

Acknowledgement This work was supported in part by a Grant-in-Aid from the Ministry of Education, Science and Culture, Japan. The authors are indebted to the Central Analysis Room of this Institute for elemental analyses and spectral measurements.

References and Notes

- 1) Part CI: T. Kato, N. Katagiri, M. Tanaka, A. Wagai, and K. Harimaya, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 2129 (1980).
- 2) R.N. Lacey, *J. Chem. Soc.*, **1954**, 839.
- 3) R.N. Lacey, *J. Chem. Soc.*, **1954**, 845.
- 4) H. Suzuki, I. Matsuda, K. Itoh, and Y. Ishii, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **47**, 2736 (1974).
- 5) A. Maujean and J. Chuche, *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 2905.
- 6) R. Gompper and J. Stetter, *Tetrahedron Lett.*, **1973**, 233.
- 7) T. Kato and T. Sakamoto, *Yakugaku Zasshi*, **87**, 1322 (1967).
- 8) T. Kato and Y. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **13**, 959 (1965); T. Kato, Y. Yamamoto, and M. Kondo, *ibid.*, **23**, 1873 (1975).
- 9) T. Kato and M. Kondo, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 356 (1976).
- 10) Y. Iwakura and K. Nagakubo, *Kogyo Kagaku Zasshi*, **57**, 947 (1954).
- 11) V.I. Gunar and S.I. Zav'yalov, *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **158**, 1358 (1964).
- 12) M. Furukawa, T. Yoshida, M. Goto, and S. Hayashi, *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 2594 (1973).
- 13) A.C. Veronese and F. D'Angeli, *Ann. Chim. (Rome)*, **60**, 374 (1970).
- 14) A.F. Crowther, F.H.S. Curd, and F.L. Rose, *J. Chem. Soc.*, **1948**, 586.

[*Chem. Pharm. Bull.*] [**29(3)** 866-868 (1981)]

Chemische und chemotaxonomische Untersuchungen von Filices. XXXV.¹⁾ Chemische Untersuchungen der Inhaltsstoffe von *Polystichum tripteron* (KUNZE) PR.

TAKAO MURAKAMI,^{*,2a)} TSUYOSHI KIMURA,^{2a)} HIROSHI WADA,^{2a)} NOBUTOSHI TANAKA,^{2a)}
YASUHISA SAIKI,^{2b)} und CHIU-MING CHEN^{2c)}

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

(Eingegangen am 10, September 1980)

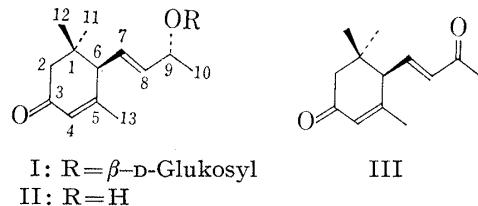
From the fronds of *Polystichum tripteron* (KUNZE) PR. a new norcarotenoid glycoside was isolated and shown to be (6R, 7E, 9R)-9-hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one-9-O- β -D-glucoside. The fronds of *Dennstaedtia wilfordii* (MOORE) CHRIST. contain the same glucoside.

Keywords—*Polystichum tripteron*; *Dennstaedtia wilfordii*; ferns; norcarotenoid glucoside; (6R, 7E, 9R)-9-hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one-9-O- β -D-glucoside

In Fortsetzung unserer chemischen und chemotaxonomischen Untersuchungen von Filices wurde *Polystichum tripteron* (KUNZE) PR. (jap. Name: Jyumonji-shida, Aspidiaceae) auf die Inhaltsstoffe untersucht. Die oberirdischen Teile enthalten ein bisher unbekanntes Glykosid (I) des Norcarotinoid-Typs. In dieser Mitteilung wird über die Struktur des Glykosids berichtet.

