

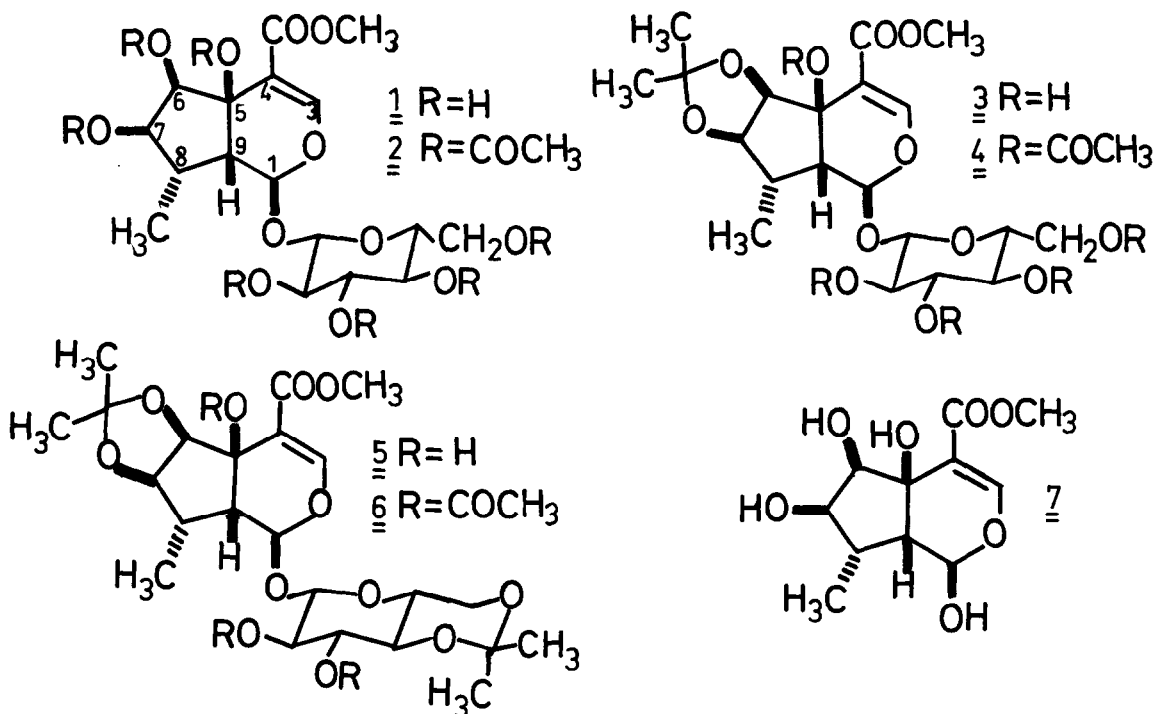
PULCHELLOSID I, EIN NEUES IRIDOID AUS VERBENA PULCHELLA SWEET¹

Sabine Milz und Horst Rimpler ⁺

Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Freiburg

(Received in Germany 22 December 1977; received in UK for publication 19 January 1978)

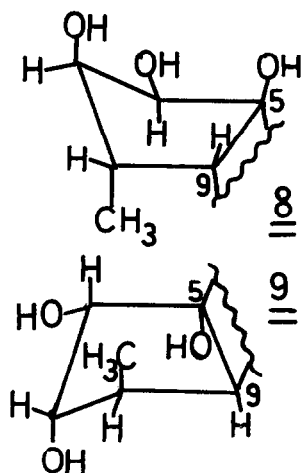
Im Rahmen chemotaxonomischer Untersuchungen haben wir durch chromatographische Anreicherung an Aluminiumoxid- und Kieselgelsäulen²⁾ und anschließende HPLC⁹⁾ [Partisil 10 ODS, MeOH/H₂O (25:75)] aus den blühenden oberirdischen Teilen von *Verbena pulchella* ein neues Iridoid (1) isoliert, für das wir den Namen Pulchellosid I vorschlagen. 1, eine farblose amorphe Substanz mit $[\alpha]_D^{21} = -148^{\circ}$ (c = 0,97, EtOH) gibt wie die meisten Iridoide beim Erhitzen mit wäßrigen Säuren³⁾ eine gefärbte Lösung, aus der sich ein dunkler Niederschlag abscheidet. Auch die folgenden spektroskopischen Daten sprechen für eine Iridoidstruktur mit der Gruppierung -O-CH=CR-COOCH₃: UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} = 233 \text{ nm}$; IR:(KBr) $\nu = 1687, 1625 \text{ cm}^{-1}$; NMR (D₂O, $\delta_{\text{DSS}} = 0$) : 3,76 (3H, s, COOCH₃); 5,78 (1H, s, C(1)-H); 7,63 (1H, s, C(3)-H) ppm. Bei der Acetylierung von 1 entsteht ein Hexaacetat (2, Fp=166°—169°), das nach dem IR-Spektrum (3440 cm⁻¹) und dem NMR-Spektrum (3,34 ppm, 1H, s) noch eine freie tertiäre Hydroxygruppe enthält. Diese sollte am C-5 stehen, weil sie mit Acetanhydrid/Pyridin bei Raumtemperatur praktisch nicht acetyliert wird⁴⁾ und weil das C(5)-H-Signal in 1 und 2 ein scharfes Singulett ist. Auch die übrigen NMR-Daten von 1, 2, 3 und 6 sind mit dieser Stellung im Einklang. Von den 6 acetylierbaren Hydroxygruppen in 1 entfallen 4 auf den Zuckeranteil, der nach Hydrolyse mit β -Glucosidase dc als Glucose identifiziert wurde. Die verbleibenden 2 Hydroxygruppen stehen an C-6 und C-7; denn aus dem NMR-Spektrum von 1 geht hervor, daß das C-8 ein H-Atom und eine Methylgruppe trägt [1,00 ppm, 3H, d ($J_{7,8} = 7,5 \text{ Hz}$)] und daß das C-9 ebenfalls ein H-Atom trägt [2,86 ppm, 1H, d (br, $J_{8,9} = 11 \text{ Hz}$)]. Setzt man 1 mit Aceton / Molybdatophosphorsäure⁵⁾ um, so entstehen als Hauptprodukte das Monoacetonid 3



