

Verbreitung von Iridoiden in der Gattung *Verbena* und einigen anderen Verbenoideae

Iridoids in *Verbena* and Some Other Verbenoideae

Sabine Milz [1] und Horst Rimpler

Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Freiburg, Schänzelstr. 1, D-7800 Freiburg

Z. Naturforsch. 34 c, 319–329 (1979); eingegangen am 20. Februar 1979

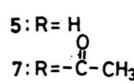
Iridoids, *Verbena*, *Citharexylum*, Chemotaxonomy, Pulchelloside

12 species of the genus *Verbena* and one *Citharexylum* species have been examined for iridoids. Besides the known compounds verbenaline, hastatoside, griselinoside, lamiide, ipolamiide and brasoside, two new iridoids, pulchelloside I (1) [2] and pulchelloside II (2) [3] have been isolated from *Verbena* species. The structures and absolute configurations of pulchelloside I and II have been determined by spectroscopic methods and some chemical reactions. *Citharexylum solanaceum* has been shown to contain lamiide and durantoside I. The distribution of the iridoids is in excellent agreement with the taxonomic treatment of the genus *Verbena* by Schauer. The taxonomic significance of our data and some data from the literature regarding the classification of the subfamily Verbenoideae is discussed.

Die Gattung *Verbena* ist eine der größten Gattungen der Verbenaceae. Sie umfasst 230 Arten. Gliederungsvorschläge auf Grund morphologischer Merkmale wurden vor allem von Schauer [4], Walpers [5], Moldenke [6] sowie von El-Gazzar und Watson [7] gemacht. Dabei unterscheiden sich besonders die Gliederungen von Schauer und Walpers zum Teil recht deutlich voneinander. Bisher wurden einige *Verbena*-Arten von Kooiman [8], Zufall und Richtmann [9], Cheymol [10] und Bourdier [11] auf das Vorkommen von Iridoidglykosiden untersucht. Die Iridoide aus zwei weiteren Arten wurden von Rimpler und Schäfer [12] isoliert. Wir haben nun zusätzlich 12 *Verbena*-Arten auf Iridoidglykose untersucht, um festzustellen, ob die Akkumulation bestimmter Iridoidtypen zusätzliche Argumente für eine natürliche Untergliederung der Gattung *Verbena* liefern kann. Darüberhinaus sollte es nach Kenntnis der in *Verbena*- und *Citharexylum*-Arten vorkommenden Iridoidtypen möglich sein, die Iridoidverbreitung innerhalb der Unterfamilie Verbenoideae zu diskutieren und mit verschiedenen Gliederungsvorschlägen zu vergleichen.

Ergebnisse

Verbena pulchella Sweet

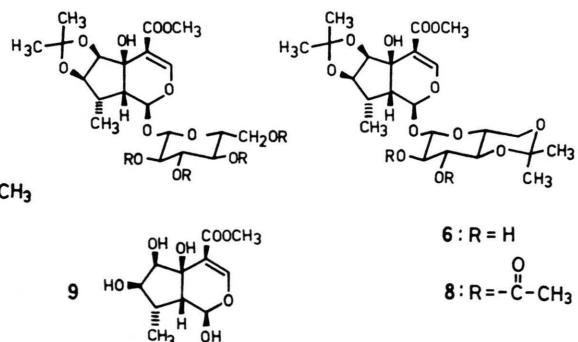
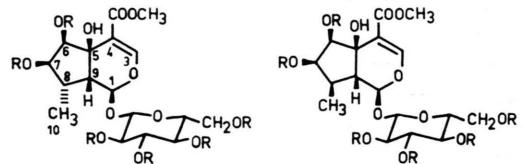


Aus *Verbena pulchella* wurden zwei neue Iridoidglykoside isoliert, für die wir die Namen Pulchel-

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. Rimpler.

0341-0382 / 79 / 0500-0319 \$ 01.00/0

sid I und Pulchellosid II und die Strukturen **1** und **2** vorschlagen. Für die Iridoidstruktur von Pulchellosid I mit der Gruppierung O – CH = CR – COOCH₃ sprechen folgende spektroskopische Daten: UV: $\nu_{\text{max}}^{\text{MeOH}} = 233 \text{ nm}$; IR: $\nu = 1687, 1625 \text{ cm}^{-1}$; NMR: $\delta = 3,79$ (3 H, s, COOCH₃), 5,83 (1 H, s, C(1) – H), 7,68 ppm (1 H, s, C(3) – H). Außerdem ergibt **1** wie die meisten Iridoide [13] beim Erhitzen mit



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 digitized 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.

wäßrigen Säuren eine gefärbte Lösung, aus der sich ein dunkler Niederschlag abscheidet. Die Molekülmasse von **1** (422) ergibt sich aus dem GC-MS der silylierten Verbindungen (s. Abb. 1). Bei der Acetylierung von **1** entsteht ein Hexaacetat (**3**) das nach dem NMR-Spektrum (3,34 ppm, 1 H, s) und dem IR-Spektrum (3440 cm⁻¹) noch eine freie tertiäre Hydroxygruppe enthält. Diese sollte am C-5 stehen, da sie mit Acetanhydrid/Pyridin bei Raumtemperatur praktisch nicht acetyliert wird [14] und weil das C(3)-H-Signal in den NMR-Spektren von **1** und **3** ein scharfes Singulett ist. Auch die übrigen NMR-Daten von **1**, **3**, **7** und **8** stehen mit dieser Stellung in Einklang. Von den 6 acetylierbaren Hydroxygruppen in **1** entfallen 4 auf den Zuckeranteil, der nach Hydrolyse mit β -Glucosidase dünnenschichtchromatographisch als Glucose identifiziert wurde. Die verbleibenden 2 Hydroxygruppen stehen am 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 und daß das C-9 ebenfalls ein H-Atom trägt. Setzt man **1** mit Aceton/Molybdatophosphorsäure [15] um, so entstehen als Hauptprodukte das Monoacetonid **5** und das Diacetonid **6**, die durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie getrennt wurden. Anschließende Acetylierung ergab die Acetate **7** und **8**, die beide nach Befunden aus den NMR- und IR-Spektren eine freie OH-Gruppe am C-5 enthalten. Die Bildung der Acetonide spricht für die *cis*-Anordnung der OH-Gruppen an C-6 und C-7. Durch Spinentkopplung konnten alle Signale und Kopplungskonstanten im NMR-Spektrum von **7** bestimmt und zugeordnet werden. Die Konformation des Cyclopentanringes und die relative Konfiguration am C-6, C-7, C-8 und C-9 konnten über die Kopplungskonstanten $J_{6,7}$, $J_{7,8}$ und $J_{8,9}$ nach der bereits ausführlich beschriebenen Methode [16, 17, 2] ermittelt werden. Vergleicht man die aus den NMR-Spektren von **5** und **8** entnommenen Werte mit den nach

Steyn und Sable [18] für alle envelope(V)- und twist(T)-Konformationen des Cyclopentanringes berechneten Kopplungskonstanten, so ergibt sich nur für zwei Fälle eine Übereinstimmung zwischen den drei Wertepaaren: 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) stehen, und für die V₇-Konformation, wenn die gleichen Substituenten unterhalb der Ringebene (α) stehen. Beide Konformationen sind, wie Dreiding-Modelle zeigen, nur mit einer *cis*-Verknüpfung der Ringe vereinbar. Damit ist die relative Konfiguration des Cyclopentanringes von **1** bewiesen. Die relative Konfiguration am C-1 läßt sich aus der Kopplungskonstante $J_{1,9} = 1,5$ Hz ableiten. Dieser Wert spricht für eine *trans*-Anordnung der Protonen am C-1 und C-9, wobei das C(1)-H äquatorial angeordnet ist. Die absolute Konfiguration wurde für das C-1 nach den Regeln der Isorotation [19] bestimmt: Enzymatische Hydrolyse von **1** liefert das Aglykon **9**. Vergleicht man die Molrotation von **1** ($M_D = -628^\circ$) und **9** ($M_D = +181^\circ$), 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. Vergleicht man die gemessenen Kopplungskonstanten mit den für die ⁷V-Konformation des Cyclopentanringes und für eine HC₉¹-ähnliche Konformation des Dihydropyranringes berechneten Werten, so findet man gute Übereinstimmung (s. Tab. I). Pulchellosid I besitzt demnach die Struktur und Konfiguration **1**.

