Phytochemistry, 1976, Vol. 15, pp. 1989–1990. Pergamon Press Printed in England.

IRIDOID GLYCOSIDES AND OTHER CONSTITUENTS OF *PAEDERIA FOETIDA**

Y. N. SHUKLA†, H. A. LLOYD‡, J. F. MORTON§ and GOVIND J. KAPADIA†‖

†Department of Biomedicinal Chemistry, College of Pharmacy and Pharmacal Sciences, Howard University, Washington, D.C. 20059, ‡Laboratory of Chemistry, National Heart and Lung Institute, Bethesda, Md. 20014; §Morton Collectanea, University of Miami, Coral Gables, FL 33124, U.S.A.

(*Revised received* 25 *May* 1976)

Key Word Index—*Paederia foetida*; Rubiaceae; iridoids; paederoside; scandoside; asperuloside; methyl mercaptan; steroids; triterpenoids.

Plant. Paederia foetida (Rubiaceae). *Occurrence.* The plant is a climber found in most parts of India throughout the Malayan Archipelago, extending from Mauritius northward to China, Japan and the Phillipines [1]. In the last 30 years it has spread to southern parts of Florida, U.S.A. *Uses.* A variety of curative properties have been attributed to the plant by folk medicine [2]. Extracts of roots, leaves, bark or fruit are prescribed for toothache, chest pains, piles, inflammation of spleen, and as diuretic and emetic. The fresh leaves are used in soups and other food preparations. *Previous work.* Methyl mercaptan [3] was shown to be responsible for the fetid odor of the plant. Asperuloside and 2 new iridoid glycosides, paederoside and scandoside [4] were isolated from a related species, *P. scandens.*

Present work. Leaves and stems. (a) *Isolation of methyl mercaptan*: N_2 was passed through traps containing, in series, conc. H_2SO_4, 1% $HgCl_2$, glass wool, fresh crushed plant¶, aniline, 2NHCl, 4% $Hg(CN)_2$ and 3% $HgCl_2$. CH_3SH was precipitated as $(CH_3S)_2Hg$ in 4% $Hg(CN)_2$ after 24 hr. The Hg salt (0.15%) was crystallized from EtOH as needles, mp 172°, mmp and MS. Addition of dil. HCl to this salt regenerated the fetid odor of MeSH. (b) *Isolation of hentriacontane, ceryl alcohol, hentriacontanol, palmitic acid, sitosterol, stigmasterol, campesterol and ursolic acid.* Powdered dried plant was continuously extracted with petrol for 3 days. Removal of solvent furnished a residue, part of which was chromatographed over Si gel. Elution with petrol provided hentriacontane, mp 68°, M^+ 436; petrol–C_6H_6 (3:1) gave ceryl alcohol, mp 75°, M^+ 382; petrol–C_6H_6 (1:1) provided hentriacontanol, mp 85°, M^+ 452. Subsequent elution with petrol–C_6H_6 (1:3) afforded palmitic acid, mp 61°, M^+ 256 and a sterol mixture.

This sterol mixture was resolved after GC–MS into sitosterol; M^+ 414, stigmasterol; M^+ 412 and campesterol; M^+ 400. Further elution with C_6H_6 furnished more sterols while elution with C_6H_6–EtOAc (9:1) gave ursolic acid, mp 260°, M^+ 456. All the compounds were compared with authentic samples. (c) *Isolation of iridoid glycosides.* Powdered dried plant was extracted with hot H_2O and the extract was repeatedly extracted in sequence with petrol, C_6H_6 and $CHCl_3$. The remaining aq. layer was freeze dried and the residue extracted with MeOH. Removal of the MeOH gave a syrup which was subjected to preparative PC to provide asperuloside, paederoside and scandoside in 0.08, 0.084 and 0.064% yield, respectively. HPLC was performed on a Waters Associates Model ALC-100 liquid chromatograph equipped with a UV detector, using a 30 cm × 4 mm i.d. μBondapak C_{18} column (Waters Assoc.) and a mobile phase of CH_3CN–H_2O (1:9) at 2 ml/min flow rate. PC was carried out on Whatman No. 1 in *n*-BuOH–HOAc–H_2O (4:1:5). After spraying with 5% oxalic acid, the paper was kept at 120° for 10 min to obtain the blue or violet color indicating the presence of iridoids.

Asperuloside was crystallized from MeOH–Me_2CO to afford colorless crystals mp 128–130°, mmp, HPLC R_t 6 min, MS (M^+ absent) *m/e* 252, 235, 193, 176, 175, 164, 147, 146, 145, 136, 127, 120, 119, 73, 61 and 60.

