

Eine Untersuchung der *in vivo* Oxidation des Capsidiols mit Hilfe der ^{13}C -NMR-Spektroskopie

A ^{13}C -NMR Study of the Biological Oxidation of Capsidiol

J. B. Stothers

Chemistry Department, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

and

A. Stoessl and E. W. B. Ward

Research Institute, Canada Agriculture, London, Ontario, Canada

Z. Naturforsch. 33 c, 149–150 (1978); eingegangen am 30. Dezember 1977

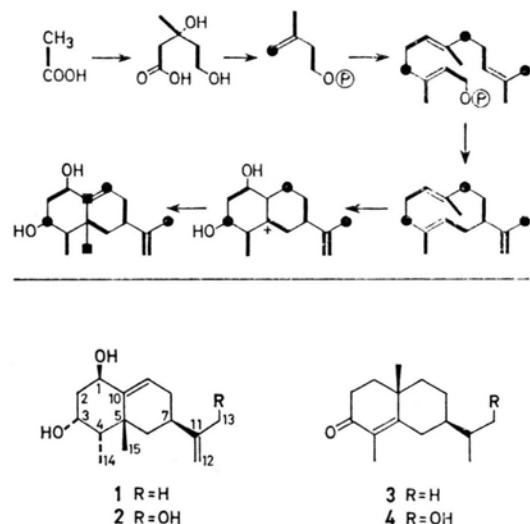
Biosynthesis, Capsidiol, ^{13}C -NMR, Phytoalexins, Sesquiterpenes

The mechanism of the biological hydroxylation of the isopropenyl side-chain of the sesquiterpene capsidiol, to give 13-hydroxycapsidiol, has been investigated with ^{13}C -NMR techniques, using capsidiol biogenetically enriched with ^{13}C from $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ acetate. The results indicate that neither an allylic rearrangement nor the formation of an epoxide intervene in the process.

Capsidiol (**1**), ein post-infektioneller, antimykotischer Abwehrstoff („Phytoalexin“) von *Capsicum frutescens* [1, 2], wird von gesunden Paprika-Geweben in Hydroxicapsidiol (**2**), und andere Produkte noch unbekannter Konstitution, überführt [3]. Es war von Interesse zu klären, ob die Oxidation von **1** zu **2** unter allylischer Umlagerung, möglicherweise mit einem 11.12-Epoxid als Zwischenprodukt, abläuft, oder ob die C-13 Methylgruppe von **1** direkt oxidiert wird. Im letzteren Falle wäre C-13 des Hydroxiderivats **2** mit C-13 des Capsidiols (**1**) identisch. Diese Frage konnte durch Einsatz der ^{13}C -NMR Spektroskopie, mit Hilfe von biogenetisch mit ^{13}C angereichertem **1**, bequem entschieden werden.

Das erforderliche, mit ^{13}C markierte Capsidiol wurde nach den Angaben von Brooks und Mitarbeitern [4] hergestellt. Hierzu wurden Paprikaschoten, einen Tag nach Impfung mit Sporen von *Monilinia fructicola*, mit einer Lösung von $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ Natriumacetat (90%, 403 mg) versetzt. Nach einem weiteren Tag wurde das entstandene Capsidiol chromatogra-

graphisch isoliert (50 mg aus 100 Früchten) und durch Umkristallisation aus Benzol gereinigt. Sein ^{13}C -NMR Spektrum entsprach qualitativ vollständig dem von Brooks und Mitarbeitern [4] beschriebenen und zeigte, daß die Essigsäure auf erwartete Weise eingebaut worden war (Schema 1). Auswertung der relativen Intensität der Signale von C-2, C-8, C-12 und C-14 nach Matwiyoff und Mitarbeitern [5] ergab eine Anreicherung von etwa 2,2% pro Kohlenstoffatom.



