

ZUR STRUKTUR VON DREI GENUINEN VALTRATHYDRINEN AUS VALERIANA TILIAEFOLIA

J. Holzl, V.M. Charl* und O. Seligmann

Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München

(Received in Germany 12 February 1976; received in UK for publication 1 March 1976)

Die natürlich vorkommenden Ester von hydroxyliertem Dimethylcyclopentanodihydropyran mit Essig- und Isovaleriansäure, generell als Valepotriate^{1,2} (Valeriana, Epoxi, Triester) bezeichnet, sind ein oder das Wirkprinzip von Valeriana³. Die typischen Valepotriate enthalten einen Oxiranring und gehören entweder zum Didrovaltratum- oder Valtratum-Typ². In dieser Mitteilung berichten wir über die Strukturaufklärung von drei neuen, früher dunnschichtchromatographisch nachgewiesenen, Valepotriaten⁴. Diese Verbindungen enthalten anstelle des Oxiranrings eine 1,2-Diol-monoesterstruktur. Auf das mögliche Vorkommen dieses Verbindungstyps wurde hingewiesen^{2,5}; da jedoch diese Substanzen durch Aufspaltung mit Essig- bzw. Isovaleriansäure entstehen können, war das genuine Vorkommen nicht gesichert und eine Artefaktbildung in Erwägung gezogen.

Die Isolierung der hier beschriebenen Verbindungen erfolgte aus Wurzeln und Rhizomen von Valeriana tiliaefolia TROITZKY, die 4 % Gesamtvalepotriate enthalten. Identifiziert wurden in der Gesamtfraktion nach dunnschichtchromatographischer Auftrennung mit der Halazuchrom-Reaktion⁶ Valtratum, Didrovaltratum und IVHD-Valtratum. Daneben waren drei weitere Verbindungen enthalten, die mit B₁, B₂ und B₃ bezeichnet wurden. Diese wurden durch Säulen- und Dunnschichtchromatographie in kristalliner Form isoliert. Alle drei Verbindungen zeigen bei 256 nm ein ausgeprägtes Absorptionsmaximum und außerdem zwei Absorptionsbanden bei 1625 cm⁻¹ und 1600 cm⁻¹ im IR-Spektrum. Diese Daten sind charakteristisch für den Dientyp der Valepotriate.

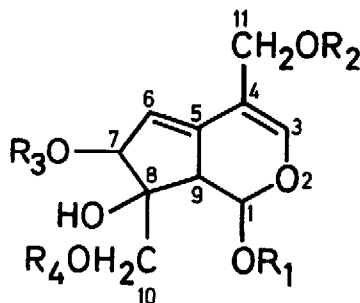
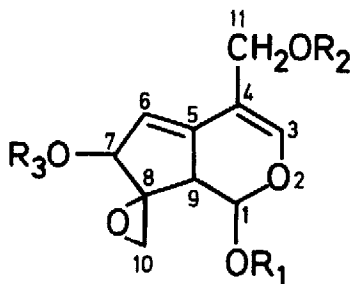
Die Verbindung B₁, Fp. 104-5⁰, C₂₇H₄₀O₁₀, M⁺ = 524, ließ im Massenspektrum Peaks bei m/e 422 und 320 erkennen, die eine stufenweise Abspaltung von zwei Isovaleriansäureresten anzeigten. Nach der Hydroxaminolyse wurden die Hydroxamate der Isovalerian- und Essigsäure nachgewiesen. Das IR-Spektrum zeigte außerdem die Anwesenheit einer OH-Gruppe (3448 cm⁻¹) und dreier Carbonylgruppen (1754 cm⁻¹, 1724 cm⁻¹ und 1688 cm⁻¹). Das NMR-Spektrum von B₁ zeigte u.a. Signale bei 0,85 ppm - 1,1 ppm (18H, 3 gem. Dimethylgruppen), 2,02 ppm (s, 3H, 1 Acetoxygruppe), 2,71 ppm (s, 1H, -OH). Die IR- und NMR-Spektren von B₁ stimmten mit denen der Verbindung, die Thies synthetisch

aus Valtratum herstellte und als Valtratum-isovaleroxyhydrin bezeichnete², überein. Demnach ist B₁ ein 10-Isovaleroxy-Valtrathydrin.

