

Natürlich vorkommende Terpen-Derivate, 71¹⁾

Über die Inhaltsstoffe aus *Stevia*-Arten

Ferdinand Bohlmann*, Christa Zdero und Sigmar Schöneweiss

Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Berlin,
Straße des 17. Juni 135, D-1000 Berlin 12

Eingegangen am 17. Februar 1976

Die Untersuchung von zwei *Stevia*-Arten liefert vier neue Sesquiterpene (1, 2, 6 und 7), deren Konstitution durch spektroskopische Methoden sowie durch einige chemische Reaktionen geklärt wird. Die chemotaxonomische Bedeutung der Isolierung von 6 und 7 wird diskutiert.

Naturally Occurring Terpene Derivatives, 71¹⁾

On the Constituents of *Stevia* Species

The investigation of two *Stevia* species yields four new sesquiterpenes (1, 2, 6, and 7) their structures being elucidated by spectroscopic methods and some chemical reactions. The chemotaxonomic importance of the isolation of 6 and 7 is discussed.

Aus der Gattung *Stevia* (Tribus *Eupatorieae*, Fam. *Compositae*) wurden bereits einige Arten untersucht. Acetylenverbindungen sind bisher nur aus einer Art isoliert worden²⁾, während in den anderen einige Sesquiterpene sowie Diterpenderivate vorkommen³⁾. Auch *Stevia purpurea* Pers. enthält keine Acetylenverbindungen. Die Wurzeln liefern ebenso wie die oberirdischen Teile in relativ hoher Konzentration zwei Sesquiterpene der Summenformeln $C_{15}H_{24}O$ und $C_{15}H_{24}O_2$. IR- und UV-Spektren der einen Verbindung zeigen, daß ein α,β -ungesättigtes Keton vorliegt. Das NMR-Spektrum zeigt entsprechend ein q bei $\delta = 5.86$ (1) ($J = 1$ Hz) und ein d 1.93 (3) ($J = 1$), was für die Gruppierung $O=C-CH=C-CH_3$ spricht. Weiterhin erkennt man Signale für folgende Seitenkette: $-CHCH_2CH_2CH=C(CH_3)_2$ [dt 1.3 (2) ($J = 7, 7$), dt 2.0 (2) ($J = 7, 7$), t(br) 5.11 (1) ($J = 7$), d 1.68 (3) und d 1.60 (3) ($J = 1$)]. Zusammen mit dem Massenspektrum und den übrigen Signalen sprechen alle Daten der optisch aktiven Substanz für das Vorliegen von 1-Bisabolon (1). Besonders die als McLafferty-Spaltung zu interpretierende Bildung von *m/e* 110 (60%) spricht für die Seitenkette.

Für die relative Konfiguration an C-6 und -7 sprechen das NMR-Spektrum und die mit $Eu(fod)_3$ beobachteten Verschiebungen. Modell-Betrachtungen zeigen, daß bei 1 das 7-H in der energetisch günstigsten Konformation der Ketogruppe sehr nahe kommt.

¹⁾ 70. Mitteil.: F. Bohlmann und R. Kramer, Chem. Ber. 109, 3362 (1976), vorstehend.

²⁾ F. Bohlmann, T. Burkhardt und Ch. Zdero, Naturally Occurring Acetylenes, Academic Press, London und New York 1973.

³⁾ T. Rios, A. Romo de Vivar und J. Romo, Tetrahedron 23, 4265 (1967); M. Salmon, A. Ortega und E. Diaz, Rev. Latinoamer. Quim. 6, 45 (1975); X. A. Dominguez, Phytochemistry 13, 2001 (1974); H. Mitsuhashi, J. Ueno und T. Sumita, Yakugaku Zasshi 1975, 127 [C. A. 82, 121 717v (1975)]; M. Salmon, E. Diaz und A. Ortega, J. Org. Chem. 38, 1759 (1973).

Dadurch bedingt liegt das entsprechende Signal bei relativ niedrigen Feldern [dtq $\delta = 2.59$ ($J = 3.5, 7, 7$) (C_6D_6)]. Entsprechend stark ist auch die Verschiebung mit $Eu(fod)_3$. Auch die Kopplung $J_{6,7} = 3.5$ Hz spricht für diese Konformation (Tab. 1).

