

Iridoide und Ecdysone aus Verbenaceae, V<sup>1</sup>**Iridoide aus *Duranta repens* L.**Iridoids and Ecdysones from Verbenaceae, V<sup>1</sup>Iridoids from *Duranta repens* L.Horst Rimpler und Helmut Timm<sup>2</sup>

Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin

Herrn Prof. Dr. M. Steiner zum 70. Geburtstag gewidmet

(Z. Naturforsch. **29 c**, 111–115 [1974] ; eingegangen am 14. Dezember 1973)Durantolid I, II, III, Lamiid, Iridoids, Verbenaceae, *Duranta*

Lamiid and three new iridoids have been isolated from *Duranta repens*. The new compounds — durantolid I (2), II (3) and III (4) — are shown to be esters of lamiid with cinnamic acid, 4-methoxy-cinnamic acid and 3,4-dimethoxy-cinnamic acid respectively. The position of the cinnamoyl-groups has been determined by NMR- and mass spectrometry.

*Duranta repens* L. (Syn.: *Duranta plumieri* JACQ.) ist bereits mehrfach untersucht worden: Aus den Früchten wurden  $\beta$ -Sitosterin und Ursolsäure<sup>3</sup> sowie Alkaloide<sup>4,5</sup> nicht völlig geklärter Struktur und aus den Blättern die Flavonoide Pectolinarigenin und Scutellarein<sup>6</sup> isoliert. Auch das Vorkommen von Iridoiden ist bereits durch Farbreaktionen<sup>7,8</sup> und papierchromatographisch<sup>9</sup> nachgewiesen worden. Die Iridoide wurden jedoch bisher nicht identifiziert. Bei Kooiman<sup>9</sup> findet sich lediglich der Hinweis, daß ein aus *Hebenstreitia comosa* (Scrophulariaceae) isoliertes Iridoid unbekannter Struktur (Hebenstreitia-Glykosid C) mit einem in *Duranta plumieri* vorkommenden Glykosid chromatographisch identisch ist. Wir haben daher im Rahmen unserer chemosystematischen Untersuchungen von Verbenaceae die mengenmäßig vorherrschenden Iridoide isoliert und ihre Struktur aufgeklärt.

**Isolierung**

Das getrocknete Pflanzenmaterial wurde mit Äthanol extrahiert. Den Extrakt trennten wir nach Entfernen des Äthanol durch Chromatographie an Kieselgur mit Hexan/Methylenchlorid und Methylenchlorid/Methanol in einen lipophilen und einen hydrophilen Anteil auf. Der hydrophile Anteil wurde durch Chromatographie an Aluminiumoxid vorgereinigt und dann an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol/Wasser-Mischung aufgetrennt. Wir erhielten zwei iridoidhaltige Fraktionen. Die hydrophilere Fraktion enthielt eine einheitliche Verbin-

dung, die als Lamiid (1)<sup>10</sup> identifiziert wurde. Die lipophilere Fraktion erwies sich als ein Gemisch dreier bisher nicht bekannter Verbindungen, die wir als Durantolid I (2), Durantolid II (3) und Durantolid III (4) bezeichnen. Durantolid III wurde durch Verteilungschromatographie an Kieselgelsäulen mit Butanol/Toluol/Wasser abgetrennt. Das Gemisch aus Durantolid I und -II konnte durch Gegenstromverteilung in Chloroform/Äthanol/Wasser getrennt werden.

**Struktur der Durantolide**

Die Durantolide I, II und III liefern bei alkalischer Hydrolyse eine Iridoid-Carbonsäure (Lamiidsäure), die sich durch Methylierung mit Diazomethan in Lamiid überführen läßt. Daneben erhält man aus Durantolid I Zimtsäure, aus Durantolid II 4-Methoxyzimtsäure und aus Durantolid III 3,4-Dimethoxyzimtsäure. Die NMR-Spektren der Durantolide zeigten ein Singulett (3 H) bei etwa 3,8 ppm, das einer Carboxymethylgruppe im Iridoidanteil zuzuordnen ist. Die Durantolide sind demnach Ester des Lamiids und nicht der Lamiidsäure. Die Stellung der Acylgruppen ergibt sich aus den NMR- und Massenspektren der Durantolidtetraacetate (5, 6, 7), die bei der Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin bei Raumtemperatur als Hauptprodukt ent-

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. Rimpler, Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin, D-1000 Berlin 33 (Dahlem), Königin Luise-Str. 2–4.



