

## 17. Ein neues Esteriridoidglycosid aus *Sambucus ebulus* L. (*Caprifoliaceae*)

1. Mitteilung über die Inhaltsstoffe der Zwergholunderwurzel

von Gian-Andrea Gross und Otto Sticher\*

Pharmazeutisches Institut, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, CH-8092 Zürich

und Clemens Anklin

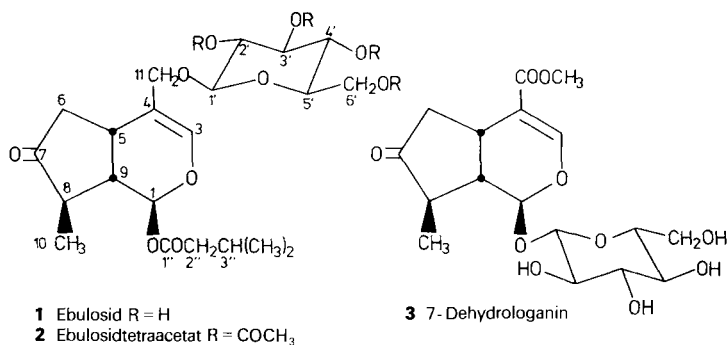
Firma Bruker Spectrospin AG, CH-8117 Fällanden

(19.VIII.85)

### A Novel Ester Iridoid Glucoside from *Sambucus ebulus* L. (*Caprifoliaceae*)

A novel ester iridoid glucoside, ebuloside (**1**), which shows structure elements of the rare 7-Dehydrologanin derivatives combined with those of the *Valerianaceae* iridoids, was isolated from the roots of *Sambucus ebulus* L. Its structure was determined by MS, NMR, and CD spectroscopy as 7-oxo-8-deoxyvalerosidatum.

**1. Einleitung.** – *Sambucus ebulus* L. (*Caprifoliaceae*) ist der einzige krautige Vertreter der in Mitteleuropa heimischen Gattung *Sambucus*. Verschiedene Autoren berichteten über ein in der ganzen Pflanze vorkommendes bitteres Prinzip, das für die toxische Wirkung derselben verantwortlich gemacht wird [1–4]. Aus dem methanolischen Extrakt der handelsüblichen getrockneten Wurzeln, deren Infus in der Volksmedizin als Diuretikum und Harnwegsdesinfizienz verwendet wird, konnte das stark bittere Iridoidglycosid **1**, für das wir den Namen Ebulosid vorschlagen, als Hauptinhaltsstoff isoliert werden [5].



**2. Ergebnisse und Diskussion.** – Ebulosid (**1**), C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>10</sub>, MG = 444, (abgeleitet aus FAB-MS, [M + H]<sup>+</sup> = 445) ist ein amorphes, stark hygroskopisches Pulver ([α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = –169°). Ein starkes UV-Absorptionsmaximum bei 204 nm sowie eine schwache Absorption bei 279 nm entsprechen der Anregung des Enolether- sowie des Ketocarboxylchromophors. Das IR-Spektrum (KBr) von **1** zeigt Banden bei 3400 (br., OH), 1745

(C=O) sowie 1665 cm<sup>-1</sup> (C=C). Mit Ac<sub>2</sub>O/Pyridin liess sich **1** in das Tetraacetylderivat **2**, C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>14</sub>, M<sup>+</sup> = 612 (EI-MS), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -162,2°, überführen. Saure wie enzymatische Hydrolyse von **1** lieferte Glucose (DC-Nachweis). Die Differenz der Molrotationen von Glycosid und Aglycon zeigte die Zugehörigkeit der Glucose zur D-Konfigurationsreihe und liess β-Konfiguration an C(1') vermuten. Die Konstitution des Aglycons wurde aus den <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren von **1** in CD<sub>3</sub>OD und (D<sub>5</sub>)Pyridin, sowie von **2** in CDCl<sub>3</sub> abgeleitet. Zum Vergleich stand eine authentische Probe von 7-Dehydrologanin (**3**) von bekannter Konfiguration zur Verfügung<sup>1)</sup>.

Tab. 1. <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopische Daten von **1-3**<sup>a)</sup>

