

Chemische Untersuchungen der Inhaltsstoffe von *Hypolepis punctata* (THUNB.) METT.¹⁾

TAKAO MURAKAMI, SATOSHI TAGUCHI,^{2a)} und CHIU-MING CHEN^{2b)}

*Pharmazeutisches Institut, Naturwissenschaftliche Universität Tokyo^{2a)} und
Department of Chemistry, National Tsing Hua University^{2b)}*

(Eingegangen am 24. Oktober 1975)

Aus den oberirdischen Teilen von *Hypolepis punctata* (THUNB.) METT. wurden neben 3(S)-Pterosid D(V), 3(S)-(VI) sowie 3(R)-Pterosin D(VII) zwei neue Indan-1-on-Glukoside, d.h., 2(R), 3(R)-Pterosin L-2'-O- β -D-Glukosid (I) und 2(S),3(R)-Pterosin L-2'-O- β -D-Glukosid (III) isoliert; ihre Strukturen wurden aufgeklärt. Durch eine Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Analyse lässt sich das Vorhandensein von Pterosin K(VIII) nachweisen.

Aus den oberirdischen Teilen von *Hypolepis punctata* (THUNB.) METT. (jap. Name: Iwahime-warabi) wurden kürzlich von Sakan und Mitarbb. Pterosin H,I,Z³⁾ und A⁴⁾ sowie Hypacron⁵⁾ isoliert und ihre Strukturen aufgeklärt. In Fortsetzung unserer chemischen und chemotaxonomischen Untersuchungen der Gattung *Pteris* und der verwandten Gattungen wurden dieselben Pflanzen (Fundort: Owase/Mie-Präfektur, Sammelzeit: Juli, 1973) erneut bearbeitet. Der MeOH-Extrakt der oberirdischen Teile wurde in Wasser suspendiert und der Reihe nach mit CHCl₃, CH₃COOC₂H₅ und *n*-Buthanol ausgezogen. Jede Schicht wurde wie im experimentellen Teil beschrieben aufgearbeitet. Aus der *n*-Buthanol-Schicht konnte man zwei neue diastereomere Indan-1-on-Glykoside (I) und (III) neben 3(S)-Pterosid D (V) und weiter aus der CH₃COOC₂H₅-Schicht 3(S)-(VI) sowie 3(R)-Pterosin D (VII) isolieren. Von ihnen sind 3(S)-Pterosin D aus den Rhizomen von *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum* (jap. Name: Warabi)⁶⁾ und 3(R)-Pterosin D aus den oberirdischen Teilen derselben Pflanze isoliert worden.⁷⁾ 3(S)-Pterosin D ist bisher nie frei, sondern als β -Glukosid in der Natur gefunden worden.⁶⁾ Die Isolierung der Pterosin-Derivate und die Strukturaufklärung der beiden neuen Glykoside werden im folgenden beschrieben.

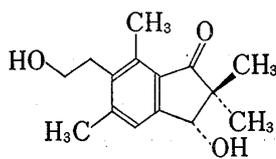
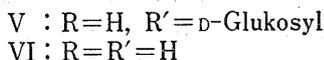
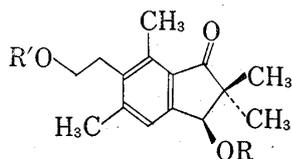
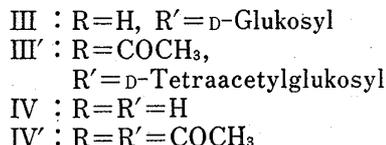
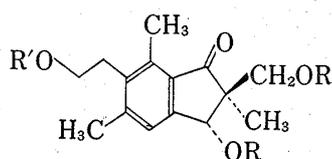
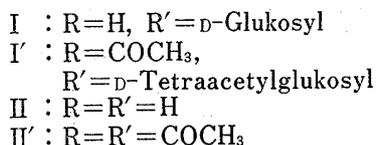
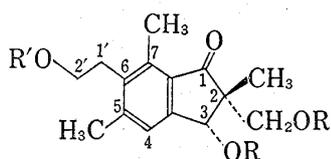
Das erste Glykosid (I), C₂₁H₃₀O₉, stellt einen farblosen Sirup von $[\alpha]_D^{25} -19.0^\circ$ ($c=1.21$, MeOH) dar. Acetylierung von I lieferte Hexaacetat (I'), C₂₁H₂₄O₃ (OCOCH₃)₆. Dessen Ultraviolett (UV)-Spektrum ($\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 218, 261, 294, 303 (log ϵ 4.60, 4.30, 3.30, 3.29) sowie eine positive Anthron-Reaktion deuten auf ein Pterosin-Glykosid hin. Enzymatische Hydrolyse von I lieferte D-Glukose und ein Pterosin-Aglukon vom Schmp. 134—135°, sowie $[\alpha]_D^{25} +22.2^\circ$ ($c=0.36$, MeOH), das mit dem aus den jungen Blättern von *P. aquilinum* var. *latiusculum* isolierten 2(R),3(R)-Pterosin L(II)^{7b,8)} übereinstimmte. Aus dem Vergleich des

