

ÜBER DIE MONOTERPENGLUCOSIDE UND VERWANDTE NATURSTOFFE—XXIV¹

TRIFLOROSID, EIN NEUES SECOIRIDOIDGLUCOSID AUS GENTIANA TRIFLORA VAR. JAPONICA

H. INOUE,* S. UEDA, Y. NAKAMURA, K. INOUE, T. HAYANO und H. MATSUMURA
Pharmazeutische Fakultät der Universität Kyoto, Sakyo-ku, Kyoto, Japan

(Received in Germany 9 August 1973; Received in the UK for publication 20 September 1973)

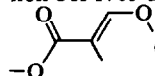
Zusammenfassung—Aus den Wurzeln von *Gentiana triflora* var. *japonica* wurde ein neues Secoiridoidglucosid, Triflorosid, isoliert. Die Strukturaufklärung ergab, dass es sich beim Triflorosid um 2', 3', 6'-Triacetyl-4'-(2"-hydroxy-3"- β -D-glucosyloxy-benzoyl)-swerosid handelt.

Abstract—A new secoiridoid glucoside, trifloroside has been isolated from the root of *Gentiana triflora* var. *japonica* and the structure has been shown to be 2', 3', 6'-triacetyl-4'-(2"-hydroxy-3"- β -D-glucosyloxy-benzoyl)-sweroside.

In einer früheren Arbeit² haben wir mitgeteilt, dass *Gentiana triflora* Pall. var. *japonica* (Kusnez.) Hara (jap. Name, Ezorindo) die Secoiridoidglucoside Gentiopicrosid und Swertiamarin enthält. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Strukturaufklärung eines weiteren Secoiridoidglucosids, das aus derselben Pflanze isoliert und Triflorosid benannt wurde.

Die Wurzeln von *G. triflora* var. *japonica* wurden mit Methanol extrahiert, der Extrakt in Wasser aufgenommen und die wässr. Lösung mit Essigsäureäthylester geschüttelt. Der in dieses Lösungsmittel übergegangene Teil wurde dann durch Säulenchromatographie an Silica-gel gereinigt. Dabei erhielt man in geringer Menge das bitter schmeckende Glucosid Triflorosid (1), C₃₅H₄₂O₂₀·2 1/2 H₂O, als farblosen Sirup vom (α)_D-122.8° (MeOH).

Diese Substanz zeigt im UV-Spektrum Absorptionen bei 249 und 325 nm und im IR-Spektrum Banden bei 3350 cm⁻¹ von Hydroxyl- und bei 1750 cm⁻¹ für Estergruppen, sowie die Absorptionen bei 1705 und 1625 cm⁻¹, die für die Gruppierung



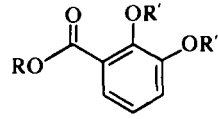
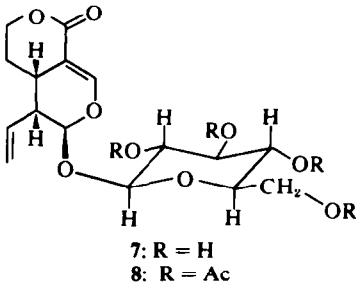
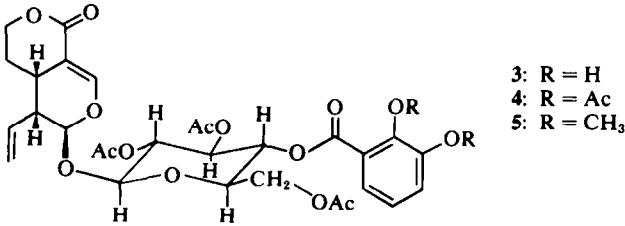
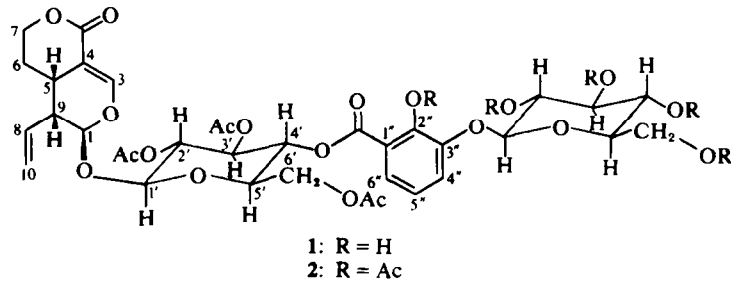
der Iridoide charakteristisch sind, und

die Bande bei 1470 cm⁻¹ für den Benzolring. Im NMR-Spektrum weist sie die Singulette der drei alkoholischen Acetoxygruppen bei δ 1.88, 1.97 und 1.98, sowie die Signale der Endvinylgruppe bei δ 5.37 auf. Ausserdem sind darin die Signale der aromatischen Protonen bei δ 6.58–7.50 und ein Dublett des Protons am C-3 von Iridoid bei δ 7.57 zu beobachten. Die Substanz 1 zeigt weiter mit Gibbs'schem Reagenz eine blaue und mit Eisenchlorid eine grüne Färbung.

Im NMR-Spektrum des Acetats 2 von 1 beobachtet man u. a. die Signale der sieben alkohol. Acetoxygruppen bei δ 1.93–2.08 und ein Singulett einer phenol. Acetoxygruppe bei δ 2.33.

