

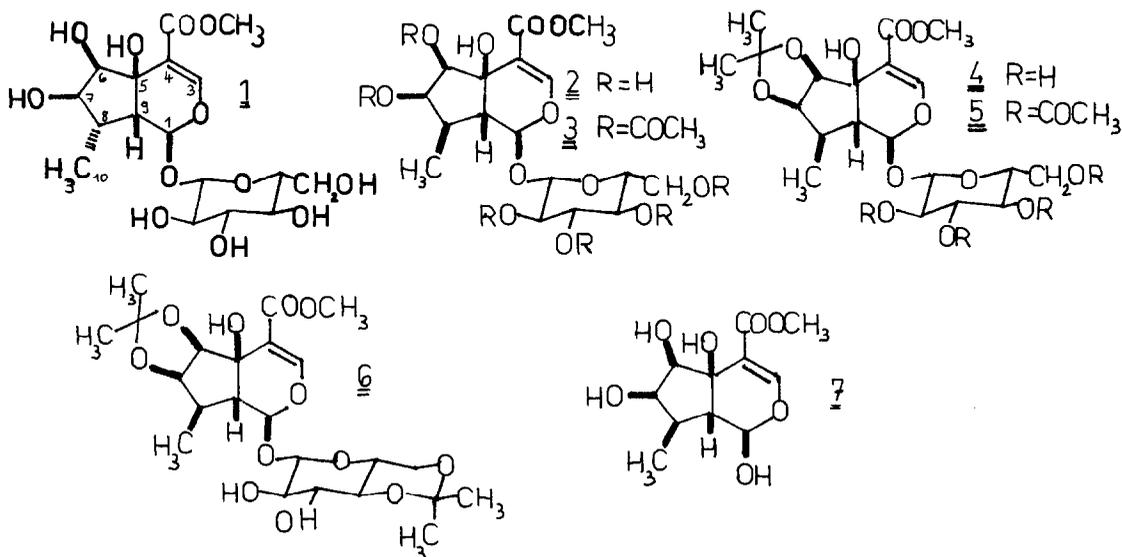
PULCHELLOSID II, EIN NEUES IRIDOID AUS VERBENA PULCHELLA SWEET¹⁾

Sabine Milz und Horst Rimpler*

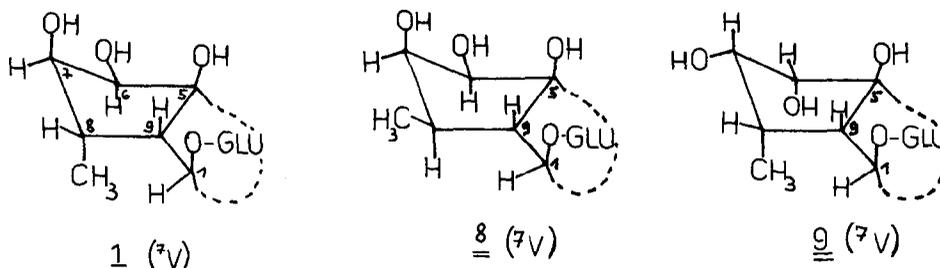
Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Freiburg

Im Rahmen chemotaxonomischer Untersuchungen isolierten wir durch Anreicherung an Kieselgel und Adsorberharzsäulen und anschließende HPLC^{2,3)} aus den blühenden oberirdischen Teilen von *Verbena pulchella* neben dem kürzlich von uns beschriebenen Pulchellosid I³⁾ (1) ein zweites neues Iridoidglykosid (2), für das wir den Namen Pulchellosid II vorschlagen. 2 [farblose Kristalle mit Smp. 150-153⁰; $[\alpha]_D^{21} = -95^{\circ}$ (c = 1,01, EtOH)] gibt wie die meisten Iridoide beim Erhitzen mit wäßrigen Säuren⁴⁾ eine gefärbte Lösung, aus der sich ein dunkler Niederschlag abscheidet. Die Molekülmasse von 1 und 2 ist gleich (422), sie wurde durch GC/MS⁵⁾ eines Gemisches der silylierten Verbindungen (OV-17-Kapillarsäule (25m) TMSi-S-Universalreagenz (Serva) zur Silylierung) ermittelt. Auch andere spektroskopische Daten (UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} = 233\text{nm}$; IR(KBr): $\nu = 1687, 1625\text{cm}^{-1}$; NMR;) lassen darauf schließen, daß 2 ein Isomeres von 1 ist. Als Zuckeranteil wurde nach enzymatischer Hydrolyse Glukose dc nachgewiesen. Wie 1 wird auch 2 durch Acetylierung bei Raumtemperatur in ein Hexaacetat (3, Smp. 132⁰), bei der Umsetzung mit Molybdätophosphorsäure und Aceton⁶⁾ in ein Monoacetonid (4) und ein Diacetonid (6) überführt, was für die cis-Stellung der OH-Gruppen an C-6 und C-7 spricht. Acetylierung von 4 ergibt das Tetraacetat (5, Smp. 110-112⁰). Alle Derivate enthalten noch eine freie tertiäre OH-Gruppe am C-5 (NMR, IR). Das NMR-Spektrum von 5 läßt sich folgendermaßen interpretieren: (CDCl₃, $\delta_{\text{TMS}} = 0$; Spinentkopplung) C(1)-H: 5,48ppm, d, $J_{1,9} = 1,4$ Hz; C(9)-H: 2,28ppm, d, $J_{1,9} = 1,4$ Hz, $J_{8,9} = 12,6$ Hz; C(8)-H: 1,57ppm, m; C(7)-H: 4,36ppm, dd, $J_{6,7} = 5,4$ Hz; C(6)-H: 4,54ppm, d, $J_{6,7} = 5,4$ Hz; C(10)-H₂: 1,1ppm, d, $J_{8,10} = 6,4$ Hz; C(3)-H: 7,39ppm, s; -OC(11)-H₃: 3,75ppm, s. Vergleicht man die NMR-Spektren von Pulchellosid I und II und von ihren Deriva-

