

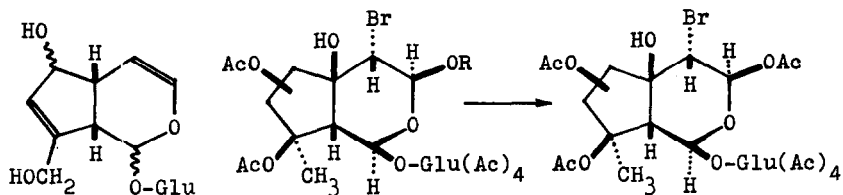
ZUR KONSTITUTION VON HARPAGOSID

H. Lichti und A. von Wartburg
Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien
SANDOZ AG., Basel, Schweiz

(Received 25 February 1964)

DIE Wurzeln von Harpagophytum procumbens DC enthalten einen glykosidischen Bitterstoff, der von R. E. Lux (1) isoliert und Harpagosid genannt wurde. Es handelt sich um eine farblose, amorphe Verbindung, die Brom- und KMnO_4 -Lösung sofort entfärbt und mit Säuren unter intensiven Farbreaktionen (Zersetzung) D-Glucose abspaltet. Ähnliche Reaktionen zeigen auch Aucubin (2) und Asperulosid (3). Harpagosid, das die Bruttoformel $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$ besitzen soll, wird durch Alkali zu Harpagid (= Descinnamoyl-harpagosid) und Zimtsäure verseift. Die Konstitution des Glykosids wurde nicht ermittelt; es soll im Aglykanteil einen Furanring enthalten.

Eigene Untersuchungen führten uns zu der um $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ reicheren Summenformel $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$ und ermöglichten, für Harpagosid die Konstitution (I) vorzuschlagen. Danach gehört Harpagosid wie Aucubin (XV) in die Gruppe der natürlichen Enoläther, die als Iridoide bezeichnet werden (3).

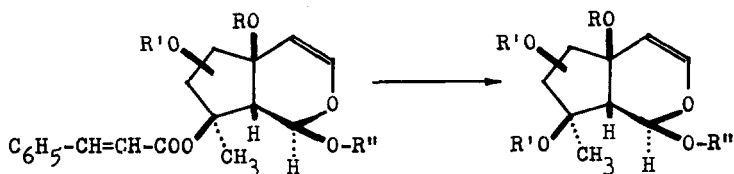
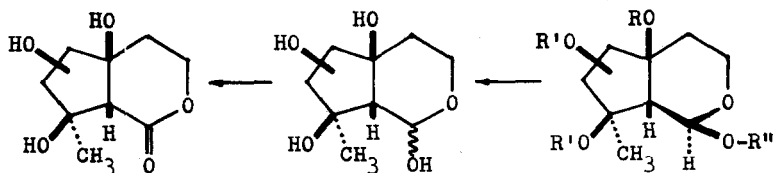


XV: Aucubin (2)

X: R = H

XI: R = CH₃

XII

I: R = R' = H, R'' = Glu:
HarpagosidIV: R = R' = H, R'' = Glu:
HarpagidII: R = H, R' = Ac,
R'' = Glu(Ac)₄V: R = H, R' = Ac,
R'' = Glu(Ac)₄III: R = R' = Ac, R'' = Glu(Ac)₄VI: R = R' = Ac, R'' = Glu(Ac)₄

XIV

XIII

VII: R = R' = H, R'' = Glu

VIII: R = H, R' = Ac,
R'' = Glu(Ac)₄IX: R = R' = Ac,
R'' = Glu(Ac)₄Ac = CH₃CO

Glu = β-D-Glucopyranosyl

Harpagosid (I) zeigt im UV- und IR-Spektrum die typischen Banden einer Zimtsäureester-Gruppierung bei 216, 222 und 276 μ ($\log \epsilon$ 4,19; 4,12; 4,36), bzw. 1690, 1635, 1580 und 1500 cm^{-1} sowie im NMR-Spektrum (DMSO = Deutero-Dimethylsulfoxid) ein Multiplett bei ca. 7,5 ppm (5 H) und Dublette bei 7,62 und 6,53 ppm mit $J = 16$ cps (je 1 H). Eine Schulter bei 1650 cm^{-1} und NMR-Dublette bei 6,41 und 4,94 ppm (DMSO, je 1 H, $J = 6,5$ cps) deuten auf das Vorliegen einer Enolätherfunktion. Harpagosid enthält weder Methoxyl- noch Aethoxylgruppen (Zeisel, NMR), hingegen kann eine C-Methylgruppe nachgewiesen werden (Kuhn-Roth), die im NMR-Spektrum (DMSO) ein Singlett bei 1,47 ppm (3 H) erzeugt und demzufolge an einem vollständig substituierten C-Atom haften muss.