Diese Befunde legen die Vermutung nahe, dass es sich bei 1 um ein Glycosid handelt, das aus einem Secoiridoid- und einem Phenolanteil besteht. Enzymatische Hydrolyse von 1 mit β -Glucosidase ergibt erwartungsgemäss D-Glucose und den Agluconanteil 3, der seinerseits auch einen positiven Gibbs-Test zeigt. In seinem IR-Spektrum beobachtet man die Banden bei 1750, 1705, 1685, 1625 und 1475 cm⁻¹. In seinem NMR-Spektrum erscheinen die Singulette dreier alkoholischer Acetoxygruppen bei δ 1.92–2.00, das Signal der Endvinylgruppe bei δ 5.35 und das Dublett ($J = 2.5$ Hz) des Protons an C-3 von Iridoid bei δ 7.58. Darin sind ausserdem ein Triplett ($J = 8$ Hz) bei δ 6.78 sowie zwei Doppeldublette ($J = 8$ und 2 Hz) bei δ 7.14 und 7.28 zu finden, die einem ABX-System von drei aromatischen Protonen zuzuordnen sind. Im Spektrum des Acetats 4 von 3 treten zusätzlich zu den oben erwähnten Signalen dreier alkohol. Acetoxygruppen die Singulette zweier phenol. Acetoxygruppen bei δ 2.31 und 2.33 auf. Im Spektrum des Dimethyläthers 5 von 3 erscheinen weiter die Signale zweier phenol. Methoxygruppen bei δ 3.87. Aus diesen Befunden geht hervor, dass die verseifte Glucose an einer phenol. Hydroxylgruppe verknüpft war.

Die Zemplén-Reaktion von 1 ergab andererseits folgende zwei Produkte: die Substanz 6, die die Summenformel C₁₄H₁₈O₅·2 H₂O besitzt und Swerosid (7), das sich nach der Überführung ins Tetracetat 8 identifizieren liess. Die Substanz 6 zeigt auch einen positiven Gibbs-Test und weist im



- 6: R = CH₃, R' = H, R'' = β -D-glucose
9: R = R' = H, R'' = CH₃
10: R = R' = H, R'' = β -D-glucose

SCHEMA 1

NMR-Spektrum u. a. ein ABX-System mit einem Triplett ($J = 8$ Hz) bei δ 6.85 und den beiden Doppeldoubletten ($J = 8$ und 2 Hz) bei δ 7.36 sowie 7.43 auf, die den drei arom. Protonen zuzuordnen sind. Aus diesen NMR-Befunden von **6** lässt sich durch Kombination mit denen von **3** der Schluss ziehen, dass die beiden Verbindungen als gemeinsames Strukturelement einen Benzolring mit drei aufeinanderfolgenden Substituenten besitzen. Die Substanz **6** ergibt durch Methylierung und anschließende Hydrolyse mit β -Glucosidase das Aglucon **9**. Da man in seinem Spektrum die überlagerten Signale der Methoxyl- und Carbomethoxylgruppe als ein einziges Singulett bei δ 3.90 und das Signal der Hydroxylgruppe bei δ 6.05 findet, ist anzunehmen, dass Hydroxyl- und Carbomethoxylgruppe von **9** zueinander *m*-ständig sind. Daraus ist zu schließen, dass es sich bei **9** um den 2-Methoxy-3-hydroxybenzoesäure-methylester und bei **6** um den 2-Hydroxy-3- β -glucosyloxybenzoesäure-methylester handelt.

Literaturstudium zeigt, dass King *et al.*³ schon

1955 aus *Vinca minor* die entsprechende freie Säure, 2-Hydroxy-3- β -glucosyloxybenzoesäure (**10**) isolierten und ferner, dass sie bei deren Strukturauflärung aus Brenzkatechin-*o*-carbonsäure den 2-Methoxy-3-hydroxybenzoesäure-methylester (**9**) herstellten. Da das obige Aglucon des methylierten Glucosids als der von King *et al.*³ hergestellte Ester **9** identifiziert wurde, ist nun erwiesen, dass dem Glucosid **6** die oben abgeleitete Struktur zukommt. Aus der Tatsache, dass es sich bei **6** um ein Methanolysprodukt von **1** handelt, ergibt sich folglich, dass **1** ein Swerosidester der 2-Hydroxy-3- β -glucosyloxybenzoesäure (**10**) ist.

Bezüglich der Struktur von **1** bleibt somit nur die Frage der Verknüpfungsweise von **10** mit dem Zuckerteil des Swerosids (**7**) ungeklärt. Zur Klärung dieses Problems wurde versucht, aus Swerosid (**7**) 2', 3', 4'-Triacetyl-6'-(2°, 3°-dimethoxybenzoyl)-swerosid abzuleiten und es mit **5** zu vergleichen. Swerosid wurde nämlich durch Tritylierung und anschließende Acetylierung in 2', 3', 4'-Triacetyl-

6'-tritylswerosid (11) übergeführt. Das letztere wurde weiter zum Triacetat 12 detrityliert und darauf mit 2,3-Dimethoxybenzoylchlorid und Pyridin acyliert, wobei sich zweierlei Produkte erhalten liessen, denen je die Struktur 6'-(2'',3''-Dimethoxybenzoyl)- und 4'-(2'', 3'' - Dimethoxybenzoyl)-swerosid-triacetat zugeordnet wurde. Das Hauptprodukt 13 war dabei mit dem oben erwähnten Dimethyläther 5 nicht identisch, das in kleinerer Menge gebildete Produkt stimmte jedoch mit dem letzteren überein. Die Bildung zweier Benzoyl-triacetate aus dem Swerosid-tetraacetat (12) lässt sich durch die teilweise Umlagerung des Acetylrestes von der 4'-hydroxylgruppe an die 6'-Hydroxylgruppe erklären, die über die Ortho-esterzwischenstufe abläuft und der Benzoylierung vorangeht. Aufgrund der Mengenverhältnisse der beiden Produkte dürfte man somit Verbindung 13 die Struktur des 6'-benzoylierten und Verbindung 5 die des 4'-benzoylierten Körpers zuordnen.

