

Neue Pterisin-Derivate aus *Pteris wallichiana* AGARDH. und *P. semipinnata* L.¹⁾

Ein neues Indan-1-ol-Derivat aus den oberirdischen Teilen von *Pteris wallichiana* AGARDH. wurde als 1(*R*),2(*R*),3(*R*)-1,3-Dihydroxy-2,5,7-trimethyl-6-hydroxyäthyl-indan-1-O- β -D-glukosid (I) und ein neues Indan-1-on-Derivat aus den oberirdischen Teilen von *P. semipinnata* L. als 3-Hydroxy-6-hydroxymethyl-2,5,7-trimethyl-indan-1-on (XII) identifiziert.

Keywords—*Pteris wallichiana*; *Pteris semipinnata*; Pteridaceae; sesquiterpenes; indanolglukoside; pterisol C; norpterosin C; 3-hydroxy-6-hydroxymethyl-2,5,7-trimethyl-indanone; ent-kauranes; GC-MS

Aus den oberirdischen Teilen von *Pteris wallichiana* AGARDH. (jap. Name: Nachishida) haben wir vor kurzer Zeit neben den schon bekannten Indan-1-on-glukosid, d.h., Pterosid C, D und Q (=Pterosin Q-3-O- β -D-glukosid) ein neues Indan-1-on-glukosid, das wir als Isopterosid C bezeichneten, isoliert und seine Struktur aufgeklärt.²⁾ Die weiteren Untersuchungen der oberirdischen Teile derselben Pflanzen ergaben ein neues Indanol-glukosid (I) (farblose amorphe Substanz) der Summenformel $C_{20}H_{30}O_8$ vom $[\alpha]_D^{27} -27.9^\circ$ ($c=2.29$, MeOH). Das NMR-Spektrum von I zeigt, dass die Teilstruktur des aromatischen Anteils der typischen Pterosin-Derivate (z.B. Pterosin B³⁾) vorliegt und das IR-Spektrum keine Carbonylbande. Diese lassen zusammen mit den UV-Daten (λ_{max}^{MeOH} nm (log ϵ): 219, 263, 270, 280 (4.07, 2.85, 2.85, 2.73) und dem positiven Ausfall der Anthron-Reaktion erkennen, dass es sich um ein Glykosid eines Indanol-Derivats handelt.

Die enzymatische Hydrolyse von I ergab D-Glukose und ein Aglykon (II), $C_{14}H_{20}O_3$, vom Schmp. 151–152° (Nadeln), das mit Pyridin und Essigsäureanhydrid ein Triacetat (II'), $C_{20}H_{26}O_6$ vom Schmp. 131–133° und $[\alpha]_D^{25} -97.2^\circ$ ($c=0.54$, MeOH) lieferte. Das Glykosid I ergab ein öliges Hexaacetat (I'), $C_{20}H_{24}O_2(OCOCH_3)_6$ von $[\alpha]_D^{25} -53.4^\circ$ ($c=1.31$, $CHCl_3$). Im NMR-Spektrum (δ in $CDCl_3$) von II' erscheinen u.a. ein Dublett (3H, $J=7.5$ Hz) bei 1.12 für die Methylprotonen, ein Multiplett (1H) zentriert bei 2.55 für das geminal zur Methylgruppe stehende Proton und zwei Dubletts (je 1H) bei 6.06 ($J=6$ Hz) sowie bei 6.44 ($J=5$ Hz), die jeweils einem Methinproton neben der Acetoxygruppe entsprechen. Einstrahlt auf das Signal bei 2.55, verändern sich die beiden Dubletts bei 6.06 und 6.44 zur Singulets. Diese Daten deuten darauf hin, dass die beiden Acetoxygruppen zur Methylgruppe benachbart stehen. Demnach kommt dem Aglykon, das wir Pterisol C nennen möchten, die Struktur eines 1,3-Dihydroxy-6-hydroxyäthyl-2,5,7-trimethylindans. Die Verknüpfungsstelle des Zuckers folgt einmal aus dem Vergleich der NMR-Spektren (in $CDCl_3$) von I' und II'. Im Spektrum von II' treten zwei Dubletts bei 6.06 und 6.44 auf, während in demjenigen von I' in diesem Bereich nur ein Dublett bei 5.90, das einem Methinproton neben einer Acetoxygruppe zugeordnet wird. Weiter befinden sich in beiden Fällen die Signale für die Methylenprotonen, welche den X_2 -Teil des A_2X_2 -Systems darstellen, bei fast gleicher Resonanzlage. Daher ist im Glukosid I D-Glukose an die Hydroxygruppe entweder am C-1 oder am C-3 verbunden. Eine Entscheidung lässt sich durch den chemischen Weg treffen. Hydrogenolysis von I mit Pd-Kohle und Wasserstoff ergab neben einem Glykosid (III) der Summenformel $C_{20}H_{30}O_7$ von $[\alpha]_D^{20} -3.8^\circ$ ($c=3.6$, MeOH) in kleiner Menge D-Glukose und 2(*R*),5,7-Trimethyl-6-hydroxyäthyl-

