

Peroxide als Pflanzeninhaltsstoffe, 12. Mitt.¹⁾

Peroxide vom Davanon-Typ aus der Eberraute (*Artemisia abrotanum*) und ihre Darstellung

Gerhard Rücker, Detlef Manns und Sibylle Wilbert²⁾

Pharmazeutisches Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Kreuzbergweg 26, D-53115 Bonn, Germany.

Eingegangen am 17. Juli 1992

Peroxides as Plant Constituents, XII: Davanone Type Peroxides from *Artemisia abrotanum* and Their Preparation

Aus den oberirdischen Teilen der Eberraute (*Artemisia abrotanum* L., Asteraceae) wurden neben (+)-Davanon (**1**) und Arteinculton (**3**) die bekannten Peroxyhalbketale **2**, **5** und **7** isoliert. Als neue Peroxide vom Davanon-Typ konnten Epi-Arteinculton (**4**) und Spiro-Arteinculton (**6**) durch dc Vergleich in der Pflanze nachgewiesen werden. Bei der Singulett-Sauerstoff-Oxidation von **1** werden **2**, **3**, **4**, **5** und **7** gebildet, bei der Triplett-Sauerstoff-Oxidation **2**, **3**, **5**, **6**, **7** und Hydroxy-Davanon.

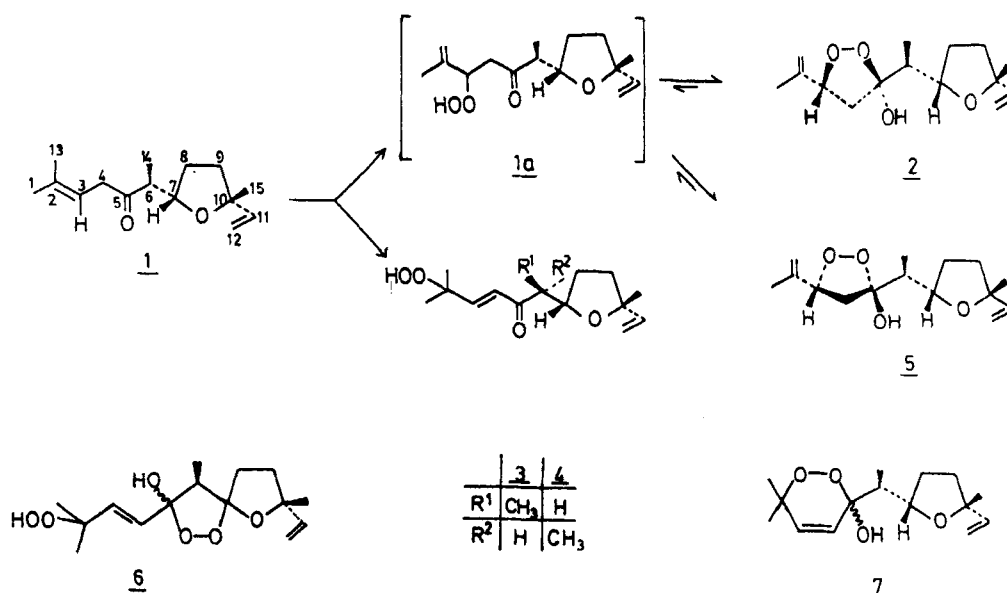
From the aerial parts of *Artemisia abrotanum* L. (Asteraceae), besides (+)-Davanone (**1**) and Arteincultone (**2**), the known peroxy-semiketals **2**, **5**, and **7** were isolated. In addition, the previously unknown davanone type peroxides epi-arteincultone (**4**) and spiro-arteincultone (**6**) were identified in *A. abrotanum* by TLC. By means of singlet oxygen oxidation of **1**, compounds **2**, **3**, **4**, **5**, and **7** are formed, by triplet oxygen oxydation compounds **2**, **3**, **5**, **6**, **7** as well as hydroxy-davanone.