Proton	1 <sup>b)</sup>	1 <sup>c)</sup>	2 <sup>d)</sup>	3 <sup>b)</sup>	3 <sup>c)</sup>
H-C(1)	6,24 (br. s)	6,54 (d, J = 2,5)	6,24 (d, J = 2,3)	5,61 (d, J = 3,2)	5,9 (d, J = 2,95)
H-C(3)	6,41 (br. s)	6,56 (br. s)	6,31 (d, J = 1,6)	7,48 (d, J = 1,4)	7,69 (d, J = 1,17)
H-C(5)	3,1-3,4 (m)	3,33 (br. t, J = 7,5)	3,05 (m)	3,1-3,5 (m)	3,8 (m)
H <sub>α</sub> -C(6)	2,77 (br. d, J = -19)	3,02 (dt, J = -19, 1,7)	2,58 (br. d, J = -18,9)	2,51 (br. ddd, J = -19, 3,6, 1,3)	2,77 (dd, J = -19, 2,5)
H <sub>β</sub> -C(6)	2,46 (dd, J = -19, 8,6)	2,52 (dd, J = -19, 8,6)	2,35 (dd, J = -18,9, 8,5)	2,63 (dd, J = -19,1, 8,0)	2,65 (dd, J = -19, 8,1)
H-C(8)	2,0-2,2 (m)	2,16-2,19 (m)	2,13 (m)	2,08-2,17 (m <sup>f)</sup> )	2,19 (m <sup>f)</sup> )
H-C(9)	2,3 (m)	2,26-2,32 (ddd, J = 11, 7,5, 2,5)	2,15-2,22 (m)	2,33 (ddd, J = 10,2, 7, 3,2)	2,38 (ddd, J = 10,4, 7,3, 2,9)
CH <sub>3</sub> -C(8)	1,15 (d, J = 6,9)	1,15 (d, J = 6,9)	1,18 (d, J = 6,6)	1,15 (d, J = 7)	0,98 (d, J = 7)
CH <sub>2</sub> -C(4)	4,27, 4,18 (AB, J = -11,3)	4,49, 4,29 (AB, J = -11,8)	4,19, 4,06 (AB, J = -11,6)	-	-
H-C(1')	4,26 (d, J = 7,5)	4,83 (d, J = 7,8)	4,5 (d, J = 7,9)	4,67 (d, J = 7,8)	5,3 (d, J = 7,8)
H-C(2')	-	3,96 (t, J = 9 <sup>e)</sup> )	4,99 (dd, J = 9,4, 7,9)	3,97-4,07 (m)	-
H-C(3')	3,14-3,34 (m, 4H)	4,21 (t, J = 9 <sup>e)</sup> )	5,19 (t, J = 9,4)	-	4,21-4,29 (m)
H-C(4')	-	4,15 (t, J = 9 <sup>e)</sup> )	5,06 (t, J = 9,4)	3,16-3,55 (m, 3H)	4,21-4,29 (m)
H-C(5')	3,97-4,07 (m)	3,91-3,95 (m)	3,65 (m)	-	3,97-4,07 (m)
CH <sub>2</sub> (6')	3,85 (br. d, J = -11,8)	4,53 (A von ABX, J = -12,5, 1,5)	4,24 (A von ABX, J = -12,2, 2,5)	3,9 (A von ABX, J = -12, 2)	4,36 (A von ABX, J = -11,9, 2,4)
	3,65 (br. d, J = -11,8)	4,32 (B von ABX, J = -12,5, 5,6)	4,15 (B von ABX, J = -12,2, 4,7)	3,65 (B von ABX, J = -12, 5,9)	4,51 (B von ABX, J = -11,9, 5,3)
CH <sub>2</sub> (2'')	2,25 (d, J = 6,5)	2,23 (d, J = 7)	2,25 (d, J = 7)	-	-
H-C(3'')	2,0-2,2 (m)	2,14 (m)	2,12 (m)	-	-
2CH <sub>3</sub> -C(3''')	0,97 (d, J = 6,6)	0,91 (d, J = 6,3)	0,98 (d, J = 6,6)	-	-
		0,92 (d, J = 6,3)			
CH <sub>3</sub> O	-	-	-	3,69 (s)	3,53 (s)
CH <sub>3</sub> COO	-	-	1,99, 2,02, 2,04, 2,08 (4s)	-	-

<sup>a)</sup> Chemische Verschiebungen in ppm relativ zu internem TMS. In Klammern Kopplungskonstanten in Hz.  
<sup>b)</sup> Aufgenommen in CD<sub>3</sub>OD bei 300,13 MHz.  
<sup>c)</sup> Aufgenommen in (D<sub>5</sub>) Pyridin bei 400,13 MHz.  
<sup>d)</sup> Aufgenommen in CDCl<sub>3</sub> bei 300,13 MHz.  
<sup>e)</sup> Die Zuordnung der Glucoseprotonen im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum erfolgte mit Hilfe des verschiebungskorrelierten 2D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrums (COSY) im Bereich 3,6-4,0 ppm (Fig. 1).  
<sup>f)</sup> Breites Fünfliniensignal (J ca. 7 Hz).

<sup>1)</sup> 7-Dehydrologanin wurde von Inouye et al. zum Zweck der Strukturbestimmung von Logenin aus authentischem Asperulosid synthetisiert [6].

