

WEITERE BEOBACHTUNGEN ÜBER DIE BIOSYNTHESE DER IRIDOIDGLUCOSIDE

Hiroyuki Inouye, Shinichi Ueda und Yoshio Takeda

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

(Received in Germany 9 July 1970; received in UK for publication 19 July 1970)

In den vorigen Mitteilungen erwiesen wir, dass 7-Desoxyloganinsäure (Bisdesoxydihydrodeacetylasperulosidsäure) (I) einen Precursor der verschiedenen Iridoidglucoside, z. B. Verbenalin (II), Loganin (IV), Asperulosid (X), Aucubin (XII) usw., darstellt¹⁾, und darüber hinaus, dass Loganin (IV) (evtl. Loganinsäure (III)) einen echten Precursor in der Biosynthese des Asperulosids darstellt^{1),2)}.

Wie man in Tab. 1 ansehen kann, bewiesen wir diesmal durch Applikationsversuche von $10\text{-}^3\text{H}$ -7-Desoxyloganinsäure (I)¹⁾ an *Gardenia jasminoides* sowie *Paederia scandens*, dass das Glucosid (I) jeweils in Geniposid (VII), Gardenosid (XV)³⁾ und Scandosid (IX) inkorporiert wird. Dabei wurde VII in Pentaacetat und XV durch katalytische Hydrierung über Pd-C und anschliessende Acetylierung in Pentaacetat des Dihydrokörpers übergeführt und jeweils durch Umlösung zur konstanten Aktivität gereinigt. Scandosid (IX) wurde durch Kombination der präparativen Dünnschichtchromatographie an Silicagel und Avicel gereinigt. Diese Versuche, die wiederum die Wichtigkeit des Glucosids (I) bei der Biosynthese der höher oxydierten Iridoidglucoside erkennen lassen, deuten weiter darauf hin, dass das Gardenosid (XV) in der Pflanze via Geniposid (VII) gebildet wird, da die spez. Aktivität von VII wonach etwa 10fach stärker als die von XV war.

Auch im Hinblick auf die Resultate der vorigen Arbeiten^{1),2)} könnte man sich somit für die Glucoside der Iridoidreihe den folgenden Biosyntheseweg vorstellen, der im Schema 1 dargestellt wurde: Glucosid (I) wandelt sich zuerst durch Hydroxylierung in Loganinsäure um und die letztere weiter durch Wasserabspaltung in 10-Desoxygeniposidsäure (Bisdesoxydeacetylasperulosidsäure) (V). Aus V entsteht durch stufenweise Allyloxydation Geniposidsäure (VI) (evtl. Geniposid (VII)³⁾) und dann Deacetylasperulosidsäure (VIII) sowie Scandosid (IX). Während

Tab. 1 Applikationsversuche von 7-Desoxyloganinsäure (I) an der Gardenia sowie der Paederia-Pflanze

Pflanzen	Menge u. spez. Akt. der applizierten Substanz (I) dpm/m Mol	Isoliertes Glucosid spez. Akt. dpm/m Mol	Einbaurate %
Gardenia jasminoides	43,5 mg $2,79 \times 10^{11}$	Geniposid (VII) $1,63 \times 10^9$	0,05
		Gardenosid (XV) $1,58 \times 10^8$	0,43
Paederia scandens	15,9 mg $3,86 \times 10^{11}$	Scandosid (IX) $1,74 \times 10^{10}$	1,6

Die Applikationsperiode ist bei der Gardenia-Pflanze 9 Tage und bei der Paederia-Pflanze 6 Tage.

VIII mit Asperulosid (X) und Paederosid (XI) äquivalent ist, lässt sich IX seinerseits zu Aucubin (XII) decarboxylieren, welches letztere sich weiterhin in Catalpol (XIII), Catalposid (XIV) usw. umwandeln. Aus der Deacetylasperulosidsäure (VIII) bzw. Scandosid (IX) entsteht ausserdem durch Allylumlagerung stereospezifischerweise Gardenosid (XV) bzw. Monotropein (XVI)^{4),5)}.

