

博士論文

日本産植物フシグロ *Silene firma*、クロタキ  
カズラ *Hosiea japonica* およびベトナム産植  
物 *Heliciopsis terminalis* の成分研究

2020

広島大学大学院

医歯薬保健学研究科 薬学科専攻

生薬学研究室

平成 29 年度入学 NGUYEN HOANG UYEN

主指導教員 松浪 勝義

## 目次

第1章 序論	1
第2章 日本産植物フシグロ <i>Silene firma</i> の成分研究	2
第1節 日本産植物フシグロ <i>Silene firma</i> について	2
第2節 抽出、分離及び精製	3
第3節 新規化合物について	5
第1項 新規化合物 Compound 2 の構造決定	5
第2項 新規化合物 Compound 11 の構造決定	10
第4節 既知化合物について	15
第1項 既知化合物 Compound 1 の構造決定	16
第2項 既知化合物 Compound 3 の構造決定	18
第3項 既知化合物 Compound 4 の構造決定	19
第4項 既知化合物 Compound 5 の構造決定	21
第5項 既知化合物 Compound 6 の構造決定	23
第6項 既知化合物 Compound 7 の構造決定	25
第7項 既知化合物 Compound 8 の構造決定	27
第8項 既知化合物 Compound 9 の構造決定	29
第9項 既知化合物 Compound 10 の構造決定	31
第10項 既知化合物 Compound 12 の構造決定	33
第11項 既知化合物 Compound 13 の構造決定	35
第12項 既知化合物 Compound 14 の構造決定	37
第13項 既知化合物 Compound 15 の構造決定	39
第14項 既知化合物 Compound 16 の構造決定	40
第15項 既知化合物 Compound 17 の構造決定	42
第16項 既知化合物 Compound 18 の構造決定	44
第17項 既知化合物 Compound 19 の構造決定	45
第18項 既知化合物 Compound 20 の構造決定	47
第3章 日本産植物クロタキカズラ <i>Hosiea japonica</i> の成分研究	49
第1節 日本産植物クロタキカズラ <i>Hosiea japonica</i> について	49
第2節 抽出、分離及び精製	50
第3節 新規化合物について	52
第1項 新規化合物 Compound 21 の構造決定	52

第 2 項	新規化合物 Compound 22 の構造決定	57
第 4 節	既知化合物について	61
第 1 項	既知化合物 Compound 23 の構造決定	62
第 2 項	既知化合物 Compound 24 の構造決定	64
第 3 項	既知化合物 Compound 25 の構造決定	66
第 4 項	既知化合物 Compound 26 の構造決定	68
第 5 項	既知化合物 Compound 27 の構造決定	70
第 6 項	既知化合物 Compound 28 の構造決定	72
第 7 項	既知化合物 Compound 29 の構造決定	74
第 8 項	既知化合物 Compound 30 の構造決定	76
第 9 項	既知化合物 Compound 31 の構造決定	78
第 10 項	既知化合物 Compound 32 の構造決定	80
第 11 項	既知化合物 Compound 33 の構造決定	82
第 12 項	既知化合物 Compound 34 の構造決定	84
第 13 項	既知化合物 Compound 35 の構造決定	86
第 14 項	既知化合物 Compound 36 の構造決定	88
第 15 項	既知化合物 Compound 37 の構造決定	90
第 16 項	既知化合物 Compound 38 の構造決定	92
第 17 項	既知化合物 Compound 39 の構造決定	94
第 18 項	既知化合物 Compound 40 の構造決定	96
第 19 項	既知化合物 Compound 41 の構造決定	98
第 20 項	既知化合物 Compound 42 の構造決定	100
第 21 項	既知化合物 Compound 43 の構造決定	102
第 22 項	既知化合物 Compound 44 の構造決定	104
第 23 項	既知化合物 Compound 45 の構造決定	106
第 24 項	既知化合物 Compound 46 の構造決定	108
第 25 項	既知化合物 Compound 47 の構造決定	110
第 26 項	既知化合物 Compound 48 の構造決定	112
第 27 項	既知化合物 Compound 49 の構造決定	114
第 28 項	既知化合物 Compound 50 の構造決定	116
第 29 項	既知化合物 Compound 51 の構造決定	118
第 30 項	既知化合物 Compound 52 の構造決定	120
第 31 項	既知化合物 Compound 53 の構造決定	122
第 32 項	既知化合物 Compound 54 の構造決定	124

#### 第 4 章 ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* の成分研究

第 1 節	ベトナム産植物 <i>Heliciopsis terminalis</i> について	126
-------	--------------------------------------------	-----

第2節	抽出、分離及び精製	127
第3節	新規化合物について	129
第1項	新規化合物 Compound 55 の構造決定	129
第2項	新規化合物 Compound 56 の構造決定	132
第2項	新規化合物 Compound 57 の構造決定	136
第4節	既知化合物について	140
第1項	既知化合物 Compound 58 の構造決定	141
第2項	既知化合物 Compound 59 の構造決定	143
第3項	既知化合物 Compound 60 の構造決定	145
第4項	既知化合物 Compound 61 の構造決定	147
第5項	既知化合物 Compound 62 の構造決定	149
第6項	既知化合物 Compound 63 の構造決定	151
第7項	既知化合物 Compound 64 の構造決定	153
第8項	既知化合物 Compound 65 の構造決定	155
第9項	既知化合物 Compound 66 の構造決定	157
第10項	既知化合物 Compound 67 の構造決定	159
第11項	既知化合物 Compound 68 の構造決定	161
第12項	既知化合物 Compound 69 の構造決定	163
第13項	既知化合物 Compound 70 の構造決定	165
第5章	DPPH ラジカル除去活性試験	166
第1節	DPPH ラジカル除去活性試験について	166
第2節	DPPH ラジカル除去活性試験法	167
第3節	DPPH ラジカル除去活性試験の結果	168
第6章	Tyrosinase 阻害活性試験	169
第1節	Tyrosinase 阻害活性試験について	169
第2節	Tyrosinase 阻害活性試験法	170
第3節	Tyrosinase 阻害活性試験の結果	171
第7章	$\alpha$ -Amylase 阻害活性試験	172
第1節	$\alpha$ -Amylase 阻害活性試験について	172
第2節	$\alpha$ -Amylase 阻害活性試験法	173
第3節	$\alpha$ -Amylase 阻害活性試験の結果	174
第8章	A549 癌細胞増殖抑制活性試験	175
第1節	A549 癌細胞増殖抑制活性試験について	175
第2節	A549 癌細胞増殖抑制活性試験法	176

第3節 A549 癌細胞増殖抑制活性試験の結果	177
第9章 まとめ	178
第10章 実験の部	183
参考文献	194
謝辞	200

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

COSY: HH-Correlation Spectroscopy

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Connectivity

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Coherence

IR: Infrared Spectroscopy

UV: Ultraviolet Spectroscopy

HPLC: High-Performance Liquid Chromatography

CC: Column Chromatography

TLC: Thin Layer Chromatography

ODS: Octadecylsilanized Silica gel

Cpd: Compound

fr.: fraction

br.: broad

s: singlet

d: doublet

t: triplet

q: quartet

m: multiplet

---

---

## 第1章 序論

---

---

今日まで人類は、植物や動物、鉱物等の様々な天然物を巧みに利用し、薬用資源として用いてきた。天然物は、我々には想像もつかないような構造や薬理作用を持つ可能性を秘めており、現在臨床で使用されている医薬品の有効成分にも、天然から単離されたもの、あるいはそれらをリード化合物として合成されたものが少なくない。医薬品に限らず、化粧品や香料、健康食品など天然物は幅広く利用されており、我々の生活に寄与している。そのため新しい有用資源を探索し、未利用植物の成分研究、生物活性について検討を行うことは重要である。

日本産植物フシグロ *Silene firma*、クロタキカズラ *Hosiea japonica* およびベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* に関する化学的研究の報告例はほとんどなく、その含有成分の化学構造および生物活性に興味を持たれたため、これらの植物の成分研究を行うこととした。

---

---

## 第2章 日本産植物フシグロ *Silene firma* の成分研究

---

---

### 第1節 日本産植物フシグロ *Silene firma* について

学名：*Silene firma* Sieb. Et Zucc.

和名：フシグロ

科名：Caryophyllaceae (ナデシコ科)

属名：*Silene* (マンテマ属)

分布：本州、四国、九州、朝鮮、中国、ロシア

花期：6～9月

草丈：50～100 cm

特徴：茎は直立し、毛が密生する。葉は対生し、長さ4～10 cm、幅0.8～2.5 cmの披針形～長楕円形、縁毛があり、先が尖る。苞は狭披針形。茎頂や葉腋に白色～ピンクの小さな花をつける。花柄は長さ5～20 mm。花弁は長さ2～3 mmと小さく、先が2裂する。雄しべ10個。花柱3個。萼は長さ7～10 mmの卵形、先が浅く5裂し(5歯)、10脈があり、果時にも残って長さ10～12 mmとやや大きくなる。果実は長さ8～11 mm、熟すと先が花柱の2倍数の6個に裂開する。種子は灰褐色、長さ約1 mm。<sup>1)</sup>

本植物葉部、茎部からは、これまでにフラボノイドやサポニンなどが単離されている。<sup>2)</sup>

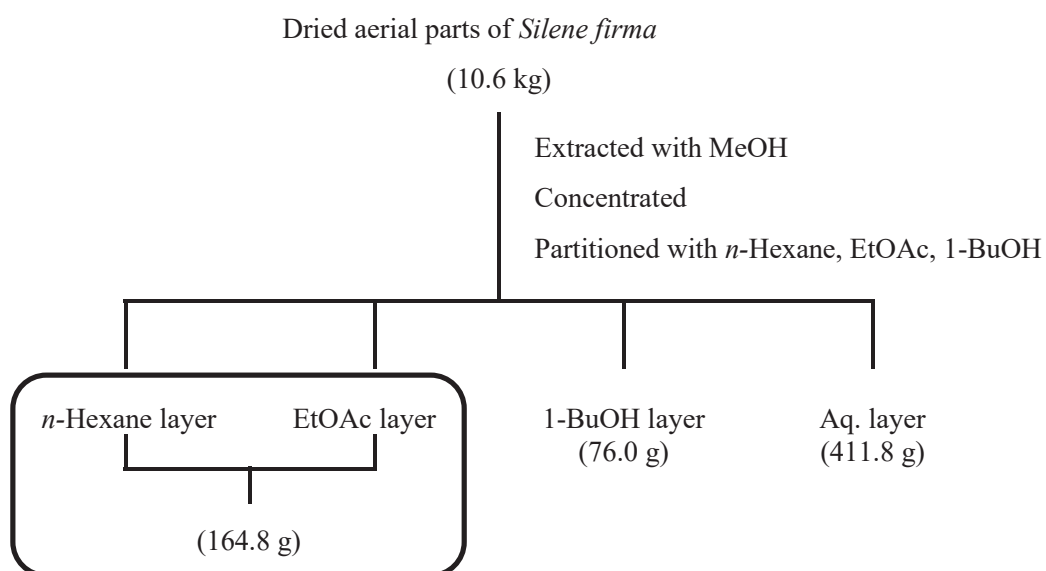


Picture: <http://www.okadanouen.com/zukan/fusiguro/fusiguro23.8.13-1.jpg>



## 第2節 抽出、分離および精製

フシグロの地上部 10.6 kg をメタノールで抽出し、常法に従い、*n*-ヘキサン、酢酸エチル、1-ブタノール、水で順次分配した。得られた *n*-ヘキサン可溶画分と酢酸エチル可溶画分 (164.8g) を順相、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー、ODS-HPLC により分離、精製し、20種類の化合物を単離した。そのうち compound 2, 11 は新規化合物、compound 1, 3-10, 12-20 は既知化合物と同定した。



*n*-Hexane and EtOAc layer from aerial parts of  
*Silene firma* (164.8 g)

\* ODS CC

\*\* HPLC

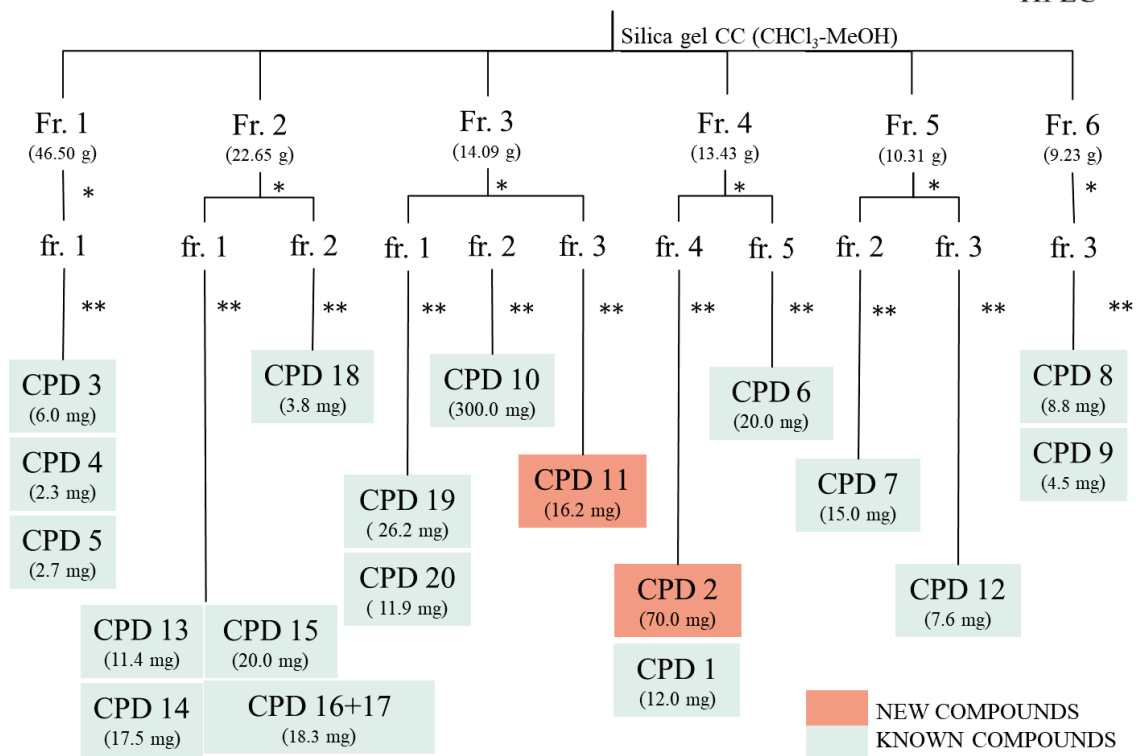


Chart 1: Isolated compounds from the aerial parts of *Silene firma*

### 第3節 新規化合物について

#### 第1項 新規化合物 Compound 2 の構造決定

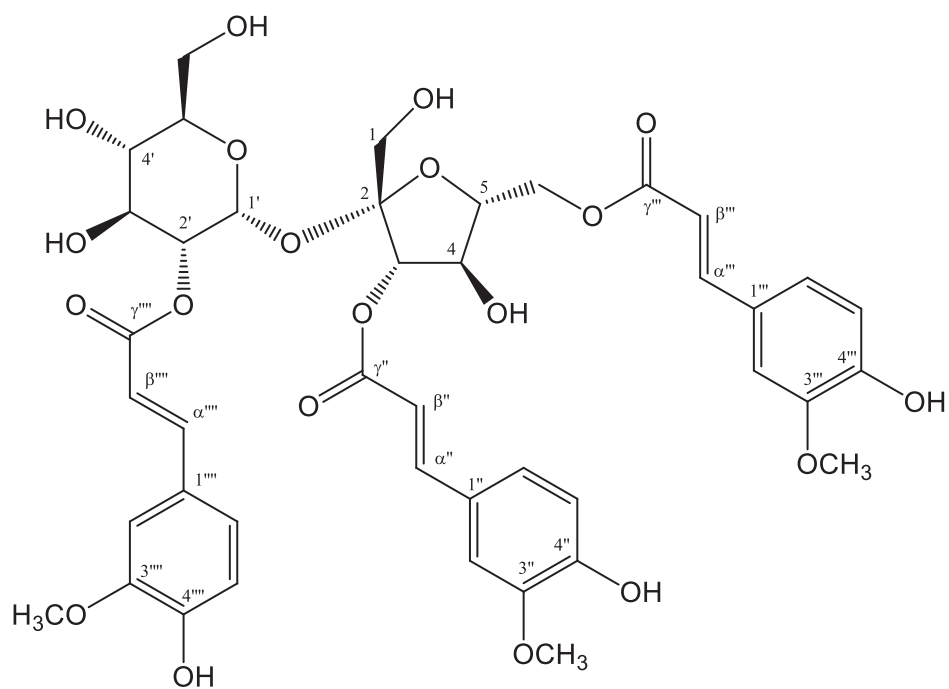
---

Cpd 2 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{42}H_{46}O_{20}$  であると決定した。Cpd 2 は NMR スペクトルより糖部が結合していることが想定されたため、 $NaOCH_3$  でアルカリ加水分解を行い、遊離した糖について旋光度検出器付き HPLC を用いて糖分析を行ったところ、Cpd 2 には sucrose が含まれることが示された。このことは  $^{13}C$  NMR において sucrose に由来する 12 本のシグナルが観測されたことと一致した。

その他にも  $^{13}C$  NMR において 111.8~150.9 ppm に芳香環に由来するシグナル、168.6、168.9、169.2 ppm にエステル結合に由来するシグナル、115.0、115.31、115.33、147.3、147.6、147.9 ppm に二重結合に由来するシグナル、56.5 ppm に 3 本のメトキシ基に由来するシグナルが観測された。また、 $^1H$  NMR において、カップリング定数 (15.9 Hz) より、*trans* 二重結合が存在することが示された。ベンゼン環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより 3 つの feruloyl 基を結合した構造であると推測した。また、IR スペクトルから、水酸基、カルボニル基、芳香環及びエーテル結合に由来する吸収が観測された。

より詳細な検討を行うために 2D NMR (HSQC, HMBC, COSY) を測定したところ、各部分構造を支持する相関が得られた。さらに部分構造同士の結合を介した相関が観測され、glucose の 2'位、fructose の 3 位、6 位に 3 つの feruloyl 基が結合していることが確認された。また、三つの芳香環の 6''位、6'''位、6''''位から 4''位、4'''位、4''''位への相関がそれぞれ確認されたことから、フェルラ酸が存在していることが明らかになった。

以上より、Compound 2 を Fig. 1 に示す構造であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 869.2501  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_{42}H_{45}O_{20}$ : 869.2501)

$[\alpha]_D^{26} = +54.4$  ( $c = 0.93$ , MeOH)

IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3344, 2923, 2851, 1716, 1697, 1686, 1519, 1508, 1270, 1161, 1028

UV  $\lambda_{max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ): 237 (4.18), 264 (3.69), 300 (4.17), 327 (4.34)

Fig. 1 Structure and physical data of Compound 2

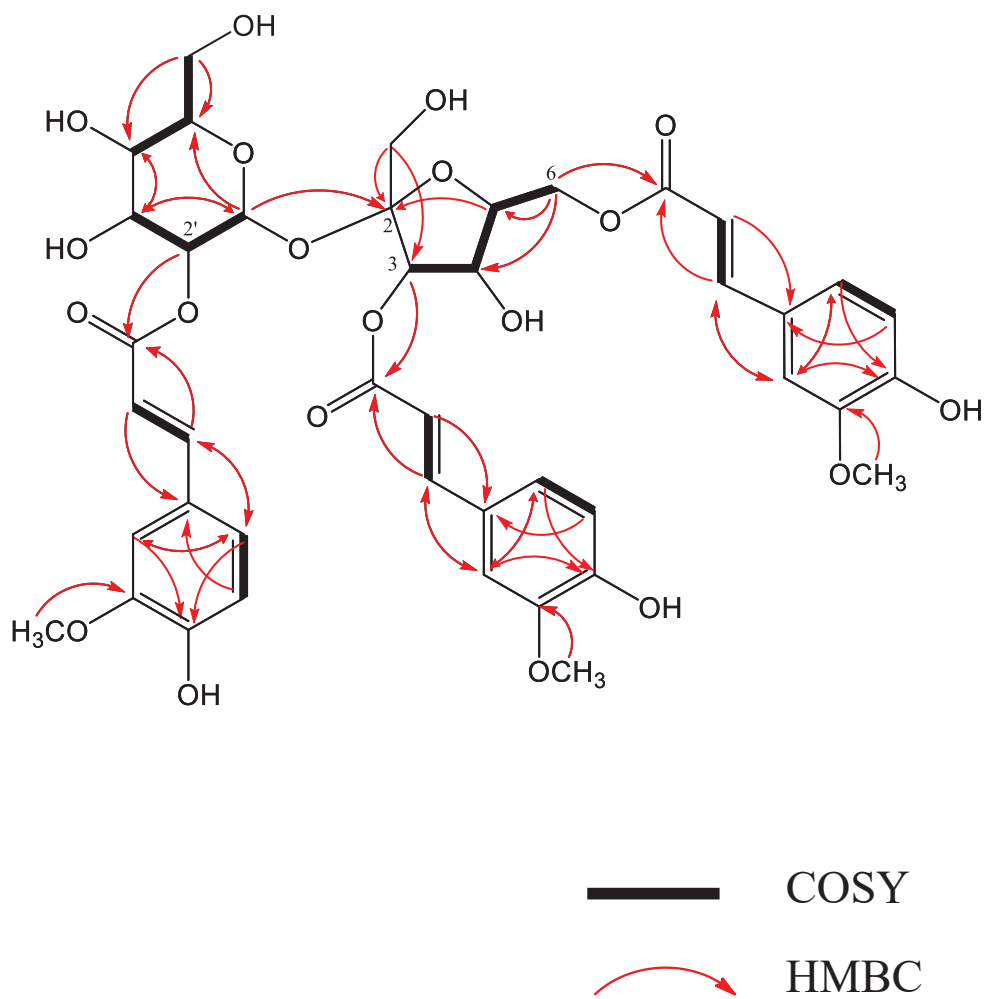


Fig. 2 COSY and HMBC correlations of Compound 2

Table 1.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **2** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	64.4	3.62 (1H, <i>d</i> , $J=12.0$ Hz) 3.49 (1H, <i>d</i> , $J=12.0$ Hz)
2	105.9	
3	78.7	5.54 (1H, <i>d</i> , $J= 8.3$ Hz)
4	74.9	4.42 (1H, <i>t</i> , $J= 8.3$ Hz)
5	81.2	4.12 (1H, <i>m</i> )
6	66.1	4.46 (2H, <i>d</i> , $J=5.4$ Hz)
1'	91.4	5.65 (1H, <i>d</i> , $J= 3.7$ Hz)
2'	74.7	4.68 (1H, <i>dd</i> , $J= 3.7, 10.0$ Hz)
3'	72.4	3.94 (1H, <i>m</i> )
4'	71.8	3.48 (1H, <i>t</i> , $J= 9.1$ Hz)
5'	74.2	3.95 (1H, <i>m</i> )
6'	62.6	3.87 (1H, <i>m</i> ) 3.76 (1H, <i>m</i> )
R-3 $\gamma''$	168.6	
$\alpha''$	147.9	7.65 (1H, <i>d</i> , $J= 15.9$ Hz)
$\beta''$	115.0	6.45 (1H, <i>d</i> , $J= 15.9$ Hz)
1''	127.7	
2''	112.1	7.20 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
3''	149.4	
4''	150.7	
5''	116.6	6.73 (1H, <i>d</i> , $J= 8.3$ Hz)
6''	124.4	7.08 (1H, <i>dd</i> , $J= 1.9, 8.3$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56.5	3.86 (3H, <i>s</i> )
R-6 $\gamma'''$	169.2	
$\alpha'''$	147.3	7.61 (1H, <i>d</i> , $J= 15.9$ Hz)
$\beta'''$	115.31	6.34 (1H, <i>d</i> , $J= 15.9$ Hz)
1'''	127.8	
2'''	111.8	7.13 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
3'''	149.5	
4'''	150.7	
5'''	116.6	6.79 (1H, <i>d</i> , $J= 8.2$ Hz)
6'''	124.4	7.02 (1H, <i>dd</i> , $J= 1.9, 8.2$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56.5	3.75 (3H, <i>s</i> )
R-2' $\gamma''''$	168.9	

$\alpha'''$	147.6	7.70 (1H, <i>d</i> , $J= 15.9$ Hz)
$\beta'''$	115.33	6.31 (1H, <i>d</i> , $J= 15.9$ Hz)
1'''	127.8	
2'''	112.0	6.98 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
3'''	149.3	
4'''	150.9	
5'''	116.6	6.70 (1H, <i>d</i> , $J= 8.2$ Hz)
6'''	124.1	6.92 (1H, <i>dd</i> , $J= 1.9, 8.2$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56.5	3.84 (3H, <i>s</i> )

---

m: multiplet or overlapped signals

## 第2項 新規化合物 Compound 11 の構造決定

---

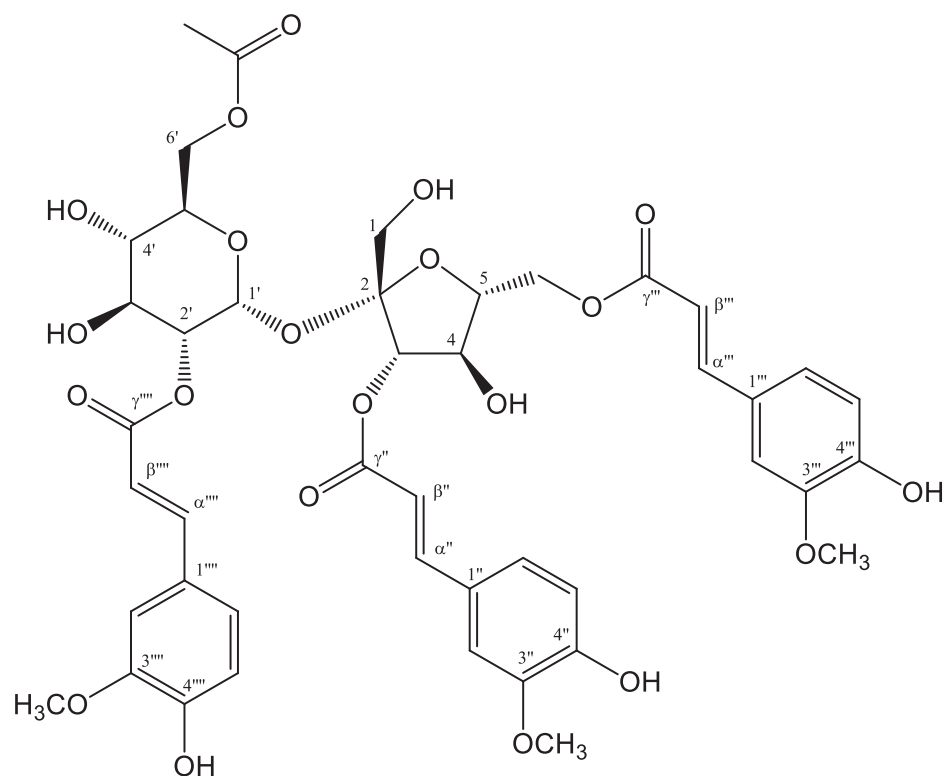
Cpd 11 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{44}H_{48}O_{21}$  であると決定した。Cpd 11 には NMR スペクトルより糖が結合していることが想定されたため、NaOMe でアルカリ加水分解を行い、遊離した糖について旋光度検出器付き HPLC を用いて糖分析を行ったところ、Cpd 11 には sucrose が含まれることが示された。このことは  $^{13}C$  NMR において sucrose に由来する 12 本のシグナルが観測されたことと一致した。

その他にも  $^{13}C$  NMR において 112.0~151.0ppm に芳香環に由来するシグナル、168.6、168.8、169.1 ppm にエステル結合に由来するシグナル、114.9、115.2、115.5、147.3、147.7、148.1 ppm に二重結合に由来するシグナル、56.6、56.7、56.7 ppm に 3 本のメトキシ基に由来するシグナル、173.0、21.0 ppm にアセトキシ基に由来するシグナルが観測された。また、 $^1H$  NMR において、カップリング定数 (*ca.* 16 Hz) より、*trans* 体であると決定され、ベンゼン環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより 3 つの feruloyl 基が結合していると推測した。また、IR スペクトルから、水酸基、カルボニル基、芳香環及びエーテル結合に由来する吸収が観測された。

より詳細な検討を行うために 2D NMR (HSQC, HMBC, COSY) を測定したところ、各部分構造を支持する相関が得られた。さらに部分構造間の結合を示す相関が観測され、glucose の 2' 位、fructose の 3 位、6 位に 3 つの feruloyl 基が結合していることが確認された。また、3 つの芳香環の 6"位、6'"位、6''''位から 4"位、4'"位、4''''位への相関がそれぞれ確認されたことから、イソフェルラ酸でなく、フェルラ酸が結合していることが明らかになった。

以上より、Compound 11 を Fig. 3 に示す構造であると決定した。





Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 935.2581  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{44}H_{48}O_{21}Na$ : 935.2580)

$[\alpha]_D^{26} = +46.9$  ( $c = 1.03$ , MeOH)

IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3344, 2921, 2851, 1717, 1699, 1684, 1520, 1507, 1270, 1161, 1030

UV  $\lambda_{max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ): 237 (4.06), 264 (3.62), 300 (4.12), 327 (4.25)

Fig. 3 Structure and physical data of Compound 11

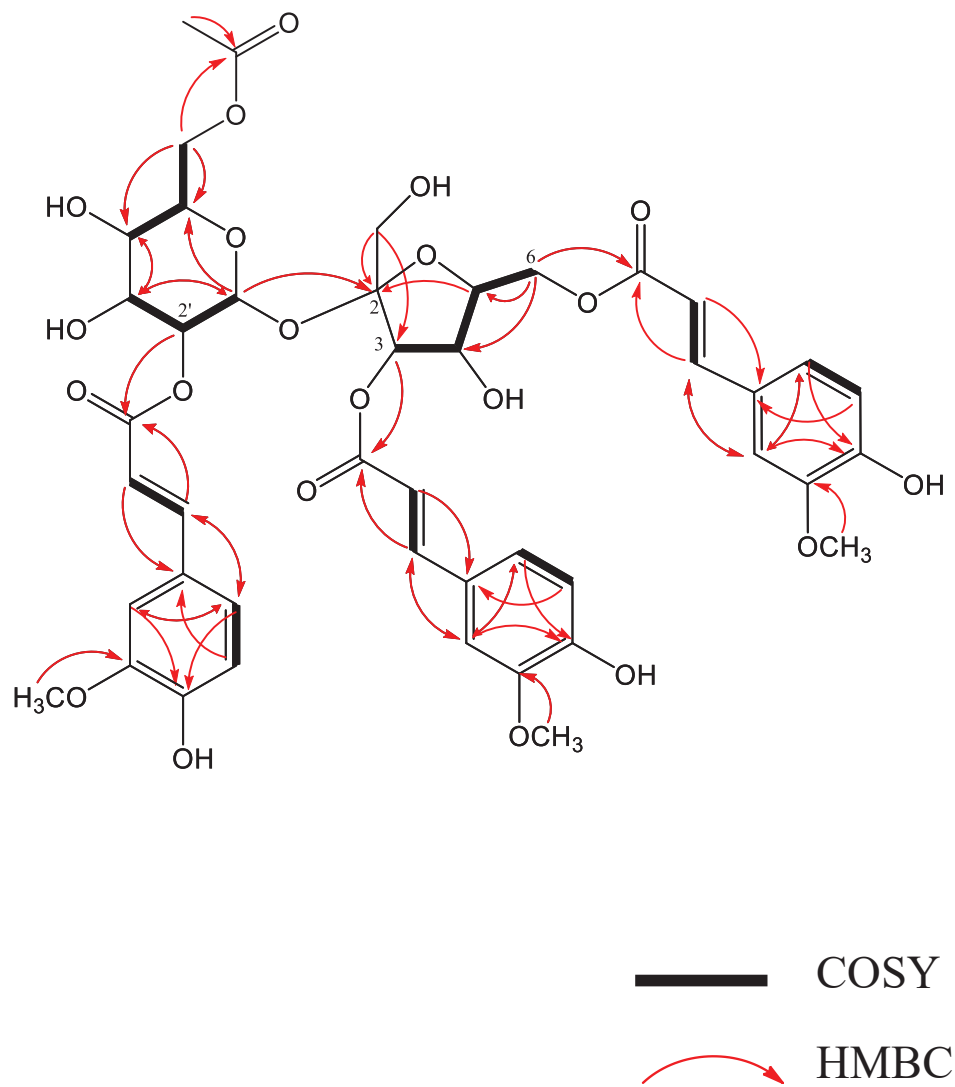


Fig. 4 COSY and HMBC correlations of Compound 11

Table 2.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **11** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	64.8	3.64 (1H, <i>d</i> , $J=12.0$ Hz) 3.45 (1H, <i>d</i> , $J=12.0$ Hz)
2	105.6	
3	78.5	5.58 (1H, <i>d</i> , $J= 8.5$ Hz)
4	74.3	4.50 (1H, <i>t</i> , $J= 8.5$ Hz)
5	81.4	4.12 (1H, <i>m</i> )
6	65.4	4.50 (2H, <i>m</i> )
1'	90.7	5.70 (1H, <i>d</i> , $J= 3.8$ Hz)
2'	74.6	4.69 (1H, <i>dd</i> , $J= 3.8, 10.1$ Hz)
3'	72.3	3.92 (1H, <i>m</i> )
4'	72.1	3.38 (1H, <i>t</i> , $J= 9.3$ Hz)
5'	72.1	4.19 (1H, <i>m</i> )
6'	65.4	4.56 (1H, <i>m</i> ) 4.16 (1H, <i>m</i> )
OAc-6'	173.0	
	21.0	2.08 (3H, <i>s</i> )
R-3 $\gamma''$	168.6	
$\alpha''$	148.1	7.71 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
$\beta''$	114.9	6.48 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
1''	127.8	
2''	112.0	7.27 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
3''	149.5	
4''	151.0	
5''	116.7	6.76 (1H, <i>d</i> , $J= 8.2$ Hz)
6''	124.6	7.13 (1H, <i>dd</i> , $J= 1.8, 8.2$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56.6	3.83 (3H, <i>s</i> )
R-6 $\gamma'''$	169.1	
$\alpha'''$	147.3	7.67 (1H, <i>d</i> , $J= 16.0$ Hz)
$\beta'''$	115.5	6.40 (1H, <i>d</i> , $J= 16.0$ Hz)
1'''	128.0	
2'''	112.0	7.21 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
3'''	149.6	
4'''	150.8	
5'''	116.6	6.82 (1H, <i>d</i> , $J= 8.2$ Hz)
6'''	124.4	7.00 (1H, <i>dd</i> , $J= 1.8, 8.2$ Hz)

OCH <sub>3</sub>	56.7	3.90 (3H, <i>s</i> )
R-2' γ'''	168.8	
α'''	147.7	7.64 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15.9 Hz)
β'''	115.2	6.36 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15.9 Hz)
1'''	127.8	
2'''	112.1	7.01 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1.8 Hz)
3'''	149.6	
4'''	150.9	
5'''	116.5	6.82 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.2 Hz)
6'''	124.3	7.10 (1H, <i>m</i> )
OCH <sub>3</sub>	56.7	3.90 (3H, <i>s</i> )

---

m: multiplet or overlapped signals

#### 第4節 既知化合物について

フシグロ地上部の *n*-ヘキサン可溶画分と酢酸エチル可溶画分を分離、精製する過程で、新規化合物とともに、既知化合物 18 種を単離した。各化合物の NMR スペクトルデータを文献値と比較することで、それぞれ以下に示す既知化合物であると同定した。

Compound 1: Helonioside A <sup>3)</sup>

Compound 3: Vanillin <sup>4)</sup>

Compound 4: (3*R*, 6*R*, 7*E*)-3-Hydroxy-4,7-megastigmadien-9-one <sup>5)</sup>

Compound 5: Scopoletin <sup>6)</sup>

Compound 6: (9*S*, 12*S*, 13*S*)-*E*-9,12,13-Trihydroxy-10-octadecaenoic acid <sup>7)</sup>

Compound 7: 20-Hydroxy-ecdysone <sup>8)</sup>

Compound 8: Luteolin 3'-*O*-methyl-6-*C*- $\beta$ -D-glucopyranoside <sup>9)</sup>

Compound 9: Apigenin-6-*C*- $\beta$ -D-glucopyranoside <sup>10)</sup>

Compound 10: Maltol  $\beta$ -D-glucopyranoside 6'-*O*-Benzoatein <sup>11)</sup>

Compound 12: 22-*O*-acetyl 20-hydroxy-ecdysone <sup>12)</sup>

Compound 13: 3-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propan-1-one <sup>13)</sup>

Compound 14: (6*S*,9*R*)-Vomifoliol <sup>14)</sup>

Compound 15: 4-Hydroxybenzaldehyde <sup>15)</sup>

Compound 16: (+)-dehydrovomifoliol <sup>16)</sup>

Compound 17: 3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl) propanoic acid <sup>17)</sup>

Compound 18: Indole-3-carboxaldehyde <sup>18, 19)</sup>

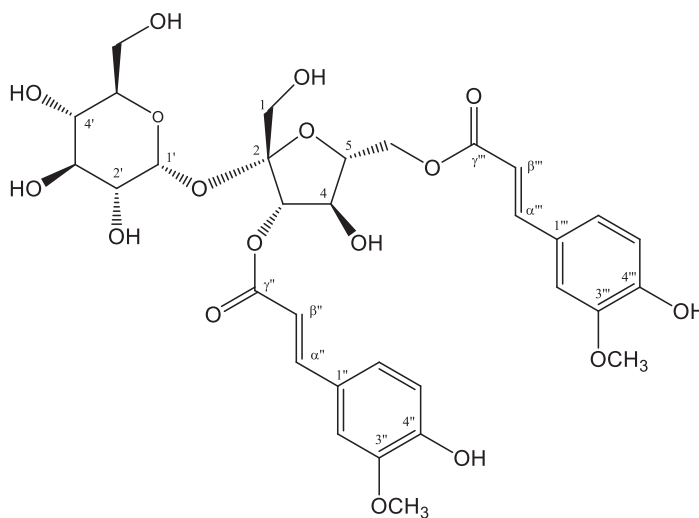
Compound 19: Isovanillic acid <sup>20)</sup>

Compound 20: grasshopper ketone <sup>21)</sup>

## 第1項 既知化合物 Compound 1 の構造決定

Cpd 1 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{32}H_{38}O_{17}$  であると決定した。Cpd 1 には NMR スペクトルより糖が結合していることが想定されたため、NaOMe でアルカリ加水分解を行い、遊離した糖について旋光度検出器付き HPLC を用いて糖分析を行ったところ、Cpd 1 には sucrose が含まれることが示された。このことは  $^{13}C$  NMR において sucrose に由来する 12 本のシグナルが観測されたことと一致した。

その他にも  $^{13}C$  NMR において 112.0~150.9 ppm に芳香環に由来するシグナル、168.5、169.2 ppm にエステル結合に由来するシグナル、115.1、115.3、147.4、148.0 ppm に二重結合に由来するシグナル、56.7 ppm に 2 本のメトキシ基に由来するシグナルが観測された。また、 $^1H$  NMR において、カップリング定数 (15.9 Hz) より、*trans* 二重結合であると決定され、ベンゼン環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、2 つの feruloyl 基を結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>3)</sup>と比較したところ、Cpd 1 を helonioside A であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 693.2031  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_{32}H_{37}O_{17}$ : 693.2031)

Fig. 5 Structure and physical data of Compound 1

Table 3.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd 1 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	65.3	3.53 (1H, <i>m</i> ) 3.59 (1H, <i>m</i> )
2	105.3	
3	79.4	5.42 (1H, <i>d</i> , $J=7.7$ Hz)
4	75.2	4.37 (1H, <i>t</i> , $J=7.7$ Hz)
5	81.4	4.10 (1H, <i>m</i> )
6	66.4	4.45 (2H, <i>d</i> , $J=3.7$ Hz)
1'	93.2	5.38 (1H, <i>d</i> , $J=3.7$ Hz)
2'	74.5	3.90 (1H, <i>m</i> )
3'	75.1	4.37 (1H, <i>m</i> )
4'	71.5	3.34 (1H, <i>m</i> )
5'	73.4	3.36 (1H, <i>m</i> )
6'	62.8	3.80 (1H, <i>d</i> , $J=2.5$ Hz) 3.85 (1H, <i>d</i> , $J=2.5$ Hz)
R-3 $\gamma''$	168.5	
$\alpha''$	148.0	7.64 (1H, <i>d</i> , $J=15.9$ Hz)
$\beta''$	115.1	6.36 (1H, <i>d</i> , $J=15.9$ Hz)
1''	127.9	
2''	112.3	7.16 (1H, <i>d</i> , $J=1.9$ Hz)
3''	149.5	
4''	150.9	
5''	116.7	6.75 (1H, <i>d</i> , $J=8.2$ Hz)
6''	124.4	7.02 (1H, <i>dd</i> , $J=1.9, 8.2$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56.7	3.86 (3H, <i>s</i> )
R-6 $\gamma'''$	169.2	
$\alpha'''$	147.4	7.58 (1H, <i>d</i> , $J=15.9$ Hz)
$\beta'''$	115.3	6.32 (1H, <i>d</i> , $J=15.9$ Hz)
1'''	127.9	
2'''	112.0	7.12 (1H, <i>d</i> , $J=2.0$ Hz)
3'''	149.6	
4'''	150.9	
5'''	116.7	6.75 (1H, <i>d</i> , $J=8.2$ Hz)
6'''	124.4	7.06 (1H, <i>dd</i> , $J=2.0, 8.2$ Hz)
OCH <sub>3</sub>	56.7	3.75 (3H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第2項 既知化合物 Compound 3 の構造決定

Cpd 3 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_8H_8O_3$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.5 から 154.9 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、56.6 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本、193.0 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、ベンゼン環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4 位に置換基のついたベンゼン構造を推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>4)</sup>と比較したところ、Cpd 3 を vanillin であると決定した。

Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 151.1394  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_8H_7O_3$ : 151.1393)