und das Diacetonid 5, die durch HPLC [Partisil 10 ODS; MeOH/H₂O (1:1)] getrennt wurden. Anschließende Acetylierung ergab die Acetate 4 bzw. 6, die beide noch eine freie Hydroxygruppe am C-5 enthalten (IR, NMR). Das NMR-Spektrum von 4 (CDCl₃, $\delta_{\text{TMS}} = 0$; 60 MHz, Doppelresonanz) läßt sich folgendermaßen interpretieren: C(1)-H: 5,5 ppm, d, $J_{1,9} = 1,5$ Hz; C(9)-H: 2,28 ppm, dd, $J_{1,9} = 1,5$ Hz, $J_{8,9} = 7,5$ Hz; C(8)-H: 2,63 ppm, m; C(7)-H: 4,32 ppm, d(br), $J_{7,8} < 1$ Hz; $J_{6,7} = 5$ Hz; C(6)-H: 4,53 ppm, d, $J_{6,7} = 5$ Hz; C(10)-H₃: 0,88 ppm, d, $J_{8,10} = 7,5$ Hz; C(3)-H: 7,42 ppm, s. Die Bildung der Acetonide spricht für die cis-Anordnung der OH-Gruppen an C-6 und C-7. Die Konformation des Cyclopentanringes und die relative Konfiguration der Substituenten am C-6, C-7, C-8 und C-9 können über die Kopplungskonstanten $J_{6,7}$, $J_{7,8}$ und $J_{8,9}$ ermittelt werden^(6,7). Vergleicht man die aus den NMR-Spektren von 4 und 6 entnommenen Werte mit den nach Steyn und Sable⁽⁸⁾ für alle envelope(V)- und twist(T)-Konformationen des Cyclopentanringes berechneten Kopplungskonstanten, so ergibt sich nur für zwei Fälle eine Übereinstimmung zwischen allen drei Wertpaaren; für die ⁷V-Konformation, wenn die OH-Gruppen an C-6 und C-7 und die H-Atome an C-8 und C-9 oberhalb der Ringebene (β) steh-

hen (8), und für die V_7 -Konformation, wenn die gleichen Substituenten unterhalb der Ringebene (α) stehen. (9; s. Tabelle 1).

Beide Konformationen sind, wie Dreidring-Modelle zeigen, nur mit einer cis-



Verknüpfung der Ringe vereinbar. Damit ist die re-

lative Konfiguration des Cyclopentanringes in 1

bewiesen. Die relative Konfiguration am C-1 läßt

sich aus der Kopplungskonstanten $J_{1,9} = 1,5$ Hz ab-

leiten. Dieser Wert spricht für eine trans-Anord-

nung der Protonen an C-1 und C-9, wobei das C(1)-H

äquatorial angeordnet ist. Vergleicht man die ge-

messenen Kopplungskonstanten mit den für die V_7 -

Konformation des Cyclopentanringes und eine HC^1_9 -

ähnliche Konformation des Dihydropyranringes berech-

neten Werten, so findet man gute Übereinstimmung

(s. Tabelle 2).