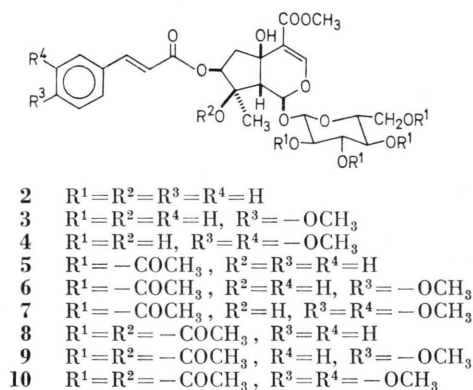
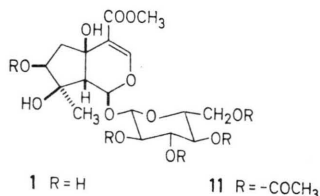
Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

stehen. Die Massenspektren zeigen wie bei Lamiid ein Fragment der MZ 331, das den acetylierten Zuckeranteil enthält und in charakteristischer Weise <sup>11</sup> weiter zerfällt. Die das Aglykon enthaltenen Bruchstücke haben dagegen bei Durantosid I um 130 Einheiten, bei Durantosid II um 160 Einheiten und bei Durantosid III um 190 Einheiten höhere Massenzahlen als bei Lamiid (s. Abb. 1). Die



geringen Mengen von Isomeren verunreinigt sind, bei denen die Zimtsäuren an die Glucosylreste gebunden sind: Die Massenspektren zeigen u. a. Fragmente, die sich nur als acylierte Zuckerbruchstücke deuten lassen (Durososid I:  $m/e$  293, Durososid II:  $m/e$  323, Durososid III:  $m/e$  353. Auch die NMR-Spektren zeigen schwache Signale bei 2,12–2,35 ppm (C(6)-H<sub>2</sub>) und 3,42–3,7 ppm (C(7)H). Die kristallinen Tetra- und Pentaacetate sind dagegen einheitlich.

### Beschreibung der Versuche

Die NMR-Spektren wurden mit einem Varian A 60, die Massenspektren mit einem Atlas CH<sub>4</sub>, die IR-Spektren mit einem Unicam SP 200 G und die UV-Spektren mit einem Zeiss PMQ II aufgenommen. Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler Heitzisch-Mikroskop bestimmt. Zur Säulenchromatographie verwendeten wir Kieselgel (Woelm) 0,063–0,2 mm, Aluminiumoxid W 200 neutral (Woelm), Celite 545 und zur Gelfiltration Sephadex (G 10, G 15). Die Gegenstromverteilung wurde mit der Steady State Distribution Machine Model 20 (Quickfit) durchgeführt. Das Pflanzenmaterial (oberirdische und unterirdische Teile) wurde zur Blütezeit in der Nähe von Calcutta gesammelt. Ein Herbarexemplar befindet sich im Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.

### Isolierung

750 g des getrockneten und gepulverten Pflanzenmaterials wurden mit 3 l reinem Äthanol und danach zweimal mit je 2 l 80-proz. Äthanol je 30 min lang unter Rückfluß gekocht. Die Extrakte wurden vereinigt, im Vakuum auf 150 ml eingeeengt, mit Celite verrieben und im Vakuum getrocknet. Der an 250 g Celite gebundene Extrakt wurde auf eine Celite-Säule gegeben (50 g Celite) und mit Hexan/Methylenchlorid 1:1 eluiert, bis der Durchlauf nur noch schwach gefärbt war (ca. 3 l). Diese Fraktion wurde verworfen. Anschließend wurde mit 4 l Methylenchlorid/Methanol 1:1 eluiert. Der nach dem Einengen verbliebene Rückstand dieses Eluates wurde in wenig Methanol aufgenommen, mit Celite verrieben, im Vakuum getrocknet und dann auf eine Aluminiumoxidsäule (500 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) gegeben. Elution mit 4 l Wasser ergab nach dem Einengen etwa 6 l g eines braunen, zähflüssigen Rückstandes, der an Celite gebunden und auf drei Kieselgelsäulen (je 600 g) gegeben wurde. Durch Gradientenelution mit Methylenchlorid/Methanol/Wasser (Anfangskonzentration 90:10:1, Endkonzentration 70:30:3) erhielten wir zwei iridoidhaltige Fraktionen.