- 1) Chemische und chemotaxonomische Untersuchungen der Gattung *Pteris* und der verwandten Gattungen (Pteridaceae) XVI. Mittelteil., XV. Mittelteil. N. Tanaka, M. Hata, M. Murakami, Y. Saiki, und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **24**, 2891 (1976).
- 2) T. Murakami, K. Aoyama, N. Tanaka, und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **24**, 173 (1976).
- 3) M. Kuroyanagi, M. Fukuoka, K. Yoshihira, und S. Natori, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **22**, 723 (1974).

yl-indan³⁾ (farblose Nadeln, Schmp. 67—68°, $[\alpha]_{350} -8.7^\circ$ (MeOH), IV) das durch Clemmensen-Reduktion des 2(*R*)-Pterisin B³⁾ erhalten wurde. Enzymatische Hydrolyse von III ergab D-Glukose und ein Aglykon (V), farblose Nadeln der Summenformel C₁₄H₂₀O₂ vom Schmp. 143—144°. Durch Oxidation mit MnO₂ in Aceton wurde V in 2(*R*)-Pterisin B (VI)³⁾ (farblose Nadeln, C₁₄H₁₈O₂, Schmp. 109—110°, $[\theta]_{320}^{25} +2870$ (MeOH)) übergeführt. Also handelt es sich bei I um 1-O-β-D-Glukosid des Pterisol C.

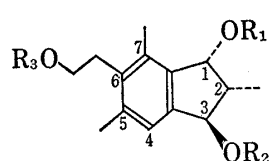
Für 1,3-Diacetoxy-6-acetoxyäthyl-2(*R*), 5,7-trimethyl-indan kommen vier Konfigurationen, d.h., 1(*S*), 2(*R*), 3(*R*)-, (VII); 1(*S*), 2(*R*), 3(*S*)-, (VIII); 1(*R*), 2(*R*), 3(*S*)-, (IX); 1(*R*), 2(*R*), 3(*R*)-Konfiguration, (X), in Betracht, davon VII und VIII konnten durch NaBH₄-Reduktion vom Isopterosin C-diacetat (XI) und anschließende Acetylierung im Verhältnis von 1:4 erhalten werden. VII und VIII scheiden wegen gaschromatographischer Daten aus und von vier möglichen Konfigurationen bleiben nur die Strukturen IX und X übrig. Folglich kommt dem Glykosid III die Struktur 1(*R*), 2(*R*)-1-Hydroxy-2,5,7-trimethyl-6-hydroxy-äthyl-indan-1-O-β-D-Glukosid zu.

Die Differenz zwischen der chemischen Verschiebung des 1-Methin- und des 3-Methin-Protons beträgt in VII (1,3-*cis*) etwa 0.1, während in VIII (1,3-*trans*) etwa 0.3. Diese Differenz würde hauptsächlich auf die Anisotropie der C-2-CH₃-Bindung zurückgeführt werden. Die Anisotropie der C-2-CH₃-Bindung wurde auch in Indan-1-on-Derivate beobachtet und die Differenz zwischen der chemischen Verschiebung des zur C-2-Methylgruppe *cis*-ständigen C-3-Protons und des *trans*-ständigen C-3-Protons beträgt etwa 0.4.^{4,5)} Es liesse sich vermuten, dass die Differenz in IX (1,3-*cis*) so klein wie in VII (1,3-*cis*) und die in X (1,3-*trans*) so gross wie in VIII (1,3-*trans*) wäre. Im Naturstoffe II' lässt sich eine so grosse Differenz wie in X, d.h. 0.4 erkennen und von den beiden Konfigurationen würde 1(*R*), 2(*R*), 3(*R*)-Konfiguration der Vorzug gegeben. Demnach wäre dem Glykosid I die Struktur eines 1(*R*), 2(*R*), 3(*R*)-1,3-Dihydroxy-2,5,7-trimethyl-6-hydroxyäthyl-indan-1-O-β-D-glukosid zuzuordnen.

