

Summary

Polarographic reduction processes of Girard hydrazones of aliphatic and aromatic ketones were studied. From the results of controlled potential electrolysis, the two-electron reduction process proposed by Prelog and Häfliger for Girard-T hydrazones of aliphatic and alicyclic ketones was found to be not correct, and a mechanism shown in scheme (4) containing a four-electron reduction process was proposed instead. In the case of the Girard hydrazones of aromatic ketones, the electrode reaction processes seem to be more complicated than the aliphatic series: A reduction mechanism shown as scheme (6) containing four and two-electron reduction processes has been proposed. These mechanisms can explain the polarographic behaviours of Girard hydrazones most adequately. In connection with this study, ultraviolet absorption spectra of Girard hydrazones were measured under various conditions. The molecular forms of Girard hydrazones under the experimental conditions have been discussed from the results.

(Received January 30, 1964)

[Chem. Pharm. Bull.
12 (8) 888 ~ 901]

UDC 581.19 : 582.912.3

125. Hiroyuki Inouye, Toshio Arai, und Yukiko Miyoshi :

Über die Bestandteile der Pyrolazeen. XIV.*¹

Über die Struktur des Monotropeins.*²

(Pharmazeutische Fakultät der Universität Kyoto*³)

Im Jahre 1923 wurde von Bridel¹⁾ aus dem den Pyrolazeen gehörenden Saprophyt, *Monotropa hypopithys* L. ein Stoff isoliert, welches Monotropein genannt wurde. Nach ihm liegt in diesem Stoff ein saures Glucosid vor, welches durch Einwirkung von Emulsin oder Mineralsäure eine eigentümliche blaue Färbung gibt. In der Folgezeit erwähnt die Literatur aber keine wichtige Arbeit über diesen Stoff außer einer über sein papierchromatographisches Verhalten.²⁾

In den letzten Mitteilungen dieser Reihe berichteten wir nun über die Isolierung dieses Glucosids aus den verschiedenen einheimischen Vertretern der Pyrolazeen, einschließlich der Gattungen *Pyrola*, *Chimaphila*, *Monotropa* und *Monotropastrum*.³⁾

In der vorliegenden Arbeit wird die Struktur des Monotropeins untersucht werden. Monotropein kristallisiert aus Wasser als Monohydrat vom Schmp. 170~173° sowie $[\alpha]_D^{17} -127.7^\circ$ (H₂O) und aus Methanol als Monomethanolat vom Schmp. 160~163°. Auf Grund zahlreichen Analysen trifft für Monotropein (I) die Summenformel C₁₆H₂₂O₁₁ mit einem

*¹ XIII. Mitteil. : Yakugaku Zasshi, 84, 444 (1964).

*² Diese Arbeit wurde im 7. Symposium über die Chemie der organischen Naturstoffe Japans (Fukuoka, den 17. Oktober 1963) vorgetragen. Ein Teil dieser Arbeit wurde auch in Tetrahedron Letters, No. 16, 1031 (1963) veröffentlicht.

*³ Yoshida-Konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto (井上博之, 新井敏夫, 三好由紀子).

1) M. Bridel : Compt. rend., 176, 1742 (1923); *Idem* : Bull. soc. chim. biol., 5, 722 (1923).

2) A.R. Trim, R. Hill : Biochem. J., 50, 510 (1952).

3) H. Inouye, T. Arai, Y. Yaoi, M. Ogawa : Dieses Bulletin, 12, 255 (1964); H. Inouye, T. Arai : *Ibid.*, 12, 533 (1964); *Idem* : Yakugaku Zasshi, 84, 444 (1964); H. Inouye, T. Arai, Y. Yaoi : *Ibid.*, 84, 337 (1964).

Mol Wasser bzw. Methanol. I ist gegen Säure so empfindlich, daß es sich schon bei Stehen mit der verd. Mineralsäure anfängt blaßblau zu verfärben. Beim nachfolgenden Erwärmen entsteht eine blaue Färbung und schließlich bildet sich ein dunkel gefärbter Niederschlag. Auch die Einwirkung von Emulsin verursacht eine violette Farbreaktion und darauffolgende Niederschlagbildung. Während sich das eigentliche Genin von I so noch nicht fassen läßt, wird die *d*-Glucose aus den beiden Hydrolysaten als Glucosazon sowie Glucosotriazol und papierchromatographisch nachgewiesen.

I verhält sich bei der potentiometrischen Titration als einbasische Carbonsäure (Äquivalentgewicht für Monohydrat Ber. 408; Gef. 409) mit einem $pK=4.54$. Es zeigt im IR u. a. Banden bei 3580, 2800~2500, 1700, 1675, 1645 und 1615 cm^{-1} . Die Banden von 2800 bis 1675 cm^{-1} darunter fehlen aber im IR des Natrium-Salzes von I, woraus hervorgeht, daß diese einer Carboxylgruppe zuzuordnen sind. Die negative normale Rotationsdispersionskurve von I spricht auch gegen die Annahme, daß I außer der Carboxylgruppe noch eine Carbonylgruppe enthält. Die Absorption bei 235 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon$ 3.98) im UV, die starke Bande bei 1645 cm^{-1} im IR, sowie der hartnäckige Widerstand der einen Doppelbindung gegen die katalytische Hydrierung mit Palladium-Kohle, läßt folgern, daß diese Carboxylgruppe mit der Enol-Doppelbindung in Konjugierung steht.⁴⁾ In I liegen weder Methoxyl- und Acetoxyl- noch $\text{CH}_3(\text{C})$ -Gruppen vor. Die Acetylierung von I führt zum Pentaacetat (II), $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$ vom Schmp. 173~174.5° in quantitativer Ausbeute. Demnach enthält der Geninteil von I eine prim. oder sek. Hydroxylgruppe. Der Pentaacetatmethylester (III), $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{16}$ vom Schmp. 147~148°, der sich durch Methylierung von II oder auch durch Methylierung von I und darauffolgender Acetylierung erhalten läßt, zeigt noch im IR die Bande bei 3450 cm^{-1} , die die Anwesenheit einer *tert*-Hydroxylgruppe anzeigt. I nimmt bei der katalytischen Hydrierung mit Palladium-Kohle in Äthanol oder Eisessig 1.1~3.0 Mole Wasserstoff auf. Das dabei erhaltene Hydrierungsproduktemisch wurde in der üblichen Weise acetyliert und durch die Gegenstromverteilung mit dem Lösungsmittelsystem Benzol/Wasser getrennt, wobei ein Acetat (IV), $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{16}$ vom Schmp. 154~156° sowie ein anderes V vom Schmp. 175~178° erhalten wurden. Hierbei ist es zu beachten, daß man bei der Hydrierung in Eisessig hauptsächlich V gewinnt, während sich IV bei der Hydrierung in Äthanol in vorwiegender Ausbeute erhalten läßt. Die Methylierung von IV mit Diazomethan ergibt ferner dessen Methylester (VI), $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$ vom Schmp. 122~124°, welcher sich durch Natriummethylat zu VII, $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$ vom Schmp. 93~95° deacetylieren läßt. Die Hydrierung von III über Palladium-Kohle-Katalysator in Äthanol führt auch zur einheitlichen Bildung von VI. VI hat 5 Acetylgruppen, dagegen keine $\text{CH}_3(\text{C})$ -Gruppe. Es zeigt weiter im UV max. Absorption bei 232 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon$ 4.12) und im IR noch die Bande der *tert*-Hydroxylgruppe bei 3520 cm^{-1} . IV stellt so das Acetat des einfach hydrierten Produktes von I dar.

Im Kernresonanzspektrum,^{*4} das später nochmals Erwähnung finden soll, zeigt der Methylester von V das Signal des Allylmethyl-Protons bei 1.75 ppm und das Dublett des $\begin{array}{c} | \\ -\text{C}-\text{CH}_3 \\ | \\ \text{H} \end{array}$ mit Zentrum bei 1.05 ppm, deren Intensität im Verhältnis von etwa 3:1 steht.