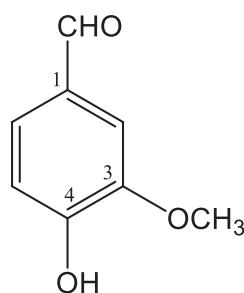


Fig. 6 Structure and physical data of Compound 3

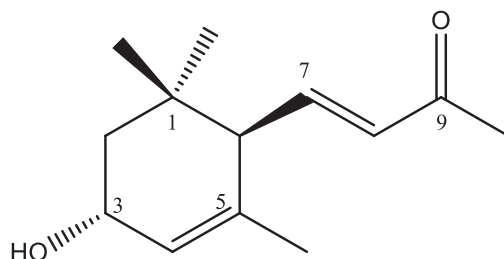
Table 4.  $^{13}C$  NMR (150MHz) and  $^1H$  NMR (600 MHz) data for Cpd 3 in  $CD_3OD$

position	$^{13}C$	$^1H$
1	130.8	
2	111.5	7.44 (1H, <i>d</i> , $J=1.9$ Hz)
3	149.9	
4	154.9	
5	116.5	6.94 (1H, <i>d</i> , $J=7.9$ Hz)
6	128.1	7.44 (1H, <i>dd</i> , $J=7.9, 1.9$ Hz)
1-CHO	193.1	9.75 (1H, <i>s</i> )
3-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.92 (3H, <i>s</i> )



### 第3項 既知化合物 Compound 4 の構造決定

Cpd 4 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{13}H_{20}O_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、メチル基に由来するシグナルが 4 本、二重結合に由来するシグナルが 4 本、200.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測された。そして、 $^1H$  NMR において、6.57 ppm にカップリング定数 16.0 Hz と 10.3 Hz の dd のピーク、6.04 ppm にカップリング 16.0 Hz のピークが見られたことより、一つの *trans* の二重結合と一つのカルボニルを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>5)</sup>と比較したところ、Cpd 4 を (3*R*,6*R*,7*E*)-3-hydroxy-4,7-megastigmadien-9-one であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 231.1356  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{13}H_{20}O_2Na$ : 231.1356)

Fig. 7 Structure and physical data of Compound 4

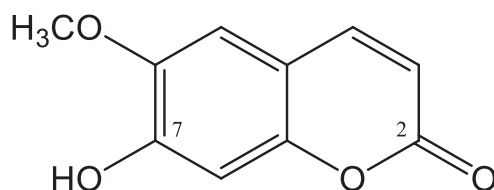
Table 5.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **4** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	35.1	
2	45.2	1.71 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.2, 5.9$ Hz) 1.29 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.2, 7.1$ Hz)
3	66.1	4.12 (1H, <i>m</i> )
4	127.5	5.50 (1H, <i>m</i> )
5	136.0	
6	55.7	2.48 (1H, <i>d</i> , $J=10.3$ Hz)
7	149.9	6.57 (1H, <i>dd</i> , $J= 16.0, 10.3$ Hz)
8	134.8	6.04 (1H, <i>d</i> , $J= 16.0$ Hz)
9	200.9	
10	27.2	2.17 (3H, <i>s</i> )
11	29.9	0.91 (3H, <i>s</i> )
12	24.6	0.80 (3H, <i>m</i> )
13	22.9	1.52 (3H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

#### 第4項 既知化合物 Compound 5 の構造決定

Cpd 5 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{10}H_8O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、104.2 から 153.3 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、57.0 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本、112.6 ppm と 146.3 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、164.2 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、7.86 ppm にカップリング定数 9.4 Hz の d のピーク、6.20 ppm にカップリング定数 9.4 Hz のピークが見られたことより、一つの *cis* の二重結合とベンゼン環の存在を推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>6)</sup>と比較したところ、Cpd 5 を scopoletin であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 193.0494  $[M+H]^+$

(calcd for  $C_{10}H_8O_4$ : 193.0495)

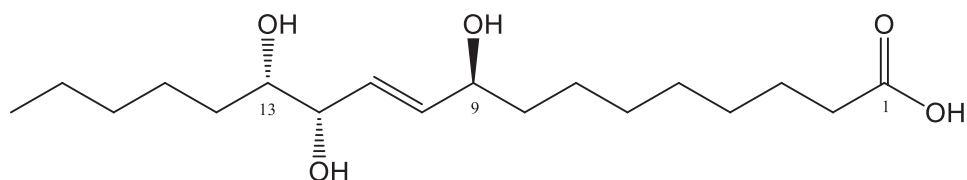
Fig. 8 Structure and physical data of Compound 5

Table 6.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **5** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	164.2	
3	112.6	6.20 (1H, <i>d</i> , $J= 9.4$ Hz)
4	147.2	7.86 (1H, <i>d</i> , $J= 9.4$ Hz)
5	110.1	7.11 (1H, <i>s</i> )
6	147.2	
7	151.7	
8	104.2	6.77 (1H, <i>s</i> )
9	153.3	
10	112.6	
-OCH <sub>3</sub>	57.0	3.91 (3H, <i>s</i> )

## 第5項 既知化合物 Compound 6 の構造決定

Cpd 6 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{18}H_{34}O_5$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、アルキル基に由来するシグナルが 15 本、二重結合に由来するシグナルが 2 本、178.7 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測されたことより一つの二重結合と一つのカルボニル基を結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータ及び旋光度を文献値とと比較したところ、Cpd 6 を (9*S*,12*S*,13*S*)-*E*-9,12,13-trihydroxy-10-octadecaenoic acid であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 353.2299  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{18}H_{34}O_5Na$ : 353.2298)

$[\alpha]_D^{26} = -9.0$  ( $c = 1.07$ , MeOH)

Fig. 9 Structure and physical data of Compound 6

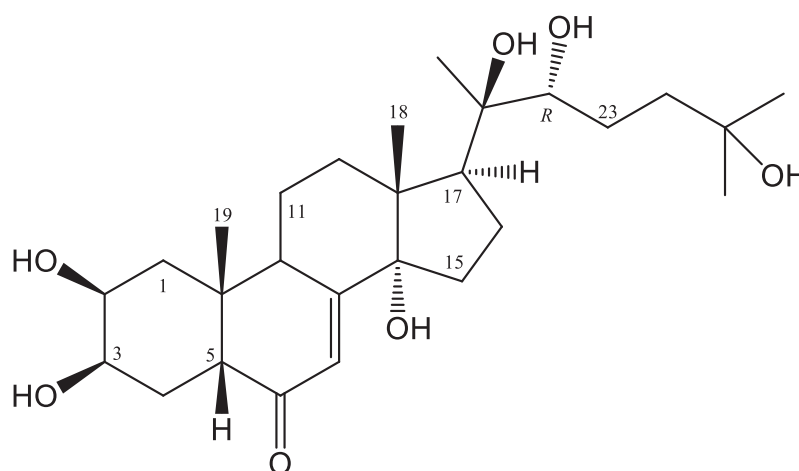
Table 7.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **6** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	178.7	
2	35.8	2.26 (2H, <i>t</i> , $J=7.5$ Hz)
3	26.5	1.60 (2H, <i>m</i> )
4	30.4	
5		
6	30.6-30.7	1.27-1.56 (10H, <i>m</i> )
7	26.6	
8	38.5	
9	73.2	4.05 (1H, <i>m</i> )
10	136.2	5.69 (1H, <i>m</i> )
11	131.2	5.70 (1H, <i>m</i> )
12	76.8	3.91 (1H, <i>m</i> )
13	75.9	3.41 (1H, <i>m</i> )
14	33.7	
15	26.7	1.27-1.56 (8H, <i>m</i> )
16	33.3	
17	23.8	
18	14.6	0.91 (3H, <i>t</i> , $J=6.9$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

## 第6項 既知化合物 Compound 7 の構造決定

Cpd 7 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{27}H_{44}O_7$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、アルキル基に由来するシグナルが 26 本、206.6 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、一つのカルボニル基を有した steroid 構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>8)</sup>と比較したところ、Cpd 7 を 20-hydroxyecdysone であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 503.2972  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{27}H_{44}O_7Na$ : 503.2979)

Fig. 10 Structure and physical data of Compound 7

Table 8.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd 7 in  $\text{CD}_3\text{OD}$

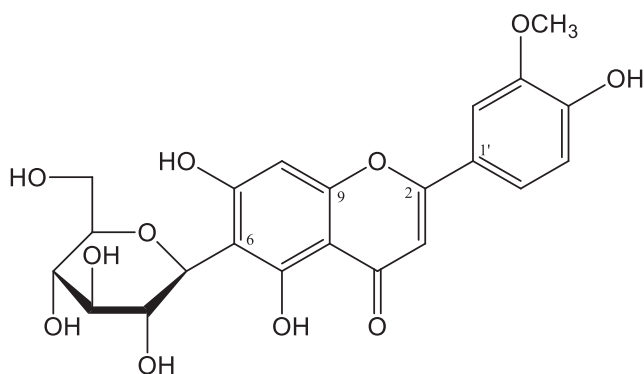
position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	37.5	1.42 1.79
2	68.8	3.84 (1H, <i>ddd</i> , $J= 11.8, 4.0, 3.2$ Hz)
3	68.7	3.95 (1H, <i>m</i> )
4	33.0	1.69 1.76
5	51.9	2.37 (1H, <i>m</i> )
6	206.6	
7	122.3	5.81 (1H, <i>d</i> , $J= 2.3$ Hz)
8	168.1	
9	35.7	3.15 (1H, <i>m</i> )
10	39.4	
11	21.6	1.71 1.80
12	32.7	2.13 (1H, <i>ddd</i> , $J= 12.9, 12.9, 4.6$ Hz) 1.88
13	48.7	
14	85.4	
15	31.9	1.60 1.96
16	21.6	1.78 1.99
17	50.7	2.38 (1H, <i>m</i> )
18	18.2	0.90 (1H, <i>s</i> )
19	24.5	0.97 (1H, <i>s</i> )
20	78.1	
21	21.2	1.20 (1H, <i>s</i> )
22	78.6	3.34 (1H, <i>m</i> )
23	27.5	1.30 1.66
24	42.5	1.80 1.44
25	71.5	
26	29.1	1.19 (1H, <i>s</i> )
27	29.8	1.20 (1H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals



## 第7項 既知化合物 Compound 8 の構造決定

Cpd 8 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{22}H_{22}O_{11}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、63.0 から 95.6 ppm にグルコースと考えられる 6 本のピークがあり、56.8 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本、184.0 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測された。そして、 $^1H$  NMR において、ベンゼン環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4 位に置換基がついた flavonoid 構造を推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>9)</sup>と比較したところ、Cpd 8 を luteolin 3'-*O*-methyl-6-*C*- $\beta$ -D-glucopyranoside であると決定した。



Yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 485.1051  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{22}H_{22}O_{11}Na$ : 485.1054)

Fig. 11 Structure and physical data of Compound 8

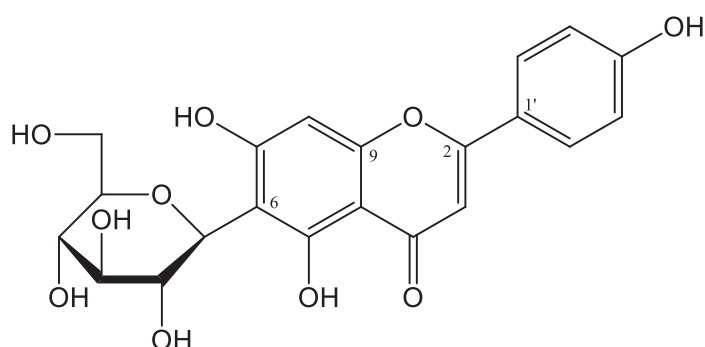
Table 9.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **8** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	166.1	
3	104.3	6.58 (1H, <i>s</i> )
4	184.0	
5	162.1	
6	109.5	
7	165.9	
8	95.6	6.46 (1H, <i>s</i> )
9	158.9	
10	105.1	
1'	123.6	
2'	110.7	7.45 (1H, <i>d</i> , $J= 2.1$ Hz)
3'	149.7	
4'	152.4	
5'	117.0	6.91 (1H, <i>d</i> , $J= 8.3$ Hz)
6'	121.9	7.46 (1H, <i>dd</i> , $J= 2.1, 8.3$ Hz)
glucose		
1"	80.3	3.49 (1H, <i>m</i> )
2"	72.7	4.19 (1H, <i>m</i> )
3"	75.5	4.90 (1H, <i>d</i> , $J= 10$ Hz)
4"	71.9	3.49 (1H, <i>m</i> )
5"	82.7	3.42 (1H, <i>m</i> )
6"	63.0	3.88 (1H, <i>dd</i> , $J= 2.2, 12.1$ Hz)
		3.75 (1H, <i>dd</i> , $J= 5.3, 12.1$ Hz)
$\text{OCH}_3$	56.8	3.94 (3H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第 8 項 既知化合物 Compound 9 の構造決定

Cpd 9 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{21}H_{20}O_{10}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、63.0 から 95.8 ppm にグルコースと考えられる 6 本のピークがあり、184.0 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測された。以上より、NMR スペクトルデータを文献値<sup>10)</sup>と比較することにより、Cpd 9 を apigenin-6-C- $\beta$ -D-glucopyranoside であると決定した。



Yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 455.0947  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{21}H_{20}O_{10}Na$ : 455.0949)

Fig. 12 Structure and physical data of Compound 9

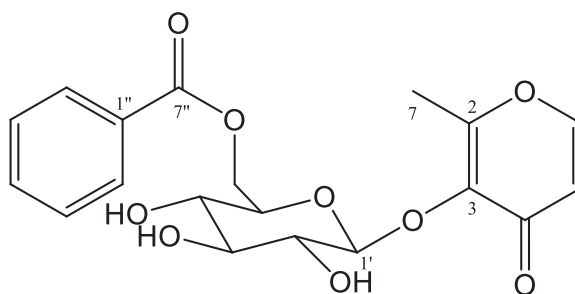
Table 10.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **9** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	166.2	
3	103.9	6.57 (1H, <i>s</i> )
4	184.0	
5	162.2	
6	109.6	
7	166.1	
8	95.8	6.47 (1H, <i>s</i> )
9	159.0	
10	104.9	
1'	123.6	
2'	129.5	7.83 (1H, <i>d</i> , $J= 8.9$ Hz)
3'	117.3	6.92 (1H, <i>d</i> , $J= 8.9$ Hz)
4'	163.1	
5'	117.3	6.92 (1H, <i>d</i> , $J= 8.9$ Hz)
6'	129.4	7.83 (1H, <i>d</i> , $J= 8.9$ Hz)
glucose		
1''	75.5	4.90 (1H, <i>d</i> , $J= 9.9$ Hz)
2''	72.7	4.19 (1H, <i>dd</i> , $J=9.9, 8.9$ Hz)
3''	80.4	3.45 (1H, <i>m</i> )
4''	71.9	3.45 (1H, <i>m</i> )
5''	82.7	3.42 (1H, <i>m</i> )
6''	63.0	3.87 (1H, <i>dd</i> , $J= 2.0, 12.1$ Hz)
		3.75 (1H, <i>dd</i> , $J= 5.3, 12.1$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

## 第9項 既知化合物 Compound 10 の構造決定

Cpd 10 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{19}H_{20}O_9$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、64.9 ppm から 104.2 ppm にグルコースと考えられる 6 本のピークと、129.7 から 134.5 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 4 本のピークがあり、176.9 ppm と 167.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 2 本、二重結合に由来するシグナル 4 本が観測された。NMR スペクトルデータを文献値<sup>11)</sup>と比較したところ、Cpd 10 を maltol  $\beta$ -D-glucopyranoside 6'-O-benzoate であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 415.0994  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{19}H_{20}O_9Na$ : 415.1000)

Fig. 13 Structure and physical data of Compound 10

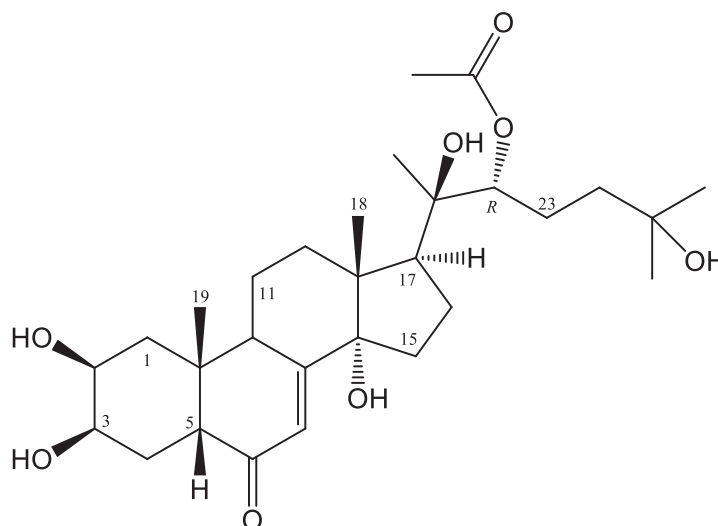
Table 11.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **10** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1		
2	164.6	
3	142.8	
4	176.9	
5	117.2	6.31 (1H, <i>d</i> , $J= 5.6$ Hz)
6	157.1	7.78 (1H, <i>d</i> , $J=5.6$ Hz)
7	15.8	2.19 (3H, <i>s</i> )
1'	104.2	4.86 (1H, <i>d</i> , $J= 7.8$ Hz)
2'	75.3	3.43 (1H, <i>m</i> )
3'	77.6	3.52 (1H, <i>m</i> )
4'	71.7	3.45 (1H, <i>m</i> )
5'	75.7	3.59 (1H, <i>m</i> )
6'	64.9	4.57 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.8, 2.3$ Hz) 4.48 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.8, 6.9$ Hz)
1''	130.9	
2''	130.5	7.87 (2H, <i>dd</i> , $J= 8.2, 1.1$ Hz)
3''	129.7	7.40 (2H, <i>m</i> )
4''	134.5	7.54 (1H, <i>m</i> )
5''	129.7	7.40 (2H, <i>m</i> )
6''	130.5	7.87 (2H, <i>dd</i> , $J= 8.2, 1.1$ Hz)
7''	167.9	

m: multiplet or overlapped signals

## 第 10 項 既知化合物 Compound 12 の構造決定

Cpd 12 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{29}H_{46}O_8$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、アルキル基に由来するシグナルが 26 本, 206.6 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本, 173.4 ppm と 21.3 ppm のアセトキシ基のシグナルが観測されたことより、一つのアセトキシ基を結合した steroid 構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>12)</sup>と比較したところ、Cpd 12 を 22-*O*-acetyl 20-hydroxy-ecdysone であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 545.3080  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{29}H_{46}O_8Na$ : 545.3085)

Fig. 14 Structure and physical data of Compound 12

Table 12.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **12** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

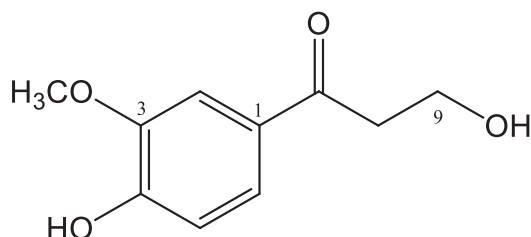
position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	37.5	1.32 1.69
2	68.8	3.84 (1H, <i>m</i> )
3	68.7	3.95 (1H, <i>m</i> )
4	33.0	1.60 1.65
5	51.9	2.37 (1H, <i>m</i> )
6	206.6	
7	122.3	5.84 (1H, <i>d</i> , $J= 2.4$ Hz)
8	167.9	
9	35.2	3.16 (1H, <i>m</i> )
10	39.4	
11	21.6	1.59 1.70
12	32.7	2.04 (1H, <i>m</i> ) 1.78 (1H, <i>m</i> )
13		
14	85.3	
15	31.9	1.52 1.89
16	21.6	1.71 1.60
17	51.1	2.38 (1H, <i>m</i> )
18	18.2	0.89 (3H, <i>s</i> )
19	24.5	0.96 (3H, <i>s</i> )
20	77.7	
21	21.3	1.20 (1H, <i>s</i> )
22	80.8	4.87 (1H, <i>m</i> )
23	26.4	1.37 1.65
24	41.7	1.33 1.28
25	71.1	
26	29.1	1.18 (3H, <i>s</i> )
27	29.6	1.30 (3H, <i>s</i> )
C=O	173.5	
CH <sub>3</sub> CO-	21.3	2.10 (3H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals



## 第 11 項 既知化合物 Compound 13 の構造決定

Cpd 13 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{10}H_{12}O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、112.0 ppm から 153.5 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、56.5 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本、199.8 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナル 1 本が観測された。そして、 $^1H$  NMR において、ベンゼン環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4 位に置換基がついたベンゼン構造を推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>13)</sup>と比較したところ、Cpd 13 を 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propan-1-one であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 219.0627  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{10}H_{12}O_4Na$ : 219.0628)

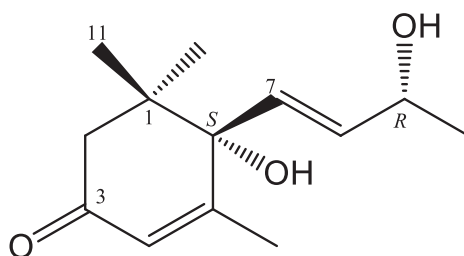
Fig. 15 Structure and physical data of Compound 13

Table 13.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **13** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	130.7	
2	112.0	7.54 (1H, <i>d</i> , $J=2.0$ Hz)
3	149.2	
4	153.5	
5	115.9	6.86 (1H, <i>d</i> , $J= 8.3$ Hz)
6	124.9	7.58 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.3, 2.0$ Hz)
7	199.8	
8	41.8	3.16 (2H, <i>t</i> , $J= 6.2$ Hz)
9	59.0	3.94 (2H, <i>t</i> , $J= 6.2$ Hz)
3-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.91 (3H, <i>s</i> )

## 第 12 項 既知化合物 Compound 14 の構造決定

Cpd 14 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{13}H_{20}O_3$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、メチル基に由来するシグナルが 4 本、二重結合に由来するシグナルが 4 本、201.5 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本が観測された。また、 $^1H$  NMR において、5.81 ppm にカップリング定数 16.9 Hz と 6.0 Hz の dd のピーク、5.79 ppm にカップリング定数 16.9 Hz のピークが見られたことより、一つの *trans* の二重結合と一つのカルボニル基を結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータ及び旋光度を文献値<sup>14)</sup>と比較したところ、Cpd 14 を (6*S*,9*R*)-vomifoliol であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 247.1305  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{13}H_{20}O_3Na$ : 247.1305)

$[\alpha]_D^{26} = +141$  ( $c = 1.00$ , MeOH)

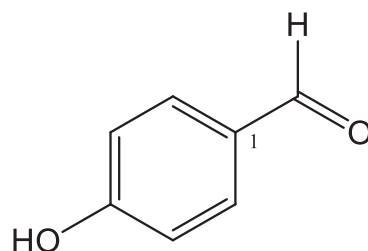
Fig. 16 Structure and physical data of Compound 14

Table 14.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **14** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	42.6	
2	50.8	2.16 (1H, <i>d</i> , $J= 16.9$ Hz) 2.48 (1H, <i>d</i> , $J= 16.9$ Hz)
3	201.5	
4	127.2	5.88 (1H, <i>brs</i> )
5	167.7	
6	80.1	
7	130.0	5.78 (1H, <i>d</i> , $J= 16.9$ Hz)
8	137.0	5.81 (1H, <i>dd</i> , $J= 16.9, 6.0$ Hz)
9	68.8	4.57 (1H, <i>brs</i> )
10	19.7	1.24 (3H, <i>d</i> , $J=6.4$ Hz)
11	24.6	1.02 (3H, <i>s</i> )
12	24.0	1.04 (3H, <i>s</i> )
13	23.6	1.92 (3H, <i>d</i> , $J=1.1$ Hz)

### 第 13 項 既知化合物 Compound 15 の構造決定

Cpd 15 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_7H_6O_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、117.0 ppm から 165.3 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 4 本のピークがあり、193.0 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、1、4 位に置換基のついたベンゼン構造を推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>15)</sup>と比較したところ、Cpd 15 を 4-hydroxybenzaldehyde であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 121.0296  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_7H_5O_2$ : 121.0295)

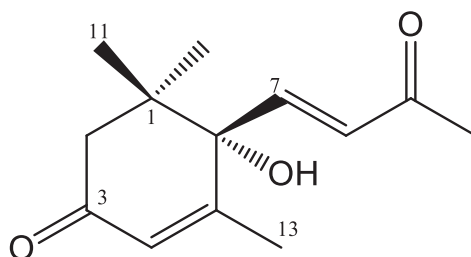
Fig. 17 Structure and physical data of Compound 15

Table 15.  $^{13}C$  NMR (150MHz) and  $^1H$  NMR (600 MHz) data for Cpd 15 in  $CD_3OD$

position	$^{13}C$	$^1H$
1	130.4	
2	133.6	7.77 (1H, <i>d</i> , $J= 8.7$ Hz)
3	117.0	6.91 (1H, <i>d</i> , $J= 8.6$ Hz)
4	165.3	
5	117.0	6.91 (1H, <i>d</i> , $J= 8.6$ Hz)
6	133.6	7.77 (1H, <i>d</i> , $J= 8.7$ Hz)
CHO	193.0	9.76 (1H, <i>s</i> )

## 第 14 項 既知化合物 Compound 16 の構造決定

Cpd 16 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{13}H_{18}O_3$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、メチル基に由来するシグナルが 4 本、二重結合に由来するシグナルが 4 本、200.5 ppm、200.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、6.99 ppm にカップリング定数 15.8 Hz の *d* のピークと 6.44 ppm にカップリング定数 15.8 Hz の *d* のピークが見られたことより、一つの *trans* 二重結合と二つのカルボニル基を結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータ及び旋光度を文献値<sup>16)</sup>と比較したところ、Cpd 16 を (+)-dehydrovomifoliol であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 245.1148  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{13}H_{18}O_3Na$ : 245.1148)

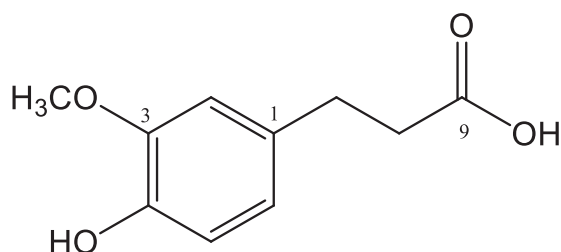
Fig. 18 Structure and physical data of Compound 16

Table 16.  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) data for Cpd **16** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	42.8	
2	50.7	2.60 (1H, <i>d</i> , $J= 17.1$ Hz) 2.28 (1H, <i>d</i> , $J= 17.1$ Hz)
3	200.5	
4	128.2	5.93 (1H, <i>s</i> )
5	164.8	
6	80.1	
7	148.5	6.99 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
8	131.9	6.44 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
9	200.9	
10	27.8	2.30 (3H, <i>s</i> )
11	23.7	1.06 (3H, <i>s</i> )
12	24.9	1.02 (3H, <i>s</i> )
13	19.3	1.90 (3H, <i>d</i> , $J=1.4$ Hz)

## 第 15 項 既知化合物 Compound 17 の構造決定

Cpd 17 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{10}H_{12}O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、113.2 ppm から 149.0 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、56.5 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本、177.6 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、ベンゼン環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4 位に置換基がついたベンゼン構造を推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>17)</sup>と比較したところ、Cpd 17 を 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propanoic acid であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 195.0664  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_{10}H_{11}O_4$ : 195.0663)

Fig. 19 Structure and physical data of Compound 17

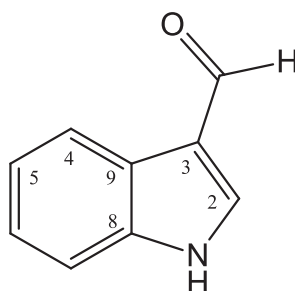


Table 17.  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) data for Cpd **17** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	134.0	
2	113.2	6.80 (1H, <i>d</i> , $J=1.8$ Hz)
3	149.0	
4	145.9	
5	116.3	6.70 (1H, <i>d</i> , $J= 8.0$ Hz)
6	121.8	6.64 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.0, 1.9$ Hz)
7	32.0	2.82 (2H, <i>t</i> , $J= 7.7$ Hz)
8	37.7	2.54 (2H, <i>t</i> , $J= 7.7$ Hz)
9	177.6	
3-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.83 (3H, <i>s</i> )

## 第 16 項 既知化合物 Compound 18 の構造決定

Cpd 18 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_9H_7ON$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、113.3 ppm から 139.1 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、187.6 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本観測された。また、NMR スペクトルデータを文献値<sup>18, 19)</sup>と比較したところ、Cpd 18 を indole-3-carboxaldehyde であると決定した。



Pale yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 146.0599  $[M+H]^+$

(calcd for  $C_9H_8ON$ : 146.0600)

Fig. 20 Structure and physical data of Compound 18

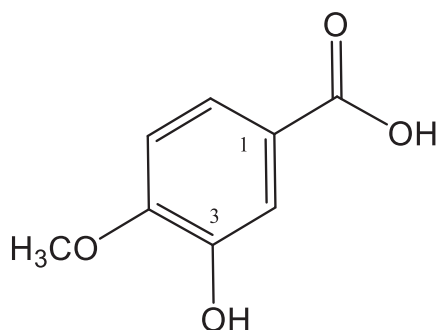
Table 18.  $^{13}C$  NMR (125MHz) and  $^1H$  NMR (500 MHz) data for Cpd 18 in  $CD_3OD$

position	$^{13}C$	$^1H$
2	139.9	8.10 (1H, <i>s</i> )
3	120.3	
4	122.5	8.16 (1H, <i>d</i> , $J= 7.9$ Hz)
5	123.8	
6	125.2	7.20-7.30 (2H, <i>m</i> )
7	113.3	7.48 (1H, <i>d</i> , $J= 8.0$ Hz)
8	125.9	
9	139.1	
CHO	187.6	9.89 (1H, <i>s</i> )

*m*: multiplet or overlapped signals

## 第 17 項 既知化合物 Compound 19 の構造決定

Cpd 19 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_8H_8O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、113.9 から 152.8 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、170.2 ppm のカルボニルに由来するシグナルが 1 本、56.5 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンが存在していると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>20)</sup>と比較したところ、Cpd 19 を isovanillic acid であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 167.0352  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_8H_7O_4$ : 167.0350)

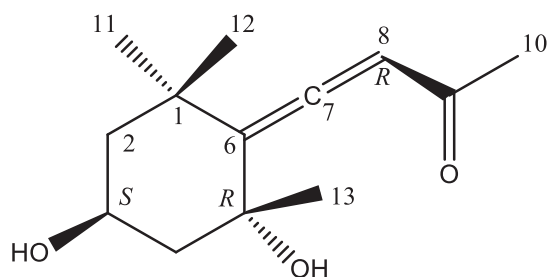
Fig. 21 Structure and physical data of Compound 19

Table 19.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **19** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	125.4	
2	116.0	7.56 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
3	148.8	
4	152.8	
5	113.9	6.84 (1H, <i>d</i> , $J= 8.7$ Hz)
6	123.2	7.55 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.7, 1.9$ Hz)
1-COOH	170.2	
4-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.88 (3H, <i>s</i> )

## 第 18 項 既知化合物 Compound 20 の構造決定

Cpd 20 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{13}H_{20}O_3$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、201.0 ppm のカルボニルに由来するシグナルが 1 本、101.3、120.1、211.7 ppm の二重結合に由来するシグナルが 3 本、64.6、72.6 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 2 本、49.9 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 1 本、26.7、29.5、30.9、32.4 ppm のメチル基に由来するシグナルが 4 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>21)</sup>と比較したところ、Cpd 20 を grasshopper ketone であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 247.1304  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{13}H_{20}O_3Na$ : 247.1305)

$[\alpha]_D^{25} = -33.5$  ( $c = 0.79$ , MeOH)

Fig. 22 Structure and physical data of Compound 20

Table 20.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **20** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	37.1	
2	49.9	1.93 (1H, <i>ddd</i> , $J= 2.1, 4.1, 12.5$ Hz) 1.41 (1H, <i>m</i> )
3	64.6	4.22 (1H, <i>m</i> )
4	-	2.22 (1H, <i>dd</i> , $J= 2.1, 4.1$ Hz) 1.33 (1H, <i>m</i> )
5	72.6	
6	120.1	
7	211.7	
8	101.3	5.83 (1H, <i>s</i> )
9	201.0	
10	26.7	2.19 (3H, <i>s</i> )
11	29.5	1.15 (3H, <i>s</i> )
12	32.4	1.38 (3H, <i>m</i> )
13	30.9	1.38 (3H, <i>m</i> )

m: multiplet or overlapped signals

---

### 第3章 日本産植物クロタキカズラ *Hosiea japonica* の成分研究

---

#### 第1節 日本産植物クロタキカズラ *Hosiea japonica* について

学名：*Hosiea japonica*

和名：クロタキカズラ

科名：Icacinaceae (クロタキカズラ科)

属名：*Hosiea* (クロタキカズラ属)

特徴： 5-6月ごろ5弁の薄い黄緑の小花を数個咲かせる。雌雄異株、葉は大きめで鋸歯の形が特徴、山地に生えるつる性落葉低木でつるは数mになる。9-10月ごろ長さ15-20mm程度の緋色の実を垂らせる。名前は四国の黒滝山で発見されたことに由来し、茶色のつるには白い斑点がある。<sup>22)</sup> 本植物からは、これまでに成分研究の報告はない。



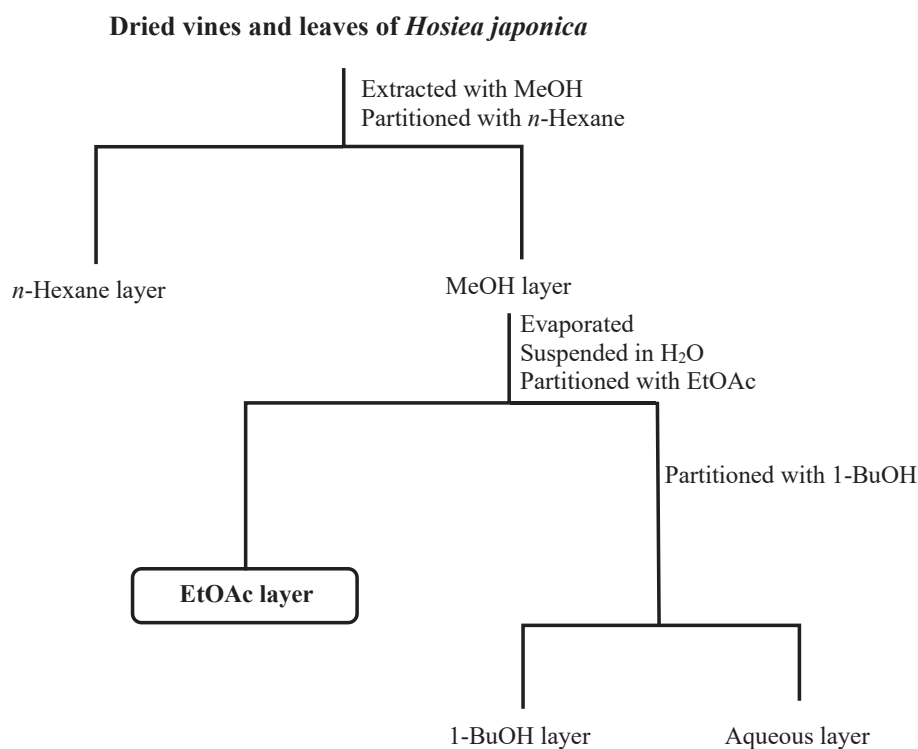
[http://kanon1001.web.fc2.com/foto\\_sinrin/K\\_kurotaki\\_kazura/kurotaki\\_kazura/kurotaki\\_kazura.htm](http://kanon1001.web.fc2.com/foto_sinrin/K_kurotaki_kazura/kurotaki_kazura/kurotaki_kazura.htm)

## 第2節 抽出、分離および精製

クロタキカズラ *Hosiea japonica* のつるの酢酸エチル抽出物 (37.6 g)、クロタキカズラ *Hosiea japonica* の葉部の酢酸エチル抽出物 (27.3 g) について成分研究を行った。

クロタキカズラ *Hosiea japonica* のつるの酢酸エチル可溶画分 (37.6 g) を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、ODS カラムクロマトグラフィー、及び ODS-HPLC を用いて分離、精製し、23 種の化合物を単離した。その内 Compound **21** は新規化合物と同定した。(Chart 2)

また、クロタキカズラ *Hosiea japonica* の葉部の酢酸エチル可溶画分 (27.3 g) を、順相及び逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー、ODS カラムクロマトグラフィー、及び ODS-HPLC を用いて分離、精製し、11 種の化合物を単離した。その内 Compound **22** は新規化合物と同定した。(Chart 3)





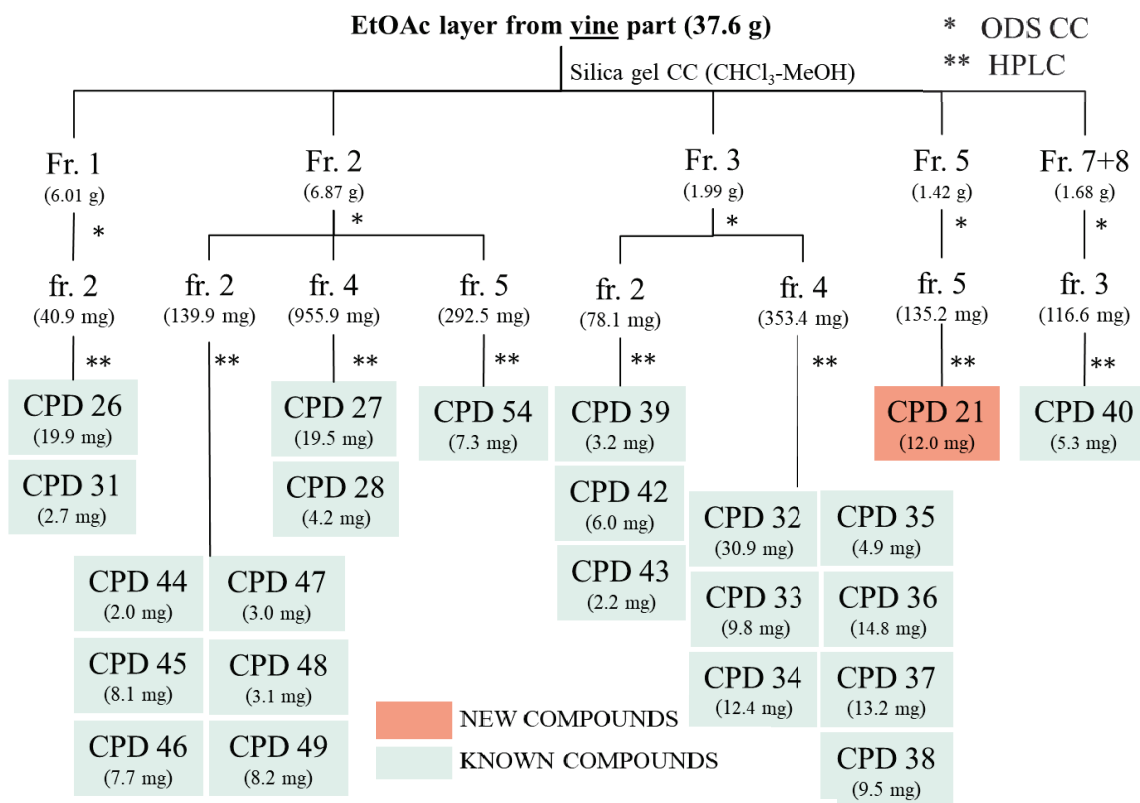


Chart 2: Isolated compounds from vine

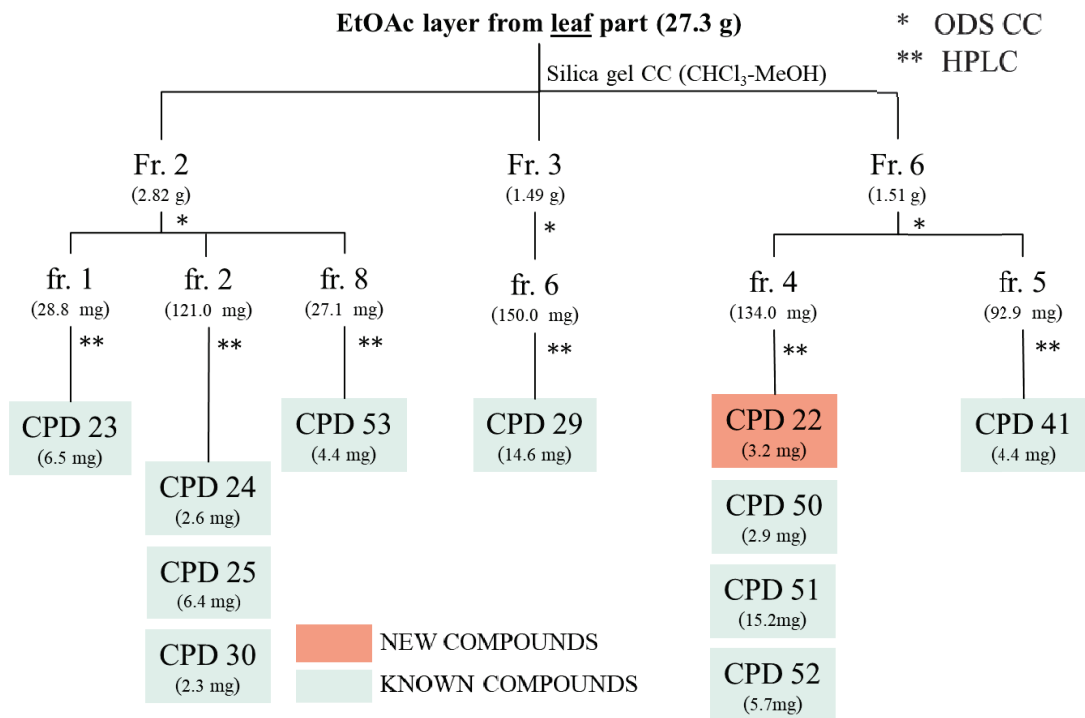


Chart 3: Isolated compounds from leaves

### 第3節 新規化合物について

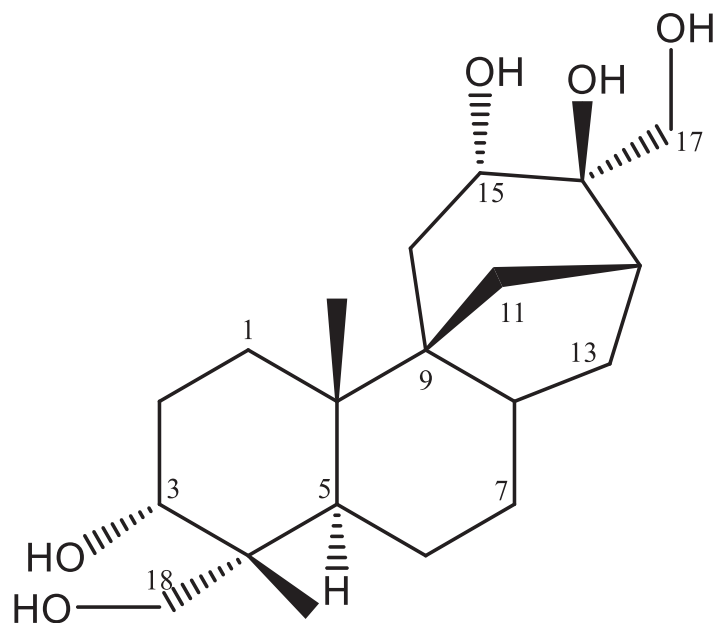
#### 第1項 新規化合物 Compound 21 の構造決定

---

Cpd 21 は HR-ESI-MS の結果からその分子式を  $C_{20}H_{34}O_5$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、炭素総数 20 本のうち、67.2、68.4、72.2、75.0、76.6 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素のシグナルが 5 本、それ以外に、23.8、27.5、27.6、27.7、30.5、33.1、36.2 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 6 本、31.6、34.4、38.8 ppm のメチン基に由来するシグナルが 3 本、加えて 40.3、41.3、50.5 ppm の 4 級炭素に由来するシグナルが 3 本観測された。 $^{13}C$  NMR スペクトルの結果および、分子式の要求する不飽和度を勘案し、Cpd 21 は aphidicolin 型ジテルペンと推測した。また、IR スペクトルから、水酸基に由来するピークが観測された。

