

GALIRIDOSID, EIN NEUES IRIDOIDGLUCOSID AUS GALEOPSIS TETRAHIT L. (LABIATAE) ¹⁾.

O.Sticher

Pharmazeutisches Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich.

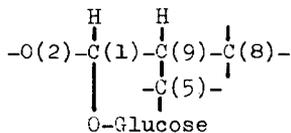
(Received in Germany 13 June 1970; received in UK for publication 3 July 1970)

Aus frischen Blättern von Galeopsis tetrahit L. wurde ein neues, dem Antirrinoid (I) nahe verwandtes Iridoidglucosid, Galiridosid (II) C₁₅H₂₂O₉, Smp. 189,5-191,5°C. (Zers.), [α]_D = -78°(H₂O), isoliert. Galiridosid ist identisch mit dem von Wieffering (1) und von Adema (2) in Galeopsis tetrahit L. auf papierchromatographischem Wege beobachteten "Tetrahit-Pseudoindikan" oder "Gal.tetr. 47" ²⁾. II ist äusserst unstabil in Gegenwart von Mineralsäuren. Bei der Trim & Hill-Reaktion (3) entsteht eine Blaufärbung und beim Erwärmen mit konz. HCl eine violette Färbung mit nachfolgender Abscheidung eines dunkelgefärbten Niederschlages.

Mit Essigsäureanhydrid/Pyridin resultiert das kristalline Tetra-O-acetyl-galiridosid (III), (Smp. 131,2-132,0°C.; C₂₃H₃₀O₁₃; [α]_D = -60°(CHCl₃); infrarote OH-Bande bei 3525 cm⁻¹(CHCl₃)).

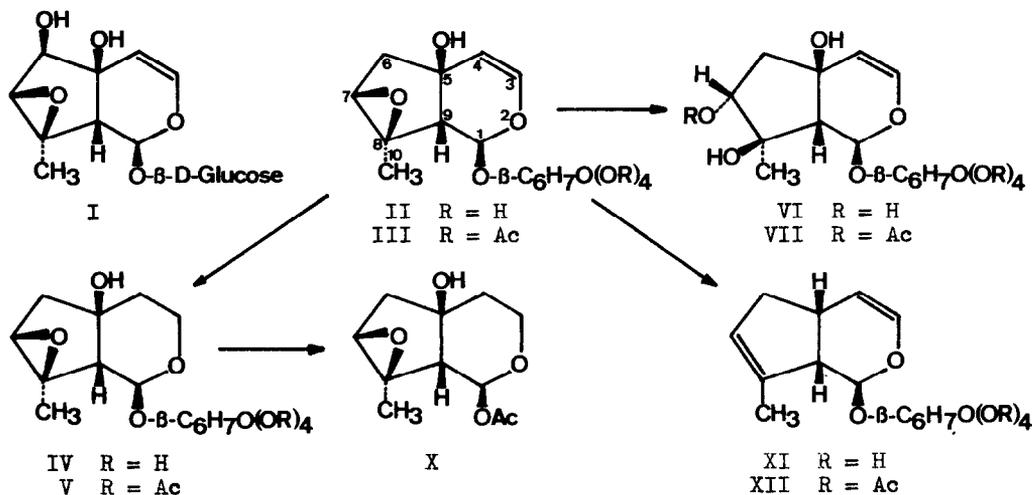
Die Anwesenheit der für die C₉-Iridoide charakteristischen Enol-Aether-Gruppierung -C(4)H=C(3)H-O(2)-C(1) in II und III folgt aus UV.-Daten ((H₂O) λ_{max} = 189,5 nm; log ε = 4,18 (II) bzw. 192 nm; log ε = 3,93 (III)), IR.-Daten (II(KBr): 1663 cm⁻¹ (C=C); III(CHCl₃): 1658 cm⁻¹ (C=C) und 100 MHz-NMR.-Spektren ³⁾ (II(D₂O): Dublette bei 6,90 ppm (J=6,2 Hz; H-C(3)) und 5,54 ppm (J=6,2 Hz; H-C(4)) bzw. III (CDCl₃): 6,27 ppm (J=6,2 Hz; H-C(3)) und 4,97 ppm (J=6,2 Hz; H-C(4))). Die beiden Dublette fehlen beim Dihydro-Derivat (IV). Das Spektrum von III lässt bei 2 ppm vier getrennte CH₃COO-Signale sowie ein Singulett bei 3,18 ppm (OH; verschwindet mit D₂O) erkennen. Aus diesen Befunden geht hervor, dass der Agluconteil von III eine freie Hydroxylgruppe enthält. Da diese sehr schwer acetylierbar ist, kann angenommen werden, dass sie tertiärer Natur ist.