Pulchellosid II (**2**) ist ein Isomeres von **1**: Die Molekülmasse von **1** und **2** ist identisch. Wie **1** wird auch **2** durch Acetylierung in ein Hexaacetat (**4**) überführt, das ebenfalls eine freie tertiäre OH-Gruppe enthält. Bei der Umsetzung mit Aceton/Molybdatophosphorsäure [15] bilden sich auch aus **2** ein Monoacetonid **10** und ein Diacetonid, was wiederum für zwei benachbarte *cis*-ständige OH-Gruppen spricht. **10** enthält noch eine freie OH-Gruppe, die schwer acetylierbar ist und demnach am

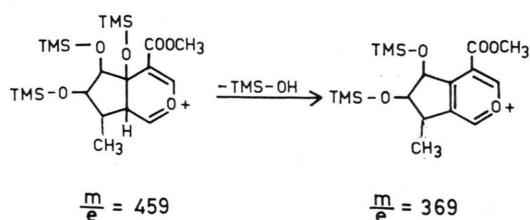
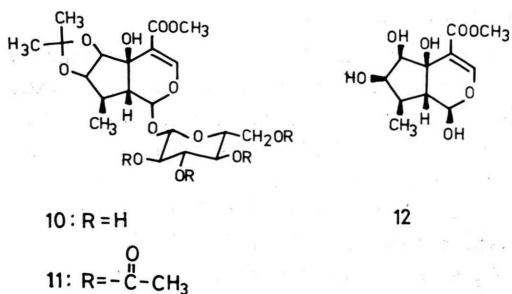


Abb. 1. Wichtige Fragmente im Massenspektrum der TMS-Äther von Pulchellosid I und II.

Tab. I. Vergleich der für die ⁷V-Konformation berechneten Kopplungskonstanten mit den für **7** 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



C-5 stehen sollte. Vergleicht man die NMR-Spektren von Pulchellosid I und II und von ihren Derivaten miteinander, so stimmen sie hinsichtlich Zahl und Multiplizität der Signale überein. Sie unterscheiden sich nur durch die Größe einiger Kopplungskonstanten und durch eine geringfügige chemische Verschiebung einiger Signale. **2** sollte daher kein Strukturisomeres sondern ein Stereoisomeres von **1** sein. Die absolute Konfiguration am C-1 wurde nach den Regeln der Isorotation [19] bestimmt. Enzymatische Hydrolyse von **2** mit β -Glukosidase liefert das Aglykon **12**. Der Zuckeranteil wurde dünnenschichtchromatographisch als Glucose identifiziert. Vergleicht man die Molrotation von **2** ($M_D = -401^\circ$) mit der des Aglykons ($M_D = +67^\circ$), so ergibt sich auch hier ein negativer Drehungsbeitrag für das C-1. **2** sollte daher am C-1 die gleiche Konfiguration wie Pulchellosid I besitzen. Aus der Kopplungskonstanten $J_{1,9} = 1,4$ Hz lässt sich dann die Konfiguration am C-9 ableiten. Dieser Wert spricht wiederum für eine *trans*-Anordnung der Protonen an C-1 und C-9 bei äquatorialer Stellung des C(1)-H und einer HC₉¹-Konformation des Dihydropyranringes. Das H am C-9

Tab. II. Vergleich der für die ⁷V, ⁷T₈, V₈ berechneten Kopplungskonstanten mit den für **II** gefundenen Werten.

Kopplungskonstante

<i>J</i> [Hz] gemessen	berechnet für ⁷ V	⁷ T ₈	V ₈ [Hz]
<i>J</i> _{1,9}	1,4	0,4	1,3
<i>J</i> _{6,7}	5,4	5,4	6,5
<i>J</i> _{7,8}	5,4	5,4	5,1
<i>J</i> _{8,9}	12,6	7,2 *	8,5 *
			9,4 *

* Die Diskrepanz zwischen dem gemessenen Wert von 12,6 Hz und dem berechneten Wert 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 Sable [18] erklären, nach der *J* nicht größer als 9,5 werden kann. Werte von 11 Hz für *trans*-ständige H-Atome in Iridoiden wurden bereits beobachtet [38].

ist also β -ständig. Die Konfiguration am C-6, C-7 und C-8 und die Konformation des Cyclopentanringes können über die Kopplungskonstanten $J_{6,7}$, $J_{7,8}$ und $J_{8,9}$ [16, 3] sowie NOE-Experimente [20, 21] bestimmt werden. Vergleicht man die dem NMR-Spektrum von **II** entnommenen Kopplungskonstanten mit den von Steyn und Sable [18] für den Cyclopentanring berechneten Werten, so ergibt sich für drei Fälle Übereinstimmung zwischen allen drei 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 auf Grund der Kopplungskonstanten nicht entschieden werden kann: 1) die CH₃-Gruppe am C-8 und die OH-Gruppen an C-6 und C-7 stehen oberhalb der Ringebene (**13**; ⁷V, ⁷T₈-Konformation); 2) die gleichen Substituenten stehen unterhalb der Ringebene (**14**; ⁶T₇, ⁷V, V₇, ⁷T₆-Konformation) (s. Abb. 2).

Welches der Stereoisomeren (**13** oder **14**) vorliegt, konnte über die NMR-Spektren der Monoacetonidacetate **7** und **II** durch NOE-Experimente nachgewiesen werden. Strahlt man beim Signal der C(10)-H₃-Gruppe ein, erhöht sich bei **7** 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 in relativ geringem Abstand von der

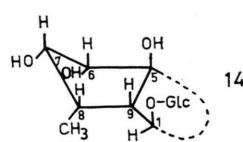
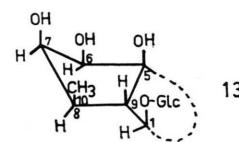
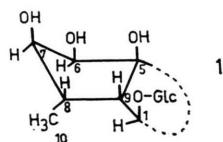
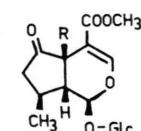
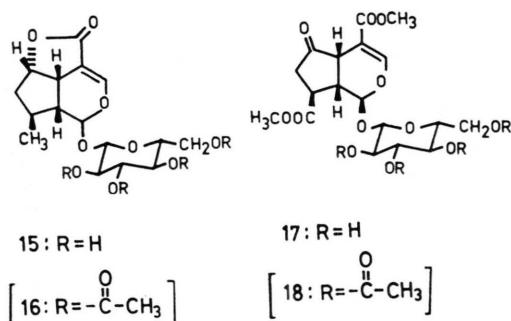


Abb. 2. Mit den Kopplungskonstanten vereinbare Konfigurationen von Pulchellosid II (**13** und **14**) und Pulchellosid I (**1**; jeweils in der ⁷V-Konformation).

