

ÜBER DIE BIOSYNTHESE DER OLEUROPEIN-TYP-SECOIRIDOIDGLUCOSIDE DER OLEACEAE

Hiroyuki Inouye, Shinichi Ueda, Kenichiro Inoue und Yoshio Takeda

Pharmazeutische Fakultät der Universität Kyoto, Sakyo-ku, Kyoto, Japan

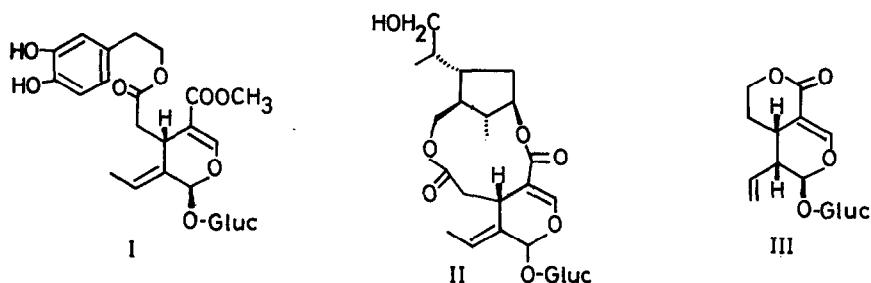
(Received in Germany 21 September 1971; received in UK for publication 28 September 1971)

In den Oleaceen kommen Secoiridoidglucoside wie Oleuropein (I)¹, Jasminin (II)² usw. vor. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Biosynthese dieser Glucoside.

Nach ihrer Struktur scheinen diese Glucoside bis zur Aufspaltung des Cyclopentanrings etwa auf dem gleichen Weg wie Gentianaceae-Glucoside z. B. Swerosid (III) gebildet zu werden. Diese Annahme wurde in der Tat durch Applikationsversuche mit (10-³H)-7-Desoxyloganinsäure (IV) und (10-³H)-Loganin (V) an Jasminum primulinum-Pflanzen bestätigt, die das Glucosid Jasminin (II) enthält³. Aus Tab. 1, die die Resultate der Applikationsversuche wiedergibt, kann man ersehen, dass die beiden aktiven Substanzen (IV) und (V) in II eingebaut werden. Damit wurde der Biogeneseweg der Secoiridoidglucoside der beiden Typen bis zur Loganinzwischenstufe als gleichlaufend bewiesen.

Dann erhebt sich die Frage, welche Substanzen als Zwischenstufen zwischen Loganin (V) und Oleuropein (I) bzw. Jasminin (II) verwertet werden. Als eine Möglichkeit könnte man sich dabei wohl vorstellen, dass Secologanin (VI) den betreffenden Precursor darstellt, der durch Umlagerung der 8-9-Doppelbindung sowie Oxydation der Aldehydgruppe den Secoiridoidteil (VII) von I bzw. II liefert³. Eine andere Möglichkeit dürfte darin bestehen, dass das durch Oxydation von Loganin (V) gebildete 7-Dehydrologanin (VIII) durch eine Oxydation vom Baeyer-Villiger-Typ 8-Epikingisid (IX) ergibt, welches weiter durch Abspaltung der ROH-Gruppe den Secoiridoidteil (VII) von I bzw. II liefert.

Für die erste Route dürfte die Tatsache sprechen, dass Secologanin (VI) bei der Biosynthese der Gentianaceae-Secoiridoidglucoside sowie der Indolaalkaloide immer wichtige Rolle als Precursor spielt. Für die zweite Route bieten eine



Reihe der Reaktionen, die bei der chemischen Korrelation von Asperulosid mit Oleuropein (I) beobachtet wurden, parallele Modelle bieten⁴. Zudem dürfte auch die Tatsache diese Route stützen, dass es verschiedene Naturstoffe gibt, die durch Oxydation vom Baeyer-Villiger-Typ entstanden zu sein scheinen.

Zur Suche nach dem richtigen Weg haben wir daher wiederum Applikationsversuche mit radioaktiven Substanzen angestellt.

