

[Chem. Pharm. Bull.
29(3) 663-666 (1981)]

Chemische und chemotaxonomische Untersuchungen von Filices. XXXIV.¹⁾
Chemische Untersuchungen der Inhaltsstoffe von
***Pteris purpureorachis* COPEL.**

NOBUTOSHI TANAKA,^{2a)} TAKAO MURAKAMI,^{*,2a)} YASUHISA SAIKI,^{2b)}
 CHIU-MING CHEN,^{2c)} und YOICHI IITAKA^{2d)}

*Pharmaceutical Institute, Science University of Tokyo,^{2a)} Funakawara-machi, Shinjuku-ku,
 Tokyo, 162, Japan, Department of Pharmaceutical Sciences, Kobe Gakuin
 University,^{2b)} Arise, Igawatani-machi, Tarumi-ku, Kobe, 673, Japan,
 Department of Chemistry, National Tsing Hua University,^{2c)}
 Kuang Fu Road, Hsinchu, Taiwan, China und Faculty
 of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo,^{2d)}
 Hongo, Tokyo, 113, Japan*

(Eingegangen am 10. September 1980)

From the fronds of *Pteris purpureorachis* COPEL. three new ent-atisane type diterpenes, pteroatisene P₁, P₂ and pteroatisenoside P₁, were isolated. Their structures were elucidated using some chemical transformations, spectroscopic methods and X-ray crystallographic analysis as *ent*-9-hydroxy-15-oxo-atis-16-en-19-oic acid, *ent*-9,15 α -dihydroxy-atis-16-en-19-oic acid and *ent*-9-hydroxy-15-oxo-atis-16-en-19-oic acid- β -D-glucosylester.

Keywords—*Pteris purpureorachis*; fern; *ent*-atisane type diterpenes; spectroscopic methods; chemical transformations; X-ray crystallographic analysis

In Fortsetzung unserer chemischen und chemotaxonomischen Untersuchungen von Filices haben wir jetzt *P. purpureorachis* COPEL. (=*P. tokioi* MASAM., Pteridaceae, jap. Name: Hikage-amakusashida) untersucht und aus dem MeOH-Extrakt der oberirdischen Teile zwei Diterpene und ein Diterpenesterglykosid mit dem Kohlenstoffgerüst des Atisens, die bisher unbekannt waren, isoliert. Wir möchten sie also Pteroatisen P₁, P₂ und Pteroatisenosid P₁ bezeichnen. In der vorliegenden Arbeit wird über die Strukturenaufklärung berichtet.

Pteroatisen P₁ (I), C₂₀H₂₈O₄, stellt farblose Nadeln vom Schmp. 246—248° und $[\alpha]_D^{25}$ -4.6° (c=0.7, MeOH) dar. Das UV-Absorptionsmaximum bei 225 nm (log ε 3.71) und die IR-Absorptionsbande bei 1700 und 1635 cm⁻¹ sowie die PMR-Signale (CDCl₃) bei δ 5.12 und 5.89 (je 1H, d, J=1 Hz) für die endständigen Methylenprotonen zeigen das Vorliegen eines Ketons, das mit einer exozyklischen Doppelbindung konjugiert ist. Weiter zeigt das IR-Spektrum eine Carboxyl-Bande bei 1690 cm⁻¹ und eine Bande bei 3540 cm⁻¹, die anhand

