

Carl Heinz Brieskorn und Thomas Pfeuffer<sup>1)</sup>

## Labiatabitterstoffe: Pikropolin und ähnliche Diterpenoide aus Poleigamander

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg

(Eingegangen am 14. Dezember 1966)

Pikropolin (**4**, C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub>) ist ein Diterpenoidacetat vom Kolavantypus aus *Teucrium polium*. Als funktionelle Gruppen enthält es einen Furanring, eine  $\alpha$ -Keto-Gruppierung, einen  $\gamma$ -Lactonring, einen Oxiranring und eine Acetylesterguppe. Bitterstoff B<sub>2</sub> ist das Monoacetat von **4**. Bitterstoff B<sub>9</sub> ist identisch mit dem Produkt, das nach dem Verseifen von **4** und dessen Reacetylierung entsteht.

Aus Poleigamander (*Teucrium polium*, Familie Labiatae) isolierten wir durch Adsorptionschromatographie an Kieselgel 10 kristalline, bitterschmeckende Verbindungen. Der Hauptbitterstoff **4**, für den der Name „Pikropolin“ vorgeschlagen wird, besitzt auf Grund der Verbrennungswerte und des Molekulargewichtes die Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub>.

Bei der Selendehydrierung wird in geringer Ausbeute 1.2.5-Trimethyl-naphthalin erhalten. Dieses Ergebnis macht das Vorliegen eines carbobicyclischen Grundgerüsts sehr wahrscheinlich. Acetylgruppenbestimmung und das NMR-Spektrum sprechen für die Gegenwart eines Diterpenacetats (3 H-Singulett bei 2.01 ppm; CH<sub>3</sub>COO-). Auf Grund eines AB-Systems im NMR-Spektrum bei 4.5 ppm ( $J = 12$  Hz) kann dem Acetylrest die Anordnung  $-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{OAc}$  zugewiesen werden. Diese Annahme wird durch das Massenspektrum gut gestützt: Ein M-73-Peak weist auf die Abspaltung eines Bruchstücks  $-\text{CH}_2-\text{OCOCH}_3$  hin<sup>2)</sup>.

**4** verharzt bei Behandlung mit verdünnten Mineralsäuren sehr schnell. Dieses Verhalten konnte auf die Anwesenheit eines Furanrings zurückgeführt werden (pos. Ehrlich-Test<sup>3)</sup>; charakteristische Banden im IR-Spektrum<sup>4)</sup> bei 3175, 1600, 1505 und 872/cm). Nach Aussagen des NMR-Spektrums ist der Furanring in  $\beta$ -Stellung monosubstituiert: 2 H-Multipllett bei 7.4 ppm ( $\alpha$ -Protonen) und 1 H-Multipllett bei 6.37 ppm ( $\beta$ -Proton).

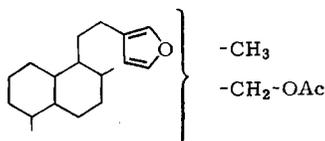
1) Teil der Dissertat. Th. Pfeuffer, Univ. Würzburg 1966.

2) H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Vol. 2, Holden-Day, Inc., San Francisco 1964.

3) T. Reichstein, Helv. chim. Acta 15, 1110 (1932).

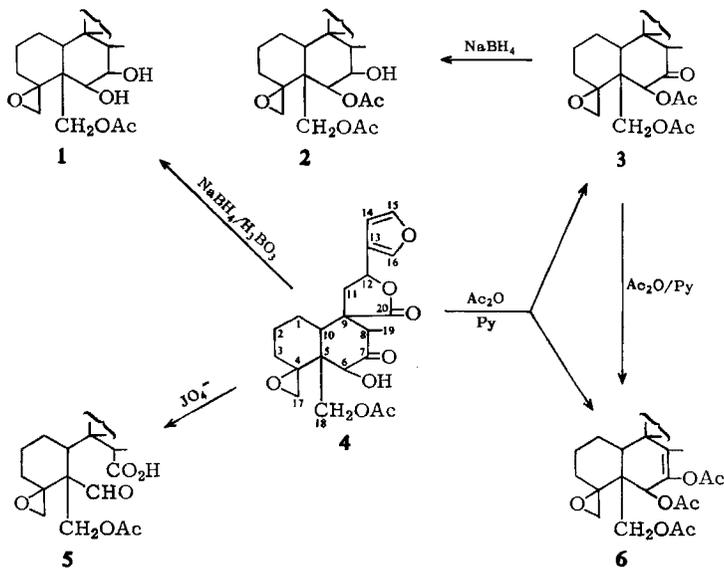
4) M. Sumimoto, Tetrahedron [London] 19, 643 (1963).

Durch den Nachweis des Furanrings läßt sich das Grundgerüst in Verbindung mit dem Ergebnis der Selendehydrierung folgendermaßen erweitern:



Das NMR-Spektrum von **4** zeigt im Bereich der C-Methyl-Resonanzfeldstärken lediglich ein Dublett für *eine* (sekundäre) Methylgruppe bei 1.11 ppm ( $J = 7$  Hz). Bei dem hohen Oxydationsgrad von **4** (8 O-Atome) ist dies nicht verwunderlich.

Das IR-Spektrum von **4** weist im Bereich der Carbonylabsorptionsfrequenzen eine breite Bande (1720–1730/cm: Acetat und Ketogruppe) und eine schärfere Bande bei 1763/cm auf. Diese Frequenz spricht für ein Lactoncarbonyl. Über die Ringgröße des Lactons ist hieraus keine eindeutige Aussage möglich, mit einiger Wahrscheinlichkeit ist jedoch ein  $\gamma$ -Lactonring anzunehmen.