Paederoside was obtained as a powder from MeOH–Me_2CO, mp 120–123°, mmp, HPLC R_t 21 min, MS (M^+ absent) *m/e* 284, 267, 239, 224, 193, 176, 175, 164, 147, 146, 145, 136, 127, 119, 73, 61 and 60.

Scandoside was obtained as a powder from MeOH–Me_2CO, mp 135–141°. Treatment with C_5H_5N and Ac_2O provided the hexaacetate which was reacted with CH_2N_2 to give scandoside hexaacetate Me ester (MeOH–C_6H_6, fine needles, mp 130–134°) mmp and TLC.

The MS of asperuloside conformed to the general pattern of fragmentation reported by Bentley *et al.* [5] for a number of other iridoid glycosides with the largest fragment corresponding to the aglucone at *m/e* 252. However, an anomaly was noted in the spectrum of paederoside. Both our freshly isolated material and an authentic sample of paederoside (H. Inouye, Kyoto Univ.) gave identical spectra with the largest ion at *m/e* 284, 16 a.m.u. higher than the expected aglucone fragment (*m/e* 268). As the structure of paederoside appears to be conclusively established [4], we cannot explain this discrepancy at the present and we are studying other thioacetates to clarify this matter. The occurrence of iridoid glycosides has been reported from several plant genera of the family Rubiaceae [6]. Most of these glycosides including *Paederia* iridoids have not been evaluated for their biological activities. In our laboratory a study of

*This paper, was presented in part at the Second Joint Meeting of the American Society of Pharmacognosy and the Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung, University of Connecticut, Storrs, Conn., July 1975. Part 7 in the series "Potential Carcinogens."

‖ To whom all correspondence should be addressed.

¶ *Paederia foetida* was collected at 5600 S.W. 96th Terrace, Miami, FL.

selected activities of these compounds is in progress. *P. foetida* is also one of a series of plants being investigated for carcinogenic potential.

Acknowledgements—The authors thank Dr. H. Inouye, Kyoto University, Japan for samples of asperuloside, paederoside and scandoside hexaacetate methyl ester. This work was supported in part by the National Cancer Institute Contract No. 1 CP 33266.

REFERENCES

1. Chopra, R. N., Chopra, I. C., Handa, K. L. and Kapoor, L. D. (1958) *Chopra's Indigenous Drugs of India*, 2nd ed., p. 518. U.N. Dhar, Calcutta.
2. (1966) *The Wealth of India: Raw-Materials*, vol. VII, p. 210. C.S.I.R., New Delhi.
3. Bose, P. K., Banerjee, A. K. and Ghosh, C. (1953–55) *Trans. Bose Research Inst. Calcutta* **19**, 77 (*Chem. Abstr.* **52**, 3259i).
4. Inouye, H., Inouye, S., Shimokawa, N. and Okigawa, M. (1969) *Chem. Pharm. Bull.* **17**, 1942.
5. Bentley, T. W., Johnstone, R. A. W., and Grimshaw, J. (1967) *J. Chem. Soc.* (C), 2234.
6. Bobbit, J. M. and Segebarth, K. P. (1969) *Cyclopentanoid Terpene Derivatives* (Taylor, W. I., and Battersby, A. R., eds.), p. 1–145. Marcel Dekker, New York.

Phytochemistry, 1976, Vol. 15, pp. 1990–1991 Pergamon Press Printed in England.

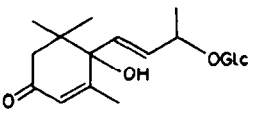
ROSEOSID AUS *BETULA ALBA* UND *CYDONIA OBLONGA**

RUDOLF TSCHESCHE, FELICITAS CIPER und ARTUR HARZ
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn, Deutschland

(*Eingegangen* 31 *May* 1976)

Key Word Index—*Betula alba*; Betulaceae; *Cydonia oblonga*; *Chaenomeles japonica*; Rosaceae; roseoside; C_{13}-glycoside.

Aus einem Extrakt von *Betula alba* und den Früchten von *Cydonia oblonga* wurde ein Glycosid isoliert, das sich als 4-(1-hydroxy-4-keto-2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-ol-2-β-D-glucopyranosid (Roseosid) [1] (**1**) erwies; es wurde bisher in den Blättern von *Vinca rosea* [1] beobachtet.