より詳細な検討を行うために 2D NMR (HSQC, HMBC, COSY) を測定したところ、15 位と 17 位、12 位と 17 位、12 位と 15 位、15 位と 16 位にそれぞれ HMBC 相関が観測されたことなどから、3 位、15 位、16 位、17 位、18 位にヒドロキシ基が結合していることが確認された。その他、各部分構造を支持する相関、さらに部分構造同士の結合を介した相関が観測され、Fig. 24 のような平面構造であることが示唆された。立体配置を決めるため、NOESY を測定したところ、H15 と H12、H15 と H11、H3 と H1 にそれぞれ相関が観測された。

以上より、Compound 21 を Fig. 23 に示す構造であると決定した。しかし、絶対配置については改良 Mosher 法の適応などで今後、解析する必要がある。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 377.2298  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{20}H_{34}O_5Na$ : 377.2298)

$[\alpha]_D^{20} = -16.0$  ( $c = 0.1$ , MeOH)

IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3346, 2938, 2864, 1708, 1606, 1510, 1456, 1272, 1225, 1123, 1022

Fig. 23 Structure and physical data of Compound 21

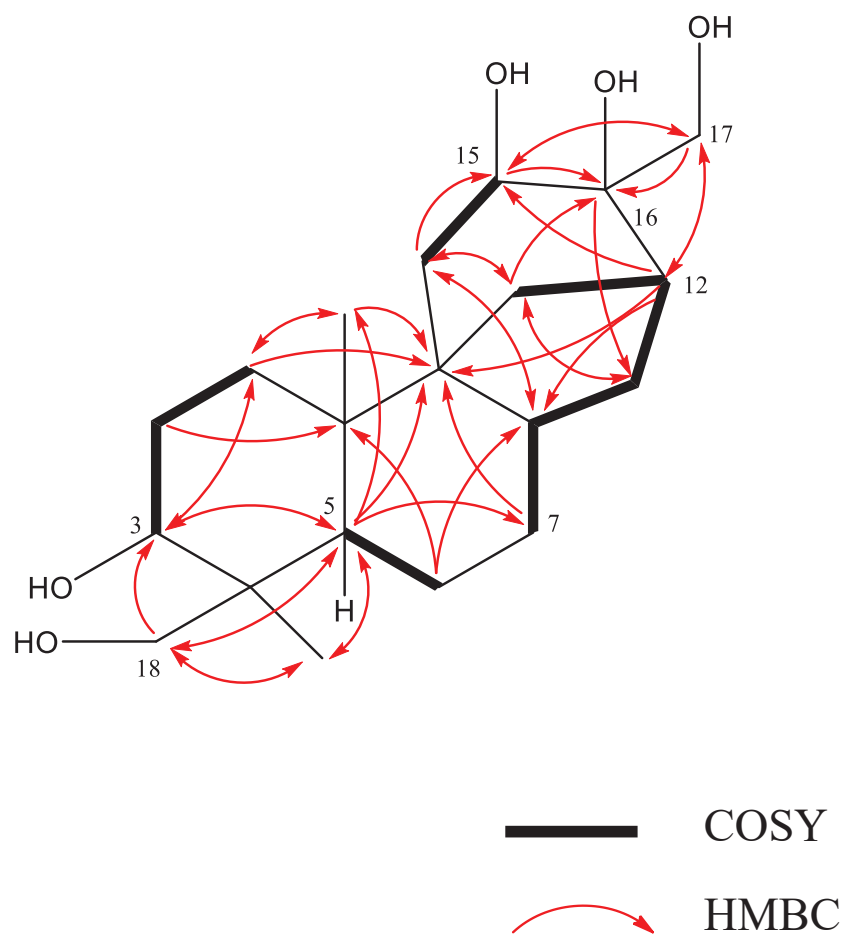


Fig. 24 COSY and HMBC correlations of Compound 21

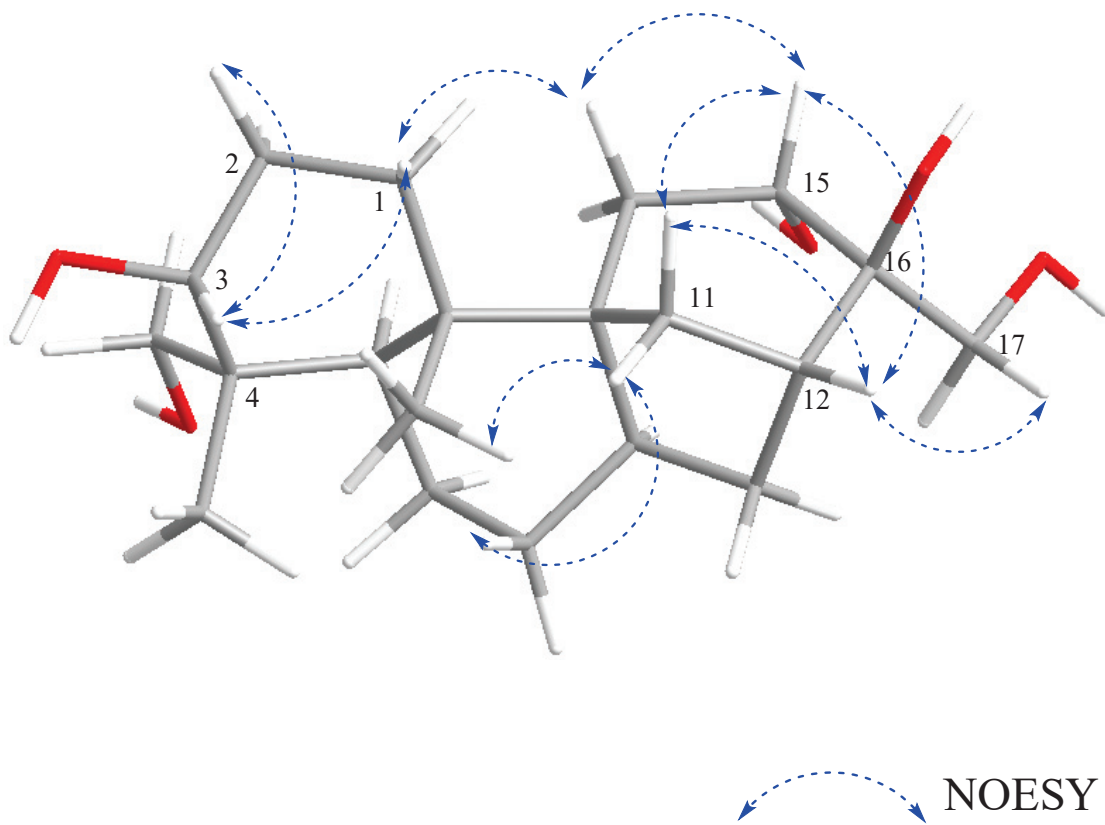


Fig. 25 NOESY correlations of Compound **21**

Table 21.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **21** in pyridine- $d_5$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	27.6	1.00 - 2.50 (4H, <i>m</i> )
2	27.7	
3	76.6	3.92 (1H, <i>brs</i> )
4	41.3	
5	34.4	2.96 (1H, <i>dd</i> , $J= 12.8, 3.1$ Hz)
6	23.8	1.00 - 2.50 (4H, <i>m</i> )
7	27.5	
8	40.8	1.99 (1H, <i>m</i> )
9	50.5	
10	40.3	
11	33.1	2.34 (1H, <i>d</i> , $J= 10.8$ Hz) 1.43 (1H, <i>m</i> )
12	41.7	2.74 (1H, <i>dd</i> , $J= 7.8, 5.7$ Hz)
13	30.5	1.17 - 1.33 (2H, <i>m</i> )
14	36.2	2.76 (1H, <i>dd</i> , $J= 5.8, 3.1$ Hz) 2.26 (1H, <i>m</i> )
15	68.4	4.17 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.2, 5.9$ Hz)
16	75.0	
17	67.2	4.28 (1H, <i>d</i> , $J= 10.9$ Hz) 4.00 (1H, <i>d</i> , $J= 10.9$ Hz)
18	72.2	3.79 (1H, <i>d</i> , $J= 10.9$ Hz) 3.64 (1H, <i>d</i> , $J= 10.9$ Hz)
19	18.4	0.79 (3H, <i>s</i> )
20	16.0	1.04 (3H, <i>s</i> )

*m*: multiplet or overlapped signals

## 第2項 新規化合物 Compound 22 の構造決定

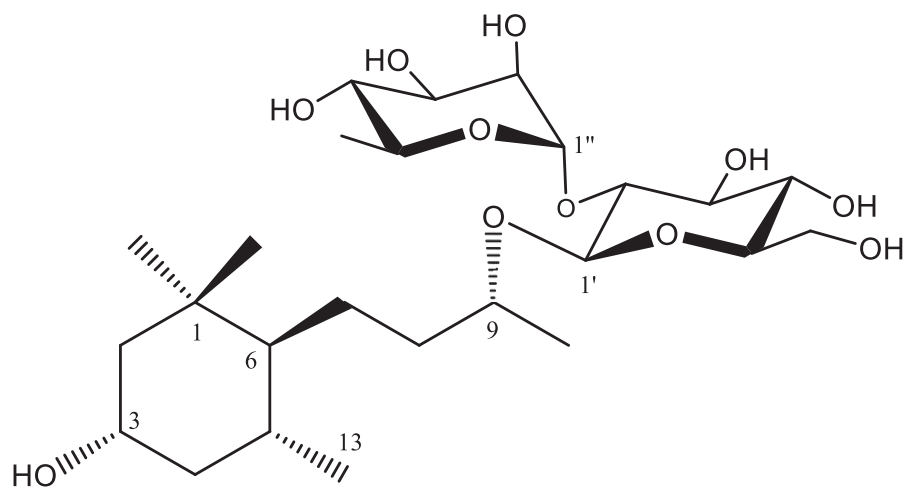
---

Cpd 22 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{25}H_{46}O_{11}$  であると決定した。Cpd 22 には NMR スペクトルより糖が結合していることが想定されたため、1M HCl で加水分解を行い、遊離した糖について旋光度検出器付き HPLC を用いて糖分析を行ったところ、Cpd 22 には D-glucose と L-rhamnose が含まれることが示された。このことは、 $^{13}C$  NMR において glucose と rhamnose に由来する 12 本のシグナルが観測されたことと一致した。

その他にも  $^{13}C$  NMR においてアグリコン部分については 67.6、76.1 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素が 2 本、25.7、38.8、46.6、51.9 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 4 本、35.0、54.3 ppm のメチン基に由来するシグナルが 2 本、36.9 ppm の 4 級炭素が観測されたことより、D-glucose と L-rhamnose がついているメガスティグマン類であると推測した。

より詳細な検討を行うために 2D NMR (HSQC, HMBC, COSY) を測定したところ、各部分構造を支持する相関が得られた。末端の rhamnose の 1 位からグルコースの 2 位、glucose の 1 位からアグリコンの 9 位にそれぞれ HMBC 相関が観測されたことから、D-glucose と L-rhamnose の結合位置が確認された。さらに、11 位と 1 位、12 位と 1 位、13 位と 5 位にそれぞれ HMBC 相関されたことから、11 位、12 位と 13 位のメチル基が 1 位と 5 位に結合していることが確認された。9 位の絶対配置についてはそのケミカルシフト値から 9*R* と決定した。<sup>23)</sup> 環部分のケミカルシフト値は末端糖の種類、結合位置のみ異なる sedumoside E<sub>2</sub> および E<sub>3</sub> <sup>24)</sup> と良い一致を示していることから相対立体化学を図のように推定した。

以上より、Compound 22 を Fig. 26 に示す構造であると決定した。しかし、絶対配置については改良 Mosher 法の適応などで今後さらに解析する必要がある。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 545.2928  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{25}H_{46}O_{11}Na$ : 545.2932)

$[\alpha]_D^{24} = -38.6$  ( $c = 0.07$ , MeOH)

IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3368, 2965, 2918, 1647, 1464, 1368, 1076, 1042

Fig. 26 Structure and physical data of Compound 22



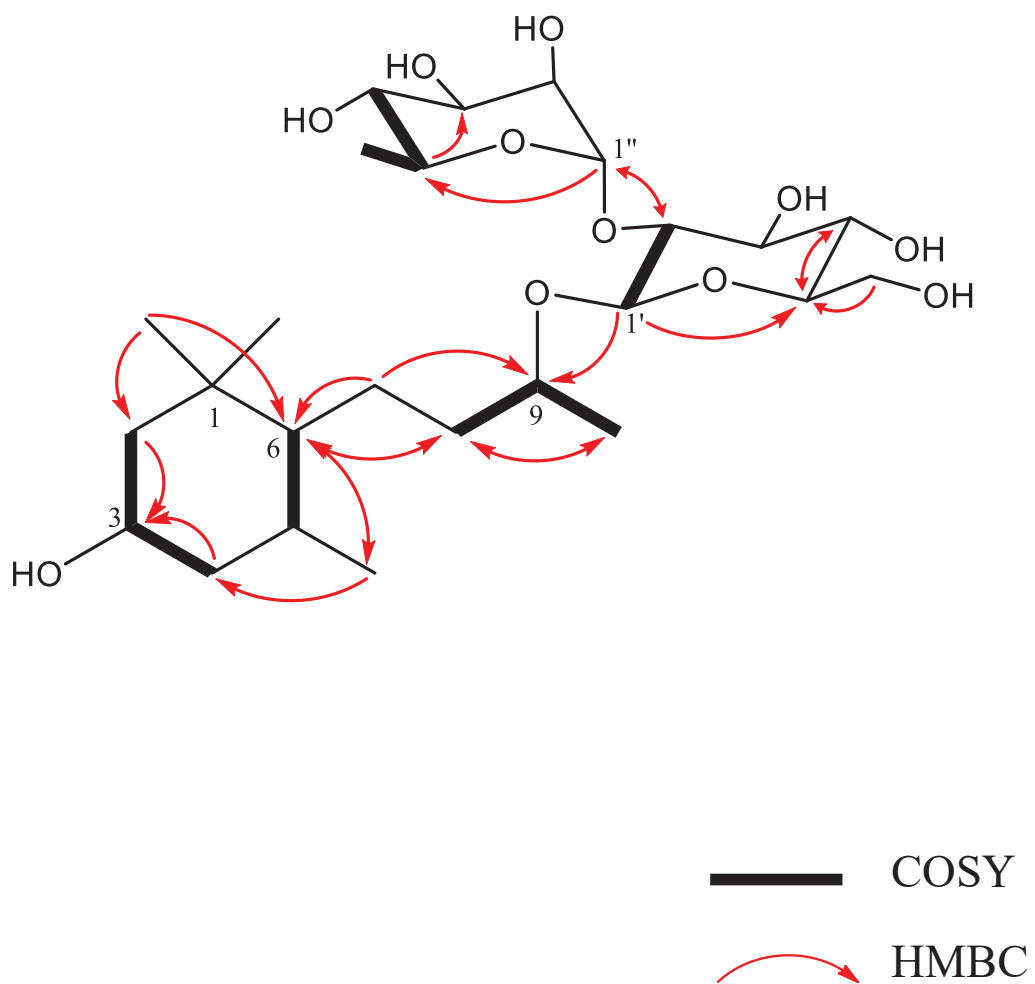


Fig. 27 COSY and HMBC correlations of Compound 22

Table 22.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **22** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	36.9	
2	51.9	1.63 (1H, <i>m</i> ) 1.09 (1H, <i>m</i> )
3	67.6	3.70 (1H, <i>m</i> )
4	46.6	1.88 (1H, <i>m</i> ) 0.90 (1H, <i>m</i> )
5	35.0	1.46 (1H, <i>m</i> )
6	54.3	0.57 (1H, <i>ddd</i> , $J= 10.8, 4.9, 2.4$ Hz)
7	25.7	1.40 (1H, <i>m</i> ) 1.03 (1H, <i>m</i> )
8	38.8	1.79 (1H, <i>m</i> ) 1.43 (1H, <i>m</i> )
9	76.1	3.86 (1H, <i>m</i> )
10	21.4	1.22 (1H, <i>m</i> )
11	21.7	0.84 (1H, <i>s</i> )
12	31.6	0.96 (1H, <i>s</i> )
13	21.7	0.99 (1H, <i>d</i> , $J= 6.5$ Hz)
1'	101.0	4.41 (1H, <i>d</i> , $J= 7.7$ Hz)
2'	79.1	3.36 (1H, <i>dd</i> , $J= 9.1, 7.7$ Hz)
3'	79.6	3.45 (1H, <i>t</i> , $J= 9.1$ Hz)
4'	72.1	3.27 (1H, <i>m</i> )
5'	78.0	3.21 (1H, <i>ddd</i> , $J= 9.9, 5.9, 2.4$ Hz)
6'	62.9	3.84 (1H, <i>m</i> ) 3.65 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.8, 5.9$ Hz)
1''	102.3	5.21 (1H, <i>d</i> , $J= 1.4$ Hz)
2''	72.3	3.91 (1H, <i>dd</i> , $J= 3.3, 1.4$ Hz)
3''	72.6	3.68 (1H, <i>m</i> )
4''	74.1	3.38 (1H, <i>t</i> , $J= 9.5$ Hz)
5''	69.9	4.07 (1H, <i>dd</i> , $J= 9.5, 6.2$ Hz)
6''	18.1	1.22 (1H, <i>m</i> )

m: multiplet or overlapped signals

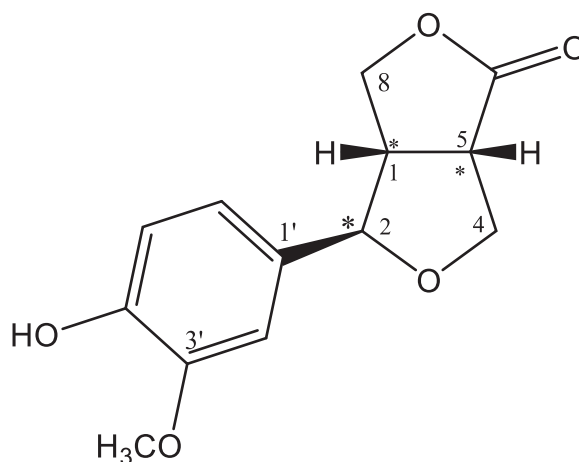
#### 第4節 既知化合物について

日本産植物クロタキカズラ *Hosiea japonica* 葉部とつるの酢酸エチル可溶画分を分離。精製する過程で、新規化合物とともに、既知化合物 32 種を単離した。各化合物の NMR スペクトルデータを文献値と比較することで、それぞれ以下に示す既知化合物であると同定した。

- Compound 23: Salicifoliol<sup>25,26)</sup>
- Compound 24: cyclo(D)-Pro-(D)-Leu<sup>27)</sup>
- Compound 25: (+)-Epiloliolide<sup>28)</sup>
- Compound 26: (+)-Syringaresinol<sup>29)</sup>
- Compound 27: *N-trans*-feruloylmethoxytyramine<sup>30)</sup>
- Compound 28: Ficusequilignan A<sup>31)</sup>
- Compound 29: Frangulin A<sup>32)</sup>
- Compound 30: (+)-Dehydrovomifoliol<sup>33)</sup>
- Compound 31: (+)-Medioresinol<sup>34)</sup>
- Compound 32: Terrestrisamide<sup>35)</sup>
- Compound 33: *trans-N-p*-Coumaroyl tyramine<sup>36)</sup>
- Compound 34: 7-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-*N*2, *N*3-bis(4-hydroxyphenethyl)-6-methoxy-1,2-dihydronaphthalene-2,3-dicarboxamide<sup>37)</sup>
- Compound 35: Cannabisin E<sup>38)</sup>
- Compound 36: Grossamide K<sup>39)</sup>
- Compound 37: Cannabisin G<sup>40)</sup>
- Compound 38: *N-trans*-Feruloyl tyramine<sup>41)</sup>
- Compound 39: *trans*-Ferulic Acid<sup>42, 43)</sup>
- Compound 40: 5(*S*)-5-Carboxystrictosidine<sup>44)</sup>
- Compound 41: Glucofragulin A<sup>45)</sup>
- Compound 42: Vanillic acid<sup>46)</sup>
- Compound 43: Neo-olivil (a racemic mixture)<sup>47)</sup>
- Compound 44: 3-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propan-1-one<sup>48)</sup>
- Compound 45: Syringic acid<sup>49)</sup>
- Compound 46: (6*S*,9*R*)-Vomifoliol<sup>50)</sup>
- Compound 47: Vanillin<sup>51)</sup>
- Compound 48: Umbelliferone<sup>52)</sup>
- Compound 49: Methyl protocatechuate<sup>53)</sup>
- Compound 50: 3,4-Dihydro-10-hydroxy-7-methoxy-3-(*R*)-methyl-1H-3,4-dihydronaphtho-[2,3c]-pyran-1-one-9-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-glucopyranoside<sup>54)</sup>
- Compound 51: Narcissin<sup>55)</sup>
- Compound 52: Kaempferol 3-β-rutinoside<sup>56)</sup>
- Compound 53: Emodin<sup>57)</sup>
- Compound 54: Tribulusamide A<sup>58)</sup>

## 第1項 既知化合物 Compound 23 の構造決定

Cpd 23 は HR-ESI-MS の結果からその分子式を  $C_{13}H_{14}O_5$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.1 から 149.4 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピーク、181.3 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルを 1 本、56.6 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合したリグナン類であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>25) 26)</sup>と比較したところ、Cpd 23 を salicifoliol であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 249.0768  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_{13}H_{13}O_5$ : 249.0768)

$[\alpha]_D^{25} = +4.8$  ( $c = 0.43$ , MeOH)

Fig. 28 Structure and physical data of Compound 23

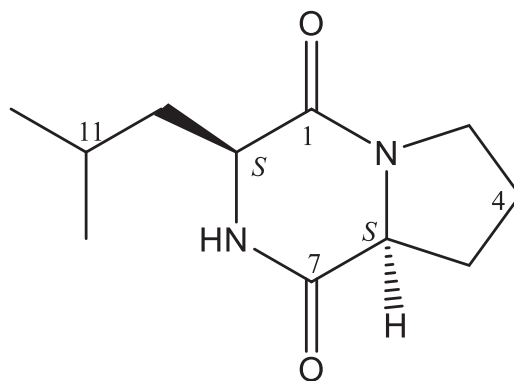
Table 23.  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) data for Cpd **23** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	49.4	3.21 (1H, <i>m</i> )
2	87.9	4.67 (1H, <i>d</i> , $J=7$ Hz)
3		
4	71.1	4.30 (1H, <i>t</i> , $J=8.7$ Hz) 4.08 (1H, <i>dd</i> , $J=9.1, 3.4$ Hz)
5	47.7	3.55 (1H, <i>m</i> )
6	181.3	
7		
8	72.0	4.54 (1H, <i>dd</i> , $J=9.6, 6.9$ Hz) 4.36 (1H, <i>dd</i> , $J=9.6, 1.9$ Hz)
1'	132.4	
2'	111.1	6.96 (1H, <i>d</i> , $J=1.7$ Hz)
3'	149.4	
4'	147.9	
5'	116.3	6.78 (1H, <i>d</i> , $J=8.1$ Hz)
6'	120.3	6.83 (1H, <i>dd</i> , $J=8.1, 1.7$ Hz)
3'-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.86 (3H, <i>s</i> )

*m*: multiplet or overlapped signals

## 第2項 既知化合物 Compound 24 の構造決定

Cpd 24 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{11}H_{19}O_2N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、169.1、172.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルを 2 本、23.8、29.2、39.6、46.6 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 4 本、25.9、54.8、60.4 ppm のメチン基に由来するシグナルが 3 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>27)</sup>と比較したところ、Cpd 24 を cyclo-(D)-Pro-(D)-Leu であると決定した。



Colorless amorphous solid

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 211.1438  $[M+H]^+$

(calcd for  $C_{11}H_{19}O_2N_2$ : 211.1441)

Fig. 29 Structure and physical data of Compound 24

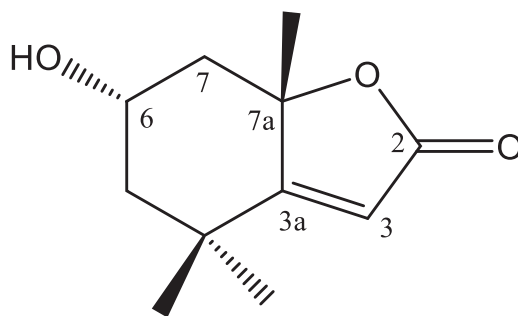
Table 24.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **24** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	169.1	
2		
3	46.6	3.52 (2H, <i>m</i> )
4	23.8	1.93 (1H, <i>m</i> ) 2.03 (1H, <i>m</i> )
5	29.2	2.03 (1H, <i>m</i> ) 2.31 (1H, <i>m</i> )
6	60.4	4.26 (1H, <i>t</i> , $J= 7.7$ Hz)
7	172.9	
8		
9	54.8	4.13 (1H, <i>m</i> )
10	39.6	1.91 (1H, <i>m</i> ) 1.52 (1H, <i>m</i> )
11	25.9	1.88 (1H, <i>m</i> )
12	23.4	0.96 (3H, <i>m</i> )
13	22.4	0.96 (3H, <i>m</i> )

*m*: multiplet or overlapped signals

### 第3項 既知化合物 Compound 25 の構造決定

Cpd 25 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{11}H_{16}O_3$  であると決定した。 $^{13}C$  NMRにおいて、174.1 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが1本、113.9、184.1 ppm の二重結合に由来するシグナルが2本、65.4 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素のシグナルが1本、49.2、50.9 ppm のメチレン基に由来するシグナルが2本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>28)</sup>と比較したところ、Cpd 25 を (+)-epiloliolide であると決定した。



Colorless amorphous solid

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 219.0987  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{11}H_{16}O_3Na$ : 219.0992)

Fig. 30 Structure and physical data of Compound 25



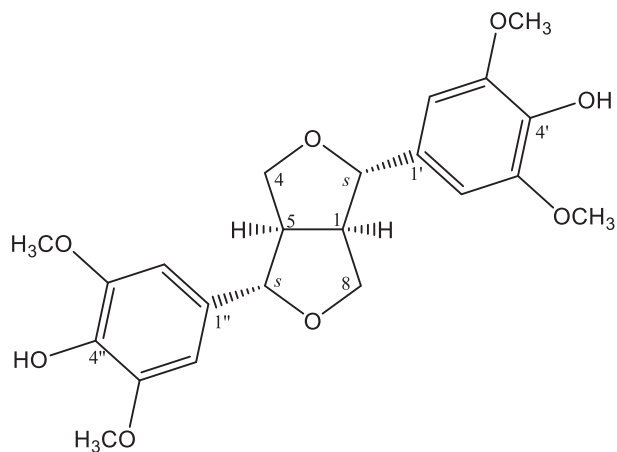
Table 25.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **25** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	174.1	
3	113.9	5.78 (1H, <i>m</i> )
3a	184.1	
4	36.3	
5	50.9	2.00 (1H, <i>ddd</i> , $J= 13, 4.3, 2.2$ Hz) 1.29 (1H, <i>m</i> )
6	65.4	4.10 (1H, <i>m</i> )
7	49.2	2.47 (1H, <i>ddd</i> , $J= 11.7, 4.0, 2.1$ Hz) 1.42 (1H, <i>td</i> , $J= 11.7, 0.6$ Hz)
7a	88.7	
8	30.4	1.59 (3H, <i>s</i> )
9	25.9	1.31 (3H, <i>s</i> )
10	25.5	1.29 (3H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

#### 第4項 既知化合物 Compound 26 の構造決定

Cpd 26 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{22}H_{26}O_8$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、104.7 から 149.5 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 4 本のピークがあり、57.0 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本、72.9、87.7 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 2 本、55.7 ppm のメチン基に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>29)</sup>と比較したところ、Cpd 26 を (+)-syringaresinol であると決定した。



Colorless amorphous solid

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 441.1518  $[M+H]^+$

(calcd for  $C_{22}H_{26}O_8Na$ : 441.1520)

$[\alpha]_D^{25} = +10.8$  ( $c = 1.33$ , MeOH)

Fig. 31 Structure and physical data of Compound 26

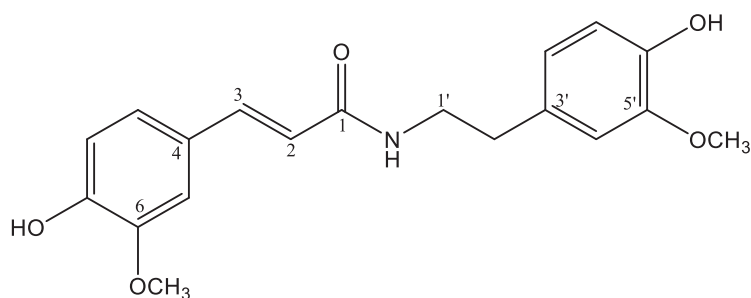
Table 26.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **26** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1, 5	55.7	3.13 (2H, <i>m</i> )
2, 6	87.7	4.71 (2H, <i>d</i> , $J= 4.3$ Hz)
4, 8	72.9	4.25 (2H, <i>dd</i> , $J= 6.9, 9.0$ Hz) 3.87 (2H, <i>dd</i> , $J= 3.6, 9.2$ Hz)
1', 1''	133.3	
2', 2'', 6', 6''	104.7	6.65 (4H, <i>s</i> )
3', 3'', 5', 5''	149.5	
4', 4''	136.4	
3', 3'', 5', 5''-OMe	57.0	3.86 (12H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第5項 既知化合物 Compound 27 の構造決定

Cpd 27 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{19}H_{21}O_5$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.7 から 150.0 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 12 本のピークがあり、169.3 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、118.9、142.2 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、56.5 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンが存在していると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>30)</sup>と比較したところ、Cpd 27 を *N-trans-feruloylmethoxytyramine* であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 366.1313  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{19}H_{21}O_5Na$ : 366.1312)

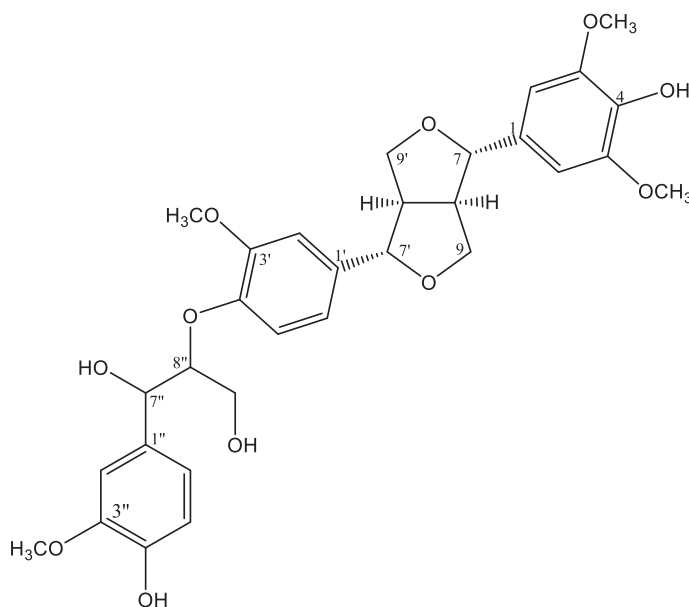
Fig. 32 Structure and physical data of Compound 27

Table 27.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **27** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	169.3	
2	118.9	6.41 (1H, <i>d</i> , $J= 15.7$ Hz)
3	142.2	7.44 (1H, <i>d</i> , $J= 15.7$ Hz)
4	132.2	
5	111.7	7.10 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
6	150.0	
7	149.1	
8	116.6	6.80 (1H, <i>d</i> , $J= 8.2$ Hz)
9	123.3	7.01 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.2, 1.9$ Hz)
6-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.86 (3H, <i>s</i> )
1'	42.6	3.48 (2H, <i>t</i> , $J= 7.3$ Hz)
2'	36.3	2.76 (2H, <i>t</i> , $J= 7.3$ Hz)
3'	128.4	
4'	113.6	6.81 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
5'	149.4	
6'	146.2	
7'	116.4	6.72 (1H, <i>d</i> , $J= 8.0$ Hz)
8'	122.4	6.66 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.0, 1.9$ Hz)
5'-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.81 (3H, <i>s</i> )

## 第6項 既知化合物 Compound 28 の構造決定

Cpd 28 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{31}H_{36}O_{11}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、104.4 から 154.7 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 16 本のピークがあり、56.5、56.9、56.9 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 3 本、61.9、72.9、73.1、74.2、87.5、87.6、87.6 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 7 本、55.4、55.4 ppm のメチン基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを持つリグナン類であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>31)</sup>と比較したところ、Cpd 28 を ficusequilignan A であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 607.2151  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{31}H_{36}O_{11}Na$ : 607.2151)

Fig. 33 Structure and physical data of Compound 28

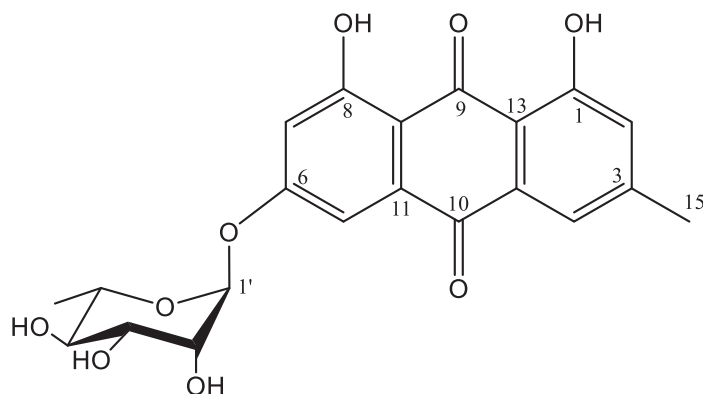
Table 28.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **28** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	136.3	
2	104.4	6.68 (1H, <i>s</i> )
3	154.7	
4	139.1	
5	154.7	
6	104.4	6.68 (1H, <i>s</i> )
7	87.6	4.73 (1H, <i>d</i> , $J= 3.1$ Hz)
8	55.4	3.16 (1H, <i>m</i> )
9	72.9	3.89 (1H, <i>m</i> ) 4.27 (1H, <i>m</i> )
1'	134.0	
2'	111.2	6.95 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
3'	149.3	
4'	147.5	
5'	116.3	6.81 (1H, <i>m</i> )
6'	120.3	6.82 (1H, <i>m</i> )
7'	87.6	4.73 (1H, <i>m</i> )
8'	55.4	3.16 (1H, <i>m</i> )
9'	73.1	3.89 (1H, <i>m</i> ) 4.27 (1H, <i>m</i> )
1''	134.0	
2''	111.6	6.96 (1H, <i>m</i> )
3''	148.8	
4''	147.0	
5''	115.8	6.73 (1H, <i>d</i> , $J= 8.1$ Hz)
6''	120.9	6.73 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.1, 1.7$ Hz)
7''	74.2	4.90 (1H, <i>m</i> )
8''	87.5	4.27 (1H, <i>m</i> )
9''	61.9	3.89 (1H, <i>m</i> ) 3.59 (1H, <i>dt</i> , $J= 12.0, 3.8$ Hz)
3,5-OCH <sub>3</sub>	56.9	3.83 (6H, <i>s</i> )
3'-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.86 (3H, <i>s</i> )
3''-OCH <sub>3</sub>	56.9	3.83 (3H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第7項 既知化合物 Compound 29 の構造決定

Cpd 29 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{21}H_{20}O_9$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、17.9 に加え、69.8 から 98.5 ppm に rhamnose と考えられる 5 本のピークがあり、108.6 から 163.7 ppm の芳香環に由来するシグナルが 12 本、181.2、190.2 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 2 本、21.6 ppm のメチル基に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>32)</sup>と比較したところ、Cpd 29 を frangulin A であると決定した。



Yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 415.1035  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_{21}H_{19}O_9$ : 415.1035)

Fig. 34 Structure and physical data of Compound 29



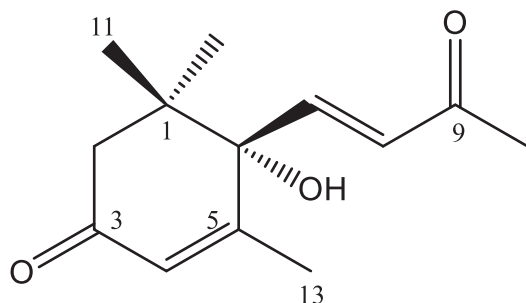
Table 29.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **29** in  $\text{DMSO-}d_6$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	161.5	
2	124.3	7.19 (1H, <i>brs</i> )
3	148.7	
4	120.7	7.52 (1H, <i>brs</i> )
5	108.6	7.28 (1H, <i>d</i> , $J=2.4$ Hz)
6	162.7	
7	109.2	6.93 (1H, <i>d</i> , $J=2.4$ Hz)
8	163.7	
9	190.2	
10	181.2	
11	135.0	
12	110.9	
13	113.5	
14	132.9	
15	21.6	2.42 (3H, <i>s</i> )
1'	98.5	5.63 (1H, <i>d</i> , $J=0.9$ Hz)
2'	69.8	
3'	70.2	
4'	71.6	3.38-3.90 (4H, <i>m</i> )
5'	70.2	
6'	17.9	1.12 (1H, <i>d</i> , $J=6.1$ Hz)
1-OH		12.07 (1H, <i>s</i> )
8-OH		11.93 (1H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第 8 項 既知化合物 Compound 30 の構造決定

Cpd 30 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{13}H_{18}O_3$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、200.5、200.8 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルを 2 本、128.2、131.9、148.5、164.8 ppm の二重結合に由来するシグナルが 4 本、80.1 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素が 1 本、50.7 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>33)</sup>と比較したところ、Cpd 30 を (+)-dehydrovomifoliol であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 245.1146  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{13}H_{18}O_3Na$ : 245.1148)

$[\alpha]_D^{24} = +34.7$  ( $c$  0.05, MeOH)

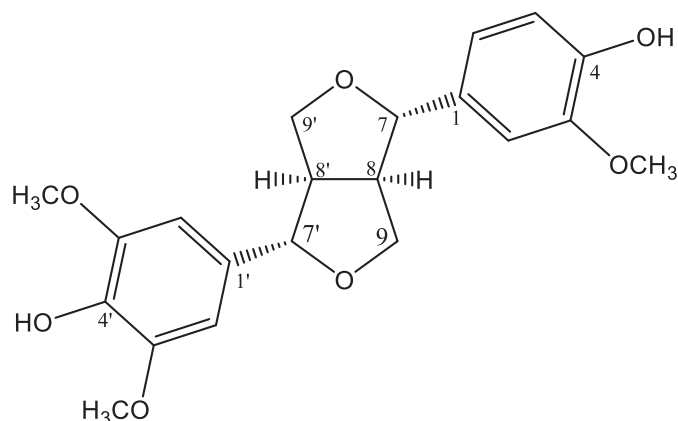
Fig. 35 Structure and physical data of Compound 30

Table 30.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600MHz) data for Cpd **30** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	42.8	
2	50.7	2.60 (1H, <i>d</i> , $J= 16.9$ Hz) 2.28 (1H, <i>d</i> , $J= 16.9$ Hz)
3	200.5	
4	128.2	5.93 (1H, <i>s</i> )
5	164.8	
6	80.1	
7	148.5	6.99 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
8	131.9	6.44 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
9	200.8	
10	27.8	2.30 (3H, <i>s</i> )
11	23.7	1.06 (3H, <i>s</i> )
12	24.9	1.02 (3H, <i>s</i> )
13	19.3	1.90 (3H, <i>d</i> , $J=1.4$ Hz)

## 第9項 既知化合物 Compound 31 の構造決定

Cpd 31 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{21}H_{24}O_7$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、104.7 から 149.5 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 10 本のピークがあり、56.6、56.7 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本、72.8、72.9、87.6、87.8 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 4 本、55.5、55.7 ppm のメチン基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを持つリグナン類であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>34)</sup>と比較したところ、Cpd 31 を (+)-medioresinol であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 411.1417  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{21}H_{24}O_7Na$ : 411.1414)

$[\alpha]_D^{24} = +10.9$  ( $c = 0.11$ , MeOH)