Das EI-MS von **1** zeigt als Signal höchster Masse  $m/z$  426, entsprechend dem dehydratisierten Molekülion  $[M - H_2O]^+$ , dasjenige von **2** einen schwachen Molekülionenpik  $M^+$  bei  $m/z$  612. Charakteristische Fragmentierungsprodukte sind bei **1**  $[M - H_2O - C_5H_9O + H]^+$  ( $m/z$  342), entsprechend der Abspaltung von Isovalerat, und 180 ( $[C_{10}H_{12}O_3]^+$ ) (Aglycon). Bei **2** tritt  $m/z$  510 (Abspaltung von Isovaleriansäure,  $C_5H_{10}O_2$ ) auf; den Basispik beider Spektren findet man bei  $m/z$  85 ( $[C_5H_9O]^+$ ). Im weiteren sind bei **1** und **2** die üblichen Zerfallsprodukte von Glucose bzw. Tetraacetylglucose [7] erkennbar. Im FAB-MS treten die Signale  $[M + H]^+$ ,  $[M + K]^+$ ,  $[M + Na]^+$ ,  $[2M + K]^+$  und Addukte des Molekülions mit der Glycerinmatrix auf.

Das  $^1H$ -NMR-Spektrum (300.13 MHz) von **1** in  $CD_3OD$  (s. Tab. 1) zeigt bei hohem Feld das  $d$  der in diesem Lösungsmittel isochronen  $CH_3$ -Gruppen an  $C(3'')$  des Isovale-

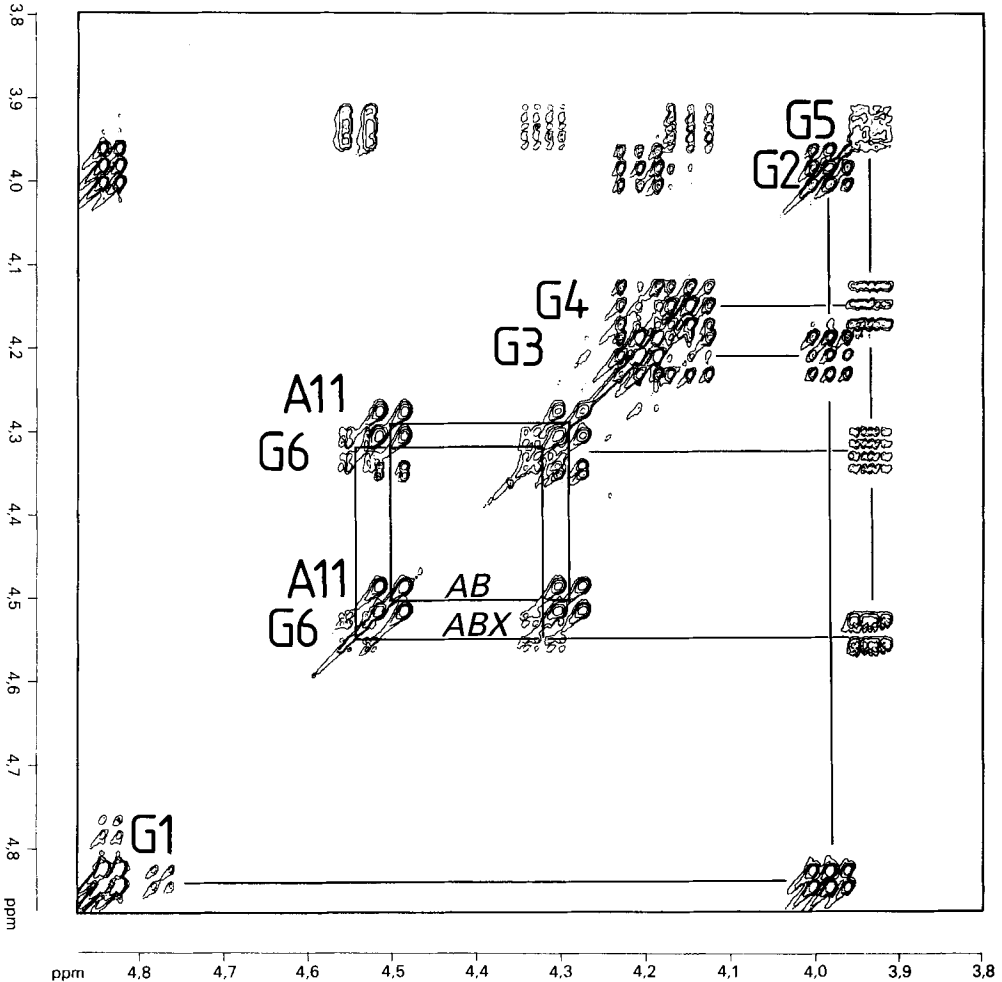


Fig. 1.  $2D$ - $^1H$ -NMR-COSY-Experiment ( $D_5$ ) Pyridin im Bereich der Zuckerprotonen (3,6–4,9 ppm) von *Ebulosid* (**1**). Die mit G bezeichneten Signale entsprechen den Gerüstprotonen der Glucoseeinheit, A kennzeichnet Signale von Aglyconprotonen.

