

163. Iridoide aus *Verbascum nigrum* L.

182. Mitteilung über organische Naturstoffe¹⁾

von Karlheinz Seifert²⁾, Emanuel Schöpp^{a)}, Siegfried Johné^{b)} und Manfred Hesse^{a)}

^{a)} Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

^{b)} Institut für Biochemie der Pflanzen, Akademie der Wissenschaften der DDR, Weinberg 3, DDR-4020 Halle

(22.IV.82)

Iridoids from *Verbascum nigrum* L.

Summary

Two new iridoid glycosides, nigroside 1 (= 6-*O*-(3-*O*-cinnamoyl- α -L-rhamnopyranosyl)aucubin (2), and nigroside 2 (= 6-*O*-(2-*O*-cinnamoyl- α -L-rhamnopyranosyl)aucubin (3), and the known compound laterioside (1) have been isolated from extracts of the stems of *Verbascum nigrum* L., and their structures established primarily on the basis of NMR. spectroscopy. Harpagoside (4), a known iridoid glucoside, was also isolated from the roots of this plant.

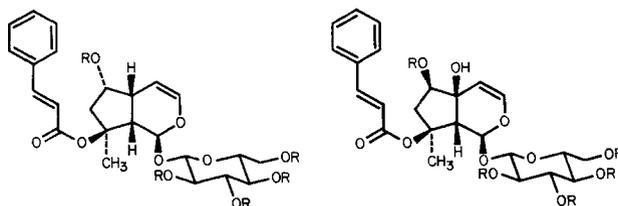
Verbascum nigrum L. (Königskerze) ist eine zweijährige Pflanze und gehört zur Familie der *Scrophulariaceae*. Sie ist im mittleren Europa weit verbreitet. Die zu unseren chemischen Versuchen benötigten Pflanzen wurden im *Institut für Biochemie in Halle* angezogen.

Nach der Extraktion von zweijährigen Pflanzen mit Äthanol (Sprossmaterial) bzw. Methanol (Wurzeln) wurden aus dem Äthanol-Extrakt das Iridoid Lateriosid (1) und die beiden neuen Iridoidglycoside Nigrosid 1 (2) und Nigrosid 2 (3) und aus dem Methanol-Extrakt das Iridoid Harpagosid (4) isoliert. Lateriosid (1) wurde bereits aus *Scrophularia lateriflora* TRAUTV. (*Scrophulariaceae*) isoliert und strukturell aufgeklärt [2]. Harpagosid (4) ist weit verbreitet und wurde in den Familien *Labiatae*, *Pedaliaceae* und *Scrophulariaceae* gefunden (vgl. [3]). Die Identifizierung von 1 und 4 erfolgte durch Vergleich der Schmelzpunkte der Acetyl-Derivate, der spezifischen Drehungen und spektroskopischen Daten (UV-, IR-, ¹H-NMR.- sowie Massen-Spektren). Lateriosid wurde ausserdem mit einem authentischen Präparat verglichen. Über die Isolierung und Strukturaufklärung von 6-*O*-(β -D-Xylopyranosyl)aucubin [4], 6-*O*-(α -L-Rhamnopyranosyl)aucubin (Sinuatol, 5) [5] und 6-*O*-(α -L-Sinuatosyl)aucubin [6] aus *Verbascum sinuatum* L. wurde kürzlich berichtet.

¹⁾ 181. Mitt., s. [1].

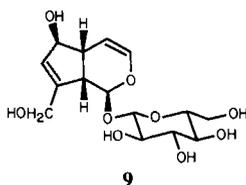
²⁾ Postdoktorand des Institutes für Biochemie der Pflanzen, Halle, 1981-1982.

Schema

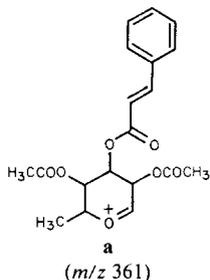


1 R = H
2 R = COCH₃

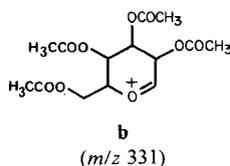
4 R = H
11 R = COCH₃



9



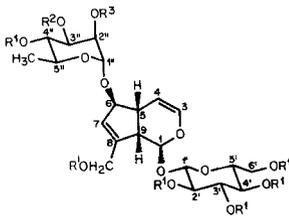
a
(m/z 361)



b
(m/z 331)