C(10)-H₃-Gruppe angeordnet sind. Die Intensität des Signals für das C(9)-H wird nicht erhöht. Diese Ergebnisse stimmen sehr gut mit der von uns vorgeschlagenen Struktur für 7, bzw. 1 überein: Am Dreiding-Modell kann man für die ⁷V-Konformation folgende Abstände bestimmen: CH₃→C(1)-H: 1,8 Å; CH₃→C(9)-H: 3,7 Å; CH₃→C(8)-H: 2,1 Å; CH₃→C(7)-H: 2,1 Å; CH₃→C(6)-H: 2,6 Å. Bei 11 wurde beim Einstrahlen der Frequenz des C(10)-H₃-Signals die Intensität des C(9)-H-Signals erhöht, was nur bei einer *cis*-Stellung von C(9)-H und C(10)-H₃-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 13 bzw. 11 vereinbar. Die am Dreiding-Modell gemessenen Abstände stimmen in diesem Fall mit den Ergebnissen überein: CH₃→C(9)-H: 2,1 Å; CH₃→C(1)-H: 2,4 Å; CH₃→C(7)-H: 2,8 Å; CH₃→C(6)-H: 4,8 Å. Der Cyclopentanring sollte bevorzugt in der ⁷V, ⁷T₈ und V₈-Konformation vorliegen (s. Tab. II). Diese Konformationen sind, wie Dreiding-Modelle zeigen, nur mit einer *cis*-Verknüpfung der beiden Ringe zu vereinbaren. Daraus ergibt sich die absolute Konfiguration 2 für Pulchellosid II.



I. Verbenalintyp

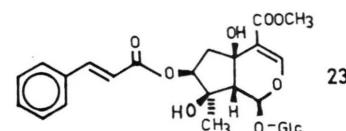
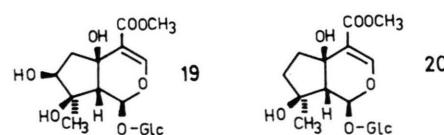
Abb. 3. Aus Verbenoideae isolierte Iridoide, eingeteilt nach Lamiid- und Verbenalintyp.

Verbena brasiliensis Pellozo

Aus *Verbena brasiliensis* wurde eine Verbindung isoliert, die auf Grund ihrer spektroskopischen Daten eine dem Verbenalin ähnliche Iridoidgrundstruktur besitzen sollte. Die NMR-Spektren dieser Verbindung und ihres Tetraacetates unterscheiden sich von den Spektren des Verbenalins und Verbenalinacetates hauptsächlich durch das Fehlen des COOCH₃-Signals, die IR-Spektren durch das Fehlen der Esterbande bei 1695 cm⁻¹. Trotzdem sollte die Verbindung auf Grund ihrer UV-Absorption ($\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} = 233 \text{ nm}$) und des IR-Spektrums ($\nu = 1735 \text{ cm}^{-1}$) eine Carboxyl- oder Carboxyalkylgruppe am C-4 enthalten. Da aber weder im NMR- noch im IR-Spektrum Signale für eine freie COOH-Gruppe auftreten, müßte es sich um das Lakton 15 handeln. Das Acetat dieser Verbindung (16) wurde vor kurzem aus Verbenalin synthetisiert [12]. Durch Vergleich von 16 mit der aus *Verbena brasiliensis* isolierten Verbindung wurde die Struktur 15 bewiesen. Wir schlagen für diese Verbindung den Namen Brasosid vor.

Verbena rigida Spreng

Aus *Verbena rigida* wurde eine Verbindung (17) isoliert, die ebenfalls spektroskopische Daten lieferte, die denen des Verbenalins sehr ähnlich sind. Allerdings fehlt im NMR-Spektrum das Signal der C(10)-H₃-Gruppe, dafür treten zwei Signale für COOCH₃-Gruppen auf (3,80 ppm, s, 3H und 3,83 ppm, s, 3H). Durch Acetylierung entsteht ein Tetraacetat (18), das keine freie OH-Gruppe enthält. In dem 270 MHz-NMR-Spektrum von 18 kann man durch Spinentkopplung alle Protonensignale zuordnen und die Kopplungskonstanten bestimmen. Aus diesen Daten kann man die angegebene Struktur und – mit Vorbehalt – die angegebene Konfiguration ableiten.



II. Lamiidtyp (hierzu gehören auch 1 und 2, s. o.)

17 wurde bereits von Jensen und Nielsen aus *Griseolina littoralis* isoliert und als Griselinosid [22] bezeichnet. Die Struktur wurde durch Korrelation mit Forsythid bewiesen [23]. Ein direkter Vergleich mit einer authentischen Probe zeigte, daß unsere Verbindung **17** mit Griselinosid identisch ist. Griselinosid wurde von uns auch aus *Verbena bonariensis* L. und *V. hispida* Ruiz et Pav. isoliert.

Weitere *Verbena*-Arten

Aus weiteren 7 *Verbena*-Arten wurden die Iridoidglykoside isoliert und identifiziert. In Tab. III sind unsere Untersuchungsergebnisse und die Ergebnisse anderer Autoren über das Iridoidvorkommen in der Gattung *Verbena* zusammengefaßt. Die untersuchten Arten wurden nach dem System von Schauer angeordnet.

Bei den Arten der Untergattung *Verbenaca* unterscheiden sich unsere Ergebnisse häufig von den dünnsschichtchromatographischen Befunden von Kooiman.

Tab. III. In *Verbena*-Arten nachgewiesene Iridoide. Die Arten sind nach dem System von Schauer [4] geordnet.

Gattung: <i>Verbena</i>	
Sectio I — Verbenaca:	
§ 3: Pachystachyae:	
<i>Verbena rigida</i> Spreng	Griselinosid (17) ^a
<i>Verbena hispida</i> Ruiz et Pav.	Griselinosid (17) ^a
<i>Verbena bonariensis</i> L.	Griselinosid (17) ^a
<i>Verbena brasiliensis</i> Pellozo	Brasosid (15) ^a
§ 5: Leptostachyae:	
<i>Verbena urticifolia</i> L.	Verbenalin (21) [9] ^a , Hastatosid (22) ^a
<i>Verbena carolina</i> L.	Verbenalin (21) ^a , Hastatosid (22) ^a
<i>Verbena macdougalii</i> Heller	Verbenalin (21) ^{a, b} , Hastatosid (22) ^a
<i>Verbena hastata</i> L.	Verbenalin (21) [9, 12], Hastatosid (22) [12]
<i>Verbena officinalis</i> L.	Verbenalin (21) [11], Hastatosid (22) [12]
<i>Verbena bracteata</i> Lag. et Rodr.	Verbenalin (21) [9] ^a , Hastatosid (22) ^a , Brasosid (15) ^a
Sectio II — Glandularia:	
<i>Verbena canadensis</i> (L.) Britton	Lamiid (19) ^{a, b} , Ipolamiid (20) ^a
<i>Verbena elegans</i> H. B. K.	Lamiid (19) ^a , Ipolamiid (20) ^a
<i>Verbena bipinnatifida</i> Nutt.	Lamiid (19) ^{a, b}
<i>Verbena pulchella</i> Sweet	Pulchellosid I (1) ^a , Pulchellosid II (2) ^a
<i>Verbena tenera</i> Spreng	Lamiid (19) ^b

^a Ergebnisse eigener Untersuchungen.

^b Chromatographische Nachweise durch Kooiman [8].

man [8]. Das ist wohl vor allem darauf zurückzuführen, daß Verbenalin, Griselinosid und Brasosid in den üblichen papier- und dünnsschichtchromatographischen Systemen schlecht voneinander zu unterscheiden sind. Erstaunlich ist allerdings, daß Kooiman in keiner der von ihm untersuchten Arten Hastatosid nachweisen konnte. Die Methodik von Kooiman läßt also über die Verbreitung der für die Untergliederung der Untergattung *Verbenaca* relevanten Iridoide offenbar keine sichere Aussage zu. Wir haben daher seine Ergebnisse bei Arten der Untergattung *Verbenaca* nur dann aufgeführt, wenn sie durch unsere Befunde bestätigt wurden.