- 1) Chemische und chemotaxonomische Untersuchungen der Gattung *Pteris* und der verwandten Gattungen (*Pteridaceae*) XIV. Mitteil., XIII. Mitteil.: N. Tanaka, M. Hata, T. Murakami, Y. Saiki, und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **24**, 1965 (1976).
- 2) Adresse: a) *Funakawara-Machi, Shinjuku-Ku, Tokyo, 162, Japan*; b) *Kuang Fu Road, Hsinchu, Taiwan, China*.
- 3) Y. Hayashi, M. Nishizawa, S. Hirata, und T. Sakan, *Chemistry Letters*, **1972**, 375.
- 4) Y. Hayashi, M. Nishizawa, M. Uemura, und T. Sakan, *Symposium Papers, 19th Symposium on the Chemistry of Natural Products* (Hiroshima), S. 76, 1975.
- 5) Y. Hayashi, M. Nishizawa, und T. Sakan, *Chemistry Letters*, **1973**, 63.
- 6) a) H. Hikino, T. Takahashi, und T. Takemoto, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **19**, 2424 (1971); b) M. Kuroyanagi, M. Fukuoka, K. Yoshihira, und S. Natori, *Ibid.*, **22**, 2762 (1974).
- 7) a) K. Yoshihira, M. Fukuoka, M. Kuroyanagi, und S. Natori, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **99**, 1491 (1971); b) M. Kuroyanagi, M. Fukuoka, K. Yoshihira, und S. Natori, *Ibid.*, **22**, 723 (1974).
- 8) M. Fukuoka, M. Kuroyanagi, M. Tezuka, K. Yoshihira, und S. Natori, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **20**, 2282 (1972).

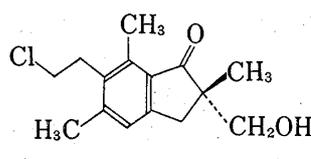
NMR-Spektrums des Hexaacetats (I') mit dem des 2(R),3(R)-Pterosin L-Triacetats (II') ergab sich, dass die Signale für die Protonen, welche den X₂-Teil des A₂X₂-Systems darstellen, gegenüber denjenigen des Acetats (II') um etwa 0.5 ppm nach höherem Feld verschoben sind (4.12→3.60 ppm), während sich das Signal für das Carbinylproton am C-3 und die Signale für die Methylenprotonen am C-2 bei fast gleicher Resonanzlage befinden. Demnach wurde die Struktur (I) eines 2(R),3(R)-Pterosin L-2'-O-β-D-Glukosids dem ersten Glukosid zuerteilt.

Das zweite Glykosid (III), C₂₁H₃₀O₉, von $[\alpha]_D^{25} +18.4^\circ$ ($c=0.40$, MeOH) liegt nur ölig vor. Acetylierung von III ergab Hexaacetat (III'), C₂₁H₂₄O₃(OCOCH₃)₆. Eine positive Anthron-Reaktion und das NMR-Spektrum von III' weisen wieder auf das Vorliegen eines Pterosin-Glykosids hin. Enzymatische Hydrolyse ergab D-Glukose und ein Pterosin-Aglukon (IV) vom Schmp. 85—87° sowie $[\alpha]_D^{25} +78.0^\circ$ ($c=0.28$, MeOH), das mit dem bisher nicht im Pflanzenreich aufgefundenen, aber von Natori und Mitarbb. aus 2(S),3(S)-Pterosin C dargestellten 2(S),3(R)-Pterosin L (IV)^{7b,8)} übereinstimmte. Dass D-Glukose an die primäre Hydroxygruppe in der Seitenkette am C-6 gebunden ist, geht auch aus dem Vergleich des NMR-Spektrums von III' mit demjenigen des 2(S),3(R)-Pterosin L-Triacetat (IV') hervor. Damit wurde dem zweiten Glukosid die Struktur III eines 2(S),3(R)-Pterosin L-2'-O-β-D-glukosids zugeordnet.

Ferner konnte man durch eine Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Analyse das Vorhandensein von Pterosin K (VIII) in der CHCl₃-S chicht, das auch aus *P. aquilinum* var. *latiusculum* isoliert worden ist,^{7b,8)} nachweisen.