ten miteinander, so haben alle Signale jeweils die gleiche Multiziplität, sie unterscheiden sich aber z.T. in ihren Kopplungskonstanten (besonders bei $J_{7,8}$, $J_{8,9}$) und in ihrer chemischen Verschiebung (besonders bei C(8)-H, C(9)-H, C(10)-H₃). 2 sollte daher kein Strukturisomeres sondern ein Stereoisomeres von 1 sein. Die absolute Konfiguration am C-1 wurde nach Regeln der Isorotation⁷⁾ bestimmt: Enzymatische Hydrolyse von 2 mit β -Glukosidase liefert das Aglykon(7). Vergleicht man die Molrotation von 2 ($M_D = -401^\circ$) mit der von 7 ($M_D = +67^\circ$), so ergibt sich ein negativer Drehungsbeitrag für das C-1. Es sollte daher die gleiche Konfiguration (α -ständiges H) besitzen wie das C-1 von Pulchellosid I. Aus der Kopplungskonstanten $J_{1,9} = 1,4$ Hz läßt sich dann die Konfiguration am C-9 ableiten. Dieser Wert spricht für eine trans-Anordnung der Protonen an C-1 und C-9 bei äquatorialer Anordnung des C(1)-H und einer HC₉¹- ähnlichen Konformation des Dihydropyranringes. Das H am C-9 sollte daher oberhalb der Ringebene stehen. Die Konfiguration der Substituenten an C-6, C-7 und C-8 und die Konformation des Cyclopentanringes können über die Kopplungskonstanten $J_{6,7}$, $J_{7,8}$, $J_{8,9}$ ⁸⁾ und NOE-Experimente^{11,12)} bestimmt werden. Vergleicht man die aus dem NMR-Spektrum von 2 entnommenen Werte mit den nach STEYN und SABLE⁹⁾ für alle envelope-(V) und twist-(T) Konformationen des Cyclopentanringes berechneten Kopplungskonstanten^{3,8)}, so ergibt sich für 3 Fälle Übereinstimmung zwischen allen 3 Wertepaaren: Einer dieser Konfigurationsvorschläge entspricht der Struktur des



Pulchellosid I und kommt daher nicht in Frage. Es verbleiben noch zwei mit den NMR-Daten vereinbare Konfigurationen, zwischen denen aufgrund der Kopplungskonstanten nicht entschieden werden kann: 1.) die CH_3 -Gruppe am C-8 und die OH-Gruppen an C-6 und C-7 stehen oberhalb der Ringebene. (8; 7V , 7T_8 , V_8). 2.) die gleichen Substituenten stehen unterhalb der Ringebene (9; 6T_7 , 7V , V_7 , 7T_6).