Fig. 36 Structure and physical data of Compound 31

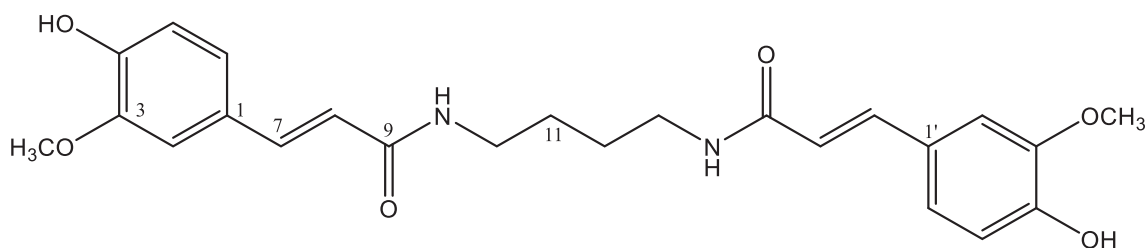
Table 31.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **31** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	134.0	
2	111.2	6.95 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
3	149.3	
4	147.5	
5	116.3	6.77 (1H, <i>d</i> , $J= 8.1$ Hz)
6	120.2	6.82 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.1, 1.9$ Hz)
7	87.8	4.72 (1H, <i>d</i> , $J= 4.4$ Hz)
8	55.5	3.14 (1H, <i>m</i> )
9	72.9	3.88 (1H, <i>m</i> )
		4.25 (1H, <i>m</i> )
1'	133.3	
2', 6'	104.7	6.66 (2H, <i>s</i> )
3', 5'	149.5	
4'	136.4	
7'	87.6	4.72 (1H, <i>d</i> , $J= 4.4$ Hz)
8'	55.7	3.14 (1H, <i>m</i> )
9'	72.8	3.88 (1H, <i>m</i> )
		4.25 (1H, <i>m</i> )
3-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.86 (3H, <i>s</i> )
3', 5'-OCH <sub>3</sub>	57.0	3.85 (6H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第 10 項 既知化合物 Compound 32 の構造決定

Cpd 32 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{24}H_{28}O_6N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.8 から 150.0 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、169.4 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、118.9、142.2 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、56.6 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンが結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>35)</sup>と比較したところ、Cpd 32 を terrestrisamide であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 463.1836  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{24}H_{28}O_6N_2Na$ : 463.1840)

Fig. 37 Structure and physical data of Compound 32

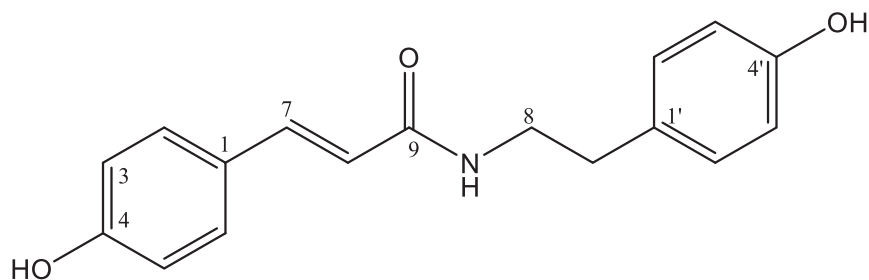
Table 32.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **32** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	128.5	
2	111.8	7.11 (2H, <i>d</i> , $J= 1.7$ Hz)
3	149.4	
4	150.0	
5	116.7	6.79 (2H, <i>d</i> , $J= 8.1$ Hz)
6	123.3	7.02 (2H, <i>dd</i> , $J= 8.1, 1.7$ Hz)
7	142.2	7.44 (2H, <i>d</i> , $J= 15.6$ Hz)
8	118.9	6.43 (2H, <i>d</i> , $J= 15.6$ Hz)
9	169.4	
10	40.3	3.31 (4H, <i>m</i> )
11	28.1	1.62 (4H, <i>m</i> )
3, 3'-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.87 (6H, <i>s</i> )

*m*: multiplet or overlapped signals

## 第 11 項 既知化合物 Compound 33 の構造決定

Cpd 33 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{17}H_{17}O_3N$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、116.4 から 160.6 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 8 本のピークがあり、169.4 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、118.6、141.9 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、35.9、42.7 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が AX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,4-置換ベンゼンを持つ構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>36)</sup>と比較したところ、Cpd 33 を *trans*-*N*-*p*-coumaroyl tyramine であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 306.1101  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{17}H_{17}O_3NNa$ : 306.1101)

Fig. 38 Structure and physical data of Compound 33

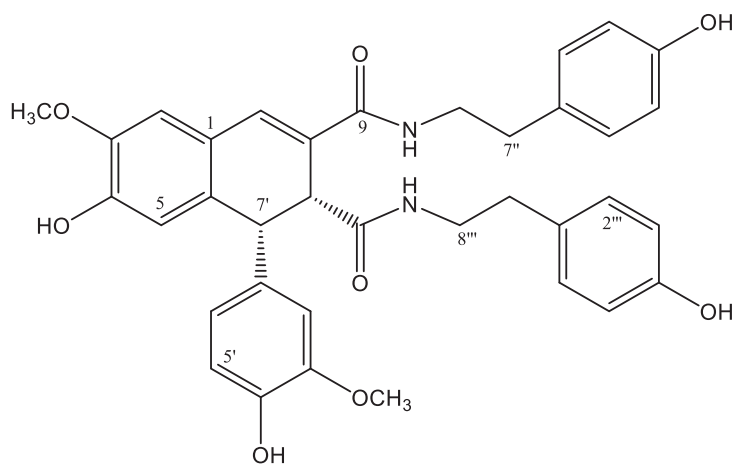


Table 33.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **33** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	127.9	
2, 6	130.7	7.30 (2H, <i>d</i> , $J= 8.6$ Hz)
3, 5	116.4	6.69 (2H, <i>d</i> , $J= 8.6$ Hz)
4	160.6	
7	141.9	7.34 (1H, <i>d</i> , $J= 15.7$ Hz)
8	118.6	6.28 (1H, <i>d</i> , $J= 15.7$ Hz)
9	169.4	
1'	131.5	
2', 6'	130.9	6.95 (2H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
3', 5'	116.9	6.62 (2H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
4'	157.1	
7'	35.9	3.36 (2H, <i>t</i> , $J= 7.4$ Hz)
8'	42.7	2.65 (2H, <i>t</i> , $J= 7.4$ Hz)

## 第 12 項 既知化合物 Compound 34 の構造決定

Cpd 34 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{36}H_{36}O_8N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、112.7 から 157.0 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 20 本のピークがあり、170.6、174.7 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 2 本、127.8、134.8 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、35.6、35.8、42.5、42.8 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 4 本、56.5、56.8 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$ NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系及び AX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼン及び 1,4-置換ベンゼンを持つ構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>37)</sup>と比較したところ、Cpd 34 を 7-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-N2,N3-bis(4-hydroxyphenethyl)-6-methoxy-1,2-dihydronaphthalene-2,3-dicarboxamide であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 647.2363  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{36}H_{36}O_8N_2Na$ : 647.2364)

$[\alpha]_D^{24} = +2.0$  ( $c = 0.2$ , MeOH)

Fig. 39 Structure and physical data of Compound 34

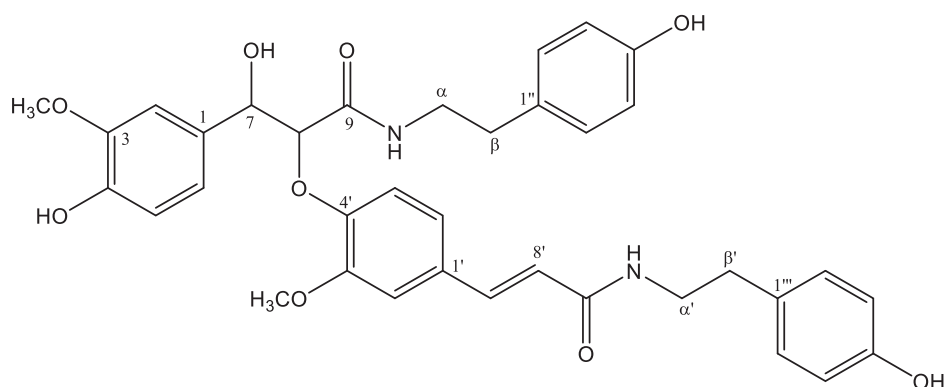
Table 34.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **34** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	125.1	
2	113.4	6.88 (1H, <i>s</i> )
3	148.3	
4	149.8	
5	117.3	6.53 (1H, <i>s</i> )
6	132.8	
7	134.8	7.21 (1H, <i>s</i> )
8	127.8	
9	170.6	
3-OCH <sub>3</sub>	56.8	3.89 (3H, <i>s</i> )
1'	136.1	
2'	112.7	6.70 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
3'	149.0	
4'	146.4	
5'	116.2	6.68 (1H, <i>d</i> , $J= 8.2$ Hz)
6'	121.6	6.42 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.2, 1.9$ Hz)
7'	47.8	4.35 (1H, <i>d</i> , $J= 4.0$ Hz)
8'	51.1	3.69 (1H, <i>d</i> , $J= 4.0$ Hz)
9'	174.7	
3'-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.75 (3H, <i>s</i> )
1''	131.5	
2'', 6''	131.0	6.97 (2H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
3'', 5''	116.4	6.65 (2H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
4''	157.0	
7''	35.8	2.70 (2H, <i>t</i> , $J= 7.3$ Hz)
8''	42.8	3.35 (2H, <i>m</i> )
1'''	131.3	
2''', 6'''	130.9	6.82 (2H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
3''', 5'''	116.4	6.65 (2H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
4'''	156.9	
7'''	35.6	2.48 (2H, <i>t</i> , $J= 6.9$ Hz)
8'''	42.5	3.23 (2H, <i>m</i> )

m: multiplet or overlapped signals

### 第 13 項 既知化合物 Compound 35 の構造決定

Cpd 35 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{36}H_{38}O_9N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.9 から 157.1 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 20 本のピークがあり、121.0、141.3 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、75.2、87.4 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 2 本、35.7、35.9、42.2、42.7 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本、56.5、56.5 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$ NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系及び AX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼン及び 1,4-置換ベンゼンが結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>38)</sup>と比較したところ、Cpd 35 を cannabinin E であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 665.2472  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{36}H_{38}O_9N_2Na$ : 665.2470)

$[\alpha]_D^{24} = -35$  ( $c = 0.17$ , MeOH)

Fig. 40 Structure and physical data of Compound 35

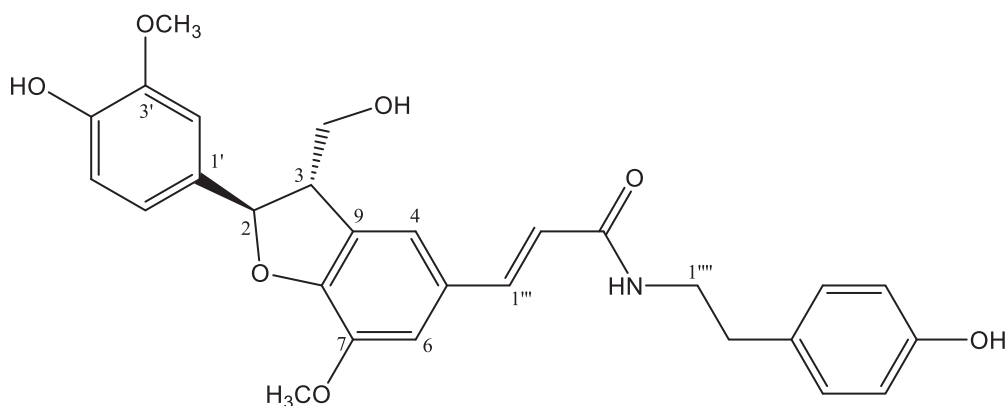
Table 35.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **35** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	133.5	
2	111.9	7.10 (1H, <i>d</i> , $J= 2.0$ Hz)
3	149.1	
4	147.5	
5	116.1	6.77 (1H, <i>d</i> , $J= 8.2$ Hz)
6	120.8	6.90 (1H, <i>m</i> )
7	75.2	5.13 (1H, <i>dd</i> , $J= 6.8, 3.5$ Hz)
8	87.4	4.56 (1H, <i>d</i> , $J= 3.5$ Hz)
9	N.D.	
1'	131.4	
2'	112.4	7.10 (1H, <i>d</i> , $J= 2.0$ Hz)
3'	151.6	
4'	150.4	
5'	118.0	6.39 (1H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
6'	122.5	6.94 (1H, <i>m</i> )
7'	141.3	7.42 (1H, <i>d</i> , $J= 15.7$ Hz)
8'	121.0	6.44 (1H, <i>d</i> , $J= 15.7$ Hz)
9'	N.D.	
$\alpha$	42.2	3.41 (2H, <i>m</i> )
$\alpha'$	42.7	3.45 (2H, <i>m</i> )
$\beta$	35.7	2.60 (2H, <i>m</i> )
$\beta'$	35.9	2.75 (2H, <i>t</i> , $J= 7.3$ Hz)
1''	130.9	
2'', 6''	130.8	7.05 (2H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
3'', 5''	116.4	6.61 (2H, <i>m</i> )
4''	157.1	
1'''	131.1	
2''', 6'''	130.8	6.89 (2H, <i>m</i> )
3''', 5'''	116.4	6.71 (2H, <i>m</i> )
4'''	157.1	
3-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.81 (3H, <i>s</i> )
3'-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.79 (3H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第 14 項 既知化合物 Compound 36 の構造決定

Cpd 36 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{28}H_{29}O_7N$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、110.8 から 157.1 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 16 本のピークがあり、169.2 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、120.0、142.1 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、64.9、89.9 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 2 本、35.9、42.7 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本、56.6、56.9 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系及び AX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼン及び 1,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>39)</sup>と比較したところ、Cpd 36 を gossamide K であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 514.1833  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{28}H_{29}O_7NNa$ : 514.1833)

$[\alpha]_D^{24} = -7.7$  ( $c = 0.13$ , MeOH)

Fig. 41 Structure and physical data of Compound 36

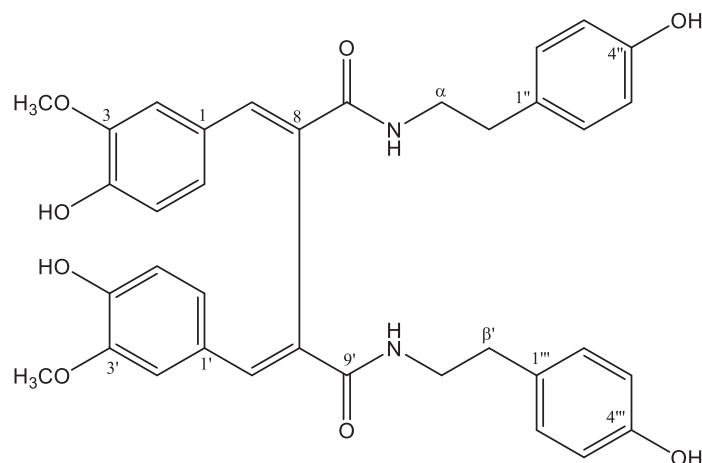
Table 36.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **36** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	89.9	5.56 (1H, <i>d</i> , $J= 6.5$ Hz)
3	55.0	3.53 (1H, <i>d</i> , $J= 6.5$ Hz)
4	118.6	7.13 (1H, <i>s</i> )
5	130.4	
6	113.5	7.07 (1H, <i>d</i> , $J= 1.4$ Hz)
7	145.9	
8	151.5	
9	130.9	
1'	134.4	
2'	110.8	6.93 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
3'	149.3	
4'	147.9	
5'	116.4	6.78 (1H, <i>d</i> , $J= 8.1$ Hz)
6'	120.0	6.83 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.1, 1.9$ Hz)
1''	64.9	3.82 (2H, <i>m</i> )
1'''	142.1	7.47 (1H, <i>d</i> , $J= 15.7$ Hz)
2'''	120.0	6.43 (1H, <i>d</i> , $J= 15.7$ Hz)
1''''	42.7	3.47 (2H, <i>t</i> , $J= 7.2$ Hz)
2''''	35.9	2.75 (2H, <i>t</i> , $J= 7.2$ Hz)
1'''''	130.9	
2''''', 6'''''	130.9	7.05 (2H, <i>d</i> , $J= 8.5$ Hz)
3''''', 5'''''	116.4	6.72 (2H, <i>d</i> , $J= 8.5$ Hz)
4'''''	157.1	
7-OCH <sub>3</sub>	56.9	
3'-OCH <sub>3</sub>	56.6	
C=O	169.2	

m: multiplet or overlapped signals

## 第 15 項 既知化合物 Compound 37 の構造決定

Cpd 37 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{36}H_{36}O_8N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、113.7 から 157.0 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 10 本のピークがあり、168.1 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、128.1、142.3 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、35.6、43.1 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本、56.5 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系及び AX スピン系のシグナルとして観測されたことから、1,3,4-置換ベンゼン及び 1,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>40)</sup>と比較したところ、Cpd 37 を cannabisin G であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 647.2367  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{36}H_{36}O_8N_2Na$ : 647.2369)

Fig. 42 Structure and physical data of Compound 37



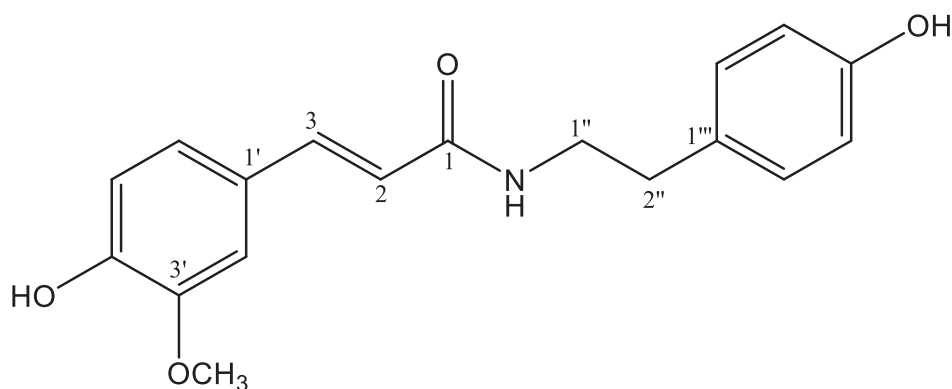
Table 37.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **37** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1, 1'	127.5	
2, 2'	113.7	7.17 (2H, <i>d</i> , $J= 2.0$ Hz)
3, 3'	150.1	
4, 4'	149.2	
5, 5'	116.6	6.78 (2H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
6, 6'	126.5	7.03 (2H, <i>dd</i> , $J= 8.4, 2.0$ Hz)
7, 7'	142.3	7.84 (2H, <i>s</i> )
8, 8'	128.1	
9, 9'	168.1	
$\alpha, \alpha'$	43.1	3.19 (2H, <i>m</i> ) 3.40 (2H, <i>m</i> )
$\beta, \beta'$	35.6	2.37 (2H, <i>dt</i> , $J= 14.1, 7.2$ Hz) 2.45 (2H, <i>dt</i> , $J= 14.1, 7.2$ Hz)
1'', 1'''	131.2	
2'', 2''', 6'', 6'''	130.7	6.81 (4H, <i>d</i> , $J= 8.5$ Hz)
3'', 3''', 5'', 5'''	116.4	6.61 (4H, <i>d</i> , $J= 8.5$ Hz)
4'', 4'''	157.0	
3, 3'-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.74 (6H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第 16 項 既知化合物 Compound 38 の構造決定

Cpd 38 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{18}H_{19}O_4N$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.8 から 157.1 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 12 本のピークがあり、169.3 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、119.1、142.2 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、35.7、42.5 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本、56.6 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$ NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系及び AX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼン及び 1,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>4)</sup>と比較したところ、Cpd 38 を *N-trans-feruloyl tyramine* であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 336.1207  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{18}H_{19}O_4NNa$ : 336.1206)

Fig. 43 Structure and physical data of Compound 38

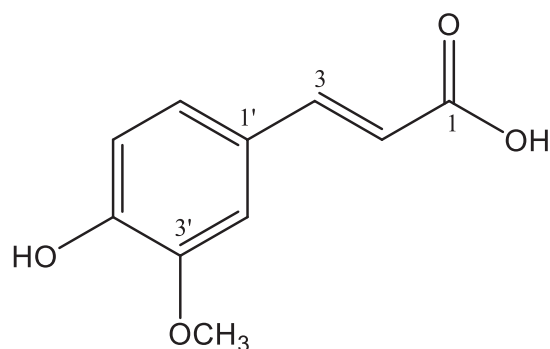
Table 38.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **38** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	169.3	
2	119.1	6.42 (1H, <i>d</i> , $J= 15.4$ Hz)
3	142.2	7.43 (1H, <i>d</i> , $J= 15.4$ Hz)
1'	128.5	
2'	111.8	7.12 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
3'	149.5	
4'	150.0	
5'	116.7	6.79 (1H, <i>d</i> , $J= 8.2$ Hz)
6'	123.3	7.05 (1H, <i>m</i> )
1''	42.5	3.40 (2H, <i>t</i> , $J= 7.7$ Hz)
2''	35.7	2.70 (2H, <i>t</i> , $J= 7.7$ Hz)
1'''	131.4	
2''', 6'''	130.9	7.05 (2H, <i>d</i> , $J= 8.5$ Hz)
3''', 5'''	116.4	6.74 (2H, <i>d</i> , $J= 8.5$ Hz)
4'''	157.1	
3'-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.87 (3H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第 17 項 既知化合物 Compound 39 の構造決定

Cpd 39 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{10}H_{10}O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.9 から 150.6 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、171.3 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、116.6、146.9 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、56.6 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>42,43)</sup>と比較したところ、Cpd 39 を *trans*-ferulic Acid であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 193.0507  $[M+H]^+$

(calcd for  $C_{10}H_9O_4$ : 193.0506)

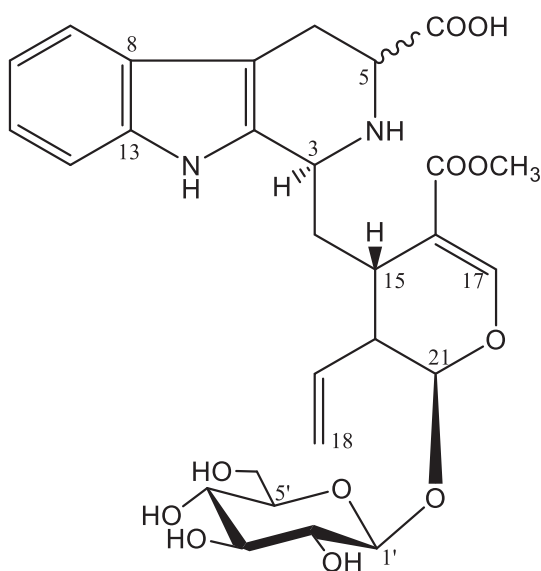
Fig. 44 Structure and physical data of Compound 39

Table 39.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **39** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	171.3	
2	116.6	6.31 (1H, <i>d</i> , $J= 15.9$ Hz)
3	146.9	7.59 (1H, <i>d</i> , $J= 15.9$ Hz)
1'	128.0	
2'	111.9	7.18 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
3'	149.5	
4'	150.6	
5'	116.3	6.81 (1H, <i>d</i> , $J= 8.2$ Hz)
6'	124.1	7.06 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.2, 1.9$ Hz)
3'-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.89 (3H, <i>s</i> )

## 第 18 項 既知化合物 Compound 40 の構造決定

Cpd 40 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{28}H_{34}O_{11}N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、63.3 から 100.6 ppm にグルコースと考えられる 6 本のピークがあり、172.0、173.6 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 2 本、108.5、108.8、120.8、130.7、135.4、157.4 ppm の二重結合に由来するシグナルが 6 本、24.2、34.8 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本、53.0 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>44)</sup>と比較したところ、Cpd 40 を 5(S)-5-carboxystrictosidine であると決定した。



Pale yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 575.2239  $[M+H]^+$

(calcd for  $C_{28}H_{35}O_{11}N_2$ : 575.2235)

$[\alpha]_D^{24} = -47.5$  ( $c = 0.16$ ,  $CHCl_3$ )

Fig. 45 Structure and physical data of Compound 40

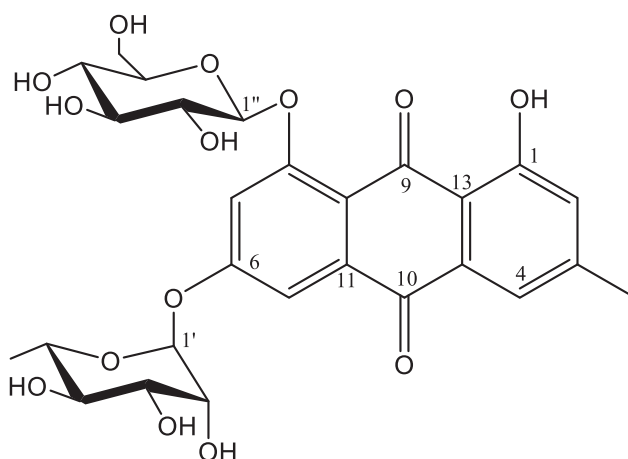
Table 40.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **40** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	130.7	
3	53.2	4.67 (1H, <i>d</i> , $J= 12.3$ Hz)
5	59.7	3.96 (1H, <i>dd</i> , $J= 12.1, 5.1$ Hz)
6	24.2	3.04 (1H, <i>m</i> ) 3.46 (1H, <i>m</i> )
7	108.5	
8	127.7	
9	119.3	7.49 (1H, <i>d</i> , $J= 7.9$ Hz)
10	120.8	7.05 (1H, <i>m</i> )
11	123.6	7.13 (1H, <i>m</i> )
12	112.4	7.31 (1H, <i>d</i> , $J= 8.1$ Hz)
13	138.7	
14	34.8	2.24 (1H, <i>m</i> ) 2.44 (1H, <i>m</i> )
15	32.9	3.09 (1H, <i>m</i> )
16	108.8	
17	157.4	7.83 (1H, <i>s</i> )
18	120.8	5.27 (1H, <i>d</i> , $J= 10.7$ Hz) 5.38 (1H, <i>d</i> , $J= 17.4$ Hz)
19	135.4	5.85 (1H, <i>ddd</i> , $J= 17.4, 10.7, 7.5$ Hz)
20	45.5	2.79 (1H, <i>m</i> )
21	97.5	5.92 (1H, <i>d</i> , $J= 9.2$ Hz)
5-COOH	173.6	
16-COO-	172.0	
OCH <sub>3</sub>	53.0	3.80 (3H, <i>s</i> )
1'	100.6	4.82 (1H, <i>d</i> , $J= 7.9$ Hz)
2'	74.8	3.24 (1H, <i>m</i> )
3'	78.1	3.43 (1H, <i>m</i> )
4'	71.9	3.26 (1H, <i>m</i> )
5'	79.0	3.31 (1H, <i>m</i> )
6'	63.3	3.57 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.7, 7.2$ Hz) 4.02 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.7, 1.9$ Hz)

m: .multiplet or overlapped signals

## 第 19 項 既知化合物 Compound 41 の構造決定

Cpd 41 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{27}H_{30}O_{14}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、18.3 と 62.6 から 104.1 ppm にグルコース及びラムノースと考えられる 12 本のピークがあり、110.8 から 163.9 ppm の芳香環に由来するシグナルが 12 本、183.4、188.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 2 本、22.1 ppm のメチル基に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>45)</sup>と比較したところ、Cpd 41 を glucofragulin A であると決定した。



Yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 601.1531  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{27}H_{30}O_{14}Na$ : 601.1528)

Fig. 46 Structure and physical data of Compound 41



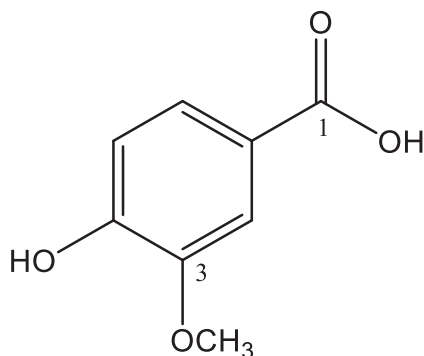
Table 41.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **41** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	163.9	
2	125.6	7.08 (1H, <i>brs</i> )
3	149.3	
4	121.2	7.51 (1H, <i>brs</i> )
5	110.8	7.41 (1H, <i>d</i> , $J= 2.4$ Hz)
6	163.3	
7	112.2	7.61 (1H, <i>d</i> , $J= 2.4$ Hz)
8	162.2	
9	188.9	
10	183.4	
11	138.3	
12	117.8	
13	116.1	
14	133.9	
3- $\text{CH}_3$	22.1	2.42 (3H, <i>s</i> )
Rha-1	100.1	5.67 (1H, <i>d</i> , $J= 1.5$ Hz)
2	71.7	4.07 (1H, <i>m</i> )
3	72.2	3.86 (1H, <i>dd</i> , $J= 9.1, 3.4$ Hz)
4	73.7	3.48 (1H, <i>m</i> )
5	71.6	3.57 (1H, <i>m</i> )
6	18.3	1.26 (1H, <i>d</i> , $J= 6.1$ Hz)
Glu-1	104.1	5.01 (1H, <i>d</i> , $J= 7.7$ Hz)
2	74.9	3.68 (1H, <i>t</i> , $J= 8.4$ Hz)
3	77.7	3.54 (1H, <i>m</i> )
4	71.3	3.45 (1H, <i>m</i> )
5	78.9	3.50 (1H, <i>m</i> )
6	62.6	3.96 (1H, <i>dd</i> , $J= 12.1, 1.7$ Hz)
		3.75 (1H, <i>dd</i> , $J= 12.1, 5.7$ Hz)

m: multiplet or overlapped signals

## 第 20 項 既知化合物 Compound 42 の構造決定

Cpd 42 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_8H_8O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、116.0 から 152.8 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、170.5 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、56.6 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンをもつ構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>46)</sup>と比較したところ、Cpd 42 を vanillic acid であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 167.0352  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_8H_7O_4$ : 167.0350)

Fig. 47 Structure and physical data of Compound 42

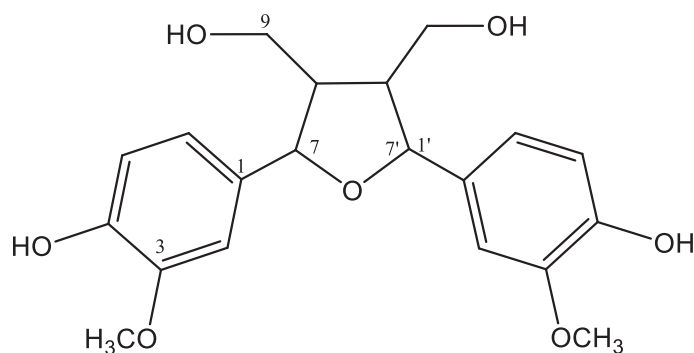
Table 42.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **42** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	125.4	
2	114.0	7.54-7.57 (1H, <i>m</i> )
3	152.8	
4	148.8	
5	116.0	6.84 (1H, <i>d</i> , $J= 8.7$ Hz)
6	123.4	7.54-7.57 (1H, <i>m</i> )
1-COOH	170.5	
3-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.89 (3H, <i>s</i> )

*m*: multiplet or overlapped signals

## 第 21 項 既知化合物 Compound 43 の構造決定

Cpd 43 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{20}H_{24}O_7$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.6 から 149.3 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 12 本のピークがあり、63.5、64.1、83.2、84.3 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 4 本、56.7、56.7 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>47)</sup>と比較したところ、Cpd 43 を neo-olivil (a racemic mixture) であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 399.1415  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{20}H_{24}O_7Na$ : 399.1414)

$[\alpha]_D^{24} = 0.0$  ( $c = 0.08$ , MeOH)

Fig. 48 Structure and physical data of Compound 43

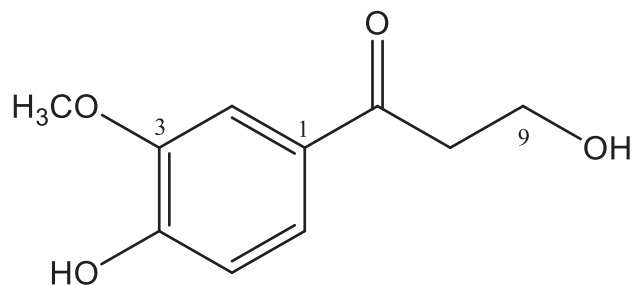
Table 43.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **43** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	132.0	
2	111.6	6.98 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
3	149.0	
4	147.2	
5	116.3	6.79 (1H, <i>d</i> , $J= 8.1$ Hz)
6	120.5	6.85 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.1, 1.8$ Hz)
7	83.2	5.11 (1H, <i>d</i> , $J= 8.1$ Hz)
8	51.0	2.57 (1H, <i>m</i> )
9	64.1	3.23 (1H, <i>m</i> ) 3.17 (1H, <i>m</i> )
1'	134.0	
2'	111.8	7.12 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
3'	149.3	
4'	147.6	
5'	116.1	6.83 (1H, <i>d</i> , $J= 8.1$ Hz)
6'	120.8	6.97 (1H, <i>m</i> )
7'	84.3	4.66 (1H, <i>d</i> , $J= 8.7$ Hz)
8'	55.7	2.28 (1H, <i>m</i> )
9'	63.5	3.72 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.0, 4.4$ Hz) 3.65 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.0, 6.8$ Hz)
3-OCH <sub>3</sub>	56.7	3.86 (3H, <i>s</i> )
3'-OCH <sub>3</sub>	56.7	3.89 (3H, <i>s</i> )

m: multiplet or overlapped signals

## 第 22 項 既知化合物 Compound 44 の構造決定

Cpd 44 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{10}H_{12}O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、112.1 から 153.6 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、199.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、41.8、59.1 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本、56.6 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>48)</sup>と比較したところ、Cpd 44 を 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propan-1-one であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 219.0626  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{10}H_{12}O_4Na$ : 219.0628)

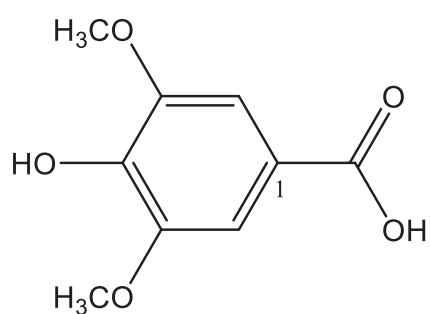
Fig. 49 Structure and physical data of Compound 44

Table 44.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **44** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	130.8	
2	112.1	7.55 (1H, <i>d</i> , $J= 2.0$ Hz)
3	149.3	
4	153.6	
5	116.0	6.87 (1H, <i>d</i> , $J= 8.3$ Hz)
6	124.9	7.58 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.3, 2.0$ Hz)
7	199.9	
8	41.8	3.16 (2H, <i>t</i> , $J= 6.2$ Hz)
9	59.1	3.94 (2H, <i>t</i> , $J= 6.2$ Hz)
3-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.91 (3H, <i>s</i> )

## 第 23 項 既知化合物 Compound 45 の構造決定

Cpd 45 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_9H_{10}O_5$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、108.5 から 149.0 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 4 本のピークがあり、170.4 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、56.6 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>49)</sup>と比較したところ、Cpd 45 を syringic acid であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 197.0456  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_9H_9O_5$ : 197.0455)

Fig. 50 Structure and physical data of Compound 45

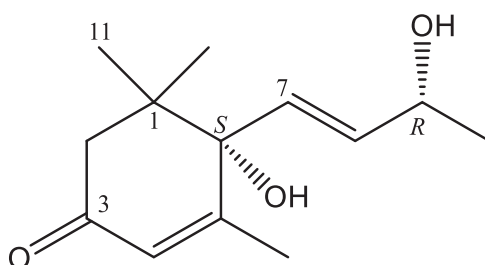


Table 45.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **45** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	122.5	
2, 6	108.5	7.33 (2H, <i>s</i> )
4	149.0	
3, 5	141.8	
1-COOH	170.4	
3, 5-OCH <sub>3</sub>	56.9	3.88 (6H, <i>s</i> )

## 第 24 項 既知化合物 Compound 46 の構造決定

Cpd 46 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{13}H_{20}O_3$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、201.4 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルを 1 本、127.3、130.3、137.1、167.6 ppm の二重結合に由来するシグナルが 4 本、68.9、80.1 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素が 2 本、50.9 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 1 本、19.7、23.6、24.0、24.6 ppm のメチル基に由来するシグナルが 4 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>50)</sup>と比較したところ、Cpd 46 を (6*S*,9*R*)-vomifoliol であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 247.1305  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{13}H_{20}O_3Na$ : 247.1305)

$[\alpha]_D^{24} = +54.6$  ( $c = 0.3$ , MeOH)

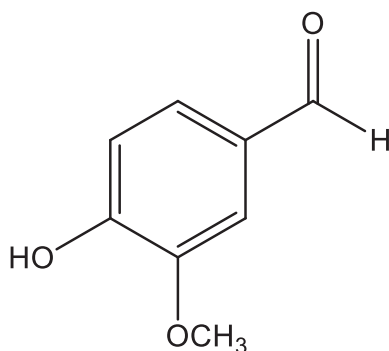
Fig. 51 Structure and physical data of Compound 46

Table 46.  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **46** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	42.6	
2	50.9	2.16 (1H, <i>d</i> , $J= 16.9$ Hz) 2.48 (1H, <i>d</i> , $J= 16.9$ Hz)
3	201.4	
4	127.3	5.88 (1H, <i>brs</i> )
5	167.6	
6	80.1	
7	130.3	5.78 (1H, <i>d</i> , $J= 16.9$ Hz)
8	137.1	5.81 (1H, <i>dd</i> , $J= 16.9, 6.0$ Hz)
9	68.9	4.57 (1H, <i>brs</i> )
10	19.7	1.24 (3H, <i>d</i> , $J= 6.4$ Hz)
11	24.6	1.02 (3H, <i>s</i> )
12	24.0	1.04 (3H, <i>s</i> )
13	23.6	1.92 (3H, <i>d</i> , $J= 1.1$ Hz)

## 第 25 項 既知化合物 Compound 47 の構造決定

Cpd 47 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_8H_8O_3$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.5 から 155.0 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、193.0 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、56.6 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>51)</sup>と比較したところ、Cpd 47 を vanillin であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 151.0404  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_8H_7O_3$ : 151.0401)

Fig. 52 Structure and physical data of Compound 47

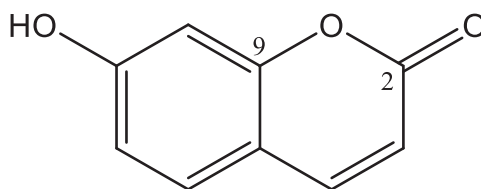
Table 47.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **47** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	130.8	
2	111.5	7.45 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
3	149.9	
4	155.0	
5	116.5	6.95 (1H, <i>d</i> , $J= 7.9$ Hz)
6	128.1	7.44 (1H, <i>dd</i> , $J= 7.9, 1.8$ Hz)
1-CHO	193.0	9.75 (1H, <i>s</i> )
3-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.92 (3H, <i>s</i> )

## 第 26 項 既知化合物 Compound 48 の構造決定

---

Cpd 48 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_9H_6O_3$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、103.6 から 163.3 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、163.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、114.7、146.2 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>52)</sup>と比較したところ、Cpd 48 を umbelliferone であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 185.0208  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_9H_6O_3Na$ : 185.0209)

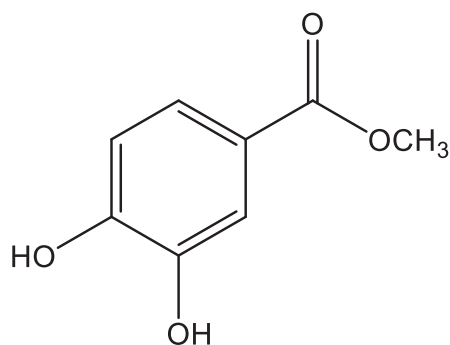
Fig. 53 Structure and physical data of Compound 48

Table 48.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **48** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	163.9	
3	114.7	6.18 (1H, <i>d</i> , $J=9.4$ Hz)
4	146.2	7.85 (1H, <i>d</i> , $J=9.4$ Hz)
5	130.8	7.45 (1H, <i>d</i> , $J=8.5$ Hz)
6	112.5	6.79 (1H, <i>dd</i> , $J=8.5, 2.3$ Hz)
7	163.3	
8	103.6	6.71 (1H, <i>d</i> , $J=2.3$ Hz)
9	157.4	
10	113.3	

## 第 27 項 既知化合物 Compound 49 の構造決定

Cpd 49 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_8H_8O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、116.0 から 151.9 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、169.0 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、52.4 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>53)</sup>と比較したところ、Cpd 49 を methyl protocatechuate であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 167.0350  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_8H_7O_4$ : 167.0350)

Fig. 54 Structure and physical data of Compound 49



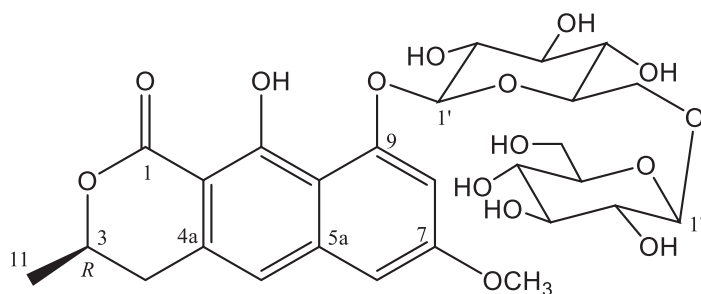
Table 49.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **49** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	122.8	
2	117.6	7.42 (1H, <i>brs</i> )
3	146.3	
4	151.9	
5	116.0	6.80 (1H, <i>d</i> , $J= 8.0$ Hz)
6	123.8	7.41 (1H, <i>m</i> )
7	169.0	
7-OCH <sub>3</sub>	52.4	3.83 (3H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

## 第 28 項 既知化合物 Compound 50 の構造決定

Cpd 50 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{27}H_{34}O_{15}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、62.9 から 105.2 ppm にグルコースと考えられる 12 本のピークがあり、102.7 から 163.3 ppm の芳香環に由来するシグナルが 10 本、172.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、21.1 ppm のメチル基に由来するシグナルが 1 本、56.3 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本、36.0 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、2 つのグルコースが結合している構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>54)</sup>と比較したところ、Cpd 50 を 3,4-dihydro-10-hydroxy-7-methoxy-3-(*R*)-methyl-1H-3,4-dihydronaphtho-[2,3c]-pyran-1-one-9-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 → 6)-glucopyranoside であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 621.1789  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{27}H_{34}O_{15}Na$ : 621.1790)