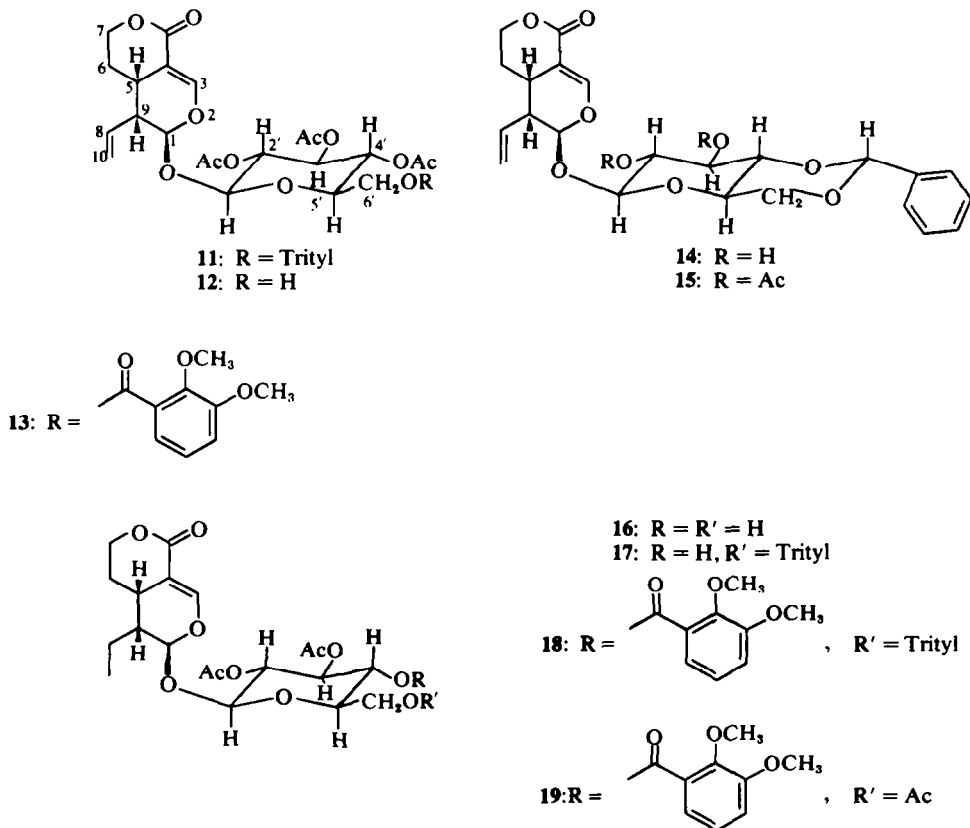
Diese Folgerung wurde in anderer Weise bestätigt. Swerosid ergab nach Einwirkung von Benzaldehyd/Zinkchlorid den 4', 6'-Benzyliden-Körper 14, der weiter durch Acetylierung 2', 3'-Diacetyl-4', 6'-benzyliden-swerosid (15) lieferte. Es ergab ferner durch katalytische Hydrie-

rung über Pd-Kohle das 2', 3'-Diacetyl-dihydro-Swerosid (16). Die Verbindung 16 liess sich weiterhin über das 6'-Trityl-derivat 17 in 2', 3'-Diacetyl-4'-(2'',3''-dimethoxybenzoyl)-6'-trityl-dihydroswerosid (18) umwandeln. Das letztere ergab schliesslich durch Detritylierung und anschliessende Acetylierung das 2', 3', 6'-Triacetyl-4'-(2'', 3''-dimethoxybenzoyl)-dihydroswerosid (19), welches als das Hydrierungsprodukt des aus 1 abgeleiteten Produkts 5 identifiziert wurde. Somit wurde bewiesen, dass es sich bei 5 um den 4'- und bei 13 um den 6'-Benzoylkörper handelt und darüber hinaus, dass dem Triflorosid die Struktur 1 zukommt.

Seit Jahren ist schon allgemein bekannt, dass sich Gentianaceen und Vincaceen darin ähnlich sind, dass sie beide die Stoffe der Secoiridoidreihe enthalten. Es ist jedoch bemerkenswert, dass das Glucosid 6, das unseres Wissens bisher nur aus der Vinca-Pflanze isoliert worden war, auch in einer Gentianacee und zwar als ein Ester des Triacetylswerosids gefunden wurde.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Heizapparat nach Dr. Hozumi (Yanagimoto Seisakusho, Kyoto) ge-



SCHEMA 2

messen und sind nicht korrigiert. Die NMR-Spektren wurden mit einem Varian HA 60-Spektrometer in CDCl_3 mit TMS bzw. in H_2O mit DSS als internem Standard gemessen. Zur Säulenchromatographie diente Silicagel (Mallinckrodt). Zur Dünnschichtchromatographie (DC) wurde Silicagel G nach Stahl (Typ 60) (E. Merck) und zur präparativen Schicht-chromatographie Silicagel GF₂₅₄ nach Stahl (Typ 60) (E. Merck) verwendet. Die Sichtbarmachung der Flecke erfolgte durch Bedampfen der Platte mit Jod oder durch Besprühen mit Anisaldehyd- H_2SO_4 -Reagenz und darauffolgendes Erhitzen. Bei Gebrauch von Lösungsmittelgemischen wurde das Mengenverhältnis in v/v % angegeben. Die Gaschromatographie wurde mit einem Shimadzu Gaschromatograph Modell GC-1 mit Flammenionisationsdetektor durchgeführt. β -Glucosidase wurde aus Aprikosenkernen in üblicher Weise bereitet.

Isolierung des Triflorosids (1). 20 kg Wurzeln von *Gentiana triflora*, in der Provinz Nagano gesammelt, wurden mit MeOH (3×50 l) heiss extrahiert. Der Extrakt wurde im Vak. eingedampft, mit etwa 15 l H_2O versetzt und umgerührt. Die H_2O -Lösung wurde vom unlöslichen Teil abfiltriert und mit Essigester (3×5 l) ausgezogen. Die AcOAc -Lösung wurde eingedampft und der Rückstand mit CHCl_3 (400 ml) digeriert. Die CHCl_3 -Lösung ergab beim Eindampfen 80 g Rückstand. Die Hälfte davon wurde an einer Silicagelsäule (450 g) chromatographiert. Als Elutionsmittel dienten 15 l CHCl_3 , je 5 l CHCl_3 -MeOH (99:1) und (98:2), je 1 l CHCl_3 -MeOH (97:3) und (96:4), sowie schliesslich 3 l CHCl_3 -MeOH (95:5). Von den Eluaten mit CHCl_3 -MeOH (97:3) und (96:4) wurden die Fraktionen gesammelt, die im DC (CHCl_3 -MeOH, 8:2) einen Fleck von Rf 0.60 zeigten. Durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhielt man daraus 1.84 g pulverigen Rückstand, der nochmals an einer Silicagelsäule (200 g) mit je 1 l der oben erwähnten Lösungsmittelmischungen von CHCl_3 und MeOH chromatographiert wurde. Das Eluat mit CHCl_3 -MeOH (97:3) lieferte beim Eindampfen 1.56 g einer bräunlich-gelb gefärbten sirupösen Rückstandes. 0.55 g davon lieferten nach weiterer Reinigung durch präparative DC (Schichtdicke, 0.5 mm; CHCl_3 -MeOH (8:2), Rf 0.75) 76.9 mg Triflorosid (1). (α)_D²⁵ -122.8° (c = 0.52, MeOH). ($\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{O}_{20} \cdot 2 \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ (827.74) Ber: C, 50.79; H, 5.72. Gef: C, 50.91; H, 5.46%; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 3350, 1750, 1705, 1625, 1470, 995, 910; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 249 (4.21), 325 (3.69); NMR (CDCl_3) δ : 1.88, 1.89, 1.98, ($3 \times$ alkohol. OCOCH_3), 5.37 (10-H₂, 8-H), 6.58-7.50 ($3 \times$ arom. Protonen), 7.57 (diffuses s, 3-H).