Wie bereits berichtet³⁾ haben wir aus *Artemisia maritima* L. ssp. *maritima* (Asteraceae) die Peroxide vom Davanon-Typ **3** (Arteinculton)^{3,4)} und **2**³⁾ isoliert, die *in vitro* eine schizontocide Wirkung besitzen⁵⁾. In der gleichen Pflanze kommt auch das 5*R*-Diastereomer **5** des Halbketals **2** vor⁶⁾.

2, **3** und **5** ließen sich neben (+)-Davanon (**1**)⁷⁾ und dem chromatographisch nicht trennbaren Gemisch der diastereomeren sechsgliedrigen Peroxy-Halbketale **7**⁸⁾ auch aus den frischen oberirdischen Teilen der Eberraute (*Artemisia abrotanum* L., Asteraceae) isolieren²⁾. Zusätzlich wurden in dieser Pflanze zwei bisher nicht bekannte Peroxide, Epi-Arteinculton (**4**) und Spiro-Arteinculton (**6**) detektiert, die erst nach photochemischer Darstellung aus **1** durch dc Vergleich identifiziert werden konnten. Das Gemisch der

sechsgliedrigen Peroxyhalbketale **7** wurde auch aus einer Handelsdroge (Herba Abrotani conc.) isoliert²⁾.

Zur Darstellung der Peroxide vom Davanon-Typ **2** bis **7** wurde 6*S*,7*S*,10*R*-2,6,10-Oxy-dodeca-2,11-dien-5-on ((+)-Davanon **1**)⁷⁾, welches in *A. abrotanum* vorkommt^{2,9)} und biologische Vorstufe der Peroxide **2** bis **7** sein sollte, einer Singulett-Sauerstoff-(¹O₂)- und Triplett-Sauerstoff-(³O₂)-Oxidation unterworfen. Die Trennung der Produkte erfolgte durch Niederdruck-Chromatographie (Lobar^R, Merck) in Sammelfractionen, die sc weiter getrennt wurden. **4** konnte nur unter Schwierigkeiten von **3** getrennt werden. Bei der ¹O₂-Oxidation, die unter *in situ* Reduktion zu den entspr. Alkoholen schon früher durchgeführt wurde¹⁰⁾, bilden sich



2, 3, 4, 5 und 7, aber nicht Verbindung 6. Das neben 3 zu erwartende zweite Produkt [1a] einer EN-Reaktion mit $^1\text{O}_2$ konnte nicht isoliert werden; offensichtlich liegt das Gleichgewicht weitgehend auf der Seite der beiden diastereomeren Peroxyhalbketale 2 und 5.

Wie erwähnt⁶⁾, ist 5 das gegenüber 2 epimere Peroxyhalbketal. Da für 2 bereits die *S*-Konfiguration des Ketal-C abgeleitet wurde³⁾, ergibt sich in Einklang mit den spektroskopischen Daten für 5 die *5R*-Konfiguration. Für 5 werden die spektroskopischen Daten erstmalig mitgeteilt (Tab. 1). Das ^1H -NMR- und das ^{13}C -NMR-Spektrum von 4 (Tab. 1) lassen auf die gleiche Konstitution wie 3 schließen, dessen Stereochemie bekannt ist⁸⁾. Im ^1H -NMR-Spektrum tritt jedoch gegenüber 3 eine Tieffeldverschiebung der Methylgruppe 14-H ($\Delta\delta = 0.13$ ppm) auf. Geringe Hochfeldverschiebungen findet man für die Signale 1-H und 4-H. Außerdem treten Änderungen der Kopplungskonstanten an 6-H und 7-H auf (3: $J_{6,7} = 8.5$ Hz; $J_{6,14} = 7$ Hz; $J_{7,8} = 8.5$ Hz; $J_{7,8'} = 6$ Hz.- 4: Tab. 1). Dabei geht das Aufspaltungsmuster des Protons 6-H von einem Doppelquartett in 3^{2,8)} in ein Quintett in 4 über. Offensichtlich sind $J_{6,7}$ und $J_{6,14}$ gleich groß (Tab. 1). Aus diesen Änderungen kann auf eine Epimerisierung an 6-C geschlossen werden, die wegen des

aciden 6-H durch "Phototautomerie"¹¹⁾ eingetreten sein könnte. Für 4 wird daher die Beibehaltung der Konfiguration an 7-C und 10-C und eine Konfigurationsumkehr an 6-C angenommen und die Struktur des Epi-Arteincultons vorgeschlagen. Ein Vergleich mit den vier Stereoisomeren von 1 stützt diesen Vorschlag¹²⁾. NOE-Messungen konnten wegen Substanzmangel nicht vorgenommen werden. Eine Epimerisierung von 3 zu 4 mit Alkali gelang nicht.