Diese Schlussfolgerung wurde tatsächlich durch Applikationsversuche mit 10^{-3}H -10-Desoxygeniposidsäure (V) und 10^{-3}H -Geniposid (VII) jeweils an *Daphniaphyllum macropodium*, 10^{-3}H -Scandosid (IX) an *Aucuba japonica* sowie *Gardenia jasminoides* und schliesslich 10^{-3}H -Aucubin (XII) an *Catalpa ovata* bestätigt.

Die dazu benötigten markierten Substanzen wurden folgenderweise hergestellt: 10^{-3}H -10-Desoxygeniposidsäure (V) resultierte bei der Deacetylierung des 10^{-3}H -10-Desoxygeniposidsäure-tetraacetats mit $\text{MeOH}-\text{Ba}(\text{OH})_2$, das sich durch Hydrogenolyse von Asperulosid-tetraacetat über Pd-C in $^3\text{H}_2$ -Atmosphäre und anschliessende chromatographische Reinigung an einer mit AgNO_3 imprägnierten Silicagelsäule erhalten liess. 10^{-3}H -Geniposid (VII) erhielt man aus dem durch Applikationsversuche von I an Gardenia-Pflanze isolierten 10^{-3}H -Gardenosid durch katalytische Hydrierung, gefolgt von Wasserabspaltung sowie Zempléner Reaktion. 10^{-3}H -Scandosid (IX) sowie 10^{-3}H -Aucubin (XII) wurden auch durch Applikation von I jeweils an der Paederia- sowie der Aucuba-Pflanze hergestellt. Die bei den

Applikationsversuchen isolierten, radioaktiven Glucoside wurden als Acetat durch Umlösung gereinigt. Gardenosid (XV) wurde aber, wie oben erwähnt, als Acetat des Dihydrokörpers gereinigt.

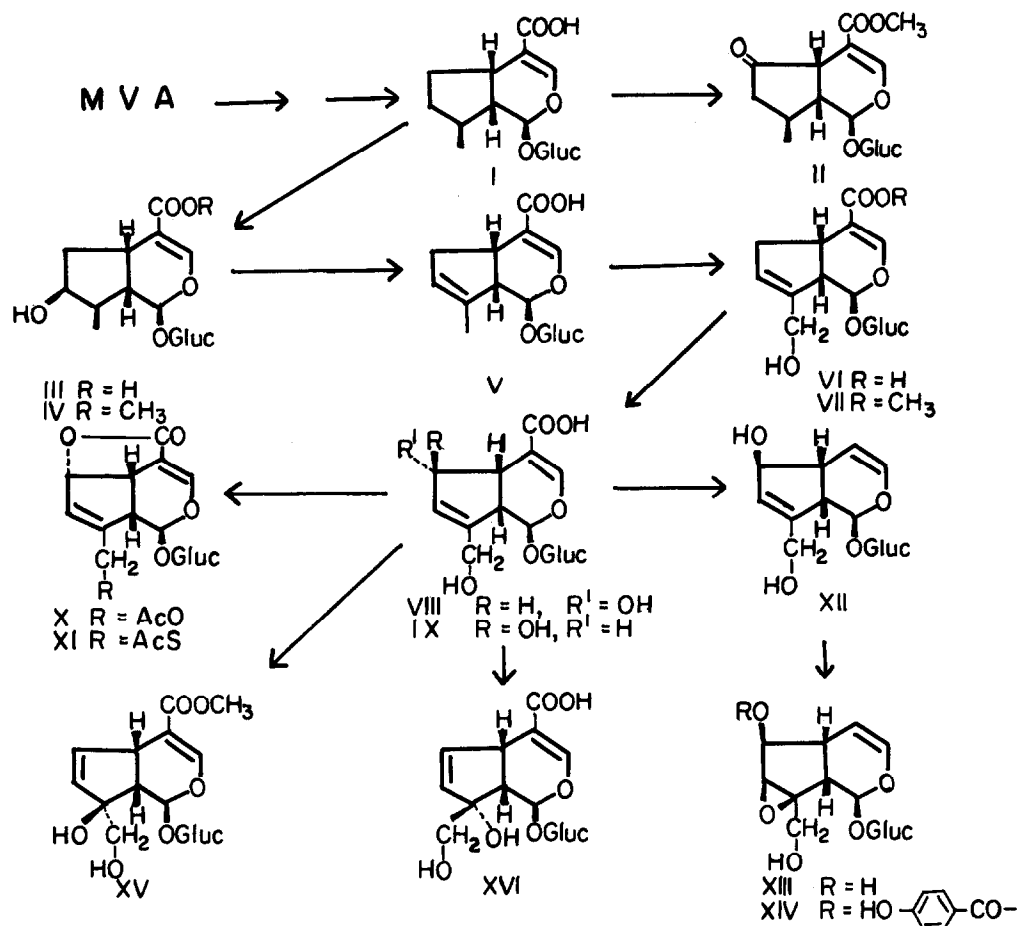
Die Resultate, die man in Tab. 2 ansehen kann, zeigen, dass alle applizierten Glucoside in der Pflanze erwartungsgemäss in die höher oxydierten Glucoside inkorporiert wurden. Während die Inkorporation des Scandosids (IX) in Aucubin (XII) jedoch im Vergleich mit den anderen Stoffen ziemlich gering war, erfuhr die Richtigkeit der angenommenen Route, $I \rightarrow \rightarrow \rightarrow$ Scandosid (IX) \longrightarrow XII anderweitig auch durch die Verdünnungsanalyse Bestätigung. Radioaktives I wurde nämlich wiederum an die Aucuba-Pflanze appliziert und ihr wässr. Extrakt mit inaktivem Scandosid (IX) verdünnt. Es wurde danach durch Aufarbeitung auf übliche Weise als kristalliner Acetat-methylester gefasst, der nach mehrmaliger Umlösung eine konstante Aktivität zeigte. Die Einbaurate betrug wenigstens 0,11 %.