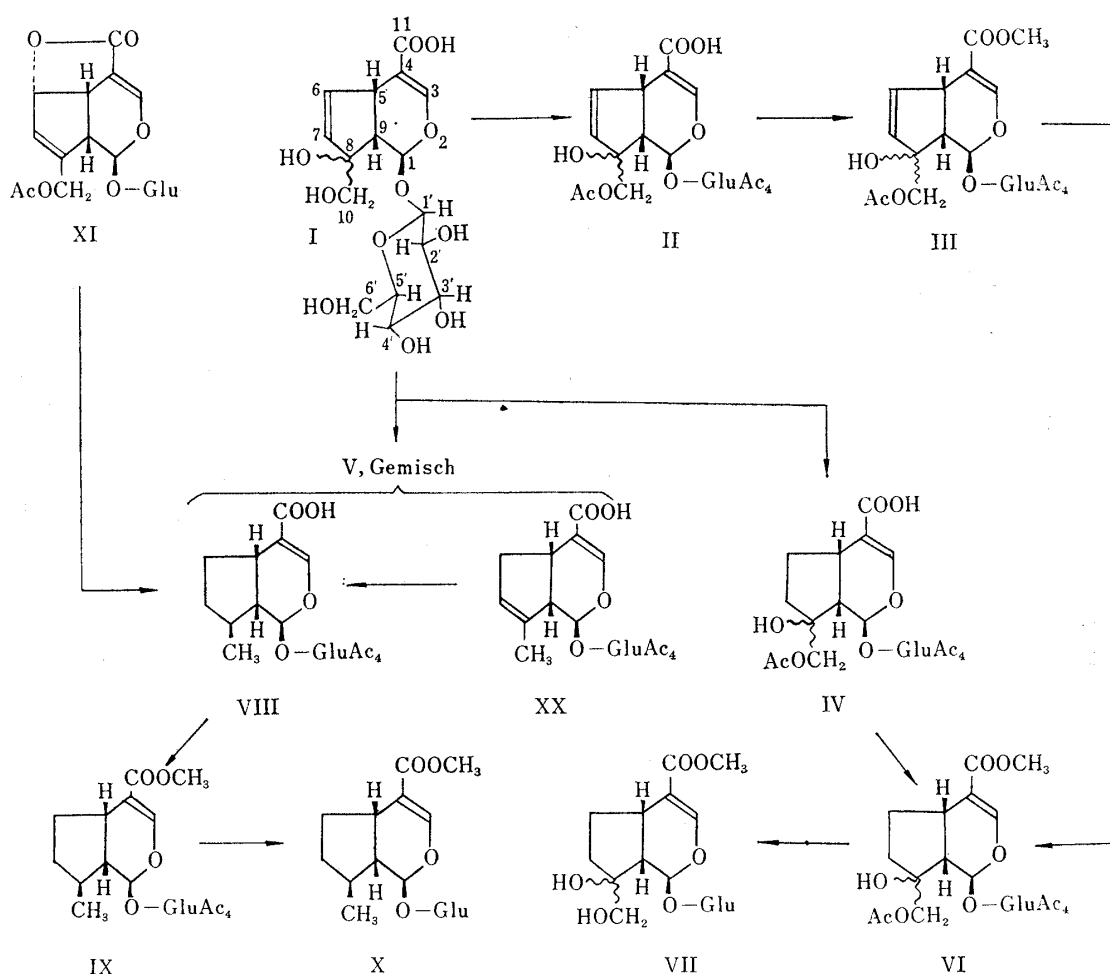
Daraus geht hervor, daß es sich bei V um ein Gemisch der beiden Substanzen handelt und daß die isolierte Doppelbindung von I die katalytische Hydrierung, selbst nachdem die Hydroxylgruppen die Hydrogenolyse erlitten haben, größtenteils unangegriffen überlebt. Die nochmalige katalytische Hydrierung von V mit Palladium-Kohle in Äthanol

^{*4} Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte mit einem 60 MHz Varian-Spektrometer in CDCl_3 -Lösung, falls nichts anders vermerkt ist. Als Standard wurde in allen Fällen Tetramethylsilan verwendet, die Resonanzpositionen sind in δ -Einheiten (ppm), TMS=0, und die Kupplungskonstanten in Herz angegeben.

4) F. E. Bader : Helv. Chim. Acta, **36**, 215 (1953); O. Halpern, H. Schmid : *Ibid.*, **41**, 1109 (1958).

liefert jedoch VIII, $C_{24}H_{32}O_{13}$ vom Schmp. $184\sim 186^\circ$, aus dem sich ferner mit Diazomethan der Methylester (X), $C_{25}H_{34}O_{13}$ vom Schmp. $114\sim 116^\circ$ bildet. X läßt sich durch Natrium-methylat zu XI, $C_{17}H_{26}O_9$ vom Schmp. $151\sim 153^\circ$ deacetylieren. VIII hat vier Acetylgruppen und zeigt im UV Absorption bei $232\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon$ 4.05), dagegen keine Bande der *tert*-Hydroxylgruppe im IR. Im NMR-Spektrum von X erscheint nun das Signal von $-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_3$

bei 1.05 ppm, fehlt aber die Resonanz bei 1.80 ppm. So kann man leicht verstehen, daß VIII das Bisdesoxydihydromonotropein-tetraacetat darstellt, welches aus I durch die Hydrogenolyse der beiden Hydroxylgruppen und die Hydrierung der isolierten Doppelbindung entstand. Die UV-Absorption von IV bzw. VIII bei $232\text{ m}\mu$ spricht auch, wie oben erwähnt, für die Anwesenheit der schwer hydrierbaren Doppelbindung in I, die mit der Carboxylgruppe in Konjugierung steht.



Schema 1.

Glu = β -D-Glucose, Ac = COCH_3

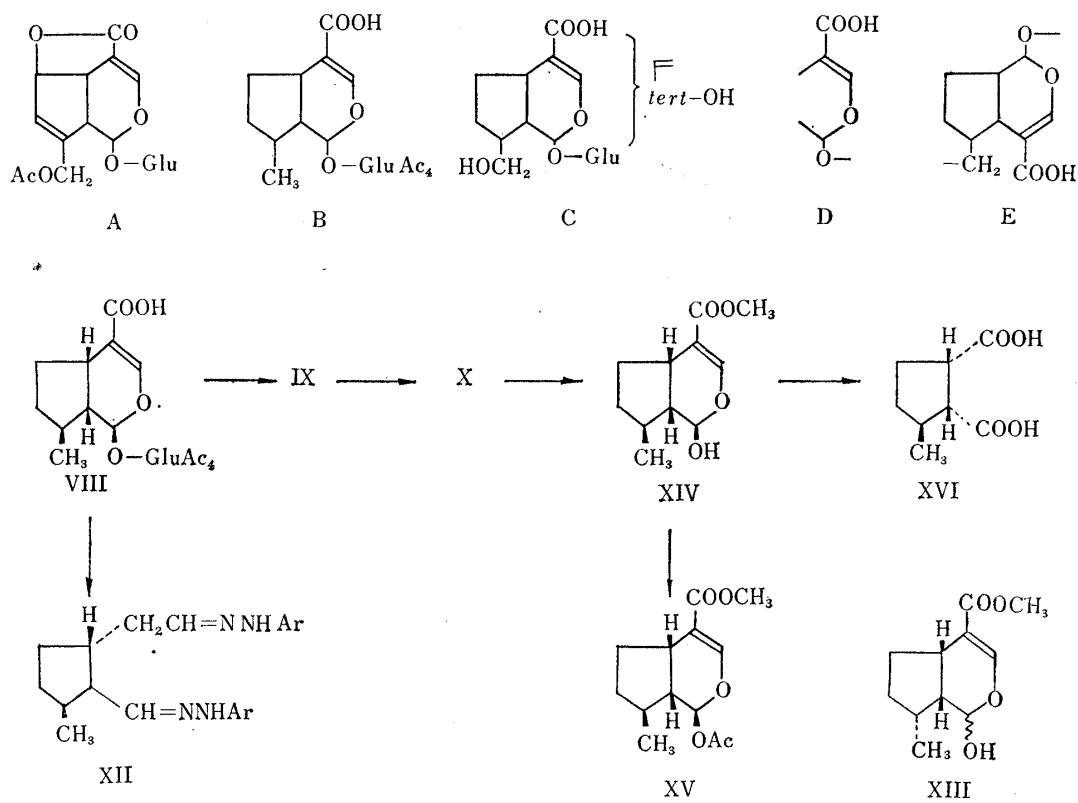
Da das hier gewonnene VIII mit einem von Briggs und Cain,⁵⁾ sowie von Grimshaw⁶⁾ berichteten Hydrierungsprodukt des Acetats von Asperulosid (XI) in seinen Eigenschaften übereinzustimmen schien, haben wir von XI ausgehend, welches sich aus *Daphniphyllum macropodum* MIQUEL.⁷⁾ gewinnen ließ, dieses Hydrierungsprodukt und dessen Methylester

5) L. H. Briggs, B. F. Cain : J. Chem. Soc., 1954, 4182.

6) J. Grimshaw : Chem. & Ind. (London), 1961, 403.

7) A. R. Trim : Nature, 167, 485 (1951).

und Desacetylmethylester hergestellt, die sich je mit VIII, X und X durch Mischprobe und IR als identisch erwiesen. Aus diesen Befunden wurde es zum ersten Mal klar, daß I dasselbe Skelett wie XI hat. Betreffs des Asperulosids (XI) und zugleich der Verbindung (VIII) schlug schon Grimshaw⁶⁾ die Formel A und B vor, die besonders im Hinblick auf die Analogie vom Asperulosid zum Aucubin, aber ohne den sicheren chemischen Beweis gefolgert werden. Ferner erschien darüber kürzlich noch eine neue Arbeit von Briggs und seiner Schule,⁸⁾ die nach der Absendung unseres Manuskripts mit der kurzen Darstellung der vorliegenden Arbeit zur schnellen Veröffentlichung in "Tetrahedron Letters,"*² in unsere Hände gelangte. Darin behaupteten sie, daß sie die Formel A für Asperulosid (XI) und dabei auch die Formel B für VIII chemisch bestätigt hätten. Über diese Arbeit von Briggs, *et al.*, in der sie trotz eines Irrtums die richtige Schlußfolgerung gezogen haben, soll in der nächsten Mitteilung ausführlich gesprochen werden. Auf Grund der Formeln A bzw. B sollte dem Monotropein (I) jedoch die Formel C zugeteilt werden, die mit keiner der oben erwähnten Tatsachen im Widerspruch steht.



Glu = β -D-Glucose, Ac = COCH₃, Ar = 2,4-(NO₂)₂·C₆H₃

Schema 2.