Bei dem Versuch, den Lactonring mit 2–10-proz. alkoholischer Kalilauge zu öffnen, tritt, selbst unter Stickstoffatmosphäre, Braunfärbung und Verharzung ein. Die neutralisierte Lösung ergibt mit Eisen(III)-chlorid Grünfärbung. **4** reduziert Fehlingsche Lösung, Tollens' Reagens und Triphenyltetrazoliumchlorid. Diese Eigenschaft und die Alkalilabilität konnten wir auf die Anwesenheit einer  $\alpha$ -Ketolgruppierung zurückführen. Wird das Ketol mit Natriumborhydrid zum Diol **1** reduziert, so wird das Molekül alkalistabil und zeigt keine Reduktionseigenschaften mehr. Den Beweis für die  $\alpha$ -Ketolanordnung erbrachten wir durch ihre Oxydation mit Perjodat zur Aldehydcarbonsäure **5**.

Die Acetylierung von **4** liefert auf Grund des Massenspektrums zwei Acetate: ein Diacetat **3**,  $C_{24}H_{28}O_9$ , und ein Triacetat **6**,  $C_{26}H_{30}O_{10}$ . Die Acetylierungsreaktion kommt zum Stillstand, sobald die beiden Acetate zu etwa je 50% entstanden sind. Bei erneuter Acetylierung des isolierten Diacetats werden wiederum nur etwa 50% des Triacetats und 50% nichtumgesetztes Ausgangsmaterial ermittelt.

Obgleich **4** ein Triacetat zu bilden vermag, weist das Diacetat im IR-Spektrum keine Bande im Bereich der OH-Absorptionsfrequenzen auf. Eine Klärung dieses zunächst widersprüchlichen Verhaltens erbrachte die Diskussion der NMR-Spektren der beiden Acetate:

Das NMR-Spektrum von **3** zeigt deutlich die durch die Acetylierung eingetretenen spektralen Veränderungen:

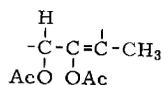
1. ein zusätzliches 3H-Singulett bei 2.1 ppm ( $CH_3CO-$ ),
2. das breite Singulett bei 3.8 ppm im NMR-Spektrum von **4** ist verschwunden. Dieses Signal muß dem Proton einer OH-Gruppe entsprechen, da es verschwindet, wenn **4** vor der Messung mit  $D_2O$  behandelt wird,
3. das Singulett im Spektrum von **4** bei 4.32 ppm hat eine Verschiebung nach 5.22 ppm erfahren. Dieses Verhalten ist charakteristisch für ein Wasserstoffatom an einer sekundären OH-Gruppe nach deren Acetylierung.

Das Kernresonanzspektrum von **6** weist gegenüber dem Spektrum von **3** zwei Besonderheiten auf:

1. An die Stelle des Signals für die sekundäre Methylgruppe bei 1.13 ppm ist ein neues 3H-Dublett bei 1.53 ppm ( $J = 1.5$  Hz) getreten. Chemische Verschiebung und die Größe der Kopplungskonstante sprechen für eine Methylgruppe an einer Doppelbindung. Hieraus läßt sich folgern, daß in **6** ein Enolacetat vorliegt.

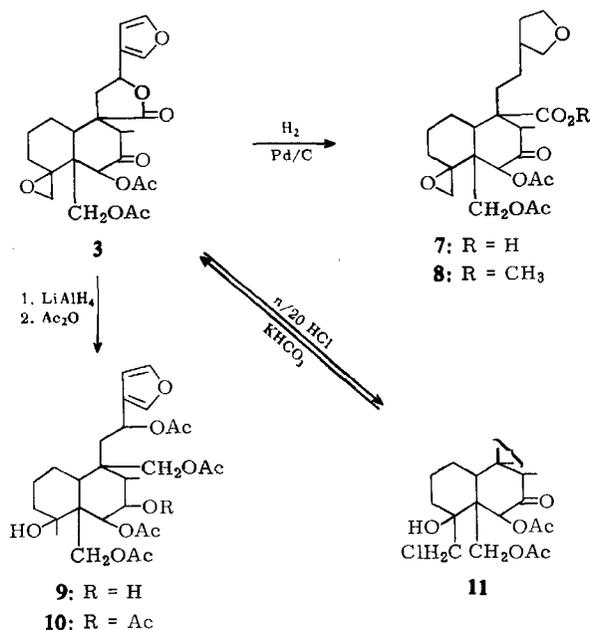
2. Das Proton der  $H-\overset{|}{C}-OAc$ -Gruppierung hat eine Aufspaltung zum Quadruplett erfahren ( $J = 1.5$  Hz).

Die Aufspaltung dieses Signals kommt durch eine homoallylische Kopplung mit den Protonen der olefinischen Methylgruppe zustande, deren Signal mit der gleichen Kopplungskonstanten von 1.5 Hz aufgespalten ist. Durch Doppelresonanzmessungen an **6** konnten wir dies bestätigen. Im Zusammenhang mit dem Ergebnis der Perjodat-oxidation muß in **6** folgende Sequenz vorliegen:



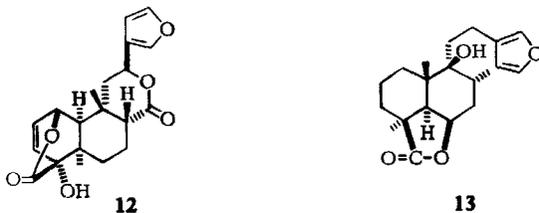
Die katalytische Hydrierung von **3**, Palladium/Kohle als Katalysator, ergibt einen Verbrauch zwischen 2.7 und 2.9 Moläquivalenten Wasserstoff. Das Reaktionsprodukt kann in ein kristallines Neutralprodukt und in die amorphe Hexahydrocarbonsäure **7** getrennt werden. **7** läßt sich durch ihren kristallinen Methylester **8** charakterisieren.