Fig. 55 Structure and physical data of Compound 50

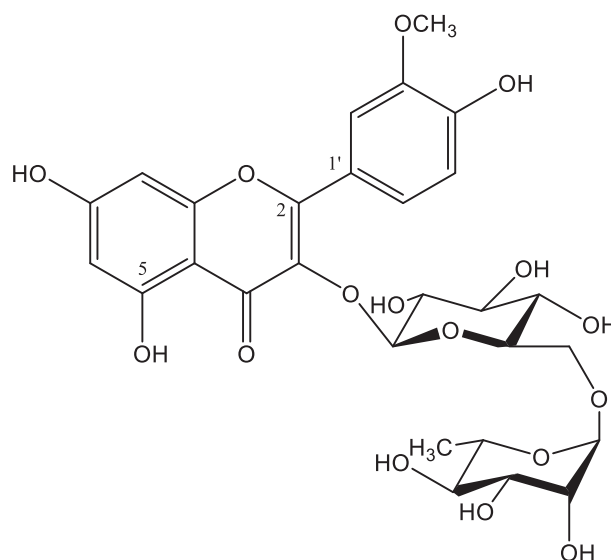
Table 50.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **50** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	172.9	
3	77.8	4.76 (1H, <i>m</i> )
4	36.0	
5	117.2	7.03 (1H, <i>s</i> )
6	102.7	6.87 (1H, <i>d</i> , $J= 2.3$ Hz)
7	163.3	
8	105.4	7.03 (1H, <i>d</i> , $J= 2.3$ Hz)
9	159.5	
10	163.3	
11	21.1	1.51 (3H, <i>d</i> , $J= 6.3$ Hz)
4a	136.2	
5a	142.0	
9a	112.0	
10a	102.7	
7-OCH <sub>3</sub>	56.3	3.93 (3H, <i>s</i> )
Glu-1'	104.0	5.01 (1H, <i>d</i> , $J= 7.7$ Hz)
2'	75.3	3.64 (1H, <i>m</i> )
3'	77.7	3.50 (1H, <i>t</i> , $J= 9.1$ Hz)
4'	71.8	3.45 (1H, <i>m</i> )
5'	77.6	3.79 (1H, <i>m</i> )
6'	70.6	3.86 (1H, <i>m</i> )
		4.19 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.6, 2.0$ Hz)
Glu-1''	105.2	4.37 (1H, <i>d</i> , $J= 7.7$ Hz)
2''	75.3	3.25 (1H, <i>m</i> )
3''	78.1	3.33 (1H, <i>m</i> )
4''	71.8	3.30 (1H, <i>m</i> )
5''	78.2	3.23 (1H, <i>m</i> )
6''	62.9	3.64 (1H, <i>m</i> )
		3.85 (1H, <i>m</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

## 第 29 項 既知化合物 Compound 51 の構造決定

Cpd 51 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{28}H_{32}O_{16}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、18.0 と 68.7-104.6 ppm にグルコース及びラムノースと考えられる 12 本のピークがあり、95.1 から 166.2 ppm の芳香環に由来するシグナルが 12 本、179.5 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、135.6、159.0 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$ NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合したフラボノイドであると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>55)</sup>と比較したところ、Cpd 51 を narcissin であると決定した。



Yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 647.1581  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{28}H_{32}O_{16}Na$ : 647.1583)

Fig. 56 Structure and physical data of Compound 51

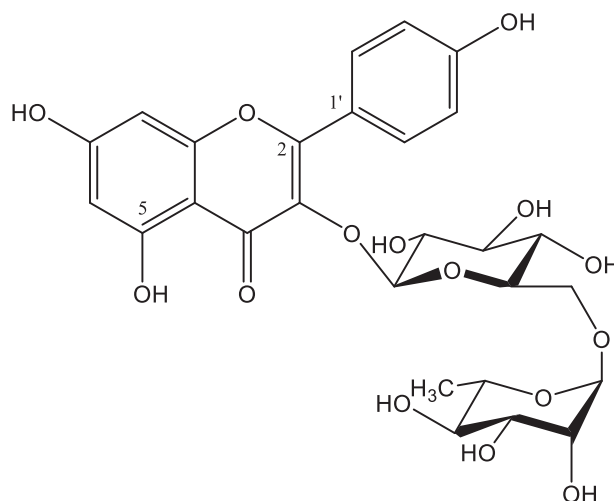
Table 51.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **51** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	159.0	
3	135.6	
4	179.5	
5	163.1	
6	100.1	6.20 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
7	166.2	
8	95.1	6.39 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
9	158.6	
10	105.8	
1'	124.2	
2'	114.7	7.94 (1H, <i>d</i> , $J= 1.9$ Hz)
3'	148.4	
4'	151.0	
5'	116.3	6.91 (1H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
6'	124.2	7.62 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.4, 1.9$ Hz)
3'-OCH <sub>3</sub>	56.9	3.95 (3H, <i>s</i> )
Glu-1	104.6	5.23 (1H, <i>d</i> , $J= 7.3$ Hz)
2	76.1	} 3.27-3.50 (5H, <i>m</i> )
3	77.5	
4	71.8	
5	78.3	
6	68.7	
		3.82 (1H, <i>dd</i> , $J= 1.2, 11.1$ Hz)
Rha-1	102.7	4.53 (1H, <i>d</i> , $J= 1.1$ Hz)
2	72.2	} 3.27-3.50 (4H, <i>m</i> )
3	72.4	
4	74.0	
5	69.9	
6	18.0	

m: .multiplet or overlapped signals

### 第30項 既知化合物 Compound 52 の構造決定

Cpd 52 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{27}H_{30}O_{15}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、18.0 と 68.7-104.7 ppm にグルコース及びラムノースと考えられる 12 本のピークがあり、95.1 から 166.2 ppm の芳香環に由来するシグナルが 10 本、179.6 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、135.6、161.6 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が AX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,4-置換ベンゼンを結合したフラボノイドであると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>56)</sup>と比較したところ、Cpd 52 を kaempferol 3- $\beta$ -rutinoside であると決定した。



Yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 617.1476  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{27}H_{30}O_{15}Na$ : 617.1477)

Fig. 57 Structure and physical data of Compound 52

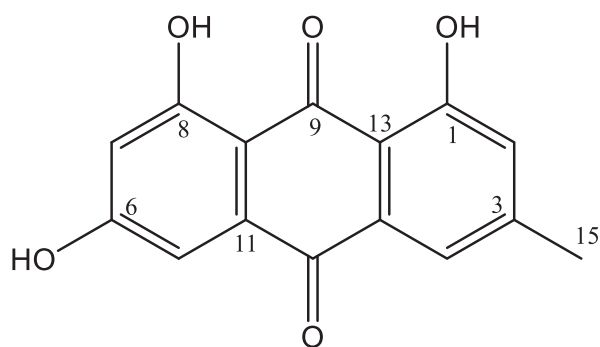
Table 52.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **52** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	161.6	
3	135.6	
4	179.6	
5	163.2	
6	100.1	6.22 (1H, <i>d</i> , $J= 2.0$ Hz)
7	166.2	
8	95.1	6.41 (1H, <i>d</i> , $J= 2.0$ Hz)
9	158.7	
10	105.8	
1'	122.9	
2'	132.5	8.07 (1H, <i>d</i> , $J= 8.9$ Hz)
3'	116.3	6.90 (1H, <i>d</i> , $J= 8.9$ Hz)
4'	159.6	
5'	116.3	6.90 (1H, <i>d</i> , $J= 8.9$ Hz)
6'	132.5	8.07 (1H, <i>d</i> , $J= 8.9$ Hz)
Glu-1	104.7	5.13 (1H, <i>d</i> , $J= 7.3$ Hz)
2	75.9	3.43 (1H, <i>m</i> )
3	78.3	3.42 (1H, <i>m</i> )
4	71.6	3.24 (1H, <i>m</i> )
5	77.4	3.33 (1H, <i>m</i> )
6	68.7	3.81 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.0, 1.4$ Hz) 3.38 (1H, <i>m</i> )
Rha-1	102.6	4.52 (1H, <i>brs</i> )
2	72.3	3.63 (1H, <i>m</i> )
3	72.5	3.52 (1H, <i>dd</i> , $J= 9.5, 3.4$ Hz)
4	74.1	3.27 (1H, <i>m</i> )
5	69.9	3.44 (1H, <i>m</i> )
6	18.0	1.12 (3H, <i>d</i> , $J= 6.2$ Hz)

m: .multiplet or overlapped signals

### 第 31 項 既知化合物 Compound 53 の構造決定

Cpd 53 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{15}H_{10}O_5$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、109.2 から 166.7 ppm の芳香環に由来するシグナルが 12 本、183.3、192.0 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 2 本、22.2 ppm のメチル基に由来するシグナルが 1 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>57)</sup>と比較したところ、Cpd 53 を emodin であると決定した。



Yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 269.0457  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_{15}H_9O_5$ : 269.0455)

Fig. 58 Structure and physical data of Compound 53



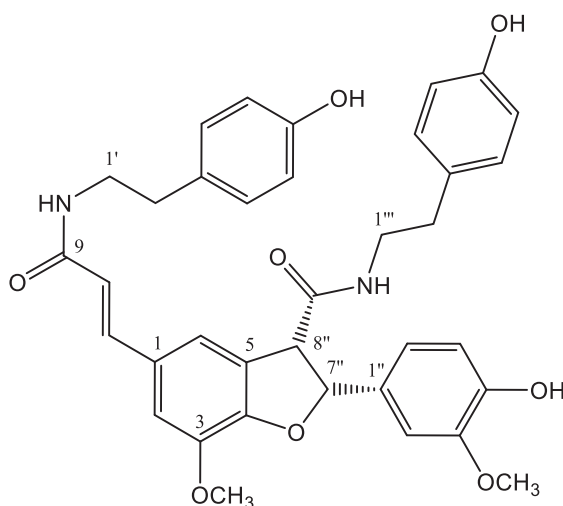
Table 53.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **53** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	163.7	
2	125.4	7.08 (1H, <i>brs</i> )
3	149.8	
4	121.9	7.55 (1H, <i>brs</i> )
5	110.2	7.17 (1H, <i>d</i> , $J= 2.3$ Hz)
6	167.3	
7	109.2	6.56 (1H, <i>d</i> , $J= 2.3$ Hz)
8	166.7	
9	192.0	
10	183.3	
11	137.0	
12	110.7	
13	115.0	
14	134.8	
15	22.2	2.43 (3H, <i>brs</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

## 第 32 項 既知化合物 Compound 54 の構造決定

Cpd 54 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{36}H_{36}O_8N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、110.7 から 157.1 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 20 本のピークがあり、169.2、173.1 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 2 本、120.2、141.9 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、90.1 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 1 本、35.5、35.9、42.4、42.7 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 4 本、56.6、57.1 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系及び AX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼン及び 1,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>58)</sup>と比較したところ、Cpd 54 を tribulusamide A であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (negative)

$m/z$ : 623.2396  $[M-H]^-$

(calcd for  $C_{36}H_{35}O_8N_2$ : 623.2399)

$[\alpha]_D^{24} = -2.0$  ( $c = 0.2$ , MeOH)

Fig. 59 Structure and physical data of Compound 54

Table 54.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **54** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	130.6	
2	113.4	7.11 (1H, <i>s</i> )
3	146.2	
4	151.4	
5	129.6	
6	118.3	6.75 (1H, <i>s</i> )
7	141.9	7.43 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
8	120.2	6.39 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
9	169.2	
3-OCH <sub>3</sub>	57.1	3.89 (3H, <i>s</i> )
1'	42.7	3.47 (2H, <i>s</i> )
2'	35.9	2.75 (2H, <i>m</i> )
3'	131.5	
4', 8'	131.0	7.04 (2H, <i>m</i> )
5', 7'	116.6	6.77-7.09 (2H, <i>m</i> )
6'	157.1	
1''	132.8	
2''	110.7	6.77-7.09 (1H, <i>m</i> )
3''	148.3	
4''	149.4	
5''	116.5	6.77-7.09 (1H, <i>m</i> )
6''	119.6	
7''	90.1	5.89 (1H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
8''	58.9	4.15 (1H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
9''	173.1	
3''-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.82 (3H, <i>s</i> )
1'''	42.4	3.33 (1H, <i>m</i> )
2'''	35.5	2.65 (2H, <i>m</i> )
3'''	131.2	
4''', 8'''	130.9	6.77-7.09 (2H, <i>m</i> )
5''', 7'''	116.4	
6'''	157.0	

m: .multiplet or overlapped signals

---

---

## 第4章 ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* の成分研究

---

---

### 第1節 ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* について

学名 : *Heliciopsis terminalis*

和名 : なし(タイではムアトコンと呼ばれている。)

科名 : Proteaceae (ヤマモガシ科)

属名 : *Heliciopsis*

特徴 : 木本で高さは8-10 m。単葉の長さは14-23 cm、幅4-8 cmの倒卵型で葉柄は1-2 cm。果実は核果で、種子は1-2個。花期は5-6月。原産地・分布はインド・東南アジアなど。<sup>59)</sup>

中国では腎臓の病気に使用される。

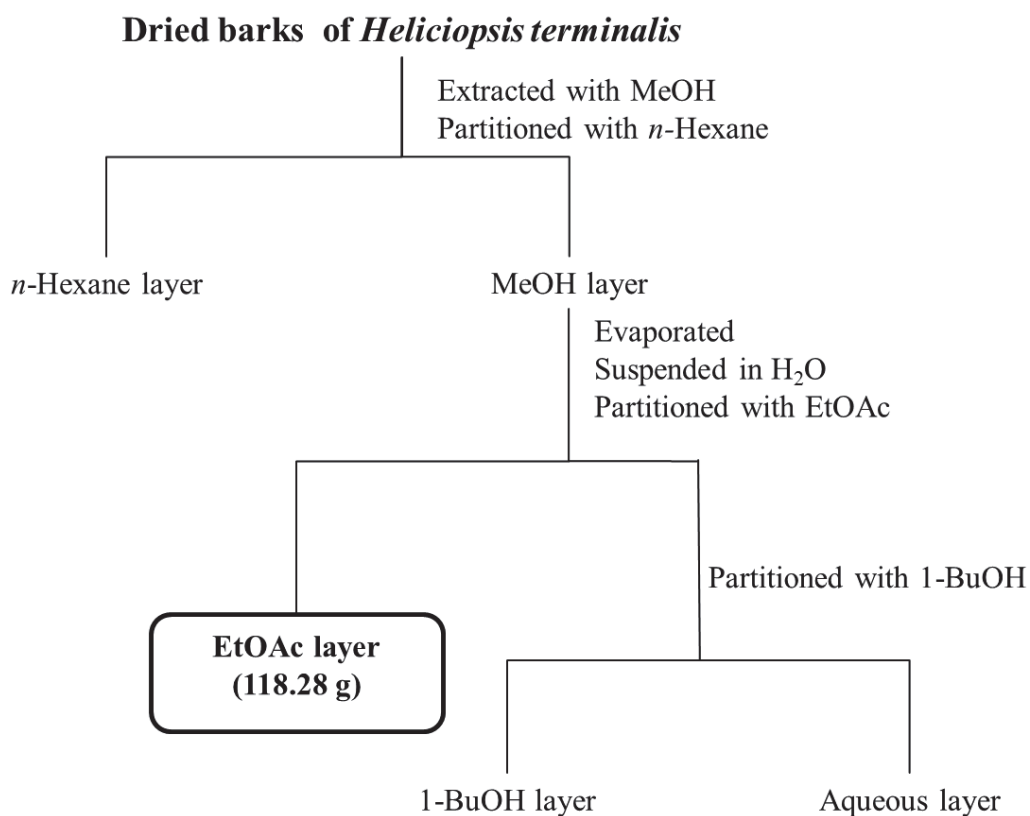


[http://tplant.web.fc2.com/3yamamo\\_heliciopsis.html](http://tplant.web.fc2.com/3yamamo_heliciopsis.html)

## 第2節 抽出、分離および精製

ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* 本植物の樹皮をメタノールで抽出し、常法に従い、*n*-ヘキサン、酢酸エチル、1-BuOH、水で順次分配した。

ベトナム産植物 *H. terminalis* の樹皮の酢酸エチル可溶画分 (118.28 g) を、シリカゲルクロマトグラフィー、ODS カラムクロマトグラフィー、及び ODS-HPLC を用いて分離、精製し、15種の化合物を単離した。その内 compound **55**、**56**、**57** は新規化合物と判明した。(Chart 4)



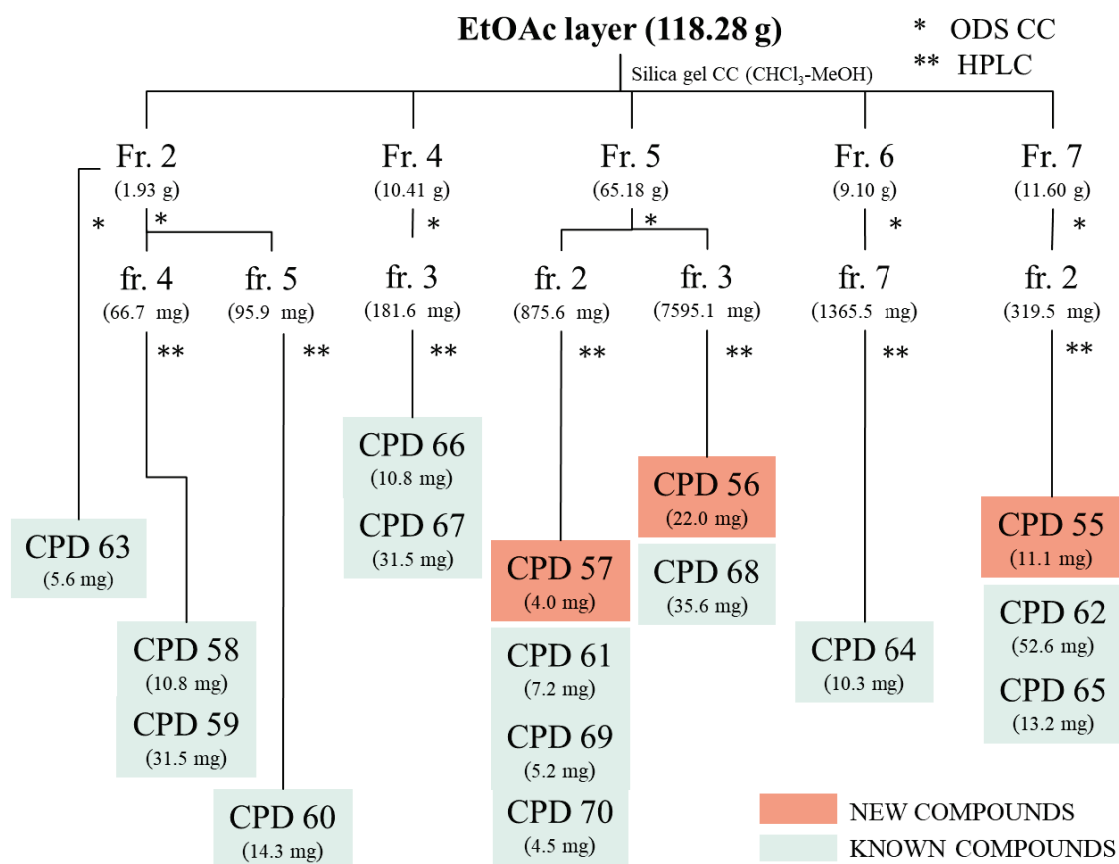


Chart 4: Isolated compounds from the bark of *H. terminalis*

### 第3節 新規化合物について

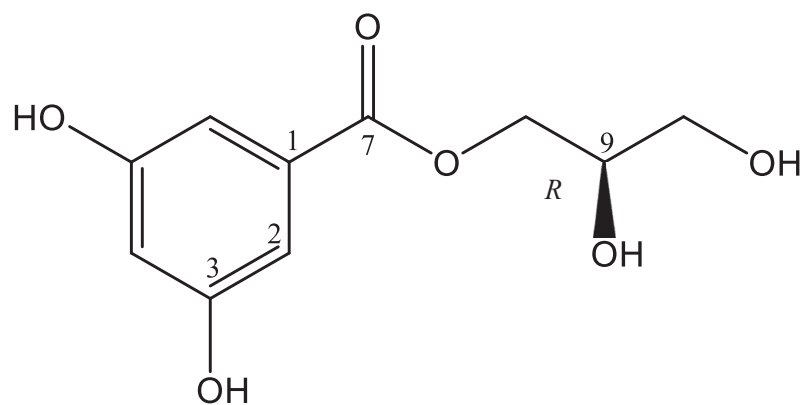
#### 第1項 新規化合物 Compound 55 の構造決定

---

Cpd 55 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{10}H_{12}O_6$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、炭素総数 10 個のうち、108.5 から 159.9 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 4 本のピーク、168.3 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、64.3、71.4 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素が 2 本、また、67.1 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本観測された。そして、 $^1H$  NMR において、ベンゼン環 proton のカップリングパターンから、1,3,5-置換ベンゼンを有する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 (HSQC, HMBC, COSY) を測定したところ、各部分構造を支持する相関が得られた。さらに部分構造の結合位置に関する相関が観測され、9 位、10 位にヒドロキシ基が結合していることが確認された。また、8 位から 7 位カルボニル炭素への相関からエステル結合の位置が明らかになった。一方、芳香環部分の置換様式が異なる類似化合物ではいずれも 9*R* 配置が負の旋光性、9*S* 配置が正の旋光性を示すため、旋光度を測定した結果、負の旋光性を示したことから 9 位の立体配置は *R* と決定した。

以上より、Compound 55 を Fig. 60 に示す構造であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 251.0526  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{10}H_{12}O_6Na$ : 251.0526)

$[\alpha]_D^{20} = -21.5$  ( $c = 0.13$ , MeOH)

IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3360, 2946, 1702, 1600, 1457, 1348, 1239, 1165, 1110, 1056, 1008

UV  $\lambda_{max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ): 200 (4.36), 218 (4.05), 252 (3.42), 307 (2.74)

Fig. 60 Structure and physical data of Compound 55



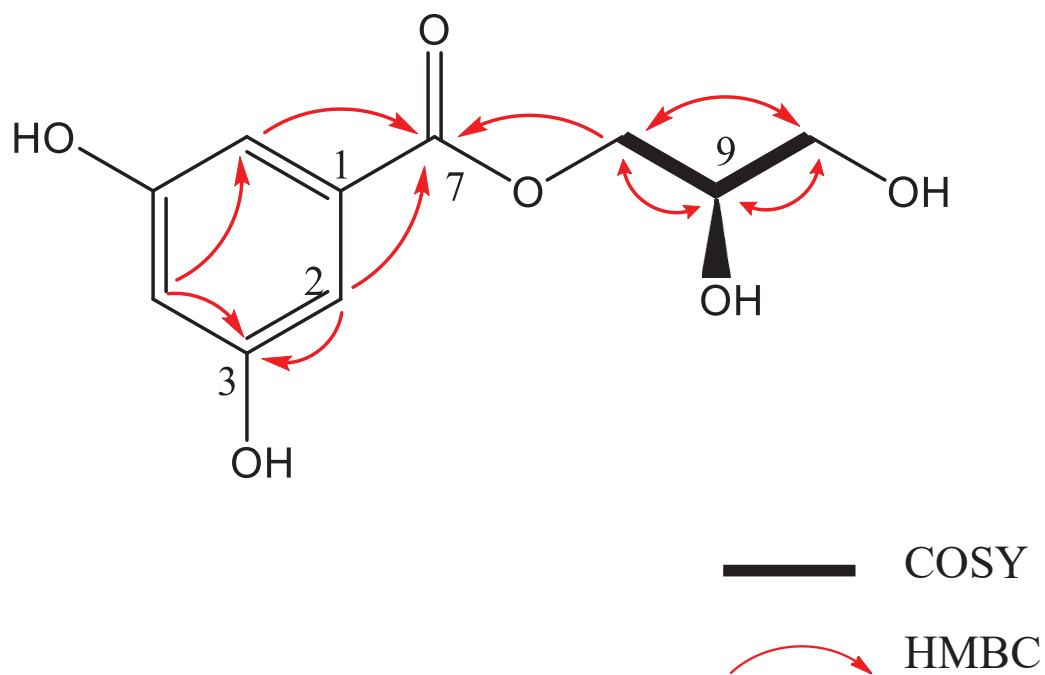


Fig. 61 COSY and HMBC correlations of Compound **55**

Table 55.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **55** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	133.2	
2, 6	109.1	6.97 (1H, <i>d</i> , $J= 2.4$ Hz)
3, 5	159.9	
4	108.5	6.48 (1H, <i>d</i> , $J= 2.4$ Hz)
7	168.3	
8	67.1	4.34 (1H, <i>dd</i> , $J= 4.5, 11.3$ Hz) 4.27 (1H, <i>dd</i> , $J= 6.2, 11.3$ Hz)
9	71.4	3.95 (1H, <i>m</i> )
10	64.3	3.65 (2H, <i>dq</i> , $J= 5.6, 11.3$ Hz)

m: .multiplet or overlapped signals

## 第2項 新規化合物 Compound 56 の構造決定

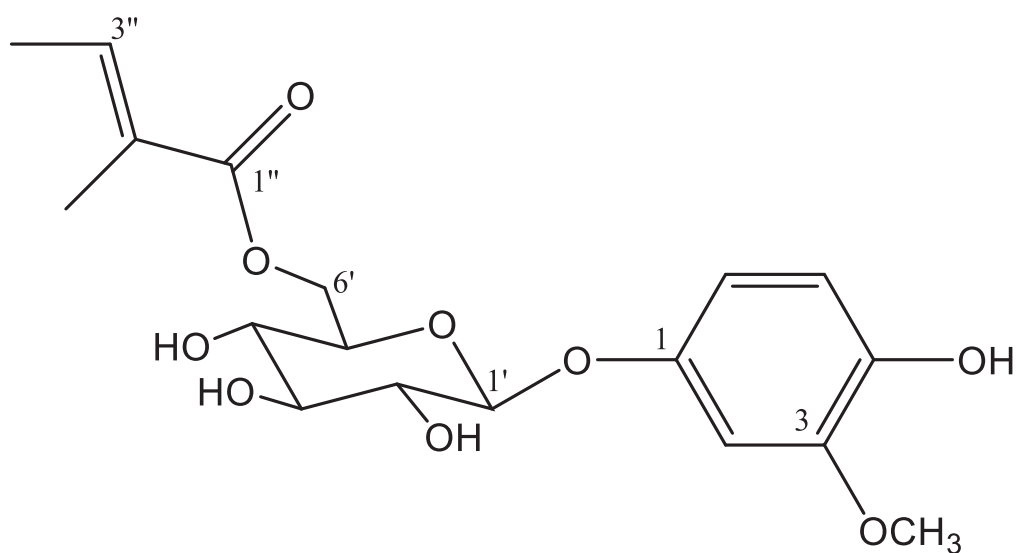
---

Cpd 56 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{18}H_{24}O_9$  であると決定した。Cpd 56 には NMR スペクトルより糖部が結合していることが想定されたため、1M HCl で加水分解を行い、遊離した糖について旋光度検出器付き HPLC を用いて糖分析を行ったところ、Cpd 56 には D-glucose が含まれることが示された。このことは、 $^{13}C$  NMR において炭素総数 18 個のうち、65.0 から 104.1 ppm の glucose に由来する 6 本のシグナルが観測されたことと一致した。

その他にも  $^{13}C$  NMR において、102.0 から 155.0 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 6 本のピークがあり、169.5 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、129.6、139.2 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、12.2、14.6 ppm のメチル基に由来するシグナルが 2 本、56.7 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピン系のシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合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 (HSQC, HMBC, COSY) を測定したところ、各部分構造を支持する相関が得られた。アシル基については 2D NMR 相関やケミカルシフトの値なども考慮することでチグリン酸であることが判明した。また、結合位置に関しては 1 位と 1'位、6'位と 1''位にそれぞれ相関が観測されたことより glucose と芳香環とカルボニル炭素の結合位置が明らかになった。

以上より、Compound 56 を Fig. 62 に示す構造であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 407.1305  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{18}H_{24}O_9Na$ : 407.1313)

IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3360, 2932, 2830, 1695, 1640, 1593, 1511, 1450, 1266, 1205, 1123, 1069, 1022

UV  $\lambda_{max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ): 204 (4.36), 218 (4.15), 230 (3.96), 282 (3.38)

Fig. 62 Structure and physical data of Compound **56**

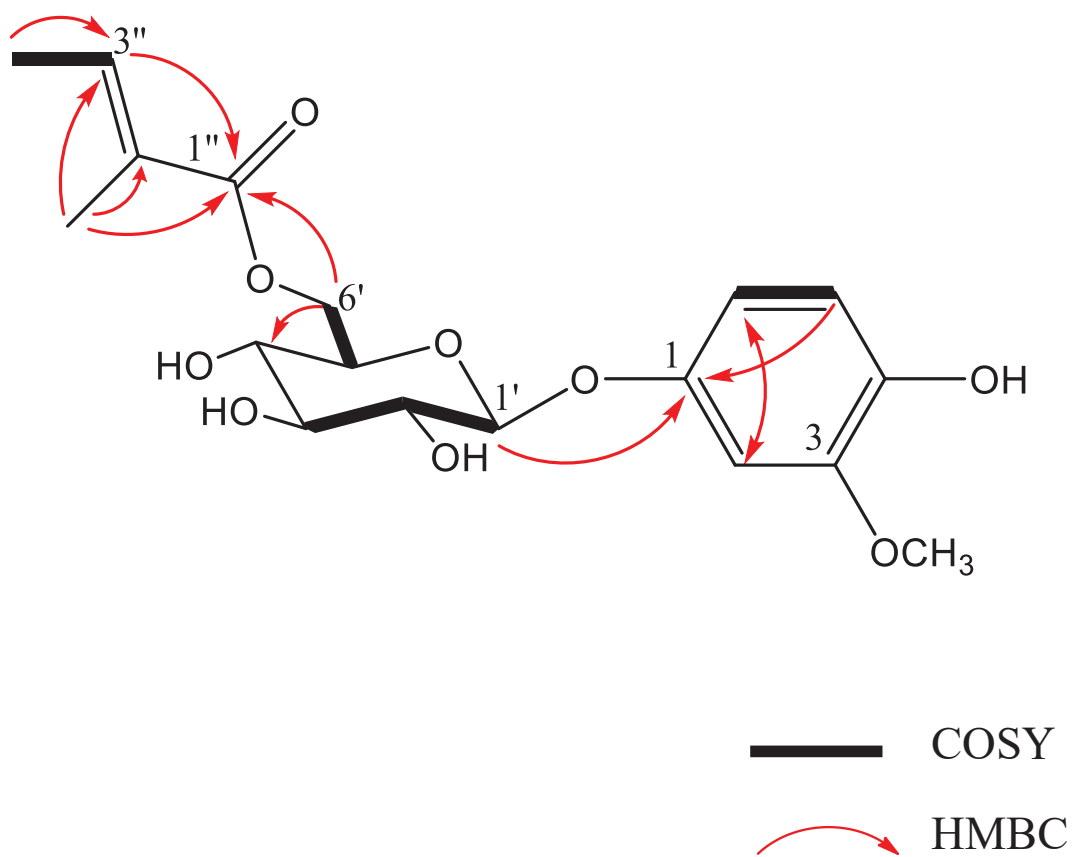


Fig. 63 COSY and HMBC correlations of Compound **56**

Table 56.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **56** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	140.9	
2	102.0	6.47 (1H, <i>d</i> , $J= 2.8$ Hz)
3	152.2	
4	155.0	
5	120.6	6.93 (1H, <i>d</i> , $J= 8.7$ Hz)
6	107.6	6.24 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.7, 2.8$ Hz)
1'	104.1	4.69 (1H, <i>d</i> , $J= 7.6$ Hz)
2'	75.1	3.46 (1H, <i>m</i> )
3'	77.9	3.46 (1H, <i>m</i> )
4'	72.1	3.36 (1H, <i>m</i> )
5'	75.6	3.57 (1H, <i>m</i> )
6'	65.0	4.48 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.8, 2.2$ Hz) 4.22 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.8, 7.3$ Hz)
1''	169.5	
2''	129.6	
3''	139.2	6.85 (1H, <i>m</i> )
4''	14.6	1.80 (3H, <i>m</i> )
5''	12.2	1.81 (3H, <i>m</i> )
3-OCH <sub>3</sub>	56.7	3.80 (3H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

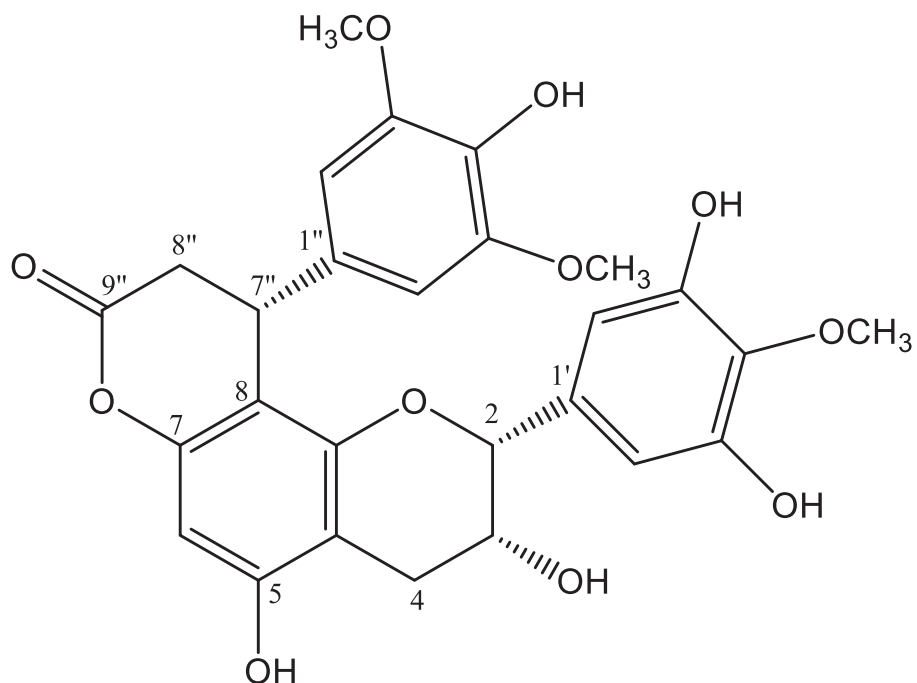
### 第3項 新規化合物 Compound 57 の構造決定

---

Cpd 57 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{27}H_{26}O_{11}$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、炭素総数 27 個のうち、105.2 から 157.6 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 14 本のピーク、171.1 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、66.9 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素が 1 本、29.9、37.6 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本、36.5、66.9、79.8 ppm のメチン基に由来するシグナルが 3 本、56.6、60.9 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、ベンゼン環の proton カップリングパターンから、1,3,4,5-置換ベンゼンを結合した構造であると推測した。また、IR スペクトルから、水酸基、カルボニル基、芳香環に由来するピークが観測された。

より詳細な検討を行うために 2D NMR (HSQC, HMBC, COSY) を測定したところ、各部分構造を支持する相関が得られた。さらに部分構造同士の結合を介した相関が観測され、7''位と 2''位、2 位と 2'位、7''位と 9''位にそれぞれ相関が観測されたことから、芳香環 A の 1''位と芳香環 B の 1'位が 7''位と 2 位にそれぞれ結合していることが確認された。文献検索を行ったところ、B 環の 5'位に水酸基を持たない関連化合物 smiglabrone A<sup>60</sup>)と B 環を除いて良い一致を示したことから相対配置を推定し、また、絶対配置に関しては CD スペクトルにおいて 232 nm と 283 nm に負のシグナルが、また 261 nm に正のシグナルが観測されたことより smiglabrone A と同じ立体化学であることが示唆された。

以上より、Compound 57 を Fig. 64 に示す構造であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 549.1368  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{27}H_{26}O_{11}Na$ : 549.1367)

$[\alpha]_D^{24} = -132$  ( $c = 0.13$ , MeOH)

IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3313, 2959, 2844, 1742, 1620, 1518, 1450, 1375, 1328, 1117

UV  $\lambda_{max}$  (MeOH) nm ( $\log \epsilon$ ): 213 (4.51), 229 (4.35), 276 (3.53)

Fig. 64 Structure and physical data of Compound **57**

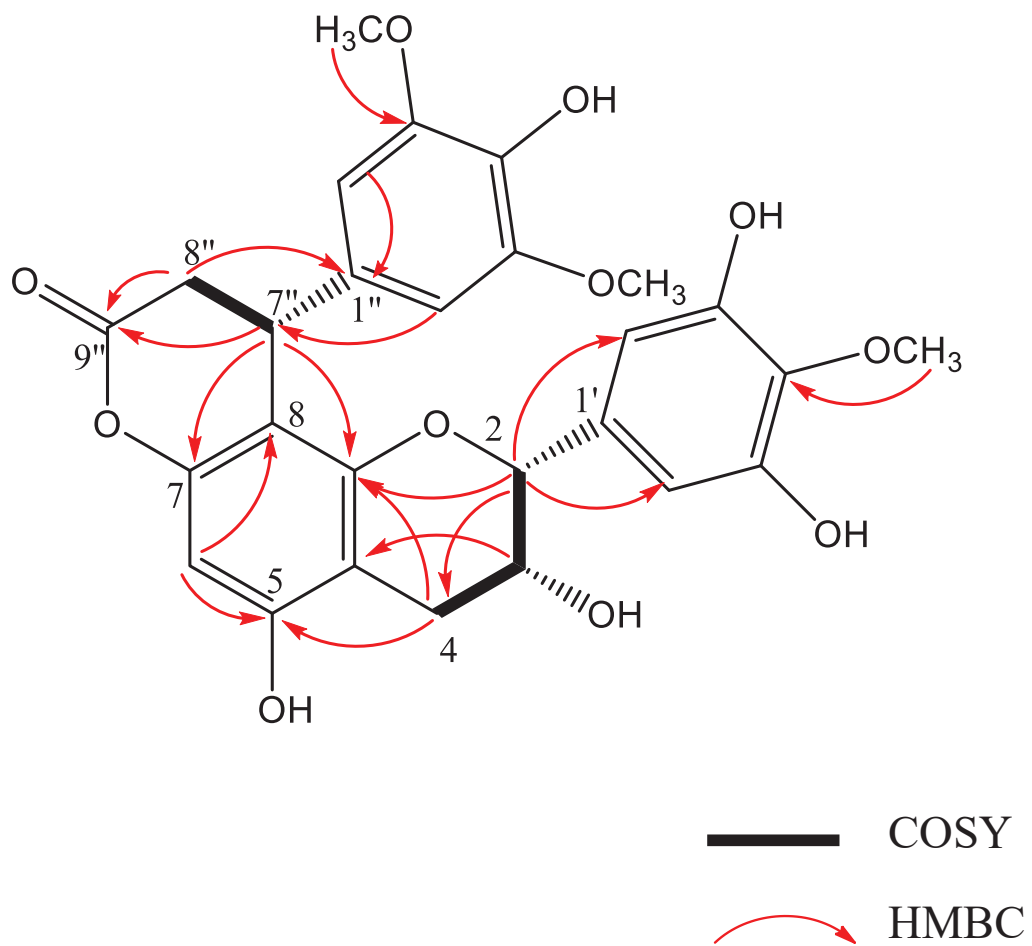


Fig. 65 COSY and HMBC correlations of Compound **57**



Table 57.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **57** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	79.8	4.76 (1H, <i>s</i> )
3	66.9	4.27 (1H, <i>m</i> )
4	29.9	2.84 (1H, <i>dd</i> , $J= 17.3, 2.5$ Hz) 2.92 (1H, <i>m</i> )
5	157.6	
6	96.5	6.20 (1H, <i>s</i> )
7	151.7	
8	106.3	
9	153.6	
10	105.6	
1'	136.5	
2', 6'	107.1	6.61 (2H, <i>s</i> )
3', 5'	151.8	
4'	136.3	
1''	135.4	
2'', 6''	105.2	6.45 (2H, <i>s</i> )
3'', 5''	149.3	
4''	135.3	
7''	36.5	4.61 (1H, <i>d</i> , $J= 7.2$ Hz)
8''	37.6	2.92 (1H, <i>m</i> ) 3.13 (1H, <i>dd</i> , $J= 15.9, 7.5$ Hz)
9''	171.1	
4'-OCH <sub>3</sub>	60.9	3.80 (3H, <i>s</i> )
3'', 5''-OCH <sub>3</sub>	56.6	3.61 (6H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

#### 第4節 既知化合物について

ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* の樹皮の酢酸エチル可溶画分を分離、精製する過程で、新規化合物とともに、既知化合物 13 種を単離した。各化合物の NMR スペクトルデータを文献値と比較することで、それぞれ以下に示す既知化合物であると同定した。

Compound 58: Aurantiamide <sup>61)</sup>

Compound 59: Aurantiamide acetate <sup>62)</sup>

Compound 60: Asperphenamate <sup>63)</sup>

Compound 61: Evofolin B <sup>64)</sup>

Compound 62: 4'-O-Methylgallocatechin <sup>65)</sup>

Compound 63: Androst-1,4-dien-3,17-dione <sup>66)</sup>

Compound 64: (8'Z)-1,3-Dihydroxy-5-[16'-(3'',5''-dihydroxyphenyl)-8'-hexadecen-1'-yl] benzen <sup>67)</sup>

Compound 65: 6'-[(E)-2''-Hydroxymethyl, 2''-butenoyl] arbutin <sup>68)</sup>

Compound 66: (+)-1-Hydroxysyringaresinol <sup>69)</sup>

Compound 67: (+)-1-Hydroxypinoresinol <sup>69)</sup>

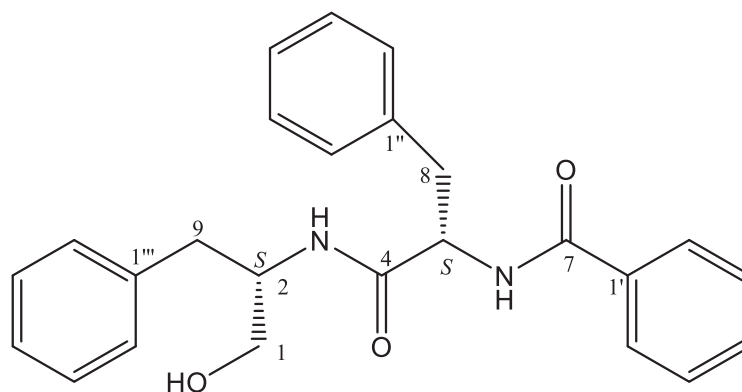
Compound 68: Vladinol F <sup>70, 71)</sup>