Das Glykosid (I), $C_{19}H_{30}O_7$, stellt farbloses Öl vom $[\alpha]_D^{20} +58.6^\circ$ ($c=1.5$, MeOH) dar. Im PMR-Spektrum (100 MHz, C_5D_5N) erscheinen die Signale bei δ 3.72—4.70 (7H) und 4.90 (1H, d, $J=7$ Hz) für die Protonen des Zucker-Anteils und im ^{13}C -NMR-Spektrum die Signale

bei δ 102.6 (d), 78.4 (d), 78.3 (d), 75.3 (d), 71.5 (d) und 62.7 (t) für die Kohlenstoffatome der Glukose. Die saure Hydrolyse ergab D-Glukose und die enzymatische Hydrolyse ein öliges Aglykon (II), $C_{13}H_{20}O_2$ von $[\alpha]_D^{20} + 245^\circ$ ($c=1.10$, $CHCl_3$). Aus den spektroskopischen Daten von II sind die folgenden Strukturelemente zu ermitteln: α,β -ungesättiges Keton, trans-disubstituierte Doppelbindung, zwei sp^3 -Methinkohlenstoffe, wovon eins eine Hydroxygruppe trägt, ein sp^3 -Methylenkohlenstoff und ein quartärer sp^3 -Kohlenstoff sowie vier Methylgruppen, wovon eine sich an einer Doppelbindung und die andere sich neben einer Hydroxygruppe befindet. Die verbleibenden zwei Methylgruppen, denen im PMR-Spektrum die Singulette bei δ 0.98 und 1.03 entsprechen, stehen an einem quartären Kohlenstoffatom, d.h., eine *gem*-Dimethylgruppe liegt vor. Weiterhin weisen die Entkopplungsexperimente auf das Vorliegen der Strukturelemente, $CH-CH=CH-CH(OH)CH_3$ und $-(C=O)-CH=C(CH_3)-$. Aus diesen Befunden geht hervor, daß es sich beim Aglykon um ein monozyklisches System handelt und das eine Struktur des 9-Hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-ons³⁾ des Norcarotinoid-Typs besitzt. Natriumbichromat-Oxydation von II in Äther (Zwei-Phasen-System Oxydation)⁴⁾ lieferte ein Diketon, $C_{13}H_{18}O_2$ von $[\alpha]_D^{20} + 335^\circ$ ($c=0.21$, $CHCl_3$), das in den physikalischen und spektroskopischen Eigenschaften mit (6R, 7E)-Megastigma-4,7-dien-3,9-dion (III)⁵⁾ übereinstimmte. Also besitzt II eine 6R, 7E-Anordnung. Aus der Übereinstimmung der spektroskopischen Befunde von II mit den Angaben des (6R, 7E, 9R)-9-Hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-ons und dem Vergleich der optischen Drehung von II ($[\alpha]_D^{20} + 245^\circ$ ($c=1.10$, $CHCl_3$)) mit der Angabe des 6R,7E,9R-Körpers ($[\alpha]_D + 269^\circ$ ($c=1.29$, $CHCl_3$)),⁶⁾ wie auch der des 6R-, 7E,9S-Körpers ($[\alpha]_D + 69^\circ$ ($c=1.14$, $CHCl_3$)),⁶⁾ folgt für C-9 R-Chilarität und für das Aglykon die absolute Struktur des (6R, 7E, 9R)-9-Hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-ons (II).⁶⁾ Aufgrund der Hydrolyserbarkeit durch β -Glukosidase und der Kopplungskonstante ($J=7$ Hz) des anomeren Protons ergibt sich die β -glykosidische Bindung. Daher kommt dem Glykosid die Struktur eines (6R, 7E, 9R)-9-Hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-on-9-O- β -D-glukosids (I) zu.



Dasselbe Glykosid wurde auch aus den oberirdischen Teilen von *Dennstaedtia wilfordii* (MOORE) CHRIST.⁷⁾ isoliert. II ist schon bekannt als eine flüchtige Komponente des griechischen Tabaks, *Nicotiana tabacum* L.³⁾ Das Glykosid I ist unseres Wissens bisher im Pflanzenreich noch nicht gefunden worden.

