

[Chem. Pharm. Bull.]
31(5)1502-1504(1983)

Chemische und Chemotaxonomische Untersuchungen von Filices. XLI.¹⁾
Weitere Inhaltsstoffe von *Pteris purpureorachis* COPEL.

TAKAO MURAKAMI,^{*,a} NOBUTOSHI TANAKA,^a YUKIO KOMAZAWA,^a
YASUHISA SAIKI^b und CHIU-MING CHEN^c

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Science University of Tokyo,^a Funakawara-Machi,
Shinjuku-Ku, Tokyo 162, Japan, Department of Pharmaceutical Sciences, Kobe
Gakuin University,^b Arise, Igawatani-Machi, Tarumi-Ku, Kobe 673, Japan
and Department of Chemistry, National Tsing Hua University,^c
Kuang Fu Road, Hsinchu, Taiwan, China

(Eingegangen am 16, September 1982)

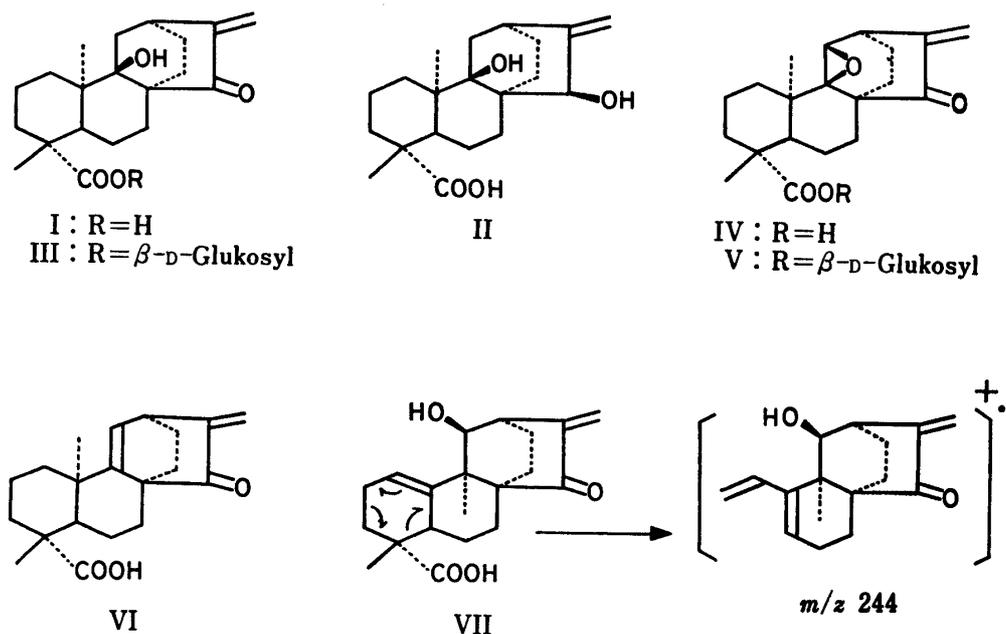
In addition to compounds already isolated, reinvestigation on the constituents of *Pteris purpureorachis* COPEL has led to the isolation of new *ent*-atisane derivatives, which turned out to be 9,11 β -epoxy-15-oxo-*ent*-atis-16-en-19-oic acid(IV) and its 19- β -D-glucopyranosylester(V). The structures were elucidated by spectroscopic methods and chemical investigations.

Keywords—*Pteris purpureorachis*; fern; diterpenic acid; glucosyl ester; atisane derivative; Pteridaceae; chemotaxonomy

In einer vorhergehenden Mitteilung wurden die der Atisan-Klasse angehörenden Diterpensäuren (Pteroatisen P₁(I), P₂(II) und Pteroatisenosid P₁(III)) aus den oberirdischen Teilen von *P. purpureorachis* COPEL (= *P. tokioi*, Pteridaceae, jap. Name: Hikage-amakusashida) berichtet.²⁾ Die erneute Untersuchung zeigte das weitere Vorkommen der analogen Diterpensäuren (Pteroatisen P₃(IV) und Pteroatisenosid P₃(V)). Im folgenden wird die Strukturklärung besprochen.