Die Verbindung B₂, C₂₄H₃₄O₁₀, Fp. 99^o, M⁺ = 482, zeigte im Massenspektrum Peaks bei m/e 422 und m/e 321, diese deuten auf einen stufenweisen Abbau von Essigsäure und Isovaleriansäuren vom Molekulation hin. Zwei Carbonylabsorptionen bei 1754 cm⁻¹ und 1700 cm⁻¹ und eine OH-Absorption bei 3472 cm⁻¹ waren im IR-Spektrum zu erkennen. Das NMR-Spektrum von B₂ war mit dem von B₁ im Bereich 2,5 - 7,0 ppm sehr ähnlich. Im NMR-Spektrum von B₁ erschien bei 4,4 ppm ein Singulett, das den Methylenprotonen am C-10 zugeordnet wurde, während bei B₂ diese zwei Protonen als Quartett bei 4,35 ppm (J = 11 Hz) erschienen. Die Integration ergab, daß im B₂ eine weitere Acetylgruppe vorhanden ist, aber dafür eine geminale Dimethylgruppe fehlt. Diese Daten, verbunden mit dem M⁺-Wert von 482 zeigten an, daß bei B₂ eine Acetylgruppe die Isovalerylgruppe von B₁ am C₁₀ ersetzt. Aufgrund dieser Überlegungen ist B₂ ein 10-Acetoxy-Valtrathydrin.

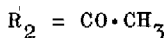
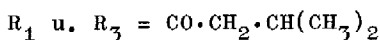
Die Verbindung B₃, Fp. 103-4^o, C₂₇H₄₀O₁₁, M⁺ = 540 hatte einen niedrigeren Rf-Wert als B₁ und B₂ (DC). Dies deutet eventuell auf das Vorhandensein einer weiteren freien OH-Gruppe hin. Diese Vermutung wurde sowohl durch den Unterschied von 16 Masseneinheiten zwischen den M⁺-Werten von B₁ und B₃, als auch durch das Vorhandensein zweier Hydroxylabsorptionen bei 3570 cm⁻¹ und 3450 cm⁻¹ des IR-Spektrums verstärkt. Das Massenspektrum von B₃ zeigte weiterhin Peaks bei m/e 440 und m/e 338, die eine stufenweise Abspaltung von zwei Isovaleriansäureresten anzeigten. Die Hydroxaminolyse von B₃ ergab zusätzlich zu den Hydroxamaten von Essigsäure und Isovaleriansäure noch eine weitere Verbindung mit einem niedrigeren Rf-Wert (DC). Diese Verbindung konnte als das Hydroxamat von 3-Hydroxy-isovaleriansäure nachgewiesen werden. Nach Methanolyse konnte gaschromatographisch der Methylester dieser Säure durch Vergleich mit authentischer Substanz anhand der Retentionszeit identifiziert werden. Das NMR-Spektrum von B₃, das dem von B₁ sehr ähnlich war, zeigte noch ein Singulett für 6 Protonen bei 1,33 ppm. Dieses konnte den Methylprotonen eines 3-Oxyisovaleriansäure-esters zugeordnet werden. Das Singulett bei 2,05 ppm für eine Acetoxygruppe ließ auf eine gleiche Substitution am C-11 wie bei B₁ schließen. B₃ ergab kein Isopropylidenderivat mit Aceton und wasserfreiem CuSO₄, wodurch bestätigt wurde, daß die weitere freie OH-Gruppe nicht am C-10 gebunden ist. Die Frage, ob die zweite OH-Gruppe an dem bicyclischen Monoterpenskelett (d.h. C-1 oder C-7) oder an einem der Isovaleratreste steht, wurde wie folgt geklärt. Der Vergleich der rausch-entkoppelten FT-¹³C NMR-Spektren⁸ von B₂ und B₃ zeigte Übereinstimmung in der Lage der Resonanzsignale von allen 10 C-Atomen des Monoterpengerustes. Die vier Signale bei 46,72 ppm, 69,5 ppm, 28,9 ppm und 29,8 ppm im ¹³C NMR-Spektrum von B₃ konnten den C-Atomen C-2", C-3", C-4" und C-5" des 3-Hydroxy-

isovaleratrestes zugeordnet werden⁹. Es kommt daher dem B₃ die Struktur eines 10-Isovaleroxy-3"-0-desacetyl-Acevaltrathydri-ns zu, wobei die Stellung der Saurereste am C-1 oder C-7 ähnlich wie beim Acevaltrat offen bleibt. Es wird ferner postuliert, daß B₁, B₂ und B₃ die gleiche Stereochemie wie Valtratium besitzen. Dies kann an Hand der schon erwiesenen Umwandlung von Valtratium in B₁² angenommen werden.

