

Zur Konstitution des Tormentols (Tormentosid)

Von

M. Pailer und H. Berner

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien

Mit 4 Abbildungen

(Eingegangen am 26. Juni 1967)

Massenspektrometrische und UV-spektroskopische Untersuchungen liefern einen Beitrag zur Konstitutionsbestimmung des Tormentols, des Glucosids eines pentacyclischen Triterpens.

Das Erscheinen einer Arbeit von *Potier, Das, Bui, Janot, Pourrat* und *Pourrat*¹ über die Struktur der Tormentillsäure veranlaßt uns, unsere bisherigen Ergebnisse auf diesem Gebiet mitzuteilen. Sie stellen eine Ergänzung der Arbeit der französischen Autoren dar und bestätigen ihre Ergebnisse im wesentlichen.

Goris und *Vischniac*² isolierten 1915 aus dem Wurzelpulver der *Potentilla tormentilla* einen Neutralstoff ($C_{33}H_{50}O_{10} \cdot 5 H_2O$), Schmp. 226—227°, dem sie den Namen Tormentol gaben. 1933 fanden *Gillot* und *Wioland*³ in den Wurzeln verschiedener Rosaceen eine Verbindung, die, wie sie schrieben, in ihrem Charakter dem Tormentol nahekommt. Erst 1955 wurde das Thema wieder von *Janot* und Mitarbeitern⁴ aufgegriffen. Sie veröffentlichten eine Arbeit, in der sie die Summenformel des hydrierten Tormentols ($C_{30}H_{50}O_5$), Schmp. 274°, seines Verseifungsproduktes ($C_{30}H_{46}O_6$) und seines hydrierten Verseifungsproduktes ($C_{30}H_{50}O_6$) angaben. Das Tormentol wird als labiler Stoff beschrieben, der nur durch Hydrierung mit Raney-Nickel in eine stabile Form umgewandelt werden kann. Der Zusammenhang der obigen Bruttoformeln konnte von uns nicht gedeutet werden.

¹ *P. Potier, B. C. Das, A. M. Bui, M. M. Janot, A. Pourrat* und *H. Pourrat*, Bull. soc. chim. **1966**, 3458.

² *A. Goris* und *Ch. Vischniac*, Bull. soc. chim. France **17**, 59 (1915).

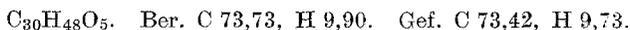
³ *P. Gillot* und *H. Wioland*, Bull. soc. chim. biol. **14**, 313 (1932).

⁴ *M. M. Janot, H. Pourrat* und *P. Febvre*, Ann. pharm. franç. **13**, 165 (1955).

Im Zuge unserer Arbeiten über die Inhaltsstoffe der *Potentilla anserina* (Gänsefingerkraut) konnten wir aus dem Alkoholextrakt der Wurzeln einen Neutralstoff, Schmp. 227—228°, isolieren. Die üblichen Farbreaktionen auf Steroide und Terpene mit Schwefelsäure, Essigsäure und Tetranitromethan waren positiv. Die Verbindung ließ sich sowohl sauer als auch basisch verseifen; beide Verseifungsprodukte zeigten das gleiche IR-Spektrum und hatten Schmelzpunkt 274°. Diese Befunde und nachfolgend beschriebene Ergebnisse ließen darauf schließen, daß unsere Verbindung mit dem Tormentol identisch ist.

Verseifung des Tormentols

Wegen der von *Janot*⁴ erwähnten großen Labilität des Tormentols verseiften wir vorerst unter besonders schonenden Bedingungen, nämlich nach der Methode von *Mannich* und *Siewert*⁵ (0,5proz. HCl in Aceton, 4 Tage, 20°). Es zeigte sich allerdings, daß auch beim Verseifen mit methanol. KOH dasselbe Produkt entstand. Beide Substanzen waren in NaOH löslich und konnten durch Säure wieder ausgefällt werden. Das IR-Spektrum zeigt bei 1690 cm⁻¹ eine scharfe Carbonylbande. Schmp. 274°.



Die zweite Verseifungskomponente konnte als Glucose identifiziert werden. Das Tormentol stellt somit ein Glucosid dar.

Acetyliertes Tormentol

Das Glucosid vom Schmp. 227—228° wurde mit Ac_2O in Pyridin acetyliert. Durch präparative Dünnschichtchromatographie (Kieselgel G, Merck, CH_2Cl_2) wurde eine kristalline, einheitliche Verbindung vom Schmp. 148—150° gewonnen.