Bei der katalytischen Hydrierung ist neben der Sättigung der Furan Doppelbindungen eine Hydrogenolyse des Lactonrings zur Carbonsäure eingetreten. Dies ist aber nur möglich, wenn der Alkylsauerstoff des Lactons in Vinyl- oder Allylstellung zu einer



Doppelbindung steht. Nachdem 4 lediglich im Furanring Doppelbindungen enthält, muß sich der Lactonsauerstoff in Allylstellung zu einer Furan Doppelbindung befinden.

Diese Anordnung ist bereits von einigen Diterpenbitterstoffen, z. B. dem Columbin (12)<sup>5)</sup> und von zahlreichen Bitterstoffen der Limoninreihe<sup>6)</sup> her bekannt.



Das NMR-Spektrum von 8 bestätigt die Ergebnisse der Hydrogenolyse: Die Furanabsorptionsfrequenzen bei tiefem Feld sind verschwunden. Statt dessen erscheinen im hydrierten Produkt die  $\alpha$ -ständigen Methylenprotonen des Tetrahydrofuranrings

<sup>5)</sup> D. H. R. Barton und D. Elad, J. chem. Soc. [London] 1956, 2085, 2090.

<sup>6)</sup> D. H. R. Barton, S. K. Pradhan, S. Sternhell und J. F. Templeton, J. chem. Soc. [London] 1961, 255.

bei ca. 3.8 ppm. Auffallend ist das Verschwinden des Triplets bei 5.45 ppm im Vergleich zum Spektrum von **3**. Dieses Triplet ist dem Proton zuzuordnen, das am selben C-Atom wie der Alkylsauerstoff des Lactonrings steht und das mit den benachbarten C-11-Methylenprotonen koppelt. Das Triplet ist demnach der X-Teil eines ABX- oder AMX-Systems. Der Abstand der Teilsignale des Triplets von 8 Hz darf aber nicht als Kopplungskonstante  $J_{AX} = J_{BX}$  gewertet werden. Wäre dies der Fall, dann müßte das C-12-Proton mit den beiden C-11-Protonen einen Winkel von jeweils  $60^\circ$  bilden (in der Newman-Projektion). Die Kopplungskonstante würde aber dann höchstens 3.5 Hz betragen. Im Falle von **4** kann lediglich gesagt werden, daß die Summe von  $J_{AX}$  und  $J_{BX}$  16 Hz beträgt<sup>7)</sup>.

Die Allylstellung des Lactonsauerstoffs zum Furanring wird auch aus dem Bild des Massenspektrums von **4** deutlich. Hier dominieren zwei „peaks“ bei  $m/e$  81 und  $m/e$  94, die durch Fragmentierung in der Umgebung des Furanrings entstanden sind<sup>2)</sup>. Bei Columbin (**12**) und seinen Derivaten, die ebenfalls einen Lactonsauerstoff in Allylstellung zum Furanring aufweisen, stehen nach Reed und Reid<sup>8)</sup> die Intensitäten der „peaks“  $m/e$  81 und  $m/e$  94 im umgekehrten Verhältnis wie bei Marrubiin (**13**)<sup>9,10)</sup>, das eine unsubstituierte Seitenkette hat.



Bei **4** stellt der peak  $m/e$  94 wie bei Columbin (**12**) den „base peak“ dar.

Die Anwesenheit eines Lactonrings wird mit dem bitteren Geschmack in Zusammenhang gebracht. **7** schmeckt jedoch bei weitem bitterer als **4** oder **3**.

Nach den bisherigen Ergebnissen sind sieben der acht Sauerstofffunktionen abgeklärt. Den ersten Hinweis auf das noch fehlende Sauerstoffatom brachte das Resultat der  $\text{LiAlH}_4$ -Reduktion von **3**. Das hierbei erhaltene Hexaol liefert bei der Acetylierung (mit  $\text{Ac}_2\text{O}$ /Pyridin bei Raumtemperatur) ein kristallines Tetraacetat **9**,  $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_{11}$ , und ein amorphes Pentaacetat **10**,  $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_{12}$ . Es wird angenommen, daß in **9** die OH-Gruppe am C-7 nicht acetyliert worden ist. Die Schwierigkeit, diese Hydroxylfunktion zu verestern, konnten wir auch am  $\text{NaBH}_4$ -Reduktionsprodukt **2** feststellen. Sowohl **9** als auch **10** enthalten aber noch eine Hydroxylfunktion, die sich in keinem Fall acetylieren läßt und deshalb tertiärer Natur sein muß.

IR (in KBr): a) Tetraacetat: OH-Banden bei 3460/cm (breit) und bei 3580/cm, scharf.

b) Pentaacetat: OH-Bande bei 3520/cm, scharf.

<sup>7)</sup> N. S. Bhacca und D. H. Williams, Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry, Holden-Day, Inc., San Francisco 1964.

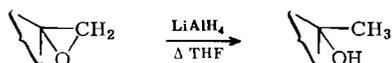
<sup>8)</sup> R. I. Reed und W. K. Reid, J. chem. Soc. [London] 1963, 5933.

<sup>9)</sup> W. Cocker, J. T. Edward und T. F. Holley, Chem. and Ind. 1954, 1561.

<sup>10)</sup> D. Burn und W. Rigby, Chem. and Ind. 1955, 386.

Nach der  $\text{LiAlH}_4$ -Reduktion taucht in den NMR-Spektren der beiden Acetate **9** und **10** bei 1.33 ppm ein 3 H-Singulett für eine tertiäre Methylgruppe auf, das bei den bisher diskutierten Derivaten fehlt. Der  $\delta$ -Wert von 1.33 ppm für diese Methylfunktion läßt sich mit der Stellung an einer tertiären Hydroxyl-Gruppe in Einklang bringen.

Diese Resultate finden eine befriedigende Erklärung, wenn angenommen wird, daß der tertiäre Alkohol bei der Reduktion aus einem terminalen 1.2-Epoxid entsteht:



Die Protonen eines derartigen Epoxids äußern sich im NMR-Spektrum als AB-System im Bereich von 2.4 bis 3 ppm<sup>11)</sup>. In den Spektren von **4** und seinen Derivaten ist es jedoch nicht möglich, dieses AB-System mit Sicherheit zu identifizieren, da es wahrscheinlich von anderen Signalen teilweise überlappt wird.