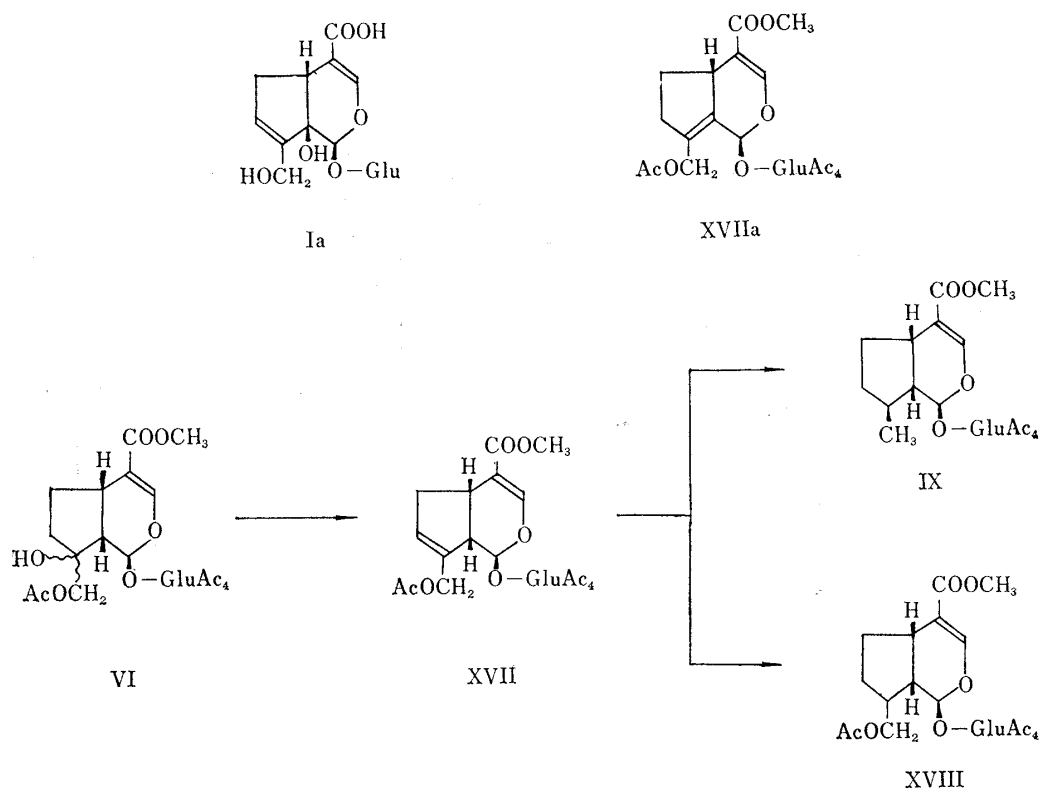
Im Folgenden soll nun das Resultat unserer eigenen Versuche über die Struktur der Verbindung (VIII) geschrieben werden, wobei die Richtigkeit der Formel A, B und folglich C zum ersten Mal eindeutig bewiesen wurde. Zuerst haben wir nach der früheren Angabe von Briggs und Mitarb.⁵⁾ aus dem Hydrolysat von VIII Bis(2,4-dinitrophenylhydrazon) (XII), C₂₁H₂₂O₈N₈ vom Schmp. 216~218° und $[\alpha]_D^{17}$ -22.5° (CHCl₃) hergestellt. XII zeigt im UV die für das 2,4-Dinitrophenylhydrazon des gesättigten Aldehyds charakteristische Absorption bei 355 m μ (log ϵ 4.63) und scheint mit dem Bis(2,4-dinitrophenyl-

8) L. H. Briggs, B. F. Cain, P. W. Le Quesne, J. N. Shoolery: Tetrahedron Letters, No. 2, 69 (1963).

hydrazon), welches Djerassi, *et al.*⁹⁾ aus dem 10-Desoxy-7,8-dihydrogenipin (XIII), einem Hydrierungsprodukt von Genipin, hergestellt haben, fast identisch zu sein. Da der direkte Vergleich der beiden Substanzen aber nicht möglich war, haben wir durch die Einwirkung von Emulsin auf X dessen Aglucon (XIV) hergestellt. Gegen unsere Erwartung, daß das sirupöse Genin (XIV) mit dem 10-Desoxy-7,8-dihydrogenipin (XIII) identisch sei, ließ sich nun XIV beim Impfen von XIII nicht kristallisieren. Ferner sind die IR-Spektren (CHCl_3) der beiden auch verschiedenartig. Noch ließ sich das Acetat (XV) dieses Genins (XIV), im Gegensatz zum XIII, als Nadeln $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5$ vom Schmp. 55~57° erhalten. Die Entstehung des 2,4-Dinitrophenylhydrazons (XII), das wahrscheinlicherweise ein Stereoisomer der Djerassi'schen Verbindung darstellt, dürfte man doch als ein Beweis dafür halten, daß der Enoläther des Genins in der Partialstruktur D vorliegt.⁹⁾

Wir studierten demnächst den Ozonabbau von (XIV), wobei eine Säure (XVI), $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_4$ vom Schmp. 126~128° und $[\alpha]_D^{25} +66.0^\circ$ (CHCl_3) erhalten wurde. Durch die Tatsache, daß die IR-Spektren des Dimethylesters und des Anhydrids dieser Säure mit denen der synthetisch hergestellten *rac.cis-trans*-3-Methyl-1,2-cyclopentandicarbonsäure¹⁰⁾ sich deckend übereinstimmen, wurde sie als *cis*-Nepetsäure identifiziert, die McElvain und Mitarb.¹¹⁾ aus Nepetalacton abgeleitet haben.

Die Isolierung dieser Säure (XVI) als Abbauprodukt hat zum ersten Mal das Vorliegen eines Cyclopentangerüsts in der Struktur von I und XI und darüber hinaus zusammen mit den eben erwähnten Ergebnissen die Richtigkeit der Formeln A, B und C



Schema 3.

Glu = β -D-Glucose, Ac = COCH_3

- 9) C. Djerassi, T. Nakano, A. N. James, L. H. Zalkov, E. J. Eisenbraun, J. N. Shoolery : J. Org. Chem. 26, 1192 (1961). Für die Überlassung des 10-Desoxy-7,8-dihydrogenipins möchten wir an dieser Stelle nochmals Herrn Prof. Djerassi von der Stanford Universität bestens danken.
- 10) R. B. Bates, E. J. Eisenbraun, S. M. McElvain : J. Am. Chem. Soc., 80, 3413 (1958). Für die Überlassung der *rac.cis-trans*-3-Methylcyclopentan-1,2-dicarbonsäure sprechen wir an dieser Stelle nochmals Herrn Prof. Bates von der Illinois Universität unseren Dank aus.
- 11) S. M. McElvain, E. J. Eisenbraun : J. Am. Chem. Soc., 77, 1599 (1955).

erwiesen. Das ein anderes, für diese Verbindungen mögliches Grundskelett E, das unter Heranziehung des eben beschriebenen Befundes und aus dem Vorliegen der Partialstruktur D gefolgert werden kann, wird dabei aus der Erwägung gezogen, da es das Vorhandensein von einem 5-gliedrigen Lactonring in XI nicht erklärt. Weiter widerlegt es auch die Isoprenregel.

Für die Stellung der *tert*-Hydroxylgruppe bleiben auf Grund der Formel B drei Möglichkeiten (am C-Atom 5, 8 oder 9) übrig. Zur Beantwortung dieser Frage versuchten wir zuerst die Wasserabspaltung des VI mittels KHSO_4 in Eisessig, wobei eine Anhydroverbindung (XVII), $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$ vom Schmp. $133\sim 134.5^\circ$ erhalten wurde. Im UV besitzt diese Verbindung ein Maximum bei $234\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon 4.08$), woraus man sieht, daß die neu ausgebildete Doppelbindung mit einem anderen Chromophor nicht in Konjugierung steht. Dieser Anhydrokörper ergab ferner bei der katalytischen Hydrierung mit Palladium-Kohle in Äthanol (IX) und eine andere Substanz (XVIII), $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$ vom Schmp. $132\sim 134^\circ$, die nach ihrer Zusammensetzung das einfach hydrierte Produkt von XVII darstellen dürfte. Die UV-Absorption des Anhydrokörpers und dessen Umwandlung zu K, die durch Hydrogenolyse der zur neu ausgebildeten Doppelbindung in Allylstellung stehenden Acetoxygruppe stattfinden soll, erfordert, daß er die Struktur (XVIIa) oder (XVII) hat. So folgerten wir in der vorläufigen Mitteilung auch unter der Annahme, daß die beiden OH-Gruppen des Monotropeins zu der Doppelbindung im Cyclopentanring allylständig sind, die die leichte Hydrogenolyse der beiden bei der katalytischen Reduktion erklärt, daß die *tert*-Hydroxylgruppe 9-ständig ist, und darüber hinaus, daß diesem Glucosid die Formel (Ia) zuzuteilen ist.

Diese Formulierung widerspricht aber den NMR-Spektren einiger Derivate des Monotropeins (I). Entscheidend dabei war das Auftreten von dem von einem Proton am C-1 herrührenden Dublett mit J-Wert von $3\sim 4\text{ Hz}$ bei 5.61 ppm bis 5.95 ppm in den NMR-Spektren einiger Derivate des I wie Monotropein-pentaacetat-methylester (III) und Dihydromonotropein-methylester (VII) und das Auftreten von einem zwei Protonen am C-10 zuzuschreibenden Singlett bei 4.08 ppm in dem NMR-Spektrum des letzteren (VII). Das erstere spricht für das Vorhandensein eines H Atoms am C-9 und das letztere für das Fehlen des H Atoms am C-8. Diese Befunde sind nur mit der *tert*-Hydroxylgruppe an der Stellung 8 zu erklären. Unter diesen Umständen kann man für die Doppelbindung im Cyclopentanring des Monotropeins (I) nur die Stellung 6, 7 zugeben. Damit wurden alle funktionellen Gruppen in der Formel C festgestellt.