Darüberhinaus haben wir in allen Fällen versucht, auch geringe Mengen von Hastatosid, Verbenalin, Griselinosid und Brasosid durch HPLC und GC nachzuweisen. Wenn also diese Verbindungen in der Tabelle nicht aufgeführt sind, bedeutet es, daß sie in dem von uns untersuchten Pflanzenmaterial nicht in nennenswerten Mengen (etwa 0,001% oder weniger) akkumuliert wurden.

Citharexylum solanaceum Cham

Von der Gattung *Citharexylum*, die ebenfalls zu den Verbenoideae gehört und bisher noch nicht auf Iridoidglykoside untersucht wurde, haben wir *C. solanaceum* auf das Vorkommen von Iridoiden geprüft. Es konnten zwei Iridoide isoliert werden. Von beiden wurden NMR-, IR- und Massenspektren aufgenommen. Durch Vergleich der spektroskopischen Daten mit Spektren von bekannten Iridoiden wurde die polarere Verbindung als Lamiid (**19**) identifiziert. Die Daten der zweiten Verbindung wiesen darauf hin, daß ein Lamiidester vorliegen sollte. Ein direkter Vergleich mit einer authentischen Probe zeigte, daß diese Substanz mit Durantosid I (**23**) identisch ist.

Diskussion

Unsere Ergebnisse (s. Tab. III) zeigen, daß das Iridoidvorkommen in der Gattung *Verbena* gut mit der Einteilung der Gattung auf Grund morphologischer Merkmale durch Schauer [4] in Einklang steht. Obwohl im Vergleich zur Größe der Gattung nur relativ wenige Arten untersucht wurden, lassen sich auf verschiedenen Ebenen der Gliederung bereits deutliche Korrelationen erkennen: 1) Alle bisher untersuchten Arten der Untergattung *Verbenaca* enthalten Verbenalin oder verbenalinähnliche Ir-

doide. In der Untergattung *Glandularia* wurden dagegen bisher nur Lamiid oder ähnliche Iridoide nachgewiesen. Dieser deutliche Unterschied in der Iridoidführung der beiden Untergattungen (Sektionen sensu Schauer) steht im Einklang mit der auf Grund morphologischer Merkmale angenommenen relativ selbständigen Stellung dieser Untergattungen [24, 25]. Darüberhinaus enthält die als ursprünglicher angesehene Untergattung *Verbenaca* [24] auch den wohl ursprünglicheren [26] Verbenalintyp der Iridoide.

2) Auch die beiden Sektionen Pachystachyae und Leptostachyae (Subsektionen sensu Schauer) sind anscheinend durch das Vorkommen bestimmter Iridoide charakterisiert. Hastatosid und Verbenalin wurden bisher nur in den Leptostachyae sicher nachgewiesen. Alle bis jetzt untersuchten Arten der Pachystachyae akkumulieren dagegen kein Hastatosid und wahrscheinlich auch kein Verbenalin, sondern nur verbenalinähnliche Iridoide wie Brasosid oder Griselinosid. Die Unterschiede in der Iridoidführung sind hier zwar geringer als auf der Ebene der Untergattungen aber trotzdem relativ deutlich.

3) Besonders große Ähnlichkeit in der Iridoidführung konnten wir bei Arten feststellen, die auf Grund morphologischer Merkmale als sehr nahe verwandt gelten [24]. So enthalten *Verbena bonariensis* und *V. rigida* Griselinosid, sowie *V. canadensis* und *V. elegans* Lamiid neben Ipolamiid, während andere Arten der gleichen Untergattung bzw. Sektion ein anderes Iridoidmuster aufweisen.

Diese Befunde über das Iridoidvorkommen in der Gattung *Verbena* stimmen sehr gut mit der Einteilung der Gattung durch Schauer [4] überein. Auch die Gliederungen von El-Gazzar und Wason [7] und Moldenke [6] sind mit unseren Befunden vereinbar, da die jeweils unterschiedlich eingestuften Arten bisher nicht untersucht werden konnten. Die Untergliederung der Gattung *Verbena* durch Walpers [5] steht dagegen in deutlichem Widerspruch zu unseren Ergebnissen: In der Gruppe Micrantha-Holophyllae und Micrantha-Schizophyllae werden von Walpers Arten zusammengefaßt, die teils zu den Pachystachyae teils zu den Leptostachyae Schauer zu rechnen sind, und die sich in ihrer Iridoidführung relativ deutlich voneinander unterscheiden. Auch die Gliederung der Gattung in zwei relativ selbständige Untergattungen (*Verbenaca* und *Glandularia* sensu Schauer), die durch die Iridoidverbreitung gestützt wird, kommt in seinem Gliederungsvorschlag nicht zum Ausdruck.

4) Unsere Untersuchungsergebnisse über die Akkumulation von Iridoiden in den Gattungen *Verbena* und *Citharexylum* sollten zusammen mit den bereits bekannten Befunden über Iridoide in *Duranta* [27, 28], *Stachytarpheta* [29] und *Bouchea* [30] Hinweise auf eine natürliche Gliederung der Verbenoideae in Tribus, bzw. Subtribus geben können. Die Verbenoideae werden von allen Autoren, besonders auch von El-Gazzar und Watson [7] sowie Junell [31], die im übrigen den Lamiaceae-Verbenaceae-Komplex weitgehend neugliedern, als eine sehr einheitliche Sippe angesehen. Allerdings wird diese Unterfamilie zum Teil recht unterschiedlich weiter in Tribus, bzw. Subtribus unterteilt (s. Tab. IV). Das Iridoidvorkommen korreliert am besten mit dem

Tab. IV. Gliederungen der Verbenoideae.

El-Gazzar and Watson [7] Gruppe II	Schauer [4] Tribus Verbeneae	Moldenke [6] Unterfamilie Verbenoideae	Melchior [37] Unterfamilie Verbenoideae
Gruppe 784: Gruppe 743: <i>Verbena</i> <i>Priva</i>	Subtribus Verbeneae: <i>Verbena</i> <i>Priva</i> <i>Bouchea</i> <i>Stachytarpheta</i> <i>Lippia</i>	Tribus Euverbeneae: <i>Verbena</i>	Tribus Verbeneae: <i>Verbena</i>
Gruppe 742: <i>Stachytarpheta</i> <i>Bouchea</i> <i>Citharexylum</i> <i>Petrea</i>	Subtribus Lantaneae: <i>Lantana</i>	Tribus Lantaneae: <i>Lippia</i> <i>Lantana</i> <i>Bouchea</i> <i>Stachytarpheta</i> <i>Petrea</i>	Tribus Citharexyleae: <i>Citharexylum</i> <i>Duranta</i>
Gruppe 745: <i>Lippia</i> <i>Lantana</i>	Subtribus Duranteae: <i>Duranta</i>	Tribus Petreae: <i>Petrea</i>	Tribus Priveae: <i>Priva</i>
	Subtribus Petreae: <i>Petrea</i>	Tribus Citharexyleae: <i>Citharexylum</i> <i>Duranta</i>	Tribus Lantaneae: <i>Bouchea</i> <i>Lantana</i> <i>Lippia</i> <i>Stachytarpheta</i>

Tab. V. Verbreitung von Iridoiden innerhalb der Unterfamilie Verbenoideae. Gliederung nach El-Gazzar und Watson [7].

