

博士論文

沖縄産植物由来の新規有用化合物を  
中心とした構造解析研究

2014

上村 有加

博士論文

沖縄産植物由来の新規有用化合物を  
中心とした構造解析研究

2014

広島大学大学院医歯薬学総合研究科

薬学専攻 創薬科学講座

平成 23 年度入学

上村 有加

主指導教員

松浪 勝義

# 目次

序論	1
第1部 モクレイシの成分研究	2
第1章 モクレイシについて	3
第2章 抽出・分離及び精製	4
第3章 1-ブタノール可溶画分から単離した化合物の構造決定	7
第1節 新規化合物について	7
第1項 新規化合物 Compound 1 の構造	8
第2項 新規化合物 Compound 2 及び Compound 3 の構造	12
第3項 新規化合物 Compound 4 の構造	15
第4項 新規化合物 Compound 5 の構造	17
第5項 新規化合物 Compound 6 及び Compound 7 の構造	19
第6項 新規化合物 Compound 8、Compound 9 及び Compound 10 の構造	24
第7項 新規化合物 Compound 11 の構造	29
第8項 新規化合物 Compound 12 及び Compound 13 の構造	31
第9項 新規化合物 Compound 14 の構造	34
第10項 新規化合物 Compound 15 の構造	36
第11項 新規化合物 Compound 16 及び Compound 17 の構造	38
第12項 新規化合物 Compound 18 の構造	42
第2節 既知化合物について	44
第1項 既知化合物芳香族誘導体の構造	45
第4章 酢酸エチル可溶画分から単離した化合物の構造決定	46
第1節 新規化合物について	46
第1項 新規化合物 Compound 21 の構造	47
第2節 既知化合物について	50
第2項 既知 oleanane 型 triterpene の構造	51
第3項 既知 lupane 型及び taraxastane 型 triterpene の構造	57
第5章 A549 増殖抑制活性試験	60
第6章 小括	61
第7章 考察	62
第8章 実験の部	64
第2部 ヤンバルアワブキの成分研究	74
第1章 ヤンバルアワブキについて	75
第2章 抽出、分離及び精製	76
第3章 1-ブタノール可溶画分から単離した化合物の構造決定	78
第1節 新規化合物について	78
第1項 新規化合物 Compound 27 の構造	79
第2項 新規化合物 Compound 28 及び Compound 29 の構造	82
第3項 新規化合物 Compound 30 及び Compound 31 の構造	87
第4項 新規化合物 Compound 32 の構造	92
第5項 新規化合物 Compound 33 の構造	95
第6項 新規化合物 Compound 34 の構造	98

第2節	既知化合物について	100
第1項	既知 monoterpene の構造	101
第2項	既知 megastigmane の構造	102
第3項	既知 triterpene の構造	105
第4章	小括	106
第5章	考察	107
第6章	実験の部	109
第3部	ナンバンアワブキの成分研究	115
第1章	ナンバンアワブキについて	116
第2章	抽出、分離及び精製	117
第3章	1-ブタノール可溶画分から単離した化合物の構造決定	118
第1節	新規化合物について	118
第1項	新規化合物 Compound 40 の構造	119
第2項	新規化合物 Compound 41 の構造	123
第3項	新規化合物 Compound 42 の構造	127
第4項	新規化合物 Compound 43 の構造	130
第5項	新規化合物 Compound 44 の構造	133
第4章	小括	137
第5章	考察	138
第6章	実験の部	141
参考文献		145
謝辞		149

本文中で使用した主な略号

<sup>1</sup> H NMR:	Proton Nuclear Magnetic Resonance
<sup>13</sup> C NMR:	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance
HR-ESI-MS:	High Resolution Electro Spray Ionization Mass Spectroscopy
H-H COSY:	HH Correlation Spectroscopy
HMBC:	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC:	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Dif-NOE	Difference Nuclear Overhauser Effect
PSNOESY	Phase sensitive NOESY
IR:	Infrared Spectroscopy
UV:	Ultraviolet Spectroscopy
HPLC:	High-Performance Liquid Chromatography
DCCC:	Droplet Counter Current Chromatography
CC:	Column Chromatography
TLC:	Thin Layer Chromatography
ODS:	Octadecylsilanized Silica gel
Cpd:	Compound
fr.:	Fraction
s :	Singlet
d:	Doublet
t:	Triplet
q:	Quartet
m:	Multiplet
Glc:	$\beta$ -Glucopyranosyl

---

## 序論

---

人類は昔から様々な天然物を薬として利用してきており、現在でも、生薬・漢方としてのみならず、医薬品やそのリード化合物、健康食品や化粧品など、様々な形で使用している。そのような天然物の成分研究を行う中で化合物の構造を解析することは、新規有用化合物の発見という実用的な面はもちろんのこと、基礎科学の観点からも安全で効果の高い医薬品の開発に役立つことが期待される。

そこで、本研究では本州とは植生が異なることから新規有用化合物の発見がより強く期待できる沖縄で生育する植物のうち、ニシキギ科モクレイシ [*Microtropis japonica* Hallier f.] 及びアワブキ科ヤンバルアワブキ [*Meliosma pinnata* ssp.*arnottiana*] とナンバンアワブキ [*Meliosma lepidota* ssp.*squamulata*] について成分研究を行った。研究を進めるにあたり、主成分だけでなく微量成分にも着目して分離精製を進めることにより、新規低分子化合物の発見を目指した。

# 第1部

## モクレイシの成分研究

---

## 第1章 モクレイシについて

---

*Microtropis japonica* Hallier f. (和名：モクレイシ)

モクレイシはニシキギ科 (Celastraceae) モクレイシ属 (*Microtropis*) の植物である。神奈川、伊豆半島、九州など暖地に生える常緑低木である。対生の葉は柄を持ち、皮質で毛はなく、全緑である。形は楕円形か倒卵形で長さ 5-10 cm、幅 3-6 cm で先が鈍く、基部はくさび形をして短い柄に流れている。3 月頃葉腋に短い集散花序をつけ、緑白色の小さな花が開く。がくはほぼ球形で鐘形をし、5 片に深く裂け裂片は半円形をしている。5 個の花弁は広い卵形である。雌雄異株。さく果は広楕円形で長さ 1.5-2 cm、幅 9-13 mm である。果皮は皮質で基部から裂け、赤い種子を放出する。

モクレイシの成分研究に関する文献はこれまでに 4 本報告されており、モクレイシ葉部より diterpene 配糖体 6 種<sup>1)</sup>、モクレイシ根部より sesquiterpene 誘導体 1 種<sup>2)</sup>、モクレイシ材部より sesquiterpene 誘導体 2 種、lignan 誘導体 1 種、ベンゼン誘導体 1 種<sup>3)</sup>及び triterpenoid 7 種<sup>4)</sup>が新規化合物として単離されている。



モクレイシ

(<http://aoki2.si.gunma-u.ac.jp/BotanicalGarden/HTMLs/mokureisi.html> より引用)



---

## 第2章 抽出、分離及び精製

---

乾燥させたモクレイシの材部 (13.0 kg) のメタノール抽出物を *n*-ヘキサン、メタノールで分配を行った後、メタノール層を減圧濃縮し、その残渣を水に懸濁させ酢酸エチルで抽出し、水層はさらに 1-ブタノールで抽出した。本研究では、程よい脂溶性を示し、活性のある化合物の単離が期待できる酢酸エチル可溶画分と、比較的極性官能基を多く持ち、構造化学的に多様性のある化合物が多く含まれることから新規化合物の単離が期待できる 1-ブタノール可溶画分について成分探索を行った。

1-ブタノール可溶画分 40.9 g のうち 39.9 g を、Diaion HP-20、Silica gel、ODS 各種カラムクロマトグラフィー、DCCC、HPLC を用いて分離、精製を行い、20 種の化合物 (Compounds 1-20) を括弧内の収量で単離した。(Chart 1)

一方、酢酸エチル可溶画分 103 g のうち 100 g を、Silica gel、ODS 各種カラムクロマトグラフィー、HPLC を用いて分離、精製を行い、6 種の化合物 (Compounds 21-26) を括弧内の収量で単離した。(Chart 2)

Chart 1

Diaion HP-20 CC: MeOH/H<sub>2</sub>O  
 Silica gel CC: CHCl<sub>3</sub>/MeOH  
 ODS CC: MeOH/H<sub>2</sub>O  
 DCCC: CHCl<sub>3</sub>/MeOH/1-PrOH/H<sub>2</sub>O  
 HPLC: MeOH/H<sub>2</sub>O

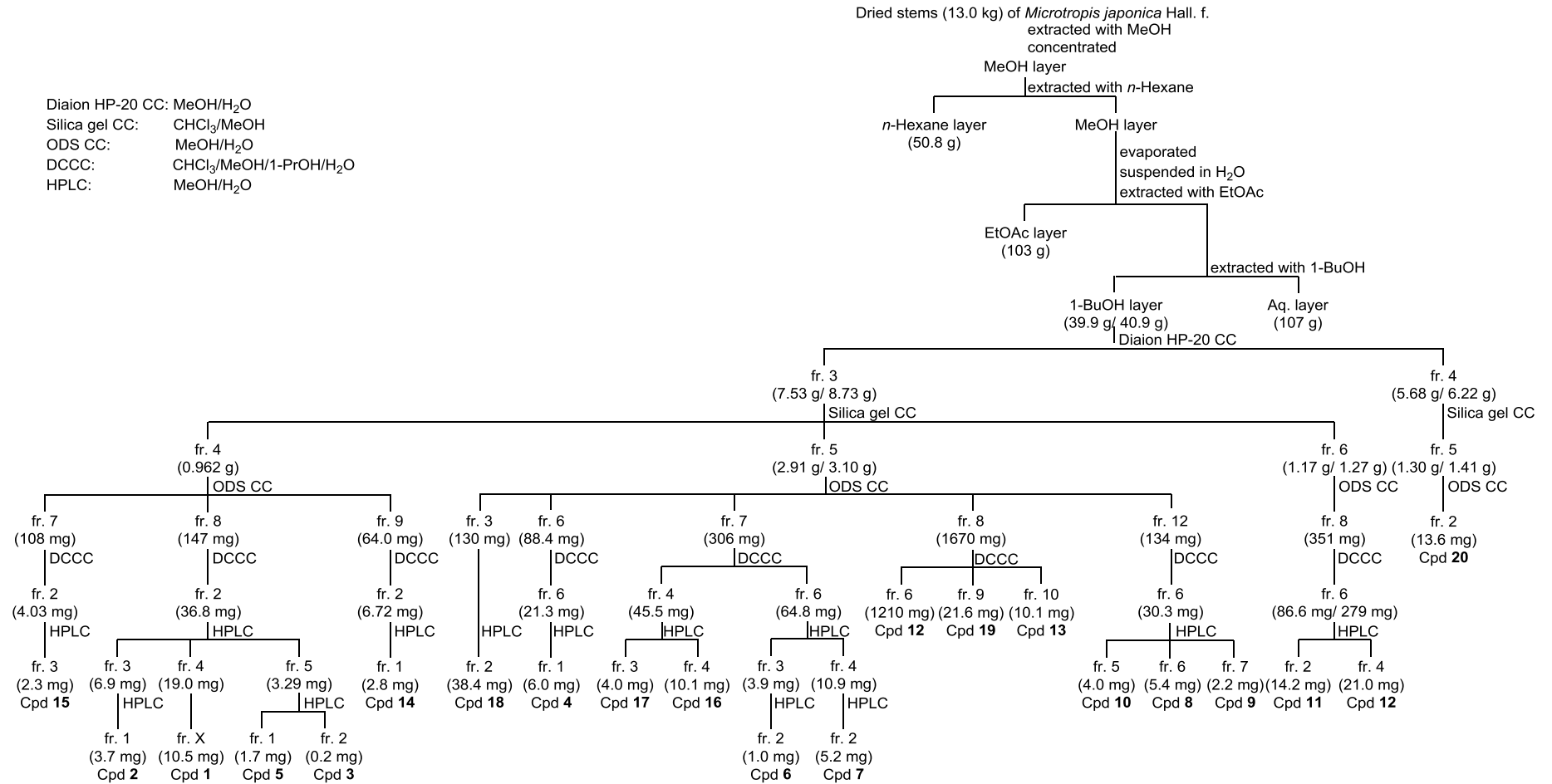
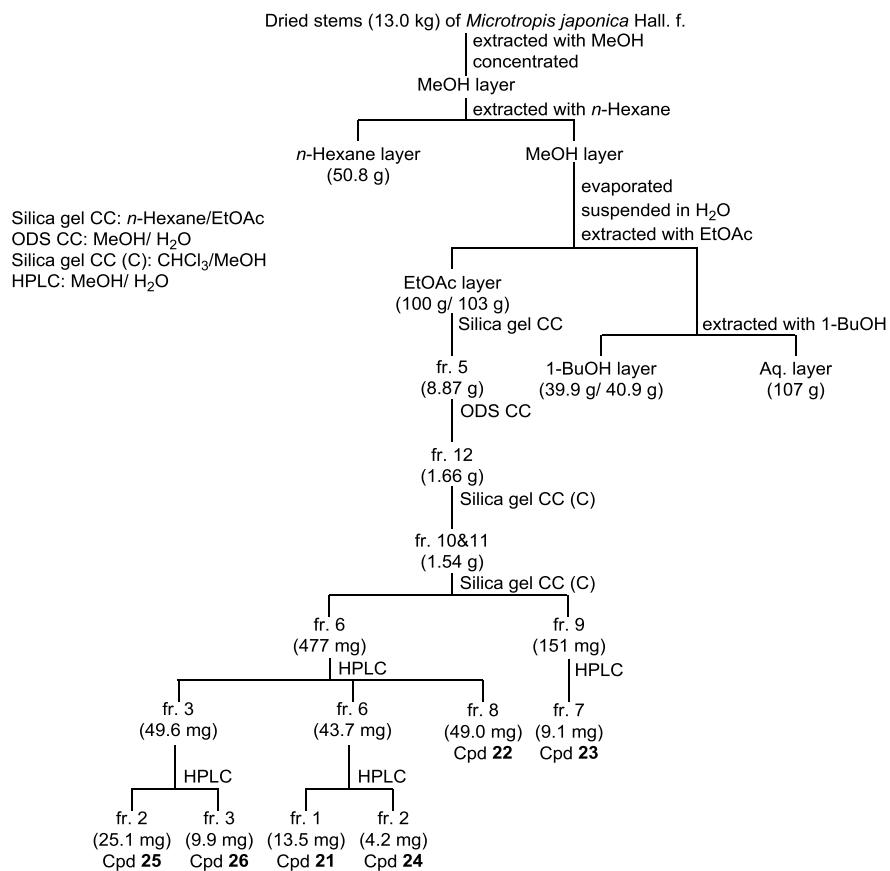


Chart 2



第1節 新規化合物について

成分検索の過程でニシキギ科植物モクレイシ材部の1-ブタノール可溶画分より、18種の新規化合物 compound 1-18 (Fig. 1) を単離し、その化学構造を詳細に検討することとした。

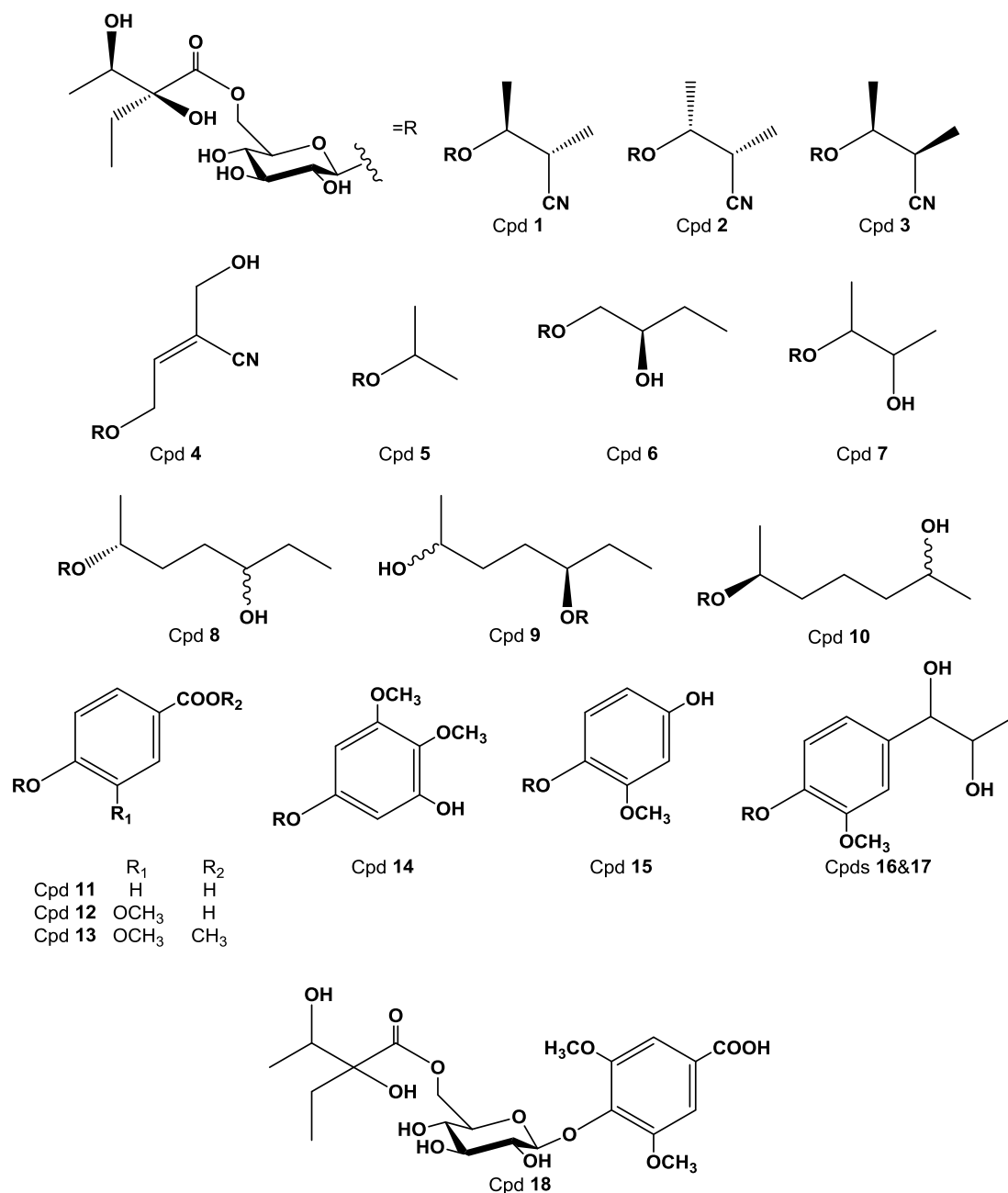


Fig. 1 Structures of Compounds 1-18

## 第1項 新規化合物 Compound 1 の構造

Compound 1 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{17}H_{29}NO_9$  と決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 1) における17本のシグナルのうち6本は6位がエステル結合を形成している glucopyranose に由来するシグナルであると推測した。

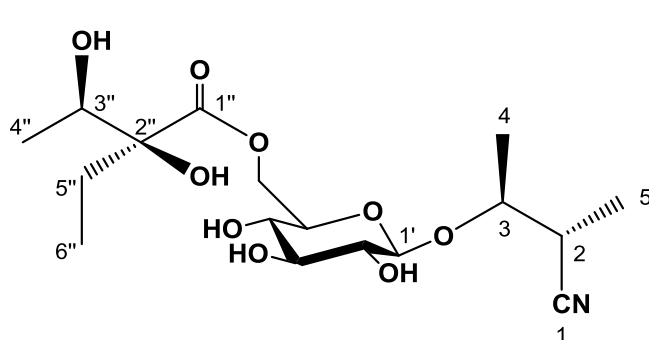
糖の構造及び絶対配置を決定するために、1M の塩酸で加水分解後、旋光度検出器を用いて HPLC 分析を行った結果、D-glucose であると決定した。さらに  $^1H$  NMR (Table 1) において glucopyranose のアノマー位の水素のカップリング定数が 7.7 Hz であることから、glucopyranose は  $\beta$ 結合していると決定した。

$^{13}C$  NMR において糖を除くシグナルは11本であり、そのうち4本はメチル炭素、1本はメチレン級炭素、3本はメチン炭素、3本は水素の結合していない炭素を示すシグナルであった。IR スペクトルにおいて  $2246\text{ cm}^{-1}$  に三重結合に由来する吸収が見られたが、 $^{13}C$  NMR において対応するシグナルは  $122.3\text{ ppm}$  の1本しか観測されなかったことに加え、分子式に窒素が含有されることから、ニトリル基の存在が示唆された。また、 $^{13}C$  NMR における  $176.1\text{ ppm}$  のシグナル、及び IR スペクトルにおける  $1736\text{ cm}^{-1}$  の吸収からエステル構造の存在が示唆され、また、 $82.9\text{ ppm}$  のシグナルから三級水酸基、 $72.8\text{ ppm}$  及び  $77.5\text{ ppm}$  のシグナルから二級水酸基の存在が示唆された。

より詳細な構造決定を行うために、2D-NMR (H-H COSY, HMBC) を測定した。まず H-H COSY スペクトル (Fig. 4) において、5位と2位、2位と3位、3位と4位の水素に相関が見られた。次に HMBC スペクトル (Fig. 4) より、2位の水素  $2.94\text{ ppm}$  (1H, *qd*,  $J = 6.8, 4.3\text{ Hz}$ )、3位の水素  $3.88\text{ ppm}$  (1H, *qd*,  $J = 6.4, 4.3\text{ Hz}$ ) 及び5位の水素  $1.36\text{ ppm}$  (3H, *d*,  $J = 6.8\text{ Hz}$ ) から1位の炭素  $122.3\text{ ppm}$  に相関が見られたため、アグリコン部の構造は 3-hydroxy-2-methylbutanenitrile であると決定した。さらに、3位の水素  $3.88\text{ ppm}$  (1H, *qd*,  $J = 6.4, 4.3\text{ Hz}$ ) から glucopyranose 1'位の炭素  $104.9\text{ ppm}$ 、glucopyranose 1'位の水素  $4.39\text{ ppm}$  (1H, *d*,  $J = 7.7\text{ Hz}$ ) から3位の炭素  $77.5\text{ ppm}$  にそれぞれ相関が見られたことから、糖の結合位置は3位であると決定した。このことはアシル構造部分を除く compound 1 の部分構造の  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR におけるケミカルシフトが supinanitri loside D<sup>5)</sup> の部分構造のそれとよく一致したことから支持された。一方、アシル構造部分については、まず H-H COSY スペクトル (Fig. 4) より、3''位と4''位、5''位と6''位の水素間に相関が見られた。さらに HMBC スペクトル (Fig. 4) より、5''位の水素  $1.74\text{ ppm}$  (1H, *dq*,  $J = 13.9, 7.5\text{ Hz}$ )、 $1.55\text{ ppm}$  (1H, *dq*,  $J = 13.9, 7.5\text{ Hz}$ ) から1''位の炭素  $176.1\text{ ppm}$  に、4''位の水素  $1.18\text{ ppm}$  (3H, *d*,  $J = 6.5\text{ Hz}$ )、5''位の水素  $1.74\text{ ppm}$  (1H, *dq*,  $J = 13.9, 7.5\text{ Hz}$ )、 $1.55\text{ ppm}$  (1H, *dq*,  $J = 13.9, 7.5\text{ Hz}$ ) 及び6''位の水素  $0.89\text{ ppm}$  (3H, *dd*,  $J = 7.5, 7.5\text{ Hz}$ ) から2''位の炭素  $82.9\text{ ppm}$  にそれぞれ相関が見られたことから、アシル構造部分は 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid であると決定した。さらに、glucopyranose の6'位の水素  $4.63\text{ ppm}$  (1H, *dd*,  $J = 11.7, 2.2\text{ Hz}$ )、 $4.22\text{ ppm}$  (1H, *dd*,  $J = 11.7, 5.2\text{ Hz}$ ) から1''位の炭素  $176.1\text{ ppm}$  に相関が見られたことから、compound 1 の平面構造は 3-hydroxy-2-methylbutanenitrile の3位の水酸基に glucopyranose の1位が結合し、glucopyranose の6位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の1位が結合したものであると決定した。

しかしながら、アシル構造部分の絶対立体配置については  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルによる決定は困難であった。Compound 1 は isopropanol による再結晶により針状結晶を得ることができた

め、その絶対立体配置を決定するためにX線結晶構造解析を行った。Compound **1** の構造は ORTEP 図 (Fig. 5) に示すように決定され、先述の糖分析の結果を踏まえ、アグリコン部の 2 位及び 3 位の絶対立体配置はそれぞれ *2R* 及び *3S*、アシル構造部分の 2''位及び 3''位の絶対配置はそれぞれ *2''S* 及び *3''R* であると決定した。また、compound **1** のアグリコン部の絶対立体配置が決定できたことにより、参考にした supinanitri loside D<sup>5)</sup> のアグリコン部の立体について、同様に *2R*、*3S* である事が本研究により明らかとなった。



Colorless needles  
 m.p.: 153-154°C  
 $[\alpha]_D^{23} -12.2$  ( $c = 1.27$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3405, 2980, 2246,  
 1736, 1456, 1382, 1243, 1171, 1079,  
 1053  
 HR-ESI-MS (positive)  
 $m/z$ : 414.1728  $[M+Na]^+$   
 (calcd for  $C_{17}H_{29}NO_9Na$ : 414.1734)

Fig. 3 Structure and Physical data of Compound 1

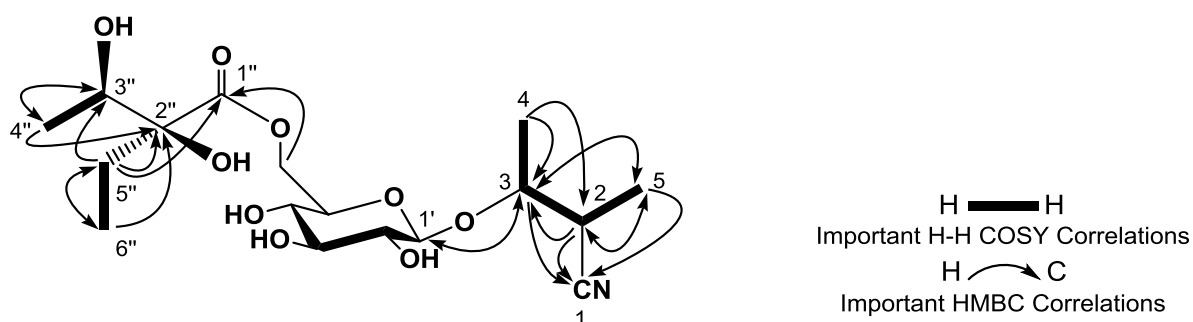
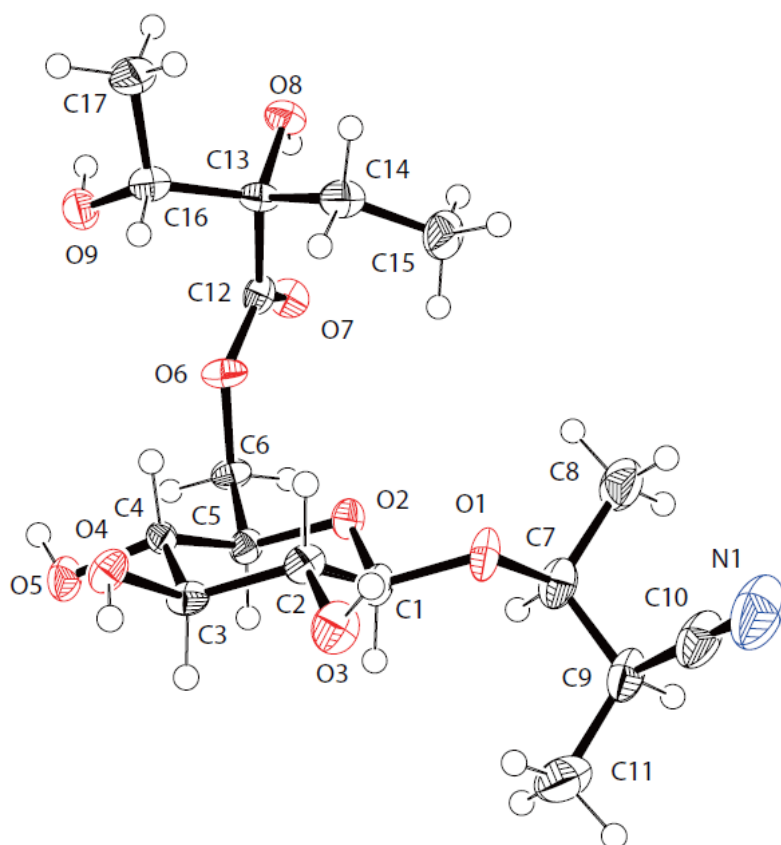


Fig. 4 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 1

Table 1  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 1  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	122.3	<i>s</i>	-
2	33.2	<i>d</i>	2.94 (1H, qd, $J = 6.8, 4.3$ Hz)
3	77.5	<i>d</i>	3.88 (1H, qd, $J = 6.4, 4.3$ Hz)
4	20.0	<i>q</i>	1.34 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5	14.1	<i>q</i>	1.36 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)
Glc1'	104.9	<i>d</i>	4.39 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)
2'	75.2	<i>d</i>	3.20 (1H, dd, $J = 9.2, 7.7$ Hz)
3'	77.8	<i>d</i>	3.35 (1H, m)
4'	71.3	<i>d</i>	3.35 (1H, m)
5'	75.2	<i>d</i>	3.49 (1H, ddd, $J = 9.9, 5.2, 2.2$ Hz)
6'	65.1	<i>t</i>	4.63 (1H, dd, $J = 11.7, 2.2$ Hz) 4.22 (1H, dd, $J = 11.7, 5.2$ Hz)
1''	176.1	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.8	<i>d</i>	3.93 (1H, q, $J = 6.5$ Hz)
4''	16.8	<i>q</i>	1.18 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)
5''	29.2	<i>t</i>	1.74 (1H, dq, $J = 13.9, 7.5$ Hz) 1.55 (1H, dq, $J = 13.9, 7.5$ Hz)
6''	8.4	<i>q</i>	0.89 (3H, dd, $J = 7.5, 7.5$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals



Empirical formula	$C_{17}H_{29}NO_9$
Formula weight	391.41
Crystal size	$0.28 \times 0.05 \times 0.01 \text{ mm}^3$
Crystal system	Monoclinic
Space group	$P2_1$
Unit cell dimensions	$a = 12.631(5) \text{ \AA}$ $b = 6.611(4) \text{ \AA}$ $c = 13.053(5) \text{ \AA}$ $\beta = 114.16(3)^\circ$
Volume	$V = 994.5(6) \text{ \AA}^3$
Z	2
Density (calculated)	$1.307 \text{ Mg/m}^3$
Final R indices	$R_1 = 0.0427, wR_2 = 0.1077$
R indices (all data)	$R_1 = 0.1006, wR_2 = 0.1302$

Fig. 5 ORTEP drawing of Compound 1

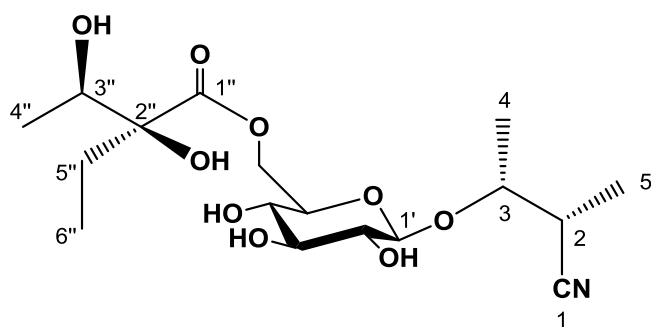


Compound 2 及び compound 3 の分子式は、HR-ESI-MS よりそれぞれ  $C_{17}H_{29}NO_9$  と決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 2, 3) における 17 本のシグナルのうち、12 本は compound 1 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 2 及び 3 はそれぞれ compound 1 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。残りの 5 本のシグナルも compound 1 のアグリコン部のシグナルと類似していたが、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルにおいて差が見られたことから、compound 2 及び 3 はそれぞれ compound 1 のアグリコン部の立体異性体をアグリコンとする化合物であると推測した。より詳細な構造決定を行うために、compound 2 及び 3 において 2D-NMR (H-H COSY, HMBC) を測定した結果、compound 2 及び 3 は共に 1D NMR より推測していたように compound 1 と同じ平面構造であることが確認された (Fig. 7, 9)。

Compound 2 及び 3 のアグリコン部の絶対立体配置については、glucosylation-induced shift-trend rule<sup>6)</sup>、及び、3-hydroxy-2-methylbutanenitrile の 4 位と 5 位のメチル基の相対立体配置と化学シフトや結合定数との関係に着目して検討した。まず、*anti* 体は *syn* 体よりも 2 位と 3 位のカップリング定数が小さいことから<sup>7)</sup>、compound 1 ( $J_{2,3} = 4.3$  Hz) は *anti* 体、compound 2 ( $J_{2,3} = 5.2$  Hz) 及び 3 ( $J_{2,3} = 5.5$  Hz) は *syn* 体であると決定した。この事は compound 1 における X 線結晶構造解析の結果とも一致した。その上で、3 位の立体について、(2*R*\*,3*R*\*)-3-hydroxy-2-methylbutanenitrile (*anti*) (Compound 46a) 及び (2*R*\*,3*S*\*)-3-hydroxy-2-methylbutanenitrile (*syn*) (Compound 46b) を合成し<sup>8)</sup>、glucosylation-induced shift-trend rule を適用した。glucosylation-induced shift-trend rule とは、2 級アルコールに対するグルコース配糖体化がその  $\beta$  炭素に異なるシフトをもたらし、Pro-*S* 側の炭素が Pro-*R* 側の炭素より大きく高磁場シフトする法則のことである。この法則を適用した結果、compound 2 においては 2 位が 0.8 ppm、4 位が 2.9 ppm シフトしていることから 2 位がいわゆる pro-*R*、4 位がいわゆる pro-*S* であると決定し、したがって 3 位の絶対配置は *R* であると決定した。一方、compound 3 では、2 位が 1.7 ppm、4 位が 0.9 ppm シフトしており、3 位の絶対配置は *S* であると決定した。Compound 2 及び 3 は *syn* 体である事を踏まえ、アグリコン部の立体は compound 2 が 2*R*、3*R*、compound 3 が 2*S*、3*S* であると決定した。

加えて、アシル構造部分については  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルにおけるケミカルシフトが compound 2 及び 3 共に compound 1 とよく一致する事から、その絶対立体配置は同じであると決定した。

以上より、compound 2 及び 3 の構造を、Fig. 6, 8 のように決定した。



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{24} -8.1$  ( $c = 0.25$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3393, 2980, 2245, 1736, 1456, 1391, 1238, 1170, 1089, 1052

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 414.1719  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

(calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO}_9\text{Na}$ : 414.1734)

Fig. 6 Structure and Physical data of Compound 2

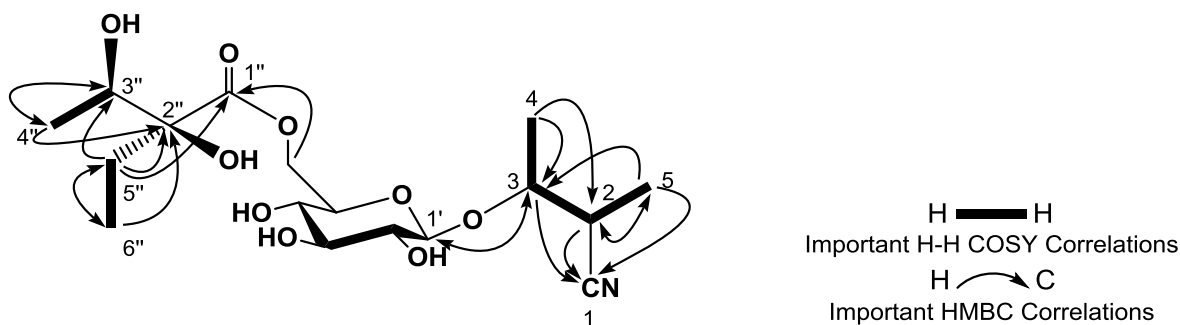


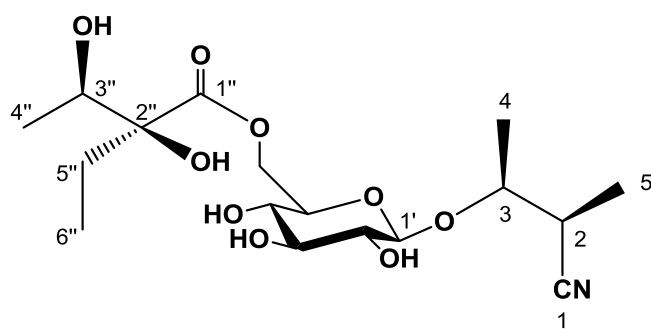
Fig. 7 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 2

Table 2  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 2

$^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	122.4	s	-
2	34.0 (-0.8)*	d	3.13 (1H, qd, $J = 7.3, 5.2$ Hz)
3	77.0 (+8.2)*	d	3.83 (1H, qd, $J = 6.3, 5.2$ Hz)
4	16.9 (-2.9)*	q	1.31 (3H, d, $J = 6.3$ Hz)
5	14.9	q	1.25 (3H, d, $J = 7.3$ Hz)
Glc1'	103.6	d	4.37 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)
2'	74.9	d	3.17 (1H, dd, $J = 9.3, 7.7$ Hz)
3'	77.7	d	3.35 (1H, m)
4'	71.3	d	3.35 (1H, m)
5'	75.3	d	3.47 (1H, ddd, $J = 9.7, 5.3, 2.1$ Hz)
6'	65.0	t	4.62 (1H, dd, $J = 11.7, 2.1$ Hz) 4.21 (1H, dd, $J = 11.7, 5.3$ Hz)
1''	176.1	s	-
2''	82.9	s	-
3''	72.8	d	3.91 (1H, q, $J = 6.4$ Hz)
4''	16.8	q	1.17 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5''	29.3	t	1.73 (1H, dq, $J = 13.7, 7.4$ Hz) 1.54 (1H, dq, $J = 13.7, 7.4$ Hz)
6''	8.5	q	0.88 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

\*:  $\Delta\delta_{2-46b}$ , m: multiplet or overlapped signals



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{25} -4.3$  ( $c = 0.012$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3391, 2981, 2248, 1736, 1456, 1391, 1238, 1168, 1080, 1044

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 414.1733  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

(calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO}_9\text{Na}$ : 414.1734)

Fig. 8 Structure and Physical data of Compound 3

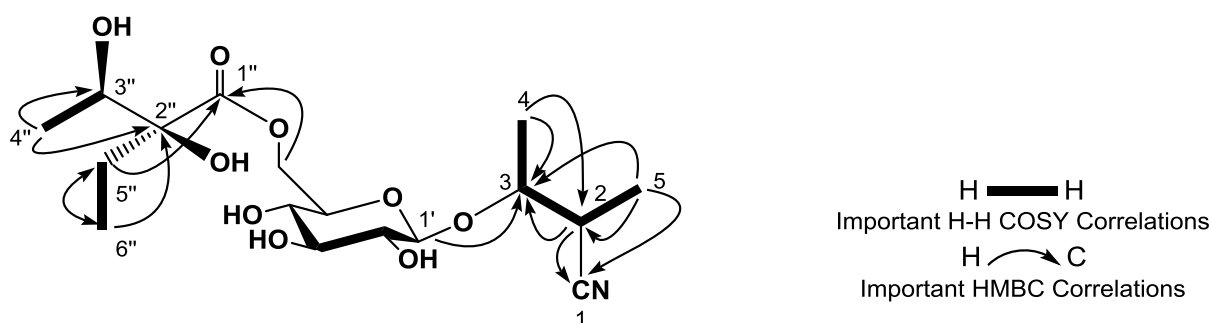


Fig. 9 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 3

Table 3  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 3  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

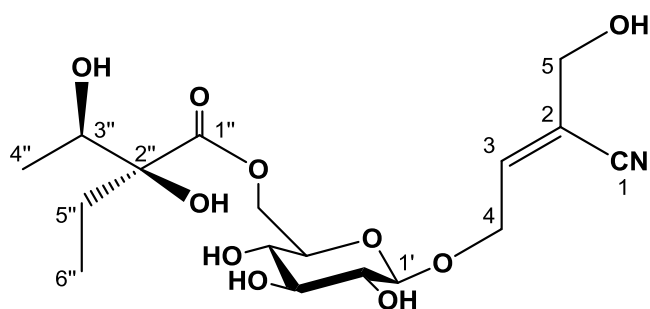
Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	122.3	s	-
2	33.1 (-1.7)*	d	3.02 (1H, qd, $J = 7.1, 5.5$ Hz)
3	77.5 (+8.7)*	d	3.84 (1H, qd, $J = 6.4, 5.5$ Hz)
4	18.9 (-0.9)*	q	1.34 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5	14.7	q	1.30 (3H, d, $J = 7.1$ Hz)
Glc1'	104.2	d	4.40 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)
2'	75.1	d	3.17 (1H, dd, $J = 9.2, 8.0$ Hz)
3'	77.8	d	3.35 (1H, m)
4'	71.4	d	3.35 (1H, m)
5'	75.3	d	3.48 (1H, m)
6'	65.1	t	4.61 (1H, dd, $J = 11.9, 2.2$ Hz) 4.22 (1H, dd, $J = 11.9, 5.2$ Hz)
1''	176.1	s	-
2''	82.9	s	-
3''	72.9	d	3.91 (1H, q, $J = 6.4$ Hz)
4''	16.9	q	1.17 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5''	29.3	t	1.73 (1H, dq, $J = 13.6, 7.4$ Hz) 1.54 (1H, dq, $J = 13.6, 7.4$ Hz)
6''	8.4	q	0.88 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

\*:  $\Delta\delta_{3-46b}$ , m: multiplet or overlapped signals

Compound 4 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{17}H_{27}NO_{10}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 4) における 17 本のシグナルのうち、12 本は compound 1-3 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 4 は compound 1-3 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。残りの 5 本のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、そのうち 2 本はメチレン炭素、1 本はメチン炭素、2 本は水素の結合していない炭素に由来するシグナルであった。IR スペクトルにおいて  $2224\text{ cm}^{-1}$  に三重結合に由来する吸収が見られたが、 $^{13}C$  NMR において対応するシグナルは水素の結合していない炭素に由来する  $116.7\text{ ppm}$  のシグナル 1 本のみであり、さらに分子式に窒素を含有することから、ニトリル基の存在が示唆された。また、 $68.2\text{ ppm}$  及び  $63.2\text{ ppm}$  のメチン炭素の存在から二級水酸基の存在が示唆された。これらの条件をもとに検討したところ、compound 4 のアグリコン部の構造は Fig. 10 に示す構造であると推測した。Compound 4 と共通のアグリコンの 4 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合した構造である sarmentosin<sup>9)</sup>と比較したところ、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルともよく一致した。

より詳細な構造決定を行うために、2D-NMR (H-H COSY、HMBC) を測定したところ、Fig. 11 に示すように H-H COSY、HMBC 両スペクトル共に推測した構造を支持するものであったことから、compound 4 の平面構造は sarmentosin を形成する glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。アグリコン部の二重結合部分の立体については 3 位の水素  $6.65\text{ ppm}$  (1H, ddt,  $J = 6.7, 6.1, 1.4\text{ Hz}$ ) と 5 位の水素  $4.16\text{ ppm}$  (1H, ddd,  $J = 1.4, 1.4, 1.4\text{ Hz}$ ) において Dif-NOE を測定したところ Fig. 11 に示すようにそれぞれ相関が見られたことから支持された。さらに、アシル構造部分の絶対立体配置については  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルが compound 1-3 のそれとよく一致することから、同じ絶対立体配置であると決定した。

以上より、compound 4 の構造を Fig. 10 のように決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{24} -6.98$  ( $c = 0.40$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3366, 2977, 2224,  
 1735, 1649, 1455, 1241, 1170, 1079,  
 1012  
 HR-ESI-MS (positive)  
 $m/z$ : 428.1530  $[M+Na]^+$   
 (calcd for  $C_{17}H_{27}NO_{10}Na$ : 428.1527)  
 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ): 213 (3.75)

Fig. 10 Structure and Physical data of Compound 4

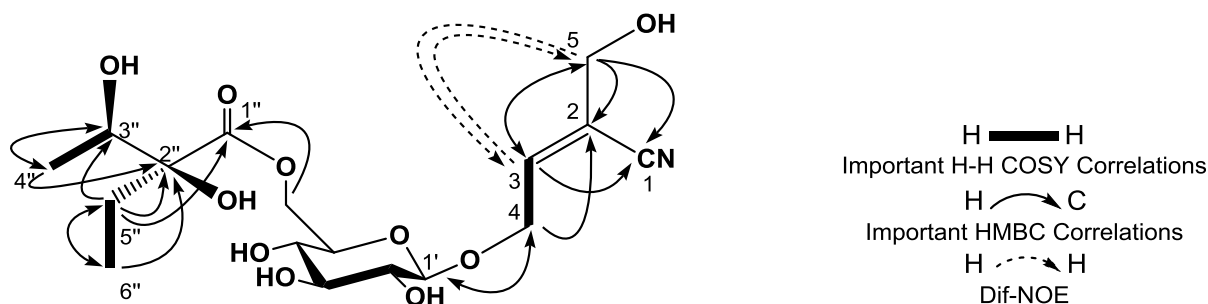


Fig. 11 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 4

Table 4  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 4  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

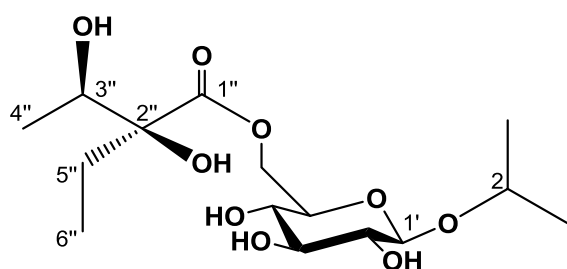
Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	116.7	s	-
2	118.2	s	-
3	144.6	d	6.65 (1H, ddt, $J = 6.7, 6.1, 1.4$ Hz)
4	68.2	t	4.53 (1H, ddt, $J = 12.6, 6.1, 1.4$ Hz) 4.50 (1H, ddt, $J = 12.6, 6.7, 1.4$ Hz)
5	63.2	t	4.16 (2H, ddd, $J = 1.4, 1.4, 1.4$ Hz)
Glc1'	104.2	d	4.34 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)
2'	74.9	d	3.20 (1H, m)
3'	77.7	d	3.36 (1H, m)
4'	71.4	d	3.36 (1H, m)
5'	75.5	d	3.50 (1H, m)
6'	65.0	t	4.64 (1H, dd, $J = 11.8, 2.2$ Hz) 4.25 (1H, dd, $J = 11.8, 5.3$ Hz)
1''	176.2	s	-
2''	82.9	s	-
3''	72.8	d	3.94 (1H, q, $J = 6.4$ Hz)
4''	16.9	q	1.18 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5''	29.3	t	1.75 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz) 1.54 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz)
6''	8.4	q	0.89 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

Compound 5 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{15}H_{28}O_9$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 5) より、炭素は 15 本であり、そのうち 12 本は compound 1-4 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 5 は compound 1-4 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。残る 3 本のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、そのうち 2 本がメチル炭素、1 本がメチン炭素であり、このうち 73.0 ppm のメチン炭素は酸素原子に結合した炭素であると考えられた。また  $^1H$  NMR (Table 5) において 2 個のメチル基に相当するシグナル 1.21 ppm (3H, d,  $J=6.2$  Hz) 及び 1.18 ppm (3H, d,  $J=6.2$  Hz) はどちらもダブルットに分裂していた。これらの条件をもとに検討したところ、compound 5 のアグリコン部の構造は isopropanol であると推測し、isopropanoil glucoside<sup>10</sup>と比較したところ、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルともよく一致した。

より詳細な構造決定を行うために、2D-NMR (H-H COSY、HMBC) を測定したところ、Fig. 13 に示すように H-H COSY、HMBC 両スペクトルは推測した構造を支持するものであったことから、compound 5 の平面構造は isopropanol の 2 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。さらに、アシル構造部分の絶対立体配置については  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルが compound 1-4 のそれとよく一致することから、同じ絶対立体配置であると決定した。

以上より、compound 5 の構造を Fig. 12 のように決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{23} -38.6$  ( $c = 0.11$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3398, 2975, 2935,  
 1733, 1446, 1377, 1241, 1171, 1083,  
 1038  
 HR-ESI-MS (positive)  
 $m/z$ : 375.1622  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   
 (calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_9\text{Na}$ : 375.1625)

Fig. 12 Structure and Physical data of Compound 5

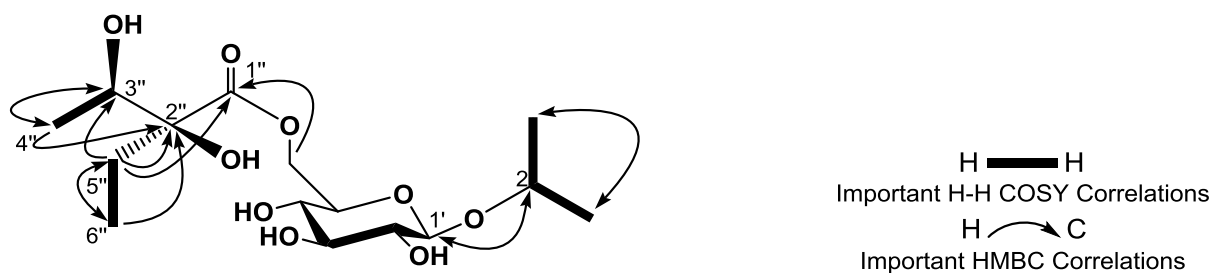


Fig. 13 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 5

Table 5  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 5  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	23.9	<i>q</i>	1.21 (3H, d, $J = 6.2$ Hz)
2	73.0	<i>d</i>	3.97 (1H, septet, $J = 6.2$ Hz)
3	22.2	<i>q</i>	1.18 (1H, d, $J = 6.2$ Hz)
Glc1'	102.8	<i>d</i>	4.34 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)
2'	75.1	<i>d</i>	3.14 (1H, dd, $J = 9.2, 7.8$ Hz)
3'	77.9	<i>d</i>	3.35 (1H, m)
4'	71.6	<i>d</i>	3.35 (1H, m)
5'	75.1	<i>d</i>	3.47 (1H, ddd, $J = 9.5, 5.5, 2.2$ Hz)
6'	65.3	<i>t</i>	4.59 (1H, dd, $J = 11.7, 2.2$ Hz) 4.22 (1H, dd, $J = 11.7, 5.5$ Hz)
1''	176.1	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.8	<i>d</i>	3.92 (1H, q, $J = 6.4$ Hz)
4''	16.8	<i>q</i>	1.17 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5''	29.2	<i>t</i>	1.73 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz) 1.54 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz)
6''	8.4	<i>q</i>	0.88 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

Compound 6 及び 7 の分子式は、HR-ESI-MS より共に  $C_{16}H_{30}O_{10}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 6, 7) におけるそれぞれ 16 本のシグナルのうち、12 本は compound 1-5 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 6 及び compound 7 は compound 1-5 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。