Die neue Formulierung erfährt auch eine sichere chemische Bestätigung. Kürzlich benachrichtigte Herr Prof. Bobbitt uns auf privatem Wege von seinen Versuchen über Monotropein, daß es bei der Perjodatoxydation 3 Mole Perjodat (2 für Glucose und 1 für Genin) verbraucht und dabei beinahe 1 Mole Formaldehyd ergibt.*⁵ In der Nachprüfung dieser Versuche fanden wir dieses auch bestätigt. Außerdem fanden wir, daß Dihydromonotropein-methylester (VII) auch 3 Mole Perjodat verbraucht und 1 Mol Formaldehyd ergibt, während Aucubin (XIX) und Bisdeseoxydihydromonotropein-methylester (X) nur je 2 Mole Perjodat (für Glucose) verbrauchen und fast kein Formaldehyd ergeben. Diese Befunde sind auch nur bei der Stellung der *tert*-Hydroxylgruppe am C-9—benachbart mit der OH-Gruppe am C-10—verständlich. Aus der neuen Formel des Monotropeins läßt sich nun die Formel (XVII) für den Anhydrokörper ableiten, die mit dessen NMR-Spektrum in gutem Einklang steht und die dessen Umwandlung zu K besser als die alte Formel (XVIIa) erklärt.*⁶ Nur für die Erklärung der Entstehung des V, eines

*⁵ Herrn Prof. J. M. Bobbitt der Connecticut Universität sind wir für seine Freundlichkeit sehr verbunden, weil er uns einen Einblick in seine Arbeitsergebnisse gewährt hat, bevor er sein eigenes Manuskript veröffentlicht hat.

*⁶ Für die Umwandlung des Anhydrokörpers zu K müsste man mit der alten Formel (XVIIa) eine ungewöhnliche *trans*-Addition der Wasserstoffe bei der katalytischen Hydrierung annehmen.

Gemisches von dem Bisdesoxydihydromonotropein-tetraacetat (VIII) und dem Bisdesoxy-monotropein-tetraacetat (XX), bei der katalytischen Hydrierung des Monotropeins scheint die alte Formel (Ia) günstiger zu sein als die neue (I), da dabei die beiden OH-Gruppen zur Doppelbindung in Allylstellung stehen.*⁷

Nun kommen wir auf die Stereochemie von Monotropein (I) zu sprechen. Der Genteil des I hat vier Asymmetrie-Zentren. Die *cis*-Verknüpfung des Cyclopentan- und des Pyran-Ringes findet darin eine Bestätigung, daß sich die oben erwähnte *cis*-Nepet-säure (XVI) beim Ozonabbau von XIV erhalten läßt, deren absolute Konfigurationsformel im Schema 2 dargestellt wurde. Da es sehr unwahrscheinlich ist, daß sich die Konfiguration der Zentren 5 und 9 bei der katalytischen Hydrierung verändert, lassen sich somit für diese Zentren des Monotropeins (I) sowie Asperulosids (XI) die im Formelschema angeführten absoluten Konfigurationen zuschreiben. Für die *cis*-Verknüpfung der beiden Ringe spricht auch das NMR-Spektrum des Monotropein-pentaacetat-methyl-esters (III), welches nachher besprochen werden soll. Die Konfiguration des asymmetrischen Zentrums 6 des Asperulosids wie in der Struktur (XI) wurde mit Hilfe von Dreidring-Stereomodellen als wahrscheinlich erachtet, da der spannungsarme Lactonring nur dann aufgebaut werden kann, wenn die OH-Gruppe, die an diesem Lactonring teilnimmt, die α -Konfiguration einnimmt.*⁸ Postuliert man dabei die quasi-äquatoriale Orientierung für den größeren Substituent am Zentrum 1, so läßt sich die α -Konfiguration für das H-Atom daran ableiten. Folglich wird auch für Monotropein (I) und alle seine Reduktionsprodukte dieselbe Konfiguration am C-1 versuchsweise aufgestellt.

Die β -Konfiguration des anomeren Zentrums der D-Glucose liegt nahe aus der leichten Abspaltung der Glucosidbindung durch Emulsin.

Für Monotropein (I), Asperulosid (XI) und Bisdesoxydihydromonotropein-tetraacetat (VIII) ergeben sich somit die im Formelschema dargestellten, wahrscheinlichen absoluten Stereoformeln. Über die noch unabgeklärt bleibende Frage der Konfiguration am C-8 des Monotropeins (I) sind Versuche im Gange.

Die entgegengesetzte Konfiguration der Methylgruppe von VIII zu der von XIII kommt wahrscheinlich daher, daß die Absättigung der isolierten Doppelbindung von I von einer anderen Seite her als bei Genipin stattfindet, was etwa durch den Einfluß der vorhandenen Glucosylgruppe bedingt sein dürfte.

Auch die Ergebnisse der magnetischen Protonenresonanz (Abb. 1) stehen auch mit der postulierten Struktur (I) für Monotropein in bester Übereinstimmung.

Im Spektrum des III erscheint das Signal für das Proton am C-3 bei 7.32 ppm, welches auch in den Spektren von VI, X, XIV usw. bei ungefähr derselben Feldstärke auftritt. Das entsprechende Signal beobachtet man auch bei anderen Naturstoffen dieser Serie, wie Asperulosid,⁹⁾ Loganin,¹²⁾ Plumiericin¹³⁾ usw., wobei die bemerkliche Verschiebung nach der kleinen Feldstärke für das Vorhandensein von Partialstruktur D in diesen Stoffen spricht.

*⁷ Näheres über die Struktur des XX wird in einer folgenden Mitteilung erörtert werden. Der Reduktionsmechanismus bei der Umwandlung des I zu XX bleibt noch im unklaren.

*⁸ Den spannungsarmen Aufbau des Lactonrings im Asperulosid (XI) kann man nun auch aus den folgenden Versuchen ersehen. XI ergibt bei der Behandlung mit verd. Barytwasser und der darauffolgenden Abtrennung vom überschüssigen Ba⁺⁺ mittels Ionenaustauscher und der Lyophilisierung das Ba-Salz des desacetylierten Körpers. Im IR dieses Salzes fehlen die Banden im Carbonyl-Bereich und dafür erscheint die für das Carboxylat charakteristische Bande bei 1540 cm⁻¹ auf neue, was auf die völlige Aufspaltung des Lactonrings hindeutet. Dieses Salz liefert nun bei der Acetylierung in der üblichen Weise das Tetraacetylasperulosid (XXI) vom Schmp. 154~156°. Dazu wollen wir noch die Angabe von Briggs, *et al.* in ihrer früheren Arbeit (vgl. Fußnote 5)) aufmerksam machen, daß das Asperulosid 2 Mole NaOH verbraucht (Deacetylierung und Lactonaufspaltung!) und das Verseifungsprodukt bei der Acetylierung das Tetraacetylasperulosid (XXI) wiederherstellt.

12) K. Sheth, E. Ramstad, J. Wolinsky : Tetrahedron Letters, No. 12, 394 (1961).

13) G. Albers-Schönberg, H. Schmid : Helv. Chim. Acta, 44, 1477 (1961).

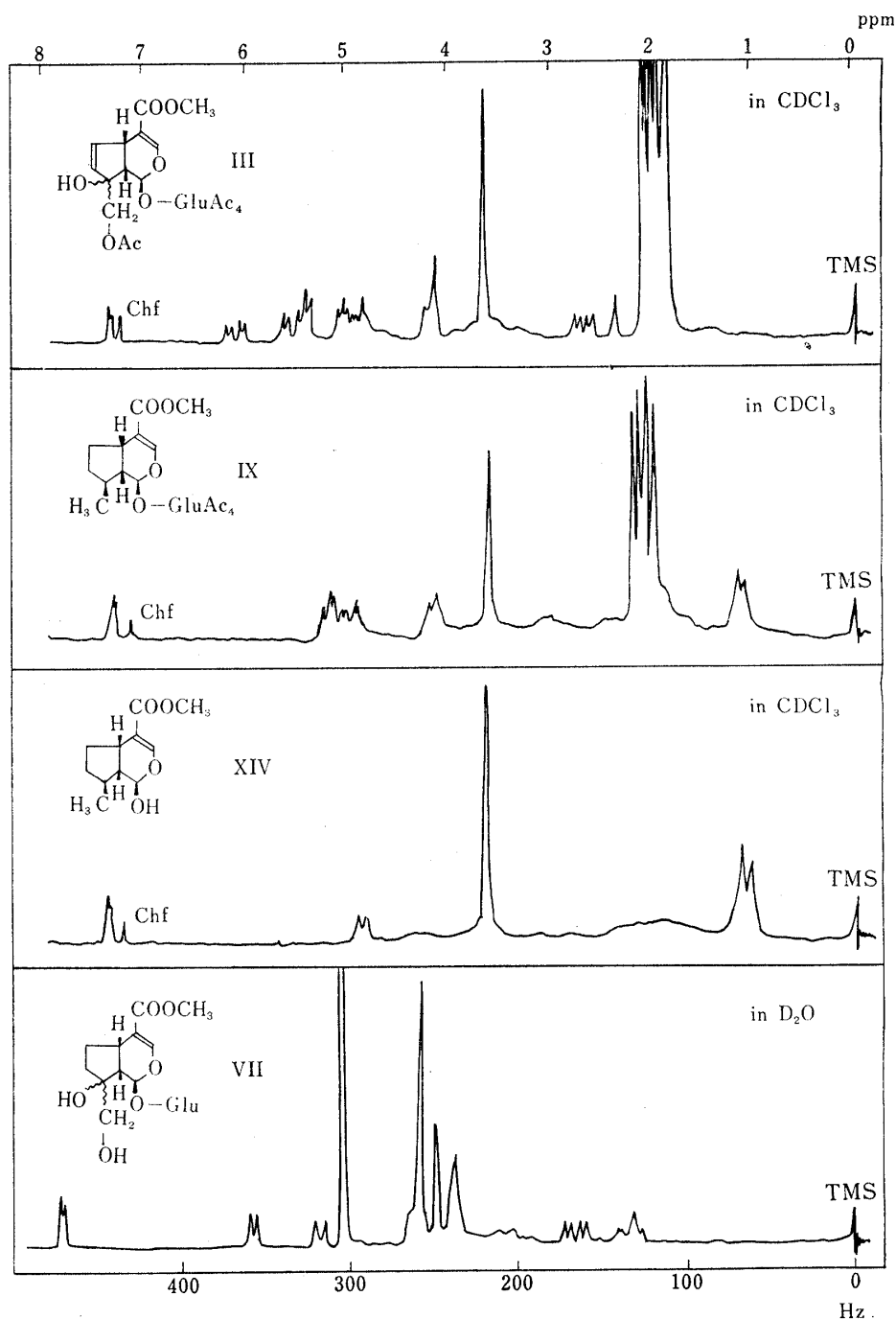


Abb. 1.