Das Capsidiol- $^{13}\text{C}_x$ (37 mg) wurde auf schon beschriebene Art [3] als eine $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ Lösung in 5% Alkohol an 75 halbierte *Capsicum frutescens* Früchte verfüttert. Nach zwei Tagen wurde der flüssige Inhalt der Früchte 5-mal mit gleichen Volumen Ether ausgeschüttelt. Aus dem beim Eindampfen des Extraks erhaltenen Rückstand (24 mg) konnten durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Camag DF 5, nicht aktiviert, 50 g) im Lösungsmittel *i*PrOH-AcOEt (1 : 9, 10 ml pro Fraktion) Capsidiol (**1**, 14,5 mg, Fraktionen 12–15) und Hydroxicapsidiol (**2**, 4,6 mg, Fraktionen 17–21) isoliert werden. Das ^{13}C -NMR Spektrum von **1** war unverändert geblieben; insbesondere waren die Multiplizität und die relative Intensität aller Linien in den Signalen der 11.12-Doppelbindung und der C-13 Methylgruppe dieselben wie zu Beginn des Versuchs. Es folgt daraus, daß das wiedergewonnene Capsidiol weder eine allylische Umlagerung noch Zusatz von neu entstandenem und deshalb nicht markiertem **1**, erlitten hatte.

Sonderdruckanforderungen an Professor J. B. Stothers, Chemistry Department, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada N6A 5B7.

Part 78 of ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance studies and Part XXXI of Post-Infectious Inhibitors from Plants.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Auch das ^{13}C -NMR Spektrum des Hydroxicapsidiols zeigte die erwartete Anordnung von ^{13}C Satelliten, entsprechend den Paaren von gekoppelten Kohlenstoffatomen (C-1, C-2; C-4, C-14; C-5, C-6; C-7, C-8; and C-11, C-12), und in Singulette von nicht gekoppelten Kernen (C-3, C-9, C-10, C-13 und C-15). Die relativen Intensitäts-Verhältnisse aller Linien in den Signalen von C-11 und C-12, sowohl auch von den anderen, gekoppelten Kohlenstoffen, sind innerhalb der Meßgrenzen ($\pm 5\%$) dieselben wie beim Capsidiol. Das isolierte Hydroxicapsidiol (**2**) ist daher zumindest zu 90% aus dem eingesetzten Capsidiol- $^{13}\text{C}_x$ (**1**) entstanden. Die Resonanz der Hydroximethylgruppe in (**2**) erscheint gänzlich als Singulett und die Oxidation ist daher durch direkten Angriff auf die C-13 Methylgruppe von **1** erfolgt. Die Möglichkeit, daß das Resultat auf

eine doppelte allylische Umlagerung zurückzuführen ist, erscheint wegen der Wiedergewinnung von Capsidiol mit vollständig erhaltener, spezifischer Markierung, als höchst unwahrscheinlich. Es ist auch von Bedeutung, daß, wie allgemein bekannt, eine Aktivierung durch unmittelbar benachbarte Substituenten zur biologischen Hydroxilierung von Methyl- und Methylengruppen oft nicht erforderlich ist. Ein für Sesquiterpene einschlägiges Beispiel liegt in der von Hikino *et al.* [6] beschriebenen Hydroxilierung des Dihydro- α -cyperon (**3**) zum 13-Hydroxiderivat **4** durch den Pilz *Colletotrichum phomoides* vor.

Herrn Doktor R. Dyllick danken wir für Beistand beim Bereiten des Manuskripts und den Herren C. H. Unwin und G. L. Rock für technische Mitarbeit.

- [1] A. Stoessl, C. H. Unwin, and E. W. B. Ward, *Phytopathol. Z.* **74**, 141 (1972).
- [2] G. I. Birnbaum, A. Stoessl, S. H. Grover, and J. B. Stothers, *Can. J. Chem.* **52**, 993 (1974).
- [3] E. W. B. Ward, A. Stoessl, and J. B. Stothers, *Phytochemistry* **16**, 2024 (1977).
- [4] F. C. Baker and C. J. W. Brooks, *Phytochemistry* **15**, 689 (1976).
- [5] R. E. London, V. H. Kollman, and N. A. Matwiyoff, *J. Amer. Chem. Soc.* **97**, 3565 (1975).
- [6] H. Hikino, C. Konno, Y. Ikeda, N. Izumi, and T. Takamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **23**, 1231 (1975).