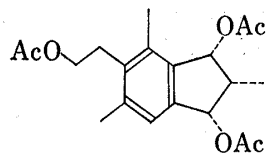
Weiter wurden aus den oberirdischen Teilen Pterisin B und Z⁶⁾ sowie Uridin isoliert. Durch eine Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Analyse konnten ferner das Vorhandensein von Pterisin H,⁷⁾ I⁷⁾ und K⁸⁾ nachgewiesen werden.

Der MeOH-Extrakt der oberirdischen Teilen von *Pteris semipinnata* L. (jap. Name: Oamakusashida, Fundort: Okinoerabu, Sammelzeit: August, 1975) wurde ebenso wie bei *P. dispar* KUNZE behandelt⁹⁾ und die bereits aus derselben Pflanze isolierten Diterpene erhalten, nämlich ent-11α-Hydroxy-15-oxo-kaur-16-en-19-carbonsäure,^{9,10)} ent-11α-Hydroxy-15-oxo-16(*S*)-kauran-19-carbonsäure,⁹⁾ ent-11α-Hydroxy-15-oxo-16(*R*)-kauran-19-carbonsäure,⁹⁾ ent-7α,9-Dihydroxy-15-oxo-16(*S*)-kauran-19,6-olid⁹⁾ sowie Paniculosid III (β-D-Gluko-acylosid von ent-11α-Hydroxy-15-oxo-kaur-16-en-19-carbonsäure)^{10,11)} und β-D-Gluko-acylosid von ent-11α-Hydroxy-15-oxo-16(*S*)-kauran-19-carbonsäure.¹¹⁾ Daneben isolierte man jedoch eine weitere Verbindung (XII) vom Schmp. 163—169° mit der Summenformel C₁₃H₁₆O₃ (M⁺ 220.1087). Die UV ($\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ε) 220, 260, 295 (4.73, 4.32, 3.35)- und die IR (ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹) 3400, 1710, 1600)-Spektren geben Hinweise auf ein Indan-1-on-Derivat. XII ist nach dem NMR-Spektrum vom Perosin C,⁴⁾ das aus 2,3-*cis*- und 2,3-*trans*-Isomeren besteht, ähnlich, d.h., im Spektrum von XII finden sich zwei Dubletts bei 1.18 (*J*=7, 3H×3/5) und 1.31 (*J*=7, 3H×2/5) für die sekundäre Methylgruppen, zwei Singulets (3H) bei 2.55 und 2.72 für zwei aromatische Methyl-

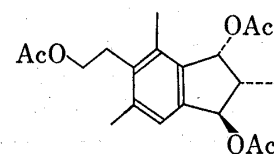
- 4) K. Yoshihira, M. Fukuoka, M. Kuroyanagi, und S. Natori, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **20**, 426 (1972).
- 5) T. Murakami, N. Tanaka, K. Tanaka, und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **22**, 2758 (1974).
- 6) K. Yoshihira, M. Fukuoka, M. Kuroyanagi, und S. Natori, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **19**, 1491 (1971).
- 7) Y. Hayashi, M. Nishikawa, S. Hirata, und T. Sakan, *Chemistry Lett.*, **1972**, 353.
- 8) M. Fukuoka, M. Kuroyanagi, M. Tezuka, K. Yoshihira, und S. Natori, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **20**, 2282 (1972); M. Kuroyanagi, M. Fukuoka, K. Yoshihira, und S. Natori, *ibid.*, **22**, 2762 (1974).
- 9) T. Murakami, N. Tanaka, M. Hata, Y. Saiki, und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **24**, 549 (1976).
- 10) K. Yamasaki, H. Kohda, T. Kobayashi, und O. Tanaka, *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 1005.
- 11) N. Tanaka, M. Hata, T. Murakami, Y. Saiki, und C.-M. Chen, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **24**, 1765 (1976).