残るそれぞれ 4 本のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、そのうち compound 6 では 1 本はメチル炭素、1 本はメチレン炭素、2 本はメチン炭素に由来するシグナルであり、このうち 74.8 ppm のメチレン炭素と 72.79 ppm のメチン炭素は酸素原子に結合した炭素であると考えられた。また  $^1H$  NMR (Table 6) において 1 個のメチル基に相当するシグナル 0.95 ppm (3H, t,  $J=7.5$  Hz) はトリプレットに分裂していた。これらの条件をもとに検討したところ、compound 6 のアグリコン部の構造は 1,2-butanediol であると推測した。さらに、2D-NMR スペクトル (H-H COSY, HMBC) において観測された相関も推測した各部分構造を支持するものであった (Fig. 15)。さらに、アグリコン部の 1 位と glucopyranose のアノマー位との間に HMBC 相関が観測されたことを踏まえ、compound 6 の平面構造は 1,2-butanediol の 1 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

一方、compound 7 については、アグリコン部に由来する 4 本のシグナルのうち、2 本はメチル炭素、2 本はメチン炭素であり、このうち 83.5 ppm と 72.2 ppm のメチン炭素は酸素原子に結合した炭素であると考えられた。また  $^1H$  NMR (Table 7) において 2 個のメチル基に相当するシグナル 1.18 ppm (3H, d,  $J=6.3$  Hz) 及び 1.13 ppm (3H, d,  $J=6.4$  Hz) はそれぞれダブルットに分裂していた。これらの条件をもとに検討したところ、compound 7 のアグリコン部の構造は 2,3-butanediol であると推測し butane-2,3-diol 2-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside<sup>11)</sup>と比較したところ、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルともよく一致した。2D-NMR (H-H COSY, HMBC) において観測された相関も、糖の結合位置を含め、推測した構造を支持するものであったことから (Fig. 17)、compound 7 の平面構造は 2,3-butanediol の 2 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

アグリコン部の絶対立体配置については、まず、compound 6 の 2 位については 1,2-propanediol-1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside<sup>12)</sup>の *R*体 (compound 47a) 及び *S*体 (compound 47b) (Fig. 18) との  $^1H$  NMR におけるケミカルシフト及び結合定数の比較により検討した。Compound 47a (2*R*) では 1 位の水素は 3.71 ppm (1H, dd,  $J=10, 7$  Hz) 及び 3.56 ppm (1H, dd,  $J=10, 4$  Hz)、compound 47b (2*S*) では 1 位の水素は 3.86 ppm (1H, dd,  $J=10, 3$  Hz) 及び 3.35 ppm (1H, dd,  $J=10, 8$  Hz) (Table 8) であり、一方で compound 6 の 1 位の水素は 3.73 ppm (1H, dd,  $J=10.3, 5.9$  Hz) 及び 3.58 ppm (1H, dd,  $J=10.3, 3.6$  Hz) (Table 6) であり、compound 23a (2*R*) の化学シフトとよく一致した。さらに、compound 23a (2*R*) では 1 位の 2 個の水素のうち、より低磁場にシフトした水素の方がもう一方の水素よりも 2 位の水素 3.94 ppm (1H, dqd,  $J=7, 7, 4$  Hz) との結合定数が大きいのに対し、compound 23b (2*S*) では逆であることがわかるが、compound 6 の化学シフト及び結合定数は *R* 体のものとよ

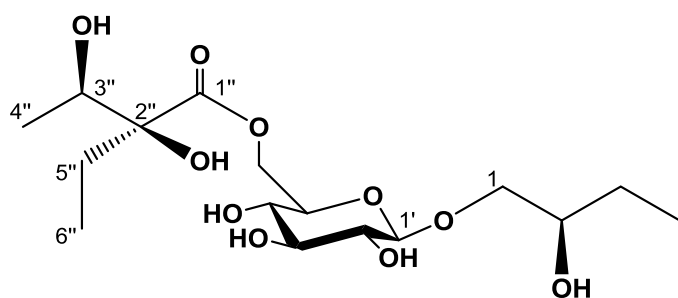


く一致した。これらを踏まえて、**compound 6** のアグリコン部の 2 位の絶対立体配置は *R* であると決定した。

一方、**compound 7** のアグリコン部の 2 位及び 3 位の絶対立体配置については、(2*R*,3*R*)-及び *meso*-2,3-butanediol (Compounds **48a**, **48b**) (Fig. 19) を用いて検討したが、(2*R*,3*R*)-及び *meso*-2,3-butanediol のケミカルシフトに有意な差が見られなかったため、glucosylation-induced shift-trend rule を適用することができず、アグリコン部の絶対立体配置の決定には至らなかった。

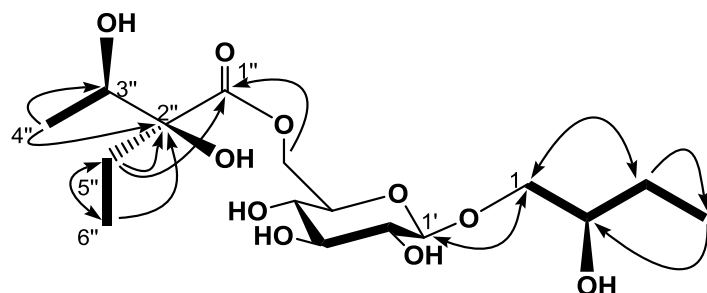
**Compound 6** 及び **compound 7** のアシル構造部分の絶対立体配置については <sup>13</sup>C、<sup>1</sup>H 両 NMR スペクトルが **compound 1-5** のそれとよく一致することから、同じ絶対立体配置であると決定した。

以上より、**compound 6** の構造を Fig. 14、**compound 7** の構造を Fig. 16 のように決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{23} +3.16$  ( $c = 0.06$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3384, 2970, 2933,  
 1736, 1457, 1378, 1241, 1171, 1079,  
 1014  
 HR-ESI-MS (positive)  
 $m/z$ : 405.1751  $[M+Na]^+$   
 (calcd for  $C_{16}H_{30}O_{10}Na$ : 405.1731)

Fig. 14 Structure and Physical data of Compound 6



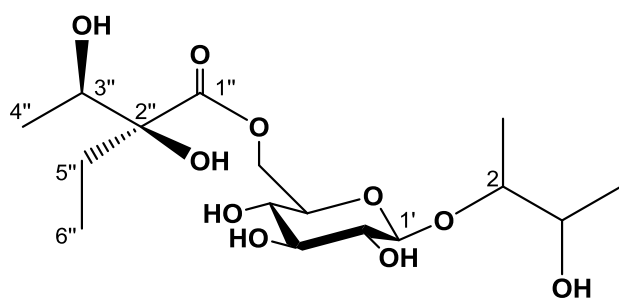
H — H  
 Important H-H COSY Correlations  
 H — C  
 Important HMBC Correlations

Fig. 15 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 6

Table 6  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 6  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	74.8	<i>t</i>	3.73 (1H, dd, $J = 10.3, 5.9$ Hz)
			3.58 (1H, dd, $J = 10.3, 3.6$ Hz)
2	72.79	<i>d</i>	3.65 (1H, m)
3	27.2	<i>t</i>	1.55 (1H, m)
			1.44 (1H, dqd, $J = 13.9, 7.5, 7.4$ Hz)
4	10.3	<i>q</i>	0.95 (3H, t, $J = 7.5$ Hz)
Glc 1'	104.6	<i>d</i>	4.28 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)
2'	75.1	<i>d</i>	3.21 (1H, dd, $J = 9.3, 7.9$ Hz)
3'	77.7	<i>d</i>	3.36 (1H, m)
4'	71.5	<i>d</i>	3.36 (1H, m)
5'	75.2	<i>d</i>	3.49 (1H, m)
6'	65.2	<i>t</i>	4.60 (1H, dd, $J = 11.9, 2.2$ Hz)
			4.24 (1H, dd, $J = 11.9, 5.7$ Hz)
1''	176.1	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.81	<i>d</i>	3.93 (1H, q, $J = 6.5$ Hz)
4''	16.9	<i>q</i>	1.18 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)
5''	29.2	<i>t</i>	1.74 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz)
			1.55 (1H, m)
6''	8.4	<i>q</i>	0.88 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{22} -0.87$  ( $c = 0.34$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3395, 2977, 2935,  
 1736, 1455, 1379, 1241, 1172, 1077,  
 1054  
 HR-ESI-MS (positive)  
 $m/z$ : 405.1738  $[M+Na]^+$   
 (calcd for  $C_{16}H_{30}O_{10}Na$ : 405.1731)

Fig. 16 Structure and Physical data of Compound 7

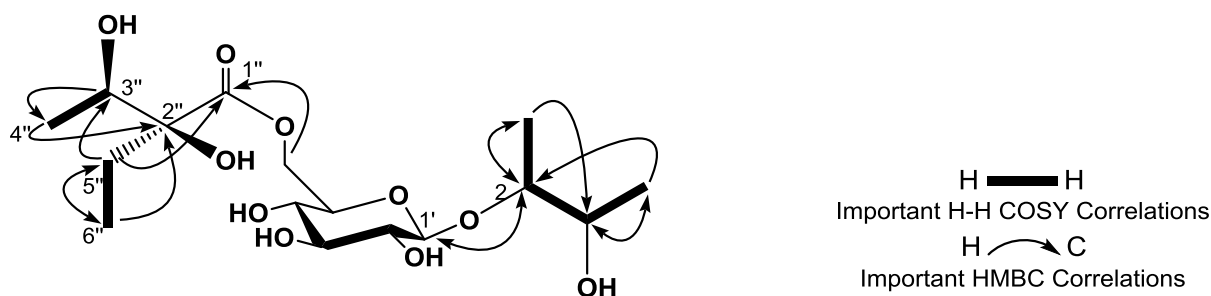


Fig. 17 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 7

Table 7  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 7  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	18.5*	<i>q</i>	1.18 (3H, d, $J = 6.3$ Hz)
2	83.5	<i>d</i>	3.52 (1H, dq, $J = 6.4, 6.3$ Hz)
3	72.2	<i>d</i>	3.62 (1H, dq, $J = 6.4, 6.4$ Hz)
4	18.7*	<i>q</i>	1.13 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
Glc 1'	105.7	<i>d</i>	4.41 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)
2'	75.2	<i>d</i>	3.20 (1H, dd, $J = 9.0, 7.8$ Hz)
3'	77.7	<i>d</i>	3.36 (1H, dd, $J = 9.0, 8.8$ Hz)
4'	71.5	<i>d</i>	3.34 (1H, dd, $J = 8.8, 7.8$ Hz)
5'	75.5	<i>d</i>	3.47 (1H, ddd, $J = 7.8, 5.3, 2.2$ Hz)
6'	65.2	<i>t</i>	4.61 (1H, dd, $J = 11.7, 2.2$ Hz) 4.20 (1H, dd, $J = 11.7, 5.3$ Hz)
1''	176.1	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.8	<i>d</i>	3.92 (1H, q, $J = 6.2$ Hz)
4''	16.8	<i>q</i>	1.17 (3H, d, $J = 6.2$ Hz)
5''	29.2	<i>t</i>	1.73 (1H, dq, $J = 13.8, 7.4$ Hz) 1.54 (1H, dq, $J = 13.8, 7.4$ Hz)
6''	8.4	<i>q</i>	0.88 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

\*: exchangeable

Table 8  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **6**, Compound **47a** (*2R*) and Compound **47b** (*2S*)<sup>11)</sup>  
 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	Compound <b>6</b>	Position	Compound <b>47a</b> ( <i>2R</i> )	Compound <b>47b</b> ( <i>2S</i> )
1	3.73 (1H, dd, $J = 10.3, 5.9$ Hz) 3.58 (1H, dd, $J = 10.3, 3.6$ Hz)	1	3.71 (1H, dd, $J = 10, 7$ Hz) 3.56 (1H, dd, $J = 10, 4$ Hz)	3.86 (1H, dd, $J = 10, 3$ Hz) 3.35 (1H, dd, $J = 10, 8$ Hz)
2	3.65 (1H, m)	2	3.94 (1H, dqd, $J = 7, 7, 4$ Hz)	3.95 (1H, dd, $J = 8, 7, 2$ Hz)
3	1.55 (1H, m) 1.44 (1H, dqd, $J = 13.9, 7.5, 7.4$ Hz)	3	1.15 (3H, d, $J = 7$ Hz)	1.13 (3H, dd, $J = 7$ Hz)
4	0.95 (3H, dd, $J = 7.5, 7.5$ Hz)			
Glc1'	4.28 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)	Glc1'	4.28 (1H, d, $J = 8$ Hz)	4.27 (1H, d, $J = 7$ Hz)
2'	3.21 (1H, dd, $J = 9.3, 7.9$ Hz)	2'	3.21 (1H, dd, $J = 9, 8$ Hz)	3.21 (1H, dd, $J = 8, 7$ Hz)
3'	3.36 (1H, m)	3'	3.34 (1H, dd, $J = 9, 7$ Hz)	3.34 (1H, dd, $J = 8, 8$ Hz)
4'	3.36 (1H, m)	4'	3.29 (1H, dd, $J = 7, 7$ Hz)	3.29 (1H, dd, $J = 8, 8$ Hz)
5'	3.49 (1H, m)	5'	3.29 (1H, ddd, $J = 7, 5, 2$ Hz)	3.29 (1H, ddd, $J = 8, 5, 2$ Hz)
6'	4.60 (1H, dd, $J = 11.9, 2.2$ Hz) 4.24 (1H, dd, $J = 11.9, 5.7$ Hz)	6'	3.86 (1H, dd, $J = 12, 2$ Hz) 3.66 (1H, dd, $J = 12, 5$ Hz)	3.86 (1H, dd, $J = 12, 2$ Hz) 3.66 (1H, dd, $J = 12, 5$ Hz)
1''	-			
2''	-			
3''	3.93 (1H, q, $J = 6.5$ Hz)			
4''	1.18 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)			
5''	1.74 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz) 1.55 (1H, m)			
6''	0.88 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)			

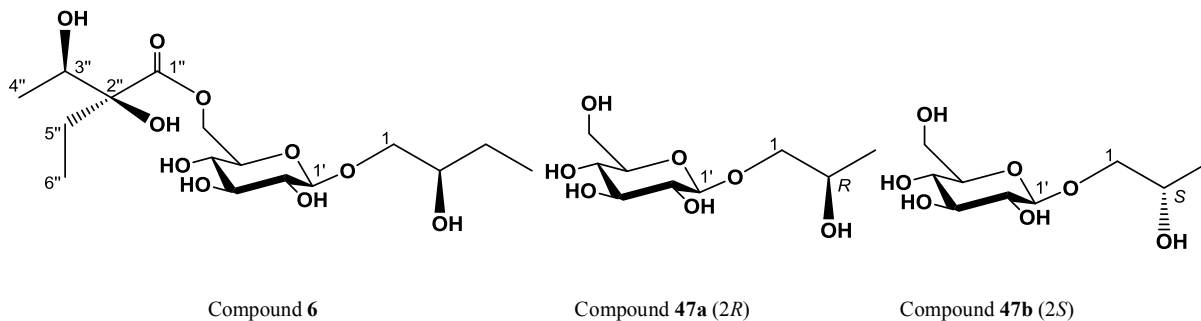


Fig. 18 Structures of Compound **6**, Compound **47a** (*2R*) and Compound **47b** (*2S*)<sup>11)</sup>



Fig. 19  $^{13}\text{C}$  NMR data for (*2R, 3R*)- and *meso*-2,3-butanediol (Compound **48a** and **48b**)

Compound 8、compound 9 及び compound 10 の分子式は、HR-ESI-MS より全て同じ  $C_{19}H_{26}O_{11}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 9, 10, 11) における 19 本のシグナルのうち、12 本は compound 1-7 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 8、compound 9 及び compound 10 は compound 1-7 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。

残る 7 本のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、compound 8 では、そのうち 2 本はメチル炭素、1 本はメチン炭素に由来するシグナルであり、そのメチン炭素は酸素原子に結合した炭素であると考えられた。また  $^1H$  NMR (Table 9) において、2 個のメチル基に相当するシグナル 1.22 ppm (3H, d,  $J=6.4$  Hz) 及び 0.93 ppm (3H, t,  $J=6.4$  Hz) のうち前者はダブルレット、後者はトリプレットに分裂していた。これらの条件をもとに検討したところ、compound 8 のアグリコン部の構造は 2,5-heptanediol であると推測した。さらに、2D-NMR スペクトル (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も推測した各部分構造を支持するものであり (Fig. 15)、さらに、アグリコン部の 2 位と glucopyranose のアノマー位との間に HMBC 相関が観測されたことから、compound 8 の平面構造は 2,5-heptanediol の 2 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

Compound 9 におけるアグリコン部に由来する 7 本のシグナルについても、compound 8 と同様、そのうち 2 本はメチル炭素、1 本はメチン炭素に由来するシグナルであり、そのメチン炭素は酸素原子に結合した炭素であると考えられた。さらに  $^1H$  NMR (Table 10) における 2 個のメチル基に相当するシグナル 1.15 ppm (3H, d,  $J=6.2$  Hz) 及び 0.90 ppm (3H, t,  $J=7.6$  Hz) についても、前者はダブルレット、後者はトリプレットに分裂していた。これらの条件をもとに検討したところ、compound 9 のアグリコン部の構造は compound 8 と同様 2,5-heptanediol であると推測した。さらに、2D-NMR スペクトル (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も推測した各部分構造を支持するものであり (Fig. 16)、加えて、アグリコン部の 5 位と glucopyranose のアノマー位との間に HMBC 相関が観測されたことから、compound 9 の平面構造は 2,5-heptanediol の 5 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

Compound 8 及び compound 9 のアグリコンの立体配置について検討するため、compound 8 を  $CH_3ONa$  によるアルカリ加水分解して 2,5-dihydroxyheptane 2-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (Compound 8a) を得、さらにそれを酵素加水分解することでアグリコンである 2,5-dihydroxyheptane (Compound 8c) を得た。その  $^{13}C$  NMR におけるケミカルシフトと compound 8 及び compound 9 のそれと比較し、glucosylation-induced shift-trend rule を適用した結果、compound 8 は 2*R*、compound 9 は 5*R* であると決定した。

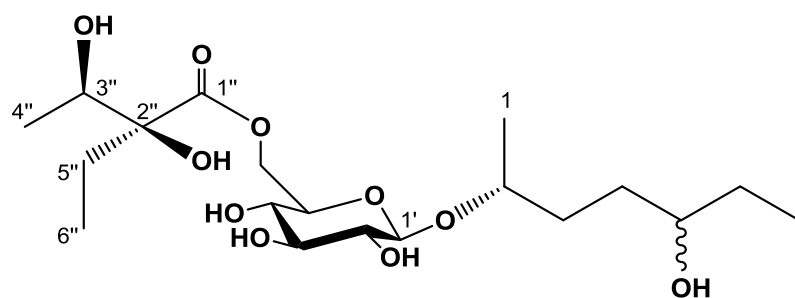
Compound 10 におけるアグリコン部に由来する 7 本のシグナルについても、compound 8 と同様、そのうち 2 本はメチル炭素、1 本はメチン炭素に由来するシグナルであり、そのメチン炭素は酸素原子に結合した炭素であると考えられた。しかしながら  $^1H$  NMR (Table 11) における 2 個のメチ

ル基に相当するシグナル 1.21 ppm (3H, d,  $J = 6.2$  Hz) 及び 1.15 ppm (3H, d,  $J = 6.2$  Hz) は共にダブルレットに分裂していた。これらの条件をもとに検討したところ、compound **10** のアグリコン部の構造は 2,6-heptanediol であると推測した。さらに、2D-NMR スペクトル (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も推測した各部分構造を支持するものであり (Fig. 16)、加えて、アグリコン部の 2 位と glucopyranose のアノマー位との間に HMBC 相関が観測されたことから、compound **10** の平面構造は 2,5-heptanediol の 5 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

Compound **10** のアグリコンの立体配置については、2-hexanol (Compound **49**) の  $^{13}\text{C}$  NMR におけるケミカルシフトと compound **10** のそれと比較し、glucosylation-induced shift-trend rule を適用した結果、compound **10** は 2*S* であると決定した。

一方、compound **8**、compound **9** 及び compound **10** のアシル構造部分の絶対立体配置については  $^{13}\text{C}$ 、 $^1\text{H}$  両 NMR スペクトルが compound **1-7** のそれとよく一致することから、同じ絶対立体配置であると決定した。

以上より、compound **8** の構造を Fig. 18、compound **9** の構造を Fig. 20、compound **10** の構造を Fig. 22 のように決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{25} -17.8$  ( $c = 0.36$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3373, 2968,  
 2934, 1736, 1457, 1378, 1241,  
 1170, 1077, 1041  
 HR-ESI-MS (positive)  
 $m/z$ : 447.2198  $[M+Na]^+$   
 (calcd for  $C_{19}H_{36}O_{10}Na$ :  
 447.2201)

Fig. 20 Structure and Physical data of Compound **8**

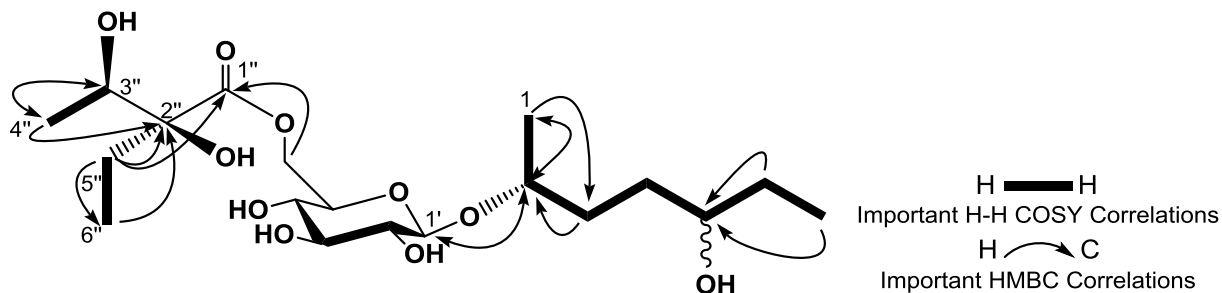


Fig. 21 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **8**

Table 9  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **8**  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	22.2 (-1.4)*	<i>q</i>	1.22 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
2	78.0 (+9.3)*	<i>d</i>	3.79 (1H, m)
3	33.7 (-0.4)*	<i>t</i>	1.48 (2H, m)
4	33.2	<i>t</i>	1.71 (1H, m) 1.50 (1H, m)
5	73.8	<i>t</i>	3.47 (1H, m)
6	31.1	<i>t</i>	1.51 (1H, m) 1.45 (1H, m)
7	10.3	<i>q</i>	0.93 (3H, t, $J = 6.4$ Hz)
Glc 1'	104.2	<i>d</i>	4.34 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)
2'	75.1	<i>d</i>	3.15 (1H, dd, $J = 9.2, 7.9$ Hz)
3'	77.9	<i>d</i>	3.34 (1H, m)
4'	71.6	<i>d</i>	3.34 (1H, m)
5'	75.3	<i>d</i>	3.47 (1H, m)
6'	65.3	<i>t</i>	4.71 (1H, dd, $J = 11.8, 2.2$ Hz) 4.21 (1H, dd, $J = 11.8, 5.4$ Hz)
1''	176.1	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.8	<i>d</i>	3.92 (1H, q, $J = 6.4$ Hz)
4''	16.8	<i>q</i>	1.17 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5''	29.2	<i>t</i>	1.75 (1H, m) 1.50 (1H, m)
6''	8.4	<i>q</i>	0.88 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

\* :  $\Delta\delta_{\text{B-8C}}$ , m: multiplet or overlapped signals

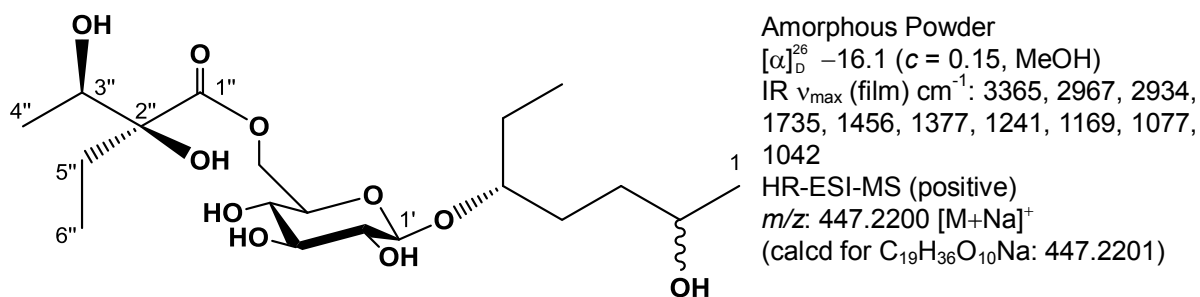


Fig. 22 Structure and Physical data of Compound 9

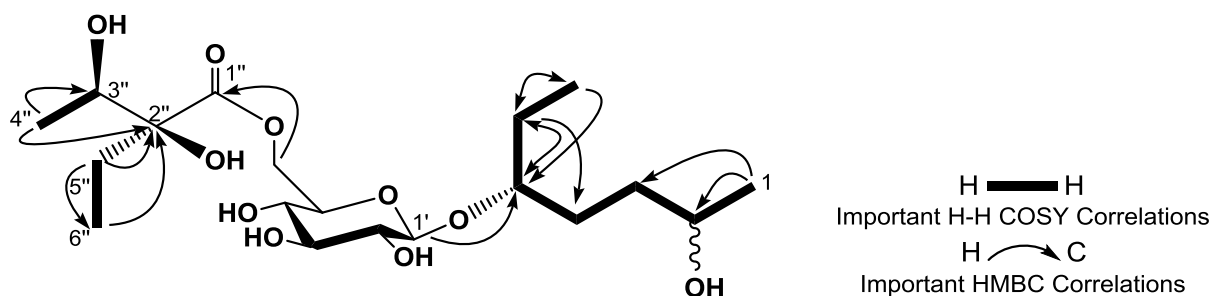


Fig. 23 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 9

Table 10  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 9  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	23.6	<i>q</i>	1.15 (3H, <i>d</i> , $J = 6.2$ Hz)
2	68.7	<i>d</i>	3.74 (1H, <i>m</i> )
3	35.3	<i>t</i>	1.54 (2H, <i>m</i> )
4	30.6 (-0.2)*	<i>t</i>	1.67 (1H, <i>m</i> )
			1.55 (1H, <i>m</i> )
5	82.4 (+8.4)*	<i>t</i>	3.60 (1H, <i>m</i> )
6	28.7 (-2.4)*	<i>t</i>	1.60 (2H, <i>m</i> )
7	10.2	<i>q</i>	0.90 (3H, <i>t</i> , $J = 7.6$ Hz)
Glc 1'	103.9	<i>d</i>	4.32 (1H, <i>d</i> , $J = 7.8$ Hz)
2'	75.2	<i>d</i>	3.17 (1H, <i>dd</i> , $J = 9.3, 7.8$ Hz)
3'	78.0	<i>d</i>	3.36 (1H, <i>m</i> )
4'	71.6	<i>d</i>	3.36 (1H, <i>m</i> )
5'	75.4	<i>d</i>	3.44 (1H, <i>ddd</i> , $J = 9.3, 5.3, 2.2$ Hz)
6'	65.4	<i>t</i>	4.61 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.7, 2.2$ Hz)
			4.19 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.7, 5.3$ Hz)
1''	176.2	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.9	<i>d</i>	3.92 (1H, <i>q</i> , $J = 6.5$ Hz)
4''	16.9	<i>q</i>	1.18 (3H, <i>d</i> , $J = 6.5$ Hz)
5''	29.3	<i>t</i>	1.73 (1H, <i>dq</i> , $J = 13.8, 7.4$ Hz)
			1.56 (1H, <i>m</i> )
6''	8.5	<i>q</i>	0.88 (3H, <i>dd</i> , $J = 7.4, 7.4$ Hz)

\*:  $\Delta\delta_{9-8\text{C}}$ , *m*: multiplet or overlapped signals



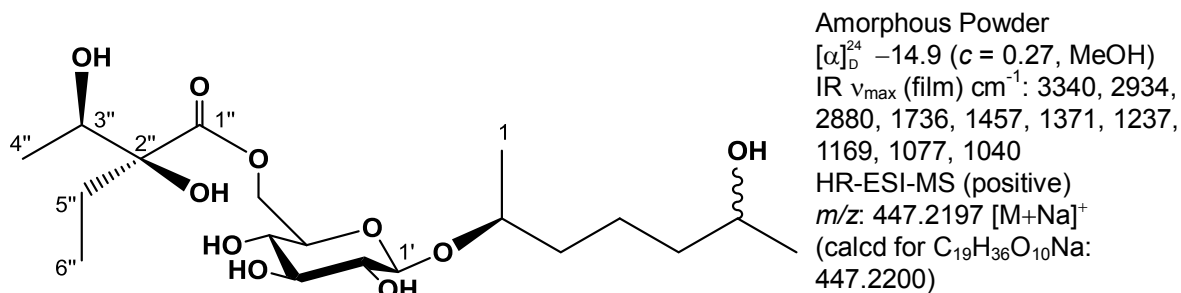


Fig. 24 Structure and Physical data of Compound **10**

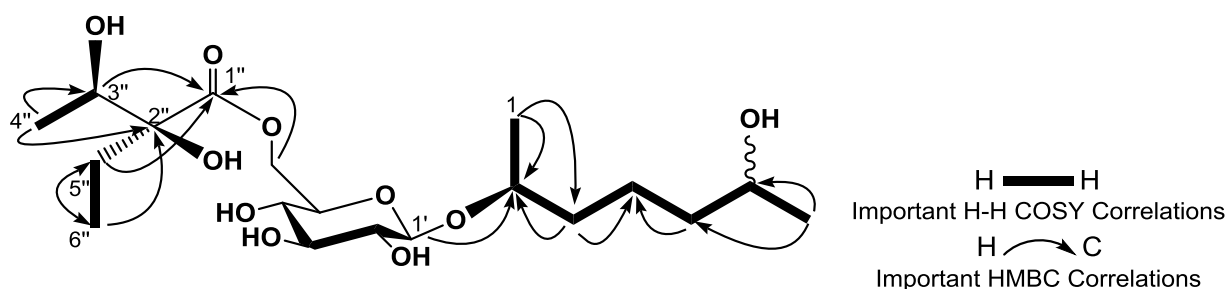


Fig. 25 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **10**

Table 11  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **10**  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

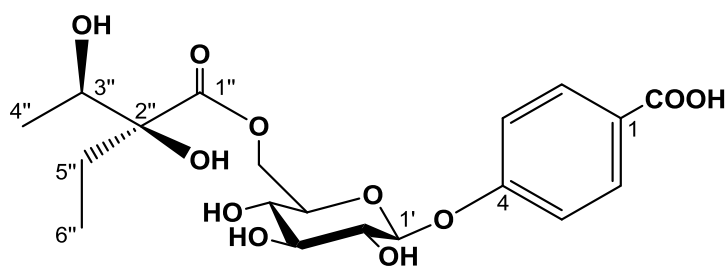
Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	22.2 (-1.2)*	<i>q</i>	1.21 (3H, d, $J = 6.2$ Hz)
2	78.0 (+9.9)*	<i>d</i>	3.74 (1H, m)
3	37.9 (-2.0)*	<i>t</i>	1.62 (1H, m)
			1.46 (1H, m)
4	22.7	<i>t</i>	1.46 (2H, m)
5	40.2	<i>t</i>	1.46 (2H, m)
6	68.5	<i>d</i>	3.74 (1H, m)
7	23.5	<i>q</i>	1.15 (3H, d, $J = 6.2$ Hz)
Glc 1'	104.3	<i>d</i>	4.28 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)
2'	75.1	<i>d</i>	3.15 (1H, dd, $J = 9.0, 7.7$ Hz)
3'	77.9	<i>d</i>	3.34 (1H, m)
4'	71.6	<i>d</i>	3.34 (1H, m)
5'	75.4	<i>d</i>	3.46 (1H, ddd, $J = 9.5, 5.5, 2.2$ Hz)
6'	65.3	<i>t</i>	4.61 (1H, dd, $J = 11.7, 2.2$ Hz)
			4.20 (1H, dd, $J = 11.7, 5.5$ Hz)
1''	176.1	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.8	<i>d</i>	3.92 (1H, q, $J = 6.5$ Hz)
4''	16.8	<i>q</i>	1.17 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)
5''	29.2	<i>t</i>	1.74 (1H, m)
			1.54 (1H, m)
6''	8.4	<i>q</i>	0.88 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

\* :  $\Delta\delta_{10-49}$ , m: multiplet or overlapped signals

Compound 11 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{19}H_{26}O_{11}$  である決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 12) より、炭素のシグナルは 19 本であり、そのうち 12 本は compound 1-10 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 11 は compound 1-10 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。残る 7 本のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、そのうち 2 本はメチン炭素、4 本が水素が結合しない炭素に由来するシグナルであり、このうち 169.6 ppm のシグナルはカルボキシル基の存在を示唆した。また、残る 6 本の炭素は対称性のある芳香環構造を形成していると考えられ、このことと、 $^1H$  NMR (Table 12) において 7.98 ppm (2H, d,  $J=8.7$  Hz) 及び 7.14 ppm (2H, d,  $J=8.7$  Hz) にシグナルが存在することから、compound 11 のアグリコン部の構造は 1, 4 置換の芳香環を持つと決定し、これらの条件をもとに検討したところ、compound 11 のアグリコン部の構造は *p*-hydroxybenzoic acid であると推測した。このことは  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR の化学シフトが、*p*-hydroxybenzoic acid の 4 位に glucopyranose の 1 位が結合した構造である 4-hydroxybenzoate glucoside<sup>13)</sup>のそれとよく一致したことから支持された。さらに、2D-NMR (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も、Fig. 27 に示すように推測した構造を支持するものであったことから、compound 11 の平面構造は *p*-hydroxybenzoic acid の 4 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

アシル構造部分の絶対立体配置については、アシル構造部分の  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルが後述の compound 12 のそれとよく一致することから、同じ絶対立体配置であると決定した。

以上より、compound 11 の構造を Fig. 26 のように決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{24} -59.8$  ( $c = 0.92$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3380, 2934, 1730, 1705, 1606, 1511, 1454, 1239, 1073, 1016  
 HR-ESI-MS (positive)  
 $m/z$ : 453.1367  $[M+Na]^+$   
 (calcd for  $C_{19}H_{26}O_{11}Na$ : 453.1367)  
 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ):  
 245 (4.10), 209 (3.90)

Fig. 26 Structure and Physical data of Compound **11**

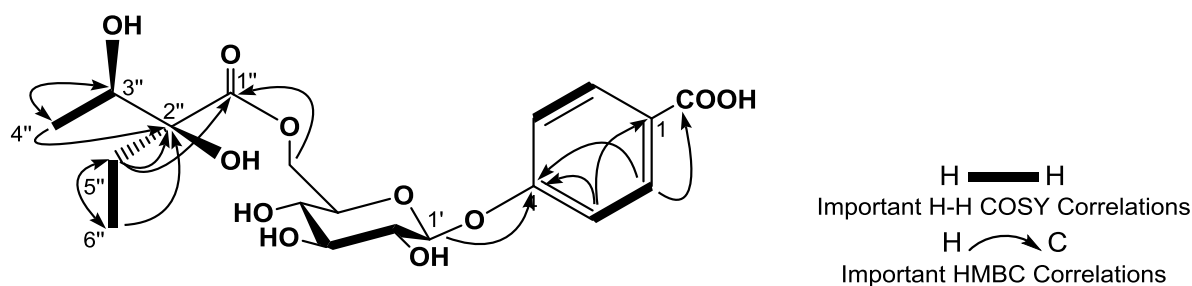


Fig. 27 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **11**

Table 12  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **11**  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	125.9	s	-
2 & 6	132.7	d	7.98 (2H, d, $J = 8.7$ Hz)
3 & 5	117.4	d	7.14 (2H, d, $J = 8.7$ Hz)
4	162.7	s	-
COOH	169.6	s	-
Glc 1'	101.6	d	5.03 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)
2'	74.8	d	3.50 (1H, m)
3'	77.8	d	3.50 (1H, m)
4'	71.5	d	3.42 (1H, m)
5'	75.6	d	3.72 (1H, ddd, $J = 9.5, 6.3, 2.1$ Hz)
6'	65.4	t	4.65 (1H, dd, $J = 11.9, 2.1$ Hz) 4.21 (1H, dd, $J = 11.9, 6.3$ Hz)
1''	176.2	s	-
2''	82.9	s	-
3''	72.9	d	3.89 (1H, q, $J = 6.4$ Hz)
4''	16.9	q	1.15 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5''	29.3	t	1.73 (1H, dq, $J = 14.8, 7.4$ Hz) 1.55 (1H, dq, $J = 14.8, 7.4$ Hz)
6''	8.4	q	0.84 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

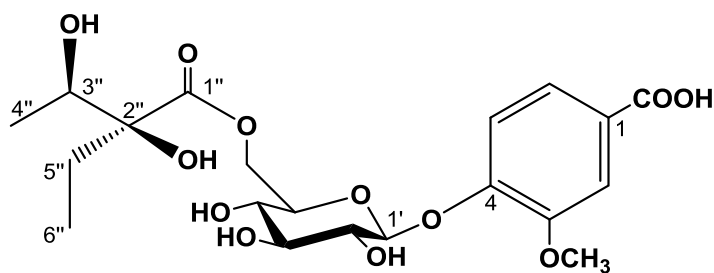
m: multiplet or overlapped signals

Compound 12 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{20}H_{28}O_{12}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 13) より、炭素のシグナルは 20 本であり、そのうち 12 本は compound 1-11 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 12 は compound 1-11 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。残る 8 本のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、これらを compound 11 のアグリコン部のシグナルと比較したところ、compound 12 は compound 11 と同様に芳香環とカルボキシル基を持つと推測されたが、compound 11 において見られた対称性は失われ、さらに、56.8 ppm の酸素原子に結合したメチル炭素のシグナルが見られた。このことは  $^1H$  NMR (Table 13) における 3.90 ppm (3H, s) のシグナルが存在からも支持された。また、 $^1H$  NMR において 7.625 ppm (1H, s)、7.19 ppm (1H, d,  $J=8.8$  Hz) 及び 7.626 ppm (1H, d,  $J=8.8$  Hz) にシグナルが存在することから、compound 12 のアグリコン部の構造は 1, 3, 4 置換の芳香環を持つと決定した。これらの条件をもとに検討したところ、compound 12 のアグリコン部の構造は compound 11 の 3 位にメトキシ基が結合した構造であると推測した。このことは  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR の化学シフトが、推定した compound 12 のアグリコン部の 4 位に glucopyranose の 1 位が結合した構造である vanillic acid 4-*O*- $\beta$ -D-glucoside<sup>14)</sup>のそれとよく一致したことから支持された。さらに 2D-NMR (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も、Fig. 29 に示すように推測した構造を支持するものであったことから、compound 12 の平面構造は vanillic acid の 4 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

一方、compound 13 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{21}H_{30}O_{12}$  であると決定した。 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトル (Table 14) において compound 13 は compound 12 のそれらとよく一致したが、 $^{13}C$  NMR においては 52.6 ppm に酸素原子に結合したメチル炭素のシグナル、 $^1H$  NMR においては 3.89 ppm (3H, s) のシグナルが新たに見られた。これらの条件をもとに検討したところ、compound 13 のアグリコン部の構造は compound 12 のメチルエステルであると決定した。

Compound 12 及び compound 13 のアシル構造部分の絶対立体配置については、compound 12 を  $CH_3ONa$  によりアルカリ加水分解を行い、vanillic acid 4-*O*- $\beta$ -D-glucoside (Compound 12a) 及び (2*S*,3*R*)-2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid methyl ester (Compound 12b) を得、このうち、compound 12b について、compound 1 を同様にアルカリ加水分解して得られたアシル構造部分のメチルエステル体 (Compound 1b) と  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルを比較し、同一化合物である事を確認した。Compound 13 についてはアシル構造部分の  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルにおけるケミカルシフトが compound 12 とそれとよく一致することから、同じ絶対立体配置であると決定した。

以上より、compound 12 及び compound 13 の構造を Fig. 28、30 のようにそれぞれ決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{24}$   $-50.6$  ( $c = 1.20$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3410, 2978, 1735, 1706, 1602, 1513, 1462, 1270, 1073, 1022  
 HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 483.1474  
 $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{20}H_{28}O_{12}Na$ ): 483.1472  
 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ): 285 (3.58), 250 (4.00), 214 (4.15)

Fig. 28 Structure and Physical data of Compound 12

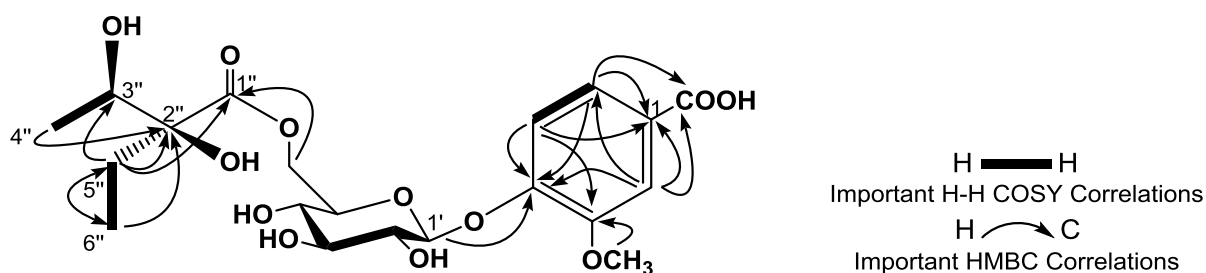
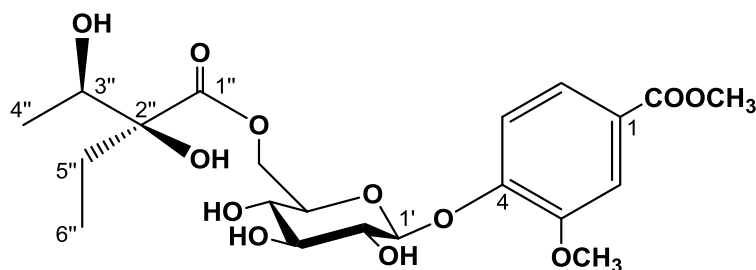


Fig. 29 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 12

Table 13  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 12  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	126.4	<i>s</i>	-
2	114.7	<i>d</i>	7.625 (1H, <i>s</i> )
3	150.7	<i>s</i>	-
4	151.8	<i>s</i>	-
5	117.0	<i>d</i>	7.19 (1H, <i>d</i> , $J = 8.8$ Hz)
6	124.7	<i>d</i>	7.626 (1H, <i>d</i> , $J = 8.8$ Hz)
COOH	169.5	<i>s</i>	-
OCH <sub>3</sub>	56.8	<i>q</i>	3.90 (3H, <i>s</i> )
Glc 1'	104.9	<i>d</i>	5.03 (1H, <i>d</i> , $J = 7.3$ Hz)
2'	75.2	<i>d</i>	3.53 (1H, <i>m</i> )
3'	77.8	<i>d</i>	3.51 (1H, <i>m</i> )
4'	71.3	<i>d</i>	3.42 (1H, <i>m</i> )
5'	75.2	<i>d</i>	3.69 (1H, <i>ddd</i> , $J = 9.7, 6.4, 2.1$ Hz)
6'	65.1	<i>t</i>	4.64 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.9, 2.1$ Hz) 4.19 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.9, 6.4$ Hz)
1''	176.1	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.8	<i>d</i>	3.87 (1H, <i>q</i> , $J = 6.4$ Hz)
4''	16.8	<i>q</i>	1.14 (3H, <i>d</i> , $J = 6.4$ Hz)
5''	29.2	<i>t</i>	1.70 (1H, <i>dq</i> , $J = 14.6, 7.4$ Hz) 1.53 (1H, <i>dq</i> , $J = 14.6, 7.4$ Hz)
6''	8.4	<i>q</i>	0.82 (3H, <i>dd</i> , $J = 7.4, 7.4$ Hz)

*m*: multiplet or overlapped signals



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{23}$   $-31.6$  ( $c = 0.67$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3392, 2938, 1733, 1716, 1512, 1458, 1274, 1115, 1073, 1028

HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 497.1630

$[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{21}H_{30}O_{12}Na$ :

497.1630) UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ):

335 (2.75), 287 (3.60), 248 (3.80),

220 (3.84)

Fig. 30 Structure and Physical data of Compound 13

Table 14  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 13

$^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

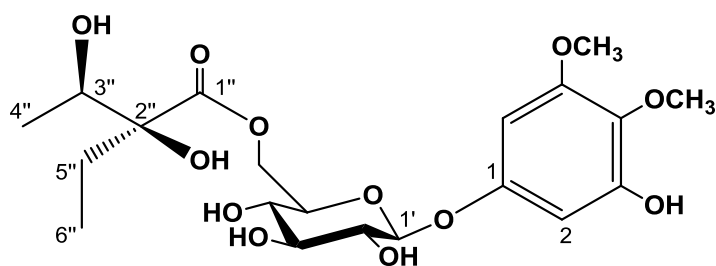
Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	125.8	<i>s</i>	-
2	114.5	<i>d</i>	7.61 (1H, <i>s</i> )
3	150.8	<i>s</i>	-
4	152.0	<i>s</i>	-
5	117.1	<i>d</i>	7.20 (1H, <i>d</i> , $J = 8.6$ Hz)
6	124.4	<i>d</i>	7.62 (1H, <i>d</i> , $J = 8.6$ Hz)
COOCH <sub>3</sub>	168.3	<i>s</i>	-
OCH <sub>3</sub>	56.9	<i>q</i>	3.90 (3H, <i>s</i> )
COOCH <sub>3</sub>	52.6	<i>q</i>	3.89 (3H, <i>s</i> )
Glc 1'	101.9	<i>d</i>	5.03 (1H, <i>d</i> , $J = 7.3$ Hz)
2'	74.8	<i>d</i>	3.50 (1H, <i>m</i> )
3'	77.7	<i>d</i>	3.50 (1H, <i>m</i> )
4'	71.5	<i>d</i>	3.41 (1H, <i>m</i> )
5'	75.6	<i>d</i>	3.69 (1H, <i>ddd</i> , $J = 9.5, 5.2, 2.2$ Hz)
6'	65.3	<i>t</i>	4.62 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.9, 2.2$ Hz)
			4.19 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.9, 5.2$ Hz)
1''	176.2	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.8	<i>d</i>	3.87 (1H, <i>m</i> )
4''	16.8	<i>q</i>	1.13 (3H, <i>d</i> , $J = 6.6$ Hz)
5''	29.3	<i>t</i>	1.71 (1H, <i>dq</i> , $J = 13.7, 7.4$ Hz)
			1.53 (1H, <i>dq</i> , $J = 13.7, 7.4$ Hz)
6''	8.4	<i>q</i>	0.82 (3H, <i>dd</i> , $J = 7.4, 7.4$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

Compound 14 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{20}H_{30}O_{12}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 15) における 20 本のシグナルのうち、12 本は compound 1-13 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 14 は compound 1-13 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。残る 8 本のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、そのうち 6 本は芳香環を形成し、残る 2 本のシグナル 61.1 ppm と 56.5 ppm は酸素原子に結合したメチル炭素の存在を示唆した。このことは  $^1H$  NMR (Table 15) において 3.73 ppm (3H, s) 及び 3.80 ppm (3H, s) のシグナルが存在することからも支持された。さらに芳香環を形成する 6 本の炭素のうち 155.6 ppm、151.9 ppm、133.6 ppm、154.8 ppm の 4 本のシグナルからは水素が結合しておらず、かつ、酸素原子に結合している炭素の存在が示唆された。また、 $^1H$  NMR において 6.32 ppm (1H, d,  $J=2.7$  Hz)、6.27 ppm (1H, d,  $J=2.7$  Hz) の芳香環領域のシグナルが存在することから compound 14 のアグリコン部の構造は 1,3,4,5 置換の芳香環を持つと決定した。これらの条件と共に非対称性であることを考慮してその構造を検討したところ、compound 14 のアグリコン部の構造は Fig. 31 に示すような構造であると推測した。このことは  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR における化学シフトが、推定した compound 14 のアグリコン部の 1 位に glucopyranose の 1 位が結合した構造である ficuglucoside<sup>15)</sup>のそれとよく一致したことから支持された。2D-NMR (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も Fig. 32 に示すように推測した構造を支持するものであったことから、compound 14 の平面構造は ficuglucoside を構成する glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

アシル構造部分の絶対立体配置についてはアシル構造部分の  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルにおけるケミカルシフトが compound 11-13 のそれとよく一致することから、同じ絶対立体配置であると決定した。

以上より、compound 14 の構造を Fig. 31 のように決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{25} -96.7$  ( $c = 0.18$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3393, 2939, 1736, 1508, 1457, 1231, 1170, 1102, 1075, 1017  
 HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 485.1633  
 $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{20}H_{30}O_{12}Na$ ): 485.1629  
 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ): 275 (3.18), 216 (3.79)

Fig. 31 Structure and Physical data of Compound **14**

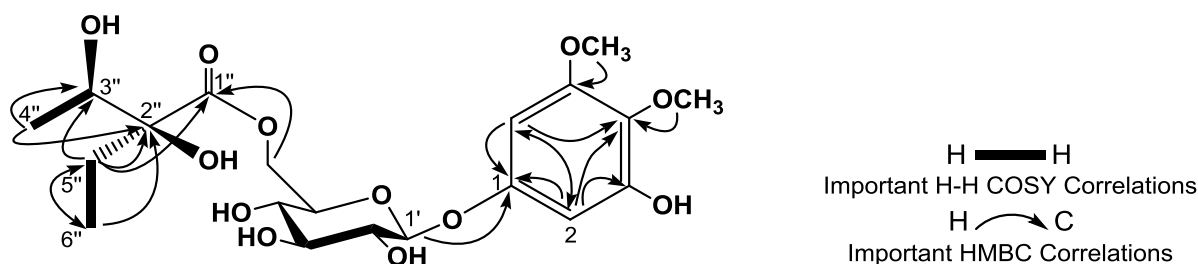


Fig. 32 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **14**

Table 15  $^{13}C$  and  $^1H$  NMR data for Compound **14**  
 $^{13}C$  and  $^1H$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $CD_3OD$ )

Position	$^{13}C$		$^1H$
1	155.6	s	-
2	99.1	d	6.32 (1H, d, $J = 2.7$ Hz)
3	151.9	s	-
4	133.6	s	-
5	154.8	s	-
6	95.8	d	6.27 (1H, d, $J = 2.7$ Hz)
4-OCH <sub>3</sub>	61.1	q	3.73 (3H, s)
5-OCH <sub>3</sub>	56.5	q	3.80 (3H, s)
Glc 1'	103.0	d	4.77 (1H, d, $J = 7.5$ Hz)
2'	74.9	d	3.43 (1H, m)
3'	77.8	d	3.43 (1H, m)
4'	71.6	d	3.39 (1H, m)
5'	75.5	d	3.62 (1H, ddd, $J = 9.5, 6.2, 2.2$ Hz)
6'	65.4	t	4.64 (1H, dd, $J = 11.9, 2.2$ Hz) 4.21 (1H, dd, $J = 11.9, 6.2$ Hz)
1''	176.2	s	-
2''	83.0	s	-
3''	72.8	d	3.95 (1H, q, $J = 6.4$ Hz)
4''	16.8	q	1.16 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5''	29.3	t	1.75 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz) 1.52 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz)
6''	8.3	q	0.84 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals



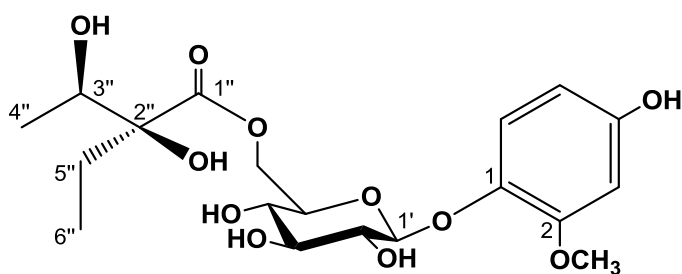
## 第 10 項 新規化合物 Compound 15 の構造

---

Compound 15 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{19}H_{28}O_{11}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 16) における 19 本のシグナルのうち、12 本は compound 1-14 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 15 は compound 1-14 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。残る 7 本のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、そのうち 6 本は芳香環を形成し、残る 1 本のシグナル 56.6 ppm は酸素原子に結合したメチル炭素の存在を示唆した。この事は  $^1H$  NMR (Table 16) において 3.80 ppm (3H, s) のシグナルが存在することも支持された。さらに芳香環を形成する 6 本のシグナルのうち 140.7 ppm、152.5 ppm、155.2 ppm の 3 本のシグナルからは水素原子が結合しておらず、かつ、酸素原子に結合している炭素の存在は示唆された。また、 $^1H$  NMR において 6.46 ppm (1H, d,  $J=2.7$  Hz)、6.28 ppm (1H, dd,  $J=8.6, 2.7$  Hz) 及び 6.96 ppm (1H, d,  $J=8.6$  Hz) の芳香環領域のシグナルが存在することから compound 15 のアグリコン部の構造は 1、2、4 置換の芳香環を持つと決定した。これらの条件をもとに検討したところ、compound 15 のアグリコン部の構造は Fig. 33 に示すような構造であると推測した。このことは  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR の化学シフトが、推定した compound 15 のアグリコン部の 1 位に glucopyranose の 1 位が結合した構造である isotachioside<sup>16)</sup>のそれとよく一致したことから支持された。さらに、2D-NMR (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も、Fig. 34 に示すように推測した構造を支持するものであったことから、compound 15 の平面構造は isotachioside を構成する glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

アシル構造部分の絶対立体配置についてはアシル構造部分の  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルにおけるケミカルシフトが compound 11-14 のそれとよく一致することから、同じ絶対立体配置であると決定した。

以上より、compound 15 の構造を Fig. 33 のように決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{25} -11.5$  ( $c = 0.16$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3362, 2938, 1736, 1512, 1457, 1233, 1213, 1167, 1072, 1025  
 HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 455.1524  
 $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{19}H_{28}O_{11}Na$ ): 455.1523  
 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ): 279 (3.30), 213 (3.71)

Fig. 33 Structure and Physical data of Compound 15

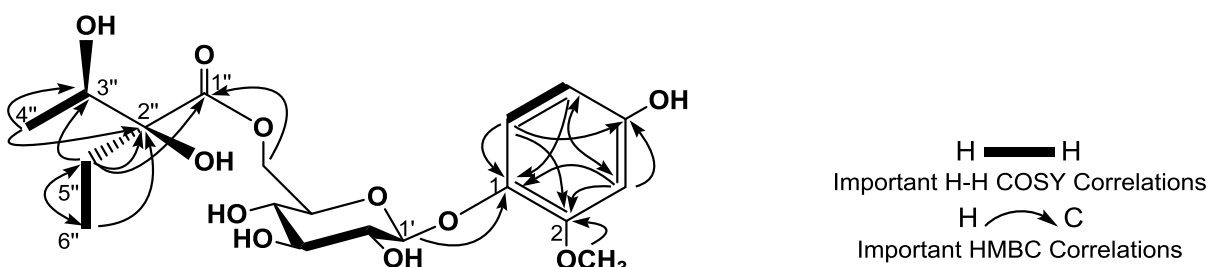


Fig. 34 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 15

Table 16  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 15  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	140.7	s	-
2	152.5	s	-
3	102.0	d	6.46 (1H, d, $J = 2.7$ Hz)
4	155.2	s	-
5	107.6	d	6.28 (1H, dd, $J = 8.6, 2.7$ Hz)
6	121.4	d	6.96 (1H, d, $J = 8.6$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56.6	q	3.80 (3H, s)
Glc 1'	104.3	d	4.67 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)
2'	75.1	d	3.44 (1H, m)
3'	77.7	d	3.44 (1H, m)
4'	71.6	d	3.40 (1H, m)
5'	75.5	d	3.50 (1H, ddd, $J = 9.5, 6.2, 2.2$ Hz)
6'	65.3	t	4.63 (1H, dd, $J = 11.8, 2.2$ Hz) 4.15 (1H, dd, $J = 11.8, 6.2$ Hz)
1''	176.1	s	-
2''	82.9	s	-
3''	72.8	d	3.88 (1H, q, $J = 6.5$ Hz)
4''	16.8	q	1.15 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)
5''	29.2	t	1.66 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz) 1.50 (1H, dq, $J = 13.9, 7.4$ Hz)
6''	8.3	q	0.80 (3H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

## 第 1 1 項 新規化合物 Compound 16 及び Compound 17 の構造

Compound 16 及び compound 17 の分子式は、HR-ESI-MS より共に  $C_{22}H_{34}O_{12}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 17, 18) おけるそれぞれ 22 本ずつのシグナルのうち、12 本は compound 1-15 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 16 及び compound 17 は compound 1-15 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。

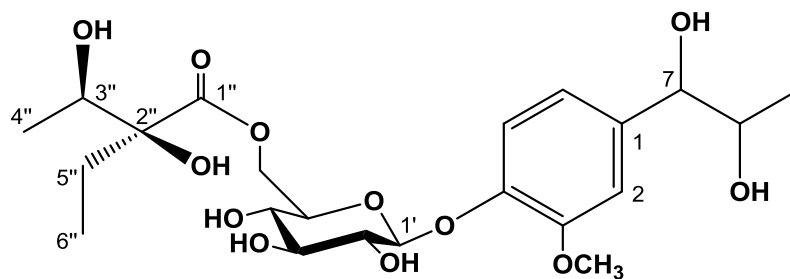
残る 9 本のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、それらはフェニルプロパノイド構造に由来するシグナルであると推測された。Compound 16 においては、フェニルプロパノイド構造の芳香環を形成する 6 本のシグナルのうち 151.0 ppm、147.3 ppm の 2 本は水素原子が結合しておらず、かつ、酸素原子に結合している炭素の存在を示唆した。また、側鎖部分の 3 本の炭素のうち 79.9 ppm と 72.9 ppm の 2 本は酸素原子に結合したメチン炭素のシグナルであった。さらに 56.8 ppm のメチル炭素は酸素原子に結合していると考えられ、この事は  $^1H$  NMR (Table 17) における 3.87 ppm (3H, s) のシグナルからも支持された。また、 $^1H$  NMR において 7.03 ppm (1H, d,  $J = 1.9$  Hz)、7.10 ppm (1H, dd,  $J = 8.3, 0.4$  Hz) 及び 6.87 ppm (1H, ddd,  $J = 8.3, 1.9, 0.4$  Hz) の芳香環領域のシグナルが存在することから、compound 16 のアグリコン部の構造は 1、2、4 置換の芳香環を持つと決定した。これらの条件をもとに検討したところ、compound 16 のアグリコン部の構造は Fig. 35 に示すような構造であると推測した。さらに 2D-NMR (H-H COSY, HMBC) において観測された相関も、Fig. 36 に示すように推測した各部分構造を支持するものであり、加えてアグリコン部の 4 位と glucopyranose のアノマー位との間に HMBC 相関が観測されたことから、compound 16 の平面構造は 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,2-diol の 4 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

一方、compound 17 の  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトル (Table 18) はそれぞれ compound 16 のそれとよく一致したため、同一の平面構造であると決定した。しかしながら、compound 16 と compound 17 は同一のフラクションを高速液体クロマトグラフィーにて精製した際に明らかに異なる保持時間である別々のピークから得られた化合物であることから、compound 17 は compound 16 の立体異性体であると推測した。

Compound 16 及び compound 17 の 7 位及び 8 位の立体については、 $^1H$  NMR における 7 位と 8 位の水素間の結合定数より、その相対配置はどちらも *erythro* であると決定している<sup>17)</sup>。しかしながら現在のところ絶対配置の決定には至っていない。

一方、アシル構造部分の絶対立体配置についてはアシル構造部分の  $^{13}C$ 、 $^1H$  NMR 両スペクトルが compound 11-15 のそれとよく一致することから、同じ絶対立体配置であると決定した。

以上より、compound 16 及び compound 17 の構造をそれぞれ Fig. 35、37 のように決定した。



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{25} -32.1$  ( $c = 0.34$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3366, 2932, 1736, 1512, 1457, 1265, 1241, 1167, 1073, 1038

HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 513.1947  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_{12}\text{Na}$ : 513.1942)

UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 271 (3.35), 224 (3.82)

Fig. 35 Structure and Physical data of Compound **16**

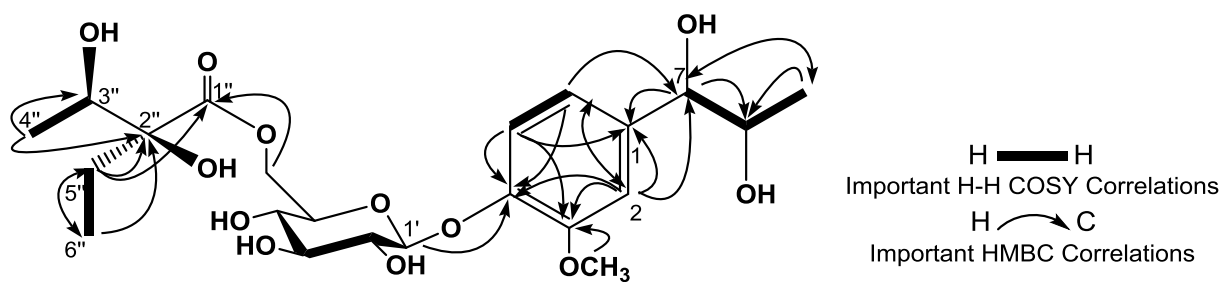
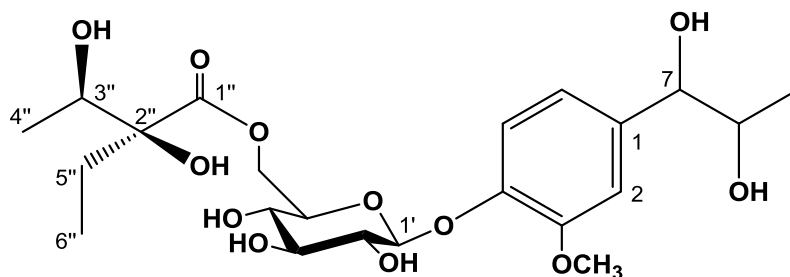


Fig. 36 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **16**

Table 17  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **16**  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	138.7	<i>s</i>	-
2	112.7	<i>d</i>	7.03 (1H, <i>d</i> , $J = 1.9$ Hz)
3	151.0	<i>s</i>	-
4	147.3	<i>s</i>	-
5	118.3	<i>d</i>	7.10 (1H, <i>dd</i> , $J = 8.3, 0.4$ Hz)
6	120.9	<i>d</i>	6.87 (1H, <i>ddd</i> , $J = 8.3, 1.9, 0.4$ Hz)
7	79.9	<i>d</i>	4.31 (1H, <i>d</i> , $J = 6.7$ Hz)
8	72.9	<i>d</i>	3.79 (1H, <i>dq</i> , $J = 6.7, 6.4$ Hz)
9	19.4	<i>q</i>	0.98 (1H, <i>d</i> , $J = 6.4$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56.8	<i>q</i>	3.87 (3H, <i>s</i> )
Glc 1'	104.0	<i>d</i>	4.87 (1H, <i>d</i> , $J = 7.5$ Hz)
2'	75.0	<i>d</i>	3.38-3.50 (1H, <i>m</i> )
3'	77.7	<i>d</i>	3.38-3.50 (1H, <i>m</i> )
4'	71.5	<i>d</i>	3.38-3.50 (1H, <i>m</i> )
5'	75.6	<i>d</i>	3.61 (1H, <i>ddd</i> , $J = 9.5, 5.6, 2.1$ Hz)
6'	65.4	<i>t</i>	4.63 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.9, 2.1$ Hz) 4.18 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.9, 5.6$ Hz)
1''	176.2	<i>s</i>	-
2''	82.9	<i>s</i>	-
3''	72.8	<i>d</i>	3.89 (1H, <i>q</i> , $J = 6.4$ Hz)
4''	16.9	<i>q</i>	1.15 (3H, <i>d</i> , $J = 6.4$ Hz)
5''	29.3	<i>t</i>	1.71 (1H, <i>dq</i> , $J = 14.9, 7.4$ Hz) 1.53 (1H, <i>dq</i> , $J = 14.9, 7.4$ Hz)
6''	8.4	<i>q</i>	0.83 (3H, <i>dd</i> , $J = 7.4, 7.4$ Hz)

*m*: multiplet or overlapped signals



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{26} -49.0$  ( $c = 0.13$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3362, 2933, 1736, 1512, 1457, 1266, 1231, 1165, 1073, 1025

HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 513.1944  $[M+Na]^+$  (calcd for  $C_{22}H_{34}O_{12}Na$ : 513.1942)

UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 273 (3.44), 223 (3.94)

Fig. 37 Structure and Physical data of Compound 17

Table 18  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 17  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	138.7	s	-
2	112.8	d	7.03 (1H, d, $J = 1.9$ Hz)
3	150.9	s	-
4	147.4	s	-
5	118.2	d	7.10 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)
6	120.9	d	6.87 (1H, dd, $J = 8.4, 1.9$ Hz)
7	79.9	d	4.31 (1H, d, $J = 6.9$ Hz)
8	72.9	d	3.79 (1H, dq, $J = 6.9, 6.4$ Hz)
9	19.3	q	0.98 (1H, d, $J = 6.4$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56.8	q	3.87 (3H, s)
Glc 1'	103.0	d	4.87 (1H, d, $J = 7.5$ Hz)
2'	75.0	d	3.48 (1H, m)
3'	77.7	d	3.48 (1H, m)
4'	71.5	d	3.41 (1H, m)
5'	75.6	d	3.61 (1H, ddd, $J = 9.5, 6.1, 2.2$ Hz)
6'	65.4	t	4.62 (1H, dd, $J = 11.8, 2.2$ Hz) 4.18 (1H, dd, $J = 11.8, 6.1$ Hz)
1''	176.2	s	-
2''	82.9	s	-
3''	72.8	d	3.90 (1H, q, $J = 6.4$ Hz)
4''	16.9	q	1.15 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
5''	29.3	t	1.70 (1H, dq, $J = 14.9, 7.5$ Hz) 1.54 (1H, dq, $J = 14.9, 7.5$ Hz)
6''	8.4	q	0.83 (3H, dd, $J = 7.5, 7.5$ Hz)

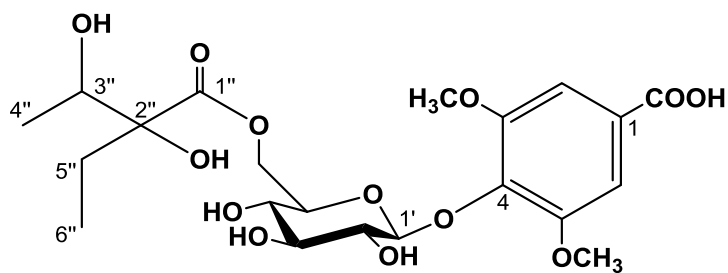
m: multiplet or overlapped signals

## 第 1 2 項 新規化合物 Compound 18 の構造

Compound 18 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{21}H_{30}O_{13}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 19) における 21 本分のシグナルのうち、12 本は compound 1-17 の glucopyranose 及びアシル構造部分に由来するシグナルとよく一致したことから、compound 18 は compound 1-17 と同様に glucopyranose の 6 位に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid が結合している部分構造を持つと推測した。残る 9 本分のシグナルはアグリコン部に由来するシグナルであると考えられ、これらを compound 12 のアグリコン部のシグナルと比較したところ、compound 18 は compound 12 と同様に芳香環とカルボキシル基を持つと推測されたが、compound 12 において失われていた対称性が再び見られ、さらに、57.0 ppm に酸素原子に結合したメチル炭素のシグナルが 2 本分見られた。また、 $^1H$  NMR (Table 19) において 7.35 ppm (2H, s) にシグナルが存在することから、compound 18 のアグリコン部の構造は 1, 3, 4, 5 置換の芳香環を持つと決定した。加えて 3.88 ppm (6H, s) のシグナルが存在することから酸素原子に結合したメチル基が 2 個存在することが示唆された。これらの条件をもとに検討したところ、compound 18 のアグリコン部の構造は compound 12 の 5 位にメトキシ基が結合した構造であると推測し、その 4 位に glucopyranose が結合した構造である glucosyringic acid<sup>18)</sup>と比較したところ、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルともよく一致した。さらに 2D-NMR (H-H COSY, HMBC) において観測された相関も、Fig. 39 に示すように推測した構造を支持するものであったことから、compound 18 の平面構造は syringic acid の 4 位の水酸基に glucopyranose の 1 位が結合し、glucopyranose の 6 位の水酸基に 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の 1 位が結合したものであると決定した。

Compound 18 のアシル構造部分の絶対立体配置については  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルが compound 1-17 とよく類似しているものの、 $^1H$  NMR においてそのケミカルシフトに差が見られた。特に compound 18 における 5''位の 2 個の水素 1.45 (1H, dq,  $J = 12.4, 7.4$  Hz) 及び 1.38 (1H, dq,  $J = 12.4, 7.4$  Hz) の間の geminal coupling のカップリング定数は 12.4 Hz であるのに対し、compound 1-17 のそれは 14~15 Hz であることから、compound 18 における 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid は compound 1-17 におけるそれらと互いにジアステレオマーの関係であると推測している。しかしながら現時点では絶対立体配置の決定には至っていない。

以上より、compound 18 の構造を Fig. 38 のように決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{23} +3.42$  ( $c = 0.41$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3400, 2935, 1733, 1712, 1458, 1381, 1233, 1124, 1069, 1018  
 HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 513.1585  
 $[M+Na]^+$   
 (calcd for  $C_{21}H_{30}O_{13}Na$ : 513.1578)  
 UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ):  
 257 (3.79), 213 (4.19)

Fig. 38 Structure and Physical data of Compound **18**

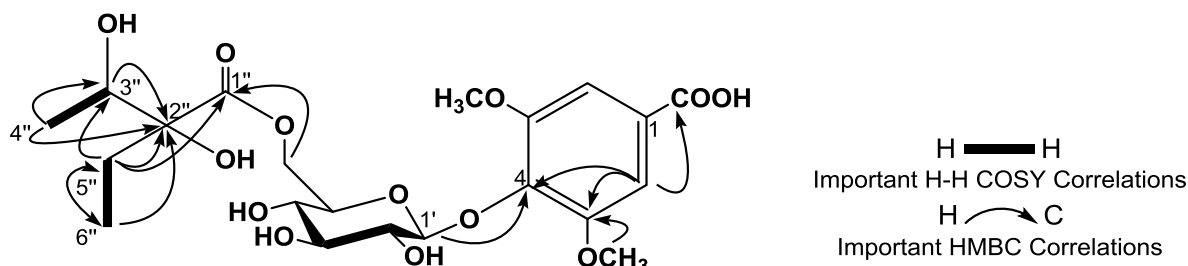


Fig. 39 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **18**

Table 19  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **18**  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

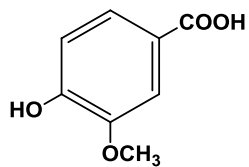
Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	128.0	<i>s</i>	-
2 & 6	108.6	<i>d</i>	7.35 (2H, <i>s</i> )
3 & 5	154.5	<i>s</i>	-
4	139.8	<i>s</i>	-
COOH	169.3	<i>s</i>	-
$\text{OCH}_3 \times 2$	57.0	<i>q</i>	3.88 (3H, <i>s</i> )
Glc 1'	104.1	<i>d</i>	5.03 (1H, <i>d</i> , $J = 7.7$ Hz)
2'	75.7	<i>d</i>	3.52 (1H, <i>dd</i> , $J = 8.8, 7.7$ Hz)
3'	77.7	<i>d</i>	3.40 (1H, <i>m</i> )
4'	71.7	<i>d</i>	3.40 (1H, <i>m</i> )
5'	75.6	<i>d</i>	3.40 (1H, <i>m</i> )
6'	65.2	<i>t</i>	4.57 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.6, 1.5$ Hz) 4.09 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.6, 6.0$ Hz)
1''	175.9	<i>s</i>	-
2''	82.7	<i>s</i>	-
3''	72.7	<i>d</i>	3.74 (1H, <i>q</i> , $J = 6.4$ Hz)
4''	16.7	<i>q</i>	1.09 (3H, <i>d</i> , $J = 6.4$ Hz)
5''	29.1	<i>t</i>	1.45 (1H, <i>dq</i> , $J = 12.4, 7.4$ Hz) 1.38 (1H, <i>dq</i> , $J = 12.4, 7.4$ Hz)
6''	8.2	<i>q</i>	0.68 (3H, <i>dd</i> , $J = 7.4, 7.4$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

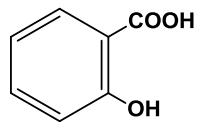


## 第2節 既知化合物について

成分探索の過程でニシキギ科植物モクレイシ材部の1-ブタノール可溶画分より2種の既知化合物 compounds **19**, **20** (Fig. 40) を単離した。



Compound **19**



Compound **20**

Fig. 40 Structures of Compounds **19**, **20**

NMR スペクトルを文献値と比較することにより、compound **19** は vanillic acid<sup>14)</sup>、であると同定した。また、標品の NMR スペクトルデータとの比較により、compound **20** は salicylic acid であると同定した。

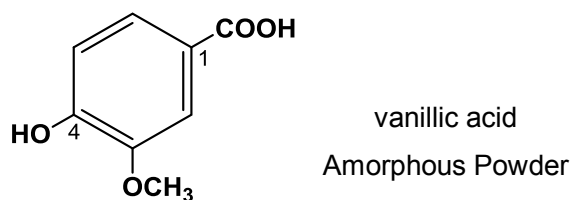


Fig. 41 Structure and Physical data of Compound **19**

Table 20 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound **19**  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (100 MHz and 400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	123.2	s	-
2	113.9	d	7.557 (1H, s)
3	148.7	s	-
4	152.6	s	-
5	115.9	d	6.84 (1H, d, <i>J</i> = 9.0 Hz)
6	125.3	d	7.560 (1H, d, <i>J</i> = 9.0 Hz)
COOH	170.0	s	-
OCH <sub>3</sub>	56.5	q	3.89 (3H, s)

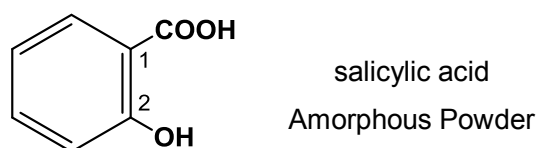


Fig. 42 Structure and Physical data of Compound **20**

Table 21 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound **20**  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (100 MHz and 400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	n.d.	s	-
2	162.6	s	-
3	117.1	d	6.75-6.80 (1H, m)
4	133.9	d	6.75-6.80 (1H, m)
5	119.0	d	7.27 (1H, ddd, <i>J</i> = 8.9, 7.4, 1.8 Hz)
6	131.6	d	7.84 (1H, dd, <i>J</i> = 8.9, 1.8 Hz)
COOH	n.d.	s	-

第1節 新規化合物について

成分検索の過程でニシキギ科植物モクレイシ材部の酢酸エチル可溶画分より、1種の新規化合物 **compound 21** (Fig. 43) を単離し、その化学構造を詳細に検討することとした。

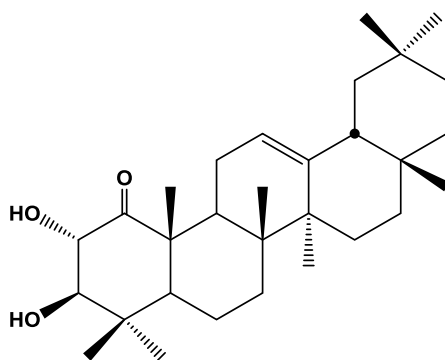


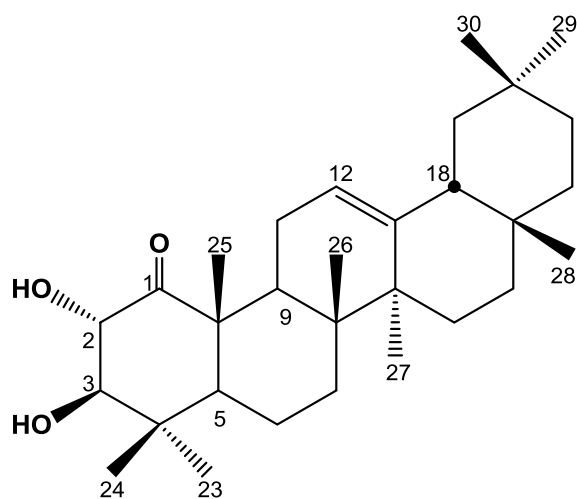
Fig. 43 The Structure of Compound **21**

Compound 21 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{30}H_{48}O_3$  であると決定した。炭素数が 30 である事から compound 21 は triterpene であると推測され、さらに、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトル (Table 22) において、8 本分のシングレットメチル基の存在が示唆された事から、oleanane 型 triterpene であると推測した。加えて、 $^{13}C$  NMR における 122.3 ppm 及び 144.5 ppm のシグナルから一組の二重結合、212.4 ppm の水素原子が結合しない炭素のシグナルから 1 つのカルボニル基、74.0 ppm 及び 85.2 ppm のメチン炭素の存在から 2 つの 2 級水酸基の存在が示唆された。

より詳細な検討のため、2D-NMR (H-H COSY、HMBC) を測定したところ、Fig. 45 に示すように相関が見られた事から、compound 21 の平面構造は、後に述べる compound 22 (Castanopsone) の 2 位に水酸基が結合した構造であると決定した。

2 位及び 3 位の水酸基の絶対立体配置については、2 位の水素 4.56 ppm (1H, d,  $J = 10.0$  Hz) 及び 3 位の水素 2.98 ppm (1H, d,  $J = 10.0$  Hz) のカップリング定数が 10.0 Hz であることから、両水素は ax 配置であり、したがって、2 位及び 3 位の水酸基は共に eq 配置、すなわち、 $2\alpha$ -OH 及び  $2\beta$ -OH であると決定した。

以上より、compound 21 は Fig. 44 に示すような構造であると決定した。



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{24} +98.0$  ( $c = 0.90$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3364, 2925, 1716, 1699, 1654, 1508, 1457, 1362, 1102, 756

HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 479.3492  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3\text{Na}$ : 479.3496)

Fig. 44 Structure and Physical data of Compound **21**

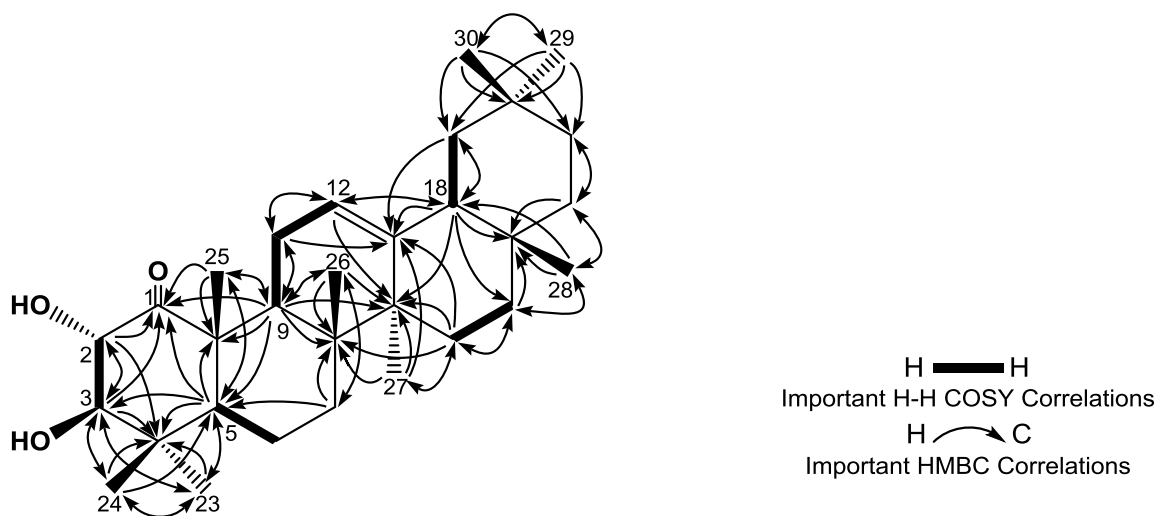


Fig. 45 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **21**

Table 22 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound 21  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	212.4	<i>s</i>	-
2	74.0	<i>d</i>	4.56 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 10.0 Hz)
3	85.2	<i>d</i>	2.98 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 10.0 Hz)
4	38.7	<i>s</i>	-
5	54.7	<i>d</i>	0.94 (1H, <i>m</i> )
6	17.61	<i>t</i>	1.69 (1H, <i>m</i> ) 1.61 (1H, <i>m</i> )
7	32.4	<i>t</i>	1.48 (1H, <i>m</i> ) 1.39 (1H, <i>m</i> )
8	39.7	<i>s</i>	-
9	39.3	<i>d</i>	2.35 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11.1, 5.6 Hz)
10	51.7	<i>s</i>	-
11	25.1	<i>t</i>	2.31 (1H, <i>m</i> ) 1.86 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 17.8, 11.1, 2.8 Hz)
12	121.9	<i>d</i>	5.21 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 3.5, 2.8 Hz)
13	144.5	<i>s</i>	-
14	42.0	<i>s</i>	-
15	26.1	<i>t</i>	1.77 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 13.6, 13.6, 4.6 Hz) 0.97 (1H, <i>m</i> )
16	26.9	<i>t</i>	2.00 (1H, <i>m</i> ) 0.81 (1H, <i>m</i> )
17	32.6	<i>s</i>	-
18	47.7	<i>d</i>	1.96 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15.6, 3.5 Hz)
19	46.5	<i>t</i>	1.67 (1H, <i>m</i> ) 1.09 (1H, <i>m</i> )
20	31.1	<i>s</i>	-
21	34.8	<i>t</i>	1.34 (1H, <i>m</i> ) 1.11 (1H, <i>m</i> )
22	37.1	<i>t</i>	1.43 (1H, <i>m</i> ) 1.23 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 13.7, 3.2, 3.1 Hz)
23	17.1	<i>q</i>	1.09 (3H, <i>s</i> )
24	28.7	<i>q</i>	1.08 (3H, <i>s</i> )
25	15.3	<i>q</i>	1.36 (3H, <i>s</i> )
26	17.60	<i>q</i>	1.05 (3H, <i>s</i> )
27	25.6	<i>q</i>	1.17 (3H, <i>s</i> )
28	28.4	<i>q</i>	0.83 (3H, <i>s</i> )
29	33.3	<i>q</i>	0.89 (3H, <i>s</i> )
30	23.7	<i>q</i>	0.88 (3H, <i>s</i> )

*m*: multiplet or overlapped signals

## 第2節 既知化合物について

成分探索の過程でニシギ科植物モクレイシ材部の酢酸エチル可溶画分より5種の既知化合物 compound 22-26 (Fig. 46) を単離した。

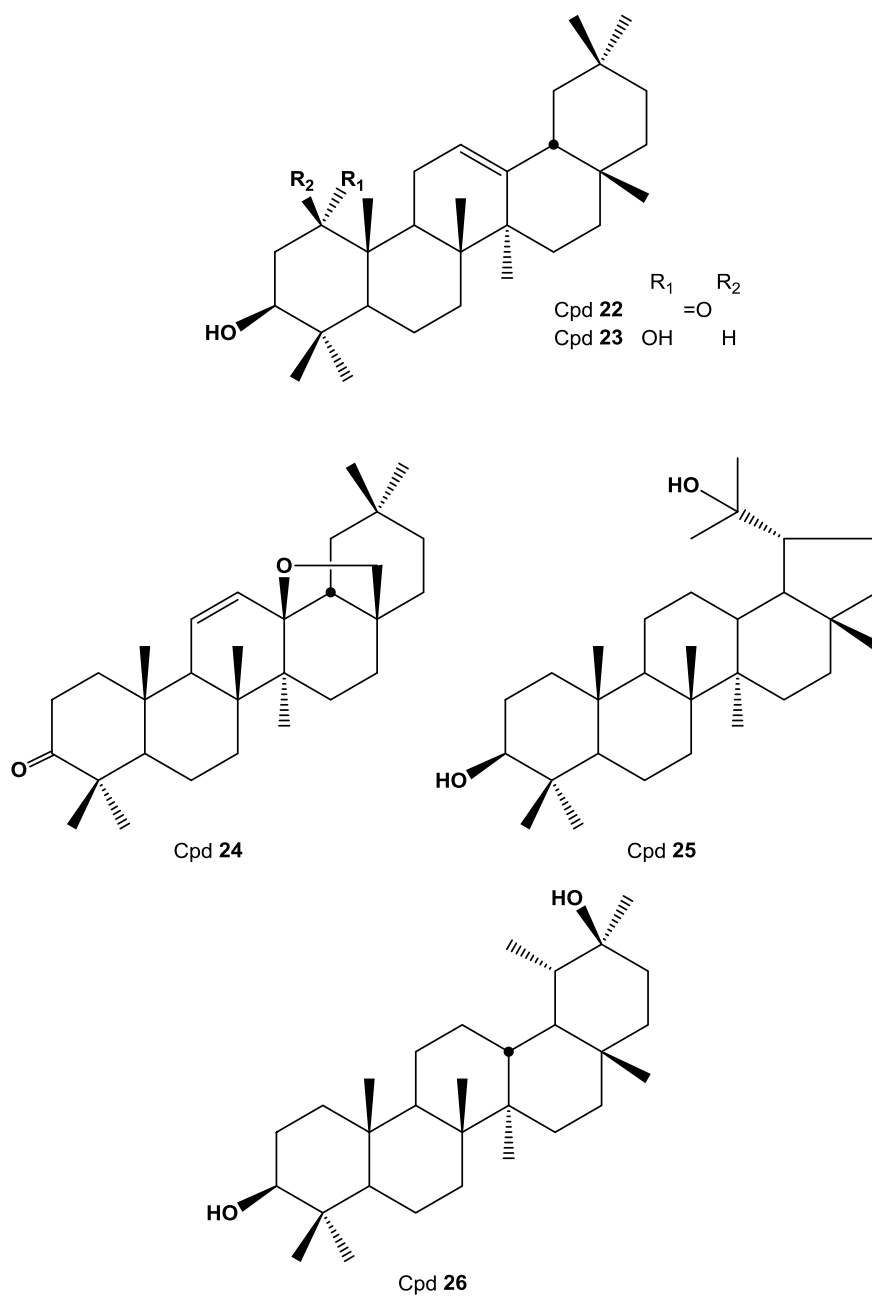


Fig. 46 Structures of Compounds 22-26

NMR スペクトルを文献値と比較することにより、compound **22** は castanopsone<sup>20)</sup>であると同定した。なお、castanopsone は 1D NMR のケミカルシフトがすでに報告されているが<sup>21)</sup>、compound **22** のケミカルシフトと比較したところ、特に E 環部分の値にずれがある事から、2D NMR による再検討、HR-ESI-MS による分子式の確認、及び、共通する部分構造を持つ 2 種の化合物 (Compounds **50**, **51**) とのケミカルシフトの比較を行った<sup>21, 22)</sup>。その結果、すでに報告されている castanopsone の 1D NMR のケミカルシフトは訂正すべきであると考えている。

また、1D、2D NMR スペクトルの解析により、compound **23** は castanopsol<sup>20)</sup>であると同定した。Castanopsol の NMR におけるケミカルシフトの報告は本論文が初報告である。一方、compound **24** については文献値との比較により、13,28-epoxy-11-oleanene-3-one<sup>21)</sup>であると同定した。

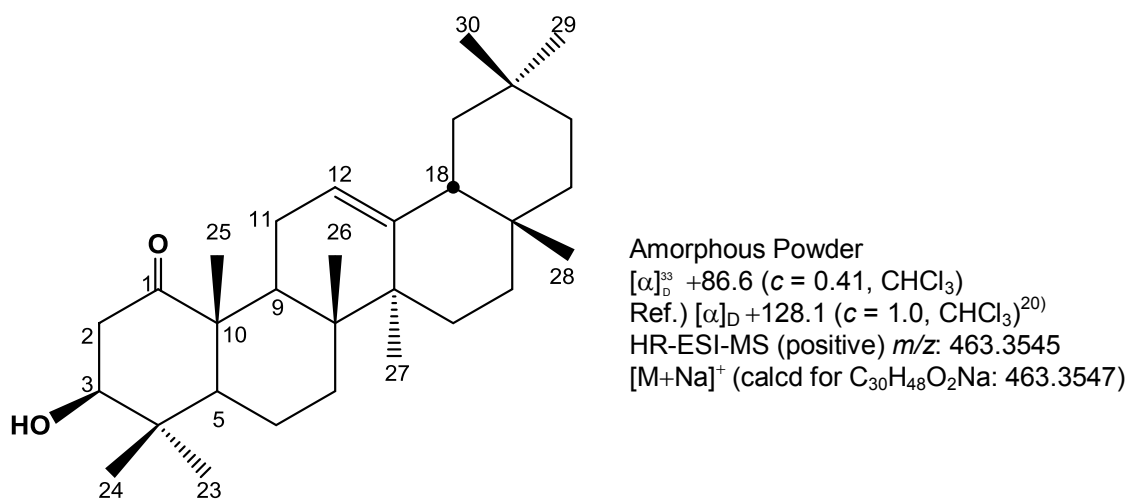


Fig. 47 Structure and Physical data of Compound **22**

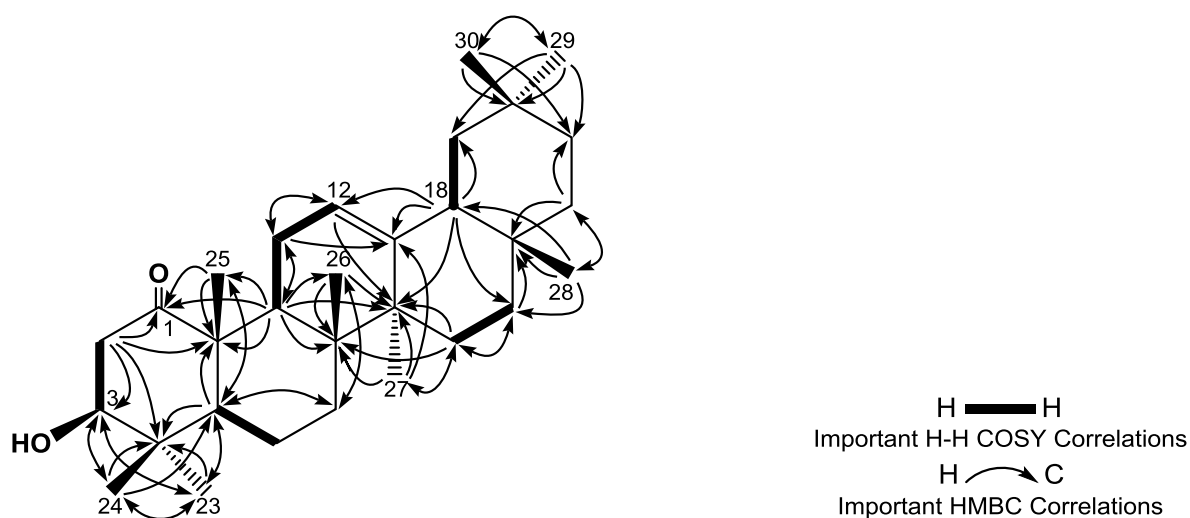


Fig. 48 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **22**



Table 23 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound 22  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	212.3	s	-
2	44.1	t	3.04 (1H, dd, <i>J</i> = 12.1, 12.1 Hz) 2.38 (1H, dd, <i>J</i> = 12.1, 4.9 Hz)
3	78.7	d	3.50 (1H, dd, <i>J</i> = 12.1, 4.9 Hz)
4	39.3	s	-
5	54.0	d	0.91 (1H, dd, <i>J</i> = 11.7, 1.9 Hz)
6	17.8	t	1.66 (1H, m) 1.57 (1H, m)
7	32.6	t	1.46 (1H, ddd, <i>J</i> = 13.6, 12.8, 3.8 Hz) 1.37 (1H, ddd, <i>J</i> = 13.6, 3.4, 3.0 Hz)
8	39.7	s	-
9	39.2	d	2.23 (1H, dd, <i>J</i> = 11.3, 5.5 Hz)
10	52.4	s	-
11	25.3	t	2.33 (1H, ddd ( <i>J</i> = 18.1, 5.5, 4.9 Hz) 1.63 (1H, ddd, <i>J</i> = 18.1, 11.3, 2.8 Hz)
12	122.3	d	5.19 (1H, dd, <i>J</i> = 4.9, 2.8 Hz)
13	144.1	s	-
14	42.0	s	-
15	26.2	t	1.77 (1H, ddd, <i>J</i> = 13.6, 13.4, 4.9 Hz) 0.96 (1H, ddd, <i>J</i> = 13.4, 4.5, 2.6 Hz)
16	27.0	t	2.00 (1H, ddd, <i>J</i> = 13.6, 12.5, 4.5 Hz) 0.86 (1H, ddd, <i>J</i> = 12.5, 4.9, 2.6 Hz)
17	32.6	s	-
18	47.4	d	1.95 (1H, dd, <i>J</i> = 14.4, 3.8 Hz)
19	46.5	t	1.67 (1H, m) 1.07 (1H, m)
20	31.1	s	-
21	34.8	t	1.34 (1H, m) 1.10 (1H, m)
22	37.1	t	1.43 (1H, ddd, <i>J</i> = 14.0, 13.6, 4.0 Hz) 1.22 (1H, ddd, <i>J</i> = 13.6, 3.4, 3.0 Hz)
23	16.0	q	1.04 (3H, s)
24	28.5	q	1.06 (3H, s)
25	15.0	q	1.32 (3H, s)
26	17.6	q	1.04 (3H, s)
27	25.8	q	1.17 (3H, s)
28	28.4	q	0.83 (3H, s)
29	33.3	q	0.88 (3H, s)
30	23.7	q	0.87 (3H, s)

m: multiplet or overlapped signals

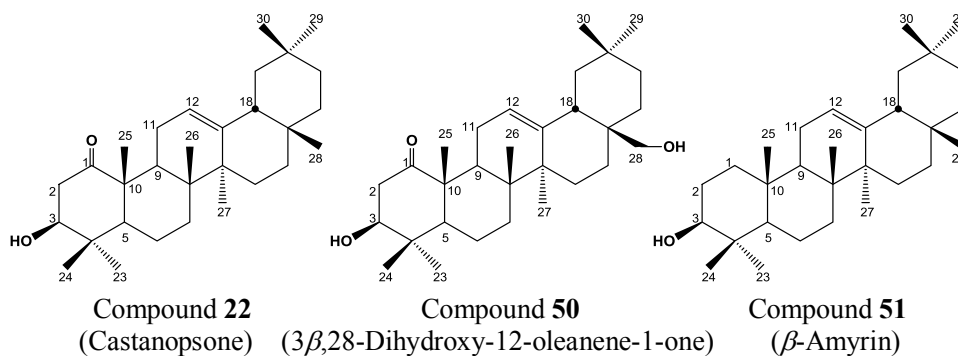


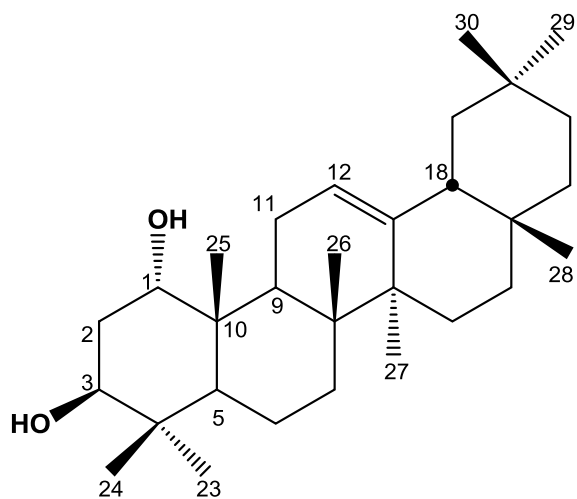
Fig. 49 Structures of Compound **22**, Compound **50** and Compound **51**

Table 24  $^{13}\text{C}$  NMR data for Compound **22**, Castanopsonone<sup>21)</sup>, Compound **50**<sup>21)</sup> and Compound **51**<sup>22)</sup>

$^{13}\text{C}$  NMR (<sup>a</sup>)150 MHz or <sup>b</sup>)100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

Position	Compound <b>22</b> <sup>a)</sup>	Castanopsonone <sup>b)</sup>	Compound <b>50</b> <sup>b)</sup>	Compound <b>51</b> <sup>b)</sup>
1	212.3	211.7	212.4	38.7
2	44.1	45.8	44.1	27.3
3	78.7	78.0	78.6	79.0
4	39.3	38.7	39.3	38.8
5	54.0	53.4	54.0	55.3
6	17.8	17.2	17.8	18.5
7	32.6	32.0	32.5	32.8
8	39.7	41.3	42.0	38.8
9	39.2	38.5	39.1	47.7
10	52.4	51.7	52.3	37.6
11	25.3	25.2	25.3	23.6
12	122.3	121.1	123.0	121.8
13	144.1	143.5	143.2	145.1
14	42.0	39.1	39.7	41.8
15	26.2	25.5	25.5	26.2
16	27.0	23.1	22.0	27.0
17	32.6	36.5	37.0	32.5
18	47.4	43.5	42.5	47.4
19	46.5	46.8	46.1	46.9
20	31.1	27.9	30.9	31.1
21	34.8	34.2	34.1	34.8
22	37.1	30.5	31.0	37.2
23	28.5	15.4*	16.0**	28.2
24	16.0	27.8*	28.5**	15.5
25	15.0	14.4	15.0	15.0
26	17.6	17.0	17.5	17.5
27	25.8	26.3	25.5	25.5
28	28.4	23.1	69.8	28.4
29	33.3	32.7	33.7	33.7
30	23.7	24.7	23.6	23.7

\*, \*\*: exchangeable



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{32} +139$  ( $c = 0.61$ ,  $\text{CHCl}_3$ )  
 Ref.)  $[\alpha]_D +71.8$  ( $c = 0.8$ ,  $\text{CHCl}_3$ )<sup>20)</sup>

Fig. 50 Structure and Physical data of Compound 23

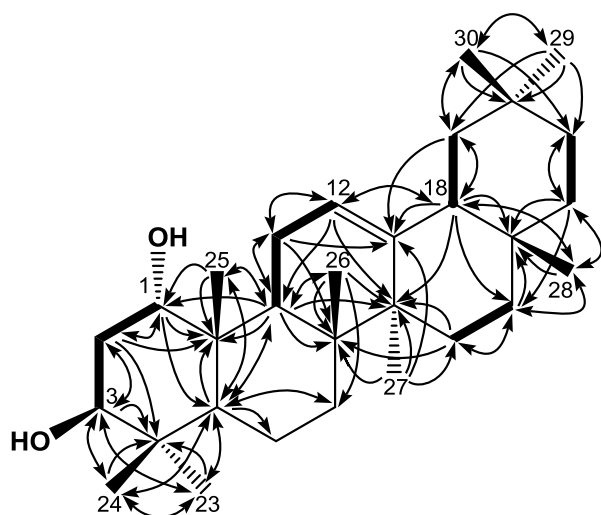
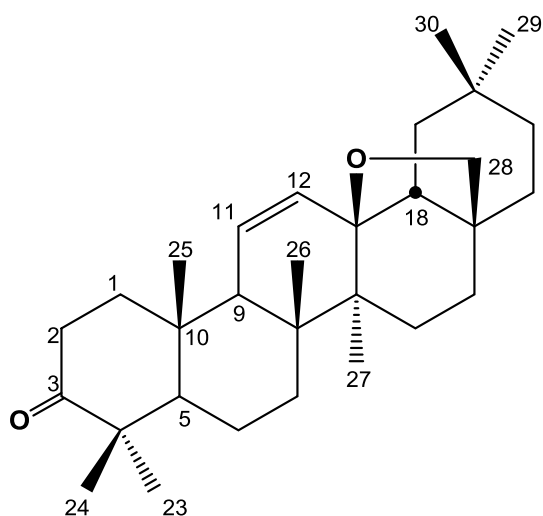


Fig. 51 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 23



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{31} +78.0$  ( $c = 0.28$ ,  $\text{CHCl}_3$ )  
 Ref.)  $[\alpha]_D +106$  ( $c = 0.20$ ,  $\text{CHCl}_3$ )<sup>21)</sup>

Fig. 52 Structure and Physical data of Compound 24

Table 25 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound 23  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	71.3	<i>d</i>	3.57 (1H, dd, <i>J</i> = 3.4, 2.6 Hz)
2	33.2	<i>t</i>	1.87 (1H, m) 1.70 (1H, dd, <i>J</i> = 14.0, 4.3, 3.4 Hz)
3	72.4	<i>d</i>	3.64 (1H, dd, <i>J</i> = 12.1, 4.3 Hz)
4	37.8	<i>s</i>	-
5	46.7	<i>d</i>	1.14 (1H, m)
6	17.1	<i>t</i>	1.52 (1H, m) 1.40 (1H, m)
7	31.0	<i>t</i>	1.43 (1H, m) 1.25 (1H, m)
8	38.6	<i>s</i>	-
9	37.0	<i>d</i>	2.20 (1H, dd, <i>J</i> = 11.7, 6.0 Hz)
10	52.4	<i>s</i>	-
11	22.2	<i>t</i>	1.89 (1H, m) 1.74 (1H, m)
12	120.2	<i>d</i>	5.11 (1H, t-like, <i>J</i> = 3.8 Hz)
13	144.5	<i>s</i>	-
14	41.1	<i>s</i>	-
15	25.2	<i>t</i>	1.70 (1H, m) 0.91 (1H, m)
16	25.9	<i>t</i>	1.92 (1H, m) 0.74 (1H, m)
17	31.4	<i>s</i>	-
18	46.2	<i>d</i>	1.89 (1H, m)
19	45.8	<i>t</i>	1.59 (1H, t-like, <i>J</i> = 13.9 Hz) 0.96 (1H, m)
20	30.0	<i>s</i>	-
21	33.7	<i>t</i>	1.26 (1H, m) 1.03 (1H, ddd, <i>J</i> = 12.6, 3.5, 3.0 Hz)
22	36.1	<i>t</i>	1.36 (1H, ddd, <i>J</i> = 14.0, 14.0, 3.5 Hz) 1.15 (1H, m)
23	26.9	<i>q</i>	0.96 (3H, s)
24	14.3	<i>q</i>	0.74 (3H, s)
25	15.2	<i>q</i>	0.89 (3H, s)
26	15.8	<i>q</i>	0.92 (3H, s)
27	25.0	<i>q</i>	1.10 (3H, s)
28	27.4	<i>q</i>	0.76 (3H, s)
29	32.3	<i>q</i>	0.80 (3H, s)
30	22.7	<i>q</i>	0.80 (3H, s)

m: multiplet or overlapped signals

Table 26  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 24  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	39.0	<i>t</i>	2.07 (1H, ddd, $J = 13.1, 7.4, 3.6$ Hz) 1.38 (1H, m)
2	34.0	<i>t</i>	2.60 (1H, ddd, $J = 15.8, 11.0, 7.4$ Hz) 2.41 (1H, ddd, $J = 15.8, 6.8, 3.6$ Hz)
3	217.3	<i>s</i>	-
4	47.6	<i>s</i>	-
5	54.7	<i>d</i>	1.31 (1H, m)
6	18.9	<i>t</i>	1.68 (1H, m) 1.51 (1H, m)
7	30.7	<i>t</i>	1.44 (1H, m) 1.28 (1H, m)
8	41.5	<i>s</i>	-
9	52.6	<i>d</i>	1.93 (1H, br s)
10	51.7	<i>s</i>	-
11	131.6	<i>d</i>	5.84 (1H, br d, $J = 10.5$ Hz)
12	131.4	<i>d</i>	5.42 (1H, dd, $J = 10.5, 3.2$ Hz)
13	84.7	<i>s</i>	-
14	43.8	<i>s</i>	-
15	25.3	<i>t</i>	1.80 (1H, ddd, $J = 12.8, 12.7, 5.8$ Hz) 1.01 (1H, m)
16	25.6	<i>t</i>	2.03 (1H, ddd, $J = 12.7, 12.6, 5.2$ Hz) 1.11 (1H, m)
17	41.5	<i>s</i>	-
18	51.1	<i>d</i>	1.66 (1H, m)
19	37.1	<i>t</i>	1.74 (1H, dd, $J = 13.0, 13.0$ Hz) 1.28 (1H, m)
20	31.7	<i>s</i>	-
21	34.9	<i>t</i>	1.38 (1H, m) 1.21 (1H, m)
22	30.8	<i>t</i>	1.44 (2H, m)
23	26.1	<i>q</i>	1.09 (3H, s)
24	20.8	<i>q</i>	1.04 (3H, s)
25	17.2	<i>q</i>	1.03 (3H, s)
26	17.6	<i>q</i>	1.05 (3H, s)
27	19.3	<i>q</i>	0.95 (3H, s)
28	77.0	<i>t</i>	3.72 (1H, d, $J = 6.9$ Hz) 3.27 (1H, dd, $J = 6.9, 1.8$ Hz)
29	33.6	<i>q</i>	0.96 (3H, s)
30	23.6	<i>q</i>	0.88 (3H, s)

m: multiplet or overlapped signals

第3項 既知 lupane 型及び taraxastane 型 triterpene の構造

NMR スペクトルを文献値と比較することにより、compound **25** は monogynol A<sup>23)</sup>、compound **26** は 3 $\beta$ ,20S-dihydroxytaraxastane<sup>24)</sup>であると同一した。

