

[Chem. Pharm. Bull.]
28(6)1884—1886(1980)

Chemische und chemotaxonomische Untersuchungen von Filices. XXVIII.¹⁾
Chemische Untersuchungen der Inhaltsstoffe von
***Bolbitis subcordata* (COPEL.) CHING**

NOBUTOSHI TANAKA, YUKIO KOMAZAWA, KAYOKO OBARA, TAKAO MURAKAMI,^{2a)}
YASUHISA SAIKI,^{2b)} und CHIU-MING CHEN^{2c)}

*Pharmaceutical Institute, Science University of Tokyo,^{2a)} Department of Pharmaceutical
Sciences, Kobe Gakuin University^{2b)} und Department of Chemistry,
National Tsing Hua University^{2c)}*

(Eingegangen am 20. Februar 1980)

From the fronds of *Bolbitis subcordata* (COPEL.) CHING a new C-methylleucoanthocyanidin was isolated and shown to be (2*R*, 3*S*, 4*S*)-5,4'-dimethoxy-6,8-dimethyl-3,4,7-trihydroxy-flavan.

Keywords—*Bolbitis subcordata*; fern; chemotaxonomy; C-methylleucoanthocyanidin; structure; spectroscopic methods

In Fortsetzung unserer chemischen und chemotaxonomischen Untersuchungen von Filices haben wir jetzt *Bolbitis subcordata* (COPEL.) CHING (Aspidiaceae, jap. Name: Hetsuka-shida) untersucht und aus den oberirdischen Teilen zwei neue Flavonoid-Verbindungen I und II isoliert, die sich aus der Rotviolettffärbung mit 20% HCl, die in Amylalkohol übergeht ($\lambda_{\text{max}}^{\text{AMOH-HCl}}$: 517 nm) und der Summenformel sowie den spektroskopischen Daten als Leukoanthocyanidin erwiesen. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Strukturaufklärung der Flavonoid-Verbindungen.

I kristallisierte aus MeOH in Form farbloser Nadeln, C₂₀H₂₄O₆ vom Schmp. 125—126° und der optischen Drehung $[\alpha]_D^{20} +56.0^\circ$ ($c=1.0$, MeOH). Das UV-Spektrum zeigt die Absorptionen bei 227, 275 und 282 nm ($\log \epsilon$ 3.65, 2.62 und 2.56) und das IR-Spektrum die Hauptbande bei 3350 (OH), 1610, 1515, 820 (Benzolring), 1255, 1135 und 1110 cm⁻¹ (C—O—Bande). Aus dem PMR-Spektrum (CDCl₃) wird geschlossen, dass es eine aliphatische und zwei aromatische Methoxy- sowie zwei aromatische Methylgruppen besitzt. Das PMR-Spektrum zeigt die Signale von drei Protonen (d bei 4.55 ($J=3.5$ Hz), d bei 4.97 ($J=10.0$ Hz) und dd bei 3.86 ($J=10.0$ Hz und 3.5 Hz)), die denen am heterocyclischen Ring entsprechen und des weiteren die Signale der Protonen eines A₂B₂-Systems bei 6.86 (2H, d, $J=8$ Hz) und 7.34 (2H, d, $J=8$ Hz), die für die *p*-substituierten Seitenphenylprotonen sprechen. Im Massenspektrum treten neben den (M⁺—CH₃OH)- und (M⁺—CO)-Piken die durch Retro-Diels-Alder-Abspaltung gebildete Bruchstücke bei m/e 210 und 150 mit hoher relativer Intensität auf,³⁾ was zeigt, dass C-3 eine Hydroxygruppe und C-4 eine Methoxygruppe trägt. (siehe Abb.) Im ¹³C-NMR-Spektrum sind die Signale der *sp*²-aromatischen C-Atomen, die denen des A-Ringes zugeordnet werden können, bei 156.1, 154.1, 151.2, 108.8, 106.7 und 106.7, registriert. Dies beweist die Phloroglucin-Typ-Substitution der O-Funktionen.⁴⁾ Um die Lokalisierung der zweiten freien Hydroxygruppe festzustellen, wurde das PMR-Spektrum (C₅D₅N) mit dem (CDCl₃) verglichen, wobei die 0.36—0.42 ppm Tieffeldverschiebung der Signale für die beiden Methyl-

1) XXVII. Mitteil. T. Murakami, H. Wada, N. Tanaka, Y. Saiki, und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 1869 (1980).