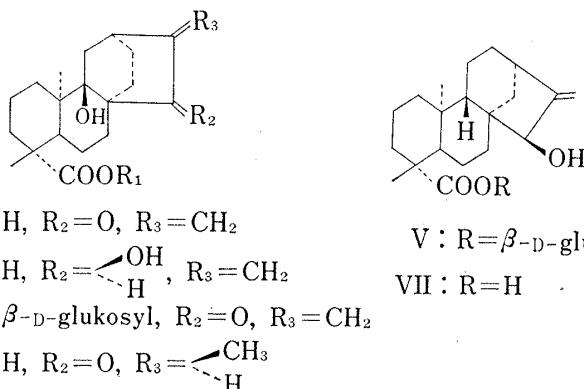


Abb. 1

des ^{13}C -NMR-Signals ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) bei δ 77.4 (s) und des Massfragmentions bei m/e 314 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$) einem tertiären Alkohol zugeordnet wird. Aus zwei Singulettten (je 3H) bei δ 1.00 und 1.20 im PMR-Spektrum folgt, daß zwei tertiäre Methylgruppen mit dem Ringsystem verbunden sind. Es handelt sich also bei I um eine tetrazyklische Diterpensäure mit einer tertiären Hydroxygruppe und einem α, β -ungesättigen Keton, das mit einer exozyklischen Doppelbindung konjugiert ist. Aus den vergleichenden Untersuchungen der spektroskopischen Daten von I und II läßt sich die nahe Verwandtschaft mit Pteroatisen P_2 (II) vermuten. Pteroatisen P_2 , $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_4$, stellt farblose Plättchen vom Schmp. $239-240^\circ$ und $[\alpha]_D^{20} -22.0^\circ$ ($c=0.6$, MeOH) dar. Im PMR-Spektrum ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) von II tritt ein Signal für ein Oxymethin-proton auf, das in dem von I fehlt. Durch Jones-Oxydation wurde II zu I übergeführt. Es handelt sich also bei II um eine Verbindung mit Pteroatisen P_1 -Struktur, wobei sich allerdings anstelle eines Ketons eine sekundäre Hydroxygruppe befindet. Aus den spektroskopischen Daten konnte über das Grundgerüst keine eindeutige Aussage entnommen werden. Zur Ermittelung der Konstitution wurde eine Röntgenstrukturanalyse von II durchgeführt. Abb. 2 zeigt die perspektivische Anordnung von II. Die ausführlichen Resultate werden an anderer Stelle dargestellt.³⁾ Die absolute Konfiguration ergibt sich durch die CD-Kurve des 16,17-Dihydrokörpers von I (*ent*-9-Hydroxy-15-oxo-16S-atisan-19-säure (IV)), der durch die katalytische Hydrierung (PtO_2) von II und anschließende Jones-Oxydation erhalten wurde. Das CD-Spektrum zeigt einen positiven Cotton-Effekt bei 290 nm ($[\theta]_{290}^{20} +2660^\circ$ ($c=0.03$, MeOH)), wie aufgrund dem Cotton-Projektionsbild für die enantiomäre Atisan-konfiguration (Abb. 3) zu erwarten ist. Damit wird die Struktur von Pteroatisen P_2 als die einer *ent*-9,15 α -Dihydroxy-atis-16-en-19-säure bestimmt. Somit ist Pteroatisen P_1 eine *ent*-9-Hydroxy-15-oxo-atis-16-en-19-säure.