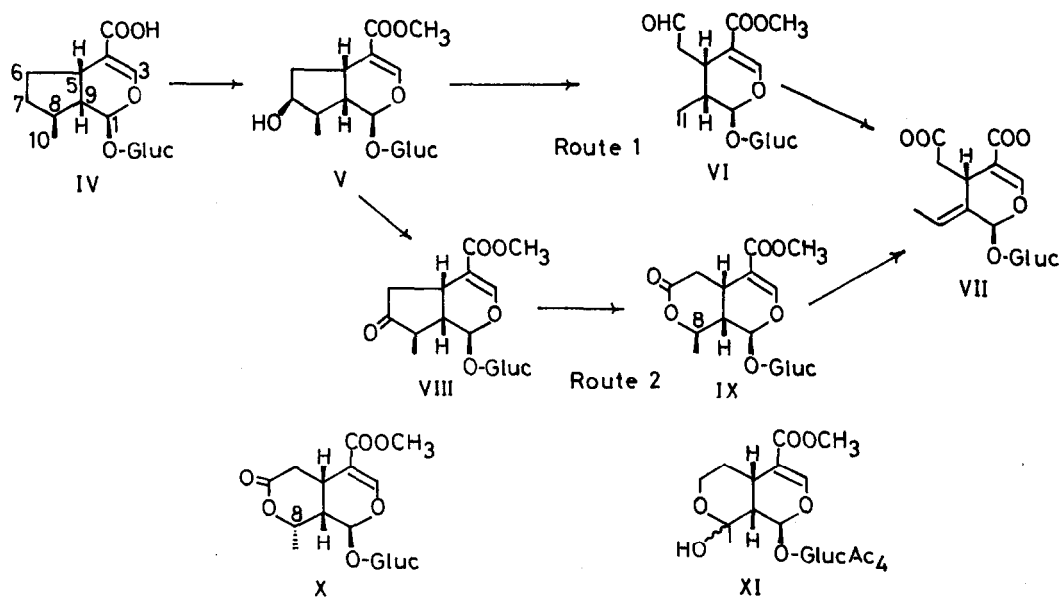
Prüfung der ersten Route: Wie in der vorigen Mitteilung⁵ berichtet, haben wir das (Carbo-¹⁴C-methoxy)-secologanin (VI) hergestellt und an die *Olea europaea*-Pflanze appliziert. Wie man aus Tab. 1 ersieht, wurde dabei die applizierte Substanz mit einer Einbaurrate von 0,34 % in Oleuropein (I) inkorporiert⁶.

Prüfung der zweiten Route: Zuerst fütterten wir die *Jasminum*-Pflanze mit (8-³H)-8-Epikingisid (IX) und (8-³H)-Kingisid (X) und isolierten daraus Jasminin (II). Die dazu benötigten beiden Substanzen wurden durch Reduktion der aus Asperulosid abgeleiteten Verbindung (XI) mit NaB^3H_4 und die darauffolgenden einigestufigen Reaktionen hergestellt⁴. Wie man auch aus Tab. 1 ersieht, war die Einbaurrate der beiden Substanzen (IX) und (X) in Jasminin (II) dabei etwa gleich. Dann haben wir (Carbo-¹⁴C-methoxy)-8-epikingisid (IX) sowie (Carbo-³H-methoxy)-kingisid (X) gleichzeitig an dieselbe *Olea*-Pflanze appliziert und daraus Oleuropein (I) isoliert. Zur Herstellung der beiden zu applizierenden Substanzen wurden zuerst Epikingisid (IX) und Kingisid (X) jeweils mit Alkali zu Epikingisidsäure und Kingisidsäure hydrolysiert. Methylierung der ersten mit ¹⁴C-Diazomethan in der üblichen Weise⁵ lieferte das ¹⁴C-Epikingisid (IX) und dieselbe Reaktion der letzteren mit Diazomethan und ³H₂O ergab das ³H-Kingisid (X). Die Resultate der Applikationsversuche wurden in Tab. 1 dargelegt. Daraus kann man ersehen, dass die beiden Substanzen mit guter Einbaurrate und in beinahe dem-

Tab. 1 Applikationsversuche mit markierten Stoffen an Jasminum- und Olea-Pflanzen

