

Über die Monoterpenglucoside. XI.¹⁾ Chemische Korrelation des Asperulosids mit Swerosid²⁾

HIROYUKI INOUE, TAKASHI YOSHIDA, YUSHIN NAKAMURA
und SHUSAKU TOBITA

Pharmazeutische Fakultät der Universität Kyoto³⁾

(Eingegangen am 3. April 1970)

Durch die Überführung des in der Absolutstruktur abgeklärten Asperulosids (IV) und des Swerosids (III) zu 9-Epidihydrosweosid-tetraacetat ist die chemische Korrelation der beiden Naturstoffe festgestellt. Dabei wurde weiter die Stereochemie der Aglucone von Dihydrosweosid (XXVIII), α -Tetrahydrogentiopicosid (XXV) und 9-Epidihydrosweosid sowie die der aus diesen Agluconen abgeleiteten Dilactone diskutiert.

In der vorigen Arbeit¹⁾ haben wir über die Struktur des Gentiopicosids (I), des Swertiamarins (II) und des Swerosids (III) Bericht erstattet. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der chemischen Korrelation von stereochemisch definiertem Asperulosid⁴⁾ (IV) mit Swerosid (III), die die Grundlage für die Aufklärung der absoluten Struktur der oben genannten Secoiridoidglucoside bildet.

Wie schon anderwärts berichtet, liefert Asperulosid-tetraacetat (V) bei der katalytischen Hydrierung ein Gemisch aus Bisdesoxydeacetylasperulosidsäure-tetraacetat (VI) und Bisdesoxydihydrodeacetylasperulosidsäure-tetraacetat (VII), das bei Oxydation ohne weiteres mit Osmiumtetroxyd 7,8-Diolkörper (VIII) ergab.⁵⁾ Die Perjodat-Oxydation dieses Diolkörpers lieferte 7-Lactolkörper (IX). Er zeigt im Infrarot (IR) Bande der OH-Gruppe bei 3400 cm^{-1} und im Nuklear Magnetischen Resonanz (NMR) Spektrum das Singulett der COCH_3 -Gruppe bei $7,75\ \tau$, aber kein Signal der Aldehydgruppe in kleinerem Feld. Diese Befunde lassen folgern, dass die bei der Oxydation entstandene Aldehyd-Gruppe in dieser Substanz mit der Carboxylgruppe an C-4 einen Lactol-Ring bildet. IX lieferte bei der Acetylierung auf übliche Weise das Acetat (X), $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{16} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{X}$ ergab weiter bei der Reduktion mit Natriumborhydrid den 8-Alkohol-Körper (XI). XI war auch durch Lemieux-Johnson-Oxydation des Hydrierungsprodukts von V, gefolgt von Acetylierung und Reduktion, erhältlich.

Dass die Substanz (X) ein Gemisch der Stereoisomeren an C-7 und die Substanz (XI) ein solches der Isomeren an C-7 und C-8 ist, kann man aus den folgenden spektralen Daten ersehen: So sind die im NMR-Spektrum der Substanz (X) bei $3,27\text{--}3,67\ \tau$ erscheinenden Signale dem Proton an C-7, sowie das Dublett ($J=2\text{ Hz}$) bei $4,10\ \tau$ und das Singulett bei $4,30\ \tau$, die zusammen die Intensität eines Protons ausmachen, dem Proton an C-1 vom Isomerenpaar zuzuschreiben. Ausserdem erscheinen im Spektrum dieser Substanz (X) auch die Signale von 5 OCOCH_3 -Gruppen in komplexer Form. Im NMR Spektrum von XI beobachtet man weiter bei $2,43\ \tau$ das unscharfe Dublett ($J=2\text{ Hz}$) des Protons an C-3, zwei Dublette (jeweils $J=1,5\text{ Hz}$) des C-1 Protons, die zusammen die Intensität eines Protons ausmachen, bei $4,28$ und $4,42\ \tau$, die Signale von 5 OCOCH_3 -Gruppen bei $7,87\text{--}8,05\ \tau$ und die beiden Dublette (jeweils $J=6\text{ Hz}$)

1) X. Mitteil: H. Inouye, S. Ueda und Y. Nakamura, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **18**, 1856 (1970).

2) Ein Teil dieser Arbeit wurde als vorläufige Mitteilung in *Tetrahedron Letters*, **1968**, 4429 veröffentlicht.

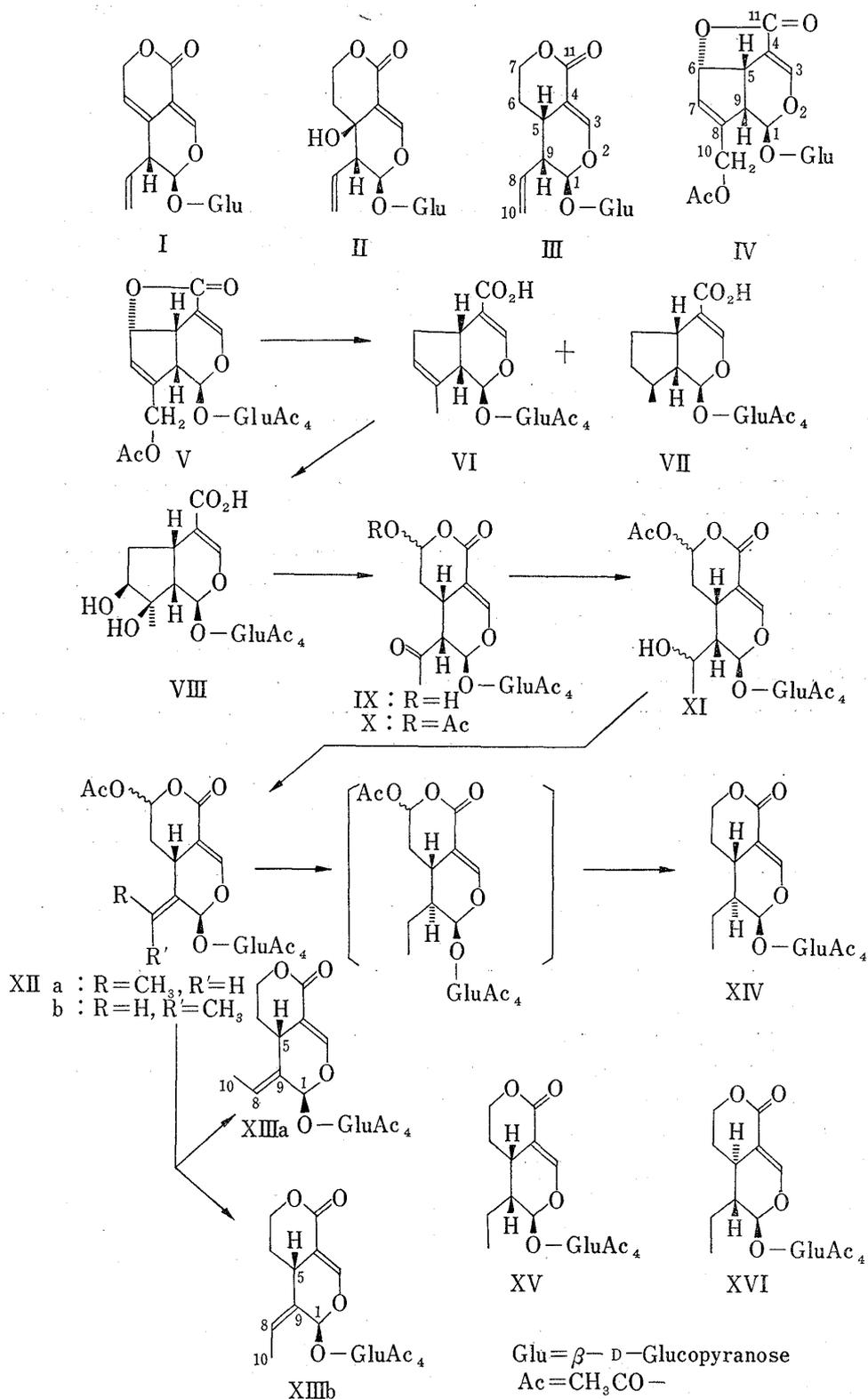
3) Adresse: *Yoshida-Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto*.