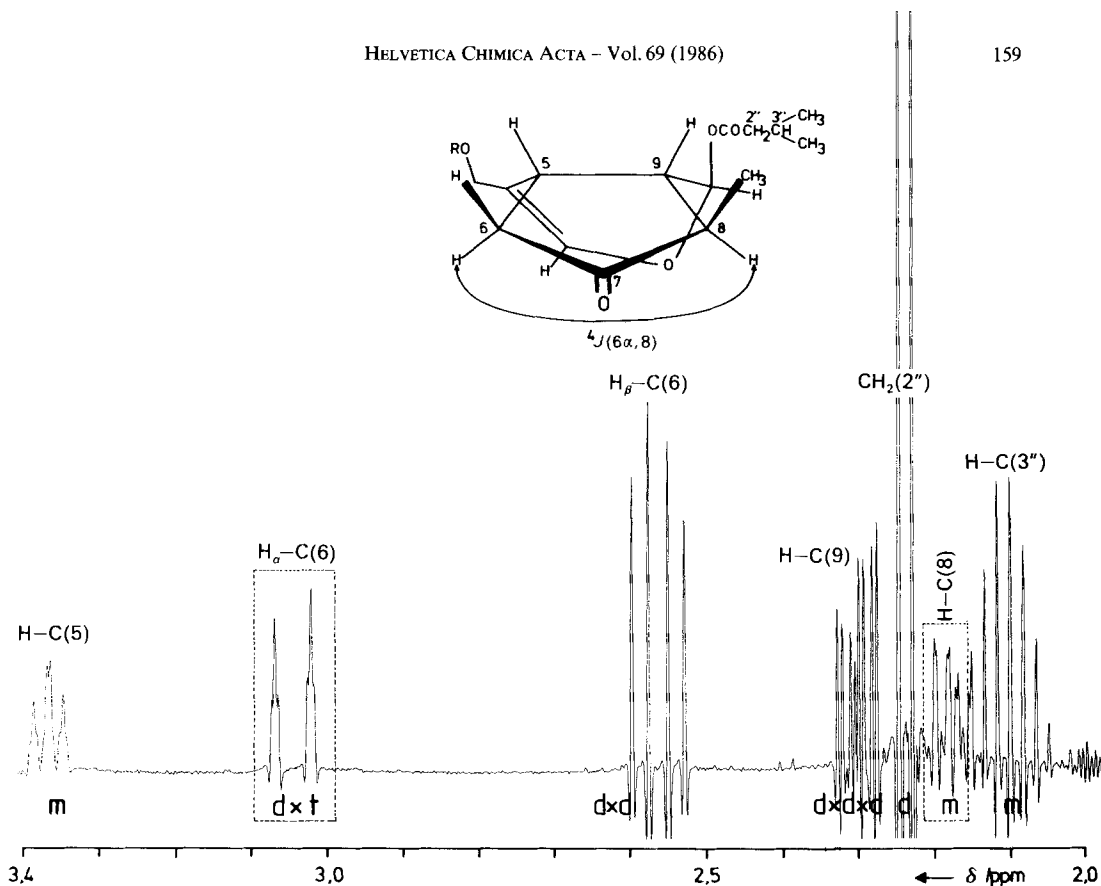


Fig. 2. Ausschnitt aus dem auflösungsverbesserten 400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum ((D<sub>5</sub>) Pyridin) von Ebulosid 1. Die *t*-Aufspaltung der *d*-Komponenten von H<sub>α</sub>-C(6) entsteht wegen der praktisch gleich grossen Kopplungskonstanten <sup>3</sup>J(6α,5) und <sup>4</sup>J(6α,8) (beide ca. 1,7 Hz). Die Zuordnung aller bezeichneten Gerüstprotonensignale wurde durch Spinnetzkopplungsexperimente abgesichert.

riensäureesters (0,97 ppm,  $J = 6,6$  Hz) wie auch dasjenige von CH<sub>3</sub>-C(8) (1,15 ppm,  $J = 6,9$  Hz). Es folgt bei 2,1 ppm ein nicht aufgelöstes *m*(2H), das dem H-C(3'') und H-C(8) zugeordnet wurde. Die 2 zufällig isochronen H-C(2'') absorbieren als *d* bei 2,25 ppm ( $J = 6,5$  Hz) zusammen mit H-C(9). Der entschirmende Einfluss von C(7)=O im Cyclopentanonring lässt die in α-Stellung angeordnete CH<sub>2</sub>-Gruppe als *AB*-Teil eines *ABX*-Systems bei 2,61 ppm absorbieren; die Zuordnung der Signale von H<sub>α</sub>- bzw. H<sub>β</sub>-C(6) konnte in eindeutiger Weise aufgrund der festgestellten Kopplungskonstanten erfolgen: Aus einem Molekülmodell wurden die Diederwinkel H<sub>α</sub>-C(6)/H-C(5) zu ca. 90° bzw. H<sub>β</sub>-C(6)/H-C(5) zu ca. 0° abgeschätzt, was verständlich macht, dass nur letztere Protonen eine messbare Kopplung aufzeigen. Dies steht in Übereinstimmung mit der Beobachtung von Kucaba *et al.* [8], der an Iridoiden vom Typ des Isodidrovaltratum feststellte, dass H<sub>α</sub>-C(6) bei tieferem Feld als H<sub>β</sub>-C(6) in Resonanz tritt. Die Kopplungskonstante <sup>3</sup>J(5,9) von 7,5 Hz weist auf die *cis*-Ringverknüpfung hin. Ein weiteres *ABX*-System erzeugen die Protonen CH<sub>2</sub>(6')/H-C(5') des Glucose-Rests bei 3,76 ppm ( $J_{AB} = 11,8$  Hz). Die β-glycosidische Verknüpfung der Glucose wird durch die <sup>3</sup>J(1',2')-Kopplungskonstante von 7,5 Hz angezeigt. Über 5 ppm treten das olefinische H-C(3)