Compound 69: 4'-Dihydrophaseic acid <sup>72)</sup>

Compound 60: 3,5-Dihydroxybenzenepentanoic acid <sup>73)</sup>

## 第1項 既知化合物 Compound 58 の構造決定

Cpd 58 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{25}H_{26}O_3N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、127.4 から 139.6 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 12 本のピークがあり、170.2、173.5 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 2 本、64.1 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素のシグナルが 1 本、38.0、38.9 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本、54.3、56.8 ppm のメチン基に由来するシグナルが 2 本観測されたことより 3 つの芳香環を有する構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>61)</sup>と比較したところ、Cpd 58 を aurantiamide であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 425.1832  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{25}H_{26}O_3N_2Na$ : 425.1836)

$[\alpha]_D^{24} = -66.0$  ( $c = 0.1$ , MeOH)

Fig. 66 Structure and physical data of Compound 58

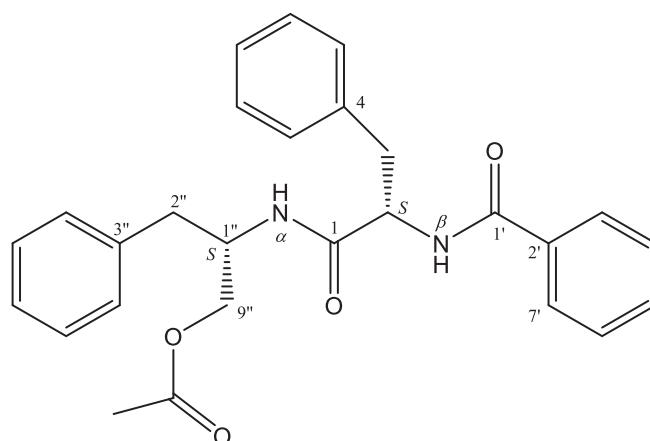
Table 58.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **58** in  $\text{CD}_3\text{OD}$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	64.1	3.95 (1H, <i>m</i> ) 3.22 (1H, <i>m</i> )
2	54.3	4.07 (1H, <i>m</i> )
4	173.5	
5	56.8	4.66 (1H, <i>m</i> )
7	170.2	
8	38.9	3.18 (1H, <i>m</i> ) 3.01 (1H, <i>m</i> )
9	38.0	2.81 (1H, <i>m</i> ) 2.56 (1H, <i>m</i> )
1'	135.1	
2', 6'	127.4	7.68 (1H, <i>d</i> , $J= 10.2$ Hz)
3', 5'	129.5	7.45 (1H, <i>t</i> , $J= 10.2$ Hz)
4'	133.2	7.54 (1H, <i>t</i> , $J= 10.2$ Hz)
1''	138.6	
2'', 6''	130.5	7.20 (1H, <i>d</i> , $J= 10.2$ Hz)
3'', 5''	129.6	7.26 (1H, <i>t</i> , $J= 10.2$ Hz)
4''	128.5	7.20 (1H, <i>t</i> , $J= 10.2$ Hz)
1'''	139.6	
2''', 6'''	130.5	7.01 (1H, <i>d</i> , $J= 10.2$ Hz)
3''', 5'''	129.5	7.10 (1H, <i>t</i> , $J= 10.2$ Hz)
4'''	127.4	7.05 (1H, <i>t</i> , $J= 10.2$ Hz)

m: .multiplet or overlapped signals

## 第2項 既知化合物 Compound 59 の構造決定

Cpd 59 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{27}H_{28}O_4N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、126.8 から 136.9 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 12 本のピークがあり、167.3、170.6、173.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 3 本、37.5、38.6、64.7 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 3 本、49.5、55.1 ppm のメチン基に由来するシグナルが 2 本観測されたことより 3 つの芳香環が結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>62)</sup>と比較したところ、Cpd 59 を aurantiamide acetate であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 467.1937  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{27}H_{28}O_4N_2Na$ : 467.1941)

$[\alpha]_D^{24} = -21.0$  ( $c = 1.4$ ,  $CHCl_3$ )

Fig. 67 Structure and physical data of Compound 59

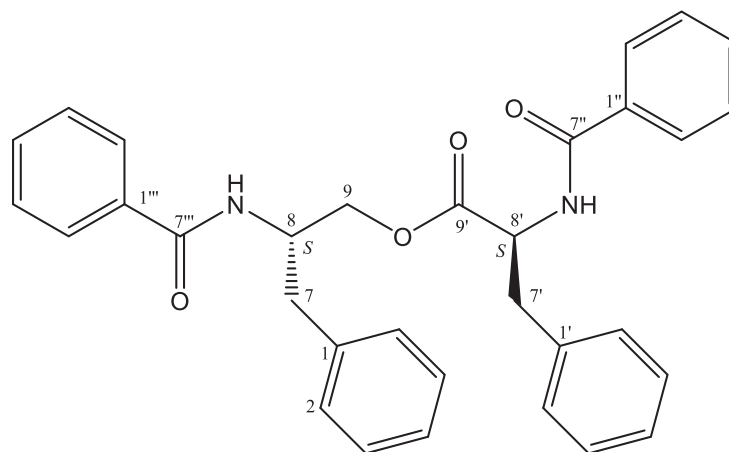
Table 59.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **59** in  $\text{CDCl}_3$ 

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	170.6	
2	55.1	4.84 (1H, <i>m</i> )
3-a	38.6	3.20 (1H, <i>dd</i> , $J= 16.2, 7.8$ Hz)
3-b		3.10 (1H, <i>dd</i> , $J= 16.2, 9.6$ Hz)
4	136.9	
5, 9	128.6	
6, 8	129.4	7.25 (5H, <i>m</i> )
7	127.2	
1'	167.3	
2'	133.8	
3', 7'	128.7	7.71 (2H, <i>d</i> , $J= 9.0$ Hz)
4', 6'	127.1	7.41 (2H, <i>t</i> , $J= 9.0$ Hz)
5'	132.0	7.50 (1H, <i>t</i> , $J= 8.4$ Hz)
1''	49.5	4.34 (1H, <i>m</i> )
2''	37.5	2.73 (2H, <i>m</i> )
3''	136.7	
4'', 8''	128.8	7.05 (2H, <i>m</i> )
5'', 7''	129.2	7.13 (2H, <i>m</i> )
6''	126.8	
9''-a	64.7	3.91 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.8, 6.0$ Hz)
9''-b		3.84 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.8, 4.8$ Hz)
$\alpha$ -NH		6.41 (1H, <i>d</i> , $J= 10.2$ Hz)
$\beta$ -NH		6.98 (1H, <i>d</i> , $J= 9.6$ Hz)
$\text{COCH}_3$	170.9	
$\text{COCH}_3$	20.9	2.73 (3H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

### 第3項 既知化合物 Compound 60 の構造決定

Cpd 60 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{32}H_{30}O_4N_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、126.2 から 137.3 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 16 本のピークがあり、167.4、167.6、172.1 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 3 本、37.4、37.7、65.6 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 3 本、50.4、54.6 ppm のメチン基に由来するシグナルが 2 本観測されたことより、4 つの芳香環を有する構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>63)</sup>と比較したところ、Cpd 60 を asperphenamate であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 529.2095  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{32}H_{30}O_4N_2Na$ : 529.2098)

$[\alpha]_D^{24} = -45.0$  ( $c = 0.2$ , MeOH)

Fig. 68 Structure and physical data of Compound 60

Table 60.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **60** in  $\text{CDCl}_3$ 

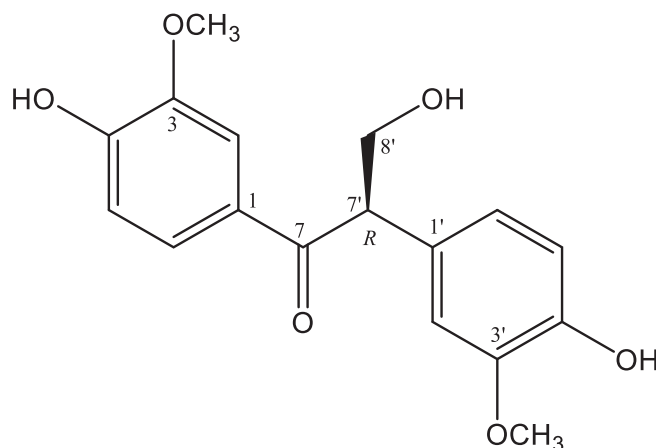
position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	137.3	
2	129.0	
3	128.8	
4	126.9	7.52 (5H, <i>m</i> )
5	128.8	
6	129.0	
7		3.60 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.8, 7.8$ Hz) 3.52 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.8, 7.8$ Hz)
8	54.6	5.23 (1H, <i>q</i> , $J= 6.6$ Hz)
9	65.6	4.84 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.4, 3.6$ Hz) 4.34 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.4, 4.8$ Hz)
N-H <sup>1</sup>		6.92 (1H, <i>d</i> , $J= 6.6$ Hz)
1'	135.9	
2', 6'	129.3	
3', 5'	128.5	7.53 (5H, <i>m</i> )
4'	126.2	
7'	37.4	3.25 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.8, 7.8$ Hz) 3.02 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.8, 7.8$ Hz)
8'	50.4	4.93 (5H, <i>m</i> )
9'	172.1	
N-H <sup>2</sup>		7.01 (1H, <i>d</i> , $J= 8.4$ Hz)
1''	134.4	
2'', 6''	127.5	7.96 (2H, <i>dd</i> , $J= 7.2, 1.2$ Hz)
3'', 5''	128.8	7.62 (2H, <i>td</i> , $J= 7.2, 1.2$ Hz)
4''	132.2	7.74 (1H, <i>tt</i> , $J= 7.2, 1.2$ Hz)
7''	167.6	
1'''	133.5	
2''', 2'''	127.2	8.01 (2H, <i>dd</i> , $J= 7.2, 1.2$ Hz)
3''', 5'''	128.8	7.54 (2H, <i>td</i> , $J= 7.2, 1.2$ Hz)
4'''	131.5	7.69 (1H, <i>tt</i> , $J= 7.2, 1.2$ Hz)
7'''	167.4	7.81 (1H, <i>m</i> )

m: .multiplet or overlapped signals



#### 第4項 既知化合物 Compound 61 の構造決定

Cpd 61 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{17}H_{18}O_6$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、112.7 から 149.5 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 12 本のピーク、199.8 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、65.6 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素のシグナルが 1 本、56.4 ppm のメチン基に由来するシグナルが 1 本、56.5、56.5 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピンのシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>64)</sup>と比較したところ、Cpd 61 を evofolin B であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 341.0994  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{17}H_{18}O_6Na$ : 341.0996)

$[\alpha]_D^{24} = -15.0$  ( $c = 0.13$ , MeOH)

Fig. 69 Structure and physical data of Compound 61

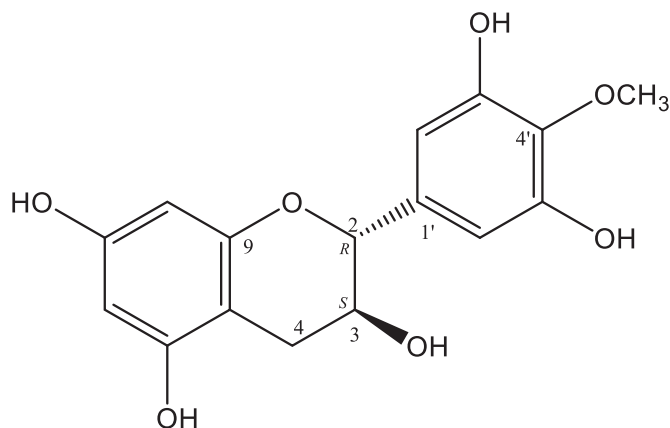
Table 61.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **61** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	130.6	
2	112.7	7.46 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
3	149.1	
4	149.1	
5	115.9	6.76 (1H, <i>m</i> )
6	125.3	7.51 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.4, 1.8$ Hz)
7	199.8	
1'	130.0	
2'	112.9	6.80 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz)
3'	147.0	
4'	149.5	
5'	116.7	6.70 (1H, <i>m</i> )
6'	122.3	6.73 (1H, <i>m</i> )
7'	56.4	4.65 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.4, 5.4$ Hz)
8'	65.6	4.14 (1H, <i>dd</i> , $J= 9.0, 8.4$ Hz)
		3.61 (1H, <i>dd</i> , $J= 10.8, 5.4$ Hz)
3-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.72 (3H, <i>s</i> )
3'-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.76 (3H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

## 第5項 既知化合物 Compound 62 の構造決定

Cpd 62 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{16}H_{16}O_7$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、96.5 から 157.8 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 10 本のピークがあり、68.7 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素のシグナルが 1 本、28.1 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 1 本、60.9 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、ベンゼン環の proton のカップリングパターン、 $^{13}C$  NMR の値から、フラボノイドであると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>65)</sup>と比較したところ、Cpd 62 を 4'-*O*-methylgalloocatechin であると決定した。



Pale yellow amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 343.0788  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{16}H_{16}O_7Na$ : 343.0788)

$[\alpha]_D^{24} = -28.0$  ( $c = 0.1$ , MeOH)

Fig. 70 Structure and physical data of Compound 62

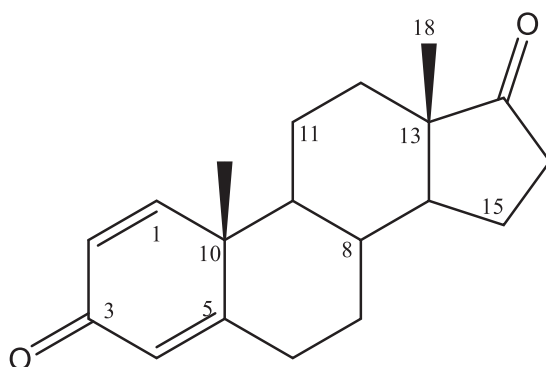
Table 62.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **62** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
2	82.6	4.58 (1H, <i>d</i> , $J= 7.2$ Hz)
3	68.7	3.99 (1H, <i>m</i> )
4	28.1	2.81 (1H, <i>dd</i> , $J= 15.6, 5.4$ Hz) 2.53 (1H, <i>dd</i> , $J= 15.6, 7.4$ Hz)
5	157.8	
6	96.5	5.97 (1H, <i>d</i> , $J= 2.4$ Hz)
7	157.6	
8	95.7	5.92 (1H, <i>d</i> , $J= 2.4$ Hz)
9	156.7	
10	100.8	
1'	136.7	
2', 6'	107.6	6.43 (2H, <i>s</i> )
3', 5'	151.6	
4'	136.5	
4'-OCH <sub>3</sub>	60.9	3.83 (3H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

## 第6項 既知化合物 Compound 63 の構造決定

Cpd 63 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{19}H_{24}O_2$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、188.8 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、124.3、127.9、159.3、173.2 ppm の二重結合に由来するシグナルが 4 本、23.0、23.1、32.6、33.3、33.8、36.4 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 6 本、36.7、51.8、54.2 ppm のメチン基に由来するシグナルが 3 本、14.4、19.2 ppm のメチル基に由来するシグナルが 2 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>6)</sup>と比較したところ、Cpd 63 を androst-1,4-dien-3,17-dione であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 307.1669  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{19}H_{24}O_2Na$ : 307.1669)

$[\alpha]_D^{24} = +22.5$  ( $c = 0.16$ ,  $CHCl_3$ )

Fig. 71 Structure and physical data of Compound 63

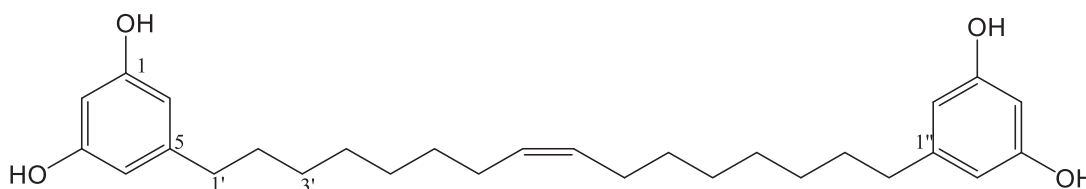
Table 63.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **63** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	159.3	7.13 (1H, <i>d</i> , $J= 9.6$ Hz)
2	127.9	6.05 (1H, <i>d</i> , $J= 9.6$ Hz)
3	188.8	
4	124.3	5.90 (1H, <i>s</i> )
5	173.2	
6	33.8	
7	32.6	
8	36.7	
9	54.2	
10	45.5	
11	23.1	
12	33.3	
13	49.2	
14	51.8	
15	23.0	
16	36.4	
17	N.D.	
18	14.4	0.80 (3H, <i>s</i> )
19	19.2	1.14 (3H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

## 第7項 既知化合物 Compound 64 の構造決定

Cpd 64 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{28}H_{40}O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、99.9 から 158.2 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 4 本のピークがあり、127.9 ppm の二重結合に由来するシグナルが 1 本、26.6、28.9、28.9、29.0、29.2、30.7、35.3 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 7 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、ベンゼン環 proton のカップリングパターンより、1,3,5-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>67)</sup>と比較したところ、Cpd 64 を (8'Z)-1,3-dihydroxy-5-[16'-(3'',5''-dihydroxyphenyl)-8'-hexadecen-1'-yl] benzene であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 463.2814  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{28}H_{40}O_4Na$ : 463.2819)

Fig. 72 Structure and physical data of Compound 64

Table 64.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **64** in  $\text{DMSO-}d_6$

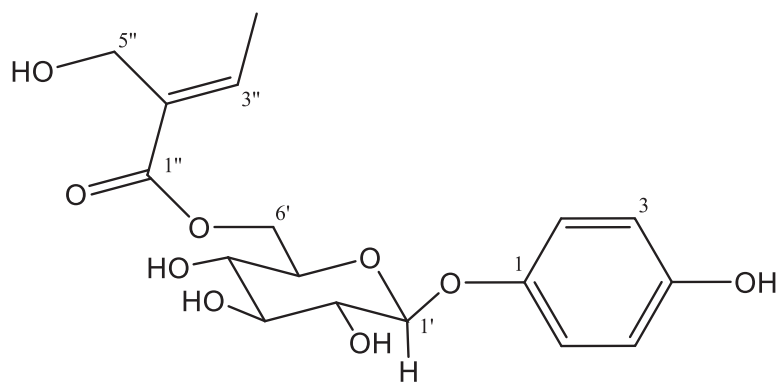
position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1, 3, 3'', 5''	158.2	
2, 4''	99.9	6.01 (2H, <i>brs</i> )
4, 6, 2'', 6''	106.4	6.01 (4H, <i>brs</i> )
5, 1''	144.3	
1', 16'	35.3	2.34 (1H, <i>t</i> , $J= 6.6$ Hz)
2', 15'	30.7	1.48 (2H, <i>m</i> )
3', 14'	28.8	1.27 (2H, <i>m</i> )
4', 13'	28.9	1.27 (2H, <i>m</i> )
5', 12'	29.0	1.27 (2H, <i>m</i> )
6', 11'	29.2	1.48 (2H, <i>m</i> )
7', 10'	26.6	1.96 (2H, <i>m</i> )
8', 9'	129.7	5.32 (1H, <i>t</i> , $J= 4.8$ Hz)
1, 3'', 3, 5''-OH		9.00 (4H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals



## 第 8 項 既知化合物 Compound 65 の構造決定

Cpd 65 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{17}H_{22}O_9$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において 65.2 から 103.6 ppm の glucose に由来する 12 本のシグナルがあり、116.7 から 154.1 ppm の芳香環に由来するシグナルが 4 本、168.5 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、133.7、143.4 ppm の二重結合に由来するシグナルが 2 本、14.6 ppm のメチル基に由来するシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が AX スピンのシグナルとして観測されたことより、1,4-置換ベンゼンを結合した構造であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>68)</sup>と比較したところ、Cpd 65 を 6'-[(*E*)-2"-hydroxymethyl-2"-butenoyl] arbutin であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 393.1153  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{17}H_{22}O_9Na$ : 393.1156)

Fig. 73 Structure and physical data of Compound 65

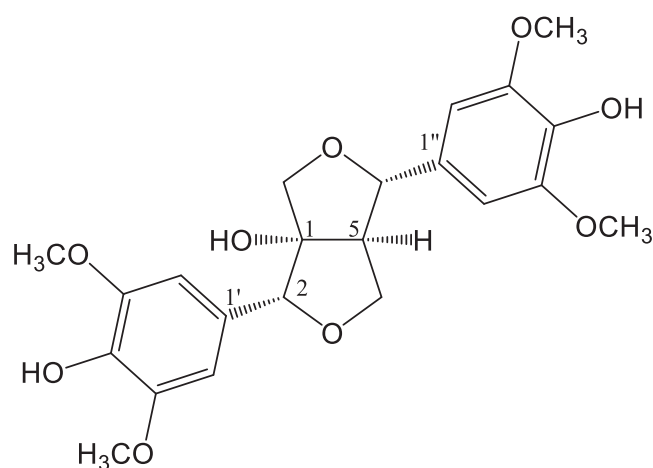
Table 65.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **65** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	152.3	
2, 6	119.7	6.80 (1H, <i>d</i> , $J= 9.6$ Hz)
3, 5	116.7	6.54 (1H, <i>d</i> , $J= 9.6$ Hz)
4	154.1	
1'	103.6	4.60 (1H, <i>d</i> , $J= 7.6$ Hz)
2'	75.1	3.52 (1H, <i>m</i> )
3'	78.1	3.23 (1H, <i>m</i> )
4'	72.1	3.18 (1H, <i>m</i> )
5'	75.5	3.75 (1H, <i>m</i> )
6'	65.2	4.12 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.4, 6.0$ Hz) 4.42 (1H, <i>dd</i> , $J= 11.4, 1.6$ Hz)
1''	168.5	
2''	133.7	
3''	143.4	6.91 (1H, <i>m</i> )
4''	14.6	1.83 (2H, <i>d</i> , $J= 7.2$ Hz)
5''	56.3	4.35 (2H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

## 第9項 既知化合物 Compound 66 の構造決定

Cpd 66 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{22}H_{26}O_9$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、106.4 から 149.5 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 8 本のピークがあり、57.0 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本、62.6、76.3、88.0、89.6 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 4 本、93.0 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素のシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、ベンゼン環 proton のカップリングパターンより、1,3,4,5-置換ベンゼンを結合したリグナン類であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>66)</sup>と比較したところ、Cpd 66 を (+)-1-hydroxysyringaresinol であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 457.1469  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{22}H_{26}O_9Na$ : 457.1469)

$[\alpha]_D^{24} = +24.4$  ( $c = 0.36$ ,  $CHCl_3$ )

Fig. 74 Structure and physical data of Compound 66

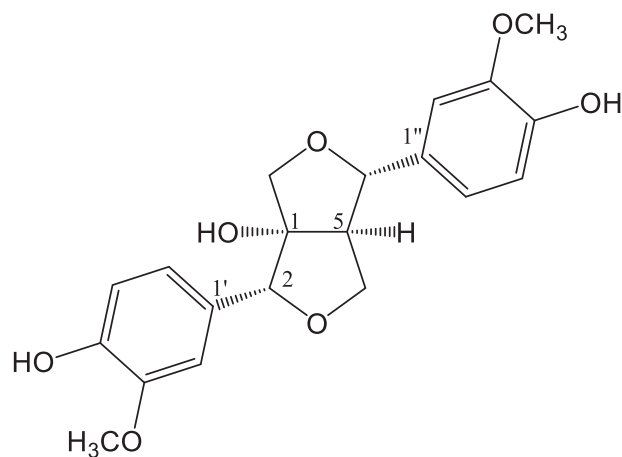
Table 66.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **66** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	92.9	
5	62.6	2.95-3.08 (1H, <i>m</i> )
4	72.2	4.48 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.7, 8.7$ Hz)
		3.68-4.00 (1H, <i>m</i> )
8	72.2	3.68-4.00 (2H, <i>m</i> )
2	62.6	
6	88.0	4.84 (2H, <i>s, m</i> )
1'	128.4	
1''	133.0	
2'	106.4	} 6.73 (2H, <i>s</i> )
2''	105.2	
3'	148.9	
3''	149.1	
4'	136.6	
4''	136.6	
5'	149.0	
5''	149.5	
6'	106.4	} 6.75 (2H, <i>s</i> )
6''	105.2	
3', 5', 3'', 5''-OCH <sub>3</sub>	57.0	3.86 (12H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

## 第 10 項 既知化合物 Compound 67 の構造決定

Cpd 67 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{20}H_{22}O_7$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、111.4 から 149.2 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 12 本のピークがあり、56.5、56.5 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本、62.5、72.2、87.9、89.3 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 4 本、92.9 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素のシグナルが 1 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピンのシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合したリグナン類であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>69)</sup>と比較したところ、Cpd 67 を (+)-1-hydroxypinoresinol であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 397.1254  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{20}H_{22}O_7Na$ : 397.1258)

$[\alpha]_D^{24} = +16.4$  ( $c = 0.67$ , MeOH)

Fig. 75 Structure and physical data of Compound 67

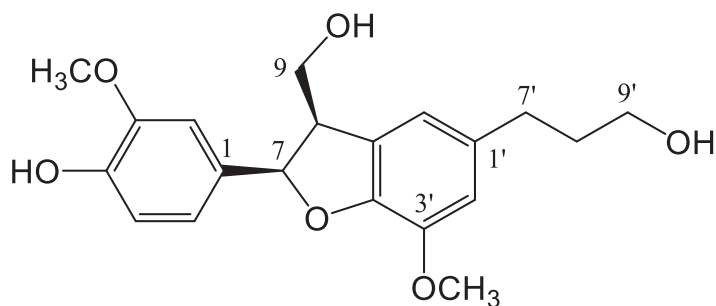
Table 67.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **67** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	93.0	
5	62.6	3.06-3.13 (1H, <i>m</i> )
4	72.2	4.45-4.49 (1H, <i>m</i> ) 3.76-4.06 (1H, <i>m</i> )
8	72.2	3.76-4.06 (2H, <i>m</i> )
2	62.6	4.87 (1H, <i>s</i> )
6	88.0	4.70 (1H, <i>d</i> , $J=6.3$ Hz)
1'	128.4	
1''	133.0	
2'	106.4	} 6.81-7.08 (2H, <i>m</i> )
2''	105.2	
3'	1498.9	
3''	149.1	
4'	136.6	
4''	136.6	
5'	149.0	} 6.81-7.08 (4H, <i>m</i> )
5''	149.5	
6'	106.4	
6''	105.2	
3', 3''-OCH <sub>3</sub>	57.0	3.87(6H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

## 第 11 項 既知化合物 Compound 68 の構造決定

Cpd 68 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{20}H_{24}O_6$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、110.7 から 149.2 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 12 本のピークがあり、56.5、56.9 ppm のメトキシ基に由来するシグナルが 2 本、62.4、65.1 ppm のヒドロキシ基が結合している炭素のシグナルが 2 本、33.0、35.9 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 2 本観測された。また、 $^1H$  NMR において、芳香環の proton が ABX スピンのシグナルとして観測されたことより、1,3,4-置換ベンゼンを結合したリグナン類であると推測し、NMR スペクトルデータを文献値<sup>70,71)</sup>と比較したところ、Cpd 68 を vladinol F であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 383.1461  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{20}H_{24}O_6Na$ : 383.1465)

$[\alpha]_D^{24} = -22$  ( $c = 0.1$ , MeOH)

Fig. 76 Structure and physical data of Compound 68

Table 68.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **68** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

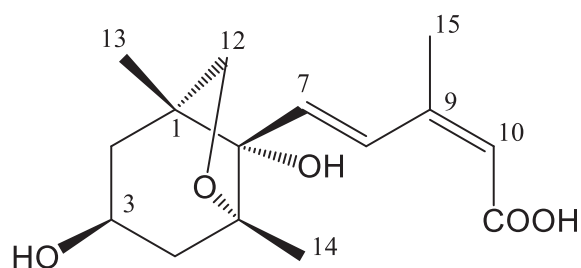
position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	134.9	
2	110.7	6.82 (1H, <i>d</i> , $J= 1.8$ Hz) 6.77 (1H, <i>brs</i> )
3	149.2	
4	147.6	
5	116.3	6.72 (1H, <i>d</i> , $J= 8.1$ Hz)
6	119.9	6.82 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.1, 1.8$ Hz) 6.95 (1H, <i>dd</i> , $J= 8.1, 1.8$ Hz)
7	89.1	5.49 (1H, <i>d</i> , $J= 6.5$ Hz)
8	55.5	3.57 (1H, <i>ddd</i> , $J= 8.1, 6.5, 4.8$ Hz)
9	65.1	3.75-3.84 (2H, <i>m</i> )
1'	137.1	
2'	114.2	
3'	145.3	
4'	147.6	
5'	130.0	
6'	118.1	
7'	33.0	2.62 (1H, <i>t</i> , $J= 6.8$ Hz)
8'	35.9	1.81 (1H, <i>tt</i> , $J= 6.8, 6.8$ Hz)
9'	62.4	3.76 (2H, <i>t</i> , $J= 6.8$ Hz)
3-OCH <sub>3</sub>	56.5	3.80 (1H, <i>s</i> )
3'-OCH <sub>3</sub>	56.9	3.84 (1H, <i>s</i> )

m: .multiplet or overlapped signals



## 第 12 項 既知化合物 Compound 69 の構造決定

Cpd 69 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{15}H_{22}O_5$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、120.6、132.1、134.8、150.5 ppm の二重結合に由来するシグナルが 4 本、66.2、77.4、83.4、88.0 ppm の酸素が結合している炭素のシグナルが 4 本、44.7、46.2、77.4 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 3 本、16.5、19.8、21.3 ppm のメチル基に由来するシグナルが 3 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>72)</sup>と比較したところ、Cpd 69 を 4'-dihydrophaseic acid であると決定した。



Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 305.1358  $[M+Na]^+$

(calcd for  $C_{15}H_{22}O_5Na$ : 305.1359)

$[\alpha]_D^{24} = -33.7$  ( $c = 0.19$ , MeOH)

Fig. 77 Structure and physical data of Compound 69

Table 69.  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) and  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) data for Cpd **69** in  $\text{CD}_3\text{OD}$

position	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$
1	N.D.	
2	44.7	1.85 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.2, 6.4$ Hz) 1.66 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.2, 2.4$ Hz)
3	66.2	4.11 (1H, <i>m</i> )
4	46.2	2.04 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.3, 7.2$ Hz) 1.74 (1H, <i>dd</i> , $J= 13.3, 3.3$ Hz)
5	88.0	
6	83.4	
7	134.8	6.49 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
8	132.1	7.96 (1H, <i>d</i> , $J= 15.8$ Hz)
9	150.5	
10	120.6	5.79 (1H, <i>br s</i> )
11	N.D.	3.81 (1H, <i>d</i> , $J= 7.0$ Hz)
12	77.4	3.71 (1H, <i>d</i> , $J= 7.0$ Hz)
13	16.5	0.93 (3H, <i>s</i> )
14	19.8	1.15 (3H, <i>s</i> )
15	21.3	2.08 (3H, <i>brs</i> )

m: .multiplet or overlapped signals

第 13 項 既知化合物 Compound 70 の構造決定

Cpd 70 は HR-ESI-MS の結果から、その分子式を  $C_{11}H_{14}O_4$  であると決定した。 $^{13}C$  NMR において、101.2 から 159.5 ppm の芳香環に由来するシグナルと考えられる 4 本のピークがあり、177.9 ppm のカルボニル炭素に由来するシグナルが 1 本、25.9、32.0、35.1、36.8 ppm のメチレン基に由来するシグナルが 4 本観測されたことより、NMR スペクトルデータを文献値<sup>73)</sup>と比較したところ、Cpd 70 を 3,5-dihydroxybenzenepentanoic acid であると決定した。

Colorless amorphous powder

HR-ESI-MS (positive)

$m/z$ : 209.0821  $[M+H]^+$

(calcd for  $C_{11}H_{13}O_4$ : 209.0819)

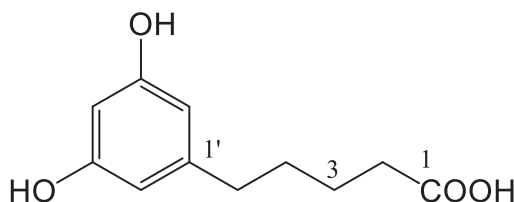


Fig. 78 Structure and physical data of Compound 70

Table 70.  $^{13}C$  NMR (150 MHz) and  $^1H$  NMR (600 MHz) data for Cpd 70 in  $CD_3OD$

position	$^{13}C$	$^1H$
1	177.9	
2	35.1	2.30 (1H, <i>m</i> )
3	25.9	1.61 (1H, <i>m</i> )
4	32.0	1.61 (1H, <i>m</i> )
5	36.8	2.47 (1H, <i>m</i> )
1'	146.0	
2', 6'	108.1	6.13 (1H, <i>d</i> , $J= 2.0$ Hz)
3', 5'	159.5	
4'	101.2	6.08 (1H, <i>t</i> , $J= 2.0$ Hz)

m: .multiplet or overlapped signals

第1節 DPPH ラジカル除去活性試験について

活性酸素やフリーラジカルは生体に様々な障害を引き起こす。そのため、抗酸化活性を持つ物質は生体にとって非常に重要な役割を果たしている。抗酸化物質としては、Vitamin CやE、カロテノイドなどの他、フラボノイドなどが知られている。

今回、日本産植物フシグロ *Silene firma*、クロタキカズラ *Hosiea japonica* およびベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* から単離された70種類の化合物について DPPH ラジカル除去活性試験を行った。

DPPH ラジカル除去活性試験とは、本来極めて不安定であるラジカルを人工的に安定化させた 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ラジカルを用いた抗酸化活性測定方法である。

DPPH ラジカルは可視部に吸収を持ち、抗酸化物質から供与された水素ラジカルを捕捉すると吸収を示さなくなるという特徴をもっている (Fig.79)。この特徴を利用し、micro plate reader で比色定量し、その測定値を抗酸化物質であるビタミンE誘導体、 $\alpha$ -トコフェロール酢酸エステル (Trolox) をポジティブコントロールとして用いて評価した。

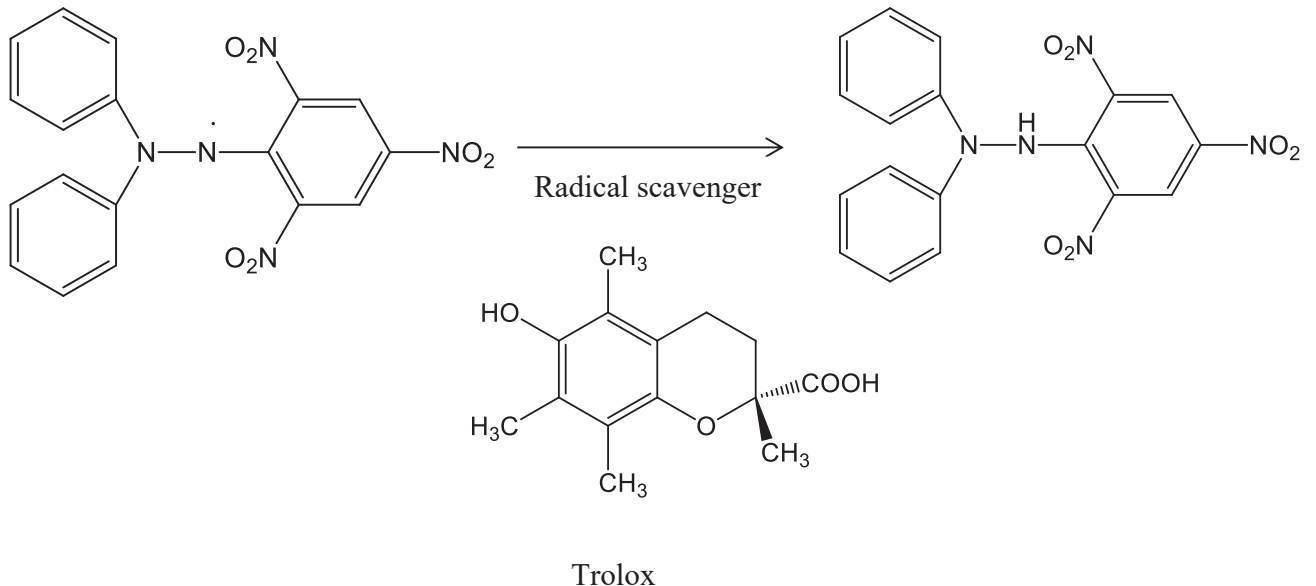


Fig. 79 DPPH ラジカル反応機構

## 第2節 DPPH ラジカル除去活性試験法

日本産植物フシグロ *Silene firma*、クロタキカズラ *Hosiea japonica* およびベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* から単離された計 70 種の化合物に対して、DPPH ラジカルを使用した DPPH ラジカル除去活性試験を行い、抗酸化活性を調べた。

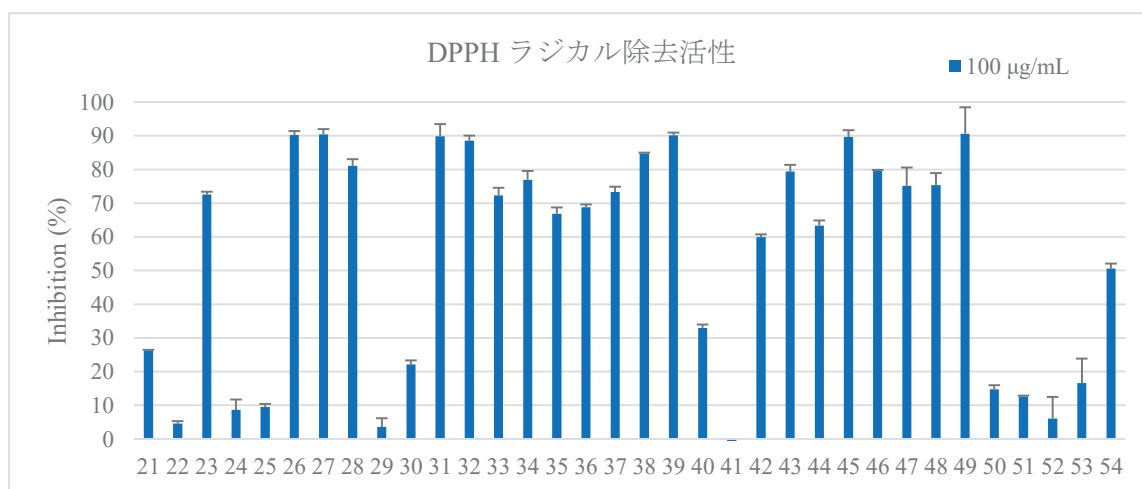
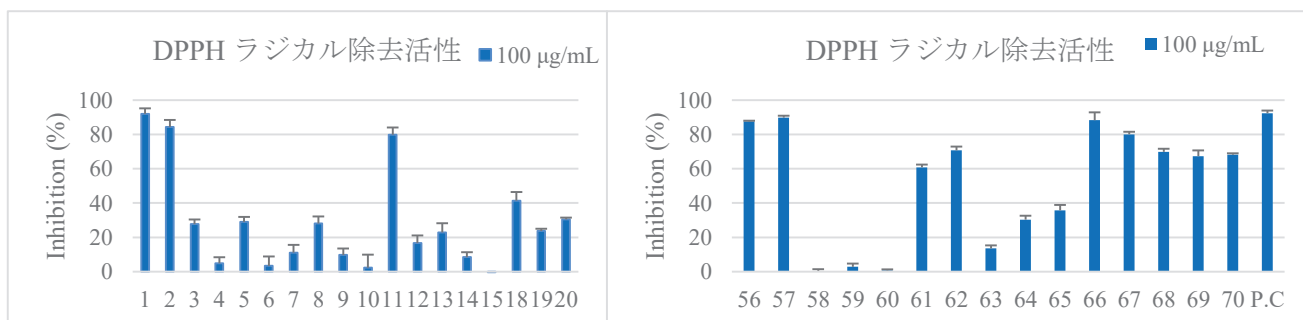
96 well plate にて DPPH 溶液 (200 μM) に 100 μg/mL の終濃度となるよう調整した各種被検物質を作用させ、室温、暗所にて 30 分間反応させた。吸光度の変化を microplate reader (515nm) にて測定し、抑制率は以下の計算式により算出した。サンプルの溶解には DMSO を使用し終濃度 1% に統一した。

$$\text{抑制率 (\%)} [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / (A_{\text{DMSO}} - A_{\text{blank}})] \times 100$$

$A_{\text{blank}}$  : DPPH 添加前の吸光度、

$A_{\text{DMSO}}$ : DMSO のみ

P.C: Trolox n=3



ここで抑制率が 50% を超えたものについては、さらに 100、50、25 μg/mL の 3 濃度で同様の試験を行い、 $IC_{50}$  を簡易法 (50% をまたぐ 2 点を選び、50% との交点から求める) にて算出した。

### 第3節 DPPH ラジカル除去活性試の結果

DPPH ラジカル除去活性試験を実施したところ Compound **1**、**2**、**11**、**26**、**27**、**28**、**31**、**32**、**34**、**37**、**38**、**39**、**45**、**49**、**56**、**57**、**66**、**67**に比較的強い活性が見られた。その他の化合物についてはほとんど活性は見られなかった。

Table 71. IC<sub>50</sub> of active compounds

Compound	IC <sub>50</sub> (μM)	Compound	IC <sub>50</sub> (μM)
<b>1</b>	<b>37.9 ± 4.6</b>	44	366.2 ± 4.7
<b>2</b>	<b>33.4 ± 4.7</b>	<b>45</b>	<b>43.5 ± 1.5</b>
<b>11</b>	<b>39.1 ± 4.6</b>	46	252.3 ± 3.9
23	240.3 ± 3.6	47	394.1 ± 5.6
<b>26</b>	<b>7.2 ± 0.2</b>	48	352.5 ± 6.9
<b>27</b>	<b>29.1 ± 0.8</b>	<b>49</b>	<b>16.8 ± 0.6</b>
<b>28</b>	<b>53.1 ± 1.3</b>	54	158.4 ± 2.2
<b>31</b>	<b>29.8 ± 0.5</b>	<b>56</b>	<b>61.2 ± 0.4</b>
<b>32</b>	<b>38.5 ± 1.6</b>	<b>57</b>	<b>39.8 ± 1.8</b>
33	216.2 ± 5.6	61	232.2 ± 5.9
<b>34</b>	<b>73.5 ± 2.1</b>	62	113.9 ± 2.2
35	106.5 ± 3.6	<b>66</b>	<b>39.3 ± 0.5</b>
36	130.4 ± 2.7	<b>67</b>	<b>78.9 ± 0.7</b>
<b>37</b>	<b>67.8 ± 2.1</b>	68	131.7 ± 1.4
<b>38</b>	<b>77.2 ± 0.7</b>	69	210.6 ± 2.7
<b>39</b>	<b>52.3 ± 0.9</b>	70	291.9 ± 3.6
42	470.7 ± 4.9	<b>P.C (Trolox)</b>	<b>36.4 ± 0.2</b>
43	103.6 ± 3.6		

