

BISDESOXYDIHYDROMONOTROPEIN AUS *PHYSOSTEGIA VIRGINIANA*

H. RIMPLER und B. VON LEHMANN*

Institut für Pharmakognosie der Freien Universität, Berlin, Germany

(Received 19 July 1969)

Zusammenfassung—Aus *Physostegia virginiana* (L.) Benth. var. *virginiana* und *P. var. speciosa* (Sweet) Gray wurde ein saures Iridoid-Glykosid isoliert. Die Struktur I wurde durch spektroskopische Methoden und durch Vergleich des Methylesters (II) der isolierten Verbindung mit dem bereits bekannten Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester bewiesen.

Abstract—An acidic iridoid has been isolated from *Physostegia virginiana* (L.) Benth. var. *virginiana* and *P. var. speciosa* (Sweet) Gray. The structure was established as bisdesoxydihydromonotropein by spectroscopic methods and by comparison with an authentic specimen of the corresponding ester.

DAS VORKOMMEN von Iridoiden in *Physostegia virginiana* (L.) Benth.¹ var. *virginiana* und var. *speciosa* ist schon relativ lange bekannt: bereits 1960 wies Winde² bei einem screening, das mehrere Pflanzenfamilien umfaßte, auch in den beiden *Physostegia* Varietäten Iridoide nach. Wir versuchten nun diese Iridoide zu isolieren und zu identifizieren.

Die Isolierung verlief nach dem Schema in Abb 1, das sich auch bei der Anreicherung anderer Iridoide bewährt hat und anscheinend allgemein anwendbar ist. Das Eluat III enthält unter anderem ein saures Iridoid, das mit einem Ionenaustauscher abgetrennt wurde. Durch Behandlung mit Kohle und anschließende präparative Schichtchromatographie konnte es in kristalliner Form erhalten werden.

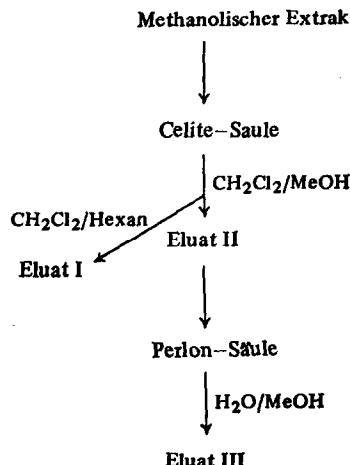


ABB. 1. ISOLIERUNG DER IRIDOIDE AUS *Physostegia virginiana*.

* Die Ergebnisse sind Teil de Dissertation B. v. LEHMANN, Freie Universität Berlin (1970).

¹ GRAY, *Manual of Botany*, 8th edition, p. 1226 (1950).

² E. WINDE, *Arch. Pharm.* 65, 556 (1960).

Die enzymatische Hydrolyse dieser Verbindung mit Cellulase liefert Glukose, die papierchromatographisch identifiziert wurde. Das Glykosid lässt sich mit Diazomethan in den Methylester (II) und durch anschließende Acetylierung in ein Methylestertetraacetat (III) überführen.

Das Molekulargewicht des Methylesters ergibt sich aus dem Massenspektrum und beträgt 374. In Verbindung mit der Elementaranalyse errechnet sich daraus die Summenformel $C_{17}H_{26}O_9$. Das entspricht einem Iridoid, dessen Aglykon außer der Carboxymethylgruppe keine weiteren funktionellen Gruppen trägt. Diese Struktur wird durch

