

ZUR BIOSYNTHESE DER BITTEREN GLUCOSIDE DER GENTIANAZEEN, DES  
GENTIOPIROSIDS, DES SWERTIAMARINS UND DES SWEROSIDS

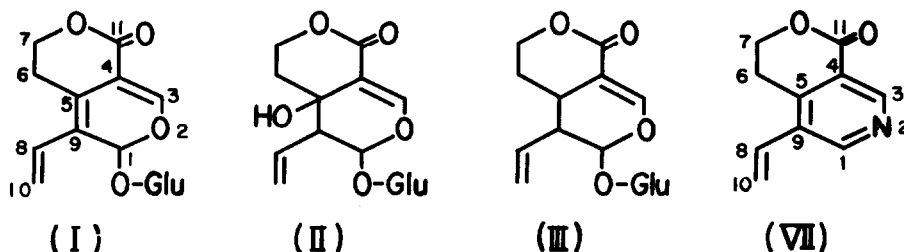
Hiroyuki Inouye, Shinichi Ueda und Yushin Nakamura  
Pharmazeutische Fakultät der Universität Kyoto,  
Sakyo-ku, Kyoto, Japan

(Received 5 May 1967)

Die bitteren Glucoside der Gentianazeen, das Gentiopicrosid (I)<sup>1</sup>, das Swertiamarin (II)<sup>2</sup> und das Swerosid (III)<sup>3</sup>, welches letztere vor kurzem von uns isoliert und dessen Struktur klargelegt wurde, haben ein ähnliches Kohlenstoffgerüst wie der Nicht-Tryptophanteil (C<sub>10</sub>-Einheit) der Indolalkaloide, während die erstgenannten andererseits mit den Iridoidglucosiden konstitutionell in enger Verwandtschaft stehen.

Die Biosynthese dieser bitteren Glucoside wurde daher bislang gemeinsam mit den Indolalkaloiden diskutiert, wobei verschiedene Hypothesen wie der Prephen-säure-<sup>4</sup>, der Terpenoid-<sup>5</sup> und der Acetat-Malonat-Weg<sup>6</sup> vorgeschlagen wurden. Nun wurde neulich von mehreren Forschungsgruppen<sup>7~12</sup> experimentell bestätigt, dass die Indolalkaloide in der Pflanze tatsächlich auf dem Terpenoidweg gebildet werden. Darüber hinaus ist vor kurzem auch eine Arbeit<sup>13</sup> über die Biosynthese des Gentiopicrosids erschienen, die den Mevalonsäure-Ursprung dieses Glucosides bewiesen hat. Sie veranlasst uns nun, die Ergebnisse schon jetzt zu publizieren, die wir beim biosynthetischen Studium dieser Glucoside gewonnen haben, welches im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über die Iridoidglucoside<sup>14</sup> angestellt wurde.

Zu Versuchen wurden sowohl Pflanzen von Gentiana triflora Pall. var. japonica (Kusnez.) Hara (japanischer Name Ezorindo) als auch von Swertia japonica Makino (japanischer Name Semburi) verwendet, indem die wässr. Lösung des D,L-Mevalolactons-2-<sup>14</sup>C an die beiden Pflanzen, die sich in Blühstadium befanden, im



Tab. 1\*<sup>1</sup> Spezifische Radioaktivitäten der Abkömmlinge des Gentiopicrosids (I), welches aus Gentiana-Pflanzen isoliert wurde.

	Spez. Radioakt. dpm/mMol	Einbaurate %
Gentiopicrosid-tetraacetat (IV) aus den oberirdischen Teilen	$1,90 \times 10^5$	0,06
Gentianin (VII)	$1,98 \times 10^5$	
CO <sub>2</sub> aus C-Atom 11	$4,00 \times 10^4$	
HCOOH aus C-Atom 10	0	
Gentiopicrosid-tetraacetat (IV) aus den Wurzeln	$4,89 \times 10^3$	0,004

Tab. 2\*<sup>1</sup>,\*<sup>2</sup> Spezifische Radioaktivitäten der Abkömmlinge des Swertiamarins (II) sowie des Swerosids (III), die aus Swertia-Pflanzen isoliert wurden.