Die Signale der zwei Vinylprotonen am C-6 und C-7 erscheinen als AB Teil eines ABX Systems ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}<$). Sie treten nämlich als Quartett mit Zentrum bei 6.20 ppm und 5.61 ppm auf. Diese Resonanzen fehlen in Spektren von den hydrierten Körpern (VI), (X) und (XIV). Auch im Spektrum des Anhydrokörpers (XVII) fehlen diese Signale. Dabei erscheint aber aufs neue ein einem Proton entsprechendes Multipllett bei 5.85 ppm, welches dem Proton am C-7 zuzuschreiben ist und dessen Auftreten für die Stellung 7, 8 der neu ausgebildeten Doppelbindung in XVII spricht.

Im Spektrum des III erscheint nun in Überlagerung mit der Resonanz bei 5.61 ppm die chemische Verschiebung des Protons am C-1 bei 5.52 ppm, welche infolge Kupplung

mit dem Proton am C-9 Dublettstruktur mit J-Wert von 3 Hz besitzt. Die Resonanz des Protons am C-1 tritt auch im Spektrum (D_2O) des VII als deutliches Dublett mit J von 4 Hz bei 5.95 ppm auf. Sie erscheint ferner im Spektrum des X, welches auch in D_2O aufgenommen wurde, als Dublett mit J von 4 Hz bei 5.75 ppm, während sie sich bei anderen Substanzen wie VI, IX, XIV und XVII in den komplexen Signalen der Glucosenprotonen versteckt. Die beobachteten J-Werte von 3~4 Hz können mit der Stereoformel (I) des Monotropeins mit der quasi-äquatorialen Orientierung der Glucosyloxygruppe im Einklang stehen, wenn man eine leichte Torsion des Ringskeletts voraussetzt.

Im Spektrum des III beobachtet man weiter die komplexe Signalanhäufung von 5.25 ppm bis 4.83 ppm, der die drei Protonen der C Atome 2', 3' und 4' zugrunde liegen. Darin tritt weiter die Überlagerung der Resonanzen der Protonen am C-10 und C-6' als Signal mit der Intensität von vier Protonen bei 4.15 ppm auf. Im Spektrum des Bisdesoxydihydrokörpers (IX) fehlt nun das Signal dieser Methylenprotonen am C-10 und es erscheint statt dessen das Dublett eines Systems von $-\overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_3$ bei 1.05 ppm. Dieses

Signal verschiebt sich bei $\text{C}=\overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_3$ zu 1.75 ppm, indes es wie oben erwähnt im Spektrum des Methylesters von V, einem Gemisch von dem Bisdesoxydihydro- (VIII) und dem Bisdesoxy-Körper (XX) auftritt. Das Signal des Protons am C-6' von IX bleibt noch bei 4.22 ppm. Im Spektrum der Dihydroverbindung (VI) treten die Signale der Protonen an C-6' und C-10 bei 4.20 ppm und 4.08 ppm auf. Das Signal des letzteren erscheint weiter, wie schon erwähnt, im Spektrum (D_2O) des VII, des Entacetylierungsprodukts von VI, als scharfes Singlett bei 4.05 ppm.

Nun kommen wir nochmals auf das NMR-Spektrum des III zurück. Darin treten die Resonanzen der Protonen an C-5' und C-5 als Signal um 3.90 ppm und 3.50 ppm auf, wobei das letztere durch das Signal der Protonen der Methylester-Gruppe bei 3.70 ppm teilweise überlagert ist. Das Proton am C-9 koppelt sich mit den Protonen an C-5 und C-1 und erscheint als Quartett mit Zentrum bei 2.66 ppm. Die Kupplungskonstante von $J_{5,9}=9$ Hz spricht dabei auch für die *cis*-Verknüpfung der beiden Ringe im Monotropein (I). Bei 2.28 ppm beobachtet man das Singlett, das vom Proton der *tert*-Hydroxylgruppe herrührt. Das Signal der höchsten Feldstärke von III ist eine intensive Bande bei 1.73~2.15 ppm, die den Acetylgruppen zuzuschreiben ist. Ihre Intensität deutet auch auf das Vorhandensein von 5 Acetylgruppen in dieser Verbindung hin. Aus den Intensitäten der Signale der Acetylgruppen in VI und IX geht auch hervor, daß dort je 5 und 4 Acetylgruppen vorhanden sind. Die Erscheinung des Signals bei 2.80 ppm im Spektrum des VI, die dem Proton der noch gebliebenen Hydroxylgruppen entstammt, steht mit den sonstigen chemischen Ergebnissen in gutem Einklang. Das Spektrum des hydrierten Aglucons (XIV) zeigt außer dem schon erwähnten Signal des Protons am C-3 bei 7.42 ppm das des Dublett des Protons am C-1 mit Zentrum bei 4.90 ppm, dessen J-Wert von 7 Hz darauf hinweist, daß die Hydroxylgruppe dieser Verbindung nach der enzymatischen Hydrolyse noch die quasi-äquatoriale Orientierung einnimmt. Gemäß dem beobachteten J-Wert von 5 Hz für das Dublett um 5.95 ppm im Spektrum des Acetats (XV) scheint ferner diese Orientierung noch nach der Acetylierung beibehalten zu werden. Nun zeigt XIV wieder u. a. das Signal für die Methylester-Gruppe bei 3.74 ppm und das Dublett der Protonen am C-10 um 1.11 ppm, deren Intensität je 3 Protonen entspricht.

Der Methanol-Gehalt von dem aus demselben Lösungsmittel umgelösten Monotropein wurde auch an Hand des Singletts bei 3.78 ppm im NMR-Spektrums von dieser Verbindung in D_2O als ein Mol/ein Mol bestimmt.

Monotropein gehört wie Asperulosid zu der Stoffklasse des Monoterpenglucosids oder Pseudoindicans, wofür Briggs, *et al.*, kürzlich den Namen Iridoid vorgeschlagen haben. Es scheint ferner das Prinzip darzustellen, welches für die postmortale Melanophorese der Pyrolazeen—insbesondere bei den saprophytischen Pyrolazeen—die Hauptrolle spielt. Weitere Arbeiten über diesen Stoff folgen.

Experimentelles*⁹

Monotropein (I)—Näheres über die Isolierung und Reindarstellung des I wurde schon berichtet.³⁾ Unten werden nur die Analysenwerte des I aus den verschiedenen Ursprüngen mit einigen Eigenschaften gegeben.

i) Monotropein (I) aus MeOH umgelöst; $C_{16}H_{22}O_{11} \cdot CH_3OH$ —Ber.: C, 48.34; H, 6.20; CH_3O , 7.35. I vom Schmp. 161~163° (Zers.) und $[\alpha]_D^{16} -130.7^\circ$ (c=1.04, H_2O) aus *Pyrola incarnata* FISCH. Gef.: C, 48.27; H, 6.24; CH_3O , 7.71.

I vom Schmp. 161~163° (Zers.) und $[\alpha]_D^{24} -132.7^\circ$ (c=1.02, H_2O) aus *P. secunda* L. Gef.: C, 48.04; H, 6.48.

I vom Schmp. 161~163° (Zers.) und $[\alpha]_D^{18} -122.1^\circ$ (c=0.78, H_2O) aus *P. nephrophylla* H. ANDR. Gef.: C, 48.29; H, 6.33.

ii) Monotropein (I) aus H_2O umgelöst; $C_{16}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ —Ber.: C, 47.06; H, 5.92.

I vom Schmp. 170~173° (Zers.) und $[\alpha]_D^{16} -129.7^\circ$ (c=1.21, H_2O) aus *P. japonica* KLENZE. Gef.: C, 47.38; H, 5.93.

I vom Schmp. 170~173° (Zers.) und $[\alpha]_D^{17} -127.7^\circ$ (c=0.85, H_2O) aus *P. incarnata* FISCH. Gef.: C, 47.22; H, 6.06.

Äquivalentgewicht für Monohydrat—Ber.: 408.4. Gef.: 409.4. pK 4.54. UV: λ_{max}^{EtOH} 235 m μ (log ϵ 3.98). IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 3580, 2800~2500, 1700, 1675, 1645, 1615.

Rotationsdispersionskurve in H_2O (c=0.59) läuft normal: $[\alpha]_{650} -85.4^\circ$, $[\alpha]_{500} -174.3^\circ$, $[\alpha]_{400} -321.3^\circ$, $[\alpha]_{300} -1213.6^\circ$, $[\alpha]_{274} -2396.5^\circ$.

Natrium-Salz des Monotropeins (I)—100 mg (I) wurde in 15 ml H_2O gelöst und mit einer 0.1N NaOH-Lösung potentiometrisch neutralisiert. Die neutrale Lösung darauf hinterliess bei der Lyophilisierung weisses Pulver, die im IR-Spektrum keine Bande bei 2800~2500, 1700 und 1675 cm^{-1} mehr und anstatt deren die bei 1550 cm^{-1} für $-COO^-$ zeigte. Das Na-Salz wurde in H_2O gelöst und durch die Säule der Ionenaustauscher (IR 120 H-Form) schnell eingeschickt. Das Eluat ergab bei der Einengung und der darauf folgenden Umlösung aus MeOH das unveränderte I als Prismen vom Schmp. 159~160°.