Die hydrophilere Fraktion war einheitlich und lieferte nach Chromatographie an Sephadex 1,95 g (0,26%) Lamiid, das durch Vergleich (IR, NMR, MS) mit einer authentischen Probe aus *Chascanum cernuum*<sup>1</sup> identifiziert wurde.

Die lipophilere Fraktion (1,38 g = 0,18%) enthielt drei Verbindungen, die sich sehr ähnlich verhalten, aber aufgrund ihrer Farbreaktion bzw. Fluoreszenzen (4 fluoresziert im langwelligen UV, 3 färbt sich mit Vanillin-Schwefelsäure rötlich an) zu unterscheiden sind. Durch Verteilungschromatographie an Kieselgelsäulen mit Toluol/Butanol/Wasser 1:1:2 (Oberphase) wurde eine der Verbindungen abgetrennt. Nach anschließender Chromatographie an Sephadex erhielten wir 230 mg (0,03%) 4. Die beiden anderen Verbindungen wurden durch Gegenstromverteilung in Chloroform/Äthanol/Wasser 4:1:4 (Volumenverhältnis der Phasen 1,25: Phasentrennzeit 90 Minuten) getrennt. Nach 330 Verteilungsschritten enthielten die Elemente 302–314 315 mg dc einheitliches 2 und die Elemente 267–273 315 mg dc einheitliches 3. In den Elementen 273–302 waren noch beide Verbindungen nachweisbar.

### Eigenschaften der Durososide

#### Durososid I (2)

Farblose amorphe Substanz. UV-Spektrum (H<sub>2</sub>O):  $\lambda_{\max}$  282 ( $\epsilon$  = 19700), 224 ( $\epsilon$  = 17500) nm.

IR-Spektrum: 3010 w, 1700 s, 1630 s, 1600 s, 1500 w, 1290 s, 875 w, 780 w, 695 w cm<sup>-1</sup>. NMR (CD<sub>3</sub>OD): 7,82 (d, J = 17 Hz, 1 H); 7,58 (s, 1 H); 7,33–7,70 (m, 5 H); 6,63 (d, J = 17 Hz, 1 H); 5,92 (s<sup>+</sup>, 1 H); 4,62–5,03 (m, 2 H); 3,82 (s, 3 H); 3,73–4,05 (m, 1 H); 3,33–3,73 (m, 5 H); 3,0 (s<sup>+</sup>, 1 H); 2,30–2,62 (m, 2 H); 1,2 (s, 3 H) ppm. (s = Singulett, s<sup>+</sup> = breites Singulett, d = Duplett, m = Multipllett).

#### Durososid II (3)

Farblose amorphe Substanz. UV (H<sub>2</sub>O):  $\lambda_{\max}$  310 ( $\epsilon$  = 19900), 228 ( $\epsilon$  = 19900), 189 ( $\epsilon$  = 19300) nm. IR (KBr): 1700 s, 1630 s, 1600 s, 1510 s, 1040 m, 840 m cm<sup>-1</sup>. NMR (CD<sub>3</sub>OD): 7,78 (d, J = 16 Hz, 1 H); 7,48 (s, 1 H); 7,5–7,78 (m, 2 H); 6,86–7,12 (m, 2 H); 6,48 (d, J = 16 Hz, 1 H); 5,87 (s<sup>+</sup>, 1 H); 4,53–5,0 (m, 2 H); 3,84 (s, 3 H); 3,76 (s, 3 H); 3,67–3,97 (m, 1 H); 3,22–3,46 (m, 5 H); 2,98 (s<sup>+</sup>, 1 H); 2,33–2,6 (m, 2 H); 1,18 (s, 3 H) ppm.