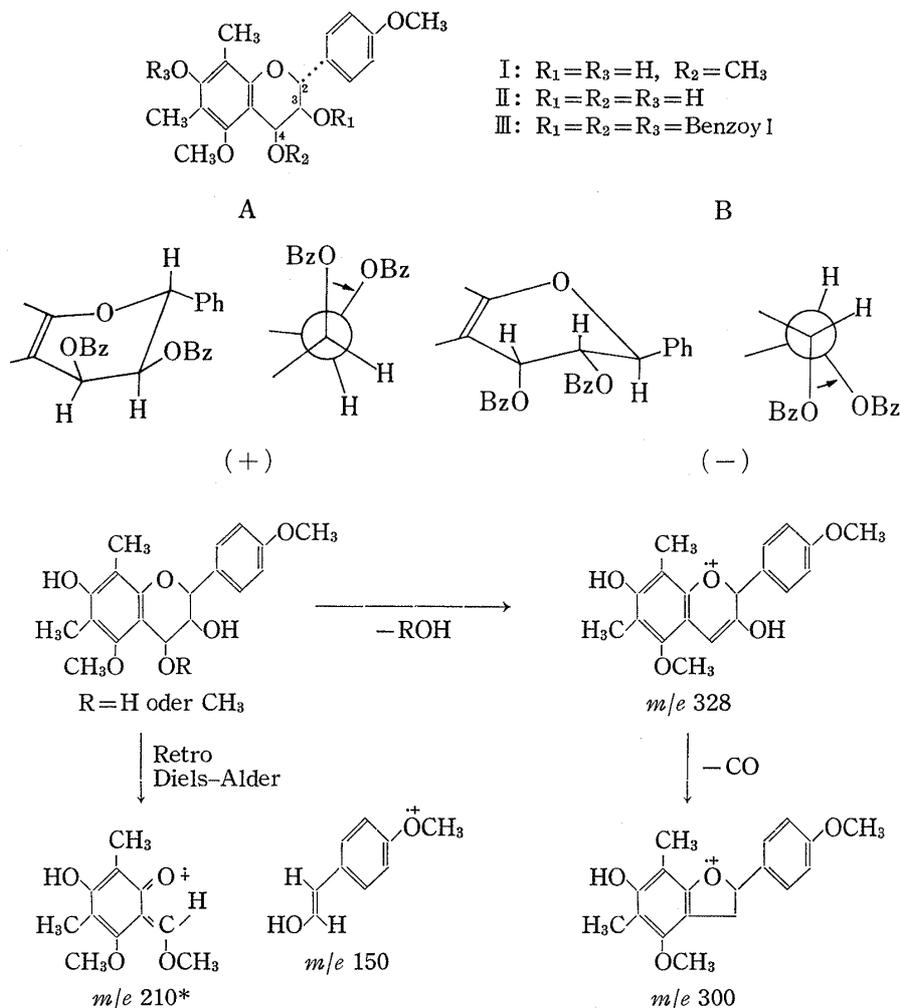
2) Adresse: a) *Funakawara-Machi, Shinjuku-ku, Tokyo, 162, Japan*; b) *Arise, Igawatani-Machi, Tarumi-ku, Kobe, 673, Japan*; c) *Kuang Fu Road, Hsinchu, Taiwan, China*.

3) S.E. Drewes, *J. Chem. Soc. (C)*, **1968**, 1140.

4) H. Wagner und V.M. Chari, *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 1799.

gruppen beobachtet wurde.⁵⁾ Damit kommt als Sitz für die freie Hydroxygruppe nur die C-7-Stellung in Betracht. Es handelt sich demnach bei I um 3,7-Dihydroxy-6,8-dimethyl-4,5,4'-trimethoxy-flavan.

II stellt farblose Pulver vom Schmp. 108—110° und der optischen Drehung $[\alpha]_D^{20} +22.0^\circ$ ($c=0.9$, MeOH) dar. Die Summenformel $C_{19}H_{22}O_6$ ist um ein Methylen ärmer als die von I, entsprechend fehlt bei II im PMR-Spektrum das Signal einer aliphatischen Methoxygruppe, jedoch sind die übrigen Signale mit denen von I identisch. Diese Befunde zeigen, dass C-4 gegenüber dem von I eine Hydroxygruppe tragen sollte, was durch Massenspektrum bestätigt wird. (siehe Abb.) Beim Kochen in saurem Methanol wurde II zu I übergeführt. Demnach kommt II die Struktur 5,4'-Dimethoxy-6,8-dimethyl-3,4,7-trihydroxy-flavan zu. Die für 3-H beobachteten Kopplungen $J_{2,3}=10.0$ Hz und $J_{3,4}=3.5$ Hz sprechen für die 2,3-*trans*- und 3,4-*cis*-Konfiguration.⁶⁾ Für die Konformation des Tribenzoats (III) kommen Konformer-A und B in Betracht. Nach der "Dibenzoat Chiralität Regel"⁷⁾ ist in der Nähe von 235 nm beim ersten positiven Cotton-Effekt und beim letzteren negativer zu erwarten. III weist positiven Cotton-Effekt bei 234 nm auf, die dem Konformer A entspricht. Es handelt sich damit bei II um (2*R*, 3*S*, 4*S*)-5,4'-Dimethoxy-6,8-dimethyl-3,4,7-trihydroxy-flavan.



5) G. Slomp und F. Mackellar, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 999 (1960).

6) J.W. Clark-Lewis, M.I. Baig, und M.J. Thompson, *Aust. J. Chem.*, **22**, 2645 (1969).

7) N. Harada und K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 3989 (1969).