	Spez. Radioakt. dpm/mMol	Einbaurate %
Swertiamarin-tetraacetat (V)	$3,18 \times 10^4$	0,006
Swerosid-tetraacetat (VI)	$4,37 \times 10^5$	0,06
Gentianin (VII) aus dem Gemisch von (II) und (III)	$3,15 \times 10^4$	

\*<sup>1</sup> Die Radioaktivität wurde an einem „Nuclear-Chicago Liquid Scintillation Counter“ Modell 6807 gemessen. An Gentiana- sowie Swertia-Pflanzen wurde insgesamt je 0,15 mC und 0,2 mC D,L-Mevalolacton appliziert.

\*<sup>2</sup> Nur die oberirdischen Teile wurden aufgearbeitet.

Laufe von 2 Tagen durch die in die Stengel eingesetzten Baumwolldochte appliziert wurde. Erst 7 Tage nach dem Beginn der Applikation wurden die Pflanzen geerntet und die ober- sowie die unterirdischen Teile getrennt mit Methanol extrahiert. Der Methanol-Extrakt von Gentiana-Pflanzen lieferte beim Ausziehen mit Butanol und der sich anschliessenden Säulenchromatographie an der Aktivkohle, Methanol als Lösungsmittel, das Gentiopicrosid (I), welches ferner durch Acetylierung dessen Tetraacetat (IV) ergab. Bei der nahezu gleichen Aufarbeitung des Extrakts von Swertia-Pflanzen erhielt man ein Gemisch von Swertiamarin (II) und Swerosid (III), aus welchem sich ebenfalls durch Acetylierung das Gemisch der Acetate der beiden Glucoside erhalten liess. Durch Säulenchromatographie an Kieselgel, Chloroform als Laufmittel, liess sich dieses Gemisch in das Swertiamarintetraacetat (V) und das Swerosid-tetraacetat (VI) auftrennen. Das Gentiopicrosid sowie das Gemisch der anderen beiden Glucoside ergaben bei der Behandlung mit wässr. Ammoniak in üblicher Weise das Gentianin (VII)<sup>15</sup>. Die so erhaltenen dre Glucosid-tetraacetate und das Gentianin wurden durch Umkristallisation bis zur konstanten Radioaktivität gereinigt. Das aus dem (I) übergeführte Gentianin wurde weiterhin sowohl der Kuhn-Roth-Oxydation als auch - nach der Umwandlung zum Lithiumsalz - der Pyrolyse unterzogen. Bei der ersteren entstand Ameisensäure und bei der letzteren Kohlendioxyd.

Die spezifischen Radioaktivitäten der so erhaltenen Verbindungen sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengefasst. Daraus kann man folgendes ersehen:

1. Die Mevalonsäure ist wirklich in die Glucoside, und zwar spezifisch in deren Gentieil inkorporiert worden, da das Gentianin von den beiden Ursprüngen jeweils dieselbe Radioaktivität wie die entsprechenden Glucosid-tetraacetate, (IV) und (V) besitzt.\*<sup>3</sup>
2. Die Verteilung der Radioaktivität im Gentiopicrosid (I) und folglich mit höchster Wahrscheinlichkeit auch im Swertiamarin (II) und im Swerosid (III) entspricht genau der Lokalisierung der Radioaktivität in den Iridoid-