Gruppe II (Verbenaceae — Verbenoideae)

Gr. 745: *Lippia*
Lantana

Gr. 784:

Gr. 743: <i>Verbena</i> :	Lamiidtyp (19, 20, 1, 2), Verbenalintyp (21, 22, 15, 17)
<i>Priva</i> :	
Gr. 742: <i>Stachytarpheta</i> :	Lamiidtyp (20) [29]
<i>Bouchea</i> :	Lamiidtyp (19) [30]
<i>Petrea</i> :	
<i>Citharexylum</i> :	Lamiidtyp (19, 23) ^a
<i>Duranta</i> *:	Lamiidtyp (19, 23, Durantoside II, III, IV) [27, 28]

* *Duranta*-Arten wurden von El-Gazzar und Watson zwar nicht untersucht, da aber alle anderen Autoren [4, 6, 37] eine nahe Verwandtschaft zwischen *Citharexylum* und *Duranta* annehmen, ist die Gattung hier aufgeführt.

^a Eigene Untersuchungen.

System von El-Gazzar und Watson [7] (s. Tab. V), obwohl die anderen Gliederungen nach den bisherigen Ergebnissen nicht sicher auszuschließen sind.

Besonders auffällig ist, daß in allen untersuchten Gattungen der Gruppe 784 der Lamiid-Iridoidtyp gefunden wurde. Die weitere Unterteilung dieser Gruppe korreliert gut mit dem Befund, daß in der Gattung *Verbena* (Gr. 743) neben dem Lamiidtyp auch der Verbenalintyp vorkommt, während in den Gattungen der Gruppe 742 dieser Iridoidtyp bisher nicht nachgewiesen wurde. Diese Gruppe 742 scheint in ihrer Iridoidführung sehr einheitlich zu sein. Die Akkumulation des gleichen Lamiidesters in *Citharexylum* und *Duranta* steht im Einklang mit der nahen Verwandtschaft dieser beiden Gattungen, wie sie bei allen Autoren zum Ausdruck kommt. Auch in den übrigen Gattungen dieser Gruppe, die von den anderen Autoren auf mehrere verschiedene Tribus bzw. Subtribus verteilt werden, sind bisher sehr ähnliche Verbindungen (Lamiid und Ipolamiid) nachgewiesen worden.

Die Absonderung von *Lantana* und *Lippia* als eigene Gruppe (745) durch El-Gazzar und Watson wird nach Ergebnissen von Kooiman [8] und eigenen Untersuchungen nur insofern gestützt, als bisher noch keines der in den näher verwandten Gattungen vorkommenden Iridoide in *Lantana* und *Lippia* nachgewiesen werden konnte.

Bei dieser Diskussion ist allerdings zu berücksichtigen, daß Lamiid und lamiidähnliche Iridoide nicht nur in Gattungen der Verbenoideae sondern

auch in *Caryopteris* [32] (Caryopterideae, Verbenaceae), *Lamium* [33] und *Phlomis* [34] (Stachyioideae, Labiateae) und *Hebenstreitia* [35] (Selaginoidae, Scrophulariaceae) vorkommen. Über die chemotaxonomische Relevanz dieser Befunde läßt der augenblickliche Kenntnisstand noch keine sichere Aussage zu. Alle bisherigen Befunde sprechen aber dafür, daß die Verbreitung bestimmter Iridoidtypen — zumindest innerhalb der Verbenoideae — ein geeignetes Merkmal für die Umgrenzung von Tribus, Subtribus, Gattung und infragenerischen Einheiten ist.

Material und Methoden

Das Pflanzenmaterial wurde in der Regel durch eigenen Anbau gewonnen und von uns nachbestimmt. Samen bezogen wir im Austauschsystem von anderen botanischen Gärten. Geerntet wurde jeweils zur Blütezeit. Das Material von *Verbena carolina* L. stammt aus Wildvorkommen in Mexiko. *Citharexylum solanaceum* wurde in Brasilien ebenfalls von wildvorkommenden Pflanzen gesammelt. Belegexemplare befinden sich im Herbar des Instituts für Pharmazeutische Biologie der Universität Freiburg.

Bei der HPLC wurde mit folgender Gerätekombination gearbeitet: Pumpen 6000 A, Differential Refraktometer R 401 (Waters); Spektral Detektor SF 770 (Schoeffel); Probensammeleinrichtung PWK C 7 4000 (Siemens). Als Säulenmaterialien wurden für analytische Zwecke μ -Bondapack-C₁₈ (Waters), für präparative Zwecke Partisil 10-ODS (Whatman) verwendet. Fließmittel waren Methanol/Wasser-Gemische (etwa 20% Methanol für die Iridoide, 40 bis 50% Methanol für die Iridoidacetate und -acetonide).

Die NMR-Spektren für die NOE-Messungen von Pulchelllosid I und II wurden mit einem Bruker WH 90 Puls-Spektrometer aufgenommen. Für die NOE-Messungen wurden je 15 mg 7 und 11 in CDCl₃ gelöst. Die NMR-Röhrchen wurden unter Kühlung in flüssiger Luft bis zu 10⁻⁴ Torr evakuiert und zugeschmolzen. Es wurde nach der „gated“-Technik gemessen [20, 21, 36]. Je 50 Scans wurden akkumuliert. Es wurde mit dem „homod-écoupler“ bei der C(10)-H₃-Resonanz eingestrahlt. Ein Referenzspektrum wurde erhalten, indem man die „homodecoupling“-Frequenz um 800 Hz verschob. Subtraktion der beiden Spektren zeigte die Protonensignale, die durch NOE verstärkt wurden.

Die NMR-Spektren für die Spinentkopplungsexperimente von Griselinosid wurden mit einem Bruker

WH 270-Gerät aufgenommen. Bei der GC-MS wurde mit einem Gaschromatographen von Perkin-Elmer F-21, der mit einem Hitachi RMV 6 D-Massenspektrometer gekoppelt ist, gearbeitet. Getrennt wurde an OV-17 Kapillarsäulen (25 m) bei etwa 250°. Die Iridoidglykoside wurden mit TMSi-S-Universalreagenz (Serva) silyliert. Je 1 mg Iridoidsubstanz wurde mit 100 µl TMSi-S 2 Stunden bei Raumtemperatur umgesetzt.

Isolierung

270 g getrocknetes und zerkleinertes Pflanzenmaterial der oberirdischen Teile von *Verbena pulchella* wurde einmal mit 800 ml siedendem Äthanol und danach zweimal mit je 600 ml Äthanol/Wasser (80:20) je 30 min extrahiert und eingeengt. Der Rückstand wurde mit Celite verrieben, getrocknet und an einer Celitesäule mit Hexan-Dichlormethan (1:1) und Methanol-Dichloromethan (1:1) eluiert. Die hydrophilere iridoidhaltige Fraktion wurde weiter an Kieselgelsäulen mit Methanol-Dichlormethan-Wasser-Gemischen (25:75:2,5), Aluminiumoxid-säulen mit Äthanol-Wasser-Gemischen (etwa 70:30) und XAD-7-Adsorberharzsäulen mit Wasser aufgetrennt. Erhalten wurden Fraktionen mit angereichertem Pulchellosid I (etwa 2 g) und angereichertem Pulchellosid II (etwa 1 g) neben Mischfraktionen. Vollständig getrennt wurden die isomeren Iridoide durch HPLC. Pulchellosid II wurde durch Umkristallisation aus Wasser gereinigt. Nach der gleichen Methode wurde bei der Aufarbeitung des anderen Pflanzenmaterials vorgegangen, wenn es auf die Isolierung von Iridoidglykosiden in größeren Mengen ankam. Die Ausbeuten lagen jeweils zwischen 0,1 und 0,25% (bezogen auf getrocknetes Pflanzenmaterial) für Hauptkomponenten, wie z. B. Verbenalin, Hastatosid, Griselinosid, Brasosid, Lamiid und Durantosid I. Von Ipolamiid aus *Verbena elegans* und *V. canadensis* sowie Brasosid aus *V. bracteata* wurden etwa 0,04% isoliert. Bei der Aufarbeitung kleinerer Mengen von Pflanzenmaterial, wie sie bei vielen Arten zur Identifizierung der bekannten Iridoide ausreichte, wurde etwa 50 g Pflanzenmaterial mit Methanol extrahiert, der getrocknete Rückstand mit Wasser aufgenommen, filtriert, eingeengt und ebenfalls säulenchromatographisch oder durch HPLC aufgetrennt. Von den bereits bekannten Iridoiden wurde meist nur eine zur Identifizierung ausreichende Menge isoliert.