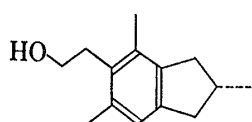
- I : $R_1 = \beta\text{-D-glukosyl}$
 $R_2 = R_3 = H$
 I' : $R_1 = \beta\text{-D-tetraacetylglukosyl}$
 $R_2 = R_3 = COCH_3$
 II : $R_1 = R_2 = R_3 = H$
 II' : $R_1 = R_2 = R_3 = COCH_3$



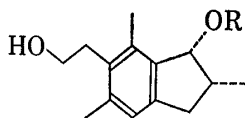
IX



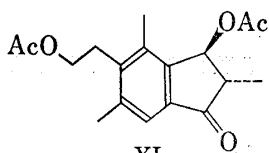
X



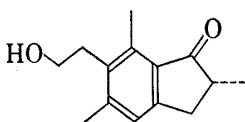
IV



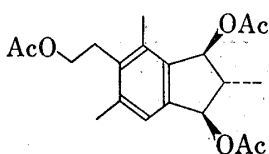
- III : $R = \beta\text{-D-glukosyl}$
 V : $R = H$



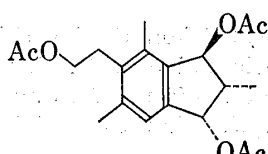
XI



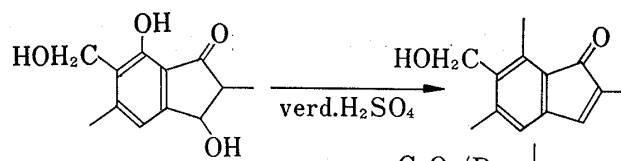
VI



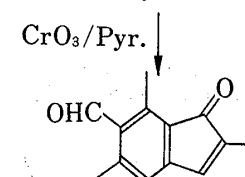
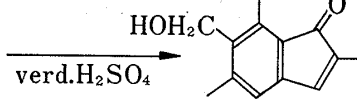
VII



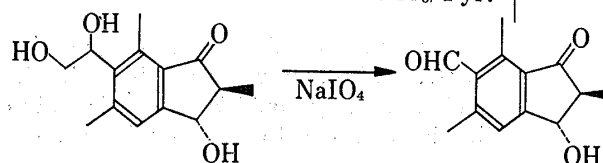
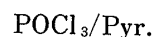
VIII



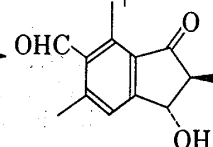
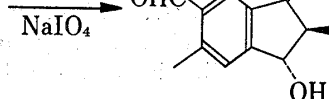
XII



XIII



Pterosin Q



XIII

gruppen, zwei Dubletts bei 4.56 ($J=3$, $1H \times 2/5$) und 5.22 ($J=7$ Hz, $1H \times 3/5$) für ein Methinproton neben der sekundären Hydroxygruppe, sowie ein Singulett (1H) bei 7.44 für ein aromatisches Proton, aber fehlen die A_2X_2 -Protonensignale, die der Hydroxyäthylseitenkette am C-6 vom Pterosin C entsprechen und anstelle deren ist ein Singulett (2H) bei 4.78 ersichtbar. Demgemäss besass I ($C_{13}H_{16}O_3$) weniger eine Methylengruppe als Pterosin C ($C_{14}H_{18}O_3$). Diese Daten sprachen für das Vorliegen eines Norpterocin C.