4) N. Masaki, M. Hirabayashi, K. Fuji, K. Osaki und H. Inouye, *Tetrahedron Letters*, **1967**, 2367.

5) H. Inouye, T. Yoshida, S. Tobita und M. Okigawa, *Tetrahedron*, **26**, im Druck (1970).

mit der gesamten Intensität von drei Protonen, die von der Gruppierung $-\overset{\text{OH}}{\text{C}}-\text{CH}_3$ herrühren, bei 8,68 und 8,73 τ .

XI ergab bei der Einwirkung von POCl_3 in Pyridin das Wasserabspaltungsprodukt (XII). Im NMR-Spektrum von XII verschwinden die obengenannten Signale bei 8,68 und 8,73 τ ,



Schema 1

erscheinen jedoch erneut die Signale bei 8,25 und 8,35 τ , die von den Methylprotonen der Vinyliden-Gruppe herzurühren scheinen. Ausserdem tritt darin das dem Proton an C-7 zuzuschreibende verbreiterte Signal auf, dessen Intensität einem Proton entspricht.

Aus diesen spektralen Daten kann man leicht folgern, dass es sich auch bei der Substanz (XII) um ein Gemisch der Stereoisomeren an C-7 und C-8 handelt. XII ergab bei der katalytischen Hydrierung über Pd-Kohle, gefolgt von der Reduktion mit Natriumborhydrid sowie Acetylierung, zweierlei Produkte als weisse Nadelchen: (XIIIa), $C_{24}H_{30}O_{13} \cdot H_2O$ vom Schmp. 163—164° sowie (XIV), $C_{24}H_{32}O_{13}$, vom Schmp. 182—183°. Im NMR-Spektrum von XIV erscheinen Signale bei 2,47 τ (d, $J=2$ Hz, H-3), 4,53 τ (brietes s, H-1) und 7,93—8,05 τ ($4 \times OCOCH_3$). Darin fehlt das im Spektrum von XII vorhandene breite Signal des Protons an C-7 bei 3,15—3,75 τ , erscheinen jedoch erneut das Multiplett von zwei Protonen an C-7 bei 5,47—5,67 τ und das deformierte Triplett der Gruppierung $-CH_2\overset{H}{\underset{|}{C}}H_3$ bei 9,03 τ . Diese Befunde legen die Vermutung nahe, dass der Substanz (XIV) — wenn man die Stereochemie nicht berücksichtigt — dieselbe Strukturformel wie dem Dihydrosverosid-tetraacetat¹⁾ (XV) bzw. α -Tetrahydrogentiopicosid-tetraacetat¹⁾ (XVI) zuzuerteilen sein dürfte, und darüber hinaus, dass es sich bei den oben genannten drei Stoffen mit sehr ähnlichen Eigenschaften um die Stereoisomeren an C-5, C-9 bzw. C-1 handeln dürfte. XIIIa zeigt im NMR-Spektrum Signale bei 2,42 τ (d, $J=2$ Hz, H-3), 4,20 τ (d, $J=2$ Hz, H-1), 7,90—8,05 τ ($4 \times OCOCH_3$) und darauf noch bei 8,35 τ (d, $J=7$ Hz, $-\overset{H}{\underset{|}{C}}=C-CH_3$).

denkbar, dass diese Substanz aus einem in der Substanz (XII) vorhandenen Stereoisomeren (XIIa), deren, 8,9-Doppelbindung wegen sterischer Hindernisse bei der Hydrierung intakt geblieben war, durch Reduktion der Acetalgruppe an C-7 gebildet ist.

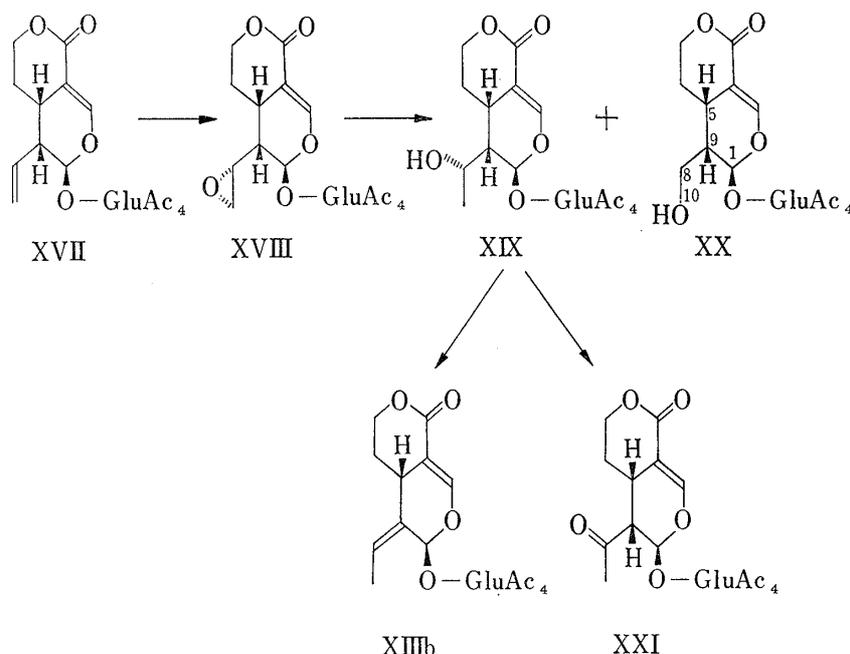
Aus dem Wasserabspaltungsprodukt (XIIa+XIIb) erhielt man bei der Reduktion mit Natriumborhydrid, Acetylierung und durch darauffolgende chromatographische Trennung an Silicagel die Substanz (XIIIb), $C_{24}H_{30}O_{13}$, vom Schmp. 176—179°. Dabei liess sich im Dünnschichtchromatogramm des Acetylierungsprodukte ausser der Substanz (XIIIb) noch eine Verbindung nachweisen, die genauso wie XIIIa lief. Wegen der vorhandenen kleinen Menge konnte man sie aber nicht fassen. XIIIb zeigt im NMR-Spektrum Signale bei 2,49 τ (d, $J=2$ Hz, H-3), 3,88 τ (s, H-1), 5,40—5,65 τ (m, H-7), 6,50—6,95 τ (m, H-5), 7,93—8,05 τ ($4 \times OCOCH_3$) und schliesslich bei 8,23 τ (dd, $J_{10,8}=7$ Hz, $J_{10,5}=2$ Hz, $-\overset{H}{\underset{|}{C}}=CH-CH_3$). Daraus geht hervor, dass es sich bei den Substanzen (XIIIa) und (XIIIb) um geometrische Isomeren an der 8,9-Doppelbindung handelt.