Das acetylierte Tormentol zeigt eine breite Carbonylbande bei 1770 cm⁻¹. Dies läßt zwei verschiedene Carbonylgruppen vermuten, für die nun eine Ester- und eine Acetylcarbonylfunktion in Frage kämen. Einer kleinen Bande bei 3600 cm⁻¹ läßt sich eine freie Hydroxylgruppe zuordnen, die unter obigen Bedingungen anscheinend nicht acetyliert wurde.

Die thermische Spaltung im Massenspektrometer führt zur Bildung von zwei Ionen, einem tetraacetylierten Zuckerion, m/e 331, und einem Bruchstück m/e 572, das dem Aglykonion entspricht. Das Zuckerion zeigt den üblichen Abbau einer Hexose, ein weiterer Beweis für den Glucosidcharakter des Tormentols. Aus dem Acetylwert (6 CH_3CO , Ber. 28,60, gef. 28,08) und der Analyse ($\text{C}_{48}\text{H}_{70}\text{O}_{16}$, Ber. C 63,75, H 7,76, Gef. C 63,80, H 7,63) kann auf sechs Acetoxygruppierungen geschlossen werden. Von diesen kommen 4 dem Zuckerteil und 2 dem Aglykonteil zu.

Selendehydrierung des Aglykons

Zur näheren Charakterisierung des Aglykons führten wir eine Selendehydrierung analog der Arbeit von *Meyer*, *Weiss* und *Reichstein*⁶ durch,

⁵ C. *Mannich* und G. *Siewert*, Ber. dt. chem. Ges. **75**, 737 (1942).

⁶ U. *Meyer*, Ek. *Weiss* und T. *Reichstein*, Helv. chim. Acta **47**, 2330 (1964).

die die Zuordnung des Glucosids in die pentacyclische Terpenreihe möglich machte.

Das Reaktionsgemisch nach der Selendehydrierung wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie (Al_2O_3 , Benzol) getrennt und die einzelnen Verbindungen UV-spektroskopisch untersucht. Durch Vergleich der UV-Spektren⁷ konnten zwei Naphthalin-, ein Chrysen- und ein Picenderivat identifiziert werden.

Die drei großen Gruppen der pentacyclischen Triterpene, α -Amyrin—Ursolsäuregruppe, β -Amyrin—Oleanolsäuregruppe und Lupeol—Heterobetulingruppe, geben bei Selendehydrierungen verschiedene Abbauderivate. Da bei der Heterobetulingruppe nie Picenderivate gefunden werden konnten^{8, 9, 10}, lag es nahe, vorerst die α - und β -Amyringruppe näher in Erwägung zu ziehen.

Acetyliertes und propionyliertes Aglykon

Die Acetylierung und Propionylierung des Aglykons ergab wohl chromatographisch einheitliche Produkte, die aber nach Eindampfen des Lösungsmittels glasartig erstarrten und nicht zur Kristallisation gebracht werden konnten. Das IR-Spektrum des acetylierten Aglykons zeigt zwei Carbonylbanden verschiedener Intensität, von denen die eine bei 1820 cm^{-1} , die andere bei 1740 cm^{-1} liegt. Letztgenannte Bande ist den Acetylcarbonylen zuzuordnen, für die bei 1820 cm^{-1} gibt es allerdings zwei Erklärungen. Laktone mit starker Ringspannung absorbieren in dieser Gegend, doch ist es unwahrscheinlich, daß sich ein solches bei milder Acetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin (0°) bildet; auch die Tatsache, daß die vorher schon erwähnte Hydroxylgruppe bei 3600 cm^{-1} noch nachweisbar ist, spricht gegen eine Laktonisierung. Viel plausibler scheint, daß sich ein Anhydrid bildet, was beim angewandten Verfahren der Acetylierung durchaus eintreten kann¹¹.

Das Massenspektrum des Aglykons zeigt die charakteristischen Bruchstücke der Acetanhydridfragmentierung, CH_3CO^+ ($m/e = 43$), $\text{CH}_2=\text{CO}^+$ ($m/e = 42$) und CH_3COOH^+ ($m/e = 60$), so daß ohne weiteres gemeinsam mit dem Befund des Infrarotspektrums auf ein gemischtes Anhydrid geschlossen werden kann. Mit der aus obigen Überlegungen gewonnenen

⁷ R. A. Friedel und M. Orchin, *Ultraviolet Spectra of Aromatic Compounds*, John Wiley & Sons.

⁸ O. Jäger, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe* **7**, 1 (1950).

⁹ O. Brunner, H. Hofer und R. Stein, *Mh. Chem.* **61**, 293 (1932).