Pteroatisen P₃(IV), C₂₀H₂₈O₄, stellt farblose Tafeln vom Schmp. 245—247°C und $[\alpha]_D^{20}$ -86.0° ($c=1.0$, MeOH) dar. Aus den spektroskopischen Daten sind die folgenden Strukturelemente analog zu Pteroatisen P₁(I) zu erkennen: zwei tertiäre Methylgruppen, eine Carboxylgruppe und eine Ketogruppe in einem Sechsring, die mit einer exozyklischen Doppelbindung konjugiert ist. Im Unterschied zu I enthält IV keine Hydroxygruppe, sondern einen trisubstituierten Oxiranring, der durch die ¹³C-NMR (C₅D₅N)-Signale bei δ 63.5 (s) und 55.0 (d) sowie die ¹H-NMR (CDCl₃)-Signale bei δ 3.39 (1H, d, $J=5$ Hz) begründet wird. Demnach liegt es nahe, anzunehmen daß IV eine Epoxy-15-oxo-*ent*-atis-16-en-19-säure darstellt. Einstrahlung auf ein Multiplett (1H) bei δ 3.10, das einem Proton an C-12 entspricht, macht das Dublett bei δ 3.39 zu einem Singulett. Also dürfte ein 9,11-Epoxid in IV vorliegen. Behandlung von I mit *p*-Toluolsulfonsäure ergab ein Dehydratisierungsprodukt, C₂₀H₂₆O₃, vom Schmp. 251—253°C, dessen spektroskopische Daten mit der Struktur 15-Oxo-*ent*-atisa-9(11),16-dien-19-säure(VI) vereinbar sind. Durch Epoxidierung mit *m*-Chloroperbenzoesäure, die stereoselektiv verlief, wurde VI in IV übergeführt. Damit kommt dem Pteroatisen P₃ die Struktur einer 9,11- β -Epoxy-15-oxo-*ent*-atis-16-en-19-säure(IV) zu. Andererseits bildete sich bei der Behandlung von IV mit *p*-Toluolsulfonsäure leicht ein Umwandlungsprodukt(VII), C₂₀H₂₆O₄, vom Schmp. 190—192°C und $[\alpha]_D^{25}$ +146.0° ($c=1.1$, MeOH). Im ¹H-NMR (CDCl₃)-Spektrum von VII finden sich im Vergleich zum Spektrum von IV die folgenden auffallenden Veränderungen: (1) anstelle des Dubletts (1H, $J=5$ Hz) bei δ 3.39 tritt ein Oxymethin-Proton-Signal (1H, d, $J=4$ Hz) bei δ 3.74 und (2) ein Triplet (1H, $J=3$ Hz) des olefinischen Protons bei δ 5.67 neu auf. Diese Zuordnungen wurden durch ¹³C-NMR (CDCl₃)-Daten (δ 75.9 (d), 124.6 (d) und 142.4 (s)) bestätigt. Einstrahlung auf ein Signal (1H, m) bei δ 3.02, das für ein Proton an C-12 spricht, entkoppelt das Oxymethin-Proton bei δ 3.74. Somit steht die sekundäre Hydroxy-

gruppe an C-11. Man kann annehmen, daß die durch Säure ausgelöste Öffnung des Oxiranringes und die Wagner–Meerwein–Umlagerung der 10 α -Methylgruppe nach C-9 konzertiert erfolgten. Die abschließende Deprotonierung führt zur Einführung einer Doppelbindung zwischen C-10 and C-1. Ein weiterer Beweis für die Stellung der Doppelbindung wird durch das Massenspektrum gegeben: es tritt nämlich im Massenspektrum von VII das von Retro-Diels–Alder–Zerfall herrührende Fragment der Masse 244 als ein intensiver Peak auf. Diese Reaktion ist möglich, wenn die Epoxybrücke die β -Konfiguration einnimmt. Damit ist die angegebene Struktur VII für das Umwandlungsprodukt bewiesen.



Pteroisin P₃(V), C₂₆H₃₆O₉, stellt farblose Nadeln vom Schmp. 163–165°C und $[\alpha]_D^{20}$ –72.0° ($c=0.5$, MeOH) dar. Bei der enzymatischen Hydrolyse mit Rohhesperidinase ergab V neben D-Glukose Pteroisin P₃ und bei der sauren Hydrolyse außerdem auch das Umwandlungsprodukt (VII). Im ¹³C-NMR-Spektrum (C₅D₅N) von V ist im Vergleich zu IV das Signal für C-19 um 3.3 ppm nach höherem Feld verschoben. Weiterhin treten bei δ 95.7, 79.1, 78.8, 73.9, 71.0 und 62.1 die charakteristischen Signale für die C-Atome des β -D-Glukopyranosylrests, der mit einer Carboxylgruppe esterartig verbunden ist, in Erscheinung. Diese Daten, im Zusammenhang mit der Kopplungskonstanten ($J=8$ Hz) des anomeren Protons, zeigten an, daß es sich bei Pteroisin P₃ um 9, 11 β -Epoxy-15-oxo-ent-atis-16-en-19-säure- β -D-glukopyranosylester(V) handelt.