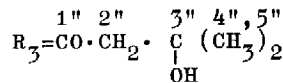
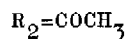
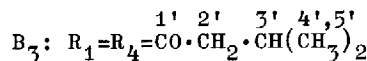
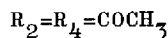
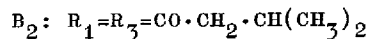
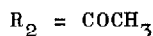
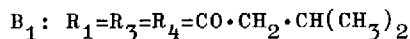
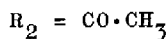
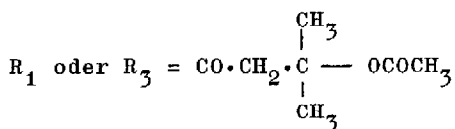
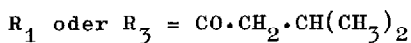


Valtrathydri-ns

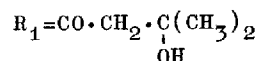
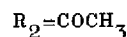
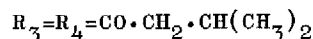
Valtrat



Acevaltrat



oder



Die Valtrathydrine waren nach Gefriertrocknung von frischen Pflanzen dünn-schichtchromatographisch nachweisbar; daher kann ein Artefaktcharakter ausgeschlossen werden. Zur Absicherung des genuinen Vorkommens wurden die spezifischen Aktivitäten nach in vivo Einbau eines markierten Precursors ermittelt und verglichen. Wurde eine Hydrinform während der Aufarbeitung durch Anlagerung einer Saure an Valtratum entstehen, so mußte ihre spezifische Aktivität mit der der Ausgangssubstanz übereinstimmen. Nach einer ^{14}C -Acetatinkorporation¹⁰ waren jedoch die spezifischen Aktivitäten untereinander verschieden und zeigten keine Übereinstimmung mit der von Valtratum. Eine vorläufige Testung¹¹ von Mäusen im Lichtschrankenkafig gab den Hinweis, daß B_2 eine sedative Wirkung hat, demnach wäre für die sedative Wirkung der Valepotriate die Oxirangruppe nicht essentiell.

Folgenden Personen sind wir zu besonderem Dank verpflichtet:

Herrn Prof. Dr. H. Wagner für Unterstützung und Förderung der Arbeit,

Herrn Dr. P. W. Thies, Hannover, für Testsubstanzen,

Herrn Dr. G. Lukacs, Gif-sur-Yvette, France, für die Aufnahme der FT- ^{13}C -NMR-Spektren,

Herrn K. Engel, Gießen, für das Pflanzenmaterial.

Die NMR-Spektren wurden in CDCl_3 mit TMS als innerem Standard gemessen. Die ^1H -NMR-Spektren (60 MHz) wurden mit einem Varian A 60A Gerat und die FT- ^{13}C -NMR-Spektren (26.3 MHz) mit einem Bruker HX 90 F.T. Gerat aufgenommen.

1. P. W. Thies, Tetrahedron Letters, 11, 1163 (1966).
2. P. W. Thies, Tetrahedron, 24, 313 (1968).
3. K. W. v. Fickstedt und S. Rahman, Arzneimittelf. 19, 316 (1969).
4. J. Holzl, 23. Vortragstagung der Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung, Groningen, Niederlande 1975, Planta med. 28, 301 (1975).
5. W. Schild und W. Seitz, Ber. dt. bot. Ges. 84, 225 (1971).
6. E. Marnettstatter, H. Gerlach und W. Poethke, Pharm. Zhalle, 106, 797 (1967); ibid 107, 105 (1968), ibid 107, 261 (1968); P. W. Thies, Arzneimittelf. 19, 319 (1969).
7. H. Wagner, L. Horhammer, J. Holzl und R. Schaette, Arzneimittelf. 20, 1149 (1970).
8. Diskussion und Einzelheiten dieses ^{13}C -NMR-Spektrums und denen von anderen Valepotriaten werden demnächst veröffentlicht.
9. J. B. Stothers, Carbon - 13 NMR Spectroscopy, Academic Press, New York, 1972, G. C. Levy und G. Nelson, Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemists, Wiley-Interscience 1972.
10. J. Holzl, Planta med. 24, 66 (1973).
11. J. Holzl, unveröffentlichte Beobachtung.