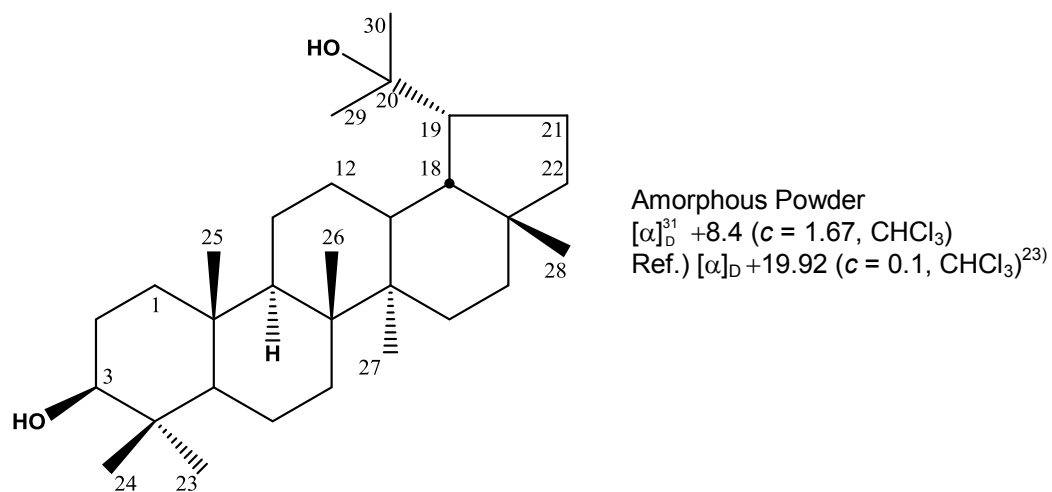


Fig. 53 Structure and Physical data of Compound **25**

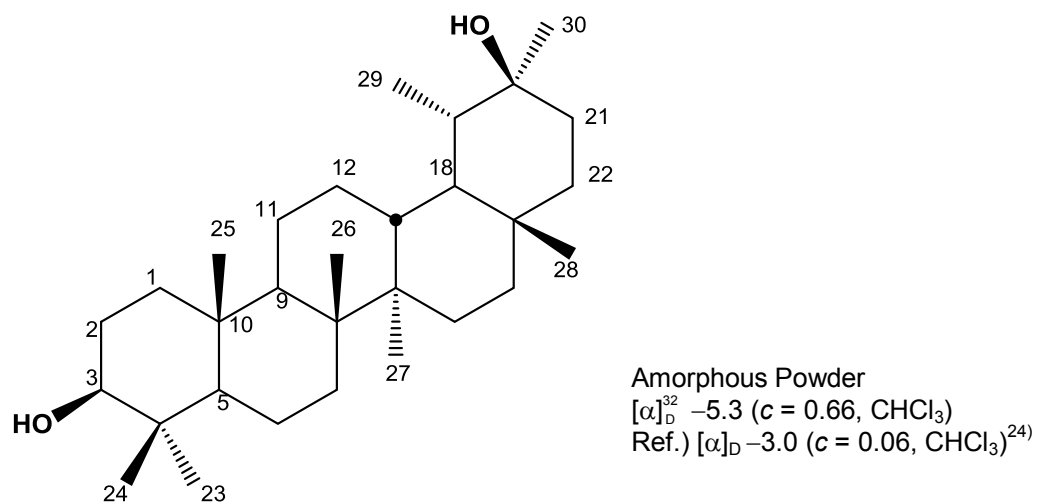


Fig. 54 Structure and Physical data of Compound **26**

Table 27  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 25  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	38.7	<i>t</i>	1.69 (1H, m) 0.91 (1H, m)
2	27.4	<i>t</i>	1.60 (1H, m) 1.56 (1H, m)
3	79.0	<i>d</i>	3.19 (1H, dd, 11.7, 5.2 Hz)
4	38.8	<i>s</i>	-
5	55.2	<i>d</i>	0.69 (1H, m)
6	18.3	<i>t</i>	1.52 (1H, m) 1.40 (1H, m)
7	34.6	<i>t</i>	1.40 (2H, m)
8	41.4	<i>s</i>	-
9	50.3	<i>d</i>	1.26 (1H, m)
10	37.1	<i>s</i>	-
11	21.4	<i>t</i>	1.48 (1H, m) 1.26 (1H, m)
12	29.0	<i>t</i>	1.87 (1H, m) 1.25 (1H, m)
13	37.5	<i>d</i>	1.72 (1H, m)
14	43.5	<i>s</i>	-
15	27.6	<i>t</i>	1.75 (1H, m) 1.02 (1H, m)
16	35.6	<i>t</i>	1.49 (1H, m) 1.38 (1H, m)
17	44.6	<i>s</i>	-
18	48.3	<i>d</i>	1.32 (1H, m)
19	50.0	<i>d</i>	1.80 (1H, ddd, $J = 10.6, 9.1, 3.6$ Hz)
20	73.5	<i>s</i>	-
21	28.7	<i>t</i>	1.87 (1H, m) 1.31 (1H, m)
22	40.2	<i>t</i>	1.30 (1H, m) 1.10 (1H, m)
23	28.0	<i>q</i>	0.97 (3H, s)
24	15.4	<i>q</i>	0.76 (3H, s)
25	16.2	<i>q</i>	0.84 (3H, s)
26	16.2	<i>q</i>	1.06 (3H, s)
27	14.9	<i>q</i>	0.96 (3H, s)
28	19.2	<i>t</i>	0.81 (3H, s)
29	24.8	<i>q</i>	1.12 (3H, s)
30	31.6	<i>q</i>	1.22 (3H, s)

m: multiplet or overlapped signals

Table 28 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound 26  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	38.7	<i>t</i>	1.70 (1H, m) 0.92 (1H, m)
2	27.4	<i>t</i>	1.62 (1H, m) 1.57 (1H, m)
3	79.0	<i>d</i>	3.20 (1H, dd, 11.7, 4.9 Hz)
4	38.8	<i>s</i>	-
5	55.1	<i>d</i>	0.68 (1H, dd, <i>J</i> = 9.4, 4.3 Hz)
6	18.3	<i>t</i>	1.51 (1H, m) 1.37 (1H, m)
7	34.5	<i>t</i>	1.40 (2H, m)
8	41.0	<i>s</i>	-
9	49.6	<i>d</i>	1.23 (1H, m)
10	37.0	<i>s</i>	-
11	21.6	<i>t</i>	1.48 (1H, m) 1.24 (1H, m)
12	26.6	<i>t</i>	1.76 (1H, m) 0.98 (1H, m)
13	39.0	<i>d</i>	1.78 (1H, m)
14	43.2	<i>s</i>	-
15	29.4	<i>t</i>	1.78 (1H, m) 1.25 (1H, m)
16	38.2	<i>t</i>	1.37 (1H, m) 1.16 (1H, ddd, <i>J</i> = 13.5, 5.2, 2.5 Hz)
17	35.2	<i>s</i>	-
18	47.5	<i>d</i>	1.20 (1H, m)
19	38.8	<i>d</i>	1.34 (1H, br d, <i>J</i> = 6.2 Hz)
20	73.6	<i>s</i>	-
21	35.5	<i>t</i>	1.71 (1H, m) 1.48 (1H, m)
22	37.8	<i>t</i>	1.50 (1H, m) 1.07 (1H, m)
23	28.0	<i>q</i>	0.97 (3H, s)
24	15.4	<i>q</i>	0.76 (3H, s)
25	16.2	<i>q</i>	0.84 (3H, s)
26	16.2	<i>q</i>	1.05 (3H, s)
27	14.8	<i>q</i>	0.95 (3H, s)
28	17.8	<i>t</i>	0.83 (3H, s)
29	17.9	<i>q</i>	1.06 (3H, d, <i>J</i> = 6.2 Hz)
30	30.3	<i>q</i>	1.18 (3H, s)

m: multiplet or overlapped signals



Compound 21-26 について 10 mM DMSO 溶液を調製し、それを用いて、96 well plate にて A549 cell (5000 cell) に、終濃度 100~3.125  $\mu\text{M}$  溶液となるよう希釈系列を調製して作用させ、37°C にて 72 時間培養した。生存率の算出には MTT 法を用い、540 nm の吸光度を測定し、以下の計算式により細胞増殖抑制率を算出し、抑制率 50%をまたぐ 2 点から直線回帰にて  $\text{IC}_{50}$  を算出した。なお positive control には doxorubicin を用いた。

$$\text{細胞増殖抑制率 (\%)} = [1 - (\text{Abs}_{\text{sample}} - \text{Abs}_{\text{background}}) / (\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{background}})] \times 100$$

$\text{Abs}_{\text{background}}$ : A549 なし (blank)、 $\text{Abs}_{\text{control}}$ : DMSO のみ

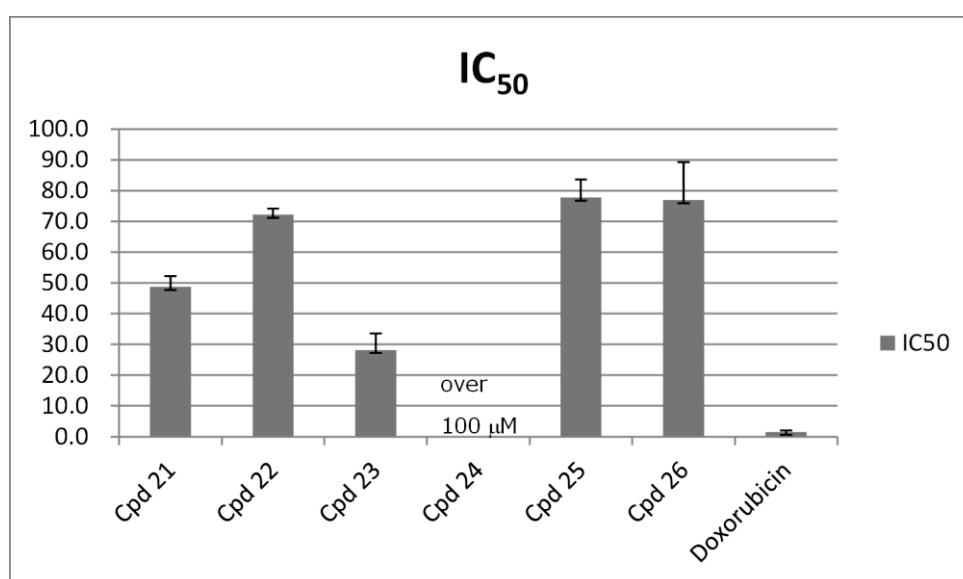


Fig. 55 A549 Cytotoxic activity

Table 29 A549 Cytotoxic activity

sample	$\text{IC}_{50}$
Compound 21	48.7 ± 3.5
Compound 22	72.2 ± 1.9
Compound 23	28.2 ± 5.4
Compound 24	over 100
Compound 25	77.8 ± 5.8
Compound 26	76.9 ± 12.3
Doxorubicin	1.6 ± 0.5

$\text{IC}_{50} \pm \text{SD } \mu\text{M}$  (n=3)

ニシキギ科植物モクレイシ [*Microtropis japonica* Hallier f.] 材部の成分研究を行い、1-ブタノール可溶画分より既知芳香族誘導体 2 種 (Compounds **19**, **20**) と共に、18 種の新規 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid 誘導体 (Compounds **1-18**) を、酢酸エチル可溶画分より既知 oleanane 型 triterpene 3 種 (Compounds **22-24**)、lupane 型 triterpene 1 種 (Compound **25**)、taraxastane 型 triterpene 1 種 (Compound **26**) と共に、1 種の新規 oleanane 型 triterpene 1 種 (Compound **21**) を単離し、その化学構造を明らかにした。

本研究ではニシキギ科植物モクレイシ [*Microtropis japonica* Hallier f.] 材部の成分研究を行い、1-ブタノール可溶画分からは、既知芳香族誘導体 2 種 (Compounds **19**, **20**) と共に、15 種の新規 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid 誘導体 (Compounds **1-18**) を、既知 triterpene 5 種 (Compounds **22-26**) と共に 1 種の triterpene 1 種 (Compound **21**) を単離し、その化学構造を明らかにした。

まず、1-ブタノール可溶画分から単離した新規化合物について、検討する。

始めに、1-ブタノール可溶画分から単離した新規化合物が共通して有していた

2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid について検討する。2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の天然からの単離は珍しく、生合成や生理活性などは今後さらなる研究が期待されるが、本研究において得られた 18 種の化合物のうち、17 種は NMR におけるケミカルシフト及び compound **1** における X 線結晶構造解析の結果より、同じ絶対立体配置であると推定している。しかしながら、compound **18** のアシル構造部分に関しては、特に <sup>1</sup>H NMR におけるケミカルシフト及びカップリング定数に差が見られたため、compound **1-17** のそれとは立体異性体の関係にあると推定している。

2-Ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid の生合成に関しての報告は現在のところないものの、生合成経路の一つとして isoleucine の生合成経路<sup>25)</sup>の中間体である (S)-2-hydroxy-2-ethyl-3-oxobutanoate の 3 位のカルボニル基が還元されて生成される経路が考えられる (Fig. 56)。これを踏まえると、アシル構造部分について絶対立体配置が未決定である compound **18** について、その立体は 2S, 3S であると推測される。

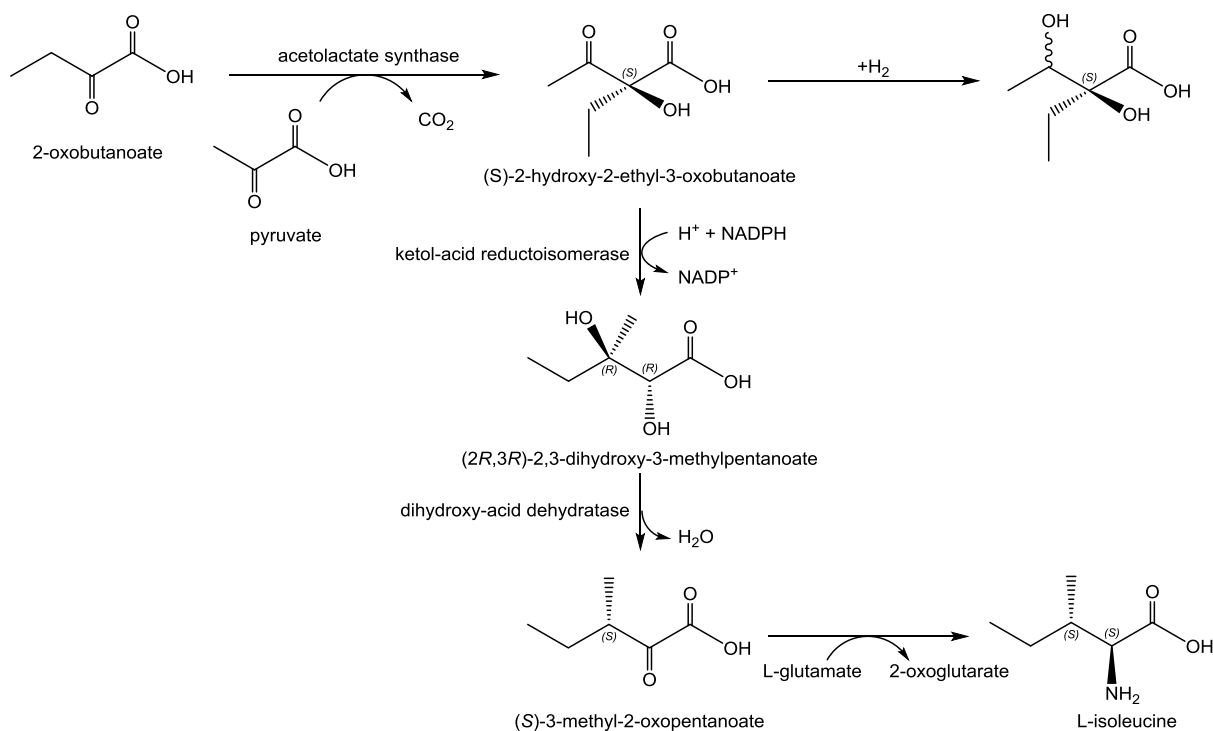


Fig. 56 Putative biosynthesis pathway of 2-ethyl-2,3-dihydroxybutyric acid

続いて、アグリコンについて検討した。

まず、本研究ではニトリル基を持つ化合物4種 (Compounds 1-4) を単離した。このうち、3種 (Compounds 1-3) は互いに立体異性体の関係であった。単独での単離では絶対立体配置の決定は困難であった事が推測されるが、立体異性体が3種単離された事で、互いにケミカルシフトを比較する事で、見られたケミカルシフトの差が単なる機械的な誤差ではない事がわかり、絶対立体配置の決定に繋がった。また、クロトン [*Cordiaum variegatum*] から単離されたアグリコンにニトリル基を有する化合物 (Fig. 57) が抗インフルエンザ活性を示したとの報告例もあり<sup>26)</sup>、あいにく本研究で得られた化合物は収量が少ないため現段階では活性試験を行う事が難しいものの、今後の研究に期待ができる。

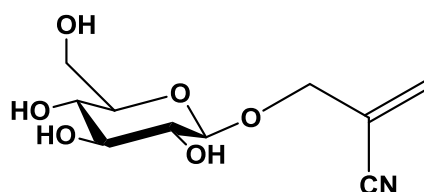


Fig. 57 The Structure of Codiacyanoglucoside isolated from *Cordiaum variegatum*

また、本研究で得られた新規化合物のうち compound 9 をはじめとする芳香族誘導体をアグリコンに持つ化合物は他と比較して収量の多いものが多かったことについても検討した。芳香族誘導体をアグリコンに持つ化合物の収量が比較的多かった理由として、本研究ではモクレイシの材部を用いたことが大きく関係していると考えられる。材部には、木化した組織に特異的な物質である lignin が木材の 20~30%含まれている。Lignin は C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> 化合物の酸化重合体で、細胞壁に沈着して存在する。この lignin 自体は水をはじめ溶媒類に不溶な高分子化合物であるが、材部にはその前駆体といえる phenylpropanoid や lignan も多く含まれている。Phenylpropanoid は精油成分として、いわゆる精油生薬、精油植物の重要な成分となっているものも多く、生物活性のあるものも多い。また、lignan は通常フェノール性水酸基を持つため、抗酸化作用が報告されているものが多い。

一方、酢酸エチル可溶画分から単離した6種の triterpene のうち4種は oleanane 型 triterpene であり、さらにこのうち新規化合物1種と既知化合物1種は1位にカルボニル基を有していた。Triterpene でカルボニル基を有している場合、それは3位に存在する事が比較的多い。単離化合物についてヒト肺がん細胞である A549 に対する増殖抑制試験を行ったところ、やや活性が見られた。また、既知化合物 castanopsone (compound 22) に関しては、各種ヒト由来がん細胞に対する活性を有するとの報告もある事から<sup>27)</sup>、今後、類縁化合物の発見が期待できると共に、その活性に期待できると考えている。

### 材料植物

モクレイシ *Microtropis japonica* Hallier f. の材部は 1997 年、沖縄県国頭郡東村で採集した。

### 一般法

#### 1. 旋光度

旋光度は P-1030 (日本分光工業) デジタル旋光度計を用いて測定した。測定溶媒及び温度は、各測定値に付記した。

#### 2. 核磁気共鳴 (NMR) スペクトル

JEOL  $\alpha$ -400 核磁気共鳴装置 (日本電子、共鳴周波数  $^1\text{H}$  NMR : 400 MHz、 $^{13}\text{C}$  NMR : 100 MHz)、もしくは JEOL ECA-600 核磁気共鳴装置 (日本電子共鳴周波数、 $^1\text{H}$  NMR : 600 MHz、 $^{13}\text{C}$  NMR : 150 MHz) を使用して測定した。いずれも溶媒中の D シグナルを internal lock signal とした。ケミカルシフト値の表示は、内部標準物質テトラメチルシラン (TMS) からの  $\delta$  値 (ppm) で示し、 $^1\text{H}$  NMR スペクトルにおける結合定数は括弧内に Hz 単位で記した。

#### 3. 質量 (MS) 分析

HR-ESI-MS は QSTAR XL (applied Biosystems) 質量分析装置 (calibration に塩化セシウムおよびアンギオテンシンを使用)、もしくは高性能ハイブリット型質量分析システム (Thermo Fisher Scientific、LTQ Orbitrap XL) を用いて測定した。

#### 4. 赤外吸収 (IR) スペクトル

HORIBA FT-710 (堀場製作所) 分光光度計を使用し、フィルム法もしくは KBr 法にて試料を調製し測定した。

#### 5. 紫外吸収 (UV) スペクトル

JASCO V-520 (日本分光工業) 分光光度計を使用し、層長 1 cm の石英セルを用いて測定した。測定溶媒は各測定値に付記した。

### カラムクロマトグラフィー

#### 1. Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーには逆相系多孔性樹脂 Diaion HP-20 を使用した。

#### 2. シリカゲルカラムクロマトグラフィー

順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーには、70-230 mesh の silica gel 60 (Merck) を使用した。逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーには、Cosmosil 75 C<sub>18</sub>-OPN (Nacalai Tesque) を使用した。

### 3. 液滴向流カラムクロマトグラフィー (DCCC)

本体に液滴向流クロマトグラフ EYELA DCC-3000 (東京理化工機) を使用した (分離部: 内径 2 cm、長さ 40 cm のカラム管 300 本)。溶媒は固定相にクロロホルム : メタノール : 水 : 1-プロパノール = 9: 12: 6: 1 の混合溶媒の下層を用い、移動相にその上層を用い、液滴上昇法にて溶出させた。

### 4. 高速液体クロマトグラフィー

分取用カラムに Inertsil ODS (6.0×250 mm もしくは 10.0×250 mm) 、Inertsil Ph (6.0×250 mm) もしくは Cholesterol (10.0×25.0 mm) を使用し、検出に RI 2031 (日本分光工業)、溶媒にメタノール - 水系を用いて、流速 1.6 mL/ min もしくは 2.8 mL/ min で行った。

なお、分取用カラムの種類及びサイズと流速は括弧内に明記した。

### 5. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

TLC プレートに厚さ 0.25 mm のシリカゲル 60F<sub>254</sub> (メルク) プレートを用い、クロロホルム : メタノール : 水 = 15: 6: 1 の混合溶媒を展開溶媒とした。展開後のスポットは UV (254 nm) 照射および、10%硫酸を噴霧後加熱し呈色させて検出した。

### 6. 糖分析 (HPLC)

分析用カラムに Shodex NH2P-50 (昭和電工) を使用し、検出に OR-2090 (日本分光工業) 旋光度検出計を用い、溶媒にアセトニトリル - 水系を用いて、流速 1 mL/ min で行った。

### 抽出、単離、精製

乾燥させたモクレイシの材部 (13.0 kg) をメタノールで3回 (4.5 L) 抽出し、3.0 Lに濃縮後、*n*-ヘキサン 3 Lで抽出した。メタノール層を濃縮後、水 3.0 Lで懸濁し、酢酸エチル、1-ブタノールをそれぞれ 3.0 Lで連続的に抽出、濃縮し、*n*-ヘキサン層 (53.8 g)、酢酸エチル層 (103 g)、1-ブタノール層 (40.9 g)、水層 (107 g) を得た。

このうち、1-ブタノール可溶画分 (40.9 g) のうち 39.9 gを逆相性多孔性樹脂 Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー (内径 5.0 cm×高さ 50 cm、1 フラクシオン=500 mL) に付し、水 - メタノール (4: 1, 2 L)、(3: 2, 2 L)、(2: 3, 2 L)、(1: 4, 2 L)、そしてメタノール 2 Lの順に溶解し、20%メタノール溶出画分 (フラクシオン 1-4、9.80 g)、20%メタノール溶出画分 (フラクシオン 5-6、2.07 g)、40%メタノール溶出画分 (フラクシオン 7-10、8.73 g)、60%メタノール溶出画分 (フラクシオン 11-14、6.22 g)、80-100%メタノール溶出画分 (フラクシオン 15-20、9.88 g)、100%メタノール溶出画分 (フラクシオン 21-22、1.52 g)を得た。

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーの 40%メタノール溶出画分 (フラクシオン 7-10、8.73 g) のうち 7.53 gをクロロホルムとメタノールの混合溶媒 [クロロホルム 3 L、クロロホルム - メタノール (49: 1, 1.5 L)、(24: 1, 1.5 L)、(23: 2, 1.5 L)、(9: 1, 1.5 L)、(17: 3, 1.5 L)、(4: 1, 1.5 L)、(3: 1, 1.5 L)、(7: 3, 1.5 L)、クロロホルム - メタノール - 水 (35: 15: 2, 1.5 L)、メタノール 1.5 L] を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 3.6 cm×高さ 50 cm、1 フラクシオン=500 mL) に付し、8-10%メタノール溶出画分 (フラクシオン 23-29、0.962 g)、10-20%メタノール溶出画分 (フラクシオン 30-38、3.10 g)、20-30%メタノール溶出画分 (フラクシオン 39-47、1.27 g)を得た。

### Compounds 1, 2, 3, 5, 14, 15

シリカゲルカラムクロマトグラフィーの 8-10%メタノール溶出画分 (フラクシオン 23-29、0.962 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 5.0 cm×高さ 25 cm、10%メタノール 2 L→90%メタノール 2 L : linear gradient、1 フラクシオン=10 g) に付し、フラクシオン 81-87 (108 mg)、フラクシオン 88-98 (147 mg)、フラクシオン 99-105 (64.0 mg) の3つのフラクシオンを得た。フラクシオン 81-87 (108 mg) を DCCC に付し、得られたフラクシオン 51-61 (4.0 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール:水=1:3、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/min) を用いて精製し、保持時間 21 分のピークから compound 15 (2.4 mg) を得た。

フラクシオン 88-98 (147 mg) を DCCC に付し、得られたフラクシオン 73-84 (36.8 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール:水=3:7、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/min) を用いて精製し、保持時間 15 分のピーク (6.9 mg)、保持時間 17 分のピーク (19.0 mg)、及び保持時間 19 分のピーク (3.3 mg) を得た。保持時間 15 分のピーク (6.9 mg) をさらに高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール:水=1:3、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/min) を用いて精製し、保持時間 24 分のピークから compound 2 (3.7 mg) を得た。また、保持時間 17 分のピーク (19.0 mg) を isopropanol で再

結晶した結果、compound **1** (10.4 mg) を得た。加えて、保持時間 19 分のピーク (3.3 mg) をさらに高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール：水=1：3、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 29 分のピークから compound **5** (1.7 mg)、保持時間 32 分のピークから compound **3** (0.2 mg) を得た。

フラクション 99-105 (64.0 mg) を DCCC に付し、得られたフラクション 84-93 (6.7 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール：水=7：13、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 14 分のピークから compound **14** (2.8 mg) を得た。

#### Compounds 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19

シリカゲルカラムクロマトグラフィーの 10-20%メタノール溶出画分 (フラクション 30-38, 3.10 g) のうち 2.91 g を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 5.0 cm×高さ 25 cm、10%メタノール 2 L→90%メタノール 2 L：linear gradient、1 フラクション=10 g) に付し、フラクション 25-50 (130 mg)、フラクション 73-80 (88.4 mg)、フラクション 81-93 (306 mg)、フラクション 94-124 (1670 mg) 及びフラクション 151-168 (134 mg) の 5 つのフラクションを得た。

フラクション 25-50 (130 mg) を綿栓濾過の後、高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール：水=1：99、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 12 分のピークから compound **18** (38.4 mg) を得た。

フラクション 73-80 (88.4 mg) を DCCC に付し、得られたフラクション 57-64 (21.3 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール：水=3：17、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 31 分のピークから compound **4** (6.0 mg) を得た。

フラクション 81-93 (306 mg) を DCCC に付し、フラクション 33-35 (45.5 mg) 及びフラクション 42-47 (64.8 mg) を得た。フラクション 81-93 (306 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール：水=7：33、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 46 分のピークから compound **14** (3.96 mg)、保持時間 50 分のピークから compound **13** (10.1 mg) を得た。また、フラクション 42-47 (64.8 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール：水=1：3、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 21 分のピーク (3.9 mg) 及び保持時間 22 分のピーク (10.9 mg) を得た。保持時間 21 分のピーク (3.9 mg) をさらに高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール：水=1：4、Phenyl (6.0 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 13 分のピークから compound **6** (1.0 mg) を得た。また、保持時間 22 分のピーク (10.9 mg) をさらに高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール：水=1：4、Phenyl (6.0 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 14 分のピークから compound **7** (5.2 mg) を得た。

フラクション 94-124 (1670 mg) を DCCC に付し、フラクション 63-86 から compound **12** (1210 mg)、フラクション 142-164 から compound **19** (21.6 mg)、フラクション 165-183 から compound **13** (10.1 mg) を得た。



フラクション 151-168 (134 mg) を DCCC に付し、そのフラクション 64-85 (30.3 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水 = 2 : 3, ODS (6.0 mm)、1.6 mL/min) を用いて精製し、保持時間 19 分のピークから compound 10 (4.0 mg)、保持時間 21 分のピークから compound 8 (5.4 mg)、保持時間 22 分のピークから compound 9 (2.2 mg) を得た。

#### Compounds 11, 12

シリカゲルカラムクロマトグラフィーの 20-30%メタノール溶出画分 (フラクション 39-47, 1.27 g) のうち 1.17 g を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 5.0 cm×高さ 25 cm、10%メタノール 2 L→90%メタノール 2 L : linear gradient、1 フラクション=10 g) に付した。フラクション 121-144 (351 mg) を DCCC に付し、そのフラクション 30-46 (279 mg) のうち 86.6 mg を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水 = 1 : 4, ODS) を用いて精製し、保持時間 50 分のピークから compound 11 (14.2 mg)、保持時間 65 分のピークから compound 12 (21.0 mg) を得た。

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーの 60%メタノール溶出画分 (フラクション 11-14, 6.22 g) のうち 5.68 g をクロロホルムとメタノールの混合溶媒 [クロロホルム 2 L、クロロホルム - メタノール (49: 1, 1 L)、(24: 1, 1 L)、(23: 2, 1 L)、(9: 1, 1 L)、(17: 3, 1 L)、(4: 1, 1 L)、(3: 1, 1 L)、(7: 3, 1 L)、クロロホルム - メタノール - 水 (35: 15: 2, 1 L)、メタノール 1 L] を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 3.1 cm×高さ 50 cm、1 フラクション=200 mL) に付し、10-15%メタノール溶出画分 (フラクション 27-34, 1.31 g) を得た。

#### Compound 20

シリカゲルカラムクロマトグラフィーの 10-15%メタノール溶出画分 (フラクション 27-34, 1.41 g) のうち 1.30 g を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 5.0 cm×高さ 25 cm、10%メタノール 2 L→90%メタノール 2 L : linear gradient、1 フラクション=10 g) に付し、そのフラクション 10-22 から compound 20 (13.6 mg) を得た。

#### Compound 1 のアルカリ加水分解

Compound 1 (6.9 mg) を MeOH 450  $\mu$ L に溶解したものに 1M CH<sub>3</sub>ONa 50  $\mu$ L を加え、室温で 40 時間放置した。反応液を陽イオン交換樹脂 (AMBERLITE IR120B [H<sup>+</sup>]) を用いて中和し、乾燥させたものを高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水 = 3 : 17, ODS (6.0 mm)、1.6 mL/min) を用いて精製し、保持時間 8 分のピークから compound 1a (2.0 mg)、保持時間 28 分のピークから compound 1b (0.1 mg) を得た。

#### Compound 1a: (2R, 3S)-3-Hydroxy-2-methyl butanenitrile $\beta$ -D-glucopyranoside

Amorphous powder,  $[\alpha]_D^{22}$  -26.9 ( $c = 0.13$ , MeOH). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3396, 2924, 2886, 2245, 1455, 1383, 1353, 1164, 1076, 1045. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz):  $\delta$  4.36 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1'), 3.95 (1H, qd,

$J = 6.4, 4.2$  Hz, H-3), 3.86 (1H, dd,  $J = 11.8, 1.9$  Hz, H-6'), 3.67 (1H, dd,  $J = 11.8, 5.4$  Hz, H-6'), 3.27-3.36 (3H, m, H-3', 4', 5'), 3.20 (1H, dd,  $J = 9.0, 7.9$  Hz, H-2'), 2.96 (1H, qd,  $J = 7.1, 4.2$  Hz, H-2), 1.37 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-4), 1.36 (3H, d,  $J = 7.1$  Hz, H-5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz):  $\delta$  122.4 (s, C-1), 104.8 (d, C-1'), 78.2 (d, C-5'), 78.0 (d, C-3'), 77.2 (d, C-3), 75.3 (d, C-2'), 71.6 (d, C-4'), 62.8 (t, C-6'), 33.0 (d, C-2), 19.8 (q, C-4), 13.9 (q, C-5). HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 284.1102  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_6\text{Na}$ : 284.1104).

**Compound 1b**: Methyl (2*S*, 3*R*)-2-ethyl-2, 3-dihydroxybutyrate

Amorphous powder.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  3.88 (1H, q,  $J = 6.4$  Hz, H-3), 3.75 (3H, s,  $\text{COOCH}_3$ ), 1.70 (1H, dq,  $J = 13.8, 7.4$  Hz, H-5), 1.53 (1H, dq,  $J = 13.8, 7.4$  Hz, H-5), 1.16 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-4), 0.84 (3H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-6). HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 185.0771  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_4\text{Na}$ : 185.0784).

**Compound 8** のアルカリ加水分解

**Compound 8** (4.5 mg) を  $\text{MeOH}$  450  $\mu\text{L}$  に溶解したものに 1M  $\text{CH}_3\text{ONa}$  50  $\mu\text{L}$  を加え、室温で 24 時間放置した。反応液を陽イオン交換樹脂 (AMBERLITE IR120B  $[\text{H}^+]$ ) を用いて中和し、乾燥させたものを高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール: 水 = 7 : 13, ODS (6.0 mm), 1.6 mL/min) を用いて精製し、保持時間 7 分のピークから **compound 8a** (1.8 mg)、保持時間 8 分のピークから **compound 8b** (0.2 mg) を得た。

**Compound 8a**: 2,5-Dihydroxyheprane-2-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside

Amorphous powder,  $[\alpha]_{\text{D}}^{21} -37.7$  ( $c = 0.12$ ,  $\text{MeOH}$ ). IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3360, 2965, 2931, 2877, 1457, 1161, 1076, 1037, 1021.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  4.33 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1'), 3.85 (3H, dd,  $J = 11.9, 2.1$  Hz, Ha-6'), 3.85 (1H, m, H-2), 3.66 (1H, dd,  $J = 11.9, 5.3$  Hz, Hb-6'), 3.47 (1H, m, H-5), 3.25-3.37 (3H, m, H-3', 4' and 5'), 3.15 (1H, dd,  $J = 9.2, 7.8$  Hz, H-2'), 1.74 (1H, m, Ha-3), 1.38-1.63 (5H, m, Hb-3, H<sub>2</sub>-4 and H<sub>2</sub>-6), 1.24 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H<sub>3</sub>-1), 0.94 (3H, t,  $J = 7.5$  Hz, H<sub>3</sub>-7).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz):  $\delta$  104.0 (d, C-1'), 78.3 (d, C-5'), 77.9 (d, C-2), 77.6 (d, C-3'), 75.4 (d, C-2'), 74.0 (d, C-5), 71.8 (d, C-4'), 63.0 (t, C-6'), 33.6 (t, C-3), 33.2 (t, C-4), 31.2 (t, C-6), 22.0 (q, C-1), 10.4 (q, C-7). HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 317.1575  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_7\text{Na}$ : 317.1571).

**Compound 8b (= 1b)**: Methyl-(2*S*, 3*R*)-2-ethyl-2,3-dihydroxybutyrate

Colorless liquid. HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 185.0788  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd for  $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_4\text{Na}$ : 185.0784).

**Compound 8a** の酵素加水分解

**Compound 8a** (1.8 mg) を水 1 mL に溶解し、 $\beta$ -glucosidase (5 mg) を加えて、37°C で 2 時間反応させた後、減圧乾燥した。得られた残渣は TLC [silica gel (0.25 mm thickness), being applied for 8 cm, with development with  $\text{CHCl}_3$ - $\text{MeOH}$  (9: 1) for 9 cm, and then eluted with  $\text{CHCl}_3$  and  $\text{MeOH}$ ] で精製し、 $R_f = 0.35$  のスポットより **compound 8c** (0.6 mg) を得ると同時に、 $R_f = 0.01$  のスポットを得た。 $R_f = 0.01$  のスポットを、さらに TLC [silica gel (0.25 mm thickness), being applied for 8 cm, with

development with CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (15: 6: 1) for 9 cm, and then eluted with MeOH] で精製し、R<sub>f</sub>= 0.11 より compound **8d** (0.3 mg) を得た。

**Compound 8c:** 2,5-Dihydroxyheptane

Amorphous powder. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ 3.72 (1H, m, H-2), 3.45 (1H, m, H-5), 1.39-1.61 (6H, m, H<sub>2</sub>-3, H<sub>2</sub>-4 and H<sub>2</sub>-6), 1.16 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H<sub>3</sub>-1), 0.94 (3H, t, *J* = 7.4 Hz, H<sub>3</sub>-7). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz): δ 74.0 (*d*, C-5), 68.7 (*d*, C-2), 34.1 (*t*, C-3), 31.1 (*t*, C-6), 30.8 (*t*, C-4), 23.6 (*q*, C-1), 10.4 (*q*, C-7). HR-ESI-MS (positive) *m/z*: 155.1041 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>7</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>Na: 155.1043).

**Compound 8d:** D-glucose

compound **8d** (0.3 mg) について、後述の compound **1** と同様の条件、すなわち HPLC (アセトニトリル : 水 = 3 : 1) により糖分析を行った。Compound **8d** は保持時間 8.8 分のピークにおいて正の旋光性を示したため、D-Glucose であると判断した。なお、標品として D-Glucose (1mg/ mL in 75% CH<sub>3</sub>CNaq) 10 μL を injection し、保持時間 8.8 分のピークにおいて正の旋光性を示すことを確認した。

**Compound 12** のアルカリ加水分解

Compound **12** (19.9 mg) を MeOH 450 μL に溶解したものに 1M CH<sub>3</sub>ONa 50 μL を加え、室温で 34 時間放置した。反応液を陽イオン交換樹脂 (AMBERLITE IR120B [H<sup>+</sup>]) を用いて中和し、乾燥させたものを高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水 = 3 : 17, ODS (6.0 mm), 1.6 mL/min) を用いて精製し、保持時間 3 分のピークから compound **12a** (14.1 mg)、保持時間 21 分のピークから compound **12b** (2.0 mg) を得た。

**Compound 12a:** Vanillic acid 4-*O*-β-D-glucopyranoside

Amorphous powder, [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> -61.8 (*c* = 0.85, H<sub>2</sub>O). IR ν<sub>max</sub> (film) cm<sup>-1</sup>: 3334, 2937, 1603, 1559, 1413, 1383, 1261, 1216, 1073, 1026. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ 7.65 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2), 7.57 (1H, dd, *J* = 8.4, 1.9 Hz, H-6), 7.13 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 4.96 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 3.89 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.87 (1H, dd, *J* = 11.2, 2.0 Hz, H-6'), 3.70 (1H, dd, *J* = 11.2, 4.9 Hz, H-6'), 3.34-3.54 (4H, overlapped, H-2', 3', 4', 5'). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz): δ 173.0 (*s*, COOH), 150.7 (*s*, C-4), 150.1 (*s*, C-3), 130.9 (*s*, C-1), 124.2 (*d*, C-6), 116.5 (*d*, C-5), 114.7 (*d*, C-2), 102.4 (*d*, C-1'), 78.3 (*d*, C-5'), 77.9 (*d*, C-3'), 74.9 (*d*, C-2'), 71.4 (*d*, C-4'), 62.5 (*t*, C-6'), 56.7 (*q*, OCH<sub>3</sub>). HR-ESI-MS (positive) *m/z*: 353.0848 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>Na: 353.0843). UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 328 (3.02), 287 (3.51), 246 (3.85).

**Compound 12b (= 1b):** Methyl (2*S*, 3*R*)-2-ethyl-2, 3-dihydroxybutyrate

Amorphous powder, [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> -3.23 (*c* = 0.09, MeOH), [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> -9.84 (*c* = 1.26, MeOH). IR ν<sub>max</sub> (film) cm<sup>-1</sup>: 3411, 2978, 2940, 1735, 1558, 1511, 1457, 1381, 1172, 1078. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ 3.88 (1H, q, *J* = 6.5 Hz, H-3), 3.75 (3H, s, COOCH<sub>3</sub>), 1.70 (1H, dq, *J* = 13.8, 7.4 Hz, H-5), 1.53 (1H, dq, *J* = 13.8, 7.4 Hz, H-5), 1.16 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-4), 0.84 (3H, t, *J* = 7.4 Hz, H-6). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz): δ 176.9 (*s*,

C-1), 82.9 (*s*, C-2), 72.8 (*d*, C-3), 52.7 (*q*, COOCH<sub>3</sub>), 29.3 (*t*, C-5), 16.9 (*q*, C-4), 8.3 (*q*, C-6). HR-ESI-MS (positive) *m/z*: 185.0786 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>Na: 185.0784).

#### 3-Chloro-2-hydroxybutanone (Compound 45) の合成

3-Chloro-2-butanone (4.03 g) をメタノール (40 mL) 中で NaBH<sub>4</sub> (1.44 g) と室温で 18 時間反応させた。減圧濃縮後、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) で抽出し、有機層を水で 6 回 (各 30 mL) で洗ったのち、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、compound 45 (2.07 g) を得た。

#### Compound 45: 3-Chloro-2-hydroxybutanone

Volatile oil. *Anti* isomer (Compound 45a), <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 3.95 (1H, qd, *J* = 6.8, 4.2 Hz, H-3), 3.79 (1H, qd, *J* = 6.3, 4.2 Hz, H-2), 1.46 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H<sub>3</sub>-4), 1.21 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, H<sub>3</sub>-1); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 71.9 (C-2), 63.6 (C-3), 20.9 (C-1), 19.3 (C-4). *Syn* isomer (Compound 45b), <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 3.94 (1H, qd, *J* = 6.8, 5.1 Hz, H-3), 3.76 (1H, qd, *J* = 6.3, 5.1 Hz, H-2), 1.45 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H<sub>3</sub>-4), 1.22 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, H<sub>3</sub>-1); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 72.4 (C-2), 63.7 (C-3), 20.8 (C-1), 19.1 (C-4).

#### 3-Hydroxy-2-methylbutanenitrile (Compound 46) の合成

3-Chloro-2-hydroxybutane (Compound 45) (2.07 g) を水 40 mL 中で NaCN (1.00 g) 及び tetraethylammonium bromide (1.00 g) と共に 2 時間還流した。冷後、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で 5 回 (各 30 mL) 抽出し、有機層を水で 4 回 (各 100 mL) で洗ったのち、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で脱水し、3-hydroxy-2-methylbutanenitrile (1.41 g) を得た。

#### Compound 46: 3-Hydroxy-2-methylbutanenitrile

Volatile oil. *Anti* isomer (2*R*\*,3*R*\*) (Compound 46a), <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 3.79 (1H, qd, *J* = 7.1, 4.4 Hz, H-3), 2.74 (1H, qd, *J* = 7.1, 4.4 Hz, H-2), 1.32 (3H, d, *J* = 7.1 Hz, H<sub>3</sub>-5), 1.28 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, H<sub>3</sub>-4); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 122.3 (C-1), 68.6 (C-3), 34.8 (C-2), 21.3 (C-4), 14.8 (C-5). *Syn* isomer (2*R*\*,3*S*\*) (Compound 46b), <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 3.79 (1H, overlapped, H-3), 2.80 (1H, qd, *J* = 7.1, 5.5 Hz, H-2), 1.28 (3H, d, *J* = 7.1 Hz, H<sub>3</sub>-5), 1.25 (3H, d, *J* = 5.7 Hz, H<sub>3</sub>-4); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 122.5 (C-1), 68.8 (C-3), 34.8 (C-2), 19.8 (C-4), 14.3 (C-5).

#### Compound 48a: (2*R*,3*R*)-2,3-butanediol

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz) δ: 3.51 (2H, m, *J* = 7.1, 6.2 Hz, H-2 and 3), 1.11 (6H, d, *J* = 6.3 Hz, H<sub>3</sub>-1 and H<sub>3</sub>-4); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz) δ: 72.7 (C-2 and 3), 18.7 (C-1 and 4).

#### Compound 48b: meso-2,3-butanediol

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz) δ: 3.54 (2H, m, *J* = 7.1, 6.2 Hz, H-2 and 3), 1.14 (6H, d, *J* = 6.2 Hz, H<sub>3</sub>-1 and H<sub>3</sub>-4); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz) δ: 72.6 (C-2 and 3), 18.6 (C-1 and 4).

#### Compound 49: 2-Hexanol

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz)  $\delta$ : 3.70 (1H, tq,  $J = 7.1, 6.2$  Hz, H-2), 1.45 (1H, m, H-3a), 1.39 (1H, m, H-3b), 1.38 (1H, m, H-4a), 1.34 (2H, m, H<sub>2</sub>-5), 1.32 (1H, m, H-5b), 1.14 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H<sub>3</sub>-1), 0.92 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H<sub>3</sub>-6);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz)  $\delta$ : 68.6 (C-2), 40.0 (C-3), 29.2 (C-4), 23.8 (C-5), 23.5 (C-1), 14.4 (C-6).