Das 100-MHz-Spektrum der Verbindung **9** zeigt zwei charakteristische AB-Systeme mit den Schwerpunkten bei 4.45 ppm bzw. bei 5.19 ppm, die den Methylenprotonen der beiden  $-\text{CH}_2-\text{OAc}$ -Gruppierungen am C-5 bzw. am C-9 entsprechen. Das Proton am C-12 erscheint hier im Vergleich zu **4** als Quadruplett bei 5.92 ppm ( $J_{\text{AX}} = 7$  Hz,  $J_{\text{BX}} = 4$  Hz). Das Dublett bei 5.08 ppm ist dem H am C-6 zuzuordnen, das mit dem benachbarten H am C-7 koppelt ( $J = 3$  Hz). Das schlecht aufgelöste Triplett bei 3.98 ppm sollte dem C-7-Proton neben der nichtacetylierten Hydroxyl-Gruppe entsprechen.

**3** liefert mit  $n/20$  HCl in quantitativer Ausbeute ein kristallines Chlorhydrin **11**, das im IR-Spektrum eine Hydroxylbande bei 3470/cm aufweist. Um festzustellen, ob die Öffnung des Oxiranrings am primären oder am tertiären C-Atom stattgefunden hat, wird **11** acetyliert. Die resultierende Verbindung, mit einer Hydroxylbande im IR-Spektrum, erweist sich als identisch mit dem Chlorhydrin von **6**. Die Hydroxylgruppe muß also tertiärer Natur sein, woraus folgt, daß der Oxiranring am primären C-Atom geöffnet worden ist. Eine Bestätigung liefert das NMR-Spektrum von **11**, das bei ca. 3.9 ppm ein AB-System ( $J = 12$  Hz) zeigt, entsprechend der Anordnung  $-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{Cl}$ .

Erwartungsgemäß läßt sich das Chlorhydrin durch Einwirken schwacher Alkalien, wie Hydrogencarbonat oder Pyridin, wieder in **3** zurückverwandeln.

Eine Öffnung des Oxiranrings gelingt auch durch Kochen von **3** mit Eisessig. Das Reaktionsprodukt zeigt im NMR-Spektrum ein zusätzliches „Acetylsignal“. In Anlehnung an die Arbeiten von Swain<sup>12)</sup> konnte der Epoxidring auch in Essigsäure/Acetatpuffer durch den nucleophilen Angriff von  $\text{Br}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{J}^-$  in das entsprechende Hydrin umgewandelt werden.

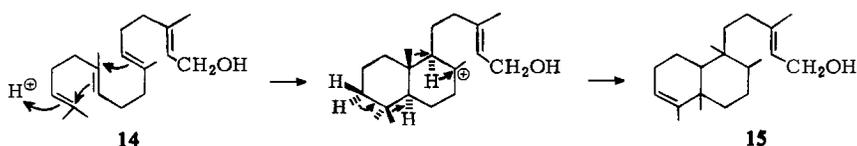
Nachdem **4** zwei sekundäre Methylfunktionen besitzt (eine „freie“ und eine zum terminalen Oxiranring modifizierte), ist es berechtigt, sein Grundgerüst dem Kolavan-

<sup>11)</sup> H. Suhr, Anwendung der kernmagnetischen Resonanz in der organischen Chemie, 1. Aufl., Springer Verlag, Berlin 1965.

<sup>12)</sup> C. G. Swain, J. Amer. chem. Soc. **74**, 4108 (1952).

typus, zu dem auch Columbin (**12**) und Clerodin<sup>13</sup> gehören, zuzuordnen (Kolavenol (**15**), aus der Leguminose *Hardwickia pinnata*, ist der bisher einfachste natürliche Vertreter dieses Typus).

Bei der Biogenese dieses Diterpentypus aus Geranylgeraniol **14** muß eine zweifache Methylgruppenwanderung stattgefunden haben: eine vom C-4 zum C-5 und eine zweite vom C-10 nach C-9<sup>14,15</sup>.



Bei der Zugrundelegung des Kolavantypus muß in **4** die CO-Gruppe des Lactons aus der Methylfunktion am C-9 entstanden sein. Folglich muß der Lactonring 5-gliedrig sein. Diese Annahme findet in dem NMR-Spektrum des Acetats des LiAlH<sub>4</sub>-Reduktionsproduktes **9** eine Stütze:

Die Methylenprotonen der  $-\overset{|}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{OAc}$ -Gruppierung, entstanden aus dem Lactoncarbonyl durch Reduktion und anschließende Acetylierung, absorbieren als AB-Quartett bei 5.19 ppm. Wäre die Carbonylgruppe aus der Methylfunktion am C-8 hervorgegangen wie bei **12**, so müßte ein  $\delta$ -Lacton vorliegen. Bei der Reduktion mit LiAlH<sub>4</sub> wäre dann eine  $-\overset{|}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{OAc}$ -Anordnung entstanden, die sich im NMR-Spektrum in Form eines Multipletts anstelle eines Quartetts äußern müßte.

Die Gruppierung  $-\text{CH}_2-\text{OCOCH}_3$  in **4** — laut NMR-Spektrum muß sie an einem vollsubstituierten C-Atom stehen — bildet im Kolavangrundgerüst den C-5-Substituenten.

Die Sequenz  $-\overset{\text{H}}{\underset{\text{HO}}{\text{C}}}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\overset{\text{H}}{\text{C}}-\text{CH}_3$  könnte aus biogenetischer Sicht sowohl im Ring A als auch im Ring B vorliegen. Das Proton neben der sekundären OH-Gruppe erscheint jedoch im Kernresonanzspektrum als Singulett: Es befinden sich also keine Protonen in direkter Nachbarschaft. Dieser Forderung ist nur dann Genüge getan, wenn die Ketolgruppierung im Ring B lokalisiert ist. Für den Oxiranring bleibt hiernach nur die Position am C-4 des Kolavangerüsts.