Nigrosid 1 (**2**, C₃₀H₃₈O₁₄, *M* = 622, Na-FD.-MS.: 645 ([*M* + Na]⁺); [*α*]_D²¹ = −140° (CH₃OH)) bzw. Nigrosid 2 (**3**, C₃₀H₃₈O₁₄, *M* = 622, Na-FD.-MS.: 645 ([*M* + Na]⁺), [*α*]_D²¹ = −142° (CH₃OH)) zeigen im IR.-Spektrum (KBr) die charakteristischen (C=C)- und (C=O)-Banden des Iridoidgerüsts und des Zimtsäureesters: 1700 bzw. 1705 (Ester), 1650 und 1635 bzw. 1640 (C=C), 1575 bzw. 1577 + 1450 (Aromat). Die Iridoidglycoside **2** und **3** weisen auch die typischen UV.-Maxima des Cinnamoylrestes bei 217, 221 und *ca.* 280 nm auf. Nach der Hydrolyse von **2** und **3** (NaOCH₃ gefolgt von CH₃COOH-Behandlung) wurde Zimtsäure nachgewiesen (DC.-Evidenz) und die Verbindung **5** isoliert, die sich beim Vergleich des Drehwertes und der spektroskopischen Daten (UV.-, IR.-, ¹H- und ¹³C-NMR.-Spektrum) als Sinuatol [**5**] erwies. Auch das ¹H-NMR.-Spektrum (CDCl₃) des peracetylierten Derivates von **5** stimmte mit den für Octaacetylsinuatol (**6**) angegebenen ¹H-NMR.-spektroskopischen Daten überein.

Durch Acetylierung (Acetanhydrid/Pyridin) wurden aus **2** bzw. **3** die Heptaacetylverbindungen **7** bzw. **8** hergestellt. Damit ist sichergestellt, dass die isomeren Iridoidglycoside **2** und **3** aus Aucubin (**9**) und L-Rhamnopyranose in der Anordnung des Sinuatols (**5**) bestehen. Sie unterscheiden sich hingegen bezüglich der Stellung des Cinnamoylrestes.

Tabelle 1. ¹H-NMR.-spektroskopische Daten von Iridoidglycosiden und deren O-Acetyl-Derivaten (200 MHz)³⁾

- 2 R¹ = H, R² = (*E*)-Cinnamoyl, R³ = H, Nigrosid 1
 3 R¹ = R² = H, R³ = (*E*)-Cinnamoyl, Nigrosid 2
 5 R¹ = R² = R³ = H
 6 R¹ = R² = R³ = COCH₃
 7 R¹ = COCH₃, R² = (*E*)-Cinnamoyl, R³ = COCH₃
 8 R¹ = R² = COCH₃, R³ = (*E*)-Cinnamoyl