An dieser Stelle ist noch anzumerken, dass man bei einem anderen Isolierungsexperiment trotz fast gleicher Aufarbeitung kein Triflorosid (1), sondern Deglucosyltriflorosid (3) erhielt.

Acetylierung des Triflorosids (1). 1 (50 mg) wurde mit Ac_2O und Pyridin (je 0.8 ml) bei Raumtemp. über Nacht stehen gelassen. Die Lösung wurde in Eiswasser gegossen und mit CHCl_3 extrahiert. Die CHCl_3 -Lösung wurde der Reihe nach mit 1N HCl, 10% igem wässr. NaHCO_3 sowie H_2O gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Der durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wurde an einer Aluminiumoxidsäule (3 g) mit je 40 ml CH_2Cl_2 , CH_2Cl_2 -MeOH (99.7:0.3), (99.5:0.5) und (99:1) chromatographiert, wobei Fraktionen von je 5 ml aufgefangan wurden. Die Fraktionen 8-14 lieferten beim Abdestillieren des Lösungsmittels 33 mg eines farblosen Sirups von Triflorosid-pentaacetats (2). ($\text{C}_{45}\text{H}_{52}\text{O}_{25} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ (1001.89) Ber: C, 53.95; H, 5.33. Gef: C, 53.93; H, 5.32 %; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1750, 1700, 1620, 1470, 995, 905; NMR (CDCl_3) δ : 1.93, 1.98, 2.04, 2.06, 2.08 (je s, 7 \times

alkohol. OCOCH_3), 2.33 (s, phenol. OCOCH_3), 5.37 (10-H₂, 8-H), 7.18-7.65 (m, $3 \times$ arom. Protonen), 7.57 (d, J = 2.5 Hz, 3-H).

Hydrolyse von Triflorosid (1) mittels β -Glucosidase. Triflorosid (1) (310 mg) wurde zusammen mit β -Glucosidase (50 mg) in 0.1 M Acetat-Pufferlösung (pH 4.8, 30 ml) gelöst und über Nacht stehen gelassen. Die Lösung wurde dann mit CHCl_3 geschüttelt und die beiden Phasen getrennt. Die CHCl_3 -Schicht wurde mit H_2O gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhielt man daraus 250 mg Rückstand. Dieser wurde an einer Silicagelsäule (12 g) mit Äther eluiert. Fraktionen von je 5 ml wurden aufgefangen. Die Fraktionen 2-7 (DC, Äther, Rf 0.20) lieferten beim Eindampfen 150 mg farblosen Sirup (3). ($\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{O}_{15} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ (629.57) Ber: C, 55.33; H, 5.28. Gef: C, 55.32; H, 5.24 %; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 3500, 1750, 1705, 1685, 1625, 1475; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 221 (4.26), 251 (3.99), 330 (3.17); NMR (CDCl_3) δ : 1.92-2.00 (je s, $3 \times \text{OCOCH}_3$), 5.35 (10-H₂, 8-H), 6.78 (t, J = 8 Hz, 5"-H), 7.14 (dd, J = 8 und 2 Hz, 4"-H), 7.28 (dd, J = 8 und 2 Hz, 6"-H), 7.58 (d, J = 2.5 Hz, 3-H).

Aus dem Rückstand der H_2O -Schicht wurde D-Glucose papier-(PPC) sowie gaschromatographisch (GC) nachgewiesen. PPC: Toyoroshi No. 50, n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5), Rf 0.22; GC: nach Trimethylsilylierung der Probe durchgeführt. Glas, 0.3×50 cm, gefüllt mit 1.5% OV-1 auf Shimadzu W, 80-100 mesh, Säulentemp. 160°, Detektortemp. 240°, Thägersgas 70 ml/Min. N₂, Retentionszeit von TMS- α -D-Glucose 9.6 Min. und von TMS- β -D-Glucose 16.2 Min.

Acetylierung des Deglucosyl-triflorosids (3). 3 (40 mg) wurde in Ac_2O und Pyridin (je 1 ml) gelöst und bei Raumtemp. über Nacht stehen gelassen. Nach Zusatz von Eiswasser wurde das Reaktionsgemisch im Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde an einer Silicagelsäule (20 g) chromatographisch gereinigt, wobei Fraktionen von je 15 ml aufgefangen worden. Als Elutionsmittel dienten der Reihe nach CH_2Cl_2 (Fr. 1-11), CH_2Cl_2 -MeOH (9:1) (Fr. 12) und CH_2Cl_2 -MeOH (8:2) (Fr. 13-16). Die vereinigten Fraktionen 13-15 ergaben nach Abdestillieren des Lösungsmittels 8 mg farblosen Sirup (4). DC: CHCl_3 -MeOH (97:3), Rf 0.55, ($\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{O}_{17}$ (704.63) Ber: C, 56.25; H, 5.15. Gef: C, 56.36; H, 5.44%) IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1770, 1748, 1706, 1622, 1468, 904; NMR (CDCl_3) δ : 1.97, 1.99, 2.04 (je s, $3 \times$ alkohol. OCOCH_3), 2.31, 2.33 (je s, $2 \times$ phenol. OCOCH_3), 4.25 (m, 6'-H₂) 4.43 (m, 7-H₂), 5.35 (breites s, 10-H₂, 8-H), 7.10-7.90 (m, 3 arom. Protonen und 3-H).

