länge 22 cm. 20 g Sephadex LH-20 der Fa. Pharmacia Fine Chemicals (Uppsala).

Elutionsmittel: Methanol.

Tropfgeschwindigkeit: 0,2 ml/min.

S 3: „Lobar“ Fertigsäule, LiChroprep RP-8, Partikelgröße 40–63 µm, Größe A, der Fa. Merck (Darmstadt). Membranpumpe A-2001 der Fa. Chemie und Filtertechnik (Heidelberg).

Elutionsmittel: E1 Acetonitril/Wasser 80:20; E2 Acetonitril/Wasser/Ameisensäure 60:40:1.

Tropfgeschwindigkeit: 1,5 ml/min.

Fraktionsgröße: 3 ml.

*Spektren*

Massenspektren: Massenspektrometer MAT 311 A (Varian MAT, Bremen). Ionisierungsenergie 100 eV. Temperatur der Ionenquelle 250 °C. Temperatur der Proben 90–100 °C.

Infrarot-Spektren: Gitterspektrometer 325 (Perkin-Elmer, Überlingen) als Film.

<sup>1</sup>H-NMR Spektren: 250 MHz Spektrometer WM 250 und 500 MHz Spektrometer AM 500 (Bruker, Karlsruhe).

Lösungsmittel: CDCl<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, TMS als interner Standard.

*Biologischer Test*

Die biologische Aktivität ausgewählter isolierter Verbindungen und eines Acetonextraktes wurde in Entzündungseinheiten (IU, irritation unit) am Ohr von SIM Mäusen bestimmt, als Ausgangsdaten zur Bestimmung der irritierenden Dosis 50 (ID<sub>50</sub>) am Ohr von NMRI Mäusen.

*Nomenklatur und Abkürzungen*

Die Kurzbezeichnung der *n*-Alkylseitenketten der Phenole erfolgt in Anlehnung an die von der IU-PAC-Kommission gebilligte Bezeichnung für ungesättigte Fettsäuren [9].

<i>Bezeichnung</i>		<i>Syst. Name</i>
Cardanol	15:0	3'- <i>n</i> -Pentadecylphenol
Cardanol	15:1( <i>n</i> -7)	3'- <i>n</i> -(8 <i>Z</i> -Pentadecenyl)phenol
Cardanol	15:2( <i>n</i> -4)	3'- <i>n</i> -(8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> -Pentadecadienyl)phenol
Cardanol	15:3( <i>n</i> -1)	3'- <i>n</i> -(8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14-Pentadecatrienyl)phenol
Cardol	15:0	5'- <i>n</i> -Pentadecylresorcinol
Cardol	15:1( <i>n</i> -7)	5'- <i>n</i> -(8 <i>Z</i> -Pentadecenyl)resorcinol
Cardol	15:2( <i>n</i> -4)	5'- <i>n</i> -(8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> -Pentadecadienyl)resorcinol
Cardol	15:3( <i>n</i> -1)	5'- <i>n</i> -(8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14-Pentadecatrienyl)resorcinol

Gemisch aller Verbindungen vom Cardanol-Typ: **1**.

Gemisch von Methyl-5-*n*-pentadecylresorcinolen: **2**.

Gemisch aller Verbindungen vom Cardol-Typ: **3**.

### Extraktion und Isolierung

Alle Manipulationen wurden, soweit möglich, unter Lichtausschluß durchgeführt. Lösungsmittel wurden nicht vollständig abrotiert, um ein Verharzen der Substanzen zu vermeiden.

Die in einem Waring Blender zerkleinerten Früchte (500 g) wurden mit 10 l Aceton perkoliert. Das eingeeengte Perkolat wurde mit Ether extrahiert und nach dem Ausfrieren von Sterolen aus Methanol zwischen gleichen Volumina (je 2400 ml) Petrolether (40–60 °C) und Methanol, das zwei Prozent Wasser enthielt, ausgeschüttelt. Die Petroletherphase enthält *n*-Alkylphenole neben fettem Öl und Terpenen, die methanolisch-wäßrige Phase Biflavonoide und Gallussäure, über deren Isolierung an anderer Stelle berichtet wird. Die eingeeengte Petroletherfraktion wurde in Dichlormethan unter Zusatz von 2,6-Di-*tert*.-butyl-*p*-kresol aufbewahrt.

Dieser Extrakt wurde in vier Teilen (je ca. 10 g) nacheinander an S 1 aufgetrennt. Die Trennung wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (DC 1), und entsprechende Fraktionen mit positiver Phenol-Reaktion vereinigt. Insgesamt konnten drei verschiedene Sammelfraktionen **1**, **2**, **3** erhalten werden. Jede dieser Komponenten wurde an S 2 aufgereinigt.

Tab. I. Charakterisierung der Fraktionen **1–3**.

	Fraktionen	Färbung mit Echtblausalz B	Ausbeute (bezogen auf die Trockendroge)
<b>1</b>	120–124	gelb	62 mg (0,012%)
<b>2</b>	184–186	rot	1 mg (0,0002%)
<b>3</b>	279–284	violett	38 mg (0,008%)

50 mg von **1**, gelöst in 0,5 ml Acetonitril, wurden an S 3 mit E 1 eluiert. Eine dünnschichtchromatographische Überprüfung (DC 2) der Fraktionen zeigte eine Trennung in vier Einzelsubstanzen **1.1**, **1.2**, **1.3** und **1.4**.

