

ZUM MECHANISMUS DER METHYLCYCLOPENTAN-GERÜSTBILDUNG BEI DER BIOSYNTHESE EINIGER IRIDOIDGLUCOSIDE

Hiroyuki Inouye*, Shinichi Ueda und Shinichi Uesato

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

(Received in Germany 12 November 1976; received in UK for publication 24 January 1977)

Der Mevalonsäure-Ursprung der Iridoid- und Secoiridoidglucoside ist schon seit den sechziger Jahren bekannt. 1970 berichteten die Forschungsgruppen um Arigoni¹⁾ und Battersby²⁾, dass Loganin (1) und die damit eng verwandten Indolalkaloide über 10-Hydroxynerol (2) bzw. 10-Hydroxygeraniol (3), dagegen nicht über Citronellol, 10-Hydroxycitronellol usw. gebildet werden. Dabei wurde auch gezeigt, dass das radioaktive C-Atom 9 von (2) bzw. (3)¹⁾ genauso wie das C-Atom 2 der Mevalonsäure (MVS)³⁾ in die Positionen 3 und 11 von (1) sowie die entsprechenden Positionen der Indolalkaloide etwa gleichmässig eingebaut wird. Diese Randomisierung der Aktivität, die auch bei Secoiridoidglucosiden bei der Inkorporation von MVS-2-¹⁴C beobachtet wurde⁴⁾, deutet darauf hin, dass die beiden endständigen C-Atome von (2) bzw. (3) im Laufe der Cyclisierung vorübergehend äquivalent werden. Unter den übrigen Iridoidglucosiden wurde diese Erscheinung auch bei Plumierid (4)⁵⁾ und Verbenalin (5)⁶⁾ beobachtet. Hinsichtlich des letztgenannten Glucosids (5) wurde weiterhin berichtet, dass das Randomisierungsvermögen vom Alter der Pflanze, die (5) enthält, abhängig sei.

Zu den Iridoidglucosiden gehören ausser den Stoffen mit der COOCH₃-Gruppe am C-4, wie die oben genannten, auch die Glucoside, die eine CH₃-, CH₂OH- und CHO-Gruppe an demselben C-Atom besitzen. Die Kenntnis der Verteilung der Aktivität aus der MVS-2-¹⁴C zwischen den C-Atomen 3 und 11 dieser Glucoside, vor allem derjenigen mit der CH₃-Gruppe, dürfte wohl einen wichtigen Hinweis für die Aufklärung des Cyclisierungsmechanismus beibringen. Wir haben daher radioaktive MVS an *Lamium amplexicaule* L.⁷⁾ und *Deutzia crenata* Sieb. et Zucc.⁸⁾ appliziert. Beide Pflanzen enthalten Glucoside mit der in Position 11 befindlichen CH₃-Gruppe.

Die erste Pflanze stellt ein besonders interessantes Material für biosynthetische Untersuchungen dar, da sie gleichzeitig Lamiosid (6) mit der CH₃-Gruppe sowie Ipolamiid (7) und Lamiid (8) mit der COOCH₃-Gruppe in Position 11 enthält. Nach der Applikation der MVS-2-¹⁴C an die

Pflanze wurden die Glucoside (6), (7) und (8) isoliert und jeweils als Acetat gereinigt. Die Acetate von (6) und (8) lieferten bei Deacetylierung und nachfolgender Kuhn-Roth-Oxydation Essigsäure, die jeweils von den C-Atomen 4 und 11 bzw. 8 und 10 des ersten Glucosides (6) bzw. von den C-Atomen 8 und 10 des letzten Stoffes (8) her stammt. Das Acetat von (6) ergab andererseits nach Deacetylierung und darauffolgendem Ozonabbau Ameisensäure, die von der Position 3 herrührt. Die Acetate von (7) und (8) ergaben weiter bei Hydrolyse mit Alkali und anschließender Pyrolyse das von der Carboxylgruppe her stammende CO_2 . Wie man aus Tab. 1 ersehen kann, konnte man dabei aber in Essigsäure und CO_2 kaum Aktivität nachweisen. Dagegen fand man in der Ameisensäure 40,3 % der Gesamtaktivität von (6). Diese Befunde sprechen dafür, dass die Aktivität aus der 2-Position der MVS nur in den C-Atomen 3 und 7 lokalisiert ist und dass die Positionen 11 und 10 frei von Radioaktivität sind. Daraufhin haben wir Applikationsversuche mit der $(10\text{-}^3\text{H})\text{-7-Desoxyloganinsäure}$ (9)⁹⁾ und dem entsprechenden $(10\text{-}^3\text{H})\text{-11-Alkoholkörper}$ (10) in zwei Versuchen an der gleichen Pflanze durchgeführt. Die letzte Substanz wurde aus dem Acetat von $(10\text{-}^3\text{H})\text{-7-Desoxyloganin}$ (11) durch LiAlH_4 -Reduktion bei -15° bis 0° C bereitet. Die Experimente (im Juni durchgeführt) ergaben, dass die applizierten Stoffe mit einer Einbaurrate von 0,025 (9) bzw. 0,0037 % (10) in (8), aber keineswegs in (6) eingebaut wurden. Diese Befunde deuten darauf hin, dass im Laufe der Bildung dieser Glucoside ein oxydierender Prozess, $\text{CH}_3 \rightarrow \text{CH}_2\text{OH} \rightarrow \text{COOR}$ an der Position 11, aber kein umgekehrter, reduzierender Vorgang stattfindet.

