

ZUR BIOSYNTHESE DER IRIDOIDGLUCOSIDE

Hiroyuki Inouye, Shinichi Ueda, Yasuhiko Aoki und Yoshio Takeda

Pharmazeutische Fakultät der Universität Kyoto,

Sakyo-ku, Kyoto, Japan

(Received in Germany 5 May 1969; received in UK for publication 13 May 1969)

Während angenommen wird, dass die Naturstoffe der Iridoidreihe in der Pflanze auf den Weg über Citronellal (I) und Iridodial (II) gebildet werden¹⁾, ist weiter zu vermuten, dass die letzte Verbindung ihrerseits über die Bisdesoxydihydrodeacetylasperulosidsäure (III)²⁾ (oder dessen Aglucon) in die verschiedenen, höher oxydierten Iridoid- oder Secoiridoidglucosiden überführt wird.

In den Applikationsversuchen mit der $10\text{-}^3\text{H}$ -Bisdesoxydihydrodeacetylasperulosidsäure (III) an den folgenden vier Pflanzen haben wir nun bewiesen, dass diese Säure tatsächlich wie erwartet in die Iridoidglucoside eingebaut wird: *Lonicera japonica* Thunb.³⁾ (ca. 40 cm lange Zweige mit mehreren Blättern), *Daphniphyllum macropodum* Miq. (ca. 25 cm lange Zweige mit 10 Blättern), *Aucuba japonica* Thunb. (ca. 20 cm lange Zweige mit 12 Blättern) und *Verbena officinalis* Linn. (ca. 25 cm hohes Kraut in Blütestadium).

Die zu den Versuchen benutzte Substanz (III)⁴⁾ stellten wir durch katalytische Hydrierung des Asperulosid-tetraacetats in $^3\text{H}_2$ -Atmosphäre und nachfolgender Deacetylierung her. Sie wurde als wässrige Lösung an die Pflanzen durch Baumwolldochte über die Stengel appliziert. Isolierung der Glucoside wurde 7 Tage nach dem Beginn der Applikation auf übliche Weise vorgenommen. Die Glucoside wurden dann mit Ac_2O -Pyridin acetyliert und durch Umkristallisation bis zur konstanten Radioaktivität gereinigt. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der Tab. 1. zusammengestellt.

Das in diesem Versuche gewonnene radioaktive Loganin-tetraacetat lieferte bei Hydrolyse mit methanol. Baryt-Lösung und nachfolgender Methylierung mit Diazomethan Loganin (IV). Kuhn-Roth-Oxydation dieses Glucosids ergab Essigsäure, die die gesamte Radioaktivität des Ausgangsmaterials beibehält.

Tab. 1. Applikationsversuche mit der Substanz (III)

Pflanzen	Menge und spez. Akt. von applizierter (III) dpm/m Mol	isoliertes Glucosid	spez. Akt. des Glucosidacetats dpm/m Mol	Einbaurrate %
<i>Lonicera japonica</i>	71,6 mg $6,12 \times 10^9$	Loganin (IV)	$2,14 \times 10^7$	0,27
<i>Daphniphyllum macropodum</i>	2,32 mg $1,29 \times 10^9$	Asperulosid (V)	$1,90 \times 10^5$	0,60 ⁵⁾
<i>Aucuba japonica</i>	1,99 mg $1,29 \times 10^9$	Aucubin (VI)	$3,62 \times 10^5$	0,51 ⁵⁾
<i>Verbena officinalis</i>	42,8 mg $6,12 \times 10^9$	Verbenalin (VII)	$2,93 \times 10^8$	11

Das radioaktive Asperulosid-tetraacetat wurde mit Pd-Kohle katalytisch hydriert, mit Diazomethan methyliert und der Zemplénschen Reaktion unterworfen. Das Produkt, Bisdesoxydihydrodeacetylasperulosidsäure-methylester, ergab bei Kuhn-Roth-Oxydation wiederum Essigsäure, die 98 % der Radioaktivität der ursprünglichen Substanz enthielt.