Tab. 2.  $^{13}\text{C}$ -NMR-spektroskopische Daten von 1–3<sup>a)</sup>

C-Atom	1 <sup>b)</sup>	1 <sup>c)</sup>	3 <sup>c)</sup>	8-Epivalerosidatum [12] <sup>d)</sup>
C(1)	92,32 ( <i>d</i> )	90,55 ( <i>d</i> )	95,54 ( <i>d</i> )	91,06 ( <i>d</i> )
C(3)	142,72 ( <i>d</i> )	140,98 ( <i>d</i> )	153,37 ( <i>d</i> )	138,74 ( <i>d</i> )
C(4)	114,42 ( <i>s</i> )	113,40 ( <i>s</i> )	111,2 ( <i>s</i> )	116,73 ( <i>s</i> )
C(5)	30,60 ( <i>d</i> )	29,43 ( <i>d</i> )	28,41 ( <i>d</i> )	28,69 ( <i>d</i> )
C(6)	42,74 ( <i>t</i> )	41,08 ( <i>t</i> )	43,64 ( <i>t</i> )	35,87 ( <i>t</i> )
C(7)	226,0 ( <i>s</i> )	220,55 ( <i>s</i> )	220,70 ( <i>s</i> )	79,23 ( <i>d</i> )
C(8)	46,15 ( <i>d</i> )	44,51 ( <i>d</i> )	44,81 ( <i>d</i> )	79,58 ( <i>d</i> )
C(9)	46,72 ( <i>d</i> )	46,04 ( <i>d</i> )	46,73 ( <i>d</i> )	48,45 ( <i>d</i> )
C(10)	14,97 ( <i>q</i> )	13,31 ( <i>q</i> )	13,87 ( <i>q</i> )	21,90 ( <i>q</i> )
C(11)	71,21 ( <i>t</i> )	69,38 ( <i>t</i> )	168,97 ( <i>s</i> )	69,71 ( <i>t</i> )
CH <sub>3</sub> O				
C(1')	103,78 ( <i>d</i> )	103,27 ( <i>d</i> )	100,36 ( <i>d</i> )	103,72 ( <i>d</i> )
C(2')	75,81 ( <i>d</i> )	75,04 ( <i>d</i> )	74,81 ( <i>d</i> )	75,14 ( <i>d</i> )
C(3')	78,59 ( <i>d</i> )	77,93 ( <i>d</i> )	78,15 ( <i>d</i> )	77,96 ( <i>d</i> )
C(4')	72,32 ( <i>d</i> )	71,61 ( <i>d</i> )	71,74 ( <i>d</i> )	71,71 ( <i>d</i> )
C(5')	78,59 ( <i>d</i> )	78,05 ( <i>d</i> )	78,57 ( <i>d</i> )	78,12 ( <i>d</i> )
C(6')	63,53 ( <i>t</i> )	62,87 ( <i>t</i> )	62,92 ( <i>t</i> )	62,85 ( <i>t</i> )
C(1'')	176,49 ( <i>s</i> )	173,13 ( <i>s</i> )		173,19 ( <i>s</i> )
C(2'')	45,55 ( <i>t</i> )	44,07 ( <i>t</i> )		44,21 ( <i>t</i> )
C(3'')	28,15 ( <i>d</i> )	26,84 ( <i>d</i> )		26,81 ( <i>d</i> )
C(4'')/C(5'')	24,43 (2 <i>q</i> )	22,73 (2 <i>q</i> )		22,64 (2 <i>q</i> )

<sup>a)</sup> Chemische Verschiebungen in ppm relativ zu internem TMS.

<sup>b)</sup> Aufgenommen in D<sub>2</sub>O bei 75,47 MHz.

<sup>c)</sup> Aufgenommen in CD<sub>3</sub>OD bei 75,47 MHz (3: 50°).