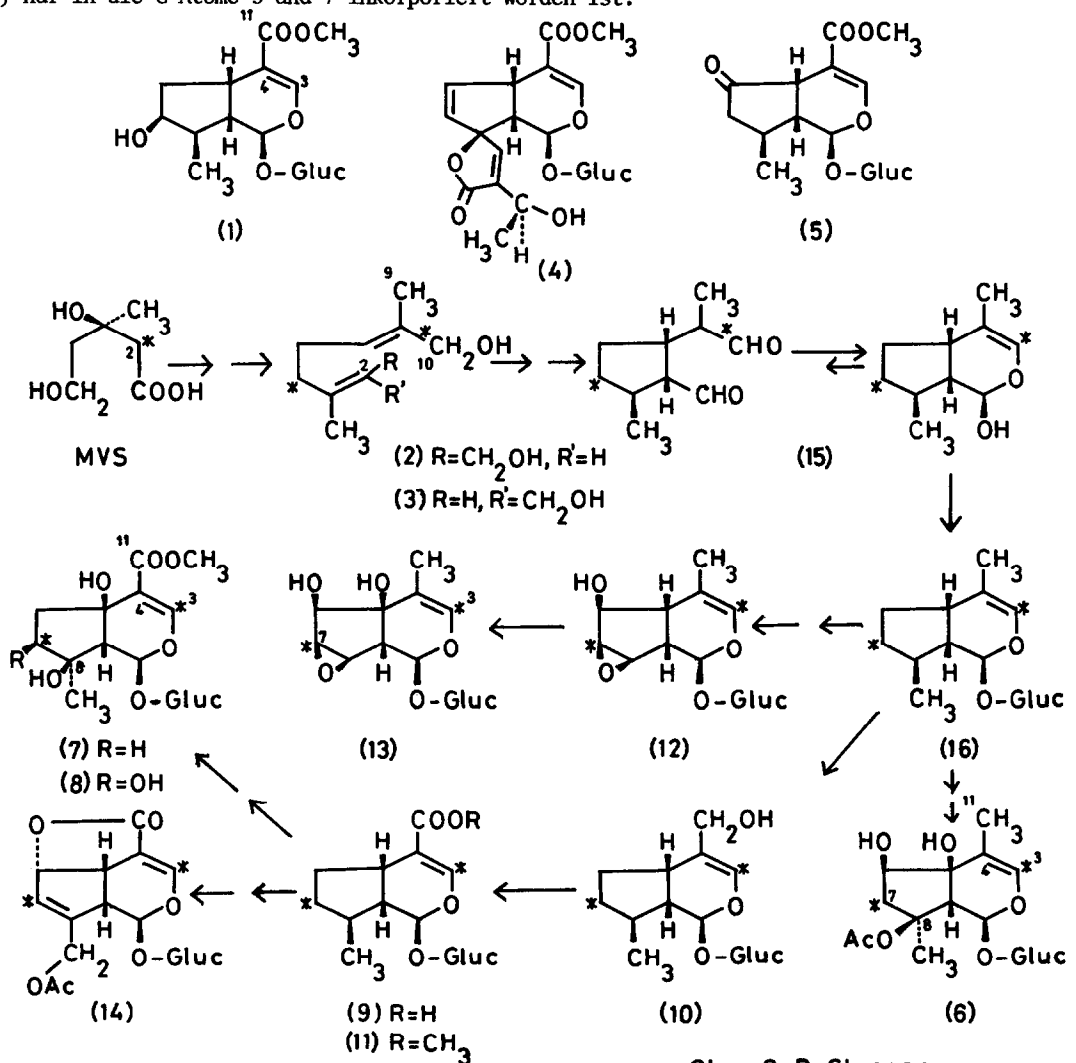
Tab. 1 Applikationsversuche mit der Mevalonsäure-2-¹⁴C an *Lamium amplexicaule**

	Menge und spez. Akt. (mg)	spez. Akt. (dpm/mMol)	Einbaurrate (%)	Prozentuale Verteilung der Aktivität in den Abbauprodukten** (100 % = Aktivität des Glucosids)		
				CH_3COOH	CO_2	HCOOH
Lamiosid(6)-pentaacetat	42,43	$3,20 \times 10^5$	0,004	3,1	---	40,3
Ipolamiid(7)-tetraacetat	8,05	$7,72 \times 10^7$	0,024	---	0,01	---
Lamiid(8)-pentaacetat	44,18	$4,80 \times 10^5$	0,006	2,4	0,3	---

* Die wässrige Lösung von Mevalonat (Akt.: 0,5 mCi, spez. Akt.: 5,85 mCi/mMol) wurde im April 7 Tage lang an die oberirdischen Teile von 36 Kräutern appliziert.