Identifizierung

Bekannte Verbindungen wurden durch direkten Vergleich mit authentischen Substanzen identifiziert. Neben den chromatographischen Methoden (DC, GC, HPLC) wurden in jedem Fall die IR-Spektren, zum Teil auch die NMR-Spektren verwendet. Fließmittel für die DC waren hauptsächlich Dichlormethan-Methanol-Wasser-Gemische (etwa 75:25:2,5) und Butanol-Methanol-Wasser-Gemische (4:1:5, Oberphase). Für die GC wurden die Iridoidglykoside silyliert mit TMSi-S (Serva) und an einer OV-225-Säule getrennt. Iridoidacetate wurden zum Teil gaschromatographisch an einer SE 30-Säule getrennt oder es wurden die Mischschmelzpunkte bestimmt.

Acetylierung

100 mg **1** wurden 16 Stunden bei Raumtemperatur mit 10 ml einer Mischung aus Pyridin und Acetanhydrid (1:1) umgesetzt. Das Gemisch wurde auf Eis gegossen und dann mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Phase wurde nacheinander mit 0,1 N HCl, gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Nach Kristallisation aus Äthanol/Hexan erhielten wir 90 mg **3** (Schmelzpunkt 171–174 °C). Nach der gleichen Methode erhielten wir aus 100 mg **2** 88 mg **4** (Schmelzpunkt 131–132 °C). Die Acetylierung der übrigen Iridoide wurde analog mit ähnlichen Ausbeuten durchgeführt.

Bildung der Acetonide

200 mg **1** wurden in 36 ml Aceton gelöst und mit 4,8 ml einer 5-prozentigen Lösung von Molybdato-phosphorsäure in Aceton versetzt [15]. Nach 60 min Reaktionszeit bei Raumtemperatur wurden 4 ml 25-prozentiger Ammoniaklösung zugegeben und eingeengt. Die Hauptprodukte **5** (88 mg) und **6** (56 mg) wurden durch HPLC getrennt. 200 mg **2** wurden nach der gleichen Methode umgesetzt. Beim Einengen und Abkühlen des Ansatzes fiel das Monoacetonid **10** kristallin aus (120 mg). Das Diacetonid blieb in Lösung. Anschließende Acetylierung von 30 mg **5** lieferten 28 mg **7**, und aus 60 mg **10** erhielt man 50 mg **11**.

Enzymatische Hydrolyse

250 mg **1** wurden in 10 ml Wasser gelöst und mit 25 mg β-Glucosidase versetzt. Nach 90 min war die

Umsetzung gemäß dünnenschichtchromatographischen Befunden fast quantitativ. Die Lösung wurde gefriergetrocknet und dann einige Male mit Essigsäureäthylester extrahiert. Die eingeengten Extrakte waren dc- und HPLC einheitlich und enthielten 57 mg des Aglykons **9**: Optische Drehung $[\alpha]_D^{21^\circ} = 68,9^\circ$ ($c = 0,877/\text{EtOH}$). NMR (MeOH, $\delta_{\text{TMS}} = 0$): 7,45 (C(3)-H, s, 1 H); 5,43 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 2,5 \text{ Hz}$, 1 H); 4,2 (C(6)-H, d, $J_{6,7} = 5 \text{ Hz}$, 1 H); etwa 3,85 (C(7)-H); 3,75 (COOCH₃, s, 3 H); 1,12 (C(10)-H₃, d, $J_{8,10} = 7 \text{ Hz}$, 3 H) ppm. Aus dem Rückstand wurde mit Papier- und Dünnenschichtchromatographie der Zuckeranteil als Glucose identifiziert. (Acetylacetat-Pyridin-Wasser, 3:2:1, bzw. Acetonitril-Schweifelkohlenstoff-Wasser, 85:5:10). Außerdem wurde das Glucosazon hergestellt: Schmelzpunkt 208 – 209 °C, Mischschmelzpunkt 208 – 211 °C.

Bei der Hydrolyse von **2** nach der gleichen Methode war die Ausbeute vom Aglykon **12** sehr gering, (8 mg **12** aus 150 mg **2**). Die Ausbeute konnte verbessert werden, (50 mg **12** aus 100 mg **2**), indem insgesamt dreimal je 25 mg β -Glucosidase zugegeben wurden, und der Ansatz jeweils 1 Stunde auf 30 °C erwärmt wurde. Dann wurde eingeengt und der Rückstand an einer Kieselgelsäule mit Dichlormethan-Methanol-Wasser (90:10:1) chromatographiert. Die Zuckerfraktion wurde als Glucose identifiziert: PC, DC; Glucosazon (Schmelzpunkt: 210 °C, Mischschmelzpunkt: 208 – 212 °C). Eigenschaften von **12**: $[\alpha]_D^{21^\circ} = +25,6^\circ$ ($c = 1,09$, EtOH). NMR (MeOD, $\delta_{\text{TMS}} = 0$): 7,55 (C(3)-H, s, 1 H); 5,35 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 2,5 \text{ Hz}$, 1 H); 3,74 (COOCH₃, s, 3 H); 1,15 (C(10)-H₃, d, $J_{8,10} = 7 \text{ Hz}$, 3 H) ppm.

Eigenschaften der Verbindungen

1: amorph, $[\alpha]_D^{21^\circ} = -148^\circ$ ($c = 0,97$, EtOH); UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} = 233 \text{ nm}$; NMR (D₂O, $\delta_{\text{DSS}} = 0$): 7,68 (C(3)-H, s, 1 H), 5,83 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 1,5 \text{ Hz}$, 1 H), 3,79 (COOCH₃, s, 3 H), 4,22 (C(6)-H, d, $J_{6,7} = 4,5 \text{ Hz}$, 1 H), ~2,46 (C(8)-H, m, 1 H), 2,88 (C(9)-H, dd, $J_{1,9} = 1,5 \text{ Hz}$, $J_{8,9} = 11 \text{ Hz}$, 1 H), 1,0 (C(10)-H₃, d, $J_{8,10} = 7,0 \text{ Hz}$, 3 H) ppm.

Massenspektrum der silylierten Verbindung: m/e (% Basispeak) 488 (6,0), 469 (5,1), 459 (0,6), 369 (4,2), 361 (16,0), 332 (6,8), 338 (4,0), 315 (5,4), 316 (4,7), 243 (5,6), 241 (4,6), 231 (8,4), 227 (13,8), 217 (25,6), 207 (16,8), 204 (12,8), 191 (18,4), 189 (4,7), 155 (5,6), 147 (43,2), 129 (18,8), 123 (5,8), 103 (16,8), 93 (8,0), 77 (8,8), 75 (47,2), 73 (100%).