Somit wurde zum ersten Mal experimentell bewiesen, dass die Biosynthese der obigen Iridoidglucoside (IV) - (VII) über die Säure (III) (oder dessen Aglucon) verläuft.

Es wurde schon festgestellt, dass Loganin eine Zwischenstufe auf dem Biosyntheseweg verschiedener Indolalkaloide ist⁶⁾. Darüber hinaus ist vor kurzem durch Experimente an *Swertia caroliniensis* nachgewiesen worden, dass die Biosynthese des Gentiopicrosids über Loganinsäure (VIII) (freie Säure von (IV)) verläuft⁷⁾. Unter Berücksichtigung der Struktur des Loganins (IV) scheint es auch sehr wahrscheinlich, dass die höher oxydierten Iridoidglucoside wie Asperulosid (V) über Loganin (IV) (evtl. (VIII)) gebildet werden.

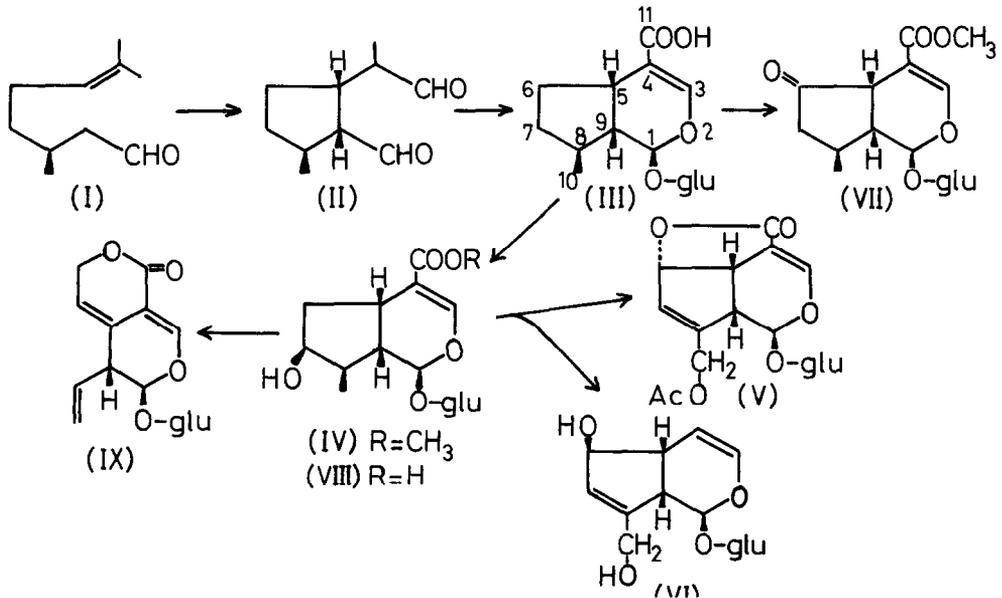
So haben wir die Applikationsversuche mit dem radioaktiven Loganin (IV), das im voranstehenden Experiment gewonnen wurde, an Pflanzen von *Gentiana triflora* Pall var. *japonica* (Kusnez.) Hara (ca. 30 cm hohes Kraut in Blütestadium) sowie *Daphniphyllum macropodum* Miq. (ca. 25 cm lange Zweige mit 8 Blättern) durch-

Tab. 2. Applikationsversuche mit Loganin (IV)

Pflanzen	Menge und spez. Akt. von appliziertem (IV) dpm/m Mol	isoliertes Glucosid	spez. Akt. des Glucosidacetats dpm/m Mol	Einbaurrate %
Gentiana triflora	30,3 mg $2,27 \times 10^6$	Gentiopicrosid (IX)	$2,12 \times 10^4$	4,5 ⁵⁾
Daphniphyllum macropodium	12,6 mg $1,95 \times 10^7$	Asperulosid (V)	$7,87 \times 10^3$	0,45 ⁵⁾

geführt und Inkorporation in Gentiopicrosid (IX) und Asperulosid (V) überprüft. Dabei wurde die Aufarbeitung genau so wie bei den oben erwähnten Versuchen vorgenommen. Die Resultate werden in der Tab. 2. angeführt.