Die NMR-Befunde, dass das Proton an C-1 von XIIIa als Dublett ($J=2$ Hz) bei 4,20 τ und das von XIIIb dagegen als Singulett bei 3,88 τ erscheint, dürfte man wohl dabei folgendermassen erklären können: Da die Gruppierung $C_{10}-C_8=C_9-C_1$ in XIIIa trans-ständig angeordnet ist und die Methylgruppe (C-10) mit der Gruppierung $-C_{(6)}H_2-$ in Wechselwirkung steht, liegt der Dihydropyranring dieser Substanz in einer Halbwannen-Konformation vorliegen. Infolgedessen erscheint das Proton an C-1, das in α -axialer Stellung innerhalb des "Shielding"-Bereichs der 3,4-Doppelbindung vorliegt und das mit dem Proton an C-8 in Allylkopplung steht, bei höheren Feldstärken. Da die Gruppierung $C_{10}-C_8=C_9-C_1$ in XIIIb dagegen *cis*-konfiguriert ist, liegt der Dihydropyranring dabei wegen der Wechselwirkung zwischen Methyl (C-10)- und Glucosyloxygruppe in einer, "Twist"-Form und darüber hinaus die Glucosyloxygruppe in β -axialer Stellung vor. Das somit in α -äquatorialer "Stellung" stehende Proton an C-1, das sowohl ausserhalb des "Shielding"-Bereichs der 3,4-Doppelbindung als auch innerhalb des "Deshielding"-Bereichs der 8,9-Doppelbindung vorhanden ist, erscheint dabei als Singulett bei kleineren Feldstärken. Der Quartett-Charakter der Methylgruppe bei 8,23 τ im NMR-Spektrum von XIIIb besagt weiter, dass die Protonen dieser Gruppe mit dem Proton an C-5 in Homoallylkopplung stehen müssen, da das Proton an C-1 von dieser Substanz, wie oben erwähnt, als Singulett erscheint. Diese Tatsache stützt auch die obige

Auslegung über die Konformation des Dihydropyranrings der Verbindung XIIIb. Die Tatsache, dass die Verbindung XIIIa der katalytischen Hydrierung stärker als XIIb widersteht,⁶⁾ könnte auch in der oben angeführten Konformation von XIIIa — d. h. der von XIIa — ihre Erklärung finden.

Während sich die Verbindung XIV, die wie oben erwähnt, aus Asperulosid übergeführt wurde, weder mit Dihydrosverosid-tetraacetat (XV) noch mit α -Tetrahydrogentiopicosid-tetraacetat (XVI) identifizieren liess, gelang uns doch schliesslich die Ableitung von Swerosid zu Verbindung (XIIIb), nämlich die Korrelation von Swerosid mit Asperulosid.

Die Einwirkung von *m*-Chlorperbenzoesäure auf Swerosid-tetraacetat (XVII) resultierte in der Bildung des Epoxyds (XVIII), $C_{24}H_{30}O_{14}$, vom Schmp. 200—205°. Diese Substanz zeigt im IR Banden bei 1705 und 1620 cm^{-1} und im Ultraviolett (UV) Absorption bei 242 nm ($\log \epsilon$ 3,69). In ihrem NMR-Spektrum erscheint das Dublett ($J=2,5$ Hz) des Protons an C-3 bei 2,39 τ und das Dublett ($J=1,5$ Hz) des Protons an C-1 bei 4,35 τ . Darin fehlen die Signale der Vinylprotonen, treten jedoch die Signale der drei Protonen an C-8 und C-10 in Überlagerung mit den Signalen des Protons an C-5 im Bereich von 6,90—7,55 τ auf. Somit wird dieser Substanz die Struktur des 8,10-Epoxyds erteilt.



Schema 2

XVIII lieferte bei der katalytischen Hydrierung über Pd-Kohle in Essigsäureäthylester, der mit einem Tropfen 60% iger Perchlorsäure-Lösung versetzt worden war, zweierlei Alkohol-Körper: XIX $C_{24}H_{32}O_{14} \cdot 1/2 H_2O$, vom Schmp. 138—139° und XX, $C_{24}H_{32}O_{14} \cdot 2 H_2O$, vom Schmp. 172—173°. Die beiden Stoffe zeigen in IR-Spektren Banden bei 3700—3300, 1705 und 1620 cm^{-1} . Im NMR-Spektrum zeigt der erste das Dublett ($J=6$ Hz) der Gruppierung $\begin{array}{c} H \\ | \\ -C-CH_3 \\ | \\ OH \end{array}$ bei 8,67 τ , der letztere dagegen die Signale der Gruppierung $-CH_2CH_2OH$ in Über-

lagerung mit der des Protons an C-5' um 6,33 τ . Daraus geht hervor, dass die Verbindung (XIX) den 8-Alkohol- und die Verbindung (XX) den 10-Alkohol-Körper darstellt. XIX

6) Die Bildung von XIIIa und XIV aus XII könnte so gedeutet werden, dass XIIb nach der Hydrierung zu XIV, wogegen XIIa, ohne hydriert zu werden, zu XIIIa reduziert wurde.

ergab bei der Einwirkung von POCl_3 in Pyridin das Dehydratisierungsprodukt, $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$, vom Schmp. 176—179°. Diese Substanz erwies sich sowohl durch Mischprobe als auch durch Vergleich der IR- sowie der NMR-Spektren als identisch mit der oben erwähnten Verbindung (XIIIb), die ihrerseits aus Asperulosid (IV) abgeleitet wurde.

Somit wurde klargelegt, dass Swerosid (III) an allen asymmetrischen Zentren bis auf das an C-9 die gleiche Konfiguration wie Asperulosid (IV) besitzt. Bei der obigen Wasserabspaltungsreaktion von XIX liess sich als einziges Dehydratisierungsprodukt die Verbindung (XIIIb) erhalten. Unter der Annahme, dass diese Reaktion als *trans*-Eliminierung erfolgte, und auch im Hinblick auf die Geometrie der 8,9-Doppelbindung der Substanz (XIIIb) müsste das Zentrum 8 von XIX⁷⁾ die S-Konfiguration, und darüber hinaus dasselbe von XVIII die R-Konfiguration einnehmen. XIX lieferte weiter bei der Jones-Oxydation den entsprechenden 8-Keto-Körper (XXI), $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$, vom Schmp. 182—186°, dessen NMR-Spektrum das Singulett der Gruppierung $-\text{COCH}_3$ bei 7,77 τ aufweist.

Die Absolutkonfiguration am Zentrum 9 des Swerosids (III) wurde schon in der letzten Mitteilung hauptsächlich mit Hilfe der Doppelresonanzversuche definiert. Diese Charakterisierung erfährt erneut eine Bestätigung durch den folgenden Vergleich von Aglucon (XXII) des Dihydroswerosids und von dessen Oxydationsprodukte mit den entsprechenden Verbindungen, die aus α -Tetrahydrogentiopicosid (XXV) sowie aus Verbindung (XIV) abgeleitet werden.