Fraktionen mit einheitlichem  $R_F$ -Wert wurden vereinigt, das organische Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen, die wäßrige Phase mit Chloroform ausgeschüttelt, mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Filtrat eingeeengt. Restliches Chloroform wurde im Stickstoffstrom vertrieben. **1.1–1.4** wurden unter Stickstoffatmosphäre und unter Lichtausschluß bei –20 °C aufbewahrt.

Ausbeute: **1.1** 1,8 mg, **1.2** 1,2 mg, **1.3** 30,9 mg, **1.4** 5,5 mg.

**2** konnte aufgrund der geringen Substanzmenge nicht weiter in seine Komponenten aufgetrennt werden.

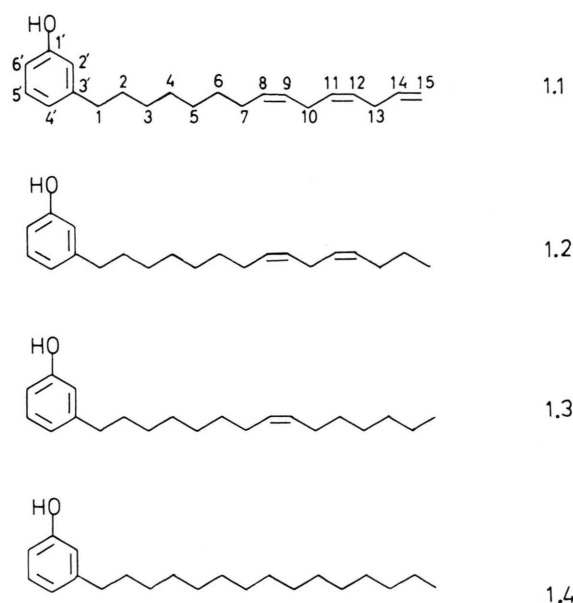
25 mg von **3** wurden an S 3 unter Verwendung von E 2 ebenfalls in vier Verbindungen **3.1–3.4** aufgetrennt und entsprechend aufgearbeitet.

Ausbeute: **3.1** 7,3 mg, **3.2** 3,6 mg, **3.3** 2,5 mg, **3.4** 3,2 mg.

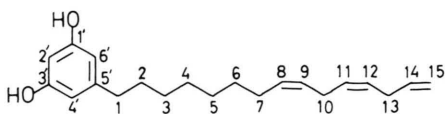
Alle Verbindungen sind entsprechend der Reihenfolge ihrer Elution aufgeführt.

### Ergebnisse und Diskussion

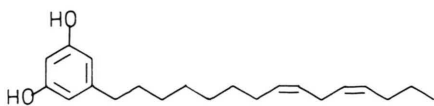
Nach den Ergebnissen der Anfärbungen im Dünnschichtchromatogramm (Tab. I) kann man davon ausgehen, daß es sich um drei Fraktionen verschiedenen substituierter Phenole handelt. Da **1** die größte Fraktion ist, und ihr  $R_F$ -Bereich (DC 1, Fl 2) mit dem Literaturwert übereinstimmt [6], dürfte sie die Cardanolgruppe sein. Aus der Retentionscharakteristik von **1.1–1.4** an S 3 kann man auf eine unterschiedliche Sättigung der Seitenketten schließen, so daß folgende Konstitutionen angenommen werden:



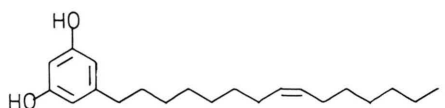
Bei **3** kann durch Farbvergleich mit Hexylresorcin auf Phenole vom Resorcintyp geschlossen werden, so daß entsprechend für **3.1–3.4** folgende Strukturen vorgeschlagen werden können:



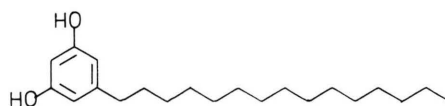
3.1



3.2



3.3



3.4

Der Fraktion **2** könnten dann die Methylcardole zukommen, analog zu den langkettigen Phenolen aus *Anacardium occidentale* L. [10].

Sollten unsere Annahmen zutreffen, so muß im folgenden das Substitutionsmuster am aromatischen Ring, die Länge der Seitenketten sowie Anzahl und Lage der Doppelbindungen bewiesen werden.

#### Identifizierung der Verbindungen **1.1**–**1.4**

Die spektroskopischen Daten von **1.1**–**1.4** sind in den Tab. II und III zusammengefaßt.

Die Massenspektren sind gekennzeichnet durch einen gemeinsamen Basepeak bei  $m/z$  108, sowie durch das gehäufte Auftreten von Bruchstücken der Formel  $C_nH_{2n+1}$ ,  $C_nH_{2n}$  und  $C_nH_{2n}C_nH_{2n-1}$  ( $n = 1-9$ ), das Intensitätsmaximum liegt im Bereich von

Fragmenten mit 3 und 4 C-Atomen. Das Verhältnis der Ionen 108 und 107 zeigt, daß die  $\beta$ -Spaltung der Seitenkette mit H-Transfer unter Bildung eines resonanzstabilisierten Ions (Abb. 1) einer Benzylspaltung vorgezogen wird.