	Verbindung (Lösungsmittel)					
	2 (CD ₃ OD)	3 (CD ₃ OD)	5 (CD ₃ OD)	7 (CDCl ₃)	8 (CDCl ₃)	6 (CDCl ₃)
H-C(1)	4,93 (<i>d</i> , <i>J</i> (1,9) = 6,6)	4,90	4,89			
H-C(3)	6,36 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (3,5) = 1,5)	6,32 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (3,5) = 1,5)	6,33 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (3,5) = 1,5)	6,24 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (3,5) = 1,5)	6,22 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (3,5) = 1,5)	6,22 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (3,5) = 1,5)
H-C(4)	5,18 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (4,5) = 3,5)	5,11 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (4,5) = 3,5)	5,12 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (4,5) = 3,5)			4,95 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (3,4) = 6,0, <i>J</i> (4,5) = 3,5)
H-C(5)	2,84–2,96 (<i>m</i>)	2,80–2,90 (<i>m</i>)	2,79–2,88 (<i>m</i>)	2,92 (<i>m</i>)	2,89 (<i>m</i>)	2,88 (<i>m</i>)
H-C(6)	4,50 (<i>m</i>)	4,46 (<i>m</i>)	4,50 (<i>m</i>)	4,44 (<i>m</i>)	4,40 (<i>m</i>)	4,39 (<i>m</i>)
H-C(7)	5,90 (<i>br. s</i>)	5,87 (<i>br. s</i>)	5,86 (<i>br. s</i>)	5,94 (<i>br. s</i>)	5,90 (<i>br. s</i>)	5,90 (<i>br. s</i>)
H-C(9)	2,84–2,96 (<i>m</i>)	2,80–2,90 (<i>m</i>)	2,79–2,88 (<i>m</i>)	3,14 (<i>m</i>)	3,11 (<i>m</i>)	3,12 (<i>m</i>)
CH ₂ OH				4,76 (<i>br. s</i>)	4,74 (<i>br. s</i>)	4,76 (<i>br. s</i>)
H-C(1')	4,69 (<i>d</i> , <i>J</i> (1',2') = 7,6)	4,65 (<i>d</i> , <i>J</i> (1',2') = 7,6)	4,68 (<i>d</i> , <i>J</i> (1',2') = 7,7)			
H-C(5')				3,74 (<i>m</i>)	3,72 (<i>m</i>)	3,73 (<i>m</i>)
2 H-C(6')				4,31 (<i>J</i> (5',6 _A) = 4,0, <i>J</i> (6 _A ,6 _B) = 13,0)	4,28 (<i>J</i> (5',6 _A) = 4,0, <i>J</i> (6 _A ,6 _B) = 13,0)	4,30 (<i>J</i> (5',6 _A) = 4,0, <i>J</i> (6 _A ,6 _B) = 13,0)
				4,19 (<i>J</i> (5',6 _B) = 2,0, <i>J</i> (6 _A ,6 _B) = 13,0)	4,16 (<i>J</i> (5',6 _B) = 2,0, <i>J</i> (6 _A ,6 _B) = 13,0)	4,17 (<i>J</i> (5',6 _B) = 2,0, <i>J</i> (6 _A ,6 _B) = 13,0)
H-C(1'')	4,89	4,87 (<i>d</i> , <i>J</i> (1'',2'') = 1,6)	4,81 (<i>d</i> , <i>J</i> (1'',2'') = 1,6)			
H-C(2'')	4,01 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (1'',2'') = 1,6, <i>J</i> (2'',3'') = 3,4)	5,05 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (1'',2'') = 1,6, <i>J</i> (2'',3'') = 3,4)	3,77 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (1'',2'') = 1,6, <i>J</i> (2'',3'') = 3,4)			
H-C(3'')	5,08 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (2'',3'') = 3,4, <i>J</i> (3'',4'') = 9,3)		3,63 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (2'',3'') = 3,4, <i>J</i> (3'',4'') = 9,3)		5,41 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> (2'',3'') = 3,4, <i>J</i> (3'',4'') = 9,3)	
H-C(4'')		3,45 (<i>t</i> , <i>J</i> (3'',4'') = 9,3, <i>J</i> (4'',5'') = 9,3)	3,38 (<i>t</i> , <i>J</i> (3'',4'') = 9,3, <i>J</i> (4'',5'') = 9,3)			
H-C(5'')				4,02 (<i>m</i> , <i>J</i> (4'',5'') = 9,3, <i>J</i> (5'',6'') = 6,1)	4,00 (<i>m</i> , <i>J</i> (4'',5'') = 9,3, <i>J</i> (5'',6'') = 6,1)	3,96 (<i>m</i> , <i>J</i> (4'',5'') = 9,3, <i>J</i> (5'',6'') = 6,1)

³⁾ In dieser Mitteilung wurde für die Cinnamoylgruppe die folgende Atomnumerierung verwendet:

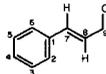


Tabelle 1 (Fortsetzung)

	Verbindung (Lösungsmittel)					
	2 (CD ₃ OD)	3 (CD ₃ OD)	5 (CD ₃ OD)	7 (CDCl ₃)	8 (CDCl ₃)	6 (CDCl ₃)
3 H–C(6'')	1,33 (<i>d</i> , $J(5'',6'')=6,1$)	1,28 (<i>d</i> , $J(5'',6'')=6,1$)		1,20 (<i>d</i> , $J(5'',6'')=6,1$)	1,25 (<i>d</i> , $J(5'',6'')=6,1$)	1,26 (<i>d</i> , $J(5'',6'')=6,1$)
H–C(7''')	7,77	7,72		7,78	7,65	
(Cinnamoyl)	(<i>d</i> , $J=16,0$)	(<i>d</i> , $J=16,0$)		(<i>d</i> , $J=16,0$)	(<i>d</i> , $J=16,0$)	
H–C(8''')	6,60	6,57		6,59	6,36	
(Cinnamoyl)	(<i>d</i> , $J=16,0$)	(<i>d</i> , $J=16,0$)		(<i>d</i> , $J=16,0$)	(<i>d</i> , $J=16,0$)	
5 arom. H	7,41 (<i>m</i>)	7,38 (<i>m</i>)		7,44 (<i>m</i>)	7,40 (<i>m</i>)	
(Cinnamoyl)	7,60 (<i>m</i>)	7,60 (<i>m</i>)		7,60 (<i>m</i>)	7,51 (<i>m</i>)	