#### Compound 1 の酸加水分解及び糖分析

乾燥させた compound 1 (0.9 mg) に 1M 塩酸を 0.2 mL 加え、sonication し懸濁し、100°C で 2 時間反応させた。その後室温に戻し、EtOAc を 0.2 mL 加えて抽出し、残った水相を HPLC (アセトニトリル : 水 = 3 : 1) を用いて前述の条件にて糖分析を行った。保持時間 8.8 分のピークにおいて正の旋光性を示したため、D-Glucose であると判断した。なお、標品として D-Glucose (1mg/ mL in 75%  $\text{CH}_3\text{CNaq}$ ) 10  $\mu\text{L}$  を injection し、保持時間 8.8 分のピークにおいて正の旋光性を示すことを確認した。

#### Compounds 2, 4, 7, 11, 12, 13, 16, 17, 18 の酸加水分解及び糖分析

Compound 1 と同様の方法で、compound 2 (0.4 mg)、compound 4 (0.3 mg)、compound 7 (0.6 mg)、compound 11 (1.0 mg)、compound 12 (0.8 mg)、compound 13 (0.7 mg)、compound 16 (0.3 mg)、compound 17 (0.4 mg)、compound 18 (0.3 mg) を HCl により加水分解後、HPLC (アセトニトリル : 水 = 3 : 1) により糖分析を行った。Compounds 2, 4, 7, 11, 12, 13, 16, 17, 18 はすべて保持時間 8.8 分のピークにおいて正の旋光性を示したため、D-Glucose であると判断した。なお、標品として D-Glucose (1mg/ mL in 75%  $\text{CH}_3\text{CNaq}$ ) 10  $\mu\text{L}$  を injection し、保持時間 8.8 分のピークにおいて正の旋光性を示すことを確認した。

一方、酢酸エチル可溶画分 (103 g) のうち 100 g を *n*-ヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒 [*n*-ヘキサン 4.5 L、*n*-ヘキサン - 酢酸エチル (20: 1, 3 L)、(10: 1, 3 L)、(5: 1, 3 L)、(2: 1, 3 L)、(1: 1, 3 L)、(1: 2, 3 L)、酢酸エチル 3 L、酢酸エチル - アセトン (1: 1, 3 L)、アセトン 3 L、メタノール 3L] を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 6.5 cm×高さ 32 cm、溶媒組成ごとに 1 フラクションとした) に付し、*n*-ヘキサン溶出画分 (フラクション 1、0.0137 g)、*n*-ヘキサン - 酢酸エチル (20: 1) 溶出画分 (フラクション 2、0.252 g)、*n*-ヘキサン - 酢酸エチル (10: 1) 溶出画分 (フラクション 3、1.29 g)、*n*-ヘキサン - 酢酸エチル (5: 1) 溶出画分 (フラクション 4、8.75 g)、*n*-ヘキサン - 酢酸エチル (2: 1) 溶出画分 (フラクション 5、8.87 g)、*n*-ヘキサン - 酢酸エチル (1: 1) 溶出画分 (フラクション 6、13.5 g)、*n*-ヘキサン - 酢酸エチル (1: 2) 溶出画分 (フラクション 7、11.2 g)、酢酸エチル溶出画分 (フラクション 8、11.6 g)、酢酸エチル - アセトン (1: 1) 溶出画分 (フラクション 9、16.1 g)、アセトン溶出画分 (フラクション 10、12.2 g)、メタノール溶出画分 (フラクション 11、15.6 g) を得た。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーの *n*-ヘキサン - 酢酸エチル (2: 1) 溶出画分 (フラクション 5、8.87 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 3.8 cm×高さ 20 cm、溶媒組成ごとに 1 フラクションとした) に付し、水 - メタノール (1: 9, 1 L)、(3: 17, 1 L)、(1: 4, 1 L)、(1: 3, 1 L)、(3: 7, 1 L)、(2: 3, 1 L)、(1: 1, 1 L)、(3: 2, 1 L)、(7: 3, 1 L)、(4: 1, 1 L)、(9: 1, 1 L)、メタノール 1 L、アセトン 1 L、酢酸エチル 1 L の順に溶解し、100%メタノール溶出画分 (フラクション 12、1.66 g) を得た。

逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーの 100%メタノール溶出画分 (フラクション 12、1.66 g) をクロロホルム - メタノールの混合溶媒 [クロロホルム 600 mL、クロロホルム - メタノール (49: 1, 300 mL)、(24: 1, 300 mL)、(47: 3, 300 mL)、(23: 2, 300 mL)、(9: 1, 300 mL)、メタノール 300 mL] を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 3.0 cm×高さ 45 cm、1 フラクション=10 g) に付し、フラクション 170-204 (1.54 g) を得た。そのフラクション 170-204 (1.54 g) をさらにクロロホルム - メタノールの混合溶媒 [クロロホルム 1000 mL、クロロホルム - メタノール (39: 1, 500 mL)、(19: 1, 500 mL)、メタノール 500 mL] を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 3.0 cm×高さ 20 cm、1 フラクション=10 g) に付し、フラクション 132-162 (477 mg) 及びフラクション 183-201 (151 mg) を得た。

#### Compounds 21, 22, 24, 25, 26

フラクション 132-162 (477 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール 100%、ODS (10.0 mm)、2.8 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 15 分のピーク (49.6 mg)、保持時間 19 分のピーク (43.7 mg) を得ると共に、保持時間 21 分のピークから compound 22 (49.0 mg) を得た。また、保持時間 15 分のピーク (49.6 mg) をさらに高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水 = 19 : 1、Cholester (10.0 mm)、2.8 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 22 分のピークから compound 25 (28.1 mg) を、保持時間 39 分のピークから compound 26 (9.9 mg) を得た。一方、保持時間 19 分のピーク (43.7 mg) をさらに高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール 100%、Cholester (10.0 mm)、2.8 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 15 分のピークから compound 21 (13.5 mg) を、保持時間 17 分のピークから compound 24 (4.2 mg) を得た。

#### Compound 23

また、シリカゲルカラムクロマトグラフィーより得られたフラクション 183-201 (151 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水 = 19 : 1、ODS (10.0 mm)、2.8 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 34 分のピークから compound 23 (9.1 mg) を得た。

## 第2部

### ヤンバルアワブキの成分研究

---

## 第1章 ヤンバルアワブキについて

---

*Meliosma pinnata* ssp. *arnottiana* (和名：ヤンバルアワブキ)

ヤンバルアワブキはアワブキ科 (Sabiaceae) アワブキ属 (*Meliosma*) の植物である。山地の日当たりのよい谷筋などに生える落葉高木で、葉は太い小枝の先端に束生し、奇数羽状複葉で葉柄とともに 15-30 cm、葉柄の基部はふくれる。小葉は 9-15 個の短柄があり、葉身は長楕円形で長さ 4-10 cm、鋭頭または鋭尖頭で基部はくさび形、上半分は縁には低い鋸歯があり、裏面は細脈まで隆起する。大型の円錐花序は頂生し、長さ幅とも 20 cm に達する。花は汚白色で径 3-4 mm。果実は球形で径 4-5 mm、赤熟した後黒変する。春先の新葉は赤褐色でよく目立つ。



ヤンバルアワブキ

(琉球弧 野山の花 from AMAMI より引用)



---

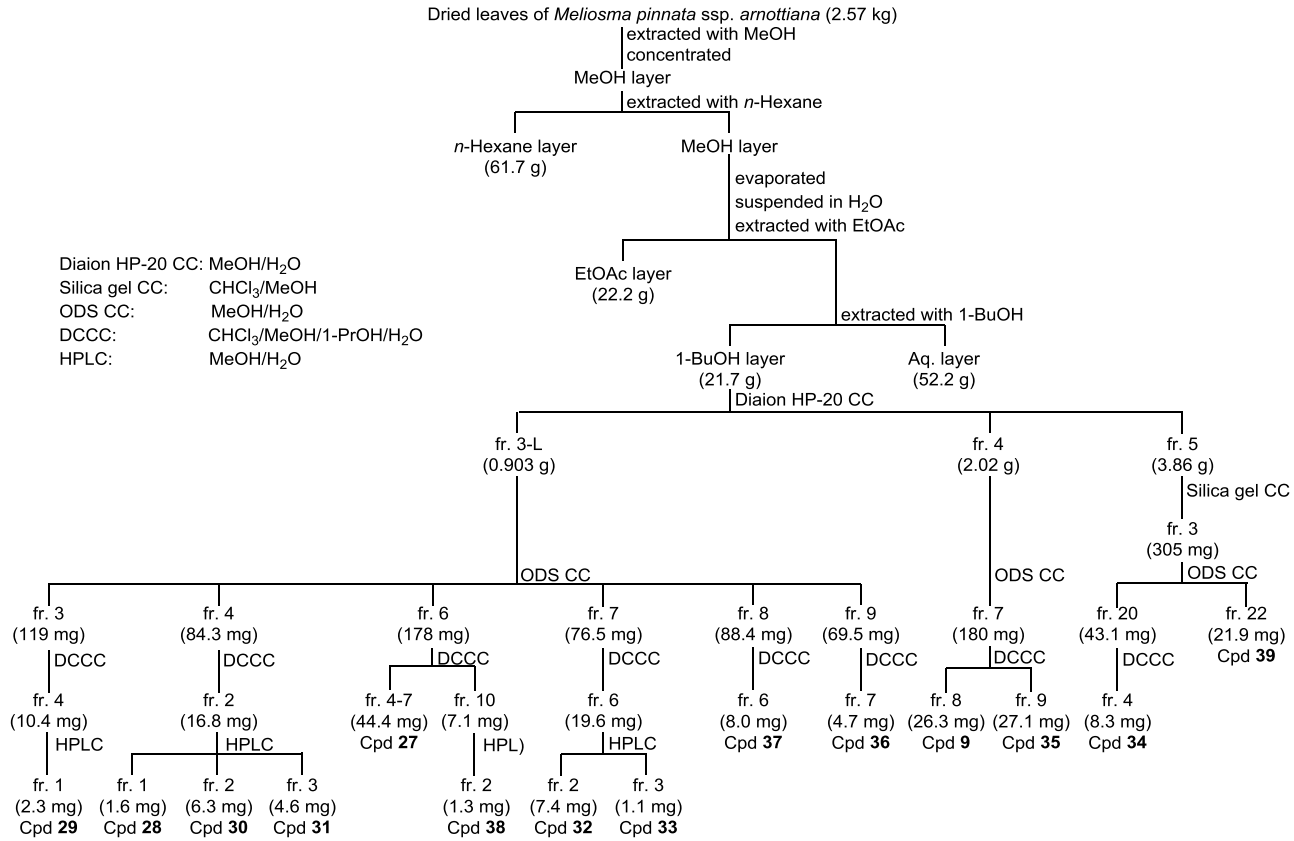
## 第2章 抽出、分離及び精製

---

乾燥させたヤンバルアワブキの葉部 (2.57 kg) のメタノール抽出物を *n*-ヘキサン、メタノールで分配を行った後、メタノール層を減圧濃縮し、その残差を水に懸濁させ酢酸エチルで抽出し、水層はさらに 1-ブタノールで抽出した。本研究では、比較的配糖体成分が多く含まれる 1-ブタノール可溶画分について成分探索を行った。

ブタノール可溶画分 21.7 g を、DiaionHP-20、Silica gel、ODS 各種カラムクロマトグラフィー、DCCC、HPLC を用いて分離、精製を行い 13 種の化合物 (Compounds 27-39) を括弧内の収量で単離した。(Chart 3)

Chart 3



第1節 新規化合物について

成分検索の過程でアワキ科植物ヤンバルアワキ葉部の1-ブタノール可溶画分より、8種の新規化合物 compound 27-34 (Fig. 58) を単離し、その化学構造を詳細に検討することとした。

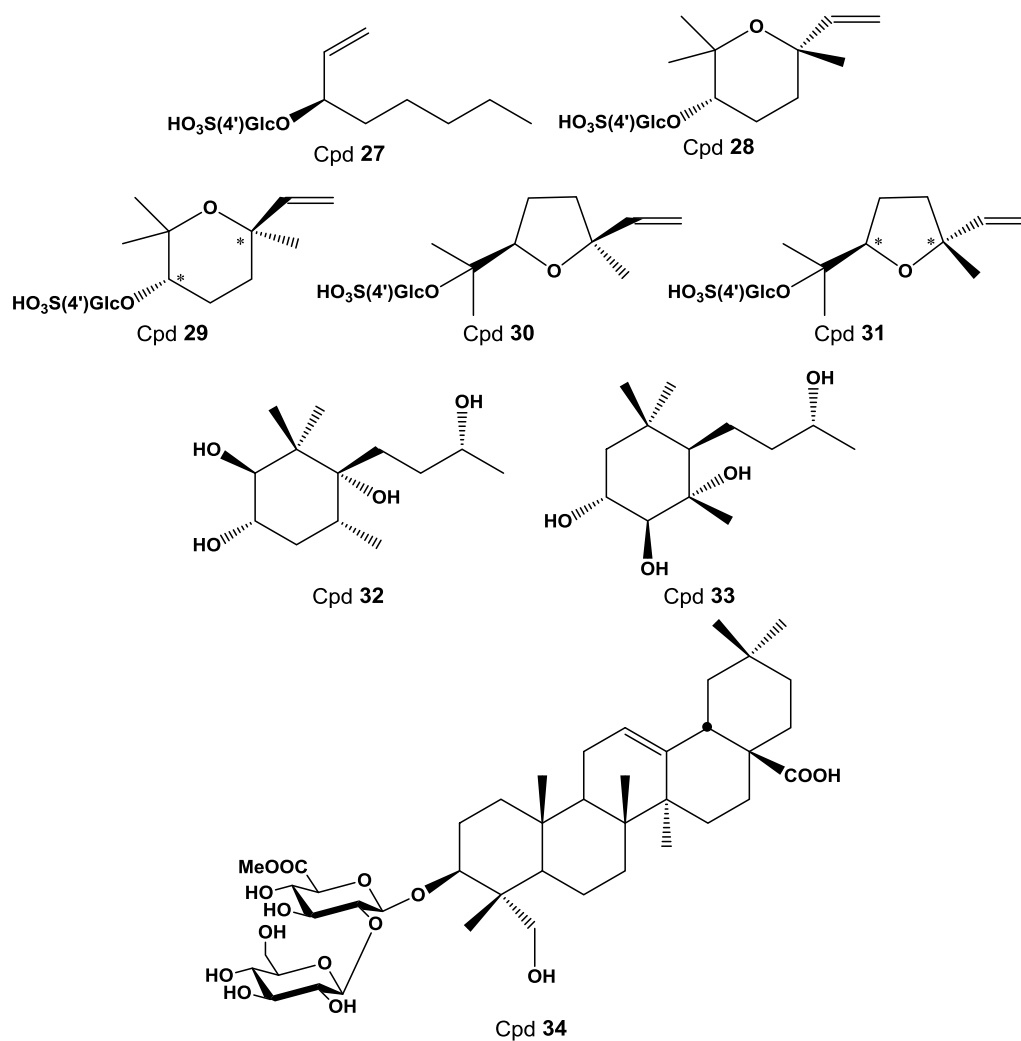


Fig. 58 Structures of Compounds 27-34

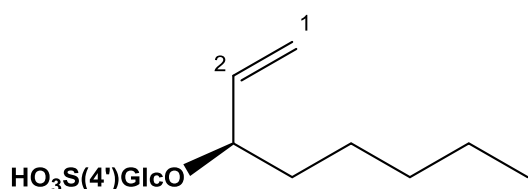
Compound 27 の分子式は、HR-ESI-MS より  $C_{14}H_{25}O_9S$  と決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 30) における 14 本のシグナルのうち 6 本は糖に由来するシグナルであると推測した。

$^{13}C$  NMR において糖を除くシグナルは 8 本であり、そのうち 116.1 ppm のメチレン炭素と 141.0 ppm のメチン炭素のシグナルから、末端二重結合の存在が示唆された。この事は  $^1H$  NMR において 5.20 ppm (1H, ddd,  $J = 17.3, 1.8, 1.1$  Hz)、5.09 ppm (1H, ddd,  $J = 10.5, 1.8, 1.1$  Hz) 及び 5.88 ppm (1H, ddd,  $J = 17.3, 10.5, 7.1$  Hz) の 3 つの水素の存在からも支持された。その他、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルを検討したところ、1 つのトリプレットに分裂したメチル基と 5 つのメチレン炭素、及び 2 級水酸基の存在が示唆されたため、アグリコン部の構造は oct-1-en-3-ol であると推測した。この事は、アグリコン部の  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR におけるケミカルシフトが (3R)-oct-1-en-3-ol O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1" $\rightarrow$ 2')-O- $\beta$ -D-glucopyranoside<sup>28)</sup> のアグリコン部のそれとよく一致する事からも支持された。

一方、糖部分については、糖の構造及び絶対配置を決定するために、1M の塩酸で加水分解後、旋光度検出器を用いて HPLC 分析を行った結果、D-glucose であると決定した。さらに  $^1H$  NMR (Table 30) において glucopyranose のアノマー位の水素のカップリング定数が 7.7 Hz であることから、glucopyranose は  $\beta$  結合していると決定した。しかしながら、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルにおける糖部分のケミカルシフトは通常の glucopyranose のそれと比較すると 4 位を中心に差が見られた事から、分子式に S が含まれる事も勘案し、glucopyranose の 4 位に硫酸基がエステル結合していると推測した。このことは糖部分の  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR におけるケミカルシフトが硫酸エステル配糖体である sulfatricalysine F<sup>29)</sup> の糖部分のそれとよく一致したことから支持された。

Compound 27 のアグリコン部の 3 位の立体については、(3R)-oct-1-en-3-ol O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1" $\rightarrow$ 2')-O- $\beta$ -D-glucopyranoside のアグリコン部の立体決定に際し、そのままでは glucosylation-induced shift-trend rule を適用することができず、接触還元により得た還元体を用いて glucosylation-induced shift-trend rule を適用し、その立体を決定していた事を参考にした。すなわち、接触還元により、compound 27 の還元体である compound 27a を得、compound 27a のアグリコンである octan-3-ol と  $^{13}C$  NMR におけるケミカルシフトを比較した (Table 31)。その結果、compound 27a においては 2 位がいわゆる Pro-R、4 位がいわゆる Pro-S であると決定し、3 位の絶対配置は 3S であると決定した。したがって、compound 27 の 3 位の絶対配置は 3R であると決定した。

以上より、compound 27 の構造を Fig. 59 のように決定した。



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{21} -28.6$  ( $c = 0.27$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3364, 2931, 2865, 1650, 1457, 1235, 1076, 1029, 983, 831

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 369.1214  $[\text{M}-\text{H}]^-$

(calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{O}_9\text{S}$ : 369.1214)

Fig. 59 Structure and Physical data of Compound 27

Table 30  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 27

$^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	116.1	<i>t</i>	5.20 (1H, ddd, $J = 17.3, 1.8, 1.1$ Hz) 5.09 (1H, ddd, $J = 10.5, 1.8, 1.1$ Hz)
2	141.0	<i>d</i>	5.88 (1H, ddd, $J = 17.3, 10.5, 7.1$ Hz)
3	83.1	<i>d</i>	4.12 (1H, dt, $J = 7.1, 6.0$ Hz)
4	35.7	<i>t</i>	1.26-1.41 (2H, m)
5	25.7	<i>t</i>	1.26-1.41 (2H, m)
6	33.0	<i>t</i>	1.26-1.41 (2H, m)
7	23.7	<i>t</i>	1.69 (1H, m) 1.52 (1H, m)
8	14.4	<i>q</i>	0.90 (3H, t, $J = 7.0$ Hz)
Glc 1'	103.0	<i>d</i>	4.35 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)
2'	75.4	<i>d</i>	3.29 (1H, dd, $J = 9.1, 7.9$ Hz)
3'	77.0	<i>d</i>	3.64 (1H, dd, $J = 9.1, 8.9$ Hz)
4'	77.8	<i>d</i>	4.13 (1H, dd, $J = 9.9, 8.9$ Hz)
5'	76.2	<i>d</i>	3.34 (1H, ddd, $J = 9.9, 5.1, 2.4$ Hz)
6'	62.5	<i>t</i>	3.83 (1H, dd, $J = 12.5, 2.4$ Hz) 3.73 (1H, dd, $J = 12.5, 5.1$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

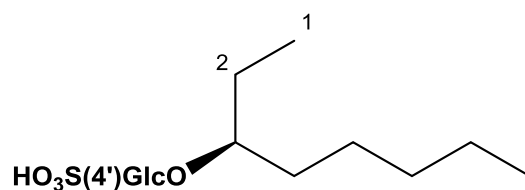


Fig. 60 Structure and Physical data of Compound **27a**

Table 31  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **27a**  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	10.0	<i>q</i>	0.92 (3H, dd, $J = 7.6, 7.2$ Hz)
2	28.7 (-2.5)*	<i>t</i>	1.59 (2H, m)
3	82.1 (+8.2)*	<i>d</i>	3.63 (1H, quintet-like, $J = 5.7$ Hz)
4	34.5 (-3.5)*	<i>t</i>	1.50 (1H, m)
			1.47 (1H, m)
5	25.8	<i>t</i>	1.42 (1H, m)
			1.36 (1H, m)
6	33.3	<i>t</i>	1.29 (2H, m)
7	23.7	<i>t</i>	1.33 (1H, m)
			1.31 (1H, m)
8	14.4	<i>q</i>	0.90 (3H, t, $J = 7.0$ Hz)
Glc 1'	103.3	<i>d</i>	4.34 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)
2'	75.3	<i>d</i>	3.26 (1H, dd, $J = 9.3, 7.9$ Hz)
3'	76.9	<i>d</i>	3.65 (1H, dd, $J = 9.3, 9.1$ Hz)
4'	78.0	<i>d</i>	4.11 (1H, dd, $J = 9.8, 9.1$ Hz)
5'	76.1	<i>d</i>	3.37 (1H, ddd, $J = 9.8, 5.7, 1.9$ Hz)
6'	62.7	<i>t</i>	3.87 (1H, dd, $J = 12.5, 1.9$ Hz)
			3.74 (1H, dd, $J = 12.5, 5.7$ Hz)

\* :  $\Delta\delta_{27a-\text{Octan-3-ol}}$ , m: multiplet or overlapped signals

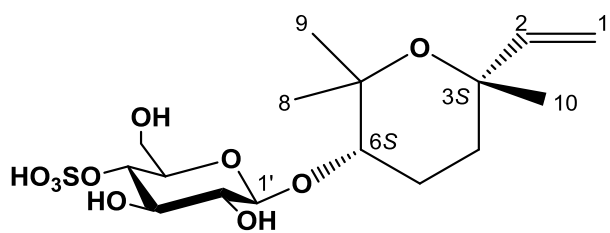
Compound 28 及び compound 29 の分子式は、HR-ESI-MS より、共に  $C_{16}H_{27}O_{10}S$  と決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 31, 32) における 14 本のシグナルのうち 6 本は compound 27 の糖部分のとはよく似ていたことから、compound 28 及び compound 29 は compound 27 と同様に、4 位に硫酸エステルを有する glucopyranose をその部分構造として持つと推測した。

$^{13}C$  NMR において糖を除くシグナルはそれぞれ 10 本であることからアグリコンはモノテルペンであると推測した。まず、compound 28 については、111.5 ppm のメチレン炭素と 147.5 ppm のメチン炭素から末端二重結合の存在が示唆され、その他、3 つのメチル基や、2 つのメチレン炭素、1 つの 2 級水酸基の存在などが示唆された。これらの条件をもとに検討したところ、compound 28 のアグリコン部の構造は Fig. 48 に示すような構造であると推測した。このことは  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR におけるアグリコン部のケミカルシフトが、推定した compound 28 の glucopyranose の 4 位がフリーの状態である (3*S*,6*S*)-*cis*-linalool-3,7-oxide  $\beta$ -D-glucopyranoside<sup>30</sup>のそれとよく一致したことから支持された。さらに、2D-NMR (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も、Fig. 49 に示すように推測した構造を支持するものであったことから、compound 28 の平面構造は (3*S*,6*S*)-*cis*-linalool-3,7-oxide  $\beta$ -D-glucopyranoside を構成する glucopyranose の 4 位に硫酸基がエステル結合したものであると決定した。

アグリコン部の立体については (3*S*,6*S*)-*cis*-linalool-3,7-oxide  $\beta$ -D-glucopyranoside と  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR におけるケミカルシフトがよく一致する事から 3*S*、6*S* であると決定した。この事は、Phase sensitive NOESY における相関 (Fig. 63) から 10 位のメチル基が eq 配置であると決定し、 $^1H$  NMR におけるカップリング定数から 6 位の水素は ax 配置である事を勘案した結果、compound 28 は 6 位の水酸基と 3 位に結合する末端二重結合部分が同じ側となる *cis* 体であると確認できたことから支持された。

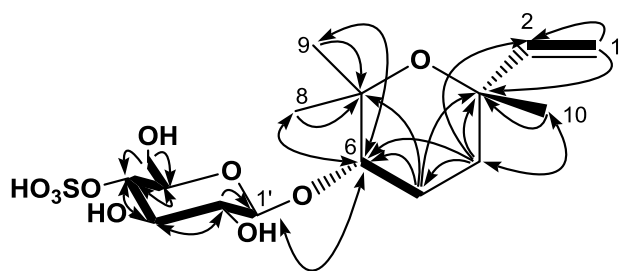
一方、compound 29 についても、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR 共に compound 28 とよく似たシグナルが観測されたが、アグリコン部について、compound 28 では 6 位の水素 3.41 ppm (1H, dd,  $J = 11.3, 4.2$  Hz) は ax 配置であったのに対し、compound 29 では 6 位の水素 3.59 ppm (1H, dd,  $J = 5.7, 2.6$  Hz) は eq 配置であるなど差が見られたため、compound 29 のアグリコンは compound 28 のそれと立体異性体の関係にあると推測した。2D-NMR (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も、Fig. 65 に示すように推測した構造を支持するものであり、さらに、PSNOESY における相関 (Fig. 67) から 10 位のメチル基が eq 配置であると決定し、 $^1H$  NMR におけるカップリング定数から 6 位の水素は eq 配置である事を勘案し、compound 29 は *trans* 体、すなわち 3*R*\*、6*S*\*であると決定した。絶対立体配置については現在検討中である。

以上より、compound 28 及び compound 29 の構造をそれぞれ Fig.61、64 のように決定した。



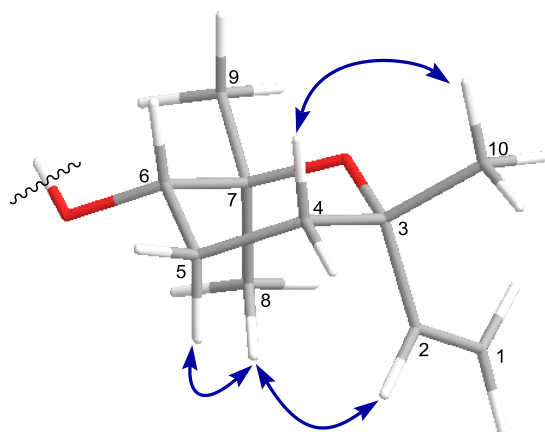
Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{32} +19.7$  ( $c = 0.15$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3393, 2928, 1604, 1364,  
 1267, 1237, 1073, 1029, 985, 829  
 HR-ESI-MS (negative)  
 $m/z$ : 411.1323  $[\text{M}-\text{H}]^-$   
 (calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{O}_{10}\text{S}$ : 411.1319)

Fig. 61 Structure and Physical data of Compound **28**



H — H  
 Important H-H COSY Correlations  
 H — C  
 Important HMBC Correlations

Fig. 62 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **28**



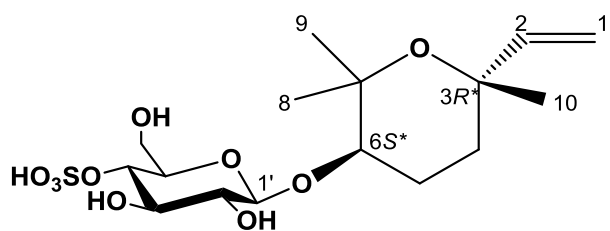
H — H  
 Important PSNOESY Correlations

Fig. 63 Important Phase sensitive NOESY correlations of Compound **28**



Table 31 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound **28**  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	111.5	<i>t</i>	5.03 (1H, dd, <i>J</i> = 18.1, 0.8 Hz) 4.95 (1H, dd, <i>J</i> = 11.3, 0.8 Hz)
2	147.5	<i>d</i>	5.96 (1H, ddd, <i>J</i> = 18.1, 11.3, 1.1 Hz)
3	74.9	<i>s</i>	-
4	33.7	<i>t</i>	2.16 (1H, ddd, <i>J</i> = 13.9, 4.0, 3.6 Hz, eq) 1.58 (1H, dddd, 13.9, 13.8, 4.0, 1.1 Hz, ax)
5	25.7	<i>t</i>	1.98 (1H, dddd, <i>J</i> = 11.6, 4.2, 4.0, 4.0 Hz, eq) 1.80 (1H, dddd, <i>J</i> = 13.8, 13.2, 11.3, 4.0 Hz, ax)
6	85.9	<i>d</i>	3.41 (1H, dd, <i>J</i> = 11.3, 4.2 Hz, ax)
7	77.2	<i>s</i>	-
8	22.0	<i>q</i>	1.20 (3H, s)
9	30.1	<i>q</i>	1.25 (3H, s)
10	32.3	<i>q</i>	1.11 (3H, s)
Glc 1'	106.0	<i>d</i>	4.36 (1H, d, <i>J</i> = 7.9 Hz)
2'	75.4	<i>d</i>	3.24 (1H, dd, <i>J</i> = 9.1, 7.9 Hz)
3'	76.9	<i>d</i>	3.63 (1H, dd, <i>J</i> = 9.1, 8.9 Hz)
4'	77.8	<i>d</i>	4.09 (1H, dd, <i>J</i> = 9.8, 8.9 Hz)
5'	76.1	<i>d</i>	3.40 (1H, ddd, <i>J</i> = 9.8, 5.7, 2.2 Hz)
6'	62.6	<i>t</i>	3.88 (1H, dd, <i>J</i> = 12.5, 2.2 Hz) 3.74 (1H, dd, <i>J</i> = 12.5, 5.7 Hz)



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{25} -24.2$  ( $c = 0.10$ , MeOH)

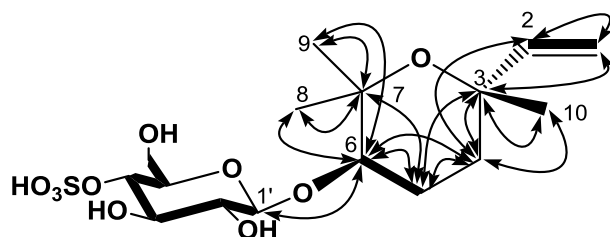
IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3307, 2973, 1650, 1367, 1367, 1260, 1231, 1081, 1029, 984, 826

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 411.1322  $[\text{M}-\text{H}]^-$

(calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{O}_{10}\text{S}$ : 411.1319)

Fig. 64 Structure and Physical data of Compound **29**



H — H  
Important H-H COSY Correlations  
H — C  
Important HMBC Correlations

Fig. 65 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **29** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

Table 32  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **29** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

$^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	111.1	<i>t</i>	5.07 (1H, dd, $J = 17.9, 1.1$ Hz) 4.95 (1H, dd, $J = 10.8, 1.1$ Hz)
2	148.4	<i>d</i>	5.94 (1H, ddd, $J = 17.9, 10.8$ Hz)
3	75.2	<i>s</i>	-
4	29.2	<i>t</i>	1.91 (1H, m) 1.71 (1H, m)
5	21.1	<i>t</i>	1.91 (1H, m) 1.85 (1H, m)
6	77.5	<i>d</i>	3.59 (1H, dd, $J = 5.7, 2.6$ Hz, eq)
7	76.6	<i>s</i>	-
8	28.4	<i>q</i>	1.25 (3H, s)
9	27.0	<i>q</i>	1.24 (3H, s)
10	30.6	<i>q</i>	1.20 (3H, s)
Glc 1'	101.2	<i>d</i>	4.35 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)
2'	75.1	<i>d</i>	3.31 (1H, m)
3'	77.0	<i>d</i>	3.67 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz)
4'	78.1	<i>d</i>	4.11 (1H, dd, $J = 9.9, 9.0$ Hz)
5'	76.3	<i>d</i>	3.38 (1H, ddd, $J = 9.9, 5.7, 2.2$ Hz)
6'	62.8	<i>t</i>	3.89 (1H, dd, $J = 12.2, 2.2$ Hz) 3.72 (1H, dd, $J = 12.2, 5.7$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

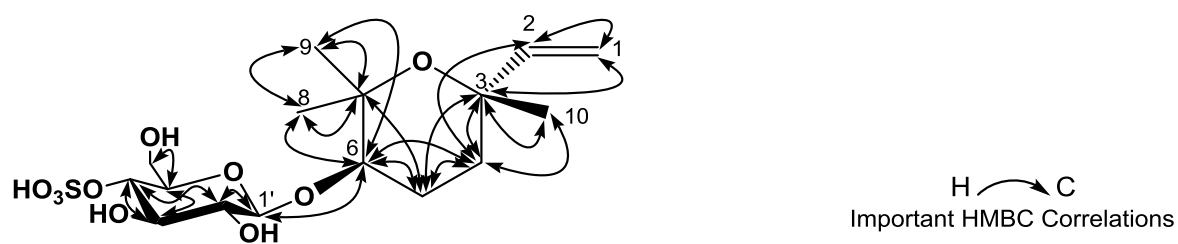


Fig. 66 HMBC correlations in  $C_5D_5N$  of Compound **29** in  $C_5D_5N$

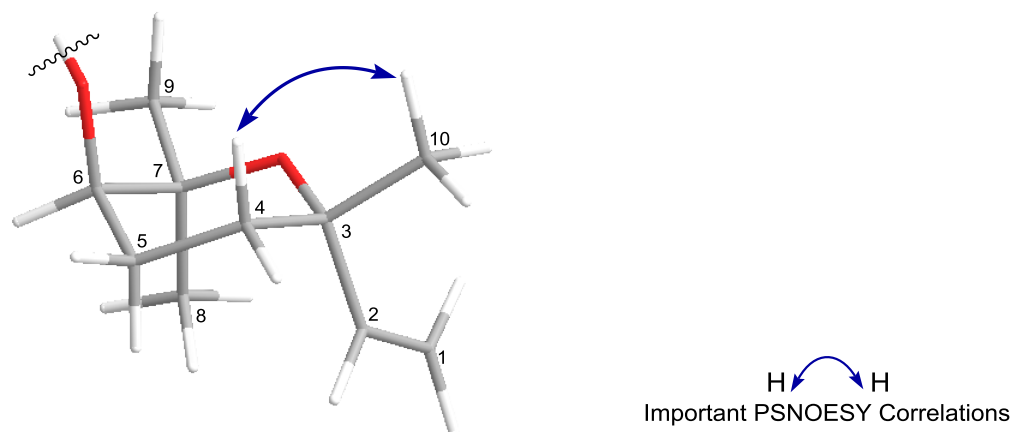


Fig. 67 Important Phase sensitive NOESY correlations of Compound **29** in  $C_5D_5N$

Table 33  $^{13}C$  and  $^1H$  NMR data for Compound **29** in  $C_5D_5N$   
 $^{13}C$  and  $^1H$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $C_5D_5N$ )

Position	$^{13}C$		$^1H$
1	110.3	<i>t</i>	5.06 (1H, m) 4.94 (1H, m)
2	148.0	<i>d</i>	6.00 (1H, dd, $J = 17.8, 10.8$ Hz)
3	73.5	<i>s</i>	-
4	28.8	<i>t</i>	2.06 (1H, ddd, $J = 14.0, 9.6, 4.5$ Hz, ax) 1.68 (1H, m, eq)
5	20.9	<i>t</i>	1.96 (2H, m)
6	77.1	<i>d</i>	3.71 (1H, dd, $J = 5.3, 3.8$ Hz, eq)
7	74.9	<i>s</i>	-
8	28.4	<i>q</i>	1.28 (3H, s)
9	26.9	<i>q</i>	1.37 (3H, s)
10	30.2	<i>q</i>	1.15 (3H, s)
Glc 1'	101.7	<i>d</i>	4.78 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)
2'	75.0	<i>d</i>	3.96 (1H, dd, $J = 9.3, 7.8$ Hz)
3'	76.3	<i>d</i>	5.24 (1H, dd, $J = 9.3, 9.3$ Hz)
4'	77.2	<i>d</i>	4.43 (1H, dd, $J = 9.5, 9.3$ Hz)
5'	76.3	<i>d</i>	3.80 (1H, ddd, $J = 9.5, 3.5, 1.9$ Hz)
6'	62.0	<i>t</i>	4.51 (1H, dd, $J = 12.7, 3.5$ Hz) 4.36 (1H, dd, $J = 12.7, 1.9$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

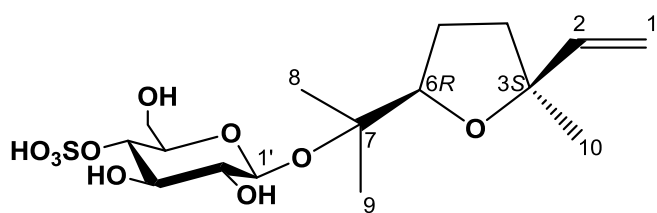
Compound 30 及び compound 31 の分子式は、HR-ESI-MS より、共に  $C_{16}H_{27}O_{10}S$  と決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 34, 35) における 14 本のシグナルのうち 6 本は compound 27-29 の糖部分のものとよく似ていたことから、compound 30 及び compound 31 は compound 27-29 と同様に、4 位に硫酸エステルを有する glucopyranose をその部分構造として持つと推測した。

$^{13}C$  NMR において糖を除くシグナルはそれぞれ 10 本であり、また compound 28 及び compound 29 とケミカルシフトが似ていたことからアグリコンはモノテルペンであると推測した。しかしながら、compound 28 及び compound 29 において観測された酸素原子が結合した炭素に由来するシグナルは 74.9 ppm、77.2 ppm、85.9 ppm、もしくは 75.2 ppm、76.6 ppm、77.5 ppm であったのに対し、compound 30 では 80.3 ppm、84.5 ppm、85.3 ppm、compound 31 では 80.8 ppm、84.9 ppm、86.9 ppm とやや低磁場シフトするなど差が見られた。このうち、compound 30 については  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルを検討した結果、compound 30 のアグリコン部の構造は Fig. 68 に示すような構造であると推測した。このことは  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR におけるアグリコン部のケミカルシフトが、推定した compound 30 の glucopyranose の 4 位がフリーの状態である (3*S*,6*R*)-*cis*-linalool-3,6-oxide  $\beta$ -D-glucopyranoside<sup>30)</sup> のそれとよく一致したことからも支持された。さらに、2D-NMR (H-H COSY、HMBC) において観測された相関も、Fig. 69 に示すように推測した構造を支持するものであったことから、compound 30 の平面構造は (3*S*,6*R*)-*cis*-linalool-3,6-oxide  $\beta$ -D-glucopyranoside を構成する glucopyranose の 4 位に硫酸基がエステル結合したものであると決定した。

アグリコン部の立体については (3*S*,6*R*)-*cis*-linalool-3,6-oxide  $\beta$ -D-glucopyranoside と  $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR におけるケミカルシフトがよく一致する事から 3*S*、6*R* であると決定した。この事は、PSNOESY (Fig. 70) において 6 位の水素と 10 位のメチル基との間に相関が見られた事から、6 位の炭素鎖と 3 位に結合する末端二重結合部分が同じ側となる *cis* 体である事が確認された事からも支持された。

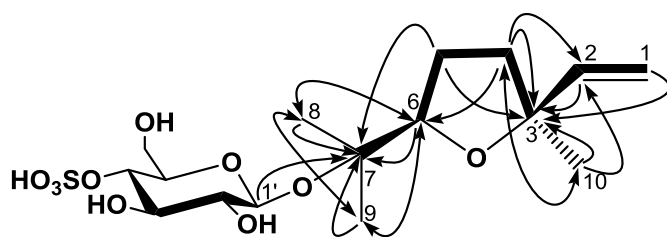
一方、compound 31 について 2D-NMR (H-H COSY、HMBC) を測定したところ、Fig. 72 に示すように相関が観測されたことから、compound 31 は compound 30 と同じ平面構造であると決定した。さらに、PSNOESY (Fig. 74) において 6 位の水素と 2 位の水素との間に相関が見られた事から、compound 29 は *trans* 体、すなわち 3*R*\*、6*R*\*であると決定した。絶対立体配置については現在検討中である。

以上より、compound 30 及び compound 31 の構造をそれぞれ Fig.68、71 のように決定した。



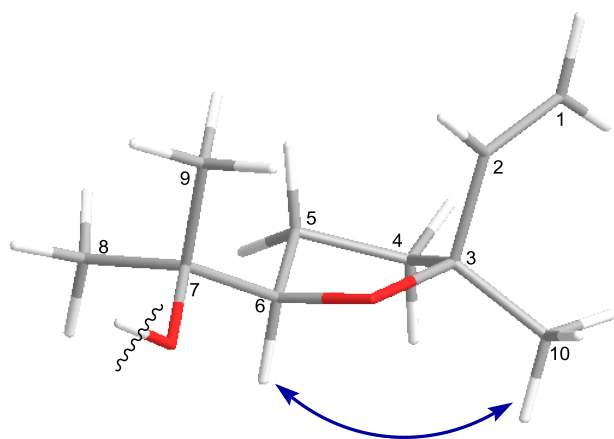
Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{20} -12.8$  ( $c = 0.40$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3303, 2976, 2942, 1650,  
 1457, 1370, 1231, 1082, 1034, 984, 819  
 HR-ESI-MS (negative)  
 $m/z$ : 411.1327  $[\text{M}-\text{H}]^-$   
 (calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{O}_{10}\text{S}$ : 411.1319)

Fig. 68 Structure and Physical data of Compound **30**



H — H  
 Important H-H COSY Correlations  
 H — C  
 Important HMBC Correlations

Fig. 69 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **30**



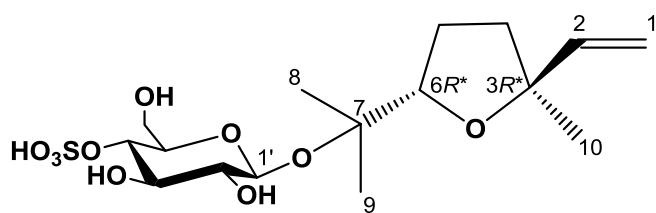
H ↔ H  
 Important PSNOESY Correlations

Fig. 70 Important Phase sensitive NOESY correlations of Compound **30**

Table 34  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **30**  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	112.0	<i>t</i>	5.21 (1H, dd, $J = 17.5, 1.5$ Hz) 4.98 (1H, dd, $J = 10.8, 1.5$ Hz)
2	145.5	<i>d</i>	6.00 (1H, dd, $J = 17.5, 10.8$ Hz)
3	84.5	<i>s</i>	-
4	38.7	<i>t</i>	1.89 (1H, m) 1.81 (1H, m)
5	28.1	<i>t</i>	2.00 (1H, m) 1.87 (1H, m)
6	85.3	<i>d</i>	4.08 (1H, t, $J = 7.1$ Hz)
7	80.3	<i>s</i>	-
8	23.5	<i>q</i>	1.26 (3H, s)
9	32.8	<i>q</i>	1.23 (3H, s)
10	25.9	<i>q</i>	1.29 (3H, s)
Glc 1'	98.2	<i>d</i>	4.61 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)
2'	75.4	<i>d</i>	3.25 (1H, dd, $J = 9.2, 7.8$ Hz)
3'	76.8	<i>d</i>	3.68 (1H, dd, $J = 9.2, 9.0$ Hz)
4'	77.8	<i>d</i>	4.13 (1H, dd, $J = 9.8, 9.0$ Hz)
5'	76.1	<i>d</i>	3.39 (1H, ddd, $J = 9.8, 5.3, 2.4$ Hz)
6'	62.6	<i>t</i>	3.84 (1H, dd, $J = 12.5, 2.4$ Hz) 3.73 (1H, dd, $J = 12.5, 5.3$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{26} + 3.23$  ( $c = 0.31$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3404, 2975, 1650, 1456,  
 1370, 1256, 1234, 1078, 1028, 985, 817  
 HR-ESI-MS (negative)  
 $m/z$ : 411.1325  $[\text{M}-\text{H}]^-$   
 (calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{O}_{10}\text{S}$ : 411.1319)

Fig. 71 Structure and Physical data of Compound **31**

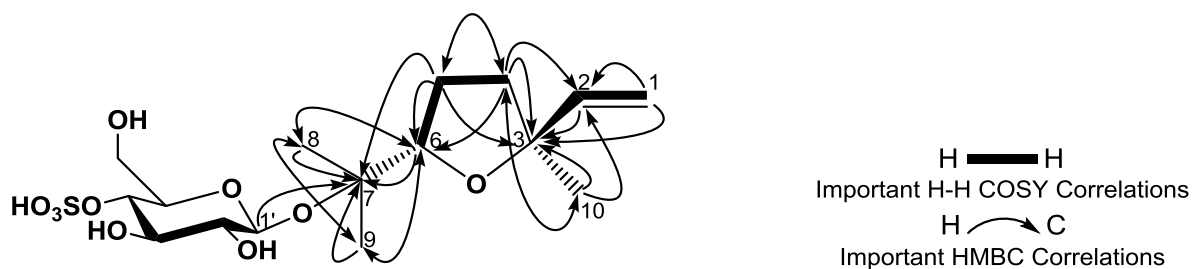


Fig. 72 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **31** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

Table 35  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **31** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

$^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	112.2	<i>t</i>	5.22 (1H, dd, $J = 17.3, 1.5$ Hz) 4.95 (1H, dd, $J = 10.8, 1.5$ Hz)
2	144.9	<i>d</i>	5.94 (1H, ddd, $J = 17.3, 10.8$ Hz)
3	84.9	<i>s</i>	-
4	38.1	<i>t</i>	1.91 (1H, m) 1.74 (1H, m)
5	28.1	<i>t</i>	1.92 (1H, m) 1.84 (1H, m)
6	86.9	<i>d</i>	4.01 (1H, t, $J = 7.0$ Hz)
7	80.8	<i>s</i>	-
8	23.7	<i>q</i>	1.22 (3H, s)
9	21.1	<i>q</i>	1.25 (3H, s)
10	26.9	<i>q</i>	1.33 (3H, s)
Glc 1'	98.6	<i>d</i>	4.55 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)
2'	75.1	<i>d</i>	3.25 (1H, d, $J = 9.2, 7.9$ Hz)
3'	76.7	<i>d</i>	3.68 (1H, dd, $J = 9.2, 9.0$ Hz)
4'	78.0	<i>d</i>	4.13 (1H, dd, $J = 9.9, 9.0$ Hz)
5'	76.1	<i>d</i>	3.39 (1H, ddd, $J = 9.9, 5.3, 2.2$ Hz)
6'	62.6	<i>t</i>	3.84 (1H, dd, $J = 12.2, 2.2$ Hz) 3.73 (1H, dd, $J = 12.2, 5.3$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

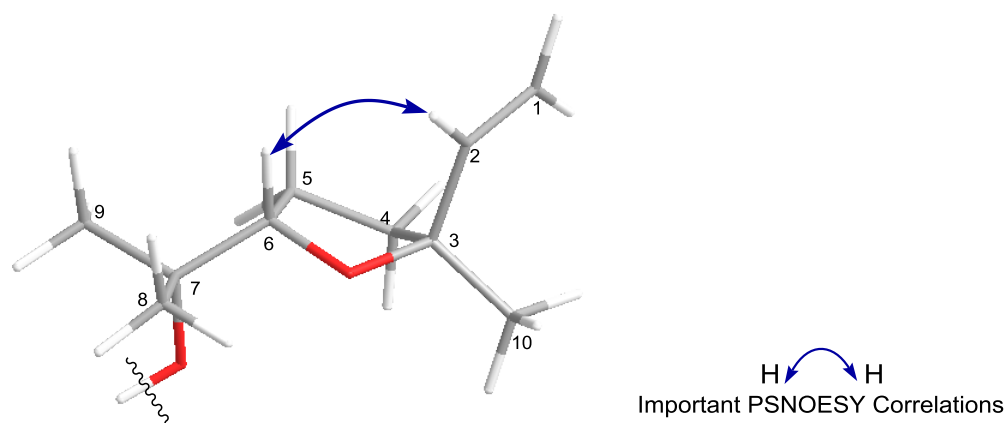
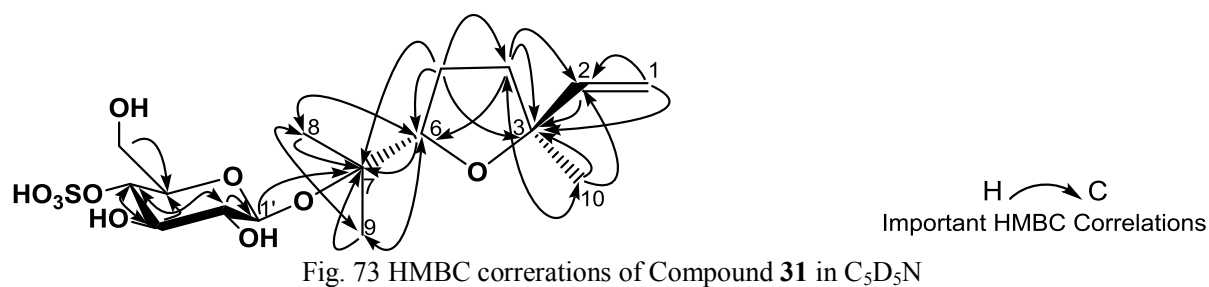


Table 36 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound **31** in C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (100 MHz and 400 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	111.5	<i>t</i>	5.28 (1H, dd, <i>J</i> = 17.4, 1.7 Hz) 5.00 (1H, m)
2	144.4	<i>d</i>	5.90 (1H, dd, <i>J</i> = 17.4, 10.6 Hz)
3	83.5	<i>s</i>	-
4	37.3	<i>t</i>	1.74 (1H, m) 1.57 (1H, m)
5	26.9	<i>t</i>	1.90 (1H, m) 1.85 (1H, m)
6	84.8	<i>d</i>	4.05 (1H, dd, <i>J</i> = 7.2, 6.8 Hz)
7	79.2	<i>s</i>	-
8	22.6	<i>q</i>	1.33 (3H, s)
9	23.2	<i>q</i>	1.42 (3H, s)
10	26.8	<i>q</i>	1.30 (3H, s)
Glc 1'	98.4	<i>d</i>	4.98 (1H, m)
2'	75.0	<i>d</i>	3.98 (1H, dd, <i>J</i> = 8.9, 7.9 Hz)
3'	76.3	<i>d</i>	5.18 (1H, dd, <i>J</i> = 9.1, 8.9 Hz)
4'	76.9	<i>d</i>	4.36 (1H, dd, <i>J</i> = 9.1, 8.7 Hz)
5'	75.8	<i>d</i>	3.74 (1H, m)
6'	61.8	<i>t</i>	4.47 (1H, dd, <i>J</i> = 12.7, 2.1 Hz) 3.73 (1H, br d, <i>J</i> = 12.7 Hz)

m: multiplet or overlapped signals

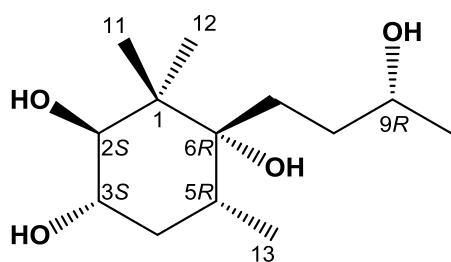


Compound 32 の分子式は、HR-ESI-MS より、共に  $C_{13}H_{24}O_4$  と決定した。炭素数が 13 であること、 $^{13}C$  NMR (Table 37) において 44.9 ppm の 4 級炭素、4 つのメチル基の存在などから compound 32 は megastigmane 骨格を有すると推測した。その他、3 つの 2 級水酸基と 1 つの 3 級水酸基の存在が示唆された。より詳細な検討を行うために 2D-NMR (H-H COSY, HMBC) を測定したところ、Fig. 76 に示すように相関が観測されたことから、compound 32 の平面構造を Fig. 75 のように決定した。

相対立体配置については、2 位の水素 3.47 ppm (1H, d,  $J=9.7$  Hz) と 3 位の水素 3.58 ppm (1H, ddd,  $J=11.5, 9.7, 5.1$  Hz) が 9.7 Hz にカップリングしていることから 2 位及び 3 位の水素は ax 配置、また、4 位の水素 1.70 ppm (1H, ddd,  $J=12.6, 5.1, 4.0$  Hz, eq) 及び 1.50 ppm (1H, ddd,  $J=13.1, 12.6, 11.5$  Hz, ax) と 5 位の水素 1.98 ppm (1H, dqd,  $J=13.1, 6.8, 4.0$  Hz) が 4.0 Hz と 13.1 Hz でカップリングしていることから 5 位の水素も ax 配置であると決定し、2 位及び 3 位の水酸基と 13 位のメチル基はすべて eq 配置であると決定した。さらに、PSNOESY (Fig. 77) において ax 配置である 11 位のメチル基と 7 位の水素との間に相関が見られたことから 6 位の水酸基は ax 配置であると決定した。

絶対立体配置については改良モッシャー法により検討を行った。Compound 32 の *R* 及び *S*-MTPA エステル体 (Compounds 32a, 32b) を得、検討した結果 (Fig. 78)、3*S*、9*R* であると決定し、前述の相対配置を踏まえ、compound 32 の絶対配置は 2*S*、3*S*、5*R*、6*R*、9*R* であると決定した。

以上より、compound 32 の構造を Fig. 75 のように決定した。



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{20} +3.23$  ( $c = 0.31$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3383, 2972, 2934, 2878, 1456, 1368, 1137, 1066, 1031, 980

HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 267.1560  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   
(calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$ : 267.1566)

Fig. 75 Structure and Physical data of Compound **32**

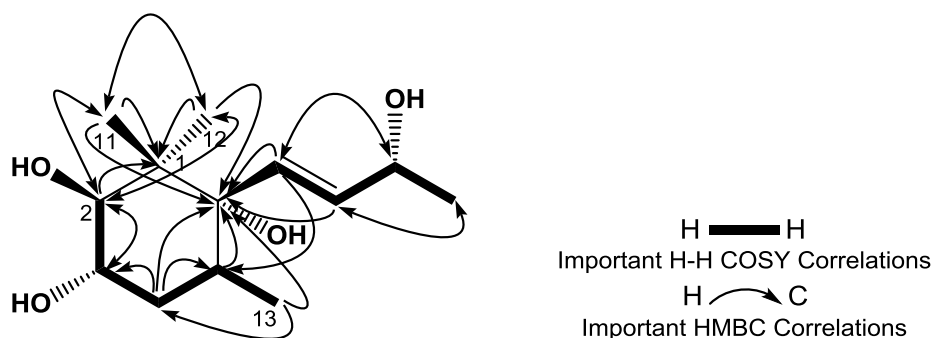


Fig. 76 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **32**

Table 37  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **32**  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	44.9	<i>s</i>	-
2	79.0	<i>d</i>	3.47 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, ax)
3	71.7	<i>d</i>	3.58 (1H, ddd, $J = 11.5, 9.7, 5.1$ Hz, ax)
4	37.8	<i>t</i>	1.70 (1H, ddd, $J = 12.6, 5.1, 4.0$ Hz, eq) 1.50 (1H, ddd, $J = 13.1, 12.6, 11.5$ Hz, ax)
5	34.7	<i>d</i>	1.98 (1H, dqd, $J = 13.1, 6.8, 4.0$ Hz, ax)
6	80.0	<i>s</i>	-
7	133.8	<i>d</i>	5.58 (1H, dd, $J = 15.9, 1.1$ Hz)
8	135.6	<i>d</i>	5.71 (1H, dd, $J = 15.9, 5.9$ Hz)
9	69.2	<i>d</i>	4.30 (1H, qdd, $J = 6.4, 5.9, 1.1$ Hz)
10	24.1	<i>q</i>	1.25 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
11	17.8	<i>q</i>	0.87 (3H, s)
12	21.5	<i>q</i>	0.96 (3H, s)
13	16.1	<i>q</i>	0.79 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)