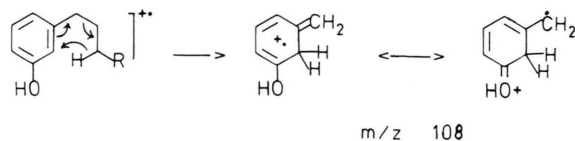


Abb. 1. Indirekte  $\beta$ -Spaltung der Seitenkette.  
R =  $C_{12}H_{25}C_{12}H_{25-n}$   $n = 0, 2, 4, 6$

**1.1** weist als einzige Verbindung ein Spaltstück bei  $m/z$  257 auf, es kann auf die Abspaltung eines Allylkations ( $m/z$  41) zurückgeführt werden. Eine weitere Analyse der Spektren ergibt Fragmentationen der Summenformel  $HO-C_6H_4-(CH)_{2n}-(CH=CH)_m$ , für **1.1** findet man komplette Serien für  $n = 1-7$  und  $m = 0-3$ , für **1.2** kann  $n = 1-7$  und  $m = 0-2$  eingesetzt werden, für **1.3** gilt  $n = 1-7$  und  $m = 0$  und 1, für **1.4** bricht die Reihe bei  $n = 1-6$  und  $m = 0$  und 1 ab.

Die Intensität der Spitzen der Molekülionen nimmt – in Analogie zu geradkettigen Kohlenwasserstoffen – mit steigender Sättigung der Seitenketten ab.

Alle Komponenten zeigen für Phenole charakteristische IR-Absorptionsbanden bei  $3335\text{ cm}^{-1}$  und  $695\text{ cm}^{-1}$ , die auf eine 1,3-Disubstitution am aromatischen Ring hinweisen. Im Bereich der C-H Streck-schwingungen zeigen sich charakteristische Unterschiede zwischen **1.1**, **1.2** und **1.3** sowie **1.4** andererseits. Die IR-Spektren enthalten im Bereich von  $980\text{ cm}^{-1}$  bis  $960\text{ cm}^{-1}$  keine Banden und damit auch keinen Hinweis auf E-konfigurierte Doppelbindungen.

Tab. II. Charakteristische MS- und IR-Daten.

Verbindung	$M^+$ $m/z$	(rel. Int. %)	Basepeak $m/z$	108:107 $m/z$	IR [ $\text{cm}^{-1}$ ] Olefin	Phenyl
<b>1.1</b>	298	(5.2)	108	10:8	3080, 3010, 1000	780, 695
<b>1.2</b>	300	(5.3)	108	10:8	3005, 1000	780, 695
<b>1.3</b>	302	(4.6)	108	10:4	3005, 1000	780, 695
<b>1.4</b>	304	(3.4)	108	10:4	– –	780, 695

Tab. III. <sup>1</sup>H-NMR Daten der Verbindungen **1.1**–**1.4**.

Verbindung, chemische Verschiebung $\delta$							
Position	<b>1.1</b> <sup>a</sup>	<b>1.1</b> <sup>b</sup>	<b>1.2</b> <sup>a</sup>	<b>1.2</b> <sup>b</sup>	<b>1.3</b> <sup>a</sup>	<b>1.3</b> <sup>b</sup>	<b>1.4</b> <sup>c</sup>
OH	3,94	4,71	4,30	4,63	3,92	4,69	4,70
5'-H	7,03	7,13	7,04	7,13	7,03	7,13	7,14
4'-H	6,70	6,75	6,70	6,75	6,69	6,74	6,77–6,74
2'-H	6,47	6,65	6,45	6,65	6,46	6,65	
6'-H	6,41	6,64	6,40	6,64	6,40	6,64	6,65–6,62
1-H	2,45	2,54	2,46	2,54	2,45	2,54	2,55
2-H	1,55–1,50	1,65–1,56	1,55–1,50	1,62–1,56	1,56–1,50	1,60–1,56	1,61–1,56
3, 4, 5, 6-H	1,33–1,16	1,36–1,28	1,28–1,18	1,33–1,28	1,40–1,23	1,34–1,25	1,35–1,21
7-H	2,04	2,04	2,05	2,04	2,08	2,01	1,35–1,21
8, 9-H	5,52–5,41	5,46–5,30	5,52–5,41	5,43–5,30	5,49	5,34	1,35–1,21
10-H	2,81	2,78	2,87	2,77	2,08	2,01	1,35–1,21
11, 12-H	5,52–5,41	5,46–5,30	5,52–5,41	5,43–5,30	1,40–1,23	1,34–1,25	1,35–1,21
13-H	2,76	2,82	2,05	2,04	1,40–1,23	1,34–1,25	1,35–1,21
14-H	5,77	5,81	1,34	1,38	1,40–1,23	1,34–1,25	1,35–1,21
15-H	5,01 ( <i>trans</i> ) 4,98 ( <i>cis</i> )	5,05 ( <i>trans</i> ) 4,98 ( <i>cis</i> )	0,88	0,88	0,89	0,89	0,89
Kopplungskonstanten [Hz]							
2', 4'	1,5		1,5		1,5		
2', 5'	0,5		0,5		0,5		
2', 6'			2,4		2,4		
4', 5'	7,5		7,5		7,5		7,5
4', 6'	0,9		0,9		0,9		
5', 6'	8,1		8,1		8,1		7,5
1, 2	7,7		7,7		7,0		8,0
7, 8					6,8		
7, 9					–1,4		
7, 10					–0,2		
8, 9					10,6		
8, 10					–1,4		
9, 10					6,8		
13, 14	6,1						
13, 15	1,5 ( <i>cis</i> )						
	1,5 ( <i>trans</i> )						
14, 15	10,1 ( <i>cis</i> )						
	17,1 ( <i>trans</i> )						
15, 15	1,8						

<sup>a</sup> Resonanzfrequenz 500 MHz, Lösungsmittel C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>.<sup>b</sup> Resonanzfrequenz 500 MHz, Lösungsmittel CDCl<sub>3</sub>.<sup>c</sup> Resonanzfrequenz 250 MHz, Lösungsmittel CDCl<sub>3</sub>.

