

Naturstoffe aus Arzneipflanzen, XXII¹⁾

Notiz über die Isolierung und Konstitutionsaufklärung eines neuen Picrosids aus *Picrorhiza kurrooa* Royle und Benth.

Klaus Weinges^{*)} und Klaus Künstler

Organisch-Chemisches Institut der Universität Heidelberg,
Im Neuenheimer Feld 270, D-6900 Heidelberg 1

Eingegangen am 18. April 1977

Der Extrakt von *Picrorhiza kurrooa* enthält neben dem von uns isolierten Picrosid-I (6'-Cinnamoylcatalpol, **2**) und Picrosid-II (6-Vanilloylcatalpol, **3**) ein drittes Picrosid, dessen Konstitution als 6'-(4-Hydroxy-3-methoxycinnamoyl)catalpol (**4**) spektroskopisch bewiesen wird. Außer den drei Picrosiden **2–4** wird ein Gemisch der 6-Cinnamoyl- α - und 6-Cinnamoyl- β -D-glucopyranose isoliert, das sehr wahrscheinlich bei der Aufarbeitung durch Spaltung des Picrosids-I (**2**) entsteht.

Natural Products from Medicinal Plants, XXII¹⁾. — Note on the Isolation and Elucidation of the Constitution of a New Picroside from *Picrorhiza kurrooa* Royle and Benth.

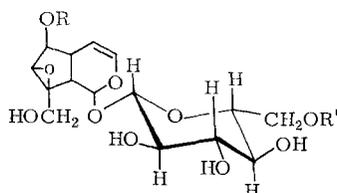
Besides containing picroside-I (6'-cinnamoylcatalpol, **2**) and picroside-II (6-vanilloylcatalpol, **3**), previously isolated by us, the extract from *Picrorhiza kurrooa* includes a third picroside whose constitution has been shown spectroscopically to be 6'-(4-hydroxy-3-methoxycinnamoyl)-catalpol (**4**). In addition to the three picrosides **2–4** a mixture of 6-cinnamoyl- α - and 6-cinnamoyl- β -D-glucopyranose is isolated which presumably is formed by cleavage of the picroside-I (**2**) during work-up.

Aus 20 kg käuflicher Droge von *Picrorhiza kurrooa* erhält man ca. 2 kg (10%) über neutralem Aluminiumoxid vorgereinigten Butanonextrakt, der vier Hauptkomponenten (s. früher²⁾ abgebildetes Dünnschichtchromatogramm) enthält. Der Extrakt wird durch Säulenchromatographie an Sephadex LH-20 mit Wasser als Elutionsmittel aufgetrennt. Man erhält vier chromatographisch reine Fraktionen, die die drei Picroside **2–4** und ein Gemisch der 6-Cinnamoyl- α - und 6-Cinnamoyl- β -glucopyranose enthalten. Die Konstitutionen von Picrosid-I (**2**) und Picrosid-II (**3**) wurden früher von uns bewiesen²⁾. In der vorliegenden Arbeit wird die Konstitutionsaufklärung von Picrosid-III (**4**) beschrieben.

^{*)} Korrespondenz bitte an diesen Autor richten.

1) XXI. Mitteilung: A. Pomilio, B. Ellmann, K. Künstler, G. Schilling und K. Weinges, Liebigs Ann. Chem. 1977, 588.

2) K. Weinges, P. Kloss und W.-D. Henkels, Liebigs Ann. Chem. 759, 173 (1972). Herrn Dr. H. Jaggy, Abteilung für Pflanzenchemie der Firma Dr. Willmar Schwabe, D-7500 Karlsruhe 41, danken wir für die Herstellung des vorgereinigten Butanonextrakts.

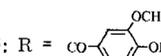


1: R, R' = H

Catalpol

2: R = H; R' = CO-CH=CH-C₆H₅

Picosid-I

3: R = CO-; R' = H

Picosid-II

4: R = H; R' = CO-CH=CH-

Picosid-III

Die freien Picoside 2–4 sind amorph. Zur Konstitutionsermittlung werden die gut kristallisierenden Peracetate (Tabelle 1) hergestellt.

Tabelle 1. Physikalische Konstanten der peracetylierten Picoside 2–4

Peracetat von	Schmp. in °C	$[\alpha]_{580}^{20}$ a)	R _F -Wert b)
Picosid-I (2)	147–148	– 84.4°	0.67
Picosid-II (3)	178–179	– 105.0°	0.56
Picosid-III (4)	154–155	– 78.1°	0.55

a) 2proz. in CHCl₃.

b) DC: Kieselgel; Fließmittel: Benzol/Aceton (8:2).