Die ¹H-NMR.-Spektren (200 MHz, CD₃OD) von **2** und **3** sind in bezug auf die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten ihres Aucubinteiles mit demjenigen von Aucubin (**9**) selbst [7] fast identisch (s. *Tab. 1*). Die Signale der Vinylprotonen erscheinen mit der für **9** typischen Verschiebung: H–C(3) bei 6,36 ppm für **2** (**3**: 6,32 ppm), H–C(4) bei 5,18 ppm (**3**: 5,11 ppm). Für H–C(7) von **2** wird ein verbreitertes *s* bei 5,90 ppm (**3**: 5,87 ppm) beobachtet. Das für dieses Proton charakteristische Kopplungsmuster ($t \times d \times d$, $J(6,7)=1,6$ Hz, $J(7,9)=1$ Hz) wird für **9** im 360-MHz-¹H-NMR.-Spektrum gefunden [7]. Die β -Konfiguration der Hydroxylgruppe in 6-Stellung wird bestätigt durch die chemische Verschiebung des Protons H–C(6) in **2** von 4,50 ppm (**3**: 4,46 ppm). Im Spektrum des 6-epi-Aucubin ist das H–C(6)-Signal um etwa +0,26 ppm verschoben [5]. Das Signal für H–C(1) von Nigrosid 1 (**2**) erscheint bei 4,93 ppm und zeigt die erwartete Kopplungskonstante $J(1,9)=6,6$ Hz. Bei **3** und **5** ist das H–C(1)-Signal bei 4,90 ppm durch das Methanolsignal überdeckt. Einstrahlung bei 4,90 ppm bedingt somit eine deutliche Veränderung des Multipletts bei 2,80–2,90 ppm der Verbindung **3** (**5**: 2,79–2,88 ppm) von H–C(9)/H–C(5). Die β -Konfiguration des Glucose-teils in **2** lässt sich aus dem Signal für H–C(1') bei 4,69 ppm und der Kopplungskonstanten $J(1',2')=7,6$ Hz (**3**: 4,65 ppm, $J(1',2')=7,6$ Hz) ableiten. Die α -Konfiguration des L-Rhamnopyranoserestes in Nigrosid 1 (**2**) und Nigrosid 2 (**3**) ergibt sich aus der Kopplungskonstanten $J(1'',2'')=1,6$ Hz. Beim Vorliegen der β -Konfiguration müsste eine Kopplungskonstante von $J(1'',2'')=1,1$ Hz beobachtet werden [8]. Bei **2** ist das (H–C(1''))-Signal, in analoger Weise wie bei **3** und **5** das (H–C(1))-Signal, durch die Methanol-Absorption überdeckt. Die Zuordnung gelang bei **2** durch ein Entkopplungsexperiment: Einstrahlung bei 4,90 ppm (H–C(1'')) führt bei 4,01 ppm (H–C(2'')) zu einem *d* ($J(2'',3'')=3,4$ Hz). Ausserdem wird die α -Konfiguration des L-Rhamnopyranoserestes durch die chemische Verschiebung von H–C(5'') in den Peracyl-Verbindungen **6**, **7** und **8** bei 3,96, 4,02 bzw. 4,00 ppm bestätigt. Der Erwartungsbereich dieses Protons in der β -Konfiguration liegt bei 3,40 ppm [8]. Die ¹H-NMR.-Signale für H–C(3'') bzw. H–C(2'') bei 3,63 bzw. 3,77 ppm in Sinuatol (**5**) sind nach 5,08 bzw. 4,01 ppm in Nigrosid 1 (**2**) verschoben. Die Tieffeldverschiebung von H–C(3'') bzw. H–C(2'') bei **2** um 1,45 ppm bzw. 0,24 ppm gegenüber **5** ist auf die Veresterung mit Zimtsäure in 3''-Stellung der L-Rhamnopyranose zurückzuführen. Für Nigrosid 2 (**3**) wird eine analoge Tieffeldverschiebung für H–C(2'') um 1,28 ppm gegenüber **5** beobachtet und somit