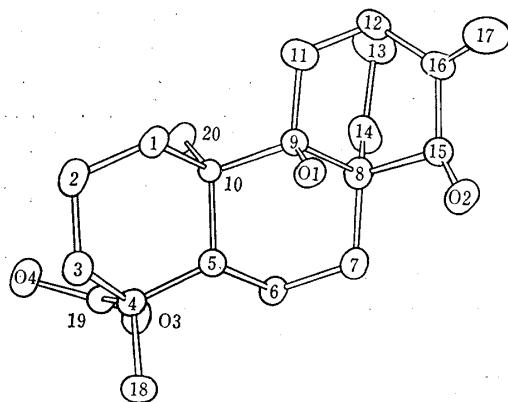


Abb. 2. Perspektivische Anordnung von II

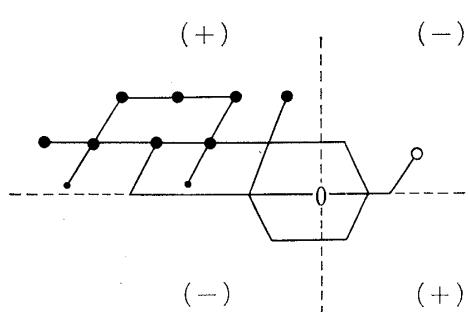


Abb. 3. Cotton-Projektionsbild für IV

Pteroatisenosid P_1 (III), $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_9$, stellt farblose Nadeln vom Schmp. $161-165^\circ$ und $[\alpha]_D^{20} -18.0^\circ$ ($c=1.6$, MeOH) dar. Die enzymatische Hydrolyse mit Rohhesperidinase ergab I, das ebenfalls bei der alkalischen Hydrolyse gewonnen wurde. Andererseits lieferte die saure Hydrolyse neben D-Glukose einige Umwandlungsprodukte des Aglykons. Sowohl aus diesen Hydrolyseversuchen wie aus der Übereinstimmung der chemischen Verschiebungen der Glukose-Kohlenstoffsignale mit denen für Paniculosid I (V) beschriebenen Daten⁴⁾ (siehe Tabelle) folgt, daß im Pteroatisenosid P_1 (III) wie in V eine esterglykosidische Bindung der Säurefunktion an C-4 vorliegen muß. Dafür spricht auch, daß das Signal des Kohlenstoffatoms 19 im Spektrum des Glykosids (III) gegenüber dem der freien Säure um 7.0 ppm zu höheren Feldern verschoben ist. Die chemische Verschiebung des C-1'-Signals zeigt eine β -glykosidische Verknüpfung an, was durch das Auftreten des NMR-Singals bei 6.12 (d, $J=7$ Hz) bestätigt wird. Somit zeigt Pteroatisenosid P_1 die Struktur eines *ent*-9-Hydroxy-15-oxo-atis-16-en-19-säure- β -D-glukosylester.

TABELLE I. Glukose-Kohlenstoffresonanzen (δ in ppm)
von III und V

	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-19
III	95.6(d)	73.9(d)	79.1(d)	71.0(d)	79.0(d)	62.1(t)	176.9(s)
V	95.7(d)	74.0(d)	79.0(d)	71.0(d)	79.0(d)	62.1(t)	176.9(s)
I							183.9(s)
VII							180.1(s)

Experimenteller Teil

Betreffend Geräte und Technik siehe frühere Mitteilungen dieser Reihe.

Isolierung der Inhaltsstoffe—400 g oberirdische Teile von *P. purpureorachis* COPEL., die im Juli 1979 auf der Insel Yaku gesammelt worden waren, wurden mit MeOH ($2\text{ l} \times 3$) extrahiert. Der Extrakt wurde über Aktivkohle (80 g) gegeben und mit MeOH (10 l) eluiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels bleibt ein braunes Öl zurück, das an einer Kieselgelsäule (100 g, ϕ : 7 cm) nacheinander mit 500 ml CHCl_3 (Fraktion I), 600 ml CHCl_3 (Fraktion II), 800 ml 10% (Vol.) MeOH enthaltenden CHCl_3 -Lösung und 600 ml 20% (Vol.) MeOH enthaltenden CHCl_3 -Lösung (Fraktion III) chromatographiert wird. Fraktion II wurde erneut an Kieselgel chromatographiert (Elutionsmittel: CHCl_3). Die I und II enthaltenden Fraktionen ließen sich mittels präparativer DC (Kieselgel, Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Äther}$ (2:1)) zerlegen, wobei 40 mg I und 63 mg II erhalten wurden. Die Auf trennung der Fraktion III gelingt mittels DCCC (Lösungsmittel-System: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4:5:3); die obere Schicht dient zur mobilen Phase und die untere zur stabilen Phase). Die glykosidhaltige Fraktionen wurden gesammelt und die Umkristallisation des Eindampfrückstands aus EtOH brachte 53 mg III.

Pteroatisen P₁ (I)—Aus MeOH farblose Nadeln vom Schmp. 246—248° und $[\alpha]_D^{25} -4.6^\circ$ ($c=0.7$, MeOH). MS *m/e* 332.2001 (M^+ für $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$, ber. 332.1988), 317, 314, 286, 246, 189, 164, 123, 109. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 225 (log ϵ 3.71). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3540, 2940, 2880, 1700, 1690, 1635, 1470, 1280, 1035, 975, 950. PMR (60 MHz, CDCl_3) δ : 1.00 (3H, s), 1.20 (3H, s), 5.12 (1H, d, $J=1$ Hz), 5.89 (1H, d, $J=1$ Hz), 2.8 (1H, m). ¹³C-NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 15.1 (q, C-20), 18.2 (t), 19.2 (t), 24.8 (t), 25.9 (t), 26.4 (t), 29.1 (q, C-18), 31.2 (t), 35.9 (d, C-12), 37.3 (t), 39.3 (t), 43.2 (s, C-4 oder C-10), 43.9 (s, C-10 oder C-4), 48.1 (d, C-5), 50.5 (s, C-8), 77.4 (s, C-9), 117.0 (t, C-17), 145.8 (s, C-16), 183.9 (s, C-19), 201.1 (s, C-15). PMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 1.33 (3H, s), 1.35 (3H, s), 5.13 (1H, d, $J=1$ Hz), 6.08 (1H, d, $J=1$ Hz), 2.79 (1H, m).

