T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	植物の腺毛分泌物の化学的成分研究
Title(English)	
著者(和文)	浅井禎吾
Author(English)	Teigo Asai
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:乙第4045号, 授与年月日:2011年3月31日, 学位の種別:論文博士, 審査員:藤本 善徳
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:乙第4045号, Conferred date:2011/3/31, Degree Type:Thesis doctor, Examiner:
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

植物の腺毛分泌物の化学的成分研究

浅 井 禎 吾

目　　次

第 1 章　序論 P-1

1-1. 研究の背景 P-1

1-2. 研究の目的 P-17

1-3. 腺毛を有する植物の探索および分泌物の抽出法 P-18

第 2 章　シソ目植物の腺毛分泌物の成分研究 P-22

2-1. ゴマノハグサ科キリの腺毛分泌物 P-22

2-2. ツノゴマ科キバナツノゴマおよびツノゴマの腺毛分泌物 P-57

2-3. ハマウツボ科ヤセウツボの腺毛分泌物 P-90

2-4. ゴマ科 *Uncarina* 属植物の腺毛分泌物 P-97

2-5. キツネノマゴ科 *Brillantaisia* sp. の腺毛分泌物 P-111

2-6. シソ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ P-114

第 3 章　ナデシコ目植物の腺毛分泌物の成分研究 P-115

3-1. ナデシコ科シロバナマンテマの腺毛分泌物 P-115

3-2. ナデシコ科オランダミミナグサの腺毛分泌物 P-125

3-3. ナデシコ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ P-139

第 4 章　バラ目植物の腺毛分泌物の成分研究 P-142

4-1. バラ科ソメイヨシノの腺毛分泌物 P-142

4-2. バラ科カジイチゴの腺毛分泌物 P-148

4-3. バラ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ P-150

第 5 章　フウロソウ目植物の腺毛分泌物の成分研究 P-152

5-1. フウロソウ科アメリカフウロの腺毛分泌物 P-152

5-2. フウロソウ科 *Geraniumu maderense* の腺毛分泌物 P-157

5-3. フウロソウ科ゲンノショウコの腺毛分泌物 P-164

5-4. フウロソウ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ P-166

第 6 章　ブナ目植物の腺毛分泌物の成分研究　P-168

6-1.　クルミ科オニグルミの腺毛分泌物　P-168

6-2.　ブナ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ　P-182

第 7 章　その他の目に属する植物の腺毛分泌物の成分研究　P-184

7-1.　ユリ科ホトトギスの腺毛分泌物　P-184

7-2.　キク科ノブキの腺毛分泌物　P-185

7-3.　ナス科 *Nicotiana sylvestris* の腺毛分泌物　P-188

第 8 章　総括　P-189

8-1.　腺毛の分布場所と二次代謝産物の組成　P-189

8-2.　腺毛分泌物に含まれていた化学物質の構造　P-189

8-3.　植物の系統的分類と腺毛分泌物に含まれる化学成分との関連性　P-199

8-4.　腺毛と他の組織の関連性　P-201

8-5.　腺毛と表皮細胞　P-202

結語　P-207

実験の部　P-209

参考文献　P-263

謝辞　P-277

第 1 章　序　論

1-1. 研究の背景

植物体表面にはいろいろな形や太さの毛状構造をはじめ、小さな突起、溝、穴、液体の詰まった袋状構造など、実に様々な微細構造 (epidermal appendages) が見られる (図 1-1)。これらの微細構造は、従来、植物種の同定に利用可能な形質の 1 つとして、主に分類学的な観点から研究されてきた。それらがどのような機能を持つかは、実はまだほとんど明らかにされていない。近年、植物の微細構造に関する生態学研究がなされはじめ、これらの微細構造の多くには、植食昆虫による食害からの回避などの防御機能があるのではないかと考えられるようになってきた。例えば、様々な植物に見られる花外蜜線は、花以外の場所に発達する蜜を分泌する小器官であり、実際、サクラの花外蜜線には、アリが集まってくる様子が観察でき、確かに分泌物をなめると甘い味がする。キリの皿状器官は、糖を分泌しており、それをアリがなめている様子からも、花外蜜線の相同器官とみなしてよいことがとわかった (Kobayashi et al., 2009)。

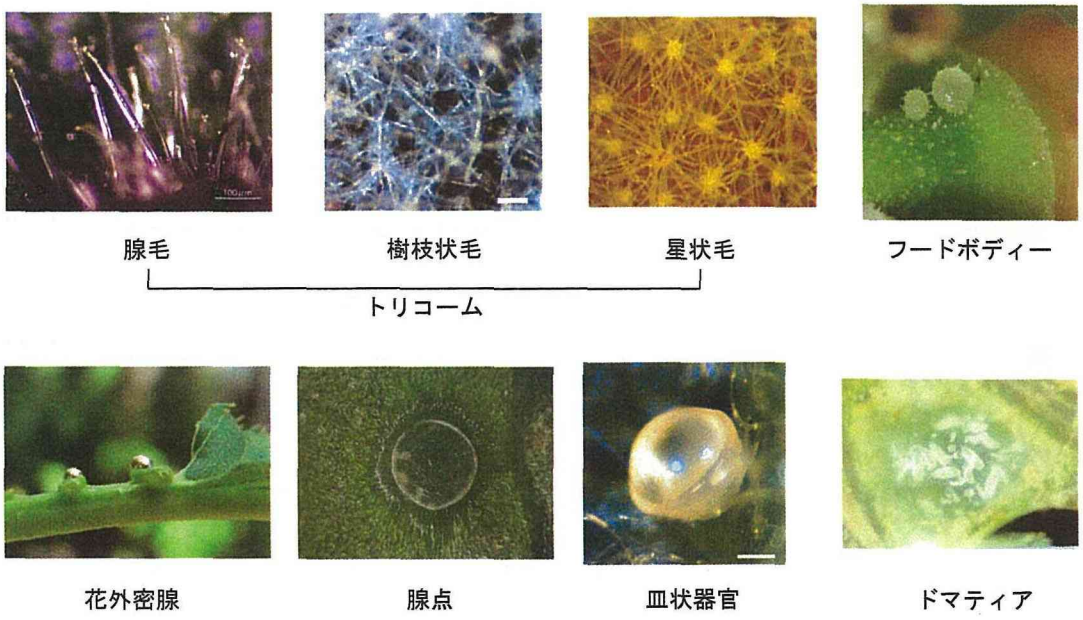


図 1-1. 植物体表面にみられる微細構造 (上段左から：キリの腺毛、キリの樹枝状毛、アカメガシワの星状毛、ヤブガラシのフードボディー、下段左から：サクラの花外蜜線、クサギの腺点、キリの皿状器官、クスノキのドマティア

ツタやヤブガラシなど、ブドウ科の植物によく見られる粒状の分泌物であるフードボディーの主成分はトリグリセリドであり、また、フードボディーをアリが巣に持って帰る様子からも栄養源として利用していると推測されている。このように、花外蜜線やフードボディーは、アリに植食者を追い払ってもらうことで、共生関係を築くのに役立っていると考えられている。ドマティアは空洞や穴などの植物構造であり、捕食性や菌食性のダニに外敵を追い払ってもらう代わりに生息空間を提供していると考えられており (Walter, 1996)、花外蜜線やフードボディーと同様、他の生物との共生関係を築くのに利用されていると考えられている。このように観察事実に基づく生態学的な研究によりその機能が推定されているものもあるが、実際にはほとんどの微細構造において、その役割はよくわかっていない。

トリコームは植物の表皮細胞から分化した毛状構造で、最も一般的にみられる微細構造の一つであり、non-glandular trichome (単純毛) と glandular trichome (腺毛) に大別される。単純毛はかなり多くの植物種に見られる形質で、単一もしくは複数の細胞で形成されており、形状は単純なものから枝分かれしている複雑な構造のものまで多様性に富んでいる。例えば、アカメガシワの新葉では星形 (星状毛、stellate trichome) が、キリの成木の葉には密生した樹枝状毛 (dendritic trichome) が発達している。この他にも、T 型 (T-shaped trichome) や鉤状毛 (hooked trichome) など様々な形状のものが存在している (Werker, 2000)。生理的役割に関する研究はあまり進んでおらず推測の域を脱しないが、多くの単純毛は形態的特性 (硬度、密度、形状等) を利用して物理的に植物体を保護していると考えられている。例えば、トケイソウ (*Passiflora adenopoda*) の葉の表面に発達している単純毛は比較的硬い鉤型をしており、ドクチョウ (*Heliconius melpomene*) の幼虫の皮膚を傷つけることにより、その植食活動を物理的に妨げていることが知られている (Gilbert, 1971)。最近、筆者らは、キリ (*Paulownia tomentosa*) の成木の葉にみられる樹枝状毛において、向軸側 (abaxial, 陽の当る面) と背軸側 (adaxial) それぞれに含まれる二次代謝物を比較し、向軸側の樹枝状毛にのみフラバノン類が存在することを明らかにし、キリの樹枝状毛は物理的に

葉を保護しているだけでなく、フラバノン類を適切に局在させることにより、UV-Bによるストレスを軽減している可能性を示した (Kobayashi et al., 2009)。このように、形質的特性を利用するだけでなく、特定の二次代謝物を適切に局在させることにより、機能を発現している可能性も示された。

腺毛は、単純毛と同じく毛状構造であるが、先端に分泌細胞を有しており、多量の油状物質を分泌する特異な微細構造である。腺毛は、形状、分布場所、分泌様式等の違いにより様々な分類がなされているが、形状と分泌様式の観点から、大きく分けて盾型および有頭型の2つに分類することができる (図 1-2) (Weker, 2000)。

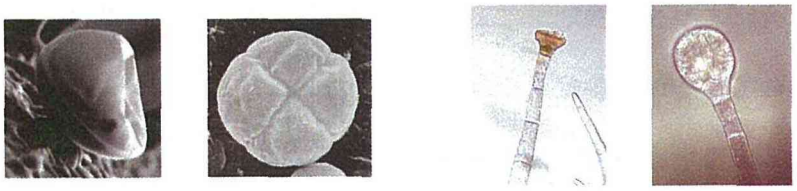


図 1-2. 盾型腺毛 (Schilmiller et al., 2008) と有頭型腺毛

盾型は柄が短く、分泌組織は複数の細胞から構成されており比較的大きい。分泌様式は、分泌物を一度 sub-cuticlar スペースに蓄え、外部刺激により、もしくは許容量をオーバーすることで、sub-cuticlar 層が崩壊し、蓄えていた分泌物を放出する (Valentino et al., 1997) (図 1-3)。

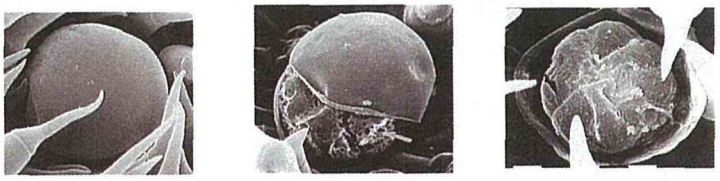


図 1-3. 盾型腺毛の分泌様式 (Valentino et al., 1997)

一方、有頭型は、形状的には柄が分泌細胞の長径の半分以上の長さを有しているものとされ (Weker, 2000)、先端に1つまたは複数の分泌組織を有している。有頭型では sub-cuticlar スペースが小さく、油状物質を断続的に植物体外へ分泌している (Nonomura et al., 2009) (図 1-4)。このため、有頭型を有する植物体表面はベタベタしているものが多く、有頭型腺毛を見つける1つの指標となる。

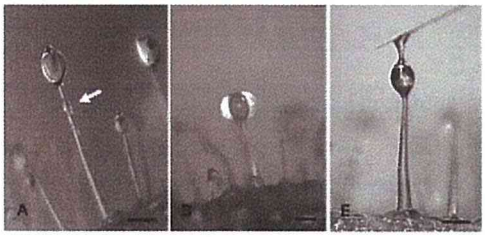


図 1-4. 有頭型腺毛の分泌様式 (Nonomura et al., 2009)

両タイプとも多量の二次代謝物を分泌しており、その点が単純毛と大きく異なる点であり、腺毛の何らかの生理的役割を特徴づけているのではないかと考えられる。そう考えると、腺毛はいったい何を分泌しているのだろうということに興味が湧くのも当然の流れであり、筆者も微細構造の中でも腺毛に注目することにした。腺毛分泌物の成分研究は、盾型ではキク科やシソ科において比較的多くの研究がなされている。有頭型では少ないものの、ナス科やキク科においては、いくつかの属について研究が行われており、他では、いくつかの科で断片的ではあるが成分研究の報告がいくつかある。まず、これまでに行われた研究で明らかにされた腺毛分泌物の化学成分を、科ごとにまとめることとした。また、報告されている記載事項からわかる範囲において盾型および有頭型を区別して、以下順に述べる。

ナス科植物

ナス科植物（Solanaceae）にはトマト、ナス、ポテトやタバコなど有用な植物が多く含まれている。これらの植物の起源種のみならず、食用としての質を向上させる目的で様々に改良された品種を含めて、ナス科の植物の多くに腺毛が見いだされており、これらが植物防御にどのような役割を果たしているかに興味が持たれ、研究が行われてきた。有頭型の分泌物の化学成分として、スクロースやグルコースの短鎖脂肪酸エステル (C_2–C_8) (図 1-5) がいくつかの属 [トマト属 (*Lycopersicon* sp.) (King et al., 1990; King et al., 1993)、タバコ属 (*Nicotiana* sp.) (Matsuzaki et al., 1988 and 1992)、チョウセンアサガオ属 (*Datura* sp.) (King et al., 1988a) 、ナス属 (*Solanum* sp.) (King et al., 1988b; King et al., 1988c) やペチュニア属 (*Petunia* sp.) (King et al., 1987)] に特徴的

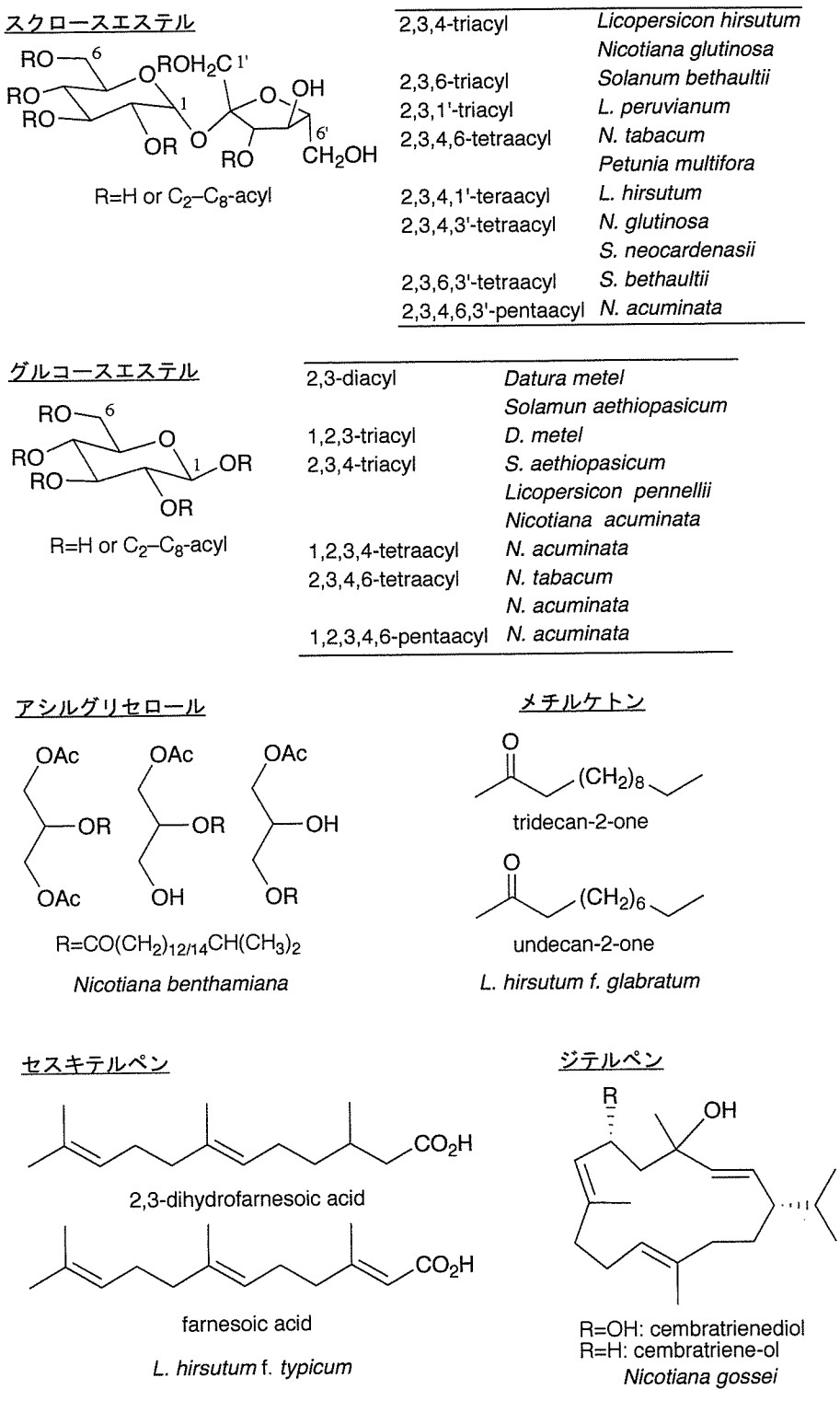


図 1-5. ナス科植物の有頭型腺毛分泌物にみられる二次代謝産物の化学構造

な成分として共通に含まれており、殺昆虫作用 (Buta et al., 1993)、抗アブラムシ作用 (Neal et al., 1990)、抗 *Heliothis virescens* 作用 (Severson et al., 1985) 昆虫忌避作用 (King et al., 1993)、抗菌活性 (Chortyk et al., 1993, 1997)、抗カビ活性 (Holly et al., 1987)、植

物成長阻害作用 (Matsuzaki et al., 1988) が報告されている。これらの糖エステル以外には、*N. benthamiana* より 1,3-diacetyl-2-acylglycerols、1-acetyl-2-acylglycerols および 1-acetyl-3-acylglycerols (Matsuzaki et al., 1992)、*N. gossei* よりセンブラン型ジテルペン cembratriene-diol および cembratriene-ol (Kennedy et al., 1995)、タバコスズメガ幼虫の食害耐性株 *L. hirsutum* f. *glabratum* よりメチルケトン 2-tridecanone および 2-undecanone (Antonious et al., 2005)、ハダニ食害耐性株 *L. hirsutum* f. *typicum* よりセスキテルペン酸 2,3-dihydrofarnesoic acid および farnesoic acid (Snyder et al., 1993) がそれぞれ報告されている (図 1-5)。

一方、ナス属 *S. berthaultii* および *S. tuberosum* には盾型腺毛も発達しており、揮発性セスキテルペン β-caryophyllene および *E*-β-farnesene (図 1-6) が特異的に蓄積していることが明らかにされており、また、これらの成分が植食者に対して忌避作用を示すことも報告されている (Avé et al., 1987)。

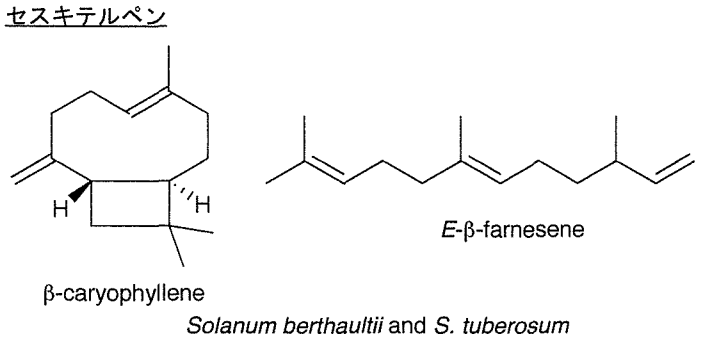


図 1-6. ナス科植物の盾型腺毛分泌物にみられる二次代謝産物の化学構造

キク科植物

キク科 (Asteraceae) 植物の腺毛分泌物に関して、Rodriguez らはヒマワリの近縁植物 *Geraea viscida* に含まれるセスキテルペンメチルエステルである gerin が有頭型腺毛に局在していることを明らかにした (Rodoriguez et al., 1979)。Spring らは中米および南米に分布するヒマワリ連 (Heliantheae) に属する *Helianthopsis stuebelii*、*H. sagasteguii*、*Viguiera acutifolia* (Spring et al., 1989, 1991a, 1991b)、*V. radula* (Spring et al., 2003)、*V. quinqueremis* (Spring et al, 2001)、*Scalesia* 属 (Spring et al., 1997) に関して体

系的に有頭型腺毛分泌物の成分研究を行っており、セスキテルペンラクトンが特異的に分泌されていると報告している (図 1-7)。このように、ヒマワリ属近縁植物の腺毛分泌物にはセスキテルペンラクトンが多量に含まれていることが示された。

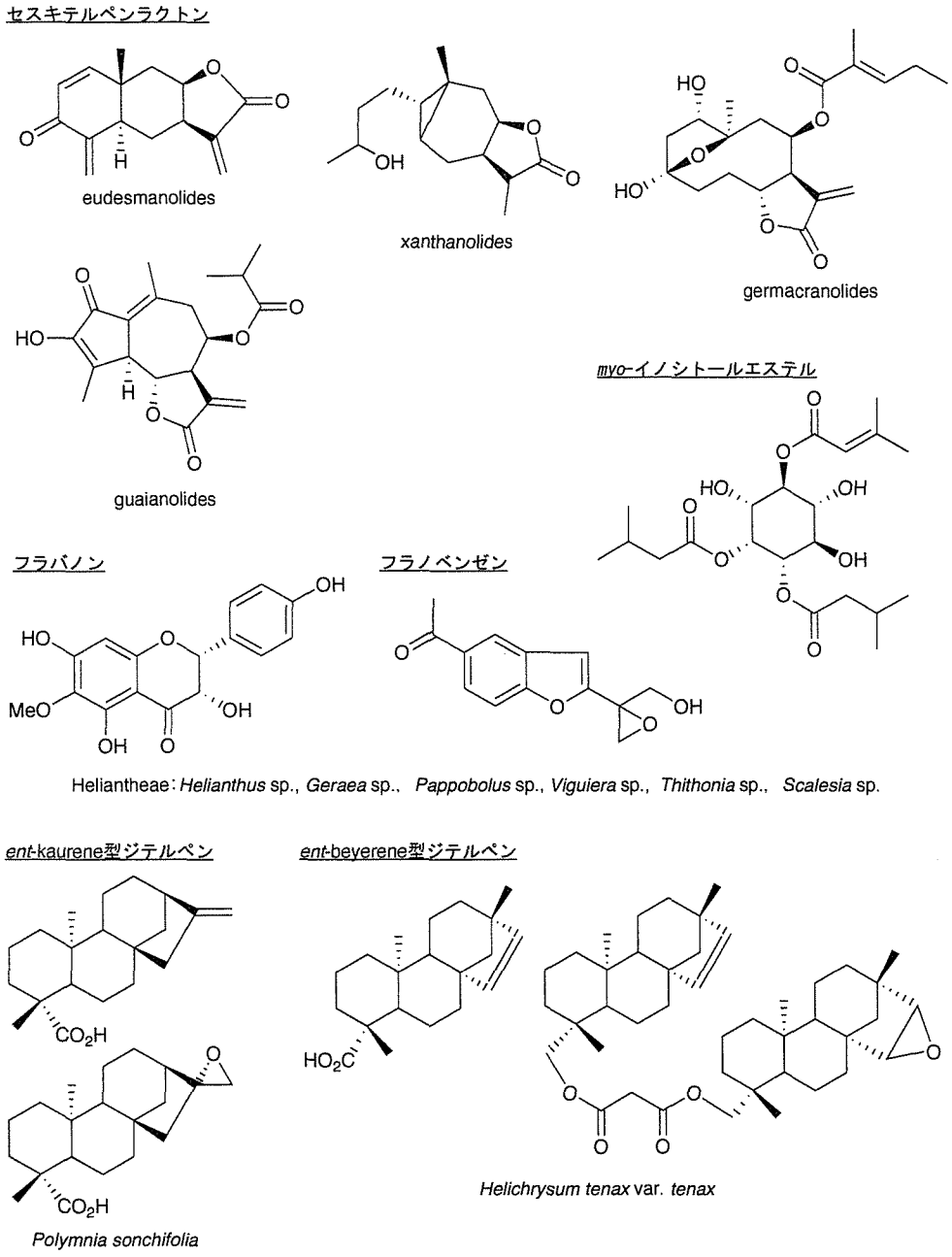


図 1-7. キク科植物の有頭型腺毛分泌物にみられる二次代謝産物の化学構造

また、セスキテルペンラクトン以外の成分として *Thitonia diversifolia* (Ambrósio et al., 2008) および *Scalesia* 属植物からはフラバノン類が、*H. stuebelii* からはフラノベンゼ

ン類が、*V. quinqueremis* からは *myo*-イノシトールエステルが単離報告されている。ヒマワリ属近縁の植物においてはセスキテルペンラクトンが特徴的であったが、ヤーコン (*Polymnia sonchifolia*) の有頭型腺毛分泌物にはジテルペン *ent*-caurenic acid とその epoxy 体が局在しており(Kakuta et al., 1992)、また、ムギワラギク(*Helichrysum tenax* var. *tenax*) には *ent*-beyerene 型ジテルペンと抗菌活性を有するその二量体が局在していることが明らかにされた (Drewes et al., 2006) (図 1-7)。

一方、キク科には盾型腺毛を有しているものも多く、例えばヨモギ属 (*Artemisia* sp.) に特徴的な形質としてヨモギ(*A. princeps*)、オオヨモギ (*A. montana*)、 ヒトツバヨモギ (*A. monophylla*)、イヌヨモギ (*A. keskeana*)、ニガヨモギ (*A. absinthium*)、*A. genipi* (Lodari et al., 1989)、*A. nova* (Kelsey and Shafizadeh, 1980)、クソニンジン (*A. annua*) (Duke et al., 2000) に見いだされている。分泌物の成分は、*A. nova* ではセスキテルペンラクトン cumambrin A および B、モノテルペン α-pinen, camphene, cineole, camphor (Kelsey and Shafizadeh, 1980)が、クソニンジンではセスキテルペンラクトン artemisinin (抗マラリア薬) および artemisitene、モノテルペン borneol, α-campholenal, 1,8-cineol, *p*-cymene, myrtenal, myrtenol, α-pinene, β-pinene, *trans*-pinocarveol, α-terpinen, terpin-4-ol (Duke et al., 2000) が局在していることがそれぞれ明らかにされている。ヨモギ属植物を手で揉んだ時に強い香りを放つのは、盾型腺毛が崩壊し、中から揮発性のテルペン類が放出されることによる。また、興味深い知見として、クソニンジンの盾型腺毛欠損形質転換体では上記のセスキテルペンラクトンやモノテルペンを生産しないことが明らかにされている (Duke et al., 1994; Tellez et al., 1999)。この結果は、これらのテルペン化合物が、盾型腺毛で生合成されていることを示している。実際に盾型腺毛で高発現しているテルペン閉環酵素が取得されている (Bertea et al., 2005 and 2006; Picaud et al., 2005; Mercke et al., 1999 and 2000; Matsushita et al., 1996)。さらに、最近、抗マラリア薬として非常に有用な artemisinin に関しても、その生合成に関わる遺伝子が盾型腺毛内で最も強く発現していることが明らかにされ、物質生産の観点からも注目を集めている (Covello et al., 2007 and 2008)。

バラ科植物

バラ科（Rosaceae）ではハマナス (*Rosa rugosa*) についてのみ報告がある。ハマナスの葉表面は油状物質が分泌されているような感じではないが、有頭型腺毛が見いだされている。文献に記載されている写真 (図 1-8) からは盾型の基部が盛り上がったようにも見えるが、文献の中では有頭型と記載されている (Hashidoko et al., 1992)。



図 1-8. ハマナス葉表面の有頭型腺毛 (Hashidoko et al., 1992)

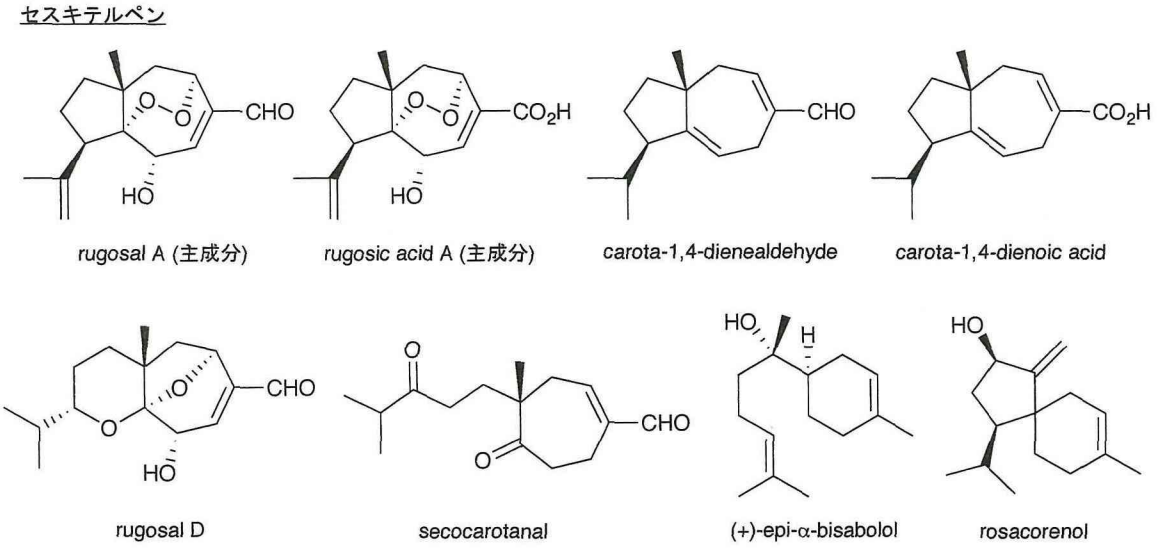


図 1-9. バラ科植物（ハマナス）の有頭型腺毛分泌物中にみられる
二次代謝産物の化学構造

その分泌物の成分には carotane 型セスキテルペンが豊富に含まれており、中でも carotane peroxide である、rugosal A および rugosic acid A が主成分として報告されている (Hashidoko et al., 1992)。マイナー成分として報告されている bisabolane 型セスキテルペン(+)-epi-α-bisabolol やスピロ型セスキテルペン rosacorenol を含め、すべて揮発

性のセスキテルペンである (Hashidoko et al., 1993 and 1994) (図 1-9)。これらの成分はハマナスの良い香りの成分であり、また、害虫の忌避作用も有している。

シソ科植物

シソ科（Lamiaceae）にはミント (*Mentha piperita*)、バジル (*Ocimum basilicum*)、セージ (*Salvia* sp.)など古くからハーブとして利用されているものやラベンダー (*Lavandula angustifolia*) など精油の原材料として有用なものが数多く属している。また、多くの植物にトリコームが見いだされており、腺毛もシソ科植物に特徴的な形質の一つとして以前から知られている。ミント属の盾型腺毛の成分研究により、精油成分が盾型腺毛に特異的に蓄積していることが明らかにされて以来、精油を生産する多くのシソ科植物について盾型腺毛分泌物の成分研究が行われた (Werker et al., 1993; Turner et al., 2000a and 200b; Sharma et al., 2003; Marin et al.,2006)。キク科のヨモギ属と同様、シソ科の植物の多くが、揉むことで香りを強く放つのはこのためである。精油の成分については数多くの報告例があり、揮発性のモノテルペンおよびセスキテルペン、あるいはフェニルプロパノイドで構成されている (Duke et al., 2000; Schilmiller et al., 2008)。最近、ミントおよびバジルの盾型腺毛内でモノテルペンおよびフェニルプロパノイド類が生合成されていることが遺伝子レベルで明らかにされた (Turner et al., 2000; Gang et al., 2001)。このように、多くのシソ科植物の盾型腺毛は精油成分を生合成し蓄積しているが、例外的に *Salvia divinorum* と *Plectranthus sanguineus* では、キク科のヤーコンの有頭型分泌物中にみられたようなジテルペン類が分泌されている (図 1-10)。*S. divinorum* の盾型腺毛には主成分として neoclerodane 型ジテルペン salvinorin A が他の類縁体とともに含まれている (Siebert, 2004)。Salvinorin A には幻覚作用があり、興味深いことに、900 種以上存在するサルビア属植物の中で、*S. divinorum* にのみ salvinorin A が含まれており、植物として唯一、平成 19 年に施行された薬事法の規制対象になっている (Maruyama et al., 2008)。*P. sanguineus* には、高度に酸化された abietane 型ジテルペン類が蓄積していた (Moghadam et al., 1987)。このようにシソ

科では多くの盾型腺毛分泌物の成分研究は行われているものの、有頭型腺毛分泌物に関する研究は行われていない。

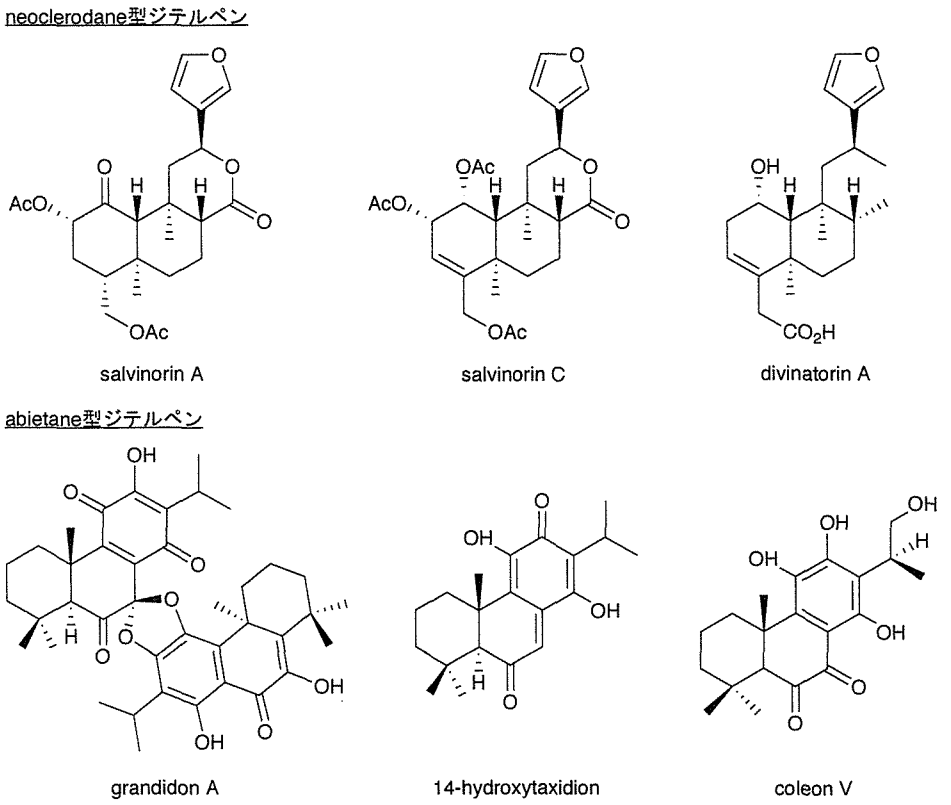


図 1-10. シソ科植物（*Salvia divinorum* および *Plectranthus sanguineus*）の盾型腺毛分泌物中にみられる二次代謝産物の化学構造

アサ科植物

アサ科（Cannabaceae）植物である大麻（*Cannabis sativa* L.）は古くから世界各国で使用されてきた鎮痛･催眠薬であるが、20 世紀後半以降、幻覚剤（麻薬）として濫用され、現在でも大きな社会問題の一つになっている。大麻の幻覚作用の活性本体として有名な Δ^1-tetrahydrocannabinol (THC) の前駆体である THCA (加熱すると脱炭酸して容易に THC へ変換される) および種々のカンナビノイドは有頭型腺毛内で特異的に生合成され、分泌されていることが最近明らかになった (Soo and Mahlberg, 1997; Taura et al., 2005; Masayama, 2008; Sanchez and Verpoorte, 2008) (図 1-11)。先の Salvinorin A やカンナビノイドといった強い生理活性を有する化合物が腺毛に局在し

ていることは、腺毛が植物防御の一端を担っていることを示唆しており、また、腺毛をターゲットとした物質探索が有意義であることも示している。

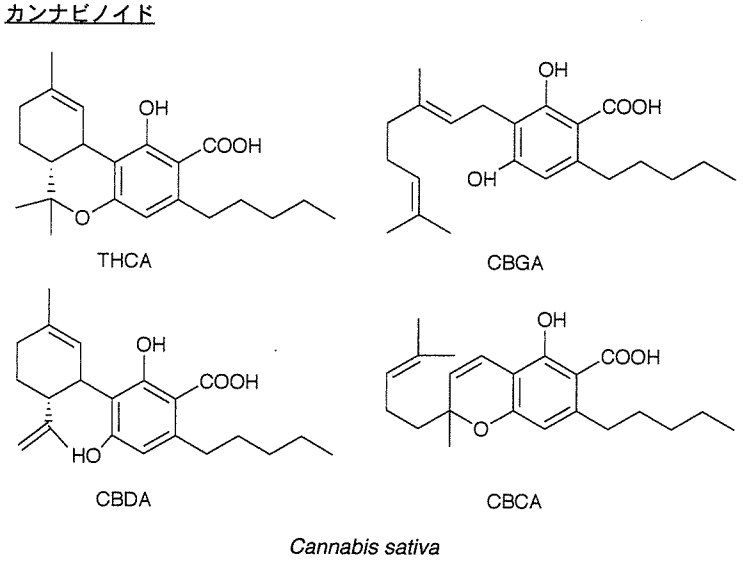


図 1-11. アサ科植物（*Cannabis sativa*）の有頭型腺毛分泌物中にみられる二次代謝産物の化学構造

ハゼリンソウ科植物

ハゼリンソウ科（Hydrophyllaceae）は APG 体系では廃止され、ムラサキ科に統合された科であるが、本科に属するファセリア属（*Phacelia* sp.）には葉やガクに有頭型腺毛を有するものがいくつか知られており、葉に触れると、分泌物によりかぶれることもある（Reynold et al., 1986）。ブルーベル（*P. campanularia*）および *P. pedicellata* の

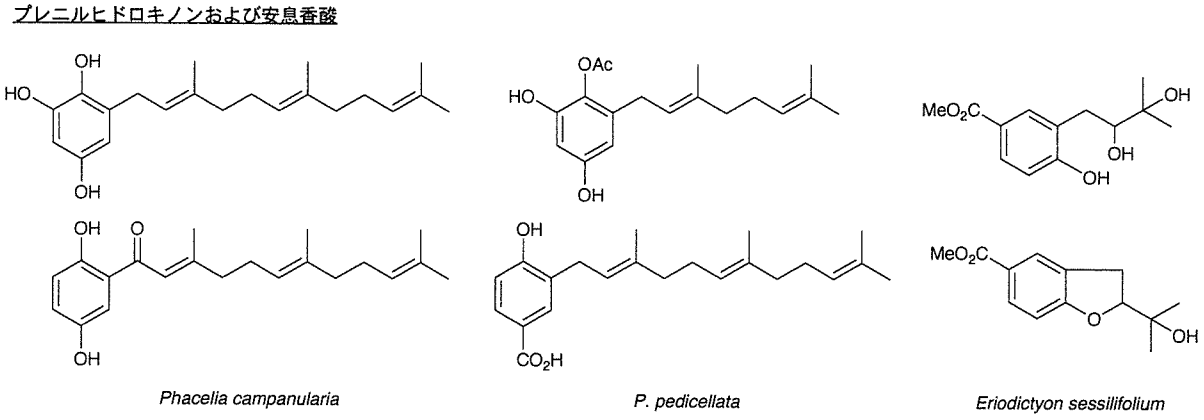


図 1-12. ハゼリンソウ科植物の有頭型腺毛分泌物中にみられる二次代謝産物の化学構造

有頭型腺毛分泌物の研究より、ファルネシル化またはゲラニル化されたヒドロキノン

類が特異的に分泌されており (図 1-12)、また、それらがかぶれの原因になっていることも明らかにされた (Reynolds and Rodoriguez, 1986)。*Eriodictyon sessilifolium* からプレニル化安息香酸誘導体(主成分)およびフラボンが見出されている (Giner, 1988)。

マメ科植物

マメ科 (Fabaceae) の食用植物であるアルファルファ (*Medicargo sativa*) の茎やガクに有頭型腺毛が分布しており、炭素数 12 から 18 の脂肪酸と 3-methylbutylamine からなる脂肪酸アミド類を分泌している (Rnger et al., 2005) (図 1-13)。

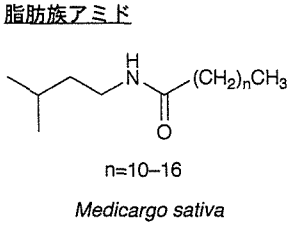
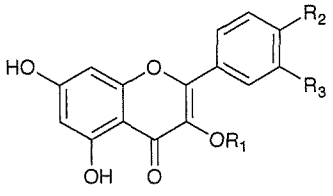


図 1-13. マメ科植物 (アルファルファ) の有頭型腺毛分泌物分泌物中にみられる二次代謝産物の化学構造

サクラソウ科

サクラソウ科 (Primulaceae) サクラソウ属 (*Primula*) の *P. auricula, P. daonensis, P. hirsuta* には有頭型の腺毛があり、葉に触れるかぶれることがある (Spring, 2000)。いずれも共通してフラボン配糖体が分泌されている (図 1-14) (Fico et al., 2007)。



	R_1	R_2	R_3
Primula auricula			
	β-D-glucopyranosyl-(1→2)-gentiobiosyl	OH	OMe
	β-D-glucopyranosyl-(1→2)-gentiobiosyl	OH	OH
P. daonensis			
	neohesperidosyl	OH	OMe
	β-D-glucopyranosyl	OMe	OH
	α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-	OH	OMe
	glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl	OH	OMe
	neohesperidosyl	OH	OH
P. hirsuta			
	α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-	OH	H
	glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl		
	neohesperidosyl	OH	H

図 1-14. サクラソウ科植物 (サクラソウ属) の有頭型腺毛分泌物中にみられる二次代謝産物の化学構造

フウロソウ科植物

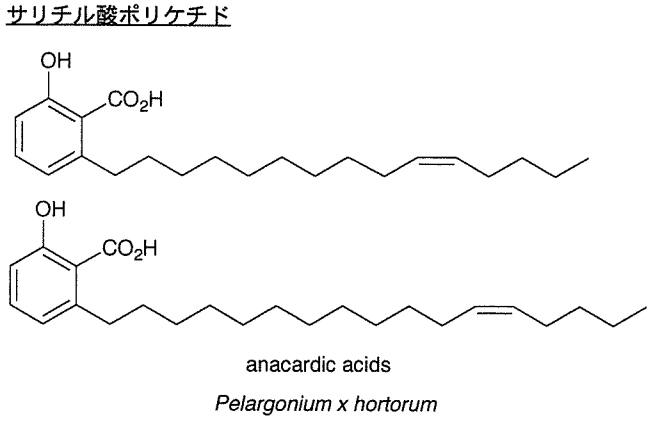


図 1-15. フウロソウ科植物 (*Pelargonium x hortorum*) の有頭型腺毛分泌物中にみられる二次代謝産物の化学構造

フウロソウ科植物（Geraniaceae）の代表的な属のひとつであるテンジクアオイ属の植物 *Pelargonium* x *hortorum* の全草 (ガクは除く) には有頭型腺毛が発達しており、anacardic acid (2-hydroxy-6-alkylbenzoic acid)が生合成され蓄積および分泌されている。これらの化合物はアブラムシやハダニなどの害虫に対して抵抗性を示すことが知られている (Schultz et al., 2006)。

ツツジ科植物

ツツジ科（Ericaceae）で有頭型腺毛の成分研究が行われているのは、ガンコウラン (*Empetrum nigrum*) だけであり、その成分は、カルコンや、ジヒドロカルコン、ジヒドロスチルベンなどのフェノール性化合物と報告されている (Giner et al., 1993)。

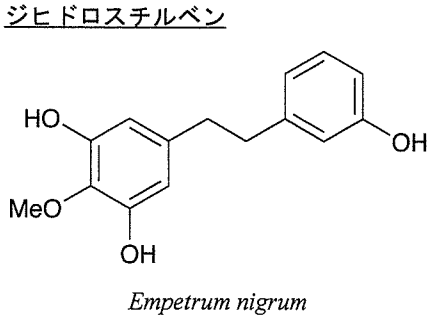


図 1-16. ツツジ科植物（ガンコウラン）の有頭型腺毛分泌物中にみられる二次代謝産物の化学構造

リンドウ科植物

リンドウ科（Gentianaceae）では *Orphium frutescens* の 1 種のみが調べられており、葉に分布する有頭型腺毛の分泌物成分は xanthone 類と oleanoic acid と報告されている (Roitman et al ., 1992) (図 1-17)。Oleanoic acid や ursonic acid のようなトリテルペンアシドはクチン構成成分として知られており、文献の記述だけからは腺毛分泌物に含まれているのかどうかはっきりしないが、トリテルペンの報告例はこの一例のみであった。

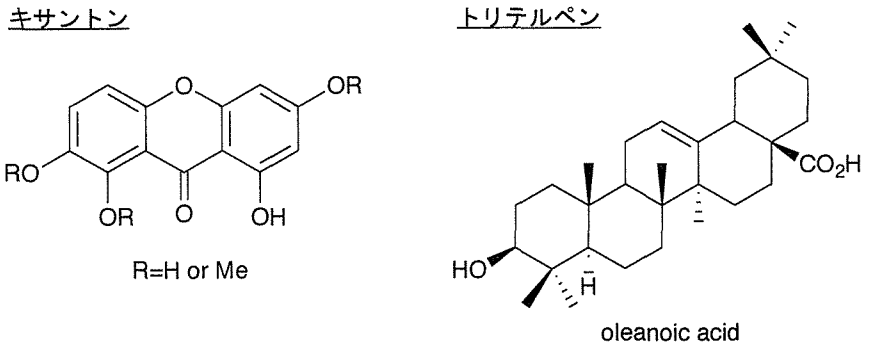


図 1-17. リンドウ科植物（*Orphium frutescens*）の有頭型腺毛分泌物中にみられる二次代謝産物の化学構造

以上、現在までに報告されている腺毛分泌物に含まれる化学成分についてまとめた。盾型に関しては、大半がシソ科およびキク科に属する植物を対象として行われており、その成分は、揮発性のモノテルペン C_{10}、セスキテルペン C_{15}、フェニルプロパノイド (C_6C_3)であった (*Salvia divinorum* と *Plectranthus sanguineus* に関してはジテルペンが例外的に含まれていた)。盾型腺毛は精油成分のように芳香性を伴う揮発性成分を生産および蓄積していると言える。一方、有頭型腺毛に関して、成分研究は、9 目 11 科の植物を対象に行われており、盾型と比較すると幅広い植物種で行われている (ナス目ナス科、キク目キク科、バラ目バラ科およびアサ科、ハゼリソウ科、マメ目マメ科、フウロソウ目フウロソウ科、ツツジ目ツツジ科およびサクラソウ科、リンドウ目リンドウ科)。分泌物の成分は盾型の成分に比べると分子量の大きい化合物からなる。詳細な構造のバリエーションは多く存在するが、生合成経路に基づいて大きく分類す

ると、ナス科に特徴的に含まれていた糖エステル、バラ科やキク科にみられたテルペン類 (セスキテルペンおよびジテルペン)、サクラソウ科、フウロソウ科およびツツジ科に共通してみられた前駆体 CoA (anacardic acids の場合はオレイル CoA、cannabinoids ではヘキサノイル CoA、フラボノイドやスチルベンでは C_6C_3 の CoA エステルなど)と 3 分子のマロニル CoA からなる芳香族ポリケチド、また、アサ科、旧ハゼリンソウ科に見られたプレニル化芳香族ポリケチドであった。

上述のように、盾型および有頭型の分泌物も、二次代謝有機化合物で構成されていることがわかる。盾型では揮発性を有するモノテルペン、セスキテルペン、フェニルプロパノイド等、分子量の小さい比較的単純な構造の化合物を分泌している傾向が伺える。一方、有頭型腺毛では報告されている範囲だけでも、分泌物中に含まれる化学成分の構造は非常に多様性に富んでおり、天然物化学的にも非常に興味深い。また、ナス科やキク科では複数の植物が対象に研究が行われているが、他の種類では断片的な研究にとどまっており、さらに、生理的な役割や意義についてもほとんどわかっていない組織であり、研究の余地が十分にある。というのも、有頭型腺毛の分泌物に関する研究例は少ないからといって、有頭型腺毛が植物にとって珍しい微細構造という訳では決してない。一説には、分泌量の大小を無視すれば高等植物の２０％には腺毛が存在すると言われている。すなわち、現在までに報告されている分泌物の成分研究は、有頭型腺毛を有する植物のほんの一部にすぎず、一般的な植物成分の研究と比べて微細組織である腺毛分泌物の成分研究はほとんど成されていないと言っても過言ではなく、まだまだ十分ではない。有頭型腺毛は、芽吹きから枯れるまでの一生の間存在し分泌し続けるものもあるが、多くの植物では、生育のある段階、特に生育初期の葉や茎、花期の顎辺や花柄に発達する傾向が見られた。しかし、時期がずれると抜け落ちてしまうため、よほど注意深く植物を観察していないと見過ごしてしまう。(植物園の係の人でも気づかないことが多々あった)。ましてや、化学成分研究を行うとなれば、サンプルを採集できる時期が限られており、なかなか研究対象とされてこなかったのではないだろうか。筆者は、有頭型腺毛に興味を持ち始めてから、植物を

見るとつい表面を触り、有頭型腺毛の有無を確認する癖がついてしまった。植物の表面を触りながら過ごしていると、国内でも空き地や路肩に生える草花、河原に生育する草花や木々、山や森林に咲く草花、高山に見られる草花、薬用植物まで様々な植物に腺毛の存在を確認することができた。さらに、植物園に足を運べば、温室に生育する海外の様々な植物に腺毛が存在していることがわかった。このように、かなり多くの植物に腺毛が発達しているのではないかということが実感できた。重複してしまうが、限られた植物種でしか成分研究がされていないにもかかわらず、分泌物に含まれる二次代謝物の構造が多様性に富んでいたことを考えると、さらにバリエーション豊かな二次代謝物が存在している可能性があり、多くの新規化合物取得の可能性が高く、天然物探索の格好のターゲットであると言える。しかし、この多様性もランダムに存在している訳ではなく、ナス科ではスクロースエステルやグルコースエステルが、キク科ではテルペノイドが特徴的な化合物群として見いだされている等、系統的に調べることにより、多様性の中にも傾向を見いだすことができ、ケモタキソノミーの指標に利用可能な知見が得られるかもしれない。さらには、分泌物に含まれる化学成分の性質よりその機能や役割に関する情報を得られるかもしれない。これらのことから、筆者は有頭型腺毛の分泌物に興味を持ち、系統的に成分研究を行うこととした。

1-2. 研究の目的

本研究ではこれらの背景を踏まえ、

1) 有頭型腺毛分泌物に含まれる化学成分にはどのような化合物群が存在するのかを明らかにする。また、化学構造的に何らかの傾向が存在するのか否かを明らかにする。

2) 化学成分に関して、植物間ではどの様な類似点もしくは相違点が存在するのかを明らかにする。特に植物の系統樹とどの様な相関があるか検討する。

3) 他の植物組織とは化学成分にどのような差異があるのか検討する。

4) 数多くの新規化合物の取得を目指す。

以上の 4 点を目的に、幅広い植物種を対象に成分研究を行うこととした。

本研究の位置づけは、腺毛に関する研究の基礎であり、まず始めに行わなければならない重要な研究であると考えている。しかし、現状ではほとんど行われていないため、情報量も不足しており、統計的な議論ができない。本研究では、上記の目的を達成するため、幅広い植物種を対象に、腺毛分泌物に局在する二次代謝物の網羅的解析を行った。これまでは、盾型および有頭型と区別したが、本研究では有頭型腺毛を対象として行っているため、以降、本論文中では腺毛は有頭型を指すこととする。

1-3. 腺毛を有する植物の探索および分泌物の抽出法

腺毛を有する植物は単純毛を有していることも多い。また、植物体の表面は分泌される油状物質によりベタベタしている。筆者はこの2つの性質を指標にして有頭型腺毛を有する植物の探索を行った。基本的に腺毛は肉眼で確認できるが、最終的には光学顕微鏡にて腺毛の存在を確認した。東京工業大学本館中庭、横浜市路地、川崎市路地、多摩川河川敷、京都府立植物園、東京都薬用植物園、名古屋市立東山植物園、市川市立植物園、東北大学薬用植物園および仙台市路地におけるフィールドワークにより (図 1-20)、8 目 12 科 18 種 (ユリ目ユリ科ホトトギス; ナデシコ目ナデシコ科シロバナマンテマ, オランダミミナグサ; フウロソウ目フウロソウ科ゲンノショウコ, *Geranium maderence*, アメリカフウロ; バラ目バラ科カジイチゴ, ソメイヨシノ (有頭型腺毛類似組織); ブナ目クルミ科オニグルミ; シソ目ゴマノハグサ科キリ, ツノゴマ科ツノゴマ, キバナツノゴマ, ハマウツボ科ヤセウツボ, ゴマ科 *Uncarina grandidieri*, *U. roeoesriana*、キツネノマゴ科 *Brillantaisia* 属植物;ナス目ナス科 *Nicotiana sylvestris*; キク目キク科ノブキ) より有頭型腺毛分泌物を採取した (図 1-18, 19)。意外なことに、有頭型腺毛分泌物の成分研究の報告のないシソ目の植物に多く見いだすことができた。図 1-18 に示したように、本博士研究では新たに 4 目の植物群を追加しており、その幅広さが伺える。実際にはさらに多くの植物にも有頭型腺毛を見いだしており、現在進行中のものも多くある。

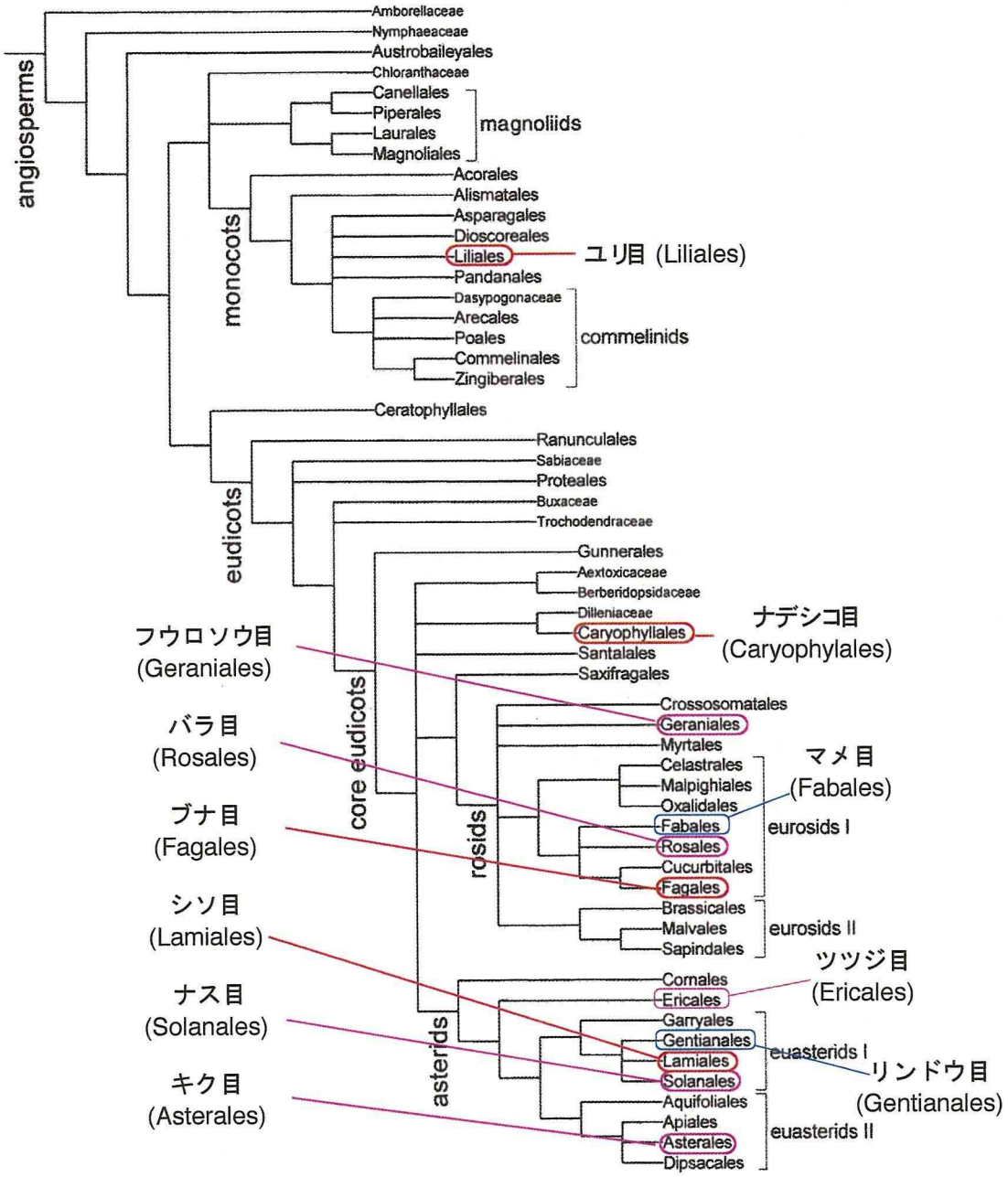


図 1-18.　APG 体系による植物分類（Bot. J. Lin. Soc., 2003, 141, 399 より）。
赤＝本研究で初めて行った目。紫＝過去の研究および本研究で行った目。青＝過去の研究で行われたもの。

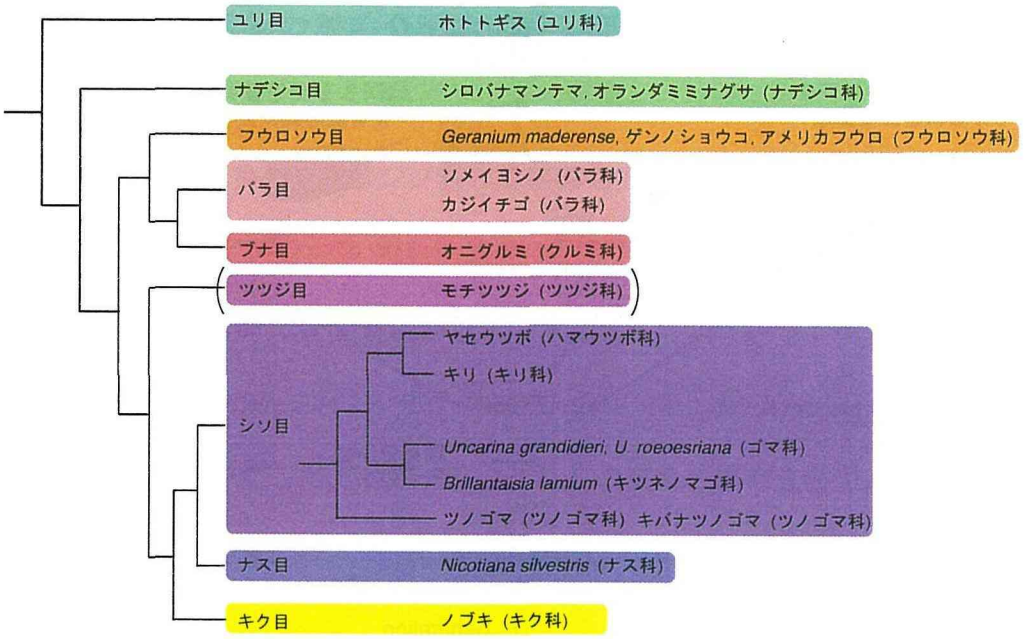


図 1-19. 本研究で対象にした植物

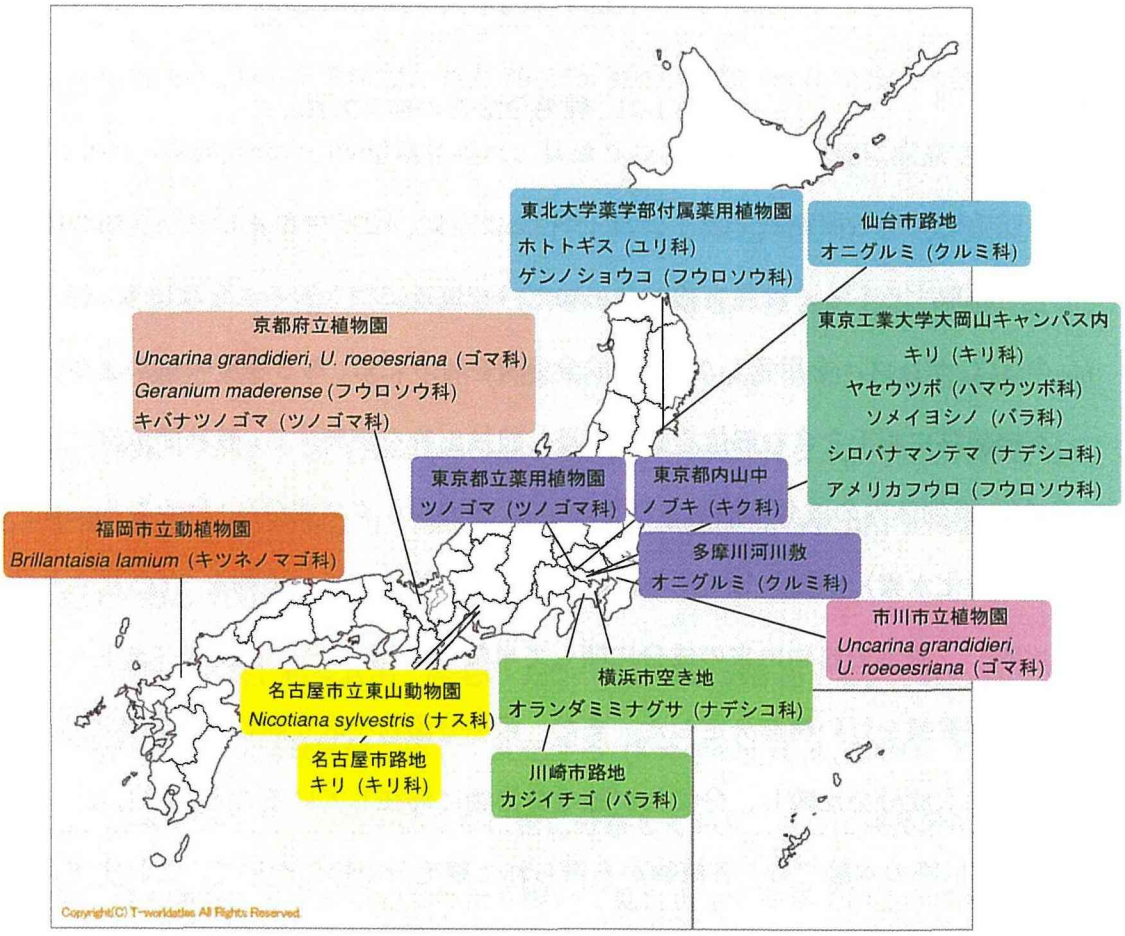


図 1-20. 対象植物の採取場所

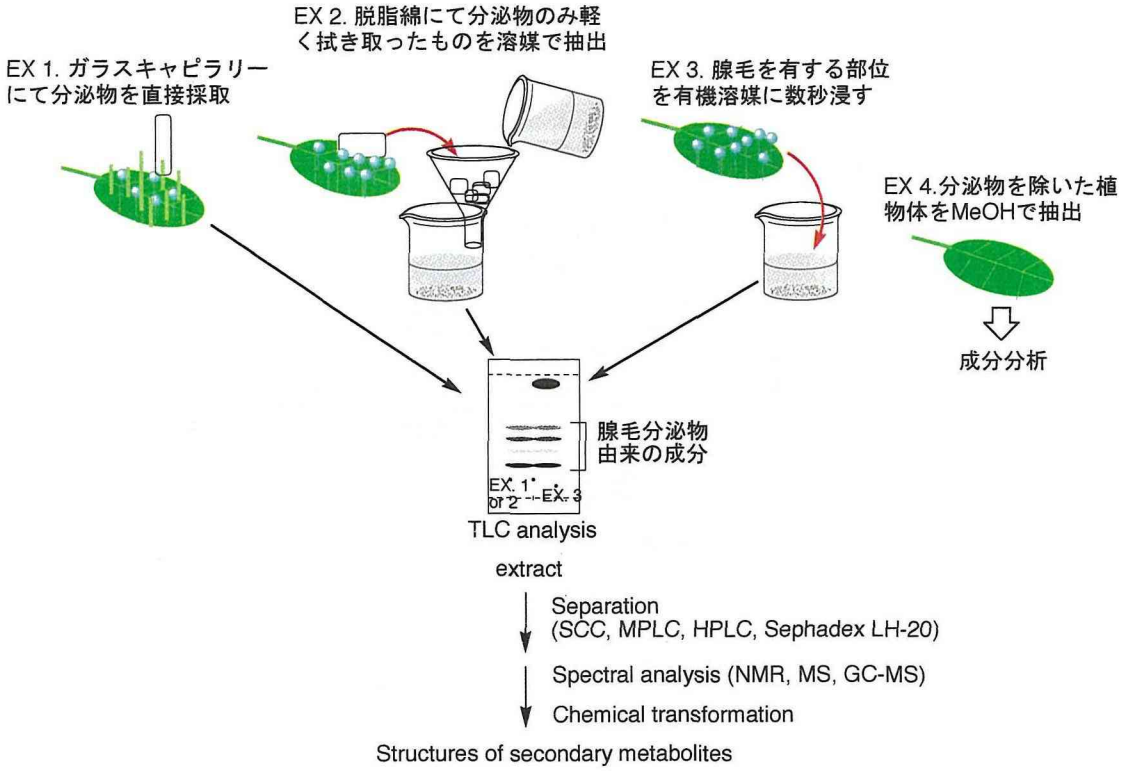


図 1-21. 腺毛分泌物の抽出方法

腺毛を有する植物で、図 1-21 に示したように、ガラスキャピラリーにて直接分泌物を採取するもしくは脱脂綿で分泌物だけを慎重に拭き取ることにより、腺毛分泌物の TLC サンプルを用意した。実際成分分析を行うには、ある程度の量が必要なので、有機溶媒に腺毛を含む部位を数秒間浸し粗抽出物を調製する。数秒間溶媒に浸す程度では、植物体内の成分は抽出されないが、表面のワックス成分（いわゆる cuticular wax、主に炭化水素）が混入してくる。純粋な腺毛分泌物と粗抽出物を TLC により成分を比較し、腺毛分泌物由来の成分に関して単離･精製を行い、各種スペクトル分析および化学変換を行い構造決定した。また、腺毛分泌物を取り除いた植物体の MeOH 抽出物とも成分を比較し、分泌物が腺毛分泌物に局在していることも示した。