Applizierte Glucoside Menge, spez. Akt. dpm/mMol	Applikations- dauer Tage	Isolierte Glucoside dpm/mMol	Einbaurrate %
(10- ³ H)-Desoxyloganinsäure (IV), 9,67 mg, $1,99 \times 10^{11}$	7	Jasminin (II) $1,35 \times 10^6$	0,01
(10- ³ H)-Loganin (V) 44,1 mg, $1,72 \times 10^7$	4	Jasminin (II) $1,70 \times 10^4$	0,03
(Carbo- ¹⁴ C-methoxy)-secologanin (VI), 22,0 mg, $7,25 \times 10^8$	5	Oleuropein (I) $3,92 \times 10^5$	0,34
(Carbo- ¹⁴ C-methoxy)-8-epikingisid (IX), 25,1 mg, $2,92 \times 10^8$	5	Oleuropein (I) $4,34 \times 10^5$	0,13
(Carbo- ³ H-methoxy)-kingisid (X), 28,3 mg, $1,47 \times 10^8$	5	Oleuropein (I) $2,38 \times 10^5$	0,13
(8- ³ H)-8-Epikingisid (IX) (IX), 21,5 mg, $9,45 \times 10^7$	8	Jasminin (II) $1,86 \times 10^4$	0,02
(8- ³ H)-Kingisid (X) 42,71 mg, $2,08 \times 10^8$	8	Jasminin (II) $7,42 \times 10^4$	0,02

Die Aktivität wurde an den Acetaten der beiden Glucoside (I) und (II) gemessen.



selben Verhältnis wie bei der Applikation in Oleuropein (I) inkorporiert werden

In der oben erwähnten zweierlei Versuchsreihe wurde somit bestätigt, dass alle markierte Substanzen in Oleuropein (I) oder in Jasminin (II) inkorporiert werden. Während Epikingisid (IX) und Kingisid (X) mit einer ziemlich guten Einbaurrate in Oleuropein inkorporiert werden, schliesst das unveränderte Verhältnis von $^{14}\text{C}/^3\text{H}$ in den beiden applizierten Glucosiden IX sowie X und dem isolierten Oleuropein (I) die zweite Route, die lediglich über das Stereoisomere (IX) laufen soll, aus. Die Inkorporation der beiden in Stellung 8 mit ^3H markierten Glucoside (IX) und (X) in Jasminin (II) mit etwa gleicher Einbaurrate spricht auch gegen diesen Weg.

Auf Grund obiger Erwägungen muss man wohl die erste Route richtig nennen. Dabei bleibt noch jedoch die Frage nach dem Mechanismus der Ringaufspaltung des Loganins (V) sowie der Isomerisierung der Δ^8 -Doppelbindung ungeklärt. Diese Frage wird zusammen mit dem Mechanismus des Einbaus von IX und X in I derzeit näher untersucht.

Für die finanzielle Unterstützung sind wir der Takeda Science Foundation zu Dank verpflichtet.

LITERATUR UND ANMERKUNGEN

- 1 L. Panizzi, M. L. Scarpati und G. Oriente, Gazz. Chim. Ital. 90, 1449 (1960).
- 2 T. Kamikawa, K. Inoue, T. Kubota und M. C. Woods, Tetrahedron 26, 4561 (1970).
- 3 Hier wird am C-11 Ester oder freie Säure als Äquivalent angenommen. Auf dem Biogeneseweg von II würde der Cyclopentylester am C-11 aber schon vor der Ringaufspaltung gebildet.
- 4 Vgl., H. Inouye, T. Yoshida, S. Tobita, K. Tanaka und T. Nishioka, Tetrahedron Letters 1970, 2459.
- 5 H. Inouye, S. Ueda und Y. Takeda, die vorige Mitteilung.
- 6 Vorläufige Applikationsversuche mit $10\text{-}^{14}\text{C}$ -Swerosid (III) an der Stelle von Secologanin (VI) an die Jasminum-Pflanze resultierten in negativem Einbau von III. Die Gründe dafür könnte man wohl in der niedrigen Aktivität und der niedrigen Einbaurrate der applizierten Substanz (III) finden.