Die Spektren von **1.1**–**1.4** stimmen im Aromaten-  
teil überein. Die Aufnahme in C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> (500 MHz) er-  
möglichte die Identifizierung der einzelnen aromati-  
schen Protonen.

Das Signal bei  $\delta$  7,03 zeigt zwei Dubletts mit Fein-  
struktur, die Berechnung der Kopplungskonstanten  
ergibt zwei koppelnde Partner in ortho-Stellung, ein  
Proton in para-Stellung verursacht die Aufspaltung  
der beiden äußeren Signale. Das gesamte Signal muß  
5'-H zugeordnet werden. Die Aufspaltung des Sig-  
nals bei  $\delta$  6,47 zum Dublett vom Dublett und die  
Größe der Kopplungskonstanten weisen auf zwei

Kopplungspartner in meta-Position hin. Die Zuord-  
nung erfolgt zum 2'-H. 6'-H kann ausfindig gemacht  
werden bei  $\delta$  6,41, nicht nur aufgrund seiner stärkeren  
Abschirmung durch die Hydroxylgruppe, son-  
dern auch durch die Aufspaltung des Signals in ein  
Dublett vom Dublett vom Dublett, das die Bestim-  
mung dreier Kopplungskonstanten liefert. Das Si-  
gnal bei  $\delta$  6,70 gehört demnach zu 4'-H.

Ein Vergleich des aromatischen Teils der Spektren  
mit einem simulierten Spektrum bestätigte unsere  
Interpretation.

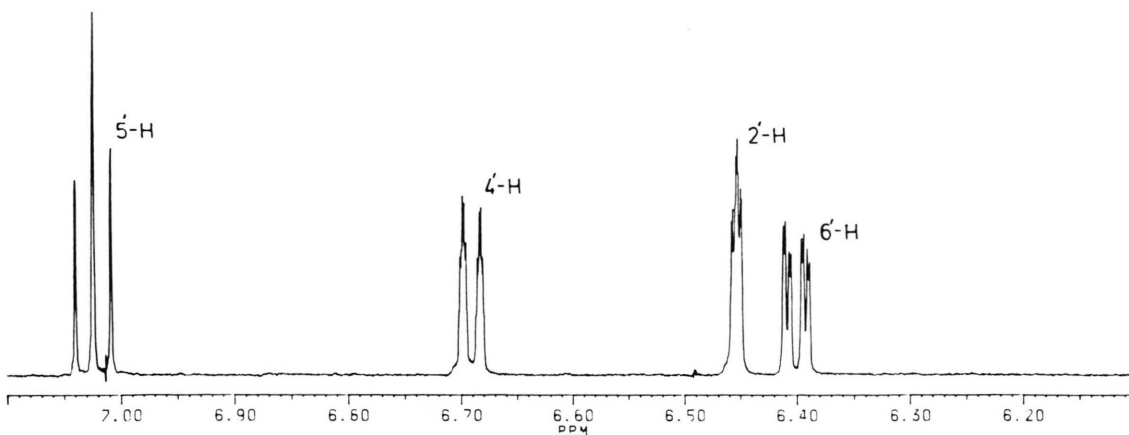


Abb. 2. Aromatenteil des  $^1\text{H}$ -NMR Spektrums der Verbindungen **1.1**–**1.4**, in  $\text{C}_6\text{D}_6$ .

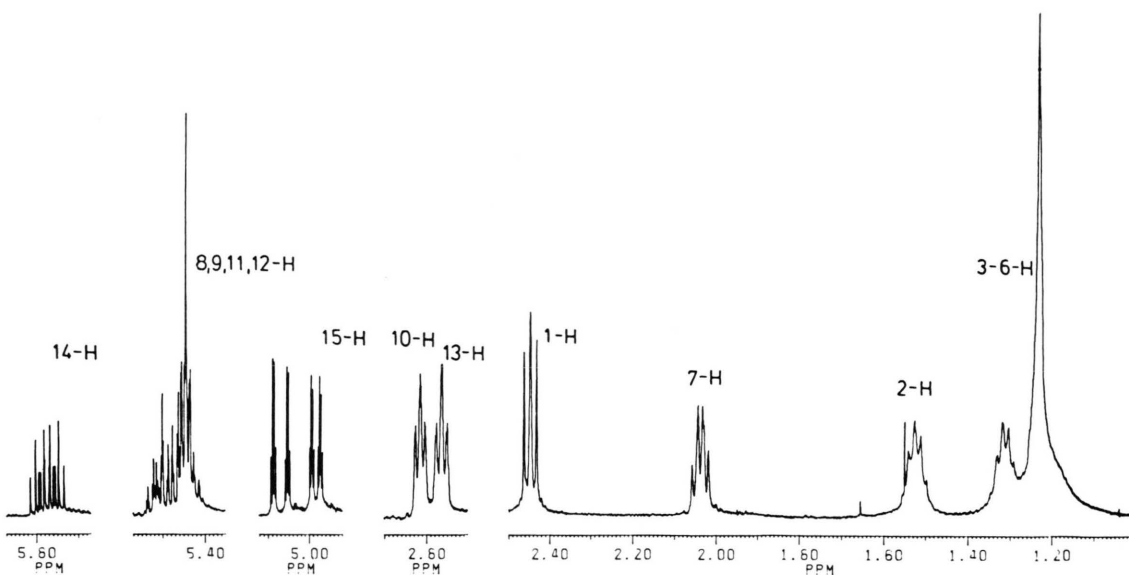


Abb. 3.  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von **1.1** (ohne Aromatenteil), in  $\text{C}_6\text{D}_6$ .