第 1 節 Tyrosinase 阻害活性試験について

肌の日焼け、シミなどの原因となりうるメラニン色素の沈着は、紫外線などの刺激により、肌の基底膜に存在するメラノサイトからメラニン色素が放出され、沈着することで生じる。メラニン合成酵素のひとつである、tyrosinase が関与する、L-tyrosine からドーパキノンへの変換は、メラニン合成経路の律速段階と考えられており、これまで、本酵素の阻害剤の探索研究は多くなされ、現在、一般的に化粧品的美白有効成分として使用されている化合物として、hydroquinone、arbutin、vitamine C 誘導体などが挙げられる。<sup>74)</sup>

そこで本研究では、日本産植物フシグロ *Silene firma*、クロタキカズラ *Hosiea japonica* およびベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* から単離された計 70 種の化合物に対して、tyrosinase 阻害活性試験を行った。

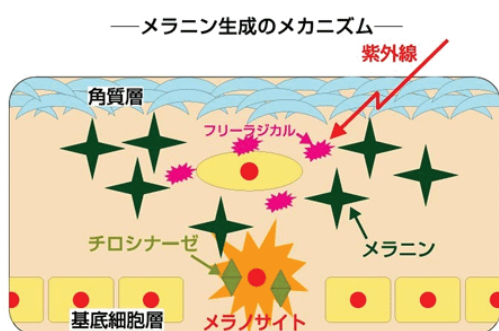
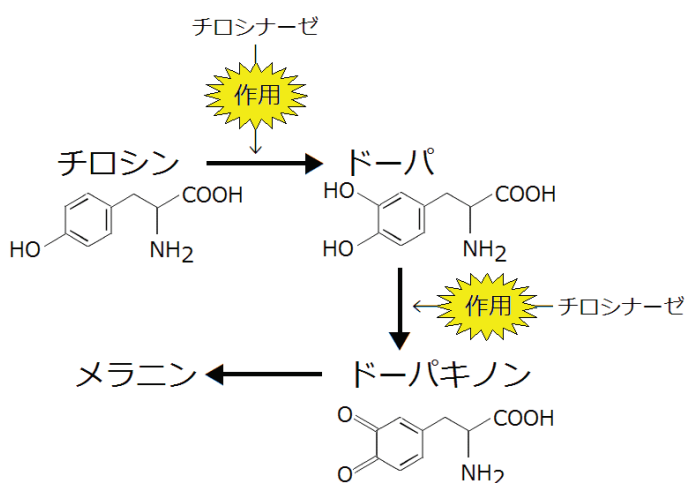


Fig. 80 メラニン生成・沈着のメカニズム

Fig. 81 L-tyrosine からドーパキノンへの変換反応



## 第2節 Tyrosinase 阻害活性試験法

本実験においては、基質として L-tyrosine を用い、positive control としては、美白有効成分として広く用いられている arbutin を使用した。

各 sample と arbutin は、終濃度が 250、125、62.5 µg/mL の3段階となるように、予め DMSO に溶解して希釈系列を作成した。

96 well マイクロプレートの各 well に、sample の各希釈系列 10µL と、0.25 mg/mL に調製した L-tyrosine 入り buffer を 40 µL ずつ加え、マイクロプレートリーダーを用いて 475 nm における background の吸光度を測定した。続いて各 well に、buffer で 100 units/mL に調製した mushroom tyrosinase を 50 µL ずつ加えて、25°C で 10 分間反応させた。10 分後に、再度 475 nm における吸光度を測定し、この値から background を引いた値を基に、酵素阻害率を算出した。

なお、この実験において buffer としては、pH 6.8 の 0.05M K-phosphate buffer を用いた。

$$\text{抑制率 (\%)} [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{background}}) / (A_{\text{control}} - A_{\text{background}})] \times 100$$

$A_{\text{sample}}$ : sample 若しくは arbutin と、tyrosinase を添加時の吸光度

$A_{\text{control}}$ : DMSO control (sample を含まない) に tyrosinase を添加時の吸光度

$A_{\text{background}}$ : tyrosinase を添加する前の吸光度

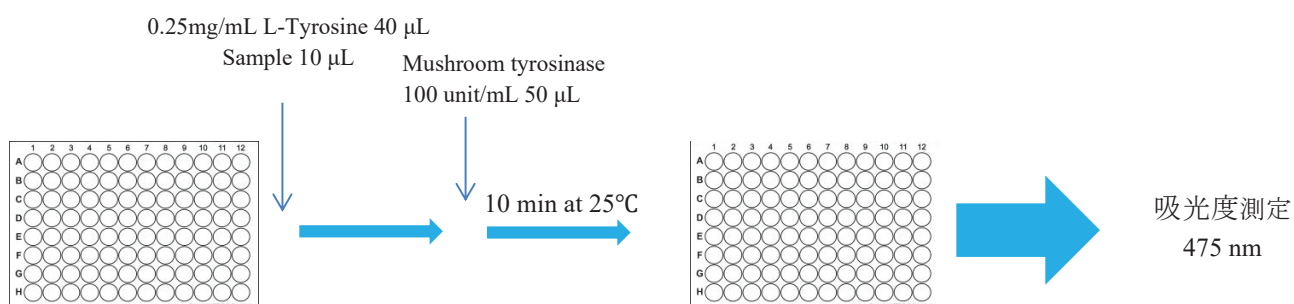
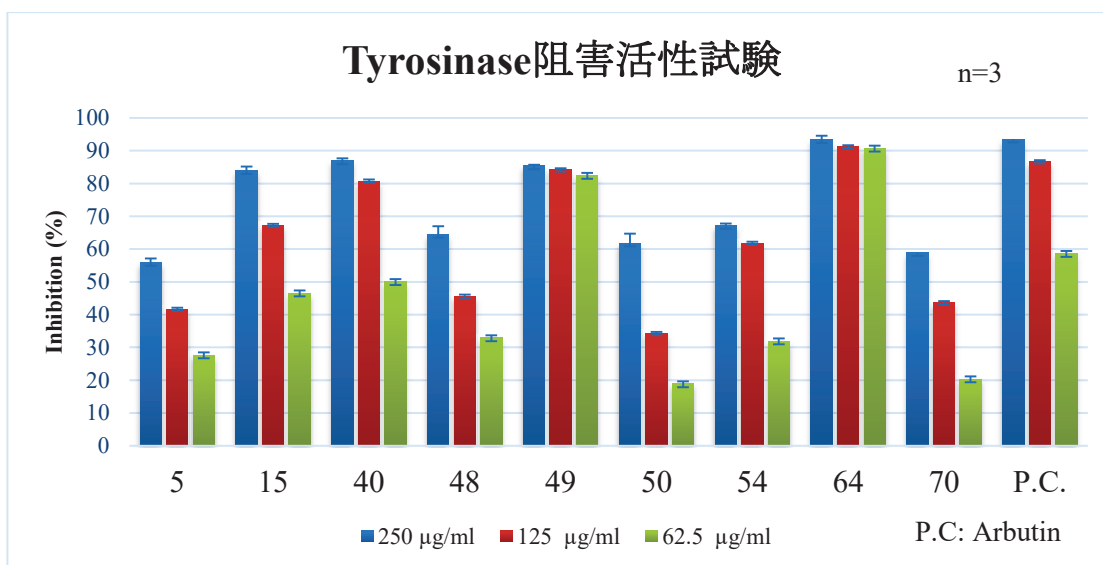


Fig. 82 Tyrosinase 阻害活性試験プロトコール

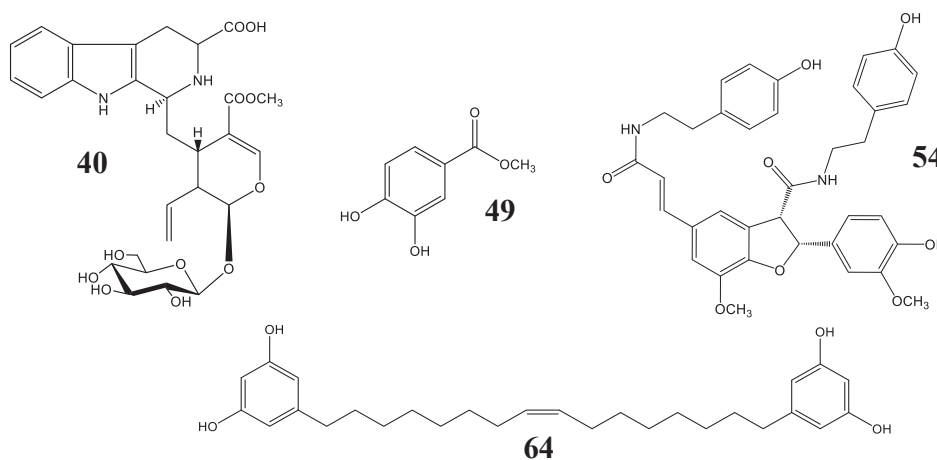


### 第3節 Tyrosinase 阻害活性試験の結果

Tyrosinase 阻害活性試験を実施したところ、以下の化合物に比較的強い活性が見られた。その他の化合物についてはほとんど活性は見られなかった。そのうち、Compound 40、49、54、64 は Arbutin に匹敵する、あるいはそれ以上の活性を示した。



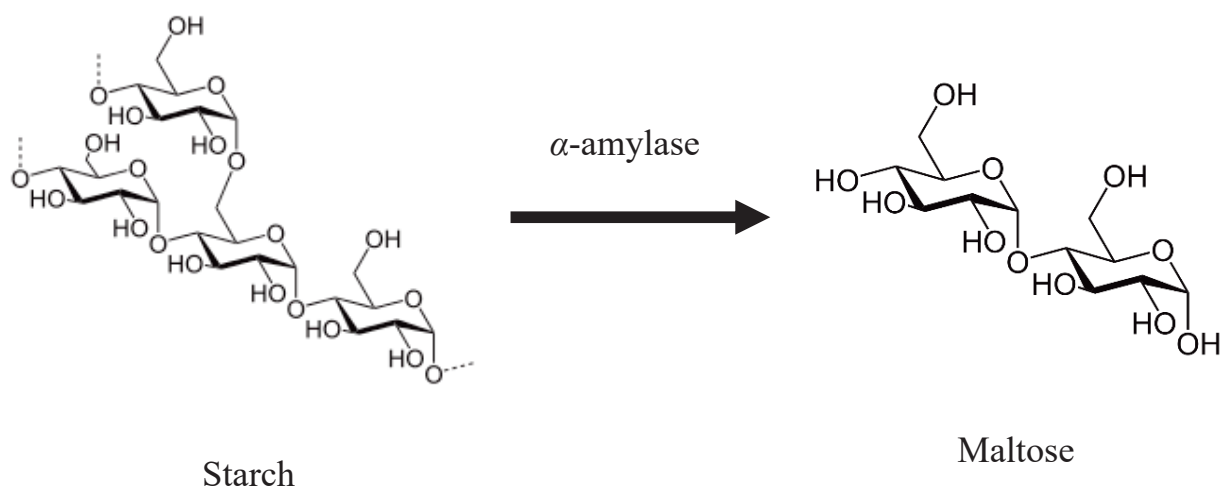
Compound	IC 50(µM)	Compound	IC 50 (µM)
5	1030.0 ± 3.0	50	431.4 ± 1.1
15	1090.0 ± 0.1	<b>54</b>	<b>144.5 ± 13.0</b>
<b>40</b>	<b>120.7 ± 1.6</b>	<b>64</b>	<b>8.4 ± 0.23</b>
48	1302.4 ± 3.5	70	1309.0 ± 6.7
<b>49</b>	<b>30.8 ± 0.1</b>	<b>P.C (Arbutin)</b>	<b>167.8 ± 0.5</b>



第1節  $\alpha$ -Amylase 阻害活性試験について

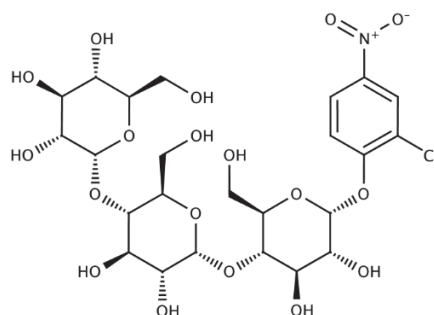
$\alpha$ -Amylase は、 $\alpha$ -1,4-グリコシド結合に作用することによってデンプンをグルコースに分解する加水分解酵素の一種である。また、 $\alpha$ -amylase は唾液や膵液の主要な消化酵素である。加水分解によって生成するグルコースやマルトースの過剰摂取は体内でインスリンや血糖値の上昇を引き起こし、糖尿病や肥満の原因になる。そのため、 $\alpha$ -amylase 阻害剤は肥満や糖尿病を治療・予防する薬剤や機能性食品として有望と考えられている。

本研究では、クロタキカズラ *Hosiea japonica* およびベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* から単離された計 50 種の化合物に対して、 $\alpha$ -Amylase 阻害活性を評価した。この試験ではマルトトリオースの結合した発色基質 CNPG3 を用いて評価した。



CNPG3:

2-Chloro-4-nitrophenyl  $\alpha$ -D-maltotrioside



## 第2節 $\alpha$ -Amylase 阻害活性試験法

本研究では、50種類の化合物に対して、 $\alpha$ -Amylase 阻害活性を評価した。この試験ではマルトトリオースの結合した発色基質 CNPG3 を用いて評価した。

各 sample は、終濃度が 200、100、50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の3段階となるように、予め DMSO に溶解して希釈系列を作成した。

96 well マイクロプレートに、sample の各希釈系列を 1  $\mu\text{L}$  と、1 mg/mL に調製した CNPG3 を 50  $\mu\text{L}$  ずつ加え、続いて、10 units/mL に調製した  $\alpha$ -amylase 入り buffer 及び酵素不含 buffer (background) を 50  $\mu\text{L}$  ずつ加えて、37°C で 30 分間反応させた。30 分後に、405 nm における吸光度を測定した。

なお、この実験において buffer としては、pH 6.4 の 0.05M K-phosphate buffer を用いた。

$$\text{抑制率 (\%)} = [1 - (A_{\text{sample (enz+)}} - A_{\text{sample (enz-)}}) / (A_{\text{DMSO (enz+)}} - A_{\text{DMSO (enz-)}})] \times 100$$

$A_{\text{sample (enz+)}}$  : sample、positive control の enzyme (+)

$A_{\text{sample (enz-)}}$  : sample、positive control の enzyme (-)

$A_{\text{DMSO (enz+)}}$  : DMSO の enzyme (+)

$A_{\text{DMSO (enz-)}}$  : DMSO の enzyme (-)

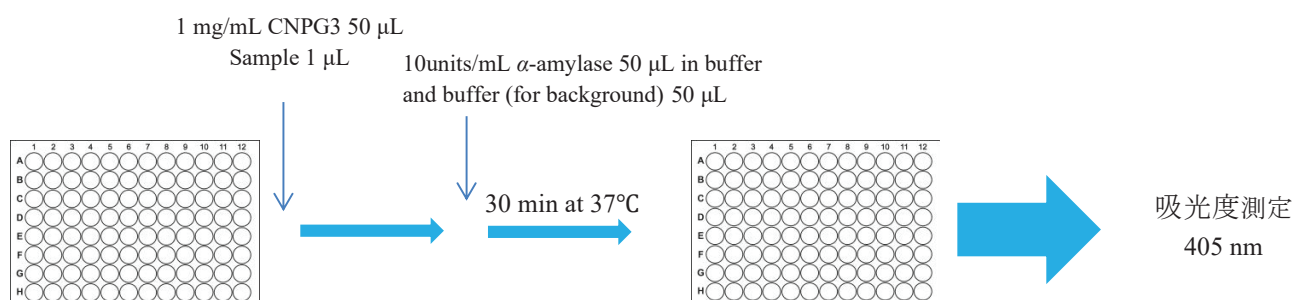
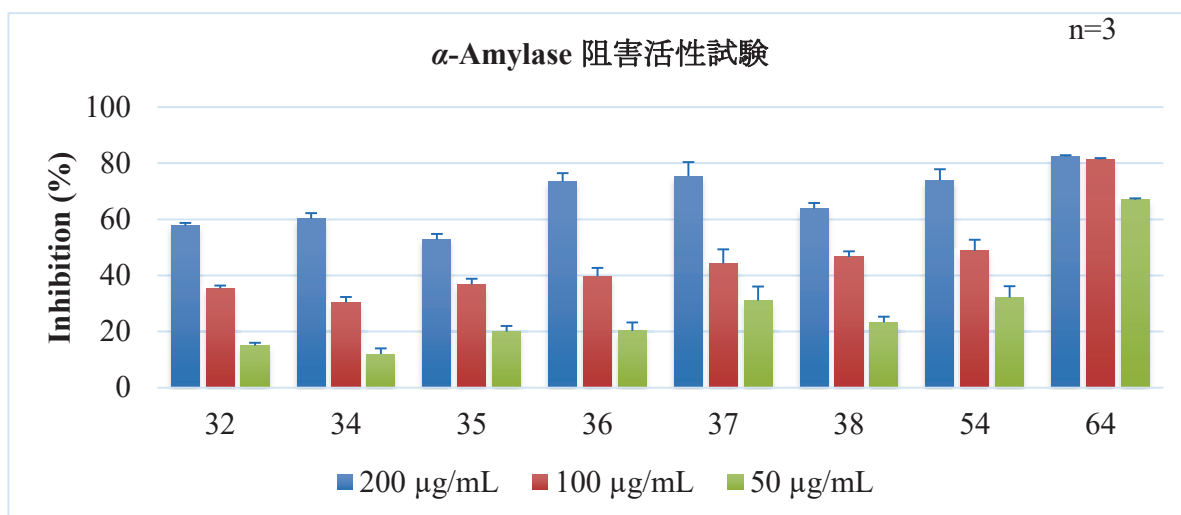


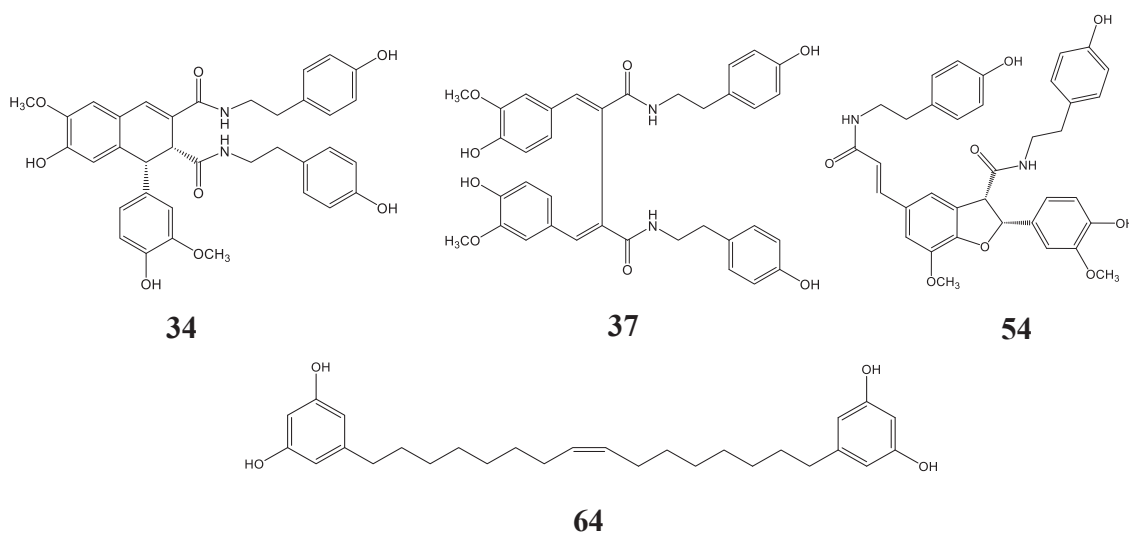
Fig. 83  $\alpha$ -Amylase 阻害活性試験プロトコール

### 第3節 $\alpha$ -Amylase 阻害活性試験の結果

$\alpha$ -Amylase 阻害活性試験を実施したところ、Compound **34**、**37**、**54**、**64** に活性が見られた。その他の化合物についてはほとんど活性は見られなかった。



Compound	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	Compound	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )
32	322.6 $\pm$ 5.6	<b>37</b>	<b>173.9 <math>\pm</math> 6.5</b>
<b>34</b>	<b>151.4 <math>\pm</math> 4.8</b>	38	428.1 $\pm$ 10.4
35	226.3 $\pm$ 2.5	<b>54</b>	<b>151.8 <math>\pm</math> 4.1</b>
36	270.5 $\pm$ 3.9	<b>64</b>	<b>122.7 <math>\pm</math> 0.2</b>
		<b>P.C (Acarbose)</b>	<b>9.3 <math>\pm</math> 0.2</b>



### 第 1 節 MTT assay について

MTT assay とは、培養細胞生存率、増殖率を確認する試験方法で、MTT (3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide、yellow tetrazole) を用いた比色定量法である。本手法で用いられる MTT のテトラゾリウム塩がミトコンドリアに存在する succinate-tetrazolium reductase (コハク酸テトラゾリウム還元酵素) によりホルマザンに還元される。生細胞中ではこの酵素活性が高いために呈色反応が認められるが、細胞死が起こるとこの活性が低下するために呈色しない。代謝活性のある生細胞数とホルマザン色素の濃度は正の相関を示すために、このホルマザン色素の吸光度測定を行うことにより細胞の生存率や増殖抑制率を評価することができる。

本研究では、クロタキカズラ *Hosiea japonica* およびベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* から単離された計 50 種の化合物を、ヒト肺胞基底上皮腺癌細胞である A549 培養液中に添加し、72hr 培養後の生存率を MTT assay により評価することで、がん細胞増殖抑制活性成分についての検討を行った。

## 第2節 A549 細胞増殖抑制試験法

培養、及び測定には 96 well plate を使用した。Control は sample を含まない DMSO 溶液を用い、positive control としてドキシソルビシンを用いた。

サンプルは DMSO 溶液で各種濃度となるように溶解した。各 well にサンプル溶液を 1  $\mu$ l 加え、これらに  $5.0 \times 10^3$  cells / 99 $\mu$ l となるように調製した A549 を含む 培地 99 $\mu$ l を加えた。その後、37 $^{\circ}$ C 条件下で 72 時間インキュベートした。96well plate 中の培地を吸引後、MTT (0.5 mg / ml) を含む培地 100  $\mu$ l を加えた後、さらに 1.5 時間 インキュベートを行った。MTT を含む培地を吸引後、DMSO 溶液 100 $\mu$ l を加えて plate mixer にて溶解。その後、plate reader で 540 nm の吸光度を測定した。

増殖抑制率は下記の式を用いて算出し、sample の A549 細胞増殖抑制活性を評価した。

$$\text{増殖抑制率 (\%)} [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / (A_{\text{control}} - A_{\text{blank}})] \times 100$$

$A_{\text{sample}}$ : サンプル添加時の吸光度

$A_{\text{blank}}$ : 細胞を加えていない DMSO 培地の吸光度

$A_{\text{control}}$ : サンプルを添加していない DMSO 培地の吸光度

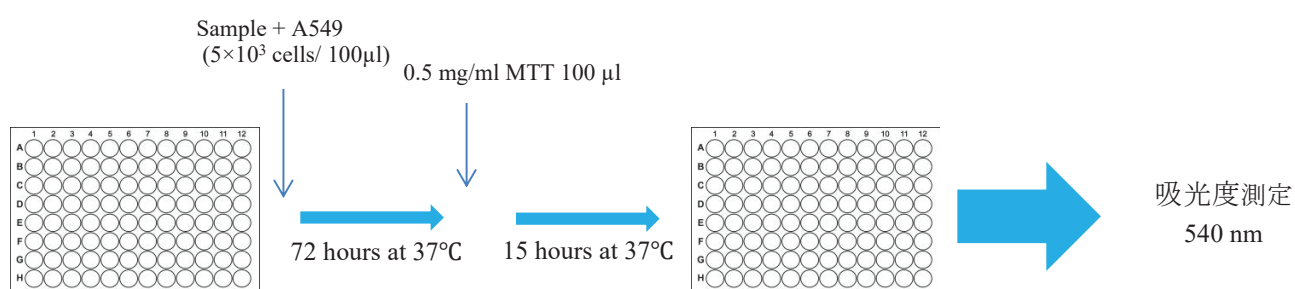
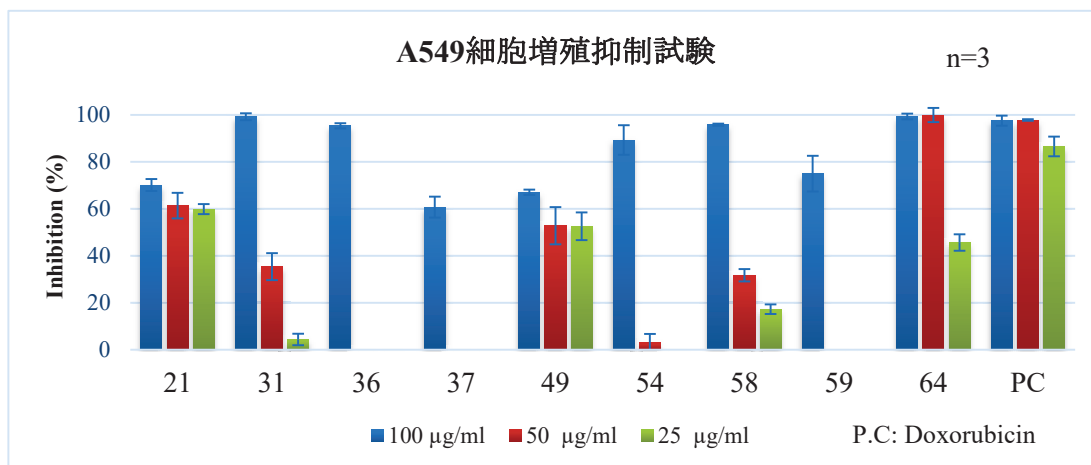


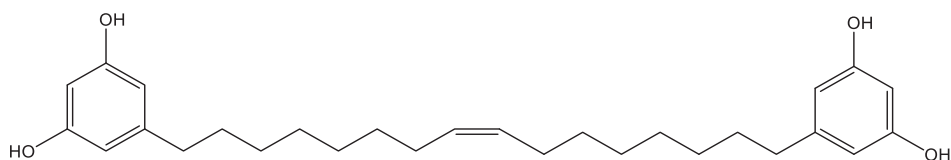
Fig. 84 A549 細胞増殖抑制試験法プロトコール

### 第3節 A549細胞増殖抑制試験の結果

クロタキカズラ *Hosiea japonica* およびベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* から単離された計 50 種の化合物に対して、A549 細胞増殖抑制試験を実施したところ、Compound **64** に比較的強い活性が見られた。



Compound	IC <sub>50</sub> (µM)	Compound	IC <sub>50</sub> (µM)
21	136.5 ± 0.6	54	133.1 ± 1.9
31	166.9 ± 0.6	58	134.3 ± 1.2
36	157.6 ± 1.2	59	187.6 ± 0.7
37	126.0 ± 0.4	<b>64</b>	<b>56.8 ± 3.7</b>
49	403.6 ± 1.1	P.C (Doxorubicin)	0.65 ± 0.2



**64**

---

## 第9章 まとめ

---

日本産植物フシグロ *Silene firma* 地上部の成分研究を行い、新規化合物2種を含む化合物20種 (Compounds 1-20) を単離し、各種スペクトルデータや化学的手法を用いて、その構造を決定した。

日本産植物クロタキカズラ *Hosiea japonica* の葉部とつるの成分研究を行い、新規化合物2種を含む化合物34種 (Compounds 21-54) を単離し、各種スペクトルデータや化学的手法を用いて、その構造を決定した。

また、ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* の樹皮の成分研究を行い、新規化合物3種を含む化合物16種 (Compounds 55-70) を単離し、各種スペクトルデータや化学的手法を用いて、その構造を決定した。

さらに、フシグロ、クロタキカズラ、ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* から単離された70種の化合物に対して、抗酸化活性、チロシナーゼ活性試験を行った。また、クロタキカズラ、ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* から単離された50種の化合物に対してはさらに、 $\alpha$  アミラーゼ活性、がん細胞増殖抑制活性試験も行った。その結果、フシグロ、クロタキカズラ、ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* から単離された化合物の中に、抗酸化活性、tyrosinase 活性、 $\alpha$ -amylase 活性、がん細胞増殖抑制活性を示す化合物を見出した。これらの活性化合物は、化粧品素材や健康増進成分として有用な素材になることが期待される。



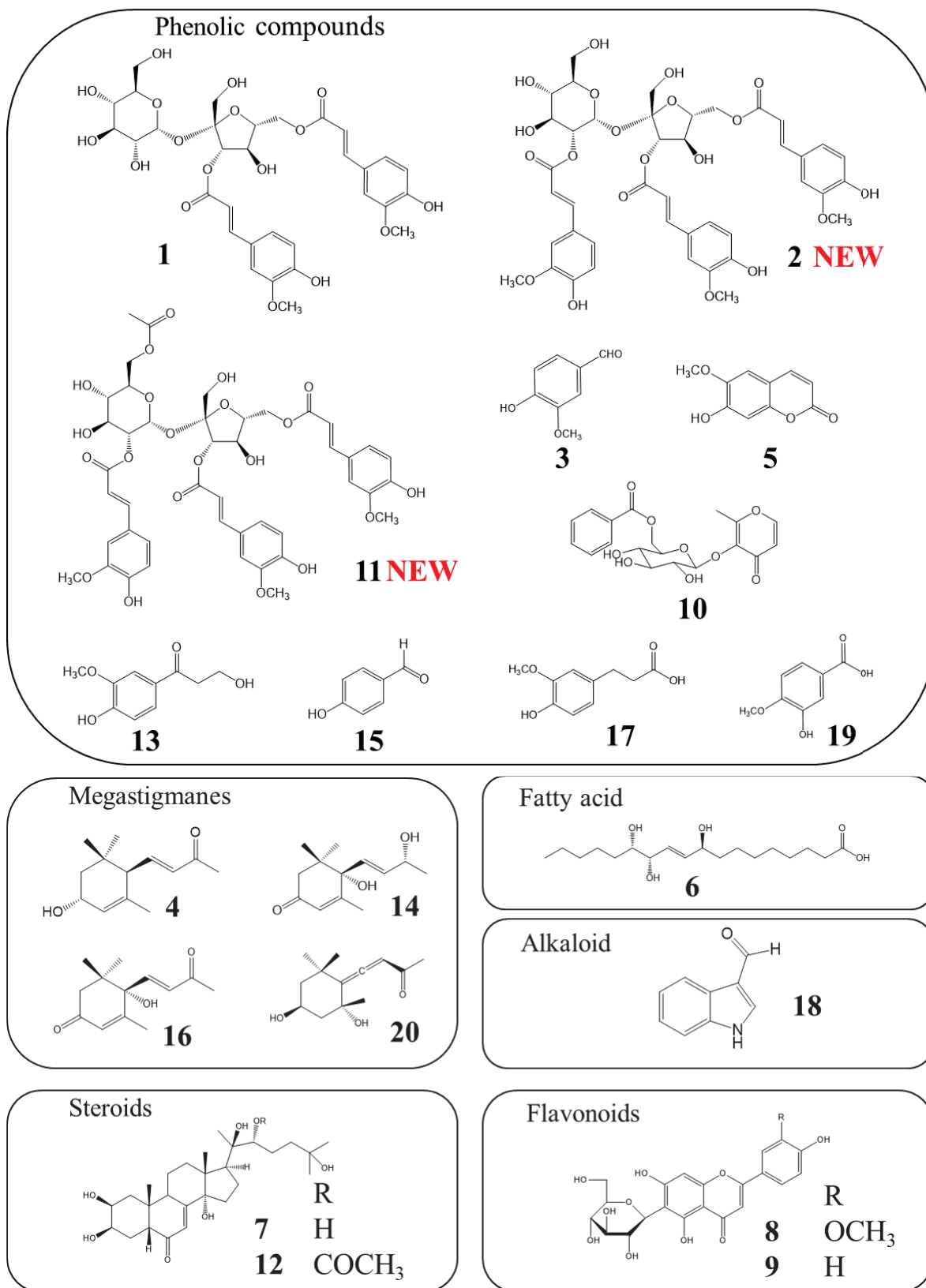


Fig. 85 Isolated compounds from the aerial parts of *Silene firma*

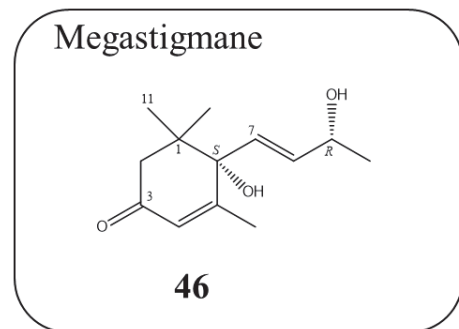
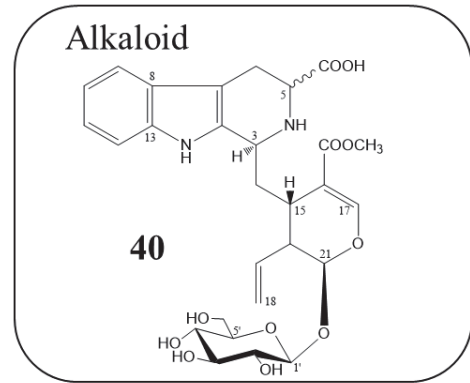
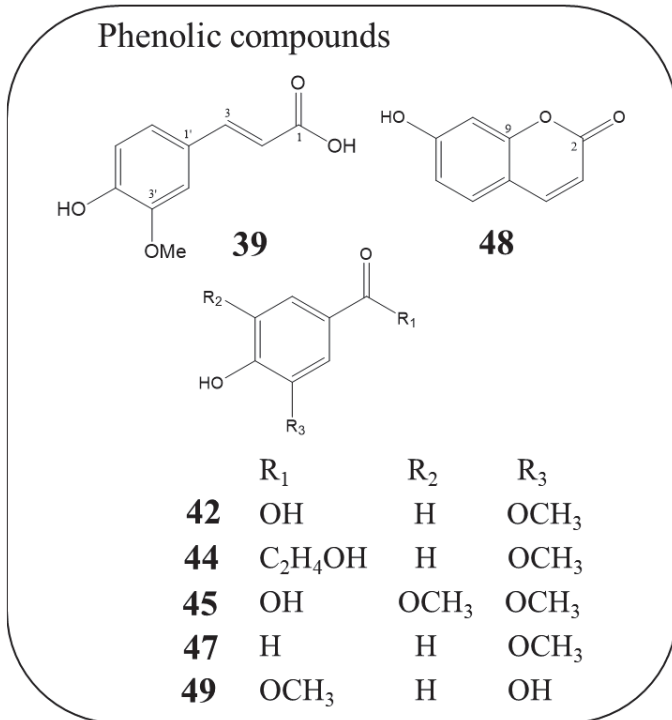
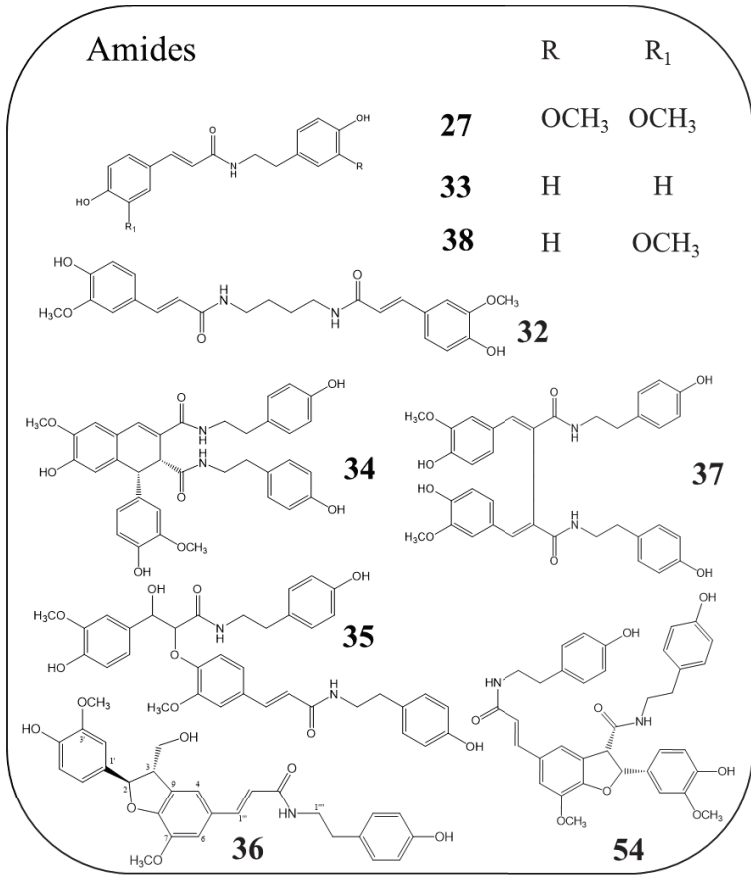
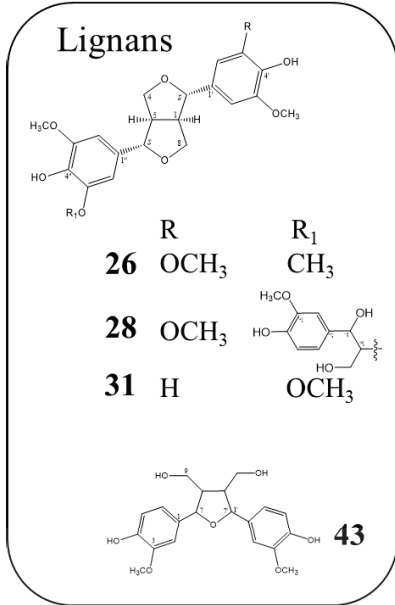
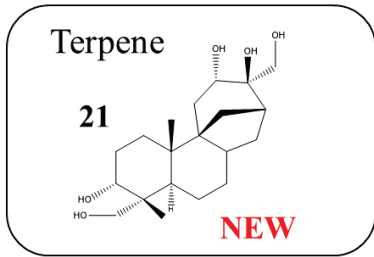


Fig. 86 Isolated compounds from the vine of *Hosiea japonica*

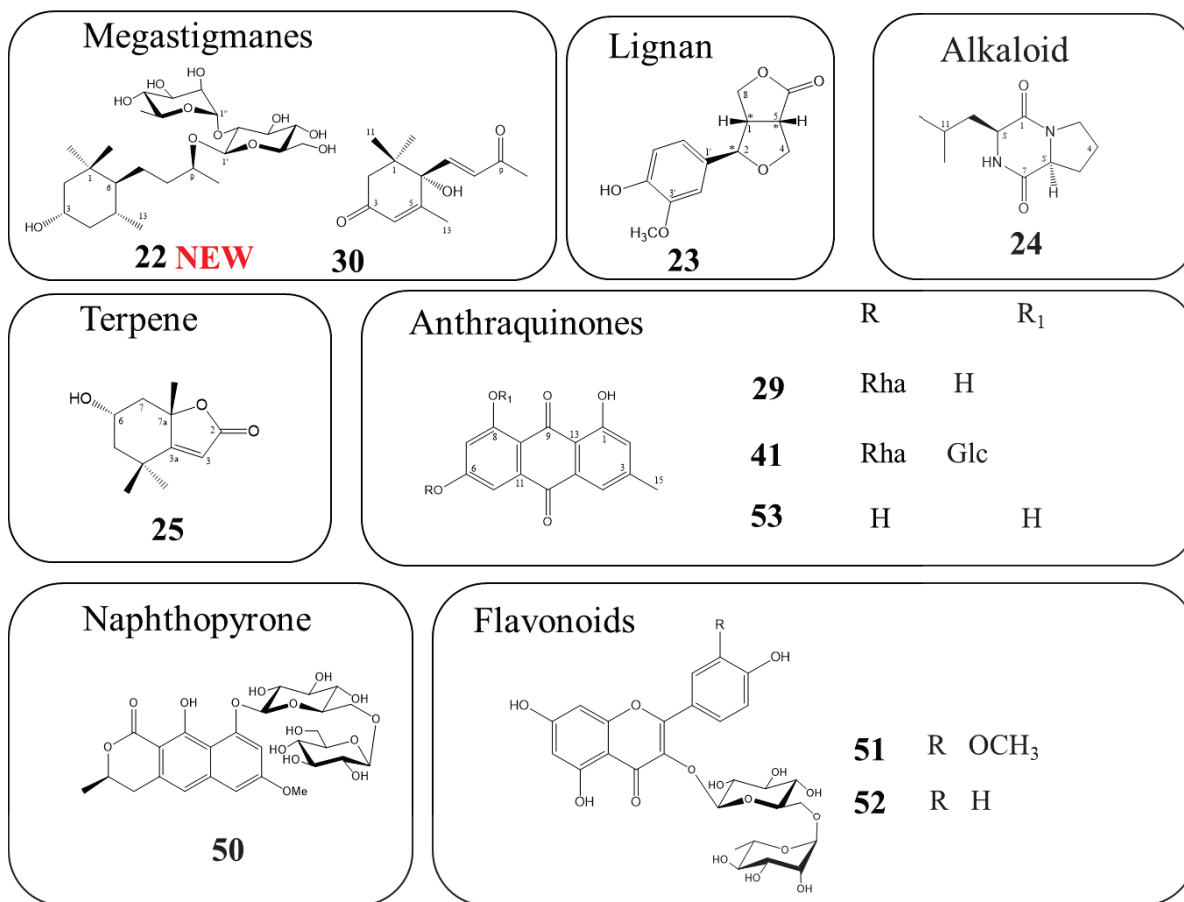
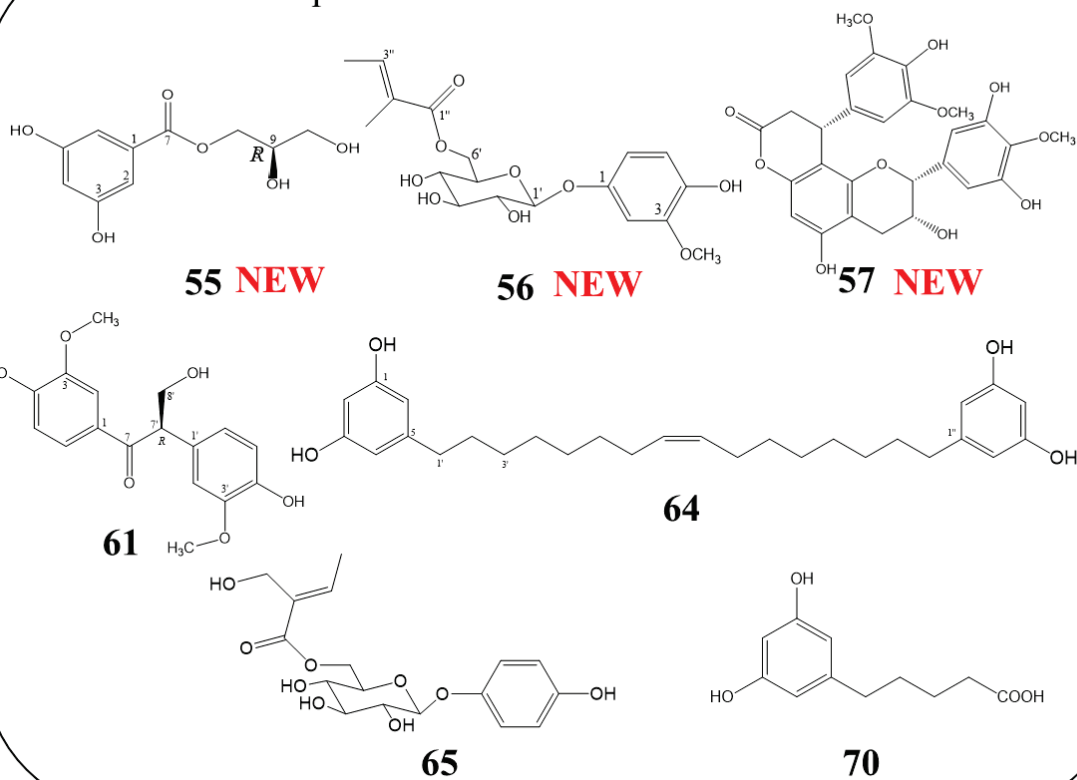
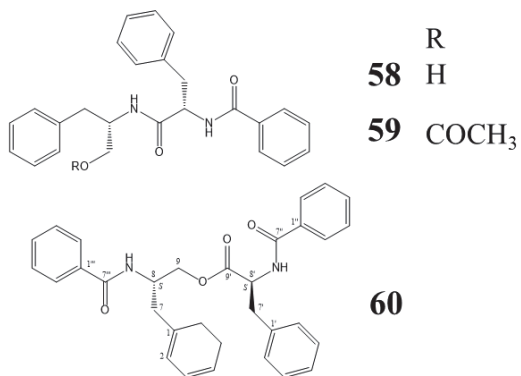