2 章以降の本論では、各植物から得られた腺毛分泌物について、これまでに得られたデータをもとに、どのような二次代謝物が含まれているのかについて議論する。

第 2 章　シソ目植物の腺毛分泌物の成分研究

シソ目の腺毛分泌物の研究はシソ科の盾型腺毛で多く行われているが、有頭型の分泌物に関する研究はなされていない。筆者は、シソ目に属する 5 科 7 種 [キリ (ゴマノハグサ科), キバナツノゴマおよびツノゴマ (ツノゴマ科), ヤセウツボ (ハマウツボ科), *Uncarina grandidieri* および *U. roeoesriana* (ゴマ科), *Brillantaisia* sp. (キツネノマゴ科)] に腺毛を見いだした。本章では、これらの植物の腺毛分泌物に含まれる二次代謝産物について述べる。

2-1 ゴマノハグサ科キリの腺毛分泌物

キリ (*Paulownia tomentosa*) は、中国、韓国、日本に分布するゴマノハグサ科 (Scrophulariaceae) の双子葉類で、高さ 10~15m 直径 40~50 cm になる高木落葉樹である (図 2-1)。森林形成の初期段階に現れ、日当りのよい場所で急速に成長する。その為、葉の面積はとても広い。日本ではタンスや下駄などに使われているが、中国では、キリの樹皮が淋病や丹毒などの感染症に用いられたとの報告がある (Kang et al., 1999)。成分研究では、イリドイド類 (Plouvier, 1971; Adriani et al., 1981; Damtoft and Jensen, 1993)、リグナン類 (Takahashi and Nakagawa, 1966; Ina et al., 1987) の報告がある。また、最近、キリの花よりゲラニルフラバノン (diplacon (**PF-10**)) の単離·構造決定の報告がある (Du et al., 2004)。

キリには皿状器官、樹枝状毛、腺毛の 3 つの微細構造が存在する。これら微細構造の分布場所や密度は成長段階に応じて変化する (Kobayashi et al., 2008)。対象とした腺毛は、幼木やひこ生えの地上部全草に密に分布しており、さらに成長段階の初期に分泌量が最も多く、分泌物が光に当たり輝いて見えることや手で触ると濡れるので、容易にその存在を確認できた (Kobayashi et al., 2008)。一方、成木の葉は樹枝状毛で密に覆われており、腺毛はほとんど存在しなかった。腺毛は未熟な果実表面にも密に

存在しており、多量の油状物質を分泌していた。その為、未熟な果実表面を触るとベタベタしており、小さな虫がトラップされている様子が観察できた。未熟な果実表面の方が幼木の腺毛分泌物より粘性が高かった。他には、花弁の外側表面にも腺毛が存在していた。腺毛の形状に関して、幼木、ひこ生え、花弁の腺毛は長さが 0.2~0.7 mm であったのに対し、未熟な果実表面の腺毛の長さは 0.1 mm 程度と短かった。また、先端の分泌細胞は、未熟な果実表面のでは黄色であったが、それ以外は無色と違いがあった (図 2-1)。このような観察事実をふまえて、未熟な果実表面、幼木の葉、幼木の茎、ひこ生えの葉、ひこ生えの茎、花弁と区別して TLC 用サンプルを調製した。



図 2-1. キリの写真

それぞれ脱脂綿で分泌物を拭き取り、ジエチルエーテルにて溶出し、TLC にてヘキサン：酢酸エチル=4:1, 1:1, $CHCl_3$:MeOH=20:1, 8:1 の 4 種の展開溶媒系を用いて成分を比較した。TLC 上、未熟な果実表面にのみ蛍光を示す（254 nm の光を吸収する）化合物が認められ、他の部分からの分泌物は、ほぼ同一の TLC パターンを示した。これは果実表面の分泌組織のみが着色しているとの観察事実に対応していた。そこで、未熟な果実表面および幼木の 2 つに分けて成分研究を進めた。

2-1-1 キリの未熟な果実表面の腺毛分泌物

2005 年 9 月に東京工業大学キャンパス内のキリより、未熟な果実 320g (100 個)を採取した。採取した実を 300 ml の MeOH（予備的研究の結果、水酸基をいくつか有する比較的極性の高い化合物が認められたので、この場合は、エーテルではなく MeOH を抽出溶媒として使用した）に数秒間浸して腺毛分泌物を抽出し、5g の抽出物を得た。先に集めた腺毛分泌物の標品と TLC 分析にて成分を比較したところ良い一致を示した。この抽出物のうち 1.2 g を図 2-2 に示したスキームに従い、各種クロマトグラフィーにて単離･精製を行い、化合物 **PF-1–15** を得た(図 2-3)。これらのうち、**PF-1–9** は新規化合物であった。

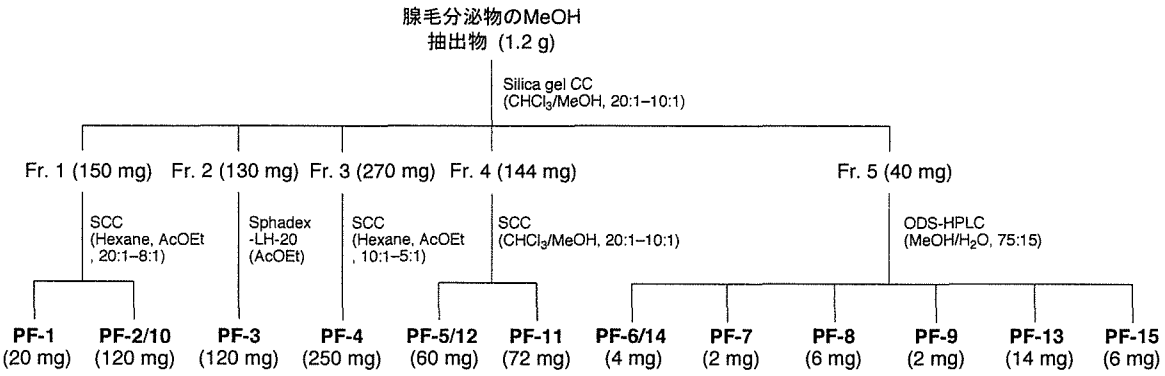


図 2-2. キリの果実の腺毛分泌物の精製スキーム

PF-1 は黄色オイルとして単離された。HREIMS にてその分子式を $C_{27}H_{32}O_6$ と決定した。**PF-1** の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、δ 2.80 (*dd*, *J* = 17.3, 2.9 Hz), 3.10 (*dd*, *J* = 17.3, 13.1 Hz), 5.34 (*dd*, *J* = 13.1, 2.9 Hz) にフラバノン骨格の H_2-3 と H-2 に特徴的な 3H 分のシグナルが観測された。また、互いにスピン結合している δ 6.99 (*d*, *J* = 1.9 Hz), 6.96 (*dd*, *J* = 8.2, 1.9 Hz), 6.89 (*d*, *J* = 8.2 Hz)の 3H 分のシグナルが観測されたことから 3′,4′-二置換の B 環構造を有しているとわかった。A 環部分に関して、δ 12.41 にカルボニルと水素結合しているプロトンシグナルが観測されたことから 5 位に水酸基を有するフラバノン骨格であると示された。

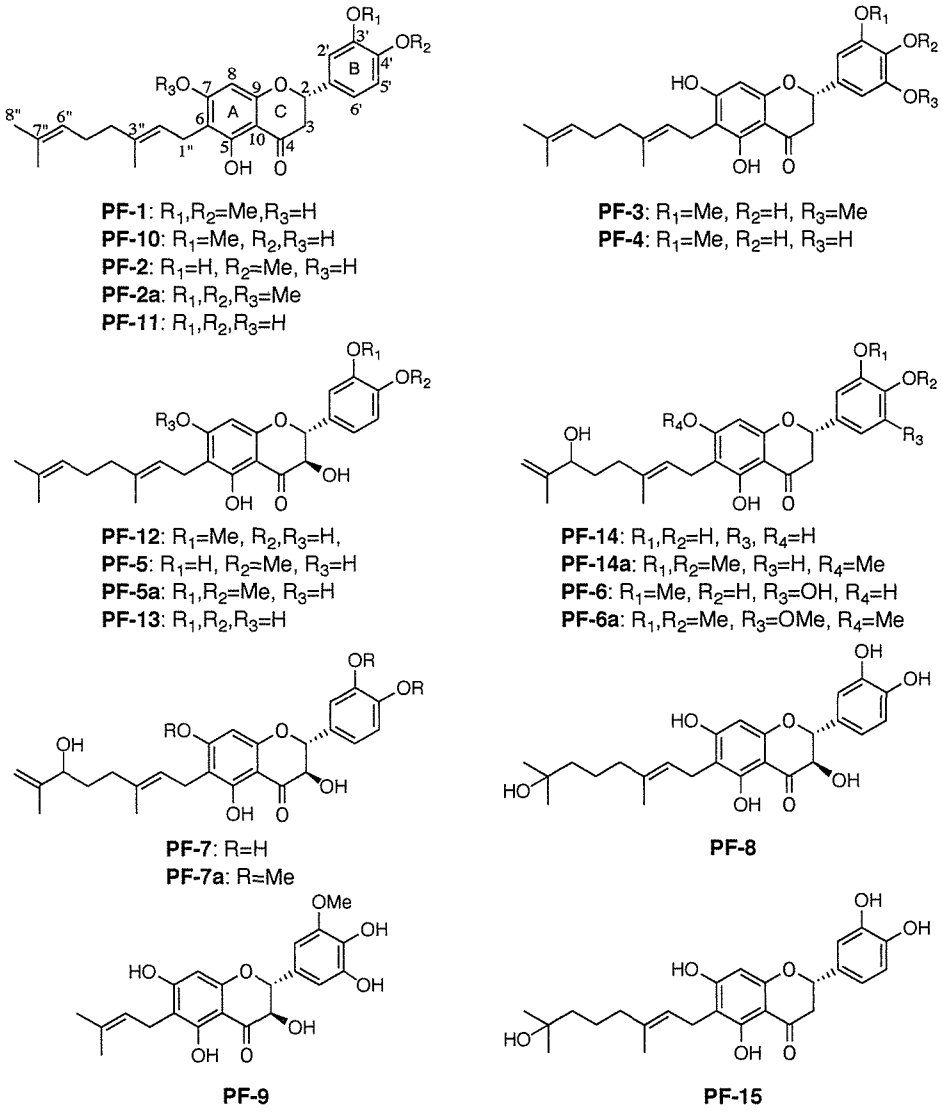


図 2-3. キリの未熟な果実表面の腺毛分泌物中に見られる
ゲラニルフラバノン類の化学構造

さらに、1 つの芳香環上のプロトンシグナルが δ 6.01 (*s*) に 1 本, (*E*)-ゲラニル基に特徴的な一連のシグナル、メトキシ基由来のシグナルが δ 3.92 (*s*) および 3.90 (*s*) に観測された。ゲラニル基に関して、3''位のメチル基と H_2-1''との間に NOE 相関が観測されたことより、*E* 体であることを確認した。なお **PF-2–9** のプレニル側鎖に関しても、同様の方法にて *E* 体であることを確認した。ゲラニル基の置換位置は、HMBC スペクトルにおいて、カルボニルと水素結合している低磁場に観測される 5-OH の水素シグナル (δ 12.41, *s*) からゲラニル基の C1''に相関が観測されたことより、6 位にゲラニル基が置換していると決定した (図 2-4)。メトキシ基の置換様式に関しても同様に HMBC 相関により一義的に決定した (図 2-4)。この構造は、EIMS スペクトルに

て観測される C 環と A 環の間での retro-Diels-Alder (RDA) 反応由来のフラグメントイオン *m/z* 288 と 164 からも支持された (図 2-4)。^{1}H NMR および ^{13}C NMR データは 2D NMR (H-H COSY, HMBC, HSQC) スペクトルを用いて一義的に帰属した。

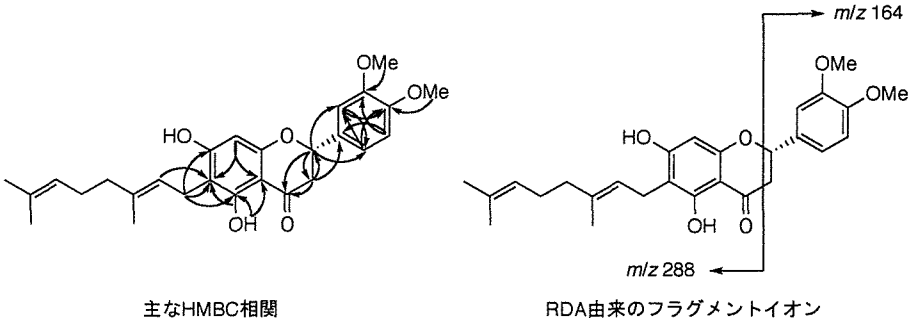


図 2-4. **PF-1** の主な HMBC 相関および RDA 由来のフラグメントイオン

2 位の絶対配置については、一般的に用いられている CD スペクトルによる方法にて決定した (図 2-5)。フラバノン類は 330 nm 付近に n–π*遷移に由来するコットン効果を示すことが知られており、A 環 C 環での helicity によりその正負が決定され、*P* helicity では正のコットン効果を、*M* helicity では負のコットン効果を示すことが明らかにされている (Slade et al., 2005; Gaffield, 1970)。なお、n–π*遷移に由来するコットン効果の符号は、置換基に依存せず、2 位の立体化学にのみ依存することが明らかにされており、多くのフラバノン類の立体化学決定に用いられている。**PF-1** は、330 nm 付近に正のコットン効果 ($\Delta\varepsilon_{328}$ +4.49) を示したことより *P* helicity を有していることが明らかとなり、2 位の立体化学を *S* と決定した。

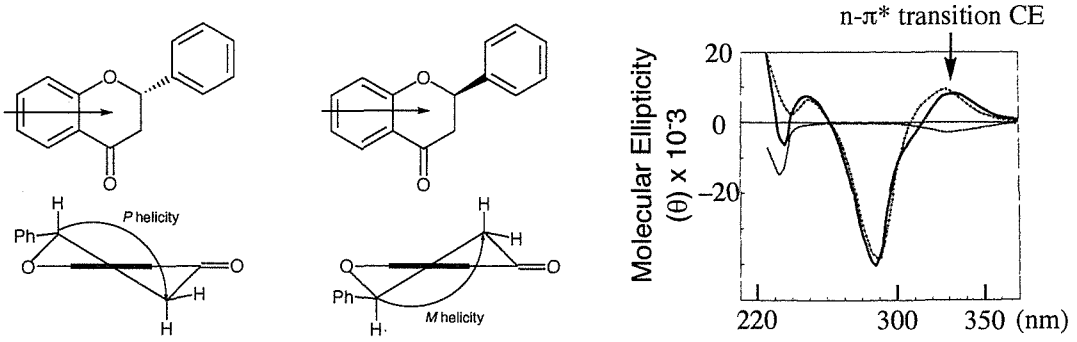


図 2-5. フラバンノン類の helicity および 2*S*-flavanone 類 (*P* helicity)の CD スペクトル (Gaffield, 1970)

従って、**PF-1** の構造を 6-geranyl-5,7-dihydroxy-3′,4′-dimethoxyflavanone と決定した。光学純度の詳細については調べていない。**PF-2, 3, 4, 6** の 2 位の絶対配置は **PF-1** と同様に CD スペクトルを測定することで *S* と決定した。

PF-2 は **PF-10** との混合物として得られた。逆相 HPLC を用いても分離困難であったため、混合物のまま構造決定することとした。**PF-2** を含む混合物の ^{1}H NMR および ^{13}C NMR スペクルより、2 つの化合物が 1:4 の比で含まれていることが明らかになった。主成分 **PF-10** の ^{1}H NMR および ^{13}C NMR スペクトルは報告されている 6-geranyl-4′,5,7-trihydroxy-3′-methoxyflavanone (3′-*O*-methyldiplacone) (Wollenweber et al., 1989; Phillips et al., 1996; Phommart et al., 2005) と一致した。**PF-2** と **PF-10** の ^{1}H NMR スペクトルを比較すると、B 環に帰属されるシグナルが **PF-2** では δ 7.13 (*d*, *J* = 1.9 Hz, H-2′), 7.02 (*dd*, *J* = 8.1, 1.9 Hz, H-6′), 6.88 (*d*, *J* = 8.1 Hz, H-5′), 3.91 (*s*, OMe)、**PF-10** では δ 6.97 (*d*, *J* = 1.9 Hz, H-2′), 6.90 (*dd*, *J* = 8.2, 1.9 Hz, H-6′), 6.93 (*d*, *J* = 8.2 Hz, H-5′) , 3.89 (*s*, OMe)と差が認められた。他のシグナルは重なっていたことからも、**PF-2** は **PF-10** の B 環に関する異性体であると示唆された。**PF-2** のメトキシシグナル (δ 3.91) と δ 6.88 (*d*, *J* = 8.1 Hz) との間に NOE 相関が観測されたことより、3′-hydroxy-4′-methoxy 置換された B 環を有しているとわかった。上述のように **PF-10** と **PF-2** は ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルにおいて A 環および C 環部が一致していることから、**PF-2** は **PF-10** と同じ A 環および C 環構造を有しているとわかった。さらに、**PF-2** と **PF-10** の混合物をジアゾメタンで処理すると、単一の 6-geranyl-5-hydroxy-3′,4′,7-trimethoxyflavanone (**PF-2a**) を与えた。従って **PF-2** の構造を 6-geranyl-3′,5,7-trihydroxy-4′-methoxyflavanone と決定した。

PF-3 は黄色油状物質として得られ、高分解能 EIMS により分子式を $C_{27}H_{32}O_7$ と決定した。**PF-3** と **1** の ^{1}H NMR スペクトルは A 環および C 環で良い一致を示したことから、同じ部分構造を有しているとわかった。また、^{1}H NMR スペクトルにおいて、δ 6.68 (*s*, 2H), 5.63 (*s*, OH), 3.91 (*s*, 3Hx2) にシグナルが観測されたこと、3.91 のメトキ

表 2-1. ^{1}H NMR data (500 MHz) of **PF-1–9**[a]

No.	**PF-1**[a]	**PF-2**[a]	**PF-3**[a]	**PF-4**[a]	**PF-5**[a]	**PF-6**[b]	**PF-7**[b]	**PF-8**[b]	**PF-9**
2	5.34 (*dd*, 13.1, 2.9)	5.30 (*dd*, 13.2, 2.9)	5.29 (*dd*, 13.0, 2.9)	5.25 (*dd*, 13.0, 3.0)	4.95 (*d*, 12.0)	5.23 (*dd*, 13.0, 2.9)	4.91 (*d*, 12.0)	4.89 (*d*, 12.0)	4.89 (*d*, 12.0)
3	3.10 (*dd*, 17.3, 13.1)	3.05 (*dd*, 17.4, 13.0)	3.08 (*dd*, 17.2, 13.0)	3.04 (*dd*, 17.4, 13.0)	4.52 (*brd*, 12.0)	3.04 (*dd*, 17.4, 13.0)	4.50 (*d*, 12.0)	4.48 (*d*, 12.0)	4.50 (*d*, 12.0)
	2.80 (*dd*, 17.3, 2.9)	2.76 (*dd*, 17.4, 3.2)	2.78 (*dd*, 17.2, 2.9)	2.76 (*dd*, 17.4, 2.9)		2.73 (*dd*, 17.3, 2.9)			
8	6.01 (*s*)	5.99 (*s*)	6.01 (*s*)	6.00 (*s*)	5.97 (*s*)	5.97 (*s*)	5.96 (*s*)	5.95 (*s*)	5.97 (*s*)
2'	6.99 (*d*, 1.9)	7.13 (*d*, 1.9)	6.68 (*brs*)	6.56 (*d*, 1.7)	7.13 (*d*, 1.9)	6.54 (*brs*)	7.00 (*d*, 1.7)	6.99 (*d*, 1.7)	6.64 (*d*, 1.7)
5'	6.89 (*d*, 8.2)	6.88 (*d*, 8.1)			6.89 (*d*, 8.2)		6.89 (*d*, 8.0)	6.87 (*d*, 8.2)	
6'	6.96 (*dd*, 8.2, 1.9)	7.02 (*dd*, 8.1, 1.9)	6.68 (*brs*)	6.67 (*d*, 1.7)	7.01 (*dd*, 8.2, 1.9)	6.66 (*brs*)	6.92 (*dd*, 8.0, 1.7)	6.91 (*dd*, 8.2, 1.7)	6.74 (*d*, 1.7)
1"	3.37 (*d*, 7.1)	3.37 (*d*, 7.1)	3.36 (*d*, 7.1)	3.36 (*d*, 7.4)	3.37 (*d*, 7.1)	3.28 (*d*, 7.1)	3.29 (*d*, 6.8)	3.28 (*d*, 7.1)	3.29 (*d*, 6.8)
2"	5.26 (*brt*, 7.2)	5.26 (*brt*, 7.2)	5.26 (*brt*, 7.2)	5.25 (*brt*, 7.3)	5.26 (*brt*, 7.2)	5.29 (*brt*, 7.1)	5.27 (*brt*, 6.8)	5.20 (*brt*, 7.1)	5.23 (*brt*, 7.0)
4"	1.81 (*s*)	1.80 (*s*)	1.80 (*s*)	1.80 (*s*)	1.81 (*s*)	1.79 (*s*)	1.79 (*s*)	1.76 (*s*)	1.70 (*s*)
5"	2.07 (*m*)	2.06 (*m*)	2.06 (*m*)	2.07 (*m*)	2.07 (*m*)	2.05 (*brt*, 7.3)	2.04 (*m*)	1.98 (*m*)	1.79 (*s*)
6"	2.09 (*m*)	2.08 (*m*)	2.09 (*m*)	2.08 (*m*)	2.09 (*m*)	1.65 (*m*)	1.65 (*m*)	1.41 (*m*)	
7"	5.05 (*brt*, 6.7)	5.05 (*brt*, 6.7)	5.05 (*brt*, 6.7)	5.05 (*brt*, 6.8)	5.06 (*brt*, 6.7)	4.01 (*t*, 6.1)	4.01 (*t*, 6.1)	1.62 (*m*)	
9"	1.59 (*brs*)	1.59 (*s*)	1.59 (*s*)	1.59 (*s*)	1.59 (*s*)	4.88, 4.80 (*brs*)	4.88, 4.81 (*brs*)	1.18 (*s*)	
10"	1.67 (*brs*)	1.67 (*s*)	1.67 (*s*)	1.67 (*s*)	1.67 (*s*)	1.70 (*s*)	1.70 (*s*)	1.18 (*s*)	
OMe	3.92 (*s*), 3.90 (*s*)	3.91 (*s*)	3.91 (*s* x 2)	3.89 (*s*)	3.91 (*s*)	3.89 (*s*)			3.91 (*s*)
OH	12.41 (*s*), 6.24 (*s*)	12.38 (*s*), 6.29 (*s*)	12.38 (*s*), 6.47 (*s*)	12.37 (*s*), 6.48 (*s*)	11.56 (*s*), 6.45 (*s*)	12.24 (*s*)	11.56 (*s*)	11.55 (*s*)	11.55 (*s*)
		5.71 (*s*)	5.63 (*s*)	5.61 (*s*)	5.73 (*s*)				

[a] recorded in $CDCl_3$. [b] recorded in $CDCl_3$–CD_3OD (9:1).

表 2-2. ^{13}C-NMR data of **PF-1–9**.[a,b]

C	**PF-1**[a]	**PF-2**[a]	**PF-3**[a]	**PF-4**[a]	**PF-5**[a]	**PF-6**[b]	**PF-7**[b]	**PF-8**[b]	**PF-9**[b]
2	79.02	78.67	79.37	79.09	82.95	79.16	83.37	83.02	83.53
3	43.39	43.02	43.59	43.39	72.30	43.27	72.30	71.99	72.22
4	196.03	196.18	195.94	196.07	194.75	195.76	195.85	195.48	195.61
5	161.21	161.17	161.21	161.20	161.04	160.87	160.87	160.49	160.63
6	106.83	107.31	107.07	107.08	107.89	107.11	108.89	108.79	108.38
7	164.07	163.99	164.05	164.06	164.60	164.26	165.14	164.84	164.98
8	95.68	95.46	95.63	95.64	95.83	94.74	95.22	94.97	95.10
9	161.04	160.94	160.92	160.95	160.65	160.41	160.69	160.35	160.58
10	102.89	102.72	102.80	102.83	100.40	102.42	100.22	99.93	100.11
1'	130.96	131.50	129.58	130.30	129.18	130.42	128.29	127.98	127.54
2'	109.40	112.65	103.16	107.04	113.62	108.37	114.35	114.08	109.02
3'	149.27	145.72	147.18	147.18	145.62	147.56	144.53	144.17	147.48
4'	149.67	146.90	135.14	132.75	147.33	135.27	145.58	145.21	133.98
5'	111.14	110.65	147.18	144.10	110.55	143.10	115.12	114.86	144.47
6'	118.79	118.10	103.16	101.29	119.79	102.54	120.04	119.77	102.82
OMe	55.98	55.92	56.37	56.24	55.88	56.18			56.13
OMe	55.96		56.37						
1"	21.07	20.97	21.04	21.04	20.94	20.88	21.00	20.64	20.95
2"	121.26	121.32	121.27	121.28	121.17	122.93	122.85	122.03	121.96
3"	139.61	138.44	139.25	139.25	138.46	135.27	135.53	135.25	132.29
3"-Me	16.20	16.09	16.16	16.17	16.09	15.88	16.02	15.65	17.64
4"	39.70	39.63	39.68	39.68	39.64	35.78	35.93	39.53	25.64
5"	26.31	26.31	26.33	26.36	26.36	32.70	32.81	22.10	
6"	123.65	123.70	123.72	123.80	124.15	75.71	75.71	42.75	
7"	132.13	131.80	132.01	132.04	131.78	147.15	147.28	71.04	
7"-Me	17.70	17.61	17.66	17.68	17.61	110.86	111.00	28.56	
8"	25.67	25.59	25.62	25.65	25.58	17.49	17.64	28.56	

a) recorded in $CDCl_3$.
b) recorded in $CDCl_3$-CD_3OD (9:1).

シシグナルと 5.63 の水酸基のプロトンとの間に NOE 相関が観測されたことより、B 環は 4′-hydroxy-3′,5′-dimethoxy 置換の対称構造を有していると示された。従って、**PF-3** の構造を 6-geranyl-4′,5,7-trihydroxy-3′,5′-dimethoxyflavanone と決定した。

PF-4 は黄色油状物質として得られた。HREIMS により分子式を $C_{26}H_{30}O_7$ と決定した。^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルデータより A 環と C 環の構造は **1** と同じであるとわかった。分子式より、B 環には OH x 2 と OMe の存在が明らかとなり、互いに *meta* カップリングしている δ 6.56 (*d*, *J* = 1.7 Hz) と 6.67 (*d*, *J* = 1.7 Hz)の 2 つのプロトンから A 環の C-2 へ HMBC 相関が観測されたことより、B 環は 4′,5′-dihydroxy-3′-methoxy 置換であるとわかった。従って、**PF-4** の構造を 6-geranyl-4′,5,5′,7′-tetrahydroxy-3′-methoxyflavanone と決定した。

PF-5 は **PF-12** との混合物の状態で得られた。**PF-2** と **PF-10** の時と同様、分離することは困難であった。この混合物は ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルより 2:3 の混合物であるとわかった。主成分である **PF-12** の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、δ 4.98 (*d*, *J* = 12.0 Hz) と 4.55 (*d*, *J* = 12.0 Hz) に 3-hydroxyflavanone に特徴的な 2 つのシグナルが観測された。**PF-5** にも同様に δ 4.95 (*d*, *J* = 12.0 Hz) と 4.52 (*d*, *J* = 12.0 Hz) にシグナルが観測された。**PF-12** の ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルは、報告されている 6-geranyl-3,4′,5,7-tetrahydroxy-3′-methoxyflavanone (diplacol 3′-*O*-methyl ether) (Phillips et al., 1996) のデータと一致した。**PF-12** と **PF-5** の A 環および C 環の構造は NMR データより同じであるとわかった。**PF-5** の B 環に帰属できるプロトンの化学シフトおよび結合定数が、**PF-2** と一致したことより、**PF-5** の B 環も **PF-2** と同様に 3′-hydroxy-4′-methoxy 置換を有していることが示された。また、**PF-5** と **PF-12** の混合物を **PF-2** の時と同様、ジアゾメタンで処理すると、単一の 6-geranyl-3,5-dihydroxy-3′,4′,7-trimethoxyflavanone を与えた。C 環部の 2 位と 3 位のトランス配置は、それぞれのプロトンが 12.0 Hz という大きな値でスピン結合していることで決定した。それぞれの絶対配置は、CD スペクトルにおいて 330 nm 付近に正のコットン効果

($\Delta\varepsilon_{328}$ +6.31）を観測したので、*P* helicity である 2*R*,3*R* と決定した。**PF-5** と同様に 3 位に水酸基を有する **PF-7, 8, 9** の絶対配置も同様に決定し、すべて 2*R*,3*R* であった。従って、**PF-5** の構造を(2*R*,3*R*)-6-geranyl-3,3′,5-trihydroxy-4′-methoxyflavanone と決定した。

PF-6 は **PF-14** との混合物で得られた。EIMS スペクトルにおいて、*m/z* 470 と 440 に 4:1 の比で 2 つの分子イオンピークが観測された。^{1}H NMR スペクトルにおいても 1:4 の混合物であると確認できた。主成分である **PF-14** は ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルより 3′,4′,5,7-tetrahydroxy-6-[6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(*E*),7-octadienyl]flavanone (tanariflavannone) (Phommart et al., 2005)であると決定した。従って、**PF-6** の分子量は *m/z* 470 とわかり、HREIMS よりその分子式を $C_{26}H_{30}O_8$ と決定した。^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルより、**PF-6** も **PF-14** と同様、6 位に 6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(*E*),7-octadienyl 基 [δ 5.29 (*brt*, *J* = 7.1 Hz), 4.88 (*brs*), 4.80 (*brs*), 4.01 (*t*, *J* = 6.1 Hz), 3.28 (2H, *d*, *J* = 7.1 Hz), 2.05 (2H, *d*, *J* = 7.3 Hz), 1.65 (2H, *m*), 1.79 (3H, *s*), 1.70 (3H, *s*)] を有する 5,7-dihydroxyflavanone であるとわかった。B 環の構造は *meta* カップリングしている 2H 分のプロトン[δ 6.66 (*brs*), 6.54 (*brs*)]とメトキシシグナル [δ 3.89 (*s*, *J* = 7.1 Hz)]が **PF-4** の B 環部分のシグナルと良く一致していることから、**PF-4** と同様の 4′,5′-dihydroxy-3′-methoxy 置換を有していると決定した。**PF-6** と **PF-14** の混合物をジアゾメタンで処理すると、分離可能な 2 つの化合物 5-hydroxy-6-[6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(*E*),7-octadienyl]-3′,4′,5′,7-tetramethoxyflavanone **PF-6a** と 5-hydroxy-6-[6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(*E*),7-octadienyl]-3′,4′,7- trimethoxyflavanone **PF-14a** を与えた。6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(*E*),7-octadienyl 基の C-6′′位の立体化学に関して、**PF-6a** をピリジン中 (*R*)-MTPACl と反応させ、得られた 6′′-*O*-(*S*)-MTPA エステル誘導体の、^{1}H NMR スペクトルにおいて、Ha-9′′ (δ 4.99, 4.94) と Hb-9′′ (δ 4.90, 4.89)がそれぞれ 1:1 の強度比で分離していたことより、*R*/*S*=1:1 のラセミ体であると決定した。**PF-14a** についても同様の方法で C-6′′位が *R*/*S*=1:1 のラセミ体であると決定した。従って、**PF-6**

の構造を 3′,4′,5,7-tetrahydroxy-6-[6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(*E*),7-octadienyl]flavanone と決定した。

PF-7 は黄色油状物質として得られ、HREIMS により分子式を $C_{25}H_{28}O_8$ と決定した。**PF-7** と **PF-6** の ^{1}H NMR スペクトルを比較することにより、**PF-7** の A 環および C 環の構造が **PF-6** と同様、C-6 位が 6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(*E*),7-octadienyl で置換された、3,5,7-trihydroxyflavanone 構造であることが示された。さらに、δ 7.00 (*d*, *J* = 1.7 Hz), 6.92 (*dd*, *J* = 8.0, 1.7 Hz), 6.89 (*d*, *J* = 8.0 Hz) に互いにスピン結合しているシグナルが観測されたことより、3′,4′-dihydroxy 置換された B 環を有しているとわかった。側鎖の C-6′′位の立体化学は、**PF-7** をジアゾメタンで処理して得られた 3′,4′,7-trimethoxy 体を、**PF-6** の時と同様の方法で 3-*O*-6′′-*O*-di-(*S*)-MTPA エステル体へ誘導し、^{1}H NMR スペクトルにおける Ha-9′′および Hb-9′′のシグナルより、C-6′′位が *R*/*S*=1:1 であると決定した。従って **PF-7** の構造を (2*R*,3*R*)-3,3′,4′,5,7-pentahydroxy-6-[6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(*E*),7-octadienyl]flavanone と決定した。

PF-8 は黄色油状物質として得られ、HREIMS により分子式を $C_{25}H_{30}O_8$ と決定した。**PF-7** の ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルは C_{10} の側鎖部分を除いて **PF-8** のものと、非常に良い一致を示したことより、6 位が C_{10} で置換された 3,3′,4′,5,7-pentahydroxyflavanone 構造を有しているとわかった。側鎖部分の構造は、^{1}H NMR スペクトルにおいて δ 5.20 (*brt*, *J* = 7.1 Hz), 3.28 (*d*, 7.1 Hz), 1.98 (*m*, 2H), 1.76 (*s*, 3H), 1.62 (*m*, 2H), 1.41 (*m*, 2H) 1.18 (*s*, 3H x 2),に、^{13}C NMR スペクトルにおいて δ 71.04 に四級炭素のシグナルが観測されたことより、7-hydroxy-3,7-dimethyl-2-(*E*)octenyl 基とわかった。従って **PF-8** の構造を (2*R*,3*R*)-3,3′,4′,5,7-pentahydroxy-[7-hydroxy-3,7-dimethyl-2-(*E*)octenyl]flavanone と決定した。

PF-9 は黄色油状物質として得られ、HREIMS よりその分子式を $C_{21}H_{22}O_8$ と決定した。**PF-9** の A 環および C 環に関して、^{1}H および ^{13}C NMR データを **7** および **8** のデータと比較することで、6 位が置換された 3,5,7-trihydroxy 構造を有しているとわかっ

た。化合物 **9** の ^{1}H NMR スペクトルにおいて 3-methyl-2-butenyl (prenyl) 構造に特徴的な一連のシグナル [δ 3.29 (*d*, *J* = 6.8 Hz, 2H), 5.23 (*brt*, *J* = 7.0 Hz), 1.70 (*s*, 3H), 1.79 (*s*, 3H)] が観測された。さらに互いに *meta* カップリングしている δ 6.74 (*d*, *J* = 1.7 Hz), 6.64 (*d*, *J* = 1.7 Hz)とメトキシシグナル δ 3.91 (*s*) が観測された。このメトキシシグナルと、δ 6.64 のシグナルとの間に NOE 相関が観測されたこと、δ 6.74 および 6.64 のシグナルから C 環の 2 位との間に HMBC 相関が観測されたことより、B 環は 4′,5′-dihydroxy-3′-methoxy 構造であることが示された。従って、**PF-9** の構造を (2*R*,3*R*)-3,4′,5,5′,7-pentahydroxy-3′-methoxy-6-(3-methyl-2-butenyl)flavanone と決定した。

既知化合物 **PF-10** (Wollenweber et al., 1989; Phillips et al., 1996; Phommart et al., 2005), **12**, **14** の構造は既に述べた。その他の既知化合物 **PF-11**, **13**, **15** の構造は、報告されているスペクトルデータを比較することにより、6-geranyl-3′,4′,5,7-tetrahydroxyflavanone (diplacone, nymphaerol A) (Phillips et al., 1996; Phommart et al., 2005; Kumazawa et al., 2004), 6-geranyl-3,3′,4′,5,7-pentahydroxyflavanone (diplacol) (Phillips et al., 1996; Lee et al., 2001), 3′,4′5,7-tetrahydroxy-6-[7-hydroxy-3,7-dimethyl-2-(*E*)-octenyl]flavanone (Kumazawa et al., 2004) とそれぞれ決定した。

ゲラニルフラボノイド類の抗酸化活性

一般的にポリフェノール類には抗酸化作用があるといわれている (Gadow et al., 1997)。そこで、得られたフラバノン類の抗酸化活性を測定することとした。

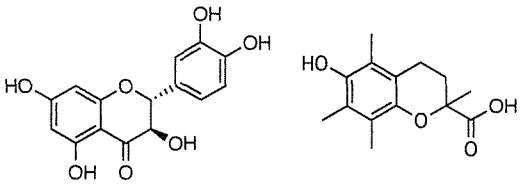
DPPH ラジカル消去活性試験

フェノール性水酸基は活性酸素などのラジカルを捕捉することで抗酸化作用を生じており、その為フェノール性水酸基の数が多いほど抗酸化能が高い (Gadow et al., 1997; Sang et al., 2002; Kinjo et al., 2006)。そこで、in vitro かつ小スケールで行える DPPH ラジカル消去能の活性試験を行った (Jayasinghe et al., 2006; Sawai, 2007)。ポジ

ティブコントロールとしてα-tocopherolとtaxifolinを用いた。結果は表2-3に記載した。予想通りフェノール性水酸基の数に応じてSC_{50}値が低下した。また、B環に*ortho*位の関係にあるフェノール水酸基を二つ持つ**PF-4, 6/14, 7, 8, 9, 11, 13, 15**とtaxifolinのラジカル消去活性が同程度であったことから、C-6位の置換基はラジカル消去活性には影響を与えていないことがわかった。

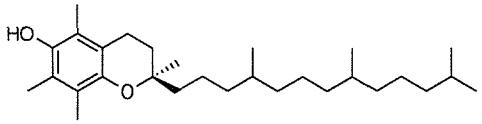
表2-3. Anti-oxidant activity of **PF-1−15**.

Compound	SC_{50} (μg/ml)
1	>50
2/10	>50
3	>50
4	4.5
5/12	34
6/14	2.0
7	2.9
8	1.8
9	1.8
11	3.2
13	1.9
15	1.9
α-tocopherol	4.7
(+)-taxifolin	1.6



taxifolin

trolox



α-tocopherol

ラット肝ミクロソームの脂質過酸化抑制効果

生体内において、活性酸素は生体膜の不飽和脂肪酸を過酸化ラジカルへと変化させ、この過酸化脂質がチェーンリアクションを引き起こし、細胞に障害を与え、様々な疾患へとつながる (Terao et al., 1992)。上述のように、ラジカル消去能はフェノール性水酸基の数に比例していたが、脂質二重膜中のラジカル消去能に関して、今回得たフラボノイド類はプレニル基やゲラニル基の付加により脂質二重膜との親和性が増しており、付加していないフラバノン類と比較して抗酸化能に差が生じる可能性がある。そこで、ラット肝ミクロソームの脂質過酸化抑制効果について検討した。活性酸素種により、生体膜成分である不飽和脂肪酸が攻撃され、脂質過酸化反応の進行によりマ

ロンジアルデヒド (MDA) が生じる。そこで、酸性条件で MDA をチオバルビツール酸 (TBA) と反応させ、生じた赤色に呈色する物質を定量し抗酸化剤による脂質過酸化抑制効果を検討した (Bernheim et al., 1948)。キリの果実より得られたフラバノンで DPPH ラジカル消去活性が強かった **PF-4**, **8**, **13** を測定した。コントロールとして taxifolin, α-tocopherol, trolox (ビタミン E 水溶性誘導体) を測定した (図 2-6)。

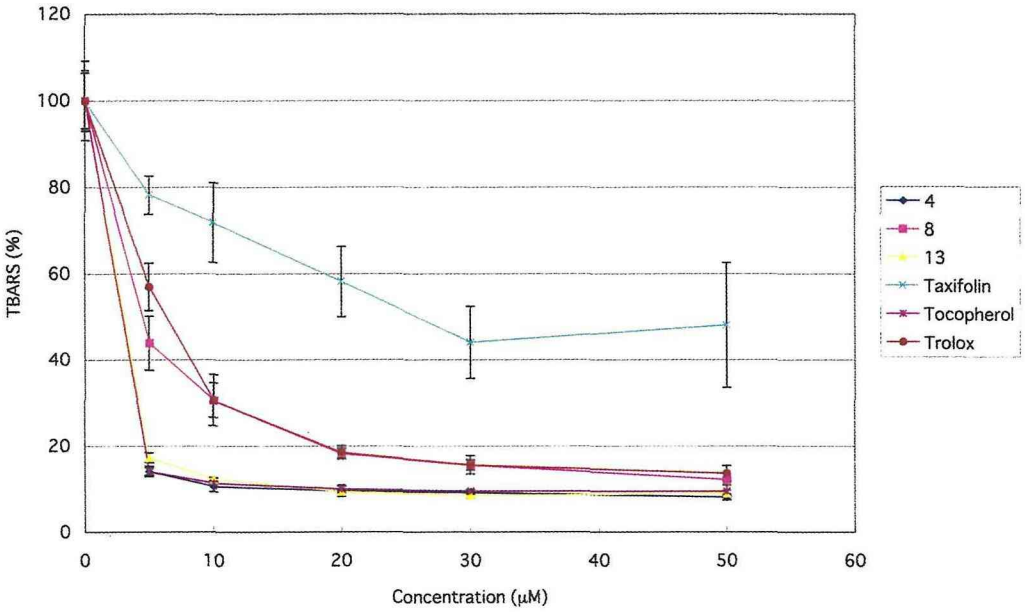


図 2-6. ラット肝ミクロソームの脂質過酸化抑制効果

C-6 位に C_{10} ユニットを有するフラバノン類は、taxifolin と比較して MDA 生産を 50%に抑制する濃度が著しく減少している。また、側鎖末端に水酸基を有する **PF-8** ではゲラニル基を有する **PF-4** や **PF-13** と比較して、ややラジカル消去能が低下していることがわかった。また、α-tocopherol と trolox の比較からイソプレン側鎖が活性の強さに影響していることがわかった。この結果は、ゲラニル基の有無による活性の違いを明らかにした数少ない有用な知見である。一般に化合物がプレニルやゲラニル化されると生物活性が生じるといわれており (Sasaki et al., 2008)、イソプレン側鎖による脂質二重膜との親和性の向上がその要因と考えられる。

まとめ

キリの未熟な果実に分布する腺毛抽出物より、新規化合物 9 種、既知化合物 6 種の構造決定をした。いずれも C-6 位にゲラニル基 (C_{10})、ゲラニル誘導体、プレニル基 (C_5) を有するフラバノン類であった。これらフラバノン以外の二次代謝産物は全く得られず、実の腺毛ではこれらゲラニルフラバノン類を特異的に分泌していることを明らかにした。また、2006 年 9 月に採取した分泌物と 2007 年 8 月および 2008 年 8 月に採取したもの、また、異なる固体で採取したものは、同じ TLC パターンを示したので、時期や固体間に差がないことも確認している。同時期に、チェコに生育する "*Paulownia tomentosa*" と報告されている植物の果実抽出物より類似のゲラニルフラバノン類の単離報告が発表されている (Šmejkal et al., 2007 and 2008)。果実の重量あたりのゲラニルフラボノイドの量は、筆者の結果と比較的近いことから、この報告におけるゲラニルフラバノン類は腺毛分泌物由来である可能性が高い。

今回得られたゲラニルフラバノンは、フェノール性水酸基の数に応じて、DPPH のラジカル捕捉活性が上昇した。また、ゲラニル基は脂質膜との親和性を向上させ、脂質膜中で発生したラジカル捕捉に有効であることも示した。

キリの未熟な果実では、虫をトラップしている様子 (図 2-1) から粘性による物理的な防御機能が伺える。フラボノイド類は 280 nm 付近と 320 nm 付近に吸収極大を有することから、UV-B (280–320 nm) を吸収することが知られている。このことより、植物では、フラボノイド類は植物に有害な UV-B を吸収することでストレスを軽減し植物体を保護していると考えられている。実際、シロイヌナズナのフラボノイド生合成能を欠損させた変異株は、野生株に比べて UV-B 照射下での生育が著しく低下することが報告されている (Li et al, 1993)。また、フラボノイド類は UV-B による DNA 損傷を防ぐ効果があることが示されている (Kootstra, 1994)。さらに、UV-B が植物におけるフラボノイド生合成を活性化させることも報告されている (Antogoni et al., 2007)。これらのことをふまえると、キリにおいてもフラボノイド類は UV-B を吸収

することで未熟果実を保護していると考えられる。多数のフラバノン誘導体を、種々のメチル化酵素、水酸化酵素を用いて生合成せねばならない理由についてはわからない。本研究の結果、キリの未熟果実はゲラニルフラバン類の効率の良い供給源であることがわかった。

2-1-2 キリ幼木の葉および茎の腺毛分泌物

2007 年 4 月にキリの幼木の葉 70 枚 (平均 100 cm^2、質重量 500g) を採集した。集めた葉をすぐに 600 ml の Et_2O に 10 秒程度浸し、腺毛分泌物抽出物を 720 mg 得た。この TLC のパターンは、予めガラスキャピラリーを用いて採取した試料のものと同じであった。この抽出物を図 2-7 に示したスキームに従って精製し、Fr. *G*-1–*G*-8 を得た。

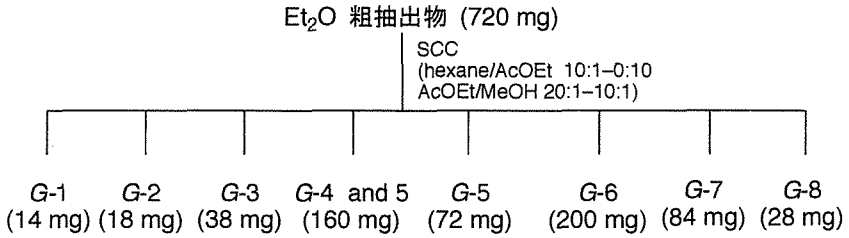


図 2-7. 精製スキーム

Fr. *G*-1–*G*-8 についてそれぞれ ^1H および ^{13}C NMR を測定したところ、すべてアシルグリセロール類であり、グリセロール部分は 1,3-diacetyl-2-acyl, 1-acetyl-2-acyl, 2-acylglycerol であり、いずれもグリセロールの 2 位に脂肪酸鎖が置換していた。脂肪酸部分は、3 位にアセトキシ基を有する 3-acetyloxyfatty acid (*G*-2, *G*-5) あるいは 3 位と n 位の 2 カ所に水酸基もしくはアセトキシ基を有する 3,n-diacetyloxy、3-acetyloxy-n-hydroxy、3,n-dihydroxy の 3 種からなることがわかった (表 2-4)。

<u>アシルグリセロールの構成脂肪酸の一斉分析</u>

^1H NMR データより、*G*-1–*G*-8 は水酸基のアセチル化パターンのバリエーションによって分離していることがわかった。そこで、まず始めに *G*-1–*G*-8 に含まれている脂肪酸の構造解析から行うこととした。精製前の Et_2O 抽出物をジメトキシエタン (DME) 中で LiOH によるアルカリ加水分解後、ジアゾメタンによりメチルエステル化を行うことで、対応する脂肪酸メチルエステルを得た。

表 2-4. ^{1}H NMR data (500 MHz, $CDCl_3$) for *G*-1-8.[a]

No.	*G*-1	*G*-2	*G*-3	*G*-4	*G*-5	*G*-6	*G*-7	*G*-8[b]
sn-1,3	4.31	4.30	4.29	4.30	3.81	3.85	3.83	3.77
	(*dd*, 12.0, 5.0)	(*dd*, 12.0, 4.5)	(*dd*, 12.0, 4.5)	(*dd*, 12.0, 4.5)	(*m*, 4H)	(*m*, 4H)	(*m*, 4H)	(*m*, 4H)
	4.30	4.23	4.23	4.20				
	(*dd*, 12.0, 5.0)	(*dd*, 12.0, 6.0)	(*dd*, 12.0, 5.5)	(*dd*, 12.0, 6.0)				
	4.14	3.74	3.73	3.75				
	(*dd*, 12.0, 6.0, 2H)	(*m*, 2H)	(*m*, 2H)	(*m*, 2H)				
sn-2	5.27	5.08	5.08	5.09	4.88	4.90	4.91	4.95
	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)
2	2.65	2.62	2.55-2.64	2.68	2.61	2.58-2.61	2.56-2.63	2.40-2.60
	(*dd*, 15.5, 7.0)	(*dd*, 15.5, 7.5)	(*m*, 2H)	(*dd*, 15.3, 7.0)	(*dd*, 15.5, 4.5)	(*m*, 2H)	(*m*, 2H)	(*m*, 2H)
	2.58	2.58		2.58	2.58			
	(*dd*, 15.5, 5.5)	(*dd*, 15.5, 4.5)		(*dd*, 15.3, 5.5)	(*dd*, 15.5, 6.0)			
3	5.27	5.22	5.21	5.28	5.28	5.29	5.30	4.04
	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)	(*m*)
6–9	3.61	---	4.84	3.61	---	4.87	3.61	3.57
	(*m*)		(*m*)	(*m*)		(*m*)	(*m*)	(*m*)
Ac	2.10	2.07	2.08	2.07	2.06	2.00-2.07	2.05-2.06	
	(*s*, 3H)	(*br*, 3H)	(*br*, 3H)	(*s*, 3H)	(*s*, 3H)	(*br*, 6H)	(*br*, 3H)	
	2.08	2.05	2.05-2.04	2.05				
	(*s*, 3H)	(*br*, 3H)	(*br*, 6H)	(s, 3H)				

[a] Multiplicity and coupling constant (*J* in Hz) in parentheses.
[b] Recorded in $CDCl_3$-CD_3OD (9:1).

この脂肪酸メチルエステル体はTLC (展開溶媒：hexane/EtOAc, 3:2) 上で、低極性側に1つ (Rf=0.65)、高極性側にブロードなスポット (Rf=0.15) を1つ与えた。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにてこの2つのスポットを精製した。低極性側の脂肪酸メチルエステルは^{1}H NMR スペクトルより 3-ヒドロキシ脂肪酸メチルエステルとわかった。[δ 4.00 (*m*), 2.52 (*dd*, *J* = 16.3, 3.0 Hz), 2.41 (*dd*, *J* = 16.3, 9.0 Hz)]。この脂肪酸メチルエステル体を TMS 化して GC-MS 分析を行ったところ 10:1 の比で2本のピークを与えた。メジャーピークでは、*m/z* 341 ($[CH(OTMS)C_{17}H_{35}]^+$) と 175 ($[CH(OTMS)CH_2CO_2Me]^+$にそれぞれ C-2/C-3 開裂と C-3/C-4 開裂に由来するフラグメントイオンが観測された (Dumri et al., 2008)。一方、マイナーピークでは、*m/z* 313 ($[CH(OTMS)C_{15}H_{31}]^+$と 175 にそれぞれ対応するフラグメントイオンが観測された。また、それぞれ分子イオンは観測されなかったものの、メジャーピークでは *m/z* 399 $[M–Me]^+$にマイナーピークには 371 $[M–Me]^+$にそれぞれ脱メチルイオンが観測されたことから、低極性側の脂肪酸メチルエステルは methyl 3-hydroxyeicosanoate (**PL-31a**) と methyl 3-hydroxyoctadecanoate (**PL-32a**) の 10:1 の混合物であることがわかった。高極性側の脂肪酸メチルエステルは、^{1}H NMR スペクトルにおいて、低極性側には見られなかったブロードなオキシメチンプロトン (δ 3.54–3.65) が観測されたことより、ジヒドロキシ脂肪酸メチルエステルとわかった。少量を TMS 化して GC-MS 分析を行ったところ、8本のピークを 4:4:2:1:37:3:27:22 (GLC の溶出の順) の比で与えた (図 2-8)。それぞれのピークのフラグメントイオン解析を行い、8 つのピークは、順に methyl 3,6-, 3,7-, 3,8-, 3,9-dihydroxyoctadecanoate (**PL-34a**, **36a**, **38a**, **40a**), methyl 3,6-, 3,7-, 3,8-, 3,9-dihydroxyeicosanoate (**PL-33a**, **35a**, **37a**, **39a**) の bis-TMS エーテルであるとわかった。図 2-9 に eicosanoate 体の 4 つのピークに見られる特徴的なフラグメントイオンを記した。Octadecanoate 体の 4 つのピークはメチル基末端を含むフラグメントイオンが、対応する eicosanoate 体のものよりそれぞれ 28 mass unit 小さいフラグメントイオンとして観測された (実験の部参照) (Seipold et al., 2004)。

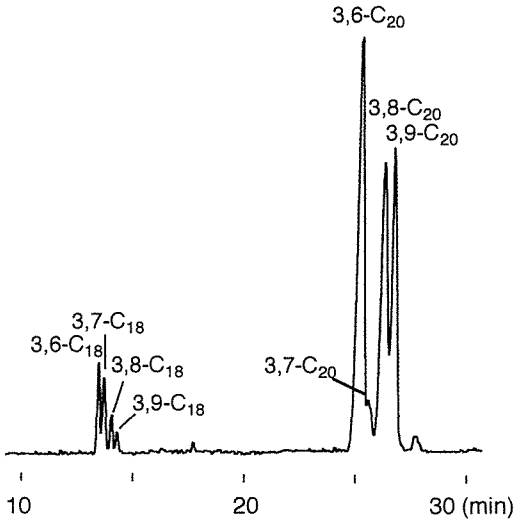


図 2-8. モノおよびジヒドロキシ脂肪酸メチルエステルの
TMS エーテル体の GLC クロマトグラム (条件は実験の部参照)

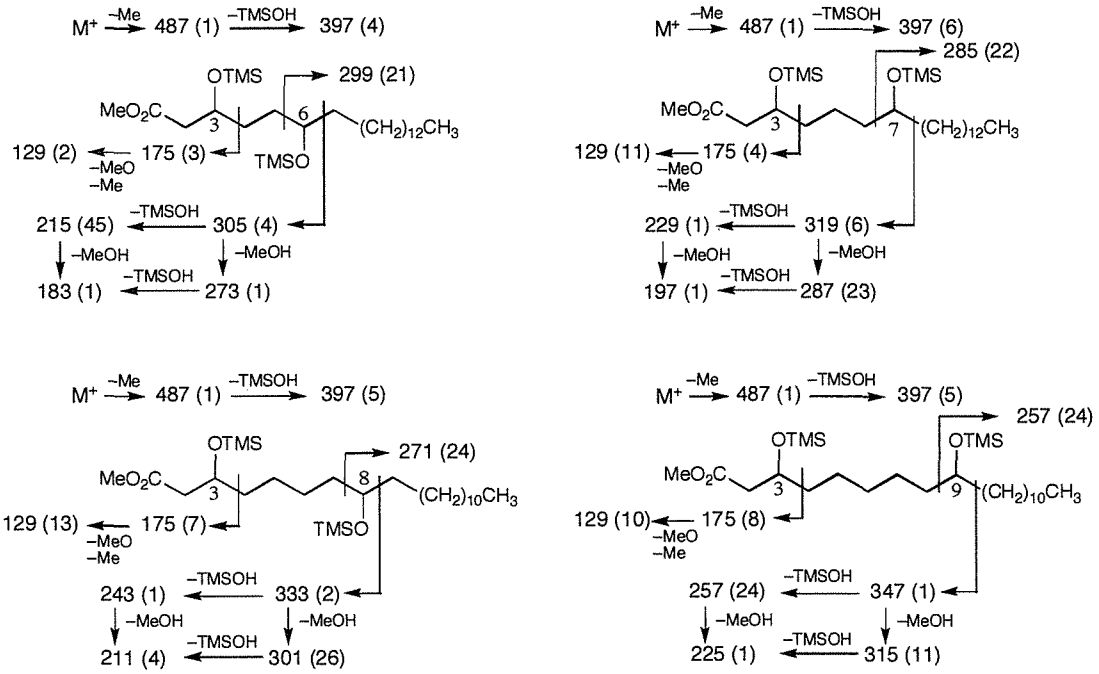


図 2-9. Methyl dihydroxyeicosanoate の bis-TMS エーテル体のフラグメンテーション

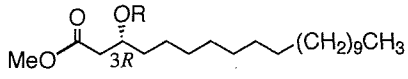
先の TLC にてブロードのスポットであった高極性側の脂肪酸メチルエステルは、展開溶媒の検討結果 (Hexan/AcOEt, 1:1 x 2)、TLC 上にて 4 つのスポット (R_f値 : 0.38, 0.34, 0.30, 0.28)に分離でき、PTLC にてそれぞれのスポットに精製した。R_f値 0.38 のフラクションの TMS 化体は GC-MS 分析において 20:1 の比で 2 本のピークを与え、それぞれのフラグメントイオンから **PL-39a** と **PL-40a** の bisTMS エーテルであるとこ

とが示された。従って、R_f値0.38のフラクションは**PL-39a**と**PL-40a**の20:1の混合物であると決定した。同様に他のフラクションについても解析し、R_f値0.34のフラクションは**PL-37a**と**PL-38a**の13:1の混合物、0.30のフラクションは**PL-33a**と**PL-34a**の10:1の混合物、0.28のフラクションは**PL-35a**と**PL-36a**の3:4の混合物であると決定した。GLCでは3,6-, 3,7-, 3,8-, 3,9-の順に溶出したが、順層のTLCにおいて、R_f値は3,7-, 3,6-, 3,8-, 3,9-の順に大きくなっていった。3位および6–9位の立体化学はモノヒドロキシ脂肪酸およびジヒドロキシ脂肪酸メチルエステルを2-(naphthalene-2-yl)-2-methoxyacetic acid (2NMA)の(*S*)体および(*R*)体のそれぞれのモノエステル誘導体とし、新Mosher法と同様、両異性体の化学シフトの差より決定した (Kusumi et al., 1994; Kobayashi et al., 1998)。なお、いずれの脂肪酸メチルエステルフラクションにおいてもC_{18}とC_{20}の混合物であるが、そのまま絶対配置の決定を行うことにした。

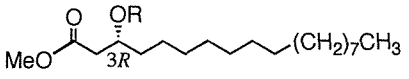
PL-31a/32aに対して1.6当量の(*R*)-または(*S*)-2NMAをEDC-HCl, DMAP, DMAP-HCl存在下、$CHCl_3$中で反応させ (Kobayashi et al., 2007) 3-*O*-(*R*)-2NMA誘導体**PL-31b/32b**、3-*O*-(*S*)-2NMA誘導体**PL-31c/32c**をそれぞれ収率80%で得た。Ha-2, Hb-2, COOMeの$\Delta\delta(R–S)$値がいずれも負であったことから3位の立体化学を*R*と決定した (表2-5)。これらのエステル体の^{1}H NMRスペクトルにおいて、3*R*体に由来するピークは観測されなかった。続いて、**PL-39a/40a**に対して、1.3当量の(*R*)-NMAを先と同様の条件下で反応させ、3-*O*-(*R*)-2NMA誘導体**PL-39b/40b**と9-*O*-(*R*)-2NMA誘導体**PL-39d/40d**の1:1の混合物を与えた。同様に3-*O*-(*S*)-2NMA誘導体**PL-39c/40c**と9-*O*-(*S*)-2NMA誘導体**PL-39e/40e**の1:1の混合物も得た。3位が2NMAエステル化されたものと9位が2NMAエステル化されたものは分離不可能であったので、混合物のまま^{1}H NMRスペクトルを解析した。**PL-31b/32b**と**PL-39b/40b**および**PL-31c/32c**と**PL-39d/40d**のプロトン化学シフトが良く一致していたため、混合物の状態でも**PL-39b/40b**と**PL-39d/40d**および**PL-39b/40b**と**PL-39d/40d**それぞれシグナルを容易に帰属するこ

とができた (表 2-5)。なお、いずれの光学異性体の 2NMA を用いた場合でも原料は消失し、3 位および n 位において反応した生成物が 1 : 1 の比で得られたので、本基質の 2NMA エステル化の際に光学分割が起こる可能性は考慮しなくてよいと考えられる。

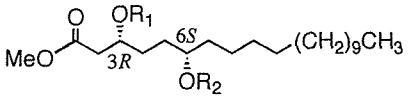
表 2-5 に記載した Δδ(*R*–*S*) 値より、**PL-39a/40a** の絶対配置は 3*R*,9*R* と決定した。3,8-, 3,7-, 3,6-ジヒドロキシ脂肪酸メチルエステルに関しても同様に誘導体化し、それぞれ



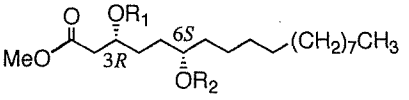
PL-31a: R=H
PL-31b: R=(*R*)-2NMA
PL-31c: R=(*S*)-2NMA



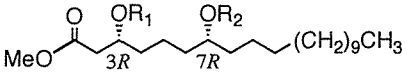
PL-32a: R=H
PL-32b: R=(*R*)-2NMA
PL-32c: R=(*S*)-2NMA



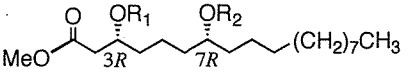
PL-33a: R_1=R_2=H
PL-33b: R_1=(*R*)-2NMA, R_2=H
PL-33c: R_1=(*S*)-2NMA, R_2=H
PL-33d: R_1=H, R_2=(*R*)-2NMA
PL-33e: R_1=H, R_2=(*S*)-2NMA



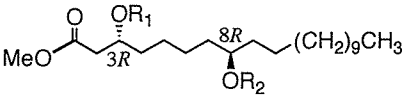
PL-34a: R_1=R_2=H
PL-34b: R_1=(*R*)-2NMA, R_2=H
PL-34c: R_1=(*S*)-2NMA, R_2=H
PL-34d: R_1=H, R_2=(*R*)-2NMA
PL-34e: R_1=H, R_2=(*S*)-2NMA



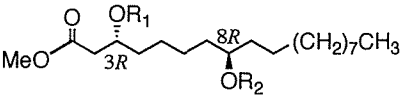
PL-35a: R_1=R_2=H
PL-35b: R_1=(*R*)-2NMA, R_2=H
PL-35c: R_1=(*S*)-2NMA, R_2=H
PL-35d: R_1=H, R_2=(*R*)-2NMA
PL-35e: R_1=H, R_2=(*S*)-2NMA



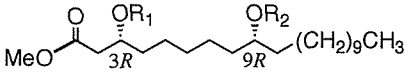
PL-36a: R_1=R_2=H
PL-36b: R_1=(*R*)-2NMA, R_2=H
PL-36c: R_1=(*S*)-2NMA, R_2=H
PL-36d: R_1=H, R_2=(*R*)-2NMA
PL-36e: R_1=H, R_2=(*S*)-2NMA



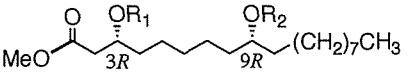
PL-37a: R_1=R_2=H
PL-37b: R_1=(*R*)-2NMA, R_2=H
PL-37c: R_1=(*S*)-2NMA, R_2=H
PL-37d: R_1=H, R_2=(*R*)-2NMA
PL-37e: R_1=H, R_2=(*S*)-2NMA



PL-38a: R_1=R_2=H
PL-39b: R_1=(*R*)-2NMA, R_2=H
PL-39c: R_1=(*S*)-2NMA, R_2=H
PL-39d: R_1=H, R_2=(*R*)-2NMA
PL-39e: R_1=H, R_2=(*S*)-2NMA



PL-39a: R_1=R_2=H
PL-39b: R_1=(*R*)-2NMA, R_2=H
PL-39c: R_1=(*S*)-2NMA, R_2=H
PL-39d: R_1=H, R_2=(*R*)-2NMA
PL-39e: R_1=H, R_2=(*S*)-2NM



PL-40a: R_1=R_2=H
PL-40b: R_1=(*R*)-2NMA, R_2=H
PL-40c: R_1=(*S*)-2NMA, R_2=H
PL-40d: R_1=H, R_2=(*R*)-2NMA
PL-40e: R_1=H, R_2=(*S*)-2NMA

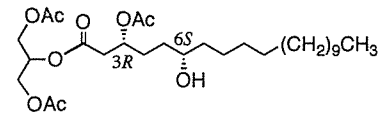
図 2-10. 脂肪酸誘導体の構造

表 2-5 ^{1}H NMR data (500 MHz, $CDCl_3$) for the (*R*)- and (*S*)-mono-2NMA esters of the dihydroxyfatty acid methyl esters.