Tabelle 2. ^{13}C -NMR.-spektroskopische Verschiebungen von Nigrosid 1 (**2**), Nigrosid 2 (**3**) und Sinuatol (**5**) (25,2 MHz)³)

C-Atom ^{a)}	Nigrosid 1 (CD ₃ OD)	Nigrosid 2 (CD ₃ OD)	Sinuatol (CD ₃ OD)	Sinuatol [5] (D ₂ O)	Zimtsäure- äthylester (CD ₃ OD)
1	97,98	97,98	98,03	96,69	
3	141,86	141,92	141,76	140,84	
4	105,50	105,37	105,48	105,76	
5	44,35	44,36	44,36	41,61	
6	89,05	89,35	88,85	88,27	
7	127,05	127,00	127,07	126,86	
8	149,48	149,67	149,22	149,23	
9				47,38	
10	61,49	61,47	61,42	60,37	
1'	99,95	99,95	99,89	99,32	
2'	74,92	74,92	74,85	73,56	
3'	78,27	78,29	78,19	76,97	
4'	71,55	71,57	71,50	70,40	
5'	77,89	77,89	77,83	76,49	
6'	62,69	62,69	62,59	61,45	
1''	101,02	98,34	101,07	100,40	
2''	70,43	74,63	72,47	71,20	
3''	75,66	70,57	72,23	71,01	
4''	71,40	74,32	73,94	72,87	
5''	70,43	70,31	70,13	69,81	
6''	18,13	18,12	18,00	17,40	
1'''	135,74	135,64			135,35
2'''	129,93 ^{a)}	129,94 ^{a)}			129,67
3'''	129,12 ^{a)}	129,23 ^{a)}			128,91
4'''	131,42	131,52			131,09
5'''	129,12 ^{a)}	129,23 ^{a)}			128,91
6'''	129,93 ^{a)}	129,94 ^{a)}			129,67
7'''	146,30	146,75			145,56
8'''	119,02	118,62			118,85
9'''	168,07	167,94			167,97

^{a)} Die Zahlen mit drei Strichen beziehen sich auf die C-Atome des Cinnamoylrests. ^{b)} Diese Werte können untereinander vertikal ausgetauscht werden.

ist in **3** der Cinnamoylrest in 2''-Stellung der L-Rhamnopyranose fixiert. Die für (*E*)-Cinnamoyl charakteristischen Vinylprotonen³⁾ befinden sich in **2** bei 7,77 ppm (*d*, *J* = 16,0 Hz, H–C(7''')) und 6,60 ppm (*d*, *J* = 16,0 Hz, H–C(8''')) (**3**: 7,72 ppm (*d*, *J* = 16,0 Hz) und 6,57 ppm (*d*, *J* = 16,0 Hz)) und die aromatischen Protonen bei 7,41 und 7,60 ppm, vgl. *Tabelle 1*.

Die Lage des Zimtsäureesters in 3''-Stellung von **2** ergibt sich auch aus der ^{13}C -NMR.-Tiefeldverschiebung (α -Effekt) von C(3'') um 3,43 ppm und der Hochfeldverschiebung (β -Effekt) von C(2'') und C(4'') um 2,04 und 2,54 ppm gegenüber Sinuatol (**5**), vgl. *Tabelle 2*. Nigrosid 2 (**3**) zeigt für C(2'') eine ^{13}C -NMR.-Tiefeldverschiebung von 2,16 ppm und für C(1'') bzw. C(3'') eine Hochfeldverschiebung von 2,73 bzw. 1,66 ppm gegenüber **5**; somit befindet sich der Cinnamoylrest in 2''-Stellung [7]. Die Glycosidierung durch α -L-Rhamnopyranose in 6-Stellung [2]

bei **2**, **3** und **5** folgt aus der Tieffeldverschiebung von C(6) um 6,31, 6,61 und 6,11 ppm und der Hochfeldverschiebung von C(5) um 1,72, 1,71 und 1,71 ppm und von C(7) um 3,22, 3,27 und 3,20 ppm gegenüber Aucubin [7]. Die chemische Verschiebung von C(9) kann nicht angegeben werden, da dieses Signal von Methanol-Absorptionen überdeckt ist.