Hydrolyse von Monotropein (I) durch β -Glucosidase (Emulsin aus Aprikosenkernen)—500 mg (I) wurden in 50 ml 0.1N Acetatpufferlösung (pH 4.9) gelöst, mit 6 ml 1%iger β -Glucosidase-Lösung versetzt und bei 37° 42 Std. lang stehengelassen. Die Reaktionsflüssigkeit verfärbte sich dabei bald violett und bildete bei der weiterlaufenden Reaktion einen schmutzig-dunkelvioletten gefärbten Niederschlag. Nachdem dieser abfiltriert war, wurde das Filtrat im Vak. mit Ät_2O geschüttelt und eingedampft. Der Rückstand wurde dann in wenig MeOH aufgenommen, mit Aktivkohle behandelt und wieder im Vak. eingengt. Der dabei erhaltene hellbraune Sirup bildete durch die Einwirkung von Phenylhydrazin das Osazon, welches bei Umlösung aus verd. ÄtOH in gelben Nadeln vom Schmp. 205~208° kristallisierte. Ausbeute 405 mg. $C_{18}H_{22}O_4N_4$ —Ber.: C, 60.32; H, 6.19; N, 15.63. Gef.: C, 60.05; H, 6.37; N, 15.93.

Das Osazon lieferte weiter in der üblichen Weise Phenylglucosotriazol, welches aus H_2O in farblosen Prismen vom Schmp. 194~196° kristallisierte. Es zeigte bei der Mischprobe mit einer authentischen Probe keine Depression.

Hydrolyse von Monotropein (I) durch Salzsäure—I ist auch durch verd. HCl leicht hydrolysierbar, wobei die Reaktionsflüssigkeit sich schon beim Stehen blassblau verfärbt und bei der nachfolgenden Erwärmung einen weiteren Farbumschlag nach dunkelblau und einen fast schwarzen Niederschlag gibt. Aus der wässrigen Schicht liess sich dabei die Glucose papierchromatographisch nachweisen.

Monotropein-pentaacetat (II)—1 g (I) wurde in 10 ml Pyridin suspendiert und mit dem gleichen Volumen Ac_2O versetzt. Im Laufe von 20 Std. gingen die anfangs in Suspension gebliebenen Kristalle in Lösung. Nach dem vollständigen Abdampfen des Lösungsmittels im Vak. wurde der Rückstand in Benzol aufgenommen und mit H_2O mehrere Male ausgeschüttelt, wobei die weissen Nadeln in der H_2O -Schicht auskristallisierten. Die wässrige Lösung lieferte beim Einengen noch weitere Kristalle desselben Stoffes. Durch Umlösung aus Benzol bildeten sie farblose Nadeln vom Schmp. 173~174.5°. $[\alpha]_D^{18} -82.5^\circ$ (c=0.80, ÄtOH). IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 3520, 2800~2500, 1740, 1710, 1650 (Schulter), 1635, 1618. Ausbeute fast quantitativ. $C_{26}H_{32}O_{16}$ —Ber.: C, 52.00; H, 5.38; CH_3CO , 35.83. Gef.: C, 52.25; H, 5.59; CH_3CO , 35.23.

*⁹ Alle Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

Monotropein-pentaacetat-methylester (III)—Bei der Methylierung des 100 mg in $\text{Ät}_2\text{O}$ gelösten (II) mit einer ätherischen CH_2N_2 -Lösung und der darauf folgenden Umlösung aus $\text{Ät}_2\text{O}$ erhielt man Pentaacetat-methylester (III) als Nadeln vom Schmp. $147\sim 148^\circ$ und $[\alpha]_D^{18} -76.25^\circ$ ($c=0.80$, ÄtOH). Ausbeute 85 mg. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 3450, 1745, 1720, 1685, 1635, 1615 (Schulter). $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{16}$ —Ber.: C, 52.76; H, 5.58. Gef.: C, 52.91; H, 5.62.

Ebenso erhielt man bei der Methylierung des in MeOH gelösten (I) mit einer ätherischen Lösung von CH_2N_2 und der darauf folgenden Acetylierung auch diesen Acetat-methylester (III). Dessen Zwischenprodukt, der Methylester, liess sich aber trotz der vielen Bemühung nicht kristallin gewinnen und wurde ohne weiteres acetyliert.

Katalytische Hydrierung von Monotropein (I) mit Palladium-Kohle. i) **Hydrierung in Äthanol**—4 g (I) wurden in 400 ml ÄtOH gelöst und mit Pd-Kohle (aus 5.6 ml 5%iger PdCl_2 -Lösung, 2 g Aktivkohle und ÄtOH bereitet) katalytisch hydriert, wobei 250 ml (ca. 1.1 Mole) H_2 aufgenommen wurden. Die von den Katalysatoren abgetrennte Lösung wurde im Vak. vollständig eingedampft. Der sirupöse Rückstand wurde dann in 40 ml Pyridin gelöst, mit 40 ml Ac_2O versetzt und bei Raumtemperatur über Nacht stehengelassen. Der beim Eindampfen der Reaktionsflüssigkeit im Vak. erhaltene Rückstand wurde in 100 ml Benzol gelöst und der Gegenstromverteilung durch 5 Scheidetrichter, die je 100 ml der oberen und der unteren Schicht enthielten, mit dem Lösungsmittelsystem Benzol- H_2O unterworfen. Nach etwa zehnmaligen Verteilungen, wobei bei den letzten 5 Schritten die untere Phase entnommen wurde, vereinigte man jeweils die Benzol- und die H_2O -Schichten.

a) **Aufarbeitung der Wasserschicht**—Die H_2O -Schicht wurde im Vak. eingedampft und aus verd. MeOH umgelöst, wobei farblose Nadeln des Dihydromonotropein-pentaacetats (IV) erhalten wurden. Schmp. $154\sim 156^\circ$ und $[\alpha]_D^{18} -73.7^\circ$ ($c=0.79$, ÄtOH). UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 232 m μ ($\log \epsilon$ 4.12). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 3520, 2800~2500, 1740, 1715, 1635. $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{16}$ —Ber.: C, 51.83; H, 5.69; COCH_3 , 35.71. Gef.: C, 52.00; H, 5.63; COCH_3 , 34.98.

Aus der Mutterlauge schieden beim langen Stehen noch Prismen aus, die schon bei 110° sinterten und bei 149° vollständig schmolzen. Sie ergaben bei nochmaliger Umlösung aus verd. MeOH obige Nadeln, indem die beiden in CHCl_3 dasselbe IR-Spektrum zeigten.

Die gesamte Ausbeute an IV betrug 2.5 g (ca. 44% d. Theorie).

b) **Aufarbeitung der Benzolschicht**—Die vereinigten Benzolschichten wurden im Vak. eingedampft. Der sirupöse Rückstand dabei ergab durch die Umlösung aus MeOH 1.5 g farblose Nadeln vom Schmp. $169\sim 174^\circ$. (Der Schmelzpunkt dieser Substanz erhöhte sich bei der mehrfachen Umkristallisierung aus demselben Lösungsmittel endlich auf $175\sim 178^\circ$.) Die rohe Kristalle wurden aber ohne weiteres in ÄtOH gelöst und mit 500 mg der in der üblichen Weise bereiteten Pd-C katalytisch hydriert, wobei im Laufe von 1.5 Std. weitere 60 ml H_2 aufgenommen wurden. Nach dem Abtrennen des Katalysators wurde die Lösung dann im Vak. eingedampft. Der Rückstand dabei lieferte durch Umlösung aus verd. MeOH oder auch aus $\text{Ät}_2\text{O}$ -Petroläthyl farblose Nadeln des Bisdesoxydihydromonotropein-tetraacetats (VIII) vom Schmp. $184\sim 186^\circ$ und $[\alpha]_D^{18} -88.6^\circ$ ($c=0.77$, ÄtOH). Die Ausbeute betrug 0.9 g (18% d. Theorie).

Diese Substanz zeigte bei der Mischprobe mit dem Hydrierungsprodukt des Asperulosidtetraacetats vom Schmp. $185\sim 186^\circ$ keine Depression. Die beiden Substanzen zeigten weiter die sich deckend übereinstimmenden IR-Spektren. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 232 m μ ($\log \epsilon$ 4.05). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 3210, 1750, 1720, 1700 (Schulter), 1635. $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_{13}$ —Ber.: C, 54.55; H, 6.11; COCH_3 , 32.57. Gef.: C, 54.68; H, 6.22; COCH_3 , 31.57.

ii) **Hydrierung in Eisessig**—2 g (I) wurden in 140 ml AcOH gelöst und über 1 g der auf derselben Weise wie bei I bereiteten Pd-C katalytisch hydriert, wobei 320 ml (etwa 2.8 Mole) H_2 aufgenommen wurden. Die Reaktionsflüssigkeit wurde dann genauso wie bei i) aufgearbeitet. Dabei erhielt man 0.4 g (etwa 14% d. Theorie) (IV) vom Schmp. $154\sim 156^\circ$ und 1.2 g (ca. 44% d. Theorie) (VIII) vom Schmp. $183\sim 185^\circ$.

Dihydromonotropein-pentaacetat-methylester (VI)—i): 50 mg des IV in $\text{Ät}_2\text{O}$ liess man 1 Std. lang mit überschüssiger ätherischer CH_2N_2 -Lösung stehen. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abgedampft, und der Rückstand aus $\text{Ät}_2\text{O}$ umgelöst, wobei Nadeln vom Schmp. $122\sim 124^\circ$ und $[\alpha]_D^{18} -69.2^\circ$ ($c=0.87$, ÄtOH) erhalten wurden. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 3490, 1750, 1725, 1695, 1640. $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$ —Ber. C, 52.58; H, 5.89. Gef.: C, 52.77; H, 6.01.

ii): Bei der Hydrierung des III in AcOH mit Pd-C als Katalysator und der üblichen Aufarbeitung erhielt man auch ausschliesslich das Produkt vom Schmp. $122\sim 123^\circ$, welches durch Mischprobe und IR-Spektrum als VI identifiziert wurde.

