

ÜBER DIE MONOTERPENGLUCOSIDE UND VERWANDTE NATURSTOFFE—XIX¹

ÜBER DIE STRUKTUR DES NÜZHENIDS, EINES BITTER SCHMECKENDEN GLUCOSIDS AUS *LIGUSTRUM LUCIDUM* SOWIE *LIGUSTRUM JAPONICUM*

H. INOUE und T. NISHIOKA

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

(Received in Germany 18 April 1972; Received in the UK for publication 12 May 1972)

Zusammenfassung—Aus den reifen Früchten von *Ligustrum lucidum* (Nüzhenzi in der chinesischen Medizin) sowie *L. japonicum* wurde zusammen mit Oleuropein (2) und dem 4-Hydroxy- β -phenyläthyl- β -D-glucosid (3) Nüzhenid (1), ein neues Secoiridoidglucosid, isoliert und in der Struktur aufgeklärt.

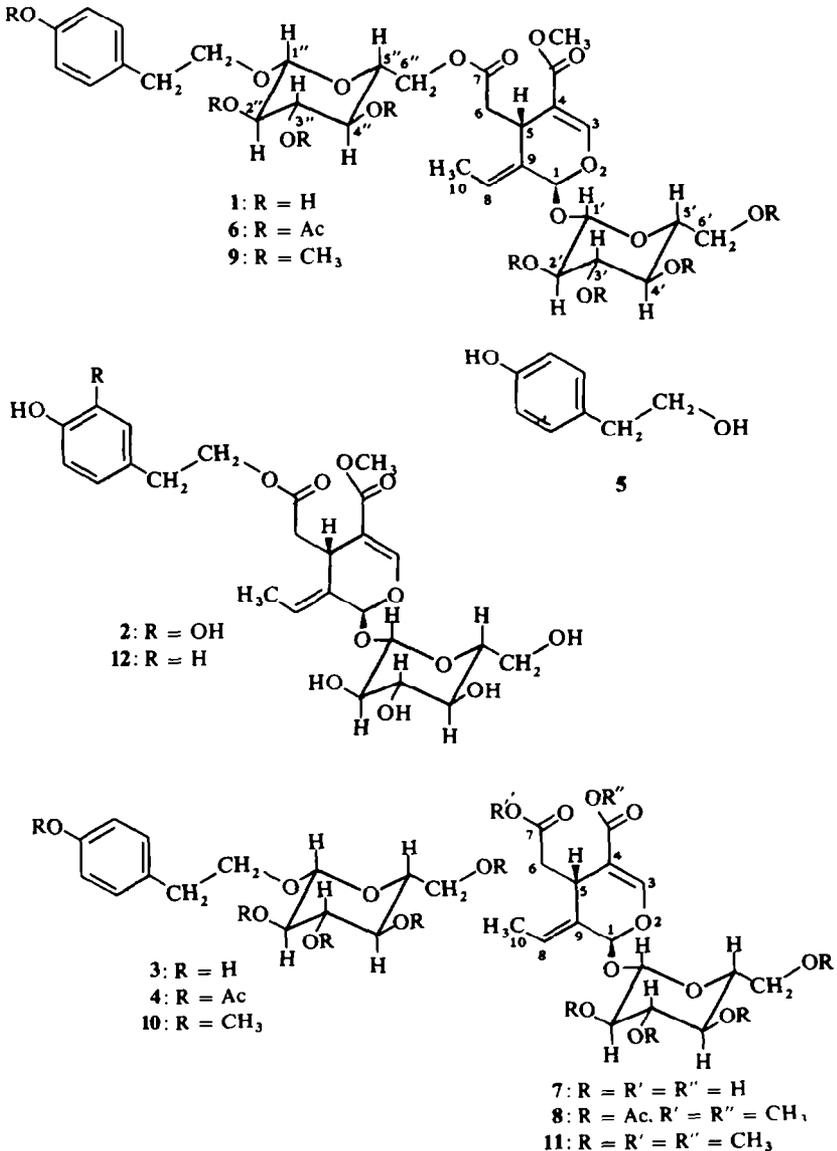
Abstract—From the ripe fruits of *Ligustrum lucidum* (Nüzhenzi in the chinese medicine) and *L. japonicum* a new secoiridoid glucoside, nüzhenide (1), has been isolated together with oleuropein (2) and 4-hydroxy- β -phenylethyl- β -D-glucoside (3). The structure of the new glucoside has been established as 1

Die Früchte von *Ligustrum lucidum* Ait (jap. Name, Tonzumimotozi), einer zur Familie der Oleaceen gehörenden Pflanze, werden in der chinesischen Medizin „Nüzhenzi“ genannt und als Tonikum verwendet. Über die Bestandteile dieser sowie der nah verwandten Pflanze *L. japonicum* Thunb. (jap. Name, Nezumimotozi) findet man in der Literatur Angaben über die Isolierung des Mannits, der Oleanolsäure, von Fettsäuren usw.² Ausserdem ist berichtet, dass der Extrakt der Blätter der letzteren eine stark cardio-systolische Wirkung hat.³ Auf der Suche nach den glycosidischen Komponenten der reifen Früchte von *L. lucidum* isolierten wir u. a. ein neues bitter schmeckendes Glucosid, das wir Nüzhenid nannten.