Auf Grund der chemischen Ergebnisse und der Aussagen der kernmagnetischen Resonanz wird für Pikropolin die Struktur **4** vorgeschlagen.

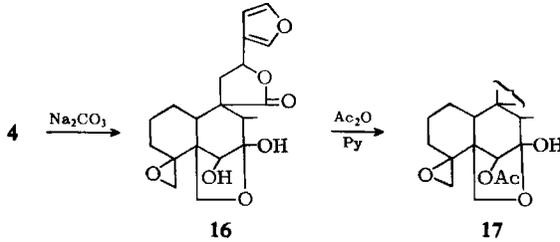
Wird die Acetylgruppe von **4** durch Einwirken von Natriumcarbonat abgespalten, so resultiert nicht Desacetylpikropolin, sondern eine isomere Verbindung **16**. Bei der Reacetylierung dieser Substanz entsteht Isopikropolin (**17**), das sich mit einem der

<sup>13</sup>) D. H. R. Barton, H. T. Cheung, A. D. Cross, L. M. Jackman und M. Martin-Smith, J. chem. Soc. [London] **1961**, 5061.

<sup>14</sup>) Y. Kitahara und A. Yoshikoshi, Tetrahedron Letters [London] **1964**, 1755.

<sup>15</sup>) J. H. Richards und J. B. Hendrickson, The Biosynthesis of Steroids, Terpenes und Acetogenins, W. A. Benjamin Inc., New York 1964.

10 Bitterstoffe aus Poleigamander als identisch erweist ( $B_9$ ). **17** besitzt eine schwer acetylierbare Hydroxyfunktion (IR: OH-Bande bei 3450/cm).



Im NMR-Spektrum des Desacetylproduktes **16** ist bei 4.32 ppm ein AB-System zu erkennen, herrührend von einer  $-\text{CH}_2\text{O}-$ Gruppierung. Im Spektrum von **17** befindet sich das entsprechende Signal bei 4.40 ppm. Bei der Acetylierung tritt also nur eine geringe Änderung des  $\delta$ -Wertes dieses AB-Systems ein. Hieraus ist mit Sicherheit zu entnehmen, daß die beiden AB-Systeme nicht einer  $-\text{CH}_2\text{OH}-$  bzw. einer  $-\text{CH}_2\text{OAc}-$ Gruppe zuzuordnen sind. Läge sie vor, so müßte der  $\delta$ -Wert um 0.6 bis 0.9 ppm verschoben sein. Die  $-\text{CH}_2\text{O}-$ Funktion muß deshalb Teil eines Äthers oder eines Acetals sein.

Das IR-Spektrum von **16** zeigt im Bereich der  $\text{C}=\text{O}$ -Valenzschwingungen lediglich eine Bande bei 1765/cm, die dem Lactoncarbonyl entspricht, aber keine Ketonbande. Auch **16** vermag Tollens' Reagens und Triphenyltetrazoliumchlorid zu reduzieren, was auf ein „maskiertes“ Ketolsystem hinweist. Diese Eigenschaft, ergänzt durch die Aussage des NMR-Spektrums, führt zu folgender Interpretation: die Ketogruppe am C-7 hat mit der bei der Alkalibehandlung intermediär entstandenen  $-\text{CH}_2\text{OH}-$ Gruppe zu einem Hemiketal reagiert.

Hier liegt ein ähnlicher Verlauf wie bei der basenkatalysierten Überführung von Cevagenin in Cevin vor<sup>16)</sup>.

Bei der Acetylierung von **16** zu **17** wird die OH-Gruppe am C-6 verestert, wobei die reduzierende Wirkung verlorengelht (NMR: Singulett bei 4.8 ppm,  $\text{H}-\overset{\text{OAc}}{\underset{|}{\text{C}}}$ ). Auf Grund dieser Ergebnisse ergibt sich für Isopikropolin die Strukturformel **17**.

**3** erweist sich als identisch mit dem Bitterstoff  $B_2$  des Poleigamanders.

Über die Zuordnung der H-Atome in den NMR-Spektren gibt die Tab. Auskunft.

Die Bitterstoffe  $B_3$  ( $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_7$ ) und  $B_4$  ( $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_8$ ) sind zu 0.03% bzw. 0.005% in der Droge enthalten. Sie stellen wie **4** Diterpenmonoacetate dar. Der Acetylrest befindet sich ebenfalls an einer  $-\overset{\text{OAc}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-$ Gruppierung.  $B_{10}$  ist wie **3** ein Diacetat.  $B_5$  und  $B_6$  sind acetylgruppenfrei. Alle 5 Bitterstoffe besitzen wie **4** einen  $\beta$ -substituierten Furanring und haben Lactoncharakter.

$B_7$  und  $B_8$  dürften sich gleichfalls nicht wesentlich von den anderen Bitterstoffen unterscheiden. Wegen zu geringer Menge konnte noch keine saubere Trennung erreicht werden<sup>17)</sup>.

<sup>16)</sup> L. F. Fieser und M. Fieser, Steroide, S. 978, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße 1961.

<sup>17)</sup> Nähere Angaben sind enthalten in: Th. Pfeuffer, Zur Konstitution des Pikropolins und weiterer Bitterstoffe aus *Teucrium polium*, Dissertat., Univ. Würzburg 1966.