<sup>d)</sup> Aufgenommen in CD<sub>3</sub>OD bei 100,47 MHz [12].

und das acetalische H–C(1) in Resonanz. In (D<sub>5</sub>)Pyridin erscheinen die Signale des Glucose-Rests um etwa 0,7 ppm tieffeldverschoben (s. Tab. 1). Die Zuordnung der Glucoseprotonen erfolgte mit Hilfe eines homonuclear korrelierten 2D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrums (COSY 90, 400 MHz, (D<sub>5</sub>)Pyridin, s. Fig. 1). Die Lokalisation der in (D<sub>5</sub>)Pyridin freiliegenden Signale der Gerüstprotonen an C(5) und C(9) wie auch von H–C(3'') konnte durch Entkopplungsexperimente bestimmt werden. Die Begründung der β-Stellung von CH<sub>3</sub>–C(8) lieferte die in einem <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-verschiebungskorrelierten 2D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (COSY; (D<sub>5</sub>)Pyridin) von **1** sichtbare Kopplung H<sub>x</sub>–C(6)/H–C(8), die sich mit der W-Anordnung des Kopplungssystems vernünftig erklären lässt. Im eindimensionalen <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum ((D<sub>5</sub>)Pyridin) ist bei 400 MHz Messfrequenz und geeigneter Auflösungsverbesserung die *dt*-Struktur von H<sub>x</sub>–C(6) nachweisbar (vgl. Fig. 2).

Die Übereinstimmung der differentiellen Absorptionskoeffizienten der Ketocarbo-nylchromophore von **1** und **3** bestätigt den Befund gleicher Konfiguration an C(8) ebenfalls [9]. Die quasiaxiale Stellung der Isovaleroylgruppe erscheint wegen der kleinen Kopplungskonstanten <sup>3</sup>J(1,9) (2,5 Hz) sowie des stark negativen Cotton-Effekts des Enoletherchromophors bei **1** zwingend [9–11]. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von **2** zeigt Signale für 4 aliphatische Ac-Gruppen bei 1,99–2,08 ppm. Die chemischen Verschiebungen der Gerüstprotonen wie auch deren Kopplungskonstanten entsprechen denen von **1**.

Die <sup>13</sup>C-NMR-chemischen Verschiebungen von Ebulosid (**1**) lassen sich unter Berücksichtigung von kleinen Lösungsmittelunterschieden sowohl mit den bei 7-Dehydro-

loganin gemessenen als auch mit den Literaturdaten von 8-Epivalerosidatum [12], Penstemid [13] und Verbenalin [14] korrelieren (Tab. 2). Die Lage des C(1')-Signals bei ca. 103 ppm bestätigt die von Jensen *et al.* [11] bei Penstemid erstmals gemachte Beobachtung, dass C(1') bei C(11)-glucosidierten Iridooidderivaten (Valeriana-Typ) gegenüber den C(1)-Glucosiden (Loganin-Typ) um 2,5–3 ppm nach tieferem Feld verschoben ist. Bei 7-Dehydrologanin absorbiert C(1') im üblichen Rahmen um 100 ppm.

Aufgrund dieser Daten halten wir die Konstitution und Konfiguration von Ebulosid als 7-Oxo-8-desoxyvalerosidatum für gesichert.

Unser Dank gilt Prof. H. Inouye (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Japan) für die Überlassung einer Probe von 7-Dehydrologanin, Prof. G. Snatzke (Lehrstuhl für Strukturchemie der Ruhr Universität Bochum) für die Aufnahme und Interpretation der CD-Spektren, Dr. J. Meili (Organische Chemie ETHZ) für die Aufnahme der FAB-Massenspektren und Herrn F. Fehr (Organische Chemie ETHZ) für die Aufnahme der NMR-Spektren (300 MHz). Ebenso sind wir den Herren Professoren L. F. Tietze, Institut für Organische Chemie, Universität Göttingen, BRD, und W. Simon, ETHZ, für nützliche Hinweise bei der Abfassung des Manuskripts verbunden.