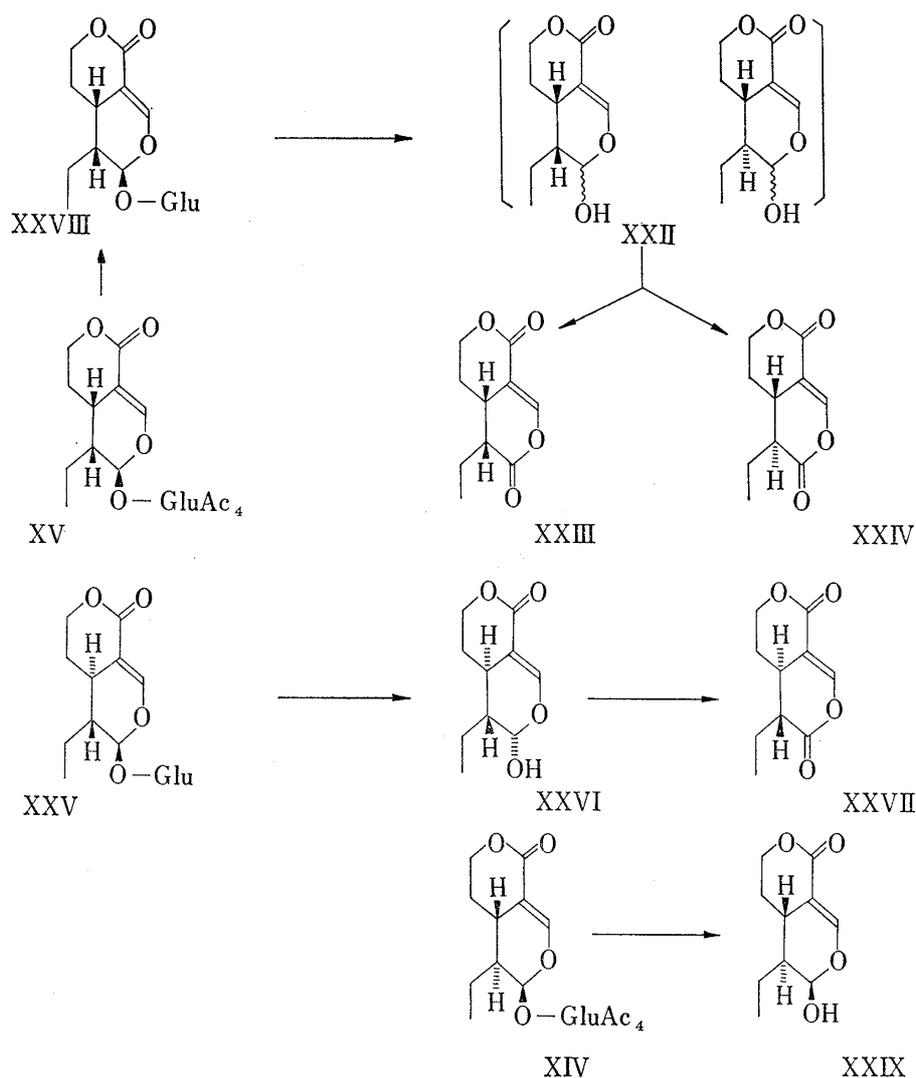
Dihydroswerosid-tetraacetat (XV) ergab bei Zempénscher Reaktion und bei der anschliessenden Hydrolyse mit β -Glucosidase amorphes Aglucon (XXII). Es zeigt im IR ausser den Banden für OH-Gruppen bei 3370 und 3620 cm^{-1} auch die für Gentipicosid (I), Swertiamarin (II) und dgl. m. charakteristischen Banden bei 1700 und 1610 cm^{-1} . In seinem NMR Spektrum treten die Signale bei 2,37 τ (d, $J=2$ Hz, H-3), 2,40 τ (d, $J=2$ Hz, H-3), 4,46 τ (H-1), 5,36—5,92 τ (H_2 -7) und 8,77—9,20 τ (H_3 -10) auf. Die unscharfen Figuren dieser Signale und besonders die Häufung von zwei Dubletten um 2,38 τ weisen aber darauf hin, dass es sich bei dieser Substanz um ein Gemisch von Stereoisomeren handelt. Die Jones-Oxydation von Substanz (XXII) lieferte beide Produkte: XXIII, $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$, vom Schmp. 89—90° und XXIV, $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$, vom Schmp. 122°. Sie zeigen im IR ausser Banden bei 1710—1715 cm^{-1} und 1635—1640 cm^{-1} , die dem Spektrum von I, II bzw. III charakteristisch sind, Bande für $\Delta^{7\delta}$ - δ -Lacton bei 1780—1785 cm^{-1} , während man darin keine OH-Bande beobachtet. In ihren NMR-Spektren verschwindet weiter das Signal des Protons an C-1. Diese Befunde legen die Vermutung nahe, dass die Substanzen (XXIII) und (XXIV) die (C-9)-epimeren Dilactone darstellen, die durch Oxydation von Hemiacetal an C-1 aus XXII gebildet wurden. Die 100 MHz-Doppelresonanzversuche⁸⁾ zeigen, dass das Signal des Protons an C-5 und des Protons an C-9 von XXIII jeweils bei 6,88 bzw. 7,31 τ erscheint, und dass ihre Kopplungskonstante 4,3 Hz beträgt, während die entsprechenden Signale von XXIV mit $J_{5,9}$ -Wert von 11,7 Hz je bei 7,24 τ und 7,82 τ auftreten. Daraus geht hervor, dass die Substanz (XXIII) den 5,9-*cis*-Körper und die Substanz (XXIV) den 5,9-*trans*-Körper darstellt.

Die starke Verlagerung des Signals des Protons an C-9 von dem *cis*-Körper nach den niederen Feldstärken sollte dabei auf den "Deshielding"-Effect der $\text{C}_{(1)}=0$ Gruppierung zurückzuführen sein. Daher sollte der α -Dihydropyranring dieser Substanz in Halbsesselform vorliegen, dagegen der des *trans*-Körpers folglich in Halbwannenform. Die Substanzen (XXIII) und (XXIV) sind auch in kristalliner Form sehr unbeständig. Besonders zerfällt die *cis*-Verbindung schon im Laufe einiger Wochen vollständig.

Das Gentipicosid (I) lieferte bei katalytischer Hydrierung über Pd-Kohle in Methanol α -Tetrahydrogentiopicosid (XXV), $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_9$, vom Schmp. 195°, das im UV Absorption bei

7) Näheres über die Stereochemie von 8-Alkohol-Körpern wird in einer folgenden Mitteilung dargestellt werden.

8) Die Doppelresonanzspektren wurden mit einem Varian HA 100 Spektrometer in Deuteriochloroform mit Tetramethylsilan als internem Standard aufgenommen.



Schema 3

250 nm ($\log 4,06$) und im NMR-Spektrum (CD_3OD) Signale bei $2,38 \tau$ (d, $J=2$ Hz, H-3), $4,53 \tau$ (d, $J=9$ Hz, H-1) und $9,08 \tau$ (t, $J=7$ Hz, H_3 -10) zeigt. Es lieferte bei Acetylierung α -Tetrahydrogentiopicrosid-tetraacetat (XVI). XXV ergab bei der Hydrolyse mit β -Glucosidase als einziges kristallines Aglucon das α -Tetrahydrogentiogenin (XXVI), $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4$, vom Schmp. 98° . Es zeigt im IR Banden bei $3300, 1678$ und 1610 cm^{-1} . In seinem NMR-Spektrum treten die Signale bei $2,37 \tau$ (d, $J=2$ Hz, H-3), $4,43 \tau$ (q, $J=4$ Hz, 1 Hz, H-1 (dieses Quartett verwandelt sich durch Zusatz von D_2O in ein Dubeltt mit $J=1$ Hz)) und $9,02 \tau$ (t, $J=7$ Hz, H_3 -10) auf. Die Jones-Oxydation dieses Aglucons lieferte Dilacton (XXVII), $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$, vom Schmp. 120° . Das IR- sowie das NMR-Spektrum dieses Dilactons (XXVII) stimmen mit denen von XXIV überein, während die positive „plain“-ORD-Kurve von XXVII fast das an der Abszisse gespiegelte Bild der Kurve der Verbindung (XXIV) darstellt. Daraus ist klargelegt, dass die beiden Substanzen Antipoden voneinander sind.