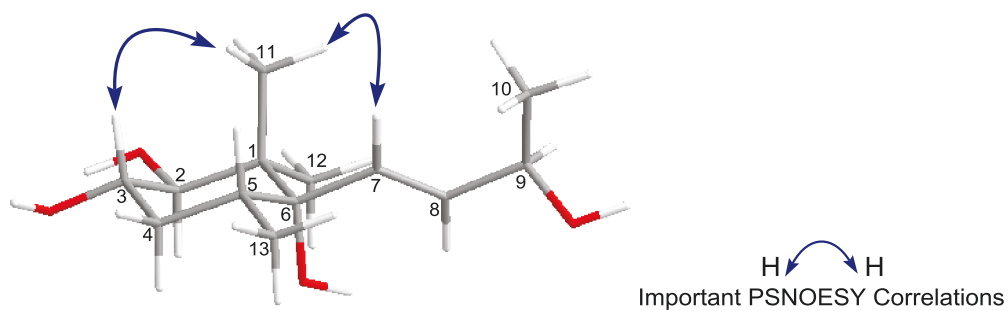
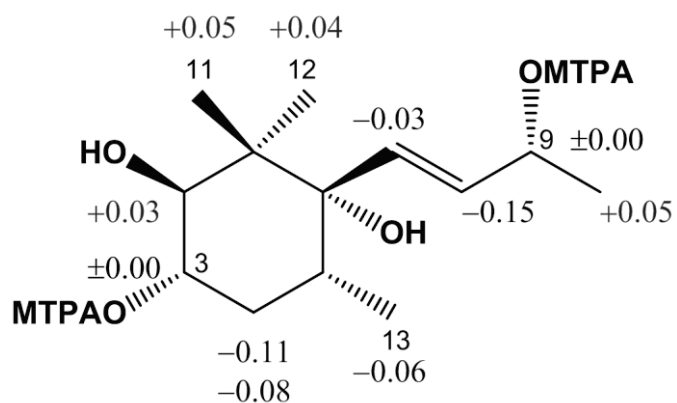


Fig. 77 Important Phase sensitive NOESY correlations of Compound **32**



$\Delta\delta$  Values are in ppm ( $\delta_S - \delta_R$ )

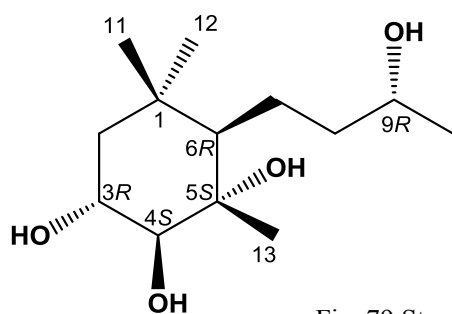
Fig. 78 Result with the modified Mosher's method for Compounds **32a** and **32b**

Compound 33 の分子式は、HR-ESI-MS より、共に  $C_{13}H_{24}O_4$  と決定した。炭素数が 13 であること、 $^{13}C$  NMR (Table 38) において 34.6 ppm の 4 級炭素、4 つのメチル基の存在などから compound 33 は compound 32 と同様 megastigmane 骨格を有すると推測した。その他、3 つの 2 級水酸基と 1 つの 3 級水酸基の存在が示唆された。より詳細な検討を行うために 2D-NMR (H-H COSY、HMBC) を測定したところ、Fig. 80 に示すように相関が観測されたことから、compound 32 の平面構造を Fig. 78 のように決定した。

相対立体配置については、3 位の水素 3.52 ppm (1H, ddd,  $J = 11.7, 9.8, 4.3$  Hz) と 4 位の水素 3.16 ppm (1H, d,  $J = 9.8$  Hz) が 9.8 Hz にカップリングしていることから 3 位及び 4 位の水素は ax 配置であると決定し、3 位及び 4 位の水酸基は eq 配置であると決定した。さらに、PSNOESY (Fig. 81) において 3 位の水素と 13 位のメチル基との間に相関が観測されたことから 13 位のメチル基は ax 配置、すなわち 5 位の水酸基は eq 配置であると決定すると共に、ax 配置である 4 位の水素と 6 位の水素、ax 配置である 11 位のメチル基と 7 位の水素との間にそれぞれ相関が見られたことから 6 位の水素は ax 配置であると決定した。

絶対立体配置については改良モッシャー法により検討を行った。Compound 33 の *R* 及び *S*-MTPA エステル体 (Compounds 33a, 33b) を得、検討した結果 (Fig. 82)、4*S*、9*R* であると決定し、前述の相対配置を踏まえ、compound 33 の絶対配置は 3*R*、4*S*、5*S*、6*R*、9*R* であると決定した。

以上より、compound 33 の構造を Fig. 79 のように決定した。



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{20} -12.7$  ( $c = 0.07$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3363, 2966, 1651, 1457, 1392, 1127, 1078, 1044, 980

HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 267.1367  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   
(calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$ : 267.1566)

Fig. 79 Structure and Physical data of Compound 33

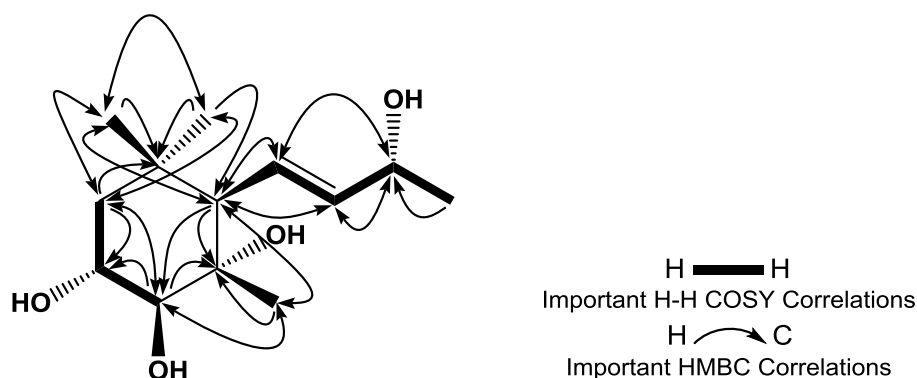


Fig. 80 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 33

Table 38  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 33

$^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	34.6	<i>s</i>	-
2	48.6	<i>t</i>	1.73 (1H, dd, $J = 12.9, 4.3$ Hz, eq) 1.32 (1H, dd, $J = 12.9, 11.7$ Hz, ax)
3	69.7	<i>d</i>	3.52 (1H, ddd, $J = 11.7, 9.8, 4.3$ Hz, ax)
4	84.4	<i>d</i>	3.16 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, ax)
5	76.7	<i>s</i>	-
6	60.8	<i>d</i>	1.87 (4H, d, $J = 9.8$ Hz)
7	125.9	<i>d</i>	5.66 (1H, ddd, $J = 15.1, 9.8, 0.9$ Hz)
8	141.2	<i>d</i>	5.60 (1H, dd, $J = 15.1, 5.3$ Hz)
9	69.0	<i>d</i>	4.26 (1H, qdd, $J = 6.4, 5.3, 0.9$ Hz)
10	23.7	<i>q</i>	1.25 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
11	17.8	<i>q</i>	0.96 (3H, s)
12	21.5	<i>q</i>	0.89 (3H, s)
13	16.1	<i>q</i>	1.15 (3H, s)

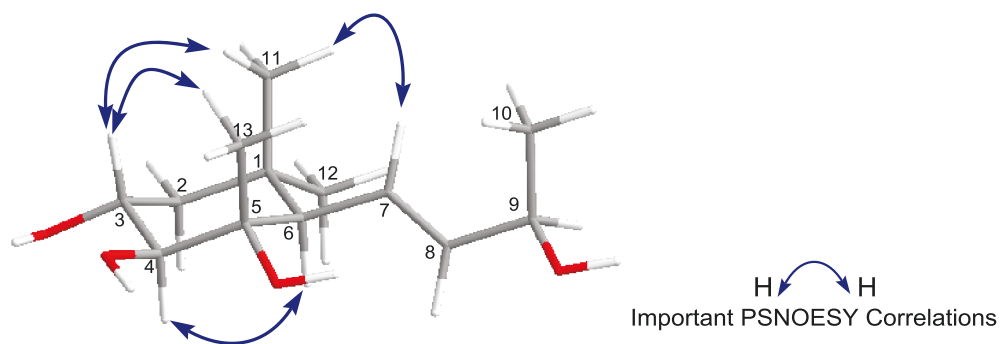


Fig. 81 Important Phase sensitive NOESY correlations of Compound **33**

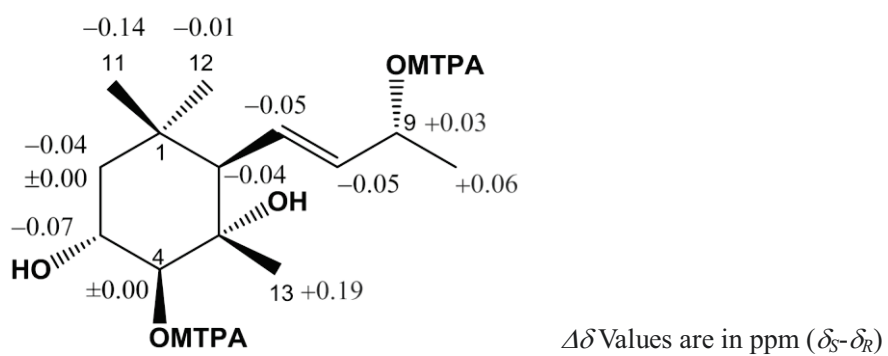


Fig. 82 Result with the modified Mosher's method for Compounds **33a** and **33b**

Compound 34 の分子式は、HR-ESI-MS より、共に  $C_{43}H_{68}O_{15}$  と決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 39) において糖に由来すると推測されるシグナルが 2 組、メチルエステルに由来すると推測されるシグナルが 1 本観測され、それらを除くと炭素数が 30 であることからアグリコンは triterpene であると推測した。さらに、 $^1H$  NMR において観測された 6 つのメチル基 1.24 ppm (3H, s)、1.08 ppm (3H, s)、1.01 ppm (3H, s)、0.99 ppm (3H, s)、0.93 ppm (3H, s)、0.89 ppm (3H, s) はすべてシングレットであった事から oleanane 型 triterpene であると推測した。その他、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトルより、1 組の二重結合、1 つのカルボキシル基、1 つの 1 級水酸基の存在が示唆された。これらの条件を踏まえ、種々の文献値と比較したところ、既知化合物としてすでに単離していた compound 39<sup>31)</sup> のグルクロン酸部分がメチルエステル化した構造であると決定した。

以上より、compound 34 の構造を Fig. 83 のように決定した。

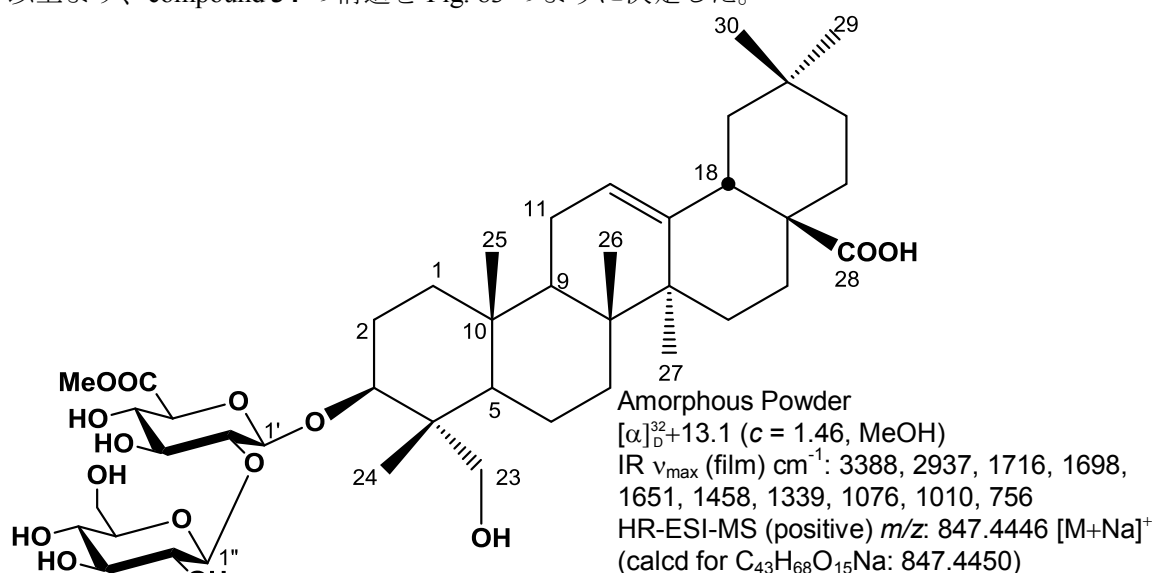


Fig. 83 Structure and Physical data of Compound 34

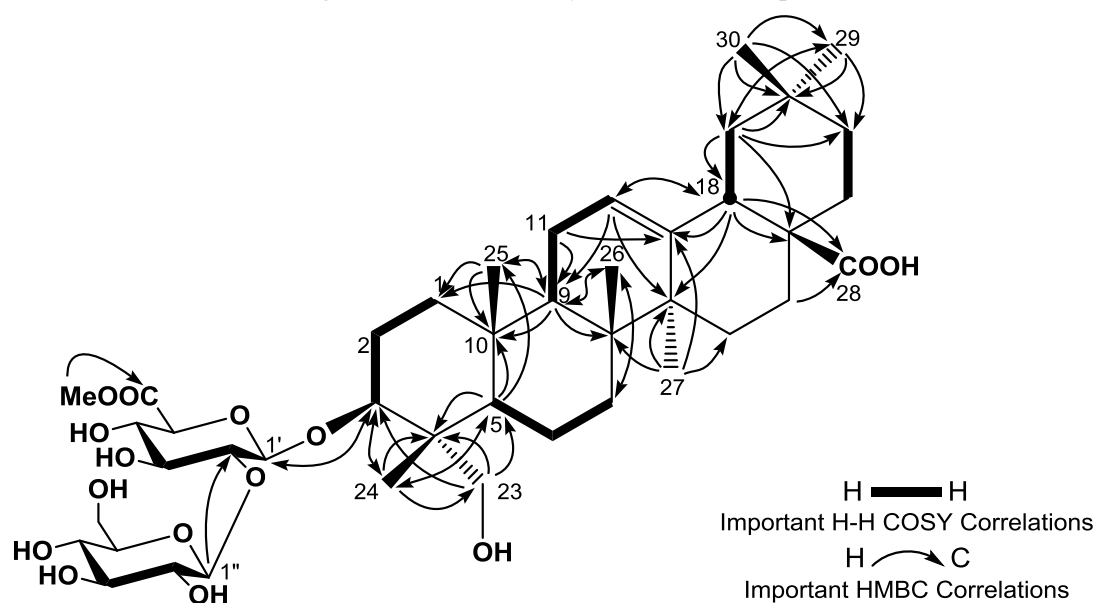


Fig. 84 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 34

Table 39 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound 34  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H	Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	38.6	<i>t</i>	1.46 (1H, m) 0.94 (1H, m)	21	34.2	<i>t</i>	1.43 (1H, m) 1.20 (1H, m)
2	26.0	<i>t</i>	2.19 (1H, m) 1.99 (1H, m)	22	33.2	<i>t</i>	2.04 (1H, m) 1.81 (1H, m)
3	82.7	<i>d</i>	4.19 (1H, dd, <i>J</i> = 11.5, 3.9 Hz, ax)	23	64.6	<i>t</i>	4.37 (1H, d, <i>J</i> = 11.1 Hz) 3.75 (1H, d, <i>J</i> = 11.1 Hz)
4	43.6	<i>s</i>	-	24	13.4	<i>q</i>	1.07 (3H, s)
5	48.0	<i>d</i>	1.60 (1H, m)	25	16.0	<i>q</i>	0.90 (3H, s)
6	18.2	<i>t</i>	1.72 (1H, m) 1.34 (1H, m)	26	17.4	<i>q</i>	1.01 (3H, s)
7	32.9	<i>t</i>	1.58 (1H, m) 1.26 (1H, m)	27	26.2	<i>q</i>	1.23 (3H, s)
8	39.7	<i>s</i>	-	28	180.2	<i>s</i>	-
9	48.0	<i>d</i>	1.73 (1H, m)	29	33.3	<i>q</i>	0.93 (3H, s)
10	36.8	<i>s</i>	-	30	23.8	<i>q</i>	1.00 (3H, s)
11	23.8	<i>t</i>	1.92 (2H, m)	Glc A 1'	104.3	<i>d</i>	5.18 (1H, d, <i>J</i> = 7.3 Hz)
12	122.6	<i>d</i>	5.46 (1H, t, <i>J</i> = 3.2 Hz)	2'	83.2	<i>d</i>	4.25 (1H, m)
13	144.8	<i>s</i>	-	3'	77.6	<i>d</i>	4.22 (1H, m)
14	42.0	<i>s</i>	-	4'	72.7	<i>d</i>	4.40 (1H, m)
15	28.3	<i>t</i>	2.14 (1H, m) 1.12 (1H, dt, <i>J</i> = 13.0, 3.1 Hz)	5'	77.6	<i>d</i>	4.40 (1H, m)
16	23.8	<i>t</i>	2.07 (1H, m) 1.93 (1H, m)	6'	170.5	<i>s</i>	-
17	46.6	<i>s</i>	-	COOCH <sub>3</sub>	52.0	<i>q</i>	3.70 (3H, s)
18	42.2	<i>d</i>	3.28 (1H, dd, <i>J</i> = 13.5, 4.3 Hz)	Glc 1''	105.9	<i>d</i>	5.41 (1H, d, <i>J</i> = 8.0 Hz)
19	46.4	<i>t</i>	1.78 (1H, m) 1.28 (1H, m)	2''	76.8	<i>d</i>	4.14 (1H, dd, <i>J</i> = 8.8, 8.0 Hz)
20	31.0	<i>s</i>	-	3''	78.1	<i>d</i>	4.25 (1H, m)
				4''	71.4	<i>d</i>	4.30 (1H, dd, <i>J</i> = 9.4, 9.3 Hz)
				5''	78.4	<i>d</i>	3.93 (1H, ddd, <i>J</i> = 9.4, 4.2, 2.9 Hz)
				6''	62.6	<i>t</i>	4.51 (1H, dd, <i>J</i> = 11.6, 2.9 Hz) 4.45 (1H, dd, <i>J</i> = 11.6, 4.2 Hz)



## 第2節 新規化合物について

成分探索の過程でアワブキ科植物ヤンバルアワブキ葉部の 1-ブタノール可溶画分より 5 種の既知化合物 compounds 35-39 (Fig. 85) を単離した。

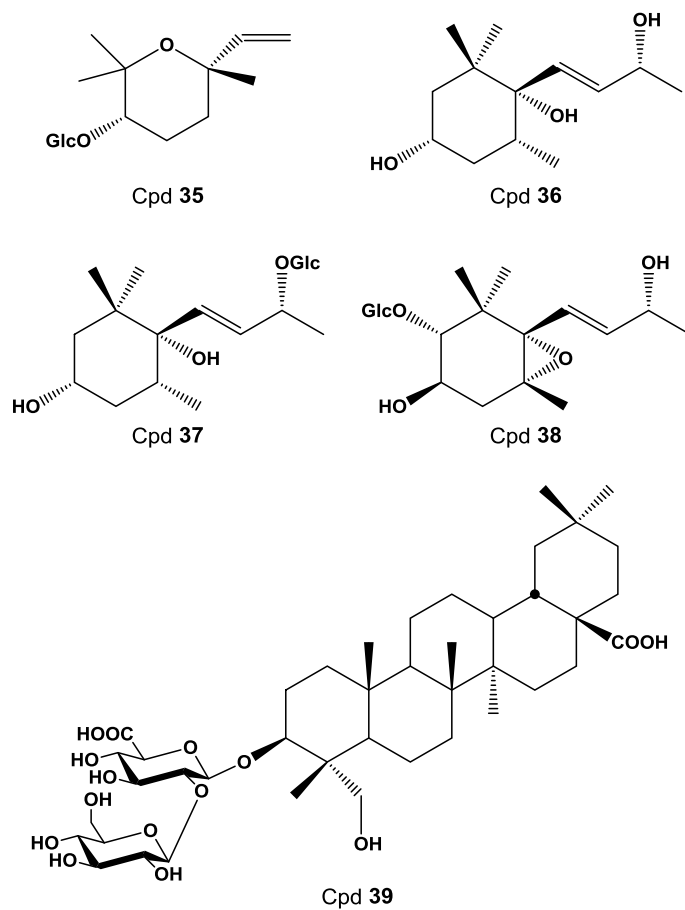
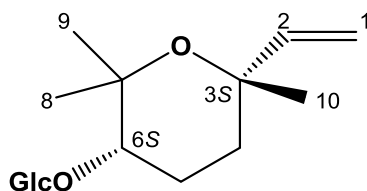


Fig. 85 Structures of Compounds 22-26

NMR スペクトルを文献値と比較することにより、compound **35** は(3*S*,6*S*)-*cis*-lnalool-3,7-oxide  $\beta$ -D-glucopyranoside<sup>30</sup>であると同一した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{22} -15.0$  ( $c = 0.16$ , MeOH)  
 Ref.)  $[\alpha]_D^{26} -4.1$  ( $c = 0.41$ , MeOH)<sup>31</sup>

Fig. 86 Structure and Physical data of Compound **35**

Table 40 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound **35**  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (100 MHz and 400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	111.5	<i>t</i>	5.03 (1H, dd, $J = 18.0, 0.8$ Hz) 4.98 (1H, dd, $J = 11.1, 0.8$ Hz)
2	147.5	<i>d</i>	5.97 (1H, ddd, $J = 18.0, 11.1, 1.1$ Hz)
3	74.9	<i>s</i>	-
4	33.8	<i>t</i>	2.16 (1H, ddd, $J = 13.9, 3.8, 3.6$ Hz, eq) 1.57 (1H, dddd, 13.9, 13.7, 3.8, 1.1 Hz, ax)
5	25.8	<i>t</i>	1.98 (1H, m, eq) 1.80 (1H, dddd, $J = 13.7, 11.5, 11.4, 3.6$ Hz, ax)
6	85.8	<i>d</i>	3.41 (1H, dd, $J = 11.4, 4.4$ Hz, ax)
7	77.2	<i>s</i>	-
8	22.1	<i>q</i>	1.20 (3H, s)
9	30.1	<i>q</i>	1.26 (3H, s)
10	32.3	<i>q</i>	1.11 (3H, s)
Glc 1'	106.3	<i>d</i>	4.33 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)
2'	75.4	<i>d</i>	3.14 (1H, dd, $J = 9.4, 7.9$ Hz)
3'	78.2	<i>d</i>	3.31 (1H, m)
4'	71.7	<i>d</i>	3.31 (1H, m)
5'	77.8	<i>d</i>	3.31 (1H, m)
6'	62.9	<i>t</i>	3.85 (1H, dd, $J = 11.8, 2.0$ Hz) 3.35 (1H, dd, $J = 11.8, 5.4$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

NMR スペクトルを文献値と比較すると共に、HPLC による分析<sup>32)</sup>を行った結果、compound **36** は(3*S*,5*R*,6*S*,9*R*)-3,6-dihydroxy-5,6-dihydro- $\beta$ -ionol<sup>33,34)</sup>、compound **37** は Alangionoside A<sup>35)</sup>であると同定した。

一方、NMR スペクトルを文献値と比較する事により、compound **38** は (2*R*,3*R*,5*R*,6*S*,9*R*)-3-hydroxy-5,6-epoxy- $\beta$ -ionol-2-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside<sup>36)</sup>であると同定した。

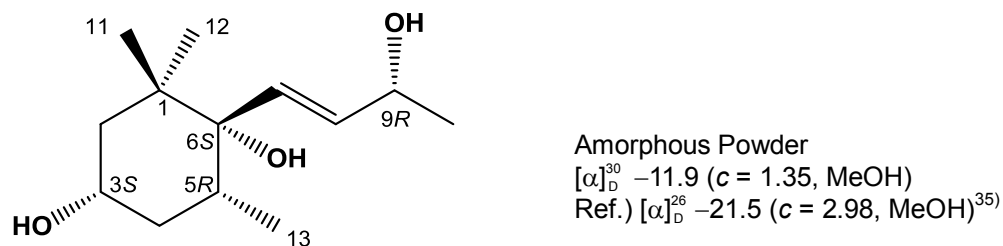
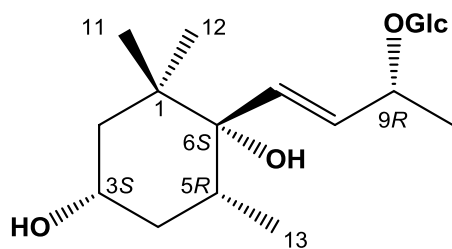


Fig. 87 Structure and Physical data of Compound **36**

Table 41 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound **36**  
<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	40.5	s	-
2	45.9	t	1.65 (1H, dd, $J = 12.1, 11.7$ Hz, ax) 1.40 (1H, dd, $J = 12.1, 4.5$ Hz, eq)
3	67.5	d	3.80 (1H, dddd, $J = 11.9, 11.7, 4.5, 4.5$ Hz, ax)
4	39.9	t	1.68 (1H, ddd, $J = 12.1, 4.5, 4.2$ Hz, eq) 1.40 (1H, dd, $J = 12.1, 11.9$ Hz, ax)
5	35.4	d	1.93 (1H, ddd, $J = 12.1, 6.8, 4.2$ Hz, ax)
6	78.1	s	-
7	133.8	d	5.55 (1H, d, $J = 15.7$ Hz)
8	135.5	d	5.52 (1H, dd, $J = 15.7, 6.0$ Hz)
9	69.2	d	4.29 (1H, qd, $J = 6.4, 6.0$ Hz)
10	24.1	q	1.24 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
11	25.2	q	0.97 (3H, s)
12	25.8	q	0.89 (3H, s)
13	16.4	q	0.81 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals



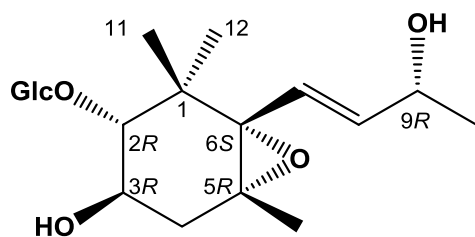
Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{28} -16.0$  ( $c = 0.53$ , MeOH)  
 Ref.)  $[\alpha]_D^{24} -6.9$  ( $c = 1.30$ , MeOH)<sup>35)</sup>

Fig. 88 Structure and Physical data of Compound 37

Table 42  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 37  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (100 MHz and 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	40.6	<i>s</i>	-
2	46.0	<i>t</i>	1.65 (1H, dd, $J = 12.1, 11.7$ Hz, ax) 1.40 (1H, dd, $J = 12.1, 4.5$ Hz, eq)
3	67.5	<i>d</i>	3.80 (1H, dddd, $J = 11.9, 11.7, 4.5, 4.5$ Hz, ax)
4	40.0	<i>t</i>	1.68 (1H, ddd, $J = 12.1, 4.5, 4.2$ Hz, eq) 1.40 (1H, dd, $J = 12.1, 11.9$ Hz, ax)
5	35.4	<i>d</i>	1.93 (1H, ddd, $J = 12.1, 6.8, 4.2$ Hz, ax)
6	78.3	<i>s</i>	-
7	135.8	<i>d</i>	5.55 (1H, d, $J = 15.7$ Hz)
8	133.8	<i>d</i>	5.52 (1H, dd, $J = 15.7, 6.0$ Hz)
9	78.0	<i>d</i>	4.29 (1H, qd, $J = 6.4, 6.0$ Hz)
10	25.3	<i>q</i>	1.24 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
11	26.3	<i>q</i>	0.97 (3H, <i>s</i> )
12	16.6	<i>q</i>	0.89 (3H, <i>s</i> )
13	16.4	<i>q</i>	0.81 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)
Glc 1'	102.6	<i>d</i>	4.34 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)
2'	75.5	<i>d</i>	3.18 (1H, dd, $J = 8.6, 7.7$ Hz)
3'	78.2	<i>d</i>	3.34 (1H, <i>m</i> )
4'	71.6	<i>d</i>	3.34 (1H, <i>m</i> )
5'	78.0	<i>d</i>	3.21 (1H, ddd, $J = 9.3, 5.3, 2.4$ Hz)
6'	62.7	<i>t</i>	3.82 (1H, <i>m</i> ) 3.66 (1H, dd, $J = 11.9, 5.3$ Hz)

*m*: multiplet or overlapped signals



Amorphous Powder

$[\alpha]_{\text{D}}^{28} -74.4$  ( $c = 0.09$ , MeOH)

Ref.)  $[\alpha]_{\text{D}}^{26} -82.5$  ( $c = 0.325$ , MeOH)<sup>36)</sup>

HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 427.1936  $[M+Na]^+$   
(calcd for  $C_{13}H_{32}O_9Na$ : 427.1939)

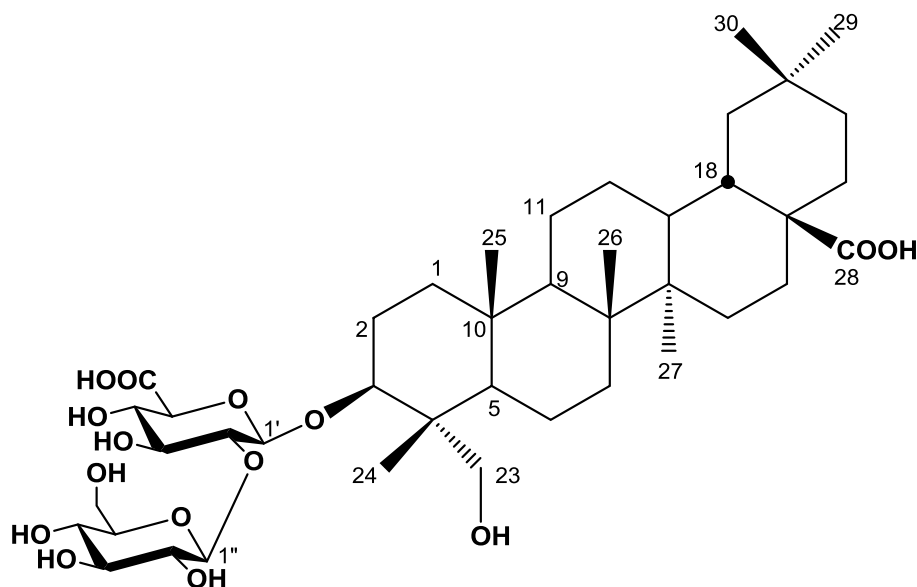
Fig. 89 Structure and Physical data of Compound **38**

Table 43  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **38**  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	41.7	<i>s</i>	-
2	92.4	<i>d</i>	3.15 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, ax)
3	66.6	<i>d</i>	3.62 (1H, ddd, $J = 10.0, 9.8, 5.3$ Hz, ax)
4	39.6	<i>t</i>	2.39 (1H, dd, $J = 14.6, 5.3$ Hz, eq) 1.75 (1H, dd, $J = 14.6, 10.0$ Hz, ax)
5	67.0	<i>s</i>	-
6	71.41	<i>s</i>	-
7	125.8	<i>d</i>	5.89 (1H, dd, $J = 15.5, 1.1$ Hz)
8	139.2	<i>d</i>	5.67 (1H, dd, $J = 15.5, 6.0$ Hz)
9	68.6	<i>d</i>	4.29 (1H, dqd, $J = 6.8, 6.0, 1.1$ Hz)
10	23.8	<i>q</i>	1.22 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)
11	18.4	<i>q</i>	1.01 (3H, s)
12	26.8	<i>q</i>	1.27 (3H, s)
13	19.7	<i>q</i>	1.16 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)
Glc1'	106.6	<i>d</i>	4.30 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)
2'	75.4	<i>d</i>	3.24 (1H, dd, $J = 9.1, 7.8$ Hz)
3'	78.24	<i>d</i>	3.35 (1H, m)
4'	71.36	<i>d</i>	3.30 (1H, m)
5'	78.15	<i>d</i>	3.32 (1H, m)
6'	62.5	<i>t</i>	3.85 (1H, dd, $J = 11.9, 1.9$ Hz) 3.65 (1H, dd, $J = 11.9, 5.7$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

NMR スペクトルを文献値と比較することにより、compound **39** は 3-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]hedragenin<sup>31)</sup>であると同一化した。同化合物は mixture としての報告例が1報あるのみであり、今回が初の単離報告となる。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{32} + 15.5$  ( $c = 0.55$ , MeOH)

Fig. 90 Structure and Physical data of Compound **39**

Table 44  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **39**

$^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		Position	$^{13}\text{C}$		Position	$^{13}\text{C}$	
1	38.6	<i>t</i>	16	23.8	<i>t</i>	GlcA1'	104.1	<i>d</i>
2	26.0	<i>t</i>	17	46.7	<i>s</i>	2'	83.4	<i>d</i>
3	82.5	<i>d</i>	18	42.2	<i>d</i>	3'	77.9	<i>d</i>
4	43.6	<i>s</i>	19	46.4	<i>t</i>	4'	73.1	<i>d</i>
5	48.1	<i>d</i>	20	31.0	<i>s</i>	5'	77.3	<i>d</i>
6	18.2	<i>t</i>	21	34.2	<i>t</i>	6'	n.d.	
7	32.9	<i>t</i>	22	33.2	<i>t</i>	Glc 1''	106.0	<i>d</i>
8	39.8	<i>s</i>	23	64.9	<i>t</i>	2''	76.9	<i>d</i>
9	48.0	<i>d</i>	24	13.5	<i>q</i>	3''	78.1	<i>d</i>
10	36.9	<i>s</i>	25	16.0	<i>q</i>	4''	71.4	<i>d</i>
11	23.8	<i>t</i>	26	17.5	<i>q</i>	5''	78.4	<i>d</i>
12	122.6	<i>d</i>	27	26.2	<i>q</i>	6''	62.6	<i>t</i>
13	144.8	<i>s</i>	28	180.2	<i>s</i>			
14	42.0	<i>s</i>	29	33.2	<i>q</i>			
15	28.3	<i>t</i>	30	23.7	<i>q</i>			

アワブキ科植物ヤンバルアワブキ [*Meliosma pinnata* ssp. *arnottiana*] 葉部の成分研究を行い、1-ブタノール可溶画分より既知 monoterpene 配糖体 1 種 (Compound **35**)、既知 megastigmane 及び同配糖体 3 種 (Compounds **36-38**)、既知 triterpene 配糖体 1 種 (Compound **39**) と共に、5 種の新規硫酸エステル配糖体 (Compounds **27-31**)、2 種の新規 megastigmane (Compounds **32, 33**)、新規 triterpene 配糖体 1 種 (Compound **34**) を単離し、その化学構造を明らかにした。

本研究ではアワブキ科植物ヤンバルアワブキ [*Meliosma pinnata* ssp. *arnottiana*] 葉部の成分研究を行い、1-ブタノール可溶画分より既知 monoterpene 配糖体 1 種 (Compound 35)、既知 megastigmane 及び同配糖体 3 種 (Compounds 36-38)、既知 triterpene 配糖体 1 種 (Compound 39) と共に、5 種の新規硫酸エステル配糖体 (Compounds 27-31)、2 種の新規 megastigmane (Compounds 32, 33)、新規 triterpene 配糖体 1 種 (Compound 34) を単離し、その化学構造を明らかにした。

まず、硫酸エステル配糖体の生合成について検討する。

植物は土壌中の硫酸イオンを吸収し、生命維持に必須な成分であるアミノ酸や、酸化還元調整物質、ビタミン、補酵素、香り成分、駆虫成分、抗菌物質など特殊な機能を持った硫黄二次代謝産物を生産する事が知られている<sup>37)</sup>。具体的には、まず、Fig. 91 に示すように、活性硫酸 (PAPS) が合成されたのち、硫酸転移酵素により転位する<sup>38)</sup>。また、今回単離された化合物について活性試験は現時点では行えていないが、アグリコン部が立体異性体、構造異性体の化合物も多いことから、構造活性相関も含めた検討が期待できる。

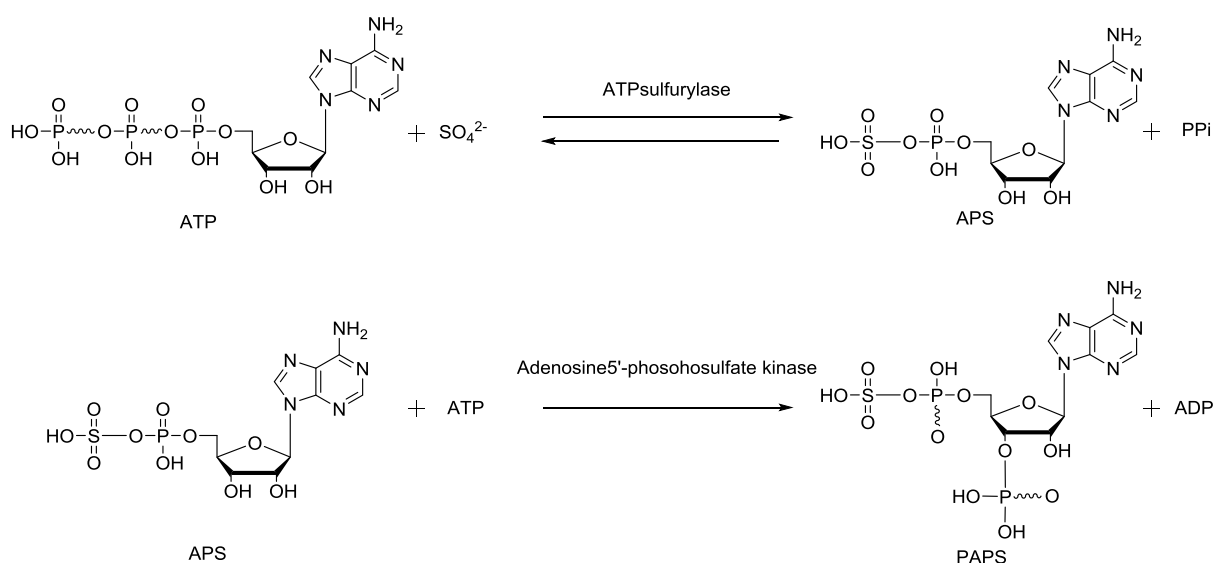


Fig. 91 Biosynthesis pathway of sulfate moiety



モノテルペン配糖体の立体について検討した。本研究で単離したモノテルペン配糖体のうち、compound 28、compound 30、compound 35 については文献値との比較によりその絶対立体配置を決定しているが、残る compound 29 及び compound 31 については相対立体配置までの決定としている。しかしながら、Fig. 92 に示すように微生物における linalool の環化反応は立体選択的に起こるとの報告がある事から<sup>39)</sup>、植物においても同様である可能性が考えられ、compound 29 は (3*R*,6*S*)、compound 31 は (3*S*,6*R*) であると推定できる。なお、これらの化合物が本植物由来ではなく微生物由来である可能性を完全には否定できないが、linalool 配糖体は furanoid 体や pyranoid 体も含めお茶の香り成分としても知られている事から<sup>40)</sup>、その可能性は低いと考えている。今後類似化合物の更なる単離などにより、絶対立体配置の決定を期待すると共に、微生物と植物の生合成経路の相違点についての検討が期待できる。

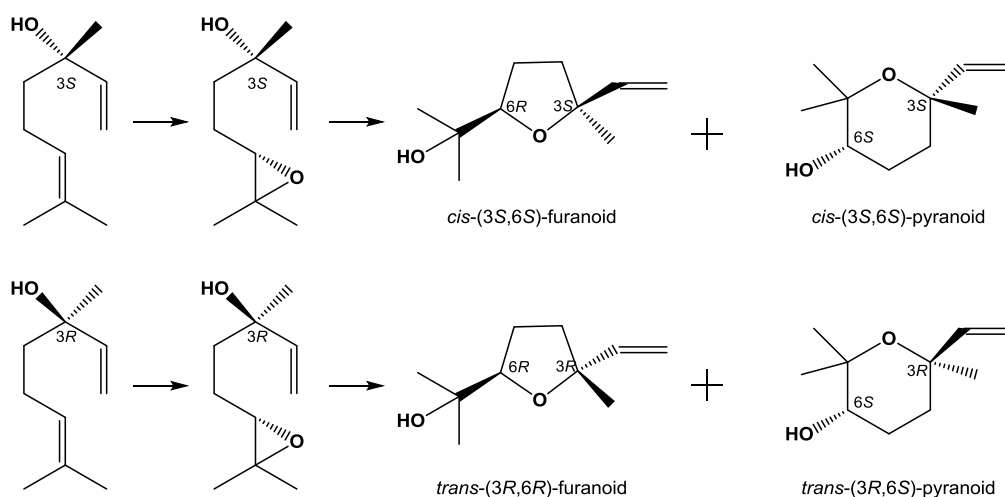


Fig. 92 Biosynthesis pathway for the oxidation of linalool to linalool oxide<sup>39)</sup>

### 材料植物

ヤンバルアワブキ *Meliosma pinnata* ssp. *arnottiana* の葉部は 1993 年、沖縄県名護市仲尾次で採集した。

### 一般法

#### 6. 旋光度

旋光度は P-1030 (日本分光工業) デジタル旋光度計を用いて測定した。測定溶媒及び温度は、各測定値に付記した。

#### 7. 核磁気共鳴 (NMR) スペクトル

JEOL  $\alpha$ -400 核磁気共鳴装置 (日本電子、共鳴周波数  $^1\text{H}$  NMR : 400 MHz、 $^{13}\text{C}$  NMR : 100 MHz)、もしくは JEOL ECA-600 核磁気共鳴装置 (日本電子共鳴周波数、 $^1\text{H}$  NMR : 600 MHz、 $^{13}\text{C}$  NMR : 150 MHz) を使用して測定した。いずれも溶媒中の D シグナルを internal lock signal とした。ケミカルシフト値の表示は、内部標準物質テトラメチルシラン (TMS) からの  $\delta$  値 (ppm) で示し、 $^1\text{H}$  NMR スペクトルにおける結合定数は括弧内に Hz 単位で記した。

#### 8. 質量 (MS) 分析

HR-ESI-MS は QSTAR XL (applied Biosystems) 質量分析装置 (calibration に塩化セシウムおよびアンギオテンシンを使用)、もしくは高性能ハイブリット型質量分析システム (Thermo Fisher Scientific、LTQ Orbitrap XL) を用いて測定した。

#### 9. 赤外吸収 (IR) スペクトル

HORIBA FT-710 (堀場製作所) 分光光度計を使用し、フィルム法にて試料を調製し測定した。

### カラムクロマトグラフィー

#### 1. Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーには逆相系多孔性樹脂 Diaion HP-20 を使用した。

#### 2. シリカゲルカラムクロマトグラフィー

順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーには、70-230 mesh の silica gel 60 (Merck) を使用した。逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーには、Cosmosil 75 C<sub>18</sub>-OPN (Nacalai Tesque) を使用した。

#### 3. 液滴向流カラムクロマトグラフィー (DCCC)

本体に液滴向流クロマトグラフ EYELA DCC-3000 (東京理化工械) を使用した (分離部: 内径 2 cm、長さ 40 cm のカラム管 300 本)。溶媒は固定相にクロロホルム : メタノール : 水 : 1-プロパノール

ル=9: 12: 6: 1 の混合溶媒の下層を用い、移動相にその上層を用い、液滴上昇法にて溶出させた。

#### 4. 高速液体クロマトグラフィー

分取用カラムに Inertsil ODS (6.0×250 mm もしくは 10.0×250 mm)、Inertsil Ph (6.0×250 mm)、もしくは  $\pi$  NMP (10.0×250 mm) を使用し、検出に RI 2031 (日本分光工業)、溶媒にメタノール - 水系を用いて、流速 1.6 mL/min もしくは 2.8 mL/min で行った。

なお、分取用カラムの種類及びサイズと流速は括弧内に明記した。

#### 5. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

TLC プレートに厚さ 0.25 mm のシリカゲル 60F<sub>254</sub> (メルク) プレートを用い、クロロホルム : メタノール : 水 = 15: 6: 1 の混合溶媒を展開溶媒とした。展開後のスポットは UV (254 nm) 照射および、10%硫酸を噴霧後加熱し呈色させて検出した。

#### 6. 糖分析 (HPLC)

分析用カラムに Shodex NH2P-50 (昭和電工) を使用し、検出に OR-2090 (日本分光工業) 旋光度検出計を用い、溶媒にアセトニトリル - 水系を用いて、流速 1 mL/min で行った。

### 抽出、単離、精製

乾燥させたヤンバルアワブキの葉部 (2.57 kg) をメタノールで3回 (4.5 L) 抽出し、3.0 Lに濃縮後、*n*-ヘキサン 3 Lで抽出した。メタノール層を濃縮後、水 3.0 Lで懸濁し、酢酸エチル、1-ブタノールをそれぞれ 3.0 Lで連続的に抽出、濃縮し、*n*-ヘキサン層 (61.7 g)、酢酸エチル層 (22.2 g)、1-ブタノール層 (21.7 g)、水層 (52.2 g) を得た。

このうち、1-ブタノール可溶画分 (21.7 g) を逆相性多孔性樹脂 Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー (内径 3.5 cm×高さ 40 cm、1 フラクシオン=100 mL) に付し、水 - メタノール (4: 1, 500 mL)、(3: 2, 500 mL)、(2: 3, 500 mL)、(1: 4, 500 mL)、そしてメタノール 500 mL の順に溶解し、20%メタノール溶出画分 (フラクシオン 1-6, 3.85 g)、20%メタノール溶出画分 (フラクシオン 7-12, 1.08 g)、40%メタノール溶出画分 (フラクシオン 13-16, 0.903 g)、40-60%メタノール溶出画分 (フラクシオン 17-21, 2.02 g)、60-80%メタノール溶出画分 (フラクシオン 22-27, 3.86 g)、100%メタノール溶出画分 (フラクシオン 28-33, 3.28 g)、100%メタノール溶出画分 (フラクシオン 34, 1.08 g) を得た。

### Compounds 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 36, 37, 38

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーの40%メタノール溶出画分 (フラクシオン 13-16, 0.903 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 5.0 cm×高さ 25 cm、10%メタノール 2 L→90%メタノール 2 L : linear gradient、1 フラクシオン=10 g) に付し、フラクシオン 16-27 (119 mg)、フラクシオン 28-33 (84.3 mg)、フラクシオン 42-57 (178 mg)、フラクシオン 58-67 (76.5 mg)、フラクシオン 68-81 (88.4 mg)、フラクシオン 82-99 (69.5 mg) の6つのフラクシオンを得た。

フラクシオン 16-27 (119 mg) を DCCC に付し、得られたフラクシオン 23-25 (10.4 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水=1 : 39、Phenyl、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 11 分のピークから compound 29 (2.3 mg) を得た。

フラクシオン 28-33 (84.3 mg) を DCCC に付し、得られたフラクシオン 25-32 (16.8 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水=1 : 19、Phenyl、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 16 分のピークから compound 28 (6.9 mg)、保持時間 17 分のピークから compound 30 (6.3 mg) を、保持時間 18 分のピークから compound 31 (4.6 mg) を得た。

フラクシオン 42-57 (178 mg) を DCCC に付し、得られたフラクシオン 20-23 から compound 27 (44.4 mg) を得ると共に、フラクシオン 31-34 (178 mg) を得た。フラクシオン 31-34 (178 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水=3 : 7、ODS (10.0 mm)、2.8 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 21 分のピークから compound 38 (1.3 mg) を得た。

フラクシオン 58-67 (76.5 mg) を DCCC に付し、得られたフラクシオン 61-82 (19.6 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水=7 : 13、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精

製し、保持時間 19 分のピークから compound **32** (1.3 mg) を、保持時間 20 分のピークから compound **33** (1.1mg) を得た。

フラクション 68-81 (88.4 mg) を DCCC に付し、得られたフラクション 26-29 から compound **37** (8.0 mg) を得た。

フラクション 82-99 (69.5 mg) を DCCC に付し、得られたフラクション 71-88 から compound **36** (4.7 mg) を得た。

#### Compounds **35, 36**

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーの 40-60%メタノール溶出画分 (フラクション 17-21, 2.02 g)を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 5.0 cm×高さ 25 cm、10%メタノール 2 L→90%メタノール 2 L : linear gradient、1 フラクション=10 g) に付し、フラクション 94-110 (180 mg)を得た。

フラクション 94-110 (180 mg) を DCCC に付し、フラクション 57-75 (26.3 mg) を得ると共に、フラクション 76-94 から compound **36** (27.1 mg) を再び得た。フラクション 57-75 (26.3 mg) を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水=2 : 3、ODS (6 mm)、1.6 mL/ min) を用いて精製し、保持時間 17 分のピークから compound **35** (2.4 mg) を得た。

#### Compounds **34, 39**

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーの 60-80%メタノール溶出画分 (フラクション 22-27, 3.86 g)をクロロホルムとメタノールの混合溶媒 [クロロホルム 1.2 L、クロロホルム - メタノール (49: 1, 0.6 L)、(24: 1, 0.6 L)、(23: 2, 0.6 L)、(9: 1, 0.6 L)、(17; 3, 0.6 L)、(4: 1, 0.6 L)、(3: 1, 0.6 L)、(7: 3, 0.6 L)、クロロホルム - メタノール - 水 (35: 15: 2, 0.6 L)、メタノール 0.6 L] を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 2.4 cm×高さ 66.5 cm、1 フラクション=100 mL) に付し、15%メタノール溶出画分 (フラクション 41, 42、305 mg) を得た。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーの 15%メタノール溶出画分 (フラクション 41, 42、305 mg) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 2.5 cm×高さ 25 cm、10%メタノール 1 L→90%メタノール 1 L : linear gradient、1 フラクション=5 g) に付し、フラクション 269-292 (43.1 mg) を得ると共に、フラクション 309-316 から compound **39** (21.9 mg) を得た。

フラクション 269-292 (43.1 mg) を DCCC に付し、そのフラクション 58-77 から compound **34** (8.3 mg) を得た。

#### Compound **27** の還元

Compound **27** (9.2 mg) を MeOH 1 mL に水 2 滴を加えたものに溶解し PtO<sub>2</sub> 1 mg と水素ガスを加え、

室温で 2 時間反応させた。反応液を綿栓ろ過後、メタノールで抽出し、乾燥させ、compound **27** 及びその還元物 compound **27a** の混合物 (8.4 mg) を得た。これを高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水 = 2 : 3,  $\pi$  NMP (10.0 mm)、2.8 mL/min) を用いて精製し、保持時間 14 分のピークから compound **27** (2.1 mg) を保持時間 16 分のピークから compound **27a** (2.1 mg) を得た。

#### Compound **27** の酸加水分解及び糖分析

乾燥させた compound **27** (1.3 mg) に 1M HCl を 0.2 mL 加え、sonication し懸濁し、100°C で 2 時間反応させた。その後室温に戻し、EtOAc を 0.2 mL 加えて抽出し、残った水相を HPLC (アセトニトリル : 水 = 3 : 1) を用いて前述の条件にて糖分析を行った。保持時間 8.3 分のピークにおいて正の旋光性を示したため、D-Glucose であると判断した。なお、標品として D-Glucose (1mg/mL in 75% CH<sub>3</sub>CNaq) 10  $\mu$ L を injection し、保持時間 8.3 分のピークにおいて正の旋光性を示すことを確認した。

#### Compound **32** の(R), (S)-MTPA エステル化

Compound **32** (0.7 mg) を無水ジクロロメタン (1 mL) に溶かし、(R)-MTPA (10.0 mg)、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (EDC) (10.0 mg)、*N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (4-DMAP) (10.0 mg) を加えて 37°C、24 時間反応させた。反応後、順次、水 (1 mL)、1M 塩酸 (1 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 mL)、飽和食塩水 (1 mL) で反応液を洗った。得られた有機層を、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、減圧乾燥した。得られた残渣は TLC [silica gel (0.25 mm thickness), being applied for 10 cm, with development with CHCl<sub>3</sub>-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO (9: 1) for 9 cm, and then eluted with CHCl<sub>3</sub>-MeOH (5: 1)] で精製し、エステル化合物 compound **32a** (1.4 mg) を得た。同様にして compound **32** (0.8 mg) を (S)-MTPA (10.0 mg)、EDC (10.0 mg)、4-DMAP (10.0 mg) と反応させ、エステル化合物 compound **32b** (4.9 mg) を得た。

#### Compound **32a**: (2*S*,3*S*,5*R*,6*R*,9*R*)-Megastigman-7,8-en-2,3,6,9-tetraol-3,9-*O*-(*R*)-MTPA diester

Amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 7.56-7.33 (12H, aromatic protons), 5.77 (1H, m, 8-H), 5.65 (1H, m, 7-H), 5.19 (1H, m, 9-H), 5.06 (1H, m, 3-H), 3.74 (1H, m, *J* = 10.2, 4.2 Hz, 2-H), 3.58 (3H, s, -OMe), 3.52 (3H, s, -OMe), 1.97 (1H, m, 4-Heq), 1.64 (1H, m, 4-Hax), 1.39 (1H, d, *J* = 6.4 Hz, 10-H<sub>3</sub>), 0.93 (1H, s, 11-H<sub>3</sub>), 0.90 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>), 0.78 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, 13-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode) *m/z*: 699.2362 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>F<sub>6</sub>Na: 699.2363).