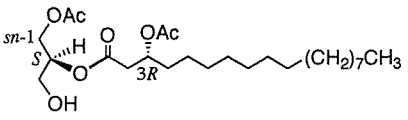
Compound	No.	3-*O*-(*R*)-2NMA	3-*O*-(*S*)-2NMA	$\Delta\delta_{R-S}$	6–9-*O*-(*R*)-2NMA	6–9-*O*-(*S*)-2NMA	$\Delta\delta_{R-S}$
3-OH	OMe	3.20 (*s*)	3.57 (*s*)	–0.37			
	2	2.49 (*dd*, 15.7, 8.0)	2.60 (*dd*, 15.5, 7.6)	–0.11			
		2.42 (*dd*, 15.7, 5.1)	2.52 (*dd*, 15.5, 5.4)	–0.10			
	3	5.28 (*m*)	5.28 (*m*)	0.00			
3,9-$(OH)_2$	OMe	3.22 (*s*)	3.58 (*s*)	–0.36	3.72 (*s*)	3.72(*s*)	0.00
	2	2.49 (*dd*, 15.7, 8.1)	2.61 (*dd*, 15.3, 7.6)	–0.12	2.35 (*dd*, 16.4, 3.4)	2.46 (*dd*, 16.4, 3.1)	–0.11
		2.42 (*dd*, 15.7, 5.1)	2.53 (*dd*, 15.3, 5.3)	–0.11	2.23 (*dd*, 16.4, 9.0)	2.37 (*dd*, 16.4, 9.1)	–0.14
	3	5.29 (*m*)	5.29 (*m*)	0.00	3.78 (*m*)	3.94 (*m*)	–0.16
	9	3.52 (*m*)	3.38 (*m*)	0.14	4.90 (*m*)	4.90 (*m*)	0.00
3,8-$(OH)_2$	OMe	3.23 (*s*)	3.59 (*s*)	–0.36	3.70 (*s*)	3.71 (*s*)	–0.01
	2	2.50 (*dd*, 15.6, 8.1)	2.61 (*dd*, 15.3, 7.6)	–0.11	2.26 (*dd*, 16.4, 3.3)	2.44 (*dd*, 16.5, 3.2)	–0.18
		2.43 (*dd*, 15.6, 5.1)	2.53 (*dd*, 15.6, 5.4)	–0.10	2.19 (*dd*, 16.4, 8.8)	2.36 (*dd*, 16.5, 9.0)	–0.17
	3	5.29 (*m*)	5.29 (*m*)	0.00	3.67 (*m*)	3.92 (*m*)	–0.25
	8	3.46 (*m*)	3.23 (*m*)	0.23	4.90 (*m*)	4.90 (*m*)	0.00
3,7-$(OH)_2$	OMe	3.22 (*s*)	3.59 (*s*)	–0.36	3.70 (*s*)	3.71 (*s*)	–0.01
	2	2.51 (*m*)	2.62 (*dd*, 15.6, 7.3)	–0.12	2.36 (*m*)	2.40 (*dd*, 16.6, 2.9)	–0.04
		2.44 (*m*)	2.54 (*dd*, 15.6, 5.3)	–0.10	2.30 (*m*)	2.32 (*dd*, 16.6, 8.6)	–0.02
	3	5.29 (*m*)	5.29 (*m*)	0.00	3.50 (*m*)	3.88 (*m*)	–0.38
	7	3.44 (*m*)	3.15 (*m*)	0.29	4.90 (*m*)	4.90 (*m*)	0.00
3,6-$(OH)_2$	OMe	3.25 (*s*)	3.60 (*s*)	–0.35	3.69 (*s*)	3.63 (*s*)	0.06
	2	2.52 (*dd*, 15.7, 7.7)	2.64 (*dd*, 15.7, 7.8)	–0.12	2.36 (*dd*, 16.6, 3.1)	1.84 (*m*)	0.52
		2.44 (*dd*, 15.7, 5.3)	2.54 (*dd*, 15.7, 5.7)	–0.10	2.29 (*dd*, 16.6, 8.9)	1.83 (*m*)	0.46
	3	5.32 (*m*)	5.32 (*m*)	0.00	3.93 (*m*)	3.62 (*m*)	0.31
	6	3.51 (*m*)	3.21 (*m*)	0.30	4.95 (*s*)	4.95 (*m*)	0.00

[a] Multiplicity and coupling constant (*J* in Hz) in parentheses.

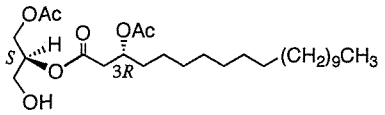
の Δδ(*R*–*S*) 値から、3*R*,8*R*, 3*R*,7*R*, 3*R*,6*S* と決定した。いずれにおいても、^{1}H NMR で検出できる範囲においては、8*S*, 7*S*, 6*R* 体に由来するピークは認められなかった。6 位の絶対配置に関しては、*G*-1 の構造決定中に新 Mosher 法によって *S* であることを確認している。



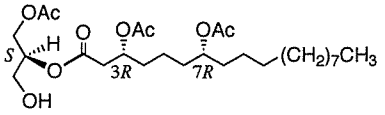
PL-1



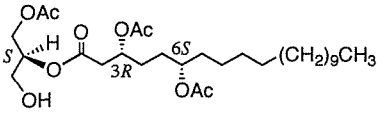
PL-2



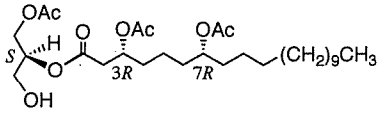
PL-3



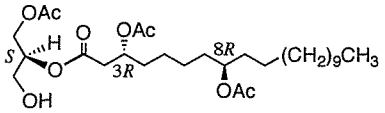
PL-4



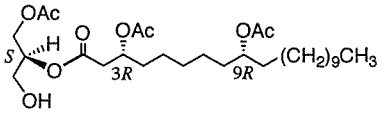
PL-5



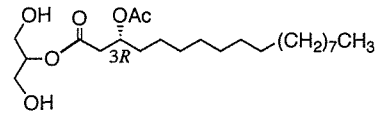
PL-6



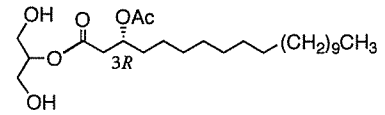
PL-7



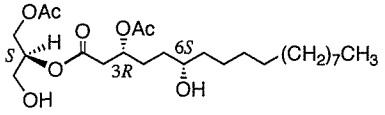
PL-8



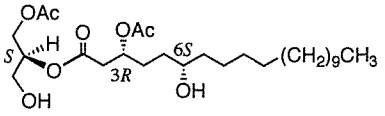
PL-9



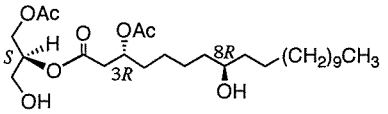
PL-10



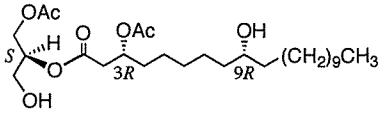
PL-11



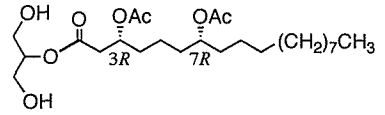
PL-12



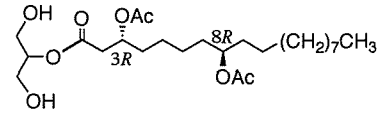
PL-13



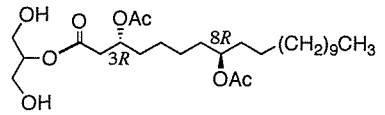
PL-14



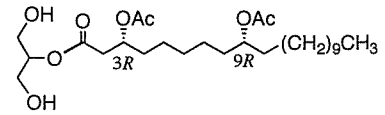
PL-15



PL-16



PL-17



PL-18

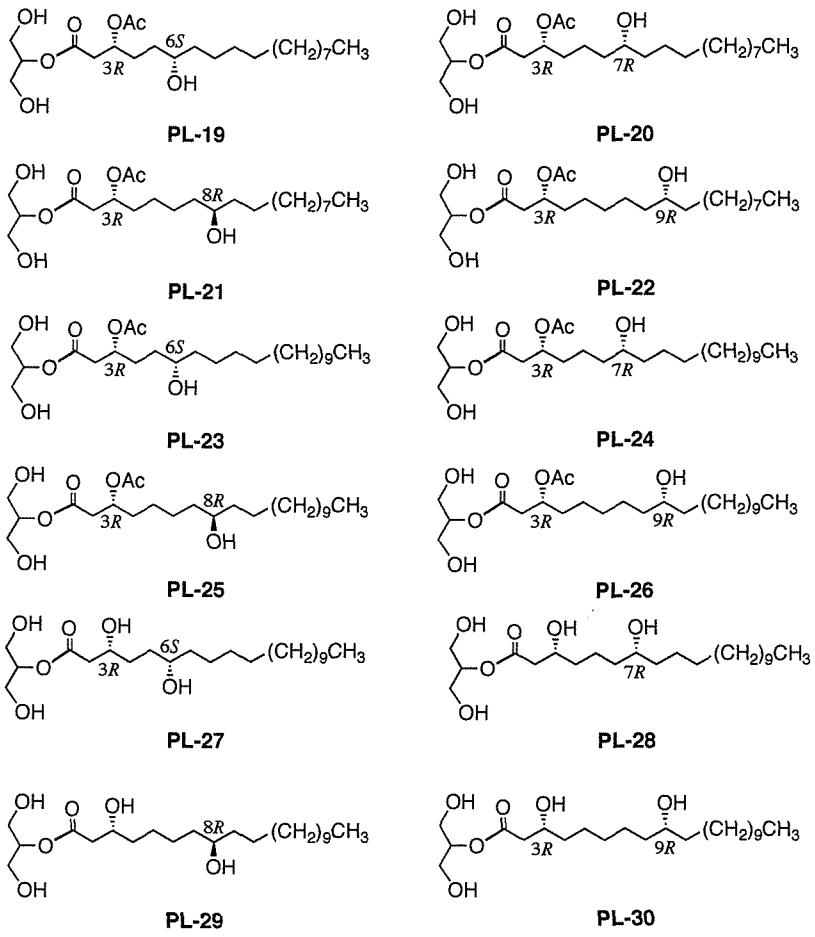


図 2-11. キリ幼木の葉・茎の腺毛分泌物中のアシルグリセロール類の化学構造

キリの葉・茎の腺毛分泌物 Fr. G-1

G-1 は、HRFABMS スペクトルにおいて、*m/z* 545.3680 $[M+H]^+$に、$C_{29}H_{52}O_9$ の分子式に相当するイオンピークが 1 つ観測された。^{1}H NMR スペクトルにおいて、トリグリセリドのグリセロール部分に相当する 5H 分のシグナル [δ 5.25 (*m*, H-*sn*-2), 4.31 (*dd*, *J* =12.0, 5.0 Hz, Ha-*sn*-1), 4.14 (*dd*, *J* =12.0, 6.0 Hz, Hb-*sn*-1), 4.30 (*dd*, *J* =12.0, 5.0 Hz, Ha-*sn*-3), 4.14 (*dd*, *J* =12.0, 6.0 Hz, Hb-*sn*-3)]に加えて、2H 分のオキシメチンシグナル δ 3.60 (*m*), 5.25 (*m*) (δ 5.25 のシグナルは積分値が 2 であり、グリセロールの *sn*-1 と 3 のメチレンシグナルと次に示す δ 2.65, 2.58 のメチレンプロトンとスピン結合している)、カルボニルの α 位のメチレン δ 2.65 (*dd*, *J* = 15.5, 7.0 Hz), 2.58 (*dd*, *J* = 15.5, 5.5 Hz) (両方とも δ 5.25 とスピン結合している)、長いメチレン鎖に由来する δ 1.25 (*m*)

およびその末端メチル基のシグナル δ 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz)、3 つのアセチルメチルシグナル δ 2.10 (*s*, 3H x 2), 2.07 (*s*, 3H) が観測されたことより (表 2-4)、3-アセトキシ-n-ヒドロキシ脂肪酸鎖 (n=6, 7, 8 または 9) を 1 つ有するトリグリセリドであると示された。^{13}C NMR スペクトルにおいて、4 つのエステルカルボニルシグナル δ 170.5 (x2), 170.3, 169.5 が観測され、また、HMBC スペクトルにおいて、アセチルメチルシグナル δ 2.10 (3H x 2) と δ 4.31, 4.30, 4.14, 4.14 (グリセロールの H_2-*sn*-1 と 3) から δ 170.5 へ、アセチルメチルシグナル δ 2.07 から δ 170.3 への相関が観測されたことより、脂肪酸鎖のエステルカルボニルのシグナルが δ 169.5 であり、また、グリセロール部分の置換様式は *sn*-1,3 がアセチル化、*sn*-2 が脂肪酸エステル化されていることがわかった。続いて *G*-1 を加水分解し、対応する脂肪酸メチルエステルへと誘導体化した後、TMS エーテル体として GC-MS 測定した。GC-MS スペクトルにおいて単一のピークが観測され、**PL-33a** (methyl 3,6-dihydroxyeicosanoate) の TMS エーテル体のデータと一致した。また、*G*-1 の TMS エーテル体の GC-MS 測定において、*m/z* 419 (C-6/7 間での切断によるフラグメント) および 299 [([CH(OTMS)$C_{14}H_{29}$]$^+$) (C-5/6 間での切断によるフラグメント) が観測されたことは、脂肪酸部の C-6 位にフリーの水酸基を有していることを支持した。従って、*G*-1 は 1,3-di-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3-(acetyloxy)-6-hydroxyeicosanoyl]glycerol (**PL-1**) と決定した。なお、脂肪酸部の C-6 位の立体化学が *S* であることは、*G*-1 に新 Mosher 法を適応することにより確認した。

キリの葉・茎の腺毛分泌物 Fr. G-2

^{1}H NMR スペクトルにおいて、ジアシルグリセロールに特徴的な 5H 分のシグナル δ 5.08 (*m*, *sn*-2), 4.30 (*dd*, *J* = 12.0, 4.5 Hz, Ha-*sn*-1), 4.23 (*dd*, *J* = 12.0, 6.0 Hz, Hb-*sn*-1), 3.64 (*m*, H_2-*sn*-3, 2H)、3-アセトキシ脂肪酸部に帰属されるシグナル δ 5.22 (*m*, H-3), 2.62 (*dd*, *J* = 15.5, 7.5 Hz, Ha-2), 2.58 (*dd*, *J* = 15.5, 4.5 Hz, Hb-2)、2 つのアセチルメチルシグナル δ 2.07 (*s*), 2.05 (*s*) が観測された (表 2-4)。HMBC スペクトルにおいて、

H_2-*sn*-1 (δ 4.30, 4.23) からアセチル基のカルボニル δ 170.9 (δ 2.07 から相関あり) への相関が観測されたことより、グリセロールの *sn*-2 位が脂肪酸エステル化されていることがわかった。脂肪酸部分の構造は *G*-1 の時と同様に、*G*-2 を対応するメチルエステル体へと誘導し、その TMS エーテル体に対して GC-MS 測定を行うことで決定した。*G*-2 由来の TMS 体の GC-MS 測定において、**PL-31a** および **PL-32a** の TMS 体に相当するピークが 10:1 の比で観測された。グリセロール部分の *sn*-2 位の立体化学は以下の方法で決定した。まず、図 2-12 に示したスキームに従って、(+)-3-*O*-TBDPS-*sn*-glycerol および、(–)-1-*O*-TBDPS-*sn*-glycerol をそれぞれ合成した。*G*-2 より誘導した mono-TBDPS- glycerol の旋光度は (+)-3-*O*-TBDPS-*sn*-glycerol の値と良い一致を示したことより、*G*-2 の *sn*-2 の立体化学を *S* と決定した。また、その光学純度は、*G*-2 より誘導した(+)-3-*O*-TBDPS-*sn*-glycerol を 1,2-bis-*O*-(*S*)-MTPA エステル体とし、その ^{1}H NMR スペクトルより 100% ee と決定した。*G*-3、*G*-5 の *sn*-2 の立体化学に関しても同様な方法によりそれぞれ *S* であり光学純度 100% ee であると決定した。従って、*G*-2 は 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxyeicosanoyl]glycerol (**PL-3**) と 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*)-3- acetyloxyoctadecanoyl]glycerol (**PL-2**) の 10:1 の混合物であると決定した。

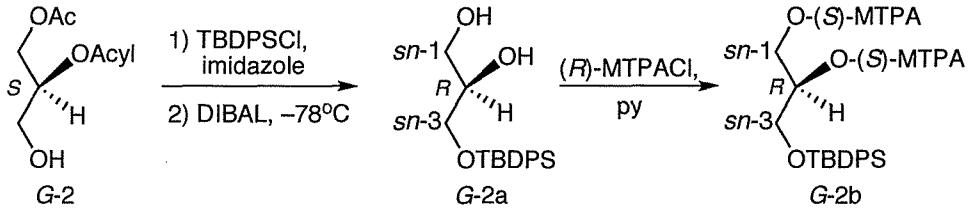


図 2-12. *G*-2b の合成スキーム

キリの葉・茎の腺毛分泌物 Fr. G-3

G-3 の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、1,2-di-*O*-acylglycerol のグリセロール部分の 5H 分のシグナル、2H 分のオキシメチンシグナル δ 5.22 (*m*), 4.84 (*m*)、カルボニルの α 位のメチレンシグナル δ 2.60 (*m*, 2H) (δ 5.22 とスピン結合している)、3 つのアセチルメ

チルシグナル δ 2.08 (*s*), 2.04-2.05 (*m*, 3H x 2) が観測された。これらのデータより、脂肪酸部は 2 つのアセトキシ基を有しており、1 つは C-3 であることが示された。残りのアセトキシ基に関しては、6, 7, 8 または 9 位であり、^{1}H NMR スペクトルにおいて、C-2 のメチレンシグナルがマルチプレットになっていることや δ 2.04-2.05 のアセチルシグナルが複数に分裂していることより、残りのアセトキシ基の位置は単一ではなく混合物であることが示唆された。グリセロール部の脂肪酸エステルの位置は、HMBC 相関により *sn*-2 位であると決定した。脂肪酸部の構造は上述の方法に従い、対応するメチルエステル化体を得た後、TMS 化して GC-MS 測定を行い決定した。この TMS 体は GC-MS スペクトルにおいて、28:6:6:26:34 の比で 5 本のピークが観測され、それぞれ **PL-36a**, **-33a**, **-35a**, **-37**a, **-39a** の bis-TMS 体と一致した。従って、*G*-3 は 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,7*R*)-3,7-diacetyloxyoctadecanoyl]glycerol (**PL-4**), 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxyeicosanoyl]glycerol (**PL-5**), 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,7*R*)-3,7-di-acetyloxyeicosanoyl]glycerol (**PL-6**), 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,8*R*)-3,8-diacetyloxy-octadecanoyl]glycerol (**PL-7**), 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,9*R*)-3,9-diacetyloxyoctadecanoyl]-glycerol (**PL-8**) の 28:6:6:26:34 の比の混合物であると決定した。

キリの葉・茎の腺毛分泌物 Fr. G-4

G-4 は *G*-5 とシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて完全な分離が困難であった (*G*-5 に関してはカラムクロマトグラフィーで後半に溶出するフラクションに純品として少量得ることができた。)。後述するが、グリセロール部の異性化のことも考慮にいれ、*G*-4 はこれ以上精製せず、*G*-4/*G*-5=1:1 の混合物のまま構造決定することとした。混合物の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、*G*-4 に帰属できるシグナルには (*G*-5 単一のフラクションの ^{1}H NMR スペクトルを差し引いた残りのシグナルを *G*-4 に割り当てた) 2-*O*-acylglycerol 由来の 5H 分のシグナル δ 4.89 (*m*, H-*sn*-2), 3.82 (*m*, H_2-*sn*-1, 3, 4H)、3-アセトキシ脂肪酸部に帰属できる δ 5.30 (*m*, H-3), 2.61 (*dd*, *J* = 15.5, 4.5 Hz),

2.58 (*dd*, *J* = 15.5, 6.0 Hz)が観測された。これより、*G*-4 は 2-*O*-(3-acetyloxyfatty acyl)glycerol と推定された。*G*-4 と *G*-5 の混合物をアセチル化すると、TLC にて分離可能な 2 つの混合物を 1:1 で与えた。低極性側のスポットは、^{1}H NMR スペクトルにおいて、トリグリセリドに特徴的な 5H 分のシグナルに加えて、3-アセトキシ脂肪酸に帰属できるシグナルを与えた。これより、低極性側のスポットは *G*-4 由来であることがわかった。高極性側のスポットも ^{1}H NMR より *G*-5 由来であることがわかった。*G*-4 の脂肪酸部の組成は、分離した *G*-4 のアセチル化体を用いて、上述の方法を用いることで決定した。*G*-4 のアセチル化体より誘導した脂肪酸メチルエステルの TMS エーテル体は、GC-MS スペクトルにおいて、**PL-31a** と **PL-32a** の TMS エーテル体のピークを 10:1 の比で与えた。従って、*G*-4 は 2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxyeicosanoyl]glycerol (**PL-10**) と 2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxyoctadecanoyl]-glycerol (**PL-9**) の 10:1 の混合物であると決定した。

<u>キリの葉・茎の腺毛分泌物 Fr. G-5</u>

G-5 の ^{1}H NMR スペクトルと *G*-3 のスペクトルは、*G*-3 で見られた δ 4.84 (H-6, H-7, H-8 または H-9) が δ 3.61 に高磁場シフトしていること、*G*-3 よりアセチルメチルシグナルの数が 1 本少ないことを除いては良く一致していた。このことより、*G*-5 は *G*-3 の C-6, 7, 8, または 9 位の脱アセチル体である、1-*O*-acetyl-2-*O*-[3-acetyloxy-n-hydroxy(fatty acyl)]glycerol (n=6–9) であることがわかった。ちなみに、1-*O*-acetyl-2-*O*-fatty acyl 構造は *G*-2 および *G*-3 と同様、HMBC スペクトルにより決定した。また、*G*-5 から誘導した脂肪酸メチルエステルの bis-TMS エーテル体は、GC-MS スペクトルにおいて、15:70:8:7 の比で **PL-34a**,-**33a**, -**37a**, -**39**a の TMS 体と一致するピークを与えた。従って、*G*-5 は 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3-acetyloxy-6-hydroxyoctadecanoyl]glycerol (**PL-11**), 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3-acetyloxy-6-hydroxy-eicosanoyl]glycerol (**PL-12**), 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,8*R*)-3-acetyloxy-8-hydroxyoctadecanoyl]-

glycerol (**PL-13**), 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*,9*R*)-3-acetyloxy-9-hydroxyeicosanoyl]glycerol (**PL-14**) の 15:70:8:7 の比の混合物であると決定した。

キリの葉・茎の腺毛分泌物 Fr. G-6

G-6 は、^{1}H NMR スペクトルにおいて、2-アシルグリセロールに帰属される 5H 分のシグナルに加え、カルボニルのα位のメチレンδ2.60 (*m*, H-2, 2H), 2H 分のオキシメチンプロトンδ5.30 (*m*, H-3), 4.84 (*m*)、2 つのアセチルメチルシグナル δ2.04—2.07 (*m*, 6H) が観測されたことから、脂肪酸部分は 3,n-ジアセトキシ脂肪酸であることが示された (n=6-9)。*G*-6 由来の脂肪酸メチルエステルの bis-TMS エーテル体は、GC-MS スペクトルにおいて **PL-36a**, **-38a**, **-37a**, **-39a** と一致するピークを 8:12:42:38 で与えた。以上より、*G*-6 は 2-*O*-[(3*R*,7*R*)-3,7-diacetyloxyoctadecanoyl]glycerol (**PL-15**), 2-*O*-[(3*R*,8*R*)-3,8-diacetyloxyoctadecanoyl]glycerol (**PL-16**), 2-*O*-[(3*R*,8*R*)-3,8-diacetyloxy-eicosanoyl]glycerol (**PL-17**), 2-*O*-[(3*R*,9*R*)-3,9-diacetyloxyeicosanoyl]glycerol (**PL-18**) の 8:12:42:38 の混合物と決定した。

表 2-6. GC-MS[a] data of the glycerides in the form of TMS derivatives.

Compound	Relative abundance (%)	t_R (min)	fragmentation ions *m/z* (relative intensity, %)
PL-3a	1.2	7.2	545 $[M–Me]^+$ (3), 485 $[M–Me–AcOH]^+$ (11), 429 (8), 339 (21), 265 (34), 218*[b] (90), 129 (100)
PL-2a	tr[c]	8.3	515 $[M–Me]^+$ (5), 455 $[M–Me–AcOH]^+$ (21), 440 (6), 397 (6), 380 (6), 325 (1), 293 (90), 189* (100), 129 (80)
PL-3c	0.8	9.3	633 $[M–Me]^+$ (3), 573 $[M–Me–AcOH]^+$ (14), 509 (8), *479*[c] (4), 469 (23), 412 (13), 340 (22), *271* (73), 236* (100), 218* (92), 129 (95)
PL-3f	1.1	9.6	633 $[M–Me]^+$ (4), 573 $[M–Me–AcOH]^+$ (11), 509 (9), *493* (3), 469 (23), 412 (14), 340 (25), *257* (71), 236* (100), 218* (92), 129 (92)
PL-3i	0.6	9.8	633 $[M–Me]^+$ (5), 573 $[M–Me–AcOH]^+$ (17), 509 (6), *507* (5), 469 (23), 412 (12), 340 (27), *243* (71), 236* (100), 218* (89), 129 (91)
PL-3l	tr	10.0	633 $[M–Me]^+$ (6), 573 $[M–Me–AcOH]^+$ (12), *521* (5), 509 (11), 469 (19), 412 (10), 340 (21), *229* (77), 236* (100), 218* (92), 129 (92)
PL-3A	11.8	11.0	573 $[M–Me]^+$ (5), 513 $[M–Me–AcOH]^+$ (13), 457 (9), 367 (27), 293 (32), 218* (92), 129 (100)
PL-2c	2.0	11.0	603 $[M–Me]^+$ (11), 543 $[M–Me–AcOH]^+$ (18), 471 (8), *449* (21), 413 (13), *389* (32), 353 (23), *271* (100), 189* (92), 129 (95)
PL-3e	2.4	11.0	603 $[M–Me]^+$ (4), 543 $[M–Me–AcOH]^+$ (18), 513 (11), 457 (8), 368 (21), 291 (33), 236* (46), 229 (22), 218* (100), 129 (92)
PL-3h	3.5	11.0	603 $[M–Me]^+$ (4), 543 $[M–Me–AcOH]^+$ (18), 513 (11), 457 (8), 368 (21), 291 (33), 236* (46), 229 (22), 218* (100), 129 (92)
PL-3D	1.6	12.0	691 $[M–Me]^+$ (21), 603 $[M–Me–TMSOH]^+$ (35), *509* (15), 471 (12), 451 (53), 429 (14), 339 (43), *299* (70), 236* (67), 219* (92), 218* (91), 147* (77), 129 (100)
PL-3G	tr	12.3	691 $[M–Me]^+$ (20), 603 $[M–Me–TMSOH]^+$ (33), *523* (12), 471 (14), 451 (52), 429 (12), 339 (47), *285* (77), 236* (63), 219* (94), 218* (91), 147* (36), 129 (100)
PL-3J	1.8	12.6	691 $[M–Me]^+$ (24), 603 $[M–Me–TMSOH]^+$ (38), *537* (17), 471 (13), 451 (48), 429 (13), 339 (46), *271* (68), 236* (72), 219* (92), 218* (90), 147* (41), 129 (100)
PL-3M	0.9	12.9	691 $[M–Me]^+$ (23), 603 $[M–Me–TMSOH]^+$ (34), *551* (15), 471 (13), 451 (56), 429 (17), 339 (39), *257* (73), 236* (71), 219* (89), 218* (87), 147* (41), 129 (100)
PL-2A	2.7	13.1	543 $[M–Me]^+$ (6), 483 $[M–Me–AcOH]^+$ (23), 468 (7), 425 (9), 408 (12), 353 (1), 293 (92), 189* (100), 129 (80)
PL-2e	1.2	13.1	573 $[M–Me]^+$ (3), 513 $[M–Me–AcOH]^+$ (22), 453 (25), 337 (37), 263 (43), 189* (100), 129 (86)

PL-3C	4.4	14.3	661 $[M–Me]^+$ (6), 601 $[M–Me–AcOH]^+$ (11), 537 (12), 497 (21), *479* (6), 440 (23), 368 (22), *299* (63), 236* (100), 218* (93), 129 (93)
PL-3F	0.6	14.7	661 $[M–Me]^+$ (7), 601 $[M–Me–AcOH]^+$ (13), 537 (11), 497 (24), *493* (5), 440 (25), 368 (21), *285* (66), 236* (100), 218* (94), 129 (92)
PL-3I	2.9	14.9	661 $[M–Me]^+$ (6), 601 $[M–Me–AcOH]^+$ (14), 537 (15), *507* (4), 497 (24), 440 (25), 368 (26), *271* (61), 236* (100), 218* (91), 129 (93)
PL-3L	3.0	15.2	661 $[M–Me]^+$ (8), 601 $[M–Me–AcOH]^+$ (13), 537 (15), *521* (7), 497 (24), 440 (25), 368 (23), *257* (61), 236* (100), 218* (95), 129 (94)
PL-2C	19.8	16.5	631 $[M–Me]^+$ (12), 571 $[M–Me–AcOH]^+$ (21), 499 (11), *449* (22), 441 (10), *389* (42), 381 (26), *299* (100), 189* (92), 129 (95)
PL-2I	1.5	16.9	631 $[M–Me]^+$ (14), 571 $[M–Me–AcOH]^+$ (21), 499 (13), *477* (24), 441 (11), *417* (22), 381 (23), *271* (82), 189* (91), 129 (100)
PL-2L	1.5	17.3	631 $[M–Me]^+$ (16), 571 $[M–Me–AcOH]^+$ (23), 499 (12), *491* (16), 441 (12), *431* (13), 381 (26), *257* (89), 189* (90), 129 (100)
PL-3H	14.3	17.4	631 $[M–Me]^+$ (5), 571 $[M–Me–AcOH]^+$ (21), 511 (14), 368 (26), 291 (50), 257 (28), 236* (48), 218* (100), 129 (100)
PL-3K	12.4	17.5	631 $[M–Me]^+$ (5), 571 $[M–Me–AcOH]^+$ (21), 511 (14), 368 (26), 291 (50), 257 (28), 236* (48), 218* (100), 129 (100)
PL-1C	2.3	18.6	601 $[M–Me]^+$ (1), 541 $[M–Me–AcOH]^+$ (6), 481 (4), 441 (5), *419* (12), 381 (15), *359* (32), *299* (75), 227 (82), 159* (100)
PL-2B	tr	19.0	601 $[M–Me]^+$ (6), 541 $[M–Me–AcOH]^+$ (21), 481 (8), 365 (28), 291 (45), 189* (91), 129 (100)
PL-2E	0.7	19.6	601 $[M–Me]^+$ (7), 541 $[M–Me–AcOH]^+$ (18), 481 (6), 365 (22), 291 (39), 189* (82), 129 (100)
PL-2H	1.9	20.2	601 $[M–Me]^+$ (4), 541 $[M–Me–AcOH]^+$ (26), 481 (10), 365 (25), 291 (49), 189* (84), 129 (100)
PL-2K	2.1	20.4	601 $[M–Me]^+$ (5), 541 $[M–Me–AcOH]^+$ (23), 481 (11), 365 (30), 291 (42), 189* (90), 129 (100)

[a] Retention times were those adopted from GLC analysis. For GLC conditions, see Experimental 4.1.

[b] Asterisked fragment ions were helpful in the determination of the differentiation of the acetylation patterns of the glycerol moieties. (Dumri et al., 2008).

[c] Traces, i.e., less than 0.5%. The data of the fragment ions for the trace amount of components were adopted from the GC-MS data of the individual Fr.

[d] Fragments ions in italic were indicative of the position of C-6–C-9 hydroxy group.

キリの葉・茎の腺毛分泌物 Fr. G-7

G-7 の ^{1}H NMR スペクトルは、ちょうど *G*-3 と *G*-5 の関係と同様に、*G*-6 で見られた δ 4.84 (H-6, H-7, H-8 または H-9) が δ 3.58 に高磁場シフトしており、*G*-3 よりアセチルメチルシグナルの数が 1 本少ないことを除いては良く一致していた。これより、*G*-7 は *G*-6 の C-6, 7, 8, または 9 位の脱アセチル化体 2-*O*-[3-(acetyloxy)-n-hydroxyfatty acyl]glycerol (n=6–9) であることがわかった。*G*-7 由来の脂肪酸メチルエステル体の bis-TMS エーテル体は GC-MS スペクトルにおいて、**PL-34a**, **-36a**, **-38a**, **-40a**, **-33a**, **-35a**, **-37a**, **-39a** と一致するピークを 10:8:6:7:21:3:22:23 の比で与えた。以上より、*G*-7 は 2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3-acetyloxy-6-hydroxyoctadecanoyl]glycerol (**PL-19**), 2-*O*-[(3*R*,7*R*)-3-acetyloxy-7-hydroxyoctadecanoyl]glycerol (**PL-20**), 2-*O*-[(3*R*,8*R*)-3-acetyloxy-8-hydroxy-octadecanoyl]glycerol (**PL-21**), 2-*O*-[(3*R*,9*R*)-3-(acetyloxy)-9-hydroxy-octadecanoyl]-glycerol (**PL-22**), 2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3-(acetyloxy)-6-hydroxyeicosanoyl]glycerol (**PL-23**), 2-*O*-[(3*R*,7*R*)-3-acetyloxy-7-hydroxyeicosanoyl]glycerol (**PL-24**), 2-*O*-[(3*R*,8*R*)-3-acetyloxy-8-hydroxyeicosanoyl]glycerol (**PL-25**), 2-*O*-[(3*R*,9*R*)-3-acetyloxy-9-hydroxy-eicosanoyl]-glycerol (**PL-26**) の 10:8:6:7:21:3:22:23 の比の混合物であると決定した。

キリの葉・茎の腺毛分泌物 Fr. G-8

G-8 の ^{1}H NMR スペクトルより、2-アシルグリセロールと 1-アシルグリセロールの 3:1 の混合物であるとわかった。後述するが、2-アシルグリセロールが天然物由来であるものとして、構造決定を進めた。^{1}H NMR スペクトルにおいて、2-アシルグリセロールのグリセロール部に帰属される 5H 分のシグナル δ 4.95 (*m*, H-*sn*-2), 3.77 (*m*, 4H, H_2-*sn*1, 3) に加えて、2H 分のオキシメチンプロトン δ 4.05 (*m*), 3.55 (*m*)、カルボニルの α 位のメチレンシグナル δ 2.50 (*m*, H-2, 2H) が観測された。δ 4.05 (*m*) のオキシメチンと δ 2.50 (*m*, H-2, 2H) のメチレンがスピン結合していたことから、3 位にフリーの水酸基を有していることがわかった。これらのデータより、*G*-8 は

2-*O*-(3,n-dihydroxyfatty acyl)glycerol とわかった (n=6-9)。上述の方法に従い脂肪酸分析を行ったところ、*G*-8 より誘導した脂肪酸メチルエステルは **PL-33a**, **-35a**, **-37a**, **-39a** の 40:8:36:16 の混合物であることが示された。以上より、*G*-8 は 2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-dihydroxyeicosanoyl]glycerol (**PL-27**), 2-*O*-[(3*R*,7*R*)-3,7-dihydroxyeicosanoyl]glycerol (**PL-28**), 2-*O*-[(3*R*,8*R*)-3,8-dihydroxyeicosanoyl]glycerol (**PL-29**), 2-*O*-[(3*R*,9*R*)-3,9-dihydroxyeicosanoyl]glycerol (**PL-30**) の 40:8:36:16 の比の混合物であると決定した。実際、*G*-8 の TMS 化体を GC-MS 分析すると、先に述べた 2-アシルグリセロールの 4 本のピークに加えて、さらに 1-アシルグリセロールに由来する 4 本のピークが観測された。2-アシルグリセロールはアシル基転位を伴って 1-アシルグリセロールへ異性化することが知られている (Kodali et al., 1990; Kim et al., 2003)。*G*-8 を MeOH 中シリカゲルと混ぜて、40°C で放置すると数時間ですべて 1-アシルグリセロールに転位し、このものの TMS 体の GC-MS におけるピークは先に示した 1-アシルグリセロールに由来する 4 本のピークと一致した。このことは、シリカゲルでの精製行程中で異性化してしまう可能性を示した (*G*-4 を無理に精製しなかった理由)。以上のことから、*G*-8 において 1-アシルグリセロールは 2-アシルグリセロールが転位して生成したと考えた。これは、*G*-8 の 1-アシルグリセロールがグリセロール部の *sn*-2 位に関して *R*/*S*=1:1 のラセミ体であったこともからも支持された。

ま と め

キリの幼木の葉および茎の腺毛分泌物より、アシルグリセロール類 30 種を構造決定した。これらのうち、**PL-2**, **-3**, **-6**, **-9**, **-15** を除く、25 種が新規二次代謝産物であった。グリセロール部分の構造は 1,3-di-*O*-acetyl-2-*O*-(fatty acyl)glycerol (*G*-1), 1-*O*-acetyl-2-*O*-(fatty acyl)glycerol (*G*-2, *G*-3, *G*-5), 2-*O*-(fatty acyl)glycerol (*G*-4, *G*-6, *G*-7, *G*-8) f の 3 種類であった。脂肪酸部分の構造は、eicosanoyl (C20) もしくは octadecanoyl (C18) で、3-acetyloxy (*G*-2, *G*-4)、3,n-di-acetyloxy (*G*-3, *G*-6)、3-acetyloxy-n-hydroxy (*G*-1,

G-5, *G*-7)、3,n-di-hydroxy (*G*-8) 置換されていた (n=6-9)。脂肪酸鎖中の立体化学は3,7,8,9 位が *R* で 6 位は *S* であった。1-*O*-acetyl-2-*O*-acylglycerol の *sn*-2 はすべて *S* 体であった。これらアシルグリセロール類の中で、**PL-12** (20%), **PL-17** (14%), **PL-18** (12%), **PL-10** (12%) の 4 種が主成分であった (表 2-6)。

キリの個体間での差に関して、マイナー成分の組成比に多少の違いがあるものの、メジャーなものに関してはほとんど差がなかった。また、東京都と名古屋のキリを比較したが大差はなかった。また、花の表面の腺毛分泌物においても、TLC にて *G*-1–*G*-8 に相当するスポットが、葉および茎の腺毛分泌物と同様な強度比で認められた。また、腺毛分泌物を洗浄して除いた植物体の抽出物にはこれらのアシルグリセロール類は全く含まれていなかった。さらに、この植物体抽出物をアルカリ条件下加水分解し、得た遊離脂肪酸をメチルエステルとし GC-MS 分析を行ったところ、ステアリン酸およびパルミチン酸が主な脂肪酸であった。腺毛分泌物中のアシルグリセロール類の脂肪酸部に見られるヒドロキシ脂肪酸やジヒドロキシ脂肪酸は植物体の脂質としては含まれていないことがわかった。これらの実験結果は、上記のアシルグリセロール類は腺毛に特異的に含まれる物質であり、かつ腺毛は独自の脂肪酸代謝経路を有することを示すものである。

キリでは、成木の未熟な果実表面の腺毛分泌物はゲラニルフラボノイドであるのに対して、幼木の葉や茎の表面の腺毛分泌物はアシルグリセロールであった。このように、同じ植物であっても組織の違いで成分が全く違っていた。このことは、これらの二次代謝産物のキリの両部位における存在意義が異なることを示唆しており興味深い。

2-2 ツノゴマ科キバナツノゴマおよびツノゴマの腺毛分泌物について

ツノゴマ科 (Martyniaceae) 植物は、以前はゴマ科に分類されていたが、APG 分類体系では、ツノゴマ科として独立した。*Ibicella* 属、*Proboscidea* 属など 5 属 17 種の植物からなる小さな科であり、日本には自生しない。これらのうち、キバナツノゴマ (*Ibicella lutea*)、ツノゴマ (*Proboscidea louisiana*) は植物園で比較的入手しやすいので、この２種について調べた。 *P. parviflora* および *P. fragrans* は稀に植物園で見ることができる。

キバナツノゴマ (*Ibicella lutea*) はブラジル原産の一年草で、ウルグアイでは目や皮膚の感染症治療に使われている (Alonso et al., 1995)。過去の成分研究において、glycosyloxy-fatty acid : 11-(6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy-fatty acid (Cerderias et al., 2000)、ダンマラン型トリテルペン : 24-*epi*-polacandrin 3-acetate, (20*S*,24*R*)- epoxy-dammarane-3β,12β,25-triol、フラボン : apigenine (Simirgiotis et al., 2003) が単離･構造決定されている。

ツノゴマ (*Proboscidea louisiana*) はアメリカ南西部原産やメキシコ北部原産の一年草であり、過去の成分研究において、フェニルプロパノイド配糖体、アブシジン酸類縁体、キノール類、イリドイド類の報告がある (Sasaki et al., 1978)。

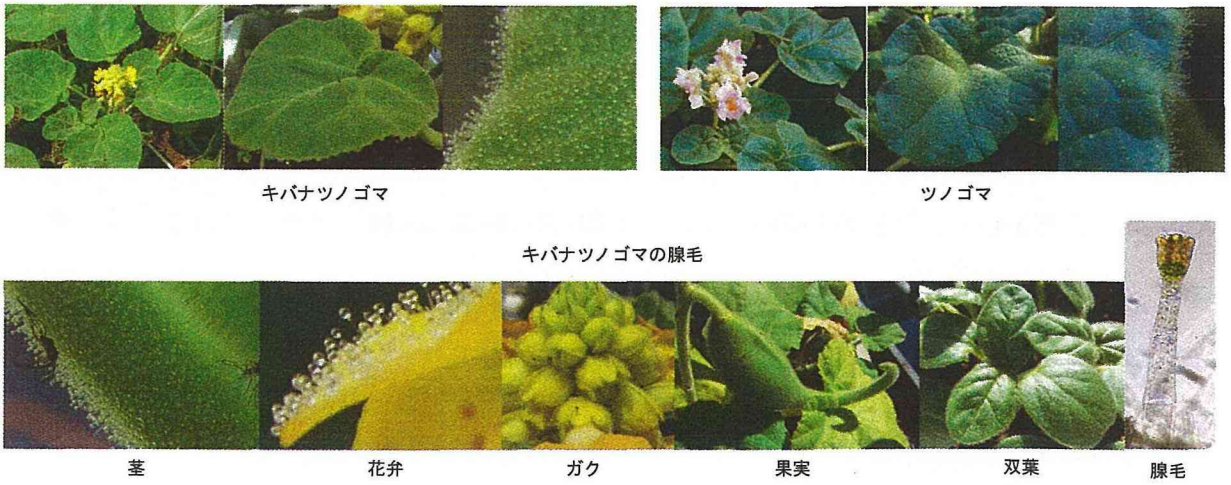


図 2-13. キバナツノゴマおよびツノゴマの写真

キバナツノゴマとツノゴマは和名の通り形態が類似している。微細構造に関して、両植物とも、葉、茎、花弁の表面、未熟な果実表面の地上部全草に密に腺毛を有しているのが特徴である。腺毛の長さは平均して 1.5 mm 程度で、また、その分泌量も非常に多く、先端に分泌物が球状に輝いている様子が肉眼でもはっきりとわかる。また、腺毛分泌物の粘性も高く小さな虫などがトラップされて死んでいる様子が頻繁に見られた (図 2-13)。キバナツノゴマは自分で栽培し、腺毛の発達過程も観察した。腺毛は発芽して双葉の段階から発達しており、TLC 分析により、本葉に発達する腺毛と同じ成分を分泌していることがわかった。腺毛は発芽から枯れるまでの間、植物体上を覆い尽くしており、分泌物を拭き取っても数時間すると腺毛の先端は多量の分泌物により球状に輝いた状態になった。このことから常に活発に分泌し続けていることが示唆された。両植物とも、腺毛が比較的長いこと、また、分泌量が多いことから、脱脂綿を用いて分泌物を容易に採取できた。腺毛の密度に関してはキバナツノゴマの方が高く分泌量も多かった (図 2-13)。分泌物の粘性に関してはツノゴマの方が高かったことから、形態は非常に似ているが分泌物に含まれる化学成分に違いがあるのではないかと考えた。キバナツノゴマおよびツノゴマにおいて、それぞれの分布場所ごとに腺毛分泌物を採取し、TLC パターンを比較したところ、分布場所にはよらず同じ化学成分を分泌していることを明らかにした。実際に成分研究を行うに際して、栽培したキバナツノゴマの葉 (平均して 50 cm^2 程度) 100 枚分を脱脂綿で拭き、それを Et_2O で溶出し 1.2 g の抽出物を得た。ツノゴマに関しては、東京都薬用植物園にて、葉 300 枚ほど脱脂綿で拭き取り、Et_2O にて溶出し、1.9 g の抽出物を得た。得られた抽出物を、それぞれ図 2-14 に示すスキームに従って精製を行った。両植物とも、分泌物の成分は大きく分けて、グリコシルオキシ脂肪酸類, 2-acylglycerol 類, ダンマラントリテルペンの 3 つで構成されていた。以下、分泌物に含まれる化合物の構造を、グリコシルオキシ脂肪酸類、2-(fatty acyl)glycerol 類、ダンマラントリテルペンに分けて、両植物間で対比しながら順に説明する。

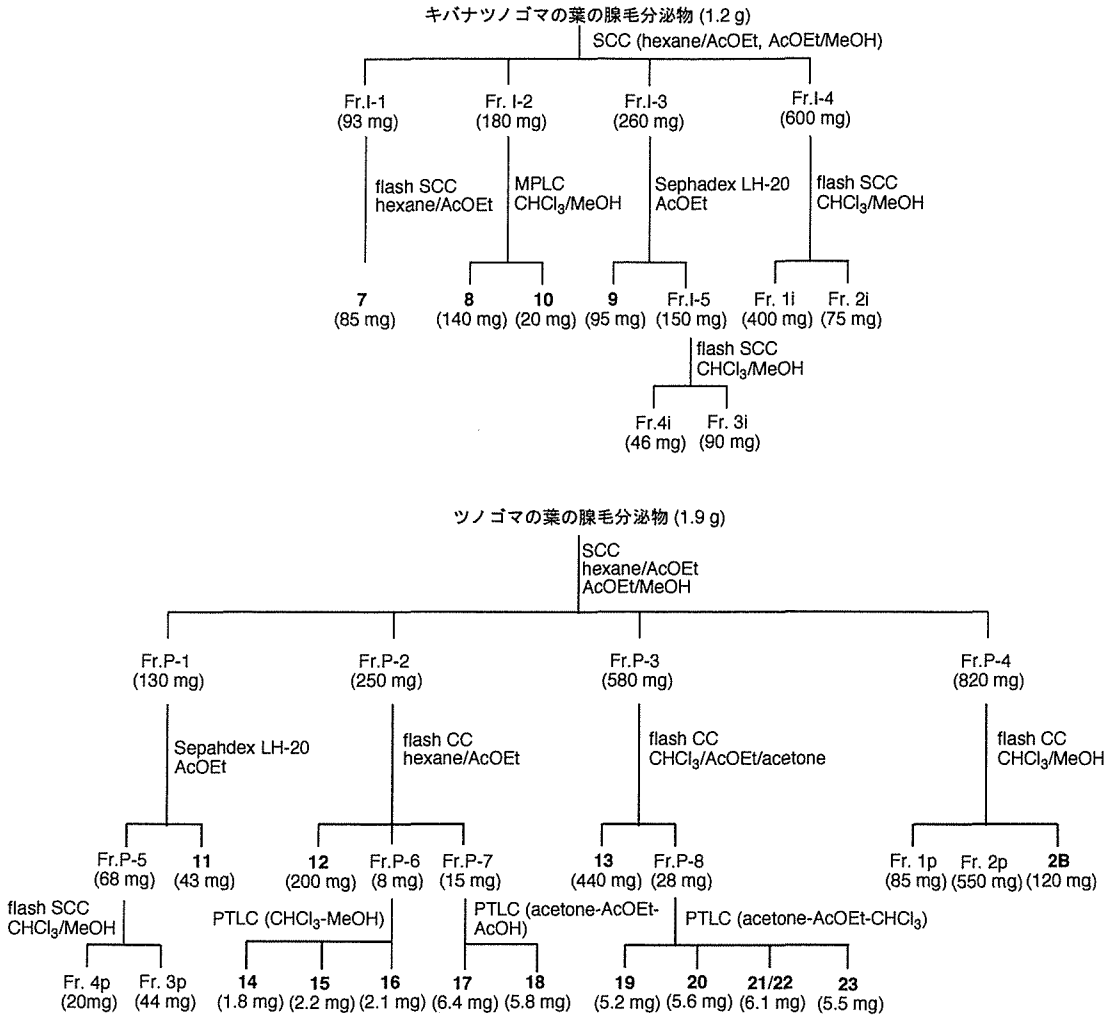


図 2-14. キバナツノゴマおよびツノゴマの腺毛分泌物の精製スキーム

グリコシルオキシ脂肪酸類

キバナツノゴマの Fr. 1i

Fr. 1i の(–)HRFABMS スペクトルにおいて、*m/z* 531.3508 $[M–H]^-$に強い、*m/z* 503.3268 と 559.3892 に弱い擬分子イオンピークが観測され、それぞれの分子式を $C_{28}H_{52}O_9$, $C_{26}H_{48}O_9$, $C_{30}H_{54}O_9$ と決定した。Fr. 1i の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、アノメリックプロトン δ 4.35 (*d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′) を含むヘキソースに帰属される H-H COSY にて相関が連続する 7H 分のシグナル [δ 3.29 (*dd*, *J* = 9.1, 7.8 Hz, H-2′), 3.46 (*t*, *J* = 9.1 Hz, H-3′), 3.36 (*t*, *J* = 9.1 Hz), 3.44 (*m*, H-5′), 4.39 (*dd*, *J* = 12.0, 2.2, Ha-6′), 4.25 (*dd*, *J* = 12.0, 5.9 Hz, Hb-6′)], オキシメチンシグナル δ 3.62 (*m*)、アセチルメチルシグナル δ 2.10 (*s*)

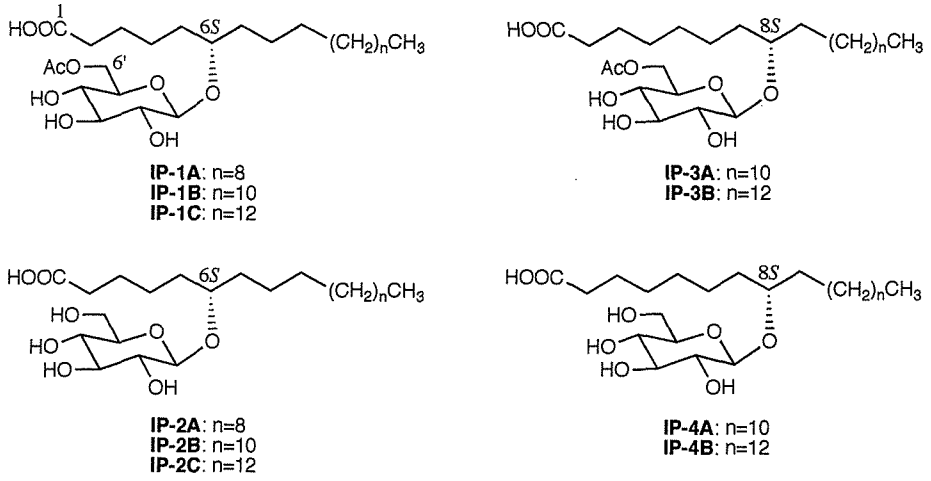


図 2-15. キバナツノゴマおよびツノゴマのグリコシルオキシ脂肪酸類の化学構造

および直鎖脂肪酸に由来するシグナル δ 1.25 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz) が観測された。ヘキソースの構造はシ化学シフト値およびスピン結合定数により 6 位がアシル化された β-グルコースであると決定した。Fr. 1i の ^{13}C NMR スペクトルにおいても 6-*O*-acylglucose の構造およびメチレン鎖中に酸素官能基を 1 つ有する直鎖型の脂肪酸の構造がそれぞれ確認された。また、HMBC スペクトルにおいて、グルコースのアノマー位の水素 (δ 4.35) からオキシメチン (δ 80.3) に相関が観測されたことより、Fr. 1i は脂肪酸鎖中にグリコシド結合を有していることがわかった。また、グルコースの 6 位のメチレン水素からアセチルカルボニルへの HMBC 相関が観測されたことより 6-*O*-acetylglucose の存在が明らかになった。脂肪酸の鎖長に関しては、分子量より算出し、炭素数 18 (*m/z* 503 に対応), 20 (*m/z* 531 に対応), 22 (*m/z* 559 に対応) の混合物であることがわかった。

続いて、脂肪酸部において、グリコシド結合の位置および脂肪酸の鎖長を決定するために、酸性条件下にてグリコシド結合を加水分解した後にジアゾメタンを用いてメチルエステル化することで、対応するヒドロキシ脂肪酸メチルエステル (**IP-1a**, **-1b**, **-1c** の混合物) を得た。この脂肪酸メチルエステル体を TMS エーテル化し、GC-MS 測定を行った。GC-MS スペクトルにおいて 5:85:10 (GC-MS 測定における保持時間の

順：13.7 min, 16.7 min, 21.7 min) の比で 3 本のピークが観測された (図 2-16)。メジャーピーク (16.7 min) のフラグメントイオンに、C-5/C-6 での切断に由来する *m/z* 299 $[CH(OTMS)(CH_2)_{13}CH_3]^+$ (表 2-8) および、C-6/C-7 での切断に由来する *m/z* 217 $[CH_3COOC(CH_2)_4CH(OTMS)]^+$が強く観測されたことより、Fr. 1i のグリコシド結合の位置が C-6 であると決定した。さらに、分子イオンピーク由来のフラグメントイオン *m/z* 399 $[M–Me]^+$ が観測されたことより、このピークは methyl 6-(trimethylsilyloxy)eicosanoate であると決定した。保持時間 13.7 min のピークおよび 21.7 min の 2 つのマイナーピークにも共通して C-6/C-7 での切断に由来する *m/z* 217 が強く観測されたことより、脂肪酸鎖の 6 位でグリコシド結合していると決定し、C-5/C-6 での切断に由来する *m/z* 271 $[CH(OTMS)(CH_2)_{11}CH_3]^+$, 327 $[CH(OTMS)(CH_2)_{15}CH_3]^+$が観測され、それぞれ保持時間 16.7 min のフラグメントイオン *m/z* 299 より保持時間 13.7 min のピークでは 28 mass units (C_2H_4) 小さく、保持時間 21.7 min のピークでは 28 mass units 大きいフラグメントイオンが強く観測された。また、分子イオンに由来する *m/z* 371, 427 $[M–Me]^+$がそれぞれ観測されたことから、保持時間 13.7 min のピークは methyl 6-(trimethylsilyloxy)octadecanoate であり、21.7 min のピークは methyl 6-(trimethylsilyloxy)docosanoate とそれぞれ決定した (表 2-8)。

脂肪酸鎖の 6 位の絶対立体配置は、キリのジヒドロキシ脂肪酸の絶対配置決定と同様 (2-1-5 参照) にメチルエステル体 **IP-1a**, **-1b**, **-1c** の混合物を対応する (*R*)-および (*S*)-2NMA エステル体へと誘導した。H_2-2 (+0.37 ppm) および $COOCH_3$ (+0.08 ppm) の $\Delta\delta(R\text{-}S)$ 値がそれぞれ正であったことより 6*S* と決定した。以上より、Fr. 1i は 6(*S*)-(6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)octadeacanoic acid (**IP-1A**), 6(*S*)-(6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)eicosanoic acid (**IP-1B**), 6(*S*)-(6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)-docosanoic acid (**1C**) の 5:85:10 の混合物であると決定した。

表 2-7. ^{1}H (500 MHz) and ^{13}C NMR (125 MHz) spectroscopic data for Fr. 1*i* (**IP-1A-C**) and Fr. 2*i* (**IP-2A-C**) from *I. lutea* and Fr. 1*p* (**IP-3A-B**) and Fr. 2*p* (**IP-4A-B**) from *P. louisiana*.[a,b]

Position	Fr. 1*i*[c]		Fr. 2*i*[d]		Position	Fr. 1*p*[c]		Fr. 2*p*[d]	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C		δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1	—	176.9	—	178.3	1	—	176.5	—	177.7
2	2.33 (*t*, 7.3, 2H)	35.1	2.27 (*t*, 7.6, 2H)	35.2	2	2.30 (*t*, 7.6, 2H)	34.9	2.27 (*t*, 7.4, 2H)	35.9
3	1.68-1.40 (*m*)	25.2[f]	1.62-1.35 (*m*)	26.4[h]	3	1.63-1.58 (*m*)	25.1	1.68-1.58 (*m*)	26.3
4	1.25 (*m*)	24.1[f]	1.28 (*m*)	25.6[h]	4,5	1.40-1.25	29.7-29.3	1.40-1.29	30.8-30.2
5	1.68-1.40 (*m*)	33.7[g]	1.62-1.35 (*m*)	36.0	6	1.40-1.25	24.5	1.40-1.29	25.8[i]
6	3.62 (*m*)	80.3	3.68 (*m*)	80.4	7	1.63-1.58 (*m*)	33.8	1.68-1.58 (*m*)	34.9[j]
7	1.68-1.40 (*m*)	33.6[g]	1.62-1.35 (*m*)	34.6	8	3.60 (*m*, 6.0)	80.4	3.66 (*m*)	80.5
8	1.25 (*m*)	24.6[f]	1.28 (*m*)	26.3[h]	9	1.63-1.58 (*m*)	33.8	1.68-1.58 (*m*)	34.8[j]
9–17[e]	1.25 (*m*)	29.7-29.3	1.28 (*m*)	30.9-30.4	10	1.40-1.25	24.5	1.40-1.29	26.0[i]
18[e]	1.25 (*m*)	31.9	1.28 (*m*)	33.1	11-17/19	1.40-1.25	29.7-29.3	1.40-1.29	30.8-30.2
19[e]	1.25 (*m*)	22.6	1.28 (*m*)	23.7	18/20	1.40-1.25	31.9	1.40-1.29	33.1
20[e]	0.88 (*t*, 7.2, 3H)	14.0	0.89 (*t*, 7.2, 3H)	14.4	19/21	1.40-1.25	22.6	1.40-1.29	23.7
					20/22	0.88 (*t*, 7.1, 3H)	14.0	0.88 (*t*, 7.2, 3H)	14.4
1′	4.35 (*d*, 7.8)	102.4	4.31 (*d*, 7.9)	103.4	1′	4.30 (*d*, 7.8)	102.1	4.30 (*d*, 7.8)	103.4
2′	3.29 (*dd*, 9.1, 7.8)	73.5	3.16 (*dd*, 8.9, 7.9)	75.3	2′	3.31 (*dd*, 9.0, 7.8)	73.6	3.15 (*dd*, 8.9, 7.8)	75.3
3′	3.46 (*t*, 9.1)	73.6	3.35 (*t*, 8.9)	77.7	3′	3.49 (*t*, 9.0)	73.7	3.34 (*t*, 8.9)	77.7
4′	3.36 (*t*, 9.1)	70.1	3.30 (*t*, 9.0)	71.8	4′	3.37 (*t*, 9.0)	70.1	3.29 (*t*, 8.9)	71.8
5′	3.44 (*m*)	76.2	3.25 (*m*)	78.2	5′	3.44 (*m*)	76.2	3.25 (*m*)	78.2
6′	4.39 (*dd*, 12.0, 2.2)	63.4	3.84 (*dd*, 12.0, 2.4)	62.9	6′	4.35 (*dd*, 12.0, 2.5)	63.7	3.84 (*dd*, 12.0, 2.4)	62.9
	4.25 (*dd*, 12.0, 5.9)		3.67 (*dd*, 12.0, 6.6)			4.31 (*dd*, 12.0, 5.3)		3.67 (*dd*, 12.0, 6.6)	
Ac	2.10 (*s*, 3H)	20.6			Ac	2.09 (*s*, 3H)	20.7		
		171.5					171.6		

[a] Assignments are based on COSY, HSQC and HMBC experiments.
[b] Multiplicities and coupling constants (*J* in Hz) are in parentheses.
[c] Recorded in $CDCl_3$-CD_3OD (9:1).
[d] Recorded in CD_3OD.
[e] The carbon number is for the major constituent **1B**.
[f-j] Exchangeable within the same column.