In der vorliegenden Arbeit wird hauptsächlich über die Isolierung und Strukturaufklärung dieses Glucosids (1) berichtet. Die frischen, reifen Früchte von *L. lucidum* wurden mit Methanol heiss extrahiert und der Extrakt im Vak. eingeeengt. Dieser wurde in Wasser aufgenommen, der Reihe nach mit Chloroform, Essigsäureäthylester und *n*-Butanol ausgezogen. Die Essigester-Schicht lieferte bei Chromatographie an Silicagel Oleuropein^{4a,b} (2), C₂₅H₃₂O₁₃ · $\frac{3}{2}$ H₂O, das als Glucosid des Ölbaums schon lange bekannt ist. Die *n*-Butanol-Schicht ergab einen Säurenanteil. Der letztere, der eine positive Liebermann-Burchard-Reaktion zeigte, ergab Oleanolsäure, C₃₀H₄₈O₃, vom Schmp. 304°. Der Glucosidanteil liess sich durch Chromatographie an einer Silicagelsäule in drei Glucoside zerlegen. Eines davon erwies sich als das oben erwähnte Oleuropein (2).

Das zweite Glucosid (3), C₁₄H₂₀O₇, stellt farblose Kristalle vom Schmp. 161–162° dar, die mit Ferrichlorid eine blauviolette Färbung geben. Daraus ergibt sich, dass es sich bei diesem Stoff um ein Phenol handelt. Es zeigt im IR OH-Bande bei 3500–3100 cm⁻¹ und im UV Absorptionen bei 224.5 nm (log ϵ 3.87), 279 nm (log ϵ 3.17) und eine Schulter bei 285 nm (log ϵ 3.13). Sein Acetat (4), C₂₄H₃₀O₁₂, vom Schmp. 67.5–69° zeigt im NMR-Spektrum Signale von vier alkoholischen sowie einer

phenolischen Acetoxygruppe bei τ 8.10 \sim 7.93 und 7.73. **3** wird durch β -Glucosidase bzw. Mineralsäure in einen Alkohol (**5**), $C_8H_{10}O_2$, vom Schmp. 91.5–92.5° sowie D-Glucose hydrolysiert. Im NMR-Spektrum (DMSO- d_6) von **5** beobachtet man ein A_2M_2X -System mit einem Triplet ($J = 7$ Hz) bei τ 7.40, einem Doppeltriplett ($J = 7$ und 5 Hz) bei τ 6.46 sowie einem Triplet ($J = 5$ Hz) bei τ 5.48 und ein $A'_2B'_2$ -System bei τ 2.95–3.44. Aus diesen Befunden ergibt sich für die Verbindung (**5**) die Struktur des 4-Hydroxy- β -phenyläthylalkohols. Sie wurde in der Tat durch Mischschmelzpunkt und Vergleich der IR-Spektren mit einer authentischen Probe als solcher identifiziert. Die Hydrolysierbarkeit der Substanz **3** durch β -Glucosidase



SCHEMA 1

und das Dublett ($J = 7$ Hz) bei τ 5.55 im NMR-Spektrum führen weiter zu dem Schluss, dass sie das 4-Hydroxy- β -phenyläthyl- β -D-glucosid ist. Dieses Glucosid wurde schon aus einer Oleaceae, *Syringa vulgaris*, als amorphes Pulver isoliert,⁵ aber bislang nicht kristallin erhalten.

Die weitere Chromatographie des dritten Glycosidanteils an einer Polyamidsäule lieferte reines Nüzhenid (**1**) als farblose Nadelchen, $C_{31}H_{42}O_{17} \cdot 2H_2O$, vom Schmp. 125–127° sowie $(\alpha)_D -150^\circ$ (MeOH). Es gibt mit Ferrichlorid eine blauviolette Färbung und durch Einwirkung der β -Glucosidase wird u.a. D-Glucose erhalten. Die IR- (Banden bei 1685 und 1630 cm^{-1}), UV- (Schulter bei 238 nm ($\log \epsilon$ 4.12) und NMR-Spektren (τ 2.47, 1 H, Singulett) von **1** sind für die Gruppierung