Bei der $^3\text{O}_2$ -Oxidation von 1 bilden sich neben dem in der Lit.⁷⁾ beschriebenen Hydroxy-Davanon⁷⁾ die Peroxide 2, 3, 5 und 7 sowie zusätzlich neben weiteren nicht identifizierten Produkten das bisher nicht bekannte Peroxid 6. 4 konnte nicht detektiert werden. Das Diastereomeren-Gemisch 7 liegt hier in höherer Ausbeute vor als bei der $^1\text{O}_2$ -Oxidation. Offensichtlich ist die notwendige *trans/cis*-Isomerisierung der Doppelbindung von 1 (bzw. 3) unter diesen Bedingungen wahrscheinlicher.

Das Peroxid 6 bildet nadelförmige Kristalle, Schmp. 94–96°C. Aus den für Peroxide charakteristischen Signalen des MS (M-32; M-33) ergibt sich die Summenformel $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_6$ mit zwei Sauerstoff-Atomen mehr als 3. Wegen des Fehlens einer Carbonyl-Gruppe (IR) sind im ^1H -NMR-Spektrum (Tab. 2) die Signale von 3-H und 4-H hochfeldverschoben;

Tab. 1: NMR-Daten von 4 (300 MHz) und 5 (250/100 MHz) in CDCl_3

H	4 δ [ppm] (H)	5 δ [ppm] (H)	5 C	δ [ppm]
1	1.39 s (3) ⁺	5.09 bs (1) 4.99 m (1)	1	115.2
2	--	--	2	140.5
3	6.87 (1)	4.64 dd (1)	3	84.9
4	6.34 d (1)	2.80 dd (2) 2.50 dd	4	48.6
5	--	--	5	109.5
6	2.99 quint (1)	2.06 m (1)	6	43.0
7	4.16 ddd (1)	4.08 ddd (1)	7	81.6
8	--	--	8	31.0
--	2.06 - 1.54 (4)	2.06-1.60m(4)	--	--
9	--	--	9	37.5
10	--	--	10	84.1
11	5.90 dd (1)	5.86 dd (1)	11	143.6
12	4.97 dd (1) 5.17 dd (1)	4.97 dd (1) 5.18 dd (1)	12	112.4
13	1.395 s (3) ⁺	1.83 dd (3)	13	18.5
14	1.22 d (3)	1.01 d (3)	14	13.6
15	1.29 s (3)	1.33 s (3)	15	26.3
OOH	7.76 s (1) ⁺⁺	OH 6.51 s (1) ⁺⁺	--	--

+Zuordnung austauschbar. ++Lage konzentrationsabhängig, nach

D_2O -Austausch nicht mehr vorhanden. Kopplungskonstanten [Hz]: 4:

$J_{1,3} = 1.5$; $J_{1',3} = 1.5$; $J_{3,4} = 7.5$; $J_{3,4'} = 9$; $J_{4,4'} = 12.5$; $J_{6,7} = 7.0$; $J_{6,14} = 7.0$; $J_{7,8} = 7.5$; $J_{7,8'} = 6$; $J_{11,12} = 10.5$;

$J_{11,12'} = 17$; $J_{12,12'} = 1.5$. 5: $J_{3,4} = 16$; $J_{6,7} = 7$; $J_{6,14} = 7$;

$J_{7,8} = 8$; $J_{7,8'} = 6$; $J_{11,12} = 11$; $J_{11,12'} = 17.5$; $J_{12,12'} = 2$.