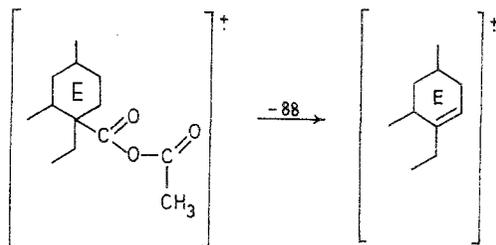
¹⁰ L. Ruzicka, M. Furter, P. Pieth und H. Schellenberg, *Helv. chim. Acta* **20**, 1564 (1937).

¹¹ C. H. Brieskorn und H. Wunderer, *Chem. Ber.* **100**, 1252 (1967).

Arbeitshypothese, m/e 572 als Molekülion des diacetylierten Aglykons anzunehmen, kann auch hier erfolgreich operiert werden. Durch Addition von 42 Masseneinheiten erhält man das Molgewicht des gemischten Anhydrids, m/e 614.

$C_{36}H_{54}O_8$. Ber. C 70,41, H 8,80. Gef. C 70,59, H 9,10.

Weiters ist im Massenspektrum eine $M-88$ -Spitze zu finden, die durch folgende Reaktion erklärbar ist:



Schema 1.

Eine Kontrollspitze bei m/e 87 läßt ein Ion der Zusammensetzung $(CH_3COOCO)^+$ vermuten. Eine metastabile Spitze bei m/e 392 beweist die Bildung des Fragments der Masse 454 aus dem Fragment m/e 526 durch Abspaltung von 72 Masseneinheiten.

Ebenso konnten beim propionylierten Aglykon die charakteristischen Bruchstücke des Propionsäureanhydrids festgestellt werden. Ein metastabiles Ion bei m/e 420 zeigt wieder den Zusammenhang der Bruchstücke m/e 554 und m/e 482.

Die Fragmentierungswege des acetylierten und propionylierten Aglykons laufen vollkommen analog. Die an sich gleichen Spektrenbilder zeigen nur eine Verschiebung der Spitzen um je 28 Masseneinheiten, die zwei CH_2 -Gruppen entsprechen. Daraus ist auch ersichtlich, daß im Aglykon nur zwei acylierbare OH-Gruppen vorhanden sind, ein Befund, der mit den Analyseergebnissen des Tormentols im Einklang steht.

Das Aglykon

Bei Versuchen, Tormentol (Schmp. 227—228°) katalytisch zu hydrieren, konnten wir, auch bei Verwendung von PtO_2 in Eisessig, keine Wasserstoffaufnahme beobachten. Janot et al. berichten zwar⁴ von einem Hydrierungsprodukt, geben jedoch keine aufgenommene Wasserstoffmenge an. Wir isolierten trotzdem dieses mit H_2 behandelte Produkt, verseiften es in acetone, HCl und stellten völlige Schmelzpunktgleichheit (273—274°) mit dem ursprünglichen Aglykon fest. Der Mischschmelz-

punkt zeigte keine Depression, die Substanzen unterscheiden sich aber in ihren Massenspektren.

Massenspektrum des A_h

Eine Spitze bei m/e 488 zeigt das wahrscheinliche Molgewicht des Aglykons, das aus dem mit H₂ behandelten Tormentol gewonnen wurde (A_h). Dies steht auch im Einklang mit unserer Arbeitshypothese, wobei m/e 572 als Molgewicht für die diacetylierte Säure angenommen wird. $572 - 2 \times 42$ (Keten) ergibt 488. Weiters war eine Dehydratisierung und eine nachfolgende Abspaltung von Ameisensäure zu erkennen, eine Fragmentierung, die auch in umgekehrter Reihenfolge auftritt, wie aus den Bruchstücken m/e 442, m/e 470 und m/e 426 ersichtlich ist. Ebenso findet man auch hier die bekannte Massendifferenz von 72 (m/e 442 → m/e 370). Der Bereich zwischen $m/e = 200$ und 300 ist charakteristisch für die Lage der Schlüsselbruchstücke von pentacyclischen Triterpenen. In diesem Bereich fanden wir auch die Fragmente m/e 246 und m/e 264 mit starker Intensität. Eine von Herrn Professor M. M. Janot in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellte Vergleichssubstanz zeigte das gleiche Massenspektrum.

Massenspektrum des Aglykons A

Trotz Schmelzpunktgleichheit der beiden Aglykone A_h und A zeigt das Spektrum von A einen etwas veränderten Spaltungsweg. Nur die Fragmente m/e 426 und m/e 470 konnten hier wiedergefunden werden. Es waren auch zwei neue Schlüsselbruchstücke, m/e 232 und m/e 247, festzustellen.