$$\begin{array}{c} | \\ OOC-C=CH-O \end{array}$$
 charakteristisch und weisen auf eine Iridoidstruktur hin.⁶ Acetylierung von **1** führt zum Octaacetat (**6**), $C_{47}H_{58}O_{25}$, das im IR Banden bei 1750, 1705 cm^{-1} (Carboxylgruppe), 1630 cm^{-1} (konjugierte Doppelbindung) sowie 1510 cm^{-1} (arom. Ring) und im UV Absorptionen bei 238 nm ($\log \epsilon$ 4.13) und 271 nm ($\log \epsilon$ 2.84) zeigt. In seinem NMR-Spektrum, das dem des Oleuropeinacetats sehr ähnlich ist, treten ferner ein Doppeldublett (3 H, $J = 7$ und 1.5 Hz) bei τ 8.24 und ein zerstreutes Quartett (1 H, $J = 7$ Hz) bei τ 3.98 auf, die beide der Gruppierung

$$\begin{array}{c} | \\ CH_3-CH=C \end{array}$$
 zuzuordnen sind. Darin erscheinen weiter die Signale von 7 Acetoxygruppen bei τ 7.91–8.10, das Signal einer phenol. Acetoxygruppen bei τ 7.72 und die der A_2B_2 -Type bei τ 2.70–3.10, die von arom. Protonen herrühren. Die ersten Signale weisen auf das Vorliegen zweier Zucker hin und die letzteren beiden auf das einer 4-Hydroxy- β -phenyläthylgruppe im Molekül von **1**. **1** lässt sich durch 0.5 N Natronlauge in einer Alkoholkörper und eine Säure (**7**) hydrolysieren. Der Alkohol, der einen Schmelzpunkt von 161–162° zeigt, liess sich durch Mischprobe und Vergleich der spektralen Daten mit dem Glucosid **3** identifizieren. Daraus ging hervor, dass es sich beim Glucosid **1** um einen Säureester des Alkohols **3** handelt. Die Säure (**7**) ergab bei Methylierung mit Diazomethan und darauffolgender Acetylierung Nadeln **8**, $C_{26}H_{34}O_{13}$, vom Schmp. 115.5–116.5°. Sie weist im IR Banden bei 1755, 1700 sowie 1635 cm^{-1} und im UV Absorption bei 236.5 nm ($\log \epsilon$ 4.09) auf. Im NMR-Spektrum zeigt sie ein Signalsystem aus einem Doppeldublett ($J = 7$ und 1.5 Hz) bei τ 8.25 und einem zerstreuten Quartett ($J = 7$ Hz) bei τ 3.97, das auch im Spektrum von **6** beobachtet wurde. Darin erscheinen weiter Signale von vier Acetoxygruppen bei τ 7.91–7.98 und Signale zweier Carbomethoxygruppen bei τ 6.25 sowie 6.36.

Die oben angeführten Eigenschaften der Substanz **8** erinnerten an das Produkt, das durch Substitution der 3,4-Dihydroxy- β -phenyläthylgruppe des Oleuropeins mit einer Methylgruppe entsteht, dessen absolute Struktur von uns durch chemische Korrelation mit Asperulosid bewiesen wurde.^{4b} Sie wurde in der Tat durch Vergleich mit der authentischen Probe als das genannte Produkt identifiziert. Somit könnte man weiter wohl der Säure, die sich durch Hydrolyse von **1** ergab, die Struktur **7** zuerkennen. Das Signal bei τ 6.36 im Spektrum von **8**, welches in dem von **6** fehlt, ist der gesättigten Carbomethoxygruppe zuzuschreiben, die Signale bei τ 6.27 bzw. 6.25 in den Spektren der beiden Substanzen **6** bzw. **8** dagegen rühren von der ungesättigten Carbomethoxygruppe her. Hieraus geht hervor, dass die 7-stellige Carboxylgruppe von **7** mit dem Glucosid **3** verestert ist. Für die Aufklärung der Verknüpfungsstelle dieser Carboxylgruppe im Zuckerteil von **3** wurde das Glucosid