Dehydratisierung von XII mit verd. H_2SO_4 und anschliessende Oxydation mit Chromsäure-Pyridin-Komplex führte zu einem gelben Aldehyd vom Schmp. 114–115°. Das UV-Spektrum in MeOH besitzt Absorptionsmaxima bei 224, 270, 345, 357 nm ($\log \epsilon$ 4.37, 4.47, 3.52, 3.52). Das IR-Spektrum zeigt, u.a. Carbonylbanden bei 1700 (Arylketon) und 1675 cm^{-1} (Arylaldehyd). Das NMR-Spektrum zeigt ein Dublett (3H, $J=1$) bei 1.85 für die olefinischen Methylprotonen, zwei Singuletts (3H) bei 2.48 und 2.69 für zwei aromatischen Methylprotonen, ein Singulett (1H) bei 6.55 für ein aromatisches Proton und ein Quartett (1H, $J=1$) bei 6.88 für ein olefinisches Proton, sowie ein Singulett (1H) bei 10.46 für ein Aldehydproton. Diese vorliegenden Werte sind nur vereinbar mit der Struktur XIII und dieser Aldehyd erwies sich als identisch mit einem Produkt, das nach der $NaIO_4$ -Oxidation vom Pterosin Q⁵⁾ und der anschliessenden Dehydratisierung mit $POCl_3$ /Pyridin gewonnen wurde. Damit ist für XII die Struktur eines 3-Hydroxy-6-hydroxymethyl-2,5,7-trimethyl-indan-1-ons abgeleitet. Wir wollen diese Substanz Norpterocin C nennen.

Danksagung Wir danken Herren I. Sasamoto und R. Ito für die Hilfe bei der Suche und Identifizierung des Pflanzenmaterials.

Pharmazeutisches Institut
Naturwissenschaftliche Universität Tokyo
(Tokyo Rika Daigaku)
Ichigaya Funakawara-Machi,
Shinjuku-Ku, Tokyo, 162, Japan

Department of Pharmaceutical Sciences
Kobe Gakuin University
Arise, Igawatani-Machi,
Tarumi-Ku, Kobe, 673, Japan

Department of Chemistry
National Tsing Hua University
Kuang Fu Road
Hsinchu, Taiwan, China

KAZUMI AOYAMA
NOBUTOSHI TANAKA
NORIKO SUZUKI
TAKAO MURAKAMI
YASUHISA SAIKI

CHIU-MING CHEN

Eingegangen am 4, Juni 1977

[Chem. Pharm. Bull.]
25(9)2464-2465(1977)

UDC 547.962.02 : 597.8.05

A New Mast Cell Degranulating Peptide, Granuliberin-R, in the Frog (*Rana rugosa*) Skin¹⁾

A new mast cell degranulating peptide was isolated from the frog skin. The peptide possesses a notable sequence, in which hydrophobic amino acid residues are in the N-terminal, and hydrophilic and basic amino acid residues in the C-terminal region. Granuliberin-R belongs to a new family of the active peptides in the amphibian skin.

Keywords—*Rana rugosa*; mast cell degranulation; dansyl method; subtractive Edman degradation; frog skin

The naturally occurring polypeptides in mammalian origin, such as histone, protamine and ACTH, have been known as the mast cell degranulating substance.²⁾ In the invertebrates, especially in the bee venom components, the polypeptides of the mast cell degranulating activity have been characterized.³⁾ The skin extract of *Rana rugosa* (Japanese name: Tsuchigaeru) also contains the another polypeptide of the mast cell degranulating, named granuliberin-R.¹⁾

This report describes the isolation and the chemical characterization of granuliberin-R.

The brief detail of the isolation of the peptide was as follows: The frog skin (100 frogs) was extracted with 80% methanol containing 6% trichloroacetic acid, and the extract was evaporated to dryness by rotatory evaporator below 30°. The residue was dissolved in the lower layer of *n*-butanol: acetic acid: water (4: 1: 5) and was separated by droplet counter current chromatography (stationary phase; upper layer of *n*-butanol: acetic acid: water (4: 1: 5)). The material distributed in the stationary phase was collected by pushing out the stationary phase with nitrogen gas from the transfer tubes and the solution was evaporated under the reduced pressure. The droplet counter current chromatography was repeated with the same solvent system and the same fraction remained in the transfer tubes was collected. The dried residue was successively chromatographed on a SE-Sephadex column with the

- 1) A part of this work was presented at the 14th Symposium on Peptide Chemistry, Hiroshima, November, (1976).
- 2) H. Selye, "The Mast Cells" Washington Butterworths, 1965.
- 3) E. Habermann, "Venomous Animals and Their Venoms" Vol. III, ed. by W. Bücherl, and E.E. Buckley, Academic Press, New York, London, 1971.