Zuordnung der H-Atome					
Verb.	Furan	C-6	C-7	C-12	C-17
4	7.4 + 6.37 m	4.32 s	—	5.45 t ( $J_{AX} + J_{BX} = 16$ )	b)
3	7.4 + 6.35 m	5.22 s	—	5.45 t ( $J_{AX} + J_{BX} = 16$ )	b)
6	7.4 + 6.35 m	5.4 q (1.5)	—	5.5 t ( $J_{AX} + J_{BX} = 16$ )	b)
8	—	4.9 s	—	—	b)
9	7.44 + 6.4	5.08 d (3)	3.98 t (3)	5.92 q (7 + 4)	1.33 s
11	7.45 + 6.41 m	5.3 s	—	5.45 t ( $J_{AX} + J_{BX} = 16$ )	4.07/3.76 AB (12)
17	7.42 + 6.38 m	4.8 s	—	5.4 t ( $J_{AX} + J_{BX} = 16$ )	b)

a) Chemische Verschiebungen in  $\delta$ -Werten (ppm in Bezug auf TMS,  $\delta = 0$ , als internen Standard). Alle Substanzen sind in  $CDCl_3$  aufgenommen worden. Für die Feinstruktur der Signale werden folgende Symbole verwendet: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quadruplett, m = Multiplett. AB = AB-System. In Klammern sind die Spin-Spin-Kopplungskonstanten  $J$  in Hz angegeben.

b) Teilweise von anderen Signalen überlappt, deshalb nicht mit Sicherheit zu identifizieren.

Wir haben zu danken: Dem *Fonds der Chemischen Industrie* und der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die Bereitstellung von Geld- und Sachmitteln. Der Firma Dr. W. Schwabe, Karlsruhe, für die Beschaffung und Überlassung der Droge. Herrn Prof. Dr. O. H. Volk, Würzburg, für die pharmakognostische Überprüfung der Droge. Der Firma E. Merck, Darmstadt, für die Extraktion der Droge. Herrn Dr. H. Scheutzw, Chemisches Institut Würzburg, für die Aufnahme von 60-MHz-NMR-Spektren. Herrn Dr. W. von Philipsborn, Chemisches Institut der Universität Zürich, für die Aufnahme der 100-MHz-NMR-Spektren und für wertvolle Ratschläge zur Diskussion der Spektren. Herrn Prof. Dr. L. Canonica, Chemisches Institut der Universität Mailand, und Herrn Dr. B. Das, Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette, für die Anfertigung von Massenspektren.

## Beschreibung der Versuche

**Schmelzpunkte:** Schmelzpunktapparatur nach Linström. Sie sind nicht korrigiert. **IR-Spektren:** KBr-Preßlinge mit dem Gerät 21 der Firma Perkin-Elmer. **100-MHz-Spektren:** Varian-HR-100 Spektrometer, bei 21° aufgenommen. Die Entkopplungsexperimente wurden nach der „field-sweep“-Methode ausgeführt. **60-MHz-NMR-Spektren:** Varian-A-60 Instrument. **Massenspektren:** Massenspektrometer MS 9 der Firma Associated Electrical Industries. **Spezifische Drehung:** Kreispolarimeter Zeiss-Winkel, in  $CHCl_3$ . **Säulenchromatographie:** Kieselgel Merck 0.08–0.2 mm. **Dünnschichtchromatographie:** Kieselgel G Merck. Als Laufmittel dient, wenn nicht anders vermerkt,  $CHCl_3$ /Methanol (19:1). Zum Sichtbarmachen der Flecken wird entweder mit konz. Schwefelsäure oder mit einer 2-proz. Lösung von *p*-Dimethylamino-benzaldehyd in Äthanol (Ehrlichs Reagens) besprüht. Die mit Ehrlichs Reagens behandelten Platten werden nach dem Trocknen an der Luft in eine mit konz. HCl gesätt. Kammer gestellt.

Übliche Aufarbeitung bedeutet: Waschen der Extraktionslösung mit Wasser, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Einengen i. Vak.

Die Elementaranalysen führten durch: Herr A. Bernhardt, Mikroanalytisches Laboratorium im Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Mülheim/Ruhr, Frau I. Beetz, Kronach, und Herr R. Glier, Sennfeld bei Schweinfurt.

in den NMR-Spektren<sup>a)</sup>

C-18	C-19	C-20	Diverse
4.5 AB (12)	1.11 d (7)	—	1 Ac: 2.01 s; OH: 3.8 s
4.54 AB (12)	1.13 d (7)	—	2 Ac: 2.11 s + 2.05 s
4.8 AB	1.53 d (1.5)	—	3 Ac: ca. 2.05 (überlagert)
4.25 AB	1.17 d (7)	—	2 Ac: 2.07 s + 1.97 s; OCH <sub>3</sub> : 3.64 s α-H-Atome des THF-Rings: 3.8 m
4.45 AB (12)	1.03 d (7)	5.43/4.97 AB (12)	4 Ac: ca. 2.05
4.74 AB (12)	1.18 d (7)	—	2 Ac: 2.19 + 2.03 s
4.4 AB (8)	1.18 d (7)	—	1 Ac: 2.21

*Isolieren der Bitterstoffe:* 15 kg getrocknetes und zerkleinertes Kraut des Poleigamanders südfranzösischer Herkunft werden in einem 4-*l*-Soxhlet portionsweise zunächst mit Hexan, sodann mit Aceton erschöpfend extrahiert. Der Acetonextrakt wird bis auf 2.5/ eingengt und dann zur Entfernung der grünen Blattfarbstoffe mit 1/ Wasser versetzt. Der Ansatz bleibt 24 Std. im Eisschrank. Nach dem Abzentrifugieren des flockigen Niederschlags wird das Aceton i. Vak. abdestilliert. Die verbliebene Lösung wird mit Chloroform solange ausgeschüttelt, bis dieses keine Furanreaktion mit Ehrlichs Reagens mehr gibt. Nach dem Abdestillieren des Chloroforms verbleibt eine braune, aromatisch riechende Masse von intensiv bitterem Geschmack (150 g).