Tab. 1. 1H -NMR-Signale von **1** und **2** (270 MHz, TMS als innerer Standard, δ -Werte)

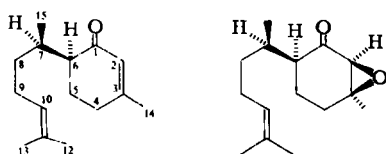
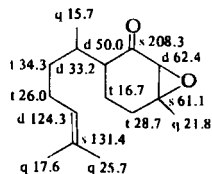
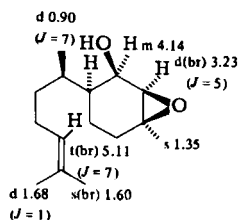
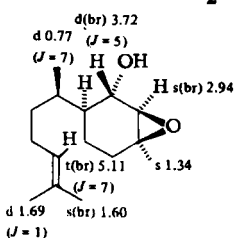
	1			2			
	CDCl ₃	C ₆ D ₆	$\Delta^a)$	CDCl ₃	$\Delta^b)$	C ₆ D ₆	$\Delta^b)$
2-H	q 5.86	q 5.89	3.39	s 3.08	0.77	s 2.98	0.67
4-H	m 2.31	m 2.0	0.96	} m 1.2–1.5		m 1.4–1.6	
5 α -H	m 1.95	} m 1.5	} 1.1				
5 β -H	dddd 1.78						
6-H	ddd 2.16	m 2.0	3.17	m 2.16	0.37	m 2.0	
7-H	dtq 2.37	dtq 2.59	2.85	dtq 2.27	0.53	dtq 2.45	0.38
8-H	dt 1.29	dt 1.29	1.30	dt 1.26	0.19	dt 1.19	0.16
9-H	dt 2.00	dt 2.04	0.55	dt 1.94	0.12	dt 1.92	0.10
10-H	t(br) 5.11	t(br) 5.23	0.35	t(br) 5.09	0.07	t(br) 5.17	0.04
12-H	d 1.60	d 1.58	0.19	d 1.59	0.02	d 1.58	0.01
13-H	d 1.68	d 1.68	0.13	d 1.67	0.03	d 1.67	0.01
14-H	d 1.93	d 1.37	0.68	s 1.44	0.13	s 0.95	0.15
15-H	d 0.80	d 0.87	1.52	d 0.80	0.30	d 0.85	0.22

$J_{2,14} = 1$ Hz; $J_{5\alpha,5\beta} = 12$; $J_{5\alpha,6} = 3.5$ (bei **2** ≈ 0); $J_{5\beta,6} = 11$; $J_{6,7} = 3.5$; $J_{7,8} = J_{7,15} = J_{8,9} = 7$; $J_{10,12} = J_{10,13} = 1$.

a) Δ -Werte nach Zusatz von ca. 0.5 mol $Eu(fod)_3$ bezogen auf **1**.

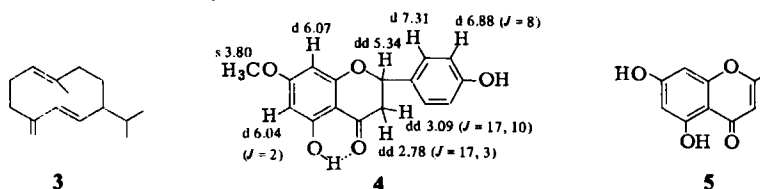
b) Ca. 0.1 mol $Eu(fod)_3$ bezogen auf **2**.

Die zweite Verbindung, die etwas weniger polar ist, zeigt im 1H -NMR-Spektrum Signale, die gut vereinbar sind mit dem Vorliegen des entsprechenden Epoxids. Jedoch ist das Spektrum auch bei 270 MHz nicht völlig erster Ordnung. Messungen in verschiedenen Lösungsmitteln sowie unter Zusatz von $Eu(fod)_3$ machen wahrscheinlich, daß das Epoxid die Konfiguration **2** besitzt, da die Verschiebung für 6-H bei dazu *cis*-ständiger Epoxid-Gruppe größer sein sollte. Das ^{13}C -NMR-Spektrum (**2'**) steht im Einklang mit der angenommenen Konstitution.

**1****2****2'****2a****2b**

Zur Bestätigung der Konfiguration von **2** haben wir dieses mit Boranat in die beiden epimeren Carbinole **2a** und **b** übergeführt. Die Kopplungskonstanten in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Carbinole sind nur vereinbar mit der angegebenen Stereochemie, wie an Dreidring-Modellen zu erkennen ist.

Die oberirdischen Teile enthalten ebenfalls **1** und **2**, Germacren D (**3**), Sakuranetin (**4**)⁴⁾ und 5,7-Dihydroxy-2-methylchromon (**5**).