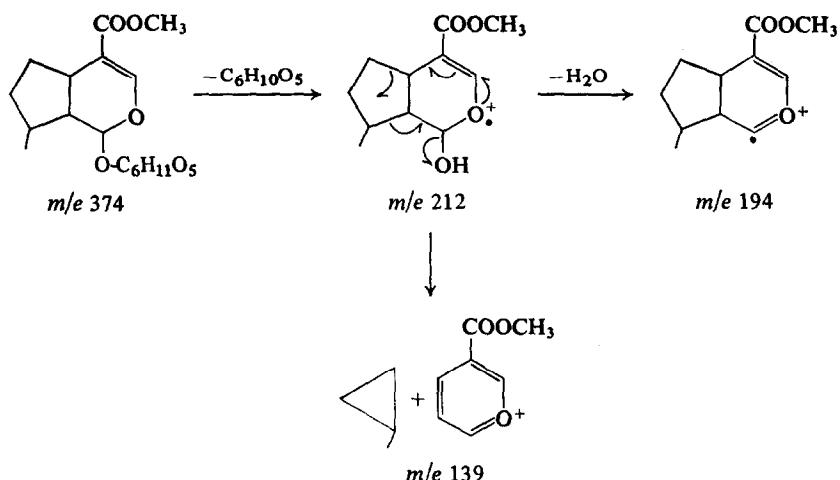


ABB. 2. CHARAKTERISTISCHE BRUCHSTÜCKE IM MASSENSPEKTRUM VON II (TRAGMENTIERLUNGSIAKTIONEN NACH BENTLEY UND MITARBEITERN.³⁾

TABLE 1. CHEMISCHE VERSCHIEBUNGEN UND KOPPLUNGSKONSTANTEN CHARAKTERISTISCHER RESONANZSIGNALEN IM NMR-SPEKTRUM VON II (60 MHz, CD_3OD ALS LÖSUNGSMITTEL, s = SINGLETT, d = DUBLETT)

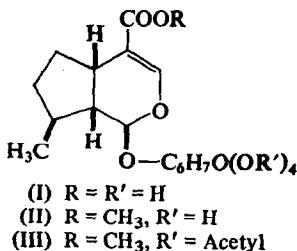
CH_3 , am C-8	1,1 ppm	(3 H)	d	$J = 6$ Hz
$—COOCH_3$	3,7 ppm	(3 H)	s	
H am C-1	5,4 ppm	(1 H)	d	$J = 4,5$ Hz
H am C-3	7,4 ppm	(1 H)	d	$J = 1$ Hz

Analyse des Massenspektrums (Abb. 2) und des Kernresonanzspektrums (Table 1) bestätigt.

Die Stereochemie der Verbindung ergab sich aus dem Vergleich des Methylesters mit authentischem Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester, den Inouye⁴ bei der Strukturaufklärung des Monotropeins und des Asperulosids als Abbauprodukt erhalten hatte. Die Verbindungen waren identisch. Das isolierte Iridoid hat daher die Struktur I.

³ T. W. BENTLEY und R. A. W. JOHNSTONE, *J. Chem. Soc. (C)*, 2234 (1967).

⁴ (a) H. INOUYE, T. ARAI, Y. MIYOSHI und Y. YACI, *Tetrahedron Letters* 1031 (1963). (b) H. INOUYE, T. ARAI und Y. MIYOSHI, *Chem. Pharm. Bull.* 12 (8), 888 (1964).



DISKUSSION

Die Isolierung dieses neuen Iridoids aus einer Labiate ist in chemotaxonomischer Hinsicht interessant. Bisher sind in dieser Familie noch keine Iridoide nachgewiesen worden, die am C-4 eine Carboxylgruppe oder Carboxymethylgruppe tragen. Die meisten bisher untersuchten Arten^{5,6} enthalten Verbindungen vom Typ des Harpagids⁷⁻¹¹, dessen Aglykon am C-4 keinen Substituenten trägt. In einer kleineren Zahl von Arten (besonders in der Gattung *Lamium*) kommen Iridoide vom Typ des Lamiols^{6,12} vor, dessen Aglykon am C-4 eine Methylgruppe aufweist.

EXPERIMENTELLER TEIL

Schmelzpunkte wurden auf einem Kofler Heiztischmikroskop bestimmt und sind nicht korrigiert. Die u.v. Spektren wurden mit dem Beckmann Spektrophotometer DU G 2400 aufgenommen (MeOH Lösungen, Schichtdicke = 2 cm). Die i.r. Spektren (in KBr) wurden mit einem Unicam i.r.-Spektrophotometer Sp 200 G aufgenommen. Die NMR-Spektren¹³ wurden mit einem Varian A 60 A Gerät in $CDCl_3$ (Acetat), bzw. CD_3OD aufgenommen. Die Elementaranalyse wurde im mikroanalytischen Laboratorium I. Beetz, Kronach/Of., durchgeführt.

Isolierung

Die gepulverte Droge (150 g Blätter oder Wurzel von *Physostegia virginiana* var. *virginiana* oder var. *speciosa*) wird in siedendes Äthanol gegeben und drei Mal je dreißig Minuten mit Äthanol ausgekocht. Anschließend wird das Lösungsmittel der vereinigten Extrakte abgedampft. Der Rückstand (58 g) wird in möglichst wenig MeOH gelöst. In diese Lösung läßt man Celite einrieseln und trocknet über Nacht im Vakuum.