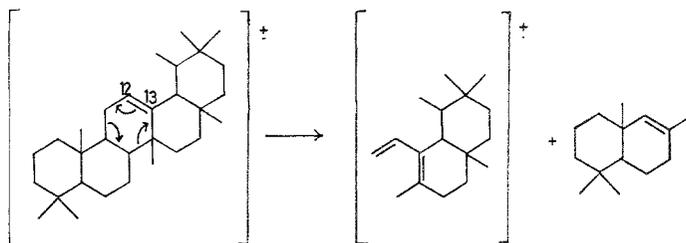
Aus diesen Befunden darf der Schluß gezogen werden, daß durch die Behandlung des Tormentols mit H₂ in Eisessig das Aglykon offensichtlich verändert wird. Die Tatsache, daß keine Wasserstoffaufnahme beobachtet werden konnte, macht eine Doppelbindungsumlagerung wahrscheinlich. Das andere Fragmentierungsverhalten des Aglykons A wäre dadurch erklärlich.

Die Schlüsselbruchstücke des A_h

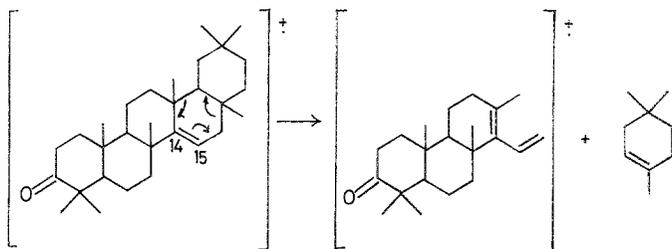
Die Vertreter der α - und β -Amyrinreihe zeigen bei ihren Fragmentierungen im Massenspektrometer ganz bestimmte Schlüsselbruchstücke¹². Diese liegen im Massenbereich zwischen 200 und 300 m/e (Schema 2). Eine Veränderung der Lage der Doppelbindung, die gewöhnlich in Δ^{12} -Stellung

¹² H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, Structure and Elucidation of Nature Products by Mass Spectroscopy, Holden-Day, Inc. 1964.

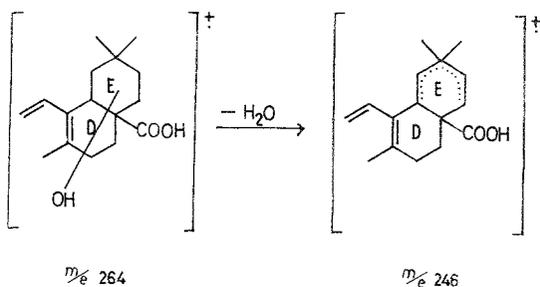
sitzt, führt zu einem ganz anderen Spektrenbild^{13, 14} (Schema 3). Zieht man den α - oder β -Amyrintyp in nähere Erwägung, so kommen für unser Problem folgende Bruchstücke in Frage (Schema 4):



Schema 2. In der linken Formel ergänze man eine Methylgruppe am C-Atom 8, wie sie in der mittleren Formel des Schemas 3 eingezeichnet ist!



Schema 3.



Schema 4.

Da sich ihre Massenzahlen um 18 Einheiten unterscheiden, scheint eine Wasserabspaltung plausibel. Dieser Befund erzwingt allerdings die Lokalisierung der nicht acetylierbaren OH-Gruppe in die Ringe D oder E.

¹³ C. Djerassi, H. Budzikiewicz und J. M. Wilson, *Tetrahedron Letters* **1962**, 263.

¹⁴ H. Budzikiewicz, J. M. Wilson und C. Djerassi, *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 3688 (1963).

Zusammenfassend kann bis jetzt von uns gesagt werden, daß das Tormentol ein Glucosid darstellt, dessen Aglykonkomponente, eine Säure, in die α - oder β -Amyrinreihe der pentacyclischen Triterpene einzuordnen ist, und dessen Zuckeranteil Glucose ist. Es konnte sichergestellt werden, daß eine nicht acetylierbare, tertiäre OH-Gruppe und zwei acetylierbare, sekundäre OH-Gruppen im Aglykonteil vorhanden sind. Zwei Schlüsselbruchstücke der freien Säure *m/e* 264 und *m/e* 246 beweisen den Sitz der tertiären Hydroxylgruppe in Ring D oder E.

Es sei abschließend erwähnt, daß die französische Forschergruppe für den Naturstoff, das Glucosid, die Bezeichnung „Tormentosid“ und für das Aglykon den Namen „Tormentillsäure“ vorgeschlagen hat.

Die Massenspektren wurden mit einem Massenspektrometer CH-4 der Fried. Krupp MAT, Bremen, bei einer Elektronenenergie von 70 eV aufgenommen.

Herrn Dr. *H. Egger* sind wir für die Aufnahme und seine Mithilfe bei der Interpretation der Spektren zu Dank verpflichtet.