Bei der Aufarbeitung des Pflanzenmaterials mit anderen Lösungsmittel als Methanol konnte I nicht nachgewiesen werden. Also bildet sich I erst bei der Isolierung und kommt eigentlich nicht in den Pflanzen vor. Es handelt sich bei II um das unseres Wissens erste im Pflanzenreich aufgefundene C-Methyl-leukoanthocyanidin.

Bei *B. subcordata* sind reine separate Trophophylle und Sporophylle determiniert und die beiden enthalten dasartige C-Methyl-leukoanthocyanidin.

Experimenteller Teil

Betreffend Geräte und Technik siehe frühere Mitteilungen dieser Reihe.

Isolierung der Inhaltsstoffe—1.2 kg oberirdische Teile (Trophophylle) von *B. subcordata* (COPEL.) CHING, die im Juli 1977 auf der Yaku Insel gesammelt worden waren, wurden mit MeOH heiss extrahiert und der konzentrierte Extrakt über Aktivkohle mit MeOH eluiert. Die Eluate wurden zur Trockne gebracht und an Kieselgel mit $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ steigender Polarität chromatographiert. Die Fraktionen, die mit $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1) eluiert wurden, ergaben nach präparativer Dünnschichtchromatographie ($\text{CHCl}_3/\text{Äther}$, 2:1) 103 mg I und 17 mg II. I: Kristallisierte aus MeOH. Farblose Nadeln vom Schmp. 125—126° und $[\alpha]_D^{20} + 56.0^\circ$ ($c=1.0$, MeOH). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 227 (3.65), 275 (2.62), 282 (2.56). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3350, 2850—2900, 1610, 1515, 1255, 1135, 1110, 820. PMR (100 MHz) δ_{CDCl_3} : 2.00 (3H, s), 2.12 (3H, s), 3.54 (3H, s), 3.70 (3H, s), 3.77 (3H, s), 3.86 (1H, dd, $J=10.0$ Hz und 3.5 Hz), 4.55 (1H, d, $J=3.5$ Hz), 4.97 (1H, d, $J=10.0$ Hz), 6.86 (2H, d, $J=8$ Hz), 7.34 (2H, d, $J=8$). $\delta_{\text{C}_5\text{D}_5\text{N}}$: 2.44 (3H, s), 2.48 (3H, s), 3.66 (3H, s), 3.83 (3H, s), 3.86 (3H, s), 4.31 (1H, dd, $J=10.0$ Hz und 3.5 Hz), 4.97 (1H, d, $J=3.5$ Hz), 5.60 (1H, d, $J=10.0$ Hz), 6.97 (2H, d, $J=8$ Hz), 7.62 (2H, d, $J=8$ Hz). MS m/e : 360.1554 (M^+ , $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$, Ber. 360.1572), 328 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{OH}$), 300 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{OH} - \text{CO}$), 210, 150. II: Farbloses amorphes Pulver vom Schmp. 108—110° und $[\alpha]_D^{20} + 22.0^\circ$ ($c=0.9$, MeOH). UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 227 (3.66), 275 (2.51), 282 (2.45). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400, 1610, 1515, 1255, 1135, 1110, 830. PMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 2.04 (3H, s), 2.15 (3H, s), 3.83 (3H, s), 3.85 (3H, s), 3.90 (1H, dd, $J=10.0$ Hz und 3.5 Hz), 4.95 (1H, d, $J=10.0$), 4.98 (1H, d, $J=3.5$ Hz), 6.93 (2H, d, $J=9.0$ Hz), 7.39 (2H, d, $J=9.0$ Hz). MS m/e : 346 (M^+), 328 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 300 ($\text{M}^+ - \text{CO}$), 150.

Methylierung von I—I in MeOH wurde mit ätherischer CH_2N_2 -Lösung auf üblicher Weise methyliert. Farbloses Öl von $[\alpha]_D^{20} + 43.3^\circ$ ($c=0.6$, MeOH). PMR (60 MHz, CDCl_3) δ : 2.03 (3H, s), 2.18 (3H, s), 3.57 (3H, s), 3.67 (3H, s), 3.73 (3H, s), 3.77 (3H, s), 3.72 (1H, dd, $J=10.0$ Hz und 3.5 Hz), 4.60 (1H, d, $J=3.5$ Hz), 5.00 (1H, d, $J=10.0$ Hz), 6.87 (2H, d, $J=8.0$ Hz), 7.34 (2H, d, $J=8.0$ Hz). MS m/e : 374 (M^+).

Benzoylierung von II—Die Benzoylierung erfolgte mit Pyridin und Benzoylchlorid bei Zimmertemperatur über Nacht. Farbloses Öl von $[\alpha]_D^{20} + 135.0^\circ$ ($c=0.1$, MeOH). MS m/e : 658 (M^+). CD $[\theta]_{234}^{20} + 4210^\circ$ ($c=0.025$, MeOH).

Umwandlung von II zu I—5 mg II wurden in 1% methanolischer CH_3COOH 3 h gekocht, das Produkt durch DC gereinigt und gaschromatographisch identifiziert. Trimethylsilyläther von I: t_R 17.3. (1.5% SE-30 auf Chromosorb W, Kolonnen-Temperatur: 230°, Trägergas: N_2 , Durchgeschwindigkeit: 50 ml/min).