** Die durch Abbau der Glucoside isolierten Substanzen, Essigsäure und Ameisensäure, wurden je als α -Naphthylamid gereinigt; das CO_2 wurde als Ba-Salz erfasst.

Daraufhin haben wir Applikationsversuche mit MVS-2-¹⁴C an *D. crenata* durchgeführt. Nach Applikation der Isotope an 9 Zweige (je etwa 70 cm lang, mit mehreren Blättern) im September wurden Deutziosid (12) und Scabrosid (13) isoliert; das erste wurde als Acetat, das letzte dagegen als solches gereinigt. Die Einbaurrate in (12) betrug 0,026 % und die in (13) 0,017 %. Das Acetat von (12) wurde nach der Zemplén'schen Reaktion einerseits der Kuhn-Roth-Oxydation und andererseits dem Ozonabbau unterworfen. Die dabei erhaltene Essigsäure (aus C-4 und 11) zeigte fast keine Aktivität, die Ameisensäure (aus C-3) besass aber 41,4 % der Gesamtaktivität von (12). Aus diesen Tatsachen geht weiter hervor, dass die Aktivität der MVS-2-¹⁴C auch bei (12) nur in die C-Atome 3 und 7 inkorporiert worden ist.



Schema 1

Die oben erwähnte Beschränkung der Aktivität auf das C-Atom 3 des Ipolamiids (7) und des Lamiids (8) veranlasste uns weiter zur Applikation von MVS an *Galium spurium* var. *echinospermon* (Wallr.) Hayek. Die Pflanze enthält das Asperulosid (14) mit der COOR-Gruppe an der 4-Position. Die Applikation der MVS-2-¹⁴C wurde in der gleichen Weise wie oben angegeben im April an den oberirdischen Teilen von 30 Kräutern vorgenommen, und das isolierte Glucosid als Tetraacetat gereinigt. Die Einbaurate betrug 0,029 %. Das Tetraacetat wurde weiter durch katalytische Hydrierung über Pd-C und nachfolgende Deacetylierung in 7-Desoxyloganinsäure (9) übergeführt, die ihrerseits mit CH₂N₂ zu 7-Desoxyloganin (11) methyliert wurde. Das durch Pyrolyse von (9) erfasste CO₂ zeigte nur 0,9 % der Gesamtaktivität; die durch Ozonabbau von (11) erhaltene Ameisensäure wies dagegen 47,7 % der Gesamtaktivität des Glucosids auf.

Auf Grund der obigen Resultate sind wir zu dem Schluss gekommen, dass die Cyclisierung zum Methylcyclopentan-Gerüst in den obigen Pflanzen auf einer Zwischenstufe, in der die beiden C-Atome nicht äquivalent sind, erfolgt. Daher liegt die Vermutung nahe, dass diese Glucoside sehr wahrscheinlich über Iridodial (15) und ferner das ihm entsprechende Glucosid (16) etwa auf dem im Schema 1 dargelegten Weg gebildet werden.

REFERENZEN

- 1) S. Escher, O. Loew und D. Arigoni, *Chem. Comm.* 1970, 823.
- 2) A. R. Battersby, S. H. Brown und T. G. Payne, *Ibid.* 1970, 827.
- 3) G. A. Cordell, *Lloydia* 37, 219 (1974) und die darin zitierten Referenzen.
- 4) H. Inouye, S. Ueda und Y. Takeda, *Heterocycles* 4, 527 (1976) und die darin zitierten Referenzen.
- 5) D. A. Yeowell und H. Schmid, *Experientia* 20, 250 (1964).
- 6) A. G. Horodysky, G. R. Waller und E. J. Eisenbraun, *J. Biol. Chem.* 244, 3110 (1969).
- 7) M. L. Scarpati und M. Guiso, *Tetrahedron* 23, 4709 (1967); *Gazz. Chim. Ital.* 99, 1150 (1969).
- 8) F. Bodanies, P. Esposito und M. Guiso, *Ibid.* 104, 17 (1974); P. Esposito und M. Guiso, *Ibid.* 103, 517 (1973).
- 9) H. Inouye, S. Ueda, Y. Aoki und Y. Takeda, *Chem. & Pharm. Bull.* (Tokyo) 20, 1287 (1972).