Celite-Säule. Das trockene mit Extrakt beladene Celite wird gepulvert und auf eine Celite-Säule ($\phi = 5$ cm, 300 g Celite) gegeben. Zunächst wurde mit CH_2Cl_2 /Hexan (1:1) eluiert, bis im Durchlauf kein Chlorophyll mehr nachzuweisen war. Dieses Eluat I wird verworfen. Danach eluiert man mit CH_2Cl_2 /MeOH (1:1), bis im Eluat mit dem Reagens nach Trimm und Hill¹⁴ keine Iridoide mehr nachzuweisen sind. (Eluat II). Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels verblieben 4,5 g Rückstand.

Perlon-Säule. 100 g gewaschenes Perlon wird auf eine Säule gebracht ($\phi = 6$ cm, Länge = 60 cm). Das Laufmittel ist $H_2O/MeOH$ (85:15). Der Extrakt muß in einer abgemessenen Menge Methanol gelöst werden und dann mit Wasser auf die Konzentration des Laufmittels verdünnt werden. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels verblieben 2,9 g Rückstand (Eluat III).

⁵ J. H. WIEFFERING, *Phytochem.* **5**, 1053 (1966).

⁶ F. ADEMA, *Acta Bot. Neerl.* **17** (5), 423 (1968).

⁷ H. LICHTI und A. V. WARTBURG, *Helv. chim. Acta* **49**, (5) 1552 (1966).

⁸ M. L. SCARPATI und P. ESPOSITO, *Ric. Sci.* **37**, 840 (1967).

⁹ M. L. SCARPATI und P. ESPOSITO, *Gazz. chim. ital.* **97**, 1209 (1967).

¹⁰ P. TUNMANN und R. LUX, *Dtsch. Apotheker Zeitung* **102**, 274 (1962).

¹¹ P. TUNMANN und H. E. HAMMER, *Liebigs Ann. chem.* **712**, 138 (1968).

¹² M. L. SCARPATI, *Ric. Sci.* **37** (2), 115 (1967).

¹³ Wir danken Herrn Dr. K. Rehse (Pharm. Institut der FU Berlin) für die Aufnahmen der NMR-Spektren.

¹⁴ A. R. TRIMM und R. HILL, *Biochem. J.* **50**, 310 (1952).

Ionenaustauscher-Säule. 100 g Amberlite IRA 440 (OH-Form) werden mit 10% Essigsäure in die Acetat-Form überführt und mit Wasser bis zum neutralen Durchlauf gewaschen. Der Rückstand wird in möglichst konzentrierter, wässriger Lösung auf die Säule gebracht ($\phi = 3$ cm).

Laufmittel I: mit Wasser wird solange eluiert, bis das Reagens nach Trimm und Hill¹⁴ mit dem Eluat keine positive Reaktion mehr gibt.

Laufmittel II: mit 10% Essigsäure beschickt man die Säule solange, bis im sauren Eluat Bisdesoxydihydromonotopein chromatographisch nicht mehr nachzuweisen ist.

Reinigung an Kohle. Die essigsäure Lösung wird im Vakuum auf die Hälfte seines Volumens eingedampft und anschließend eine Stunde lang mit 20 g Darco Kohle gerührt. Die Kohle wird durch Filtration von der essigsäuren Lösung getrennt und solange mit Wasser gewaschen, bis im Filtrat keine Säure mehr nachzuweisen ist. Dann eluiert man mit MeOH/H₂O (1:1), bis im Filtrat keine Iridoide mehr chromatographisch nachzuweisen sind. Nach dem Eindampfen des Filtrats verbleiben 200 mg gelblicher Rückstand.

Präparative Schichtchromatographie. 200 mg Rückstand werden auf zwei Platten aufgebracht (Schichtdicke = 5 mm, Kieselgel HF 254). Nach dreimaligem Entwickeln in dem Laufmittel CH₂Cl₂/MeOH (8:2) konnte die dem Bisdesoxydihydromonotopein entsprechende Zone der Platte entnommen werden. Das Kieselgel wurde mit 300 ml heißem Methanol eluiert und das Eluat eingengt. Aus Wasser kristallisierten 10 mg reines Bisdesoxydihydromonotopein vom Schmelzpunkt 113–115°. U.v.: λ_{max} 231 nm ($\epsilon = 9850$). I.r.: 1683, 1678, 1635 cm⁻¹. Massenspektrum:¹⁵ 198 (m⁺).