Dass der Cinnamoylrest an dem L-Rhamnopyranoseresst haftet, ergibt sich auch aus den Massenspektren von **7** und **8**, wofür das Auftreten des intensiven Ions bei m/z 361 (für **7**: **a**) spricht. Das entsprechende Fragmentation aus dem Tetra-*O*-acetylglucose-Teil erscheint erwartungsgemäss bei m/z 331 (**b**). Der Hauptteil der Ionen, insbesondere diejenigen mit m/z 271, 211, 169, 145, 139, 127, 115, 109 und 103) sind typische «Zucker»-Fragmente.

Herrn Prof. Dr. O. Sticher, ETH Zürich, danken wir für ein Vergleichspräparat authentischen Lateriosids. Herrn N. Bild für die Aufnahme der Massenspektren. Die vorliegende Arbeit wurde durch ein Stipendium der Legerlotz-Stiftung und durch Zuwendungen des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung ermöglicht, wofür wir bestens danken.

Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen. Eindampfoperationen wurden im Rotationsverdampfer (i.RV.) bei maximal 50° Badtemperatur und ca. 10 Torr vorgenommen. Dünnschichtchromatographie (DC.) an Kieselgel *HF*₂₅₄ (Merck) bzw. präp. DC. an Kieselgel *PF*₂₅₄ (Merck). Farbreaktionen mit dem «Iridoid-reagens» (2proz. Lösung von Phloroglucin in Äthanol, gefolgt von konz.-Salzsäure-Besprühung) [9]. – UV.-Spektren in CH₃OH; Angabe der Extremwerte in nm (log ϵ). – IR.-Spektren (KBr): Angaben in cm⁻¹. – ¹H-NMR.-Spektren bei 200 MHz. – ¹³C-NMR.-Spektren bei 25,2 MHz. – Chemische Verschiebungen (δ) in ppm relativ zu internem Tetramethylsilan (=0 ppm). Kopplungskonstanten (*J*) in Hz. *s*=Singulett, *d*=Dublett, *t*=Triplett, *m*=Multipllett, *br.*=breit. – Massenspektren (MS.) auf Varian MAT 711, Angaben in m/z (rel.-% > 5%).

1. *Isolierung und Reinigung.* Es wurden 6 kg getrocknetes und gemahlenes Pflanzenmaterial (Spross) von *Verbascum nigrum* in Portionen von je 1,5 kg im Heissextraktor mit je 10 l Äthanol erschöpfend eluiert. Der Extrakt (40 l) wurde auf 4 l eingengt und 5 l Wasser zugefügt. Nach dem Abdestillieren des Äthanolis i.V. wurde 2mal mit je 4 l CHCl₃ ausgeschüttelt und die wässrige Phase i.V. eingedampft (1,05 kg). Vom Rückstand wurden 33 g an einer Säule mit 300 g Kieselgel (0,2–0,4 mm) unter Verwendung von CHCl₃, dem steigende Mengen CH₃OH zugefügt wurden, chromatographiert. Die mit CHCl₃/Methanol 8:2 bzw. 7:3 eluierten Fraktionen ergaben nach dem Eindampfen i.RV. Rückstand A (0,83 g) bzw. B (7,2 g). Die präp. DC. (CHCl₃/CH₃OH 3:2) von 209 mg A lieferte 108 mg Lateriosid (**1**). Nach Rechromatographie des Rückstandes B an 70 g Kieselgel wurde eine Iridoidfraktion von 3,4 g erhalten, welche durch HPLC. (Umkehrphase, *Waters Prep LC 500*) mit CH₃OH/H₂O 2:3 bzw. CH₃OH die Fraktionen C (920 mg) und D (1310 mg) lieferte. Die Fraktionen C und D enthielten die gleichen Komponenten in unterschiedlicher Menge. Weitere 2malige HPLC. der beiden Fraktionen an Kieselgel *Lichroprep SI 60* (Merck) und CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 und 17:3 bzw. CH₂Cl₂/CH₃OH 93:7 und 19:1 ergab insgesamt 217 mg Nigrosid 1 (**2**) bzw. 207 mg Nigrosid 2 (**3**). Frische Wurzeln (4,3 kg) von *V. nigrum* wurden im Schneidgranulator zerkleinert und 4mal mit je 12 l CH₃OH extrahiert. Nach Einengen i.V. auf 4 l wurden 5 l Wasser zugefügt und CH₃OH i.V. abdestilliert. Es wurde 2mal mit je 4 l CHCl₃ ausgeschüttelt und die wässrige Phase i.V. eingedampft. Vom Rückstand (600 g Rohprodukt) wurden 5 g an einer Säule mit 200 g (0,2–0,4 mm) Kieselgel chromatographiert. Die Eluierung mit CHCl₃/CH₃OH 7:3 lieferte nach Eindampfen i.RV. 290 mg Produkt, das nach präp. DC. (CHCl₃/CH₃OH 3:2) 146 mg Harpagosid (**4**) ergab.