Methylierung von Deglucosyltriflorosid (3). 3 (120 mg) wurde in wenig MeOH gelöst, mit einem Überschuss an äther. CH_2N_2 versetzt und bei 5° für 4 Tage stehen gelassen. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand an einer Silicagelsäule (10 g) mit CHCl_3 -MeOH (99:1) als Elutionsmittel chromatographiert. Dabei fing man Fraktionen von je 3 ml auf. Der aus den Fr. 7-13 durch Eindampfen erhaltene Rückstand lieferte bei Umkristallisation aus ÄtOH 20 mg farbloser Nadeln des Dimethyläthers (5) vom Schmp. 93-95°. ($\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{O}_{13}$ (648.61) Ber: C, 57.41; H, 5.59. Gef: C, 57.42; H, 5.56 %; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1755, 1720, 1625, 1590, 1490, 1275, 1235, 1050, 995, 950, 905; NMR (CDCl_3) δ : 2.00, 2.08 (je s, $3 \times \text{OCOCH}_3$), 3.87 (s, $2 \times$ phenol. OCH_3), 5.37 (10-H₂, 8-H), 7.01-7.33 (m, $3 \times$ arom. Protonen), 7.58 (d, J = 2.5 Hz, 3-H).

Zemplén-Reaktion von Triflorosid (1). 1 (130 mg) wurde in MeOH (5 ml) gelöst, mit 0.5 N methanol. CH_3ONa (0.5 ml) versetzt und unter Rückfluss während 15 Min. er-

hitzt. Der ausgeschiedene weisse Niederschlag (A) wurde durch Absaugen vom Filtrat (B) abgetrennt. Der Niederschlag (A) wurde in 10 ml MeOH gelöst, durch Zusatz von Amberlite IR-120 (H⁻-Form) neutralisiert und die Lösung abfiltriert. Die nach dem Eindampfen des Filtrats zurückgebliebene Masse, die im DC (CHCl₃-MeOH, 8:2) einen Rf-Wert von 0-40 zeigte, ergab nach Umkristallisation aus MeOH 22 mg farbloser Nadeln (6) vom Schmp. 98-5-100°. (C₁₇H₁₈O₅·2 H₂O (366·2) Ber: C, 45·69; H, 6·03. Gef: C, 45·89; H, 6·09%) IR ν_{\max}^{max} cm⁻¹: 3270 (breite Bande), 1690, 1657, 1600, 1575, 1460, 1427, 980, 890; UV $\lambda_{\max}^{\text{max}}$ nm (log ϵ): 246 (3·83); NMR (DMSO-d₆) δ : 3·88 (COOCH₃), 6·85 (t, J = 8 Hz, 5''-H), 7·36 (dd, J = 8 und 2 Hz, 4''-H), 7·43 (dd, J = 8 und 2 Hz, 6''-H).

Das Filtrat (B) wurde auch durch Zusatz von IR-120 (H⁻-Form) neutralisiert und vom Harz abfiltriert. Das Filtrat ergab nach Eindampfen im Vak. 80 mg Rückstand. Dieser wurde an einer Silicagelsäule (12 g) mit CHCl₃-MeOH (96:4) chromatographiert, wobei man Fraktionen von je 5 ml auffing. Die vereinigten Fraktionen 12-18 ergaben nach wie oben vorgenommener Aufarbeitung 15 mg Glucosid 6. Die Fraktionen 33-43 ergaben beim Eindampfen 30 mg weisses Pulver, das im DC (CHCl₃-MeOH, 8:2) einen Rf-Wert von 0·35 zeigte. Es wurde mit je 0·5 ml Ac₂O und Pyridin in üblicher Weise acetyliert und aufgearbeitet. Das Reaktionsprodukt lieferte bei Umkristallisation aus Äthanol 22 mg farbloser Stäbchen vom Schmp. 165-166°, die durch Mischprobe und durch Vergleich der IR- und NMR-Spektren als Swerosid-tetraacetat (8) identifiziert wurden.

Methylierung des aus Triflorosid (1) abgeleiteten Glucosids 6 und anschließende enzymatische Hydrolyse. Das obige Glucosid (6) (60 mg) wurde in wenig MeOH gelöst, mit einem Überschuss an äther. CH₃N₃ versetzt und bei 5° für 4 Tage stehen gelassen. Der durch Abdampfen des Lösungsmittels erhaltene Rückstand, der im DC (CHCl₃-MeOH, 8:2) einen einzigen Fleck vom Rf-Wert 0·45 zeigte, wurde in 0·1 M Acetat-Pufferlösung (pH 4·8, 10 ml) gelöst, mit 20 mg β -Glucosidase versetzt und bei 37° während 24 Std. stehen gelassen. Dann wurde die Reaktionslösung mit CHCl₃ extrahiert, die CHCl₃-Lösung über MgSO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand destillierte bei 0·05 mm und 88° (Badtemp.) als farblose Flüssigkeit (9) (30 mg). (C₂₁H₂₀O₄ (182·18) Ber: C, 59·34; H, 5·53. Gef: C, 59·60; H, 5·64%) IR ν_{\max}^{max} cm⁻¹: 3450, 1725, 1595, 1475, 1435, 1280; NMR (CDCl₃) δ : 3·90 (CO₂CH₃ und phenol. OCH₃), 6·05 (OH), 6·98-7·45 (m, 4''-H, 5''-H, 6''-H).