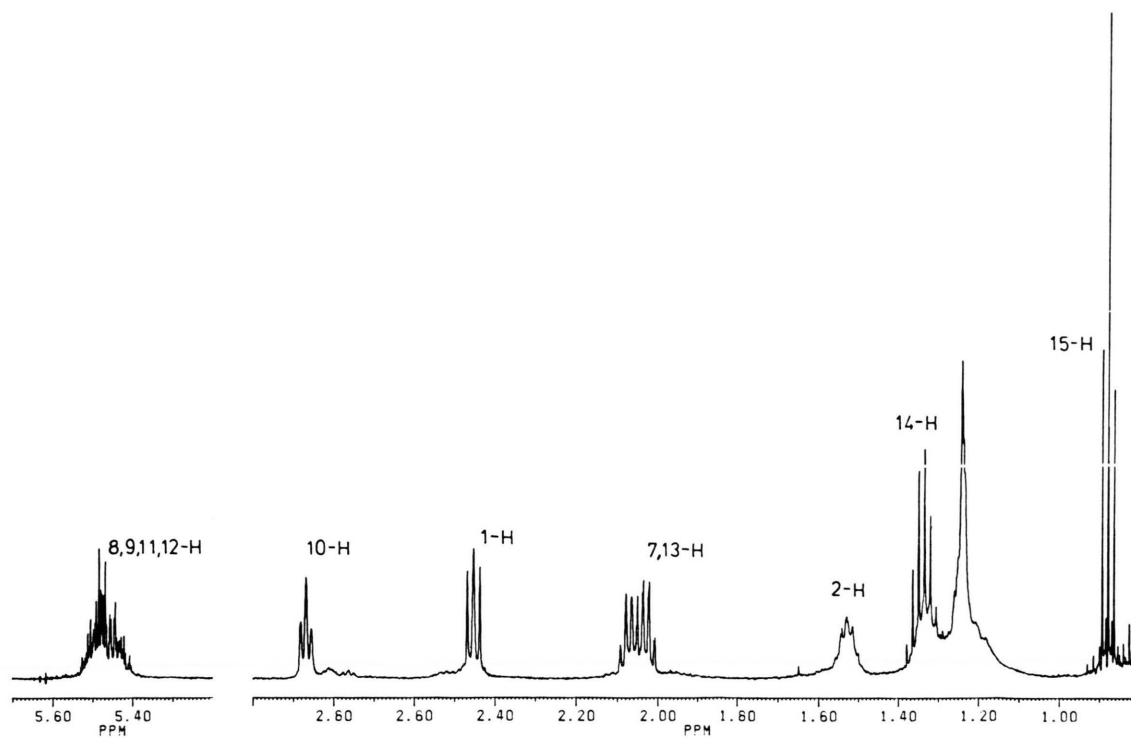
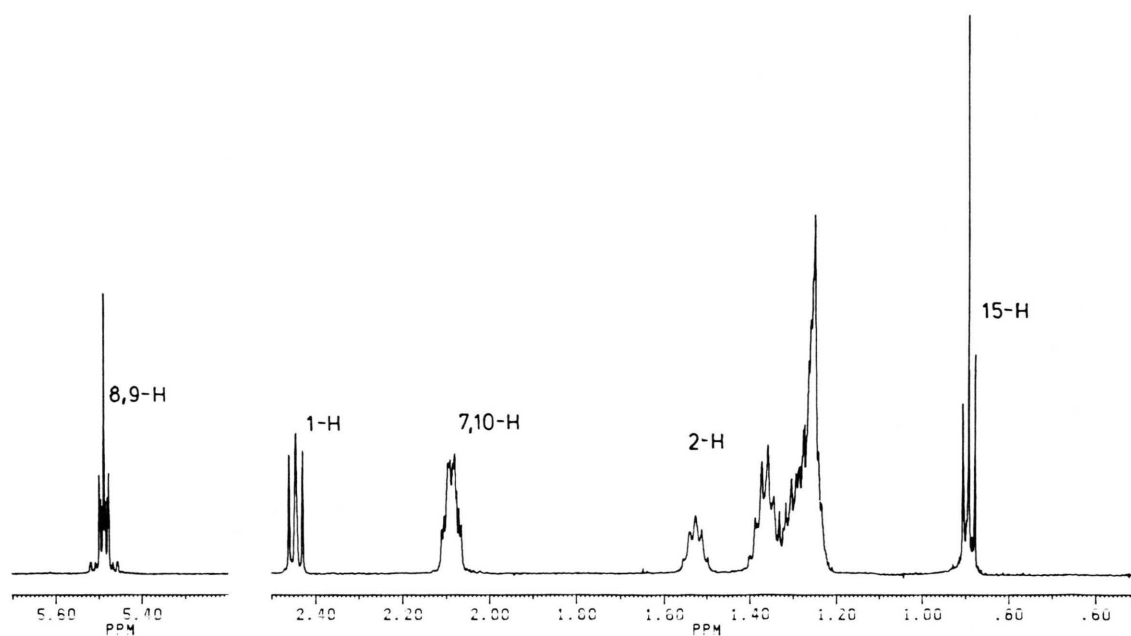
Das  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von **1.1** (Abb. 3) zeigt bei  $\delta$  2,45 ein Triplett, das der benzylichen Methylengruppe zugerechnet werden muß. Die daran anschließenden sechs Methylengruppen können durch Doppelresonanzexperimente ausfindig gemacht werden, 7-H koppelt weiterhin mit einem komplexen Multiplett bei  $\delta$  5,52–5,41, das zu den olefinischen Protonen am C-8, C-9, C-11 und C-12 gehört.