Tab. 2: NMR-Daten von **6** (300/75 Hz) in CDCl₃

H	δ [ppm]	(H)	C	δ [ppm]	APT
1	1.35 ⁺	s (3)	1	24.15 ⁺	CH ₃
2	-	-	2	81.87	C
3	6.25	d (1)	3	139.35	CH
4	5.57	dd (1) ⁺⁺	4	125.12	CH
5	-	-	5	104.70	C
6	2.64	q (1)	6	54.26	CH
7	-	-	7	114.71	C
8	2.15 / 1.83	m (4)	8	30.80	CH ₂
9			9	36.28	CH ₂
10	-	-	10	86.05	C
11	6.00	dd (1)	11	142.62	CH
12	4.97	dd (1)	12	112.77	CH ₂
12'	5.32	dd (1)			
13	1.36 ⁺	s (3)	13	24.39 ⁺	CH ₃
14	1.06	d (3)	14	7.92	CH ₃
15	1.33 ⁺	s (3)	15	25.92 ⁺	CH ₃
OH	4.68 ⁺⁺⁺	d (1)		--	
OOH	7.57 ⁺⁺⁺	s (1)		--	

+Zuordnung austauschbar. ⁺⁺nach D₂O-Austausch d. ⁺⁺⁺Lage konzentrationsabhängig nach D₂O-Austausch nicht mehr vorhanden.

Kopplungskonstanten [Hz]: J_{3,4} = 16; J_{4,5-OH} = 1.5; J_{6,14} = 7; J_{11,12} = 10.5; J_{11,12'} = 17; J_{12,12'} = 1.

außerdem fehlt ein Signal für 7-H. Bei δ = 4.68 ppm tritt eine OH-Gruppe in Resonanz (D₂O-Austausch), die an C-5 gebunden sein sollte (Vereinfachung von 4-H zum Dublett nach D₂O-Austausch). Im ¹³C-NMR-Spektrum (Tab. 2) zeigt 5-C gegenüber 3^{2,3}) eine Hochfeld-Verschiebung. Insgesamt führen die spektroskopischen Daten zur Struktur eines von C-5 ausgehenden Spiro-Peroxyhalbketals, welches durch ³O₂-Oxidation des Ether-Kohlenstoffs C-7 in 3 und Ketalisierung mit C-5 entstanden sein sollte.

6 zeigt *in vitro* eine schizontocide Wirkung (EC 1 µg/ml) gegen *Plasmodium falciparum*⁵).

Wir danken der Fa. Dragoco, Holzminden, für die Überlassung von Davana-Öl.

Experimenteller Teil

Schmp. (unkorr.): Gallenkamp.- [α]_D: Polarimeter 241 (Perkin-Elmer).- IR: Spektrometer 298 (Perkin-Elmer).- NMR: Varian XL 300 ¹H: 300 MHz, ¹³C: 75 MHz.- MS: Kratos MS 50; Einlasssystem Hot-Box, Quelltemp. 180°C; 70 eV.- Belichtungsapparatur: 13/210 (DEMA, Hans Mangels, Bornheim); Na-Hochdrucklampe G/92/2 SON/T/250 W (Philips, Belgien).- DC: Fertigplatten (Merck), Kieselgel 60, F-254, 0.25 mm.- Lobar^R-Chromatographie (Merck): Duramat-Pumpe.- MPLC: Kieselgel 60, Säulen B 685 (Büchi).- SC: Kieselgel 60.

Pflanzenmaterial, Extraktion und Isolierung

Anbau von *A. abrotanum* bei der Fa. Schwabe (Karlsruhe) und im Garten des Instituts für Pharmazeutische Biologie, Bonn.- 1500 g frische Blätter wurden in 8 l Petroether (PAe) mit dem Ultra-Turrax zerkleinert und nach Zusatz von 8 l Et₂O 12 h mazeriert, filtriert und eingedampft. Ausb. 15 g (1% bezogen auf das Pflanzenmaterial). Der Extrakt wurde mittels MPLC durch Gradientenelution in 8 Peroxid-haltige Fraktionen aufgetrennt (PAe-Ethylacetat 20%, PAe-Ethylacetat 30%, Ethylacetat): Fraktionen F1-F8.