Welches der Stereoisomeren (8 oder 9) vorliegt, konnte über die NMR-Spektren (90 MHz, CDCl_3) der Monoacetonidacetate von 1 und 2 durch NOE-Experimente ("gated" entkoppelt, Differenzspektren ^{11,12}) nachgewiesen werden. Strahlt man beim Signal der C(10)- H_3 -Gruppe ein, erhöht sich bei Pulchellosid I (1) die Intensität der Signale für das C(1)-H, C(7)-H, C(8)-H, etwas weniger für das C(6)-H; daraus folgt, daß diese Protonen räumlich benachbart zur CH_3 -Gruppe stehen. Die Intensität des Signals für das C(9)-H wird nicht erhöht. Diese Ergebnisse stimmen sehr gut mit der von uns beschriebenen Struktur des Pulchellosid I überein (s. Abb.). Am Dreiding-Modell kann man für die 7V -Konformation folgende Abstände bestimmen: $\text{CH}_3 \rightarrow \text{C}(1)\text{-H}$: 1,8 Å; $\text{CH}_3 \rightarrow \text{C}(9)\text{-H}$: 3,7 Å; $\text{CH}_3 \rightarrow \text{C}(8)\text{-H}$: 2,1 Å; $\text{CH}_3 \rightarrow \text{C}(7)$: 2,1 Å; $\text{CH}_3 \rightarrow \text{C}(6)\text{-H}$: 2,6 Å. Bei Pulchellosid II wurde beim Einstrahlen der Frequenz der C(10)- H_3 -Gruppe das C(9)-H-Signal verstärkt, was nur bei einer cis-Stellung zur CH_3 -Gruppe möglich ist. Das Signal für das C(1)-H wird etwas weniger intensiviert, die Signale für die Protonen an C-6 und C-7 werden nicht beeinflusst. Diese Ergebnisse sind nur mit der Struktur 8 vereinbar. (Abstände: $\text{CH}_3 \rightarrow \text{C}(9)\text{-H}$: 2,1 Å; $\text{CH}_3 \rightarrow \text{C}(1)\text{-H}$: 2,4 Å; $\text{CH}_3 \rightarrow \text{C}(7)\text{-H}$: 2,8 Å; $\text{CH}_3 \rightarrow \text{C}(6)\text{-H}$: 4,8 Å). Der Cyclopentanring sollte bevorzugt in der 7V , 7T_8 , V_8 -Konformation vorliegen (s. Tab. 1). Diese Konformationen sind, wie Dreiding-Modelle zeigen, nur mit einer cis-Verknüpfung der Ringe vereinbar. Daraus ergibt sich die angegebene

absolute Konfiguration für das Pulchellosid II.

Tab. 1: Vergleich der für die 7V , 7T_8 , $8V$ berechneten Kopplungskonstanten mit den für $\underline{2}$ gefundenen Werten.

Kopplungskonstante				
J	gemessen	berechnet für 7V	7T_8	V_8 (in Hz)
$J_{1,9}$	1,4	0,4	1,3	1,9
$J_{6,7}$	5,4	5,4	6,5	7,7
$J_{7,8}$	5,4	5,4 10)	5,1 10)	5,4 10)
$J_{8,9}$	12,6	7,2	8,5	9,4

Danksagung: Für die Aufnahme der 60-MHz-NMR-Spektren danken wir Herrn Brecht, Inst.f.Pharmazie der Universität Freiburg. Für die Durchführung der NOE-Experimente danken wir Herrn Hasenhindl, Herrn Dr. Gronski und Herrn Dr. Regel vom Inst.f.Makromolekulare Chemie der Universität Freiburg. Für die GC-MS-Aufnahmen danken wir Herrn Prof.Dr.E.Sprecher und Herrn Prof.Dr.H.Glasl, Inst.f.Pharmazeutische Biologie der Universität Hamburg.

- 1) Teil der Dissertation : S. Milz, Universität Freiburg, in Vorbereitung
- 2) B.Meier u.O.Sticher : J. Chromatogr. 138, 453 (1977)
- 3) S.Milz u. H.Rimpler : Tetrahedron Lett. 10, 895 (1978)
- 4) A.R.Trimm, R. Hill : Biochem. J. 50, 310 (1952)
- 5) H. Inouye, K.Uobe, M.Hirai: J. Chromatogr. 118, 201 (1976)
- 6) H. Mori et al.: Chem. Pharm. Bull (Tokyo) 15, 460, 466 (1967)
- 7) E.L. Eliel : Stereochemie der Kohlenstoffverb.: Verlag Chemie, Weinheim (1966)
- 8) H. Rimpler : Planta med. (im Druck)
- 9) R.Steyn, H.Z. Sable: Tetrahedron 27, 4429 (1971)
- 10) Die Diskrepanz zwischen dem gemessenen Wert von 12,6 Hz und dem berechneten Werteintervall von 7 bis 9,5 Hz läßt sich durch die verwendete Gleichung $J = 9,5 \cos^2 \alpha - 0,5 \cos \alpha + 0,4$ nach Steyn und Sable⁹⁾ erklären, nach der J nicht größer als 9,5 werden kann. Werte von 11 Hz für trans-ständige H-Atome in Iridoiden wurden bereits beobachtet¹³⁾.
- 11) R. Rowan III, J.A.McCammon, B.D.Sykes: J.Am.Chem.Soc. 96, 4773 (1974)
- 12) W.E.Hull : Bruker Report 1, 4 (1978)
- 13) J. Kitagawa et al.: Chem.Pharm.Bull. 21, 1978 (1973)