Pteroatisen P₂ (II)—Aus MeOH farblose Plättchen vom Schmp. 239—240° und $[\alpha]_D^{25} -22.0^\circ$ ($c=0.6$, MeOH). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3470, 2920, 1695, 1245, 1175, 1165, 1075, 1065, 1035, 905. PMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 1.31 (3H, s), 1.41 (3H, s), 3.99 (1H, br.s), 5.17 (1H, t, $J=1$ Hz), 5.51 (1H, t, $J=1$ Hz). ¹³C-NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 15.6 (q, C-20), 19.4 (t), 20.7 (t), 25.2 (t), 28.2 (t), 29.6 (q, C-18), 30.1 (t), 31.0 (t), 36.8 (d, C-12), 38.7 (t), 41.1 (s, C-4 oder C-10), 41.9 (s, C-10 oder C-4), 44.0 (s, C-8), 48.3 (d, C-5), 48.3 (t), 78.7 (s, C-9), 78.7 (d, C-15), 108.1 (t, C-17), 156.7 (s, C-16), 180.4 (s, C-19). MS *m/e*: 334.2068 (M^+ für $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_4$, ber. 334.2144), 316 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 298 ($M^+ - 2\text{H}_2\text{O}$), 288, 270, 248, 230, 161, 148.

Pteroatisenosid P₁ (III)—Aus EtOH farblose Nadeln vom Schmp. 161—165° und $[\alpha]_D^{25} -18.0^\circ$ ($c=1.6$, MeOH). $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_9$, Ber. C, 63.14, H, 7.75; Gef. C, 62.91, H, 7.55. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm 226 (log ϵ 3.73). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400, 1710, 1700, 1635, 1075. PMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 1.27 (3H, s), 1.39 (3H, s), 3.8—4.5 (6H), 5.15 (1H, d, $J=1$ Hz), 6.07 (1H, d, $J=1$ Hz), 6.12 (1H, d, $J=7$ Hz). ¹³C-NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 15.4 (q, C-20), 18.8 (t), 19.8 (t), 25.2 (t), 26.4 (t), 27.2 (t), 28.6 (q, C-18), 31.6 (t), 36.5 (d, C-12), 38.3 (t), 39.0 (t), 43.7 (s, C-4 oder C-10), 44.2 (s, C-10 oder C-4), 48.7 (d, C-5), 51.2 (s, C-8), 62.1 (t, C-6'), 71.0 (d, C-4'), 73.9 (d, C-2'), 77.0 (s, C-9), 79.0 (d, C-5'), 79.1 (d, C-3'), 95.6 (d, C-1'), 115.2 (t, C-17), 147.6 (s, C-16), 176.9 (s, C-19), 200.9 (s, C-15). MS *m/e* 494 (M^+), 332, 314, 286.

Phenylborat von II—10 mg II in 2 ml absol. Benzol wurden mit 70 mg Phenylborsäure versetzt und 20 min. bei Raumtemp. gerührt. Der Eindampfrückstand wurde durch präparative DC (Kieselgel, Elutionsmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Äther}$, 3:1) gereinigt. Kristallisation aus Äther lieferte 6 mg farblose Nadeln vom Schmp. 205—207°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2920, 1685, 1600, 1435, 1325, 1120, 1030, 905, 695. PMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 1.08 (3H, s), 1.23 (3H, s), 3.85 (1H, br.s), 5.02 (1H, t, $J=1$ Hz), 5.20 (1H, t, $J=1$ Hz), 7.2—7.4 (3H), 7.7—7.9 (2H). MS *m/e*: 420 (M^+), 375, 298.