1 dann einer Permethylierung nach Kuhn⁷ unterworfen. Dabei erhielt man neben den Permethyläthern 10 und 11, die im Laufe der Reaktion durch alkalische Hydrolyse von 1 und anschließender Permethylierung entstanden sind, auch den Permethyläther 9 von dem unzerfallenen Glucosid 1. Die Verbindung 9, C₃₉H₅₈O₁₇, stellt einen farblosen Sirup dar, der im IR keine OH-Bande zeigt. In seinem NMR-Spektrum erscheinen Signale von neun Methoxylgruppen bei τ 6.22 bis 6.62 und weiter die den beiden Protonen an C-6'' zuzuordnenden Signale bei ca τ 5.67. Das Auftreten dieser Signale bei einer so niedrigen Feldstärke dürfte darauf hinweisen, dass die Hydroxylgruppe an C-6'' verestert ist. 9 ergab weiter bei Methanolyse mit wasserfreiem salzsaurem Methanol u. a. ein Gemisch der methylierten Glucoside, das sich nach der chromatographischen Reinigung an einer Silicagelsäule durch Gaschromatographie⁸ als Methyl-2,3,4-tri-O-methyl- α - sowie β -D-Glucosid identifiziert wurden. Somit wurde eindeutig festgestellt, dass die Säure mit der Hydroxylgruppe an C-6'' verestert ist. Auf Grund der oben erwähnten Befunde wird dem Nüzhenid die absolute Struktur 1 zugeteilt. Nüzhenid (1) wurde auch aus den reifen Früchten von *L. japonicum* zusammen mit den Glucosiden (2 und 3) isoliert. Es konnte aber nicht in den Blättern der beiden *Ligustrum*-Pflanzen nachgewiesen werden. Aus diesen liess sich aber u. a. dreierlei Glucoside (2), (3) und das Ligstrosid⁹ (12), ein neues Oleuropeinanalogue, nachweisen, das kürzlich aus *L. obtusifolium* Sieb. et Zucc., einer anderen Pflanze derselben Gattung, isoliert und in der Struktur aufgeklärt wurde. Die drei Glucoside, Nüzhenid (1), Oleuropein (2) und Ligstrosid (12) haben strukturell folgende zwei Charakteristika, die bisher nur in den Glucosiden der Oleaceen beobachtet wurden: Secoiridoidglucosid-Struktur mit 8-10-Doppelbindung und 7-stellige Carboxylgruppe, die direkt oder indirekt mit 4-Hydroxy- oder 3,4-Dihydroxy- β -phenyläthylalkohol verestert ist.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert und auf dem Heizapparat nach Dr. Hozumi (Yanagimoto-Seisakusho, Kyoto) gemessen. NMR-Spektren bei 60 MHz mit TMS als internem Standard. Dünnschichtchromatogramme (DC) auf Silicagel G nach Stahl (E. Merck). Sichtbarmachung durch Bedampfen mit Jod oder UV-Belichtung bei präparativer DC. Säulenchromatographie an Silicagel (Mallinckrodt), Polyamid (Polyamid C-200, Wako) und Aktivkohle für Chromatographie (Wako). Gaschromatographie mit Shimadzu Gaschromatograph Model GC-1C mit FID.

Isolierung der Glucoside aus den reifen Früchten der beiden *Ligustrum*-Pflanzen

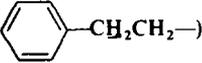
8 Kg frische, reife Früchte von *L. lucidum*, die im November gesammelt wurden, wurden 4mal mit je 6 l MeOH heiss extrahiert. Der Extrakt wurde im Vak. eingedampft, mit 4 l Wasser versetzt und gut umgerührt. Nach dem Abfiltrieren der in Wasser nicht löslichen Substanz wurde das Filtrat auf 2 l eingeeengt. Es wurde dann der Reihe nach mit CHCl₃ (3 \times 1 l), AcOÄt (3 \times 2 l) und n-BuOH (4 \times 1 l) extrahiert.

Der AcOÄt-Auszug hinterliess beim Verdampfen im Vak. ca. 70 g Rückstand. 5 g davon wurde an einer Silicagelsäule (100 g) mit CHCl₃ und dann mit CHCl₃ mit zunehmendem MeOH-Zusatz stufenweise eluiert. Das Eluat mit CHCl₃-MeOH (96:4) ergab bei Eindampfen im Vak. 0.9 g Rückstand, der durch weitere Reinigung durch präparative Dünnschichtchromatographie (CHCl₃-MeOH, 8:2) reines Glucosid von der optischen Drehung (α)_D²⁴ - 155° (c = 1.0, MeOH) lieferte. Dies wurde durch DC (CHCl₃-MeOH (8:2) R_f 0.33) und durch Vergleich der IR sowie der NMR-Spektren mit der authentischen Probe als Oleuropein (2) identifiziert. (C₂₅H₃₂O₁₃ · $\frac{1}{2}$ H₂O (567.54). Ber.: C, 52.90; H, 6.22. Gef.: C, 52.70; H, 6.07%).

Der n-BuOH-Auszug wurde im Vak. abgedampft. Der dabei erhaltene Rückstand wurde an einer Aktivkohlsäule (300 g) mit H₂O und dann mit H₂O-MeOH mit zunehmendem MeOH-Zusatz eluiert.