Die Wurzeln von *Stevia jaliscensis* Robinson enthalten ein nicht trennbares Gemisch von zwei isomeren Sesquiterpen-diestern der Summenformel $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_5$, die, wie das IR-Spektrum zeigt, zusätzlich noch eine α,β -ungesättigte Ketogruppe enthalten (1680 cm^{-1}). Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum läßt erkennen, daß Angelicasäure und Tiglinsäure als Ester vorliegen ($\text{q} \delta = 6.14$ bzw. 6.82). Die Verseifung liefert ein einheitliches, kristallisiertes Diol der Summenformel $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$, dessen $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erkennen läßt, daß sehr wahrscheinlich ein α -Longipinen-Derivat vorliegt, das einem aus *Polypteris texana* DC isolierten Sesquiterpen mit einer zusätzlichen O-Funktion sehr ähnelt⁵⁾. Messungen in verschiedenen Lösungsmitteln und systematische Entkopplungen bestätigen diese Annahme.

Tab. 2. $^1\text{H-NMR}$ -Signale von **8**–**10** (270 MHz, TMS als innerer Standard, δ -Werte)

	8			9		10		10		6/7	
	CDCl_3	Δ^a		CDCl_3		CDCl_3		$\text{CDCl}_3/\text{Aceton}$		CDCl_3	
2-H	q	5.80	1.44	q	5.80	q	5.78	q	5.69	q	5.82
4-H	s	2.33	1.08	s	2.29	s	2.45	s	2.25	s	2.35
5-H	d(br)	2.63	0.68	d(br)	2.58	d(br)	2.56	d(br)	2.63	d(br)	2.70
7-H	dd	5.16	1.17	dd	3.89	dd	3.86	dd	3.82	dd	5.15
8 α -H	m	2.0	1.31	m	2.0	d(br)	1.92	d(br)	1.90	m	2.0
8 β -H	ddd	2.27	0.83	m	2.25	ddd	2.45	ddd	2.26	m	2.25
9-H	d(br)	3.84	1.29	d(br)	5.10	d(br)	3.93	d(br)	3.94	d(br)	5.09
11-H	d(br)	3.06	2.08	d(br)	3.13	d(br)	3.03	d(br)	3.00	d(br)	3.15
12-H	d	2.06	0.39	d	2.04	d	2.04	d	2.05	d	2.08
13-H	s	0.98	0.48	s	0.93	s	0.95	s	0.96	s	1.02
14-H	s	0.99	0.65	s	0.07	s	0.97	s	0.96	s	1.02
15-H	s	1.01	0.84	s	1.13	s	1.09	s	1.08	s	1.09
Ang	qq	6.13	0.21	qq	6.11	—	—	—	—	q(br)	6.11
	dq	2.02	0.36	dq	2.02	—	—	—	—	q(br)	6.85 (Tigl)
	dq	1.92	0.44	dq	1.91	—	—	—	—	CH_3 m	1.85–2.0

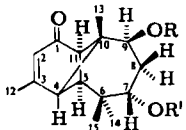
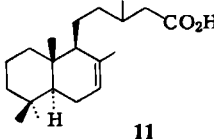
$J_{1,12} = 1\text{ Hz}$; $J_{5,11} = 6.5$; $J_{7,8\alpha} = J_{7,8\beta} = 3.5$; $J_{8\alpha,8\beta} = 15$; $J_{8\beta,9} = 12$; Angelicat bzw. Tiglat: $J = 7, 1$; alle Zuordnungen und Kopplungen wurden durch Entkopplungen gesichert.



^{a)} Δ -Werte nach Zusatz von ca. 0.2 mol $\text{Eu}(\text{fod})_3$, bezogen auf **8**.

⁴⁾ M. Hasegawa, J. Amer. Chem. Soc. **79**, 1738 (1957).

⁵⁾ F. Bohlmann und Ch. Zdero, Chem. Ber. **108**, 3543 (1975).

Offen war jedoch die Frage nach der Konfiguration der OH-Gruppen an C-7 und -9, wobei jedoch bereits klar war, daß eine OH-Gruppe axial und eine äquatorial steht. Weiterhin war zu klären, an welchem C-Atom in den Naturstoffen jeweils die Angeloyloxy- bzw. Tiglinoyloxy-Gruppe steht. Durch partielle Verseifung gelingt es, zwei Monoester zu isolieren, deren Konstitutionen durch eingehende NMR-spektroskopische Untersuchungen geklärt werden können (Tab. 2). Daraus folgt, daß als Naturstoffe die Diester 6 und 7 vorliegen und den Monoestern bzw. dem Diol die Formeln 8–10 zukommen. Für die pseudoaxiale Stellung der Esterreste an C-7 bzw. die pseudoäquatoriale an C-9 sprechen eindeutig die beobachteten Verschiebungen bei Zusatz von $\text{Eu}(\text{fod})_3$ beim Monoester 8. Da die Hydroxylgruppe stärker komplexiert wird, beobachtet man entsprechend eine stärkere Verschiebung des Signals der 10-Methylgruppe sowie eine starke Verschiebung der Signale für 4-, 5- und 11-H. Für die Besonderheiten in den NMR-Spektren gilt das gleiche wie bei denen der früher beschriebenen (vgl. ⁵⁾). Bemerkenswert ist, daß durch die partielle Verseifung stets der Tiglinester verseift wurde.