Das Signal bei  $\delta$  5,77 – ein Triplett vom Dublett vom Dublett – kann 14-H zugeordnet werden. Die vicinalen Kopplungskonstanten ( $J = 17,1$  bzw. 10,1 Hz) führen zu 15-H. Die Interpretation dieser

beiden Signale wurde durch ein simuliertes Spektrum bestätigt. Die Einstrahlung auf  $\delta$  2,76 hat eine Vereinfachung der Signale von 14-H und 15-H zur Folge, so daß 13-H aufgefunden war. Das Signal bei  $\delta$  2,81 gehört dann zu 10-H.

Die Konfiguration der Doppelbindung an C-8 wurde durch ein NOE-Experiment bewiesen, das die räumliche Nachbarschaft der Protonen von C-7 und C-10 aufzeigt. Dies ist nur bei einer *Z*-konfigurierten Doppelbindung möglich.

Unter Berücksichtigung aller Informationen ist die Identität von **1.1** als Cardanol 15:3 (*n*-1) bewiesen.

Abb. 4.  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von **1.2** (ohne Aromatenteil), in  $\text{C}_6\text{D}_6$ .Abb. 5.  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von **1.3** (ohne Aromatenteil), in  $\text{C}_6\text{D}_6$ .



Die Zuordnung der Signale des  $^1\text{H}$ -NMR Spektrums von **1.2** kann teilweise aus dem bereits besprochenen Spektrum getroffen werden. Das Triplet bei  $\delta$  0,91 muß einer Methylgruppe zugeordnet werden, Kopplungspartner ist eine Methylengruppe bei  $\delta$  1,34, die ihrerseits mit Methylenprotonen einer Signalgruppe bei  $\delta$  2,05 koppelt. Die Integration ergibt vier Protonen. Aufgrund weiterer Einstrahlungen und Vergleiche der Signallagen mit denjenigen von Cardanol 15:3 (*n*-1) konnte das zuletzt betrachtete Signal den Protonen an C-7 und C-13 zugeordnet werden. Zusammen mit den übrigen Daten kann die Struktur von **1.2** als Cardanol 15:2 (*n*-4) abgeleitet werden.

Auch das Spektrum von **1.3** (Abb. 5) weist Gemeinsamkeiten mit den zwei vorhergehenden Spek-

tren auf. Strahlt man auf  $\delta$  2,09 ein (7-H, 10-H), so kollabiert die Signalgruppe der beiden olefinischen Protonen zu einem Singulett. Auf der Basis von geschätzten Ausgangsparametern für die chemischen Verschiebungen und Kopplungen der beteiligten Kerne (7-H, 8-H, 9-H, 10-H) wurde iteriert und ein theoretisches Spektrum gewonnen, das mit dem gemessenen übereinstimmt (Abb. 6). Der Parametersatz (Tab. III) liefert den Beweis, daß die Doppelbindung der Seitenkette *Z*-Konfiguration besitzt. **1.3** wird als Cardanol 15:1 (*n*-7) identifiziert.

Analoge Zuordnung für **1.4** und die Auswertung der Integrationskurven ergeben zusammen mit den übrigen Daten die Übereinstimmung von **1.4** mit Cardanol 15:0.

#### Identifizierung von **2**

Auch von **2** war anzunehmen, daß es aus vier Fraktionen besteht. Das Massenspektrum weist auch vier Peaks bei  $m/z$  334, 332, 330 und 328 sowie den Basepeak bei  $m/z$  138 auf. Ein  $^1\text{H}$ -NMR des Substanzgemisches zeigte bei  $\delta$  6,62 ein Singulett (2 H), Signale im Bereich von  $\delta$  5,80–5,00 stimmten mit entsprechenden Signalen von Cardanol 15:3 (*n*-1) überein. Unsere Vermutung, es handle sich um Methylcardole mit Seitenketten unterschiedlicher Sättigung und gemeinsamer Kettenlänge von 15 C-Atomen wurde gestützt durch Vergleich mit 2-Methylcardolen aus der Testa von *Anacardium occidentale* L. (Co-Tlc,  $^1\text{H}$ -NMR).

#### Identifizierung der Verbindungen **3.1–3.4**

Die spektroskopischen Eigenschaften der Verbindungen **3.1–3.4** sind in den Tab. IV und V zusammengefaßt.

Die Analyse der Massenspektren ergab für diese Verbindungen charakteristische Fragmentierungsreaktionen wie für die Verbindungen **1.1–1.4**. Alle Bruchstücke besitzen jedoch eine um 16 Masseneinheiten größere Massenzahl. Die out-of-plane Schwingungen im JR, die allen Substanzen gemeinsam sind, weisen auf eine 1,3,5-Trisubstitution des aromatischen Ringes hin.

