

Iridoide und Ecdysone aus Verbenaceae, V¹**Iridoide aus *Duranta repens* L.**Iridoids and Ecdysones from Verbenaceae, V¹Iridoids from *Duranta repens* L.Horst Rimpler und Helmut Timm²

Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin

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

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

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

Duranta repens L. (Syn.: *Duranta plumieri* JACQ.) ist bereits mehrfach untersucht worden: Aus den Früchten wurden β -Sitosterin und Ursolsäure³ sowie Alkaloide^{4,5} nicht völlig geklärter Struktur und aus den Blättern die Flavonoide Pectolarigenin und Scutellarein⁶ isoliert. Auch das Vorkommen von Iridoiden ist bereits durch Farbreaktionen^{7,8} und papierchromatographisch⁹ nachgewiesen worden. Die Iridoide wurden jedoch bisher nicht identifiziert. Bei Kooiman⁹ findet sich lediglich der Hinweis, daß ein aus *Hebenstreitia comosa* (Scrophulariaceae) isoliertes Iridoid unbekannter Struktur (Hebenstreitia-Glykosid C) mit einem in *Duranta plumieri* vorkommenden Glykosid chromatographisch identisch ist. Wir haben daher im Rahmen unserer chemosystematischen Untersuchungen von Verbenaceae die mengenmäßig vorherrschenden Iridoide isoliert und ihre Struktur aufgeklärt.

Isolierung

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

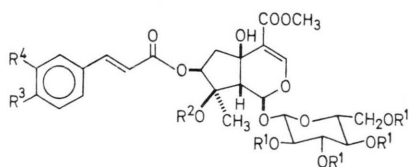
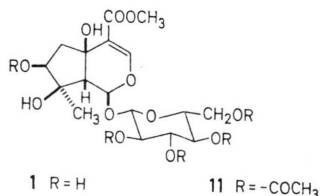
dung, die als Lamiid (1)¹⁰ identifiziert wurde. Die lipophilere Fraktion erwies sich als ein Gemisch dreier bisher nicht bekannter Verbindungen, die wir als Durantoid I (2), Durantoid II (3) und Durantoid III (4) bezeichnen. Durantoid III wurde durch Verteilungschromatographie an Kieselgelsäulen mit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

Struktur der Durantoside

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

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

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



- 2 R¹=R²=R³=R⁴=H
- 3 R¹=R²=R⁴=H, R³=-OCH₃
- 4 R¹=R²=H, R³=R⁴=-OCH₃
- 5 R¹=-COCH₃, R²=R³=R⁴=H
- 6 R¹=-COCH₃, R²=R⁴=H, R³=-OCH₃
- 7 R¹=-COCH₃, R²=H, R³=R⁴=-OCH₃
- 8 R¹=R²=-COCH₃, R³=R⁴=H
- 9 R¹=R²=-COCH₃, R⁴=H, R³=-OCH₃
- 10 R¹=R²=-COCH₃, R³=R⁴=-OCH₃

Cinnamoylreste sind also an die Aglyka gebunden, und die vier Acetylgruppen sind mit den Glucosylresten verknüpft. Die Aglyka enthalten dann noch zwei freie Hydroxygruppen. Diese sollten an die tertiären C-Atome 5 und 8 gebunden sein, da eine sekundäre Hydroxygruppe bei den gewählten Reaktionsbedingungen leicht acetyliert wird. Die freie Hydroxygruppe am C-8 ist darüber hinaus durch die chemische Verschiebung des C(10)-H₃-Signals bewiesen (s. Tab. I). Das Signal für das Proton am C-7 ist sowohl bei Lamiid als auch bei den Durantosiden von anderen Signalen überlagert. Es ist jedoch durch Integration nachweisbar. Bei den Durantosiden ist dieses Signal wie es bei der Acylierung einer sekundären Hydroxygruppe zu erwarten ist, um etwa 1 ppm nach tieferem Feld verschoben. Außerdem sind die Signale für die Protonen am C-6 bei allen Durantosiden gegenüber dem Lamiid um etwa 0,1 ppm nach tieferem Feld verschoben. Diese

Tab. I. NMR-Daten (60 MHz; δ_{TMS}=0).