VII



VIII

Experimenteller Teil

Die UV-Spektren wurden mit einem Hitachi-Gerät ESP-3A, die IR-Spektren mit einem Hitachi-Gerät 215, die NMR-Spektren mit einem Nihon-Denshi-Gerät JNM-4H-100 (in CDCl₃ mit Tetramethylsilan als internem Standard), die CD-Spektren mit einem Nihon-Bunko-Gerät J-20, die GC-MS-Spektren mit einem Shimadzu-Gerät LKB-9000 (Glas-Kolonnen, 2 m × 3 mm (I.D.), 1% OV-1 auf GAW/DMCS, Kolonnen-Temp. 170°, Trägergas: Helium, Durchflussgeschwindigkeit: 30 ml/min., Einspritzblock-Temp. 270°, Ionisationsenergie: 70 eV) aufgenommen.

Isolierung der Inhaltsstoffe—1500 g der gepulverten oberirdischen Teile von *H. punctata*, die im Juli 1973 in Owase/Mie-Präfektur gesammelt wurden, extrahierte man unter Rückfluss mit Methanol. Die vereinigten Extrakte wurden im Vak. auf etwa 500 ml eingedampft, mit Aktivkohle behandelt und dann im Vak. vollständig getrocknet. Der Rückstand (28.8 g) wurde im Wasser suspendiert und der Reihe nach mit CHCl₃, CH₃COOC₂H₅ und *n*-Butanol ausgeschüttelt. Der CH₃COOC₂H₅-Auszug hinterließ beim Verdampfen im Vak. 2.1 g Rückstand, der durch wiederholte präparative Dünnschichtchromatographie (CHCl₃-MeOH, 5:1) aufgetrennt wurde. Die Zone *R_f* 0.4—0.5 wurde extrahiert, der Auszug eingedampft und der Rückstand aus MeOH-CCl₄ auskristallisiert. Nadeln (VI) vom Schmp. 190—192° (Lit. Schmp. 193—194°)⁶⁾ und $[\alpha]_D^{25} +6.3^\circ$

($c=0.255$, MeOH). (Lit. $[\alpha]_D +4.8^\circ$)⁶⁾ VI wurde durch Vergleich der IR- sowie der NMR-Spektren mit einer authentischen Probe als 3(S)-Pterodin D identifiziert. Aus der Zone *Rf* 0.3—0.4 erhielt man farbloses Öl (VII) von $[\alpha]_D^{25} -4.3^\circ$ ($c=0.115$, MeOH). Aus dem Vergleich der spektralen Daten dieses Öls mit denen der authentischen Probe ergab sich, dass VII mit 3(R)-Pterodin D identisch war. Der BuOH-Auszug hinterliess beim Einengen 13.9 g Rückstand, der auf neutralem Al_2O_3 mit Methanol, anschliessend an Kieselgel mit CH_2Cl_2 bei zunehmendem MeOH-Zusatz chromatographiert wurde. Die mit $CHCl_3$ -MeOH (1:1) eluierten Fraktionen wurden durch mehrfache präparative Dünnschichtchromatographie ($CHCl_3$ -MeOH, 5:1) getrennt. Die Zone *Rf* 0.6—0.7 enthielt farbloses Öl (V), das durch Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und Pyridin das Pentaacetat und durch die enzymatische Hydrolyse β -Glukose und 3(S)-Pterodin D von $[\alpha]_D^{25} +5.0^\circ$ ($c=0.505$, MeOH) ergab. V stimmte in den spektralen Daten mit 3(S)-Pterodin D überein. Die Zone *Rf* 0.3—0.35 ergab Glukosid I und die Zone *Rf* 0.45—0.5 Glukosid III. Der $CHCl_3$ -Auszug ergab beim Eindampfen im Vak. 4.7 g Rückstand. GC-MS-Analyse des $CHCl_3$ -Auszugs: Pterodin I (t_R 4.4, M^+ 240), Pterodin H (t_R 5.3, M^+ 250, M^+ +2,252), Pterodin Z (t_R 6.2, M^+ 232), VIII (=Pterodin K) (t_R 10.7, M^+ 266, M^+ +2,268), Pterodin A (t_R 13.2, M^+ 248). Der GC- und MS-Vergleich mit authentischem Pterodin K bestätigen die Identität.