キバナツノゴマの Fr. 2i

Fr. 2i の(–)HRFABMS スペクトルにおいて、*m/z* 517.3749 $[M–H]^-$, 503.3268, 559.3892 に擬分子イオンピークが観測され、それぞれ対応する分子式を $C_{28}H_{54}O_8$, $C_{26}H_{50}O_8$, $C_{24}H_{46}O_8$ と決定した。Fr. 2i の ^{1}H NMR スペクトルは、グルコースの C-6 位のオキシメチレンシグナル (δ 3.84, 3.67) が Fr. 1i のそれら (δ 4.39, 4.25) に比べて高磁場シフトしていたこと、アセチルメチルシグナルが消失していたことを除いては、Fr. 1i のスペクトルと類似していた (表 2-7)。また、Fr. 2i の ^{13}C NMR スペクトルにおいてもアセチル基に由来するカルボニルおよびメチルシグナルは消失していた。以上より、Fr. 2i は Fr. 1i の脱アセチル体であることがわかった。脂肪酸鎖の長さおよびグリコシド結合の位置を Fr. 1i の時と同様の方法を用いて決定した。Fr. 2i から誘導した脂肪酸メチルエステル体の TMS エーテル誘導体の GC-MS 分析は Fr. 1i の時と同様の結果を与えた。C-6 位の絶対配置に関しても Fr. 1i と同様の方法により 6*S* と決定した。以上より、Fr. 2i は 6(*S*)-(β-D-glucopyranosyloxy)octadeacanoic acid (**IP-2A**), 6(*S*)-(β-D-glucopyranosyloxy)eicosanoic acid (**IP-2B**), 6(*S*)-(β-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid (**2C**) の 5:85:10 の混合物であると決定した。

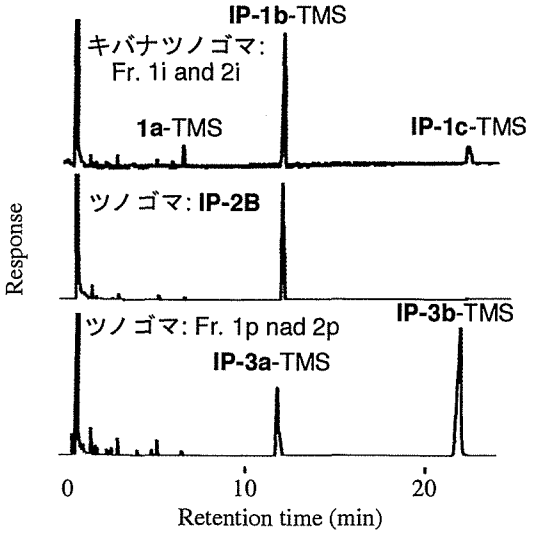


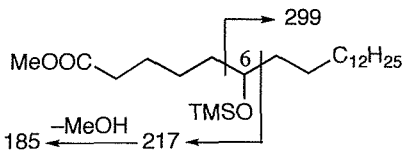
図 2-16. キバナツノゴマおよびツノゴマ由来の(trimethylsilyloxy)fatty acid methyl ester の GLC クロマトグラム

表 2-8. GC-MS data for the trimethylsilylated 6-hydroxy-fatty acid methyl esters **IP-1a–c** derived from Fr. 1*i* and the trimethylsilylated 8-hydroxy-fatty acid methyl esters **IP-3a–b** derived from Fr. 1*p* (the insert shows key fragment ions for the TMS derivatives of **IP-1b**, **-3a** and **-3b**).[a]

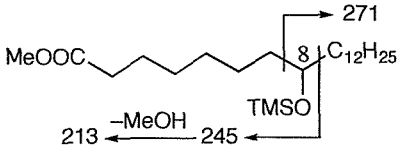
Compound	*Rt* (min)[b]	Relative composition (%)[b]	[M–Me]	[M-Me-MeOH]	C-5/C-6 cleavage	C-6/C-7 cleavage	217-MeOH	C-7/C-8 cleavage	C-8/C-9 cleavage	245-MeOH
IP-1a	13.7	5	371 (1)	339 (2)	271 (33)	217 (68)	185 (24)			
IP-1b	16.7	85	399 (2)	367 (2)	299 (31)	217 (63)	185 (27)			
IP-1c	21.7	10	427 (2)	395 (3)	327 (28)	217 (71)	185 (23)			
IP-3a	16.5	63	399 (1)	367 (5)				271 (37)	245 (70)	213 (10)
IP-3b	21.4	37	427 (1)	395 (4)				299 (31)	245 (71)	213 (7)

[a] A fragment ion at *m/z* 73 $[TMS]^+$ was observed as the base ion peak for all compounds.

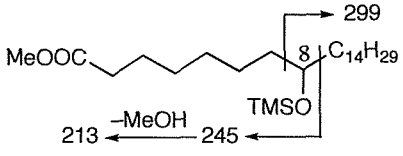
[b] Relative composition values (quantified using FID detection) are from GLC analysis. For GLC conditions, see Experimental.



IP-1b-TMS



IP-3a-TMS



IP-3b-TMS

ツノゴマの Fr. 1p

Fr. 1p は(–)HRFABMS スペクトルにおいて、*m/z* 559.3842 $[M–H]^-$および 531.3557 $[M–H]^-$に擬分子イオンピークが観測され、それぞれ対応する分子式を $C_{30}H_{56}O_9$ および $C_{28}H_{52}O_9$ と決定した。Fr. 1p の ^1H および ^{13}C NMR スペクトルは Fr. 1i のものと良く類似しており、Fr. 1p は Fr. 1i と同様、6-*O*-acetylglucopyranosyloxyl 基を有する eicosanoic acid (C20) および docosanoic acid (C22) の混合物であると推定した。脂肪酸鎖の長さおよびグリコシド結合の位置は Fr. 1 の時と同様の方法で決定した。Fr. 1p より誘導した脂肪酸メチルエステル体を TMS 化した後に GC-MS 分析を行った。GC-MS 分析において、保持時間 16.5 分と 21.4 分にそれぞれ 3:5 の比で 2 本のピークが観測された (図 2-16)。保持時間 16.5 分のピークでは、C-7/C-8 開裂に由来する *m/z* 271 $[CH(OTMS)(CH_2)_{11}CH_3]^+$ と C-8/C-9 開裂に由来する *m/z* 245 $[CH_3O_2C(CH_2)_6CH(OTMS)]^+$のフラグメントが強く観測されたことより、グリコシド結合の位置を C-8 と決定した (表 2-8)。分子イオンは観測されなかったがフラグメントイオン (*m/z* 399 $[M–Me]^+$) より分子量を 414 と決定し、このピークが methyl 8-(trimethylsilyloxy)eicosanoate と決定した。保持時間 21.4 min のピークは同様の方法により methyl 8-(trimethylsilyloxy)docosanoate と決定した。8 位の立体化学を決定するために、Fr. 1i の時と同様の方法を用いて、Fr. 1p より得られた脂肪酸メチルエステル体を(*R*)-および(*S*)-2NMA エステル体へと導いた。H_2-2 (+0.16 ppm) および $COOCH_3$ (+0.02 ppm) の Δδ(*R-S*) 値がそれぞれ正であったことより 8*S* と決定した。以上より、Fr. 1p は 8(*S*)-(6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosilyloxy)eicosanoic acid (**IP-3A**), 8(*S*)-(6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosilyloxy)docosanoic acid (**IP-3B**) の 3:5 の混合物であると決定した。最終的に **IP-3A** および **IP-3B** は逆相 HPLC によりそれぞれ単一の生成物とした。

ツノゴマの Fr. 2p

Fr. 2p は (–)HRFABMS スペクトルにおいて、*m/z* 517.3721 $[M–H]^-$および 489.3419 $[M–H]^-$に擬分子イオンピークを示し、それぞれ対応する分子式を $C_{28}H_{54}O_8$ および $C_{26}H_{50}O_8$ と決定した。Fr. 2p の ^1H および ^{13}C NMR スペクトルは Fr. 2i のものと類似しており、また、Fr. 1p と比べてアセチル基に由来するシグナルが消失していることより、Fr. 1p の脱アセチル体であることがわかった (表 2-7)。脂肪酸部分に関しては、上述と同様の方法を用いて (*S*)-8-hydroxyeicosanoic acid および(*S*)-8-hydroxydocosanoic acid の 3:5 の混合物であると決定した。以上より、Fr. 2p は 8(*S*)-(β-D-glucopyranosilyloxy)eicosanoic acid (**IP-4A**), 8(*S*)-(β-D-glucopyranosilyloxy)docosanoic acid (**IP-4B**) の 3:5 の混合物であると決定した。最終的に Fr. 2p は、逆相 HPLC により **IP-4A** および **IP-4B** に分離した。ツノゴマではさらに **IP-2B** も含まれていた。

2-(Fatty acyl)glycerol

キバナツノゴマの Fr. 3i

Fr. 3i は HRFABMS において、*m/z* 539.3589, 525.3390, 511.3287, 497.3138 $[M+Na]^+$に擬分子イオンピークが 5 つ観測され、対応する分子式をそれぞれ $C_{28}H_{52}O_8$, $C_{27}H_{50}O_8$, $C_{26}H_{48}O_8$, $C_{25}H_{46}O_8$, $C_{24}H_{44}O_8$ と決定した。Fr. 3i の ^1H NMR スペクトルは、2-(fatty acyl)glycerol および 1-(fatty acyl)glycerol に帰属されるシグナルが 2:1 の比で観測された。(fatty acyl)glycerol 部分のシグナルは、キリのフラクション *G*-6 (表 2-4) のスペクトルと比較することにより、脂肪酸部分が 3,n-ジアセトキシ脂肪酸である(fatty acyl)glycerol であるとわかった。Fr. 3i をジベンゾイル化すると、TLC において二つのスポットを与えた。これらを分離し、それぞれの ^1H NMR スペクトルより、低極性側のスポットが 1,3-di-*O*-benzoyl-2-*O*-(diacetyloxy-fatty acyl)glycerol であり、高極性側のスポットが 2,3-di-*O*-benzoyl-1-*O*-(diacetyloxy-fatty acyl)glycerol であることがわかった。

いずれのスペクトルにおいても、主成分の直鎖脂肪酸の末端メチル基に相当する δ 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz) に加えて、iso 型脂肪酸の末端炭素構造に帰属されるダブレットメチルシグナル [δ 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz)] および anteiso 型脂肪酸の末端構造に帰属されるトリプレットメチルシグナル [δ 0.85 (*d*, *J* = 7.2 Hz)] およびダブレットメチルシグナル [δ 0.84 (*d*, *J* = 6.2 Hz)] が観測された (Dickschat et al., 2005)。脂肪酸部分の詳細な構造を決めるために、1,3-di-*O*-benzoyl-2-*O*-(diacetyloxy-fatty acyl)glycerol を加水分解した後にジアゾメタンで処理することで、対応する脂肪酸メチルエステル (**IP-5a-l**) を得た。脂肪酸メチルエステル体の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、3 位のオキシメチンプロトン (δ 4.04) と脂肪酸鎖中の n 位のオキシメチンプロトン (δ 3.61) が観測された。さらに、直鎖、iso 型、anteiso 型脂肪酸の末端構造に由来するメチル基のシグナルパターンが加水分解前と同様に観測された。この脂肪酸メチルエステル体の ^{13}C NMR スペクトルにおいても、直鎖型末端炭素構造に帰属されるシグナル [δ 14.1 (CH_3), 22.7 (CH_2), 31.9 (CH_2)] に加えて、iso 型末端構造に帰属されるシグナル [δ 22.6 (CH_3), 27.4 (CH_2), 28.0 (CH_2), 39.1 (CH)] および anteiso 型末端構造に帰属されるシグナル [δ 11.4 (CH_3), 19.2 (CH_3), 34.4 (CH), 30.0 (CH_2)] が観測された (Netzel et al., 1981; Dickschat et al., 2005)。Anteiso 型の末端構造中のメチン炭素の化学シフト (δ 34.4) は脂肪酸の更に中央部内側にあるメチン炭素 (δ 32.8–33.2) と区別することが出来る (Netzel et al., 1981; Shulz and Toft, 1993)。

Fr. 3i より得た脂肪酸メチルエステルを di-TMS エーテル体とした後に GLC および GC-MS により分析した。GLC において 12 本のピーク (**IP-5a-l** の di-TMS エーテル体) が観測された (図 2-18)。各ピークの MS データは表 2-9 にまとめて記載した。最も強度の大きいピークである **IP-5g** の di-TMS エーテル体のフラグメンテーションを図 2-19 に示した。**IP-5g** の di-TMS エーテル体の MS スペクトルにおけるイオンピーク、*m/z* 473 $[M–Me]^+$および 383 $[M–TMSOH–Me]^+$より分子量が *m/z* 488 とわかり、C-6/C-7 開裂に由来するフラグメントイオン *m/z* 305 (図 2-9) および C-5/C-6 開裂に由来する

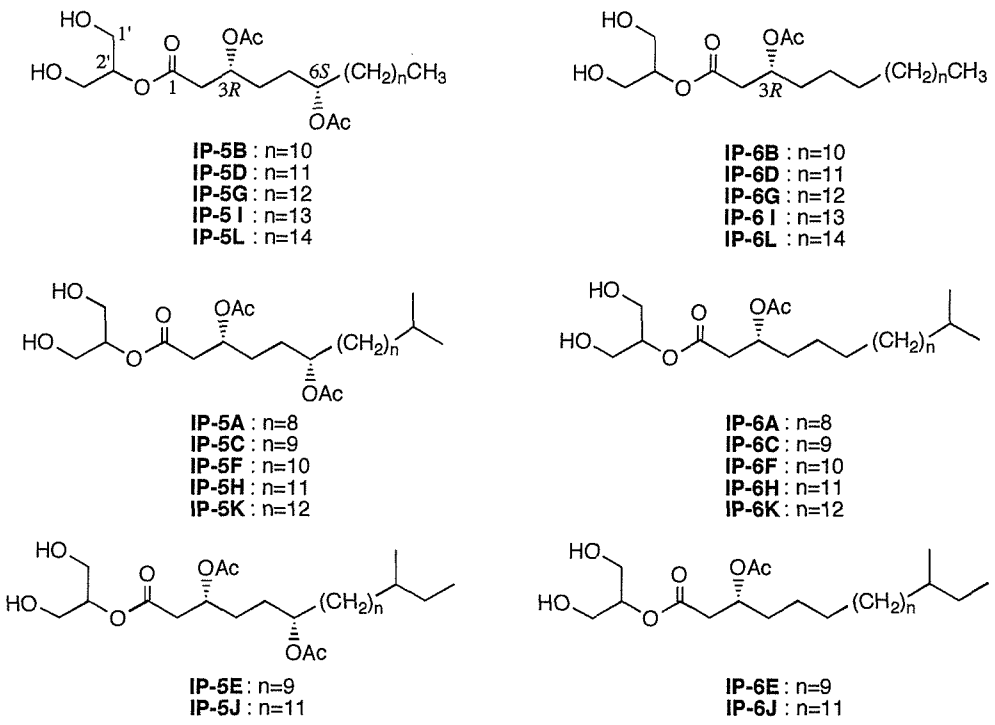


図 2-17. (Fatty acyl)glycerol 類の構造

フラグメントイオン *m/z* 285 $[CH(OTMS)(CH_2)_{12}CH_3]^+$ より C-6 位に OTMS 基を有していることが示された。以上より **IP-5g** は methyl 3,6-dihydroxynonadecanoate と決定した。また、すべてのピークに共通して C-6/C-7 開裂由来のフラグメントイオン *m/z* 305 および 215 [305-TMSOH]、*m/z* 247 (図 2-19) (Seipold et al., 2004)、C-3/C-4 開裂に由来するフラグメントイオン *m/z* 175, 159 $[175–Me–H]^+$, 129 $[175–MeO–Me]^+$が共通して観測されたことよりいずれも 3 位と 6 位に TMSO 基が置換していることが示された。表 2-9 に示したように **IP-5e**, **-5f**, **-5g** は保持時間が異なるにもかかわらずフラグメンテーションパターンが同じであった。これらは、末端構造の違いに由来すると推定した。GLC において、官能基のない脂肪酸では、iso 型、anteiso 型、直鎖型の順に溶出すると報告されている (Carballeira and Cruz, 1998; Grice et al., 2008)。

表 2-9. GC-MS data for the trimethylsilylated 3,6-dihydroxy-fatty acid methyl esters **5a-l** derived from Fr. 3*i*.

Compound (type)	*Rt* (min)[b]	Relative composition (%)[b]	[M–Me]	[M–Me –TMSOH]	C-5/C-6 cleavage	C-6/C-7 cleavage	247	305 –TMSOH	C-3/C-4 cleavage	175 –Me–H	175 –MeOH	175–Me –MeO
5a (iso-C_{17})	6.8	0.7	445 (tr[c])	355 (4)	257 (14)	305 (2)	247 (3)	215 (40)	175 (2)	159 (4)	143 (5)	129 (4)
5b (norma-C_{17})	7.6	5.4	445 (tr)	355 (4)	257 (16)	305 (1)	247 (3)	215 (42)	175 (2)	159 (3)	143 (6)	129 (3)
5c (iso-C_{18})	9.1	2.8	459 (tr)	369 (5)	271 (15)	305 (2)	247 (4)	215 (41)	175 (2)	159 (5)	143 (6)	129 (3)
5d (normal-C_{18})	10.2	23.0	459 (tr)	369 (6)	271 (18)	305 (2)	247 (3)	215 (36)	175 (1)	159 (5)	143 (5)	129 (4)
5e (iso-C_{19})	12.2	3.2	473 (tr)	383 (6)	285 (15)	305 (3)	247 (2)	215 (42)	175 (2)	159 (3)	143 (6)	129 (5)
5f (anteiso-C_{19})	12.6	4.4	473 (tr)	383 (7)	285 (14)	305 (3)	247 (3)	215 (38)	175 (1)	159 (4)	143 (7)	129 (3)
5g (normal-C_{19})	13.7	31.7	473 (tr)	383 (6)	285 (16)	305 (2)	247 (4)	215 (37)	175 (3)	159 (4)	143 (6)	129 (3)
5h (iso-C_{20})	16.5	3.3	487 (tr)	397 (4)	299 (12)	305 (2)	247 (2)	215 (44)	175 (2)	159 (3)	143 (7)	129 (4)
5i (normal-C_{20})	18.6	19.6	487 (tr)	397 (5)	299 (15)	305 (3)	247 (4)	215 (41)	175 (2)	159 (5)	143 (6)	129 (4)
5j (iso-C_{21})	22.4	0.7	501 (tr)	411 (5)	313 (16)	305 (2)	247 (4)	215 (40)	175 (1)	159 (3)	143 (7)	129 (5)
5k (anteiso-C_{21})	23.1	1.9	501 (tr)	411 (4)	313 (14)	305 (1)	247 (3)	215 (37)	175 (1)	159 (4)	143 (6)	129 (4)
5l (normal-C_{21})	25.1	3.3	501 (tr)	411 (5)	313 (17)	305 (2)	247 (4)	215 (38)	175 (1)	159 (4)	143 (6)	129 (4)

[a] A fragment ion at *m/z* 73 $[TMS]^+$ was observed as the base ion peak for all compounds.

[b] Retention times and relative composition values (quantified using FID detection) are from GLC analysis. For GLC conditions, see Experimental.

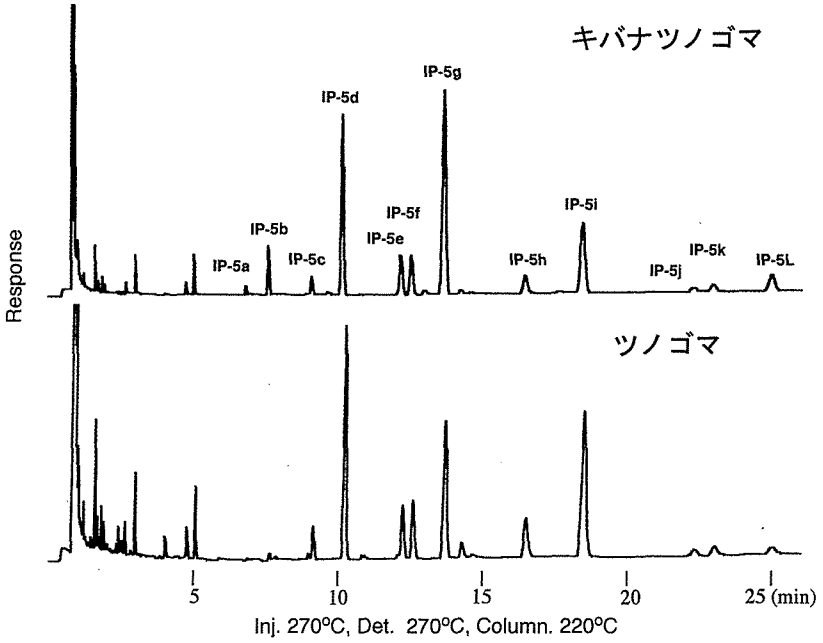


図 2-18. キバナツノゴマ Fr. 3i およびツノゴマ Fr. 3p 由来の 3,6-di-(trimethylsilyloxy)-fatty acid methyl esters の GLC クロマトグラム

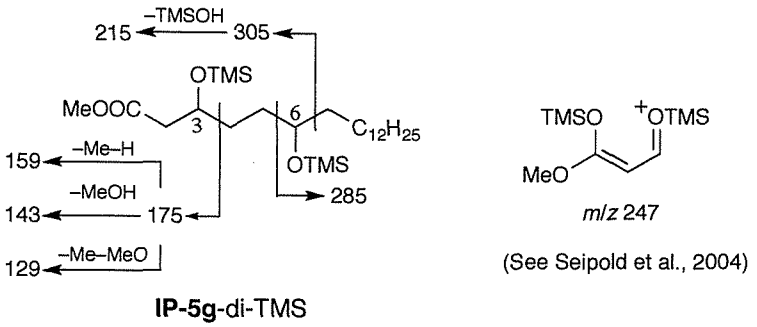


図 2-19. **IP-5g** の di-TMS エーテル体の EIMS フラグメンテーション

これらの関係を決定するために、脂肪酸メチルエステル (**IP-5a-l**)を逆相 HPLC にて 9 つのフラクションに分離し、それぞれのフラクションごとに TMS 化して GLC 分析をし、**IP-5a**, **-5b**, **-5c**, **-5d**, (**-5e**+**-5f**), **-5h**, **-5i**, (**-5j**+**-5k**), **-5l** に分離していることを明らかにした。それぞれのフラクションについて ^{1}H NMR を測定し、そのスペクトルから **IP-5b**, **-5d**, **-5g**, **-5i**, **-5l** は直鎖型で、**IP-5a**, **-5c**, **-5h** が iso 型で (**IP-5e**+**-5f**), (**IP-5j**+**-5k**) は iso 型と anteiso 型の混合物であることがわかった。**IP-5e**+**-5f** は GLC における存在比 1:1.4 と、^{1}H NMR スペクトルにおける iso 型に帰属されるメチルシグナル [δ 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, 6H)]と anteiso 型のメチルシグナル [δ 0.85 (*t*, *J* = 7.2 Hz, 1.4x3H), 0.84 (*d*, *J* =

6.2 Hz, 1.4x3H)] の比より、**IP-5e** が iso 型で **IP-5f** が anteiso 型であることがわかった。また、**IP-5j**+-**5k** も同様に GLC クロマトグラムのピークの強度比 (1:2.7) と ^{1}H NMR シグナルの強度比 (1:3) から **IP-5j** が iso 型で **IP-5k** が anteiso 型であるとわかった。置換基のない脂肪酸の場合と同様に3位および6位に酸素官能基を有する脂肪酸においても、iso 型、anteiso 型、直鎖型の順に GLC で溶出されることがわかった。この溶出パターンは Fr. 4i の脂肪酸部の分析にも適応した。2,3-di-*O*-benzoyl-1-*O*-(diacetyloxy-fatty acyl)glycerol 体についても同様に脂肪酸分析を行った結果、1,3-di-*O*-benzoyl-2-*O*-(diacetyloxy-fatty acyl)glycerol 由来の脂肪酸組成と完全に一致した。C-3 および C-6 位の立体化学はキリ幼木 (2-1-2)の methyl 3,6-dihydroxyeicosanoate/ octadecanoate の時と同様、先に調製した methyl 3,6-dihydroxy-fatty acid の混合物を 6-*O*-(*R*)-2NMA/3-*O*-(*R*)-2NMA の 1:1 の混合物および 6-*O*-(*S*)-2NMA/3-*O*-(*S*)-2NMA の 1:1 の混合物へと誘導し、それぞれの Δδ(*R*-*S*) 値 (表 2-10) より 3*R*,6*S* と決定した。それぞれの ^{1}H NMR スペクトルにおいて、エナンチオマーおよびジアステレオマーに由来するシグナルは観測されなかったこと、および生合成の関連性からマイナー成分の立体化学に関しても 3*R*,6*S* と類推した。以上より、Fr. 3i は 2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxy-fatty acyl]glycerol (**IP-5A-L**) (図 2-17)と 1-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxy-fatty acyl]glycerol の 2:1 の混合物であり、脂肪酸部分は末端構造に直鎖型、iso 型、anteiso 型を含む C_{17}-C_{21} であることが示された。

表 2-10. Pertinent ^{1}H NMR spectroscopic data (500 MHz, $CDCl_3$) for the mono-(*R*)- and (*S*)-2-NMA esters of the dihydroxy-fatty acid methyl esters **IP-5a-l**.[a]

Position	6-*O*-(*R*)-2-NMA	6-*O*-(*S*)-2-NMA	$\Delta\delta_{R-S}$	3-*O*-(*R*)-2-NMA	3-*O*-(*S*)-2-NMA	$\Delta\delta_{R-S}$
$COOCH_3$	3.69 (*s*)	3.63 (*s*)	+0.06	3.24 (*s*)	3.60 (*s*)	–0.36
H_a-2	2.36 (*dd*, 16.4, 3.0)	1.85 (*m*)	+0.51	2.52 (*dd*, 15.8, 7.8)	2.64 (*dd*, 15.6, 7.7)	–0.12
H_b-2	2.29 (*dd*, 16.4, 8.8)	1.84 (*m*)	+0.45	2.44 (*dd*, 15.8, 5.3)	2.52 (*dd*, 15.6, 5.4)	–0.12
H-3	3.94 (*m*)	3.61 (*m*)	+0.33	5.33 (*m*)	5.31 (*m*)	—
H-6	4.93 (*m*)	4.94 (*m*)	—	3.50 (*m*)	3.21 (*m*)	+0.29

[a] Multiplicities and coupling constants (*J* in Hz) are in parentheses.

1-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxy-fatty acyl]glycerol はジベンゾアート体の ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルより *sn*-1 および *sn*-3-mono-acylglyceride であると決定した (実験の部参照)。これより 1-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxy-fatty acyl]glycerol は 2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxy-fatty acyl]glycerol のアシル転位によって生じたと考えられる。

キバナツノゴマの Fr. 4i について

Fr. 4i は HRFABMS において、*m/z* 481.3553, 467.3350, 453.3199, 439.3013 $[M+Na]^{+}$に擬分子イオンピークが 5 つ観測され、対応する分子式をそれぞれ $C_{26}H_{50}O_6$, $C_{25}H_{48}O_6$, $C_{24}H_{46}O_6$, $C_{23}H_{44}O_6$, $C_{22}H_{42}O_6$ と決定した。Fr. 4i は ^{1}H NMR スペクトルより Fr. 3i と同様、2-*O*-(fatty acyl)glyceride と 1-*O*-(fatty acyl)glyceride の 2:1 の混合物であることが示された。また、Fr. 3i のスペクトルと比較して、Fr. 3i に見られた δ 4.88 (H-6) およびアセチルメチルシグナルが 1 つ消失していたことを除いては良く一致していたことから、Fr. 4i は Fr. 3i の C-6 位における脱アセトキシ体、2-*O*-(3-acetyloxy-fatty acyl)glycerol と 1-*O*-(3-acetyloxy-fatty acyl)glycerol の 2:1 の混合物であることことがわかった。このことは ^{13}C NMR スペクトルにおいて、Fr. 3i で見られたオキシメチン C-6 (δ 73.6) と 1 つのアセチル基に由来するシグナルが消失していたことからも支持された。脂肪酸部分の組成は Fr. 4i を上述の方法を用いて対応する脂肪酸メチルエステルの TMS 誘導体とし、GLC および GC-MS 分析を行うことで決定した。GLC クロマトグラムにおいて、この TMS 体は Fr. 3i の時と同様、12 本のピークを与えた (図 2-20)。この GLC におけるピークパターンは Fr. 3i から誘導した di-TMS 体のものと非常に良く類似していいた。それぞれのピークの分子量と 3 位水酸基の構造は MS データ (表 2-11) から、末端構造 (直鎖型、iso 型、anteiso 型) に関しては Fr. 3i とのピークパターンの類似性 (図 2-20) からそれぞれ決定した。3 位の立体化学については、**PL-31a/32a** の時と同様に 3-*O*-(*R*)-および 3-*O*-(*S*)-2NMA エステル体へと誘導し、そのΔδ(*R*-*S*)値より 3*R* 体と決定した (表 2-10)。

表 2-11. GC-MS data for the trimethylsilylated 3-hydroxy-fatty acid methyl esters **IP-6a-l** derived from Fr. 4*i*.[a]

Compound (type)	*Rt* (min)[b]	Relative Composition (%)[b]	[M–Me]	[M–Me –MeOH]	C-2/C-3 cleavage	C-3/C-4 cleavage	175–Me–H	175–MeOH
6a (iso-C_{17})	6.3	1.6	357 (51)	325 (4)	299 (7)	175 (65)	159 (22)	143 (16)
6b (normal-C_{17})	7.0	9.6	357 (54)	325 (3)	299 (7)	175 (71)	159 (21)	143 (17)
6c (iso-C_{18})	8.6	4.4	371 (48)	339 (4)	313 (5)	175 (66)	159 (24)	143 (16)
6d (normal-C_{18})	9.7	17.3	371 (48)	339 (4)	313 (6)	175 (75)	159 (24)	143 (14)
6e (iso-C_{19})	11.8	5.8	385 (50)	353 (5)	327 (7)	175 (74)	159 (23)	143 (14)
6f (anteiso-C_{19})	12.1	5.7	385 (52)	353 (4)	327 (6)	175 (68)	159 (26)	143 (15)
6g (normal-C_{19})	13.3	28.1	385 (54)	353 (4)	327 (5)	175 (72)	159 (22)	143 (17)
6h (iso-C_{20})	16.3	3.4	399 (56)	367 (3)	341 (7)	175 (70)	159 (26)	143 (16)
6i (normal-C_{20})	18.4	17.2	399 (55)	367 (4)	341 (8)	175 (73)	159 (24)	143 (14)
6j (iso-C_{21})	23.0	0.6	413 (54)	381 (3)	355 (7)	175 (68)	159 (20)	143 (15)
6k (anteiso-C_{21})	23.4	1.4	413 (54)	381 (4)	355 (5)	175 (76)	159 (25)	143 (17)
6l (normal-C_{21})	25.6	4.9	413 (56)	381 (2)	355 (6)	175 (74)	159 (22)	143 (13)

[a] A fragment ion at *m/z* 73 $[TMS]^+$ was observed as the base ion peak for all compounds.

[b] Retention times and relative composition values (quantified using FID detection) are from GLC analysis. For GLC conditions, see Experimental.

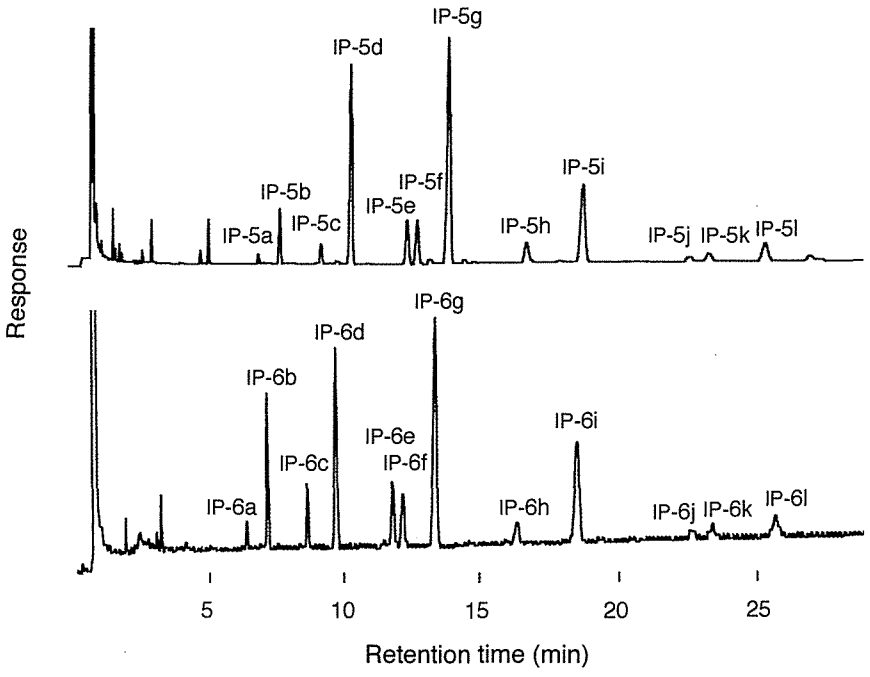


図 2-20. キバナツノゴマ Fr. 4i 由来の 3-(trimethylsilyloxy)fatty acid methyl ester の GLC クロマトグラム(下) 。上は参照の 3,6-di-(trimethylsilyloxy)fatty acid methyl ester。

以上より、Fr. 4i は 2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxy-fatty acyl]glycerol (**IP-6A-L**) (図 2-17)と 1-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxy-fatty acyl]glycerol の 2:1 の混合物であり、脂肪酸部分は末端構造に直鎖型、iso 型、anteiso 型を含む C_{17}-C_{21} であることがわかった。1-*O*-(fatty acyl)glycerol に関して、^{1}H NMR スペクトルより、Fr. 3i の時と同様、*sn*-1, *sn*-3 の 1:1 の混合物であることが示され、2-*O*-(fatty acyl)glyceride のアシル転位により生じたと推定した。

ツノゴマの Fr. 3p および Fr. 4p

ツノゴマの腺毛分泌物から 2 つのアシルグリセロールフラクション Fr. 3p および Fr. 4p が得られた。Fr. 3i および Fr. 4i と同様の分析を行った結果、Fr. 3p は 2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxy-fatty acyl]glycerol (**IP-5A-L**) であり、Fr. 4p は 2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxy-fatty acyl]glycerol (**IP-6A-L**)とわかった。キバナツノゴマ (Fr. 3i と Fr. 4i) とツノゴマ (Fr. 3p と Fr. 4p) に含まれるアシルグリセロール (**IP-5A-L, IP-6A-L**) の相対比を表 2-12 に示した。

キバナツノゴマおよびツノゴマ分泌物中のアシルグリセロール Fr. 3i/3p と Fr. 4i/4p は 2-acylglycerol と 1-acylglycerol の混合物であり、その比は 2:1-1:9 とサンプル採取のタイミングおよび実験操作によって変化した。実験操作に関して、中性シリカゲルでかつ酢酸エチルやヘキサンなどの溶媒を用いて素早く精製する、減圧蒸留の際室温で行う、塩酸を微量含んでいる可能性のある $CHCl_3$ を極力使わないなど注意を払って行っても 2:1 が限界であった。2-1 (p-56).でも記述したが、2-*O*-acylglycerol は転位して 1-*O*-acylglycerol を生じることが知られている (Kodali et al., 1990; Kim et al., 2003)。キバナツノゴマおよびツノゴマの腺毛分泌物中にはフリーの脂肪酸 (Fr. 1i/1p および Fr. 2i/2p) が多量に存在するため、転位が進行しやすくなっている可能性があげられる。

表 2-12. Relative composition of 2-acylglycerols in *P. lutea* and *P. louisiana* exudates.

Compound	Relative composition (%)[a]	
	I. lutea	*P. louisiana*
IP-6A	0.5	0.5
IP-6B	3.2	0.5
IP-6C	1.5	1.9
IP-6D	5.9	5.0
IP-6E	2.0	2.7
IP-6F	1.9	1.7
IP-6G	9.5	4.4
IP-6H	1.2	1.1
IP-6I	5.8	5.6
IP-6J	0.2	0.2
IP-6K	0.5	0.3
IP-6L	1.7	1.1
IP-5A	0.5	tr
IP-5B	3.5	tr
IP-5C	1.9	2.4
IP-5D	15.0	18.5
IP-5E	2.1	4.5
IP-5F	2.9	5.3
IP-5G	21.0	14.8
IP-5H	2.2	5.4
IP-5I	13.0	20.2
IP-5J	0.5	0.9
IP-5K	1.3	1.5
IP-5L	2.2	1.5

[a] Quantification was performed using a GLC-flame ionization detector (FID).

ダンマラントリテルペン

キバナツノゴマのトリテルペン成分

キバナツノゴマの腺毛分泌物のトリテルペン成分として 4 種のダンンマラントリテルペン (**IP-7-10**) を得た。このうち 3 種については、^{1}H および ^{13}C NMR データを報告されているデータとあわせることで、それぞれ 24-*epi*-polacandrin 1,3-diacetate (**IP-8**), betulatriterpene C (**IP-9**), 24-*epi*-polacandrin 3-acetate (**IP-10**) であると同定した (Simirgiotis et al., 2003)。

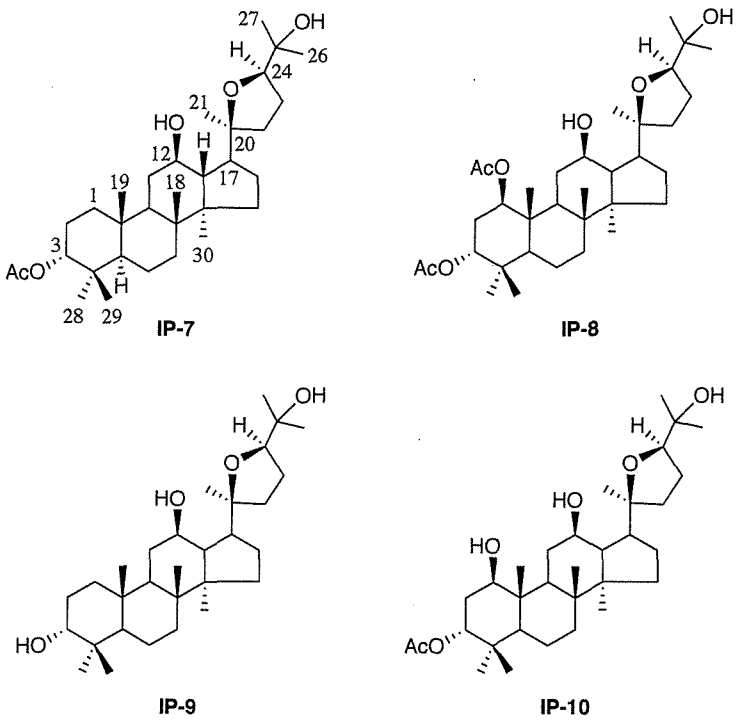


図 2-21. キバナツノゴマのダンマラントリテルペンの化学構造

化合物 **IP-7** は HRFABMS において、*m/z* 519.4085 $[M+H]^+$に擬イオンピークを観測し、対応する分子式を $C_{32}H_{54}O_5$ と決定した。**IP-7** の ^{1}H NMR スペクトルは betulatriterpene C [(3α,12β,20*S*,24*R*)-20,24-epoxydammarane-3,12,25-triol] (**IP-9**) のスペクトルと良く類似していたが、**IP-9** のスペクトル中には存在しなかったアセチルメチルシグナルが δ 2.08 に 1 本観測されたこと、H-3 が δ 4.63 (*brt*, *J* = 2.7 Hz) (**IP-9** の H-3 [δ 3.40 (*brt*, *J* = 2.7 Hz)]) と低磁場に観測されたことが異なっていた。このことより、**IP-7** は **IP-9** の C-3 アセチル化体であると示唆された。^{13}C NMR スペクトルにおいてアセチル基に帰属されるシグナルが δ 170.7 と 21.4 に見られること、および C-3 (δ 78.2) の化学シフトが **IP-9** の C-3 に比べて 2.0 ppm 低磁場シフトしていたことからも先の結果は支持された。**IP-7** の B,C,D 環部および側鎖に帰属される ^{1}H および ^{13}C NMR データは **IP-9** のデータと一致した。さらに **IP-9** の 20 位と 24 位に関する 4 つのジアステレオマーと側鎖の ^{13}C NMR データを比較することで 20*S*,24*R* と決定した (Fujita et al., 1995)。以上より、**IP-7** は betulatriterpene C 3-acetate [(3α,12β,20*S*,24*R*)-3-acetyloxy-20,24-epoxydammarane-12,25-diol] と決定した。

ツノゴマ (IP-11-23)のトリテルペン

ツノゴマの腺毛分泌物より、トリテルペン成分として 13 種のダンマラン型トリテルペン (**IP-11-23**) を単離した。**IP-11** は報告されているスペクトルデータとの比較により、betulafolienetriol [20(*S*)-protopanaxadiol] と同定した (Asakawa et al., 1977; Atopkina et al., 1988)。

IP-12 は無色の結晶として得られた。(–)HRFABMS において、*m/z* 475.375 $[M–H]^-$ に擬イオンピークが観測され、対応する分子式を $C_{30}H_{52}O_4$ と決定し、不飽和度が 5 とわかった。また、この分子式は **IP-11** と比べて酸素原子が 1 つ多かった。**IP-12** の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、8 つのシングレットメチルシグナル、3H 分のオキシメチンプロトンシグナル δ 3.37 (*brs*, H-3), 3.76 (*dd*, *J* = 10.8, 8.4 Hz), 3.49 (*dd*, *J* = 10.7, 8.4 Hz)、1H 分のオレフィンプロトン δ 5.16 (*t*, *J* = 6.8 Hz, H-24) が観測された (表 2-12)。^{13}C NMR スペクトルと DEPT スペクトルより、炭素数は 30 であり、その内訳は、8 つのメチル基、8 つのメチレン、4 つの脂肪族メチン、4 つの脂肪族四級炭素、3 つのオキシメチン、1 つの酸素官能基化された四級炭素、2 つのオレフィン炭素であった (表 2-13)。これらのデータと **IP-11** のスペクトルデータを比較することにより、**IP-12** が **IP-11** のモノ水酸化体であることがわかった。水酸化されている位置は、H-H COSY スペクトルにおいて、δ 1.60 (*d*, *J* = 11.3 Hz, H-9)–3.76–3.49–1.83 (*t*, *J* = 10.7 Hz, H-13) に連続した相関が観測されたことより、11 位と 12 位に連続して水酸基を有していることが示された。11 位の水酸基の立体配置は H-11 と H-9 が 10.8 Hz と大きい値でスピン結合していることから α と決定した。12 位の水酸基の立体配置は H-12 と H-13 が 10.7 Hz と大きい値でスピン結合していることより β と決定した。20 位の立体化学は、^{13}C NMR スペクトルにおける C-17, C-21, C-22 の化学シフトを **IP-11** (20*S*) および **IP-11** の C-20 に関するエピマー (20*R*) の化学シフトと比較することで *S* と決定した (Asakawa et al., 1977)。以上より、**IP-12** の構造を(3α,11α,12β,20*S*)-dammar-24-ene-3,11,12,20-tetrol と決定し、probosciderol A と命名した

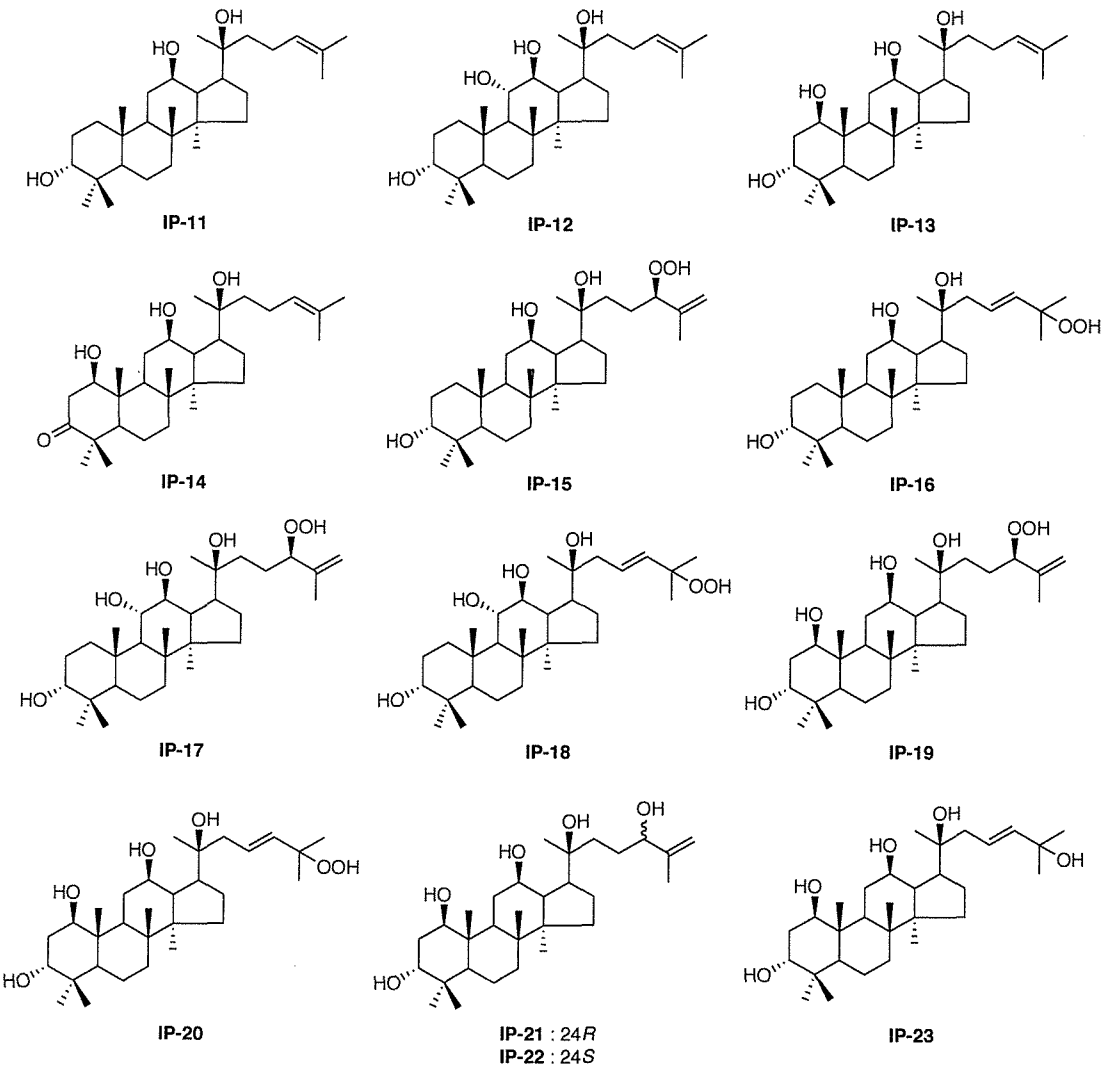


図 2-22. ツノゴマのダンマラン型トリテルペンの化学構造

表 2-13. ^{1}H NMR spectroscopic data (500 MHz, $CDCl_3$) for compounds **IP-11-23**.[a]

	IP-11	**IP-12**	**IP-13**	**IP-14**	**IP-15**	**IP-16**	**IP-17**	**IP-18**	**IP-19**	**IP-20**	**IP-21/22**	**IP-23**
1	1.45 (*m*)	2.28	3.74	3.91	1.44 (*m*)	1.44 (*m*)	2.27	2.28	3.79	3.77	3.78	3.78
		(*brd*, 13.8)	(*dd*, 12.2, 4.3)	(*dd*, 10.8, 6.0)			(*brd*, 13.8)	(*brd*, 13.9)	(*dd*, 11.1, 4.4)	(*dd*, 11.3, 4.3)	(*dd*, 11.2, 4.4)	(*dd*, 11.1, 4.6)
	1.31 (*m*)	1.49 (*m*)			1.30 (*m*)	1.30 (*m*)	1.50 (*m*)	1.51 (*m*)				
2	1.96 (*m*)	1.82 (*m*)	2.04 (*m*)	2.99	1.96 (*m*)	1.97 (*m*)	1.81 (*m*)	1.81 (*m*)	2.05 (*m*)	2.08 (*m*)	2.08 (*m*)	2.08 (*m*)
				(*dd*, 19.6, 10.8)								
	1.56 (*m*)	1.51 (*m*)	1.86 (*m*)	2.30	1.56 (*m*)	1.56 (*m*)	1.52 (*m*)	1.52 (*m*)	1.84 (*m*)	1.85 (*m*)	1.84 (*m*)	1.83 (*m*)
				(*dd*, 19.6, 6.0)								
3	3.40 (*brs*)	3.37 (*brs*)	3.48 (*brs*)	———	3.41 (*brs*)	3.41 (*brs*)	3.38 (*brs*)	3.38 (*brs*)	3.50 (*brs*)	3.49 (*brs*)	3.49 (*brs*)	3.50 (*brs*)
5	1.28 (*m*)	1.28 (*m*)	1.31 (*m*)	1.62 (*m*)	1.26 (*m*)	1.26 (*m*)	1.28 (*m*)	1.28 (*m*)	1.31 (*m*)	1.31 (*m*)	1.33 (*m*)	1.33 (*m*)
9	1.54 (*m*)	1.60 (*d*, 10.8)	1.71 (*m*)	1.72 (*m*)	1.57 (*m*)	1.57 (*m*)	1.62 (*d*, 10.8)	1.64 (*d*, 10.8)	1.71 (*m*)	1.71 (*m*)	1.70 (*m*)	1.71 (*m*)
11	1.87 (*m*)	3.76	2.76 (*m*)	2.63 (*m*)	1.87 (*m*)	1.86 (*m*)	3.76	3.76	2.74 (*m*)	2.75 (*m*)	2.71 (*m*)	2.64 (*m*)
		(*dd*, 10.8, 8.4)					(*dd*, 10.8, 8.2)	(*dd*. 10.8, 8.2)				
	1.29 (*m*)		1.43 (*m*)	1.44 (m)	1.29 (*m*)	1.29 (*m*)			1.43 (*m*)	1.44 (*m*)	1.44 (*m*)	1.44 (*m*)
12	3.60	3.49	3.63	3.64	3.64	3.64	3.50	3.50	3.67	3.66	3.66	3.67
	(*td*, 10.7, 5.3)	(*dd*, 10.7, 8.4)	(*td*, 10.6, 5.6)	(*td*, 10.6, 5.6)	(*td*, 10.7, 5.3)	(*td*, 10.7, 5.3)	(*dd*, 10.8, 8.2)	(*dd*, 10.8, 8.2)	(*td*, 10.6, 8.4)	(*td*, 10.6, 8.3)	(*td*, 10.6, 8.3)	(*td*, 10.6, 8.2)
13	1.73 (*t*, 10.7)	1.83 (*t*, 10.7)	1.72 (*t*, 10.6)	1.74 (*t*, 10.6)	1.72 (*t*, 10.7)	1.72 (*t*, 10.7)	1.84 (*t*, 10.8)	1.89 (*t*, 10.8)	1.73 (*t*, 10.6)	1.72 (*t*, 10.6)	1.73 (*t*, 10.6)	1.72 (*t*, 10.6)
17	2.04 (*m*)	2.04 (*m*)	2.04 (*m*)	2.04 (*m*)	2.07 (*m*)	2.14 (*m*)	2.07 (*m*)	2.14 (*m*)	2.07 (*m*)	2.14 (*m*)	2.07 (*m*)	2.14 (*m*)
18	0.99 (*s*)	1.02 (*s*)	0.99 (*s*)	1.01 (*s*)	1.00 (*s*)	1.00 (*s*)	1.03 (*s*)	1.02 (*s*)	1.00 (*s*)	1.00 (*s*)	0.99 (*s*)/1.00 (*s*)	0.99 (*s*)
19	0.89 (*s*)	1.06 (*s*)	0.95 (*s*)	0.90 (*s*)	0.90 (*s*)	0.89 (*s*)	1.07 (*s*)	1.07 (*s*)	0.95 (*s*)	0.92 (*s*)	0.94 (*s*)	0.94 (*s*)
21	1.19 (*s*)	1.16 (*s*)	1.15 (*s*)	1.18 (*s*)	1.15 (*s*)	1.18 (*s*)	1.15 (*s*)	1.16 (*s*)	1.14 (*s*)	1.16 (*s*)	1.15 (*s*)/1.19 (*s*)	1.14 (*s*)
23	2.16 (*m*)	2.16 (*m*)	2.16 (*m*)	2.16 (*m*)	1.97 (*m*)	5.84	1.98 (*m*)	5.82	1.97 (*m*)	5.84	1.88 (*m*)	5.72
	2.03 (*m*)	2.03 (*m*)	2.03 (*m*)	2.02 (*m*)	1.59 (*m*)	(*td*, 15.6, 7.8)	1.60 (*m*)	(*td*, 15.5, 7.7)	1.59 (*m*)	(*td*, 15.4, 7.7)	1.56 (*m*)	(*td*, 15.6, 7.8)
24	5.16 (*t*, 6.8)	5.16 (*t*, 6.8)	5.12 (*t*, 6.9)	5.16 (*t*, 6.8)	4.36	5.62 (*d*, 15.6)	4.35	5.59 (*d*, 15.5)	4.27	5.57 (*d*, 15.4)	4.12 (*brt*, 4.9)/	5.67 (*d*, 15.6)
					(*dd*, 7.6, 4.7)		(*dd*, 7.6, 5.1)		(*dd*, 7.8, 5.2)		4.01 (*dd*, 8.8, 4.9)	
26	1.69 (*s*)	1.70 (*s*)	1.68 (*s*)	1.70 (*s*)	5.02 (*s*)	1.35 (*s*)	5.02 (*s*)	1.35 (*s*)	5.00 (*s*)	1.33 (*s*)	4.97 (*s*)	1.32 (*s*)
					5.01 (*d*, 1.8)		5.01 (*d*, 1.8)		4.98 (*s*)		4.85 (*s*)/4.79 (*s*)	
27	1.63 (*s*)	1.63 (*s*)	1.62 (*s*)	1.63 (*s*)	1.76 (*s*)	1.32 (*s*)	1.75 (*s*)	1.31 (*s*)	1.77 (*s*)	1.30 (*s*)	1.73 (*s*)/1.76 (*s*)	1.30 (*s*)
28	0.84 (*s*)	0.81 (*s*)	0.81 (*s*)	1.07 (*s*)	0.85 (*s*)	0.85 (*s*)	0.87 (*s*)	0.87 (*s*)	0.83 (*s*)	0.82 (*s*)	0.82 (*s*)	0.83 (*s*)
29	0.94 (*s*)	0.95 (*s*)	0.93 (*s*)	1.06 (*s*)	0.95 (*s*)	0.96 (*s*)	0.95 (*s*)	0.95 (*s*)	0.94 (*s*)	0.93 (*s*)	0.92 (*s*)	0.93 (*s*)
30	0.90 (*s*)	0.97 (*s*)	0.90 (*s*)	0.91 (*s*)	0.90 (*s*)	0.90 (*s*)	0.97 (*s*)	0.97 (*s*)	0.91 (*s*)	0.90 (*s*)	0.91 (*s*)	0.91 (*s*)

[a] Multiplicities and coupling constants (*J* in Hz) are in parentheses.