Mit diesen Versuchen wurde wiederum festgestellt, dass Gentiopicrosid biosynthetisch über Loganin (IV) (Äquivalent der Loganinsäure (VIII)) als Vorläufer gebildet wird, und zwar, in Erwägung der bislang erhaltenen Befunden^{7), 8), 9)}, über Secologanin, Swerosid und Swertiamarin. Durch diese Versuche wurde weiter nachgewiesen, dass Asperulosid (V) in der Pflanze via Loganin (IV) gebildet wird.



Diese Tatsache legt nun die Vermutung nahe, dass die Biosynthese einer Reihe der höher oxydierten Iridoidglucoside wie Scandosid, Paederosid¹⁰⁾, Geniposid, Gardenosid¹¹⁾, Monotropein²⁾ usw. auch über Loganin (IV) (evtl. Loganinsäure (VIII)) verläuft. Darüber hinaus ist zu vermuten, dass das C₉-Iridoid Aucubin (VI), welches seinerseits eine Vorstufe für Catalposid¹²⁾ usw. darstellen dürfte, auch darüber gebildet wird. Dagegen scheint Verbenalin (VII) in der Pflanze durch direkte Oxydation der Substanz (III) gebildet zu werden.

Näheres über die Bildungsprozesse dieser Iridoidglucoside wird in Kürze berichtet werden.

LITERATUR

- 1) D. A. Yeowell u. H. Schmid, *Experientia* 20, 250 (1964).
- 2) H. Inouye, T. Arai u. Y. Miyoshi, *Chem. & Pharm. Bull. (Tokyo)* 12, 888 (1964).
- 3) Auf den privaten Weg teilte Herr Prof. H. Kakisawa, Tokyo Kyoiku Universität, uns mit, dass diese Pflanze Loganin enthält.
- 4) Nach dem Resultat der Kuhn-Roth-Oxydation der radioaktiven Substanz (III) findet sich 87 % der in (III) eingeführten Aktivität in der Methylgruppe der den C-Atomen 8 und 10 entstammenden Essigsäure. Die Konzentrierung der Aktivität am C-10 findet im folgenden Erklärung: Bei katalytischer Hydrierung des Asperulosid-tetraacetats erfolgt zuerst die Hydrogenolyse der OH-Gruppe am C-10. Dabei kommt die zu hydrierende Substanz aus technischen Gründen zuerst mit wenig ³H₂ und darauf mit einem grossen Volumen H₂ in Berührung.
- 5) Berechnet unter der Annahme, dass zwei Drittel der Aktivität der applizierten Substanz im isolierten Glucosid beibehalten wurden.
- 6) A. R. Battersby, R. S. Kapil, J. A. Martin u. L. Mo, *Chem. Comm.* 1968, 133; P. Loew u. D. Arigoni, *ibid.* 1968, 137.
- 7) R. Guarnaccia, L. Botta u. C. J. Coscia, *J. Am. Chem. Soc.* 91, 204 (1969).
- 8) A. R. Battersby, A. R. Burnett u. P. G. Parsons, *Chem. Comm.* 1968, 1280.
- 9) H. Inouye, S. Ueda u. Y. Takeda, *Tetrahedron Letters* 1968, 3453.
- 10) H. Inouye, S. Inouye, N. Shimokawa u. M. Okigawa, *ibid.* 1968, 683.
- 11) H. Inouye, S. Saito, H. Taguchi u. T. Endo, *ibid.* 1969, im Druck.
- 12) J. M. Bobbitt, D. E. Kiely, A. Y.-w. Lam u. E. I. Snyder, *J. Org. Chem.* 32, 1459 (1967).