Roseosid (1)

Enzymatische Hydrolyse mit β-Glucosidase [2] lieferte 4-(1-hydroxy-4-keto-2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-ol (Vomifoliol) [3] (**2**). (**2**) fiel neben (**1**) in *Cydonia oblonga* auch unmittelbar an. Die Strukturermittlung des Aglycons erfolgte durch IR-, NMR-, UV- und Massenspektroskopie von (**2**) und des 2-monoacetats. Die Verknüpfungsstelle der β-D-Glucose mit dem Aglycon wurde durch Behandeln von (**1**) und (**2**) mit *N*-Bromsuccinimid bestimmt.

An den Blättern von *Eichhornia crassipes* [4] hat man beobachtet, daß Vomifoliol gleiche Wirkung auf den Spaltöffnungsmechanismus wie Abscisinsäure zeigt. Über die Aktivität des Glucosids des Vomifoliols (**1**) in dieser Richtung scheint bisher nichts bekannt geworden zu sein. Auf jeden Fall wird sein Anteil bei einer Bestimmung von (**2**) zu berücksichtigen sein [5].

In unserem Arbeitskreis konnte ferner gezeigt werden, daß auch die japanische Zierquitte, *Chaenomeles japonica* (Rosaceae), das Glycosid (**1**) enthält (Ausb. 0,025%) [6].

EXPERIMENTELLES

Isolierung von (**1**) aus *Betula alba* 900 g Rohextrakt aus Birkenblättern, bezogen von der Fa. H. Finzelberg's Nachfolger, Andernach, suspendierte man in H_2O, schüttelte zur Entfernung unpolarerer Substanzen mit $CHCl_3$ und anschliessend mehrmals mit *n*-BuOH aus. Die BuOH-phasen wurden zur Trockne gebracht und der erhaltene Rückstand (165 g) zur Abtrennung der Farbstoffe über Al_2O_3 mit $CHCl_3$–MeOH–H_2O (13:7:2) [7] filtriert. Es fielen 77 g Substanzgemisch an, das an Kieselgel mit einem $CHCl_3$–MeOH–H_2O-Gemisch steigender Polarität (13:4:2, 13:5:2, 13:7:2) chromatographiert wurde. Die (**1**) enthaltende Glycosidfraktion (4 g) wurde zur Reinisolierung mit Ac_2O und C_5H_5N (2:1) bei Zimmertemperatur 12 hr acetyliert. Nach säulenchromatographischer Trennung des Acetatgemisches (5.2 g) mit CH_2Cl_2–EtOAc (10:1) an Kieselgel fielen 420 mg (**1**)-acetat an. Ausbeute nach Entacetylierung nach Zemplén: 290 mg (**1**) (0,032%).

Isolierung von (**1**) *aus* Cydonia oblonga. 5 kg zerkleinerte Früchte wurden mit 80%igem MeOH extrahiert. Der methanolische Extrakt wurde im Vakuum eingeengt und zur Fällung des Hauptteils an vorhandenen Zuckern in Aceton gegeben und das Unlösliche abgetrennt. Nach dem Aceton und Methanol entfernt worden waren, fiel ein stark saurer (pH 2) Extrakt (200 g) an. Dieser wurde zweimal an Kieselgel mit $CHCl_3$–MeOH–H_2O (13:5:2, 13:7:2) chromatographiert. Die (**1**) enthaltende Glycosidfraktion (450 mg) wurde wie bei der Isolierung aus Birkenblättern acetyliert. Aus 232 mg Rohacetat wurden nur 4 mg (**1**)-acetat isoliert, das aus Essigester–Petroläther (40–60°) in Form feiner Nadeln kristallisierte. Ausbeute von (**1**) nach Entacetylierung *ca* 0,00006%. Die Daten der NMR-, IR, UV- und Massenspektren waren mit den Angaben der Literatur [1,3,8] identisch. Oxidation von (**2**) mit *N*-Bromsuccinimid lieferte die Ketoform [9]. (**1**) wurde von *N*-Bromsuccinimid nicht oxidiert. Die berechtigte Annahme, daß die β-D-Glucose über die sekundäre OH-Gruppe gebunden ist, erscheint damit gesichert.

Acknowledgement—We are grateful to Dr. J.-L. Pousset for providing us with a sample of vomifoliol.

REFERENCES

1. Bhakuni, D. S., Joshi, P. P., Uprety, H. and Kapil, R. S. (1974) *Phytochemistry* **13**, 2541.
2. Legler, G. (1967) *Z. Physiol. Chem.* **348**, 1359.
3. Pousset, J.-L. and Poisson, J. (1969) *Tetrahedron Letters* **15**, 1173.

*Herrn Professor Dr. Birkofer, Düsseldorf, mit den besten Wünschen zum 65. Geburtstag gewidmet.