2. *Daten von Nigrosid 1* (**2**). Amorphe, farblose Substanz. $[\alpha]_D^{25} = -140^\circ$ ($c = 0,52$, CH₃OH). – UV.: Max. 217 (4,09), 280 (4,26); Min. 236 (3,64); 221 *S* (4,08). – IR.: 3400 (OH), 1700 (Ester), 1650 *S* (C=C, Iridoid), 1635 (C=C, Cinnamoyl), 1575+1450 (Aromat). – ¹H- und ¹³C-NMR.: s. *Tabelle 1* und 2. – Na-FD.-MS.: 645 ($[M + Na]^+$).

3. *Herstellung und Daten von Heptaacetylnigrosid 1 (7)*. Nigrosid 1 (20 mg) wurde mit Essigsäureanhydrid (1 ml) und Pyridin (1 ml) 18 Std. bei 22° belassen, i.V. eingedampft und mit Äther chromatographiert (präp. DC.). Es resultierten 10 mg **7** als amorphe, farblose Substanz. – UV.: Max. 217 (4,08), 280 (4,30); Min. 234 (3,31); 222 S (4,06). – IR.: 1755 (C=O, Ester), 1660 S (C=C, Iridoid), 1635 (C=C, Cinnamoyl), 1575+1450 (Aromat), 1225 (OCOCH₃). – ¹H-NMR.: s. *Tabelle 1*. – MS.: 916 (0, M⁺), 361 (23), 332 (5), 331 (30), 271 (13), 211 (7), 191 (10), 171 (6), 170 (11), 169 (100), 153 (22), 145 (6), 139 (5), 132 (9), 131 (83), 127 (14), 120 (5), 115 (5), 111 (17), 109 (56), 103 (11), 83 (6), 81 (6), 44 (6), 43 (100).

4. *Daten von Nigrosid 2 (3)*. Amorphe, farblose Substanz. $[\alpha]_D^{25} = -142^\circ$ (c = 1,27, CH₃OH). – UV.: Max. 217 (4,06), 281 (4,25); Min. 238 (3,60); 221 S (4,07). – IR.: 3400 (OH), 1705 (C=O, Ester), 1650 S (C=C, Iridoid), 1640 (C=C, Cinnamoyl), 1577+1450 (Aromat). – ¹H- und ¹³C-NMR.: s. *Tabelle 1* und 2. – Na-FD.-MS.: 645 ([M + Na]⁺).

5. *Herstellung und Daten von Heptaacetylnigrosid 2 (8)*. Nigrosid 2 (40 mg) wurde 18 Std. mit 2 ml Essigsäureanhydrid/Pyridin 1:1 bei 22° belassen, i.V. eingedampft und der Rückstand mit Äther chromatographiert (präp. DC.). Es resultierten 35 mg **8** als amorphe, farblose Substanz. – UV.: Max. 219 (4,07), 280 (4,31); Min. 234 (3,45); 222 S (4,08). – IR.: 1750 (C=O, Ester), 1655 S (C=C, Iridoid), 1635 (C=C, Cinnamoyl), 1575+1450 (Aromat), 1225 (OCOCH₃). – ¹H-NMR.: s. *Tabelle 1*. – MS.: 916 (0, M⁺), 361 (15), 331 (24), 271 (10), 211 (6), 191 (8), 170 (9), 169 (90), 161 (5), 157 (5), 145 (5), 139 (8), 132 (12), 131 (100), 127 (11), 111 (5), 109 (42), 103 (10), 97 (7), 81 (5), 44 (7), 43 (93).