2(R), 3(R)-Pterodin L-2'-O- β -D-Glukosid (I)—Farbloser Sirup. $C_{21}H_{30}O_9$, Ber. C, 59.14; H, 7.09. Gef. C, 59.51; H, 6.95. $[\alpha]_D^{25} -19.00$ ($c=1.21$, MeOH). Glukosid I (30 mg) wurde mit je 1 ml Pyridin und Ac_2O acetyliert und in der üblichen Weise aufgearbeitet. Hexaacetate (I'): Farbloses Öl. UV: λ_{max}^{EtOH} (nm) 218, 261, 294, 303 ($\log \epsilon$ 4.61, 4.20, 3.53, 3.43), NMR (in $CDCl_3$) δ : 1.28 (3H, s), 2.40 (3H, s), 2.63 (3H, s), 3.04 (2H, t, $J=8$ Hz), 3.60 (2H, t, $J=8$ Hz), 4.06 (1H, d, $J=10$ Hz), 4.31 (1H, d, $J=10$ Hz), 6.04 (1H, s), 7.2 (1H, s), 1.89—2.06 (6 \times 3H).

2(S), 3(R)-Pterodin L-2'-O- β -D-Glukosid (III)—Farbloses Öl. $C_{21}H_{30}O_9$, Ber. C, 59.14; H, 7.09. Gef. C, 58.78; H, 7.19. $[\alpha]_D^{25} +18.4^\circ$ ($c=0.40$, MeOH). Hexaacetate (III'): Farbloses Öl. UV: λ_{max}^{EtOH} (nm) 218, 261, 294, 303 ($\log \epsilon$ 4.62, 4.18, 3.58, 3.52), NMR (in $CDCl_3$) δ : 1.02 (3H, s), 2.40 (3H, s), 2.62 (3H, s), 3.02 (2H, t, $J=8$ Hz), 3.60 (2H, t, $J=8$ Hz), 4.08 (1H, d, $J=10$ Hz), 4.32 (1H, d, $J=10$ Hz), 6.22 (1H, s), 7.2 (1H, s), 1.85—2.12 (6 \times 3H).

Enzymatische Hydrolyse von I, III und V—30 mg I(III, V) wurden in 15 ml Acetat-Puffer-Lösung (pH: 4.5) gelöst und mit 75 mg β -Glukosidase 48 Std. bei 36° stengelassen, Nachfolgend wurde die Lösung wie üblich aufgearbeitet.

2(R), 3(R)-Pterodin L(II)—Farblose Nadeln aus Benzol. Schmp. $134-135^\circ$ (Lit.⁸⁾ Schmp. $130-134^\circ$, $[\alpha]_D^{25} +22.2^\circ$ ($c=0.36$, MeOH) (Lit.⁹⁾ $[\alpha]_D +23.7^\circ$, MeOH), CD ($c=0.0076$, MeOH) $[\theta]^{25}$ (nm): +21880 (331) (Lit.^{7b)} +58470. Triacetat (II'): NMR (in $CDCl_3$) δ : 1.30 (3H, s), 2.42 (3H, s), 2.64 (3H, s), 3.04 (2H, t, $J=8$ Hz), 4.12 (2H, t, $J=8$ Hz), 4.08 (1H, d, $J=10$ Hz), 4.33 (1H, d, $J=10$ Hz), 6.05 (1H, s), 7.2 (1H, s), 1.86—2.12 (3 \times 3H).

2(S), 3(R)-Pterodin L(IV)—Farblose Nadeln aus Benzol. Schmp. $85-87^\circ$ (Lit.⁸⁾ Schmp. $86-89^\circ$, $[\alpha]_D^{25} +78.0^\circ$ ($c=0.28$, MeOH) (Lit.⁹⁾ $[\alpha]_D +77.0^\circ$, MeOH), CD ($c=0.0044$, MeOH) $[\theta]^{25}$ (nm): +24900 (331) (Lit.^{7b)} +60984. Triacetat (IV'): NMR (in $CDCl_3$) δ : 1.02 (3H, s), 2.43 (3H, s), 2.67 (3H, s), 3.04 (2H, t, $J=8$ Hz), 4.12 (2H, t, $J=8$ Hz), 4.17 (1H, d, $J=10$ Hz), 4.34 (1H, d, $J=10$ Hz), 6.25 (1H, s), 7.2 (1H, s), 1.87—2.12 (3 \times 3H).

Danksagung Wir haben Herrn Dr. S. Natori vom National Institute of Hygienic Sciences, für die freundliche Überlassung der Vergleichssubstanzen zu danken. Ebenso sind wir den Herren R. Ito und I. Sasamoto für die Hilfe beim Sammeln des Pflanzenmaterials und Herrn Dr. T. Yamagishi vom Hokkaido Institute of Public Health, für die Aufnahmen der GC-MS-Spektren sehr verbunden.