### Experimenteller Teil

*Allgemeines.* Die Acetylierung erfolgte mit frisch destilliertem Pyridin (*p.a.*, Merck) und Ac<sub>2</sub>O (*p.a.*, Merck) und die enzymatische Hydrolyse mit  $\beta$ -Glucosidase (Fluka). Gegenstromverteilung: Boy 505 (Labortec). Lyophilisate: Gefriertrocknungsanlage EF3 (Edwards). Fraktionskontrollen bei der Isolierung: DC-Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck) und C12-Fertigplatten «OptiUp» (Antec); Sichtbarmachen der Flecke mit Godin-Reagens (Glycoside) und Anisidinphthalat-Reagens (Zucker), Niederdruckchromatographie: Duramet-Pumpe (CFG) und Quickfit-Säulen (Mercatura-AG); stationäre Phase: Silicagel F<sub>254</sub> sowie Sephadex LH20 (Pharmacia). DCCC: 270 Säulen (DC-G) von 3,4 mm innerem Durchmesser (Modell A, Tokyo Rikakikai). Die Reinheit der isolierten Substanzen wurde mittels HPLC kontrolliert (Pumpe: Waters M6000; Injector: Waters U6K; Detektor: Perkin-Elmer-LC85-UV-Spektrophotometer, für I bei 206 nm; Säule: Knauer Lichrosorb C18 4 × 250 mm, 10  $\mu$ m; mobile Phase: 50% MeOH für HPLC (Blackford Wells); Flussrate: 1,0 ml/min, 100 p.s.i. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub>: Perkin-Elmer-141-Polarimeter. UV-Spektren ( $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ )): in MeOH zur Spektroskopie (Merck); Perkin-Elmer-550-Spektrophotometer. CD-Spektren ( $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ )): Jobin-Yvon-Dichrograph Mark III; Schichtdicke 1 cm; in MeCN; Dämpfung 5, Empfindlichkeit 10<sup>6</sup>, Zellenlänge 1 cm. IR-Spektren ( $\bar{\nu}$ , cm<sup>-1</sup>): Substanzen 24 h i. HV. getrocknet; in KBr; Perkin-Elmer-257-Spektrometer. <sup>1</sup>H-NMR-Spektren ( $\delta$ -Werte in ppm, J in Hz): bei 300,13 MHz mit Bruker-WM-300- bzw. bei 400 MHz mit Bruker-AM-400-Spektrometer. 2D-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (COSY 90): bei 400 MHz (Fig. 1); bei einer spektralen Breite von 450 Hz und einer Transformationsgrösse von 0,5K × 1K Datenpunkten ergab sich eine digitale Auflösung von 0,88 Hz/Punkt; es wurden 256 Spektren von 1K Datenpunkten registriert; vor der Fouriertransformation wurden die FID's mit einer Sinusfunktion gewichtet; long-range-Kopplungen wurden mit einem zweiten COSY-90-Experiment bestimmt<sup>2)</sup> (1K × 1K Datenpunkte, 2475 Hz spektrale Breite, Zeitinkrement vor der Aquisition 0,2 s; vor der Fouriertransformation wurde mit um  $\pi/2$  verschobener Sinusfunktion gewichtet); alle Spektren wurden als Contour-Plots ausgewertet. EI-MS (*m/z*): bei 70 eV; Hitachi-Perkin-Elmer-RMU-6M Spektrometer (Direktinlass). FAB-MS (*m/z*): Kratos AEI-MS 50 unter Verwendung von Xenon als Stossgas in Glycerin + KCl bei 8,3 KeV.

*Isolierung von Ebulosid (I).* Getrocknete Wurzeln (2 kg) von *Sambucus ebulus* L. (Attichwurzel der Firma Siegfried AG, Zofingen, Lot. Nr. 979279) wurden pulverisiert und nacheinander je 5mal mit Portionen von 2 l Ligroin, CHCl<sub>3</sub>, und MeOH extrahiert, wobei die Droge vor dem Wechsel des Extraktionsmittels jeweils getrocknet wurde. Der i.V. vom Lsgm. befreite MeOH-Extrakt (209 g) wurde in H<sub>2</sub>O aufgenommen und mit BuOH ausgeschüttelt. Der BuOH-Extrakt (30 g) wurde einer Gegenstromverteilung unterworfen (200 Stufen, CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 43:37:20, 50 Schüttelbewegungen pro Stufe, Trennzeit 10 min): I wurde in den Stufen 66–96 gefunden (DC-Kontrolle: a) Silicagel: org. Phase des Trenngemisches, b) reversed-phase-DC: wässrige Phase des Trenngemisches). Die I enthaltenden Fraktionen (3,1 g) wurden durch DCCC weiter gereinigt (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 5:6:4,

<sup>2)</sup> In [5] abgebildet.

absteigende Methode, 1 ml/min). Schliesslich wurden 750 mg noch verunreinigtes **1** mittels Niederdruckchromatographie (Säule: 2,5 × 80 cm, Silicagel, CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 90:10:0,5, Druck 5 bar) und abschliessende Gelfiltration (gleiche Säulendimension, H<sub>2</sub>O/MeOH 9:1) vollständig von Verunreinigungen befreit: 130 mg reines *Ebulosid* (= *Isovaleriansäure*-{4-[ $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)methyl]-1,4 $\alpha$ ,5,6,7,7 $\alpha$ -hexahydro-7 $\beta$ -methyl-6-oxocyclopentyl]c[pyran-1 $\beta$ -yl]ester; 7-Oxo-8-desoxyvaleriosidatum; **1**).  $[\alpha]_D^{20} = -169,1^\circ$  ( $c = 0,64$ , MeOH). UV: 204 (3,79), 279 (1,39). CD: 315 (sh, -0,8), 302 (-1,54), 294 (-1,6), 285 (sh, -1,2), < 200 (-12). IR: 3400 (br., OH), 1745 (CO), 1660 (C=C). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR: s. Tab. 1 und 2. EI-MS: 342 (0,5, [M - H<sub>2</sub>O - C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>O + H]<sup>+</sup>), 247 (9,2), 229 (6,1), 180 (9,3, [C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), 164 (19,0), 163 (30), 162 (10), 151 (10), 145 (9,8), 85 (100), 57 (51,9), 43 (9,1), 41 (14,3). FAB-MS (Glyzerin/KCl): 927 (0,5, [2M + K]<sup>+</sup>), 483 (27, [M + K]<sup>+</sup>), 467 (1,1, [M + Na]<sup>+</sup>), 445 (0,6, [M + H]<sup>+</sup>), 343 (1,6, [M - C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>), 265 (24, [M - C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> + H]<sup>+</sup>), 85 (100).