Für die Gruppierung



sprechen die beiden, je einem H

- 1) Vorläufige Mitteilung von: O.Sticher, Iridoidglucoside aus Asperula odorata L., Galeopsis tetrahit L. und Thvetia peruviana (PERS.)K.SCHUM., Habilitationsschrift ETH Zürich, 1970.
- 2) Für die Ueberprüfung des Pflanzenmaterials sowie die Kontrolle von Galiridosid mit dem "Tetrahit-Pseudoindikan" sei an dieser Stelle Herrn Prof.Dr.R. Hegnauer, Lab. für experimentelle Pflanzensystematik, Universität Leiden, herzlich gedankt.
- 3) Chemische Verschiebungen relativ zu internem Tetramethylsilan bei CDCl₃- und CCl₄-Lösungen, bzw. externem Tetramethylsilan bei D₂O-Lösungen.



entsprechenden Dublette in den NMR.-Spektren von II (D_2O) bzw. III ($CDCl_3$) bei 5,95 ppm ($J=6,2$ Hz; H-C(1)) und 2,91 ppm ($J=6,2$ Hz; H-C(9)) bzw. 5,14 ppm ($J=6,6$ Hz; H-C(1)) und 2,36 ppm ($J=6,6$ Hz; H-C(9)). Die Zuordnung wurde durch Entkoppelungs-experimente bewiesen. Die Tatsache, dass die Signale der Protonen von H-C(4) und H-C(9) als Dublette auftreten, spricht für die Abwesenheit eines H an C(5) und C(8).

Im NMR.-Spektrum von II erscheint ferner ein Singulett bei 2,01 ppm mit der Intensität von 3 Protonen, welches einer Methylgruppe ohne Nachbarproton zuzuordnen ist ($CH_3(10)-\overset{\cdot}{C}(8)-$). Seine Resonanz bei eher tiefem Feld ist wahrscheinlich dem Epoxid-Ring zuzuschreiben (vgl. Antirrinosid (I) (4)).

Die H_2 -C(6) Protonen erscheinen als AB-Teil eines degenerierten ABX-Systems mit Zentrum bei 2,66 ppm ($-\overset{\cdot}{C}(7)H-C(6)H_2-$). Die Kopplungskonstante J_{AB} beträgt 16,2 Hz. Das Proton H-C(7) (X-Teil) tritt als singulettähnliches Signal bei 4,02 ppm auf und ist teilweise durch die Signale der Glucose-Protonen verdeckt. Die Zuordnung wurde durch Entkoppelungsexperimente bestätigt.

Die Anwesenheit von Glucose im Molekül erfolgt aus der sauren Hydrolyse von Galiridosid. Nach Neutralisierung konnte Glucose dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden. Ebenso fiel eine Kontrolle mit BM-Test Glucose stark positiv aus. Ein weiterer Beweis lieferte die Herstellung des Osazons, welches auf Grund von Schmelzpunkt, Misch-Schmelzpunkt, Rf-Wert und IR.-Spektrum mit authentischem Glucosazon identisch war. Ferner kann als eindeutiger Beweis von Glucose im Molekül der im Massenspektrum der Acetyl-derivate III, V und VII auftretende charakteristische und starke Peak bei m/e 331, welcher bei Glucose-pentaacetat sowie bei Anwesenheit eines Tetra-acetyl-glucoserestes auftritt (5,6,7) gelten.

Die β -glycosidische Verknüpfung der Glucose in II folgt aus dem NMR.-Dublett des

Trimethylsilylderivates von II (CCl_4) bei 4,52 ppm ($J=7,0$ Hz) und aus der enzymatischen Spaltung von IV mit Emulsin. Ein J -Wert von 7 Hz für die Protonen an C(1') und C(2') tritt nur bei β -D-Glucosiden (vgl.(8)) auf.

Weiteren Aufschluss über die Struktur von Galiridosid gab die Hydrierung mit Pd/C in Aethanol 80%. Dem dabei entstandenen Dihydro-galiridosid (IV) sowie dem Tetra-O-acetyl-dihydrogaliridosid (V) fehlen die charakteristische UV.-Absorption der Enol-Aether-Gruppierung um C(2), C(3) und C(4). Ebenso fehlt die IR.-Bande zwischen 1640-1660 cm^{-1} für die C(3)=C(4) Doppelbindung. Im NMR.-Spektrum von IV und V fehlen die Vinylprotonen, dafür treten im Spektrum von IV (D_2O) Signale für 6 Protonen zwischen 2,15 und 2,80 ppm auf ($\text{H}_2\text{-C}(3)$, $\text{H}_2\text{-C}(4)$ und $\text{H}_2\text{-C}(6)$).