ent-9-Hydroxy-15-oxo-16S-atisan-19-säure (IV)—25 mg II in 20 ml EtOH wurden in Gegenwart von 70 mg PtO_2 2 hr unter Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach Filtrieren wurde der Eindampfrückstand aus $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ umkristallisiert und 17 mg farblose Nadeln (VI) vom Schmp. 281—283° erhalten. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3350, 2920, 1530, 1465, 1030. PMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 1.33 (3H, s), 1.37 (3H, d, $J=7$ Hz), 1.43 (3H, s), 3.67 (1H, d, $J=10$ Hz). MS *m/e*: 336 (M^+), 218, 300, 260. Die Lösung von 15 mg VI in 15 ml Aceton wurde mit 5 Tropfen Jones-Reagenz versetzt, 30 min. bei Raumtemp. stehengelassen, nach Ende der Reaktion in 50 ml H_2O gegossen und mit $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ extrahiert. Der $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ -Extrakt wurde

neutral gewaschen und der Eindampfrückstand aus $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ kristallisiert. 7 mg farblose Nadeln vom Schmp. 240—242° und $[\alpha]_D^{25} -24.0^\circ$ ($c=0.2$, MeOH) wurden erhalten. $[\theta]_{25}^{20} +2660^\circ$ ($c=0.03$, MeOH). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3500, 3200, 2920, 1695, 1460, 1225, 1170, 1095, 1030. PMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 1.33 (6H, s), 1.38 (3H, d, $J=7$ Hz). MS m/e 334.2100 (M^+ für $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_4$, ber. 334.2144), 319, 316, 288, 273, 261, 248, 220, 167, 123, 109.

Jones-Oxydation von II—5 mg II wurden mit Jones-Reagenz wie oben beschrieben oxydiert und aufgearbeitet. Umkristallisieren aus MeOH lieferte 2 mg farblose Nadeln vom Schmp. 247°, die anhand IR-Spektrum, Mischschmelzpunkt und DC mit I identifiziert wurden.

Saure Spaltung von III—10 mg III wurden in 5 proz. Salzsäure suspendiert und 6 hr unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abfiltrieren und dem Ausschütteln mit Äthylacetat wurde die wäßrige Phase eingedampft und 3.2 mg Syrup von $[\alpha]_D^{25} +55.0^\circ$ ($c=0.16$, H_2O) blieben zurück. Der Trimethylsilylather wurde gaschromatographisch analysiert. Das Chromatogramm enthält die Peaks des 1,2,3,4,6-Pentakis-O-trimethylsilyl- β -D-glukopyranose (t_R : 14 min) und seines α -Anomeren (t_R : 9.8 min), die durch Cogaschromatographie mit den authentischen Proben identifiziert wurden (2m-Glassäule (I.D. 2.6 mm, 1.5% SE-30 auf Chromosorb W), Säulentemp.: 160°, Trägergas: N_2 , 60 ml/min).

Alkalische Spaltung von III—10 mg III wurden mit 5 ml 1 proz. ethanolischer KOH-Lösung 10 min unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit 10 proz. Salzsäure angesäuert und mit Äthylacetat extrahiert. Der Extrakt wurde neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde durch präparative DC (Laufmittel: $\text{CHCl}_3/\text{Äther}$, 1:1) gereinigt. Kristallisation aus MeOH ergab 1.5 mg farblose Nadeln vom Schmp. 245°, die mit I identisch waren.

Enzymatische Spaltung von III—20 mg III wurden in 20 ml Citrat-Pufferlösung (pH 4.00) suspendiert und mit 60 mg Rohhesperidinase 3 hr bei 40° gerührt. Danach wurde die Lösung mit 50 ml Äthylacetat extrahiert. Der Eindampfrückstand des Extrakts wurde aus MeOH umkristallisiert und 8 mg farblose Nadeln vom Schmp. 246° erhalten, die mit I identisch waren.

Literatur und Anmerkung

- 1) XXXIII. Mitteil. T. Murakami, H. Iida, N. Tanaka, Y. Saiki, C.-M. Chen und Y. Iitaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 657 (1981).
- 2) Standort: a) *Funakawara-machi, Shinjuku-ku, Tokyo, 162, Japan*; b) *Arise, Igawatani-machi, Tarumi-ku, Kobe, 673, Japan*; c) *Kuang Fu Road, Hsinchu, Taiwan, China*; d) *Hongo, Tokyo, 113, Japan*.
- 3) T. Murakami, N. Tanaka, H. Iida und Y. Iitaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 773 (1981).
- 4) K. Yamasaki, H. Kohda, T. Kobayashi, R. Kasai, und O. Tanaka, *Tetrahedron Letters*, **1976**, 1005.