Harpagosid (I) liefert bei der Acetylierung ein Gemisch aus Penta-acetat (II), $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{O}_{16}$, Smp. 213-214°, und Hexa-acetat (III), $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{O}_{17}$, Smp. 193-194°. Das NMR-Spektrum (CDCl_3) von III zeigt im Acetylbereich sechs einzelne Singlette, deren Intensitäten je 3 H entsprechen: 1,95; 1,97; 2,00; 2,02; 2,04 und 2,14 ppm. Beim Penta-acetat (II) erkennt man nur fünf Acetyl-Signale, dafür noch ein Singlett bei 3,07 ppm (1 H), das beim Deuterieren verschwindet; es ist einer freien Hydroxylgruppe zuzuordnen. Durch Nachacetylieren wird das Penta-acetat (II) langsam in das Hexa-acetat (III) übergeführt.

Die Verseifung von Harpagosid (I) mit NaOH oder $\text{Ba}(\text{OH})_2$ liefert Zimtsäure und Harpagid (IV), $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$. Im Harpagid tritt die vermutete Enoläther-Gruppe durch eine scharfe IR-Bande bei 1655 cm^{-1} hervor und verrät sich im NMR-Spektrum (D_2O) durch

zwei Dublette: 6,40 und 5,06 ppm (je 1 H, $J = 6,5$ cps). Bei der Acetylierung des Harpagids bilden sich wieder zwei Derivate: das Hexa-acetat (V), $C_{27}H_{36}O_{16}$, vom Smp. 226° mit einer freien Hydroxylgruppe und das Hepta-acetat (VI), $C_{29}H_{38}O_{17}$, vom Smp. $187-188^{\circ}$. Die Anzahl der Acetylgruppen ist aus den NMR-Spektren leicht ersichtlich.

Saure Hydrolyse spaltet aus Harpagosid (I) Zimtsäure und D-Glucose ab, während das Aglykon zu schwarzen Sekundärprodukten zersetzt wird. Die β -glykosidische Verknüpfung der Glucose im Harpagid (IV) folgt aus dem NMR-Dublett bei 4,42 ppm (1 H, $J = 7$ cps) in DMSO und aus der enzymatischen Spaltung des Dihydroharpagids (VII) mit Emulsin (siehe unten). Harpagosid (I) ging beim Umsatz mit Phenylisocyanat in das Hexa-phenylurethan, $C_{66}H_{60}O_{17}N_6$, über. Bei der säurekatalysierten Methanolyse wurde daraus das bekannte β -Methyl-D-glucosid-2,3,4,6-tetraphenylurethan (Smp. $221-223^{\circ}$, $[\alpha]_D^{20} + 9,9^{\circ}$ in Pyridin) abgespalten. Damit sind die Pyranoseform der Glucose und die Verknüpfung des Zimtsäurerests mit einem Hydroxyl des Aglykonteils bewiesen.

Während die Verseifung von Estern primärer und sekundärer Alkohole im NMR-Spektrum eine Verlagerung von 2, resp. 1 Protonen-Signal nach höheren Feldstärken mit sich bringt (Verlagerung der Methylen-Signale um ca. 0,5 ppm, der Methin-Signale um ca. 1,1 ppm), stellt man beim Uebergang von Harpagosid in Harpagid nur zwei wesentliche Veränderungen des NMR-Spektrums fest: das Verschwinden der für die Cinnamoylgruppe typischen Signale und die Verlagerung des Methyl-Singletts von 1,47 nach 1,09 ppm (DMSO). Wir leiten daraus ab, dass die Zimtsäure mit

einer tertiären Hydroxylgruppe verestert ist und dass diese Hydroxylgruppe am gleichen C-Atom haftet wie die Methylgruppe.

Die Acetylierung von Harpagid (IV) bringt das Methyl-Signal wieder in die ursprüngliche Lage zurück: 1,43 ppm (V), bzw. 1,40 ppm (VI) (beide in DMSO). Der Uebergang von Harpagid in das Hexa-acetat (V) schliesst somit die Veresterung einer tertiären Hydroxylgruppe mit ein. Da aber V noch eine schwer-acetylierbare und oxydationsbeständige freie Hydroxylgruppe besitzt, müssen im Harpagid zwei tertiäre Hydroxylgruppen vorliegen.