6. *Herstellung von Sinuatol (5) aus 2 und 3*. Nigrosid 1 (51 mg) bzw. Nigrosid 2 (60 mg) in je 1 ml 0,5N CH₃ONa-Lösung wurden 1 Std. bei 22° belassen, anschliessend mit Eisessig neutralisiert, das Lösungsmittel i.RV. abdestilliert und der Rückstand durch präp. DC. (CHCl₃/CH₃OH 3:2) gereinigt. Die beiden Präparate (aus **2** und **3**) (24 mg bzw. 23 mg) waren identisch (DC., ¹H-NMR., ¹³C-NMR.-Evidenz). Amorphe, farblose Substanz. $[\alpha]_D^{25} = -144^\circ$ (c = 0,70, CH₃OH), $[\alpha]_D^{25} = -154^\circ$ (c = 0,25, H₂O; Lit. [5]: – 158°). – IR.: 3400 (OH), 1650 (C=C, Iridoid).

7. *Herstellung und Daten von Octaacetylsinuatol (6)*. Sinuatol (23 mg) wurde analog *Kap. 3* acetyliert und chromatographiert: **6** (10 mg), amorphe, farblose Substanz. – IR.: 1745 (C=O, Ester), 1655 S (C=C, Iridoid), 1227 (OCOCH₃). – ¹H-NMR.: s. *Tabelle 1*. – MS.: 828 (0, M⁺), 331 (26), 273 (10), 271 (10), 211 (6), 191 (7), 171 (6), 170 (8), 169 (84), 153 (25), 131 (6), 127 (11), 115 (5), 111 (18), 109 (37), 102 (16), 83 (6), 81 (5), 71 (16), 44 (24), 43 (100).

8. *Daten von Lateriosid (1)*. Amorphe, farblose Substanz. $[\alpha]_D^{25} = -59^\circ$ (CH₃OH). ([2]: $[\alpha]_D^{20} = -68.9^\circ$ (CH₃OH)).

9. *Daten von Pentaacetyl lateriosid (10)*. Smp. 169°. $[\alpha]_D^{25} = -93^\circ$ (CHCl₃). ([2]: Smp. 157–159°, $[\alpha]_D^{20} = -89.2^\circ$ (CHCl₃)).

10. *Daten von Harpagosid (4)*. Amorphe, farblose Substanz. $[\alpha]_D^{25} = -46^\circ$ (CH₃OH). ([10]: $[\alpha]_D^{25} = -42.6^\circ$ (CH₃OH)).

11. *Daten von Pentaacetyl harpagosid (11)*. Smp. 211°. $[\alpha]_D^{25} = -70^\circ$ (CHCl₃). ([10]: Smp. 213–214°, $[\alpha]_D^{25} = -60.2^\circ$ (CHCl₃)).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. Kyburz, E. Schöpp, I. R. C. Bick & M. Hesse, *Helv. Chim. Acta* **64**, 2555 (1981).
- [2] L. Swiatek, D. Lehmann & O. Sticher, *Pharm. Acta Helv.* **56**, 37 (1981).
- [3] L. J. El-Naggar & J. L. Beal, *J. Nat. Prod.* **43**, 649 (1980).
- [4] A. Bianco, M. Guiso, C. Iavarone, P. Passacantilli & C. Trogolo, *Phytochemistry* **19**, 571 (1980).
- [5] A. Bianco, M. Guiso, C. Iavarone, P. Passacantilli & C. Trogolo, *Planta Med.* **41**, 75 (1981).
- [6] A. Bianco, M. Guiso, C. Iavarone, P. Passacantilli & C. Trogolo, *Phytochemistry* **20**, 465 (1981).
- [7] O. Sticher, B. Meier, D. Lehmann & L. Swiatek, *Planta Med.* **38**, 246 (1980).
- [8] C. Laffite, A. M. Nguyen Phuoc Du, F. Winternitz, R. Wylde & F. Pratiel-Sosa, *Carbohydr. Res.* **67**, 91 (1978).
- [9] O. Sticher & A. Weisflog, *Pharm. Acta Helv.* **50**, 394 (1975).
- [10] H. Lichti & A. von Wartburg, *Helv. Chim. Acta* **49**, 1552 (1966).