	R	R'		
6	Ang ^{*)}	Tigl ^{*)}		
7	Tigl	Ang		
8	H	Ang		
9	Ang	H		
10	H	H		

*) Ang =  , Tigl = 

Die oberirdischen Teile enthalten Catavinsäure (11)⁶⁾. Ein Derivat haben wir kürzlich aus der Gattung *Brickellia*, ebenfalls Tribus *Eupatorieae*, isoliert⁷⁾. Die Isolierung von 6 und 7 aus einer *Stevia*-Art ist chemotaxonomisch sehr interessant, da von botanischer Seite eine Eingruppierung der Gattung *Palafoxia* (*Polypteris*) aus der Tribus *Helenieae* in *Eupatorieae* erwogen wird⁸⁾. Da Verbindungen des Typs 6 wahrscheinlich aus Bisabolon-Derivaten gebildet werden (vgl. l. c. ⁵⁾), sind die aus der anderen Art isolierten Verbindungen 1 und 2 biogenetisch nahe mit 6 verwandt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Förderung.

Experimenteller Teil

IR-Spektren: in CCl_4 , Beckman IR 9. – ¹H-NMR-Spektren: in CDCl_3 , Bruker WH 270 (δ -Werte, TMS als innerer Standard). – Massenspektren: Varian MAT 711 mit Datenverarbeitung (Direkteinlaß, 70 eV). – Optische Drehungen: in CHCl_3 , Perkin-Elmer-Polarimeter. – Die frisch zerkleinerten Pflanzenteile⁹⁾ extrahierte man bei Raumtemp. mit Äther und trennte die erhaltenen Extrakte zunächst grob durch Säulenchromatographie (SiO_2 , Akt.-St. II) und anschließend weiter durch Dünnschichtchromatographie (DC) (SiO_2 , GF 254). Als Laufmittel dienten Äther/Petroläther (Sdp. 30–60°C)-Gemische (= Ä/PÄ). Die isolierten Verbindungen sind in der Reihenfolge ihrer Polarität angegeben. Bereits bekannte Substanzen identifizierte man durch ihre NMR-, IR- und Massenspektren.

⁶⁾ F. W. Grant jr. und H. H. Zeiss, J. Amer. Chem. Soc. 76, 5001 (1954).

⁷⁾ F. Bohlmann und Ch. Zdero, Chem. Ber. 109, 1436 (1976).

⁸⁾ B. Turner, Chemistry and Biology of Compositae, Symposium Reading 1975.

⁹⁾ Die im Mai 1975 in Mexiko gesammelten Pflanzen wurden von F. Ramos, Herbarium Botanical Institute, University of Mexico City, bestimmt. Herbar Nr. FB 75-66 und 75, Techn. Univ. Berlin.

Stevia purpurea Pers.⁷⁾: 170 g Wurzeln ergaben 0.4 g **2** (Ä/PÄ 1 : 10) und 0.3 g **1** (Ä/PÄ 1 : 10). 800 g oberirdische Teile lieferten 100 mg **3**, 0.8 g **2**, 0.6 g **1**, 200 mg **4** und 50 mg **5**.

1-Bisabolon (1): Farbloses Öl, Sdp. 120°C/0.1 Torr (Badtemp., Kugelrohr). – IR: C=CCO 1670, 1625 cm⁻¹. – UV: λ_{max} = 224.5 nm (ε = 16100). – MS: M⁺ m/e 220.1824 (22%) (ber. für C₁₅H₂₄O 220.1827); – ·CH₂CH₂CH=C(CH₃)₂ 137 (100); McLafferty (– H₂C=CHCH₂–CH₂CH=C(CH₃)₂) 110 (60).

$$[\alpha]_{24}^{\lambda, c} = \frac{589}{-37.0} \quad \frac{578}{-39.3} \quad \frac{546}{-47.3} \quad \frac{436 \text{ nm}}{-129.0^{\circ}} \quad (c = 3.7)$$