Die Natur der letzten Hydroxylgruppe im Aglykanteil lässt sich ebenfalls aus den NMR-Spektren ableiten: Beim Uebergang von Harpagosid (I) in seine Acetyl-derivate (II und III) verlagern sich die Signale von insgesamt 6 C-Protonen nach tieferen Feldern, und zwar die Signale von 4 Protonen aus dem Gebiet zwischen 3 und 4 ppm nach 4,5-5,5 ppm sowie die Signale von 2 Protonen von 3-4 ppm nach ca. 4,2 ppm (DMSO). Analoge Verlagerungen erfolgen bei der Acetylierung von Harpagid zu V und VI. Aus den beobachteten Differenzen kann geschlossen werden, dass bei der Acetylierung der beiden Glucoside (I und IV) je 1 primäre und 4 sekundäre Hydroxylgruppen verestert werden. Zieht man die Anzahl der Glucose-Hydroxyle ab, so folgt, dass im Aglykanteil des Harpagosids 1 sekundäre und 1 tertiäre Hydroxylgruppe, im Aglykanteil des Harpagids 1 sekundäre und 2 tertiäre Hydroxylgruppen frei vorliegen.

Bei der Hydrierung mit Pd in Aethanol verbraucht Harpagid (IV) 1 Mol H_2 und geht in Dihydroharpagid (VII) über, das

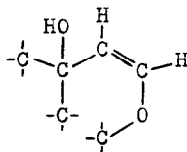
zwischen 1500 und 2000 cm^{-1} keine selektive Absorption zeigt. Die Acetylierung von VII liefert das Hexa-acetat VIII, $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_{16}$ (Smp. 172-173°), und das Hepta-acetat IX, $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{O}_{17}$ (Smp. 164-168°). Beide Acetyl-derivate sind auch durch Hydrierung der entsprechenden Harpagidacetate (V, bzw. VI) zugänglich. Auf diesem Weg liess sich das Hexa-acetat (VIII) in 98prozentiger Ausbeute erhalten. Die Hydrierung des Hepta-acetats (VI) lieferte hingegen nur ca. 70 % des entsprechenden Dihydro-Derivats (IX), und man stellte einen erhöhten Wasserstoffverbrauch und die Bildung von 0,2-0,5 Mol Essigsäure fest. Dieser Befund deutet auf das Vorliegen einer Sauerstofffunktion in α -Stellung zur Enol-Doppelbindung, die in VIII als tertiäre OH-Gruppe auftritt, während sie in IX als Acetoxygruppe teilweise hydrogenolytisch eliminiert wird.

Einen chemischen Nachweis der Enoläther-Struktur erbrachten Bromierungsreaktionen. Harpagid-hexa-acetat (V) bildet mit Brom in Methanol vorwiegend das Methoxybromid XI, $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{O}_{17}\text{Br}$ (Smp. 203°), mit 6 Acetyl-, 1 Hydroxyl- und 1 Methoxylgruppe (IR, NMR, Zeisel). Die Bromierung von V in Dioxan-Wasser führte zum entsprechenden Hydroxybromid (X), $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{O}_{17}\text{Br}$ (Smp. 154°), das sich leicht zum Hepta-acetat XII (Smp. 165-167°) acetylieren liess. Ueberraschenderweise führte die Bromierung des Harpagid-hepta-acetats (VI) in Dioxan-Wasser nicht zum entsprechenden Hydroxybromid sondern zu einem amorphen Primärprodukt, das nur 6 Acetoxyreste, dafür aber eine zusätzliche C-Methylgruppe aufwies (NMR-Signal in CDCl_3 bei 1,55 ppm, 3 H). Schon beim Stehen in wässrigem Methanol ging dieser Stoff in ein dunkel gefärbtes Zersetzungsprodukt und eine zweite, oxydationsbestän-

dige Sekundärverbindung, $C_{29}H_{39}O_{18}Br$ (Smp. 164°), über, deren NMR-Spektrum ($CDCl_3$) wieder 7 Acetylreste anzeigte, und die sich mit dem oben beschriebenen Hepta-acetat (XII) aus dem Hydroxybromid (X) als identisch erwies. Im NMR-Spektrum von XII fiel ein Dublett bei 6,25 ppm auf (1 H, $J = 9,5$ cps, $CDCl_3$). Es ist wegen seiner tiefen Lage einer Methingruppe zuzuordnen, die einerseits mit einer Ester-(Acetoxy-)Gruppe, andererseits mit einer zweiten O-Funktion substituiert sein muss. Die dazu gehörende Gegenbande fand sich bei 4,61 ppm. Sie lag in den Spektren von X und XI bei fast derselben Feldstärke und muss von der Gruppe $-CHBr-$ stammen. Da auch sie als einfaches Dublett ($J = 9,5$ cps) erschien, kann für XII die Gruppierung $-\overset{|}{\underset{|}{C}}-CHBr-CH(OCOCH_3)-O-\overset{|}{\underset{|}{C}}-$ abgeleitet werden.