(+)-Davanon (1)

a) Die Fraktion F1 (DC: Rf 0.68-0.91, n-Hexan/Ethylacetat 3+1) wurde in 100 ml Aceton suspendiert, filtriert und das eingedampfte Filtrat an einer Säule Lobar^R B (Merck) getrennt. Fraktionen mit Rf 0.24 (n-Hexan/Ethylacetat 9+1) im DC gaben nach Eindampfen ein blaßgelbes Öl.

b) Aus 12.8 g Davana-Öl durch mehrfache SC (PAe/Ethylacetat 20+1 und n-Hexan/Ethylacetat 5+1)²). Ausb. 1 g (10% bezogen auf Davana-Öl). Die physikalischen und spektroskopischen Daten entsprechen Lit.¹²).

Arteinculton (3)

a) Durch mehrfache MPLC-Trennung (n-Hexan/Ethylacetat 6+1) der Fraktion F2 (DC: Rf 0.39-0.68, n-Hexan/Ethylacetat 3+1) und Reinigung an Lobar^R B-Säulen (Merck) (Isopropylchlorid/Aceton 95+5).

b) Durch Umsetzung von **1** mit Singulett- bzw. Triplett-Sauerstoff: Farblose, ölige Substanz, Rf 0.29 (n-Hexan/Ethylacetat 3+1).- [α]_D²⁰ = +60.5° (c = 1.08, CHCl₃). Die spektroskopischen Daten entsprechen Lit.^{3,4}).

3*R*,5*S*,6*S*,7*S*,10*R*-2,6,10-Trimethyl-3,5-dioxy-7,10-epoxydodeca-1,11-dien-5-ol (**2**)

a) wie **3**, Methode a. Rf 0.43.

b) wie **3**, Methode b.

Die spektroskopischen Daten entsprechen Lit.³⁾.

3*R*,5*R*,6*S*,7*S*,10*R*-2,6,10-Trimethyl-3,5-dioxy-7,10-epoxydodeca-1,11-dien-5-ol (**5**)⁶⁾

a) wie **3**, Methode a. Rf 0.46.

b) wie **3**, Methode b. Farbloses Öl.- IR (CCl₄): 3430 (OH); 3080 (=CH); 2970-2850; 1450; 1370 (CH); 1120 (COC); 910 (=CH).- ¹H-NMR: Tab. 1.- ¹³C-NMR: Tab. 1.- MS: m/z (%) = 256 (M⁺-32) (18), 111 (100), 93 (38), 81 (9), 69 (29), 55 (10), 43 (10).- C₁₅H₂₄O₂ (268.2), Ber. M-32: 236.1776 Gef. 236.1765.

5*R*^{*},6*S*,7*S*,10*R*-2,6,10-Trimethyl-2,5-epidioxy-7,10-epoxydodeca-3,11-dien-5-ol (**7**)

a) wie **3**, Methode a.

b) wie **3**, Methode b.

Farbloses Öl, Rf 0.30 und 0.20 (Isopropylchlorid/Aceton 95+5). Die spektroskopischen Daten entsprechen Lit.⁸⁾.

Umsetzung von **1** mit Singulett-Sauerstoff

1.178 g **1** wurden in 500 ml CH₂Cl₂ nach Zugabe von 50 mg Bengalrosa (als methanolische Lösung) unter Kühlung auf ca. -2°C und Sauerstoff-Begasung mit Na-Licht bestrahlt. Verdampfendes CH₂Cl₂ wurde ersetzt. Nach 130 min konnten dc **2** bis **7** detektiert werden. Das Reaktionsgemisch wurde an einer Lobar^R-Säule (Merck) (n-Hexan/Ethylacetat 4+1) getrennt (Sammelfractionen S1-S5). Die weitere Reinigung erfolgte sc. Ausb.: **2**: 280 mg (22%); **3**: 347 mg (29%); **4**: 3 mg (0.3%); **5**: 283 mg (24%); **7**: 94 mg (8%).

Umsetzung von **1** mit Triplett-Sauerstoff

594 mg **1** wurden bei 55°C 78 h mit einem schwachen Luftstrom begast. Aufarbeitung analog Singulett-Sauerstoff-Oxidation. Ausb.: **2** + **5**: 161 mg (27%); **3**: 160 mg (27%); **6**: 3.5 mg (0.6%); **7**: 143 mg (24%); Hydroxy-Davanon⁷⁾.