Dihydromonotropein-methylester (VII)—250 mg (VI) in 3 ml abs. MeOH wurden mit 0.5 ml einer 0.1N MeONa-Lösung 15 Min. unter Wasserausschluss und Rückfluss gekocht. Dann wurde mit Eiswasser auf Zimmertemperatur abgekühlt und mit Ionenaustauscher Amberlite IRC-50 (H-Form) neutralisiert. Nach dem Abtrennen des Ionenaustauschers wurde das Filtrat mit überschüssiger ätherischer CH_2N_2 -Lösung 20 Min. stehengelassen und im Vak. eingedampft, wobei der sirupöse Rückstand beim Stehen kristallinisch erstarrte. Durch wiederholte Umlösung aus MeOH- Me_2CO erhielt man daraus 92 mg

farblose Nadeln vom Schmp. 93~95° und $[\alpha]_D^{18} - 76.3^\circ$ ($c=0.38$, ÄtOH). IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 3520~3200, 1705, 1635. $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$ —Ber.: C, 50.24; H, 6.45. Gef.: C, 50.28; H, 6.70.

Bisdesoxydihydromonotropein-tetraacetat-methylester (IX)—260 mg des VIII in Ät₂O liess man 1 Std. lang mit überschüssiger ätherischer CH_2N_2 -Lösung stehen. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abgedampft und der Rückstand aus Ät₂O-Petroläther umgelöst, wobei sich farblose Nadeln vom Schmp. 112~114° gewinnen liessen. Sie wurden wieder in Ät₂O gelöst, durch die Aluminasäule (1.2×15 cm) geschickt und mit demselben Lösungsmittel eluiert. Der durch Eindampfen des Eluats erhaltene Rückstand ergab sich bei der Umlösung aus Ät₂O-Petroläther farblose Nadeln vom Schmp. 114~116° und $[\alpha]_D^{27} - 75.6^\circ$ ($c=0.37$, ÄtOH). Die Ausbeute betrug 205 mg. IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 1750, 1707, 1638. $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_{13}$ —Ber.: C, 55.34; H, 6.32. Gef.: C, 55.59; H, 6.58.

Diese Substanz wurde durch Mischprobe und IR-Spektrum mit dem Methylester des Hydrierungsprodukts von Asperulosidtetraacetat (XXI), der einen Schmelzpunkt von 113~115° zeigt, identifiziert.

Bisdesoxydihydromonotropein-methylester (X)—500 mg (IX) in 6 ml abs. MeOH wurden mit 1 ml 0.1N MeONa-Lösung unter Wasserausschluss und Rückfluss 15 Min. zum Sieden erhitzt. Die Reaktionslösung wurde weiter genauso wie bei der Darstellung von VII aufgearbeitet. Durch Umlösung aus MeOH-Ät₂O kristallisierte das deacetylierte Produkt in farblosen Nadeln vom Schmp. 151~153° und $[\alpha]_D^{22} - 88.7^\circ$ ($c=0.34$, ÄtOH). Die Ausbeute betrug 196 mg. IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 3500~3200, 1710 (Schulter), 1690, 1645. $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_9$ —Ber.: C, 54.54; H, 7.00. Gef.: C, 54.48; H, 7.17.

Diese Substanz liess sich durch Mischprobe und IR Spektrum mit dem Deacetylierungsprodukt identifiziert, das aus dem Hydrierungsprodukt vom Asperulosidtetraacetat (XXI) erhalten wurde.

Katalytische Hydrierung von Tetraacetylasperulosid (XXI) mit Palladium-Kohle—500 mg Tetraacetylasperulosid (XXI), welches sich durch die Acetylierung des aus *Daphniphyllum macropodum* Miquel. isolierten Asperulosids (XI) erhalten liess, wurden in 50 ml ÄtOH gelöst und mit Pd-C (aus 1.1 ml 5%iger PdCl_2 -Lösung, 400 mg Aktivkohle und ÄtOH bereitet) katalytisch hydriert. Nach der vollendeten H₂-Aufnahme wurde die Lösung durch Filtrieren von den Katalysatoren abgetrennt und eingeeengt. Die dabei ausgeschiedenen Kristalle bildeten aus Ät₂O-Petroläther farblose Nadeln des VIII vom Schmp. 185~186° und $[\alpha]_D^{18} - 86.1^\circ$ ($c=0.69$, ÄtOH). Ausbeute 212 mg. $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_{13}$ —Ber.: C, 54.55; H, 6.11. Gef.: C, 54.83; H, 6.31.

Derivate des obigen Hydrierungsprodukts (VIII) aus Tetraacetylasperulosid (XXI). i) **Methylester**—Das obige Hydrierungsprodukt des XXI wurde genauso wie beim Hydrierungsprodukt des I mit CH_2N_2 methyliert, wobei der Methylester vom Schmp. 114~115.5° und $[\alpha]_D^{29} - 76.3^\circ$ ($c=1.14$, ÄtOH) erhalten wurde. $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_{13}$ —Ber.: C, 55.34; H, 6.32. Gef.: C, 55.73; H, 6.38.

ii) **Deacetylierungsprodukt des obigen Methylesters**—Der Methylester wurde wie bei der Herstellung des X aus dem I in abs. MeOH mit MeONa behandelt, wobei das Desacetylierungsprodukt als farblose Nadeln vom Schmp. 151~153° und $[\alpha]_D^{18} - 82.3^\circ$ ($c=0.88$, ÄtOH) erhalten wurde. $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_9$ —Ber.: C, 54.54; H, 7.00. Gef.: C, 54.34; H, 6.74.

Darstellung eines 2,4-Dinitrophenylhydrazons (XII) vom Hydrolysat des Bisdesoxydihydromonotropein-tetraacetats (VIII)—Eine Suspension von 600 mg (VIII) in 200 ml 2N HCl wurde 3 Std. lang unter Rückfluss auf 140~150° in N₂-Atmosphäre erhitzt. Die Reaktionsflüssigkeit wurde mit Ät₂O ausgeschüttelt, mit genügend H₂O gewaschen und mit Glaubersalz getrocknet. Das beim Abdestillieren des Ät₂O zurückbleibende Öl wurde in wenig ÄtOH gelöst, mit einer Lösung von 400 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin und 4 ml konz. H₂SO₄ in 8 ml H₂O versetzt und 2 Std. lang auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Die dabei entstandene rotbraune Fällung wurde in Benzol gelöst und durch eine Aluminasäule (Al₂O₃, Woelm, sauer, Akt.-Stufe I, 1×15 cm) eingeschickt. Nach der genügenden Entwicklung mit Benzol wurde die rote Bande, die um 7 cm von oben auftritt, abgeschnitten und mit Ät₂O eluiert. Das Eluat lieferte beim Abdampfen des Lösungsmittels und der darauf folgenden Umlösung aus Benzol rotorange Nadeln. Schmp. 216~218°, $[\alpha]_D^{17} - 22.5^\circ$ ($c=0.28$, CHCl_3), UV: $\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 355 m μ ($\log \epsilon$ 4.63). $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{N}_8$ —Ber.: C, 49.01; H, 4.31; N, 21.78. Gef.: C, 49.28; H, 4.51; N, 21.99.

Hydrolyse von Bisdesoxydihydromonotropein-methylester (X) durch β -Glucosidase—Zu einer Lösung von 700 mg (X) in 60 ml 0.1N Acetatpufferlösung wurden 15 ml einer 1%igen wässrigen Lösung von β -Glucosidase (Emulsin aus Aprikosenkernen) zugesetzt. Nach zweitägigem Aufbewahren bei 37° wurde die Lösung mit Ät₂O ausgezogen, genügend mit H₂O gewaschen und mit Glaubersalz getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels erhielt man 320 mg Aglucon (XIV) als farbloses Öl. $[\alpha]_D^{12} - 24.0^\circ$ ($c=1.44$, ÄtOH). Trotz vieler Bemühungen liess es sich bis jetzt noch nicht kristallin erhalten.

Agluconacetat (XV)—150 mg (XIV) wurde in 2 ml Pyridin gelöst, mit 2 ml Ac₂O versetzt und 14 Std. lang bei Raumtemperatur stehengelassen. Dann wurde die Reaktionsflüssigkeit ins Eiswasser gegossen und mit Ät₂O ausgeschüttelt. Die Ät₂O-Schicht wurde mit 5%iger HCl, 5%iger NaHCO₃-Lösung und H₂O der Reihe nach gewaschen und mit Glaubersalz getrocknet. Der beim Abdestillieren des Lösungsmittels zurückbleibende Rückstand lieferte durch die Umlösung aus verd. MeOH 100 mg farblose Nadeln. Schmp. 55~57°. $[\alpha]_D^{18} - 80.7^\circ$ ($c=0.11$, ÄtOH). IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 1755, 1705, 1625. $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5$ —Ber.: C, 61.40; H, 7.14. Gef.: C, 61.65; H, 7.39.

Ozonabbau des Aglucons (XIV)—In eine Lösung von 400 mg des XIV in 20 ml CH_2Cl_2 wurde bei einer Temperatur von $-70^\circ\sim-80^\circ$ ein Ozonstrom bis zur beginnenden blauen Verfärbung der Reaktionsflüssigkeit durchgeleitet. Anschliessend wurde eine Lösung von 1.6 ml 30%ige H_2O_2 in 4 ml 5%iger Natronlauge eingetropft und das Ganze bei Raumtemperatur 40 Min. durchgerührt. Nach dem Abdestillieren des CH_2Cl_2 im Vak. bei Raumtemperatur wurde die Lösung dann mit weiterem 4 ml 30%igem H_2O_2 versetzt und bei Raumtemperatur über Nacht weitergerührt. Nach Ansäuern mit 5%iger HCl wurde wenig Na_2SO_3 und NaCl zugesetzt und ausgeäthert. Die $\text{Ät}_2\text{O}$ -Schicht wurde mit der gesättigten wässrigen NaCl -Lösung gewaschen, mit Glaubersalz getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in wenig H_2O suspendiert, durch Zusatz von gesättigter $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Lösung auf pH 9 eingestellt und einige Minuten auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Abkühlung entstand eine weisse Fällung, die mit MeOH gewaschen, mit 5%iger HCl versetzt und mit $\text{Ät}_2\text{O}$ ausgezogen wurde. Die $\text{Ät}_2\text{O}$ -Schicht wurde mit Glaubersalz getrocknet und eingedampft. Der Rückstand ergab bei der Umlösung aus $\text{Ät}_2\text{O}$ -Petroläther 90 mg farblose Prismen (XVI). Schmp. $126\sim128^\circ$. $[\alpha]_D^{16} + 66.0^\circ$ ($c=1.00$, CHCl_3). $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_4$ —Ber.: C, 55.80; H, 7.03. Gef.: C, 55.96; H, 7.02.