Experimenteller Teil

Betreffend Geräte und Technik siehe frühere Mitteilungen dieser Reihe.¹⁾

Isolierung der Inhaltsstoffe—1300 g oberirdische Teile von *P. purpureorachis* COPEL, die im Dezember 1980 in Teng Chih, Präfektur Kao Hsiung, Taiwan gesammelt worden waren, wurden mit MeOH (6 l \times 2) extrahiert. Der Extrakt wurde auf Aktivkohle (150 g) gegeben und mit 12 l MeOH eluiert. Die MeOH-Eluate wurden ganz eingeeengt, und der Rückstand wurde an einer Kieselgelsäule (230 g, 68 mm) nacheinander mit CHCl₃ (1000 ml), CHCl₃/MeOH (9 : 1, 1000 ml), CHCl₃/MeOH (4 : 1, 1000 ml), CHCl₃/MeOH (3 : 2, 1000 ml) und MeOH (800 ml) chromatographiert. Rechromatographie der CHCl₃-Eluate an Kieselgel mit CHCl₃/Hexan (1 : 9 \rightarrow 7 : 3) lieferte 200 mg I und 200 mg IV. R chromatographie der CHCl₃/MeOH (4 : 1)-Eluate an Kieselgel mit CHCl₃/MeOH steigender Polarität und nachfolgende DCCC (Lösungsmittel-System: CHCl₃/MeOH/H₂O (4 : 5 : 3) lieferten 70 mg V.

Pteroisin P₃ (IV, 9, 11 β -Epoxy-15-oxo-ent-atis-16-en-19-säure)—Farblose Tafeln aus MeOH. Schmp.

245—247°C und $[\alpha]_D^{20} - 86.0^\circ$ ($c=1.0$, MeOH). MS m/z : 330.1831 (M^+ für $C_{20}H_{26}O_4$, Ber. 330.1804), 315 ($M^+ - CH_3$), 269, 251. UV λ_{max}^{MeOH} nm ($\log \epsilon$): 225 (3.88). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 2930, 2860, 1708, 1685, 1640, 1475, 1465, 1447, 1380, 1285, 1270, 1250, 1125, 950. 1H -NMR (60 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.12 (3H, s), 1.32 (3H, s), 3.10 (1H, m), 3.39 (1H, d, $J=5$ Hz), 5.19 (1H, d, $J=1$ Hz), 5.92 (1H, d, $J=1$ Hz), (100 MHz, C_5D_5N) δ : 1.23 (3H, s), 1.32 (3H, s), 3.10 (1H, m), 3.39 (1H, d, $J=5$ Hz), 5.12 (1H, d, $J=1$ Hz), 6.02 (1H, d, $J=1$ Hz). ^{13}C -NMR (C_5D_5N) δ : 18.5 (q), 19.0 (t), 20.1 (t), 24.9 (t), 27.1 (t), 29.1 (q), 29.2 (t), 32.6 (t), 36.6 (d), 38.0 (s), 38.2 (t), 44.2 (s), 47.4 (s), 52.8 (d), 55.0 (d), 63.5 (s), 117.0 (t), 144.1 (s), 179.8 (s), 196.8 (s).

Pteroatisenosid P₃ (V, 9,11 β -Epoxy-15-oxo-ent-atis-16-en-19-säure- β -D-glukopyranosylester)—Farblose Nadeln aus $CHCl_3/MeOH$. Schmp. 163—165°C und $[\alpha]_D^{25} - 72.0^\circ$ ($c=0.50$, MeOH). $C_{26}H_{36}O_9$, Ber. C, 63.40; H, 7.37. Gef. C, 63.57; H, 7.27. UV λ_{max}^{MeOH} nm ($\log \epsilon$): 223 (4.42). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3400, 2950, 2860, 1715, 1700, 1630, 1475, 1450, 1380, 1330, 1060. 1H -NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 1.25 (3H, s), 1.34 (3H, s), 3.37 (1H, d, $J=5$ Hz), 3.8—4.5 (6H), 5.15 (1H, d, $J=1$ Hz), 6.01 (1H, d, $J=1$ Hz), 6.16 (1H, d, $J=8$ Hz). ^{13}C -NMR (C_5D_5N) δ : 18.5 (q), 18.6 (t), 19.5 (t), 24.9 (t), 26.8 (t), 28.2 (q), 29.2 (t), 32.2 (t), 36.5 (d), 37.8 (t), 38.0 (s), 44.3 (s), 47.5 (s), 53.3 (d), 54.9 (d), 62.1 (t), 63.5 (s), 71.0 (d), 73.9 (d), 78.8 (d), 79.1 (d), 95.7 (d), 117.0 (t), 143.9 (s), 176.5 (s), 196.9 (s). MS m/z : 330, 315, 269, 251.