Tabelle 2: Vergleich der für die V_7 -Konformation berechneten Kopplungskon-

stanten mit den für 4 gefundenen Werten:

Kopplungskonstante	berechnet (Hz)	gemessen (Hz)
$J_{6,7}$	5,43	5,0
$J_{7,8}$	0,65	<1,0
$J_{8,9}$	7,75	7,5
$J_{1,9}$	1,34	1,5

Die absolute Konfiguration wurde für das C-1 nach den Regeln der Isorotation bestimmt: Enzymatische Hydrolyse von 1 mit β -Glucosidase und HPLC-Reinigung des Reaktionsproduktes liefert das Aglykon 7. Vergleicht man die Molrotation von 1 ($M_D = -628^0$) und 7 ($M_D = +181^0$), so ergibt sich ein negativer Drehungsbeitrag für das C-1. Es sollte daher die gleiche Konfiguration wie das C-1 der β -D-Glucose besitzen; demnach ist das H am C-1 α -ständig. Daraus ergibt sich die angegebene absolute Konfiguration für Pulchellosid I (1).

Tabelle 1: Vergleich der für twist- und envelope-Konformationen des Cyclopentanringes berechneten Kopplungskonstanten mit den für $\frac{1}{4}$ gemessenen Werten. Konformationen, für die alle beobachteten Kopplungskonstanten mit den berechneten Werten übereinstimmen, sind unterstrichen ().

+ : Berücksichtigtes Intervall bei den berechneten Werten.

<u>Koppl.konst. [Hz]</u>			<u>Mögliche Konformationen</u>			
J	gem.	ber. +				
J _{6,7}	5,0	4,0 bis 6,0	<u>6α/7α</u> V ₆ , <u>7</u> T ₆ , <u>7</u> V, ⁶ V, 6T ₇ , V ₇ .	<u>6β/7β</u> V ₆ , <u>7</u> T ₆ , <u>7</u> V, ⁶ V, 6T ₇ , <u>V</u> ₇ .	<u>6β/7α</u> 8T ₉ , ⁹ T ₅ .	<u>6α/7β</u> 9T ₈ , ⁵ T ₉ .
J _{7,8}	<1	0 bis 1,3	<u>7α/8β</u> V ₆ , <u>7</u> T ₆ , <u>7</u> V, ⁷ T ₈ , V ₈ , ⁹ T ₈ , ⁹ V.	<u>7β/8α</u> 6V, ⁶ T ₇ , <u>V</u> ₇ , ⁸ T ₇ , 8V, ⁸ T ₉ , V ₉ .	<u>7α/8α</u> keine Übereinstimmung	<u>7β/8β</u> keine Übereinstimmung
J _{8,9}	7,5	6,0 bis 9,0	<u>8β/9β</u> ⁹ T ₅ , V ₅ , ⁶ T ₅ , V ₇ , 6T ₇ , ⁸ T ₇ , ⁵ T ₉ , ⁵ V, ⁵ T ₆ , <u>7</u> T ₆ , <u>7</u> V, ⁷ T ₈ .	<u>8α/9α</u> ⁹ T ₅ , <u>V</u> ₅ , ⁶ T ₅ , <u>V</u> ₇ , 6T ₇ , ⁸ T ₇ , ⁵ T ₉ , ⁵ V, ⁵ T ₆ , <u>7</u> T ₆ , <u>7</u> V, ⁷ T ₈ .	<u>8α/9β</u> ⁹ T ₈ , ⁹ V, ⁹ T ₅ , V ₅ , ⁷ V, ⁷ T ₈ , V ₈ .	<u>8β/9α</u> ⁸ T ₉ , V ₉ , ⁵ T ₉ , ⁵ V, V ₇ , ⁸ T ₇ , 8V.

Danksagung: Für die Aufnahme der NMR-Spektren danken wir Herrn V. Brecht, Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Freiburg.

- 1) Teil der Dissertation: S. Milz, Universität Freiburg, in Vorbereitung.
- 2) H. Rimpler und H. Pistor: Z. Naturforsch. 29c, 368 (1974)
- 3) A.R. Trimm, R. Hill: Biochem. J. 50, 310 (1952)
- 4) M.L. Scarpati, M. Guiso: Gazz. Chim. Ital.: 99, 1150 (1969)
- 5) H. Mori, K. Shibata, K. Tsuneda, M. Sawai: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 15, 460&466 (1967)
- 6) H. Rimpler: Planta med. (im Druck).
- 7) P. Eigtved, S.R. Jensen, B.J. Nielsen: Acta Chem. Scand. B 28, 85-91 (1974)
- 8) R. Steyn, H.Z. Sable: Tetrahedron, 27, 4429-4446 (1971)
- 9) B. Meier, O. Sticher: J. Chromatogr., 138, 453-457 (1977)