Der Dimethylester bzw. das Anhydrid dieser Säure zeigen beide mit der synthetisch hergestellten *rac. cis-trans*-3-Methyl-1,2-cyclopentandicarbonsäure sich deckend übereinstimmende IR-Spektren.

Wasserabspaltung des Dihydromonotropein-pentaacetat-methylesters (VI)—500 mg (VI) in 7.5 ml Ac_2O wurde mit 625 mg frisch geschmolzenem KHSO_4 25 Min. unter N_2 -Atmosphäre auf $95\sim100^\circ$ erwärmt. Nach dem Abtrennen des anorganischen Salzes wurde das Filtrat im Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde dann in $\text{Ät}_2\text{O}$ aufgenommen, mit Glaubersalz getrocknet und das Lösungsmittel abgedampft. Der zurückgebliebene Sirup wurde in $\text{Ät}_2\text{O}$ gelöst und an einer Aluminasäule (1.2×21 cm) mit demselben Lösungsmittel chromatographiert. Das Eluat wurde eingedampft und aus $\text{Ät}_2\text{O}$ -Petroläther mehrere Male umgelöst, wobei 320 mg farblose Nadeln (XVII) vom Schmp. $133\sim134.5^\circ$ und $[\alpha]_D^{25} + 21.8^\circ$ ($c=0.27$, ÄtOH) erhalten wurden. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 234 m μ ($\log \epsilon$ 4.08). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 1740, 1705, 1638. $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$ —Ber.: C, 54.17; H, 5.73. Gef.: C, 54.48; H, 5.94.

Hydrierung des Anhydridihydromonotropein-pentaacetat-methylesters (XVII)—120 mg (XVII) in 15 ml ÄtOH wurde mit einem Pd-C-Katalysator, der aus 0.2 ml 5%igem PdCl_2 und 50 mg Aktivkohle bereitet wurde, und H_2 bei Raumtemperatur zum Stillstand der H_2 -Aufnahme (ca. 11 ml) geschüttelt. Das durch übliche Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt wurde dann durch eine Aluminasäule (1×10 cm) mit $\text{Ät}_2\text{O}$ als Lösungsmittel chromatographiert und anschliessend aus $\text{Ät}_2\text{O}$ -Petroläther umkristallisiert. Man erhielt dabei farblose Nadeln (XVIII) vom Schmp. $132\sim134^\circ$ und $[\alpha]_D^{25} - 143.5^\circ$. Ausbeute 27 mg. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ cm^{-1} : 1740, 1710, 1680 (Schluter), 1635. $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$ —Ber.: C, 53.99; H, 6.04. Gef.: C, 54.27; H, 6.15.

Die Mutterlauge dieses Stoffes lieferte beim Stehen weitere Kristalle vom Schmp. $110\sim112^\circ$, die durch Chromatographie an einer Aluminasäule mit $\text{Ät}_2\text{O}$ und anschliessender Umlösung aus $\text{Ät}_2\text{O}$ -Petroläther farblose Nadeln vom Schmp. $114\sim116^\circ$ und $[\alpha]_D^{27} - 73.0^\circ$ ($c=0.37$, ÄtOH) bildeten. Ausbeute 64 mg. Diese Substanz liess sich durch Mischprobe und IR mit K identifizieren. $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_{13}$ —Ber.: C, 55.34; H, 6.32. Gef.: C, 55.52; H, 6.46.

Titration von Monotropein (I) und Dihydromonotropein-methylester (VII) mittels Perjodat—Die Titration von Monotropein (I) und Dihydromonotropein-methylester (VII) mittels Perjodat wurde im Vergleich mit Bisdesoxydihydromonotropein-methylester (X) und Aucubin (XIX) durchgeführt, wobei das verbrauchte Perjodat nach Fleury-Lange¹⁴⁾ und das ausgebildete Formaldehyd nach Reeves¹⁵⁾ bestimmt wurde. Die Ergebnisse werden in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

TABELLE I.

Substanz	Mole verbrauchtes NaJO_4 /ein Mol Probe			Gebildeter Niederschlag durch Zugabe von Dimedon nach 3 Std. Oxydation	
	nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	Mole Dimethon/ein Mol Probe	Schmp. ($^\circ\text{C}$)
I	2.51	2.92	3.08	0.93	183~188
VII	2.45	2.86	3.01	1.29	176~186
X	1.70	1.93	1.96	—	102~110
XIX	1.69	2.06	2.08	Spur	181~186

Reaktionstemp. 15° .

14) P. F. Fleury, J. Lange: J. pharm. chim., 17, 107, 196 (1933).

15) R. E. Reeves: J. Am. Chem. Soc., 43, 1476 (1941).

Das nach der Oxydation des I gebildete Dimethon zeigte nach einmaliger Umlösung aus verd. MeOH einen Schmp. von 186~188°. Es wurde durch Mischprobe und IR-Spektrum mit dem Formaldimethon identifiziert. $C_{17}H_{24}O_4$ —Ber.: C, 69.83; H, 8.27. Gef.: C, 69.77; H, 8.06.

Verseifung von Asperulosid (XI) mit Barytwasser und Wiederherstellung des Tetraacetylasperulosids (XXI) aus dem Hydrolyseprodukt—Zu einer Lösung von 200 mg Asperulosid (XI) in 30 ml H_2O wurde 0.1N Barytwasser bis zu einem pH-Wert von 12.0 zugesetzt und die Lösung 16 Std. beim Raumtemperatur stehengelassen. Durch Behandlung mit dem Ionenaustauscher IR-120 (H-Form) wurde die Lösung vom überschüssigen Ba^{++} befreit und lyophilisiert, wobei man 178 mg hellgelbes Pulver vom Ba-Salz des deacetylierten Körpers erhielt. Im IR dieses Salzes fehlen die Banden im Carbonyl-Bereich und anstatt deren erscheint die für das Carboxylat charakteristische Bande bei 1540 cm^{-1} aufs neue. Es ergab bei der Acetylierung mit je 2 ml Pyridin und Ac_2O über Nacht bei Raumtemperatur das Tetraacetylasperulosid (XIX) vom Schmp. 154~156°, welches bei der Mischprobe mit einer authentischen Probe keine Depression zeigte. Ausbeute 122 mg.

Zum Schluss möchten wir Herrn Y. Hirata in unserem Laboratorium für die Isolierung des Asperulosids unseren Dank aussprechen. Wir danken Herrn Dr. K. Hozumi und seinen Mitarbeiterinnen in unserem Institut für die Durchführung der Mikroanalysen und Herrn Dr. J. Koizumi von der Nipponshinyaku & Co. für die Messung der optischen Drehung einiger Substanzen. Ebenso sind wir Herrn Dr. K. Tori vom Forschungslaboratorium der Shionogi & Co. und Herrn T. Shingu in unserem Institut für die Aufnahme der NMR-Spektren sehr verbunden.

Zusammenfassung

Die Struktur (I) des Monotropeins, eines für die Pyrolazeen eigentümlichen Monoterpenglucosids, wurde auf Grund der verschiedenen Abbaureaktionen und der spektroskopischen Daten aufgeklärt. Dabei wurde zugleich auch die Struktur (XI) des Asperulosids bestätigt.

(Eingegangen am 31. Januar 1964)

[Chem. Pharm. Bull.
12 (8) 901 ~ 905]

UDC 547.91 : 582.912.3

126. Hiroyuki Inouye und Kaoru Fuji : Über die Monoterpenglucoside. III.*1

Die Stereochemische Beziehung zwischen Monotropein, Asperulosid und Aucubin und die Absolute Konfiguration des Letzteren.

(Pharmazeutische Fakultät der Universität Kyoto*2)

In der ersten Mitteilung¹⁾ dieser Serie haben Inouye und seine Mitarbeiter die Struktur (I) für Monotropein vorgeschlagen und zugleich im Einklang mit Grimshaw²⁾ und Briggs, *et al.*³⁾ die Struktur (II) für Asperulosid zum ersten Mal eindeutig bewiesen. Darin haben sie auch angegeben, daß das Monotropein (I) bei der katalytischen Hydrierung und der darauffolgenden Acetylierung ein Hydrierungsprodukt (III) vom Schmp. 175~178° ergibt, wobei es sich dabei in Wirklichkeit um ein Gemisch von Bisdesoxydihydromonotropein-tetraacetat (IV) und Bisdesoxymonotropein-tetraacetat (V) handelt.

*1 II. Mitteil. : Dieses Bulletin, 12, 968 (1964). Diese Arbeit wurde im 7. Symposium über die Chemie der organischen Naturstoffe Japans (Fukuoka, den 17. Oktober 1963) vorgetragen.

*2 Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto (井上博之, 富士 薫).

1) H. Inouye, T. Arai, Y. Miyoshi : Dieses Bulletin, 12, 888 (1964).

2) J. Grimshaw : Chem. & Ind. (London), 1961, 403.

3) L. H. Briggs, B. F. Cain, P. W. Le Quesne, J. N. Shoolery : Tetrahedron Letters, No. 2, 69 (1963).