Bei manchen Drogenchargen gelang das Ausfällen der Blattfarbstoffe mit Wasser nicht quantitativ. In diesem Falle wurde die Chloroformlösung mit Aktivkohle solange unter Rückfluß erhitzt, bis ein gelbes Filtrat abließ.

75 g des Harzes werden über 1.2 kg Kieselgel chromatographiert. Als Elutionsmittel dient zunächst Chloroform/Äther (85 : 15). Die einzelnen Fraktionen (300 ccm) werden dünn-schichtchromatographisch kontrolliert (Laufmittel: Chloroform). Das Ergebnis der Säulen-chromatographie ist in folgender Tab. zusammengefaßt:

Fraktion	Elutionsmittel		Bitterstoff	Furan-Reakt.
1—9	Chloroform/Äther	85 : 15	—	—
10—11	Chloroform/Äther	85 : 15	—	+
12—13	Chloroform/Äther	90 : 10	B <sub>6</sub>	++
14—17	Chloroform/Äther	90 : 10	B <sub>3</sub>	++
18—21	Chloroform/Äther	95 : 5	—	+
22—25	Chloroform		3, B <sub>7</sub> , B <sub>8</sub>	++
26—27	Chloroform/Methanol	95 : 5	17, B <sub>10</sub>	+
28—30	Chloroform/Methanol	90 : 10	B <sub>4</sub>	++
31—35	Chloroform/Methanol	80 : 20	—	++
36—38	Chloroform/Methanol	80 : 20	4	++
39—42	Chloroform/Methanol	50 : 50	—	+
43—45	Methanol	—	—	—

-- = negativ, + = schwach positiv, ++ = stark positiv.

**Pikropolin (4):** 1.9 g farblose Nadeln (Chloroform/Äther) mit Schmp. 199–201°,  $[\alpha]_D^{20}$ : +44.5° ( $c = 0.2$ , in  $\text{CHCl}_3$ ).

$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$  (418.5) Ber. C 63.13 H 6.21 1  $\text{CH}_3\text{CO}$  10.28  
 Gef. C 63.42 H 6.35  $\text{CH}_3\text{CO}$  10.01\*)  
 Mol.-Gew. 418 (massenspektrometr.)

\*) Mit 50-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  60 Min. verseift.

**Selendehydrierung:** 1.0 g **3** wird mit 1.5 g grauem Selen gründlich verrieben, in einem Kolben mit aufgesetztem Steigrohr innerhalb von 6 Stdn. auf 320° erhitzt (Metallbad) und für weitere 24 Stdn. bei dieser Temperatur belassen. Das abgekühlte Reaktionsgemisch wird mit Äther längere Zeit digeriert und der Ätherextrakt zur Trockene gebracht. Es resultieren 240 mg braunes Öl, das auf einer Silicagelsäule (5 g) chromatographiert wird (Elutionsmittel: Pentan). Die 5-ccm-Fractionen prüft man mit methanol. Pikrinsäurelösung: die Fractionen 5 bis 7 enthalten 1.2.5-Trimethyl-naphthalin (Pikratbildung). 3 mg des Pikrats werden aus den beiden Fractionen präparativ hergestellt, Schmp. 128–130°. Der Misch-Schmp. mit dem Pikrat eines aus Sclareol erhaltenen 1.2.5-Trimethyl-naphthalins beträgt 126–129°.

**Aldehydcarbonsäure 5:** 35 mg **4** werden in 10 ccm carbonylfreiem Methanol mit 70 mg  $\text{NaJO}_4$  in 3 ccm Wasser bei Raumtemperatur während dreier Tage oxydiert. Nach Zusatz von 10 ccm Wasser scheidet sich das Reaktionsprodukt teilweise ab. Nach dem Abdestillieren des Methanols wird die Suspension mit Chloroform ausgeschüttelt. Einengen der Chloroformlösung liefert ein amorphes Produkt, das sich in Natriumcarbonatlösung löst und fuchsin-schweflige Säure färbt.

**Pikropolin-monoacetat 3 und Pikropolin-diacetat 6:** 300 mg **4** werden in 3 ccm Pyridin mit 2 ccm Acetanhydrid während 2 Tagen bei Raumtemperatur acetyliert. Aufarbeitung wie üblich. Die Chloroform-Extraktion liefert einen gelbgefärbten Lack (350 mg), der im Dünnschichtchromatogramm zwei Flecke aufweist. Das Rohprodukt wird an 8 g Kieselgel chromatographiert (Elutionsmittel: Chloroform). Es werden zunächst 140 mg **6**, Schmp. 205°, und schließlich 135 mg **3**, Schmelzbereich 221–224°, erhalten. In beiden Fällen Chloroform/Äther zum Umkristallisieren.

**Pikropolin-diacetat (6):**

$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{10}$  (502.5) Ber. C 62.10 H 5.96  
 Gef. C 61.92 H 5.90 Mol.-Gew. 502 (massenspektrometr.)

**Pikropolin-monoacetat (3):**  $[\alpha]_D^{20}$ : +17.5° ( $c = 0.5$ , in  $\text{CHCl}_3$ ).

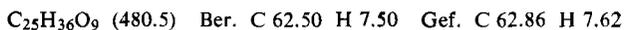
$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_9$  (460.5) Ber. C 62.61 H 6.09  
 Gef. C 62.32 H 6.32 Mol.-Gew. 460 (massenspektrometr.)

**Katalytische Hydrierung:** 200 mg **3** werden in 20 ccm Methanol unter Zusatz von 20 mg Pd/Tierkohle (10%) als Katalysator 8 Stdn. hydriert. Nach dieser Zeit erfolgt keine weitere Wasserstoffaufnahme. Aus der i. Vak. zur Trockne eingedampften Lösung bleibt ein schwach gelbgefärbter Lack zurück (195 mg), der laut Dünnschichtchromatogramm zur Hauptsache aus 2 Verbindungen besteht. Das Rohprodukt wird in 10 ccm Chloroform aufgenommen und die Lösung 5 mal mit je 10 ccm einer gesätt. wäbr. Natriumcarbonatlösung ausgeschüttelt. Den Rückstand der Chloroformphase (20 mg) kristallisiert man aus Chloroform/Äther um. Drusenförmige Kristalle, Schmp. 178–182° (Tetrahydropikropolin).