3: Schmelzpunkt 171 – 174 °C; $[\alpha]_D^{21^\circ} = -91,5^\circ$ ($c = 0,50$, EtOH); NMR (CDCl₃, $\delta_{\text{TMS}} = 0$): 7,52 (C(3)-H, s, 1 H), 5,64 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 1,5 \text{ Hz}$, 1 H), 4,25 (C(6')-H₂, m, 2 H), 3,80 (COOCH₃, s, 3 H), 5,23 (C(6)-H), 4,85 (C(7)-H), 2,15/2,11/2,03/2,03/1,98/1,92 (COCH₃, 18 H, 6 s), 1,02 (C(10)-H₃, d, $J_{8,10} = 7,0 \text{ Hz}$, 3 H) ppm.

7: Schmelzpunkt 81 – 83 °C; NMR (CDCl₃, $\delta_{\text{TMS}} = 0$): 7,44 (C(3)-H, s, 1 H), 5,58 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 1,5 \text{ Hz}$, 1 H), 4,56 (C(6)-H, d, $J_{6,7} = 5,0 \text{ Hz}$, 1 H), 4,33 (C(7)-H, d, $J_{6,7} = 5,0 \text{ Hz}$, $J_{7,8} = < 1 \text{ Hz}$, 1 H), 4,25 (C(6')-H₂, m, 2 H), 3,77 (COOCH₃, s, 3 H), 2,92 (C(9)-H, dd, $J_{1,9} = 1,5 \text{ Hz}$, $J_{8,9} = 7,5 \text{ Hz}$, 1 H), ~2,48 (C(8)-H, m, 1 H), 2,12/2,03/2,02/1,95 (COCH₃, 12 H, 4 s), 1,57/1,38 (CH₃ – C – CH₃, 6 H, 2 s), 0,88 (C(10)-H₃, d, $J_{8,10} = 7,0 \text{ Hz}$, 3 H) ppm.

8: Schmelzpunkt 83 – 85 °C; NMR (CDCl₃, $\delta_{\text{TMS}} = 0$): 7,44 (C(3)-H, s, 1 H), 5,58 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 1,5 \text{ Hz}$, 1 H), 4,56 (C(6)-H, d, $J_{6,7} = 5,0 \text{ Hz}$, 1 H), 4,33 (C(7)-H, d, $J_{6,7} = 5,0 \text{ Hz}$, $J_{7,8} = < 1 \text{ Hz}$, 1 H), 3,77 (COOCH₃, s, 3 H), 2,92 (C(9)-H, dd, $J_{8,9} = 7,5 \text{ Hz}$, $J_{1,9} = 1,5 \text{ Hz}$, 1 H), 2,48 (C(8)-H, m, 2,05/1,96 (COCH₃, 6 H, je s), 1,57/1,48/1,43 1,39 (CH₃ – C – CH₃, je 3 H, s), 0,88 (C(10)-H₃, d, $J_{8,10} = 7,0 \text{ Hz}$, 3 H) ppm.

2: Schmelzpunkt 150 – 153 °C; $[\alpha]_D^{21^\circ} = -95^\circ$ ($c = 1,01$, EtOH); UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} = 233 \text{ nm}$; NMR (D₂O, $\delta_{\text{DSS}} = 0$): 7,62 (C(3)-H, s, 1 H), 5,78 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 1,4 \text{ Hz}$, 1 H), 3,82 (COOCH₃, s, 3 H), 2,4 (C(9)-H, dd, $J_{8,9} = 12 \text{ Hz}$, $J_{1,9} = 1,4 \text{ Hz}$, 1 H) ~1,77 (C(8)-H, m, 1 H), 1,1 (C(10)-H₃, d, $J_{8,10} = 6,4 \text{ Hz}$, 3 H) ppm. Massenspektrum der silylierten Verbindung: m/e (% Basispeak) 548 (6,1), 488 (2,4), 459 (1,9), 469 (10,9), 458 (2,8), 369 (10,1), 354 (5,0), 361 (45,7), 332 (11,0), 326 (8,2), 319 (6,3), 281 (8,3), 271 (10,6), 255 (10,1), 243 (9,3), 231 (10,6), 227 (17,3), 217 (63,0), 204 (23,6), 191 (47,2), 169 (10,6), 147 (75,6), 129 (19,7), 123 (10,1), 117 (9,3), 103 (18,9), 89 (7,4), 77 (10,2), 75 (77,1), 73 (100%).

4: Schmelzpunkt 131 – 132 °C; $[\alpha]_D^{21^\circ} = -88,7^\circ$ ($c = 0,56$, EtOH); NMR (CDCl₃, $\delta_{\text{TMS}} = 0$): 7,46 (C(3)-H, s, 1 H), 5,55 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 1,4 \text{ Hz}$, 1 H); 3,77 (COOCH₃, s, 3 H); 2,65 (C(9)-H, dd, $J_{8,9} = 10,5 \text{ Hz}$, $J_{1,9} = 1,4 \text{ Hz}$, 1 H); 2,15/2,12/2,09/2,04/2,02/1,93 (COCH₃, 18 H, 6 s); 1,1 (C(10)-H₃, $J_{8,10} = 6,4 \text{ Hz}$, 3 H) ppm.

11: Schmelzpunkt 103 – 106 °C; NMR (CDCl_3 , $\delta_{\text{TMS}} = 0$) : 7,46 (C(3)-H, s, 1 H); 5,53 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 1,4$ Hz, 1 H); 4,63 (C(6)-H, d, $J_{6,7} = 5,4$ Hz, 1 H); 4,45 (C(7)-H, dd, $J_{6,7} = 5,4$ Hz, 1 H); 4,27 (C(6')-H₂, 2 H); 3,77 (COOCH₃, s, 3 H); 2,30 (C(9)-H, dd, $J_{1,9} = 1,4$ Hz, $J_{8,9} = 12,6$ Hz, 1 H); ~1,57 (C(8)-H, m, 1 H); 1,1 (C(10)-H₃, d, $J_{8,10} = 6,4$ Hz, 3 H); 2,1/2,03/2,0/1,93 (COOCH₃, 12 H, 4 s); 1,52/1,35 (CH₃-C-CH₃, 6 H, 2 s) ppm.

15: $[\alpha]_D^{22^\circ} = -170^\circ$ ($c = 0,97$, EtOH), NMR (D_2O , $\delta_{\text{DSS}} = 0$) : 7,41 (C(3)-H, d, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1 H); 5,73 (C(1)-H, s, $J_{1,9} < 1$ Hz, 1 H); ~5,17 (C(6)-H, m, 1 H); 3,77 – 3,17 (Zuckerprotonen, m, 6 H); 4,63 (C(1')-H, d, $J_{1,2'} = 7,5$ Hz, 1 H); 2,20 – 1,70 (C(7)-H₂, C(8)-H, m, 3 H); 1,01 (C(10)-H₃, m, $J_{8,10} = \sim 5$ Hz, 3 H) ppm.

17: amorph; NMR (D_2O , $\delta_{\text{DSS}} = 0$) : 7,61 (C(3)-H, d, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1 H); 5,33 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 5,0$ Hz, 1 H); 3,82 (COOCH₃, s, 3 H); 3,80 (COOCH₃, s, 3 H); 3,65 (C(5)-H, dd, $J_{5,9} = 6,0$ Hz, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1 H); 2,98 (C(9)-H, m, 1 H); 2,83 (C(7 a)-H, m, 1 H); 2,76 (C(7 b)-H, 1 H) ppm. $[\alpha]_D^{22^\circ} = -103^\circ$ ($c = 0,97$, EtOH).