Die  $^1\text{H}$ -NMR Spektren aller Verbindungen zeigen im aromatischen Bereich eine Signalgruppe für drei Protonen, die ein  $\text{AB}_2$ -System bilden. Die weiteren Signale und Signalgruppen stimmen hinsichtlich ihrer chemischen Verschiebung und ihres Aufspaltungsmusters mit Signalen entsprechender Verbin-

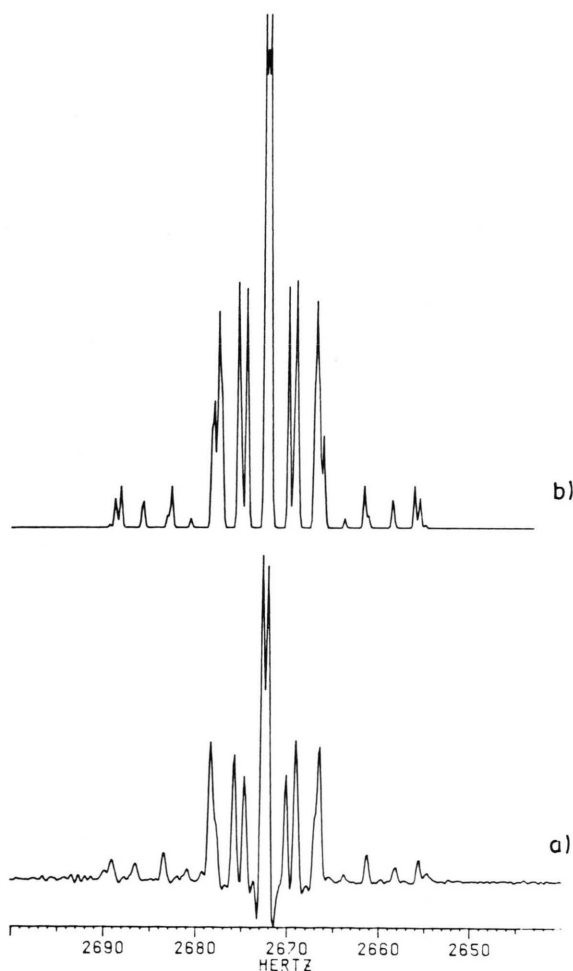


Abb. 6. Experimentelles (a) und berechnetes (b) Teilspektrum von Cardanol 15:1 (*n*-7).



Tab. IV. Charakteristische MS- und IR-Daten.

Verbindung	M <sup>+</sup> ( <i>m/z</i> , rel. Int. [%])	Basepeak ( <i>m/z</i> )	124:125	IR [cm <sup>-1</sup> ] Olefin	Phenyl
<b>3.1</b>	314 (4,4)	124	10:6	3080, 3020	840, 695
<b>3.2</b>	316 (4,5)	124	10:6	3015	840, 695
<b>3.3</b>	318 (3,1)	124	10:3	3010	840, 690
<b>3.4</b>	320 (3,5)	124	10:3	–	835, 695

Tab. V. <sup>1</sup>H-NMR Daten der Verbindungen **3.1–3.4**<sup>d</sup>.

Verbindung, chemische Verschiebung $\delta$ , Kopplungskonstante [Hz]				
Position	<b>3.1</b>	<b>3.2</b>	<b>3.3</b>	<b>3.4</b>
OH	4,70	4,62	4,68	4,68
4',6'-H	6,25 (d, <i>J</i> = 2,5 Hz)	6,25 (d, <i>J</i> = 2,5 Hz)	6,24 (d, <i>J</i> = 2,5 Hz)	6,24 (d, <i>J</i> = 2,5 Hz)
2'-H	6,17 (t, <i>J</i> = 2,5 Hz)	6,17 (t, <i>J</i> = 2,5 Hz)	6,17 (t, <i>J</i> = 2,5 Hz)	6,17 (t, <i>J</i> = 2,5 Hz)
1-H	2,46 (t, <i>J</i> = 7,8 Hz)	2,49 (t, <i>J</i> = 7,8 Hz)	2,49 (t, <i>J</i> = 7,8 Hz)	2,48 (t, <i>J</i> = 7,8 Hz)
2-H	1,61–1,48	1,65–1,50	1,63–1,52	1,65–1,50
3, 4, 5, 6-H	1,40–1,30	1,45–1,25	1,57–1,24	1,38–1,20
7-H	2,03	2,05	2,02	1,38–1,20
8, 9-H	5,50–5,27	5,40–5,25	5,35	1,38–1,20
10-H	2,80	2,78	2,02	1,38–1,20
11, 12-H	5,50–5,27	5,40–5,25	1,57–1,24	1,38–1,20
13-H	2,80	2,05	1,57–1,24	1,38–1,20
14-H	5,83	1,45–1,25	1,57–1,24	1,38–1,20
15-H	5,10–4,95	0,92 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz)	0,88 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz)	0,88 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz)

<sup>d</sup> Resonanzfrequenz 250 MHz, Lösungsmittel CDCl<sub>3</sub>.

dungen der Cardanolreihe überein. Die isolierten Verbindungen konnten daher wie folgt identifiziert werden:

- 3.1:** Cardol 15:3 (*n*-1);  
**3.1:** Cardol 15:2 (*n*-4);  
**3.3:** Cardol 15:1 (*n*-7);  
**3.4:** Cardol 15:0.

#### Biologischer Test auf irritierende Wirkung

Gesamtextrakt (Aceton)	IU > 700 µg/Ohr;
Cardanol 15:1 ( <i>n</i> -7)	IU > 14 µg/Ohr;
Cardanol 15:3 ( <i>n</i> -1)	IU = 45 µg/Ohr;
Cardol 15:3 ( <i>n</i> -1)	IU > 19 µg/Ohr;
Cardanol 15:3 ( <i>n</i> -1)	ID <sub>50</sub> = 32 µg/Ohr.