2,3-Epoxy-2,3-dihydro-1-bisabolon (2): Farbloses Öl, Sdp. 125°C/0.1 Torr (Badtemp., Kugelrohr). – IR: C=O 1690 cm⁻¹. – MS: M⁺ m/e 236.1770 (17%) (ber. für C₁₅H₂₄O₂ 236.1776).

$$[\alpha]_{24}^{\lambda, c} = \frac{589}{+117} \quad \frac{578}{+125} \quad \frac{546}{+151} \quad \frac{436 \text{ nm}}{+375^{\circ}} \quad (c = 6.35)$$

20 mg **2** in 1 ml Dioxan versetzte man mit 10 mg NaBH₄. Nach 15 min zersetzte man mit verd. Schwefelsäure und nahm in Methylenchlorid auf. Nach DC (Ä/PÄ 1 : 1) erhielt man: 8 mg **2a**, farbloses Öl, IR: OH 3580 cm⁻¹. MS: M⁺ m/e 238.192 (5%) (ber. für C₁₅H₂₆O₂ 238.193); – H₂O 220(9); 220 – ·CH₃ 215(7); C₃H₅⁺ 41(100).

Ferner erhielt man 4 mg **2b**, farbloses Öl, IR: OH 3640 cm⁻¹. MS: M⁺ m/e 238.194 (5%) (ber. für C₁₅H₂₆O₂ 238.193).

Stevia jalicensis Robinson: 150 g Wurzeln ergaben 300 mg **6** und 7 (Ä/PÄ 1 : 1). 100 g oberirdische Teile lieferten 150 mg Catavinsäure (**11**), die als Methylester identifiziert wurde.

9β-Angeloyloxy-7α-tiglinoyloxy- (6) und 7α-Angeloyloxy-9β-tiglinoyloxy-1-oxo-α-longipinen (7): Farbloses, nicht trennbares Öl. – IR: C=CCO₂R 1715, 1650; C=CCO 1680, 1620 cm⁻¹. – MS: M⁺ m/e 414.240 (3%) (ber. für C₂₅H₃₄O₅ 414.241); – ·CH₃ 399(2); – ·COR 331(2); – RCO₂H 314(4); 314 – ·CH₃ 299(4); 314 – O=C=C(CH₃)–CH=CH₂ 232(10); 314 – RCO₂H 214(10); 214 – ·CH₃ 199(7); RCO⁺ 83(100); 83 – CO 55(69).

50 mg **6/7** in 2 ml CH₃OH erwärmte man mit 300 mg KOH in 1 ml Wasser 1 h zum Sieden. Nach Zugabe von Wasser wurde mit Methylenchlorid ausgeschüttelt und der Eindampfrückstand aus Äther kristallisiert, farblose Kristalle (**10**), Schmp. 183°C. – IR: OH 3620; C=CCO 1680, 1620 cm⁻¹. – M⁺ m/e 250.157 (1%) (ber. für C₁₅H₂₂O₃ 250.157); – H₂O 232(7); 232 – CO 204(10); C₈H₁₀O⁺ 122(100).

$$[\alpha]_{24}^{\lambda, c} = \frac{589}{+49.0} \quad \frac{578}{+52.5} \quad \frac{546}{+60.0} \quad \frac{436 \text{ nm}}{+112.0^{\circ}} \quad (c = 0.5, \text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$$

60 mg **6/7** in 3 ml CH₃OH erwärmte man mit 200 mg KOH in 1 ml Wasser 5 min zum Sieden. Nach Zugabe von Wasser nahm man in Äther auf und trennte den Eindampfrückstand durch mehrfache DC (Ä/PÄ 2 : 1). Man erhielt 15 mg **8** und 8 mg **9**.

7α-Angeloyloxy-9β-hydroxy-1-oxo-α-longipinen (8): Farbloses Öl. – IR: OH 3630; C=CCO₂R 1715, 1650; C=CCO 1680, 1620 cm⁻¹. – MS: M⁺ m/e 332.199 (0.5%) (ber. für C₂₀H₂₈O₄ 332.199); – O=C=C(CH₃)CH=CH₂ 250(1); – RCO₂H 232(10); RCO⁺ 83(200); 83 – CO 55(39).

9β-Angeloyloxy-7α-hydroxy-1-oxo-α-longipinen (9): Farbloses Öl. – IR: OH 3620; C=CCO₂R 1715, 1650; C=CCO 1680, 1615 cm⁻¹. – MS: M⁺ m/e 332.198 (1%) (ber. für C₂₀H₂₈O₄ 332.199); – RCO⁺ 249(3); – RCO₂H 232(12); RCO⁺ 83(100); 83 – CO 55(47).