#### Compound **32b**: (2*S*,3*S*,5*R*,6*R*,9*R*)-Megastigman-7,8-en-2,3,6,9-tetraol-3,9-*O*-(*S*)-MTPA diester

Amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 7.51-7.31 (12H, aromatic protons), 5.62 (1H, m, 8-H), 5.62 (1H, m, 7-H), 5.19 (1H, m, 9-H), 5.06 (1H, m, 3-H), 3.77 (1H, dd, *J* = 10.2, 5.4 Hz, 2-H), 3.58 (3H, s, -OMe), 3.52 (3H, s, -OMe), 1.89 (1H, m, 4-Heq), 1.53 (1H, m, 4-Hax), 1.44 (1H, d, *J* = 6.4 Hz, 10-H<sub>3</sub>), 0.98 (1H, s, 11-H<sub>3</sub>), 0.94 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>), 0.72 (3H, d, *J* = 6.7 Hz, 13-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode) *m/z*: 699.2362 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>F<sub>6</sub>Na: 699.2363).

### Compound 33 の(R), (S)-MTPA エステル化

Compound 33 (0.4 mg) を無水ジクロロメタン (1 mL) に溶かし、(R)-MTPA (20.0 mg)、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (EDC) (20.0 mg)、*N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (4-DMAP) (20.0 mg) を加えて 37°C、25 時間反応させた。反応後、順次、水 (1 mL)、1M 塩酸 (1 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 mL)、飽和食塩水 (1 mL) で反応液を洗った。得られた有機層を、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、減圧乾燥した。得られた残渣は TLC [silica gel (0.25 mm thickness), being applied for 10 cm, with development with CHCl<sub>3</sub>-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO (20: 1) for 9 cm, and then eluted with CHCl<sub>3</sub>-MeOH (5: 1)] で精製し、エステル化合物 compound 33a (0.03 mg) を得た。同様にして compound 32 (0.5 mg) を (S)-MTPA (20.0 mg)、EDC (20.0 mg)、4-DMAP (20.0 mg) と反応させ、エステル化合物 compound 33b (0.02 mg) を得た。

### Compound 33a: (3R,4S,5S,6R,9R)-Megastigman-7,8-en-3,4,5,9-tetraol-4,9-O-(R)-MTPA diester

Amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ: 7.65-7.37 (12H, aromatic protons), 5.76 (1H, dd, *J* = 15.2, 10.2 Hz, 7-H), 5.67 (1H, dd, 15.2, 7.1 Hz, 8-H), 5.58 (1H, dq, *J* = 7.1, 6.4 Hz, 9-H), 4.93 (1H, d, *J* = 10.2 Hz, 4-H), 3.78 (1H, m, 3-H), 3.61 (3H, s, -OMe), 3.52 (3H, s, -OMe), 2.02 (1H, dd, *J* = 10.2 Hz, 6-H), 1.92 (1H, dd, *J* = 13.3, 4.5 Hz, 2-Heq), 1.45 (1H, t-like, *J* = 12.4 Hz, 2-Hax), 1.39 (1H, d, *J* = 6.4 Hz, 10-H<sub>3</sub>), 1.03 (1H, s, 11-H<sub>3</sub>), 0.94 (3H, s, 13-H<sub>3</sub>), 0.86 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode) *m/z*: 699.2363 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>F<sub>6</sub>Na: 699.2363).

### Compound 33b: (3R,4S,5S,6R,9R)-Megastigman-7,8-en-3,4,5,9-tetraol-4,9-O-(S)-MTPA diester

Amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ: 7.64-7.29 (12H, aromatic protons), 5.71 (1H, dd, *J* = 14.5, 9.8 Hz, 7-H), 5.62 (1H, dd, *J* = 14.5, 6.1 Hz, 8-H), 5.61 (1H, m, 9-H), 4.93 (1H, d, *J* = 10.1 Hz, 4-H), 3.71 (1H, m, 3-H), 3.62 (3H, s, -OMe), 3.56 (3H, s, -OMe), 1.98 (1H, d, *J* = 10.1 Hz, 6-H), 1.88 (1H, dd, *J* = 13.0, 4.7 Hz, 2-Heq), 1.45 (1H, m, 2-Hax), 1.45 (1H, d, *J* = 6.2 Hz, 10-H<sub>3</sub>), 1.13 (1H, s, 13-H<sub>3</sub>), 0.89 (3H, s, 11-H<sub>3</sub>), 0.85 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode) *m/z*: 699.2363 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>F<sub>6</sub>Na: 699.2363).

### Compound 37 の酵素加水分解

Compound 37 (6.2 mg) を 20 mM 酢酸バッファー (1 mL) 中で b-glucosidase from Almond (2000U/181.8 mg, 7 和光純薬) (25 mg) で 37°C、68 時間反応させ、酢酸エチルで 3 回 (各 1 mL) で抽出し、有機層 (Compound 37a, 1.7 mg) を得た。

### Compounds 36, 37a の HPLC 分析

Compound 37a を高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水 = 2 : 3、ODS (6.0 mm)、1.6 mL/min) にて分析した結果、保持時間は 14 分であった。Compound 36 を同様の条件で分析した結果、保持時間は 14 分であった。

## 第3部

### ナンバンアワブキの成分研究



*Meliosma lepidota* ssp. *squamulata* (和名：ナンバンアワブキ)

ナンバンアワブキはアワブキ科 (Sabiaceae) アワブキ属 (*Meliosma*) の植物である。山地の林内に生える常緑小高木で、葉互生し、葉柄は長さ 5-10 cm と長く、基部が急にふくれる特徴がある。葉身は革質で長さ 8-11 cm、全縁で両面無毛、表面は平滑で光沢があり、裏面は淡白色、3 対の側脈は細脈とともに裏面に隆起する。花期は 3-5 月。円錐花序は頂生し、花は小型で白色。核果は球形で径 5-6 mm、黒変する。

当植物の成分研究の報告例はないが、当研究室のこれまでの研究により新規 megastigmane 配糖体 (Compound 50) などが単離されている<sup>41)</sup>。また、中国にて疥癬、痔、蟻虫症、脚気、リウマチ、蛇にかまれた傷などの治療に使用されており、緑膿菌、大腸菌などを用いたスクリーニングの報告例がある<sup>42)</sup>。



ナンバンアワブキ  
(大塚先生撮影)

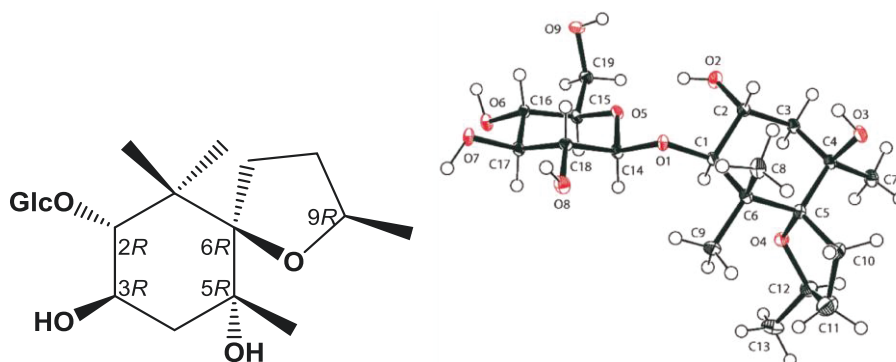
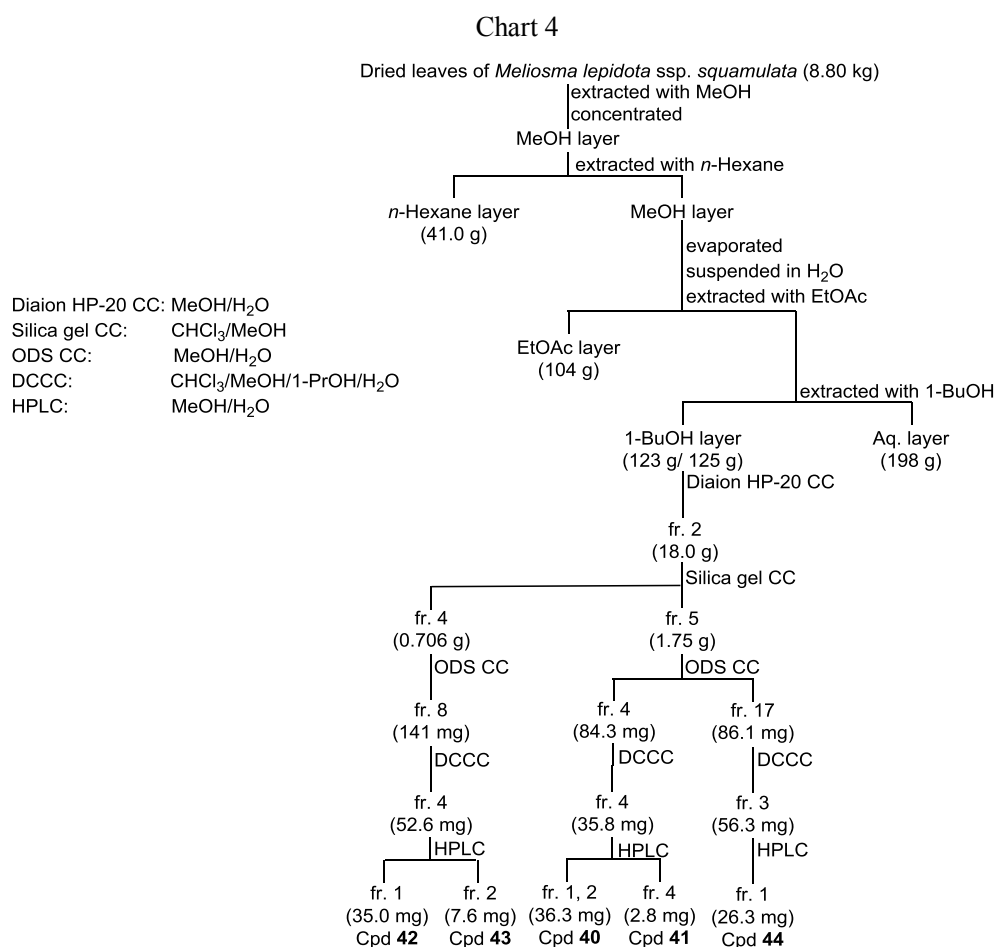


Fig. 93 Structure and ORTEP drawing of Compound 50

## 第2章 抽出、分離及び精製

乾燥させたナンバンアワブキの葉部 (8.80 kg) のメタノール抽出物を *n*-ヘキサン、メタノールで分配を行った後、メタノール層を減圧濃縮し、その残差を水に懸濁させ酢酸エチルで抽出し、水槽はさらに 1-ブタノールで抽出した。本研究では、比較的配糖体成分が多く含まれる 1-ブタノール可溶画分について成分探索を行った。

ブタノール可溶画分 125 g のうち 123 g を、Diaion HP-20、Silica gel、ODS 各種カラムクロマトグラフィー、DCCC、HPLC を用いて分離、精製を行い 5 種の化合物 (Compounds 40-44) を括弧内の収量で単離した。(Chart 4)



第1節新規化合物について

成分検索の過程でアワブキ科植物ナンバンアワブキ葉部の1-ブタノール可溶画分より、5種の新規化合物 compound 40-44 (Fig. 94) を単離し、その化学構造を詳細に検討することとした。

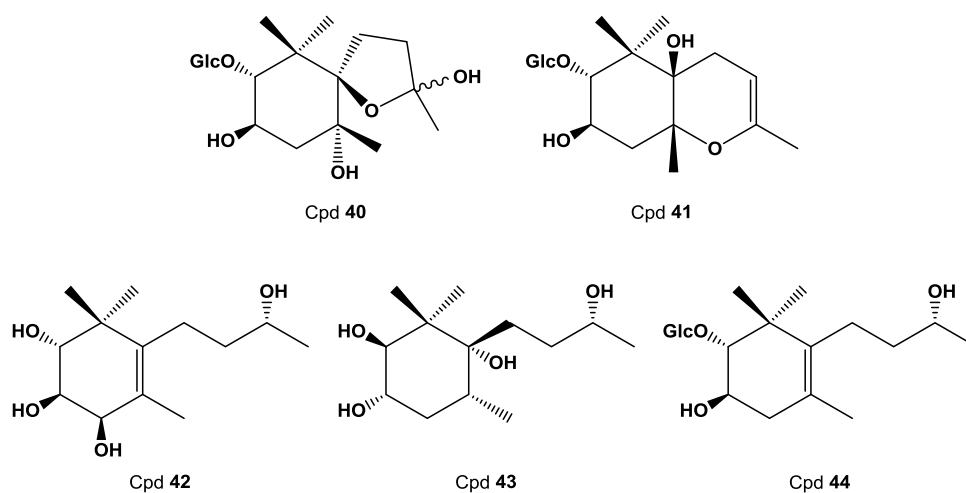


Fig. 94 Structures of Compounds 40-44

Compound 40 は interconverable mixture として得られた。説明の都合上、compound 40a 及び coomound 40b とする。その分子式は、HR-ESI-MS より共に  $C_{19}H_{34}O_{10}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR (Table 45) において、積分値の異なるそれぞれ 19 本ずつのシグナルが観測されたが、それらは互いに非常に似た値を示していた。そのうち、grucopyranose に由来すると推測される炭素がそれぞれ 1 組存在し、それらを除くと残る炭素数は各々 13 である事、さらに、46.9 ppm 及び 45.7 ppm の 4 級炭素が存在した事や、 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR において、それぞれ 4 つのメチル基の存在が示唆されたことなどから、compound 40a 及び compound 40b は megastigmane 配糖体であると推測した。加えて、以前、当植物より単離した compound 50 と  $^{13}C$  NMR におけるケミカルシフトを比較したところ、2 位にグリコシド結合を有する megastigmane 配糖体に特徴的な 92.6 ppm 及び 92.9 ppm のメチン炭素の存在に加えて、94.4 ppm 及び 94.5 ppm の水素原子が結合していない炭素が存在するなど compound 50 との共通点が多く見られたことから、compound 40a 及び 40b は 6 位にスピロ環を有していると推測した。より詳細な検討を行うために 2D-NMR (H-H COSY, HMBC) を測定したところ、Fig. 96、97 に示すように相関が観測されたことから、compound 40a 及び 40b の平面構造を Fig. 95 のように決定した。

相対立体配置については、まず、2 位の水素 4.10 ppm (1H, d,  $J = 10.2$  Hz, Compound 40a in  $C_5D_5N$ ) 及び 4.07 ppm (1H, d,  $J = 9.4$  Hz, Compound 40b in  $C_5D_5N$ ) と 3 位の水素 4.67 ppm (1H, m, Compound 40a in  $C_5D_5N$ ) 及び 4.67 ppm (1H, m, Compound 40b in  $C_5D_5N$ ) がそれぞれ 9.4 Hz もしくは 10.2 Hz にカップリングしている事から 2 位及び 3 位の水素は ax 配置であると決定した。さらに、相対立体配置を決定するために PSNOESY を測定したところ、compound 40a 及び compound 40b の両者で、12 位のメチル基と 5 位の水酸基との間に相関がみられたことから 13 位のメチル基は eq 配置であると決定し、加えて 11 位及び 12 位のメチル基と 7 位の水素との間に相関が見られた事から 6 位の立体はスピロ環の酸素原子が  $\beta$  配置となる、Fig. 97 のような立体であると決定した。これらに加えて、9 位の水酸基については、compound 40a では 13 位のメチル基と、compound 40b では 11 位のメチル基とそれぞれ相関が見られ、さらに compound 40b においては 10 位のメチル基と 13 位のメチル基との間にも相関が見られた事から、compound 40a 及び compound 40b の 9 位の水酸基の立体を Fig. 98 のように決定した。

なお、絶対立体配置については、X 線結晶構造解析により絶対立体配置が決定されている compound 50 とケミカルシフトがよく似ている事から、リング部分は 2*R*、3*R*、5*R*、6*R* であると推定しており、PSNOESY による相対立体配置と合わせ、compound 40a は 9*R*、compound 40b は 9*S* と推定している。

以上より、compound 40a 及び compound 40b の構造を Fig. 95 のように決定した。

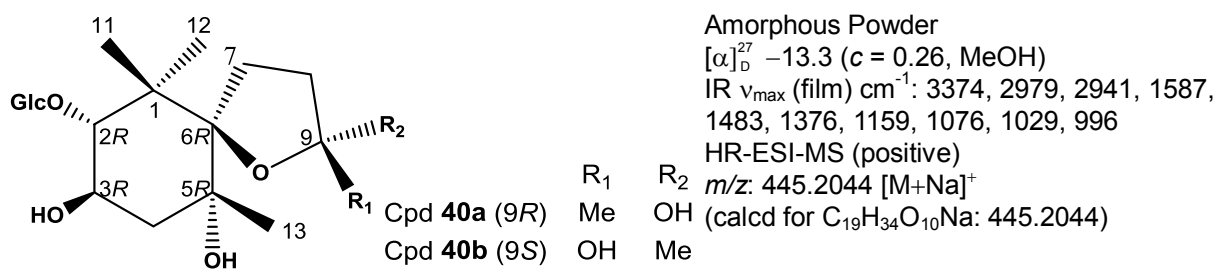


Fig. 95 Structure and Physical data of Compound **40**

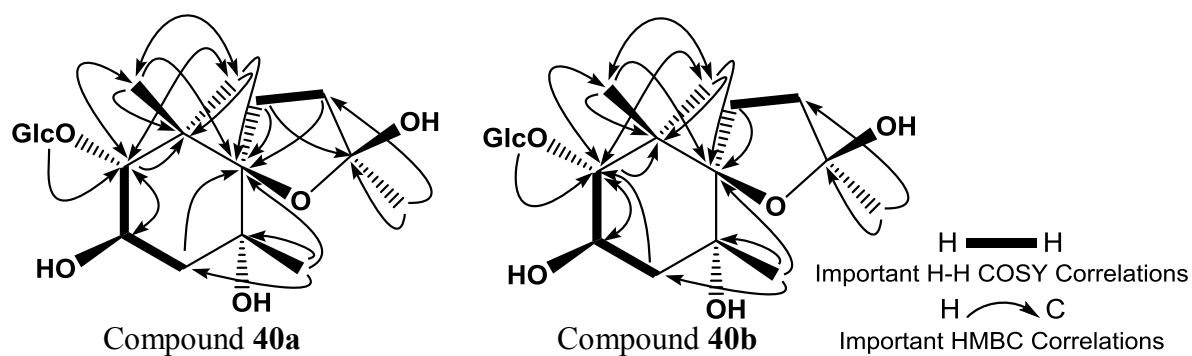


Fig. 96 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compounds **40a** and **40b** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

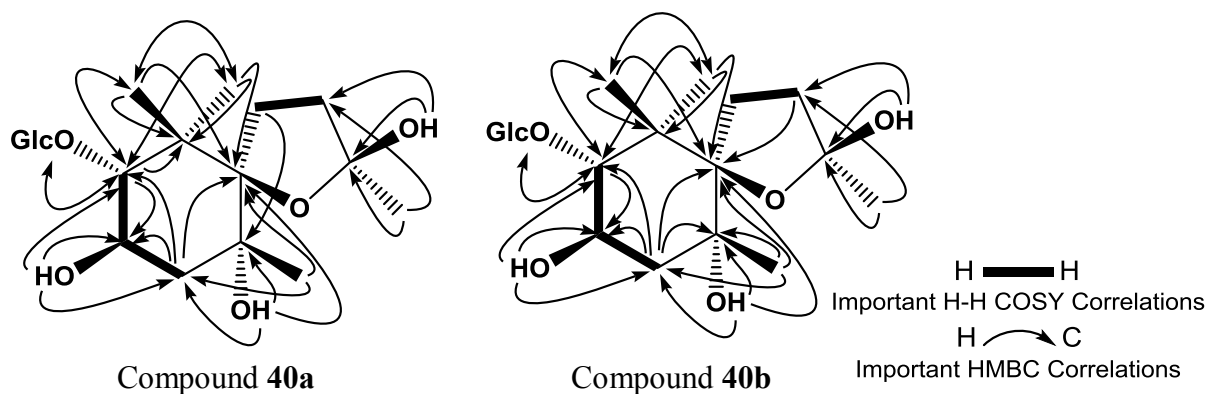


Fig. 97 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compounds **40a** and **40b** in  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$

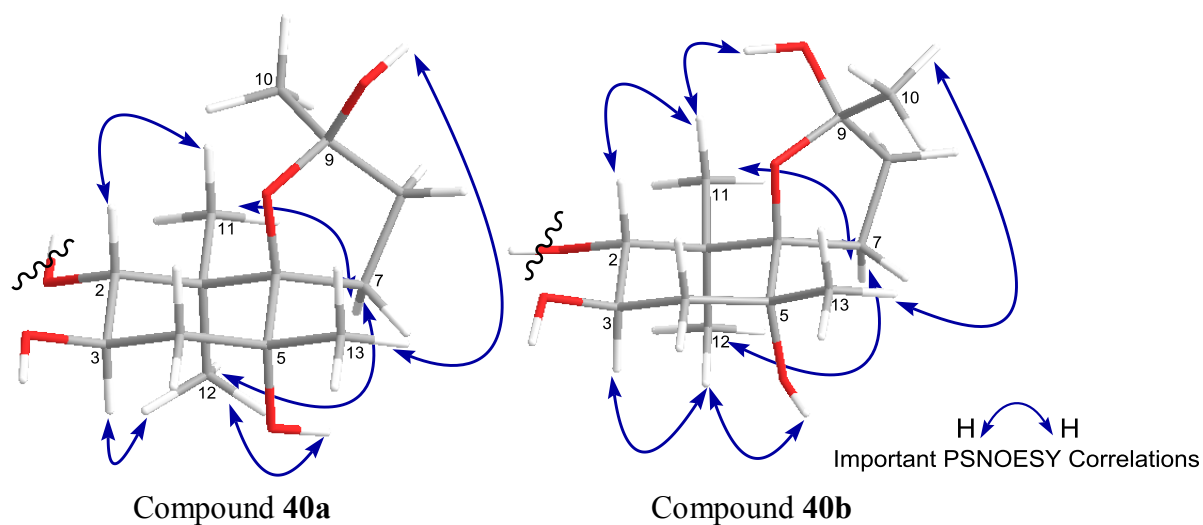


Fig. 98 Important Phase sensitive NOESY correlations of Compound **40a** and **40b** in  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$

Table 45 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compounds **40a** and **40b** in CD<sub>3</sub>OD<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

Compound <b>40a</b>				Compound <b>40b</b>			
Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H	Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	47.3	<i>s</i>	-	1	46.0	<i>s</i>	-
2	91.5	<i>d</i>	3.37 (1H, m)	2	92.0	<i>d</i>	3.38 (1H, m)
3	67.9	<i>d</i>	3.89 (1H, m)	3	67.8	<i>d</i>	3.89 (1H, m)
4	44.2	<i>t</i>	1.85 (1H, m) 1.79 (1H, m)	4	43.3	<i>t</i>	1.77 (2H, m)
5	76.7	<i>s</i>	-	5	76.8	<i>s</i>	-
6	95.1	<i>s</i>	-	6	95.2	<i>s</i>	-
7	27.7	<i>t</i>	2.26 (1H, m) 2.00 (1H, m)	7	27.4	<i>t</i>	2.13 (2H, m)
8	40.8	<i>t</i>	2.00 (2H, m)	8	40.2	<i>t</i>	1.93 (2H, m)
9	107.8	<i>s</i>	-	9	107.3	<i>s</i>	-
10	28.3	<i>q</i>	1.51 (3H, s)	10	28.0	<i>q</i>	1.15 (3H, s)
11	24.0	<i>q</i>	1.10 (3H, s)	11	24.8	<i>q</i>	1.24 (3H, s)
12	20.0	<i>q</i>	1.17 (3H, s)	12	19.8	<i>q</i>	1.12 (3H, s)
13	28.5	<i>q</i>	1.34 (3H, s)	13	28.2	<i>q</i>	1.49 (3H, s)
Glc 1'	106.0	<i>d</i>	4.28 (1H, d, <i>J</i> = 7.9 Hz)	Glc 1'	105.9	<i>d</i>	4.31 (1H, d, <i>J</i> = 7.9 Hz)
2'	75.6	<i>d</i>	3.27 (1H, m)	2'	75.5	<i>d</i>	3.27 (1H, m)
3'	78.2*	<i>d</i>	3.33 (1H, m)	3'	78.2*	<i>d</i>	3.33 (1H, m)
4'	71.4	<i>d</i>	3.34 (1H, m)	4'	71.4	<i>d</i>	3.34 (1H, m)
5'	78.1*	<i>d</i>	3.33 (1H, m)	5'	78.1*	<i>d</i>	3.33 (1H, m)
6'	62.4	<i>t</i>	3.86 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 2.1 Hz) 3.68 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 5.5 Hz)	6'	62.5	<i>t</i>	3.86 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 2.1 Hz) 3.68 (1H, dd, <i>J</i> = 12.0, 5.5 Hz)

\*: exchangeable  
m: multiplet or overlapped signals

Table 46 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compounds **40a** and **40b** in C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)

Compound <b>40a</b>				Compound <b>40b</b>			
Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H	Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	46.9	<i>s</i>	-	1	45.7	<i>s</i>	-
2	92.6	<i>d</i>	4.10 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 10.2 Hz)	2	92.9	<i>d</i>	4.07 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9.4 Hz)
3	67.2	<i>d</i>	4.67 (1H, <i>m</i> )	3	67.0	<i>d</i>	4.67 (1H, <i>m</i> )
4	45.3	<i>t</i>	2.50 (1H, <i>m</i> ) 2.49 (1H, <i>m</i> )	4	44.4	<i>t</i>	2.44 (1H, <i>m</i> ) 2.42 (1H, <i>m</i> )
5	75.8	<i>s</i>	-	5	75.9	<i>s</i>	-
6	94.4	<i>s</i>	-	6	94.5	<i>s</i>	-
7	27.7	<i>t</i>	2.75 (1H, <i>m</i> ) 2.25 (1H, <i>m</i> )	7	27.4	<i>t</i>	2.57 (1H, <i>m</i> ) 2.55 (1H, <i>m</i> )
8	40.8	<i>t</i>	2.34 (1H, <i>m</i> ) 2.15 (1H, <i>m</i> )	8	40.1	<i>t</i>	2.27 (1H, <i>m</i> ) 2.13 (1H, <i>m</i> )
9	107.2	<i>s</i>	-	9	106.8	<i>s</i>	-
10	29.0	<i>q</i>	1.82 (3H, <i>s</i> )	10	28.9	<i>q</i>	1.81 (3H, <i>s</i> )
11	24.2	<i>q</i>	1.67 (3H, <i>s</i> )	11	25.0	<i>q</i>	2.00 (3H, <i>s</i> )
12	20.5	<i>q</i>	1.77 (3H, <i>s</i> )	12	20.5	<i>q</i>	1.72 (3H, <i>s</i> )
13	29.3	<i>q</i>	1.92 (3H, <i>s</i> )	13	28.4	<i>q</i>	1.47 (3H, <i>s</i> )
3-OH			5.36 (1H, <i>br s</i> )	3-OH			5.24 (1H, <i>br s</i> )
5-OH			5.86 (1H, <i>br s</i> )	5-OH			5.97 (1H, <i>br s</i> )
9-OH			7.14 (1H, <i>br s</i> )	9-OH			7.00 (1H, <i>br s</i> )
Glc 1'	106.5	<i>d</i>	5.02 (1H, <i>m</i> )	Glc 1'	106.5	<i>d</i>	4.84 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.9 Hz)
2'	75.7	<i>d</i>	4.13 (1H, <i>m</i> )	2'	75.6	<i>d</i>	4.10 (1H, <i>m</i> )
3'	78.7	<i>d</i>	4.23 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9.1, 8.7 Hz)	3'	78.7	<i>d</i>	4.15 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9.1, 8.7 Hz)
4'	71.5	<i>d</i>	4.28 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9.1, 9.1 Hz)	4'	71.6	<i>d</i>	4.24 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9.4, 9.1 Hz)
5'	78.3	<i>d</i>	4.00 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 9.1, 5.7, 2.6 Hz)	5'	78.5	<i>d</i>	3.91 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 9.4, 5.7, 2.6 Hz)
6'	62.4	<i>t</i>	4.51 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11.7, 2.6 Hz) 4.36 (1H, <i>m</i> )	6'	62.6	<i>t</i>	4.58 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11.7, 2.6 Hz) 4.36 (1H, <i>m</i> )

m: multiplet or overlapped signals

m: multiplet or overlapped signals

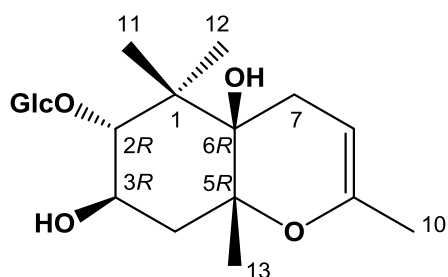
Compound 41 の分子式は、HR-ESI-MS より共に  $C_{19}H_{32}O_9$  であると決定した。 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトル (Table 47) における glucopuranose、40 ppm 付近の 4 級炭素、4 つのメチル基などの特徴から、compound 41 は compound 40 と同様、megastigmane 配糖体であると推測した。さらに、90 ppm 付近のメチン炭素の存在から、compound 40 と同様、compound 41 も 2 位にグリコシド結合を有することが示唆された。その他、二重結合の存在が示唆され、加えて分子式から導かれる不飽和度を勘案し、アグリコン部分にもう一つ環構造を有すると推測した。しかしながら、compound 40 では 6 位の炭素が 94 ppm 付近に観測されていたのに対し、compound 41 ではそれに該当するシグナルが観測されず、代わりに 73.4 ppm の水素原子が結合していない炭素に由来するシグナルが観測されたことから、compound 41 はアグリコン部の 5 位と 9 位が酸素原子を介して閉環した構造であると推測した。より詳細な検討を行うために 2D-NMR (H-H COSY、HMBC) を測定したところ、Fig. 100、101 に示すように相関が観測された。これらの相関のほとんどは 6 位にスピロ環を有する Fig. 101 の compound 41' のような平面構造においても成立するが、compound 41 において確認された 6 位の水酸基から 1 位及び 7 位の炭素への相関は Fig. 99 のような構造のみを支持するものであったことから、compound 41 は 1D NMR から推定していたように、5 位と 9 位が酸素原子を介して閉環している構造であると決定した。

相対立体配置については、まず、2 位の水素 3.50 ppm (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, in  $CD_3OD$ ) と 3 位の水素 3.85 ppm (1H, dd,  $J = 13.6, 9.8, 5.3$  Hz in  $CD_3OD$ ) が 9.8 Hz にカップリングしていることから 2 位及び 3 位の水素は ax 配置であると決定した。さらに、PSNOESY において、4 位の ax 配置の水素と 13 位のメチル基との間に相関が見られたことから 13 位のメチル基は eq 配置と決定し、また、11 位及び 12 位のメチル基の両者と 7 位の水素、加えて 2 位の水素と 6 位の水酸基との間にそれぞれ相関が観測されたことから 6 位の水酸基は  $\beta$  配置であると決定した。

絶対立体配置については、compound 40 と同様の理由から、リング部分は 2*R*、3*R*、5*R*、6*R* であると推定している。

以上より、compound 41 の構造を Fig. 99 のように決定した。





Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{27} -11.8$  ( $c = 0.13$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3382, 2980, 2927, 1587, 1379, 1328, 1159, 1052, 1029, 1014

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 427.1939  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

(calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_9\text{Na}$ : 427.1936)

Fig. 99 Structure and Physical data of Compound **41**

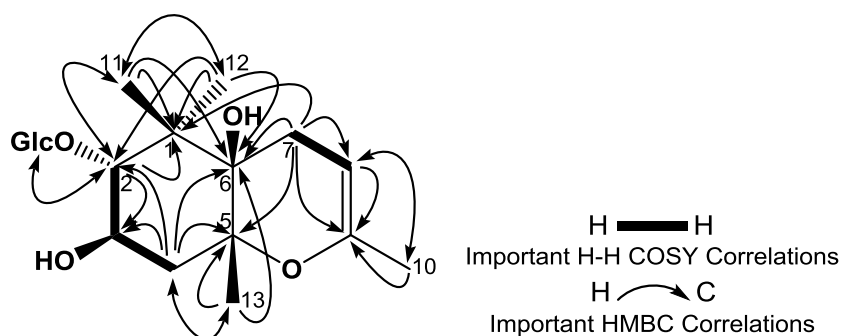


Fig. 100 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compounds **41** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

Table 47  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **41** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

$^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	46.6	<i>s</i>	-
2	90.8	<i>d</i>	3.50 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, ax)
3	67.2	<i>d</i>	3.85 (1H, ddd, $J = 13.6, 9.8, 5.3$ Hz, ax)
4	41.7	<i>t</i>	1.99 (1H, dd, $J = 11.7, 5.3$ Hz, eq) 1.85 (1H, dd, $J = 13.6, 11.7$ Hz, ax)
5	80.3	<i>s</i>	-
6	73.8	<i>s</i>	-
7	30.6	<i>t</i>	2.33 (1H, ddq, $J = 17.1, 4.9, 1.3$ Hz) 1.91 (1H, ddq, $J = 17.1, 2.3, 2.3$ Hz)
8	97.6	<i>d</i>	4.47 (1H, ddq, $J = 4.9, 2.3, 1.1$ Hz)
9	149.6	<i>s</i>	-
10	19.9	<i>q</i>	1.61 (3H, ddd, $J = 2.3, 1.3, 1.1$ Hz)
11	22.4*	<i>q</i>	1.23 (3H, s)
12	17.8	<i>q</i>	1.16 (3H, s)
13	22.5*	<i>q</i>	1.00 (3H, s)
Glc 1'	106.1	<i>d</i>	4.29 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)
2'	75.5	<i>d</i>	3.26 (1H, dd, $J = 9.1, 7.8$ Hz)
3'	78.2	<i>d</i>	3.20-3.38 (1H, m)
4'	71.4	<i>d</i>	3.20-3.38 (1H, m)
5'	78.2	<i>d</i>	3.20-3.38 (1H, m)
6'	62.5	<i>t</i>	3.87 (1H, dd, $J = 11.7, 2.3$ Hz) 3.68 (1H, dd, $J = 11.7, 5.1$ Hz)

\*: exchangeable,

m: multiplet or overlapped signals

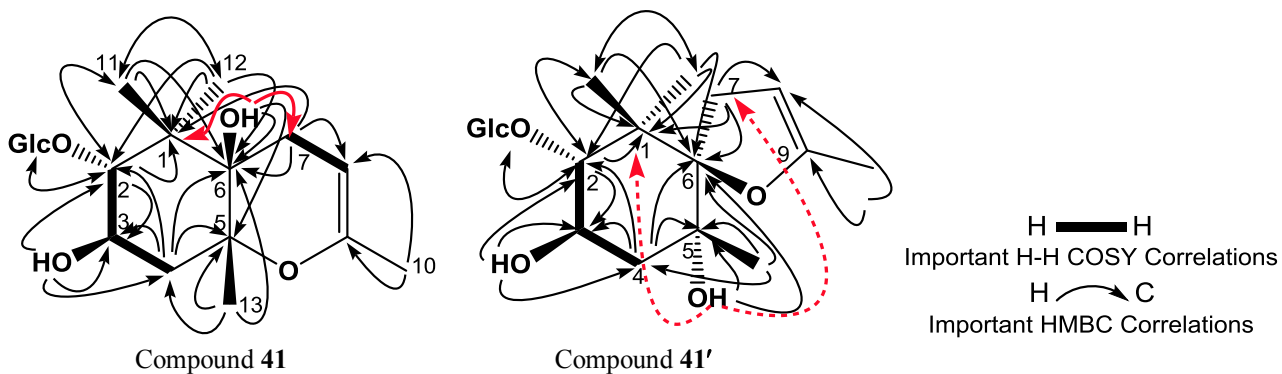


Fig. 101 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compounds **41** and **41'** in  $C_5D_5N$

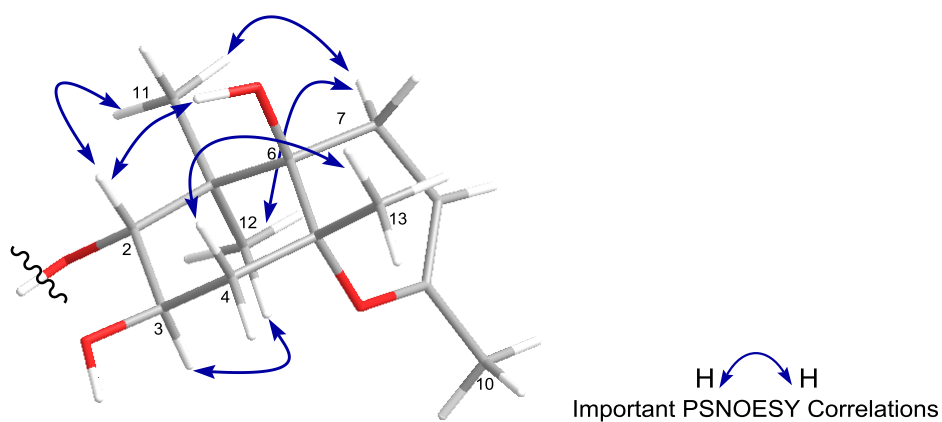


Fig. 102 Important Phase sensitive NOESY correlations of Compound **41** in  $C_5D_5N$

Table 48  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound **41** in  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$   
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	46.7	<i>s</i>	-
2	91.9	<i>d</i>	4.27 (1H, <i>d</i> , $J = 9.6$ Hz, <i>ax</i> )
3	66.7	<i>d</i>	4.51 (1H, <i>ddd</i> , $J = 10.2, 9.6, 6.0$ Hz, <i>ax</i> )
4	42.5	<i>t</i>	2.54 (1H, <i>dd</i> , $J = 13.6, 6.0$ Hz, <i>eq</i> ) 2.51 (1H, <i>dd</i> , $J = 13.6, 10.2$ Hz, <i>ax</i> )
5	80.4	<i>s</i>	-
6	73.4	<i>s</i>	-
7	30.9	<i>t</i>	2.57 (1H, <i>br dd</i> , $J = 17.3, 3.6$ Hz) 2.28 (1H, <i>ddq</i> , $J = 17.3, 2.3, 1.9$ Hz)
8	97.5	<i>d</i>	4.55 (1H, <i>m</i> )
9	149.2	<i>s</i>	-
10	20.5	<i>q</i>	1.70 (3H, <i>br s</i> )
11	23.0	<i>q</i>	1.79 (3H, <i>s</i> )
12	18.5	<i>q</i>	1.45 (3H, <i>s</i> )
13	23.1	<i>q</i>	1.53 (3H, <i>s</i> )
Glc 1'	106.9	<i>d</i>	4.97 (1H, <i>m</i> )
2'	76.0	<i>d</i>	4.11 (1H, <i>m</i> )
3'	79.1	<i>d</i>	4.21 (1H, <i>dd</i> , $J = 9.1, 8.7$ Hz)
4'	71.9	<i>d</i>	4.25 (1H, <i>dd</i> , $J = 9.4, 9.1$ Hz)
5'	78.8	<i>d</i>	3.97 (1H, <i>ddd</i> , $J = 9.4, 5.2, 2.3$ Hz)
6'	62.9	<i>t</i>	4.54 (1H, <i>m</i> ) 4.36 (1H, <i>dd</i> , $J = 11.3, 5.2$ Hz)

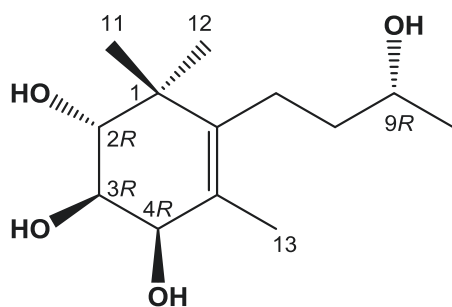
m: multiplet or overlapped signals

Compound 42 の分子式は、HR-ESI-MS より共に  $C_{13}H_{24}O_4$  であると決定した。 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトル (Table 49) における 40 ppm 付近の 4 級炭素、4 つのメチル基などの特徴から、compound 42 は megastigmane であると推測した。その他、1 組の内部二重結合及び 4 つの二級水酸基の存在が示唆された。より詳細な検討を行うために 2D-NMR (H-H COSY、HMBC) を測定したところ、Fig. 104 に示すように相関が観測されたことから、compound 42 の構造を Fig. 103 のように決定した。

相対立体配置については、まず、2 位の水素 3.48 ppm (1H, d,  $J = 11.2$  Hz) と 3 位の水素 3.53 ppm (1H, dd,  $J = 11.2, 4.2$  Hz) が 11.2 Hz にカップリングしている事から 2 位及び 3 位の水素は ax 配置であると決定し、さらに、3 位の水素と 4 位の水素 3.87 ppm (1H, d, 4.2 Hz) が 4.2 Hz にカップリングしていることから 4 位の水素は eq 配置であると決定した。以上の事からリング部分の相対立体配置を Fig. 103 に示すように 2 位及び 3 位の水酸基は eq 配置、4 位の水酸基は ax 配置であると決定した。

絶対立体配置については、改良モッシャー法により検討を行った。Compound 42 の *R* 及び *S*-MTPA エステル体 (Compound 42a, 42b) を得、検討した結果 (Fig. 105)、3*R*、9*R* であると決定し、前述の相対配置を踏まえ、compound 42 の絶対配置は 2*R*、3*R*、4*R*、9*R* であると決定した。

以上より、compound 42 の構造を Fig. 103 のように決定した。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{22} -118$  ( $c = 0.58$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3386, 2969, 1651, 1512, 1457, 1119,  
 1083, 1038, 963  
 HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 267.1572  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   
 (calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$ : 267.1567)

Fig. 103 Structure and Physical data of Compound **42**

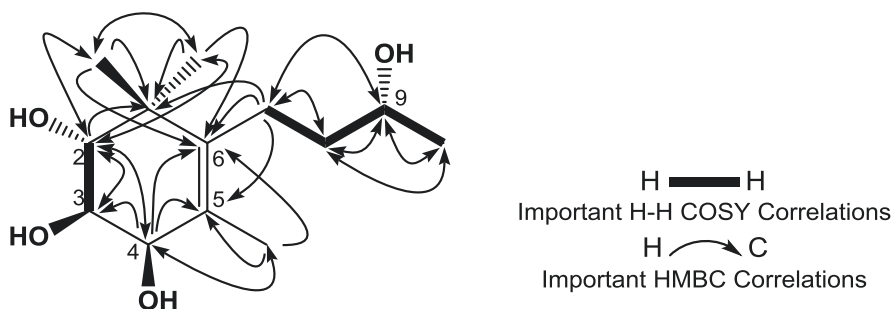
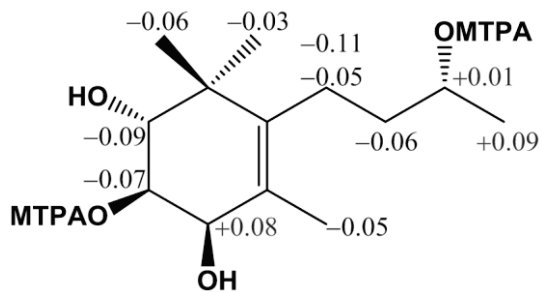


Fig. 104 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound **42**



$\Delta\delta$  Values are in ppm ( $\delta_S - \delta_R$ )

Fig. 105 Result with the modified Mosher's method for Compounds **42a** and **42b**

Table 49  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 42  
 $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

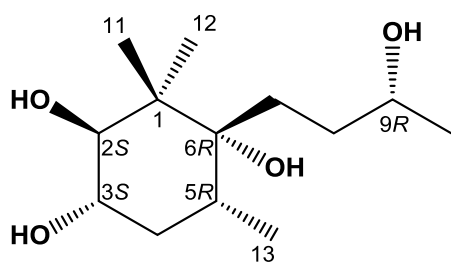
Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	43.5	<i>s</i>	-
2	74.9	<i>d</i>	3.48 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, ax)
3	71.0	<i>d</i>	3.53 (1H, dd, $J = 11.2, 4.2$ Hz, ax)
4	73.5	<i>t</i>	3.87 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, eq)
5	127.4	<i>s</i>	-
6	143.0	<i>s</i>	-
7	26.3	<i>t</i>	2.25 (1H, ddd, $J = 13.2, 12.1, 5.7$ Hz) 1.96 (1H, ddd, $J = 13.2, 12.5, 5.3$ Hz)
8	40.1	<i>t</i>	1.56 (1H, m) 1.51 (1H, m)
9	69.1	<i>d</i>	3.73 (1H, qt, $J = 6.4, 6.1$ Hz)
10	23.3	<i>q</i>	1.17 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
11	20.8	<i>q</i>	0.94 (3H, s)
12	26.0	<i>q</i>	1.13 (3H, s)
13	18.2	<i>q</i>	1.77 (3H, s)

m: multiplet or overlapped signals

Compound 43 の分子式は、HR-ESI-MS より共に  $C_{13}H_{26}O_4$  であると決定した。 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトル (Table 50) における 40 ppm 台の 4 級炭素、4 つのメチル基などの特徴から、compound 43 も compound 42 と同様 megastigmane であると推測した。その他、3 つの二級水酸基と 1 つの三級水酸基の存在が示唆された。より詳細な検討を行うために 2D-NMR (H-H COSY、HMBC) を測定したところ、Fig. 107 に示すように相関が観測されたことから、compound 43 の構造を Fig. 106 のように決定した。

相対立体配置については、まず、2 位の水素 3.41 ppm (1H, d,  $J=9.8$  Hz) と 3 位の水素 3.50 ppm (1H, ddd,  $J=11.7, 9.8, 5.3$  Hz) が 9.8 Hz にカップリングしている事から 2 位及び 3 位の水素は ax 配置であると決定し、さらに、4 位の水素 1.52 ppm (1H, ddd,  $J=12.8, 5.3, 4.2$  Hz, eq) 及び 1.49 ppm (1H, ddd,  $J=12.8, 12.6, 11.7$  Hz, ax) と 5 位の水素 1.92 ppm (1H, dqd,  $J=12.6, 6.8, 4.2$  Hz) がそれぞれ 12.6 Hz 及び 4.2 Hz にカップリングしていることから 5 位の水素は ax 配置であると決定した。以上の事からリング部分の相対立体配置を Fig. 106 に示すように 2 位及び 3 位の水酸基及び 13 位のメチル基は ax 配置であると決定した。さらに、6 位の相対立体配置については PSNOESY を測定した結果 (Fig. 108)、5 位の水素及び 11 位、12 位のメチル基の全てと 7 位の水素との間に相関が観測されたことから 6 位の水酸基は ax 配置であると決定した。その他の相関もカップリング定数より決定した相対立体配置を支持するものであったことから、リング部分の相対立体配置を Fig. 106 のように決定した。

絶対立体配置については、改良モッシャー法により検討を行った。Compound 43 の *R* 及び *S*-MTPA エステル体 (Compound 43a, 43b) を得、検討した結果 (Fig. 109)、3*S*、9*R* であると決定し、前述の相対配置を踏まえ、compound 43 の絶対配置は 2*S*、3*S*、5*R*、6*R*、9*R* であると決定した。以上より、compound 42 の構造を Fig. 106 のように決定した。



Amorphous Powder

$[\alpha]_D^{22} -0.45$  ( $c = 0.44$ , MeOH)

IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3368, 2970, 1650, 1458, 1373, 1108, 1108, 1048, 1012, 967

HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 267.1722  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

(calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{Na}$ : 267.1723)

Fig. 106 Structure and Physical data of Compound 43

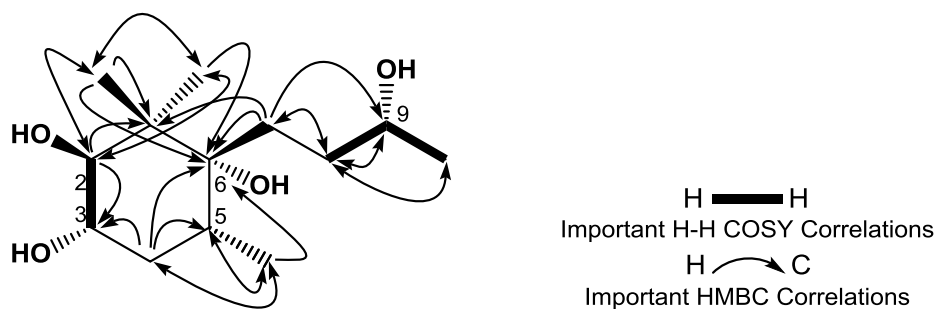


Fig. 107 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 43

Table 50  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 43

$^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	46.3	<i>s</i>	-
2	79.2	<i>d</i>	3.41 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, ax)
3	71.7	<i>d</i>	3.50 (1H, ddd, $J = 11.7, 9.8, 5.3$ Hz, ax)
4	38.1	<i>t</i>	1.70 (1H, ddd, $J = 12.8, 5.3, 4.2$ Hz, eq) 1.50 (1H, ddd, $J = 11.8, 12.6, 11.7$ Hz, ax)
5	35.4	<i>d</i>	1.98 (1H, dqd, $J = 12.6, 6.8, 4.2$ Hz, ax)
6	78.0	<i>s</i>	-
7	33.9	<i>t</i>	1.67 (1H, dt, $J = 16.0, 7.8$ Hz) 1.64 (1H, dt, $J = 16.0, 7.8$ Hz)
8	35.6	<i>t</i>	1.54 (2H, dd, $J = 7.8, 6.8$ Hz)
9	69.9	<i>d</i>	3.63 (1H, tq, $J = 6.8, 6.0$ Hz)
10	23.7	<i>q</i>	1.16 (3H, d, $J = 6.0$ Hz)
11	17.7	<i>q</i>	0.86 (3H, s)
12	21.4	<i>q</i>	1.05 (3H, s)
13	16.4	<i>q</i>	0.93 (3H, d, $J = 6.8$ Hz)