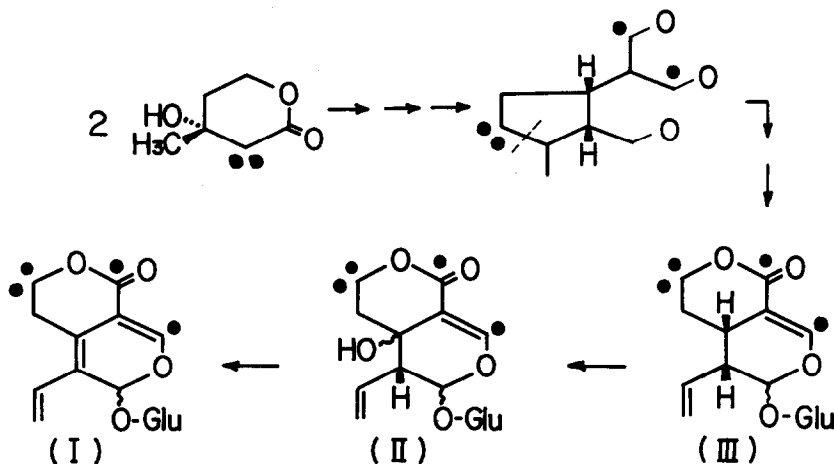
---

\*<sup>3</sup> Die Radioaktivität des Gentianins (VII), welches aus dem Gemisch von (II) und (III) geliefert wurde, entspricht genau der des (II). Die noch unveröffentlichten Versuche von uns zeigten, dass das (III) bei der Aufarbeitung mit wässr. Ammoniak nicht das Gentianin liefert.

glucosiden<sup>16,17</sup> bzw. Indolalkaloiden<sup>7</sup>, indem sich 20,1 % (berechnet 25 %) der gesamten Radioaktivität im C-Atom 11 (CO<sub>2</sub>), jedoch keine dagegen im C-Atom 10 (HCOOH) wiederfand.\*<sup>4</sup> Dieser Befund steht auch mit der Auffassung im Einklang, dass diese Glucoside in der Pflanze auf den Iridoidweg gebildet werden.

3. Swerosid (III) könnte weiter wahrscheinlich eine Vorstufe des Swertiamarins (II) darstellen, da die molare Radioaktivität des ersteren etwa 14fach stärker als die des letzteren ist.

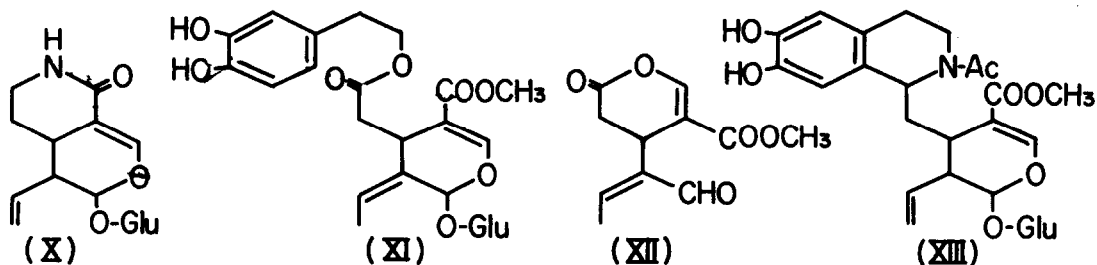
Aus diesen Befunden lässt sich folgern, dass das Kohlenstoffgerüst des Swertiamarins (II) in der Pflanze aus zwei Mevalonsäuren auf den Weg über die Iridoide und Swerosid (III) aufgebaut wird. Im Hinblick auf die Struktur des Swertiamarins (II) sowie des Gentiopicrosids (I) ist ferner leicht zu vermuten, dass das letztere auch in der Pflanze durch Wasserabspaltung des ersteren gebildet werden könnte. So könnte man sich nun den folgenden Biosyntheseweg des Gentiopicrosids (I) vorstellen:



Auf Grund dieser biosynthetischen Erwägung dürfte man ferner wohl dem Swertiamarin (II) und dem Swerosid (III) wenigstens die vorstehenden absoluten Strukturen geben, da es bekannt ist, dass alle in der Struktur aufgeklärten Iridoide solche Konfigurationen an den C-Atomen 5 und 9 haben.<sup>14,18</sup>

\*<sup>4</sup> Die gleiche Verteilung der Radioaktivität in die C-Atome 3 und 11 ist charakteristisch für Iridoidglucoside und für Indolalkaloide, während sie dabei am C-Atom 7 ohne Verschmierung beibehalten ist.