Von den 9 Sauerstoffatomen von Galiridosid können 6 der Glucose zugeordnet werden und 1 dem Dihydropyran-Ring. Ein weiteres Sauerstoffatom gehört einer OH-Gruppe im Aglucon, was aus dem IR.- und NMR.-Spektrum von III hervorgeht. Das neunte O-Atom kann einem Epoxid-Ring im Aglucon zugeordnet werden, was aus folgenden Experimenten hervorgeht: II gibt einen positiven Epoxid-Nachweis mit Natriumthiosulfat (vgl. Catalposid (9)). Das bei der Hydrolyse des Epoxid-Ringes mit Bariumhydroxid erhaltene amorphe Dihydroxy-galiridosid (VI) sowie die kristalline Acetylverbindung (VII) zeigen im UV.-Spektrum noch die charakteristische Bande für die Enol-Aether-Gruppierung, ebenso im IR.-Spektrum die Bande für die C(3)=C(4) Doppelbindung bei 1657 cm^{-1} (VI(KBr)) bzw. 1652 cm^{-1} (VII(CHCl_3)). Aus den NMR.-Spektren von VI und VII geht hervor, dass das Signal der Methylgruppe von 2,01 ppm in II bzw. 1,50 ppm in III nach höherem Feld (1,58 ppm bzw. 1,14 ppm) verschoben wurde, was bestätigt, dass die Umwandlung von II \rightarrow VI das C(8) berührt. Ebenso ist die Änderung der Kopplungskonstante zwischen den Protonen am C(1) bei 6,11 bzw. 5,57 ppm und C(9) bei 2,88 bzw. 2,67 ppm von Bedeutung. Sie sinkt von 6,2 bzw. 6,6 Hz auf Werte unter 1, wie das auch bei den entsprechenden Abbauprodukten von Antirrinosid (I) der Fall ist, die eine dem Harpagid ähnliche Struktur aufweisen (vgl. (4)).

Im Gegensatz zu IV und V sind bei VI und VII die Vinylprotonen bei 6,74 bzw. 6,11 ppm ($J=6,6$ bzw. 6,2 Hz; H-C(3)) und 5,66 ppm ($J=6,6$ Hz) bzw. zwischen 4,75-5,37 ppm (H-C(4)) noch vorhanden. Das Proton an C(7), welches den X-Teil eines ABX-Systems ($-\overset{\text{I}}{\text{C}}(7)\text{H-C}(6)\text{H}_2-$) darstellt, erscheint bei VI als Doppeldublett bei 4,68 ppm ($J_{\text{AX}}=8,6$ Hz; $J_{\text{BX}}=11,0$ Hz). Die Signale des A- und B-Teiles ($-\text{C}(6)\text{H}_2-$) treten bei hohen Feldstärken auf. Es handelt sich um zwei Doppeldublette bei 2,71 ppm ($J_{\text{AB}}=14,4$ Hz; $J_{\text{AX}}=8,6$ Hz) und bei 2,19 ppm ($J_{\text{AB}}=14,4$ Hz; $J_{\text{BX}}=11,0$ Hz). Die entsprechenden Signale bei VII erscheinen zwischen 4,75-5,37 ppm (H-C(7); wird von den Glucoseprotonen überlagert) und ebenfalls als Doppeldublette ($-\text{C}(6)\text{H}_2-$) mit Schwerpunkt bei 2,42 ppm ($J_{\text{AB}}=14,2$ Hz; $J_{\text{AX}}=8,8$ Hz) und bei 1,80 ppm ($J_{\text{AB}}=14,2$ Hz; $J_{\text{BX}}=9,8$ Hz). Die Zuordnung wurde durch Entkoppelungsexperimente bewiesen.

VII hat im Gegensatz zu III und V zwei Singulette für freie OH-Gruppen bei 2,79 ppm (OH an C(8)) und 3,61 ppm (OH an C(5)) (verschwinden mit D_2O). Die entsprechende

Bande im IR.-Spektrum (CHCl_3) erscheint bei 3525 cm^{-1} . Dass die tertiäre OH-Gruppe an C(8) nicht acetyliert wurde, geht auch aus den NMR.-Spektren hervor. Bei der Ueberführung VI \rightarrow VII bleibt das Signal der CH_3 -Gruppe, welche sich in geminaler Stellung zum OH befindet, bei etwa gleicher Resonanzlage⁴⁾. Wäre sie acetyliert worden, müsste das Signal der CH_3 -Gruppe nach tieferem Feld verschoben worden sein. Das trifft zu beim Proton an C(7), dessen Signal nach tieferem Feld verschoben wurde.