Die Verbindung 9 (15 mg) lieferte weiter bei der Acylierung mittels *p*-Nitrobenzoylchlorid (50 mg) und Pyridin (5 ml) das *p*-Nitrobenzoat, welches nach Umkristallisation aus Äthanol 12 mg farbloser Nadeln vom Schmp. 121° bildete. (C₁₆H₁₁O₇N (331·28) Ber: C, 58·01; H, 3·96. Gef: C, 57·71; H, 4·08%) IR ν_{\max}^{max} cm⁻¹: 1740, 1720, 1705, 1530, 1475, 1355; NMR (CDCl₃) δ : 3·86, 3·95 (je s, OCH₃ und COOCH₃), 7·08-7·83 (m, 4'', 5'', 6''-H), 8·40 (s, 4 arom. Protonen der *p*-Nitrobenzoylgruppe). Diese wurden durch Mischprobe und Vergleich der IR- sowie NMR-Spektren als *p*-Nitrobenzoat des nach King *et al.*⁷ synthetisch hergestellten 2-Methoxy-3-hydroxybenzoesäure-methylesters identifiziert.

Tritylierung und anschließende Acetylierung von Swerosid (7). Swerosid 7 (1·31 g) und Tritylchlorid (1·42 g) wurden in absolut. Pyridin (10 ml) gelöst und bei Raumtemp. für 5 Tage stehen gelassen. Die Lösung wurde weiter nach Zusatz von Ac₂O (7 ml) über Nacht stehen gelassen, in Eiswasser gegossen und mit CHCl₃ ausgezogen.

Die CHCl₃-Lösung wurde neutral gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Der durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wurde an einer Silicagelsäule (80 g) chromatographiert. Zur Eluierung dienten dabei der Reihe nach 300 ml Benzol, 200 ml Benzol-Äther (95:5), 450 ml Benzol-Äther (9:1), 600 ml Benzol-Äther (8:2), je 200 ml Benzol-Äther (7:3) und (6:4) sowie schliesslich 800 ml Äther. Die gesammelten Eluate mit Benzol-Äther (8:2) ergaben beim Eindampfen 329 mg eines Rückstandes, der durch Umkristallisation aus Benzol-Petroläther farblose Prismen von 2', 3', 4'-Triacetyl-6'-tritylswerosid (11) lieferte. Schmp. 267-268° (unter Zers.). (C₄₁H₄₄O₁₂ (728·79) Ber: C, 67·75; H, 5·83. Gef: C, 68·04; H, 5·95%) IR ν_{\max}^{max} cm⁻¹: 1755, 1710, 1625, 1495, 995, 905; NMR (CDCl₃) δ : 1·96, 1·98, 2·00 (je s, 3 × OCOCH₃), 3·15-3·35 (m, 6'-H₂), um 4·42 (m, 7'-H₂), um 5·40 (breites s, 10-H₂, 8-H), 6·90-7·85 (15 × arom. Protonen), 7·60 (d, J = 2 Hz, 3-H).

Die gesammelten Eluate mit Äther ergaben nach Abdestillieren des Lösungsmittels 1·16 g eines Rückstandes, der durch Umkristallisation aus Aceton-Petroläther und anschliessend Äthanol farblose Nadeln von 2', 3', 4'-Triacetylswerosid (12) lieferte. Schmp. 162-164°. (C₂₂H₂₈O₁₂ (484·45) Ber: C, 54·54; H, 5·83. Gef: C, 54·52; H, 5·79%) IR ν_{\max}^{max} cm⁻¹: 3500, 1760, 1708, 1625, 1410, 990, 905; NMR (CDCl₃) δ : 1·96, 2·02, 2·06 (je s, 3 × OCOCH₃), 2·28 (m, OH, durch Zusatz von D₂O verschwunden), 2·74 (m, 5-H, 9-H), 3·69 (m, 6'-H₂), 4·37 (m, 7-H₂), 5·34 (breites s, 10-H₂, 8-H), 5·42 (d, J = 2 Hz, 1-H), 7·55 (d, J = 2 Hz, 3-H).

Detritylierung von 2', 3', 4'-Triacetyl-6'-tritylswerosid (11). Die Verbindung 11 (1·43 g) wurde in 80% iger AcOH unter Rückfluss für 30 Min. gekocht. Nach Verdünnung der Reaktionslösung mit H₂O wurde diese mit CHCl₃ ausgezogen und die CHCl₃-Schicht neutral gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Der durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand (1·30 g) wurde an einer Silicagelsäule (150 g) mit Äther als Elutionsmittel chromatographiert, wobei Fraktionen von je 5 ml aufgefangen wurden. Die Fraktionen 10-25 lieferten Triphenylcarbinol und die Fraktionen 70-100 700 mg des oben erwähnten Triacetylswerosids (12).

Acylierung von 2', 3', 4'-Triacetylswerosid (12) mittels 2,3-Dimethoxybenzoylchlorid. Die Verbindung 12 (656 mg) wurde in absolut. Pyridin (5 ml) gelöst, mit 2,3-Dimethoxybenzoylchlorid (410 mg) versetzt und bei Raumtemp. über Nacht stehen gelassen. Die Lösung wurde dann in Eiswasser gegossen und mit CHCl₃ ausgezogen. Die CHCl₃-Lösung wurde der Reihe nach mit 1 N HCl, gesätt. wässr. NaHCO₃ sowie H₂O gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhielt man 844 mg Rückstand. Dieser wurde an einer Silicagelsäule (50 g) der Reihe nach mit 100 ml Benzol-Äther (9:1), 200 ml Benzol-Äther (8:2) und einer grösseren Menge von Benzol-Äther (7:3), eluiert. Man fing Fraktionen von je 25 ml auf. Die Fraktionen 19-24 ergaben nach Abdestillieren des Lösungsmittels 153 mg einer kristallinen Masse, die nach zweimaliger Umkristallisation aus Äthanol farblose Nadeln vom Schmp. 92-93° bildete. Diese wurden durch Mischprobe und Vergleich der IR- und NMR-Spektren als die aus Triflorosid (1) abgeleitete Substanz 5 identifiziert. (C₃₁H₃₆O₁₃ (648·61) Ber: C, 57·41; H, 5·59. Gef: C, 57·69; H, 5·52%)

Die Fraktionen 28-37 ergaben beim Abdestillieren des Lösungsmittels 309 mg einer kristallinen Masse, welche

nach Umkristallisation aus Benzol-Petroläther und anschliessend Äthanol farblose Prismen 13 vom Schmp. 196–197° lieferte. (C₃₁H₃₀O₁₅, (648·61) Ber: C, 57·41; H, 5·59. Gef: C, 57·33; H, 5·51 %); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1750, 1715, 1630, 1590, 1485, 1380, 995, 905; NMR (CDCl₃) δ : 1·98, 2·01, 2·03 (je s, OCOCH₃), 2·48–3·10 (m, 5-H, 9-H), 3·90, 3·92 (je s, 2 × OCH₃), 4·10–4·60 (7-H₂, 6'-H₂), 5·32 (breites s, 10-H₂, 8-H), 7·00–7·32 (3 × arom. Protonen), 7·55 (d, J = 2 Hz, 3-H).