(i) Die vereinigten Eluate mit 5 bis 20% MeOH lieferten 35 g rohes Nüzhenid (1). 5 g davon wurden an einer Polyamidsäule (200 g) mit 300 ml MeOH eluiert, wobei sich 3·4 g amorphes Pulver von 1 erhalten liessen. Durch Umlösung aus ÄtOH bildete es farblose Nadelchen vom Schmp. 125–127°. DC CHCl_3 -MeOH (8:2) R_f 0·15. $(\alpha)_D^{17} - 150^\circ$ ($c = 1\cdot0$, MeOH); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}} \text{ cm}^{-1}$: 3500–3100, 1700, 1685, 1630, 1510; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} \text{ nm}$ (log ϵ): 228 (4·23), 238 (Sch.) (4·12), 279 (3·25), 285 (3·20); NMR (D_2O) τ : 8·31 (3 H, dd, $J = 7$ und 1·5 Hz, $\text{C}_{10}\text{-H}_3$), 6·31 (3 H, s, COOCH_3), 4·15 (1 H, breites s, $\text{C}_1\text{-H}$), 3·90 (1 H, zerstreutes q, $J = 7$ Hz, $\text{C}_8\text{-H}$), 3·27–2·80 (4 H, $\text{A}_2'\text{B}_2'\text{-q}$, arom. Protonen), 2·47 (1 H, s, $\text{C}_3\text{-H}$). ($\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{O}_{17} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (722·69). Ber: C, 51·52; H, 6·42. Gef: C, 51·43; H, 6·55%).

(ii) 30–50%iges MeOH eluierte 22 g rohes Glucosid 3. 4 g davon wurden an einer Silicagelsäule (150 g) mit dem Lösungsmittelsystem AcOÄt-MeOH chromatographiert. AcOÄt mit 5–10% MeOH eluierte 2·8 g Glucosid 3, das aus ÄtOH farblose Kristalle vom Schmp. 161–162° bildete. DC CHCl_3 -MeOH (8:2) R_f 0·19: $(\alpha)_D^{19} - 32^\circ$ ($c = 1\cdot0$, MeOH); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}} \text{ cm}^{-1}$: 3400–3100, 1615, 1595, 1515, 825; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$

nm (log ϵ): 224·5 (3·87), 279 (3·17), 285 (3·13); NMR (D_2O) τ : 7·13 (2 H, t, $J = 7$ Hz, , 6·09 (2 H, t, $J = 7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-O}-$), 5·55 (1 H, d, $J = 7$ Hz, $\text{C}_1\text{-H}$ des Zuckers), 2·71–3·21 (4 H, $\text{A}_2'\text{B}_2'\text{-q}$, arom. Protonen). ($\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_7$ (300·31). Ber: C, 55·99; H, 6·71. Gef: C, 55·75; H, 6·82%).

(iii) 60–80%iges MeOH eluierte 4·8 g rohes Oleuropein (2). Beweis durch DC (siehe oben) und Vergleich der IR-Spektren.

(iv) Eluat mit 100% MeOH lieferte Oleanolsäure, die durch Umlösung aus MeOH farblose Nadeln vom Schmp. 304° bildete. Identifizierung durch Mischschmelzpunkt und Vergleich des IR mit der authentischen Probe. ($\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ (456·71). Ber: C, 78·90; H, 10·59. Gef: C, 78·64; H, 10·81%).

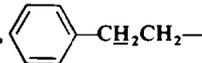
Auch bei der Aufarbeitung der reifen Früchten von *L. japonicum* in gleicher Weise wurde neben Oleanolsäure, Oleuropein (2) und 4-Hydroxy- β -phenyläthyl- β -D-glucosid (3) das Nüzhenid (1) isoliert.

Nachweis der Glucosidkomponente der Blätter von *L. lucidum* sowie *L. japonicum*

Frische Blätter von *L. lucidum* (40 g), die im Februar gesammelt wurden, wurden mit MeOH heiss ausgezogen. Der Auszug wurde im Vak. eingedampft und mit Wasser digeriert. Nach dem Abfiltrieren der in Wasser nicht löslichen Substanzen wurde das Filtrat eingengt und mit CHCl_3 extrahiert. Danach wurde die wässr. Schicht eingedampft und durch DC (CHCl_3 -MeOH (8:2)) untersucht, wobei sich Glucoside (2) (R_f 0·33), (3) (R_f 0·19), Ligstrosid (12) (R_f 0·42) und eine unbekannte Substanz (R_f 0·20) nachweisen liessen. Versuche mit den Blättern von *L. japonicum* führten zum gleichen Resultat.

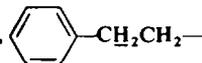
Acetylierung des 4-Hydroxy- β -phenyläthyl- β -D-glucosides (3)

Glucosid (3; 180 mg) wurde in je 1 ml Pyridin und AC_2O gelöst und bei Raumtemp. über Nacht stehen gelassen. Nach Aufarbeitung in üblicher Weise wurde das Produkt an einer Silicagelsäule (10 g), CHCl_3 als Lösungsmittel, chromatographisch gereinigt. 255 mg des so gereinigten Produkts ergab durch Umlösung aus ÄtOH farblose Nadelchen (4) vom Schmp. 67·5–69° und $(\alpha)_D^{24} - 21^\circ$ ($c = 1\cdot0$, CHCl_3). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3} \text{ cm}^{-1}$: 1750, 1510; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} \text{ nm}$ (log ϵ): 265·5 (2·69), 271·5 (2·62); NMR (CDCl_3) τ : 8·10–7·93 (12 H, s, 4 \times