Die Tatsache, dass Dihydroswerosid (XXVIII) bei der enzymatischen Hydrolyse ein Gemisch der beiden epimeren Aglucone ergab und das letztere weiter bei der Oxydation zwei epimere Lactone (XXIII) und (XXIV) lieferte, während man aus α -Tetrahydrogentiopicrosid (XXV) bei derselben Aufarbeitung nur ein einziges Aglucon (XXVI) und ein einziges Lacton (XXVII) erhielt, welches letzteres seinerseits den Antipoden von XXIV darstellte, dürfte sich dadurch erklären, dass die Zentren 5 und 9 des Dihydroswerosids (XXVIII) in

TABELLE I. NMR Signale der Verbindungen XIII—XXVI

	C ₁ -H	C ₃ -H	C ₅ -H	C ₆ -H
XIIIa CDCl ₃	4,20 d <i>J</i> =2	2,42 d <i>J</i> =2	6,75—7,25 m	~
XIIIb CDCl ₃	3,88 s	2,49 d <i>J</i> =2	6,50—6,95 m	~
XIV CDCl ₃	4,53 bs	2,47 d <i>J</i> =2	~	~
XVIII CDCl ₃	4,35 d <i>J</i> =1,5	2,39 d <i>J</i> =2,5	6,90—7,55 m	8,10—8,50 m
XIX CDCl ₃	4,19 d <i>J</i> =2	2,40 d <i>J</i> =2,5	6,70—7,35 m	7,80—8,30 m
XX CDCl ₃	4,21 d <i>J</i> =1,5	2,39 d <i>J</i> =2	6,75—7,25 m	7,60—8,40 m
XXI CDCl ₃	4,38 d <i>J</i> =1	2,48 d <i>J</i> =2	6,90—7,33 m	—8,30 m
XXIII CDCl ₃	—	2,34 d <i>J</i> =2,5	6,88 m	7,80—8,50 m
XXIV CDCl ₃	—	2,31 d <i>J</i> =2,5	7,24 m	8,00—8,58 m
XXV D ₂ O	4,53 d <i>J</i> =9	2,38 d <i>J</i> =2	7,08—8,00 m	8,05—8,77 m
XXVI CDCl ₃	4,43 dd <i>J</i> =4 u.1 (D ₂ O d, <i>J</i> =1)	2,37 d <i>J</i> =2	~	~

	C ₇ -H	C ₈ -H	C ₁₀ -H	C ₉ -H	GluAc ₄
XIIIa CDCl ₃	5,42—5,65 m	~	8,35 d <i>J</i> =7	—	7,90—8,05
XIIIb CDCl ₃	5,40—5,65 m	4,25—4,57 m	8,23 dd <i>J</i> =7 u. 2	—	7,93—8,05
XIV CDCl ₃	5,40—5,65 m	~	9,03 m	~	7,93—8,05
XVIII CDCl ₃	5,45—5,67 m	6,90—7,55 m	8,10—8,50 m	8,10—8,50 m	7,92—8,05
XIX CDCl ₃	5,45—5,65 m	5,93—6,40 m	8,67 d <i>J</i> =6	7,80—8,30 m	7,90—8,02
XX CDCl ₃	5,45—5,70 m	7,60—8,40 m	6,33 bs	7,60—8,40 m	7,92—8,02
XXI CDCl ₃	5,47—5,83 m	—	7,77 s	6,70—6,90 m	7,90—8,02
XXIII CDCl ₃	5,44—5,96 m	7,80—8,50 m	9,04 t <i>J</i> =7	7,31 m	—
XXIV CDCl ₃	5,44—5,96 m	8,00—8,58 m	9,00 t <i>J</i> =7	7,82 m	—
XXV D ₂ O	5,40—5,73 m	8,05—8,77 m	9,08 t <i>J</i> =7	7,08—8,00 m	—
XXVI CDCl ₃	5,32—6,00 m	~	9,02 t <i>J</i> =7	~	—

der labileren *cis*-Konfiguration — die 5 *S*-, 9 *R*- Chiralität — vorliegen und die Hydrolyse der Glucosidbindung daher die teilweise Änderung der Konfiguration an C-9 mit sich bringt, während die *trans*-konfigurierten Zentren 5 und 9 des α -Tetrahydrogentipicosids (XXV) bei der Hydrolyse unverändert bleiben.

Die aus Asperulosid (IV) abgeleitete Verbindung (XIV) ergab bei Zempléner Reaktion und anschließender enzymatischer Hydrolyse das Aglucon (XXIX), $C_{10}H_{14}O_4$, vom Schmp. 98°. XXIX und XXVI zeigen identische IR und NMR Spektren. Ihre ORD Kurven erscheinen aber als Spiegelbilder, indem die von XXIX einen negativen normalen Lauf nimmt.⁹⁾

Auch aus der oben erwähnten Beziehung zwischen den Verbindungen (XXIV), (XXVI), (XXVII) und (XXIX) lässt sich bestätigen, dass Swerosid (III) die 5 *S*- und 9 *R*-Konfiguration besitzt, während α -Tetrahydrogentipicosid (XXV) 5 *R*- und 9 *R*-konfiguriert ist, und darüber hinaus, dass es sich bei der Verbindung (XIV) um das 9-Epidihydrosverosid-tetraacetat mit der 9 *S*-Konfiguration handelt.

Experimenteller Teil¹⁰⁾

Perjodat-Oxydation des 7,8-Diol-Körpers (VIII)—0,75 g VIII wurden in 20 ml MeOH gelöst, mit einer Lösung von 0,5 g $NaIO_4$ in 3 ml H_2O versetzt und 1 Std. bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zusatz von viel Wasser wurde die Lösung mit $CHCl_3$ extrahiert, die $CHCl_3$ -Phase über $MgSO_4$ getrocknet und eingedampft. Dabei erhielt man in quantitativer Ausbeute weisses amorphes Pulver IX, dessen Dünnschichtchromatogramm ($CHCl_3:MeOH=8:2$) einen einzigen Fleck zeigt. IR $\nu_{max}^{Nujol} cm^{-1}$: 3400, 1745, 1705, 1620. NMR ($CDCl_3$) τ : 2,47 (b s, H-3), 4,45 (d, $J=6$ Hz, H-1), 7,75 (s, $-COCH_3$), 7,88—8,00 ($4 \times OCOCH_3$).

Acetylierung des Lactol-Körpers (IX)—Eine Lösung von 0,74 g Lactol-Körper (IX) in 3 ml Pyridin wurde nach Zusatz von 3 ml Ac_2O über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Dann wurde die Lösung in Eiswasser getan und mit $CHCl_3$ extrahiert. Die $CHCl_3$ -Phase wurde neutral gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und abgedampft. Dabei erhielt man 0,69 g amorphes Pulver von X, das sich dünnschichtchromatographisch ($CHCl_3:MeOH=98:2$) einheitlich verhielt. IR $\nu_{max}^{CHCl_3} cm^{-1}$: 1760, 1630, 1440, 1380. NMR ($CDCl_3$) τ : 2,45 (d, $J=2$ Hz, H-3), 3,27—3,67 (m, H-7), 4,10 (d, $J=2$ Hz, H-1), 4,30 (b s, H-1), 7,75 (s, $-COCH_3$), 7,85—8,05 ($5 \times OCOCH_3$). $C_{26}H_{32}O_{16} \cdot H_2O$ Ber. C, 50,49; H, 5,55; Gef. C, 50,72; H, 5,40.