Ableitung von Swerosid (7) zu 4', 6'-Benzylidenswerosid (14). Zu frisch destilliertem Benzaldehyd (15 ml) wurden Swerosid (7) (1·07 g) und frisch geschmolzenes Zinkchlorid (1·5 g) zugesetzt und die Mischung bei Raumtemp. während 4 Std. umgerührt. Dabei wurde das Reaktionsgemisch nach 15 Min. homogen. Die Lösung wurde mit H₂O versetzt und mit Essigessig extrahiert. Die Essigester-Lösung wurde über MgSO₄ getrocknet und eingedampft. Nach weiterem Abdestillieren des zurückgebliebenen Benzaldehyds im Vak. erhielt man 1·67 g eines Rückstandes, der an einer Silicagelsäule (50 g) chromatographiert wurde. Das erste Eluat mit 200 ml Äther ergab eine Mischung von Benzaldehyd und Benzoesäure. Das Eluat mit 500 ml Äther-Aceton (95:5) lieferte beim Eindampfen eine farblose glasige Masse von 14. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3350, 1695, 1620, 995, 905; NMR (CDCl₃) δ : 1·66 (m, 6-H₂), 2·63 (m, 5-H), 3·03 (m, 9-H), 3·25–4·05 (2'-, 3'-, 4'-, 5'-H), 4·10–4·55 (7-H₂, 6'-H₂), 4·80 (d, J = 7·5 Hz, 1'-H), 5·15–5·46 (1-H, 10-H₂, 8-H), 5·52 (s, $\text{O}-\text{C}(\text{H})-\phi$), 7·15–7·50 (5 × arom. Protonen), 7·60 (d, J = 2·5 Hz, 3-H).

Acetylierung des 4', 6'-Benzylidenkörpers 14. Der Benzylidenkörper 14 (928 mg) wurde in absolut. Pyridin (2·5 ml) gelöst, mit Ac₂O (2·5 ml) versetzt und über Nacht stehen gelassen. Die Lösung wurde in Eiswasser gegossen und die ausgeschiedene kristalline Masse abgesaugt. Dieser Niederschlag (927 mg) bildete nach Umkristallisation aus MeOH farblose Nadeln von 15 mit Schmp. 167–168°. (C₂₉H₃₀O₁₁, (530·53) Ber: C, 61·13; H, 5·70. Gef: C, 61·12; H, 5·65 %); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 1750, 1705, 1625, 995, 905; NMR (CDCl₃) δ : 1·98, 2·04 (je s, 2 × OCOCH₃), 3·50, 3·90 (4'-H, 5'-H), 4·90–5·50 (10-H₂, 8-, 1-, 1'-, 2'-, 3'-H), 5·51 (s, $\text{O}-\text{C}(\text{H})-\phi$), 7·38 (breites s, 5 × arom. Protonen), 7·57 (d, J = 2 Hz, 3-H).

Katalytische Hydrierung von 2', 3'-Diacetyl-4', 6'-benzylidenswerosid (15). Das Benzylidenacetat 15 (926 mg) wurde in MeOH (40 ml) gelöst und über Pd-Kohle (frisch zubereitet aus 3 ml 5% PdCl₂-HCl-Lösung und 800 mg aktiver Kohle (Darco G-60)) katalytisch hydriert. Nach Aufnahme von etwa 3 Mol H₂ wurde die Lösung vom Katalysator abfiltriert und das Filtrat im Vak. eingedampft, wobei ein Rückstand von 754 mg erhalten wurde. Dieser wurde in wenig CHCl₃ gelöst, auf eine Silicagelsäule (40 g) aufgetragen und der Reihe nach mit 250 ml Äther, 80 ml Äther-Aceton (95:5) und Äther-Aceton (9:1) eluiert. Man fing Fraktionen von je 40 ml auf. Die Fraktionen 18–29 ergaben beim Abdestillieren des Lösungsmittels 525 mg einer kristallinen Masse, die bei weiterer Umkristallisation aus Aceton-Petroläther farblose Platten von 16 mit Schmp. 93–94° lieferte. (C₂₉H₂₈O₁₁·CH₃COCH₃, (502·51) Ber: C, 54·97; H, 6·85. Gef: C, 54·81; H, 6·78 %); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3405, 3305, 1750, 1690, 1615, 840, 760; NMR (CDCl₃) δ : 1·04 (m, 10-H₂), 2·20 (s, CH₃COCH₃), 1·96, 2·08 (je s, OCOCH₃), 7·51 (d, J = 2 Hz, 3-H).

Tritylierung des 2', 3'-Diacetyldihydrosweosids (16).