**Durantosid III (4)**

Farblose amorphe Substanz. UV ( $H_2O$ ):  $\lambda_{max}$  311 ( $\epsilon = 14400$ ), 226 ( $\epsilon = 20600$ ), 191 ( $\epsilon = 21900$ ) nm. IR (KBr): 1700 s, 1630 s, 1510 s  $cm^{-1}$ . NMR ( $CD_3OD$ ): 7,77 (d,  $J = 17$  Hz, 1 H); 7,47 (s, 1 H); 6,8–7,33 (m, 3 H); 6,48 (d,  $J = 17$  Hz, 1 H); 5,86 ( $s^+$ , 1 H); 4,55–4,97 (m, 2 H); 3,67 (s, 3 H); 3,83 (s, 3 H); 3,76 (s, 3 H); 3,67–3,97 (m, 1 H); 3,18–3,53 (m, 5 H); 2,97 ( $s^+$ , 1 H); 2,33–2,58 (m, 2 H); 1,18 (s, 3 H) ppm.

**Acetylierung von Durantosid**

Je 100 mg **2**, **3** oder **4** wurden in 5 ml Pyridin gelöst, mit 5 ml Acetanhydrid 24 Stunden lang bei Raumtemperatur acetyliert und wie üblich aufgearbeitet. Die Acetate wurden säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/Aceton 8:2 getrennt und aus Äthanol-Wasser kristallisiert.

**Durantosid I-Tetraacetat (5)**

$C_{34}H_{40}O_{17}$  (720,68) Ber.: C 56,66 H 5,59,

Gef.: C 56,40 H 5,87.

Schmelzpunkt: 220–223 °C; MS:  $m/e$  (% Basispeak).

373 (0,32), 372 (0,42), 356 (0,36), 355 (1,5), 331 (25), 289 (0,31), 287 (0,47), 271 (13), 243 (0,42), 242 (0,47), 229 (2,2), 225 (4,2), 224 (18), 211 (5,7), 207 (19), 187 (3,1), 181 (3), 169 (100), 155 (8,4), 148 (21), 147 (18), 145 (7), 139 (5,2), 131 (25), 127 (15), 115 (11), 109 (53), 103 (16), 97 (95), 91 (47), 81 (79), 77 (12), 43 (84).

**Durantosid I-Pentaacetat (8)**

Schmelzpunkt 199–204 °C;  $M = 762$  (massenspektrometrisch).

**Durantosid II-Tetraacetat (6)**

$C_{35}H_{42}O_{18}$  (750,71) Ber.: C 55,60 H 5,64,

Gef.: C 56,13 H 5,93.

Schmelzpunkt: 232–235 °C; MS:  $m/e$  (% Basispeak).

402 (0,35), 385 (0,22), 367 (0,14), 331 (11), 289 (0,4), 271 (6,4), 242 (0,5), 229 (2,4), 225 (3,6), 224 (4,6), 211 (4,7), 207 (13), 178 (23), 177 (5,6), 169 (62), 161 (31), 157 (4), 155 (3,6), 147 (3,4), 145 (5,4), 139 (6), 133 (10), 127 (15), 121 (3,7), 118 (4), 115 (12), 109 (43), 103 (8,6), 98 (8,5), 97 (10), 91 (7,1), 89 (7,1), 85 (4,3), 81 (7,1), 79 (69), 77 (10), 43 (100).

**Durantosid II-Pentaacetat (9)**

Schmelzpunkt 161–166 °C;  $M = 792$  (massenspektrometrisch).

**Durantosid III-Tetraacetat (7)**

$C_{36}H_{44}O_{19}$  (780,73) Ber.: C 55,38 H 5,68,

Gef.: C 54,12 H 5,96.

Schmelzpunkt: 188–191 °C; MS:  $m/e$  (% Basispeak).

432 (0,16), 415 (0,08), 397 (0,06), 331 (10), 289 (0,23), 271 (3,5), 242 (0,29), 229 (1,6), 225 (2,8), 224 (1,7), 211 (3,4), 209 (2,3), 208 (19), 207 (8,9), 193 (61), 191 (12), 175 (1,6), 169 (36), 163 (2,8), 161 (1,5), 157 (2,7), 155 (2), 147 (3,7), 145 (3,4), 139 (4,2), 133 (2,4), 127 (9), 115 (8), 109 (28), 103 (6,8), 98 (5,7), 97 (6,5), 91 (7,7), 85 (3), 81 (4,8), 79 (2,8), 77 (7,5), 43 (100).