OCOCH_3), 7·73 (3 H, s, phenol. OCOCH_3), 7·13 (2 H, t, $J = 7$ Hz, , 6·27 (2 H, t, $J = 7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-O}-$), 5·53 (1 H, d, $J = 7$ Hz, $\text{C}_1\text{-H}$ des Zuckers), 2·71–3·11 (4 H, $\text{A}_2'\text{B}_2'\text{-q}$, arom. Protonen). ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$ (510·49). Ber: C, 56·46; H, 5·92. Gef: C, 56·46; H, 5·99%).

Enzymatische bzw. saure Hydrolyse des 4-Hydroxy- β -phenyläthyl- β -D-glucosids (3)

Verbindung 3 (104·5 mg) wurden in 10 ml Acetatpufferlösung (pH 4·9, 0·1 m) gelöst und nach Zusatz von 20 mg β -Glucosidase (Emulsin bereitet aus Aprikosenkernen) bei 37° für 24 Std. stehengelassen. Die Reaktionslösung wurde dann mit Ät₂O (2 \times 20 ml) ausgezogen, mit Wasser gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Beim Abdampfen des Lösungsmittels hinterblieb 29·4 mg farbloser Sirup, der aus Ät₂O-Benzol Nadeln (5) vom Schmp. 91·5–92° ergab. Identifizierung durch Mischprobe und Vergleich des IR mit der authentischen Probe. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}} \text{ cm}^{-1}$: 3350, 3100, 1600, 1510, 820; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} \text{ nm}$ (log ϵ): 224·5

(3·91), 275 (3·25), 285 (3·16); NMR (DMSO-d_6) τ : 7·40 (2 H, t, $J = 7$ Hz, , 6·63 (1 H, s, phenol. OH (verschwindet durch Zusatz von D_2O)), 6·46 (2 H, dt, $J = 7$ und 5 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$

(umgewandelt durch Zusatz von D_2O in t, $J = 7$ Hz), 5.48 (1 H, t, $J = 5$ Hz, $-CH_2OH$ (verschwindet durch Zusatz von D_2O)), 2.95–3.44 (4 H, A_2B_2 -q, arom. Protonen). $C_8H_{10}O_2$ (138.17). Ber.: C, 69.54; H, 7.30. Gef.: C, 69.61; H, 7.02%.

Saure Hydrolyse des Glucosids (3) ergab bei Aufarbeitung wie oben den Alkohol (5). Die wässr. Schicht lieferte dabei D-Glucose, das als Phenylglucosazon vom Schmp. 206° nachgewiesen wurde.

Enzymatische Hydrolyse des Nüzhenids (1)

Verbindung 1 (100 ml) wurde genauso wie oben bei 3 mit β -Glucosidase hydrolysiert. Glucose wurde durch Bildung des Phenylglucosazons vom Schmp. 206° nachgewiesen.

Acetylierung des Nüzhenids (1)

Verbindung 1 (200 mg) wurden mit je 2 ml Pyridin und Ac_2O acetyliert und in der üblichen Weise aufgearbeitet. Das sirupöse Produkt (275 mg) lieferte durch Chromatographie an einer Silicagelsäule, $CHCl_3$ als Elutionsmittel, 230 mg farblosen Sirup (6). $(\alpha)_D^{21} -104^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$). DC $\dot{A}t_2O R_f$ 0.17. IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 1750, 1705, 1630, 1510; UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ϵ): 238 (4.13), 271 (2.84); NMR ($CDCl_3$) τ : 8.24 (3 H, dd, $J = 7$ und 1.5 Hz, C_{10} -H₃), 8.10–7.91 (7 alkohol. OAc), 7.72 (3 H, s, phenol. OAc), 6.27 (3 H, s, $COOCH_3$), 5.51 (1 H, d, $J = 7$ Hz, C_{11} -H), 4.27 (1 H, breites s, C_1 -H), 3.98 (1 H, zerst. q, $J = 7$ Hz, C_8 -H), 3.10–2.70 (4 H, A_2B_2 -q, arom. Protonen), 2.54 (1 H, s, C_3 -H). ($C_{47}H_{58}O_{25}$ (1022.96). Ber.: C, 55.18; H, 5.72. Gef.: C, 54.99; H, 5.98%.