Reduktion von Lactol-tetraacetat (X) mit $NaBH_4$ —Eine Lösung von 2,0 g X in 90 ml Dioxan wurde nach Zusatz von 1 g $NaBH_4$ 2 Std. bei Zimmertemperatur gerührt, mit 20 ml H_2O und einigen Tropfen HOAc versetzt. Nach Filtrieren wurde das Filtrat i. Vak. auf ca. 40 ml konzentriert und mit $CHCl_3$ extrahiert. Die $CHCl_3$ -Phase wurde mit 5% iger $NaHCO_3$ -Lösung, dann mit H_2O gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und abgedampft. Der Rückstand wurde an einer Silicagelsäule (100 g) zuerst mit $CHCl_3$ und dann mit $CHCl_3$ -MeOH (98:2) eluiert. Die mit dem letzteren Elutionsmittel ausfließenden Fraktionen, die sich dünnschichtchromatographisch ($CHCl_3:MeOH=95:5$) einheitlich verhielten, wurde gesammelt und abgedampft, wobei 0,75 g amorphes Pulver von XI erhalten wurden. IR $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 1755, 1630. NMR ($CDCl_3$) τ : 2,43 (d, $J=2$ Hz, H-3), 3,40—3,80 (m, H-7), 4,28 (d, $J=1.0$ Hz, H-1), 4,42 (d, $J=1,5$ Hz, H-1), 7,87—8,05 ($5 \times OCOCH_3$), 8,68 und 8,73 (jeweils d, $J=6$ Hz, $-CH-\overset{\overset{OH}{|}}{C}$).

Darstellung von Alkohol-Körper (XI) durch Lemieux-Johnson-Oxydation von Bisdesoxydeacetylasperulosidsäure-tetraacetat (VI) und anschließende Acetylierung und Reduktion—9,5 g Hydrierungsprodukt des Asperulosid-tetraacetats (V), das aus 5 Teilen VI und 1 Teil VII besteht, wurden in 90 ml Dioxan- H_2O (75:25) gelöst, mit 0,12 g OsO_4 versetzt und 10 Min gerührt. Die Lösung wurde danach portionenweise

- 9) Die Erscheinung des Protons an C-1 von XXVI bzw. XXIX als Dublett ($J=1$ Hz) bei 4,43 τ deutet darauf hin, dass dieses Proton in der äquatorialen Stellung sein muss. Daher könnte man wohl annehmen, dass die Hydrolyse von XXV die vollständige Umkehrung der Konfiguration an C-1 mit sich bringt, während die Konfiguration am betreffenden Zentrum des Epidihydrosverosids bei der Hydrolyse zu XXIX unverändert bleibt. Sonst sollte der Dihydropyranring der beiden Aglucone—auf Grund des J -Werts des Protons an C-1—in der ungünstigeren Halbwannenform mit der pseudoaxialen 9-Äthyl- bzw. -1-Hydroxylgruppe vorliegen.
- 10) Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert und wurden auf dem Mikroheizapparat nach Dr. Hozumi (Yanagimoto-Seisakusho, Kyoto) bestimmt. Die NMR Spektren wurden, soweit nicht anders angegeben, mit einem Varian A 60 Spektrometer in Deuteriochloroform mit Tetramethylsilan als internem Standard gemessen. Die Massenspektren wurden durch Hitachi Massenspektrometer, Modell RMU 6D, aufgenommen. Zur Dünnschichtchromatographie (DC) diente Silica gel G nach Stahl (E. Merck). Die Sichtbarmachung wurde durch Bedampfen der Platte mit Jod durchgeführt. Zur Säulenchromatographie diente Silica gel (Mallinckrodt).

innerhalb von 1,5 Std. mit 7 g NaIO_4 versetzt und weitere 2 Std. umgerührt. Die Lösung wurde vom ausgeschiedenen Niederschlag abgetrennt und dieser mit CHCl_3 gewaschen. Das Filtrat und die Waschlösung wurden vereinigt, i. Vak. auf ca. 40 ml konzentriert und nach Zusatz von viel CHCl_3 mit H_2O gewaschen. Die CHCl_3 -Phase wurde dann über MgSO_4 getrocknet und i. Vak. eingedampft. Die Acetylierung des dabei zurückbleibenden dunkelbraunen amorphen Pulvers mit je 20 ml Pyridin und Ac_2O und die darauffolgende übliche Aufarbeitung ergab ca. 7 g Rohprodukt (IX) als amorphes Pulver. 2 g davon wurden in 90 ml Dioxan gelöst, mit 1 g NaBH_4 versetzt und 1 Std. umgerührt. Nach Zerstörung von überschüssigem NaBH_4 durch Zusatz von verd. HOAc wurde die Lösung filtriert. Das Filtrat wurde i. Vak. konzentriert, mit CHCl_3 geschüttelt, die CHCl_3 -Phase mit H_2O gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand dabei wurde an einer Silicagelsäule (100 g) chromatographiert. Als Elutionsmittel diente zuerst CHCl_3 und dann CHCl_3 -MeOH (99:1). Die mit dem letzteren Elutionsmittel eluierten Fraktionen, die sich dünn-schichtchromatographisch (CHCl_3 :MeOH=95:5) einheitlich verhielten, wurden gesammelt und abgedampft. Dabei erhielt man 711 mg XI als weisses Pulver.

Wasserabspaltung von Alkohol-Körper (XI) mittels POCl_3 —Eine Lösung von 0,2 g XI in 2 ml Pyridin versetzte man unter Eiskühlung mit 0,6 ml POCl_3 . Nach Stehenlassen über Nacht bei Raumtemperatur wurde die Lösung tropfenweise in Eiswasser getan. Der dabei gebildete Niederschlag wurde in CHCl_3 aufgenommen, die CHCl_3 -Lösung mit 5% iger NaHCO_3 -Lösung, dann mit H_2O gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und abgedampft, wobei 0,05 g amorphes Pulver (XII) zurückblieben. Es erwies sich dünn-schichtchromatographisch (CHCl_3 :MeOH=99:1) einheitlich. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1760, 1630. NMR (CDCl_3)

τ : 2,43 (H-3), 3,15—3,75 (m, H-7), 8,25 $\left(q, J=7 \text{ Hz}, J=2 \text{ Hz}, \begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ \text{C} \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array} \right)$, 8,35 $\left(d, J=7 \text{ Hz}, \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ | \\ \text{C} \\ | \\ \text{O} \end{array} \right)$.

Katalytische Hydrierung von Wasserabspaltungsprodukt (XII) und anschliessende Reduktion des hydrierten Körpers mit NaBH_4 —0,7 g XII wurden in 50 ml MeOH über Pd-Kohle (aus 2,5 ml 5% iger PdCl_2 -Lösung und 0,2 g Norit bereit) hydriert. Nach Aufnahme von etwa 1 Mol-Äqu. H_2 wurde die Lösung vom Katalysator abfiltriert und das Filtrat i. Vak. eingedampft. 0,6 g des Rückstands wurde in 23 ml ÄtOH gelöst, mit 0,2 g NaBH_4 versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zerstörung von überschüssigem NaBH_4 durch Zusatz von verd. HOAc wurde die Lösung i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde mit 4 ml Pyridin und 4 ml Ac_2O acetyliert. Die übliche Aufarbeitung ergab das Rohprodukt, das bei Umlösung aus ÄtOH 0,1 g farblose Nadelchen (XIV) vom Schmp. 182—183° lieferte. Der Rückstand aus der Mutterlauge wurde mit Äther an einer Silicagelsäule chromatographiert. Es wurden Fraktionen von je 5 ml genommen und dünn-schichtchromatographisch (Äther) untersucht. Fr. 34—48 lieferten weitere 62 mg Verbindung (XIV) und Fr. 55—68 30 mg Verbindung (XIIIa). Die letztere lieferte bei Umlösung aus ÄtOH farblose Nadeln vom Schmp. 163—164°. XIIIa (α_D^{25} -125° ($c=0,40$, CHCl_3)). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1745, 1695, 1630. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 245(3,94). $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{13} \cdot \text{H}_2\text{O}$: Ber. C, 52,94; H, 5,93; Gef. C, 52,90; H, 5,95. XIV (α_D^{25} -201° ($c=0,63$, CHCl_3)). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1750, 1710, 1620. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 242 (3,96). $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_{13}$: Ber. C, 54,54; H, 6,06; Gef. C, 54,28; H, 6,28.