Experimenteller Teil

Arbeitstechniken und Geräte wie in vorhergehenden Mitteilungen dieser Reihe.¹⁾

Isolierung der Inhaltsstoffe—1.2 kg lufttrockene oberirdische Teile von *P. tripteron*, die im Dezember in Nishi-izu/Shizuoka Präfektur, Japan, gesammelt worden waren, wurden mit MeOH extrahiert und der konzentrierte Extrakt über Aktivkohle (150 g) mit MeOH eluiert. Die Eluate wurde zur Trockne gebracht und an Kieselgel (100 g) mit $CHCl_3$ bei zunehmendem MeOH-Zusatz getrennt. Die mit $CHCl_3/MeOH$ (4:1) eluierten Fraktionen wurden nochmals durch präparative Dünnschichtchromatographie (DC) (Laufmittel system: $CHCl_3/MeOH$, 5:1, Rf : 0.4) gereinigt. Man erhielt 80 mg farbloses Öl (I) von $[\alpha]_D^{20} + 58.6^\circ$ ($c=1.5$, MeOH). Anal. Ber. für $C_{19}H_{30}O_7$: C, 61.60; H, 8.16. Gef.: C, 61.25; H, 8.35. UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ϵ): 238 (4.2), 280 (3.3). PMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 0.91 (3H, s), 0.94 (3H, s), 1.38 (3H, d, $J=6$ Hz, H-10), 1.76 (3H, d, $J=0.5$ Hz, H-13), 2.18 (1H, br.s, H-2), 2.36 (1H, br.s, H-2), 2.48 (1H, d, $J=8$ Hz, H-6), 3.72—4.70 (7H, m, Zucker-protonen und H-9), 4.90 (1H, d, $J=7$ Hz, anom. Proton), 5.58 (1H, dd, $J=16$ Hz und 8 Hz, H-7), 5.86 (1H, dd, $J=16$ Hz und 5 Hz, H-8), 5.97 (1H, br.s, H-4). ^{13}C -NMR (C_5D_5N) δ : 198.1 (s, C-3), 161.4 (s, C-5), 137.4 (d, C-8), 127.7 (d, C-7), 125.9 (d, C-4), 102.6 (d, C-1'), 78.4 (d, C-5'), 78.3 (d, C-3'), 75.7 (d, C-9), 75.3 (d, C-2'), 71.5 (d, C-4'), 62.7 (t, C-6'), 55.4 (d, C-6), 47.8 (t, C-2), 36.0 (s, C-1), 27.7 (q, C-10), 27.1 (q, C-13), 23.2 (q, C-11), 21.1 (q, C-12).

Sauere Hydrolyse von I—10 mg I in 5 ml 5 proz. HCl wurden 4 hr unter Rückfluß gekocht. Nach üblicher Aufarbeitung wurde D-Glukose von $[\alpha]_D^{20} + 39.0^\circ$ ($c=0.15$, H_2O) erhalten, die nach Trimethylsilylierung gaschromatographisch identifiziert wurde. Retentionszeit von TMS-D-Glucose: 15.2 min (α -Anomer) und 23.0 min (β -Anomer). (2 m-Glassäule (J.D. 2.6 mm) mit 1.5% SE-30 auf Chromosorb W, Säulentemp.

180 °, Trägergas: N₂, Durchflußgeschwindigkeit: 30 ml/min).

Enzymatische Hydrolyse von I—70 mg I wurden in 10 ml Acetat-Pufferlösung (pH 5.2) mit 60 mg β -Glukosidase 24 h bei 37° gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 27 mg farbloses Öl von $[\alpha]_D^{20} + 245.0^\circ$ ($c=1.10$, CHCl₃) erhalten. MS m/e 208.1464 (M⁺ für C₁₈H₂₀O₂, Ber. 208.1463), 152.0840 (C₉H₁₂O₂, 11%), 108.0583 (C₇H₈O, 100%). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ε): 238 (4.20), 283 (3.30). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3400, 2960, 1655, 1630, 975. PMR (60 MHz, CDCl₃) δ: 0.98 (3H, s), 1.03 (3H, s), 1.28 (3H, d, $J=7$ Hz, H-10), 1.94 (3H, d, $J=0.5$ Hz, H-13), 2.14 (1H, br.s, H-2), 2.27 (1H, br.s, H-2), 2.53 (1H, d, $J=8$ Hz, H-6), 4.32 (1H, m, H-9), 5.35 (1H, dd, $J=16$ Hz und 8 Hz, H-7), 5.68 (1H, dd, $J=16$ Hz und 5 Hz, H-8), 5.89 (1H, br.s, H-4). ¹³C-NMR (C₅D₅N) δ: 198.0 (s, C-3), 161.8 (s, C-5), 140.7 (d, C-8), 125.9 (d, C-4), 125.4 (d, C-7), 67.5 (d, C-9), 55.5 (d, C-6), 48.0 (t, C-2), 36.1 (s, C-1), 27.8 (q, C-10), 27.0 (q, C-13), 24.5 (q, C-11), 23.2 (q, C-12).