Alkalische Hydrolyse des Nüzhenids (1)

Verbindung 1 (595 mg) wurden in 30 ml 0.5 N wässr. NaOH gelöst und 1 Std. lang auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen wurde die Reaktionsflüssigkeit mit Amberlite IR 120 neutralisiert und vom Kunstharz durch Abfiltrieren abgetrennt. Beim Abdampfen des Filtrats im Vak. erhielt man 580 mg sirupösen Rückstand. Um nur die entstandene Carbonsäure zu methylieren, wurde dieser in 20 ml MeOH gelöst, unter Eiskühlung mit einer ätherischen Lösung von CH_2N_2 versetzt und für eine Weile stehen gelassen. Nachdem in DC keine Säure mehr festgestellt werden konnte, wurde das Lösungsmittel im Vak. abdestilliert. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und an einer Kohlsäule (30 g) mit dem Lösungsmittelsystem H_2O - $\dot{A}tOH$ chromatographiert. Das Eluat mit 35–40% $\dot{A}tOH$ hinterliess beim Abdampfen 165 mg weisse Masse. Sie lieferte nach Umlösung aus $\dot{A}tOH$ weisse Kristalle vom Schmp. 161 – 162° , die mit dem oben erwähnten Glucosid (3) identifiziert wurde. Das Eluat mit 50% $\dot{A}tOH$ lieferte beim Abdampfen 236 mg Rückstand. 85 mg davon wurden ohne weiteres in der üblichen Weise acetyliert und aufgearbeitet. 105 mg rohes Produkt ergab bei Umlösung aus MeOH farblose Nadeln vom Schmp. 115.5 – 116.5 sowie der optischen Drehung $(\alpha)_D^{17} -176^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$), die mit einer authentischer Probe von 8 identifiziert wurden. IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 1755, 1700, 1635, 820; UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ϵ): 236.5 (4.09); NMR ($CDCl_3$) τ : 8.25 (3 H, dd, $J = 7$ und 1.5 Hz, C_{10} -H₃), 7.98–7.71 (4 \times alkohol. $OCOCH_3$), 6.36, 6.25 (je 3 H, s, $COOCH_3$), 4.29 (1 H, breites s, C_1 -H), 3.97 (1 H, zerst. q, $J = 7$ Hz, C_8 -H), 2.53 (1 H, s, C_3 -H). ($C_{26}H_{34}O_{15}$ (586.54). Ber.: C, 53.24; H, 5.84. Gef.: C, 53.01; H, 5.94%.

Permethylierung des Nüzhenids (1)

Zu einer Lösung von 1 g 1 in 10 ml absolutem Dimethylformamid wurden 2.5 g BaO, 85 mg $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ sowie 2.5 ml CH_3J zugesetzt und im N_2 -Strom bei Raumtemp. 4 Std. lang gerührt. Nach weiterem Zusatz von 1 ml CH_3J wurde das Rühren noch 24 Std. lang fortgesetzt. Die Reaktionslösung wurde dann in 200 ml $CHCl_3$ eingegossen und der Niederschlag durch Filtern abgetrennt. Das Filtrat wurde mit H_2O , 5% wässr. $Na_2S_2O_3$ und nochmals mit Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und abgedampft. 860 mg gelber sirupöser Rückstand wurde in $CHCl_3$ gelöst und an einer Silicagelsäule (100 g) mit demselben Lösungsmittel chromatographiert, wobei man Fraktionen von je 30 ml auffing.

Frak. 1–6 lieferten 270 mg ölige Substanz (10). NMR ($CDCl_3$) τ : 7.12 (2 H, d, $J = 7$ Hz,



6.61, 6.53, 6.48, 6.39, 6.23 (je 3 H, s, OCH_3), 5.75 (1 H, d, $J = 7$ Hz, anomer. Proton des Zuckerteils), 3.27–2.77 (4 H, A_2B_2 -q, arom. Protonen).

Frak. 9–20 lieferten 143 mg ölige Substanz (11). NMR ($CDCl_3$) τ : 8.24 (3 H, dd, $J = 7$ und 1.5 Hz, C_{10} -H₃), 6.60, 6.46, 6.42, 6.36 (je 3 H, s, OCH_3), 6.36, 6.27 (je 3 H, s, $COOCH_3$), 5.20 (1 H, d, $J = 7$ Hz, C_{11} -H), 4.26 (1 H, s, C_1 -H), 3.91 (1 H, zerst. a, $J = 7$ Hz, C_8 -H), 2.51 (1 H, s, C_3 -H).