Verbindung	Lösungsmittel	C(6)-H	C(7)-H	C(10)-H ₃
1	CD ₃ OD	2,23–2,42 m	3,43–3,63	1,10 s
11	CDCl ₃	2,30–2,50 m	4,60–5,45	1,15 s
2	CD ₃ OD	2,30–2,62 m	4,62–5,03	1,20 s
5	CDCl ₃	2,33–2,57 m	4,73–5,50	1,20 s
3	CD ₃ OD	2,33–2,60 m	4,53–5,00	1,18 s
6	CDCl ₃	2,33–2,53 m	4,56–5,50	1,18 s
4	CD ₃ OD	2,33–2,58 m	4,55–4,97	1,18 s
7	CDCl ₃	2,35–2,57 m	4,67–5,35	1,20 s

Verschiebung ist auch bei Lamiidpentaacetat zu beobachten; sie ist offenbar ebenfalls auf die Acylgruppe am C-7 zurückzuführen. Damit ist die Struktur **2** für Durantosid I, die Struktur **3** für Durantosid II und die Struktur **4** für Durantosid III bewiesen.

Aus den spektroskopischen Daten der Durantoside geht hervor, daß alle drei Verbindungen noch mit

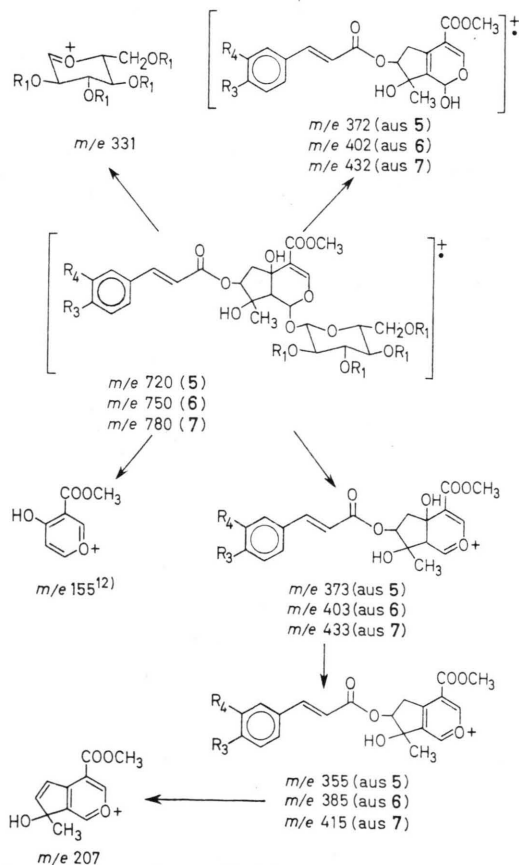


Abb. 1. Massenspektren: Zerfall der Durantosid-Tetraacetate (die Molekülionen konnten nicht nachgewiesen werden).

geringen Mengen von Isomeren verunreinigt sind, bei denen die Zimtsäuren an die Glucosylreste gebunden sind: Die Massenspektren zeigen u. a. Fragmente, die sich nur als acylierte Zuckerbruchstücke deuten lassen (Durantosid I: m/e 293, Santosid II: m/e 323, Santosid III: m/e 353. Auch die NMR-Spektren zeigen schwache Signale bei 2,12–2,35 ppm (C(6)-H₂) und 3,42–3,7 ppm (C(7)H). Die kristallinen Tetra- und Pentaacetate sind dagegen einheitlich.

Beschreibung der Versuche

Die NMR-Spektren wurden mit einem Varian A 60, die Massenspektren mit einem Atlas CH₄, die IR-Spektren mit einem Unicam SP 200 G und die UV-Spektren mit einem Zeiss PMQ II aufgenommen. Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler Heitzisch-Mikroskop bestimmt. Zur Säulenchromatographie verwendeten wir Kieselgel (Woelm) 0,063–0,2 mm, Aluminiumoxid W 200 neutral (Woelm), Celite 545 und zur Gelfiltration Sephadex (G 10, G 15). Die Gegenstromverteilung wurde mit der Steady State Distribution Machine Model 20 (Quickfit) durchgeführt. Das Pflanzenmaterial (oberirdische und unterirdische Teile) wurde zur Blütezeit in der Nähe von Calcutta gesammelt. Ein Herbarexemplar befindet sich im Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.