18: Schmelzpunkt 190 – 193 °C; NMR (CDCl_3 , $\delta_{\text{TMS}} = 0$) : 7,45 (C(3)-H, d, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1 H); 5,09 (C(1)-H, d, $J_{1,9} = 5,5$ Hz, 1 H); 4,23 (C(6')-H₂, m, 2 H); 3,80 (COOCH₃, s, 3 H); 3,78 (COOCH₃, s, 3 H); 3,56 (C(5)-H, dd, $J_{5,9} = 7,5$ Hz, $J_{5,3} = 1,5$ Hz, 1 H); 3,20 (C(8)-H, m, $J_{8,9} = 6,5$ Hz, $J_{8,7a} = 6,0$ Hz, $J_{8,7b} = 10$ Hz, 1 H); 2,83 (C(9)-H, m, $J_{8,9} = 6,5$ Hz, $J_{9,5} = 7,5$ Hz, $J_{1,9} = 5,5$ Hz, 1 H); 2,73 (C(7 a)-H, m, $J_{7a,7b} = 19$ Hz, $J_{7a,3} = 1$ Hz, $J_{7a,8} = 6,0$ Hz, 1 H); 2,57 (C(7 b)-H, dd, $J_{7b,8} = 10$ Hz, $J_{7a,7b} = 19$ Hz, 1 H); 2,01/2,03/2,06/2,11 (COOCH₃, 12 H, 4 s) ppm.

- [1] Die Ergebnisse sind Teil der Dissertation S. Milz, Universität Freiburg, in Vorbereitung.
- [2] Vorläufige Mitteilung: S. Milz u. H. Rimpler, Tetrahedron Lett. **1978**, 895.
- [3] Vorläufige Mitteilung: S. Milz u. H. Rimpler, Tetrahedron Lett. **1978**, 3549.
- [4] J. C. Schauer: Verbenaceae, in A. De Candolle Prodromus Syst. Natural. Regni Vegetab., Vol. XI, Paris 1847.
- [5] W. G. Walpers, Repertorium Botanices Systematicae, IV, Leipzig 1845.
- [6] H. N. Moldenke, A Resumé of the Verbenaceae, Stilbaceae, Symphoremaceae and Eriocaulaceae of the World as to Valid Taxa, Geographic Distribution and Synonym. Privately printed (1959).
- [7] A. El-Gazzar u. L. Watson, New Phytol. **69**, 451 – 486 (1970).
- [8] P. Kooiman, Acta Bot. Neerl. **24**, 459 (1975).
- [9] C. J. Zufall u. Richtmann, Pharm. Arch. **14**, 60, 65, 81 (1943); **15**, 1 (1944); Biol. Abstr. Ref. Nr. 17 675 (1944).
- [10] J. Cheymol: Dissertation, Paris 1937.

Für das Sammeln und Bestimmen von Pflanzenmaterial danken wir Herrn Dr. Victor Corona, Mexiko (*Verbena carolina* L.) und Herrn Prof. Dr. A. Sehnem, São Leopoldo, Brasilien (*Citharexylum solaneum* Cham.). Für die Überlassung von authentischen Vergleichssubstanzen danken wir Herrn Dr. A. Bianco, Istituto di Chimica Organica, Università di Roma (Ipolamiid), Herrn Dr. S. R. Jensen, Department of Organic Chemistry, Technical University of Denmark, Lyngby (Griselinosid), Herrn Dr. B. Schäfer (Brasosidtetraacetat).

Für die Durchführung der NOE-Experimente danken wir Herrn A. Hasenhindl, Herrn Dr. W. Gronski und Herrn Dr. W. Regel, Institut für makromolekulare Chemie der Universität Freiburg. Für die Aufnahme der 60 MHz-NMR-Spektren danken wir Herrn V. Brecht, Institut für Pharmazie der Universität Freiburg. Für die 90 und 270 MHz-NMR-Spektren von Griselinosid und die Entkopplungsexperimente danken wir Herrn Dr. D. Hunkler, Institut für organische Chemie der Universität Freiburg. Für die Durchführung der GC-MS-Analysen danken wir Herrn Professor Dr. E. Sprecher und Herrn Professor Dr. H. Glasl, Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Hamburg. Für geschickte technische Mitarbeit bei der Isolierung der Inhaltsstoffe von *Citharexylum solanaceum* danken wir Frau H. Pistor, Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität, Berlin. Der Studienstiftung des Deutschen Volkes danken wir für die Förderung der Arbeit durch ein Doktorandenstipendium.

Während der Fertigstellung des Manuskriptes erhielten wir Kenntnis davon, daß eine andere Arbeitsgruppe bei ihren Untersuchungen ähnliche Ergebnisse erhalten hat, die in „Taxon“ publiziert werden sollen. Wir danken Herrn Dr. S. R. Jensen, Herrn Dr. B. J. Nielsen und Herrn Dr. S. Damtoft dafür, daß sie uns ihr Manuskript vor der Publikation zugänglich gemacht haben.

- [11] L. Bourdier, Compt. Rend. Soc. Biol. **63**, 367 (1908); Chem. Abstr. **2**, 661 (1908).
- [12] H. Rimpler u. B. Schäfer, Z. Naturforsch. **34c**, 311 (1979).
- [13] A. R. Trim u. R. Hill, Biochem. J. **50**, 310 (1952).
- [14] M. L. Scarpati u. M. Guiso, Gazz. Chim. Ital. **99**, 1150 (1969).
- [15] H. Mori, K. Shibata, K. Tsuneda u. M. Sawai, Chem. Pharm. Bull. **15**, 460, Tokyo 1967.
- [16] H. Rimpler, Planta Med. **33**, 313–335 (1978).
- [17] P. Eigtved, S. R. Jensen u. B. J. Nielsen, Acta Chem. Scand. B **28**, 85 (1974).
- [18] R. Steyn u. H. Z. Sable, Tetrahedron **27**, 4429 (1971).
- [19] E. L. Eliel, Stereochemie der Kohlenstoffverbindungen, Verlag Chemie, Weinheim 1966.
- [20] R. Rowan III, J. A. McCammon u. B. D. Sykes, J. Am. Chem. Soc. **96**, 4773 (1974).
- [21] W. E. Hull, Bruker Report **1**, 4 (1978).
- [22] E. C. Bate-Smith, I. K. Ferguson, K. Hutson, S. R. Jensen, B. J. Nielsen u. T. Swain, Biochem. Syst. and Ecol. **3**, 79 (1975).
- [23] B. J. Nielsen u. S. R. Jensen, persönliche Mitteilung (1978).
- [24] L. M. Perry, Ann. Mo. Bot. **20**, 239–359 (1933).
- [25] B. Schnack u. G. Covas, Bol. Soc. Argent. Bot. **1**, 282 (1946).
- [26] S. R. Jensen, B. J. Nielsen u. R. Dahlgren, Bot. Notiser **128**, 148–180 (1975).
- [27] H. Rimpler u. H. Timm, Z. Naturforsch. **29c**, 111 (1974).
- [28] Y. H. Kuo u. T. Kubota, Experientia **32**, 968 (1976).
- [29] B. Tantisewie u. O. Sticher, Phytochemistry **14**, 1462 (1975).
- [30] H. Rimpler, Phytochemistry **11**, 3094 (1972).
- [31] S. Junell, Symb. Bot. Ups. **4**, 1 (1934).
- [32] H. Rimpler ex [26].
- [33] V. Plouvier u. J. Favre-Bonvin, Phytochemistry **10**, 1697–1722 (1971).
- [34] A. Bianco, M. Guiso, C. Iavarone u. C. Trogolo, Gazz. Chim. Ital. **105**, 185 (1975).
- [35] P. Kooiman, Acta Bot. Neerl. **19**, 329 (1970).
- [36] K. Bock, S. R. Jensen u. B. J. Nielsen, Acta Chem. Scand. B **30**, 743 (1976).
- [37] H. Melchior, Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien. Vol. II, Berlin 1964.
- [38] J. Kitagawa *et al.*, Chem. Pharm. Bull. **21**, 1978 (1973).