Frak. 32–40 lieferten schliesslich 168 mg roher Substanz (9), die durch präparative DC ($\dot{A}t_2O R_f$ 0.3)

gereinigt wurde. Farbloses Öl. IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 2850, 1730, 1695, 1630, 1510; NMR (CDCl_3) τ : 8.24 (3

H, dd, $J = 7$ und 1.5 Hz, $\text{C}_{10}\text{-H}_3$), 7.12 (2 H, d, $J = 7$ Hz, ) 6.62, 6.53, 6.50, 6.46,

6.43, 6.39, 6.36, 6.22 (je 3 H, s, OCH_3), 6.29 (3 H, s, COOCH_3), 5.20 (1 H, d, $J = 7$ Hz, $\text{C}_1\text{-H}$), 4.24 (1 H, breites s, $\text{C}_1\text{-H}$), 3.92 (1 H, zerst. q, $J = 7$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 3.27–2.79 (4 H, $\text{A}_2\text{B}_2\text{-q}$, arom. Protonen), 2.51 (1 H, s, $\text{C}_3\text{-H}$). ($\text{C}_{39}\text{H}_{58}\text{O}_{17}$ (798.88). Ber: C, 58.63; H, 7.32. Gef: C, 58.36; H, 7.36%).

Methanolyse des Methyläthers (9)

Verbindung 9 (110 mg) wurden in 3 ml abs. MeOH, das 4% HCl enthält, gelöst und in einem geschlossenen Rohr 20 Std. lang auf 110° erhitzt. Nach Abkühlen wurde die Reaktionslösung mit 10 ml MeOH versetzt und mit Amberlite IRA-410 neutralisiert. Nach Abtrennung des Kunstharzes wurde die Lösung abgedampft. Der Rückstand wurde in CHCl_3 gelöst und an einer Silicagelsäule (10 g) mit demselben Lösungsmittel chromatographiert, wobei je 5 ml Fraktionen aufgefangen wurden. Frak. 10–15 lieferten 13 mg eines Gemisches der beiden Methyl-O-trimethylglucoside, die durch Gaschromatographie untersucht wurden: Säule, Glas 185×0.4 cm, gefüllt mit 5% 1,4-Butandiolsuccinat-polyester auf Chromosorb W, 60–80 mesh. Trägergas, 48 ml Stickstoff/Min., Injektor 210° , Säulentemp. 170° , Detektor 205°

	Retentionszeiten (Min.)	
	β -Glucosid	α -Glucosid
Methyl-O-trimethylglucoside aus 9	6.6	8.9
Methyl-2,3,4-O-trimethylglucoside	6.6	8.9
Methyl-2,3,6-O-trimethylglucoside	9.15	
Methyl-2,4,6-O-trimethylglucoside	8.05	11.25

Anerkennung—Wir danken Herrn Prof. T. Kubota von der Osaka städtischen Universität für die Überlassung von 4-Hydroxy- β -phenyläthylalkohol sowie Ligstrosid und Herrn Prof. T. Kawasaki von der Kyushu Universität für die Überlassung von den methylierten Methylglucosiden. Für die Sammlung der Pflanzenmaterialien danken wir Herrn K. Kobata vom Botanischen Garten der Provinz Kyoto und Herrn Dr. F. Murai der Aichi Medizinischen Hochschule. Ebenso danken wir Herrn Dr. T. Shingu sowie Fr. M. Ohkawa von unserer Fakultät für die Messung der NMR-Spektren und Herrn Dr. K. Hozumi und seinen Mitarbeitern des mikroanalytischen Zentrums der Universität Kyoto für die Durchführung der Mikroanalysen.

LITERATUR

- XVIII. Mitteil.: H. Inouye, S. Ueda und Y. Takeda, *Chem. & Pharm. Bull. Tokyo* **20**, 1305 (1972)
- T. Ohta und T. Miyazaki, *Yakugaku Zasshi* **73**, 621 (1953); M. Passerini, M. Ridi und P. Papini, *Ann. Chim. Rome* **44**, 783 (1954); T. Takemoto, N. Yahagi und N. Nishimoto, *Yakugaku Zasshi* **75**, 737 (1955) und die darin zitierten Referenzen
- I. A. Damirov, *Sbornik Trudov Azerbaidzhan. Med. Inst.* **8**, 342 (1960); *Chem. Abstr.* **56**, 9376 (1962)
- ^a L. Panizzi, M. L. Scarpati und G. Oriente, *Gazz. Chim. Ital.* **90**, 1449 (1960);
- ^b H. Inouye, T. Yoshida, S. Tobita, K. Tanaka und T. Nishioka, *Tetrahedron Letters* 2459 (1970)
- L. Birkofer, C. Kaiser und U. Thomas, *Z. für Naturforsch.* **23b**, 1051 (1968)
- J. M. Bobbitt und K. P. Segebarth, *Cyclopentanoid Terpene Derivatives* (Edited by W. I. Taylor und A. R. Battersby). Marcel Dekker 1 (1969)
- R. Kuhn, H. Egge, R. Brossmer, A. Gauhe, P. Klesse, W. Lochinger, E. Röhm, H. Trischmann und D. D. Tschampel, *Angew. Chem.* **72**, 805 (1960)
- G. O. Aspinall, *J. Chem. Soc.* 1676 (1963)
- Y. Asaka, T. Kamikawa, T. Kubota und H. Sakamoto, *Chemistry Letters* 141 (1972)