Konstitutionsaufklärung von Picosid-III (4)

Der Vergleich der ¹H-NMR-Spektren der Peracetate von 2, 3 und 4 ergibt, daß sich die Spektren des Picosid-II-hexaacetats (Hexaacetat von 3) und Picosid-III-hexaacetats (Hexaacetat von 4) weitgehend gleichen. Beim Picosid-III-hexaacetat treten lediglich zwei zusätzliche Dubletts für zwei olefinische Protonen bei $\delta = 6.48$ und 7.73 mit einer Kopplungskonstanten von 16 Hz auf. Hieraus darf geschlossen werden, daß es sich beim Picosid-III ebenfalls um einen Ester des Catalpols mit einer aromatischen Carbonsäure handelt. Durch das Auftreten der Signale für die Protonen einer phenolischen Acetyl- und Methoxygruppe muß ein Ester der Ferula- oder Isoferulasure vorliegen.

In einer früheren Arbeit³⁾ konnten wir zeigen, daß sich die Iridoidglucoside und die mit ihnen veresterten Säuren leicht mit Hilfe ihrer ¹³C-NMR-Spektren identifizieren lassen. Tabelle 2 gibt die ¹³C-chemischen Verschiebungen des Catalpolhexaacetats (Hexaacetat von 1), des Picosid-III-hexaacetats (Hexaacetat von 4) sowie die des Acetylferulasäure- und Acetylisoferulasäure-methylesters an. Daraus ergibt sich eindeutig, daß Picosid-III (4) der Ester der Ferulasäure mit Catalpol ist.

Die Stellung der Ferulasäure am Catalpol kann mit Hilfe des Massenspektrums ermittelt werden. Die charakteristischen Bruchstücke der acetylierten Glucose treten nicht auf, wie man sie beim Catalpolhexaacetat und Picosid-II-hexaacetat beobachtet²⁾. Dafur findet man das Fragment $m/e = 507$ (C₂₄H₂₇O₁₂), das analog dem ent-

3) K. Weinges, K. Künstler, G. Schilling und H. Jaggy, Liebigs Ann. Chem. 1975, 2190.

Tabelle 2. ¹³C-Chemische Verschiebungen des Catalpolhexaacetats (Hexaacetat von **1**), des Picrosid-III-hexaacetats (Hexaacetat von **4**) sowie die des Acetylferulasäure- und Acetylisoferulasäure-methylesters (δ -Werte, interner Standard: TMS)

C-Atom	Catalpol-hexaacetat	Picrosid-III-hexaacetat	Acetylferulasäure-methylester	Acetylisoferulasäure-methylester
1	94.22	94.11		
3	141.00	141.00		
4	101.98	101.87		
5	34.93	34.82		
6	79.56	79.55		
7	58.64	58.53		
8	62.63	62.52		
9	41.61	41.39		
10	61.23	61.23		
1'	96.59	96.48		
2'	70.72	70.61		
3'	72.55	72.55		
4'	68.34	68.24		
5'	72.33	72.55		
6'	62.31	62.31		
1''		133.13	133.3	127.8
2''		111.46	111.5	122.1
3''		151.35	151.6 ^{a)}	140.2
4''		141.54	141.7 ^{a)}	153.0
5''		123.11	123.3 ^{a)}	112.6
6''		121.49	121.2 ^{a)}	127.5
α -		144.77	144.2	143.6
β -		117.39	118.2	116.7
CO		166.11	167.2	167.3

^{a)} Diese Werte wurden gegenüber Lit.³⁾ korrigiert.

sprechenden Bruchstück $m/e = 419$ im Massenspektrum vom Picrosid-I-pentaacetat (Pentaacetat von **2**) ist und auch analog zerfällt²⁾. Damit ist die Veresterung der Ferulasäure mit C-6 der Glucose bewiesen. Daneben finden sich die charakteristischen Fragmente des Catalpolgerüsts und der Ferulasäure.

Konstitutionsaufklärung der 6-Cinnamoyl- α und 6-Cinnamoyl- β -glucopyranose

Aus der ersten Fraktion der säulenchromatographischen Auftrennung des Butanon-extrakts wird eine farblose amorphe Substanz erhalten, die nach Acetylierung aus Ethanol kristallisiert. Mikroanalytische und massenspektrometrische Untersuchungen ergeben die Summenformel $C_{23}H_{26}O_{11}$. Im ¹H-NMR-Spektrum treten Signale für die Protonen der Zimtsäure [$\delta = 6.47$ (1 Olefin-H), 7.71 (1 Olefin-H), $7.25-7.50$ (5 Aromaten-H)] und die für die Protonen einer tetraacetylierten Glucopyranose [$\delta = 5.75-5.85$ (1 H, H¹), $5.1-5.3$ (3 H, H²-H⁴), 4.35 (1 H, H⁶), 3.95 (1 H, H⁵), $2.05-2.15$ (12 H, 4 COCH₃)] auf. Aus diesem Ergebnis kann man auf eine Cinnamoyl-glucopyranose schließen. Die Veresterung der Zimtsäure mit der OH-Gruppe an C-1 der Glucose — also das Vorliegen eines Cinnamoylglucosids — ist durch das Auftreten des Bruchstücks $m/e = 428$ (M⁺ - 59) im Massenspektrometer ausgeschlossen. Die Abspaltung einer Acetoxygruppe ($m/e = 59$) ist charakteristisch für eine an C-1