Dehydratisierung von I—40 mg I wurden in 5 ml $CHCl_3$ gelöst und mit 50 mg *p*-Toluolsulfonsäure versetzt. Nach weiteren 30 min bei Zimmertemperatur gab man Ethylacetat hinzu, und die Lösung wurde mit H_2O gewaschen, getrocknet und eingedampft. Die präparative Dünnschichtchromatographie (DSC) des Rohprodukts ($CHCl_3/MeOH$, 2 : 1) ergab 30 mg VI. Farblose Tafeln aus MeOH. Schmp. 251—253°C und $[\alpha]_D^{20} - 141.5^\circ$ ($c=0.15$, MeOH). MS m/z : 314.1883 (M^+ für $C_{20}H_{26}O_3$, Ber. 314.1882), 299, 268, 253, 219, 197. UV λ_{max}^{MeOH} nm ($\log \epsilon$): 233 (4.00). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3280, 2970, 1720, 1640, 1465, 1385, 1210. 1H -NMR (60 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.04 (3H, s), 1.23 (3H, s), 3.45 (1H, d, $J=7$ Hz), 5.11 (1H, d, $J=1$ Hz), 5.72 (1H, d, $J=1$ Hz), 6.15 (1H, d, $J=7$ Hz).

Epoxydierung von VI mit *m*-Chloroperbenzoesäure—40 mg VI wurden in 3 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit einer Lösung von 20 mg *m*-Chloroperbenzoesäure in 2 ml CH_2Cl_2 tropfenweise versetzt. Nach der Behandlung mit 2 ml 5% Na_2SO_3 und der Zugabe von 30 ml H_2O wurde das Reaktionsgemisch mit CH_2Cl_2 ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit 5% $NaHCO_3$ und H_2O gewaschen, getrocknet und eingedampft. 20 mg IV wurden erhalten.

Behandlung von IV mit *p*-Toluolsulfonsäure—40 mg IV wurden in 5 ml $CHCl_3$ gelöst, mit 50 mg *p*-Toluolsulfonsäure versetzt und 3 h bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann gab man Ethylacetat hinzu, und die Lösung wurde mit H_2O gewaschen, getrocknet und eingedampft. Die anschließende präparative DSC ($CHCl_3/\text{Äther}$, 2 : 1) ergab 30 mg VII. Farblose Tafeln aus MeOH. Schmp. 190—192°C und $[\alpha]_D^{25} + 146.0^\circ$ ($c=1.1$, MeOH). UV λ_{max}^{MeOH} nm ($\log \epsilon$): 230 (4.13). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3400, 3150, 2970, 2940, 2900, 1720, 1700, 1638, 1470, 1405, 1340, 1175. 1H -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.19 (3H, s), 1.38 (3H, s), 3.02 (1H, m), 3.74 (1H, d, $J=4$ Hz), 5.30 (1H, d, $J=1$ Hz), 5.67 (1H, t, $J=3$ Hz), 6.16 (1H, d, $J=1$ Hz). ^{13}C -NMR ($CDCl_3$) δ : 21.9 (t), 22.3 (t), 2×22.6 (t), 23.2 (q), 27.5 (t), 27.8 (t), 28.5 (q), 40.0 (d), 43.2 (d), 44.3 (s), 48.4 (s), 49.1 (s), 75.9 (d), 120.4 (t), 124.6 (d), 142.4 (s), 142.8 (s), 181.5 (s), 204.8 (s). MS m/z : 330.1819 (M^+ für $C_{20}H_{26}O_4$, Ber. 330.1831), 285, 284, 257, 256, 244, 207, 195.

Saure Hydrolyse von V—20 mg V wurden in 5 ml 4% HCl 5 h unter Rückfluß gekocht. Die Reaktionslösung wurde in 10 ml H_2O eingegossen, mit Ethylacetat ausgeschüttelt und auf übliche Weise aufgearbeitet. Die organische Phase ergab nach der präparativen DSC an Kieselgel mit $CHCl_3/\text{Äther}$ (2 : 1) 3 mg IV und 7 mg VII. Die wässrige Phase lieferte D-Glukose, die nach Trimethylsilylierung gaschromatographisch identifiziert wurde.

Enzymatische Hydrolyse von V—40 mg V wurden in 40 ml Zitrat-Puffer-Lösung gelöst und mit 130 mg Rohhesperidinase 5 h bei 40°C gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 28 mg IV erhalten.

Danksagung Für die Förderung eines Teils dieser Arbeit sei dem Ministerium für Erziehung-Grant-in-Aid for Scientific Research, 1981 (No. 56570731)—gedankt.

Literatur und Anmerkung

- 1) T. Kuraishi, T. Taniguchi, T. Murakami, N. Tanaka, Y. Saiki und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1494 (1983).
- 2) N. Tanaka, T. Murakami, Y. Saiki und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 663 (1981).