表 2-14. ^{13}C NMR data (125 MHz, $CDCl_3$) for compounds **IP-11-23**.[a]

Posi	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21/22**	**23**
1	33.6	35.1	76.1	79.2	33.6	33.6	35.1	35.0	75.6	75.8	75.7/75.6	75.5
2	25.4	25.5	35.9	45.2	25.3	25.4	25.5	25.5	36.2	36.3	36.2	36.3
3	76.2	75.9	76.6	215.3	76.2	76.2	75.9	76.0	76.3	76.5	76.8	76.3
4	37.6	37.9	37.4	51.7	37.6	37.6	37.9	37.9	37.4	37.3	37.5	37.4
5	49.5	49.3	48.1	47.2	49.5	49.5	49.3	49.3	48.3	48.2	48.2	48.3
6	18.2	18.0	18.1	19.5	18.2	18.2	18.1	18.0	18.3	18.2	18.2	18.3
7	34.7	35.6	34.6	33.6	34.7	34.6	35.6	35.6	34.6	34.4	34.3	34.6
8	39.9	41.0	40.5	40.1	39.9	39.9	41.2	41.1	40.6	40.5	40.6	40.6
9	49.9	53.5	50.7	50.2	49.9	49.9	53.6	53.5	50.8	50.5	50.8	50.6
10	37.2	39.1	43.3	42.8	37.2	37.2	39.2	39.2	43.3	43.2	43.4	43.4
11	30.9	76.7	34.3	33.1	30.9	30.9	76.7	76.7	34.2	33.5	34.3/33.9	33.8
12	71.0	77.1	72.1	71.0	71.4	71.3	77.6	77.5	71.8	71.1	71.8/71.6	71.2
13	47.7	45.2	46.7	47.5	47.6	48.0	45.0	45.5	46.9	47.1	46.7/46.8	47.2
14	51.7	50.9	51.2	51.4	51.8	51.8	51.1	51.2	51.3	51.3	51.3	51.2
15	31.1	30.7	30.9	31.0	31.4	31.9	30.7	30.7	31.1	31.0	31.1	30.9
16	26.5	26.5	26.1	26.3	26.5	26.5	26.6	26.6	26.3	26.1	26.5	25.9
17	53.5	53.8	54.4	53.6	53.9	52.7	53.8	52.8	54.0	53.1	54.3/53.7	53.3
18	16.5	17.1	15.9	15.6	16.0	16.0	17.1	17.1	15.9	15.7	15.9	16.0
19	15.7	16.3	11.7	11.7	15.7	15.6	16.4	16.4	11.9	11.6	11.7/11.9	11.8
20	74.4	73.9	73.4	74.2	73.7	73.9	73.5	73.8	73.4	73.6	73.3	73.6
21	27.0	26.4	26.2	26.8	26.9	28.1	26.4	27.4	26.4	27.7	26.4/26.5	27.8
22	34.7	34.5	35.3	34.5	30.5	38.6	30.5	38.5	31.2	38.6	34.6/33.9	38.1
23	22.4	22.3	22.4	22.3	25.4	127.3	25.3	127.3	25.1	127.0	30.1/32.7	122.9
24	125.0	125.1	125.3	124.9	89.9	137.4	89.9	137.2	89.7	136.9	75.5/76.9	141.4
25	131.8	131.5	131.2	131.9	144.0	81.8	144.1	81.7	144.5	81.4	147.8/148.1	70.5
26	25.7	25.7	25.8	25.8	113.7	24.1	113.7	24.0	113.5	23.5	110.5/110.4	30.1
27	17.7	17.7	17.7	17.7	17.7	24.9	17.7	25.0	17.7	25.1	18.5/18.0	29.1
28	28.3	28.8	28.0	27.8	28.3	28.3	28.8	28.8	27.9	26.7	28.9	27.0
29	22.1	22.3	22.1	20.0	22.1	22.1	22.3	22.3	21.9	21.8	21.9	21.9
30	17.0	17.1	16.5	16.7	17.0	16.9	17.1	17.1	16.8	16.5	16.8	16.9

[a] Assignments for compounds **IP-11-14**, **17**, **18**, **21-23** were based on COSY, HSQC and HMBC experiments

化合物 **IP-13** は無色結晶として得られ、(–)HRFABMS により **IP-12** と同じ分子式 ($C_{30}H_{52}O_4$) であることがわかった。**IP-13** の ^{1}H NMR スペクトルは **IP-11** と類似していたが、**IP-11** では観測されないオキシメチンプロトンが δ 3.74 (*dd*, *J* = 12.2, 4.3 Hz) に見られた。このことより、**IP-13** は、**IP-12** と同様、**IP-11** のモノ水酸化体と判明した。この水酸基の位置は、H-H COSY スペクトルにおいて、H-3 (δ 3.48) から H_2-2 (δ 2.04/1.84) を経てそのオキシメチンプロトン (δ 3.74) と相関が連続して観測されたこと、また、HMBC スペクトルにおいて、H_3-19 からそのオキシメチン (δ 76.1) に相関が観測されたことより、C-1 であると決定した。C-1 の水酸基のコンフォメーションが β であることは H-1 と H-2b および H-2a との間のスピン結合定数がそれぞれ 12.2 および 4.3 Hz であったことより決定した。以上より **IP-13** の構造を(1β,3α,12β,20*S*)-dammar-24-ene-1,3,12,20-tetrol と決定し、probosciderol B と命名した。

化合物 **IP-14** は無色結晶として得られ、(–)HRFABMS において *m/z* 473.3668 に擬分子イオンピークが観測されたことより、その分子式を $C_{30}H_{50}O_4$ と決定した。この分子式は **IP-13** より水素原子が 2 つ少ない。IR スペクトルにおいて 3420 cm^{-1} に水酸基に由来するピークと 1715 cm^{-1} にカルボニル基に由来するピークが観測された。**IP-14** の ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルデータは **IP-13** のものと比較すると、**IP-13** に見られた 3 位のオキシメチン炭素およびオキシメチンプロトンのシグナルが消失し、代わりにカルボニルの炭素 δ 215.3 が出現したことを除いては、良く似ており (表 2-12, 2-13)、**IP-14** が **IP-13** の 3-oxo 体であることが示唆された。このことは、H_3-28 および H_3-29 の gem-ジメチル基より δ 215.3 のカルボニルに対して HMBC の相関が観測されたことより C-3 位にケトンが存在すると確定した。以上より **IP-14** の構造を(1β,12β,20*S*)-1,12,20-trihydroxydammar-24-en-3-one と決定し、probosciderol C と命名した。

化合物 **IP-15** は無色結晶として得られ、HRFABMS より、その分子式を $C_{30}H_{52}O_5$ (*m/z* 493.3906 $[M+H]^+$) と決定した。この分子式は **IP-11** と比較して酸素原子が 2 つ (32

mass unit) 多かった。また、IR スペクトルにおいて水酸基に由来する 3415 cm^{-1} のピークに加えて 880 cm^{-1} にピークが観測されたことより末端オレフィンの存在が明らかとなった (Silverstein et al ., 2005)。**IP-15** の ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルデータは **IP-11** のスペクトルデータと比較して、側鎖部分 (22-27 位) に帰属される部分以外は良い一致を示した (表 2-12, 2-13)。これらのデータより、**IP-15** と **IP-11** は同じ骨格部分構造を有していることが示された。^{1}H NMR スペクトルにおいて、側鎖に帰属されるシグナルには、オキシメチンプロトン δ 4.36 (*dd*, *J* = 7.6, 4.7 Hz)、オレフィン上のメチルシグナル δ 1.76、末端オレフィンプロトン δ 5.02 (*s*)/5.02 (*d*, *J* = 1.8 Hz) が観測された。また、^{13}C NMR スペクトルにおいては、オキシメチン炭素 δ 89.9、2 つのオレフィン炭素 δ 113.7, 144.0 が観測された。これらのスペクトルデータは、cereotagaloperoxide の 24-hydroperoxy-25-ene 側鎖部分のデータと良く一致していた (Pakhathirathien et al., 2005)。また、HMBC スペクトルにおいて、二重結合上のメチル基 (δ 1.76) から 2 つのオレフィン炭素へ、さらにオキシメチン水素 (δ 4.36) からも同じ 2 つのオレフィン炭素に相関が観測されたことより、**IP-15** の側鎖構造は cereotagaloperoxide と同じ 24-hydroperoxy-25-ene 構造であると決定した。C-24 の絶対配置は、側鎖部分に相当する **IP-15** の ^{13}C NMR データが **IP-19** と一致したことより *R* と決定した。**IP-19** の C-24 の立体化学は後述する方法により *R* と決定している。以上より **IP-15** の構造は(3α,12β,20*S*,24*R*)-24-hydroperoxydammar-25-ene-3,12,20-triol と決定し、probosciderol D と命名した。

化合物 **IP-16** は無色結晶として得られ、HRFABMS により、その分子式を **IP-15** と同じ $C_{30}H_{52}O_5$ と決定した。化合物 **IP-16** の ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルデータは、側鎖に帰属されるシグナルを除いて、**IP-15** のスペクトルデータと良い一致を示した (表 2-13)。側鎖部分に帰属されるシグナルに関して ^{1}H NMR スペクトルではトランスオレフィンに帰属されるシグナル δ 5.84 (*td*, *J* = 15.6, 7.8 Hz), 5.62 (*d*, *J* = 15.6 Hz)、2 つのシングレットメチルシグナル δ 1.35, 1.32 が観測された。^{13}C NMR スペクトルにお

いて、側鎖部分に帰属される 2 つのオレフィンシグナル δ 127.3, 137.4、2 つの酸素置換基を有する 4 級炭素 δ 81.8, 73.9、メチレン炭素 δ 38.6、3 つのメチル炭素 δ 28.1, 24.1, 24.9 が観測された (表 2-13)。これらのデータは bruguierin C (Homhual et al., 2006) の側鎖部分のデータと良い一致を示したことより、**IP-16** の側鎖は 23-ene-25-hydroperoxy であることがわかった。従って、**IP-16** の構造を (3α,12β,20*S*,23*E*)-25-hydroperoxydammar-23ene-3,12,20-triol と決定し、prosbosciderol E と命名した。

化合物 **IP-17** は無色結晶として得られ、HRFABMS によりその分子式を $C_{30}H_{52}O_6$ と決定した。これは **IP-15** と比べて酸素原子が 1 つ多かった。化合物 **IP-17** の ^{1}H および ^{13}C NMR データは、骨格部分は **IP-12** と良く一致し、側鎖部分は **15** と良く一致していた (表 2-14) ことより、**IP-17** の構造は (3α,11α,12β,20*S*,24*R*)-24-hydroperoxydammar- 25-ene-3,11,12,20-tetrol と決定し、prosbosciderol F と命名した。C-24 の立体化学については **IP-15** と同様の方法で *R* と決定した。

化合物 **IP-18** は無色結晶として得られ、HRFABMS によりその分子式を **IP-17** と同じ $C_{30}H_{52}O_6$ と決定した。表 2-14 に示した ^{13}C NMR データを比較することで、**IP-18** の骨格構造は **IP-12** と同じであり、側鎖構造は **IP-16** と同じであることがわかった。従って **IP-16** の構造を (3α,11α,12β,20*S*,23*E*)-25-hydroperoxydammar-23ene-3,11,12,20-tetrol と決定し、prosbosciderol G と命名した。

化合物 **IP-19** は無色結晶として得られ、その分子式は HRFABMS により **IP-17** と同じ $C_{30}H_{52}O_6$ と決定した。**IP-19** の ^{1}H および ^{13}C NMR データを **IP-13** および **IP-15/17** と比較することで、その構造を (1α,3α,12β,20*S*,24*R*)-24-hydroperoxydammar-25-ene-11,3,12,20-tetrol と決定し、prosbosciderol H と命名した。C-24 位の絶対配置を決定するために、**IP-19** を triphenylphosphine を用いて還元し、対応する 24-hydroxy 体 (**IP-19a**) へと誘導した。この水酸化体 (**IP-19a**) に対して当量制限した (*S*)-MTPACl をピリジン中で作用させることにより、対応する 12-*O*-(*R*)-MTPA 体 **IP-19b** へと変換した。続いて **IP-19b** に対して新 Mosher 法 (Ohtani et al., 1991) を適用した (図 2-23)。

すなわち (*R*)-および (*S*)-MTPACl を反応させ、対応する 12-*O*-(*R*)-24-*O*-(*S*)-MTPA 体 (**IP-19c**) および 12-*O*-(*R*)-24-*O*-(*R*)-MTPA 体 (**IP-19d**) を得た。H_2-26 (–0.09 ppm, –0.05 ppm)、H_3-27 (–0.09 ppm) の Δδ(*S*–*R*)値が負であり、H_3-21 (+0.04 ppm) が正であったことより 24 位の立体化学を *R* と決定した (表 2-15)。

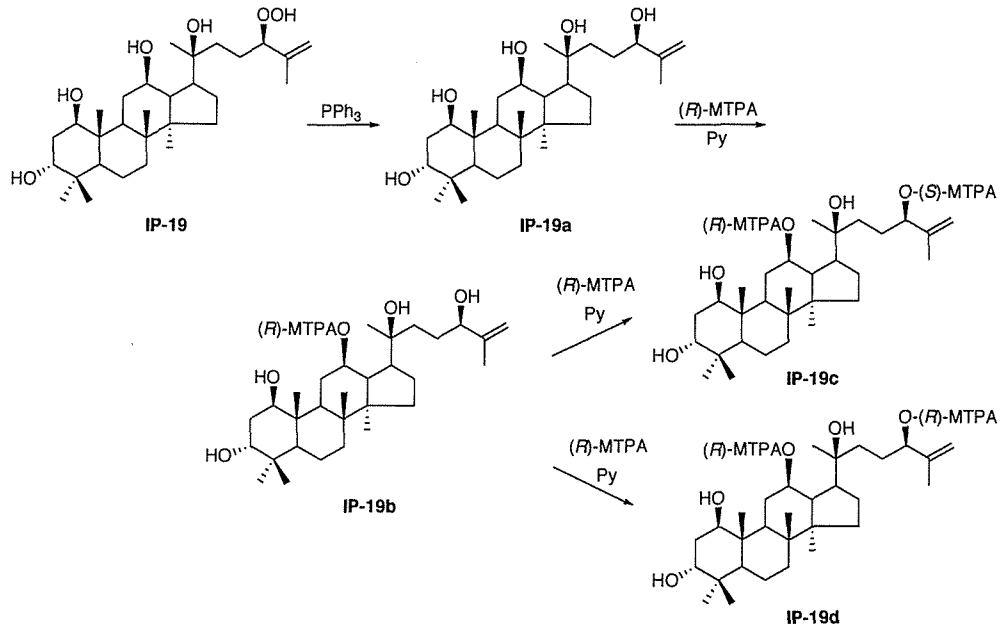


図 2-23. 化合物 **IP-19** の 24 位の立体配置の決定

表 2-15. Pertinent ^{1}H NMR data (500 MHz, $CDCl_3$) for 12-*O*-(*R*)-MTPA,24-*O*-(*S*)-MTPA diester **IP-19c** and 12-*O*-(*R*)-MTPA,24-*O*-(*R*)-MTPA diester **IP-19d** derived from compound **IP-19**.

Position	**IP-19c**	**IP-19d**	$\Delta\delta_{S-R}$
H_3-21	1.08 (*s*)	1.04 (*s*)	+0.04
H-24	5.31 (*m*)	5.33 (*m*)	——
Ha-26	4.91 (*brs*)	5.00 (*brs*)	–0.09
Hb-26	4.88 (*brs*)	4.93 (*brs*)	–0.05
H_3-27	1.62 (*s*)	1.71 (*s*)	–0.09

[a] Multiplicities and coupling constants (*J* in Hz) are in parentheses.

化合物 **IP-20** は無色結晶として得られ、HRFABMS によりその分子式を **IP-18** と同じ $C_{30}H_{52}O_6$ と決定した。**IP-20** の ^{1}H および ^{13}C NMR データを **IP-13** と **IP-16/18** と比較することで (表 2-13, 2-14)、その構造を(1α,3α,12β,20*S*,23*E*)-25-hydroperoxydammar-23-ene-1,3,12,20tetrol と決定し、probosciderol I と命名した。

化合物 **IP-21** と **IP-22** は分離不可能な 2:1 の混合物として得られた (主成分を **IP-21** とした)。HRFABMS において *m/z* 493.3893 に擬分子イオンピークが観測されたことより、**IP-21** と **IP-22** の分子式は $C_{30}H_{52}O_5$ であると決定した。これは **IP-19** の分子式より酸素原子 1 つ少なかった。主成分である **IP-21** の ^{13}C NMR スペクトルは **IP-19a** と一致したことより、**IP-21** の構造は (1β,3α,12β,20*S*,24*R*)-dammar-25-ene-1,3,12,20,24-pentol と決定し、probosciderol J と命名した。化合物 **IP-21** と **IP-22** の混合物の ^{13}C NMR スペクトルにおいて C-24 周辺のシグナルがいずれも 2:1 の比で分裂していた (表 2-14)。また、^{1}H NMR スペクトルにおいても、側鎖部分に帰属されるシグナルがいずれも 2:1 の比で観測された (表 2-13)。以上より、**IP-22** は **IP-21** の C-24 位に関するエピマーである (1β,3α,12β,20*S*,24*S*)-dammar-25-ene-1,3,12,20,24-pentol と決定し、probosciderol K と命名した。

化合物 **IP-23** は無色結晶として得られ、HRFABMS により、その分子式を **IP-21/22** と同じ $C_{30}H_{52}O_5$ であると決定した。**IP-23** の ^{1}H および ^{13}C NMR データより骨格構造は **IP-13** と同じであることがわかった。また、側鎖部分に関しては、^{1}H NMR スペクトルにおいて、トランスオレフィンに帰属されるシグナル δ 5.72 (*td*, *J* = 15.6, 7.8 Hz), 5.67 (*d*, *J* = 15.6 Hz)、2 つのシングレットメチルシグナル δ 1.32, 1.30 が観測され、また、^{13}C NMR スペクトルにおいて、23-en-25-ol 構造に特徴的な 2 つのオレフィン炭素 δ 122.9, 141.4、酸素官能基化された四級炭素 δ 70.5 が観測された。これらのデータは (*E*)-23-en-25-ol 構造を有する isofouquierol のデータと一致した (Pakhathirathien et al., 2005)。以上より **IP-23** の構造を(1β,3α,12β,20*S*,23*E*)-dammar-23-ene-1,3,12,20,25-pentol と決定し、probosciderol L と命名した。

ま と め

キバナツノゴマの腺毛分泌物中に含まれる化学成分は、1. グリコシルオキシ脂肪酸 (**IP-1A-C**, **IP-2A-C**). 2. 2-(fatty acyl)glycerol (**IP-5A-L**, **IP-6A-L**). 3. ダンマラントリテルペン (**IP-7-10**) の 3 つの化合物群で構成されていた。ツノゴマの腺毛分泌物に含まれる化学成分もキバナツノゴマと同様、1. グリコシルオキシ脂肪酸 (**IP-3A**, **-3B**, **-4A**, **-4B**, **-2B**). 2. 2-(fatty acyl)glycerol (**IP-5A-L**, **IP-6A-L**). 3. ダンマラントリテルペン (**IP-11-23**) の 3 つの化合物群で構成されていた。両植物の腺毛分泌物より得た二次代謝産物のうち 46 種が新規構造であり、**IP-6D**, **IP-8-11** は既知化合物であった。各々の化合物群の相対的な割合を表 2-16 に記載した。キバナツノゴマではグリコシルオキシ脂肪酸 **IP-1A-C** (42%) とダンマラントリテルペン **IP-7-10** (31%) の 2 つのタイプの化合物群が主であり、同様に、ツノゴマではダンマラントリテルペン **IP-11-23** (47%) とグリコシルオキシ脂肪酸 **IP-4A**, **IP-4B**, **IP-2B** (38%) が主であった。

表 2-16. Relative abundance of the constituents contained in glandular trichome exudates

Compound class	Relative abundance (%) [a]	
	I. lutea	*P. louisiana*
6-*O*-acetylglucosyloxy-fatty acids	42 (**IP-1A-C**) [b]	5 (**IP-3A-B**) [c]
glucosyloxy-fatty acids	8 (**IP-2A-C**) [d]	38 (**IP-4A, 4B** and **2B**) [e]
2-*O*-(diacetyloxy-fatty acyl)glycerols	8 (**IP-5A-L**) [f]	3 (**IP-5A-L**) [f]
2-*O*-(acetyloxy-fatty acyl)glycerols	5 (**IP-6A-L**) [f]	1 (**IP-6A-L**) [f]
dammarane triterpenes	31 (**IP-7-10**) [g]	47 (**IP-11-23**) [h]

[a] The remaining parts (6% for *I. lutea* and 6% for *P. louisiana*) of the exudates are likely to be volatile substances.
[b] **IP-1A** (5%), **IP-1B** (85%) and **IP-1C** (10%).
[c] **IP-3A** (38%) and **IP-3B** (62%).
[d] **IP-2A** (5%), **IP-2B** (85%) and **IP-2C** (10%).
[e] **IP-4A** (21%), **IP-4B** (51%) and **IP-2B** (18%).
[f] For the relative abundances of **IP-5A-L** and **IP-6A-L**, see Table 2-12.
[g] **IP-7** (25%), **IP-8** (42%), **IP-9** (27%) and **IP-10** (6%).
[h] **IP-11** (6%), **IP-12** (25%), **IP-13** (62%) and **IP-14-23** (less than1% each).

グリコシルオキシ脂肪酸に関して、キバナツノゴマでは専ら C-6 位がグリコシル化されており、炭素数は C_{20} が主で C_{18} および C_{22} がわずかに含まれていた。一方ツノゴマでは、C-8 位がグリコシル化されたものがほとんどであったが、C-6 位が置換されているものもわずかに存在した。炭素数は C_{20} と C_{22} が同程度の割合で見られた。

2-*O*-(mono-, di-acetyloxy-fatty acyl)glycerol 類に関して、組成に違いはあるものの両植物とも同じ 24 種の化合物で構成されていた。直鎖型の 2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxyeicosanoyl]glycerol (**IP-5I**), 2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxy-octadecanoyl]glycerol (**IP-5D**), 2-*O*-[(3*R*,6*S*)-3,6-diacetyloxynonadecanoyl]glycerol (**IP-5G**) の 3 つが両植物で主として含まれていた。C-3 位の立体化学は mono-acetyloxy 体および di-acetyloxy 体のいずれにおいても *R* であり、今までに報告された 3-hydroxy 脂肪酸関連化合物の 3 位の立体化学はいずれも *R* であるという点で共通している (Seipold et al., 2004; Dumri et al., 2008; Asai et al., 2009)。3,6-diacetyloxy 体の立体化学が 3*R*,6*S* であったことはキリの腺毛分泌物での結果と一致するものであった。しかし、キバナツノゴマおよびツノゴマに含まれるグリセロール類は炭素数と末端構造に関してキリとは異なっていた。すなわち、植物一般的に見られる脂肪酸とは異なり、両植物とも脂肪酸の鎖長は C_{17}-C_{21} まで連続しており、末端構造は直鎖型、iso 型、anteiso 型の 3 種類が存在するという特徴が見られた。より詳しくは、直鎖型および iso 型に関してはすべての炭素数で見られたが、anteiso 型は奇数炭素数の脂肪酸鎖中にのみ見いだされた。このことは、直鎖型にはアセチル CoA およびトレオニン由来のプロピオニル CoA が、iso 型にはバリン由来の 2-methylpropionyl CoA およびロイシン由来の 3-methylbutyryl CoA が、anteiso 型にはイソロイシン由来の 2-methylbutyryl CoA がスターターユニットとして取り込まれていることを示している (図 2-24)。このように、アミノ酸をスターターCoA の原料に用いていることを考えると、アセチル CoA もアラニン由来のものが用いられているのかもしれない。分岐鎖脂肪酸に関して、タバコ属の葉表面の wax 成分中にも見られるが、これらの分岐鎖構造は、アミノ酸から直

接誘導される経路に加えて、αケト酸から始まる 1 炭素増炭反応 (C1 elongation) (図 2-24)を利用して生合成されていることが報告されている (Grice, et al., 2008; Hoeven, et al., 2000; Kandra, et al., 1990)。このとき、タバコ属の植物では偶数炭素鎖の anteiso 構造が存在することが一炭素増炭反応を利用していることを特徴づけているが、キバナツノゴマやツノゴマでは、アンテイソ型は奇数炭素鎖にのみ見られることより、1 炭素増炭反応は存在せず、アミノ酸から直接対応するスターターユニットが誘導され、脂肪酸合成酵素により 2 炭素ずつ伸長することで、これらの脂肪酸が生合成されていることが予想できる。この点に関しては、p. 149 のカジイチゴの腺毛分泌物の iso 型を主成分とする 3-acetyloxy-fatty acid 類の項にも注目してほしい。

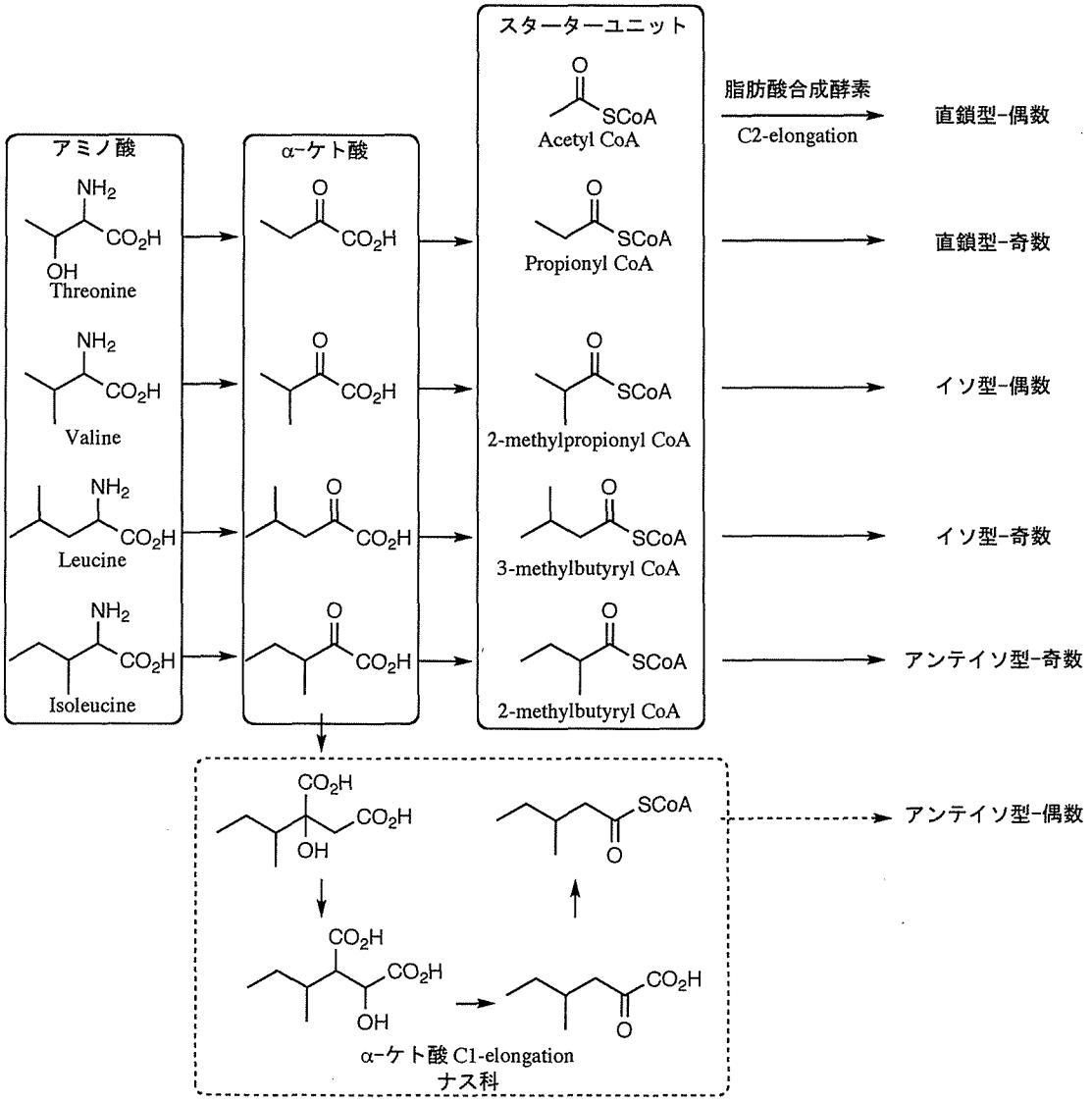


図 2-24. スターター部分(末端構造)に注目した脂肪酸の生合成

さらにキバナツノゴマおよびツノゴマでは、分泌物の約5割を占めるほど多量のトリテルペンが分泌されているという特徴が見られた。テルペン類では、モノテルペン、セスキテルペンやジテルペン類の報告はあるものの (Kakuta et al., 1992; Lin and Wagner, 1994; Spring et al., 2001) トリテルペンに関しては、リンドウ科の oleanoic acid (Roitman et al ., 1991) に続いて2番目の例であり、また、ダンマラントリテルペンが含まれていたのは今回が初めてであった。キバナツノゴマおよびツノゴマの腺毛分泌物に含まれるダンマラントリテルペンの構造を比較すると、側鎖部分において、キバナツノゴマではC-20,C-24がエーテル結合して形成されるテトラヒドロフラン環を有していたが、ツノゴマでは、環化はされておらず、側鎖にヒドロペルオキシ基や水酸基を有しているものが多く見られるという構造的な違いが見られた。

以上の様に、近縁かつ形態の似通った両植物間では、非常に良く似た化学成分を分泌していることが明らかになった。しかし、ダンマラントリテルペンに関しては、両植物間で区別可能な構造的な違いが存在していることも明らかになった。

2-3. ハマウツボ科ヤセウツボの腺毛分泌物

ヤセウツボ (*Orobanche minor*) はハマウツボ科（Orobanchaceae）の植物で、主にマメ科の植物の根に寄生する。日本では 5 月から 6 月にかけて開花する。地上部全体に腺毛が発達しており、油状物質を多量に植物体表面に分泌している (図 2-25)。

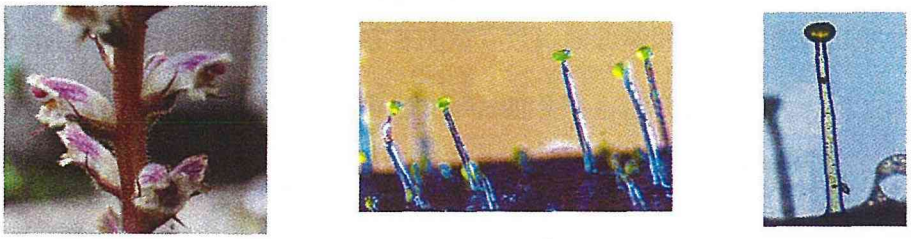


図 2-25. ヤセウツボおよびその腺毛の写真

ハマウツボ科植物に関して、生態学的な興味から寄生と storigolactone 類（宿主の根から分泌される発芽促進ホルモン、最近では 8 番目の植物ホルモンとされつつある）に関する研究 (Humphrey and Beale, 2006) は多く報告されているが、腺毛分泌物の研究例はない。また、ヤセウツボについての二次代謝産物の研究はほとんどない。最近、同科の *O. aegyptiaca* および *O. crenata* にもヤセウツボと同じように腺毛が発達していることが見いだされた (Hassan and Awadi, 2009)。ハマウツボ科に属する植物間で腺毛分泌物中に見られる二次代謝物の化学構造に、さらには、ハマウツボ科と非常に近縁なキリが所属するゴマノハグサ科との間にどのような類似点もしくは相違点があるのか興味が持たれた。ヤセウツボとキリの腺毛分泌物はキバナツノゴマやツノゴマの分泌物と比べて粘性が低くさらさらしている点で似ていた。

2008 年 5 月から 6 月にかけて東京工業大学本館中庭でマメ科のシロツメクサに寄生しているヤセウツボを採取した。まず、表面の分泌物のみをコットンで拭き、Et_2O で抽出し TLC 標品を調製した。続いて、大量に抽出物を得るために、ヤセウツボ地上部 (湿重量 300 g) を Et_2O 500 mL に数秒間浸し、減圧下溶媒を留去し抽出物 200 mg を得た。この抽出物を図 2-26 に示すスキームに従って分離精製を行い 4 つのフラクション(Y-1–4)を得た。これらの分画の構造について述べる。

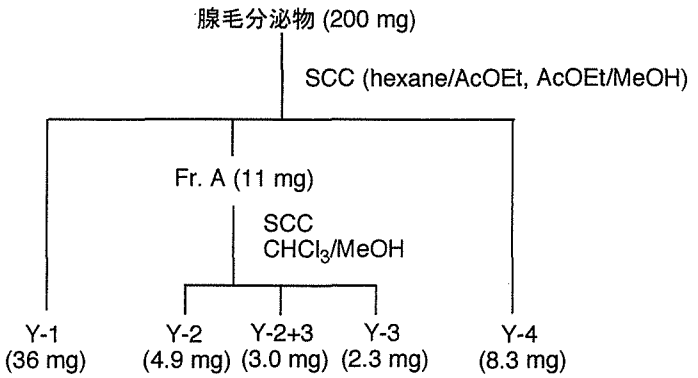
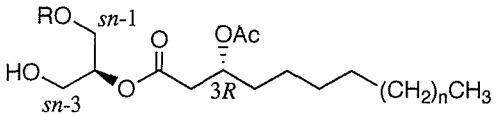


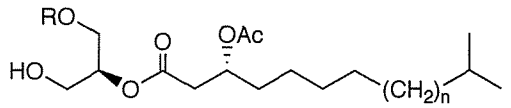
図 2-26. ヤセウツボの繊毛分泌物の精製スキーム

Y-1 は、FABMS スペクトにおいて、459, 473, 487, 501, 515 $[M+H]^+$に擬分子イオンピークを与えた。Y-1 の ^1H NMR スペクトルをキリの *G*-2 およびキバナツノゴマの Fr. 4i と比較することにより、3-アセトキシ脂肪酸部分およびアセチル基を有する 1,2-diacylglycerol であり、脂肪酸部の末端構造は直鎖および iso 型の 2 種類からなることがわかった(実験の部参照)。HMBC スペクトルにおいて、グリセロールの 1 位オキシメチレン水素 δ 4.29 (*dd*, *J* = 12.2, 4.8 Hz), 4.22 (*dd*, *J* = 12.2, 6.0 Hz) からアセチルカルボニル δ 170.2 への相関が観測されたことより、グリセロールの 1 位水酸基はアセチル化され、脂肪酸部分はグリセロールの 2 位水酸基との間でエステル結合していることが示された。グリセロール部分の *sn*-2 の立体化学は、p-49 に示した方法により、Y-1 を (+)-3-*O*-TBDPS-*sn*-glycerol の 1,2-bis-*O*-(*S*)-MTPA エステルへと導くことで *S* と決定した。脂肪酸部の組成を決めるために、Y-1 から誘導した 3-ヒドロキシ脂肪酸メチルエステルの TMS 体を GLC にて分析したところ、8 本のピーク (**OM-1a, -b, -c, -d, -e, -f, -g, -i** の TMS 体 ： ここで **OM-1A** などのアルファベット大文字は腺毛成分のグリセライドを、**OM-1a** をアルファベット小文字は加水分解により得た相当する脂肪酸メチルエステルを表す) が観測された (図 2-28)。それぞれ、キバナツノゴマの Fr. 4i 由来のメチルエステル体の GLC における保持時間 (図 2-20, 表 2-11) と比較することにより、これらのピークはそれぞれ順に **IP-5c,-5d,-5e,-5f,-5h,-5j,-5k** (の TMS

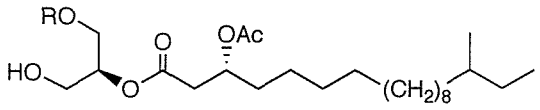
体）と同定できた。**OM-1i** については、Fr. 4i 由来試料には対応するピークがなかったので、GC-MS 分析を行った。*m/z* 427 $[M–Me]^+$にフラグメントイオンピークが観測されたことから、脂肪鎖の炭素数は 22 であることがわかった。さらに、炭素数および枝分かれ構造と保持時間の関連性から、iso 型構造の methyl 3-(trimethylsilyloxy)docosanoate であると決定した。脂肪酸部分の 3 位の立体化学は、キリの時と同様、Y-1 を加水分解およびメチルエステル化して得られる 3-ヒドロキシ脂肪酸メチルエステル体に対して新 Mosher 法を適応し、OMe ($\Delta\delta$ = –0.07) および H_2-2 ($\Delta\delta$ = –0.05, –0.03)の $\Delta\delta$ 値より *R* 体と決定した。以上より、Y-1 は直鎖型の 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxyoctadecanoyl]-*sn*-glycerol および 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxy-eicosanoyl]-*sn*-glycerol を主成分とする 1-*O*-acetyl-2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxy-fatty acyl]- *sn*-glycerol (**OM-1A-G, -I**) (図 2-27)の混合物と決定した。脂肪酸部分の炭素数は C_{18}-C_{22}、末端構造として少量の iso 型、極微量の anteiso 型が含まれていた。Y-1 に含まれていた化合物のうち **OM-1B** と **OM-1F** はキリの **PL-2** と **PL-3** と同じ構造であった。



OM-1B (PL-2) : R=Ac, n=10
OM-1F (PL-3) : R=Ac, n=12
OM-3B (IP-6D) : R=H, n=10
OM-3F (IP-6H) : R=H, n=12



OM-1A : R=Ac, n=8
OM-1C : R=Ac, n=9
OM-1E : R=Ac, n=10
OM-1G : R=Ac, n=11
OM-1I : R=Ac, n=12
OM-3A (IP-6C) : R=H, n=8
OM-3C (IP-6E) : R=H, n=9
OM-3E (IP-6G) : R=H, n=10
OM-3G (IP-6I) : R=H, n=11
OM-3I (IP-6L) : R=H, n=12



OM-1D : R=Ac
OM-3D (IP-6F) : R=H

図 2-27. ヤセウツボの腺毛分泌物中の 1-acetyl-2-[(3*R*)-3-acetyloxy-fatty acyl]glycerol および 2-[(3*R*)-3-acetyloxy-fatty acyl]glycerol 類の化学構造

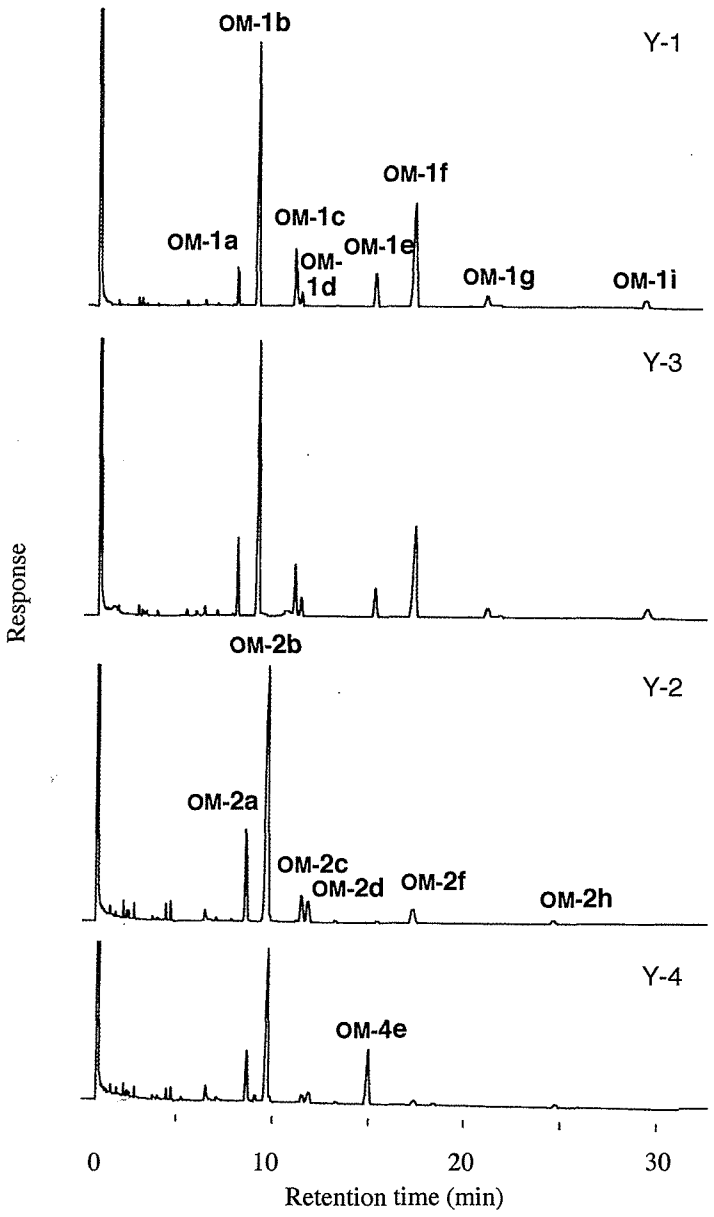


図 2-28. Y-1-4 より誘導した脂肪酸メチルエステルの TMS 体の GLC クロマトグラム injection 270℃, detector 270℃, column 220℃ (Y-1 and 3), 208℃ (Y-2 and 4).

Y-3 は、^{1}H NMR データから、2-(3-acetyloxy-fatty acyl)glycerol であることがわかった。Y-3 由来の脂肪酸メチルエステルの TMS 体の GLC クロマトグラムを図 2-28 に示した。図からわかるように、Y-3 の脂肪酸部の組成は Y-1 と極似していた。以上より、Y-3 は、2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxy-fatty acyl]glycerol (**OM-3A-G, -I**) の混合物であり、このうち、直鎖型の脂肪鎖を有する 2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxyoctadecanoyl]glycerol (**OM-3B**) および 2-*O*-[(3*R*)-3-acetyloxyeicosanoyl]glycerol (**OM-3F**) が主成分であった。

OM-3A-G, -I はそれぞれ、**IP-6C-I, -L** と同一の化合物であった。

Y-2 は、FABMS スペクトルにおいて、*m/z* 475, 489, 503, 517 $[M+H]^+$に擬分子イオンピークを与えた。^{1}H NMR スペクトルを Y-1 および *G*-5 (表 2-4)と比較することにより、1,2-diacylglycerol 構造と、末端構造に直鎖型、iso 型を有する 3-acetyloxy-n-hydroxy-fatty acyl 構造を有していると判明した (実験の部参照)。Y-2 より誘導した脂肪酸メチルエステルを TMS 化した後に、GLC にて分析したところ、6 本のピークをあたえた (図 2-23)。それぞれのピークの EIMS スペクトルを解析した結果、すべてのピークに共通して C-7/C-8 切断に由来するフラグメントイオンピーク *m/z* 319 (図 2-9) が観測されたことより、3 位および 7 位が酸素官能基化された脂肪酸であると決定した。GLC における各ピークの保持時間のパターンを Fr. 3i 由来の標品と比較し、**OM-2b, -f, -h** を直鎖型 **OM-2a, -c** を iso 型、**OM-2d** を anteiso 型と決定した。立体化学に関して、グリセロールの *sn*-2 の立体化学は Y-1 と同様の方法により *S* と決定した。脂肪酸部分の 3 位の立体化学は Y-1 との関連から *R* と推定した。7 位の絶対配置に関して、ジヒドロキシ脂肪酸メチルエステル体に対して、(*R*)-MTPACl を用いて di-MTPA エステル化した化合物が、^{1}H NMR において H_2-2, CO_2Me および MTPA 部のメチルシグナルをほぼ 1：1 の強度で 2 セット与えたことより立体異性体の存在が明らかになった。以上 Y-2 は、1-*O*-acetyl-2-*O*-[3-acetyloxy-7-hydroxy-octadecanoyl]glycerol (**OM-2B**) を主成分とする 1-*O*-acetyl-2-*O*-[3-acetyloxy-7-hydroxy-fatty acyl]glycerol 類 (**OM-2A-D, -F, -H**) (図 2-29)の混合物であると決定した。脂肪酸部分の炭素数は C_{18}-C_{21} であり、末端構造は主に直鎖型、次いで iso 型、わずかに anteiso 型が認められた。このうち、**OM-2B** および **OM-2F** はそれぞれキリの **PL-4** および **PL-6** と同じ平面構造を有していた。

Y-4 は ^{1}H NMR データから、2-(3-acetyloxy-n-hydroxy-fatty acyl)glycerol であることがわかった。Y-3 由来の脂肪酸メチルエステルの TMS 体の GLC クロマトグラムを図 2-28 に示した。Y-4 の脂肪酸部の組成は、**OM-4e** (C-20 の iso 型に相当する) ピークの

存在量が多くなっているものの、他のピークに関しては Y-2 と一致した。以上より、Y-4 は 2-*O*-[3-acetyloxy-7-hydroxy-fatty acyl]glycerol 類の混合物で (**OM-4A-F, H**) であると決定した。このうち、**OM-4B** と **OM-4F** はそれぞれ **PL-20** と **PL-24** の平面構造と同じであった。

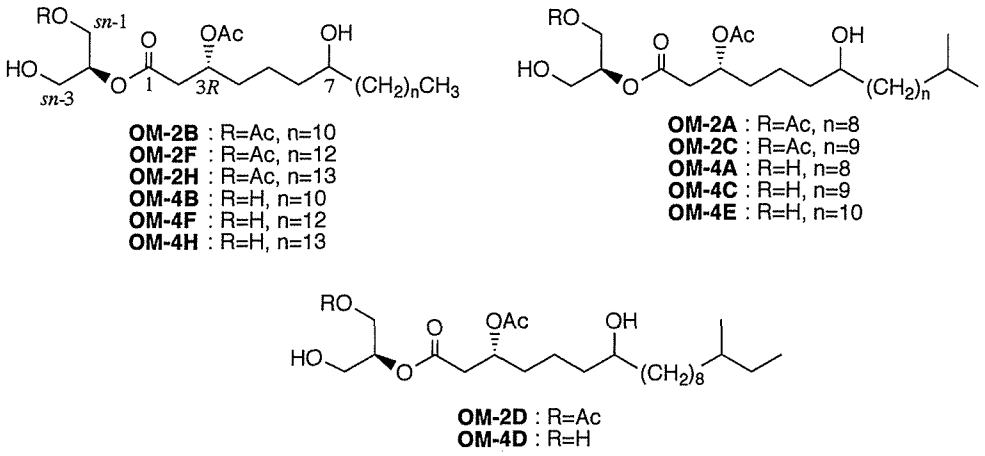


図 2-29. ヤセウツボの腺毛分泌物中の 1-acetyl-2-[(3*R*)-3-acetyloxy-7-hydroxy-fatty acyl]glycerol および 2-[(3*R*)-3-acetyloxy-7-hydroxy-fatty acyl]-glycerol 類の化学構造

ま と め

ヤセウツボの腺毛分泌物は 1-acetyl-2-(3-acetyloxy-fatty acyl)-, 1-acetyl-2-(3-acetyloxy-7-hydroxy-fatty acyl)-, 2-(3-acetyloxy-fatty acyl)-, 2-(3-acetyloxy-7-hydroxy-fatty acyl)glycerol であり、脂肪酸部分の炭素数の長さは C_{18} が主で C_{19}-C_{22} が少量含まれていた (図 2-27, 2-29)。末端構造は直鎖、iso 型、anteiso 型の 3 種類が存在し、直鎖が最も多く次いで iso 型が多く存在した。Anteiso 型に関しては GLC にてわずかに検出できる程度存在するだけであったが、キバナツノゴマやツノゴマと同様、奇数炭素数 (C_{19}) にのみ見られた。このように、ヤセウツボでも、キバナツノゴマやツノゴマで示唆されたのと同様の脂肪酸生合成、すなわち、アミノ酸をスターターユニットとして用いる脂肪酸生合成経路が活発に働いていることが示された。

ヤセウツボ（ハマウツボ科）の腺毛分泌物は、キリ（ゴマノハグサ科）の幼木の葉

や茎に発達する腺毛と同じくアシルグリセロールだけで構成されていた。これはハマウツボ科とゴマノハグサ科がかなり近縁であることが関係していると考えられる。しかし、キリのアシルグリセロールは直鎖型の脂肪酸部のみから成っており、分岐構造も含むヤセウツボの場合とは異なっていた。この点では、キバナツノゴマやツノゴマ(ツノゴマ科) により類似していた。

2-4. ゴマ科 *Uncarina* 属植物の腺毛分泌物

Uncarina 属（ゴマ科 Pedaliaceae）は 13 種からなるマダカスカル固有の木本植物である。いずれも葉の表面を水で湿らせて擦るとネバネバと泡立つユニークな性質を有し、現地ではシャンプーとして利用されている。筆者は *Uncarina grandidieri*、*U. roeoesriana*、*U. abbreviata* の葉表面には、腺毛が密に分布していることを見いだした(図 2-30)。腺毛からは大量の油状物質を分泌しており、これらが、シャンプーの様に泡立つ原因になっていると考えられるが、ウンカリナ属植物の成分研究は、フラボノイドを対象とした報告 (Yamazaki et al., 2007) があるのみで、この界面活性作用を示す化合物は明らかにされていない。



U. grandidieri　　*U. roeoesriana*　　*U.abbreviata* (1,2)

1) http://www.cactus-succulents.com/caudex.html
2) http://www.mobot.org/MOBOT/Madagasc/checkers/coll/index.htm

図 2-30. ウンカリナ属植物の花および腺毛の写真

マダガスカル固有種のウンカリナ属の腺毛分泌物に含まれる化学成分がいったい他のシソ目の腺毛分泌物とどのように関連があるのかについて興味が持たれ、研究を行った。サンプルは市川市立植物園にて *U. grandidieri* を、京都府立植物園にて *U. roeoesriana* の葉表面をキムワイプにて拭き、腺毛分泌物を取得した。両植物とも構造決定に関して、本博士論文では、現在までに測定したデータに基づき議論する。

2-4-1. *Uncarina grandidieri* の腺毛分泌物

2008 年 8 月に、市川市立植物園にて *U. grandidieri* の腺毛分泌物をキムワイプにて拭き取り、キムワイプを Et_2O にて洗い流すことで溶出し、減圧下に溶媒を留去し 1.4 g の抽出物を得た。この抽出物を以下のスキーム (図 2-31) により分離精製し、4 つのフラクション UG-1-4 および 2 種のフラボノイドを得た (図 2-32)。フラボノイド成分に関しては、報告されているスペクトルデータと比較することにより luteolin 7,3′,4′-tri-*O*-methyl ether および tricetin 7,3′,4′-tri-*O*-methyl ether (Yamazaki et al., 2007) と決定した。以下 UG-1-4 の構造について述べる。主成分は UG-1 および UG-2 であった。

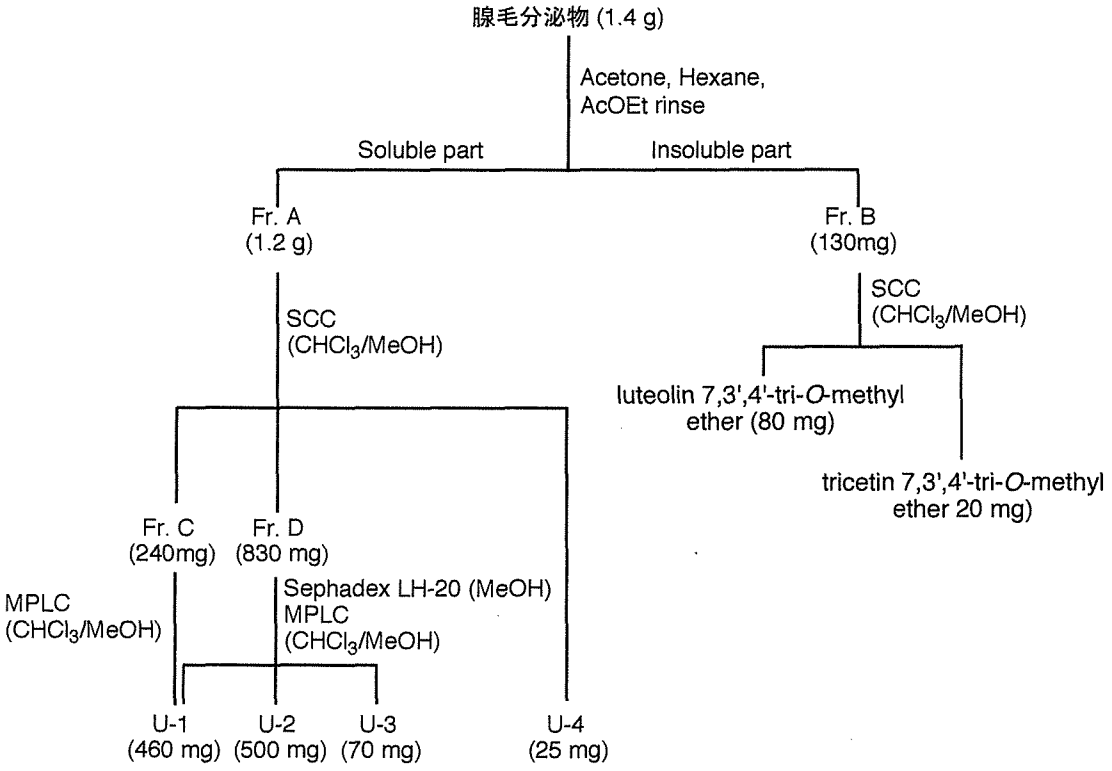


図 2-31. *U. grandidieri* 腺毛分泌物の精製スキーム

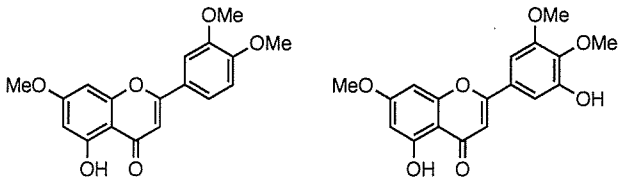


図 2-32. ２種のフラボンの化学構造

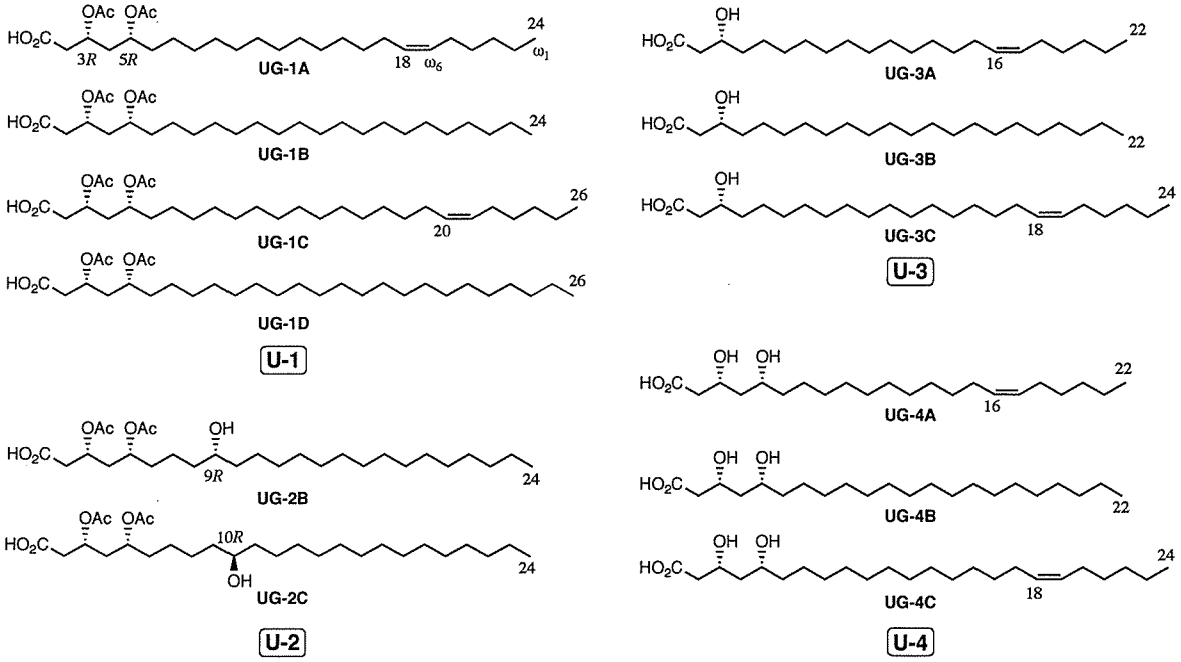


図 2-33. *U. grandidieri* の腺毛分泌物のヒドロキシ脂肪酸類の化学構造

U-1 は、(–)FABMS において *m/z* 481 (**UG-1A**), 483 (**UG-1B**), 509 (**UG-1C**), 511 (**UG-1D**) $[M–H]^-$に擬分子イオンピークが 32:48:16:4 の比で観測された。(–)HRFABMS スペクトルデータから分子式を $C_{28}H_{50}O_6$, $C_{28}H_{52}O_6$, $C_{30}H_{54}O_6$, $C_{30}H_{56}O_6$ と決定した。^{1}H NMR スペクトルにおいて、2H 分のオキシメチン水素 δ 5.24 (*m*), 4.94 (*m*)、２つのアセチルメチルシグナル δ 2.05, 2.04、カルボニルの α 位のメチレン水素 δ 2.69 (*dd*, *J* = 16.2, 5.8 Hz, Ha-2), 2.65 (*dd*, *J* = 16.2, 4.9 Hz, Hb-2)、長鎖脂肪酸に由来するメチレン鎖 δ 1.25 が観測された。また、δ 5.36 (*m*) にメチレン鎖上のオレフィン水素が観測されたが、その積分値が 1.1 であったことより、不飽和型と飽和型の混合物の存在が示唆された。

このことは(–)FABMS スペクトルにおける擬分子イオンピークが 2 mass unit の差で 2 セット観測されたこととも合致しており、さらに、末端メチル基に相当する ^{1}H シグナルが δ 0.89 (t, J = 7.2 Hz: Δ^1) および 0.88 (t, J = 7.2 Hz: Δ^0) に 1:1 の比で観測されたことからも支持された。末端メチル基の ^{1}H シグナルの化学シフトに差が見られたことから、二重結合はある程度末端に近い位置にあると推察した。また、H-H COSY ス

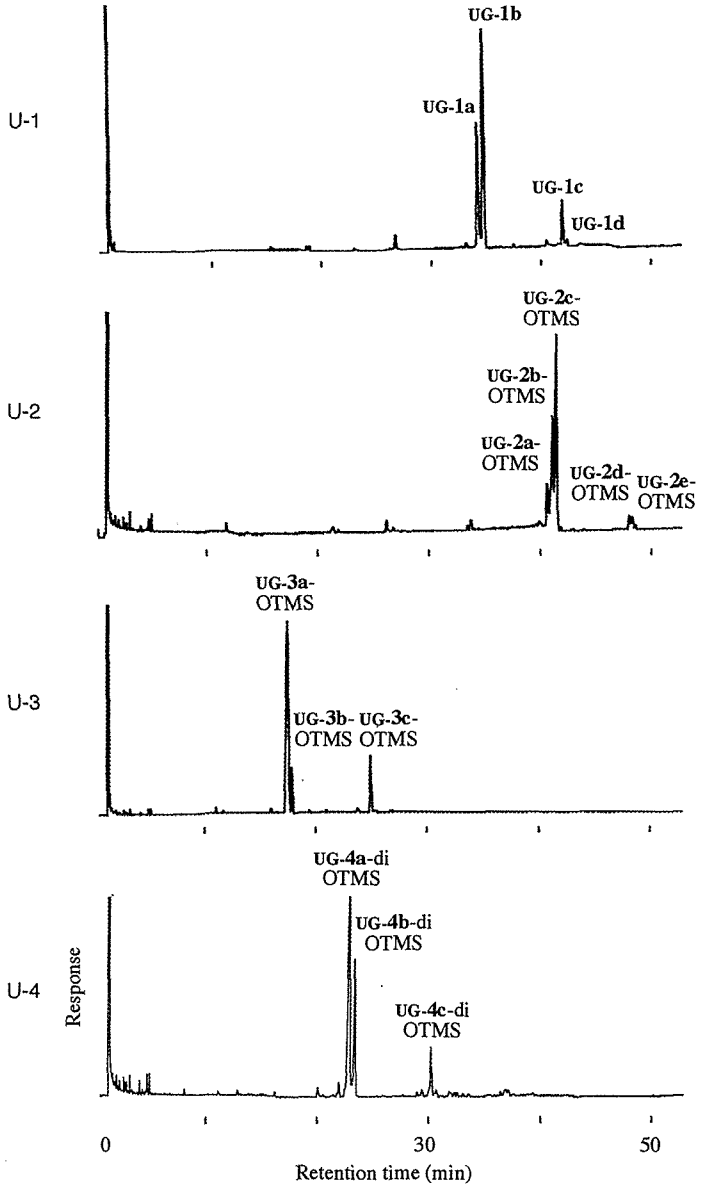


図 2-34. U-1–4 の GLC クロマトグラム（U-1 はメチルエステル体、U-2-4 はメチルエステル体の TMS 化体として分析）

ペクトルにおいて、カルボニルの α 位のメチレン水素から H_2-2 (δ 2.69, 2.65)–δ 5.24–H_2-4 [δ 1.87 (*m*, 2H)]–δ 4.94 を示す相関が見られたことから、3,5-diacetyloxy 構造が明らかになった。^{13}C NMR におけるカルボキシ炭素（δ 175.7）の存在も考慮して、**UG-1** は 3,5-diacetyloxytetracosenoic (**UG-1A**, MW 480), -tetracosanoic (**UG-1B**, MW 482), -hexacosenoic (**UG-1C**, MW 508), -hexacosanoic (**UG-1D**, MW 510) の混合物と推定できた。^{13}C NMR スペクトルにおける 2 つのエステルカルボニル δ 170.8, 170.2、2 つのオキシメチン炭素 δ 67.5 (C-3), 70.9 (C-5)、さらには、C-2, C-4, C-6 に帰属されるシグナルが δ 22.638.4, 37.8, 34.1 に見られたこともこの構造を支持していた。加えて、不飽和体に起因するオレフィン炭素が δ 129.9 に、アリル炭素が δ 27.2 に観測され、後者の化学シフトから Z-オレフィンと決定できた。また、末端メチルシグナル δ 14.1. 14.0、ω2 のメチレン炭素 δ 22.7, 22.6、ω3 のメチレン炭素 δ 31.9, 31.5 がそれぞれ 1:1 に分裂していた。

表 2-17. U-1-U-4 の誘導体の GLC における保持時間および相対的な割合

	U-1		U-2		U-3		U-4	
	Rt (min)	relative amounts (%)	Rt (min)	relative amounts	Rt (min)	relative amounts	Rt (min)	relative amounts
a	34.6	29.6	40.5	12.0	17.2	76.6	23.2	65.0
b	35.1	58.9	41.0	29.0	17.5	8.3	23.7	26.6
c	42.3	10.7	41.4	51.5	24.7	15.1	30.8	8.4
d	42.6	0.9	47.8	3.8				
e			48.1	3.7				

次に、脂肪酸の組成比を定量的に決定するために、U-1 をジアゾメタンで処理しメチルエステル体 (**UG-1a-d**) とした。この混合物の(+)-FABMS は、期待される$[M+H]^+$イオンを与えた。メチルエステル体の GLC/GC-MS 分析では、4 本のピークを 29.6 (**UG-1a**):58.9 (**UG-1b**):10.7 (**UG-1c**):0.9 (**UG-1d**)の比で与えた (図 2-34)。それぞれの MS フラグメントにおいて、分子イオンピークは観測されなかったものの、いずれも $[M–AcOH–MeOH]^+$, [M–2AcOH]に相当するフラグメント *m/z* 404, 376 (**UG-1a**), 406, 378 (**UG-1b**), 432, 404 (**UG-1c**), 434, 406 (**UG-1d**) が観測されたことより、推定通り

UG-1a は methyl 3,5-diacetyloxytetracosenoate 、 **UG-1b** は methyl 3,5-diacetyloxytetracosanoate、 **UG-1c** は methyl 3,5-diacetyloxyhexacosenoate、**UG-1d** は methyl 3,5-diacetyloxyhexacosanoate であると確定した。

続いて、二重結合の位置を決めるために、メチルエステル体 (**UG-1a-d**) をジメチルジスルフィド (DMDS) と反応させて、**UG-1a** と **UG-1c** を対応するジメチルチオール体 **UG-1a-1** および **UG-1c-1** へと変換し、**UG-1a-1, UG-1b, UG-1c-1, UG-1d** の混合物を得た。この方法は、2 つのメチルチオール基で置換された炭素間が、EIMS において開裂しやすく、また、開裂に由来する比較的強いフラグメントを与えることから、一般的に脂肪酸関連物質の二重結合の位置決定に用いられている (Blokker et al., 1998)。この混合物は GLC にて 4 本のピークを与え、**UG-1b** および **UG-1d** は先の結果と同じ保持時間を示したが、**UG-1a** および **UG-1c** に相当するピークが消失し、代わりにより長い保持時間に **UG-1a-1** と **UG-1c-1** に相当する新たな 2 つのピークが観測された。図 2-35 に **UG-1a-1** と **UG-1c-1** のフラグメントイオンを図示した。共通してメチルチオール置換された炭素間での開裂に由来するフラグメントイオン *m/z* 131 $[CHSMe(CH_2)_4CH_3]^+$が強く観測されたことより二重結合の位置が ω6/ω7 間であると決定できた (図 2-35)。

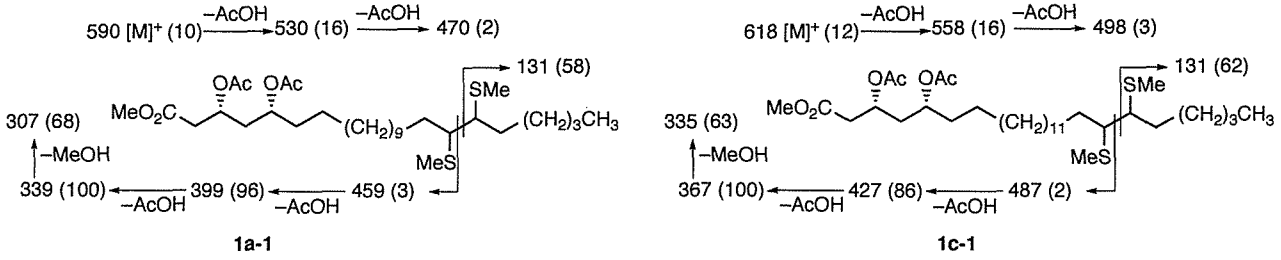


図 2-35. **UG-1a-1** および **UG-1c-1** の EIMS フラグメンテーション

最後に残った 3 位および 5 位の立体化学を決めるために、U-1 をアルカリ条件下で加水分解し、ジアゾメタンで処理することで対応するジヒドロキシ脂肪酸メチルエステルフラクション (U-1-Me) を得た。このメチルエステル体に対して 1 当量の

(*R*)-MTPACl を作用させ、3-*O*-(*S*)-MTPA/5-*O*-(*S*)-MTPA の 1:2 の混合物を得た。同様に(*S*)-MTPACl を作用させ、3-*O*-(*R*)-MTPA/5-*O*-(*R*)-MTPA の 1:2 の混合物を得た。これらは分離出来なかったが、*G*-2 (2-1-2 参照) より誘導した methyl 3-hydroxy-fatty acid の両 MTPA エステル体を作成し、その化学シフトを参考にすることで、混合物のシグナルを容易に帰属することができた。3-*O*-MTPA エステル体の Δδ(*S*–*R*)値はそれぞれ COOMe (–0.08)、H_2-2 (–0.06)、H-5 (+0.15) であったことより 3*R* と決定した。5-*O*-MTPA エステル体の Δδ(*S*–*R*)値はそれぞれメチルエステルシグナル (–0.01)、H_2-2 (–0.08, –0.09)、H-3 (–0.07) であったことより 5*R* と決定した。以上より、U-1 を 3(*R*),5(*R*)-diacetyloxytetracos-18-enoic acid (**UG-1A**), 3(*R*),5(*R*)-diacetyloxytetracosanoic acid (**UG-1B**), 3(*R*),5(*R*)-diacetyloxyhexacos-20-enoic acid (**UG-1C**), 3(*R*),5(*R*)-diacetyloxy-hexacosanoic acid (**UG-1D**) の 29.6:58.9:10.7:0.9 の混合物であると決定した。

U-2 は、(–)FABMS において *m/z* 497, 499 (**UG-2B**, **C**), 525, 527 $[M–H]^-$に擬分子イオンピークが 10:81:8:1 の比で観測され、最も強度の高い 499 は(–)HRFABMS により対応する分子式を $C_{28}H_{50}O_7$ と決定した。^{1}H NMR スペクトルは U-1 のものと比較して、δ 3.58 (*m*) にオキシメチン水素が 1 つ増えていることを除けばよく似ていた。これらのデータより、U-2 は U-1 のモノ水酸化体であるとわかった。オレフィン水素の積分値は 0.87 であり U-2 も二重結合を 1 つ持つ化合物と飽和な化合物の混合物であることを示唆していた。また、末端メチル基に由来するシグナルの化学シフトが δ 0.89 (*t*, *J* = 7.2 Hz: Δ1) と 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz: Δ0) と U-1 と同程度の差が生じていた。U-2 をジアゾメタンで処理し、対応するメチルエステル体へと誘導し、さらにフリーの水酸基を TMS 化して GLC 分析を行った結果、5 本のピークが 12.0 (**UG-2a**-OTMS):29.0 (**UG-2b**-OTMS):51.5 (**UG-2c**-OTMS):3.8 (**UG-2d**-OTMS):3.7 (**UG-2g**-OTMS) の比で観測された (図 2-34)。**UG-2a**-OTMS は主成分のひとつである **UG-2b**-OTMS と分離困難であり、**UG-2d**-OTMS, **UG-2g**-OTMS は量が少なく S/N の良い EIMS スペクトルが得られなかった。主成分である **UG-2b**-OTMS および **UG-2c**-OTMS の構造解析をすること