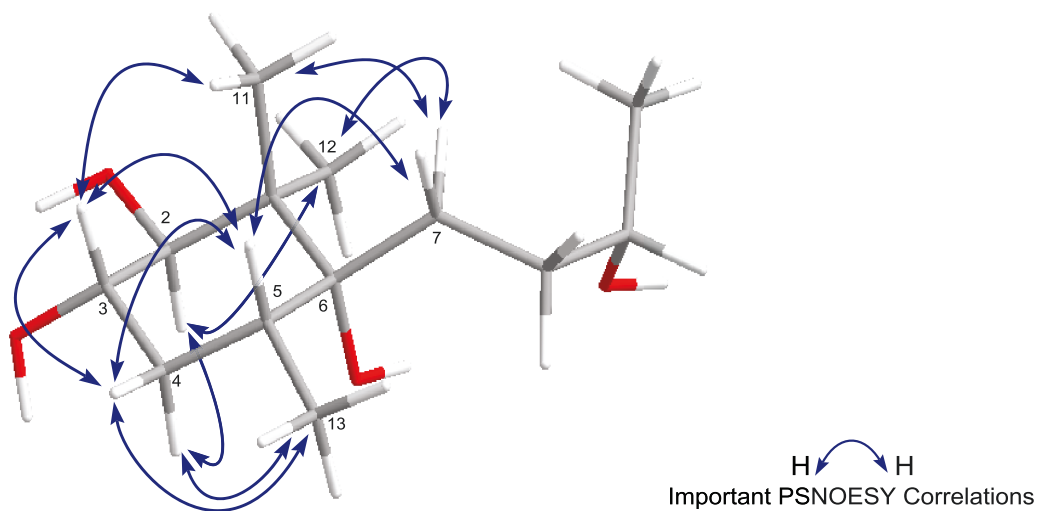


Fig. 108 Important Phase sensitive NOESY correlations of Compound **43**

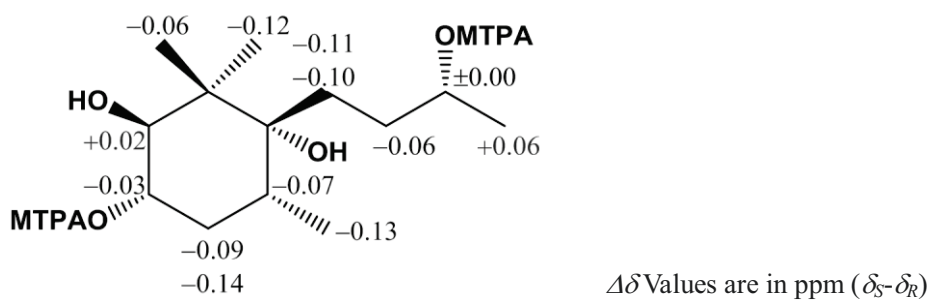


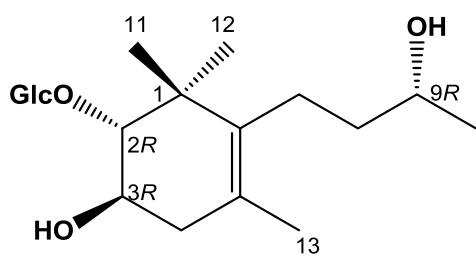
Fig. 109 Result with the modified Mosher's method for Compounds **43a** and **43b**

Compound 44 の分子式は、HR-ESI-MS より共に  $C_{19}H_{34}O_8$  であると決定した。 $^{13}C$ 、 $^1H$  両 NMR スペクトル (Table 51) における glucopyranose、40 ppm 台の 4 級炭素、4 つのメチル基などの特徴から、compound 44 は compound 40 及び 41 と同様、megastigmane 配糖体であると推測した。さらに、90 ppm 付近のメチン炭素の存在から、compound 40 及び 41 と同様、compound 44 も 2 位にグリコシド結合を有することが示唆された。その他、1 組の内部二重結合、3 つの 2 級水酸基の存在が示唆された。より詳細な検討を行うために 2D-NMR (H-H COSY、HMBC) を測定したところ、Fig. 111 に示すように相関が観測され、compound 44 の平面構造を Fig. 110 のように決定した。

相対立体配置については、2 位の水素 3.27 ppm (1H, d,  $J = 10.0$  Hz) と 3 位の水素 3.79 ppm (1H, ddd,  $J = 10.0, 9.7, 6.8$  Hz) が 10.0 Hz にカップリングしていることから 2 位及び 3 位の水素は ax 配置であると決定した。

絶対立体配置を検討するため compound 44 を酵素加水分解し、得られたアグリコン (Compound 44a) について、2 位の立体を決定すべく glucosylation-induced shift-trend rule の適用を試みたが、table 52 に示すように、適用はできなかつた。そのため、9 位の立体の検討も踏まえ、改良モッシャー法により検討を行った。Compound 44a の *R* 及び *S*-MTPA エステル体 (Compounds 44c, 44d) を得、検討した結果 (Fig. 112)、3*R*、9*R* であると決定し、前述の相対配置を踏まえ、compound 44 の絶対配置は 2*R*、3*R*、9*R* であると決定した。

以上より、compound 44 の構造を Fig. 110 のように決定した。なお、アグリコンである compound 44a は既知化合物である<sup>43)</sup>。



Amorphous Powder  
 $[\alpha]_D^{22} -60.0$  ( $c = 0.58$ , MeOH)  
 IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3335, 2967, 1650, 1557, 1512, 1456,  
 1160, 1078, 1035, 996  
 HR-ESI-MS (positive)  $m/z$ : 413.2140  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   
 (calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_8\text{Na}$ : 413.2146)

Fig. 110 Structure and Physical data of Compound 44

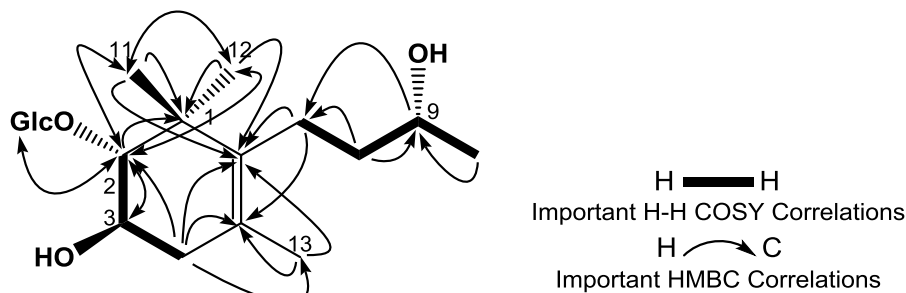


Fig. 111 Important H-H COSY and HMBC correlations of Compound 44

Table 51  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data for Compound 44

$^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR (150 MHz and 600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	$^{13}\text{C}$		$^1\text{H}$
1	44.0	<i>s</i>	-
2	92.5	<i>d</i>	3.27 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, ax)
3	67.5	<i>d</i>	3.79 (1H, ddd, $J = 10.0, 9.7, 6.8$ Hz, ax)
4	40.8*	<i>t</i>	2.34 (1H, dd, $J = 17.0, 6.8$ Hz, eq) 2.05 (1H, dd, $J = 17.0, 9.7$ Hz, ax)
5	124.4	<i>s</i>	-
6	137.9	<i>s</i>	-
7	25.8	<i>t</i>	2.23 (1H, m) 1.91 (1H, ddd, $J = 15.1, 10.2, 6.8$ Hz)
8	40.7*	<i>t</i>	1.50 (2H, m)
9	69.1	<i>d</i>	3.71 (1H, m)
10	23.3	<i>q</i>	1.17 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
11	22.9	<i>q</i>	1.03 (3H, s)
12	25.6	<i>q</i>	1.22 (3H, s)
13	19.6	<i>q</i>	1.63 (3H, s)
Glc 1'	106.2	<i>d</i>	4.35 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)
2'	75.5	<i>d</i>	3.29 (1H, m)
3'	78.2**	<i>d</i>	3.36 (1H, m)
4'	71.4	<i>d</i>	3.34 (1H, m)
5'	78.1**	<i>d</i>	3.36 (1H, m)
6'	62.5	<i>t</i>	3.87 (1H, dd, $J = 12.1, 1.7$ Hz) 3.68 (1H, m)

\*: exchangeable,  
 m: multiplet or overlapped signals

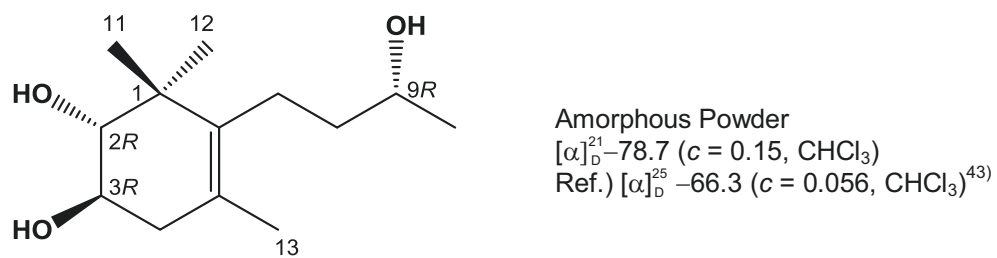


Fig. 112 Structure and Physical data of Compound **44a**

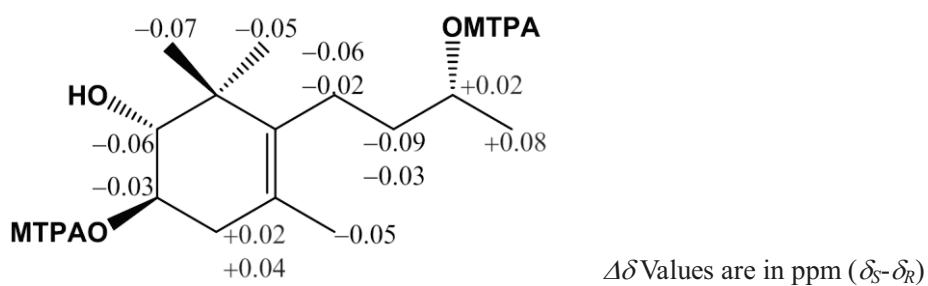


Fig. 113 Result with the modified Mosher's method for Compounds **44c** and **44d**

Table 51 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound **44a** in CD<sub>3</sub>OD<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	43.2	<i>s</i>	-
2	81.1 (+0.8)*	<i>d</i>	3.15 (1H, d, <i>J</i> = 10.1 Hz, ax)
3	68.7 (+11.4)*	<i>d</i>	3.67 (1H, ddd, <i>J</i> = 10.1, 9.9, 6.5 Hz, ax)
4	41.3 (-1.2)*	<i>t</i>	2.27 (1H, dd, <i>J</i> = 16.9, 6.5 Hz, eq) 2.01 (1H, dd, <i>J</i> = 16.9, 9.9 Hz, ax)
5	124.5	<i>s</i>	-
6	138.3	<i>s</i>	-
7	26.05	<i>t</i>	2.22 (1H, m) 1.91 (1H, ddd, <i>J</i> = 15.1, 10.2, 6.8 Hz)
8	40.7	<i>t</i>	1.50 (2H, m)
9	69.2	<i>d</i>	3.70 (1H, dq, <i>J</i> = 6.5, 6.2 Hz)
10	23.3	<i>q</i>	1.17 (3H, d, <i>J</i> = 6.2 Hz)
11	22.0	<i>q</i>	0.93 (3H, s)
12	26.09	<i>q</i>	1.11 (3H, s)
13	19.7	<i>q</i>	1.62 (3H, s)

\*: Δδ<sub>44-44a</sub>, m: multiplet or overlapped signalsTable 51 <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data for Compound **44a** in CDCl<sub>3</sub><sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR (150 MHz and 600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Position	<sup>13</sup> C		<sup>1</sup> H
1	41.7	<i>s</i>	-
2	80.3	<i>d</i>	3.27 (1H, d, <i>J</i> = 9.8 Hz, ax)
3	67.9	<i>d</i>	3.77 (1H, ddd, <i>J</i> = 9.8, 9.8, 6.4 Hz, ax)
4	39.7	<i>t</i>	2.33 (1H, dd, <i>J</i> = 16.6, 6.4 Hz, eq) 2.06 (1H, dd, <i>J</i> = 16.6, 9.8 Hz, ax)
5	123.5	<i>s</i>	-
6	136.6	<i>s</i>	-
7	24.8	<i>t</i>	2.22 (1H, m) 1.91 (1H, m)
8	39.7	<i>t</i>	1.52 (2H, m)
9	68.7	<i>d</i>	3.81 (1H, m)
10	23.4	<i>q</i>	1.22 (3H, d, <i>J</i> = 6.1 Hz)
11	25.5	<i>q</i>	1.13 (3H, s)
12	21.4	<i>q</i>	0.93 (3H, s)
13	19.5	<i>q</i>	1.63 (3H, s)

m: multiplet or overlapped signals

---

## 第4章 小括

---

アワブキ科植物ナンバンアワブキ [*Meliosma lepidota* ssp. *squamulata*] 葉部の成分研究を行い、1-ブタノール可溶画分より新規 megastigmane 2 種 (Compounds **42**, **43**) 及び同配糖体 3 種 (Compounds **41**, **42**, **44**) を単離し、その化学構造を明らかにした。

本研究ではアワブキ科植物ナンバンアワブキ [*Meliosma lepidota* ssp. *squamulata*] 葉部の成分研究を行い、1-ブタノール可溶画分より新規 megastigmane 2 種 (Compounds 42, 43) 及び同配糖体 3 種 (Compounds 41, 42, 44) を単離し、その化学構造を明らかにした。

今回単離された compound 40 及び 41 の関係性について、考察した。

本研究において interconverable mixture として得られた compound 40 とその類縁化合物である compound 41 は同一フラクションを HPLC で精製することにより単離された化合物であった。Compound 40 については保持時間の異なる 2 本のピークを別々に単離してもすぐに相互変換してしまい、単離することはできなかった。また、compound 41 に関しては容易に変化することはなかったが、時間の経過に伴い、若干ではあるが compound 40 を生成しており、逆もまた同様であった。このことから Fig. 114 のような反応が起きていると推測できる。また、compound 41 はシクロヘキサン部分と複素環部分とが一見不安定そうに見える垂直に近い形をとっているが、compound 40 と同一の骨格から生成されていることを勘案すると 5 位及び 6 位の立体についても説明ができる。

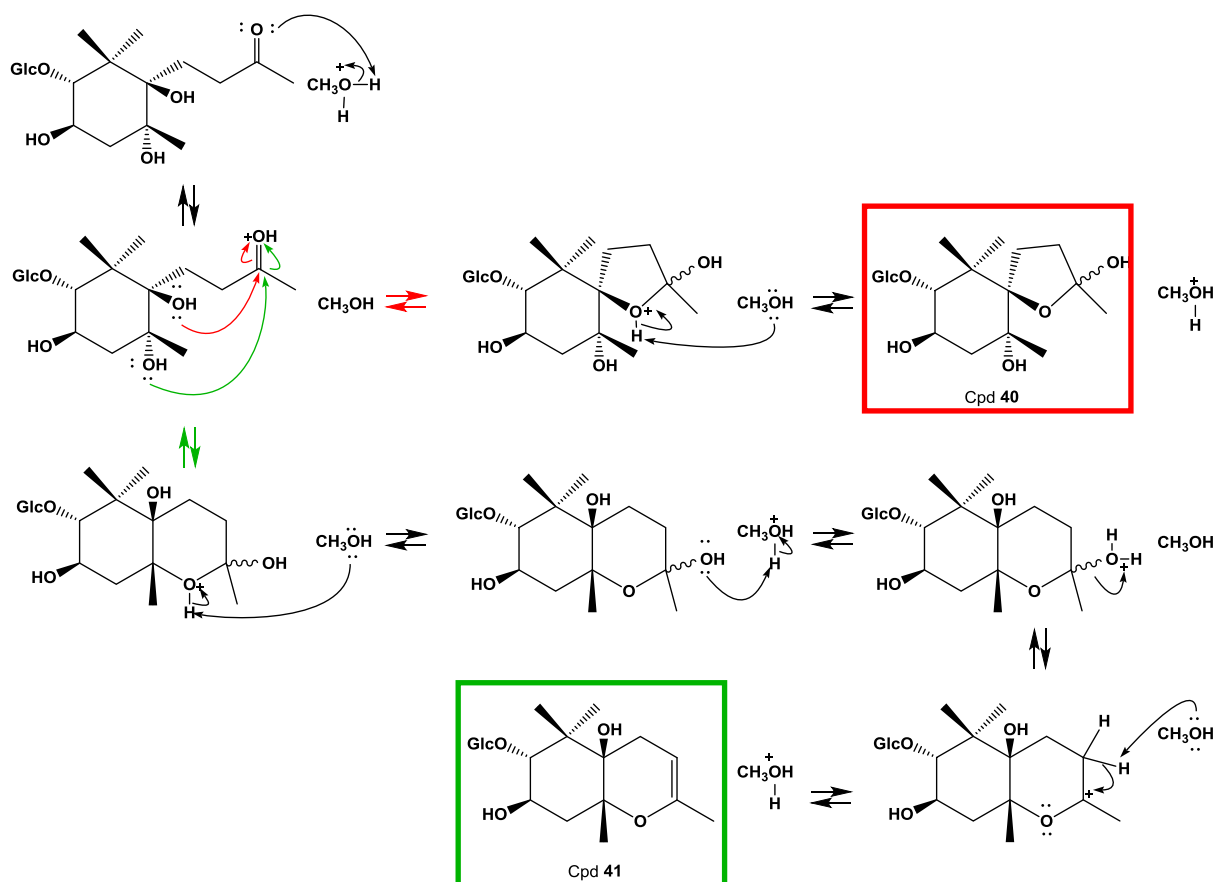


Fig. 114 Biosynthesis pathway of compound 40 and compound 41

### 材料植物

ナンバンアワブキ *Meliosma lepidota* ssp. *squamulata* の葉部は 2006 年、沖縄県国頭郡国頭村で採集した。

### 一般法

#### 1. 旋光度

旋光度は P-1030 (日本分光工業) デジタル旋光度計を用いて測定した。測定溶媒及び温度は、各測定値に付記した。

#### 2. 核磁気共鳴 (NMR) スペクトル

JEOL ECA-600 核磁気共鳴装置 (日本電子共鳴周波数、 $^1\text{H}$  NMR : 600 MHz、 $^{13}\text{C}$  NMR : 150 MHz) を使用して測定した。いずれも溶媒中の D シグナルを internal lock signal とした。ケミカルシフト値の表示は、内部標準物質テトラメチルシラン (TMS) からの $\delta$ 値 (ppm) で示し、 $^1\text{H}$  NMR スペクトルにおける結合定数は括弧内に Hz 単位で記した。

#### 3. 質量 (MS) 分析

高性能ハイブリット型質量分析システム (Thermo Fisher Scientific、LTQ Orbitrap XL) を用いて測定した。

#### 4. 赤外吸収 (IR) スペクトル

HORIBA FT-710 (堀場製作所) 分光光度計を使用し、フィルム法にて試料を調製し測定した。

### カラムクロマトグラフィー

#### 1. Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーには逆相系多孔性樹脂 Diaion HP-20 を使用した。

#### 2. シリカゲルカラムクロマトグラフィー

順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーには、70-230 mesh の silica gel 60 (Merck) を使用した。逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーには、Cosmosil 75 C<sub>18</sub>-OPN (Nacalai Tesque) を使用した。

#### 3. 液滴向流カラムクロマトグラフィー (DCCC)

本体に液滴向流クロマトグラフ EYELA DCC-3000 (東京理化工機) を使用した (分離部: 内径 2 cm、長さ 40 cm のカラム管 300 本)。溶媒は固定相にクロロホルム : メタノール : 水 : 1-プロパノール = 9: 12: 6: 1 の混合溶媒の下層を用い、移動相にその上層を用い、液滴上昇法にて溶出させた。



#### 4. 高速液体クロマトグラフィー

分取用カラムに Inertsil ODS (6.0×250 mm) もしくは 10.0×250 mm) もしくは Cholestel (10.0×250 mm) を使用し、検出に RI 2031 (日本分光工業)、溶媒にメタノール - 水系を用いて、流速 1.6 mL/ min もしくは 2.8 mL/ min で行った。

なお、分取用カラムの種類及びサイズと流速は括弧内に明記した。

#### 5. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

TLC プレートに厚さ 0.25 mm のシリカゲル 60F<sub>254</sub> (メルク) プレートを用い、クロロホルム : メタノール : 水 = 15 : 6 : 1 の混合溶媒を展開溶媒とした。展開後のスポットは UV (254 nm) 照射および、10%硫酸を噴霧後加熱し呈色させて検出した。

#### 6. 糖分析 (HPLC)

分析用カラムに Shodex NH2P-50 (昭和電工) を使用し、検出に OR-2090 (日本分光工業) 旋光度検出計を用い、溶媒にアセトニトリル - 水系を用いて、流速 1 mL/ min で行った。

### 抽出、単離、精製

乾燥させたナンバンアワブキの葉部 (8.80 kg) をメタノールで3回 (4.5 L) 抽出し、3.0 Lに濃縮後、*n*-ヘキサン 3 Lで抽出した。メタノール層を濃縮後、水 3.0 Lで懸濁し、酢酸エチル、1-ブタノールをそれぞれ 3.0 Lで連続的に抽出、濃縮し、*n*-ヘキサン層 (41.0 g)、酢酸エチル層 (104 g)、1-ブタノール層 (125 g)、水層 (198 g) を得た。

このうち、1-ブタノール可溶画分 (125 g) のうち 123 g を逆相性多孔性樹脂 Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー (内径 6.0 cm×高さ 46 cm、1 フラクシオン=1 L) に付し、水 - メタノール (4: 1, 4 L)、(3: 2, 4 L)、(2: 3, 4 L)、(1: 4, 4 L)、そしてメタノール 4 L の順に溶解し、20%メタノール溶出画分 (フラクシオン 1-3, 33.2 g)、20-40%メタノール溶出画分 (フラクシオン 4-7, 18.0 g)、40-60%メタノール溶出画分 (フラクシオン 8-12, 28.0 g)、60-80%メタノール溶出画分 (フラクシオン 13, 14, 4.68 g)、80-100%メタノール溶出画分 (フラクシオン 15-18, 20.2 g)、100%メタノール溶出画分 (フラクシオン 19-24, 10.0 g) を得た。

### Compounds 40, 41, 42, 43, 44

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーの 20-40%メタノール溶出画分 (フラクシオン 4-7, 18.0 g) をクロロホルムとメタノールの混合溶媒 [クロロホルム 6 L、クロロホルム - メタノール (49: 1, 3 L)、(24: 1, 3 L)、(23: 2, 3 L)、(9: 1, 3 L)、(17: 3, 3 L)、(4: 1, 3 L)、(3: 1, 3 L)、(7: 3, 3 L)、クロロホルム - メタノール - 水 (35: 15: 2, 3 L)、メタノール 3 L] を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 5.2 cm×高さ 47 cm、1 フラクシオン=500 mL) に付し、15%メタノール溶出画分 (フラクシオン 34-38, 0.706 g) 及び 15-20%メタノール溶出画分 (フラクシオン 39-43, 1.75 g) を得た。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーの 15%メタノール溶出画分 (フラクシオン 34-38, 0.706 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 5.0 cm×高さ 25 cm、10%メタノール 2 L→90%メタノール 2 L: linear gradient、1 フラクシオン=10 g) に付し、フラクシオン 96-108 (141 mg) を得た。得られたフラクシオン 96-108 (141 mg) を DCCC に付し、フラクシオン 43-49 (52.6 mg) を得、それを高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール: 水=2: 3、ODS (10 mm)、2.8 mL/min) を用いて精製し、保持時間 16 分のピークから compound 42 (35.0 mg)、保持時間 18 分のピークから compound 43 (7.6 mg) を得た。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーの 15-20%メタノール溶出画分 (フラクシオン 39-43, 1.75 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 5.0 cm×高さ 25 cm、10%メタノール 2 L→90%メタノール 2 L: linear gradient、1 フラクシオン=10 g) に付し、フラクシオン 53-69 (84.3 mg) 及びフラクシオン 144-156 (86.1 mg) を得た。

フラクシオン 53-69 (84.3 mg) を DCCC に付し、フラクシオン 10-36 (92.2 mg) を得、それを高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール: 水=3: 7、Cholest (10 mm)、2.8 mL/min) を用

いて精製し、保持時間 13 分及び 16 分のピークから compound **40** (36.3 mg)、保持時間 47 分のピークから compound **41** (2.8 mg) を得た。

一方、フラクション 144-156 (86.1 mg) を DCCC に付し、フラクション 39-45 (56.3 mg) を得、それを高速液体カラムクロマトグラフィー (メタノール : 水 = 7 : 20、ODS (10 mm)、2.8 mL/min) を用いて精製し、保持時間 28 分のピークから compound **44** (26.3 mg) を得た。

#### Compound **42** の(R), (S)-MTPA エステル化

Compound **42** (0.4 mg) を無水ジクロロメタン (1 mL) に溶かし、(R)-MTPA (10.0 mg)、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (EDC) (10.0 mg)、*N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (4-DMAP) (10.0 mg) を加えて 37°C、12 時間反応させた。反応後、順次、水 (1 mL)、1M 塩酸 (1 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 mL)、飽和食塩水 (1 mL) で反応液を洗った。得られた有機層を、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、減圧乾燥した。得られた残渣は TLC [silica gel (0.25 mm thickness), being applied for 10 cm, with development with CHCl<sub>3</sub>-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO (20: 1) for 9 cm, and then eluted with CHCl<sub>3</sub>-MeOH (5: 1)] で精製し、エステル化合物 compound **42a** (0.3 mg) を得た。同様にして compound **42** (0.6 mg) を (S)-MTPA (10.0 mg)、EDC (10.0 mg)、4-DMAP (10.0 mg) と反応させ、エステル化合物 compound **42b** (0.4 mg) を得た。

#### Compound **42a**: (2R,3R,4R,9R)-Megastigman-5,6-en-2,3,4,9-tetraol-3,9-O-(R)-MTPA diester

Amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ: 7.61-7.39 (12H, aromatic protons), 5.15 (1H, m, 9-H), 5.10 (1H, m, 3-H), 4.09 (1H, m, 4-H), 3.84 (1H, m, 2-H), 3.50 (6H, s, -OMe), 1.96 (1H, m, 7-Ha), 1.70 (2H, m, 8-H<sub>2</sub>), 1.68 (1H, s, 13-H<sub>3</sub>), 1.67 (1H, m, 7-Hb), 1.29 (1H, m, 10-H<sub>3</sub>), 1.12 (3H, s, 11-H<sub>3</sub>), 1.00 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode) *m/z*: 699.2365 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>F<sub>6</sub>Na: 699.2363).

#### Compound **42b**: (2R,3R,4R,9R)-Megastigman-5,6-en-2,3,4,9-tetraol-3,9-O-(S)-MTPA diester

Amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ: 7.62-7.39 (12H, aromatic protons), 5.15 (1H, m, 9-H), 5.03 (1H, m, 3-H), 4.17 (1H, m, 4-H), 3.75 (1H, m, 2-H), 3.50 (6H, s, -OMe), 1.85 (1H, m, 7-Ha), 1.64 (1H, m, 8-H<sub>2</sub>), 1.63 (1H, s, 13-H<sub>3</sub>), 1.62 (1H, m, 7-Hb), 1.38 (1H, m, 10-H<sub>3</sub>), 1.06 (3H, s, 11-H<sub>3</sub>), 0.97 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode) *m/z*: 699.2366 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>F<sub>6</sub>Na: 699.2363).

#### Compound **43** の(R), (S)-MTPA エステル化

Compound **43** (0.6 mg) を無水ジクロロメタン (1 mL) に溶かし、(R)-MTPA (19.5 mg)、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (EDC) (11.4 mg)、*N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (4-DMAP) (15.7 mg) を加えて 37°C、44 時間反応させた。反応後、順次、水 (1 mL)、1M 塩酸 (1 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 mL)、飽和食塩水 (1 mL) で反応液を洗った。得られた有機層を、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、減圧乾燥した。得られた残渣は TLC [silica gel (0.25 mm thickness), being applied for 10 cm, with development with CHCl<sub>3</sub>-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO (19: 1) for 9 cm, and then eluted with CHCl<sub>3</sub>-MeOH (9: 1)] で精製し、エステル化合物

compound **43a** (0.8 mg)を得た。同様にして compound **43** (0.6 mg)を(*S*)-MTPA (25.4 mg)、EDC (9.0 mg)、4-DMAP (15.4 mg)と反応させ、エステル化合物 compound **43b** (0.3 mg)を得た。

Compound **43a**: (2*S*,3*S*,5*R*,6*R*,9*R*)-Megastigman-2,3,6,9-tetraol-3,9-*O*-(*R*)-MTPA diester

Amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ: 7.55-7.40 (12H, aromatic protons), 5.07 (1H, m, 9-H), 4.99 (1H, ddd, *J* = 11.7, 9.8, 5.3 Hz, 3-H), 3.69 (1H, dd, *J* = 9.8, 4.2 Hz, 2-H), 3.58 (3H, s, -OMe), 350 (3H, s, OMe), 1.98 (1H, m, 5-H), 1.85 (1H, m, 4-Heq), 1.70 (2H, m, 8-H<sub>2</sub>), 1.64 (1H, m, 4-Hax), 1.63 (1H, m, 7-Ha), 1.57 (1H, m, 7-Hb), 1.30 (1H, m, 10-H<sub>3</sub>), 1.09 (3H, s, 11-H<sub>3</sub>), 0.90 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>), 0.88 (3H, s, 13-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode) *m/z*: 701.2518 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>O<sub>8</sub>F<sub>6</sub>Na: 701.2520).

Compound **43b**: (2*S*,3*S*,5*R*,6*R*,9*R*)-Megastigman-2,3,6,9-tetraol-3,9-*O*-(*S*)-MTPA diester

Amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ: 7.55-7.40 (12H, aromatic protons), 5.07 (1H, m, 9-H), 4.96 (1H, ddd, *J* = 11.7, 10.2, 5.3 Hz, 3-H), 3.71 (1H, dd, *J* = 10.2, 5.7 Hz, 2-H), 3.58 (3H, s, -OMe), 355 (3H, s, OMe), 1.91 (1H, m, 5-H), 1.76 (1H, m, 4-Heq), 1.74 (1H, m, 7-Ha), 1.64 (2H, m, 8-H<sub>2</sub>), 1.50 (1H, m, 4-Hax), 1.47 (1H, m, 7-Hb), 1.36 (1H, m, 10-H<sub>3</sub>), 1.06 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>), 0.97 (3H, s, 11-H<sub>3</sub>), 0.75 (3H, s, 13-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode) *m/z*: 701.2520 [M+Na]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>O<sub>8</sub>F<sub>6</sub>Na: 701.2520).

Compound **44** の酵素加水分解

Compound **44** (5.1 mg) を 20 mM 酢酸バッファー (1 mL) に溶解し、5 mg のβ-glucosidase (10000 U/270.3 mg、アーモンド由来、和光純薬) を加え、37°C水浴中で浸透しながら 11 時間反応させた。反応駅をシリカゲル 2.5 g にまぶし、クロロホルムとメタノールの混合溶媒 [クロロホルム 200 mL、クロロホルム - メタノール (19: 1、100 mL)、(9: 1、100 mL)、(17: 3、100 mL)、(4: 1、100 mL)、(3: 1、100 mL)、(7: 3、100 mL)、メタノール 200 mL] を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィー (内径 2.5 cm×高さ 20 cm、1 フラクション=5 g) に付し、15%メタノール溶出画分 (フラクション 114-119) から compound **44a** ((2*R*,3*R*,9*R*)-Megastigman-5,6-en-2,3,9-triol) (2.3 mg) 及び 100%メタノール溶出画分から compound **44b** (D-glucose) (2.2 mg) を得た。

Compound **44b** の糖分析

HPLC (アセトニトリル : 水 = 4 : 1) を用いて前述の条件にて糖分析を行った。保持時間 10.4 分のピークにおいて正の旋光性を示したため、D-Glucose であると判断した。なお、標品として D-Glucose (1mg/ mL in 80% CH<sub>3</sub>CNAq) 10 μL を injection し、保持時間 10.4 分のピークにおいて正の旋光性を示すことを確認した。

Compound **44a** の(*R*), (*S*)-MTPA エステル化

Compound **44a** (0.7 mg) を無水ジクロロメタン (1 mL) に溶かし、(*R*)-MTPA (11.1 mg)、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (EDC) (11.1 mg)、*N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (4-DMAP) (10.0 mg) を加えて 37°C、31 時間反応させた。反応後、順次、水 (1 mL)、1M 塩酸 (1 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 mL)、飽和食塩水 (1 mL) で

反応液を洗った。得られた有機層を、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、減圧乾燥した。得られた残渣は TLC [silica gel (0.25 mm thickness), being applied for 10 cm, with development with  $\text{CHCl}_3$ - $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$  (40: 1) for 9 cm, and then eluted with  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (5: 1)] で精製し、エステル化合物 compound **44c** (0.1 mg)を得た。同様に compound **44a** (0.7 mg)を(S)- MTPA (13.0 mg)、EDC (10.5 mg)、4-DMAP (15.7 mg)と反応させ、エステル化合物 compound **44d** (0.4 mg) を得た。

**Compound 44c:** (2*R*,3*R*,9*R*)-Megastigman-5,6-en-2,3,9-triol-3,9-*O*-(*R*)-MTPA diester

Amorphous powder;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz)  $\delta$ : 7.57-7.40 (12H, aromatic protons), 5.15 (1H, m, 3-H), 5.13 (1H, m, 9-H), 3.57 (3H, s, -OMe), 3.53 (3H, s, -OMe), 3.51 (1H, m, 2-H), 2.46 (1H, dd,  $J = 16.7, 6.9$  Hz, 4-Heq), 2.34 (1H, m, 7-Ha), 2.14 (1H, m, 4-Hax), 2.08 (1H, m, 7-Hb), 1.93 (1H, m, 8-Ha), 1.65 (1H, m, 8-Hb), 1.54 (1H, s, 13-H<sub>3</sub>), 1.30 (1H, d,  $J = 6.1$  Hz, 10-H<sub>3</sub>), 1.09 (3H, s, 11-H<sub>3</sub>), 0.99 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode)  $m/z$ : 683.2413 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup> (calcd for  $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{O}_7\text{F}_6\text{Na}$ : 683.2414).

**Compound 44d:** (2*R*,3*R*,9*R*)-Megastigman-5,6-en-2,3,9-triol-3,9-*O*-(*S*)-MTPA diester

Amorphous powder;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz)  $\delta$ : 7.55-7.26 (12H, aromatic protons), 5.15 (1H, m, 9-H), 5.12 (1H, m, 3-H), 3.58 (6H, s, -OMe), 3.45 (1H, m, 2-H), 2.50 (1H, dd,  $J = 16.7, 6.1$  Hz, 4-Heq), 2.32 (1H, m, 7-Ha), 2.16 (1H, m, 4-Hax), 2.02 (1H, m, 7-Hb), 1.84 (1H, m, 8-Ha), 1.62 (1H, m, 8-Hb), 1.49 (1H, s, 13-H<sub>3</sub>), 1.38 (1H, d,  $J = 6.1$  Hz, 10-H<sub>3</sub>), 1.02 (3H, s, 11-H<sub>3</sub>), 0.94 (3H, s, 12-H<sub>3</sub>); HR-ESI-MS (positive-ion mode)  $m/z$ : 683.2413 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup> (calcd for  $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{O}_7\text{F}_6\text{Na}$ : 683.2414).

---

---

## 参考文献

---

---

- 1) Y. Koyama, K. Matsunami, H. Otsuka, T. Shinzato, and Y. Takeda, Microtropiosides A-F: *ent*-Labdane diterpenoid glucosides from the leaves of *Microtropis japonica* (Celastraceae), *Phytochemistry*, **71** (5-6), 675-681 (2010), DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.01.004
- 2) T.-H. Chou, I.-S. Chen, C.-F. Peng, P.-J. Sung, and J.-J. Chen, A New Dihydroagarofuranoid Sesquiterpene and Antituberculosis Constituents from the Root of *Microtropis japonica*, *CHEMISTRY&BIODIVERSITY*, **5** (7), 1412-1418 (2008), DOI: 10.1002/cbdv.200890129
- 3) J.-J. Chen, C.-S. Yang, C.-F. Peng, I.-S. Chen, and C.-L. Miaw, Dihydroagarofuranoid Sesquiterpenes, a Lignan Derivative, a Benzenoid, and Antitubercular Constituents from the Stem of *Microtropis japonica*, *J. Nat. Prod.*, **71** (6), 1016-1021 (2008), DOI: 10.1021/np800097t
- 4) I.-H. Chen, M.-C. Lu, Y.-C. Du, M.-H. Yen, C.-C. Wu, Y.-H. Chen, C.-S. Hung, S.-L. Chen, F.-R. Chang, and Y.-C. Wu, Cytotoxic Triterpenoids from the Stems of *Microtropis japonica*, *J. Nat. Prod.*, **72** (7), 1231-1236 (2009), DOI: 10.1021/np800694b
- 5) W.-H. Cai, K. Matsunami, and H. Otsuka, Supinaionosides A and B: Megastigmane Glucosides and Supinanitrosides A-F: Hydroxynitrile Glucosides from the Whole Plants of *Euphorbia supina* RAFINESQUE, *Chem. Pharm. Bull.*, **57** (8), 840-845 (2009), DOI:10.1248/cpb.57.840
- 6) R. Kasai, M. Suzuno, J. Asakawa and O. Tanaka, CARBON-13 CHEMICAL SHIFTS OF ISOPRENOID- $\beta$ -D-GLUCOPYRANOSIDES AND  $\beta$ -D-MANNOPIRANOSIDES. STEREOCHEMICAL INFLUENCES OF AGLYCON ALCOHOLS, *Tetra Lett.*, **18** (2), 175-178 (1977), DOI:10.1016/S0040-4039(01)92581-X
- 7) T. Itoh, T. Fukuda, and T. Fujisawa, Preparation of Optically Pure  $\alpha$ -Alkyl  $\beta$ -Hydroxy Nitriles by the Bakers' Yeast Reduction, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62**(2), 3851-3855 (1989)
- 8) O. Nishimura, H. Masuda, S. Mihara, Hydroxy nitriles in blackcurrant buds absolute (*Ribes nigrum* L.), *J. Afric. Food Chem.*, **35**(3), 338-340 (1987), DOI:10.1021/jf00075a014
- 9) R. Nishida, M. Rothschild, and R. Mummery, A CYANPGLUCOSIDE, SARMENTOSIN, FROM THE MAGPIE MOTH, *ABRAXAS GROSSULARIATA*, GEOMETRIDAE: LEPIDOPTERA, *Phytochemistry*, **36**(1), 37-38 (1994), DOI:10.1016/S0031-9422(00)97007-9
- 10) R. Kasai, M. Okihara, J. Asakawa, K. Mizutani, and O. Tanaka,  $^{13}\text{C}$  NMR STUDY OF  $\alpha$ - AND  $\beta$ -ANOMERIC PAIRS OF D-MANNOPYRANOSIDES AND L-RHAMNOPYRANOSIDES, *Tetrahedron*, **35**(11), 1427-1432 (1979), DOI:10.1016/0040-4020(79)85038-3
- 11) J. Kitajima, T. Ishikawa, and Y. Taanaka, Water-Soluble Constituents of Fennel. I. Alkyl Glycosides, *Chem. Pharm. Bull.*, **46**(10), 1643-1646 (1998), DOI:10.1248/cpb.46.1643
- 12) H. Kijima, H. Otsuka, T. Ide, C. Ogimi, E. Hirata, A. Takushi, and Y. Takeda, GLYCOSIDES OF MEGASTIGMANE AND OF THE SIMPLE ALCOHOLS FROM *ALANGIUM PREMNI-FOLIUM*, *Phytochemistry*, **42**(3), 723-727 (1996), DOI:10.1016/0031-9422(96)00054-4
- 13) H. Keller, H. Hohlfeld, V. Wray, K. Hohlbrock, D. Scheel, and D. Strack, CHANGES IN THE ACCUMULATION OF SOLUBLE AND CELL WALLBOUND PHENOLICS IN ELICITOR-TREATED CELL SUSPENSION CULTURES AND FUNGUS-INFECTED LEAVES OF

- SOLANUM TUBEROSUM*, *Phytochemistry*, **42**(2), 389-396 (1996), DOI:10.1016/0031-9422(95)00866-7
- 14) A. Sakushima, M. Coşkun, and T. Maoka, HYDROXYBENZOIC ACIDS FROM *BOREAVA ORIENTALIS*, *Phytochemistry*, **40**(1), 257-261 (1995), DOI:10.1016/0031-9422(95)00059-G
  - 15) K. Takara, D. Matsui, K. Wada, T. Ichiba, and Y. Nakasono, New Antioxidative Phenolic Glycosides Isolated from *Kokuto* Non-centrifuged Cane Sugar, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**(1), 29-35 (2002), DOI:10.1271/bbb.66.29
  - 16) Y. Asakawa, M. Toyota, and L. J. Harrison, ISOTACHIN A AND ISOTACHIN B, TWO SULPHUR-CONTAINING ACRYLATES FROM THE LIVERWORT *ISOTACHIS JAPONICA*, *Phytochemistry*, **24** (7), 1505-1508 (1985), DOI:10.1016/S0031-9422(00)81055-9
  - 17) J. Hu, and X. Feng, Phenylpropanes from *Acorus tatarinowii*, *Planta Med.*, **66**(7), 662-664 (2000), DOI:10.1055/s-2000-8628
  - 18) G.-H. Bao, L.-Q. Wang, K.-F. Cheng, Y.-H. Feng, X.-Y. Li, and G.-W. Qin, Diterpenoid and Phenolic Glycosides from the Roots of *Rhododendron molle*, *Planta Med.*, **69**(5), 434-439 (2003), DOI:10.1055/s-2003-39716
  - 19) P. Pant, R.P. Rastogi, CASTANOPSONE AND CASTANOPSOL TWO NEW TRITERPENOIDS FROM *CASTANOPSIS INDICA*, *Phytochemistry*, **16**(11), 1787-1789 (1977), DOI:10.1016/0031-9422(71)85090-2
  - 20) M. Kagawa, H. Minami, M. Nakahara, H. Takahashi, S. Takaoka, Y. Fukuyama, Oleanane-type triterpenes from *Viburnum awabuki*, *Phytochemistry*, **47**(6), 1101-11-5 (1998) DOI:10.1016/S0031-9422(98)80080-0
  - 21) S. B. Mahato and A. P. Kundo, <sup>13</sup>C NMR SPECTRA OF PENTACYCLIC TRITERPENOIDS-A COMPILATION AND SOME SALIENT FEATURES, *Phytochemistry*, **37**(6), 1517-1575 (1994), DOI:10.1016/S0031-9422(00)89569-2
  - 22) A. Ulubelen, G. Topcu, H. Lotter, H. Wagner and C. Eris, *Phytochemistry*, **36**(2), 413-415 (1994), DOI: 10.1016/S0031-9422(00)97086-9
  - 23) G. S. Susunaga, A. C. Siani, M. G. Pizzolatti, R. A. Yunes, F. Delle Monache, Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*, *Fitoterapia*, **72**(6), 709-711 (2001), DOI:10.1016/S0367-326X(01)00289-1
  - 24) M. Strassman, A. J. Thomas, L. A. Locke, and S. Weinhouse, The Biosynthesis of Isoleucine, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**(1), 228-232 (1956)
  - 25) J. E. Forero, L. Avila, N. Taborda, P. Tabares, A. López, F. Torres, W. Quiñones, M. A. Bucio, Y. Mora-Pérez, M. T. Rugeles, P. Joseph-Nathan and F. Echeverri, In vitro anti-influenza screening of several Euphorbiaceae species: Structure of a bioactive Cyanoglucoside from *Codiaeum variegatum*, *Phytochemistry*, **69**(16), 2815-2819 (2008), DOI:10.1016/j.phytochem.2008.09.003
  - 26) X-Q, Chen, Y. Li, J. He, X. Cheng, K. Wang, M-M. Li, A-H. Pan, L-Y. Peng, Q-S. Zhao, Triterpenoids and diterpenoids from *Viburnum chingii*, *Chem. Pharm. Bull.*, **59**(4), 496-498 (2011), DOI:10.1248/cpb.59.496

- 27) D.-P. Zhao, K. Matsunami, H. Otsuka, Iridoid glucoside, (3*R*)-oct-1-en-3-ol glycosides, and phenylethanoid from the aerial parts of *Caryopteris incana*, *J. Nat. Med.*, **63**(3), 241-247 (2009), DOI: 10.1007/s11418-009-0317-9
- 28) J. Shitamoto, S. Sugimoto, K. Matsunami, H. Otsuka, T. Shinzato and Y. Takeda, Tricalysionoside A, a Megastigmane Gentiobioside, Sulfatricalysines A—F, and Tricalysiosides X—Z, *ent*-Kaurane Glucosides, from the Leaves of *Tricalysia dubia*, *Chem. Pharm. Bull.*, **59**(1), 72-77 (2011), DOI:10.1248/cpb.59.72
- 29) L. Jiang, H. Kojima, K. Yamada, A. Kobayashi and K. Kubota, Isolation of Some Glycosides as Aroma Precursors in Young Leaves of Japanese Pepper (*Xanthoxylum piperitum* DC.), *J. Agric. Food Chem.*, **49**(12), 5888-5894 (2001), DOI:10.1021/jf0104937
- 30) F. R. Melek, T. Miyase, N. S. Ghaly and M. F. Yousif, Further saponins from *Meryta lanceolata*, *Phytochemistry*, **65** (7), 909-914 (2004), DOI: 10.1016/j.phytochem.2003.12.017
- 31) S. Kawakami, Katsuyoshi Matsunami, Hideaki Otsuka, Takakazu Shinzato, Yoshio Takeda, Crotonionosides A–G: Megastigmane glycosides from leaves of *Croton cascarilloides* Rauschel, *Phytochemistry*, **72**(1) 147-153 (2011), DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.10.003
- 32) C. Perez and Juan Trujillo, Absolute Structures of Two New C13-Norisoprenoids from *Apollonia barbujana* *J. Nat. Prod.*, **59**(1), 69-72 (1996), DOI:10.1021/NP9600154
- 33) H. Otsuka, K. Kamada, C. Ogimi, E. Hirata, A. Takushi and Y. Takeda, ALANGIONOSIDES A AND B, IONOL GLYCOSIDES FROM LEAVES OF *ALANGIUM PREMIFOLIUM*, *Phytochemistry*, **35**(5), 1331-1334 (1994), DOI:10.1016/S0031-9422(00)94848-9
- 34) K. Matsunami, H. Otsuka, Y. Takeda, Structural revisions of blumenol C glucoside and byzantionoside B, *Chem. Pharm. Bull.*, **58**(3), 438-441 (2010), DOI:10.1248/cpb.58.438
- 35) W.-S. Feng, H.-W. Li, X.-K. Zheng, S.-Q. Chen, Two new megastigmane Oglucopyranosides from the leaves of *Broussonetia papyrifera*, *Chin. Chem. Lett.*, **18**(12), 1518-1520 (2007), DOI: 10.1016/j.ccllet.2007.10.028
- 36) 植物の“硫黄代謝”を調節する転写因子を発見 - 転写因子「SLIM1」が、がん予防効果がある天然硫黄成分量を調節 - 独立行政法人 理化学研究所 Press Release, (2006)
- 37) Y. Sakakibara, S. Yasuda, M. Suiko, 硫酸転移酵素の持つ多様な生理機能, *Dojin News*, 129 (2009)
- 38) S. Bormann, M. M. W. Etschmann, M-A. Mirata, J. Schrader, Integrated bioprocess for the stereospecific production of linalool oxides from linalool with *Corynespora cassicola* DSM 62475, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **39**(12), 1761-1769 (2012), DOI:10.1007/s10295-012-1181-2
- 39) D. Wang T. Yoshimura, K. Kubota, and A. Kobayashi, Analysis of Glycosidically Bound Aroma Precursors in Tea Leaves.1. Qualitative and Quantitative Analyses of Glycosides with Aglycons as Aroma Compounds, *J. Agric. Food Chem.*, **48**(11), 5411-5418 (2000), DOI: 10.1021/jf000443m
- 40) 岩見美緒, 広島大学大学院修士論文 (2011)
- 41) G.-Y. Zuo, X.-J. Zhang, C.-X. Yang, J. Han, G.-C. Wang and Z.-Q. Bian, Evaluation of Traditional Chinese Medicinal Plants for Anti-MRSA Activity with Reference to the Treatment Record of Infectious Diseases, *Molecules*, **17**, 2955-2967 (2012), DOI: 10.3390/molecules17032955



- 42) L.-P. Dong, Liu, Hai-Yang; Ni, Wei; Li, Jun-Zhu; Chen, Chang-Xiang, Four new compounds from the leaves of *Acer truncatum*, *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*, **3**(7), 791-798 (2006), DOI:10.1002/cbdv.200690081

---

---

## 謝辞

---

---

本研究を遂行するにあたり、また本論文の作成に関し、終始御懇切なるご指導、ご鞭撻を賜りました、広島大学 大塚英昭 名誉教授、並びに広島大学大学院医歯薬保健学研究院基礎生命科学部門生薬学研究室 松浪勝義 教授に深謝致します。本実験を行い、並びに本論文を作成するに際し、的確な御教示、御助言を賜りました、広島大学大学院医歯薬保健学研究院基礎生命科学部門細胞分子生物学研究室 田原栄俊 教授、応用生命科学部門生体機能分子動態学研究室 古武弥一郎 准教授、総合研究科学部門薬用植物園 杉本幸子 講師に深謝すると共に深く御礼申し上げます。本論文の作成にあたり、御助言を賜りました、基礎生命科学部門創薬合成化学研究室 武田敬 教授、応用生命科学部門病態解析治療学研究室 松尾裕彰 教授、基礎生命科学部門創薬合成化学研究室 佐々木道子 准教授に御礼申し上げます。博士研究を行うにあたり、実験方法等につきまして御助言、御指導賜りました、本研究室 山野喜 助教に御礼申し上げます。研究室配属当初から様々な面で大変お世話になりました先輩、同級生、後輩たちをはじめとする本研究室の皆様に感謝の意を表します。

最後に、研究活動に打ち込めるよう支えてくれた家族、友人に心から感謝します。

上村 有加