Methylierung. Bei der Gewinnung des Bisdesoxydihydromonotopeinmethylesters geht man zweckmäßigerweise von nicht völlig gereinigtem Gemisch aus (siehe Abschnitt d). Das Gemisch wird in MeOH gelöst und mit ätherischer CH₂N₂—hergestellt aus sechs Gramm N-(*p*-tolysulfonyl)-N-methylnitrosamid—versetzt. Das Produkt wird in wenig Lösungsmittel (Benzol/Azetin, 7:3) gelöst und auf eine Kieselgelsäule gebracht. ($\phi = 2$ cm, 20 g Kieselgel Woelm, Aktivitätsstufe I). Das Laufmittel war Benzol/Azetin (7:3). Aus THF/Hexan kristallisierten 150 mg Bisdesoxydihydromonotopeinmethylester, vom Schmelzpunkt 157–157,5°. $[\alpha]_D^{20} = -90^\circ$ ($c = 0,295$ ÄtOH); (C₁₇H₂₂O, (374): ber.: C = 54,54, H = 7,00; gef.: C = 54,73, H = 6,89%). U.v.: λ_{max} 236 nm ($\epsilon = 10710$). I.r.: 2940 (Schulter), 1710, 1690 (Schulter), 1640 cm⁻¹.

Acetylierung. 50 mg Bisdesoxydihydromonotopeinmethylester werden in 2 ml Pyridin gelöst und mit 2 ml wasserfreiem Essigsäureanhydrid versetzt. Die Lösung bleibt 24 Stunden stehen und wird dann auf etwa 20 ml Eis gegossen und zum langsamen Auftauen vier Stunden im Eisschrank aufbewahrt. Das Acetat kann dann mit Äther ausgeschüttelt werden. Nach Umkristallisieren aus THF/Hexan verbliebenen 40 mg Bisdesoxydihydromonotopeinmethylesteracetat vom Schmelzpunkt 100–102°. U.v.: λ_{max} 236 nm ($\epsilon = 11580$). I.r.: 1750–1740, 1730 (Schulter), 1705 (Schulter), 1690, 1640 cm⁻¹. NMR: 7,3 ppm, d ($J = 1$ Hz), 1 H: 4,8–5,4 ppm, m, 4 H: 4,2 ppm, m, 2 H: 3,8 ppm, m, 1 H: 3,7 ppm, s, 3 H: 1,9 ppm, s, 4 H: 1,99 ppm, s, 4 H: 2,02 ppm, s, 4 H: 2,1 ppm, s, 4 H: 1,1–3,3 ppm, m, 8 H: 1,1 ppm, d ($J = 6,5$ Hz), 3 H. Massenspektrum: 542 (M⁺), 511, 211, 139, 103, 97, 331, 271, 229, 211, 169, 127, 109.

Zuckerbestimmung. 5 mg Bisdesoxydihydromonotopeinmethylester werden in 2 ml Wasser gelöst und mit einem Phosphatpuffer auf pH = 5 gebracht. Dazu gibt man eine Spatelspitze frische Cellulase (Firma Serva) und lässt 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Die wässrige Lösung wird dreimal mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird über einen Mischbettaustauscher (Serdolite MB) gegeben. Das Eluat wird papierchromatographisch mit verschiedenen Zuckern verglichen (s. Tab. 2). Aus den Chromatogrammen ergibt sich als Zuckerbestandteil: Glucose.

TABLE 2. PAPIERCHROMATOGRAPHISCHER VERGLEICH DES ZUCKERANTEILS DES BISDESOXYDIHYDROMONOTROPEINS MIT BEKANNTEN VERBINDUNGEN

	<i>R</i> _f -Werte*	
	Laufmittel I	Laufmittel 2
Zucker X	0,37	0,32
Mannose	0,42	0,35
Glucose	0,37	0,32
Galaktose	0,32	0,29

* Laufmittel 1: *n*-Butanol/Pyridin/Wasser (6:4:3). Laufmittel 2: *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:5).

¹⁵ Wir danken Herrn Dr. G. SCHULZ (Firma Schering AG Berlin) für die Aufnahme der Massenspektren.