とした。**UG-2b**-OTMS の MS フラグメントには、分子イオンに由来する *m/z* 511 $[M–Me–AcOH]^+$, 451 $[511–AcOH]^+$が、また、C-8/C-9 開裂に由来する *m/z* 313 $[CHOTMS(CH_2)_{14}CH_3]^+$ および C-9/C-10 開裂に由来する *m/z* 375 $[CH_3CO_2CH_2CH(OAc)CH_2CH(OAc)(CH_2)_3CH(OTMS)]^+$ が観測されたことより、methyl 3,5-diacetyloxy-9-OTMS-tetracosanoate とわかった。同様に、**2c**-OTMS の MS フラグメントには、分子イオンに由来する *m/z* 511 $[M–Me–AcOH]^+$, 451 $[511–AcOH]^+$が、また、C-9/C-10 開裂に由来する *m/z* 299 $[CHOTMS(CH_2)_{13}CH_3]^+$および C-10/C-11 開裂に由来する *m/z* 389 $[CH_3CO_2CH_2CH(OAc)CH_2CH(OAc)(CH_2)_4CH(OTMS)]^+$ が観測されたことより、methyl 3,5-diacetyloxy-10-OTMS-tetracosanoate であることが示された (図 2-36)。

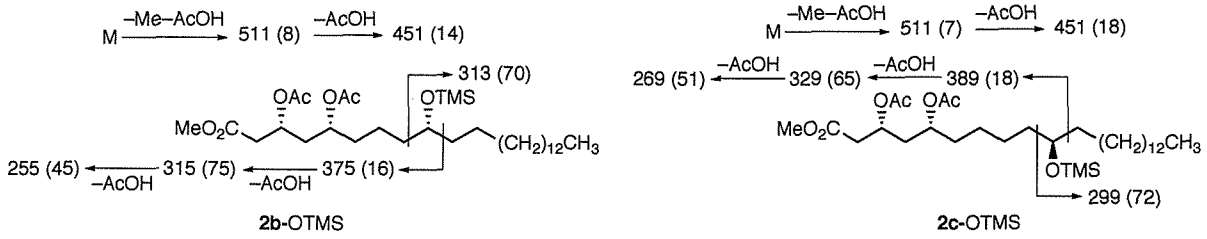
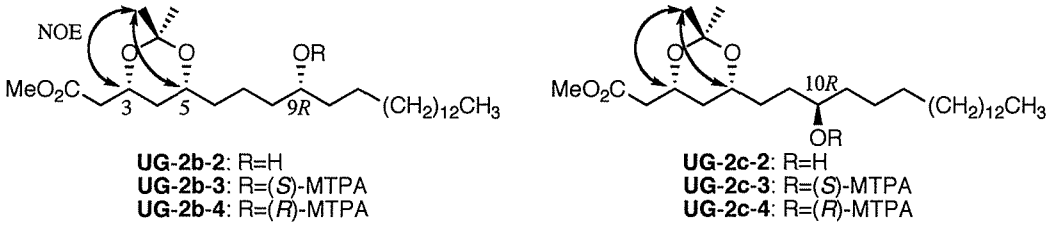


図 2-36. **UG-2b** および **UG-2c** の TMS 体の EIMS フラグメント

続いて、9 位および 10 位の立体化学を決定することとした。メチルエステル体の **UG-2b** と **UG-2c** は分離できなかったので、 U-2 をアルカリ条件下で加水分解し、続いてジアゾメタンで処理することで対応するトリヒドロキシ脂肪酸メチルエステル体を得た。このメチルエステル体は TLC 上にて分離可能な 2 つの主なスポットを与えた。両者を PTLC にて分離し、それぞれ TMS 化して GLC 分析を行ったところ、単一のピークを示し、それぞれの EIMS スペクトルから、上記の TLC において高極性側が **UG-2b** 由来の methyl 3,5,9-trihydroxytetracosanoate (**UG-2b-1**)、低極性側が **UG-2c** 由来の methyl 3,5,10-trihydroxytetracosanoate (**UG-2c-1**) であるとわかった。まず **UG-2b-1** の 9 位の立体化学を決めるために **UG-2b-1** にジメトキシプロパンを作用させ、3 位と 5 位の水酸基をアセトナイドで保護し化合物 **UG-2b-2** とした。**UG-2b-2** の 3 位

と 5 位の相対立体化学について、3 位のオキシメチン水素 δ 4.29 (*m*) と 5 位のオキシメチン水素 δ 3.84 (*m*) から、アセトナイドの 2 つのメチル基のうち同じメチル基 δ 1.45 に対して NOE 相関があったことから、*syn* 配置であることが明らかとなった。また、H_{axial}-4 が δ 1.17 (*q*, *J* = 12.5 Hz) に観測され、また、H-3 および H-5 と 12.5 Hz と大きな値でスピン結合していることから、3 位と 5 位の水素は互いにジアキシャルの関係にあることが明らかになった (図 2-37)。



UG-2b-2: R=H
UG-2b-3: R=(*S*)-MTPA
UG-2b-4: R=(*R*)-MTPA

UG-2c-2: R=H
UG-2c-3: R=(*S*)-MTPA
UG-2c-4: R=(*R*)-MTPA

図 2-37. UG-2b-2–4, UG-2c-2–4 の構造および UG-2b-2 と UG-2c-2 における NOE 相関

続いて、**UG-2b-2** を (*S*)-MTPA エステル体 (**UG-2b-3**) および (*R*)-MTPA エステル体 (**UG-2b-4**)へと変換した。両 MTPA エステル体について Δδ(*S*–*R*)値を測定した結果、H-5 (+0.07), H-3 (+0.02), H_2-2 (+0.01, +0.01), H_2-4 (+0.06, +0.08) であり、9*R* と決定した。続いて **UG-2c-1** を対応するアセトナイド体 **UG-2c-2** へと変換した。**UG-2c-2** の 3 位と 5 位の相対配置も **UG-2b-2** と同様 NOE スペクトルより *syn* 配置であると決定した (図 2-37)。**UG-2c-2** を(*S*)-MTPA エステル体 (**UG-2c-3**) および (*R*)-MTPA エステル体 (**UG-2c-4**)へと変換し、Δδ(*S*–*R*)値 [H-5 (+0.04), H-3 (+0.01), H_2-2 (+0.01, +0.01), H_2-4 (+0.04, +0.04)]より、10*R* と決定した。3 位および 5 位の絶対配置は、U-1 との生合成的関連性から 3*R*,5*R* と推定した。以上より、U-2 は 3(*R*),5(*R*)-diacetyloxy-9(*R*)-hydroxytetracosanoic acid (**UG-2B**) と 3(*R*),5(*R*)-diacetyloxy-10(*R*)-hydroxytetracosanoic acid (**UG-2C**) が主成分であることがわかった。これらに加えて U-2 には 20%程度のマイナー成分 (炭素鎖 26 のものや二重結合を有しているもの) が含まれていることがわかっている。

U-3 は(–)FABMS において *m/z* 353, 355, 381 [M–H]に 75 (**UG-3A**):10 (**UG-3B**):15 (**UG-3C**) の比で擬分子イオンピークを与えた。(–)HRFABMS スペクトルによりそれぞれの擬分子イオンピークの分子式を $C_{22}H_{42}O_3$, $C_{22}H_{44}O_3$, $C_{24}H_{46}O_3$ と決定した。^{1}H NMR スペクトルにおいてオレフィン水素 δ 5.33 (*m*, 2H)、オキシメチンシグナル δ 4.02 (*m*, H-3)、カルボニルの α 位のメチレン水素 δ 2.00 (*m*, H-2)、長鎖メチレン鎖 δ 1.28、末端メチルシグナル δ 0.88 (*t*, 7.2 Hz) が観測されたことより、二重結合を 1 つ含む 3-ヒドロキシ脂肪酸であることが示された。U-3 をジアゾメタンで処理しメチルエステル体 (**UG-3a-c**) とし、さらにフリーの水酸基を TMS 化した後に GLC 分析および GC-MS 分析を行った。この TMS 体は GLC において 3 本のピークを 76.6 (**UG-3a**-OTMS):8.3 (**UG-3b**-OTMS):15.1 (**UG-3c**-OTMS) の比で与えた (図 2-34)。それぞれ分子イオンピーク由来のフラグメントイオン *m/z* 425 (**UG-3a**-OTMS), 427 (**UG-3b**-OTMS), 453 (**UG-3c**-OTMS) $[M–Me]^+$が観測されたことより、**UG-3a** は methyl 3-hydroxydocosenote 、**UG-3b** は methyl 3-hydroxydocosanoate 、**UG-3c** は methyl 3-hydroxytetracosenoate であるとわかった。二重結合の位置の決定には U-1 の時と同じ方法を用いた。すなわち U-3 メチルエステル体 (**UG-3a-c**) をヨウ素存在下、DMDS を作用させることで対応するジメチルチオール体 (**UG-3a-1,3c-1**) が得られた。**UG-3a-1**, **UG-3b**, **UG-3c-1** の混合物を TMS 化し GLC および GC-MS 分析を行った。これらは GLC において 3 つのピークを示した。最も保持時間が早いピークは **UG-3b** と同定し、残りの 2 つのピークが **UG-3a-1** および **UG-3c-1** に帰属された。**UG-3a-1** の GC-MS スペクトルにおいて、分子イオンピーク *m/z* 534 $[M]^+$が観測され C-16/C-17 開裂に由来するフラグメントイオン *m/z* 131 $[CH(SMe)(CH_2)_4CH_3]^+$および 403 $[CH_3CO_2CH_2CH(OTMS)(CH_2)_{12}CH(SMe)]^+$が観測されたことより、**UG-3a** は methyl 3-hydroxydocos-16-enoate と決定した (図 2-38)。同様に、**UG-3c-1** の GC-MS GC-MS スペクトルにおいて、分子イオンピーク *m/z* 562 $[M]^+$が観測され C-18/C-19 開裂に由来するフラグメントイオン *m/z* 131 $[CH(SMe)(CH_2)_4CH_3]^+$および 431

$[CH_3CO_2CH_2CH(OTMS)(CH_2)_{14}CH(SMe)]^+$が観測されたことより、**UG-3c** は methyl 3-hydroxytetracos-18-enoate と決定した (図 2-33)。

3 位の立体化学は、U-3 メチルエステル体 (**UG-3a-c**) に対して新 Mosher 法を適応することで *R* と決定した。以上より、U-3 は 3(*R*)-hydroxydocos-16-enoic acid (**UG-3A**), 3(*R*)-hydroxydocosanoic acid (**UG-3B**), 3(*R*)-hydroxytetracos-18-enoic acid (**UG-3C**) の 76.6:8.3:15.1 の混合物と決定した。

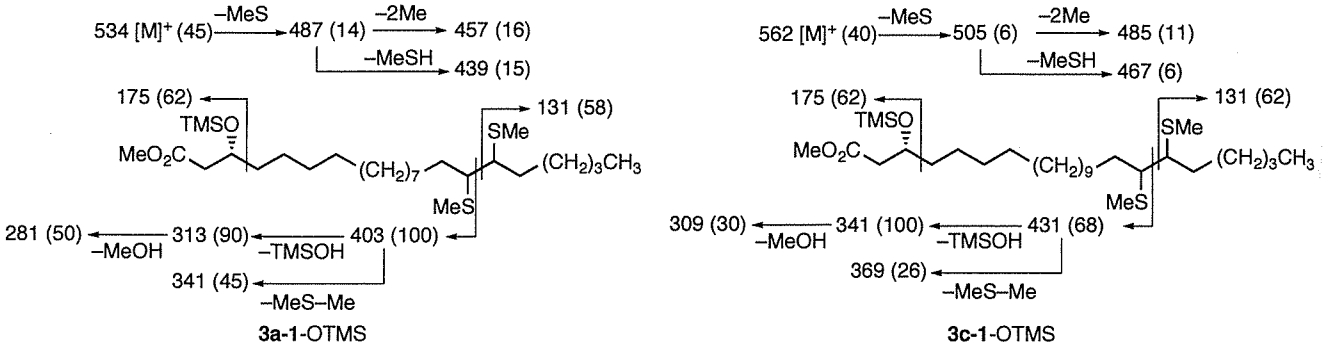


図 2-38. **UG-3a-1**-OTMS および **3c-1**-OTMS 体の EIMS フラグメンテーション

U-4 は、(–)FABMS スペクトルにおいて *m/z* 369 (**UG-4A**), 371 (**UG-4B**), 397 (**UG-4C**) に擬分子イオンピークが 63:27:10 の比で観測された。(–)HRFABMS スペクトルによりそれぞれの擬分子イオンピークの分子式を $C_{22}H_{42}O_4$, $C_{22}H_{44}O_4$, $C_{24}H_{46}O_4$ と決定した。^{1}H NMR スペクトルは U-1 の加水分解したメチルエステル体のスペクトルと比較して、メチルエステルのシグナルが消失していること以外は良い一致を示した。このことより、U-4 は 3,5-dihydroxy-docosenoic acid, -docosanoic acid, -tetracosanoic acid の混合物であることが示された。U-4 をジアゾメタンによりメチルエステル体 (**UG-4a-c**) へと変換後、フリーの水酸基を TMS 化して GLC および GC-MS 分析を行った。GLC において、3 つのピークを 65.0:26.6:8.4 の比で与えた (図 2-34)。それぞれの MS フラグメント解析の結果、**UG-4a** は methyl 3,5-dihydroxydocosenoate、**UG-4b** は methyl 3,5-dihydroxydocosanoate、**UG-4c** は methyl 3,5-dihydroxytetracosenoate であるとわかっ

た。二重結合の位置は上述の方法を用いて決定した。すなわち **4a-c** を対応するジメチルチオール体 (**UG-4a-1**, **UG-4c-1**) へと誘導し、フリーの水酸基を TMS 化した化合物を GC-MS 分析しその特徴的なフラグメントイオンより決定した (図 2-39)。

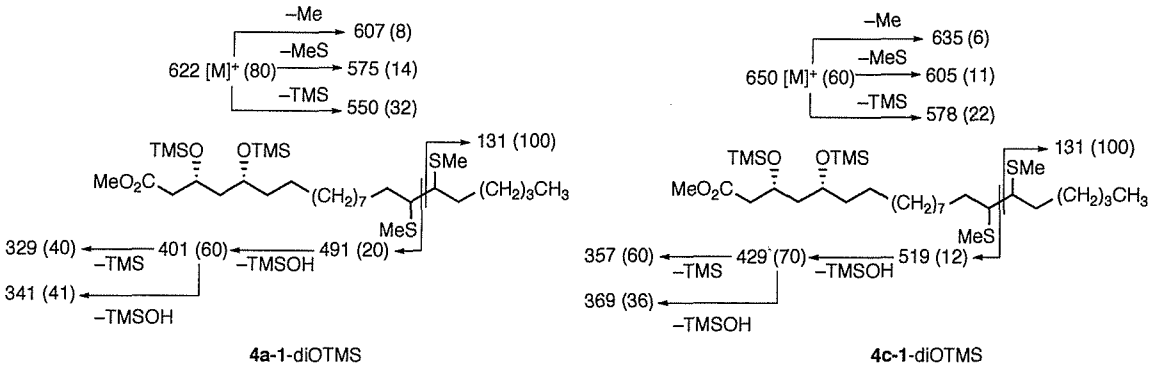


図 2-39. **UG-4a-1**-diOTMS および **4c-1**-diOTMS 体の EIMS フラグメンテーション

3 位と 5 位の立体化学は U-1 と同様の方法を用いて 3*R*,5*R* と決定した。以上より U-4 は、3(*R*),5(*R*)-dihydroxydocos-16-enoic acid (**UG-4A**)、3(*R*),5(*R*)-dihydroxydocosanoic acid **UG-4B**、3(*R*),5(*R*)-dihydroxytetracos-16-enoic acid (**UG-4C**) の混合物と決定した。

2-4-2. *Uncarina roeoesriana* の腺毛分泌物

京都府立植物園で栽培されている *U. roeoesriana* の葉表面をキムワイプで拭き、Et_2O により溶出し、分泌物抽出物 1.2 g を得た。この抽出物は TLC において 2 つのメジャースポットを与えた (低極性側を UR-1、高極性側を UR-2 とした)。

UR-2 は ^{1}H NMR スペクトルが U-2 と一致したことより、3,5-diacetyloxy-n-hydroxy-fatty acid であるとわかった (図 2-40)。(–)FABMS において *m/z* 497, 499, 525, 527 $[M–H]^-$ に擬分子イオンピークが 54:24:18:4 の比で観測された。組成比は異なるものの、U-2 と同じ分子イオンピークが観測されたことより、脂肪酸鎖は U-2 と同じ C_{24} および C_{26} であることが示された。水酸基の位置に関しては、UR-2 をメチルエステル化および TMS 化したサンプルの EIMS スペクトルにおいて、U-2

の時に見られた、分子イオンに由来する *m/z* 511 $[M–Me–AcOH]^+$, 451 $[511–AcOH]^+$が、また、C-8/C-9 開裂に由来する *m/z* 313 $[CHOTMS(CH_2)_{14}CH_3]^+$および C-9/C-10 開裂に由来する *m/z* 375 $[CH_3CO_2CH_2CH(OAc)CH_2CH(OAc)(CH_2)_3CH(OTMS)]^+$ が観測されたことより UR-2 において 9-位水酸基の存在が、また、C-9/C-10 開裂に由来する *m/z* 299 $[CHOTMS(CH_2)_{13}CH_3]^+$ および C-10/C-11 開裂に由来する *m/z* 389 $[CH_3CO_2CH_2CH(OAc)CH_2CH(OAc)(CH_2)_4CH(OTMS)]^+$ が観測されたことより、10 位水酸基の存在が明らかになった。詳細は今後確かめる必要があるが、UR-2 も U-2 と同じ 3,5-diacetyloxy-9-hydroxy-または 3,5-diacetyloxy-10-hydroxy 構造を有していると推定した。立体化学については今後決定する必要がある。

UR-1 は ^1H NMR スペクトルより、UR-2 のアセチル化体とわかった (図 2-40)。(–)FBAMS においても UR-2 に見られた擬分子イオンピークより 42 mass unit 大きいピーク *m/z* 539, 541, 567, 569 が 50: 30:15:5 の比で観測された。UR-2 では 3, 5, 9 or 10 位に酸素官能基が置換していたが、UR-1 では 3,5-diacetyloxy 構造は NMR から決定し、もう一つの水酸化の位置は生合成的な関連性から 9 位または 10 位と推定した。

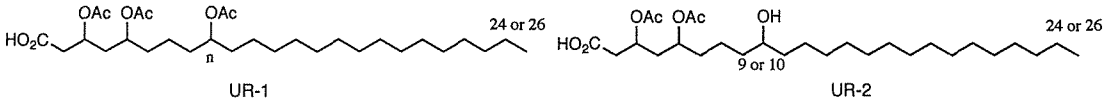


図 2-40. UR-1 および UR-2 に含まれる化学構造

U. roeoesriana の腺毛分泌物は専ら長鎖脂肪酸であり、フラボノイド類は全く含まれていなかった。

ま と め

U. grandidieri の腺毛分泌物は大きく分けて、長鎖脂肪酸とフラボノイドの 2 つの化合物群が含まれていた。長鎖脂肪酸は炭素鎖が 22, 24, 26 であり、また、3 および 5 位に酸素官能基を有するもの、3、5 および 9 位もしくは 10 位の 3 カ所に酸素官能基を有しているものが主成分であった。3 位と 5 位の絶対位置は共に *R* であった。これ

は脂肪酸生合成過程で生じるケトンが還元される時の立体化学と同じであり、脂肪酸の炭素鎖延長の際に残ったマロニル CoA 由来の酸素官能基であると推測される。3 位および 5 位以外の水酸化位置は 9 位と 10 位であり、キリの葉の腺毛分泌物に含まれていたアシルグリセロールの脂肪酸部に見られる置換位置と近い位置に存在していた。また、立体化学は 9 位, 10 位ともに *R* であり、キリの 7, 8, 9 位と同じ立体化学を有していた。*U. roeoesriana* に含まれていた長鎖脂肪酸は *U. grandidieri* のものと良く類似しており、炭素鎖が 24 と 26 で、3 位, 5 位のアセトキシ基に加えて、9 位もしくは 10 位にもう 1 つ酸素官能基 (OH または OAc)を有する脂肪酸であった。これらの絶対は位置に関しては現在解析中であるが、*U. grandidieri* と同じである可能性が高いと考えている。フラボノイド類に関して、*U. grandidieri* では全体の約 10%を占めていが、*U. roeoesriana* のでは含まれていなかった。図 2-30 に示した両植物の腺毛を比較すると、*U. grandidieri* には先端の分泌組織の中に、色素を有しているものと、無色のものと 2 種類が存在しているのに対し、*U. roeoesriana* では無色の腺毛のみが見られた。フラボノイドと長鎖脂肪酸はそれぞれ特定の種類の腺毛で生合成され、分泌されているのかもしれない。

2-5. キツネノマゴ科 *Brillantasisia* sp. の腺毛分泌物

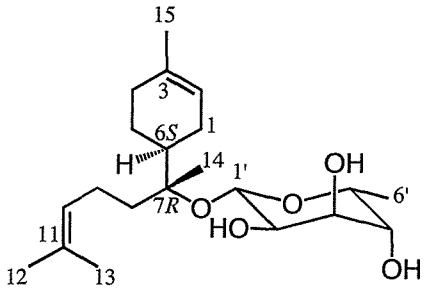
これまでにキツネノマゴ科 (Acanthaceae) に属する植物の腺毛分泌物に関する研究の報告はない。筆者は、福岡市動植物園の温室にて栽培されていた *Brillantaisia* sp. の花柄、ガク、花弁の表面に密生した腺毛を見いだした（図 2-41)。分泌量は多く粘性も非常に高かった。*Brillantaisia* 属は約 20 種からなる熱帯アフリカやマダガスカルに生息する多年草である (Tripp, 2006)。福岡市動植物園より頂いた 15 g の花柄, ガク, 花弁より 200 mg の腺毛分泌物を得た。この腺毛分泌物は TLC において単一のスポットを与えた (展開溶媒 : $CHCl_3$/MeOH, 20:1, Rf=0.42)。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて精製し、化合物 **BR-1** を 185 mg 得た。



図 2-41. *Brillantaisia* sp.の花、萼および腺毛の写真

化合物 **BR-1** は無色油状物質として得られた。^{1}H および ^{13}C NMR データおよび EIMS において *m/z* 368 に分子イオンピークが観測されたことより、その分子式を $C_{21}H_{36}O_5$ と決定した。^{1}H NMR スペクトルにおいて、6-デオキシヘキソースに帰属される、H-H COSY で相関が連続してつながるシグナル δ 4.74 (*d*, *J* = 8.0 Hz, H-1′), 3.55 (*dd*, *J* = 8.0, 4.0 Hz, H-2′), 4.07 (*t*, *J* = 4.0 Hz, H-3′), 3.51 (*brd*, *J* = 4.0 Hz, H-4′), 4.02 (*brq*, *J* = 6.6 Hz, H-5′), 1.21 (*d*, *J* = 6.6 Hz, H_3-6′)、オレフィン水素 δ 5.37 (*brs*)、3 つのオレフィンメチルシグナル δ 1.68 (*s*), 1.65 (*brs*), 1.61 (*brs*)、1 つのシングレットメチルシグナル δ 1.21 (*s*) が観測された (表 2-17)。6-デオキシヘキソースの構造はスピン結合定数より天然には稀な 6-deoxygulopyranoside であることが示された。また、アノメリックプロトンが H-2′と 8.0 Hz と大きなスピン結合定数を示したことより、この糖は β-結合していることがわかった。さらに H-5′とアノメリックプロトンとの間に強い NOE 相関が観

測されたことより、6位メチル基はエクアトリアル位に配向していることがわかった。^{13}C NMR スペクトルにおいて、アノマー位の炭素 δ 94.6 を含む 6-deoxygulose に帰属される 5H 分のオキシメチンと 1 つのメチルシグナル、それらに加えて、4H 分のオレフィン炭素 δ 134.3, 131.3, 124.8, 120.7、1 つの 3 級アルコール置換された炭素 δ 81.7 を含む 15 本のシグナルが観測された (表 2-17)。これらのデータより、**BR-1** はセスキテルペン配糖体であることが示された。セスキテルペン部の構造は、^{1}H および ^{13}C NMR と HMBC スペルクトルより α-bisabolol もしくは *epi*-α-bisabolol のいずれかであることがわかった。過去に報告された α-bisabolol glycoside のアグリコン部のスペクトルデータと比較したところ、*epi*-α-bisabolol により良い一致を示していた (Piochon et al., 2009; Mikhova et al., 2004; Rustaiyan et al., 1981)。



BR-1

図 2-42. *Brillantaisia* sp.の腺毛分泌物中のセスキテルペン配糖体の化学構造

6-Deoxygulose の絶対配置およびセスキテルペン部の詳細な構造を決めるために、**BR-1** を酸性条件にて加水分解し、セスキテルペンアルコールと 6-deoxygulose を得た。6-deoxygulose の旋光度が $[\alpha]_D^{25}$ -32.9 (lit. -39.3) (Lerner et al., 1975) を示したことより 6-deoxy-D-gulose と決定した。アグリコン部の構造は、得られたセスキテルペンアルコールの ^{13}C NMR データを α-bisabolol および *epi*-α-bisabolol のデータと比較することで *epi*-α-bisabolol であると決定した。また、アグリコンの旋光度が-65.6 (*c*, 0.09, MeOH) であったことより(–)-*epi*-α-bisabolol と決定した。以上より、**BR-1** の構造は (–)-*epi*-α-bisabolol 6-deoxy-β-D-gulopyranoside（図 2-42）と決定した。

表 2-17. ^{13}C and ^{1}H NMR data (125 MHz in $CDCl_3$ for ^{13}C, 500 MHz in $CDCl_3$ (10% CD_3OD) for ^{1}H NMR) for compound **BR-1**[a,b]

Position	δ_C	δ_H
1	26.8	2.00 (*m*), 1.80 (*m*)
2	120.7	5.37 (*brs*)
3	134.3	-----
4	31.0	1.98 (*m*. 2H)
5	23.5	1.28 (*m*), 1.58 (*m*)
6	42.1	1.75 (*m*)
7	81.7	-----
8	35.7	1.49 (*m*), 1.75 (*m*)
9	22.4	2.01 (*m*), 1.67 (*m*)
10	124.8	5.11 (*t*, 7.0)
11	131.3	-----
12	25.7	1.65 (*brs*, 3H)
13	17.7	1.61 (*brs*, 3H)
14	21.8	1.21 (*s*, 3H)
15	23.4	1.68 (*s*, 3H)
1′	94.6	4.74 (*d*, 8.0)
2′	71.9	3.55 (*dd*, 8.0, 4.0)
3′	71.4	4.07 (*t*, 4.0)
4′	69.1	3.51 (*brd*, 4.0)
5′	68.9	4.02 (*brq*, 6.6)
6′	16.0	1.21 (*d*, 6.6)

[a] Assignments were based on COSY, HSQC and HMBC experiments.
[a] Multiplicity and coupling constants (*J* in Hz) are in parentheses.

このように、*Brillantaisia* sp.では他のシソ目の腺毛分泌物とは異なり、単一の新規セスキテルペン配糖体から構成されていた。

2-6. シソ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ

シソ目に属する5科6種の腺毛分泌物を調べた。キリ、キバナツノゴマ、ツノゴマおよびヤセウツボには共通して 2-(fatty acyl)glycerol 類が含まれていた。2-(fatty acyl)glycerol 類の脂肪酸に関してはいずれの植物においても3位に酸素官能基を有しており、加えて、キリでは6-9位に、キバナツノゴマおよびツノゴマでは6位に、ヤセウツボには7位にもう1つ酸素官能基を有しているものもあった。また、脂肪酸の詳細な構造に関して、キリでは末端構造が直鎖の C20 (主)と C18 が見られたが、キバナツノゴマ、ツノゴマおよびヤセウツボでは末端構造が直鎖、iso 型、anteiso 型の3種類が存在し長さも C17–C-21 (キバナツノゴマおよびツノゴマ)や C18–C22 (ヤセウツボ)と奇数と偶数の長さが存在した。これらの違いは 2-2 に記載したように、脂肪酸生合成におけるスターターの違いによると考えられる。2-(fatty acyl)glycerol 類以外では、キバナツノゴマやツノゴマの主成分であったグリコシルオキシ脂肪酸や *Uncarina* 属植物に見られた長鎖ヒドロキシ脂肪酸など、シソ目に属する植物の腺毛では、脂肪酸関連化合物が特徴的であった。また、脂肪酸関連化合物を主成分としながらも、キバナツノゴマやツノゴマではトリテルペンを *Uncarina grandidieri* ではフラボノイドを含んでいた。例外的に、*Brillantaisia* sp.ではセスキテルペン配糖体のみで構成されていた。

第 3 章　ナデシコ目植物の腺毛分泌物の成分研究

ナデシコ目に属する植物の腺毛分泌物に関する研究はこれまでに報告されていない。ナデシコ目はシソ目と系統的に少し離れており、両植物間の腺毛分泌物の違いに興味が持たれた。今回、ナデシコ目の中でも、ナデシコ科のシロバナマンテマおよびオランダミミナグサに腺毛を見いだした。本章では、2 種の植物の腺毛分泌物に含まれている化学構造について論じる。

3-1. ナデシコ科シロバナマンテマの腺毛分泌物

シロバナマンテマ (*Silene gallica*) はヨーロッパ中央部起源の一年草であり、25 cm 程度まで成長する。日本では 4 月下旬から 5 月下旬にかけて花を咲かせ種子を実らせる。シロバナマンテマのガク (calyx) には長い樹枝状毛 (2.0 mm) と 短い腺毛 (0.1 mm) が発達しており (図 3-1) 、この部分を指でつまむとネバネバするので腺毛分泌物の存在を確認できた。

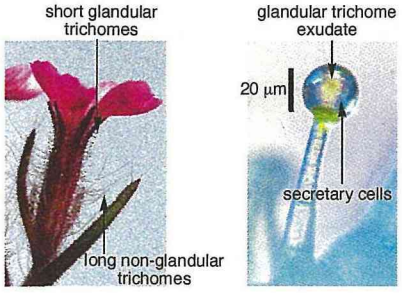


図 3-1. シロバナマンテマの花、萼および腺毛の写真

Silene 属は花を咲かせる植物の中でも最も大きなグループの 1 つである (Greuter et al., 1995)。シロバナマンテマに関する成分研究は行われていないが、他の *Silene* 属植物において、トリテルペンサポニンが *S. jenisseensis* (Dubois et al., 1997), *S. vulgaris* (Glensk et al., 1999), *S. fortunei* (Gaidi et al., 2002), *S. rubicunda* (Fu et al., 2005)より、植物

エクジステロイドが *S. brahuica* (Sadikov et al., 2000), *S. viridiflora* (Simon et al., 2009) より単離されている。しかしながら、ナデシコ科 (Caryophyllaceae) の植物の腺毛分泌物の成分研究に関する報告はない。*Silene* 属の植物はシロバナマンテマと似た花をつけるので腺毛を有している植物も多く存在している可能性がある。ナデシコ科の腺毛分泌物の成分研究の最初の例として今回シロバナマンテマの腺毛分泌物の成分研究を行った。

シロバナマンテマは東京工業大学本館中庭にて 2008 年 5 月に採集した。まず、はじめに、ガクをコットンにてソフトに拭いたものと腺毛が発達している部分をエーテルに数秒間浸したものとを TLC で比較した。2 つのサンプルはほとんど同じ TLC パターンを示した。このことより、腺毛分泌物を大量に集めるために後者の方法を用いることとした。シロバナマンテマ 250 g (fresh wt.) の腺毛を有している先端部を 2 秒間エーテル (500 mL) に浸し、溶媒を減圧下で留去し、160 mg の抽出物を得た。これを以下に示すスキーム (図 3-2) に従い化合物 **SG-1-8** および **SG-9/10** を得た(図 3-3)。

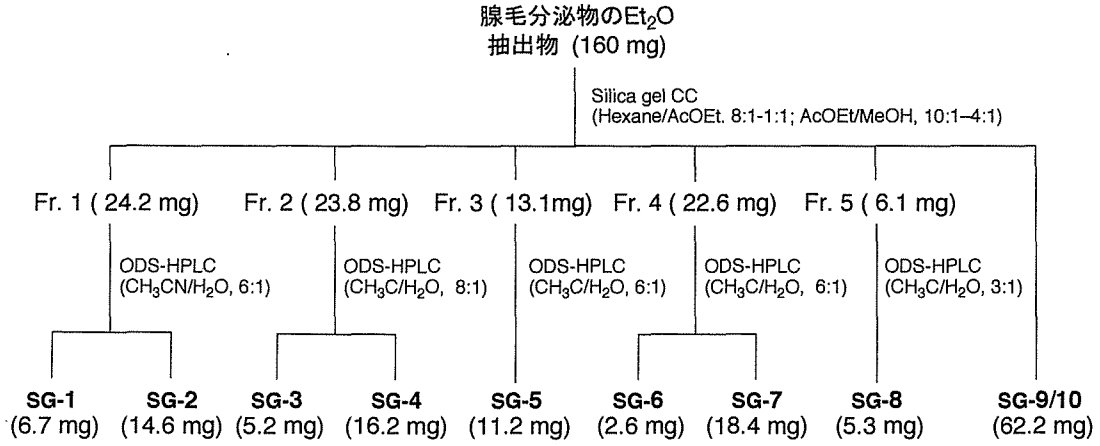


図 3-2. シロバナマンテマの腺毛分泌物の精製スキーム（**SG9/10** はメチルエステル体として HPLC により **SG-9a** と **SG-10a** に分離した）

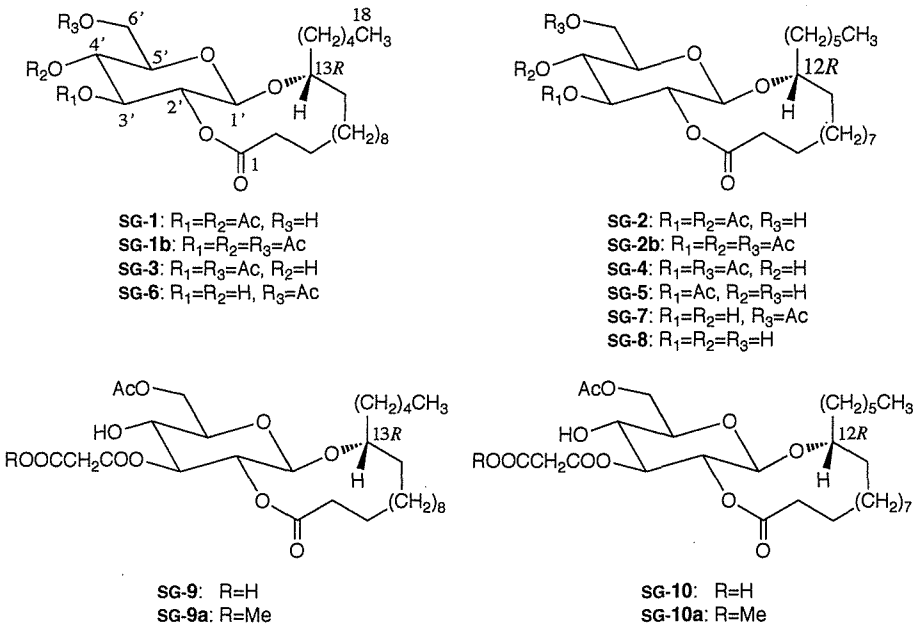
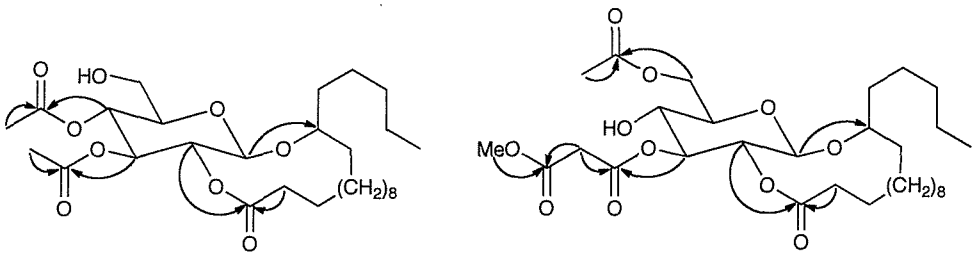


図 3-3. シロバナマンテマの腺毛分泌物中の環状グリコリピドの化学構造

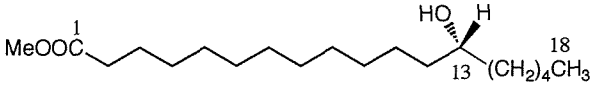
化合物 **SG-1** は HRFABMS において、*m/z* 551/.3217 $[M+Na]^+$に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を $C_{28}H_{48}O_9$ と決定した。**SG-1** の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、2, 3, 4 位がエステル化されている β-glucopyranosyl 構造に帰属される 7H 分のシグナル δ 4.68 (*d*, *J* = 8.0 Hz, H-1′), 4.98 (*dd*, *J* = 9.5, 8.0 Hz, H-2′), 5.23 (*t*, *J* = 9.5 Hz, H-3′), 5.03 (*t*, *J* = 9.5 Hz, H-4′), 3.51 (*m*, H-5′), 3.71 (*m*, Ha-6′), 3.61 (*m*, Hb-6′) が観測された。さらに、鎖状の脂肪酸に特徴的な δ 1.73–1.20 (メチレン鎖), 0.91 (末端メチル基)、オキシメチンプロトン δ 3.85、2 つのアセチルメチルシグナル δ 2.07, 2.04 が観測された (表 3-1)。^{13}C NMR スペクトルにおいても、3 つのエステルカルボニル δ 170.0, 170.4, 172.2 や脂肪酸鎖上のオキシメチン炭素 δ 76.8 など上記の構造を支持するシグナルが観測された (表 3-2)。図 3-4 に示した HMBC スペクトルにおける相関より、糖部分のエステル様式を 3′位と 4′位がアセチル化、2′位が脂肪酸エステル化されていると決定した。分子式より算出した不飽和度が 5 であるため、化合物 **SG-1** はもう 1 つ環構造を有しているとわかった。HMBC スペクトルにおいて、アノメリックプロトン δ 4.68 と脂肪酸鎖上のオキシメチン炭素 δ 76.8 との間に相関が観測されたことより、グルコースと脂肪酸鎖で大環状構造を形成していることがわかった (図 3-4)。



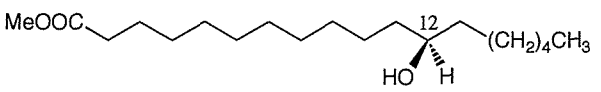
SG-1 **SG-9a**

図 3-4. **SG-1** および **SG-9a** の結合様式決定に用いた HMBC 相関

化合物 **SG-2-8**、**SG-9a, SG-10a** も **SG-1** と同様に、アノマー炭素と脂肪酸鎖上のオキシメチン炭素との間のエーテル結合を介して大環状構造を形成していた。**SG-1** において、脂肪酸鎖のどの位置でグリコシド結合をしているのか明らかにするために、ヒドロキシ脂肪酸メチルエステル体へと誘導した。すなわち、**SG-1** をアルカリ条件下でエステルを加水分解後、酸性条件下によりグリコシド結合を加水分解し、得られた脂肪酸をジアゾメタンで処理することで対応するヒドロキシ脂肪酸メチルエステル **SG-1a** （図 3-5）を得た。オキシメチンの位置の決定は **SG-1a** を TMS 化し、GC-MS 測定することで決定した。この TMS 体は、GC-MS スペクトルにおいて単一のピークを示し、また、12/C-13 開裂に由来する *m/z* 173 $[CH(OTMS)(CH_2)_4CH_3]^+$、C-13/C-14 開裂に由来する *m/z* 315 $[CH_3CO_2(CH_2)_{11}CH(OTMS)]^+$、分子イオンピーク *m/z* 386 が観測されたことより、**SG-1a** は 13-hydroxyoctadecanoate であることがわかった。このオキシメチンの立体化学は、**SG-1a** に対して新 Mosher 法を適応し、H_3-18 の $\Delta\delta(R\text{-}S)$ 値が+0.04 であったことより 13*R* と決定した (Nishioka et al., 1994)。以上より、**SG-1** の構造は 1,2′-cyclic ester of 13(*R*)-(3,4-di-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)octadecanoic acid と決定し、gallicaside A と命名した。



SG-1a



SG-2a

図 3-5. 環状グリコリピド由来のヒドロキシ脂肪酸のメチルエステルの化学構造

化合物 **SG-2** は HRFABMS により **1** と同じ分子式を有していると決定した。**SG-2** の ^{1}H NMR スペクトルは、グルコース部に帰属されるオキシメチン水素、脂肪酸鎖上のオキシメチン水素 δ 3.90、2 つのアセチルメチルを含めて **SG-1** のものと類似していた (表 3-1)。^{13}C NMR スペクトルも **SG-1** のものと良く似ていたが、アノマー位の炭素 (δ 95.6) およびオキシメチン (δ 75.4) が **SG-1** に比べて 1.0 ppm 程度高磁場シフトしていることがわずかな違いとして観察された (表 3-2)。HMBC スペクトルにおいて、**SG-1** と同様に、3′位と 4′位がアセチル化、2′位が脂肪酸エステル化されていること、アノマー位とオキシメチンの間でエーテル結合していることが明らかとなった。これらのデータより、**SG-2** は **SG-1** の脂肪酸鎖上のオキシメチンの位置異性体か立体異性体の可能性が示唆された。**SG-1** と同様の方法により、**SG-2** より対応するヒドロキシ脂肪酸メチルエステル **SG-2a** を得た。**SG-1** の場合と同様の方法によりオキシメチンの位置と立体化学を決定し、**SG-2a** が methyl (*R*)-12-hydroxyoctadecanoate であると決定した。以上より、**SG-2** の構造を 1,2′-cyclic ester of 12(*R*)-(3,4-di-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)octadecanoic acid と決定し、gallicaside B と命名した。

化合物 **SG-3** は、HRFABMS において、**SG-1** および **SG-2** と同じ分子イオンピークを与え、また、^{1}H NMR スペクトルにおいても、**SG-1** および **SG-2** と同様、直鎖脂肪酸部分とグルコース部分の 2 つの部分構造に帰属されるシグナルが観測された。グルコース部分に帰属されるシグナル δ 4.61 (*d*, *J* = 7.9 Hz, H-1′), 4.94 (*dd*, *J* = 9.6, 7.9 Hz, H-2′), 5.01 (*t*, *J* = 9.6 Hz, H-3′), 3.59 (*t*, *J* = 9.6 Hz, H-4′), 3.48 (m, H-5′), 4.46 (*dd*, *J* = 12.1, 4.6 Hz, Ha-6′), 4.31 (*dd*, *J* = 12.1, 1.9 Hz, Hb-6′) と 2 つのアセチルメチルシグナル δ 2.11, 2.07 より 2-*O*, 3-*O*, 6-*O*-エステル体 (2 つはアセテートで 1 つは脂肪酸エステル) であることが示された (表 3-1)。**SG-3** の ^{13}C NMR スペクトルにおいて、アノマー位の炭素 (δ 96.5) および脂肪酸上のオキシメチン (δ 76.6) が観測された化学シフトは、**SG-2** より **SG-1** における対応する炭素の化学シフトにより良く一致していた (表3-2)。

表 3-1. ^{1}H NMR spectroscopic data (500 MHz, $CDCl_3$) for compounds **SG-1-8**, **SG-9a** and **SG-10a**.[a]

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9a**	**10a**
2	2.30 (*m*, 2H)	2.27 (*m*, 2H)	2.29 (*m*, 2H)	2.27 (*m*, 2H)	2.29 (*m*, 2H)	2.40 (*m*, 2H)	2.39 (*m*, 2H)	2.39 (*m*, 2H)	2.30 (*m*, 2H)	2.29 (*m*, 2H)
12		3.90 (*m*)		3.88 (*m*)	3.88 (*m*)		3.90 (*m*)	3.90 (*m*)		3.89 (*m*)
13	3.85 (*m*)		3.83 (*m*)			3.83 (*m*)			3.83 (*m*)	
CH_2	1.73–1.20 (*m*)	1.73–1.20 (*m*)	1.73–1.20 (*m*)	1.73–1.20 (*m*)	1.73–1.20 (*m*)	1.73–1.20 (*m*)	1.73–1.20 (*m*)	1.73–1.20 (*m*)	1.73–1.20 (*m*)	1.73–1.20 (*m*)
18	0.91 (*t*, 7.0)	0.90 (*t*, 7.1)	0.91 (*t*, 7.0)	0.90 (*t*, 7.0)	0.90 (*t*, 7.19	0.91 (*t*, 7.0)	0.90 (*t*7.0)	0.90 (*t*, 7.1)	0.91 (*t*, 7.0)	0.90 (*t*, 7.1)
1′	4.68 (*d*, 8.0)	4.73 (*d*, 7.9)	4.61 (*d*, 7.9)	4.67 (*d*, 7.8)	4.71 (*d*, 7.8)	4.58 (*d*, 7.8)	4.63 (*d*, 7.8)	4.67 (*m*)	4.64 (*d*, 7.8)	4.69 (*d*, 7.9)
2′	4.98 (*dd*, 9.5, 8.0)	5.01 (*dd*, 9.5, 7.9)	4.94 (*dd*, 9.6, 7.9)	4.96 (*dd*, 9.6, 7.8)	4.95 (*dd*, 9.6, 7.8)	4.70 (*dd*, 9.6, 7.8)	4.71 (*dd*, 9.6, 7.8)	4.67 (*m*)	4.94 (*dd*, 9.6, 7.8)	4.97 (*dd*, 9.7, 7.8)
3′	5.23 (*t*, 9.5)	5.25 (*t*, 9.5)	5.01 (*t*, 9.6)	5.02 (*t*, 9.6)	5.02 (*t*, 9.6)	3.47 (*td*, 9.6, 2.4)	3.48 (*brt*, 9.6)	3.61 (*brt*, 9.6)	5.08 (*t*, 9.6)	5.10 (*t*, 9.7)
4′	5.03 (*t*, 9.5)	5.03 (*t*, 9.5)	3.59 (*brt*, 9.6)	3.60 (*brt*, 9.6)	3.77 (*brt*, 9.6)	3.59 (*td*, 9.6, 4.0)	3.60 (*brt*, 9.6)	3.64 (*t*, 9.6)	3.66 (*brt*, 9.6)	3.66 (*brt*, 9.7)
5′	3.51 (*m*)	3.51 (*m*)	3.48 (*m*)	3.49 (*m*)	3.42 (*m*)	3.43 (*m*)	3.42 (*m*)	3.37 (*m*)	3.53 (*m*)	3.53 (*m*)
6′	3.71 (*m*)	3.71 (*m*)	4.46 (*dd*, 12.2, 4.5)	4.44 (*dd*, 12.1, 4.6)	3.92 (*dd*, 11.9, 3.3)	4.43 (*dd*, 12.2, 4.5)	4.41 (*dd*, 12.1, 4.8)	3.89 (*m*)	4.37 (*m*)	4.39 (*dd*, 11.9, 2.9)
	3.61 (*m*)	3.61 (*m*)	4.31 (*dd*, 12.2, 2.3)	4.32 (*dd*, 12.1, 1.9)	3.82 (*dd*, 11.9, 4.5)	4.32 (*dd*, 12.2, 2.2)	4.33 (*dd*, 12.1, 2.0)	3.81 (*m*)	4.37 (*m*)	4.37 (*dd*, 11.9, 4.7)
Ac	2.07 (*s*)	2.04 (*s*)	2.11 (*s*)	2.11 (*s*)	2.08 (*s*)	2.11 (*s*)	2.11 (*s*)		2.11 (*s*)	2.10 (*s*)
	2.04 (*s*)	1.99 (*s*)	2.07 (*s*)	2.07 (*s*)						
2′′									3.47 (*d*,16.3)	3.47 (*d*,16.2)
									3.38 (*d*, 16.3)	3.38 (*d*, 16.2)
Me									3.75 (*s*)	3.75 (*s*)

[a] Multiplicity and coupling constants (J in Hz) are in parentheses.

表 3-2. ^{13}C NMR spectroscopic data (125 MHz, in $CDCl_3$) for compounds **SG-1-8**, **SG-9a** and **SG-10a**.[a]

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9a**	**10a**
1	172.2	172.4	172.3	172.6	172.6	174.7	175.0	175.2	172.4	172.7
2	33.2	33.6	33.3	33.7	33.7	33.7	34.3	34.3	33.2	33.7
CH_2	32.7	32.3	32.8	32.3	32.3	32.7	32.3	32.2	32.7	32.3
CH_2	32.1	31.8	32.1	31.8	31.8	32.1	31.8	31.8	32.1	31.8
CH_2	28.1	29.6	28.1	29.6	29.6	28.0	29.6	29.6	28.1	29.6
CH_2	27.6	27.3	27.6	27.3	27.3	27.8	27.1	27.1	27.6	27.2
CH_2	26.8	26.7	26.8	26.8	26.7	26.9	26.9	27.0	26.7	26.7
CH_2	26.6	26.1	26.6	26.7	26.1	26.7	26.5	26.5	26.6	26.0
CH_2	26.6	26.0	26.6	26.0	26.0	26.6	26.2	26.3	26.6	26.0
CH_2	26.2	25.8	26.2	25.8	25.8	26.4	26.0	26.0	26.2	25.8
CH_2	25.8	24.9	25.8	25.0	24.9	25.9	25.0	24.8	25.7	25.0
CH_2	25.0	24.1	25.1	24.1	24.1	25.0	24.3	24.4	25.1	24.0
CH_2	23.7	23.8	23.7	23.7	23.8	24.1	24.1	24.1	23.7	23.7
CH_2	22.6	22.2	22.8	22.2	22.2	22.7	22.0	22.0	22.7	22.2
12 or 13	76.8	75.4	76.6	76.0	76.5	76.4	74.8	74.9	76.6	75.3
16	31.5	31.5	31.5	31.5	31.5	31.5	31.2	31.2	31.4	31.4
17	22.7	22.6	22.6	22.6	22.6	22.7	22.6	22.6	22.6	22.6
18	14.0	14.1	14.0	14.1	14.1	14.0	14.1	14.1	14.1	14.1
1′	96.6	95.6	96.5	95.5	95.5	96.5	95.3	95.4	96.5	95.5
2′	71.5	71.5	71.3	71.2	71.3	74.7	74.7	74.9	70.8	70.8
3′	73.1	73.1	74.1	74.1	75.4	75.8	75.9	76.2	77.5	77.4
4′	69.0	69.0	69.1	69.3	69.8	71.2	71.3	72.0	69.1	69.2
5′	74.1	74.1	75.9	75.3	75.5	73.5	73.5	75.0	73.5	73.5
6′	61.6	61.5	63.0	63.0	62.4	63.1	63.2	62.5	63.0	63.1
Ac	170.4	170.4	171.6	171.6	171.8	171.7	171.5		171.3	171.3
	20.7	20.7	20.9	20.8	20.9	20.9	20.8		20.9	20.8
Ac	170.0	170.1	1701.5	171.6						
	20.7	20.6	20.8	20.8						
1″									166.3	166.3
2″									41.2	41.2
3″									168.0	167.9
OMe									52.9	52.9

[a] Assignments were based on HSQC and HMBC experiments. Most methylene carbons could not be assigned unambiguously with these 2D-NMR studies.

このことより、糖と脂肪酸部との間で形成されている大環状構造が **SG-3** と **SG-1** で同じであると推測した。この構造を確定するために、まず、**SG-3** をアセチル化した。**SG-3** より得たアセチル化体は **SG-1** より誘導したアセチル化体 **SG-1b** とスペクトルデータが完全に一致した。さらに、**SG-3** を上述の方法と同様に脂肪酸分析を行った結果、**SG-1** と同じ脂肪酸構造を有していることが示された。以上より **SG-3** の構造は 1,2′-cyclic ester of 13(*R*)-(3,6-di-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)octadecanoic acid と決定し、gallicaside C と命名した。

化合物 **SG-4** は HRFABMS により、**SG-1-3** と同じ分子式を有しているとわかった。**SG-4** の ^{1}H NMR スペクトルを **SG-3** のスペクトルと比較することにより、**SG-3** と同様、3′,6′-di-*O*-acetyl-2′-*O*-fatty acyl 構造を有していることがわかった。**SG-4** の ^{13}C NMR スペクトルにおけるアノマー位の炭素の化学シフト (δ 95.5) が **SG-2** のものと良く一致していたことより (表 3-2)、**SG-4** は **SG-2** と同様、脂肪酸部の 12 位でグリコシド結合していると推測した。このことは、上述と同様脂肪酸分析を行うことで、**SG-4** と **SG-2** が同じ脂肪酸構造を有していると確定した。さらに、**SG-4** から誘導したアセチル化体は **SG-2** から誘導したアセチル化体とスペクトルデータが完全に一致したことからもこの構造が正しいことが示された。以上より、**SG-4** の構造を 1,2′-cyclic ester of 12(*R*)-(3,6-di-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)octadecanoic acid と決定し、gallicaside D と命名した。

化合物 **SG-5-8** をアセチル化した化合物のスペクトルデータはいずれも **SG-2b** と一致した。このことより、**SG-5-8** は共通して 2-*O*-fatty acyl 構造を有しており、また、脂肪酸上の 12 位の位置でグルコース部分と脂肪酸部分がエーテル結合していると推定した。

化合物 **SG-5** は HRFABMS により *m/z* 487.3307 $[M+H]^{+}$に擬分子イオンピークが観測され、対応する分子式を $C_{26}H_{46}O_8$ と決定した。**SG-5** の ^{1}H NMR スペクトルは **SG-4** のものと比較して、アセチルメチルシグナルが 1 つだけ観測されたこと、グルコース

部分の6位のメチレン水素のシグナルがδ 3.92, 3.82と高磁場シフトしていたことを除いては類似していた (表3-1)。このことより、**SG-5**は**SG-4**のC-6′位の脱アセチル化体であることがわかった。上述と同様の方法により**SG-5**の脂肪酸部分の構造を解析した結果、**SG-2,4**と同じ脂肪酸構造を有していることが示された。以上より、**SG-5**の構造を 1,2′-cyclic ester of 12(*R*)-(3-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)octadecanoic acidと決定し、gallicaside Eと命名した。

化合物**SG-6**はHRFABMSにおいて**SG-5**と同一の擬分子イオンピークを与えた。^{1}H NMRスペクトルにおいてH-2′がδ 4.70 (*dd*, *J* = 9.6, 7.8 Hz) に、また、H_2-6′がδ 4.43 (*dd*, *J* = 12.2, 4.5 Hz), 4.32 (*dd J* = 12.2, 2.2 Hz) に現れ、エステル化シフトが観測されたことから、2位および6位がエステル化されていることがわかった (表3-1)。**SG-6**をアセチル化した化合物のスペクトルデータは**SG-1b**と完全に一致したことより、2位が脂肪酸エステル化されていることがわかった。また、脂肪酸分析を行い、**SG-6**の構造を 1,2′-cyclic ester of 13(*R*)-(6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)octadecanoic acidと決定し、gallicaside Fと命名した。

化合物**SG-7**はHRFABMSにより**SG-6**と同じ分子式であると決定した。^{1}H NMRスペクトルから、**SG-7**は**SG-6**と同じ置換様式のグルコース部分を有していることがわかった (表3-1)。**SG-7**の過アセチル化体のスペクトルデータが**SG-2b**と完全に一致したことおよび脂肪酸分析により13-hydroxyoctadecanoic acidが同定されたことより、**SG-7**の構造を 1,2′-cyclic ester of 13(*R*)-(3-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)-octadecanoic acidと決定し、gallicaside Gと命名した。

化合物**SG-8**は、HRFABMSスペクトルにおいて、*m/z* 467.3306 $[M+Na]^+$に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を$C_{24}H_{44}O_7$と決定した。^{1}H NMRスペクトルにおいて、アセチルメチルシグナルが観測されず、H-2′の化学シフトがδ 4.67と低磁場に観測された。このことよりグルコースの2位が脂肪酸でエステル化されていることが示された。また、**SG-8**の過アセチル化体のスペクトルデータは**SG-2b**のもの

と一致したことおよび脂肪酸分析の結果より、**SG-8** の構造を 1,2′-cyclic ester of 12(*R*)-(β-D-glucopyranosyloxy)octadecanoic acid と決定し、gallicaside H と命名した。

化合物 **SG-9** と **SG-10** は 1:5 の比の混合物として得られた。この混合物は (–)HRFABMS において、*m/z* 571.3118 $[M–H]^-$に擬分子イオンピークが 1 本観測され、**SG-9** と **SG-10** は同じ分子式を有する化合物であり、その対応する分子式を $C_{29}H_{48}O_{11}$ と決定した。混合物の ^{1}H NMR スペクトル ($CDCl_3$-CD_3OD, 9:1) においていくつかのシグナルが 1:5 の強度比で観測された (例えばアノメリックプロトン δ 4.66, 4.71)。また、溶解度の関係から分解能があがらなかったものの $CDCl_3$ 中で ^{1}H NMR を測定すると CD_3OD 添加溶媒中では観測されなかったメチレン水素のシグナルが δ 3.38 (*m*), 3.28 (*m*) に観測された (実験の部参照)。これらのシグナルは、後述するマロン酸エステルのメチレン水素に帰属された。混合物のうち主成分を **SG-10**、もう一方を **SG-9** とした。混合物をジアゾメタンで処理することで、対応するメチルエステル体 **SG-9a** および **SG-10a** を得た。得られた 2 つのメチルエステル体は逆相 HPLC にて分離し、それぞれ単一の化合物とした。

化合物 **SG-9a** は、HRFABMS において、*m/z* 609.3291 $[M+Na]^+$に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を $C_{30}H_{50}O_{11}$ と決定した。^{1}H NMR スペクトルにおいて、2,3,6-*O*-tri-acylglucose 構造に帰属されるシグナル δ 4.64 (*d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 4.94 (*dd J* = 9.6, 7.8 Hz, H-2′), 5.08 (*t*, *J* = 9.6 Hz, H-3′), 3.66 (*t*, *J* = 9.6 Hz, H-4′), 3.53 (*m*, H-5′), 4. 37 (*m*, H_2-6′, 2H)、ヒドロキシ脂肪酸のオキシメチン水素に帰属されるシグナル δ 3.83 (*m*)、1 つのアセチルメチルシグナル δ 2.11、さらにマロン酸メチルエステル構造に帰属されるシグナル δ 3.47 (*d*, *J* = 16.3 Hz), 3.38 (*d*, *J* = 16.3 Hz), 3.75 (*s*, 3H) が観測された (表 3-1)。^{13}C NMR スペクトルは **SG-3** のものと良く似ていたが、大きな違いとして、**SG-3** とは異なり 3 位がアセチル基ではなくマロン酸メチルエステルでエステル化されていること (δ 168.0, 166.3, 52.9, 41.2) が考えられた (表 3-2)。2 位が脂肪酸、3 位がマロン酸メチルエステル、6 位がアセチル基でそれぞれエステル化されて

いることは、図 3-4 に示した HMBC 相関により決定した。**SG-9a** より誘導した対応する脂肪酸メチルエステル体は上述の方法を用いて分析し、13(*R*)-hydroxyoctadecanoate と決定した。以上より **SG-9a** を図 3-3 に示した構造を有していると決定した。従って **SG-9** の構造を 1,2′-cyclic ester of 13(*R*)-(6-*O*-acetyl-3-*O*-malonyl-β-D-glucopyranosyloxy)-octadecanoic acid と決定し、gallicaside I と命名した。

化合物 **SG-10a** は HRFABMS により、**SG-9a** と同じ分子式であると決定した。^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルは **SG-9a** と似ていたが、アノマー位の炭素の化学シフトが δ 95.5 であり、**SG-9a** のそれと比べると 1.0 ppm 程度高磁場シフトしていたことから、**SG-1** と **SG-2** や **SG-3** と **SG-4** の関係と同様に **SG-10a** は **SG-9a** の位置異性体、すなわち脂肪酸上の 12 位で糖部分とエーテル結合していると推測した (表 3-2)。上述と同様の方法を用いて脂肪酸分析を行い、**SG-10a** 由来の脂肪酸メチルエステルが 12(*R*)-hydroxyoctadecanoate であると決定した。以上より **SG-10a** を図 3-3 に示した構造であると決定した。従って **SG-10** の構造を 1,2′-cyclic ester of 12(*R*)-(6-*O*-acetyl-3-*O*-malonyl-β-D-glucopyranosyloxy)octadecanoic acid と決定し、gallicaside J と命名した。

3-2. ナデシコ科オランダミミナグサの腺毛分泌物

オランダミミナグサ (*Cerastium glomeratum*) はナデシコ科の一年草であり、ヨーロッパ原産の帰化植物で、4 月から 6 月にかけて、路傍、畑、荒れ地に良く見られる。花期の茎やガクに腺毛が発達しており、葉にはほとんど見られない（図 3-6)。



図 3-6. オランダミミナグサの萼および腺毛の写真

オランダミミナグサは、シロバナマンテマと同じくナデシコ目ナデシコ科の植物であるが、属が異なる。この違いがどのように腺毛分泌物の成分に反映しているのか調べるのに適しているため、成分研究を行うことにした。

2009 年 5 月に神奈川県横浜市の空き地に群生しているオランダミミナグサを採集した。まず腺毛だけをコットンで拭き、Et_2O で流しだし、TLC 標品を調整した。次に、腺毛が発達していない葉を落としたオランダミミナグサ地上部を Et_2O に数秒間浸し、減圧下溶媒を留去し、抽出物 788 mg を得た。この抽出物は TLC において、標品と同じく 6 つのスポットを与えた。抽出物を図 3-7 のスキームに従って精製を行い 6 つの Fr. O-1–6 を得た。Fr. O-1-3 は更に HPLC により精製を進め、化合物 **CG-1–8** までを得た（図 3-8）。Fr. O-4–6 に関しては、後述するように、マロン酸エステルを有しており、シロバナマンテマの場合と同様、マロン酸をメチルエステル化して安定化させた後にそれぞれ単一の化合物 (**CG-9m-14m**) へと精製した。**CG-9-14** の構造は、精製したそれぞれのメチルエステル体 **CG-9m-14m** の構造を決定し、その構造から導くこととした。