Die näheren Versuche zur ausführlicheren Aufklärung der Bildungsprozesse dieser Glucoside sind jetzt im Gange.



Als mit diesen Glucosiden verwandte Naturstoffe sind zu zählen: das Bakankosin (X)<sup>19</sup>, das Oleuropein (XI)<sup>20</sup>, das Elenolid (XII)<sup>21</sup>, das Ipecosid (XIII)<sup>22</sup> usw., deren Struktur auch auf den Iridoidweg hindeutet. Nach der Struktur und dem an den oben erwähnten Beispielen prinzipiell bewiesenen Bildungsweg dieser Stoffe möchten wir hiermit vorschlagen, sie Secoiridoid bzw. Secoiridoidglucosid zu nennen.

#### LITERATUR

- <sup>1</sup> L. Canonica, F. Pellizzoni, P. Manitto und G. Jommi, Tetrahedron **16**, 192 (1961).
- <sup>2</sup> T. Kubota und Y. Tomita, Tetrahedron Letters **1961**, 176.
- <sup>3</sup> H. Inouye, S. Ueda und Y. Nakamura, ibid. **1966**, 5229.
- <sup>4</sup> E. Wenkert und N. V. Bringi, J. Am. Chem. Soc. **81**, 1474 (1959); E. Wenkert, Experientia **15**, 165 (1959).
- <sup>5</sup> R. Thomas, Tetrahedron Letters **1961**, 544.
- <sup>6</sup> E. Leete und S. Ghosal, ibid. **1962**, 1179.
- <sup>7</sup> T. Money, I. G. Wright, F. McCapra und A. I. Scott, Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **53**, 901 (1965).
- <sup>8</sup> A. R. Battersby, R. T. Brown, J. A. Knight, J. A. Martin und A. O. Plunkett, Chem. Comm. **1966**, 346.
- <sup>9</sup> P. Loew, H. Goeggel und D. Arigoni, ibid. **1966**, 347.

- <sup>10</sup> E. S. Hall, F. McCapra, T. Money, K. Fukumoto, J. R. Hanson, B. S. Mootoo, G. T. Philips und A. I. Scott, ibid. 1966, 348.
- <sup>11</sup> E. Leete und S. Ueda, Tetrahedron Letters 1966, 4915.
- <sup>12</sup> A. R. Battersby, R. T. Brown, R. S. Kapil, J. A. Martin und A. O. Plunkett, Chem. Comm. 1966, 890.
- <sup>13</sup> C. J. Coscia und R. Guarnaccia, J. Am. Chem. Soc. 89, 1280 (1967).
- <sup>14</sup> Die letzte Mitteilung: N. Masaki, M. Hirabayashi, K. Fuji, K. Osaki und H. Inouye, Tetrahedron Letters im Druck.
- <sup>15</sup> T. Kubota und Y. Tomita, Bull. Chem. Soc. Japan 34, 1345 (1961); T. Kubota und T. Kamikawa, ibid. 35, 1046 (1962).
- <sup>16</sup> D. A. Yeowell und H. Schmid, Experientia 20, 250 (1964).
- <sup>17</sup> J. E. S. Hüni, H. Hildebrand, H. Schmid, D. Gröger, S. Johne und K. Mothes, ibid. 22, 656 (1966).
- <sup>18</sup> J. F. McConnell, A. McL. Mathieson und B. P. Schoenborn, Tetrahedron Letters 1962, 445.
- <sup>19</sup> G. Büchi und R. E. Manning, ibid. 1960 (No. 26), 5.
- <sup>20</sup> L. Panizzi, M. L. Scarpatti und G. Oriente, Gazz. chim. ital. 90, 1449 (1960).
- <sup>21</sup> H. C. Bayermann, L. A. van Dijk, J. Levisalles, A. Melera und W. L. C. Veer, Bull. soc. chim. France 1961, 1812.
- <sup>22</sup> A. R. Battersby, B. Gregory, H. Spencer, J. C. Turner, M.-M. Janöt, P. Potier, P. Francois und J. Levisalles, Chem. Comm. 1967, 219.