Reduktion von Wasserabspaltungsprodukt (XII) mit NaBH_4 und anschliessende Acetylierung—Eine Lösung von 0,3 g XII in 35 ml ÄtOH wurde mit 0,3 g NaBH_4 versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zusatz von verd. Essigsäure wurde die Lösung i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde mit 10 ml Pyridin und 10 ml Ac_2O acetyliert und auf übliche Weise aufgearbeitet. Der Rückstand wurde an einer Silicagelsäule (20 g) chromatographiert. Elution erfolgte mit CHCl_3 . Es wurden je 4 ml in Glas aufgefangen und dünn-schichtchromatographisch (Äther) untersucht. Fr. 59—74 lieferten 13 mg rohe Verbindung (XIIIb), die bei Umlösung aus ÄtOH farblose Nadeln vom Schmp. 176—179° lieferte. Das Dünn-schichtchromatogramm (Äther) von Fr. 75—77 zeigte einen einzigen Fleck, der langsamer als XIIIb läuft und dem von XIIIa entspricht. XIIIb (α_D^{25} -120° ($c=0,40$, CHCl_3)). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1750, 1710, 1620. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 244 (3,94). $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$: Ber. C, 54,74; H, 5,75; Gef. C, 54,35; H, 5,79.

Epoxydierung von Swerosid-tetraacetat (XVII)—1,5 g XVII wurden in 10 ml abs. Benzol gelöst, mit einer Lösung von 0,4 g *m*-Chlorperbenzoesäure in 10 ml abs. Benzol versetzt und 2 Tage bei 50° stehen gelassen. Nach Zugabe weiterer 0,4 g *m*-Chlorperbenzoesäure wurde die Lösung noch einen Tag bei gleicher Temperatur aufbewahrt. Nach Zusatz von 100 ml CHCl_3 wurde die Lösung mit 5% iger NaOH -Lösung und dann mit H_2O gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde mit CHCl_3 -MeOH (99:1) an einer Silicagelsäule (30 g) chromatographiert. Es wurden je Glas 30 ml aufgefangen. Die Untersuchung der Fraktionen wurde durch DC (CHCl_3 :MeOH=98:2) durchgeführt. Fr. 1—6 gaben 0,3 g Ausgangsmaterial (XVII) und Fr. 9—14 0,64 g rohes Epoxyd (XVIII), das sich bei Umlösen aus ÄtOH in farblosen Prismen vom Schmp. 200—205° kristallisierte. Ausbeute 0,52 g. (α_D^{18} -164° ($c=1,1$, CHCl_3)). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1750, 1705, 1620. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ) 242 (3,96). $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$: Ber. C, 53,11; H, 5,58; Gef. C, 52,89; H, 5,70.

Katalytische Hydrierung des Epoxydswerosid-tetraacetats (XVIII)—252 mg Epoxyd (XVIII) wurden in 20 ml AcOÄt gelöst, mit einem Tropfen 60% iger HClO_4 -Lösung versetzt, über Pd-Kohle (aus 3 ml 5% iger PdCl_2 -Lösung und 0,3 g Norit bereit) katalytisch hydriert. Innerhalb von 5 Std. wurden etwas mehr als 1,5 Mol H_2 aufgenommen. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde das Filtrat neutral gewaschen, über

MgSO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde an Silicagel (30 g), CHCl₃-MeOH (99:1) als Elutionsmittel, chromatographiert. Es wurden Fraktionen von je 20 ml genommen. Untersuchung der Fraktionen erfolgte in DC (CHCl₃:MeOH=95:5). Fr. 2—3 lieferten 10 mg Dihydrosverosid-tetraacetat (XV), das durch Vergleich der IR-Spektren als solches identifiziert wurde. Fr. 6—7 gaben 0,1 g 10-Hydroxy-Körper (XX), das bei Umlösung aus Äther in farblosen Nadeln vom Schmp. 172—173° anfiel. Ausbeute 32 mg. Fr. 9—10 gaben weiter 65 mg 8-Hydroxy-Körper (XIX), der bei Umlösung aus Äther 24 mg farblose Nadeln vom Schmp. 138—139° lieferte. XIX (α_D^{25} -144° ($c=0,21$, CHCl₃)). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3700—3300, 1750, 1705, 1620. UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 246 (3,94). C₂₄H₃₂O₁₄·1/2 H₂O Ber. C, 52,08; H, 6,01; Gef. C, 51,98; H, 5,91. XX (α_D^{16} -160° ($c=0,9$, CHCl₃)). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3700—3300, 1750, 1705, 1620. UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 245 (3,93). C₂₄H₃₂O₁₄·2H₂O: Ber. C, 49,66; H, 5,25; Gef. C, 49,58; H, 5,39.

Wasserabspaltung von 8-Hydroxy-Körper (XIX) Mittels POCl₃—60 mg XIX wurden in 1 ml Pyridin aufgelöst, mit 0,3 ml POCl₃ versetzt, über Nacht in der Kälte aufbewahrt, die Lösung in Eiswasser getan und mit CHCl₃ ausgezogen. Die CHCl₃-Phase wurde neutral gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und eingedampft. Umlösung des Rückstands aus ÄtOH ergab 45 mg farblose Prismen vom Schmp. 176—179°, die sich nach Mischprobe, IR- und NMR-Spektrum als identisch mit XIIIb erwiesen. (α_D^{25} -136° ($c=0,16$, CHCl₃)). C₂₄H₃₀O₁₃: Ber. C, 54,75; H, 5,76; Gef. C, 54,55; H, 5,75.

Jones-Oxydation des 8-Hydroxy-Körpers (XIX)—Zu einer Lösung von 0,20 g XIX in 10 ml Aceton wurde die Jones-Reagenz¹¹⁾ portionenweise bis zum Verschwinden des Flecks des Ausgangsmaterials in DC (CH₂Cl₂:MeOH=85:5) eingetropft. Nach Versetzen mit H₂O wurde die Lösung mit CH₂Cl₂ extrahiert, die CH₂Cl₂-Phase über MgSO₄ getrocknet und abgedampft. Der Rückstand ergab bei Umlösung aus ÄtOH 93 mg farblose Nadeln (XXI) vom Schmp. 182—186°. (α_D^{16} -181° ($c=1,4$, CHCl₃)). IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1750, 1710, 1625. UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 245 (3,91). C₂₄H₃₀O₁₄: Ber. C, 53,11; H, 5,58; Gef. C, 53,39; H, 5,83.