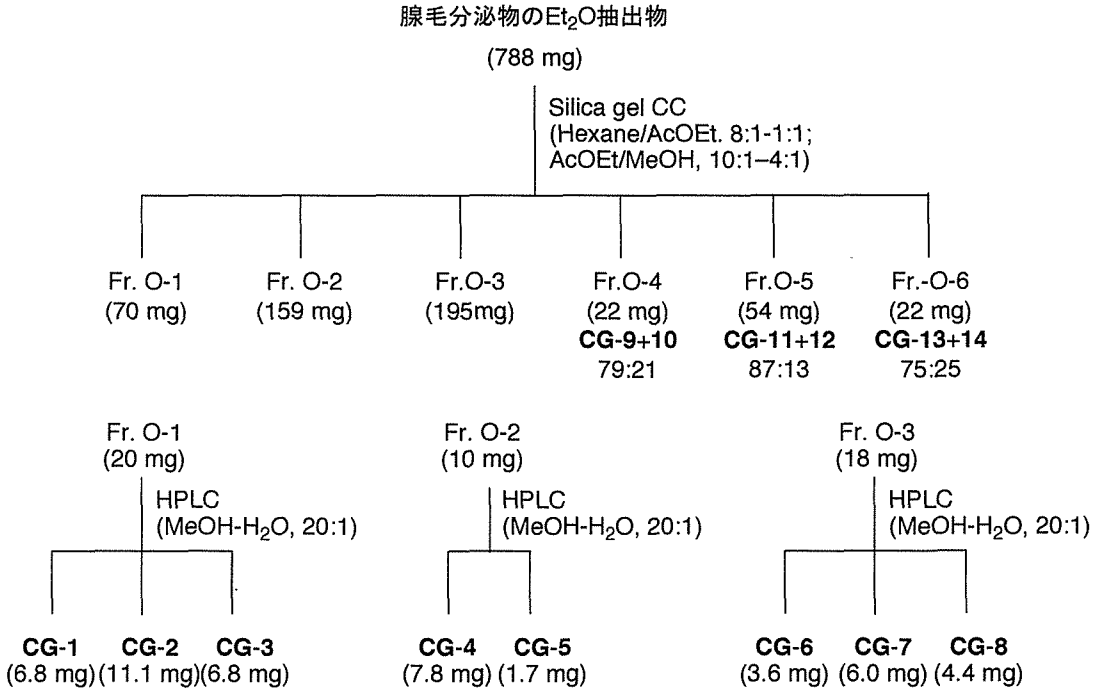


図 3-7. オランダミミナグサの腺毛分泌物の精製スキーム

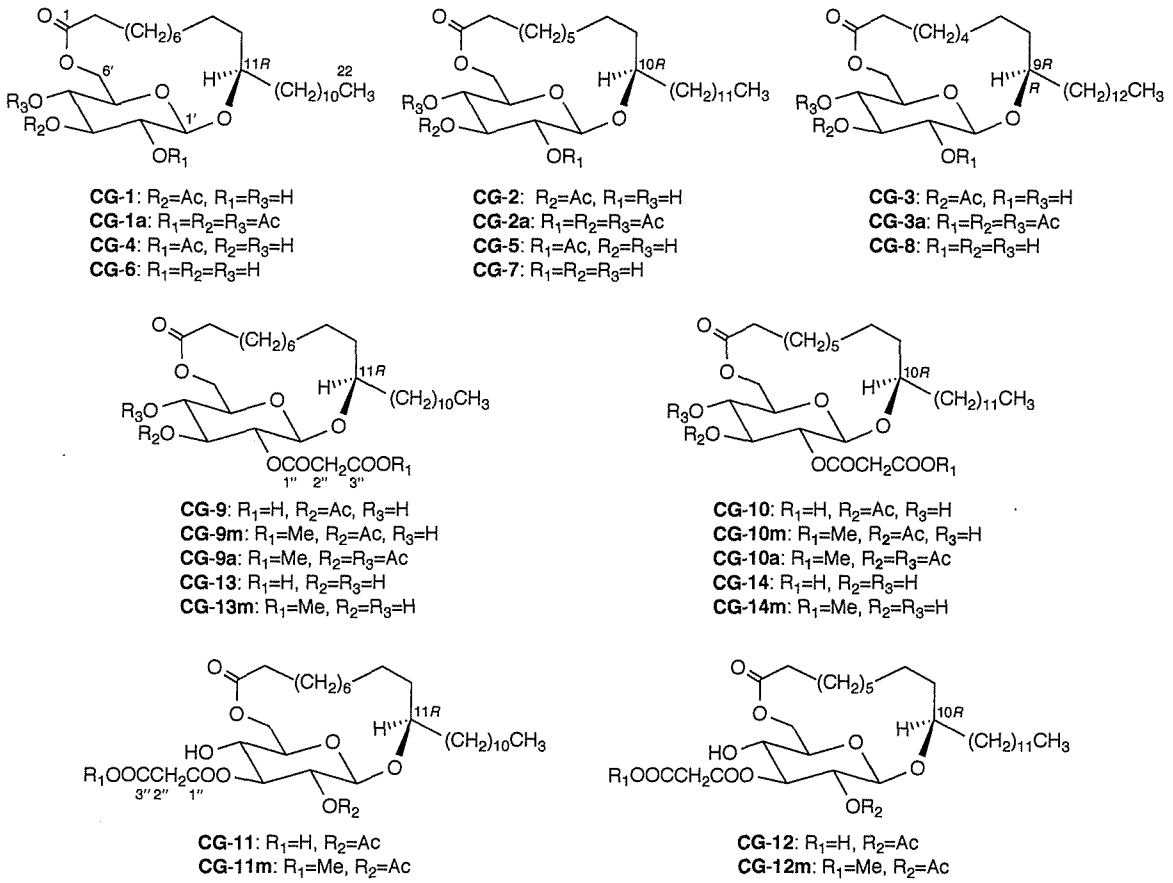


図 3-8. オランダミミナグサの腺毛分泌物中の環状グリコリピドの化学構造

化合物 **CG-1** は HRFABMS において *m/z* 543.3896 $[M+H]^+$に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を $C_{30}H_{54}O_8$ と決定した。IR スペクトルにおいて、3590, 3440, 1720cm^{-1} に吸収帯が観測されたことより、水酸基とカルボニルの存在が示された。^{1}H NMR スペクトル (表 3-3) において、3,6-di-*O*-acyl-*β*-glucopyranosyl 部分に帰属される 7H 分のシグナル [δ 4.38 (*d*, *J* = 7.7 Hz, H-1′), 3.48 (*ddd*, *J* = 9.1, 7.7, 2.5 Hz, H-2′), 4.92 (*t*, *J* = 9.1 Hz, H-3′), 3.57 (*td*, *J* = 9.1, 4.8 Hz, H-4′), 3.52 (*ddd*, *J* = 9.1, 4.7, 1.8 Hz H-5′), 4.37 (*dd*, *J* = 12.1, 1.8 Hz, Ha-6′), 4.30 (*dd*, *J* = 12.1, 4.7 Hz, Hb-6′)] が観測された。 他に、オキシメチンプロトン δ 3.66 (*m*)とアセチルメチル δ 2.18 が脂肪酸に由来するシグナル (末端メチル δ 0.88,カルボニルの α 位のメチレン水素 δ 2.37、長鎖メチレン鎖 δ 1.39–1.20) とともに観測された。^{13}C NMR スペクトル (表 3-4) により、

di-*O*-acylated glucopyranosyl 部分 (エステルカルボニル炭素 δ 174.35, 172.57)、末端が直鎖構造である脂肪酸 (末端メチル δ 14.13) およびメチレン鎖上の 1 つのオキシメチン炭素 δ 80.05 (オキシメチン水素 δ 3.66 と結合している) の存在が確認された。**CG-1** の不飽和度は 4 であり、2 つのエステルおよび糖部分を差し引くと、1 つの環状構造の存在が示唆された。図 3-9 に示した HMBC 相関により、グルコース部分の 3′位がアセチル化されており、6′位が脂肪酸とエステル結合していることがわかった。さらに、グルコースのアノメリック水素 δ 4.38 とメチレン鎖上のオキシメチン炭素 δ 80.05 との間に相関が観測されたことから、この位置でグリコシド結合し、大環状構造を形成していることがわかった。分子式から算出して、脂肪酸の炭素数は C22 であることが明らかとなり、**CG-1** は 1,6′-cyclic ester of (3-*O*-acetyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid 構造を有していることが示された。

しかし、メチレン鎖上のオキシメチン炭素の位置および立体化学を決める必要があった。まず、**CG-1** をアルカリ条件下でエステルを加水分解し、次いでグリコシド結合を酸性条件下にて加水分解し hydroxy-docosanoic acid を得た。これをジアゾメタンで処理してメチルエステル体 **CG-15** (EIMS *m/z*: 352 $[M\text{-}H_2O]^+$) (図 3-10) を得た。

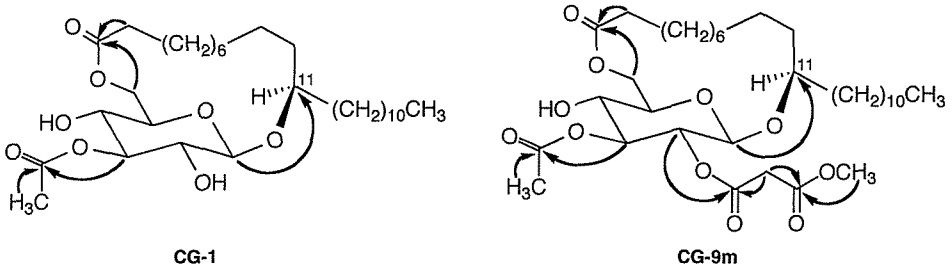


図 3-9. 化合物 **CG-1** および **CG-9m** のキーHMBC 相関

CG-15 の TMS エーテル体の EIMS スペクトルにおいて、C-10/C-11 開裂に由来するフラグメントイオンピーク *m/z* 257 $[TMSOCH(CH_2)_{10}CH_3]^+$ と C-11/C-12 開裂に由来する *m/z* 287 $[CH_3OOC(CH_2)_{10}CH(OTMS)]^+$ が *m/z* 427 $[M\text{–}Me]^+$ とともに観測された。これより、**CG-15** を methyl 11-hydroxydocosanoate と決定した。**CG-15** の TMS エーテル体の

GLC 分析において単一のピークを与えたことより、他の位置異性体は存在しないことが示された。**CG-15** の C-11 位の立体配置は大類-赤坂法 (Ohtaki et al., 2005) を適用することにより *R* と決定した (*vide infra*)。従って **CG-15** の構造を 1,6′-cyclic ester of 11(R)-(3-*O*-acetyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside A と命名した。

CG-2 は HRFABMS により **CG-1** と同じ分子式であると決定した。その ^{1}H NMR スペクトルは **CG-1** のスペクトルと良く似ていたことより、3′位と 6′位がエステル化されたグルコース部を有し、1′位と脂肪酸鎖上のオキシメチン炭素 (δ_H 3.66, δ_C 79.12) の間でグリコシド結合していることがわかった (表 3-3)。^{13}C NMR スペクトルは **CG-1** のものと似ていたが、たいていの炭素においてわずかに化学シフトの違いが見られた (表 3-4)。中でも脂肪酸鎖上のオキシメチン炭素で最も大きな違い (**CG-1** と比較して 0.93 ppm 高磁場)が見られた。**CG-2** の HMBC スペクトルにより、3′位がアセチル化、6′位が脂肪酸エステル化されていることがわかった。これらのデータより、**CG-2** は **CG-1** における脂肪酸鎖上のオキシメチン炭素の位置異性体もしくは立体異性体であると考えられた。

CG-2 の詳細な構造を決定する為に、上述と同様の方法を用いて、対応する脂肪酸メチルエステル体 **CG-16** (EIMS *m/z*: 352 $[M-H_2O]^+$) (図 3-10) へと変換した。**CG-16** の TMS エーテル体の EIMS スペクトルにおいて、*m/z* 427 $[M-Me]^+$ と C-9/C-10 開裂に由来する *m/z* 271 $[TMSOCH(CH_2)_{11}Me]^+$ および C-10/C-11 開裂に由来する *m/z* 273 $[MeOOC(CH_2)_9CH(OTMS)]^+$ が観測されたことより、**CG-16** は methyl 10-hydroxydocosanoate と決定した。C-10 位の絶対配置は **CG-15** の時と同様の手法を用いて *R* と決定した (*vide infra*)。従って、**CG-2** の構造を図 3-8 に示した 1,6′-cyclic ester of 10(*R*)-(3-*O*-acetyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside B と命名した。

表 3-3. ^{1}H NMR spectroscopic data (500 MHz, $CDCl_3$) for compounds **CG-1–8** and **9m–14m**.[a]

[p]Position	**CG-1**	**CG -2**	**CG -3**	**CG -4**	**CG -5**	**CG -6**	**CG -7**	**CG -8**
H_2-2	2.37 (*m*)	2.37 (*m*)	2.39 (*m*)	2.38 (*m*)	2.38 (*m*)	2.38 (*brt*)	2.38 (*m*)	2.38 (*m*)
H_2-3	1.65 (*m*)	1.66 (*m*)	1.58 (*m*)	1.66 (*m*)	1.67 (*m*)	1.63 (*m*)	1.66 (*m*)	1.58 (*m*)
	1.72 (*m*)		1.72 (*m*)	1.72 (*m*)		1.71 (*m*)		1.73 (*m*)
[b]	1.52 (*m*)	1.59-1.41 (*m*)	140-1.60 (*m*)	1.48 (*m*)	1.59-1.41 (*m*)	1.51 (*m*)	1.58-1.41 (*m*)	1.40-1.60 (*m*)
9/10/11	3.66 (*m*)	3.66 (*m*)	3.58 (*m*)	3.57 (*m*)	3.59 (*m*)	3.65 (*m*)	3.67 (*m*)	3.57 (*m*)
H_2-3–21[c]	1.39–1.20 (*m*)	1.38–1.20 (*m*)	1.40–1.20 (*m*)	1.42–1.20 (*m*)	1.39–1.20 (*m*)	1.42–1.20 (*m*)	1.38–1.20 (*m*)	1.41–1.20 (*m*)
H_3-22	0.88 (*t*, 7.0)	0.88 (*t*, 6.9)	0.88 (*t*, 6.9)	0.88 (*t*, 7.0)	0.88 (*t*, 7.0)	0.88 (*t*, 7.0)	0.88 (*t*, 7.0)	0.88 (*t*, 7.0)
1′	4.38 (*d*, 7.7)	4.42 (*d*, 7.7)	4.37 (*d*, 7.8)	4.47 (*d*, 7.8)	4.50 (*d*, 7.8)	4.33 (*d*, 7.9)	4.35 (*d*, 7.7)	4.31 (*d*, 7.7)
2′	3.48 (*ddd*, 9.1, 7.7, 2.5)	3.59 (*dd*, 9.1, 7.7)	3.49 (*ddd*, 9.5, 7.8, 2.6)	4.72 (*dd*, 9.6, 7.8)	4.71 (*dd*, 9.4, 7.8)	3.35 (*brt*, 8.5),	3.36 (*brt*, 8.4)	3.35 (*brt*, 8.4)
3′	4.92 (*t*, 9.1)	4.92 (*t*, 9.1)	4.90 (*t*, 9.5)	3.59 (*t*, 9.6)	3.59 (*t*, 9.4)	3.57 (*brt*, 8.8)	3.57 (*brt*, 8.8)	3.56 (*brt*, 9.0)
4′	3.57 (*td*, 9.1, 4.8)	3.49 (*td*, 9.1, 4.8)	3.49 (*td*, 9.5, 5.1)	3.50 (*t*, 9.6)	3.53 (*t*, 9.4)	3.48 (*m*)	3.49 (*m*)	3.42 (*brt*, 9.6)
5′	3.52 (*ddd*, 6.5, 4.7, 1.8)	3.53 (*m*)	3.64 (*ddd*, 9.7, 7.8, 1.9)	3.46 (*m*)	3.48 (*ddd*, 6.8, 5.3, 2.0)	3.48 (*m*)	3.49 (*m*)	3.61 (*ddd*, 9.6, 7.8, 2.0)
6′	4.37 (*dd*,12.1, 1.8)	4.45 (*brd*, 11.9)	4.42 (*dd*, 11.9, 1.9)	4.35 (*dd*, 12.1, 1.9)	4.43 (*dd*, 12.0, 2.0)	4.35 (*dd*, 12.0, 1.4)	4.43 (*brd*, 12.0)	4.41 (*dd*, 12.0, 2.0) 4.30
(*dd*,12.1, 4.7)		4.19 (*dd*, 11.9, 5.3)	4.23 (*dd*, 11.9, 7.8)	4.31 (*dd*, 12.1, 4.4)	4.20 (*dd*, 12.0, 5.3)	4.33 (*dd*, 12.0, 5.4)	4.21 (*dd*, 12.0, 4.9)	4.23 (*dd*, 12.0, 7.8)
CH_3CO	2.18 (*s*)	2.18 (*s*)	2.18 (*s*)	2.12 (*s*)	2.13 (*s*)	———	———	———
OH-2′/3′	2.31 (*d*, 2.5)	2.36 (*brs*)	2.30 (*d*, 2.6)	2.90 (*brs*)	2.72 (*brs*)	2.45 (*brs*)	2.62 (*brs*)	2.50 (*brs*)
OH-4’	2.87 (*d*, 4.8)	2.91 (*d*, 4.8)	2.76 (*d*, 5.1)	2.99 (*brs*)	2.77 (*brs*)	2.88 (*brs*)	2.99 (*brs*)	2.77 (*brs*)
							3.14 (*brs*)	2.98 (*brs*)

[a] Multiplicity and coupling constants (*J* in Hz) are in parentheses.
[b] Methylene protons (4H) coupling to the oxymethine proton.
[c] Methylene protons excluding the oxymethine protons

(Continued) Table 1. ^{1}H NMR spectroscopic data (500 MHz, $CDCl_3$) for compounds **1–8** and **9m–14m**.[a]

Position	**CG -9m**	**CG -10m**	**CG -11m**	**CG -12m**	**CG -13m**	**CG -14m**
H_2-2	2.38 (*m*)	2.38 (*t*, 6.4)	2.37 (*m*)	2.38 (*t*, 6.5)	2.37 (*m*)	2.38 (*t*, 6.5)
H_2-3 1.66 (*m*)	1.67 (*m*)	1.67 (*m*)	1.67 (*m*)	1.66 (*m*)	1.67 (*m*)	
	1.73 (*m*)		1.72 (*m*)		1.72 (*m*)	
[b]	1.47 (*m*)	1.58-1.39 (*m*)	1.46 (*m*)	1.58-1.39 (*m*)	1.47 (*m*)	1.58-1.39 (*m*)
9/10/11	3.57 (*m*)	3.57 (*m*)	3.57 (*m*)	3.58 (*m*)	3.57 (*m*)	3.57 (*m*)
4–21[c]	1.41–1.20 (*m*)	1.38–1.20 (*m*)	1.41–1.20 (*m*)	1.38–1.20 (*m*)	1.41–1.20 (*m*)	1.39–1.20 (*m*)
H_3-22	0.88 (*t*, 7.0)	0.88 (*t*, 6.9)	0.88 (*t*, 6.9)	0.88 (*t*, 7.0)	0.88 (*t*, 7.0)	0.88 (*t*, 7.0)
1′	4.52 (*d*, 7.7)	4.55 (*d*, 7.4)	4.53 (*d*, 7.8)	4.56 (*d*, 7.9)	4.49 (*d*, 7.9)	4.52 (*d*, 7.9)
2′	4.97 (*dd*, 9.8, 7.7)	4.98 (*dd*, 9.7, 7.4)	4.92 (*dd*, 9.8, 7.8)	4.93 (*dd*, 9.8, 7.9)	4.81 (*dd*, 9.5, 7.9)	4.82 (*dd*, 9.3, 7.9)
3′	5.02 (*t*, 9.8)	5.01 (*t*, 9.7)	5.09 (*t*, 9.8)	5.09 (*t*, 9.8)	3.65 (*td*, 9.5, 3.1)	3.65 (*td*, 9.3, 3.0)
4′	3.64 (*brt*, 9.8)	3.67 (*td*, 9.7, 5.0)	3.70 (*td*, 9.8, 3.2)	3.71 (*td*, 9.8, 3.4)	3.57 (*t*, 9.5, 2.0)	3.59 (*td*, 9.3, 2.2)
5′	3.51 (*ddd*, 7.3, 4.1, 2.2)	3.52 (*ddd*, 7.2, 5.0, 2.0)	3.57 (*m*)	3.58 (*m*)	3.50 (*ddd*, 9.5, 5.0, 1.8)	3.51 (*ddd*, 9.3, 5.5, 2.0)
6′	4.36 (*dd*, 12.1, 2.2)	4.45 (*dd*, 12.0, 2.0)	4.40 (*dd*, 12.1, 1.7)	4.48 (*dd*, 12.1, 1.7)	4.38 (*dd*, 12.1, 1.8)	4.46 (*dd*, 12.0, 2.0)
	4.32 (*dd*, 12.1, 4.1)	4.21 (*dd*, 12.0, 5.0)	4.28 (*dd*, 12.1, 5.0)	4.19 (*dd*, 12.1, 5.0)	4.29 (*dd*, 12.1, 5.0)	4.19 (*dd*, 12.0, 5.5)
CH_3CO	2.14 (*s*)	2.14 (*s*)	2.05 (*s*)	2.04 (*s*)	———	———
Malonate	3.35 (*s*)	3.36 (*s*)	3.49 (*d*, 16.3)	3.50 (*d*, 16.3)	3.47 (*d*, 16.1)	3.47 (*d*, 16.2)
	3.35 (*s*)	3.36 (*s*)	3.40 (*d*, 16.3)	3.39 (*d*, 16.3)	3.42 (*d*, 16.1)	3.42 (*d*, 16.2)
CO_2Me	3.73 (*s*)	3.73 (*s*)	3.77 (*s*)	3.77 (*s*)	3.78 (*s*)	3.78 (*s*)
OH	2.81 (*d*, 5.0)	2.74 (*d*, 5.0)	3.47 (*d*, 3.2)	3.46 (*d*, 3.0)	2.74 (*d*, 2.0)	2.65 (*d*, 2.2)
					3.41 (*d*, 3.1)	3.44 (*d*, 3.0)

[a] Multiplicity and coupling constants (*J* in Hz) are in parentheses.
[b] Methylene protons (4H) coupling to the oxymethine proton.
[c] Methylene protons excluding the oxymethine proton

表 3-4. ^{13}C NMR spectroscopic data (125 MHz, in $CDCl_3$) for **CG-1–8** and **9m–14m**.[a]

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9m	10m	11m	12m	13m	14m
1	174.35	174.14	173.97	174.56	174.21	174.57	174.27	174.06	174.42	174.13	174.25	174.05	174.37	174.13
9/10/11	80.05	79.12	82.02	80.54	79.95	79.72	78.88	81.70	80.47	79.70	80.76	80.17	80.38	79.77
2–19[b]	34.53	34.37	35.26	34.57	34.40	34.62	34.43	35.34	34.45	34.28	34.51	34.40	34.45	34.33
	34.30	33.99	34.41	34.41	34.13	34.30	33.99	34.44	34.28	34.01	34.41	34.11	34.38	34.10
	34.04	33.91	34.27	34.08	33.86	34.06	33.96	34.30	34.05	33.92	34.08	33.85	34.07	33.88
	29.84	29.85	29.78	29.96	29.91	29.84	29.84	29.78	29.90	29.87	29.95	29.92	29.89	29.84
	29.65	29.67	29.70	29.71	29.72	29.65	29.68	29.69	29.68	29.69	29.68	29.70	29.73	29.73
	29.64	29.65	29.67	29.67	29.67	29.63	29.66	29.67	29.66	29.67	29.66	29.67	29.68	29.69
	29.62	29.65	29.65	29.67	29.67	29.63	29.65	29.65	29.66	29.67	29.66	29.67	29.68	29.69
	29.62	29.63	29.65	29.67	29.67	29.61	29.63	26.65	29.62	29.67	29.62	29.67	29.67	29.68
	29.59	29.61	29.61	29.62	29.64	29.60	29.61	29.62	29.34	29.65	29.34	29.64	29.64	29.65
	29.35	29.36	29.59	29.34	29.34	29.34	29.35	29.60	27.99	29.35	28.05	29.34	29.35	29.35
	27.99	27.12	29.36	29.08	27.12	28.04	27.13	29.36	27.55	27.16	27.54	27.17	28.07	27.12
	27.49	26.98	27.66	27.49	27.02	27.47	26.98	27.70	27.53	27.02	27.52	27.07	27.51	27.03
	27.35	26.48	27.27	27.28	26.70	27.30	26.52	27.31	27.27	26.60	27.34	26.70	27.33	26.65
	26.81	26.38	27.02	26.83	26.23	26.85	26.41	27.07	26.82	26.27	26.82	26.21	26.82	26.25
	25.37	25.32	25.65	25.14	25.05	25.41	25.36	25.67	25.20	25.12	25.10	25.03	25.18	25.14
	24.47	24.43	24.47	24.40	24.36	24.42	24.41	24.46	24.41	24.38	24.46	24.40	24.43	24.39
	24.27	23.86	23.23	24.21	23.80	24.27	23.94	23.31	24.13	23.77	24.23	23.76	24.21	23.78
20	31.92	31.93	31.93	31.91	31.91	31.91	31.92	31.92	31.90	31.91	31.91	31.91	31.91	31.91
21	22.69	22.70	22.70	22.68	22.67	22.68	22.68	22.69	22.68	22.68	22.68	22.68	22.68	22.68
22	14.13	14.13	14.13	14.10	14.10	14.11	14.11	14.11	14.11	14.11	14.10	14.10	14.10	14.10
1′	101.84	101.53	102.61	100.24	100.07	101.64	101.33	102.44	99.90	99.67	100.41	100.31	99.77	99.62
2′	72.20	72.27	72.21	75.75	76.01	73.62	73.31	73.31	72.32	72.34	71.27	71.32	75.77	75.86
3′	77.85	78.06	78.16	74.78	75.01	76.08	76.28	76.30	75.71	76.02	77.84	77.87	75.49	75.66
4′	69.17	69.40	70.11	70.68	70.93	69.81	70.00	70.61	69.03	69.30	68.85	69.08	69.86	70.03
5′	74.03	73.75	73.87	73.24	72.87	74.08	74.15	74.12	73.81	73.53	73.22	72.91	73.43	73.12
6′	63.29	63.07	64.02	63.35	63.08	63.34	63.21	64.15	62.99	62.78	63.23	62.99	63.35	63.12
Ac (CH_3)	21.07	21.07	21.05	20.95	20.94				20.85	20.85	20.77	20.77		
Ac (CO)	172.57	172.66	172.78	171.22	171.38				172.04	172.20	169.59	169.60		
1″									164.92	164.92	166.34	166.36	165.53	165.56
2″									41.08	41.08	41.19	41.18	41.18	41.18
3″									166.42	166.44	168.05	168.17	168.16	168.26
MeO									52.56	52.56	52.96	52.98	52.91	52.92

[a] Signal assignments for **1–4**, **7**, **9m–11m** and **13m** were based on 2D experiments including HSQC and HMBC.

[b] Except for the oxymethine carbon.

化合物 **CG-3** は HRFABMS により **CG-1** および **2** と同じ分子式であると決定した。^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルは **CG-1** と似ており (表 3-3, 3-4)、1,6′-cyclic ester of (3-*O*-acetyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid であることがわかった。**CG-3** の ^{13}C NMR データを **CG-1** のデータと比較すると、**CG-2** の場合と同様、脂肪酸上のオキシメチン炭素 (δ 82.02, 1.97 ppm 低磁場シフト) で最も大きな差が観測された。**CG-3** を上述と同様の方法を用いて、対応する脂肪酸メチルエステル体 **CG-17** (EIMS m/z: 352 $[M-H_2O]^+$) (図 3-10) へと変換した。**CG-17** の TMS 体の EIMS スペクトルにおいて、C-8/C-9 開裂に由来する *m/z* 285 $(TMSOCH(CH_2)_{12}Me)^+$ と C-9/C-10 開裂に由来する *m/z* 259 $[CH_3OOC(CH_2)_7CH(OTMS)]^+$が観測されたことより、オキシメチン炭素の位置は C-9 位であると決定した。C-9 位の絶対配置は上述と同様の方法を用いて *R* と決定し (*vide infra*)、**CG-3** の構造を 1,6′-cyclic ester of 9(R)-(3-*O*-acetyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside C と命名した。

化合物 **CG-1-3** をアセチル化して化合物 **CG-1a-3a** へと誘導し、**CG-4-8** の構造決定に利用した。また、**CG-1a-3a** の 3 つの化合物は HPLC にて分離可能であった。

CG-15-17 のオキシメチン炭素の絶対配置の決定は大類-赤坂法を用いて以下の用に行った。**CG-15** を (1*R*,2*R*)-2-(2,3-anthracenedicarboximide)cyclohexanecarboxylic acid ((*R*)-ACC acid)とのエステル体 **CG-15a** およびその(*S*)-ACC エステル体 **CG-15b** へと変換した (図 3-10). **CG-16** と **17** に関しても同様に(*R*)-ACC-**16a** および(*S*)-ACC-**16b**, 、(*R*)-ACC-**17a** and (*S*)-ACC-**17b** へと変換した (図 3-10)。それぞれの誘導体に関して、絶対配置決定に重要な水素の化学シフトを表 3-5 に記載した。それぞれの組み合わせにおいても 2 位のメチレンの Δδ(*R*)–(*S*)値は負の値を示し、その大きさは **17ab** で最大で **15ab** で最も小さかった(Δ = –0.074, –0.058, –0.030 ppm)。これは、オキシメチン炭素と 2 位との距離が **17ab** で最も近く **15ab** で最も離れていることによると考えられる。11*R*, 10*R* および 9*R* は大類-赤坂法を利用して表 3-5 に示したそれぞれの Δδ(*R*)–(*S*) 値より決定した。絶対配置を確定する為に、10*R* の絶対配置を有する **CG-16a** および

表 3-5. Pertinent ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) spectroscopic data for the esters of methyl 11-, 10- and 9-hydroxydocosanoates **CG-15**, **16** and **17** with (1*R*,2*R*)- and (1*S*,2*S*)-2-(2,3-anthracenedicarboximide)-cyclohexanecarboxylic acids.

Compound	CO_2Me	Δδ(*R*)–(*S*)	H_2-2	Δδ(*R*)–(*S*)	H_3-22	Δδ(*R*)–(*S*)
15	3.667 (*s*)		2.300 (*t*, *J* = 7.5 Hz)		0.887 (*t*, *J* = 7.2 Hz)	
15a	3.666 (*s*)		2.198 (*t*, *J* = 7.5 Hz)		0.867 (*t*, *J* = 7.2 Hz)	
15b	3.661 (*s*)	+0.005	2.229 (*t*, *J* = 7.5 Hz)	–0.031	0.866 (*t*, *J* = 7.2 Hz)	+0.001
16	3.667 (*s*)		2.300 (*t*, *J* = 7.5 Hz)		0.887 (*t*, *J* = 7.2 Hz)	
16a[a]	3.654 (*s*)		2.122 (*t*, *J* = 7.5 Hz)		0.877 (*t*, *J* = 7.2 Hz)	
16b[a]	3.653 (*s*)	+0.001	2.180 (*t*, *J* = 7.5 Hz)	–0.058	0.882 (*t*, *J* = 7.2 Hz)	–0.005
17	3.667 (*s*)		2.300 (*t*, *J* = 7.5 Hz)		0.887 (*t*, *J* = 7.2 Hz)	
17a	3.635 (*s*)		2.073 (*t*, *J* = 7.5 Hz)		0.882 (*t*, *J* = 7.2 Hz)	
17b	3.641 (*s*)	–0.006	2.147 (*t*, *J* = 7.5 Hz)	–0.074	0.887 (*t*, *J* = 7.2 Hz)	–0.005

[a] The ^{1}H NMR data was identical with that of synthetic authentic sample.

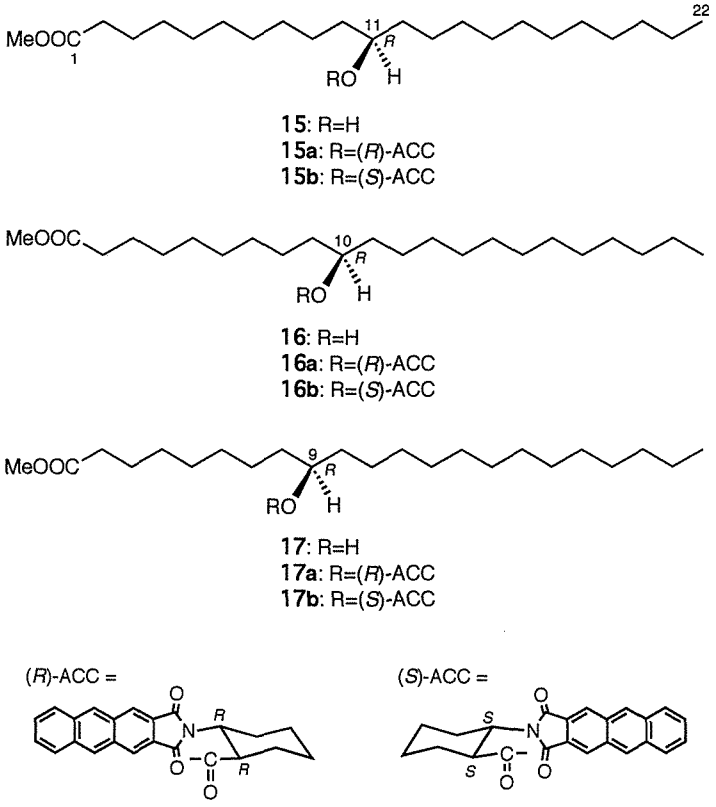


図 3-10. 大環状グリコリピド由来のヒドロキシ脂肪酸のメチルエステル **CG-15-17** およびそれらの誘導体の構造

16b の標品を合成した。合成標品と天然物より誘導した **CG-16a** および **16b** の ^{1}H NMR スペクトルは完全に一致し、また、Δδ(*R*)–(*S*)も一致したことより **CG-16** の 10 位の立体化学が *R* であることを確証した。**CG-15** および **CG-17** の誘導体のΔδ(*R*)–(*S*)の値も

予想される値であり、共に不斉中心は *R* であることが示された。但し、結合数が 12 を超える場合は、Δδ(*R*)–(*S*)の値は小数点以下 3 桁の値となり、むしろ予想とは逆の符号を示す傾向があることがわかった。従って、大類法の経験的な適用は結合数 10 程度までと考えられる。

化合物 **CG-4** は HRFABMS により分子式を $C_{30}H_{54}O_8$ と決定した。その ^{1}H NMR スペクトルは **CG-1** のものと似ており (表 3-3)、グルコースと脂肪酸からなる環状化合物であることが推測された。H-H COSY スペクトル解析により、低磁場シフトしたオキシメチン水素 δ 4.72 が H-2′に、また、オキシメチン水素 δ 3.59 が H-3′に帰属されたことより、グルコースの 2 位がアシル化されていることがわかった。また、H-2 からアセチルカルボニル (*δ* 171.22) に HMBC 相関が観測されたことより、2′位がアセチルかされていると確定した。**CG-4** の過アセチル化体は **CG-1a** とスペクトル (^{1}H および ^{13}C NMR と HPLC における保持時間) が完全に一致した。従って **CG-4** の構造を 1,6′-cyclic ester of 11(*R*)-(2-*O*-acetyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside D と命名した。

化合物 **CG-5** は **CG-1** と同じ分子式であった。^{1}H NMR スペクトルおよび H-H COSY 解析により、グルコース部分のアシル化様式が **CG-4** と同じであることがわかった (H′-2 *δ*4.71, H′-3 *δ*3.58) (表 3-3)。**CG-5** の ^{13}C NMR スペクトルは **CG-4** のスペクトルとわずかに異なる程度で、グルコース部分、hydroxyoctadecanoic acid 部分およびアセチル基の存在を支持した (表 3-4)。**CG-5** をアセチル化した化合物は **CG-2a** と完全に一致した。以上より、**CG-5** の構造を 1,6′-cyclic ester of 10(*R*)-(2-*O*-acetyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside F と命名した。

化合物 **CG-6** は HRFABMS において、*m/z* 501.3804 $[M+H]^+$に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を $C_{28}H_{52}O_7$ と決定した。^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルより、アセチル基が存在せず、6′位のみアシル化されていることがわかった (表 3-3, 3-4)。また、脂肪酸鎖上のオキシメチン水素および炭素の存在が明らかになった (δ_H

3.57 and δ_C 79.72)。**CG-6** の過アセチル化体は **CG-1a** と完全に一致した。以上より、**CG-6** の構造を 1,6′-cyclic ester of 11(*R*)-(*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside F と決定した。

化合物 **CG-7** は HRFABMS により **CG-6** と同じ分子式であることがわかった。その ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルは **CG-6** のスペクトルと似ていた。また、 Ha-6′および Hb-6′(*δ* 4.43 and 4.21)よりグルコース部分の 6′位がアシル化されていることがわかった (表 3-3, 3-4)。**CG-7** の過アセチル化体は **G-2a** と一致した。従って **CG-7** の構造を 1,6′-cyclic ester of 10(*R*)-(*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside G と命名した。

化合物 **CG-8** は HRFABMS により **CG-6** と同じ分子式と決定した。その ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトル (表 3-3, 3-4) は **CG-6** のスペクトルと似ており、6′-*O*-acyl*β*-glucopyranosyl 構造の存在が明らかになった。**CG-8** の過アセチル化体は **CG-3a** と一致した。以上より **CG-8** の構造をと決定し 1,6′-cyclic ester of 9(*R*)-(*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し glomeraside H と命名した。

CG-9m は HRFABMS において *m/z* 643.4080 $[M+H]^+$ に擬分子イオンピークが観測されたことより、その分子式を $C_{34}H_{58}O_{11}$ と決定した。^{1}H NMR スペクトルにおいて 2,3,6-tri-*O*-acyl-*β*-glucopyranosyl 部分に帰属される 7H 分のシグナル[*δ* 4.52 (*d*, *J* = 7.7 Hz, H-1′), 4.97 (*dd*, *J* = 9.8, 7.7 Hz, H-2′), 5.02 (*t*, *J* = 9.8 Hz, H-3′), 3.64 (*brt*, *J* = 9.8 Hz, H-4′), 3.51 (*ddd*, *J* =7.3, 4.1, 2.2, H-5′), 4.36 (*dd*, *J* = 12.1, 2.2 Hz, H_a-6′) and 4.32 (*dd*, *J* = 12.1, 4.1 Hz, H_b-6′)]が観測された。さらに 脂肪酸部のオキシメチン水素 (*δ* 3.57) アセチルメチルシグナル (*δ* 2.14)。これらに加えて、マロン酸メチルエステルに帰属される*δ* 3.35 (*s*, 2H) および*δ* 3.73 (*s*, 3H) が観測された (表 3-3). ^{13}C NMR スペクトルにおいて 34 本のシグナルが観測され、そのうち*δ* 166.42, 164.92, 52.56, 41.08 の 4 つのシグナルはマロン酸メチルエステルに帰属された (表 3-4)。グルコース部分の 3 つのエステル結合位置は H-2′、H-3′および H_2-6′の化学シフトが低磁場シフトしていたことよ

り決定した。また、図 3-7 に示した HMBC 相関により 2′-*O*-malonyl methyl ester, 3′-*O*-acetyl および 6′-*O*-fatty acyl 構造が明らかになった。また、アノマー位と脂肪酸鎖上のオキシメチン炭素との間のグリコシド結合も HMBC 相関により明らかになった (図 3-9)。**CG-1** で記載した方法を用いて **CG-9m** の脂肪酸分析を行い、**CG-9m** より誘導した脂肪酸メチルエステル体が 11(*R*)-hydroxydocosanoate (**CG-15**) であると決定した。従って **CG-9** の構造を 1,6′-cyclic ester of 11(*R*)-(3-*O*-acetyl-2-*O*-malonyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside I と命名した。

CG-10m は **CG-9m** と同じ分子式を有していた。その ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルより、**CG-9** と同じ 2′, 3′および 6′位がアシル化された *β*-glucopyranosyl 構造が存在することが示唆された [4.98 (*dd*, *J* = 9.7, 7.4 Hz, H-2′), 5.01 (*t*, *J* = 9.7 Hz, H-3′), 4.45 (*dd*, *J* = 12.0, 2.0 Hz H_a-6′) and 4.21 (*dd*, *J* = 12.0, 5.0 Hz, H_b-6′)] (表 3-3, 3-4)。**CG-10m** より得た脂肪酸メチルエステルは methyl 10(*R*)-hydroxydocosanoate (**CG-16**)であると同定した。以上より、**CG-10** の構造を 1,6′-cyclic ester of 10(*R*)-(3-*O*-acetyl-2-*O*-malonyl *β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside J と命名した。 **CG-9m** および **10m** をそれぞれアセチル化した化合物 **CG-9a** および **CG-10a** は、それぞれ **CG-13** および **14** の構造決定にも用いた (*vide infra*)。

CG-11m は HRFABMS により **CG-9m** と同じ分子式であると決定した。その ^{1}H NMR スペクトルは **CG-9m** のスペクトルと似ており、2′,3′,6′-tri-*O*-acylglycopyranoside 構造を有していることが示唆された [*δ* 4.92 (H-2′), 5.09 (H-3′), 4.40/4.4.28 (Ha-6′/Hb-6′))。**CG-11m** の ^{13}C NMR スペクトルは **CG-9m** のものと似ていたが、エステルカルボニル炭素の化学シフトに多少の違いが見られた。この違いは、**CG-9m** と **CG-10m** を比較して生じる差とは異なっていた (表 3-4)。 HMBC スペクトルにより 2′位がアセチル化、3′位がマロニル化されていることがわかった。このエステル様式は **CG-9m** と **CG-10m** の 2′位と 3′位の関係が逆転していた。 **CG-11m** より得た脂肪酸メチルエステルは 11(*R*)-hydroxydocosanoate (**CG-15**) と同定した。従って **CG-11m** の構造を

1,6′-cyclic ester of 11(*R*)-(2-*O*-acetyl-3-*O*-malonyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside K と命名した。

CG-12m は **CG-11m** と同じ分子式であった。その ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルは **CG-11m** と似ており、またグルコース部分の置換様式が同じであることが示された。**CG-11m** より得た脂肪酸メチルエステルは 10(*R*)-hydroxydocosanoate (**CG-16**) と同定した。従って、**CG-12** の構造を 1,6′-cyclic ester of 10(*R*)-(2-*O*-acetyl-3-*O*-malonyl -*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside L と命名した。

CG-13m は HRFABMS において *m/z* 601.3933 $[M+H]^{+}$ に擬分子イオンピークを与え、分子式を $C_{32}H_{56}O_{10}$.と決定した。^{1}H NMR において、2,6-di-*O*-acyl-*β*-glucopyranosyl 部分に帰属される 7H 分のシグナル[*δ* 4.81 (H-2′), *δ* 4.38/4.29 (H_2-6′)]が観測された。さらに、マロン酸メチルエステルに帰属されるシグナル [*δ* 3.78 (*s*, 3H), 3.42 (*d*, *J* = 16.1 Hz)/3.47 (*d*, *J* = 16.1 Hz)]、脂肪酸鎖上のオキシメチン水素 (*δ* 3.57) (表 3-3)が観測された。H-2′からマロン酸エステルのカルボニル炭素 (*δ* 165.53) へ HMBC 相関が確認されたことより、2′-*O*-malonyl 構造が明らかになった。**CG-13m** の過アセチル化体は **CG-9a** と NMR スペクトルが一致した。以上より **CG-13** の構造を 1,6′-cyclic ester of 11(*R*)-(2-*O*-malonyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside M と命名した。

CG-14m は HRFABMS により **CG-13m** と同じ分子式であると決定した。その ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルは **CG-13m** のものと比較することで、2′-*O*-6′-*O*-fatty acyl-*β*-glucopyranosyl 構造が示された [H-2′ (*δ* 4.81), H_2-6′ (*δ* 4.46, 4.19)]。**CG-14m** の過アセチル化体は **CG-10a** と一致した。従って、**CG-14m** の構造を 1,6′-cyclic ester of 10(*R*)-(2-*O*-malonyl-*β*-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid と決定し、glomeraside N と命名した。

3-3. ナデシコ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ

シロバナマンテマおよびオランダミミナグサの腺毛分泌物には共通してグルコースとヒドロキシ脂肪酸からなる新規 cyclic fatty acyl glycoside (**SG-1-10, CG1-14**) で構成されていた。それぞれの植物における各々の化合物の相対的な割合は表 3-6 および 3-7 にまとめて示した。両植物ともグルコースの水酸基は部分的にアセチル基およびマロニル基でエステル化されていた。シロバナマンテマではマロニルエステルを有する **SG-10** (30.7 %)が主成分であったが、オランダミミナグサではマロニルエステルを有していない **CG-4** (24.8 %) の割合が最も大きかった。それぞれの脂肪酸部分の構造は、シロバナマンテマでは 12(*R*)-hydroxyoctadecanoate および 13(*R*)-hydroxy-octadecanoate からなり、一方オランダミミナグサでは 9(*R*)-hydroxydocosadecanoate, 10(*R*)-hydroxydocosadecanoate, 11(*R*)-hydroxydocosadecanoate で構成されており、両植物間で炭素鎖の長さおよびオキシメチン炭素の位置の違いが見られた。それぞれのオキシメチン炭素の立体化学はいずれの脂肪酸においても *R* であった。両植物の腺毛分泌物に含まれる化合物はいずれもグルコース部分とヒドロキシ脂肪酸とのエステル結合およびグリコシド結合を介したユニークな大環状構造を有しており、ヒドロキシ脂肪酸のオキシメチン炭素の位置の違いおよび脂肪酸とグルコースとのエステル結合位置の違いにより様々な大環状構造が形成されていた。シロバナマンテマでは 16 員環 (**SG-2,-4,-5,-7,-8,-10**)と 17 員環 (**SG-1,-3,-6,-9**) 1,2′-cyclic ester 構造が見られ、一方オランダミミナグサでは 15 員環 (**CG-3, 8**), 16 員環(**CG-2, 5, 7, 10, 14**) および 17 員環(**CG-1, 4, 6, 9, 11, 13**) の 1,6′-cyclic ester 構造が見られた。

同じナデシコ科の *Silene* 属 (シロバナマンテマ) と *Cerastium* 属 (オランダミミナグサ) での腺毛分泌物成分の化学構造には、上述のような相違が見られたものの、いずれもグルコース 1 分子とヒドロキシ脂肪酸 1 分子からなる大環状 cyclic ester 構造を有していた。このような構造は植物成分として稀であり、類似の構造としては、1,2′-cyclic ester of 5-(*β*-D-xylopyranosyloxy)fatty acid がナデシコ科ハコベ属植物フタマ

タハコベ *Stellaria dichotoma* から報告されているのみである（Ganenko et al., 2001）。本植物にも萼および茎に多数の腺毛が存在することが知られているので、この化合物も腺毛分泌物由来である可能性が高いと考えられる。このような大環状 cyclic-ester はナデシコ科腺毛分泌物の特徴であると考えられ、ケモタキソノミーの観点からも興味が持たれる結果であった。他のナデシコ科植物の腺毛分泌物を調査すれば、数多くの糖の種類や脂肪酸の構造の違う大環状構造を有する類似化合物が見いだされることが期待される。

表 3-6. The relative abundance of gallicasides **SG1–10** in the glandular trichome exudate.

Compound	Relative abundance (%) [a]
gallicaside A (**SG-1**)	4.5
gallicaside B (**SG-2**)	9.8
gallicaside C (**SG-3**)	3.7
gallicaside D (**SG-4**)	11.7
gallicaside E (**SG-5**)	8.1
gallicaside F (**SG-6**)	1.5
gallicaside G (**SG-7**)	11.6
gallicaside H (**SG-8**)	4.4
gallicaside I (**SG-9**)	7.7
gallicaside J (**SG-10**)	30.7

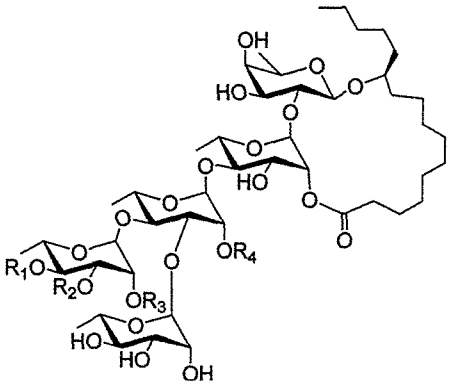
[a] The remainder (6.3%) of the exudate could be due to minor related compounds and/or volatile substances.

表 3-7. The relative abundance of glomerasides **CG-1–14** in the glandular trichome exudate.

Compound	Relative abundance (%) [a]
glomeraside A (**CG-1**)	3.7
glomeraside B (**CG-2**)	5.9
glomeraside C (**CG-3**)	3.7
glomeraside D (**CG-4**)	24.8
glomeraside E (**CG-5**)	5.4
glomeraside F (**CG-6**)	9.6
glomeraside G (**CG-7**)	16.1
glomeraside H (**CG-8**)	11.7
glomeraside I (**CG-9**)	3.7
glomeraside J (**CG-10**)	1.0
glomeraside K (**CG-11**)	8.9
glomeraside L (**CG-12**)	1.3
glomeraside M (**CG-13**)	3.1
glomeraside N (**CG-14**)	1.1

[a] The remainder (ca. 10% of the whole extract) of the exudate constituents was exclusively a mixture of wax (hydrocarbons), which was not included in % calculation.

より複雑なオリゴ糖の環状エステルとしては、ヒルガオ科に特徴的な、より複雑な「Resin glycosides」と総称される化合物群が知られており、ナデシコ科の腺毛分泌物の脂肪酸を含む環状化合物はその最も単純な形とも見なすことができる。



R_1	R_2	R_3	R_4
2*S*-methylbutanoyl	cinnamoyl	H	*n*-decanoyl
2*S*-methylbutanoyl	H	cinnamoyl	*n*-decanoyl
2-methylpropanoyl	cinnamoyl	H	*n*-decanoyl
2-methylpropanoyl	H	cinnamoyl	*n*-decanoyl
2-methylpropanoyl	cinnamoyl	H	*n*-dodecanoyl
2-methylpropanoyl	H	cinnamoyl	*n*-dodecanoyl
2*S*-methylbutanoyl	cinnamoyl	H	*n*-dodecanoyl
2*S*-methylbutanoyl	H	cinnamoyl	*n*-dodecanoyl

図 5-7. ヒルガオ科（*Ipomoea pes-caprae*）の Resin glycoside の例（Tao et al., 2008）

第 4 章　バラ目植物の腺毛分泌物の成分研究

バラ目は系統的にはシソ目とナデシコ目の中間に位置しており、第 6 章で述べるブナ目と近い。バラ目植物の腺毛分泌物の研究は、バラ科のハマナスで行われているのみであった。本章では、バラ科のソメイヨシノに腺毛類似分泌組織を、カジイチゴに腺毛をそれぞれ見いだしたので、それらの化学成分について論じる。

4-1. バラ科ソメイヨシノの腺毛分泌物

バラ科 (Rosaceae) の植物で、ソメイヨシノ (*Cerasus yedoensis*; *Prunus yedoensis*) は日本で最もポピュラーな植物の一つである。ソメイヨシノはエドヒガン系のコマツオトメ (*P. spachiana f. ascendens*) とオオシマザクラ (*P. speciosa*) との交配種であるとされている (Innan et al., 1995; Roh et al., 2007)。ソメイヨシノの過去の成分研究では、sakuranetin 5-glucoside を含むフラボノイド配糖体の報告がある (Hasegawa and Shirato, 1952)。最近我々は、サクラより、葉の付け根の大きな分泌組織、托葉の先端の分泌組織、鋸歯の先端の分泌組織 3 種類の微細構造を見いだした (図 4-1)。葉の付け根の大きな組織の分泌物をアリが舐めにくる様子が観察され、実際舐めてみると甘いことから、糖を分泌してアリを誘引する花外蜜腺の一種であることが示唆された。これは第 2 章で記述した、キリの成木の葉に見られる皿上器官と相同器官であり、サクラもキリと同様にアリを誘引して自己を防衛するアリ植物である可能性が示された。

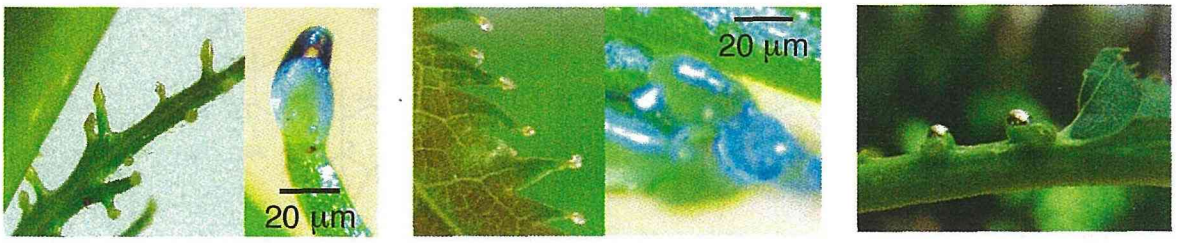


図 4-1. ソメイヨシノ托葉先端(左)、鋸歯先端 (中央)および葉付け根の分泌組織 (右)

托葉の先端および鋸歯の先端の分泌組織は腺毛の先端の分泌組織に形状が似ており、粘性のある油状物質を分泌していたので、成分研究を行うことにした。これらの分泌組織は 4 月から 5 月にかけて分泌しており、托葉は落ち、葉が成長すると鋸歯の先端の分泌組織も機能しなくなる。まず、托葉と鋸歯それぞれ分泌組織を Et_2O に数秒間浸し TLC サンプルを調製した。両組織から得た分泌物は TLC で同じスポットパターンを示した。分泌物を大量に抽出する時は簡便さを考慮して、托葉全体を Et_2O に数秒間浸す方法を用いた。7.2 g (800 枚) の托葉を Et_2O 100 mL を用いて抽出し、230 mg の腺毛分泌物の抽出物を得た。こうして得た抽出物の TLC パターンも先に調製したサンプルと TLC 上にて同じスポットパターンを示した。この抽出物を以下のスキームに従って分離操作を行い **CY-1-3** の 3 つの化合物を単離した。

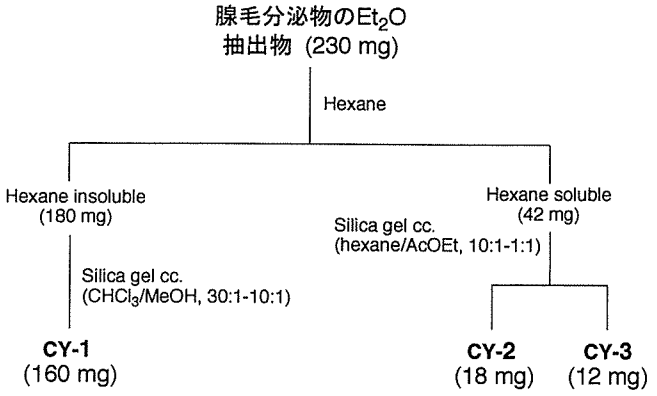


図 4-2. ソメイヨシノの腺毛分泌物の精製スキーム

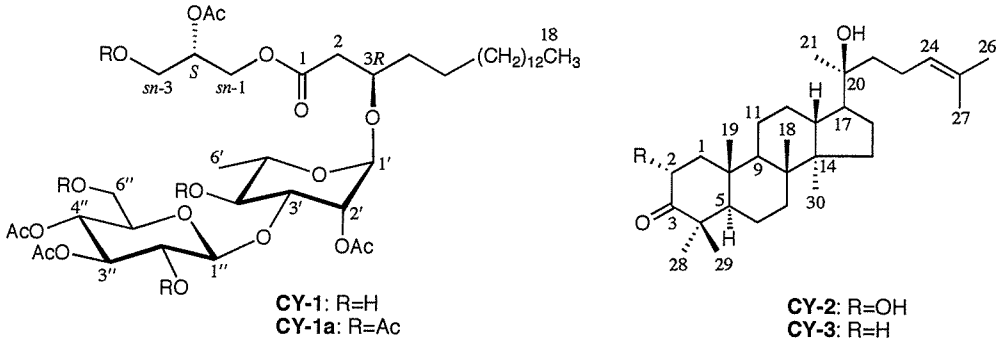
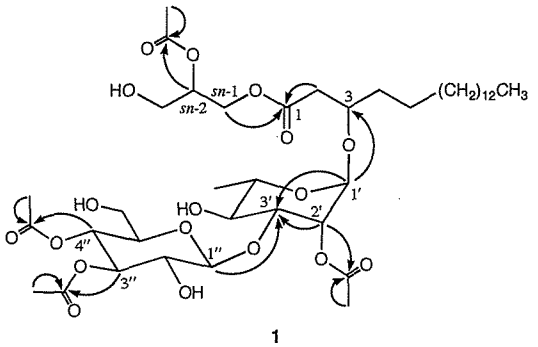


図 4-3. ソメイヨシノの腺毛分泌物中の二次代謝産物の化学構造

化合物 **CY-1** は無色油状物質として得られ、(–)HRFABMS において、*m/z* 849.4509 $[M–H]^-$に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を $C_{41}H_{70}O_{18}$ と決定した。^1H NMR スペクトルにおいて、1,2-diacylglycerol 構造に帰属される、互いにカップリングしている 5H 分のシグナル δ 4.38 (*dd*, *J* =12.2, 3.5 Hz, Ha-*sn*-1), 3.99 (*dd*, *J* = 12.2, 7.8 Hz, Hb-*sn*-1), 5.05 (*m*, H-*sn*-2), 3.73 (*m*, H_2-*sn*-3) が観測された。また、ABX パターンの 3H 分のシグナル δ 2.50 (*dd*, *J* = 14.4, 4.7 Hz, Ha-2), 2.47 (*dd*, *J* = 14.4, 7.4 Hz, Hb-2), 4.13 (*m*, H-3)、長鎖メチレン鎖に由来するシグナル δ 1.25、末端メチルシグナル δ 0.88 (*t*, *J* = 6.8 Hz) が観測されたことより、3-hydroxyfatty acyl 構造を有していることがわかった。さらに、2H 分のアノメリック水素 δ 4.74 (*brs*), 4.53 (*d*, *J* = 7.8 Hz) およびダブレットメチルシグナル δ 1.31 (*d*, *J* = 5.2 Hz) を含む、ヘキソースおよびデオキシヘキソースからなる二糖構造に帰属される 15 のシグナルが観測された。この他に、4 つのアセチルメチルシグナル δ 2.14, 2.13, 2.12, 2.04 が観測された (表 4-1)。^{13}C NMR スペクトルにおいて、上述の部分構造に対応する、5 つのエステルカルボニル炭素、2 つのアノマー炭素、12 のオキシメチン炭素、3 つのオキシメチレン炭素が他のシグナルとともに観測された (表 4-1)。



1

図 4-4. 化合物 **CY-1** の主な HMBC 相関

H-H COSY スペクトルにおける相関とスピン結合定数より、H-1''から H_2-6''までを β 型の 3,4-di-*O*-acetylglucopyranosyl 構造に帰属し、H-1'から H_3-6'までを α 型 2-*O*-acetylrhamnopyranosyl 構造に帰属した (表 4-1)。単糖部のオキシメチンプロトン

の化学シフトから C-2′,3″,4′がアセチル化されていることが考えられ、このことは HMBC スペクトルにより確定した。グルコースのアノメリック水素のスピン結合定数が 7.8 Hz と大きな値を示したことからβ型で結合していると決定した。一方、ラムノースがα型をとっていることはスピン結合定数が小さいということからだけでは決定することができないが、H-3′と H-5′の間に NOE 相関が観測され、H-1′と H-3′および H-5′との間に NOE 相関が観測されなかったことからα型をとっていると決定した。それぞれの部分構造の結合様式は、図 4-4 に示した HMBC 相関により、グリセロールの *sn*-2 の位置がアセチル化、*sn*-1 の位置が脂肪酸エステル化、脂肪酸の 3 位の水酸基がラムノシル化、ラムノースの 3 位がグルコシル化されていることがそれぞれ示された (図 4-3)。

グリセロール部分の *sn*-2 の立体化学は、第 2 章で用いた方法と同様の方法により *S* と決定した。脂肪酸部分の構造に関して、上述と同様の方法を用いて対応する 3-ヒドロキシ脂肪酸メチルエステル体へと誘導し、その TMS エーテル誘導体の GLC および GC-MS 分析を行うことで炭素鎖長を、新 Mosher 法により 3 位の立体化学をそれぞれ決定し、**CY-1** より誘導したメチルエステル体が methyl 3(*R*)-hydroxyoctadecanoate であることを明らかにした。最後に **CY-1** を過アセチル体 **CY-1a** へと誘導しその構造を ^{1}H NMR および(−)HRFABMS (*m/z* 1017 $[M-H]^-$) により決定し、糖部分の結合様式を確定した。以上より **CY-1** の構造を 2-acetyl-1-{3-[3,4-di-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-2-*O*- acetyl-α-L-rhamnopyranosyloxy]octadecanoyl}-*sn*-glycerol と決定した。

CY-1 に加えてダンマラン型トリテルペン **CY-2** および **CY-3** が得られた。**CY-3** は報告されているスペクトルデータと比較することによって、(20*S*)-20-hydroxydammar-24-en-3-one (hydroxydammarenone II) と同定した (Asakawa et al., 1977; Atopkina et al., 1988; Yamashita et al., 1998)。

表 4-1. ^{1}H (500 MHz) and ^{13}C NMR (125 MHz) spectroscopic data for **CY-1** and **CY-1a**.[a, b]

Position	**CY-1**		**CY-1a**
	δ_H	δ_C	δ_H
sn-1	4.38 (*dd*, 12.2, 3.5)	63.2	4.32 (*dd*, 12.1, 4.2)
	3.99 (*dd*, 12.2, 7.8)		4.15 (*dd*, 12.1, 6.4)
sn-2	5.05 (*m*)	72.7	5.27 (*m*)
sn-3	3.73 (*m*)	60.4	4.31 (*dd*, 12.1, 4.2)
	3.73 (*m*)		4.15 (*dd*, 12.1, 6.4)
1	——	171.9	——
2	2.50 (*dd*, 14.4, 4.7)	39.4	2.56(*dd*, 15.4, 7.4)
	2.47 (*dd*, 14.4, 7.4)		2.52 (*dd*, 15.4, 4.9)
3	4.13 (*m*)	74.0	4.05 (*m*)
4	1.61 (*m*)	31.6	1.61 (*m*)
5	1.46 (*m*)	24.6	1.47 (*m*)
6-15	1.25 (*m*)	29.7-29.3	1.25 (*m*)
16	1.25 (*m*)	31.9	1.25 (*m*)
17	1.25 (*m*)	22.6	1.25 (*m*)
18	0.88 (*t*, 7.2)	14.1	0.88 (*t*, 6.9)
1′	4.74 (*brs*)	93.8	4.83 (*d*, 1.2)
2′	5.24 (*brd*, 3.2)	71.5	5.06 (*dd*, 3.6, 1.2)
3′	3.68 (*dd*, 9.1, 3.1)	80.6	4.00 (*dd*, 9.9, 3.6)
4′	3.63 (*t*, 9.1)	71.2	5.03 (*t*, 9.9)
5′	3.61 (*m*)	68.1	3.76 (*m*)
6′	1.31 (*d*, 5.2)	17.4	1.15 (*d*, 6.3)
1″	4.53 (*d*, 7.8)	103.5	4.65 (*d*, 8.0)
2″	3.46 (*dd*, 9.6, 7.8)	72.5	4.94 (*dd*, 9.6, 8.0)
3″	5.08 (*t*, 9.6)	74.0	5.15 (*t*, 9.6)
4″	4.80 (*t*, 9.6)	68.6	5.06 (*t*, 9.6)
5″	3.61 (*m*)	74.9	3.71 (*m*)
6″	3.59 (*dd*, 12.1, 2.6)	61.8	4.23 (*dd*, 12.3, 4.6)
	3.46 (*dd*, 12.1, 6.2)		4.11 (*dd*, 12.3, 2.4)
Ac	2.14 (*s*)	20.7	2.11 (*s*)
		170.9	2.10 (*s*)
	2.13 (*s*)	21.2	2.10 (*s*)
		171.8	2.09 (*s*)
	2.12 (*s*)	21.1	2.09 (*s*)
		170.6	2.03 (*s*)
	2.04 (*s*)	20.6	2.01 (*s*)
		170.0	1.99 (*s*)

[a] Multiplicity and coupling constants (*J* in Hz) are in parentheses.
[b] Recorded in $CDCl_3$.