Fig. 87 Isolated compounds from the leaves of *Hosiea japonica*

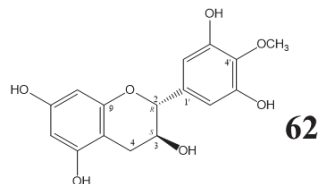
## Phenolic compounds



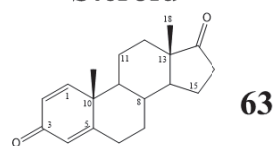
## Amides



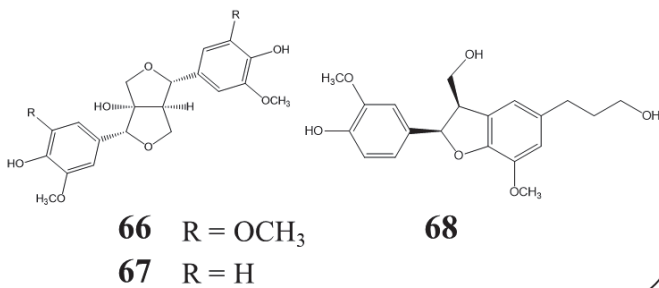
## Flavonoid



## Steroid



## Lignans



## Megastigmane

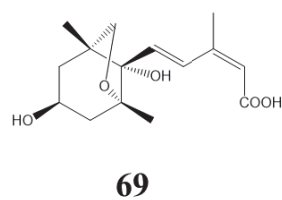


Fig. 88 Isolated compounds from the bark of *Heliciopsis terminalis*

---

---

## 第 10 章 実験の部

---

---

### 材料植物

フシグロ *Silene firma* の地上部は愛媛県の今治市で採集した。

クロタキカズラ *Hosiea japonica* の葉部とツルは 1990 年 6 月、広島県比婆郡高野町庄原市で採集した。

ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* の樹皮はベトナムの北部で採集した。

### 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

(<sup>1</sup>H NMR : 400 MHz、<sup>13</sup>C NMR : 100 MHz) または (<sup>1</sup>H NMR : 600 MHz、<sup>13</sup>C NMR : 150 MHz)。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、<sup>1</sup>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、高性能ハイブリッド型質量分析システム (Thermo Fisher Scientific 製 - 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。

## カラムクロマトグラフィー

### 1. 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。

### 2. 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)、Inertsil ODS (10×250 mm)、 $\pi$ NAP (10×250 mm)、Cholester (10×250 mm)のいずれかを使用し、検出に RI 2031 (日本分光工業)、溶媒にアセトン水系を用いて、Inertsil ODS (6.0×250 mm)では流速 1.6 mL/ min で、Inertsil ODS (10×250 mm)あるいは $\pi$ NAP (10×250 mm)では流速 2.8 mL/ min で、Cholester (10×250 mm)では流速 2.5 mL/ min で行った。

### 3. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

TLC プレートに厚さ 0.25 cm 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=10: 1 あるいはクロロホルム：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。

### 4. 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 1mL/min で行った。

### 抽出、単離、精製 (フシグロ *Silene firma*)

乾燥させたフシグロの地上部 (10.6 kg) をメタノールで3回 (45 L) 抽出し、1.5 Lに濃縮後、ヘキサン 1.5 Lで分配した。メタノール層を濃縮後、水 1.5 Lで懸濁し、酢酸エチル、1-ブタノールをそれぞれ 1.5 Lで連続的に分配、濃縮し、ヘキサン層と酢酸エチル層 (164.8 g)、1-ブタノール層 (76 g)、水層 (411.8 g) を得た。

このうち、ヘキサン層と酢酸エチル層 (164.8 g) を順相シリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、クロロホルム (3 L)、クロロホルム-メタノール (95: 5, 3 L)、(9: 1, 3 L)、(85: 15, 3 L)、(8: 2, 3 L)、(7: 3, 3 L)、(6: 4, 3 L)、(5: 5, 3 L)、メタノール (3 L) の順に溶出させ、フラクション 1-9 を得た。

### Compounds 3, 4, 5

順相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 1, 46.5 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、メタノール-水の混合溶媒 (各 500mL、30%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン) を用いて順に溶出させ、フラクション 1-9 を得た。

そのうち、メタノール溶出画分 (フラクション 1, 567.6 mg) を高速液体クロマトグラフィ (アセトン: 水=25: 75、カラム: ODS、流速: 2.8 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 18 分のピークから compound 3 (6.0 mg)、保持時間 22 分のピークから compound 4 (2.3 mg)、保持時間 28 分のピークから compound 5 (2.7 mg) を得た。

### Compounds 13, 14, 15, 16, 17, 18

順相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 2, 22.65 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィに対し、メタノール-水の混合溶媒 (各 500mL、30%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン) を用いて順に溶出させ、フラクション 1-9 を得た。

そのうち、30%メタノール溶出画分 (フラクション 1, 1.67 g) を高速液体クロマトグラフィ (アセトン: 水=25: 75、カラム: ODS、流速: 2.8 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 15 分のピークから compound 13 (11.4 mg)、保持時間 19 分のピークから compound 14 (17.5 mg)、保持時間 23 分のピークから compound 15 (20.0 mg)、保持時間 28 分のピークから compound 16 + compound 17 (18.3 mg) を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおける、40%メタノール溶出画分 (フラクション 2, 689.1 mg) を高速液体クロマトグラフィ (アセトン: 水=35: 65、カラム: ODS、流速: 2.8 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 17 分のピークから compound 18 (3.8 mg) を得た。

### Compounds 10, 11

順相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおけるクロロホルム溶出画分（フラクション 3, 14.09 g）を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィに対し、メタノール-水の混合溶媒（各 500mL、30%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1-9 を得た。

そのうち、40%メタノール溶出画分（フラクション 2, 853.5 mg）を高速液体クロマトグラフィ（アセトン：水=35：65、カラム：ODS、流速：2.8 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 14 分のピークから compound 10（300 mg）を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおける、50%メタノール溶出画分（フラクション 3, 855.4 mg）を高速液体クロマトグラフィ（アセトン：水=40：60、カラム：ODS、流速：2.8 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 20 分のピークから compound 11（16.2 mg）を得た。

### Compounds 1, 2, 6

順相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおけるクロロホルム溶出画分（フラクション 4, 13.43 g）を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィに対し、メタノール-水の混合溶媒（各 500mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1-10 を得た。

そのうち、50%メタノール溶出画分（フラクション 4, 1.29 g）を高速液体クロマトグラフィ（アセトン：水=60：40、カラム：ODS、流速：2.8 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 15 分のピークから compound 1（12.0 mg）、保持時間 25 分のピークから compound 2（70.0 mg）を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおける、60%メタノール溶出画分（フラクション 5, 928.6 mg）を高速液体クロマトグラフィ（アセトン：水=50：50、カラム：ODS、流速：2.8 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 9 分のピークから compound 6（20.0 mg）を得た。

### Compounds 7, 12

順相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおけるクロロホルム溶出画分（フラクション 5, 10.31 g）を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィに対し、メタノール-水の混合溶媒（各 500mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1-10 を得た。

そのうち、30%メタノール溶出画分（フラクション 2, 878.4 mg）を高速液体クロマトグラフィ（アセトン：水=30：70、カラム：ODS、流速：2.8 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 21 分のピークから compound 7（15.0 mg）を得た。



また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおける、40%メタノール溶出画分（フラクション3, 630.1 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水=35：65、カラム：ODS、流速：2.8 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 27 分のピークから compound 12（7.6 mg）を得た。

### Compounds 8, 9

順相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおけるクロロホルム溶出画分（フラクション 6, 9.23 g）を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィに対し、メタノール-水の混合溶媒（各 500mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1-10 を得た。

そのうち、40%メタノール溶出画分（フラクション 3, 715.3 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水=25：75、カラム：ODS、流速：2.8 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 17 分のピークから compound 8（8.8 mg）、保持時間 23 分のピークから compound 9（4.5 mg）を得た。

### 抽出、単離、精製 (クロタキカズラ *Hosiea japonica*)

乾燥させたクロタキカズラ葉部とつるをメタノールで 3 回（45 L）抽出し、1.5 L に濃縮後、ヘキサン 1.5 L で分配した。メタノール層を濃縮後、水 1.5 L で懸濁し、酢酸エチル、1-ブタノールをそれぞれ 1.5 L で連続的に分配、濃縮し、ヘキサン層と酢酸エチル層、1-ブタノール層、水層を得た。

このうち、つるの酢酸エチル層（32.5 g）を順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、クロロホルム（3 L）、クロロホルム-メタノール（95：5, 1 L）、（9：1, 1 L）、（85：15, 1 L）、（8：2, 1 L）、（7：3, 1 L）、（6：4, 1 L）、（5：5, 1 L）、メタノール（1 L）の順に溶出させ、フラクション 1-9 を得た。

また、葉部の酢酸エチル層（27.3g）を順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、クロロホルム（3 L）、クロロホルム-メタノール（95：5, 1 L）、（9：1, 1 L）、（85：15, 1 L）、（8：2, 1 L）、（7：3, 1 L）、（6：4, 1 L）、（5：5, 1 L）、メタノール（1 L）の順に溶出させ、フラクション 1-9 を得た。

### Compounds 26, 31

つるの酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分（フラクション 1, 6.01 g）を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、メタノール-水の混合溶媒（各 500 mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1-10 を得た。

そのうち、30%メタノール溶出画分（フラクション 2, 40.9 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水=35：65、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 18 分のピークから Compound 26（19.9 mg）、保持時間 22 分のピークから Compound 31（2.7 mg）を得た。

#### Compounds 27, 28, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 54

つるの酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分（フラクション 2, 6.87 g）を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに対し、メタノール-水の混合溶媒（各 500 mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient+アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1 - 10 を得た。

そのうち、30%メタノール溶出画分（フラクション 2, 139.9 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水 = 20：80、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 22 分のピークから Compound 44（2.0 mg）、保持時間 27 分のピークから Compound 45（8.1 mg）、保持時間 36 分のピークから Compound 46（7.7 mg）、保持時間 46 分のピークから Compound 47（3.0 mg）、保持時間 1 時間 1 分のピークから Compound 48（3.1 mg）、保持時間 1 時間 5 分のピークから Compound 49（8.2mg）を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、50%メタノール溶出画分（フラクション 4, 955.9 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水 = 35：65、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 24 分のピークから Compound 27（19.5 mg）、保持時間 54 分のピークから Compound 28（4.2 mg）を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、60%メタノール溶出画分（フラクション 5, 292.5 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水 = 45：55、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 23 分のピークから Compound 54（7.3 mg）を得た。

#### Compounds 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 42, 43

つるの酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分（フラクション 3, 1.99 g）を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに対し、メタノール-水の混合溶媒（各 500 mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient+アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1 - 10 を得た。

そのうち、30%メタノール溶出画分（フラクション 2, 78.1 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水 = 25：75、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 40 分のピークから Compound 39（3.2 mg）、保持時間 24 分のピークから Compound 42（6.0 mg）、保持時間 31 分のピークから Compound 43（2.2 mg）を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、50%メタノール溶出画分（フラクション 4, 353.4 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水 = 36：64、

カラム：ODS、流速：2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 16 分のピークから Compound 32 (30.9 mg)、保持時間 25 分のピークから Compound 33 (9.8 mg)、保持時間 32 分のピークから Compound 34 (12.4 mg)、保持時間 36 分のピークから Compound 35 (4.9 mg)、保持時間 38 分のピークから Compound 36 (14.8 mg)、保持時間 42 分のピークから Compound 37 (13.2 mg)、保持時間 19 分のピークから Compound 38 (9.5 mg) を得た。

#### Compound 21

つるの酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 5, 1.42 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに対し、メタノール-水の混合溶媒 (各 500 mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン) を用いて順に溶出させ、フラクション 1 - 10 を得た。

そのうち、60%メタノール溶出画分 (フラクション 5, 132.5 mg) を高速液体クロマトグラフィー (アセトン：水 = 45 : 55、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 14 分のピークから Compound 21 (12.0 mg) を得た。

#### Compound 40

つるの酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 7 and 8, 1.68 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに対し、メタノール-水の混合溶媒 (各 500 mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン) を用いて順に溶出させ、フラクション 1 - 10 を得た。

そのうち、40%メタノール溶出画分 (フラクション 3, 116.6 mg) を高速液体クロマトグラフィー (アセトン：水 = 30 : 70、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 9 分のピークから Compound 40 (5.3 mg) を得た。

#### Compounds 23, 24, 25, 30, 53

葉部の酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 2, 2.82 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに対し、メタノール-水の混合溶媒 (各 500 mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン) を用いて順に溶出させ、フラクション 1 - 10 を得た。

そのうち、20%メタノール溶出画分 (フラクション 1, 28.8 mg) を高速液体クロマトグラフィー (アセトン：水 = 20 : 80、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 28 分のピークから Compound 23 (6.5 mg) を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、30%メタノール溶出画分 (フラクション 2, 121.0 mg) を高速液体クロマトグラフィー (アセトン：水 = 30 : 70、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 15 分のピークから

Compound 24 (2.6 mg)、保持時間 19 分のピークから Compound 25 (6.4 mg)、保持時間 25 分のピークから Compound 30 (2.3 mg) を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、90%メタノール溶出画分 (フラクション 8, 27.1 mg) を高速液体クロマトグラフィー (アセトン：水 = 70 : 30、カラム : ODS、流速 : 2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 20 分のピークから Compound 53 (44.4 mg) を得た。

#### Compound 29

葉部の酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 3, 1.49 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに対し、メタノール-水の混合溶媒 (各 500mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン) を用いて順に溶出させ、フラクション 1 - 10 を得た。

そのうち、70%メタノール溶出画分 (フラクション 6, 150.0 mg) を高速液体クロマトグラフィー (アセトン：水 = 65 : 35、カラム : ODS、流速 : 2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 12 分のピークから Compound 29 (14.6 mg) を得た。

#### Compounds 22, 41, 50, 51, 52

葉部の酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 6, 1.51 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに対し、メタノール-水の混合溶媒 (各 500mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン) を用いて順に溶出させ、フラクション 1 - 10 を得た。

そのうち、50%メタノール溶出画分 (フラクション 4, 134.0 mg) を高速液体クロマトグラフィー (アセトン：水 = 30 : 70、カラム : ODS、流速 : 2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 24 分のピークから Compound 22 (3.2 mg)、保持時間 20 分のピークから Compound 50 (2.9 mg)、保持時間 31 分のピークから Compound 51 (15.2 mg)、保持時間 37 分のピークから Compound 52 (5.7 mg) を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、60%メタノール溶出画分 (フラクション 5, 92.9 mg) を高速液体クロマトグラフィー (アセトン：水 = 40 : 60、カラム : ODS、流速 : 2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 14 分のピークから Compound 41 (4.4 mg) を得た。

#### 抽出、単離、精製 (ベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis*)

乾燥させたベトナム産植物 *Heliciopsis terminalis* の樹皮をメタノールで 3 回 (45 L) 抽出し、1.5 L に濃縮後、ヘキサン 1.5 L で分配した。メタノール層を濃縮後、水 1.5 L で懸濁し、酢酸エチル、1-ブタノールをそれぞれ 1.5 L で連続的に分配、濃縮し、ヘキサン層と酢酸エチル層、1-ブタノール層、水層を得た。

このうち、酢酸エチル層 (118.28 g) を順相シリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、クロロホルム (3 L)、クロロホルム - メタノール (30 : 1, 3 L)、(20 : 1, 3 L)、(10 : 1, 3 L)、(7 : 1, 3 L)、(5 : 1, 3 L)、(3 : 1, 3 L)、(3 : 2, 3 L)、(2 : 1, 3 L)、メタノール (3 L) の順に溶出させ、フラクション 1 - 10 を得た。

#### Compounds 58, 59, 60, 63

酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 2, 1.93 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィに対し、メタノール-水の混合溶媒 (各 500 mL、30%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン) を用いて順に溶出させ、フラクション 1-9 を得た。

そのうち、50%メタノール溶出画分 (フラクション 3, 5.6 mg) を高速液体クロマトグラフィを利用せずに、Compound 63 (5.7 mg) を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおける、60%メタノール溶出画分 (フラクション 5, 66.7 mg) を高速液体クロマトグラフィ (アセトン : 水 = 60 : 40、カラム : ODS、流速 : 2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 16 分のピークから Compound 58 (10.8 mg)、保持時間 25 分のピークから Compound 59 (31.5 mg) を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおける、70%メタノール溶出画分 (フラクション 5, 95.9 mg) を高速液体クロマトグラフィ (アセトン : 水 = 60 : 40、カラム : ODS、流速 : 2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 45 分のピークから Compound 60 (14.3 mg) を得た。

#### Compounds 66, 67

酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 4, 10.41 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィに対し、メタノール-水の混合溶媒 (各 500 mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン) を用いて順に溶出させ、フラクション 1-10 を得た。

そのうち、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおける、40%メタノール溶出画分 (フラクション 3, 181.6 mg) を高速液体クロマトグラフィ (アセトン : 水 = 30 : 70、カラム : ODS、流速 : 2.0 mL/min) を用いて精製したところ、保持時間 24 分のピークから Compound 66 (10.8 mg)、保持時間 33 分のピークから Compound 67 (31.5 mg) を得た。

#### Compounds 56, 57, 61, 68, 69, 70

酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィにおけるクロロホルム溶出画分 (フラクション 5, 65.18 g) を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィに対し、メタ

ノーラー水の混合溶媒（各 500 mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1–10 を得た。

そのうち、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、30%メタノール溶出画分（フラクション 2, 875.6 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水 = 40：60、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 40 分のピークから Compound 57（4.0 mg）、保持時間 42 分のピークから Compound 61（7.2 mg）、保持時間 21 分のピークから Compound 69（5.2 mg）、保持時間 15 分のピークから Compound 70（4.5 mg）を得た。

また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、40%メタノール溶出画分（フラクション 3, 7595.1 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水 = 26：74、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 50 分のピークから Compound 56（22.0 mg）、保持時間 71 分のピークから Compound 68（35.6 mg）を得た。

#### Compound 64

酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分（フラクション 6, 9.10 g）を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに対し、メタノール水の混合溶媒（各 500 mL、20%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1–10 を得た。

そのうち、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、80%メタノール溶出画分（フラクション 7, 1365.5 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水 = 70：30、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 20 分のピークから Compound 64（10.3 mg）を得た。

#### Compounds 55, 62, 65

酢酸エチル層の順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるクロロホルム溶出画分（フラクション 7, 11.60 g）を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーに対し、メタノール水の混合溶媒（各 500 mL、10%メタノール→100%メタノールまで 10%刻みの step gradient +アセトン）を用いて順に溶出させ、フラクション 1–11 を得た。

そのうち、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける、20%メタノール溶出画分（フラクション 2, 319.5 mg）を高速液体クロマトグラフィー（アセトン：水 = 10：90、カラム：ODS、流速：2.0 mL/min）を用いて精製したところ、保持時間 24 分のピークから Compound 55（11.1 mg）、保持時間 42 分のピークから Compound 62（52.6 mg）、保持時間 35 分のピークから Compound 65（13.2 mg）を得た。

### Compound 1, 2, 11 のアルカリ加水分解と糖分析

100 mM NaOCH<sub>3</sub> solution 200 μL とメタノール 1800 μL を混合した溶液を、乾燥させた Compound 1 (2 mg) に加え、良く溶かして室温で静置した。15 分毎に振り混ぜ、TLC (展開溶媒クロロホルム : メタノール : 水 = 15 : 6 : 1) で反応の程度を確認したところ、開始 30 分で反応終了と判断した。続いて、陽イオン交換樹脂 (AMBERLITE IR 120B NA) を用いて中和し、得られた溶液を濃縮した。酢酸エチル 0.2 mL と水 0.2 mL を加えて分配を行った。上層である酢酸エチル層を除去し、得られた水層を高速液体クロマトグラフィ-にて分析した。その際に溶出溶媒としては、アセトニトリル水の混合溶媒 (75% CH<sub>3</sub>CN) を使用し、分析用カラムとして Shodex NH2P-50 (昭和電工)、検出器として OR-2090 旋光度検出計 (日本分光) を使用した。また、流速は 1.0 mL/min。sample の injection volume は 10 μL として糖分析を行った。その結果、保持時間 6 分で現れたピークが正の旋光性を示したことから、Compound 1 は sucrose を有すると判断した。

なお Compound 1 と同条件下で、標品として sucrose を 10 μL injection したところ、sucrose は保持時間 6 分のピークにおいて正の旋光性を示すことを確認している。

Compound 2、11 からは同様に、アルカリ加水分解と糖分析を行い、sucrose を有することも確認した。

### Compound 22, 56 の加水分解と糖分析

1M HCl solution 0.2 mL を、乾燥させた Compound 22 (1 mg) に加え、90°C で 2 時間反応させた。そのあと、室温に戻し、イオン交換樹脂を用いて中和し、得られた溶液を濃縮した。酢酸エチル 0.2 mL と水 0.2 mL を加えて分配を行った。上層である酢酸エチル層を除去し、得られた水層を高速液体クロマトグラフィ-にて分析した。その際に溶出溶媒としては、アセトニトリル-水の混合溶媒 (75% CH<sub>3</sub>CN) を使用し、分析用カラムとして Shodex NH2P-50 (昭和電工)、検出器として OR-2090 旋光度検出計 (日本分光) を使用した。また、流速は 1.0 mL/min。sample の injection volume は 10 μL として糖分析を行った。その結果、保持時間 6 分で現れたピークおよび保持時間 8 分で現れたピークが負および正の旋光性を示したことから、Compound 22 は L-rhamnose と D-glucose を有すると判断した。

なお Compound 22 と同条件下で、標品として L-rhamnose と D-glucose を 10 μL injection したところ、L-rhamnose は保持時間 6 分のピークおよび D-glucose は保持時間 8 分のピークにおいて負および正の旋光性を示すことを確認している。

Compound 56 からは同様に、加水分解と糖分析を行い、D-glucose を有することも確認した。

---

---

## 参考文献

---

---

- 1) <http://mikawanoyasou.org/data/husiguro.htm>
- 2) Medicinal plants in the Republic of Korea, Seoul National University, Western Pacific series, **21**, 177 (1998)
- 3) LuLu Yan, WenYuan Gao, YanJun Zhang and Yu Wang, A new phenylpropanoid glycosides from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*, *Fitoterapia*, **79**, 306- 307 (2008)
- 4) Kai Bao, Aixue Fan, Yi Dai, Liang Zhang, Weige Zhang, Maosheng Cheng and Xinshing Yao, Selective demethylation and debenzoylation of aryl ethers by magnesium iodide under solvent- free conditions and its application to the total synthesis of natural products, *Organic and Biomolecular Chemistry*, **7** (24), 5084- 5090 (2009)
- 5) Peng Wen-wen, Song Wei-wu, Huang Mao-bo, Tan Ning-hua and Jiangxi Key, Monoterpenes and sesquiterpenes from *Clausena excavate*, *China Journal of Chinese Materia Medica*, **9**, 1620- 1624 (2014)
- 6) Wang Li, Yu Ming-ming, Chi yu-qian, Ouyang Wen-bin, Zang Zhen and Zhao Yong, Chemical constituents of *Euphorbia dracunculoides*, *China Journal of Chinese Materia Medica*, **20**, 3969-3973 (2014)
- 7) Tatsuya Shirahata, Toshiaki Sunazuka, Kiminari Yoshida, Daisuke Yamamoto, Yoshihiro Harigaya, Isao Kuwajima, Takayuki Nagai, Hiroaki Kiyohara, Haruki Yamada and Satoshi Omura, Total synthesis, elucidation of absolute stereochemistry, and adjuvant activity of trihydroxy fatty acids, *Tetrahedron*, **62**, 9483-9496 (2006)
- 8) Patrick G. Roussel, Vladimir Sik, Nicholas J. Turner and Laurence N. Dinan, Synthesis and biological activity of side-chain analogues of ecdysone and 20- hydroxyecdysone, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 2237- 2246 (1997)
- 9) Felice Senatore, Mario D'Agostino and Irene Dini, Flavonoid Glycosides of *Barbarea vulgaris* L. (Brassicaceae), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 2659- 2662 (2000)
- 10) S. Rayyan, T. Fossen, H. Solheim Natcland and O. M. Anersen, Isolation and Identification of Flavonoids, Including Flavone Rotamers, From the Herbal Drug 'Crataegi Folium Cum Flore' (Hawthorn), *Phytochemical Analysis*, **16**, 334-341 (2005)
- 11) Takahiro Nakano, Sachiko Sugimoto, Katsuyoshi Matsunami, and Hideaki Otsuka, Dianthosaponins A-F, Triterpene Saponins, Flavonoid Glycoside, Aromatic Amide Glucoside and  $\gamma$ -Pyrone Glucoside from *Dianthus japonicas*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **59** (9), 1141-1148 (2011)



- 12) V.N. Odinkov, I.V. Galyautdinov, D.V. Nedopekin, L.M. Khalilov, A.S. Shashkov, V.V. Kachala, L. Dinan, and R. Lafont, Phytoecdysteroids from the juice of *Serratula coronate* L. (Asteraceae), *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **32**, 161- 165 (2002)
- 13) Lui Sui-ku, Que Sheng, Cheng Wei, Zhang Qing-ying, and Liang Hong, Chemical constituents from whole plants of *Carduus acanthoides*, *China Journal of Chinese Materia Medica*, **38** (14), 2334-2337 (2013)
- 14) Yuh-Chwen Chang, Fang-Rong Chang, and Yang-Chang Wu, The Constituents of *Lindera glauca*, *Journal of the Chinese Chemical Society*, **47**, 373-380 (2000)
- 15) Guan Wang, Lingjuan Zhu, Yuqian Zhao, Suyu Gao, Dejuan Sun, Jingquan Yuan, Yuxin Huang, Xue Zhang, and Xinsheng Yao, A natural product from *Cannabis sativa* subsp. *sativa* inhibits homeodomain- interacting protein kinase 2 (HIPK2), attenuating MPP<sup>+</sup>- induced apoptosis in human neuronblastoma SH- SY5Y cells, *Bioorganic Chemistry*, **72**, 64-73 (2017)
- 16) Hisahiro Kai, Masaki Baba, and Toru Okuyama, Two new Megastigmanes from the Leaves of *Cucumis sativus*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **55** (1), 133-136 (2007)
- 17) Oliver Kreye, Tommy Toth, and Michael A.R. Meier, Copolymers derived from rapeseed derivatives via ADMET and thiol-ene addition, *European Polymer Journal*, **47**, 1804-1816 (2011)
- 18) Rong Guang-qing, Geng Chang-an, Ma Yun-bao, Huang Xiao-yan, Wang Hong-ling, Zhao Yong, Zhang Xue-mei, and Chen Ji-jun, Chemical constituents from ethyl acetate extract of flower of *Albizia julibrissin*, *China Journal of Chinese Materia Medica*, **39** (10), 1845-1851 (2014)
- 19) Mohamed A. Ashour, Ehab S.Elkhayat, Rainer Ebel, RuAngelie Edrada, and Peter Proksch, Indole alkaloid from the Red Sea sponge *Hyrtios erectus*, *ARKIVOC*, **15**, 225-231 (2007)
- 20) Yan Zou, Lei Zhang, Jie-kun Xu, Qian Cheng, Xian-sheng Ye, Ping Li, Wei-ku Zhang, Yong-ji Li, A new benzaldehyde from aerial part of *Rehmannia glutinosa*, *China Journal of Chinese Materia Medica*, **40** (7), 1316-1319 (2015)
- 21) Hai-xue Kuang, Bing-you Yang, Yong-gang Xia, Wei-sheng Feng, Chemical constituents from the flower of *Datura metel* L, *Archives of Pharmacal Research*, **31**, 1094-1097 (2008)
- 22) <http://www.mitomori.co.jp/hanazukan2/hana2.7.200kurota.html>
- 23) Matsunami K, Otsuka H, Takeda Y, Structural revisions of blumenol C glucoside and byzantionoside B, *Chem. Pharm. Bull.* **58**(3), 438—441 (2010)
- 24) Morikawa T, Zhang Y, Nakamura S, Matsuda H, Muraoka O, Yoshikawa M, Bioactive constituents from Chinese natural medicines. XXII. Absolute structures of new megastigmane

glycosides, sedumosides E1,E2, E3, F1, F2, and G, from *Sedum sarmentosum* (Crassulaceae), Chem. Pharm. Bull. **55**(3), 435-441 (2007)

25) Gonzalez AG, Reyes RE, Mato C, Salicifoliol, A new furo lactone-type lignan from *Bupleurum salicifolium*, J Nat Prod, **52** (5), 1139-1142 (1989)

26) Aguiar RM, Antioxidant activities of isolated compounds from stems of *Mimosa invisa* Mart. ex Colla, Quim Nova, **35** (3), 567-570 (2012)

27) Han Y, Li Y, Shen Y, Li J, Li W, Shen Y, Oxoprothracarcin, a novel pyrrolo [1,4] benzodiazepine antibiotic from marine *Streptomyces* sp. M10946, DDT, **7** (6), 243-247 (2013)

28) Park K, Kim Y, Jung H, Lee H, Ahn J, Lee B, Three norisoprenoids from the brown alga *Sargassum thunbergii*, Korean Chem Soc, **7** (4), 394-398 (2004)

29) Cai X, Lee I, Dat N, Shen G, Kang J, Kim D, Inhibitory lignans against NFAT transcription factor from *Acanthopanax koreanum*, Arch Pharm Res, **27** (7), 738-741 (2004)

30) Chen C, Chang F, Yen H, Wu Y, Amides from stems of *Annona cherimola*, Phytochemistry, **49** (5), 1443-1447 (1998)

31) Li H, Song H, Li H, Pan Y, Li R, Characterization of phenolic compounds from *Rhododendron alutaceum*, Arch Pharm Res, **35** (11), 1887-1893 (2012)

32) Francis GW, Aksnes DW, Holt O, Assignment of the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra of anthraquinone glycosides from *Rhamnus frangula*, Magn Reson Chem, **36**, 769-772 (1998)

33) Kai H, Baba M, Okuyama T, Two new megastigmanes from the leaves of *Curcuma sativus*, Chem Pharm Bull, **55** (1), 133-136 (2007)

34) Wang W, Liu X, Gao H, Zhang Y, Li X, Fan M, Dong F, Chemical constituents from aerial parts of *Clematis manshurica*, Chin Tradit Herbal Drugs, **45** (17), 2440-2446 (2014)

35) Raj MK, Balachandran C, Durairandiyan V, Agastian P, Ignacimuthu S, Vijayakumar A, Isolation of terrestribisamide from *Peltophorum pterocarpum* (DC.) Baker ex. K. Heyne and its antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities, Med Chem Res, **22**, 3823-3830 (2013)

36) Kim D, Lee K, Inhibitory effect of trans-N-p-coumaroyl tryamine from the twigs of *Celtis chinesis* on the acetylcholinesterase, Arch Pharm Res, **26** (9), 735-738 (2003)

37) DellaGreca M, Previtera L, Purcaro R, Zarrelli A, Cinnamic acid amides and lignanamides from *Aptenia cordifolia*, Tetrahedron, **62**, 2877-2882 (2006)

38) Sakakibara I, Ikeya Y, Hayashi K, Okada M, Maruno M, Three acyclic bis-phenylpropane lignanamides from fruits of *Cannabis sativa*, Phytochemistry, **38** (4), 1003-1007 (1995)

- 39) Li S, Chemical constituents from *Gnaphlium affine*, Chin Tradit Herbal Drugs, **45** (10), 1373-1377 (2014)
- 40) Sakakibara I, Ikeya Y, Hayashi K, Okada M, Maruno M, Three acyclic bis-phenylpropane lignanamides from fruits of *Cannabis sativa*, Phytochemistry, **38** (4), 1003-1007 (1995)
- 41) Ma J, Jones SH, Hecht SM, Phenolic acid amides: a new type of DNA strand scission agent from *Piper caninum*, Bioorg Med Chem, **12**, 3885-3889 (2004)
- 42) Prachayasittikul S, Suphamong S, Worachatchewan, A, Lawung R, Prachayasittikul V, Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr, Molecules, **14**, 850-867 (2009)
- 43) Wang X, Li L, Li J, Liu Y, Liu J, Wu S. Chemical constituents of the seed cake of *Jatropha curcas*. Chem Nat Compd, **54** (3), 606-609 (2018)
- 44) Aimi N, Seki H, Sakai S, Synthesis of lyaloside, a prototypal  $\beta$ -carboline gluco indole alkaloid in rubiaceous plants, Chem Pharm Bull, **40** (9), 2588-2590, (1992)
- 45) Shen C, Chen C Lee S, Polar constituents from *Segeretia thea* leaf characterized by HPLC-SPE-NMR assisted approaches, J Chin Chem Soc, **56**, 1002-1009 (2009)
- 46) Li K, Chen Y, Yue C, Yang C, Yuan X, Chemical constituents from effective fraction of leaves of *Microcos paniculate* with protection on acute myocardial ischemic injury, Chin Tradit Herbal Drugs, **45** (23), 3373-3376 (2014)
- 47) Zhang C, Wang Y, Liu Y, Liang D, Hao Z, Luo H, Lignans from the rhizomes of *Iris tectorum*. Fitoterapia, **108**, 93-97 (2016)
- 48) Liu S, Que S, Cheng W, Zhang Q, Liang H, Chemical constituents from whole plants of *Carduus acanthoides*, China Journal of Chinese Material Medica, **38** (14), 2334-2337 (2013)
- 49) Li Z, Zhang X, Ya J, Fan L, Ye W. Chemical constituents from the aerial parts of *Lamiophlomis rotate*. Chin J Nat Med, **6** (2), 342-344 (2008)
- 50) Chang Y, Chang F, Wu Y, The constituents of *Lindera glauca*, J Chin Chem Soc, **47**, 373-380 (2000)
- 51) Bao K, Fan A, Dai Y, Zhang L, Zhang W, Cheng M, Yao X, Selective demethylation and debenzoylation of aryl ethers by magnesium iodide under solvent-free conditions and its application to the total synthesis of natural products, Org Biomol Chem, **7** (24), 5084-5090 (2009)
- 52) Shi L, Ma G, Yang J, Gulinar S, Jia X, Chemical constituents from plant of *Stelleropsis tianschanica*, Chin Tradit Herbal Drugs, **47** (2), 223-226 (2016)
- 53) Rudiyanayah, Garson MJ, Secondary metabolites from the wood bark of *Durio zibethinus* and *Durio kutejensis*, J Nat Prod, **69**, 1218-1221 (2006)

- 54) Vilegas W, Dokkedal AL, Piacente S, Rastrelli L, Pizza C, New naphthopyranone glycosides from *Paepalanthus vellozioides* and *Paepalanthus latipes*, *J Nat Prod*, **62**, 746-749 (1999)
- 55) Lee H, Kim H, Song Y, Jin C, Lee K, Cho J, Lee Y, Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*, *Arch Pharm Res*, **26** (12), 1018-1023 (2003)
- 56) Kazuma K, Noda N, Suzuki M, Malonylates flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*, *Phytochemistry*, **62**, 229-237 (2003)
- 57) Sanchez JF, Entwistle R, Hung J, Yaegashi J, Chiang, Y, Wang CCC, Oakley BR, Genome-base deletion analysis reveals the prenyl xanthone biosynthesis pathway in *Aspergillus nidulans*, *J Am Chem Soc*, **133**, 4010-4017 (2011)
- 58) Seca AML, Silva AMS, Silvestre AJD, Cavaleiro JAS, Domingues FMJ, Neto CP, Lignanamides and other phenolic constituents from the bark of kenaf (*Hibicus cannabinus*), *Phytochemistry*, **58**, 1219-1223 (2001)
- 59) [http://tplant.web.fc2.com/3yamamo\\_heliciopsis.html](http://tplant.web.fc2.com/3yamamo_heliciopsis.html)
- 60) Xu S, Shang MY, Liu GX, Xu F, Wang X, Shou CC, Cai SQ. Chemical constituents from the rhizomes of *Smilax glabra* and their antimicrobial activity, *Molecules*, **18**, 5265-5287 (2013) doi:10.3390/molecules18055265
- 61) Kim Y, Kim H, Oh K, Seo Y, Chemical constituents of the halophyte *Vitex rotundifolia*, *J Korean Chem Soc*, **58** (6), 686-690 (2014)
- 62) Chen L, Na X, Xie H, Zhang Y, Cyclopeptide alkaloids and other compounds from *Ixora amplexicaulis*, *Chem Nat Compd*, **55** (1), 194-197 (2019)
- 63) Catalan CAN, Heluani CS, Kotowicz C, A linear sesterterpene, two squalene derivatives and two peptide derivatives from *Croton hieronymi*, *Phytochemistry*, **64**, 625-629 (2003)
- 64) Zeng Q, Ye J, Ren J, Cheng X, Qin J, Zhang W, Chemocal constituents from *Aphanamixis grandifolia*, *Chem Nat Compd*, **49** (3), 486-492 (2013)
- 65) Maregesi SM, Hermans N, Dhooghe L, Cimanga K, Ferreira D, Pannecouque C, Berghe DAV, Phytochemical and biological investigations of *Elaeodendron schlechteranum*, *J Ethnopharmacol*, **129**, 319-326 (2010)
- 66) Faramarzi MA, Yaazdi MT, Jahsendar H, Amini M, Esfahani HR, Studies on the microbial transformation of androsrt-1,4-dien-3,17-dione with *Acremonium strictum*, *J Ind Microbiol Biotechnol*, **33**, 725-733 (2006)
- 67) Chaturvedula VSP, Schilling JK, Miller JS, Andriantsiferana R, Rasamison VE, Kingston DGI, New cytotoxic bis 5-alkylresorcinol derivatives from the leaves of from the Madagascar rainforest, *J Am Chem Soc*, -, 1627-1632 (2002)

- 68) He QQ, Liu MS, Jin DJ, Kong LY, Phenolic glycosides from leaves of *Heliciopsis lobata*, J Asian Nat Prod Res, **8** (4), 373-377 (2006)
- 69) Tsukamoto H, Hisada S, Nishibe S, Lignans from bark of *Fraxinus mandshurica* var. japonica and *F. japonica*, Chem Pharm Bull, **32** (11), 4482-4489 (1984)
- 70) Hanawa F, Shiro M, Hayashi Y, Heartwood constituents of *Betula maximowicziana*, Phytochemistry, **45** (3), 589-595 (1997)
- 71) Tan RX, Jakupovic J, Jia ZJ, Aromatic constituents from *Vladimiria souliei*, Planta Med, **56**, 475-477 (1990)
- 72) Zhang Z, Zhang W, Ji Y, Wang C, Hu J, Gynostemosides A-E, megastigmane glycosides from *Gynostemma pentaphyllum*, Phytochemistry, **71**, 693-700 (2010)
- 73) Takagaki A, Nanjo F, Metabolism of (-)-epigallocatechin gallate by rat intestinal flora, J Agric Food Chem, **58**, 1313-1321 (2010)
- 74) Takehisa Iwama, Keigo Matsumoto, Takayuki Imoto, Nobuhide Miyachi, Masahiro Goto, Cosmetic, external skin preparation, and medical instrument, (2015)

---

---

## 謝辞

---

---

本研究を行うにあたり、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、広島大学大学院医系科学研究科 薬科学専攻 創薬科学講座 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、的確なご教示、ご助言を賜りました、本講座 山野 幸子 准教授に深謝するとともに、深く御礼申し上げます。また博士研究を行うに当たり、実験方法、研究に対する姿勢等につきまして御指導を賜りました本講座 山野 喜 助教に深く御礼申し上げます。さらに、これまで温かく下さった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に支えてくれた家族に心から感謝しています。

2020, 6-26, 生薬学研究室

NGUYEN HOANG UYEN