acetylierte Glucose. Hieraus und durch das Vorkommen des Picrosids-I (2) schließen wir, daß die Zimtsäure mit der OH-Gruppe an C-6 der Glucose verestert ist und daß dieses Produkt bei der Aufarbeitung durch Spaltung des Picrosids-I (2) entsteht. Der Vergleich (Tabelle 3) der ^{13}C -chemischen Verschiebungen des Zimtsäure-methylesters sowie der Pentaacetyl- α - und Pentaacetyl- β -D-glucopyranose mit denen der peracetylierten Cinnamoylglucopyranose zeigt, daß wir ein Gemisch der 6-Cinnamoyl- α - und 6-Cinnamoyl- β -D-glucopyranose vorliegen haben, auf dessen Auftrennung verzichtet wurde.

Tabelle 3. ^{13}C -Chemische Verbindungen der Tetraacetyl-6-cinnamoylglucopyranose, des Zimtsäure-methylesters und der Pentaacetyl- α - und Pentaacetyl- β -D-glucopyranose (δ -Werte, interner Standard: TMS)

C-Atom	Tetraacetyl- 6-cinnamoyl- glucopyranose	Zimtsäure- methylester	Pentaacetyl- α -glucopyra- nose	Pentaacetyl- β -glucopyra- nose
1	89.0/91.7		89.0	91.7
2	69.2/70.3		69.3	70.4
3	69.8/72.7		69.9	72.7
4	68.0/68.0		68.1	68.0
5	69.8/72.7		69.9	72.7
6	61.6/61.6		61.5	61.7
α -	145.6	144.6		
β -	117.1	117.8		
1'	134.2	134.4		
2'	127.5	127.7		
3'	128.1	128.1		
4'	130.3	130.1		
5'	128.5	128.1		
6'	127.6	127.7		

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. — Die ^1H -NMR-Spektren wurden mit dem Varian-Gerät A 60, die ^{13}C -NMR-Spektren mit dem Bruker-HFX-90-Gerät und die Massenspektren mit einem Bell & Howell-CEC-21-110-Gerät aufgenommen. — Die optischen Drehwerte wurden mit einem Perkin-Elmer-Polarimeter gemessen.

*Auftrennung des Butanonextrakts*²⁾: 10 g des vorgereinigten Butanonextrakts werden in wenig Wasser gelöst und auf eine Sephadex-LH-20-Säule gegeben. Nach dem Einziehen des Extrakts wird mit Wasser eluiert. Mit einem Fraktionssammler werden je 10 ml abgetrennt, und der Inhalt jedes Reagenzglases wird auf Kieselgel mit Chloroform/Methanol (8:2) chromatographiert. Man erhält vier reine Fraktionen:

Fraktion 1: 700 mg einer Mischung von 6-Cinnamoyl- α - und 6-Cinnamoyl- β -D-glucopyranose mit dem R_F -Wert 0.40.

Fraktion 2: 970 mg Picrosid-I (2) mit dem R_F -Wert 0.31.

Fraktion 3: 680 mg Picrosid-III (4) mit dem R_F -Wert 0.23.

Fraktion 4: 2.45 g Picrosid-II (3) mit dem R_F -Wert 0.20.

Hexaacetylpicrosid-III (Hexaacetat von 4): 200 mg 4 (Fraktion 3) werden mit 0.5 ml absol. Pyridin und 0.6 ml Acetanhydrid 12 h bei Raumtemp. acetyliert. Das Reaktionsgemisch

wird auf Eis/Wasser gegossen und so lange geknetet, bis die Substanz fest wird. Man saugt ab und kristallisiert aus Ethanol um. Ausb. 100%; Schmp. 154–155°C (aus Ethanol), $[\alpha]_{589}^{20} = -78.1^\circ$ (2proz. in CHCl_3).

$\text{C}_{37}\text{H}_{42}\text{O}_{19}$ (790.7) Ber. C 56.25 H 5.36 COCH_3 32.63
 Gef. C 56.16 H 5.51 COCH_3 32.62
 Molmasse 790 (massenspektrometr.)

1,2,3,4-Tetraacetyl-6-cinnamoyl- α - und 1,2,3,4-Tetraacetyl-6-cinnamoyl- β -D-glucopyranose: 200 mg der Mischung von Fraktion 1 werden wie Picosid-III (4) acetyliert. Aus Ethanol erhält man in 100proz. Ausbeute Kristalle mit Schmp. 152–164°C und R_F -Wert 0.51 (Benzol/Aceton 8:2).

$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$ (478.4) Ber. C 57.79 H 5.48 COCH_3 35.95
 Gef. C 57.63 H 5.72 COCH_3 35.70
 Molmasse 478 (massenspektrometr.)

[60/77]