*Saure Hydrolyse von 1*. Unter Rückfluss wurden 2,5 mg **1** in 5 ml 1N HCl mit einigen Tropfen MeOH 2 h gekocht. Im Pyridin-Extrakt der nach Neutralisation (NaHCO<sub>3</sub>) lyophilisierten wässr. Phase wurde mittels DC Glucose nachgewiesen (Laufmittel: Pyridin/BuOH/H<sub>2</sub>O 6:4:3).

*Enzymatische Hydrolyse von 1*. Ein Gemisch von 10 mg **1** und 3 ml einer Lsg. von  $\beta$ -Glucosidase (10% in Acetatpuffer pH 5,3) wurde 3 h auf 38° erwärmt. Das Aglycon von **1** wurde in reiner Form (DC-Kontrolle: Silicagel, CHCl<sub>3</sub>/MeOH 98:2, R<sub>f</sub> 0,31) aus dem Gemisch mit Et<sub>2</sub>O extrahiert.  $[\alpha]_D^{20} = -276^\circ$  ( $c = 0,48$ , MeOH).

*Ebulosidtetraacetat* (= *Isovaleriansäure*-{1A $\alpha$ ,5,6,7,7 $\alpha$ -hexahydro-7 $\beta$ -methyl-6-oxo-4-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)methyl]cyclopentyl]c[pyran-1 $\beta$ -yl]ester; **2**). Bei RT. wurden 25 mg **1** mit 3 ml Pyridin/Ac<sub>2</sub>O 1:1 12 h reagieren gelassen. Nach Eindampfen wurde aus EtOH/H<sub>2</sub>O ausgefällt: ca. 30 mg reines amorphes **2**.  $[\alpha]_D^{20} = -166,2^\circ$  ( $c = 0,54$ , CHCl<sub>3</sub>). UV: 205 (3,33). IR: 1745 (CO), 1660 (C=C). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR: s. Tab. 1 und 2. EI-MS: 612 (0,4, M<sup>+</sup>), 510 (2,6, [M - C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>), 180 (4,0, [C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (Aglycon)), 152 (10, [Aglycon - CO]<sup>+</sup>), 85 (100), 57 (51,7), 43 (44,1).

*7-Dehydrologanin* (**3**).  $[\alpha]_D^{20} = -150,5^\circ$  ( $c = 0,48$ , MeOH). UV: 234 (4,01). CD: 315 (-0,6), 303 (-1,3), 294 (-1,35), 250 (+0,38), 224 (-3,71), < 200 (+1). <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR: s. Tab. 1 und 2.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] O. Gessner, G. Orzechowski, 'Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa', Carl Winter-Verlag, Universität Heidelberg, 3. Auflage, 1974, S. 440.
- [2] V. Petkov, P. Manolov, K. Paparkova, *Pl. Méd. Phytothér.* **1979**, *13*, 134.
- [3] I. Ognyanov, A. Popov, B. Ivanova, D. Dinkov, V. Petkov, P. Manolov, *Rivista Ital. E.P.P.O.S.* **1979**, *16*, 114.
- [4] V. Pektov, V. Markovska, *Pl. Méd. Phytothér.* **1981**, *15*, 172.
- [5] G.-A. Gross, Dissertation Nr. 7800 ETH, Zürich, 1985.
- [6] H. Inouye, T. Yoshida, S. Tobita, M. Okigawa, *Tetrahedron* **1970**, *26*, 3905.
- [7] K. Biemann, D. C. DeJongh, H. K. Schnoes, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 1763.
- [8] W. Kucaba, P. W. Thies, E. Finner, *Phytochemistry* **1980**, *19*, 575.
- [9] L.-F. Tietze, U. Niemeyer, P. Marx, K. H. Glüsenkamp, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 1231.
- [10] L.-F. Tietze, U. Niemeyer, P. Marx, K. H. Glüsenkamp, L. Schwenen, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 735.
- [11] A. Konowaw, G. Snatzke, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 253.
- [12] P. Junior, 'Phytochemische Untersuchung innerhalb der Gattung Penstemon', Habilitationsschrift, Marburg, 1983.
- [13] S. R. Jensen, B. J. Nielsen, C. B. Mikkelsen, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 3261.
- [14] F. Bailleul, P. Delaveau, A. Rabaron, M. Plat, M. Koch, *Phytochemistry* **1977**, *16*, 723.