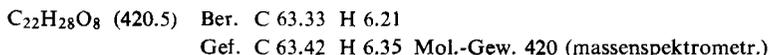
Die gesammelten wäbr. Phasen werden mit verd. Essigsäure angesäuert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels bleibt eine glasige Masse (160 mg) zurück, die, an 5 g Kieselgel chromatographiert (Elutionsmittel:  $\text{CHCl}_3$ /Methanol (5 : 1)), 153 mg amorphes **7** ergibt.

Verbrauch an Wasserstoff: 27.2 ccm, entspr. 2.8 Moläquiv.  $\text{H}_2$ .

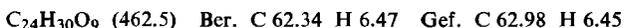
*Methylierung von 7: Diazomethan*, in üblicher Weise aus *p*-Toluolsulfonyl-methylnitrosamid hergestellt, läßt man auf eine eisgekühlte Lösung von 100 mg **7** in 2 ccm Methanol einwirken. Nach 5 Stdn. wird das Lösungsmittel abdestilliert, wobei ein gelblicher amorpher Rückstand verbleibt, der, an Kieselgel (2 g) chromatographiert, 80 mg **8** ergibt, Schmp. 174–178° (Methanol).



*Reduktion von 4 zum Diol 1*: 50 mg **4** und 100 mg *Borsäure* werden in 10 ccm Methanol portionsweise mit 100 mg  $\text{NaBH}_4$  versetzt. Nach eintägigem Stehenlassen gibt man 10 ccm 1-proz. Essigsäure zu und destilliert das Methanol i. Vak. ab. Ausschütteln der entstandenen Suspension mit Chloroform liefert 48 mg **1**, Schmelzbereich 155–159° (Chloroform/Äther).



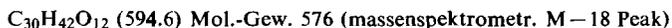
*Reduktion von 3 zu 2*: 200 mg **3** werden in gleicher Weise wie oben, jedoch ohne Zusatz von *Borsäure*, mit  $\text{NaBH}_4$  reduziert. 180 mg Kristalle **2**, Schmelzbereich von 272–280° (Zers.).



*LiAlH<sub>4</sub>-Reduktion: Darstellung von 9 und 10*: 200 mg **3** in 20 ccm trockenem Tetrahydrofuran werden mit 200 mg  $\text{LiAlH}_4$  portionsweise versetzt und 10 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Zerstören des überschüssigen  $\text{LiAlH}_4$  mit 10 ccm 1-proz. Schwefelsäure wird das Tetrahydrofuran i. Vak. abdestilliert und die entstandene Suspension 10mal mit je 10 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Nach dem Abdestillieren des Chloroforms hinterbleibt eine gelatinöse Masse. Chromatographie an 4 g Kieselgel, Chloroform/Methanol (9:1) als Elutionsmittel, liefert 120 mg amorphes Hexaol.

120 mg Hexaol werden nach dem bei der Darstellung von **3** und **6** angegebenen Verfahren acetyliert und in üblicher Weise aufgearbeitet. Das gelbgefärbte Rohprodukt zeigt im Dünnschichtchromatogramm zwei Flecken, Chromatographie an 5 g Kieselgel liefert 70 mg **10** (farbloser Lack) und 65 mg **9**, würfelförmige Kristalle. Schmp. 175–176° (Petroläther/Äther).

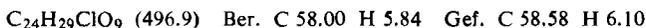
Acetat **10**:



Acetat **9**:



*Chlorhydrin 11*: 100 mg **3** werden in 5 ccm Methanol mit 5 ccm 0.8-proz. methanol. *HCl* und nach 8stdg. Stehenlassen langsam mit 5 ccm Wasser versetzt. Die sofort beginnende Kristallisation von **11** führt nach 2 Stdn. (Temp. 0°) zu 80 mg Kristallen, Schmp. 210–211°.



*Rückbildung von 3 aus 11*: 20 mg **11** werden in 5 ccm Methanol tropfenweise mit einer gesätt. wäbr.  $\text{KHCO}_3$ -Lösung bis zum Auftreten einer Trübung versetzt und bleiben 8 Stdn. bei Raumtemperatur stehen. Nach Zugabe von 5 ccm Wasser und Abdestillieren des Methanols wird mit Chloroform ausgeschüttelt. Es resultieren nach Umkristallisieren aus Chloroform/Äther 10 mg Kristalle, Schmp. 221–224°, die identisch mit **3** sind.

20 mg **11** werden in 2 ccm Pyridin 5 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Zusatz von 5 ccm Wasser wird mit Chloroform ausgeschüttelt: 12 mg **3** (Chloroform/Äther).

*Darstellung von Desacetylisopikropolin (16) aus 4:* 200 mg **4** werden in 10 ccm gesätt. methanol. Natriumcarbonatlösung 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Zusatz von 20 ccm Wasser erhält man 160 mg **16**, nadelförmige Kristalle, Schmp. 202–205°.

$C_{20}H_{24}O_7$  (376.4) Ber. C 63.83 H 5.96

Gef. C 63.50 H 5.90 Mol.-Gew. 376 (massenspektrometr.)

*Isopikropolin (17) aus 16:* 120 mg **16** werden in der üblichen Weise acetyliert und aufgearbeitet. Nach Chromatographie des Rohproduktes an 3 g Kieselgel (Elutionsmittel: Chloroform/Äther (7 : 1)) werden 75 mg *Isopikropolin (17)* erhalten, seidigglänzende Nadeln, Schmp. 205–206°. Mol.-Gew. 418 (massenspektrometr.).

[530/66]