6*R*,7*S*,10*R*-2,6,10-Epoxydodeca-3,11-dien-2-hydroperoxid (Epi-Arteinculton) (**4**)

a) Durch Umsetzung von **1** mit ¹O₂ und mehrfache sc Trennung der Sammelfraktion S4 (26.8 mg), (Chloroform/Aceton 20+1 und n-

Hexan/Ethylacetat 3+1). Ausb. 3 mg (0.3%) einer öligen Substanz (DC: Rf 0.27, n-Hexan/Ethylacetat 3+1).- IR (Film) identisch mit **3**⁴⁾.- ¹H-NMR: Tab. 1.

b) Dc Nachweis im PAe/Ether-Extrakt der oberirdischen Teile von *A. abrotanum*, Fraktion F4, Rf 0.27 (n-Hexan-Ethylacetat 3+1).

5*R*^{*},6*S*,7*S*,10*R*-2,6,10-Trimethyl-5,7-epidioxy-7,10-epoxydodeca-3,11-dien-5-ol (Spiro-Arteinculton) (**6**)

a) Durch Umsetzung von **1** mit ³O₂ und mehrfache SC (n-Hexan/Ethylacetat 3+1), Ausb. 3.5 mg (0.6%); nadelförmige Kristalle, Schmp. 94-96°C (n-Hexan/Ethylacetat 3+1) (DC: Rf 0.13, n-Hexan/Ethylacetat 3+1).- C₁₅H₂₄O₆ (300.2), Ber. M-32: 268.1674 Gef. 268.1659; Ber. M-33: 267.1596 Gef. 267.1597.- IR (CHCl₃): 3200-3600 (OH); 2870-3000 (CH); 1460; 1370 (CH); 1140 (C-O); 990; 910 (=CH).- ¹H-NMR: Tab. 2.- ¹³C-NMR: Tab. 2.- MS: m/z (%) = 285 (M-15)⁺ (0.09), 283 (M-17)⁺ (0.08), 282 (M-18)⁺⁺ (0.02), 268 (M⁺-32) (16.1), 267 (M⁺-33) (87.4), 234 (2.3), 233 (8.2), 129 (40), 125 (75), 112 (38), 111 (23), 109 (36), 81 (72), 69 (63), 67 (52), 55 (40), 43 (100).

b) wie **4**, Methode b), Fraktion S8, Rf 0.1.

Literatur

11. Mitt.: G. Rücker, A. Kiefer, J. Breuer, *Planta Medica* **1992**, *58*, 293-295.
- 2 Aus der Dissertation S. Wilbert, Universität Bonn, **1991**.
- 3 G. Rücker, E. Breitmaier, R. Mayer, D. Manns, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1987**, *320*, 437-441.
- 4 S.M. Khafagy, M.A. Al-Yahya, J. Ziesche, F. Bohlmann, *Phytochemistry* **1983**, *22*, 1821-1822.
- 5 G. Rücker, R.D. Walter, D. Manns, R. Mayer, *Planta Medica* **1991**, *57*, 295-296.
- 6 G. Rücker, R. Mayer, D. Manns, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1987**, *320*, 952.
- 7 H. Jork, M. Nachtrab, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1979**, *312*, 923-932.
- 8 G. Appendino, P. Gariboldi, G.M. Nano, P. Tetenyi, *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2545-2551.
- 9 M. Hurabielle, M. Bastard-Malsot, M. Paris, *Planta Medica* **1982**, *45*, 55-56.
- 10 A.F. Thomas, R. Dubini, *Helv. Chim. Acta* **1974**, *57*, 2076-2081.
- 11 H.G.O. Becker, *Einführung in die Photochemie*, 2. Aufl. S. 388, Thieme-Verlag, Stuttgart, **1983**.
- 12 A.F. Thomas, W. Thommen, B. Willhalm, E.W. Hagaman, E. Wenkert, *Helv. Chim. Acta* **1974**, *57*, 2055-2061.

[Ph77]