Betreffs der Frage, welches von beiden Glucosiden VIII und IX auf dem normalen Biosyntheseweg den Stoff (XV) und welches XVI ergibt, gibt die Inkor-

Tab. 2 Applikationsversuche mit Glucosiden (V), (VII), (IX) und (XII)

Pflanzen	Appliziertes Glucosid	Isoliertes Glucosid	Einbaurate %
	Menge u. spez. Akt. dpm/m Mol	Spez. Akt. dpm/m Mol	
Daphniphyllum macropodum	10-Desoxyloganinsäure (V) 9,97 mg, $1,12 \times 10^{10}$	Asperulosid (X) $8,10 \times 10^5$	0,24
Daphniphyllum macropodum	Geniposid (VII) 20,4 mg, $5,40 \times 10^7$	Asperulosid (X) $6,80 \times 10^4$	1,6
Aucuba japonica	Scandosid (IX) 2,0 mg, $1,74 \times 10^{10}$	Aucubin (XII) $2,41 \times 10^4$	0,04
Catalpa ovata	Aucubin (XII) 7,52 mg, $6,60 \times 10^7$	Catalposide (XIV) $8,24 \times 10^3$	0,29
Gardenia jasminoides	Scandoside (IX) 2,0 mg, $1,74 \times 10^{10}$	Gardenoside (XV) $1,02 \times 10^6$	0,47

Die Applikationsperiode ist bei der Daphniphyllum- sowie der Aucuba-Pflanze 8 Tage, bei der Gatalpa- und der Gardenia-Pflanze 5 Tage.



poration von IX in XV keine entscheidende Antwort, da die Möglichkeit der abnormalen Umwandlungen, IX → 6-Keto-Körper → XV, dabei nicht ausgeschlossen werden kann²⁾. Versuche darüber sind jetzt im Gange.

LITERATUR UND ANMERKUNGEN

- 1) H. Inouye, S. Ueda und Y. Takeda, *Tetrahedron Letters* **1969**, 2351.
- 2) H. Inouye, S. Ueda und Y. Takeda, *Z. für Naturforsch.* **24 b**, 1666 (1969).
- 3) H. Inouye, S. Saito, H. Taguchi und T. Endo, *Tetrahedron Letters* **1969**, 2347.
- 4) Referenzen über die hier angeführten Glucoside: J. M. Bobbitt und K.-P. Segebarth, in A. R. Battersby und W. I. Taylor, „Cyclopentanoid Terpene Derivatives“, Marcel Dekker, New York 1969; H. Inouye, S. Inouye, N. Shimokawa und M. Okigawa, *Chem. & Pharm. Bull.* **17**, 1942 (1969).
- 5) Bei dieser Auslegung wurden die freien Säuren und die entsprechenden Methylester für Äquivalente gehalten.