Oxydation von II—14 mg II in 3 ml Äther wurden mit 0.1 ml der Lösung von 1 g Natriumbichromat und 1.36 g H₂SO₄ in 5 ml H₂O versetzt, dann 1 h bei Raumtemp. gerührt, darauf mit H₂O versetzt. Nach Extraktion mit Äther, Waschen, Trocknen und Eindampfen wurde der Rückstand an Kieselgel (15 g) mit CHCl₃ chromatographiert. Es wurde aus Äther/Hexan kristallisiert, wobei 5 mg farblose Würfel vom Schmp. 72° und $[\alpha]_D^{20} + 335^\circ$ ($c=0.21$, CHCl₃) erhalten wurden. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ε): 236 (4.33). IR $\lambda_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2950, 1675, 1625, 1435, 1375, 1355, 1320, 1260, 990, 910, 885, 845. MS m/e 206 (M⁺), 150, 109, 108 (100%), 107, 79, 77, 43, 41, 39. PMR (60 MHz, CDCl₃) δ: 1.02 (3H, s), 1.09 (3H, s), 1.90 (3H, d, $J=0.5$ Hz, H-13), 2.28 (5H, br.s, H-10 und H-2), 2.68 (1H, d, $J=8$ Hz, H-6), 5.98 (1H, s, H-4), 6.10 (1H, d, $J=16$ Hz, H-8), 6.65 (1H, dd, $J=16$ Hz und 8 Hz, H-7).

Isolierung von I aus *Dennstaedtia wilfordii*—Die bei der Kieselgel-Säulenchromatographie mit CHCl₃/MeOH (90: 10~80: 20) eluierten Fraktionen (siehe experimentellen Teil von (7)) wurden weiter durch Säulenchromatographie (60 g Al₂O₃ Woelm (neutral), CHCl₃ bei zunehmendem MeOH-Zusatz) und anschließende mehrfache präparative DC (Kieselgel, CH₃COOC₂H₅/MeOH, 15: 1) aufgetrennt. 1.2 kg oberirdische Teile ergaben 100 mg I.

Literatur und Anmerkung

- 1) XXXIV. Mitteil. N. Tanaka, T. Murakami, Y. Saiki, C.-M. Chen, und Y. Iitaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 663 (1981).
- 2) Anschlußt: a) *Funakawara-machi, Shinjuku-ku, Tokyo, 162, Japan*; b) *Arise, Igawatani-machi, Tarumi-ku, Kobe, 673, Japan*; c) *Kuang Fu Road, Hsinchu, Taiwan, China*.
- 3) A.J. Aasen, B. Kimland, und C.R. Enzell, *Acta Chem. Scand.*, **25**, 1481 (1971).
- 4) C.H. Brown, C.P. Garg, und K.-T. Lin, *J. Org. Chem.*, **36**, 387 (1971).
- 5) A.J. Aasen, B. Kimland, und C.R. Enzell, *Acta Chem. Scand.*, **27**, 2107 (1973).
- 6) D. Behr, I. Wahlberg, T. Nishida, und C.R. Enzell, *Acta Chem. Scand.*, **B32**, 391 (1978).
- 7) T. Murakami, H. Wada, N. Tanaka, Y. Saiki, und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 1869 (1980).

[Chem. Pharm. Bull.]
[29(3) 868-872 (1981)]

Degradation of Nucleic Acids with Ozone. I. Degradation of Nucleobases, Ribonucleosides and Ribonucleoside-5'-monophosphates

KOZO ISHIZAKI,^a NARIKO SHINRIKI,^{*,a} AKIRA IKEHATA,^a and TOHRU UEDA^b

Government Industrial Development Laboratory, Hokkaido,^a Tsukisamu-Higashi 2-17, Toyohira-ku, Sapporo, 061-01, Japan and Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University,^b Kita-ku, Sapporo, 060, Japan

(Received August 18, 1980)

The degradation of nucleobases, ribonucleosides and ribonucleotides with ozone was examined as a model of the action of ozone on nucleic acids. The degradation rates of nucleobases were in the following order: G>T>U>C>A. Nucleosides and nucleotides were degraded in the same order as in the corresponding nucleobases. The ribose moiety was degraded more slowly than the base portion in nucleosides and nucleotides except in the cases of adenosine and AMP. The degradation of D-ribose and D-ribose-5-phosphoric acid (R5P) was also examined, and it was found that R5P resisted the attack of ozone.