Die Bildung des Hepta-acetats XII bei der Bromierung von VI lässt sich durch Acylwanderung erklären, wobei das erwähnte Primärprodukt als Orthoacetat zu formulieren ist. Das bei 1,55 ppm auftretende, zusätzliche Methyl-Signal des Zwischenprodukts erscheint im gleichen Gebiet wie das Methyl-Signal des Ortho-essigsäure-methylesters (1,47 ppm, $CDCl_3$).

Die Interpretation der bisherigen Befunde ergibt für Harpagosid (I) folgende Partialstruktur:



Die Kupplungskonstante $J = 9,5$ cps im NMR-Spektrum von XII weist auf eine bisaxiale trans-Anordnung der Wasserstoffe in einem Sechsring hin. Die Spinkopplung $J = 6,5$ cps der beiden

Vinylprotonen, die man bei Harpagosid (I), Harpagid (IV) und ihren Acetylverbindungen (II, III, V und VI) beobachtet, deutet ebenfalls auf einen 6gliedrigen Ring hin, in diesem Fall (Enol-äther) auf einen Dihydropyranring. In den NMR-Spektren der beiden Glucoside und ihrer Derivate erscheinen ferner Signale von zwei Methingruppen, die regelmässig um denselben Betrag aufspalten (0,5-1,5 cps). Die eine dieser CH-Gruppen muss mit zwei inerten O-Atomen substituiert sein, da ihr Signal in der Gegend um 6 ppm (DMSO etc.) auftritt und durch die erwähnten Veresterungs-, Verseifungs- und Bromierungsreaktionen keine signifikante Verlagerung erfährt, während für die zweite Methingruppe (ca. 3,1 ppm) nur C-Substitution angezeigt ist. Die beiden Methingruppen repräsentieren offenbar die noch fehlenden zwei C-Atome des postulierten Dihydropyranrings.

Zur weiteren Stütze der für Harpagosid und Harpagid abgeleiteten Strukturen (I, bzw. IV) führten wir einige Abbaureaktionen am Dihydroharpagid (VII) aus. Dihydroharpagid konnte durch verdünnte Säuren oder durch β -Glucosidasen (Emulsin, Schneckenferment) zu D-Glucose und Dihydroharpagenin (XIII) hydrolysiert werden. Das als Sirup isolierte Dihydrogenin zeigt im NMR-Spektrum 12 C-Protonen und 4 O-Protonen und ist unbeständig. Mit Bromwasser lässt es sich zum Lakton XIV, $C_9H_{14}O_5$, oxydieren. Dieses Lakton, ebenfalls ein farbloser Sirup, weist im IR eine starke Bande bei 1700 cm^{-1} (δ -Lakton) auf. Aus dem NMR-Spektrum von XIV ist das Vorliegen der 14 Protonen (11 C- und 3 O-Protonen) gut ersichtlich. In D_2O erscheinen bei ca. 4,5 ppm das Multipllett der Gruppierung $-CH_2-O-CO-$ (2 H) und bei 3,99 ppm ein Quadruplett (1 H), das wir der Grup-

pierung -CHOH-, bzw. dem X-Teil eines ABX-Systems (-CH(OH)-CH₂-) zuordnen. Ein Singlett bei 3,05 ppm (1 H) dürfte der isolierten Methingruppe in α -Stellung zum Carbonyl, ein weiteres Singlett bei 1,26 ppm (3 H) der C-Methylgruppe entsprechen. Die Signale der übrigen vier Protonen erscheinen als Multiplette im Gebiet um 2,0 ppm. Damit ergeben sich eine Reihe von Indizien für das Vorliegen des postulierten Cyclopentanrings in XIV, bzw. in I.

Die für Harpagosid (I) und Harpagid (IV) abgeleiteten Konstitutionsformeln werden gegenwärtig durch weitere Reaktionen überprüft, wobei versucht wird, die Lage der sekundären OH-Gruppe abzuklären und das Ringgerüst des Harpagosids durch Korrelation mit bekannten Iridoiden endgültig zu beweisen. Ueber diese Arbeiten sowie über die Ableitung der stereochemischen Details in I werden wir später berichten.

Die NMR-Spektren wurden auf einem Varian-Spektrographen, Modell A-60, bei 60 Megahertz und einer Feldänderungsgeschwindigkeit von 1 Hz/sec aufgenommen. Als Bezugssubstanz diente internes Tetramethylsilan (0 ppm).

- (1) R. E. Lux, Dissertation "Ueber ein Glukosid der Wurzel von Harpagophytum procumbens", Würzburg 1960.
- (2) W. Haegele, F. Kaplan & H. Schmid, Tetrahedron Letters Nr. 3, 110 (1961).
- (3) L. H. Briggs, B. F. Cain, P. W. Le Quesne & J. N. Shoolery, Tetrahedron Letters Nr. 2, 69 (1963).