Die ID<sub>50</sub> von Cardanol 15:3 (*n*-1) liegt, im Vergleich zum Standardirritans TPA mit 0,01 µg/Ohr

[13], erstaunlich hoch. Eine Verwendung in geringen Mengen zum Würzen von Speisen erscheint aus dieser Sicht nicht bedenklich. Die in der Literatur beschriebenen Hauterscheinungen [2] lassen, zusammen mit den vorliegenden Ergebnissen, eher auf ein allergenes Potential der Verbindungen schließen als auf eine entzündliche Wirkung *per se*.

#### Zusammenfassung

Durch gezielte Anwendung dreier chromatographischer Verfahren ist es uns gelungen, neben vier Cardanolen mit einer Seitenkette mit 15 C-Atomen auch vier Cardole und Methylcardole – diese allerdings nicht als Einzelsubstanzen – mit entsprechender Kettenlänge zu isolieren. Besonders die letzte Trennstufe unter Verwendung eines RP-8 Materials erwies sich als effektiv und schnell. In der Literatur [11] werden zur präparativen Trennung derartiger

Problemgemische bevorzugt mit Silbernitrat imprägnierte Kieselgelschichten eingesetzt; hierbei handelt es sich jedoch um Extrakte mit einem so hohen Gehalt an *n*-Alkylphenolen, daß Verluste durch Oxidation toleriert werden können. In diesen Arbeiten wurde die Konstitution der Seitenketten durch chemischen Abbau untersucht.

Der protonenresonanzspektroskopischen Untersuchung ungesättigter *n*-Alkylphenole wurde dagegen bisher nur wenig Beachtung geschenkt. Der Grund dafür ist das unzureichende Auflösungsvermögen herkömmlicher Spektrometer, bei denen die komplizierten Spinsysteme dieser Verbindungen nicht oder nur teilweise aufgelöste, breite Multipletts verursachen. Du und Oshima [12] konnten die Strukturaufklärung triolefinischer Seitenketten von Catecholen (Urushiolen) durch Verwendung eines 400 MHz Spektrometers verbessern. Die von uns gewonnenen Daten durch Verwendung einer Resonanzfrequenz von 500 MHz, die Durchführung von NOE-Experimenten und insbesondere die Spektrensimulation bedeuten wesentliche weitere Schritte in dieser Richtung. Die Konfiguration der Doppelbindung von Cardanol 15:1 (*n*-7) konnte ohne Rück-

griff auf IR-Daten bewiesen werden. Für die triolefinische Cardanolkomponente konnte dem Spektrum ein vollständiger Parametersatz für die endständige Vinylgruppe entnommen und die *cis*-Konfiguration an C-8 durch ein NOE-Experiment bewiesen werden. Bei Verwendung von deuteriertem Benzol als Lösungsmittel zeigten die Cardanole erstmals eine vollständige Trennung der Signale im aromatischen Bereich, die es erlaubte, die einzelnen Protonen zu identifizieren und das Substitutionsmuster am aromatischen Ring zu bestätigen.

Die zunächst vermutete irritierende Wirkung erwies sich als vernachlässigbar.

#### Dank

Wir danken der Botanischen Staatssammlung München und Frau J. F. Morton, Florida, für die Überlassung von Herbarmaterial von *Schinus terebinthifolius* RADDI, Frau S. Sosath, Deutsches Krebsforschungszentrum, für die Durchführung der Entzündungsteste am Mäuseohr und Herrn W. Kramer, Pharm.-chem. Institut der Universität Heidelberg, für die NMR Spektren bei 250 MHz.

- [1] T. G. Tutin und V. H. Heywood, *Flora Europea*, **Vol. II**, S. 237, Cambridge University Press, London 1981.
- [2] J. F. Morton, *Economic Botany*, **32** (4), 353 (1978).
- [3] G. Dragendorff, *Die Heilpflanzen der verschiedenen Völker und Zeiten*, 6. Aufl., S. 397, Fritsch Verlag, München 1967.
- [4] J. M. Watt und M. G. Breyer-Brandwijk, *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*, 2. Ausgabe, S. 51, Livingstone L.T.D., Edinburgh and London 1962.
- [5] E. Stahl, *Deutsche Apothekerzeitung* **7**, 337 (1982).
- [6] E. Stahl, K. Keller und C. Blinn, *Planta med.* **48**, 5 (1983).
- [7] T. A. Geissman in: *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism* (T. A. Geissman und D. H. G. Crout, eds.), S. 761, Freeman, Cooper & Co., San Francisco 1969.
- [8] E. Hecker, H. Immich, H. Bresch und H. U. Schairer, *Z. Krebsforsch.* **68**, 366 (1966).
- [9] W. W. Christie, *Lipid Analysis*, 2. Ausgabe, S. 3, Pergamon Press, London 1982.
- [10] J. H. P. Tyman, J. C. S. Perkin I, **1973**, 1639.
- [11] J. H. P. Tyman, V. Tychopolous und P. Chan, *J. Chrom.* **303**, 137 (1984).
- [12] Y. Du und R. Oshima, *J. Chrom.* **284**, 463 (1984).
- [13] G. Fürstenberger und E. Hecker, *Z. Naturforsch.* **40c**, 631 (1985).