Zemplénsche Reaktion von Dihydrosverosid-tetraacetat (XV) und die Enzymatische Hydrolyse des Dihydrosverosids (XXVIII)—4,0 g XV wurden in 50 ml abs. MeOH warm gelöst, mit 5 ml 0,1N methanol. NaOMe-Lösung versetzt, 1 Min lang gekocht und sofort abgekühlt. Die Lösung wurde mit Amberlite IR-120 (H⁺-Form) neutralisiert und i. Vak. eingedampft. Der dabei erhaltene Rückstand erwies sich anhand von DC (CHCl₃-MeOH, 8:2) als einheitlich. Er wurde in 80 ml Acetatpufferlösung (pH 4,9, 0,1N) gelöst, mit 0,5 g β -Glucosidase (Emulsin aus Aprikosenkernen) versetzt, 16 Std. bei 37° aufbewahrt. Die Lösung wurde mit CHCl₃ extrahiert, mit MgSO₄ getrocknet und abgedampft, wobei 1,4 g Rückstand hinterblieben. Er wurde mit CHCl₃-MeOH (97:3) an Silicagel (30 g) chromatographiert und Fraktionen zu je 20 ml aufgefangen. Fr. 4—10, die sich dünnschichtchromatographisch (CHCl₃-MeOH, 9:1) einheitlich verhielten, ergaben bei Eindampfen i. Vak. 1,0 g XXII als farbloses Öl. IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3300, 1690, 1610. NMR (CDCl₃) τ : 2,37 (d, $J=2$ Hz, H-3), 2,40 (d, $J=1,5$ Hz, H-3).

Jones-Oxydation des Aglucons (XXII)—Zu einer Lösung von 0,3 g XXII in 25 ml Aceton wurde die Jones-Reagenz tropfenweise bis zum Verschwinden des Flecks von XXII in DC (Benzol-Aceton, 9:1) eingetropft. Nach Zugabe von H₂O wurde die Lösung mit CHCl₃ extrahiert, die CHCl₃-Phase über MgSO₄ getrocknet und abgedampft. 0,24 g Rückstand wurde an Silicagel chromatographiert. Benzol-Aceton (95:5) brachte zuerst 60 mg rohes XXIV und dann 36 mg rohes XXIII. Das erste ergab bei Umkristallisation aus Äther 24 mg XXIV als farblose Prismen vom Schmp. 118—119°, der nach der nochmaligen Umlösung aus demselben Lösungsmittel auf 122° stieg. Das letztere lieferte bei Umlösung aus Äther 10 mg XXIII als farblose Platten vom Schmp. 89—90°. XXIII IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1785, 1715, 1640, 975, 930. C₁₀H₁₂O₄: Ber. C, 61,21; H, 6,17; Gef. C, 61,10; H, 6,25. XXIV ORD: ($c=0,47$, CHCl₃) negative "plain"-Kurve, (α_{589} -166°. IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1780, 1710, 1635, 965, 930. C₁₀H₁₂O₄ Ber. C, 61,21; H, 6,17; Gef. C, 61,08; H, 6,37.

Katalytische Hydrierung des Gentiopicrosids (I)—1,0 g I wurde in 3 ml MeOH gelöst, mit 50 ml ÄtOAc versetzt und über Pd-Kohle (bereitet aus 5 ml 5% iger PdCl₂-Lösung und 0,5 g Norit) katalytisch hydriert. Nach Aufnahme von 2,1 Mol H₂ wurde die Lösung von dem Katalysator abgetrennt und i. Vak. eingengt. Der Rückstand ergab bei Umlösung aus ÄtOAc 0,67 g XXV als Prismen vom Schmp. 181—183°. Bei nochmaliger Umlösung aus demselben Lösungsmittel erhielt man farblose Prismen vom Schmp. 195°. (α_D^{16} -79° ($c=0,91$, H₂O)). IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3500—3000, 1680, 1615. UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 250 (4,06). C₁₆H₂₄O₉: Ber. C, 53,33; H, 6,71; Gef. C, 53,11; H, 6,60. 40 mg XXV ergaben weiterhin bei der Acetylierung auf übliche Weise 31 mg Acetat (XVI) als farblose Prismen vom Schmp. 210—214°.

Enzymatische Hydrolyse des α -Tetrahydrogentiopicrosids (XXV)—1,46 g XXV wurden in 60 ml Acetatpufferlösung (pH 4,9, 0,1 m) gelöst, mit 0,4 g β -Glucosidase (Emulsin aus Aprikosenkernen) versetzt und 16 Std. bei 37° stengelassen. Die Lösung wurde mit CHCl₃ ausgezogen, der CHCl₃-Auszug über MgSO₄ getrocknet und eingedampft. 0,81 g Rückstand lieferte bei Umlösung aus Benzol 0,45 g α -Tetrahydrogentiogenin (XXVI) als farblose Prismen vom Schmp. 98°. (α_D^{16} +203° ($c=0,92$, CHCl₃)). Mass Spectrum M⁺ 198. IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3300, 1678, 1610, 980, 930, 880. UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 250 (4,01). C₁₀H₁₄O₄: Ber. C, 60,59; H, 7,12; Gef. C, 60,37; H, 7,11.

11) C. Djerassi, R.R. Engle und A. Bowers, *J. Org. Chem.*, **21**, 1547 (1956).

Jones-Oxydation des α -Tetrahydrogentiogenins (XXVI)—0,15 g XXVI wurde genauso wie bei der Oxydation von XXII mit Jones-Reagenz oxydiert und aufgearbeitet. Das dabei erhaltene Rohprodukt ergab bei der Umlösung aus Äther 24 mg farblose Nadeln (XXVII) vom Schmp. 118—120°. ORD: ($c=0,52$, CHCl_3) positive „plain“-kurve, $(\alpha)_{589}^{20} +186^\circ$. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1780, 1710, 1635, 965, 930. $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$: Ber. C, 61,21; H, 6,17; Gef. C, 61,39; H, 6,32.

Zemplénsche Reaktion von 9-Epidihydroswerosid-tetraacetat (XIV) und Anschliessende Enzymatische Hydrolyse des Glucosids—80 mg XIV wurden in 1 ml abs. MeOH gelöst, mit 0,15 ml 0,1 N methanol. NaOMe-Lösung versetzt, 3 Min lang gekocht und sofort abgekühlt. Die Lösung wurde anhand von Amberlite IR-120 (H^+ -Form) neutralisiert, vom Ionenaustauscher abgetrennt und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde ohne weiteres in 7 ml Acetatpufferlösung (pH 4,9, 0,1N) gelöst, mit 0,30 g β -Glucosidase (Emulsin aus Aprikosenkernen) versetzt, 12 Std. lang bei 37° aufbewahrt. Die Lösung wurde mit CHCl_3 extrahiert, über MgSO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand lieferte bei Umlösung aus Äther-Petroläther 10 mg farblose Prismen (XXIX) vom Schmp. 97—98°. $(\alpha)_D^{19} -197^\circ$ ($c=1,25$, ÄtOH). Mass Spectrum: $\text{M}^+ 198$. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3300, 1678, 1610, 980, 930, 880. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 250 (3,99).

Danksagung Wir danken Herrn Dr. K. Hozumi und seinen Mitarbeiterinnen im Mikroanalysezentrum unserer Universität für die Durchführung der Mikroanalysen und Herrn Dr. T. Shingu, Frl. M. Ohkawa und Herrn A. Kato von unserer Fakultät für die Aufnahme der 60 MHz NMR sowie der Massenspektren, ebenso Herrn E. Mizuta von Takeda Chemical Industries für die Aufnahme der 100 MHz-Spektren, und Herrn S. Imai von derselben Firma für die Bereitung des Extrakts von Daphniphyllum-Pflanzen zur Herstellung des Asperulosids.

Für eine finanzielle Beihilfe sind wir ferner der Stiftung des Kultusministeriums zu Förderung der wissenschaftlichen Forschung zu Dank verpflichtet.