Isolierung

750 g des getrockneten und gepulverten Pflanzenmaterials wurden mit 3 l reinem Äthanol und danach zweimal mit je 2 l 80-proz. Äthanol je 30 min lang unter Rückfluß gekocht. Die Extrakte wurden vereinigt, im Vakuum auf 150 ml eingeeengt, mit Celite verrieben und im Vakuum getrocknet. Der an 250 g Celite gebundene Extrakt wurde auf eine Celite-Säule gegeben (50 g Celite) und mit Hexan/Methylenchlorid 1:1 eluiert, bis der Durchlauf nur noch schwach gefärbt war (ca. 3 l). Diese Fraktion wurde verworfen. Anschließend wurde mit 4 l Methylenchlorid/Methanol 1:1 eluiert. Der nach dem Einengen verbliebene Rückstand dieses Eluates wurde in wenig Methanol aufgenommen, mit Celite verrieben, im Vakuum getrocknet und dann auf eine Aluminiumoxidsäule (500 g Al₂O₃) gegeben. Elution mit 4 l Wasser ergab nach dem Einengen etwa 6 l g eines braunen, zähflüssigen Rückstandes, der an Celite gebunden und auf drei Kieselgelsäulen (je 600 g) gegeben wurde. Durch Gradientenelution mit Methylenchlorid/Methanol/Wasser (Anfangskonzentration 90:10:1, Endkonzentration 70:30:3) erhielten wir zwei iridoidhaltige Fraktionen.

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

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

Eigenschaften der Santoside

Durantosid I (2)

Farblose amorphe Substanz. UV-Spektrum (H₂O): $\lambda_{\max}$ 282 (ϵ = 19700), 224 (ϵ = 17500) nm.

IR-Spektrum: 3010 w, 1700 s, 1630 s, 1600 s, 1500 w, 1290 s, 875 w, 780 w, 695 w cm⁻¹. NMR (CD₃OD): 7,82 (d, J = 17 Hz, 1 H); 7,58 (s, 1 H); 7,33–7,70 (m, 5 H); 6,63 (d, J = 17 Hz, 1 H); 5,92 (s⁺, 1 H); 4,62–5,03 (m, 2 H); 3,82 (s, 3 H); 3,73–4,05 (m, 1 H); 3,33–3,73 (m, 5 H); 3,0 (s⁺, 1 H); 2,30–2,62 (m, 2 H); 1,2 (s, 3 H) ppm. (s = Singulett, s⁺ = breites Singulett, d = Duplett, m = Multiplett).

Durantosid II (3)

Farblose amorphe Substanz. UV (H₂O): $\lambda_{\max}$ 310 (ϵ = 19900), 228 (ϵ = 19900), 189 (ϵ = 19300) nm. IR (KBr): 1700 s, 1630 s, 1600 s, 1510 s, 1040 m, 840 m cm⁻¹. NMR (CD₃OD): 7,78 (d, J = 16 Hz, 1 H); 7,48 (s, 1 H); 7,5–7,78 (m, 2 H); 6,86–7,12 (m, 2 H); 6,48 (d, J = 16 Hz, 1 H); 5,87 (s⁺, 1 H); 4,53–5,0 (m, 2 H); 3,84 (s, 3 H); 3,76 (s, 3 H); 3,67–3,97 (m, 1 H); 3,22–3,46 (m, 5 H); 2,98 (s⁺, 1 H); 2,33–2,6 (m, 2 H); 1,18 (s, 3 H) ppm.

Durantosid III (4)

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

Acetylierung von Durantosid

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

Durantosid I-Tetraacetat (5)

$C_{34}H_{40}O_{17}$ (720,68) Ber.: C 56,66 H 5,59,
Gef.: C 56,40 H 5,87.

Schmelzpunkt: 220–223 °C; MS: m/e (% Basis-peak).

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

Durantosid I-Pentaacetat (8)

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

Durantosid II-Tetraacetat (6)

$C_{35}H_{42}O_{18}$ (750,71) Ber.: C 55,60 H 5,64,
Gef.: C 56,13 H 5,93.

Schmelzpunkt: 232–235 °C; MS: m/e (% Basis-peak).

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

Durantosid II-Pentaacetat (9)

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

Durantosid III-Tetraacetat (7)

$C_{36}H_{44}O_{19}$ (780,73) Ber.: C 55,38 H 5,68,
Gef.: C 54,12 H 5,96.

Schmelzpunkt: 188–191 °C; MS: m/e (% Basis-peak).

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

Durantosid III-Pentaacetat (10)

$M = 822$ (massenspektrometrisch).

Hydrolyse

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

Methylierung der Lamiidsäure

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

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

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

¹ IV. Mitt.: H. Rimpler, *Phytochem.* **11**, 3094 [1972].

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

³ R. S. Kapil, *Indian Chem. Soc.* **37**, 697 [1960].

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

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

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

⁷ G. Greshoff, *Mededeelingen uit Slands Plantentuin* **25**, 156 [1889].

⁸ J. Cheymol, Diss. Paris 1937.

⁹ P. Kooiman, *Acta bot. neerl.* **19**, 329 [1970].

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

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

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