**Durantosid III-Pentaacetat (10)**

$M = 822$  (massenspektrometrisch).

**Hydrolyse**

100 mg **2**, **3** oder **4** wurden in 3 ml Wasser gelöst. Nach Zugabe von 3 ml gesättigter Bariumhydroxydlösung wurde fünf Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde die Lösung schnell mit 1 N Schwefelsäure auf pH 3 angesäuert und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Die wäßrige Lösung wurde mit Methylenchlorid ausgeschüttelt, mit Bariumcarbonat neutralisiert, anschließend filtriert und zur Trockne eingedampft. Wir erhielten in allen drei Fällen Lamiidsäure (IR, NMR, MS). Der bei pH 3 entstandene Niederschlag wurde mit Aceton ausgezogen und mit den Methylenchloridauszügen vereinigt. Nach dem Verdampfen der Lösungsmittel erhielten wir die entsprechenden Zimtsäuren, die aus Wasser kristallisiert und durch Vergleich mit authentischen Substanzen (IR, Fp) identifiziert wurden. Wir erhielten aus **2** Zimtsäure (16 mg; Schmelzpunkt: 133–134 °C), aus **3** *p*-Methoxyzimtsäure (20 mg; Schmelzpunkt: 170–171 °C) und aus **4** 3,4-Dimethoxyzimtsäure (18 mg; Schmelzpunkt: 176–180 °C).

**Methylierung der Lamiidsäure**

Die bei der Hydrolyse entstandene Lamiidsäure (insgesamt 184 mg) wurde in 80-proz. Methanol gelöst und mit Diazomethan methyliert. Das entstandene Gemisch aus Lamiid und Lamiidsäure

wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Butanol/Methanol/Wasser 4:1:5 (Oberphase) getrennt. Lamiid (38 mg) war nach Gelfiltration mit einer authentischen Probe identisch (IR, NMR, MS, dc).

Wir danken Herrn Prof. Dr. Ch. Leuckert, Institut für Pflanzensystematik, sowie Herrn R. Rosenow und Herrn G. Grelbig, Institut für Pharmazie der FU Berlin für die Aufnahme der Massen- und NMR-Spektren. Für die Durchführung der Elementaranalysen danken wir Herrn Dr. B. Angermann, Fa. Schering AG, Berlin.

<sup>1</sup> IV. Mitt.: H. Rimpler, *Phytochem.* **11**, 3094 [1972].

<sup>2</sup> Die Ergebnisse sind Teil der Dissertation, H. Timm, Freie Universität, Berlin, in Vorbereitung.

<sup>3</sup> R. S. Kapil, *Indian Chem. Soc.* **37**, 697 [1960].

<sup>4</sup> R. N. Chopra, R. L. Badhwar u. S. L. Nayar, *J. Bombay Nat. Hist. Soc.* **42**, 854 [1941].

<sup>5</sup> F. Yousef, S. K. Wahba Khalil u. S. P. Pappas, *Planta med. [Stuttgart]* **23**, 173 [1973].

<sup>6</sup> S. S. Subramanian u. A. G. R. Nair, *Phytochem.* **11**, 3095 [1972].

<sup>7</sup> G. Greshoff, *Mededeelingen uit Slands Plantentuin* **25**, 156 [1889].

<sup>8</sup> J. Cheymol, Diss. Paris 1937.

<sup>9</sup> P. Kooiman, *Acta bot. neerl.* **19**, 329 [1970].

<sup>10</sup> M. L. Scarpati u. M. Guiso, *Gazz. chim. ital.* **99**, 1150 [1969].

<sup>11</sup> H. Budzikiewicz, C. Djerassi u. D. H. Williams, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, **Vol. II**, Holden-Day, San Francisco 1964.

<sup>12</sup> T. W. Bentley, R. A. W. Johnstone u. J. Grimshaw, *J. chem. Soc. [London]*, Ser. C **1967**, 2234.