Spaltung von IV mit β -Glucosidase führte zum Aglucon, das in Form des O-Acetyl-Derivates (X) $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_5$ ($M^+ = 228 \text{ m/e}$) spektroskopisch charakterisiert wurde.

Die beiden Ringe sind im Galiridosid cis-verknüpft, was aus folgenden Experimenten hervorgeht: Bei der Reduktion von II mit Lithium in flüssigem Ammoniak entstanden u.a. kleine Mengen von Bidesoxy-aucubin (XI), welches als Acetat (XII) isoliert worden ist. Der Abbau zu XII konnte auch bei Catalposid (10,11), Melittosid (12) und Antirrinosid (4) durchgeführt werden. Durch die Ueberführung von II in das Aucubinderivat ist die Iridoidnatur von II (C(1), C(2), C(3) und C(4)) bestätigt. Zudem ist damit die cis-Verknüpfung der beiden Ringe und die absolute Stereochemie der Asymmetriezentren C(1), C(5) und C(9) erwiesen. Die trans-Anordnung der H-Atome an C(1) und C(9) geht zudem aus den NMR.-Spektren von II, III und IV hervor ($J_{1,9} = 6,2-6,8 \text{ Hz}$). Die Kopplungskonstante $J_{1,9}$ bewegt sich bei den anderen Iridoiden mit gleicher Anordnung je nach Verbindung zwischen 4-10 Hz (vgl. Lit. in (13)). Die Anordnung des Epoxid-Ringes in der vorgeschlagenen Weise ist in Uebereinstimmung mit den übrigen Iridoidglucosiden, welche eine Epoxid-Struktur aufweisen, sowie am C(8) substituiert sind (vgl.(8)) und stimmt mit der Interpretation der NMR.-Spektren überein. - Arbeiten über weitere Iridoide aus Galeopsis tetrahit L. sind im Gange.

4) Unter Berücksichtigung der verschiedenen Vergleichssubstanz (externes TMS bei VI und internes TMS bei VII), was etwa 0,45-0,5 ppm ausmacht.

Herzlicher Dank gilt Herrn Prof.Dr.H.Schmid, Direktor des Org.-chemischen Institutes der Universität Zürich, für die Möglichkeit am Org.-chem. Institut verschiedene Einrichtungen benutzen zu können, ferner den Herren Prof.W.v.Philipsborn und dipl.chem.T.Winkler für die Aufnahme der NMR.-Spektren und für wertvolle Hinweise zur Interpretation einiger Spektren, den Herren Prof.Dr.M.Hesse und N.Bild für Massenspektren, Herrn H.Frohofer für IR.-Spektren und Analysen sowie Herrn J.Zsindely für viele anregende Diskussionen.

Literaturverzeichnis:

- (1) J.H.Wieffering, *Phytochemistry* **5**, 1053 (1966).
- (2) F.Adema, *Acta Bot.Neerl.* **17**, 423 (1968).
- (3) A.R.Trim und R.Hill, *Biochem. J.* **50**, 310 (1952).
- (4) M.L.Scarpati, M.Guiso und P.Esposito, *Gazz.chim.ital.* **98**, 177 (1968).
- (5) K.Biemann, D.C. De Jongh und H.K.Schnoes, *J.amer.chem.Soc.* **85**, 1763 (1963).
- (6) I.A.Pearl und S.F.Darling, *Tetrahedron Letters* **1967**, 1869.
- (7) I.A.Pearl und S.F.Darling, *Phytochemistry* **7**, 831 (1968).
- (8) J.M.Bobbitt und K.-P.Segebarth, in A.R.Battersby und W.I.Taylor, *Cyclopentanoid Terpene Derivatives*, Marcel Dekker, New York, 1970.
- (9) J.M.Bobbitt, D.W.Spiggle, S.Mahboob, H.Schmid und W.v.Philipsborn, *J.org.chem.* **31**, 500 (1966) und darin zitierte Literaturen.
- (10) W.H.Lunn, D.W.Edward und J.T.Edward, *Chem.Ind [London]* **1961**, 1488.
- (11) W.H.Lunn, D.W.Edward und J.T.Edward, *Canad. J.Chem.* **40**, 104 (1962).
- (12) M.L.Scarpati und P.Esposito, *Gazz.chim.ital.* **97**, 1209 (1967).
- (13) O.Sticher und H.Schmid, *Helv.chim.Acta* **52**, 478 (1969).