Die Verbindung 16 (518 mg) wurde in absolut. Pyridin (5 ml) gelöst, mit Tritylchlorid (400 mg) versetzt und bei 50° während 3 Std. erwärmt. Danach wurde die Lösung bei Raumtemp. über Nacht stehen gelassen, mit weiterem Tritylchlorid (200 mg) versetzt und noch einen Tag lang stehen gelassen. Die Reaktionslösung wurde dann in Eiswasser gegossen und mit CHCl₃ ausgezogen. Die CHCl₃-Lösung wurde neutral gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhielt man 1·11 g Rückstand. Dieser wurde an einer Silicagelsäule (44 g) chromatographiert. Als Elutionsmittel dienten der Reihe nach 400 ml Benzol, 100 ml Benzol-Äther (9:1), 100 ml Benzol-Äther (8:2) und 500 ml Benzol-Äther (7:3). Das Eluat mit dem letzten Lösungsmittelsystem ergab beim Eindampfen 695 mg farblosen Sirup (17). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3405, 1745, 1700, 1620, 1490, 850; NMR (CDCl₃) δ : 1·03 (m, 10-H₂), 1·94, 2·05 (je s, 2 × OCOCH₃), 2·86 (breites s, OH, verschwindet nach Zusatz von D₂O), 2·90 (m, 5-H), 3·45 (m, 6'-H₂), 4·38 (m, 7-H₂), 4·75–5·20 (2'-, 3'-, 1'-H), 5·46 (d, J = 2 Hz, 1-H), 7·10–7·60 (15 × arom. Protonen, 3-H).

Acylierung von 2', 3'-Diacetyl-6'-trityl-dihydrosweosid (17) mittels 2, 3-Dimethoxybenzoylchlorid. Die Verbindung 17 (467 mg) wurde in absolut. Pyridin (5 ml) gelöst, mit 2,3-Dimethoxybenzoylchlorid (330 mg) versetzt und bei Raumtemp. während 24 Std. stehen gelassen. Die Reaktionslösung wurde in Eiswasser gegossen und mit CHCl₃ ausgezogen. Der CHCl₃-Auszug wurde der Reihe nach mit 1 N HCl, gesätt. wässr. NaHCO₃ und H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und eingedampft, wobei man 534 mg Rückstand erhielt. Dieser wurde in wenig Benzol gelöst, auf eine Silicagelsäule (30 g) aufgetragen und mit 100 ml Benzol-Äther (9:1) sowie 300 ml Benzol-Äther (8:2) eluiert. Das Eluat mit dem letzteren Lösungsmittel ergab beim Eindampfen 573 mg farblosen Sirup (18). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1750, 1700, 1620, 1480, 850; NMR (CDCl₃) δ : 1·06 (m, 10-H₂), 1·94 (s, 2 × OCOCH₃), 2·95 (m, 5-H), 3·32 (m, 6'-H₂), 3·67, 3·82 (je s, 2 × OCH₃), 4·80–6·65 (1-, 1'-, 2'-, 3'-, 4'-H), 6·76–7·60 (18 × arom. Protonen, 3-H).

Detritylierung von 2', 3'-Diacetyl-4'-(2'', 3''-dimethoxybenzoyl)-6'-trityldihydrosweosid (18) und anschliessende Acetylierung. Die Verbindung 18 (343 mg) wurde in 80% AcOH (20 ml) unter Rückfluss während 50 Min. erhitzt. Nach Zusatz von H₂O wurde das Reaktionsgemisch mit CHCl₃ ausgezogen. Der CHCl₃-Auszug wurde neutral gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhielt man 354 mg eines Rückstandes, der mit Ac₂O und Pyridin (je 2 ml) acetyliert wurde. Nach Aufarbeitung in üblicher Weise erhielt man 337 mg Reaktionsprodukt. Dieses wurde an einer Silicagelsäule (10 g) mit 75 ml Benzol, 100 ml Benzol-Äther (8:2) und schliesslich mit einer grösseren Menge von Benzol-Äther (7:3) chromatographiert. Das Eluat mit dem letzten Lösungsmittelsystem ergab beim Eindampfen 217 mg eines kristallinen Rückstandes, der nach Umkristallisation aus Äthanol farblose Nadeln von 19 mit Schmp. 190–191° lieferte. (C₃₁H₃₀O₁₅, (650·63) Ber: C, 57·23; H, 5·89. Gef: C, 57·28; H, 6·05 %); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1760, 1715, 1625, 1590, 1490, 1280, 850; NMR (CDCl₃) δ : 1·05 (m, 10-H₂), 1·97, 2·00, 2·08 (je s, 3 × OCOCH₃), 3·87 (s, 2 × phenol. OCH₃), 7·02–7·37 (3 × arom. Protonen), 7·52 (d, J = 2 Hz, 3-H).

Katalytische Hydrierung des Deglucosyltriflorosid-dimethyläthers (5). Die aus Triflorosid (1) abgeleitete Verbindung 5 (40 mg) wurde in MeOH (10 ml) gelöst und über Pd-Kohle, frisch zubereitet aus 5% PdCl₂-HCl-Lösung

(0.5 ml) und aktiver Kohle (Darco G-60, 30 mg), katalytisch hydriert. Nach Aufnahme von etwa 1.2 Mol H_2 wurde die Lösung vom Katalysator abfiltriert und das Filtrat im Vak. eingedampft. Der Rückstand lieferte bei Umkristallisation aus Äthanol 15 mg farbloser Nadeln vom Schmp. 188–190°. ($C_{31}H_{38}O_{15}$ (650.63) Ber: C, 57.23; H, 5.89. Gef: C, 57.15; H, 5.75%). Diese Substanz wurde durch Mischprobe und Vergleich der IR- und NMR-Spektren als die oben aus Swerosid abgeleitete Verbindung **19** identifiziert.

Anerkennung—Für die Sammlung der Pflanzenmaterialien danken wir Herrn Prof. S. Kuwano vom Mukogawa Women's College und für Ratschläge über die Pflanzen

Herrn Dr. T. Asakura. Ebenso danken wir Herrn Dr. T. Shingu von der Kobegakuin-Universität und Herrn Dr. K. Kitamura von unserer Fakultät für die Messung der NMR-Spektren, und den Mitgliedern des Mikroanalysezentrums der Universität Kyoto für die Durchführung der Mikroanalysen.

LITERATUR

- ¹XXIII. Mitteil: H. Inouye, S. Ueda, K. Inoue und Y. Takeda, *Chem. & Pharm. Bull. Tokyo* **22**, im Druck
²H. Inouye und Y. Nakamura, *Yakugaku Zasshi* **91**, 755 (1971)
³F. E. King, J. H. Gilks und M. W. Partridge, *J. Chem. Soc.* 4206 (1955)