化合物 **CY-2** は HRFABMS において、*m/z* 458.3639 $[M]^+$に分子イオンピークが観測され、その分子式を $C_{30}H_{50}O_3$ と決定した。化合物 **CY-2** の ^{1}H NMR スペクトルは **CY-3** のものと比較して、1H 分のオキシメチン水素 δ 4.55 (*ddd*, *J* = 12.4, 7.0, 3.2 Hz) が観測されたことを除いては非常に良く似ていた。特に A 環以外は良い一致を示した。これら ^{1}H NMR スペクトルデータの比較および分子式より **CY-2** が **CY-3** の A 環部にお

けるモノ水酸化体であることがわかった。このことは ^{13}C NMR スペクトルによっても支持された。H-H COSY スペクトルにおいて、オキシメチン水素 δ 4.55 と Ha-1 δ 1.14 (*dd*, J = 12.6, 12.4 Hz) (HMBC および HSQC スペクトルにより帰属した) の間に相関が観測されたことより、この水酸基の位置が 2 位であると決定した。カルボニルの α 位のオキシメチンであるため化学シフトが δ 4.55 と低磁場シフトしていたことも理解できた。C-2 の水酸基の立体化学は Ha-1 とのスピン結合定数が 12.4 Hz と大きい値を有していることからαと決定した。以上より **CY-2** の構造を(2α,20*S*)-2,20-dihydroxydammar-24-en-3-one と決定した。

表 4-2. ^{13}C NMR (125 MHz, in $CDCl_3$) spectroscopic data for **CY-2** and **CY-3**.[a]

Position	**CY-2**	**CY-3**
1	50.2	39.9
2	69.4	34.1
3	216.6	218.2
4	47.8	47.4
5	58.3	55.3
6	19.1	19.6
7	34.9	34.5
8	40.5	40.2
9	50.3	50.0
10	37.9	36.8
11	21.8	22.0
12	27.3	27.5
13	42.2	42.3
14	50.3	50.2
15	31.1	31.1
16	24.8	24.8
17	49.8	49.8
18	15.7	15.2
19	16.7	16.0
20	75.3	75.4
21	25.4	25.4
22	40.5	40.4
23	22.5	22.5
24	124.6	124.6
25	131.7	131.7
26	25.7	25.7
27	17.7	17.7
28	24.6	26.7
29	21.3	21.0
30	16.4	16.3

[a] Assignments were based on COSY, HSQC and HMBC experiments.

4-2. バラ科カジイチゴの腺毛分泌物

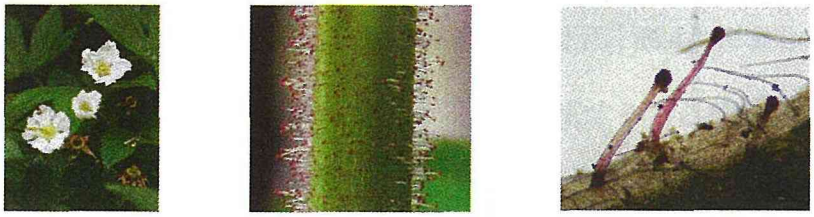
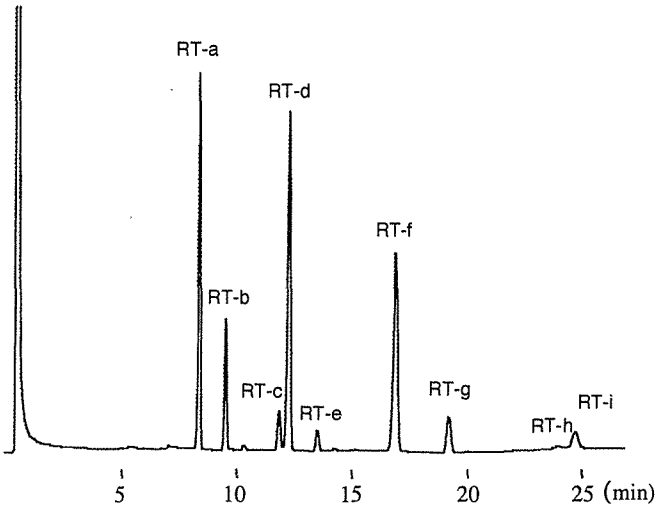


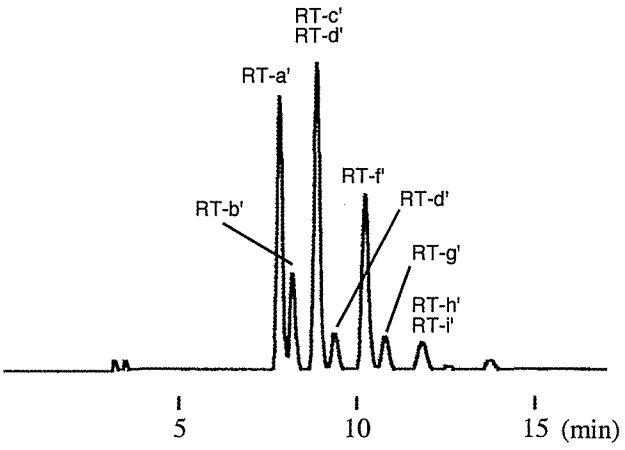
図 4-5. カジイチゴの花および腺毛の写真

ソメイヨシノと同じバラ科に属するカジイチゴ (*Rubus trifidus*) の茎および葉の表面にも腺毛を見いだした。カジイチゴの腺毛分泌物をキムワイプにて少量集め、TLC 分析を行った結果、TLC にて 1 つのメジャースポットを与えた。この分画は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離し、NMR データから 3-アセトキシ脂肪酸であることがわかった。しかしながら、^{1}H および ^{13}C NMR において直鎖構造に帰属されるシグナルはほとんど検出されず、主に iso 型に帰属されるシグナル [δ_H 0.862 (d, J=6.5 Hz), δ_C 22.6, 27.4, 28.0, 39.1] が認められた。合わせて、anteiso 型に帰属されるシグナル [δ 0.855 (t, J=6.5 Hz), 0.838 (d, J=6.5 Hz), δ_C 11.4, 19.2, 34.4, 30.0]も見られた。このアセトキシ脂肪酸をアルカリ加水分解、メチルエステル化、TMS 化により 3-ヒドロキシ脂肪酸メチルエステルの TMS 体に導き、GLC および GC-MS により分析した（図 4-6)。結果をキバナツノゴマの Fr. 4i のものと比較して、RT-a～RT-i は順に IP-6c～IP-6k に相当していることがわかった。なお、ピーク RT-d および RT-i については、溶出順序から anteiso 型と推察されるが、メチル基の分岐の位置を確証するために、RT-d を例にとり、HPLC によりピーク RT-c'と RT-d'の混合物として分離し（図 4-7)、その ^{1}H NMR スペクトルデータより主成分は anteiso 型 [δ 0.838 (d, J=7.0 Hz), 0.853 (t, J=7.0 Hz)] であることを確認した。また、3 位の立体化学は 3-hydroxyfatty acid のメチルエステル体に対して新 Mosher 法を適用することにより、*R* と決定した。



Injection temp. 270°C, column temp. 208°C, detector temp. 198°C

図 4-6. カジイチゴの 3-acetyloxy-fatty acid の GLC クロマトグラム
（メチルエステル/TMS エーテル体として分析）



Shimadzu Shim-pack CLC-ODS, CH_3CN-THF 5:1, 1.0 ml/min, UV 254 nm

図 4-7. カジイチゴの 3-acetyloxy-fatty acid の HPLC クロマトグラム
（*p*-bromophenacyl ester 誘導体として分析）

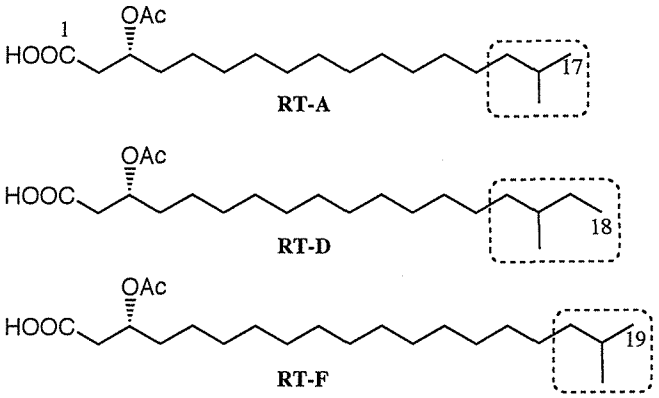


図 4-8. カジイチゴの腺毛分泌物の主な 3-acetyloxy-fatty acid 成分
（点線囲みは、生合成におけるスターター部分）

以上より、カジイチゴの腺毛分泌物は、3-acetyloxy-16-methylheptadecanoic acid (**RT-A**, 23%)、3-acetyloxy-16-methyloctadecanoic acid (**RT-D**, 30%)、3-acetyloxy-17-methylnonadecanoic acid (**RT-F**, 24%)を主成分（図 4-8）とし、表 4-1 にまとめた **RT-A–I** の 9 種の 3(*R*)-acetyloxyfatty acid を記載した組成で含有することが明らかとなった。このように興味あるスターターの利用形式が見られたので、同試料の非極性部分に得られた表皮 wax 成分（炭化水素画分）について GC-MS により調べたところ、主に 3 つの炭化水素 *n*-$C_{29}H_{60}$ (27%)、*n*-$C_{31}H_{64}$ (40%)、*n*-$C_{33}H_{68}$ (30%)から成り、通常の場合と変化は見られなかった（これらは脂肪酸の脱炭酸により生じるとされている）。従って、カジイチゴ腺毛には、独自の選択性を持つ生合成系の存在があると考えられる。

表 4-1. Relative composition of 3-acetyloxyfatty acids [a]

Compound	*Rt* in GLC [a] (min)	Relative composition (%) [b]
RT-A=IP-6c (C_{18}-iso)	8.49	**23.4**
RT-B=IP-6d (C_{18}-normal)	9.63	9.0
RT-C=IP-6e (C_{19}-iso)	11.96	3.2
RT-D=IP-6f (C_{19}-anteiso)	12.39	**29.9**
RT-E=IP-6g (C_{19}-normal)	13.60	2.0
RT-F=IP-6h (C_{20}-iso)	16.98	**24.4**
RT-G=IP-6i (C_{20}-normal)	19.29	5.1
RT-H=IP-6j (C_{21}-iso)	24.02	0.3
RT-I=IP-6k (C_{21}-anteiso)	24.83	2.7

[a] Analyzed by GLC as trimethylsylilated methyl esters.
[b] Quantification was performed using a GLC-flame ionization detector (FID).

4-3. バラ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ

ソメイヨシノの托葉先端分泌組織由来の油状物質は、(glycosyloxy-fatty acyl)-glycerol **CY-1** とダンマラン型トリテルペン **CY-2** および **CY-3** で構成されていた。**CY-1** はグルコースのアノマー位とラムノースの 3 位間でグリコシド結合した二糖構造を有しており、また、3-ヒドロキシ脂肪酸の炭素鎖の長さは 18 であった。グリセロール部分はアシル基の置換位置が *sn*-1 であった。トリテルペンに関しては第 2 章で記

載したものと同様、ダンマラン型であったが、3 位ケト型であった。相対的な割合は **CY-1** が 70 %と最も多くトリテルペン成分は **CY-2** が 8 %、**CY-3** が 5 %とマイナーであった。葉の鋸歯先端の分泌組織由来の油状物質の組成も托葉と同じであった。含まれている化学成分の構造は第 2 章、第 3 章で取り上げた腺毛分泌物中の化学成分に含まれる構造と類似していることから、腺毛の相同器官と考えることができる。

一方、カジイチゴに関して、3-acetyloxy-fatty acid 類が主に含まれていたが、一般的な植物と異なり、鎖長は C18 から C21 まで連続しており、末端構造は、直鎖型 iso 型および anteiso 型が主であるという特徴を有していた。このように、第 2 章に記載したキバナツノゴマやツノゴマのアシルグリセロール類の脂肪酸構造に類似していたが、直鎖ではなく分岐型 (iso および anteiso) が主に見られるという点で異なっていた。より詳しくは、奇数脂肪酸にはイソロイシン由来の 2-methylbutyryl CoA が優先して取り込まれ、偶数脂肪酸にはバリン由来の 2-methylpropionyl CoA が優先して取り込まれるという特徴が見られた。これに似通った例として、タバコの葉における表皮 wax 成分（炭化水素）において、上と同様な 2-methylbutyryl CoA および 2-methylpropionyl CoA を好んでスターターとする例が見られるが、通常の偶数炭素の脂肪酸に由来する奇数炭素の炭化水素も同程度には含まれており（Grice et al., 2008）、この点で今回のカジイチゴの場合とは対比されよう。まとめると、カジイチゴの腺毛分泌物の 3-acetyloxyfatty acid 類は、スターターとして 2-methylpropionyl CoA や 2-methylbutyryl CoA は効率よく利用するが、acetyl CoA やロイシン由来の 3-methylbutyryl CoA の利用度はかなり劣っている、特筆に値する生合成系が存在していると言える。

第 5 章　フウロソウ目植物の腺毛分泌物の成分

フウロソウ目植物における腺毛分泌物の成分研究の報告は一例のみであり、テンジクアオイ属植物 *Pelargonium* x *hortorumi* から anacardic acid が同定されている (図 1-15)。フウロソウ科の植物には腺毛を有している植物が比較的多いことがフィールドワークの結果わかった。本章では入手容易なアメリカフウロ (*Geranium carolinianum*) 、*Geranium maderense* およびゲンノショウコ (*Geranium thunbergii*) の腺毛分泌物に着いて調べた。これらの植物には、花柄やガクに、形状が良く似た腺毛が発達していることを見いだした (図 5-1)。これら 3 種の植物間で、腺毛分泌物に含まれる化学成分はどのような共通点もしくは相違点を有しているのかに興味を持った。また、フウロソウ属とテンジクアオイ属で分泌物に含まれる化学構造にどのような相関があるのかにも興味が持たれた。

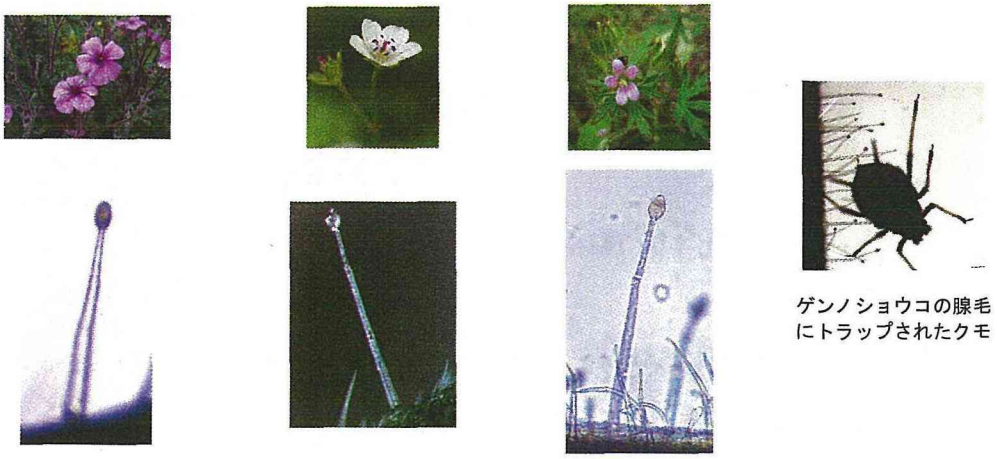


図 5-1. アメリカフウロ、*G. maderense*、ゲンノショウコの花および腺毛の写真

5-1. フウロソウ科アメリカフウロの腺毛分泌物

アメリカフウロは北アメリカ原産の一年草で、今から約 100 年前に日本に入ってきた帰化植物である。アメリカフウロの地上部の抽出物には抗微生物活性や抗ウィルス活性が見いだされており (Ooshiro et al., 2009; Li et al., 2008)、没食子酸やそのエステ

ル体 (Yin et al., 2007)、ellagic acid, geraniin やフラボノイド (Li et al., 2008)の単離報告例がある。アメリカフウロは日本の各地に見られ、道路わきや空き地によく見られる。4 月から 5 月にかけて花を咲かせる。

アメリカフウロの腺毛分泌物は TLC 分析において 1 スポットを示した。腺毛分泌物をカラムクロマトグラフィーにて分離し TLC のスポットに対応する Fr. 4 を得た。Fr. 4 の TMS エーテル体の GLC クロマトグラムを図 5-2 に示す。この TMS エーテル体の混合物は GLC にて 3 本のピークを図 5-2 に見られる比で与えたことより、主に 3 成分の混合物であることが示された。Fr. 4 は逆相 HPLC において 2 つのピークを与えた。それぞれのピークを精製し **CA-1** および **CA-2/3** を得た。

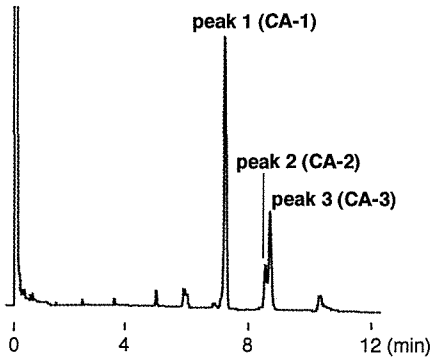
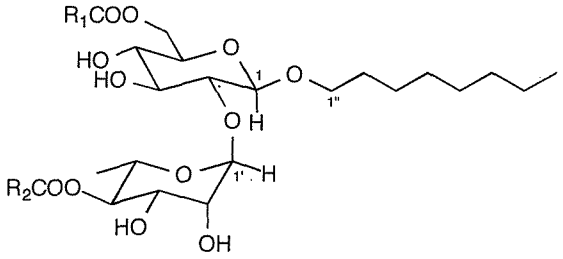


図 5-2. Fr. 4 の TMS エーテル体の GLC クロマトグラム

化合物 **CA-1** は、(+)-HRFABMS スペクトルにおいて、*m/z*=601.3203 $[M+Na]^+$に擬分子イオンピークが観測され、分子式を $C_{28}H_{50}O_{12}$ と決定した。**CA-1** の TMS 体は、GLC 分析により peak 1 と同定した (図 5-2)。**CA-1** の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、ヘキソースおよび 6-デオキシヘキソース、2 つのイソブチリル基 [e.g., δ 1.18 (*d*, *J* = 6.3 Hz, 6H)、δ 1.19 (*d*, *J* = 6.3 Hz, 6H)] および中鎖脂肪鎖に帰属されるシグナルが観測された (表 5-1)。ヘキソースの構造は、化学シフト、スピン結合定数および H-H COSY における相関により、6 位の水酸基がアシル化された β-glucopyranosyl (glc) と決定した e.g., [δ 4.28 (*d*, J = 7.7 Hz, H-1′)]。デオキシヘキソースも同様に 4 位の水酸基がアシ

ル化された rhamnopyranosyl (rha) と決定した。また、ラムノースの H-3 と H-5 に NOE 相関が観測されたが、H-3 と H-1 の間には観測されなかったことより、α体であることがわかった。^{13}C NMR スペクトルでは 28 本のシグナルが観測され、それらの中には n-octyl 部分に帰属される 8 つのシグナルも観測された。HMBC スペクトルにおいて、グルコースのアノメリック水素 (δ 4.28)と *n*-octyl 部分のオキシメチレン炭素 (δ 70.15) との相関が観測されたことより、グルコースのアノマー位が n-octyl エーテル化されていることがわかった。また、ラムノースのアノメリック水素 (δ 5.28) からグルコース C-2 (δ 76.53) に相関が観測されたことより rha-(1→2)-glc 結合が明らかになった。さらに、イソブチリル基のカルボニルに対して、それぞれ、グルコースの H_2-6 およびラムノースの H-4 から HMBC 相関が観測されたことより、そのエステル結合位置が確証された。この構造は、**CA-1** の TMS 体の EIMS スペクトルにおいて、*m/z* 851 $[M–Me]^+$および 737 $[M–C_8H_{17}O]^+$にフラグメントイオンが観測されたことでも支持された (図 5-3)。以上より、化合物 **CA-1** の構造を *n*-octyl 4-*O*-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-6-*O*-isobutyryl-β-D-rhamnopyranoside と決定した。



CA-1: $R_1 = R_2 =$ -$CHMe_2$
CA-2: $R_1 =$ -$CHMe_2$, $R_2 =$ -$CHMeCH_2Me$
CA-3: $R_1 =$ -$CHMeCH_2Me$, $R_2 =$ -$CHMe_2$

図 5-3. アメリカフウロ腺毛分泌物中の糖エステル類の化学構造

表 5-1. ^{1}H and ^{13}C NMR (500/125 MHz) spectroscopic data for CA-**1** and **2/3**.[a]

Position	CA-1		CA-2 (minor) / CA-3 (major)			
	δ_H[b]	δ_C[b]	δ_H[b]	δ_C[b]	δ_H[c]	δ_C[c]
glucopyranosyl						
1	4.28 (*d*, 7.7)	101.66	4.29 (*d*, 7.5)	101.69	4.75 (*d*, 12.1)	102.69
2	3.50 (*dd*, 9.0, 7.7)	76.53	3.52 (*dd*, 9.0, 7.5)	76.44	4.19 (*s*)	77.54
3	3.56 (*t*, 9.0)	77.62	3.57 (*t*, 9.0)	77.62	4.19 (*s*)	79.18
4	3.30 (t, 9.0)	70.44	3.31 (*t*, 9.0)	70.41	3.94 (*brs*)	71.66/71.60
5	3.43 (*m*)	73.71	3.42 (*m*)	73.70	3.94 (*brs*)	75.09
6	4.33 (*dd*, 12.0, 4.0)	63.48	4.33 (*dd*, 13.0, 4.0)	63.48	4.87 (*dd*, 9.9, 3.6)	64.26
	4.34 (*dd*, 12.0, 4.0)		4.34 (*dd*, 13.0, 4.0)		4.79 (*dd*, 9.9, 3.6)	
rhamnopyranosyl						
1′	5.28 (*s*)	99.74	5.29 (*s*)	99.71	6.30 (*s*)101.88	
2′	3.99 (*brs*)	70.70	3.96 (*brs*)	70.71	4.73 (*brs*)	72.45
3′	3.83 (*dd*, 9.7, 3.4)	69.71	3.82 (*dd*, 9.7, 3.4)	69.79	4.60 (*brs*)	70.30
4′	4.81 (*t*, 9.7)	74.65	4.83 (*t*, 9.7)	74.62	5.83 (*t*, 9.9)	75.64/75.52
5′	4.21 (*dq*, 9.7, 6.3)	65.98	4.22 (*dq*, 9.7, 6.3)	65.94	3.94 (*brs*)	67.00
6′	1.15 (*d*, 6.3)	17.13	1.15 (*d*, 6.3)	17.13/17.16	1.46 (*d*, 6.1)	18.05/18.09
n-octyl						
1″	3.85 (*dt*, 9.8, 6.3)	70.15	3.86 (*dt*, 9.3, 7.2)	70.18	4.11 (*dt*, 9.3, 7.0)	69.90
	3.46 (*dt*, 9.8, 6.3)		3.46 (*dt*, 9.3, 7.2)		3.66 (*dt*, 9.3, 7.0)	
2″	1.62 (*m*)	29.61	1.62 (*m*)	29.60	1.78 (*m*)	30.52
3″	1.22–1.35	25.93	1.22–1.35	25.94	1.22-1.35	26.47
4″	1.22–1.35	29.42	1.22–1.35	29.43	1.22-1.35	29.75
5″	1.22–1.35	29.19	1.22–1.35	29.21	1.22-1.35	29.52
6″	1.22–1.35	31.82	1.22–1.35	31.83	1.22-1.35	32.07
7″	1.22–1.35	22.58	1.22–1.35	22.59	1.22-1.35	22.86
8″	0.88 (*t*, 6.7)	14.02	0.88 (*t*, 7.2)	14.03	0.86 (*t*, 6.9)	14.22
isobutyryl						
1‴	——	177.87	——	177.91	——	176.72/176.78
	——	177.87				
2‴	2.60 (*m*)	33.93	2.61(*m*)	34.18/33.93	2.69 (*m*)	34.57/34.16
	2.60 (*m*)	34.18				
3‴	1.18 (*d*, 6.3)	18.87	1.18 (*d*, 6.3)	18.74/18.87	1.08 (*d*, 7.3)	19.08
	1.18 (*d*, 6.3)	18.74				
4‴	1.19 (*d*, 6.3)	18.96	1.19 (*d*, 6.3)	19.00/18.96	1.09 (*d*, 7.3)	19.00
	1.19 (*d*, 6.3)	18.99				
2-methylbutyryl						
1⁗			——	177.54	——	176.39/176.35
2⁗			2.42 (*m*)	41.00/41.31	2.54 (*m*)	41.22/41.67
3⁗			1.70 (*m*)	26.75/26.63	1.83 (*m*)	27.56/27.12
			1.50 (*m*)		1.68 (*m*)	
4⁗			0.94 (*t*, 7.5)	16.50/16.61	0.96 (*t*, 7.4)	16.68/17.12
5⁗			1.18 (*d*, 6.3)	11.58/11.48	1.25 (*d*, 7.0)	11.72/11.80

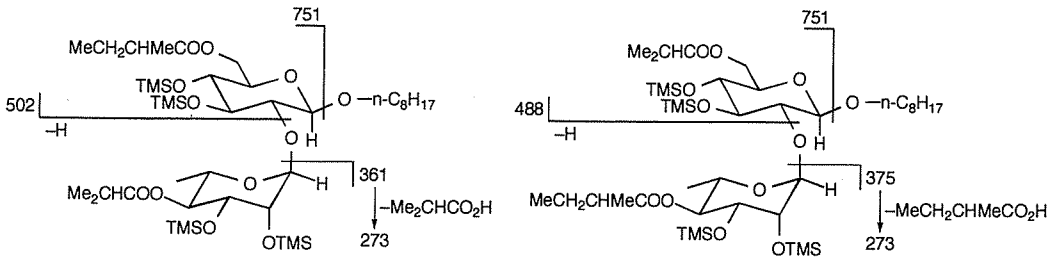
[a] Multiplicity and coupling constant (*J* in Hz) in parentheses.

[b] In $CDCl_3$-CD_3OD 20:1.

[c] In pyridine-d_5.

化合物 **CA-2/3** は単離できない混合物として得られた。この混合物は(+)-HRFABMS スペクトルにおいて *m/z* 615.3386 $[M+Na]^+$ に単一の擬分子イオンピークを示したことより、いずれの分子式も $C_{29}H_{52}O_{12}$ と決定した。この混合物は GLC において 2.5:1 の比で 2 つのピークを与えた (Fig. 2)。その ^{1}H NMR スペクトルは、イソブチリル基に帰属されるシグナルが 1 セットのみで、分岐鎖脂肪鎖に帰属されるダブレットメチルとトリプレットメチルが新たに出現したことを除いては、CA-1 のものと良く類似していた。^{13}C NMR スペクトルは *n*-octyl 構造を含めて CA-1 のものと良く似ており(表 5-1)、そのデータから分岐脂肪鎖は 2-メチルブチリル基 [δ 16.61 (C-4′′′′), 26.63 (C-3′′′′), 41.31 (C-2′′′′), 177.54 (C-1′′′′), 11.48 (C-5′′′′) (King et al., 1993)] であることがわかった。しかしながら、2-メチルブチリル基およびイソブチリル基に帰属された ^{13}C シグナルに加えて、糖の一部のシグナルが ca. 2.5:1 の強度比で分裂していた。同様な傾向は pyridine-d_5 溶媒で測定した ^{13}C NMR にも見られた。

以上より、化合物 CA-2/3 がイソブチリル基および 2-メチルブチリル基の置換位置 (glc-6 もしくは rha-4′) に関する異性体の 2.5:1 の混合物であることが考えられた。HMBC スペクトルにより、主成分 (CA-3) はグルコースの 6 位にイソブチリル基が、ラムノースの 4′位に 2-メチルブチリル基が置換していることがわかった。一方、マイナー成分に関しては有意な HMBC 相関は観測されなかったが、^{1}H および ^{13}C NMR データより、グルコースの 6 位に 2-メチルブチリル基が、ラムノースの 4′位にイソブチリル基が置換していると推定した。図 5-4 に示した、CA-2/3 の TMS 体の GC-MS 分析におけるフラグメンテーション、特に、*m/z* 375, 361,488 および 502 はイソブチリル基と 2-メチルブチリル基がそれぞれグルコース側もしくはラムノース側のどちらについているかを示しており、この置換様式が支持された。以上より、主成分である CA-3 は *n*-octyl 4-*O*-(2-methylbutyryl)-α-L- rhamnopyranosyl-(1→2)-6-*O*-isobutyryl-β-D-glucopyranoside、マイナー成分を *n*-octyl 4-*O*-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-6-*O*-(2-methylbutyryl)-β-D-glucopyranoside と決定した。

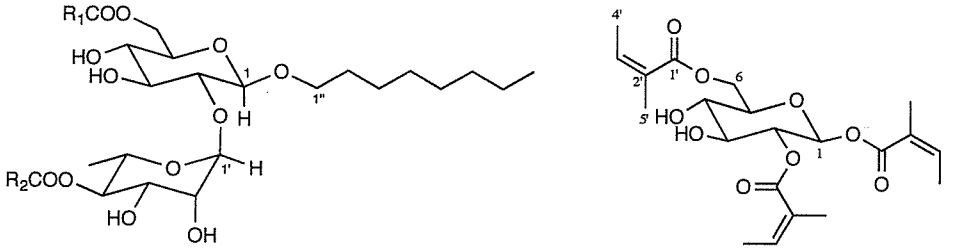


CA-2-(TMS)$_4$ **CA-3**(TMS)$_4$

図 5-4. **CA-2** および **CA-3** の TMS 体の GC-MS フラグメンテーション

5-2 フウロソウ科 *Geraniumu maderense* の腺毛分泌物

G. maderense はポルトガル原産の二年草であり、開花の時期に花柄およびガクに腺毛を密生させる。花が咲いていない時期の茎には腺毛は発達していない。*G. maderense* の腺毛分泌物は比較的粘性が高かった。京都府立植物園の温室で生育している *G. maderense* の花柄をキムワイプで拭き、Et_2O で抽出して TLC 用サンプルにした。腺毛分泌物は TLC 分析において、主なスポットを 2 つ与えた。分泌物を大量に得るために、温室で *G. maderense* の花柄 20 g を頂き、Et_2O に数秒間浸し、減圧下で溶媒を



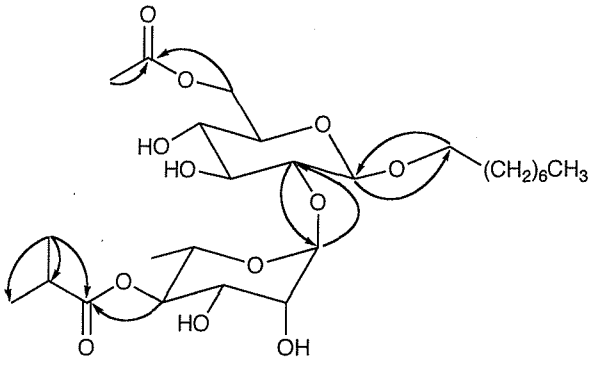
GM-1: R_1 = Me, R_2 = -CHMe$_2$
GM-2: R_1 =R_2= -CHMe$_2$
GM-3: R_1 = -CHMeCH$_2$Me, R_2 = -CHMe$_2$

GM-4

図 5-5. *Geranium maderense* 腺毛分泌物中の糖エステル類の化学構造

留去し、抽出物を 80 mg 得た。この抽出物は、TLC 分析 (展開溶媒 : $CHCl_3$/MeOH, 20: 1) において、先に調製したサンプルと同じスポットパターンを示した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて 2 つのメジャースポットを分離し化合物 **GM-4** (4.0 mg) (Rf=0.55) とフラクション I (Rf=0.1) を得た。フラクション I を逆相 HPLC にて分離し、**GM-1** (10.2 mg), **GM-2** (24.1 mg), **GM-3** (12.1 mg)を得た (図 5-5)。以下構造について議論する。

化合物 **GM-1** は無色油状物質として得られた。(–)HRFABMS において *m/z* 549.2900 $[M-H]^-$に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を$C_{26}H_{46}O_{12}$と決定した。^{1}H NMR スペクトルは、イソブチリル基に帰属される一連のシグナルが 1 セット消失し、代わりにアセチルメチルシグナル (δ 2.10) が出現したことを除いては **CA-1** のものと良く似ていた (表 5-1, 5-2)。^{13}C NMR スペクトルも **CA-1** と良く似ており、グルコースおよびラムノースに帰属される 12 本のシグナルに加えて、2 つのエステルカルボニル δ 177.7, 171.7、オキシメチレン δ 70.2、イソブチリル基に帰属される 2 つのメチル炭素 δ 18.9 (x2) およびメチン炭素 δ 34.1、アセチルメチル炭素 δ 20.7、6 つのメチレン炭素 δ 31.7, 29.5, 29.4, 29.1, 25.8, 22.5 が観測された (表 5-3)。HMBC スペクトルにおいて、δ 171.7 のエステルカルボニルに対して、グルコースの 6 位のメチレン水素およびアセチルメチルから相関が観測されたことから、グルコースの 6 位がアセチル化されていることがわかった。また、δ 177.7 のエステルカルボニルに対して、ラムノースの 4 位の水素とイソブチリル基のメチル基の両方から相関が観測されたことより、ラムノースの 4 位がイソブチリル化されていることが明らかになった。糖部分の結合に関して、グルコースの 2 位の水素からラムノースのアノマー炭素に対して、ラムノースのアノメリック水素からグルコースの 2 位へ相関が観測されたことより、グルコースの2位とラムノースの1位の間でグリコシド結合しているとわかった。さらに、グルコースのアノメリックプロトンからオキシメチレン δ 70.2 に相関が観測され、オキシメチレン水素からはグルコースのアノマー炭素に加えて 2 つのメチレン炭素 δ 29.5, 25.8 にも相関が観測されたことより、CA-1 と同様、グルコースのアノマー位が *n*-octyl エーテル化されていることがわかった。主な HMBC 相関は図 5-6 に示した。以上より、**GM-1** の構造を *n*-octyl-4-*O*-isobutyryl–α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranoside と決定した。すべての炭素は HMBC および HSQC スペクトルを用いて帰属した (表 5-4)。



GM-1

図 5-6. **GM-1** の主な HMBC 相関

化合物 **GM-2** は無色油状物質として得られた。(–)HRFABMS において *m/z* 577.3187 $[M–H]^-$ (**GM-1**+28 mass unit) に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を $C_{28}H_{50}O_{12}$ と決定した。**GM-2** は ^1H および ^{13}C NMR スペクトルより **CA-1** と同一であることが明らかとなり、*n*-octyl 4-*O*-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-6-*O*-isobutyryl-β-D-glucopyranoside と決定した。

化合物 **GM-3** は無色油状物質として得られた。(–)HRFABMS において *m/z* 591 3387 $[M–H]^-$に分子イオンピークが観測されたことより、分子式を $C_{29}H_{52}O_{12}$ と決定した。この分子式は **GM-2** と比較して CH_2 だけ増えており **CA-2/3** と同じであった。**GM-3** の ^1H および ^{13}C NMR スペクトルは **CA-2/3** のものとほぼ良い一致を示した。しかし、^{13}C NMR スペクトルにおいて、2-メチルブチリル基に由来するシグナルおよびグルコースの 6 位およびその近傍に位置する炭素が 3:1 の比で 2 セットに分裂しており(表 5-4)、**CA-2/3** とはシグナルが分裂している位置が異なっていた。HMBC スペクトルにより、主成分はイソブチリル基がラムノースの 4 位に置換した化合物であることがわかった。また、GLC 分析において **GM-3** の TMS 体は、**CA-2** の TMS 体の保持時間と一致する単一のピークを与えた。以上の結果は、**GM-3** の平面構造式は **CA-2** と同じであることを示しており、炭素シグナルが 3:1 に割れることから、グルコールの 6 位の 2-メチルブチリル基の立体異性体の 3:1 の混合物であると考えた。

表 5-2. ^{1}H NMR spectroscopic data (600 MHz, in $CDCl_3$ (10% CD_3OD)) for compounds **GM-1-3 and GT-1-4.**[a]

	GM-1	**GM-2**	**GM-3/3 minor**	**GT-1**	**GT-2**	**GT-3**	**GT-4/4 minor**
r-1	5.27 (*s*)	5.26 (*s*)	5.26 (*s*)	5.25 (*s*)	5.26 (*s*)	5.25 (*s*)	5.25 (*s*)
r-2	3.96 (*brs*)	3.97 (*brs*)	3.97 (*brs*)	4.36 (*brs*)	4.09 (*brs*)	4.12 (*brs*)	4.12 (*brs*)
r-3	4.83 (*brs*)	3.81 (*dd*, 9.6, 3.4)	3.81 (*dd*, 9.5, 2.9)	5.18 (*dd*, 9.6, 3.3)	5.16 (*dd*, 9.6, 3.3)	5.16 (*dd*, 9.5, 3.2)	5.14 (*dd*, 9.6, 3.3)
r-4	4.83 (*t*, 9.5)	4.84 (*t*, 9.6)	4.83 (*t*, 9.5)	5.13 (*t*, 9.6)	5.13 (*t*, 9.6)	5.14 (*t*, 9.6)	5.16 (*t*, 9.6)
r-5	4.21 (*m*)	4.21 (*m*)	4.21 (*m*)	4.28 (*m*)	4.28 (*m*)	4.27 (*m*)	4.28 (*m*9
r-6	1.14 (*d*, 6.2, 3H)	1.13 (*d*, 6.3, 3H)	1.14 (*d*, 6.2, 3H)	1.13 (*d*, 6.2, 3H)	1.13 (*d*, 6.2, 3H)	1.13 (*d*, 6.2, 3H)	1.13 (*d*, 6.2, 3H)
g-1	4.29 (*d*, 7.8)	4.29 (*d*, 7.8)	4.29 (*d*, 7.8)	4.31 (*d*, 7.8)	4.36 (*d*, 7.9)	4.37 (*d*, 7.9)	4.36 (*d*, 7.9)
g-2	3.48 (*dd*, 9.1, 7.8)	3.48 (*dd*, 9.1, 7.8)	3.48 (*dd*, 9.2, 7.8)	3.50 (*dd*, 9.2, 7.8)	3.44 (*dd*, 9.1, 7.8)	3.47 (*dd*, 9.1, 7.9)	3.45 (*dd*, 9.2, 7.9)
g-3	3.53 (*t*, 9.1)	3.54 (*t*, 9.1)	3.53 (*t*, 9.2)	3.53 (*t*, 9.2)	3.54 (*t*, 9.1)	3.57 (*t*, 9.1)	3.54 (*t*, 9.2)
g-4	3.34 (*t*, 9.1)	3.31 (*t*, 9.1)	3.34 (*t*, 9.2)	3.33 8*t*, 9.2)	3.52 (*t*, 9.1)	3.54 (*t*, 9.1)	3.51 (*t*, 9.2)
g-5	3.42 (*m*)	3.43 (*m*)	3.42 (*m*)	3.42 (*m*)	3.28 (*m*)	3.28 (*m*)	3.28 (*m*)
g-6	4.33 (*dd*, 12.5, 5.5)	4.38 (*dd*, 12.0, 2.1)	4.41 (*dd*, 12.1, 2.6)	4.34 (*dd*, 12.5, 5.5)	3.86 (*m*)	3.87 (*m*)	3.86 (*m*)
	4.28 (*dd*, 12.5, 5.9)	4.26 (*dd*, 12.0, 6.4)	4.26 (*dd*, 12.1, 5.2)	4.29 (*dd*, 12.5, 5.5)	3.78 (*dd*, 12.1, 4.3)	3.79 (*dd*, 12.2, 4.2)	3.78 (*dd*, 12.1, 4.3)
o-1	3.85 (*m*)	3.84 (*m*)	3.85 (*m*)	3.87 (*m*)	3.86 (*m*)	3.88(*m*)	3.86 (*m*)
	3.48 (*m*)	3.48 (*m*)	3.49 (*m*)	3.48 (*m*)	3.44 (*m*)	3.46 (*m*)	3.44 (*m*)
o-2	1.61 (*m*, 2H)	1.60 (*m*, 2H)	1.61 (*m*, 2H)	1.60 (*m*, 2H)	1.61 (*m*, 2H)	1.60 (*m*, 2H)	1.60 (*m*,2H)
o-3-7	1.33 (*m*, 10H)	1.33 (*m*, 10H)	1.33 (*m*, 10H)	1.32 (*m*, 10H)	1.32 (*m*, 10H)	1.31 (*m*, 10H)	1.30 (*m*, 10H)
o-8	0.87 (*t*, 7.2)	0.87 (*t*, 7.2)	0.87 (*t*, 7.2)	0.87 (*t*, 7.2)	0.87 (*t*, 7.2)	0.87 (*t*, 7.2)	0.87 (*t*, 7.2)
	Ac	isobutyryl	isobutyryl	Ac	isobutyryl	isobutyryl	2-methylbutyryl
	2.10 (*s*, 3H)	1.19 (*d*, 7.0, 6H)	1.19 (*d*, 7.0, 6H)	2.11 (*s*, 3H)	1.16 (*d*, 7.0, 6H)	1.15 (*d*, 7.0, 6H)	1.16 (*d*, 6.2, 3Hx0.67)/
	isobutyryl	2.60 (*m*)	2.58 (*m*)	isobutyryl	2.52 (*m*)	2.51 (*m*)	1.17 (*d*, 6.2, 3Hx0.33)
	1.19 (*d*, 7.0, 3H)	1.18 (*d*, 7.0, 3H)	2-methylbutyryl	1.16 (*d*, 7.0, 6H)	1.15 (*d*, 7.0, 3H)	3-methylbutyryl	0.89 (*t*, 7.2, 3Hx0.67)/
	1.19 (*d*, 7.0, 3H)	1.17 (*d*, 7.0, 3H)	1.13 (*d*, 6.2)	2.52 (*m*)	1.14 (*d*, 7.0, 3H)	0.95 (*d*, 7.0, 3H)	0.90 (*t*, 7.2, 3Hx0.33)
	2.58 (*m*)	2.60 (*m*)	0.91 (*t*, 7.2)	3-methylbutyryl	2.58 (*m*)	0.94 (*d*, 0.94, 3H)	2.40 (*m*, 1Hx0.67)/
			2.43 (*m*)	0.95 (*d*, 6.6, 3H)		2.21 (*m*, 2H)	2.33 (*m*, 1Hx0.33)
			1.68 (*m*)	0.94 (*d*, 6.6, 3H)		2.05 (*m*)	1.66 (*m*)
			1.49 (*m*)	2.06 (*m*)			1.43 (*m*)
				2.20 (*m*, 2H)			3-methylbutyryl
							0.95 (*d*, 7.0, 6H)
							2.20 (*m*, 2H)
							2.06 (*m*)

[a] Multiplicities and coupling constant (*J* in Hz) are in parenthes.

表 5-3. ^{13}C NMR data (150 MHz, $CDCl_3$ ($10\%CD_3OD$)) for compound **GM-1-3 and GT-1-4.**[a]

	GM-1	**GM-2**	**GM-3/3 minor**	**GT-1**	**GT-2**	**GT-3**	**GT-4/4 minor**
r-1	99.7	99.9	99.9	100.0	99.9	99.9	99.8
r-2	70.6	70.6	70.6	69.0	68.8	68.8	68.8
r-3	69.7	69.5	69.6/69.5	71.7	71.5	71.5	71.5/71.6
r-4	74.5	74.3	74.4	70.9	70.8	70.7	66.4/66.3
r-5	65.9	65.9	65.9	66.5	66.3	66.3	70.6/70.7
r-6	17.0	17.0	17.0/17.1	17.2	17.1	17.1	66.4/66.3
g-1	101.7	101.5	101.5	101.8	101.7	101.6	101.7
g-2	76.4	76.6	76.6	76.6	77.0	77.1	76.9
g-3	77.6	77.7	77.7	77.6	77.5	77.5	77.5
g-4	70.1	70.4	70.1	70.3	70.2	70.1	70.2
g-5	73.5	73.6	73.6	73.6	75.3	75.3	75.3
g-6	63.6	63.5	63.4/63.5	63.7	61.8	61.7	61.8
o-1	70.2	70.0	70.0	70.4	70.4	70.4	70.4
o-2	29.6	29.5	29.5	29.6	29.6	29.6	29.6
o-3	25.8	25.8	25.9	25.9	25.9	25.9	25.8
o-4	29.4	29.3	29.3	29.4	29.4	29.4	29.4
o-5	29.1	29.1	29.1	29.1	291.1	29.1	29.1
o-6	31.7	31.7	31.7	31.8	31.7	31.8	31.7
o-7	22.5	22.5	22.5	22.6	22.5	22.5	22.5
o-8	13.9	13.9	13.9	13.9	13.9	13.9	13.9
	Ac	isobutyryl	isobutyryl	Ac	isobutyryl	isobutyryl	2-mthylbutyryl
	171.7	177.7	177.7	171.8	176.7	176.3	175.8/172.2
	20.7	34.1	34.1/33.9	20.8	34.0	34.0	41.2/43.3
	isobutyryl	18.9	18.9/18.9	isobutyryl	18.9	18.8	26.3/25.5
	177.7	18.7	18.8/18.6	176.4	18.7	18.6	16.6/17.2
	34.1	177.6	2-methylbuyryl	34.0	176.2	3-mehylbutyryl	11.5
	18.9	33.8	177.3	18.9	33.9	172.7	3-methylbutyryl
	18.6	18.8	40.9/41.3	18.6	18.8	43.1	172.7
		18.6	26.6/26.7	3-methylbutyryl	18.6	25.5	43.1/43.2
			16.5/16.4	172.8		22.2	25.9/25.4
			11.4/11.5	43.1		22.2	22.2
				25.4	22.2		
				22.2			
				22.2			

[a] Assignments for all compounds were based on COSY, HSQC and HMBC experiments

すなわち、**GM-3** の構造を *n*-octyl 4-*O*-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-6-*O*-[(*R*)/(*S*)-2-methylbutyryl]-β-D-glucopyranoside と決定した。*R*、*S* のどちらの絶対配置を有する 2-methylbutyryl 基が主であるのかは未決定であり、加水分解により得られる 2-methylbutyric acid について調べる必要がある。

化合物 **GM-4** は無色油状物質として得られた。HRFABMS において *m/z* 449.1778 $[M+Na]^+$に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を $C_{21}H_{30}O_9$ と決定した。^{1}H NMR スペクトルにおいて、ヘキソースに帰属される 7H 分のシグナル δ 5.81 (*d*, *J* = 8.1 Hz, H-1), 5.07 (*dd*, 9.6, 8.1 Hz, H-2), 3.80 (*brt*, *J* = 9.6 Hz, H-3), 3.50 (*brt*, *J* = 9.6 Hz, H-4), 3.68 (*m*, H-5), 4.66 (*dd*, *J* = 12.4, 4.0 Hz, Ha-6), 4.36 (*dd*, 12.4, 2.5 Hz, Hb-6) および δ 6.15 (*m*)に 3H 分のオレフィンシグナル、多重にアリルカップングしているオレフィンに結合している 6H 分のメチルシグナル δ 2.00 (*dq*, 7.3, 1.5 Hz), 1.97 (*dq*, 7.3, 1.5 Hz), 1.95 (*dq*, 7.3, 1.5 Hz), 1.92 (*quintet*, 1.5 Hz), 1.86 (*quintet*, 1.5 Hz), 1.85 (*quintet*, 1.5 Hz) が観測された (表 5-4)。ヘキソースの H-1, H-2, H_2-6 が低磁場シフトしていること、H-1–H-5 まで大きなスピン結合定数をそれぞれ有していることから、1,3,6-tri-*O*-acyl-β-D-glucopyranosyl 部があることがわかった (表 5-4)。^{13}C NMR スペクトルにおいて、3 つのエステルカルボニル δ 168.9, 167.5, 165.7、6 つのオレフィン炭素 δ 141.1 (CH), 139.8 (CH), 139.6 (CH), 127.2 (C), 127.1 (C), 126.7 (C)、グルコースに由来する 6 つの炭素シグナル、6 つのメチルシグナル δ 20.5, 20.4, 20.2, 16.0, 15.9, 15.8 が観測された (表 5-4)。グルコース部分に相当するシグナルを除くと、良く似た 3 セットのシグナルであり、3 つのアシル基は同じ構造を有していると推測した。HMBC スペクトルにおいて、多重に分裂しているオレフィンメチル (δ 2.00, 1.97, 1.95) からエステルカルボニル (δ 168.9, 167.5, 165.7)、オレフィン炭素 (δ 141.1, 139.8, 139.6,127.2,127.1,126.7) に相関が観測された。残りの 3 つのメチルからはオレフィン炭素 (δ 141.1, 139.8, 139.6,127.2,127.1,126.7) に相関が観測された (図 5-7)。

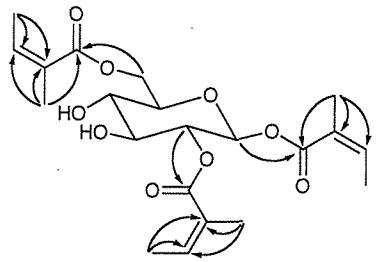


図 5-7. **GM-4** の主な HMBC 相関

表 5-4. ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) and ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) spectroscopic data for compound **GM-4**[ab].

Position	^{13}C	^{1}H
1	91.9	5.81 (*d*, 8.1)
2	72.5	5.07 (*dd*, 9.6, 8.1)
3	75.0	3.80 (*t*, 9.6)
4	70.4	3.50 (*brt*, 9.6)
5	74.9	3.68 (*m*)
6	62.3	4.66 (*dd*, 12.4, 4.0), 4.36 (*dd*, 12.4, 2.5)
1′x3	168.9, 167.5, 165.7	-----
2′x3	141.1, 139.8, 139.6	-----
3′x3	127.2, 127.1, 126.7	6.15 (*m*, 3H)
4′x3	16.0, 15.9, 15.8	2.00 (*qd*, 7.3, 1.5), 1.97 (*qd*, 7.3, 1.5), 1.95 (*qd*, 7.3, 1.5)
5′x3	20.5, 29.4, 20.2	1.92 (*qui*, 1.5), 1.86 (*qui*, 1.5), 1.85 (*qui*, 1.5)

[a] Assignments were based on COSY, HSQC and HMBC experiments
[b] Multoplicities and couplingconstant (*J* in Hz) are in parenthes

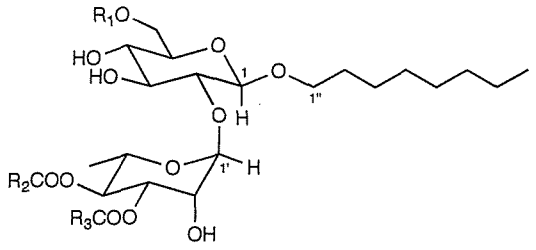
これらのデータは、アシル基の構造は angeloyl 基（2-methyl-2*Z*-butenoyl 基）または tigloyl 基（2-methyl-2*E*-butenoyl 基）のいずれかであることが示していた。この 2 つのアシル基は ^{1}H NMR スペクトルにおける特徴的なシグナルにより識別できる。例えば、14-hydroxyleptocarpin での angeloyl 基では δ 6.11 (*qq*), 1.96 (*dq*, *J* = 7.3, 1.5 Hz), 1.86 (*dd*, 1.5 Hz) であるのに対して、1-oxo-zacatechinolide tiglyl ester の tigloyl 基では δ 6.76 (*dq*) 1.70 (*brs*), 1.76 (*brs*) であった (Spring, 1990)。このように angeloyl 基ではオレフィン水素およびメチル基が特徴的なスピン結合を有する。さらに NOE スペクトルにおいて、オレフィンプロトンからすべてのメチル基に相関が観測されたことからも **GM-4** のアシル基は angeloyl 基と決定した。以上より、**GM-4** の構造を 1,2,6-tri-*O*-angeloyl-β-D-glucose と決定した。

5-3. フウロソウ科ゲンノショウコの腺毛分泌物

ゲンノショウコはフウロソウ属の多年草で、日本各地に分布している。生薬名もゲンノショウコであり、ドクダミやセンブリとともに日本三大民間薬の一つにあげられている。その為、成分研究の例は多く、主成分としてタンニンであるゲラニインやフラボノイドのケルセチンおよびケンフェロールが含まれており、これらが整腸、止瀉活性を示す (生薬単)。ゲンノショウコは全草に細毛が密生していることで知られる。筆者は、東北大学薬用植物園にて、ゲンノショウコは花期になるとガクに腺毛を発達させていることを見いだした。分泌量は多くはないが、手でガクを触ると油状物質があることがわかる。キムワイプでガクを拭き、Et_2O で流しだし抽出物を得た。ゲンノショウコに関しては、毎日キムワイプでゲンノショウコのガクを拭き、これを 1 週間続けることで 56 mg の腺毛分泌物を得た。ちなみに、ゲンノショウコ 700 mg を Et_2O に数秒間浸して得られる腺毛分泌物は 2 mg であった。得られた腺毛分泌物は TLC (展開溶媒： $CHCl_3$/MeOH, 20:1) にて 2 つのスポットを与えた [低極性側 Fr. 1 (Rf=0.22) 高極性側 Fr. 2 (Rf=0.11)]。Fr. 1 を逆相-HPLC にて精製し **GT-1** を単離した。同様に Fr. 2 から **GT-2–4** を単離した(図 5-6)。

化合物 **GT-1** は無色油状物質として得られた。(–)HRFABMS により、分子式を $C_{31}H_{54}O_{13}$ (*m/z* 633.3483 $[M–H]^-$)。**GT-1** の ^{1}H NMR スペクトルより、**GM-1-3** と同様、グルコースとラムノースからなる二糖構造、オクチルエーテル、3 つのアシル基（アセチル基、isobutyryl 基およびもうひとつの短鎖脂肪酸基）を有していることが示された (表 5-2)。**GT-1** の ^{1}H NMR スペクトルを **GM-1** のものと比較すると、グルコース部分と *n*-オクチルエーテルに帰属されるシグナルは良い一致を示したが、ラムノースの 3 位のオキシメチン水素が δ 5.18 (*brs*) と大きく低磁場シフトしていたこと、3 位周辺の 2 位/4 位が δ 4.36/5.13 とやや低磁場シフトしていたことより、グルコースの 6 位およびラムノースの 4 位に加えて、ラムノースの 3 位がエステル化されていることが明らかになった。また、^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルにおいて、**GM-1** では観

測されなかったシグナル [δ_H 0.95 (*d*, *J* = 6.6 Hz, 3H), 0.94 (*d*, *J* = 6.6 Hz, 3H), 2.20 (*m*, 2H), 2.06 (*m*);δ_C 172.8 (C), 43.1 (C), 25.4 (CH_2), 22.2 (CH_3), 22.2 (CH_3)] (King et al., 1992) が新たに観察されたことからもう 1 つのアシル基は 3-メチルイソブチリル基であることが明らかになった。以上のデータより、**GT-1** は **GM-1** におけるラムノースの 3 位が 3-メチルブチリル化された化合物であると推定された。これら 3 つのアシル化の結合部位のついては、HMBC スペクトルにおける相関により明確に決定できた。以上より、**GT-1** の構造を *n*-octyl 3-*O*-isobutyryl-4-*O*-(3-methylbutyryl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside と決定した。



GT-1: R_1 = Ac, R_2 = -$CHMe_2$, R_3 = -CH_2CHMe_2
GT-2: R_1 = H, R_2 = R_3= -$CHMe_2$
GT-3: R_1 = H, R_2 = -$CHMe_2$, R_3 = -CH_2CHMe_2
GT-4: R_1 = H, R_2 = -$CHMe_2$, R_3 = -$CHMeCH_2Me$,

図 5-6.ゲンノショウコ腺毛分泌物中の糖エステル類の化学構造

化合物 **GT-2** は無色油状物質として得られた。(–)HRFABMS スペクトルにおいて *m/z* 577.3254 $[M–H]^-$ に擬分子イオンピークが観測されたことより、分子式を $C_{28}H_{50}O_{12}$ と決定した。**GT-2** の ^{1}H NMR スペクトルを **GT-1** と比較すると、グルコースの 6 位メチレン水素 (δ 3.86, 3.78) が高磁場シフトしており、また、アセチルメチルシグナルが消失していたこと、3-メチルブチリル基に由来するシグナルが消失し代わりにイソブチリル基に帰属されるシグナルが 1 セット増加していたことを除いては、良い一致を示した (表 5-2)。^{13}C NMR スペクトルにおいても、アセチル基および 3-メチルブチリル基に由来するシグナルが消失し、代わりに 2 組のイソブチリル基に帰属されるシグナルが観察された (表 5-4)。これらのデータから、**GT-2** は **GT-1** におけるグルコース 6 位の脱アセチルがおこり、かつラムノース 3 位がイソブチリル基に

置換された化合物であることが示された。従って、**GT-2** の構造を *n*-octyl 3,4di-*O*-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-6-*O*-acetyl-β-D-glucopyranoside と決定した。

化合物 **GT-3** は無色油状物質として得られた。(–)HRFABMS により、分子式を $C_{29}H_{52}O_{12}$ と決定した。^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルを **GT-1** のものと比較することで、**GT-3** は **GT-1** の脱アセチル体であることがわかった (表 5-2 および 5-3)。HMBC 相関により、その構造を確定した。以上より、**GT-3** の構造を *n*-octyl 3-*O*-isobutyryl-4-*O*-(3-methylbutyryl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside と決定した。

化合物 **GT-4** は無色油状物質として得られた。(–)HRFABMS により、分子式を $C_{30}H_{54}O_{12}$ と決定した。この分子式は **GT-3** と比べて CH_2 大きかった。**GT-4** の ^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルより、**GT-3** と同様、*n*-octyl 3,4-di-*O*-acyl-α–L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranose 構造を有していることが明らかとなった (表 5-2 および 5-3)。また、3-メチルブチリル基に帰属されるシグナルおよび 2-メチルブチリル基に帰属されるシグナルが観測された。^{13}C NMR スペクトルにおいて、ラムノースの 4 位およびその周辺に位置する炭素のシグナルが 2:1 の比で分裂していた (表 5-3)。主成分における HMBC スペクトルにより、2-メチルブチリル基がラムノースの 3 位に、イソブチリル基が 4 位に置換していることが示された。以上より、**GT-4** の主成分の構造を *n*-octyl 4-*O*-isobutyryl-3-*O*-(3-methylbutyryl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β- D-glucopyranoside と決定した。マイナー成分に関しては、**CA-2/3** の関係と同様、3-メチルブチリル基と 2-メチルブチリル基の置換位置の異性体もしくは、2-メチルブチリル基の(*R*)/(*S*)に起因するジアステレオマーのいずれかであると考えられる。

5-4. フウロソウ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ

フウロソウ属の 3 つの植物アメリカフウロ、*G. maderense*、およびゲンノショウコの腺毛分泌物より、ラムノースの 1 位が *n*-オクチルグルコシドの 2 位と結合した新規化合物 **CA-1-3**, **GM-1-4**, **GT-1-4** を得た。また、**GM-4** は新規な、グルコースの tri-angeloyl

ester であった。アメリカフウロおよび *G. maderense* ではグルコースの 6 位およびラムノースの 4 位が、ゲンノショウコではグルコースの 6 位、ラムノースの 3 位および 4 位が短鎖脂肪酸 (アセチル, イソブチリル, 3-メチルブチリル, 2-メチルブチリル) でエステル化されていた。今回の結果より、フウロソウ属の腺毛分泌物には共通して *n*-octyl α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β–D-glucopyranoside 構造を母核とする化合物群が特徴的な二次代謝物として含まれていることが示唆された。

藤本らのその後の研究により、フウロソウ属のヒメフウロ（別名シオヤキソウ）*Geranium robertianum* の腺毛分泌物は、本章の結果とよく対応して n-octyl rhamnopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside のエステル誘導体を含んでいることが示された。更に、フウロソウ科の他の主要な属であるオランダフウロ属（*Erodium*）植物にも腺毛のある植物が多く見られ、*Erodium pelargoniflorum* の腺毛分泌物は、主成分として *n*-dodecyl rhamnopyranosyl-(1→2)-fucopyranoside のエステル誘導体を含んでいることが示された。

このことは、構成糖や *n*-アルキル基の鎖長については、属ごとにそれぞれ特徴が見られることを示唆しており、ケモタキソノミーにおけるマーカーとして使える可能性がある。これらを考慮すると、先にテンジクアオイ属植物 *Pelargonium* x *hortorumi* から報告された anacardic acid (図 1-15) は種特異的な例とするのがよいと考えられ、

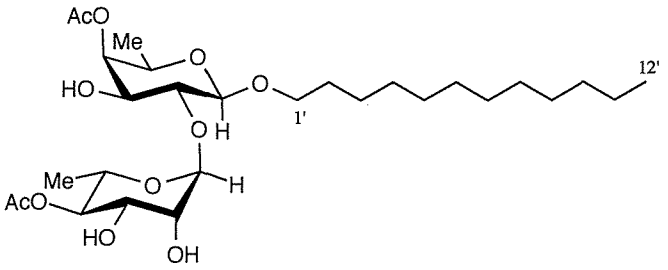


図 5-7. *Erodium pelargoniflorum* の腺毛分泌物より得た *n*-ドデシルグリコシドの構造

テンジクアオイ属植物の腺毛分泌物に本章で述べたものと類似の二糖化合物が含まれるのか否かに興味が持たれる。

第 6 章　ブナ目 (Fagales) 植物の腺毛分泌物の成分研究

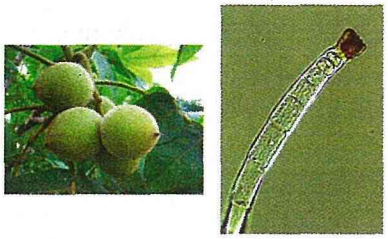
ブナ目に属する植物の多くは木本であり、系統的にはバラ目と近い。ブナ目の腺毛分泌物の研究は行われておらず、本研究が初めての例となる。本章ではオニグルミの腺毛分泌物に含まれる化学成分について論ずるとともに、系統的に近縁であるバラ目植物の腺毛分泌物に含まれる化学構造との相関についても議論する。

6-1　クルミ科オニグルミの腺毛分泌物

ブナ目はバラ目と比較的近縁に位置する植物群である (図 1-17)。ブナ目はカバノキ科やブナ科などをはじめ木本の植物が多く含まれている。ブナ目に属する植物の腺毛分泌物の成分研究は過去に報告例がない。オニグルミ [*Juglans mandshurica var. sieboldiana* (別名 *Juglans ailanthifolia*)] はクルミ科 (Juglandaceae) に属する木本植物で、日本の各地に分布している。筆者は、オニグルミの未熟な果実表面および若い枝 (木化する前) に腺毛が密に分布しており、また比較的粘性の高い油状物質を分泌していることを見いだした (図 6-1)。果実表面に分布する腺毛と若い茎に分布するものと形状は非常に良く似ており、また、先端の分泌組織の形状はキバナツノゴマのものと良く似ていた (図 6-1, 図 2-12)。このような形状的な特徴と分泌物に含まれる化学成分の構造にいったいどのような関係があるのだろうか。また、他の目に属する系統的には異なる植物との間で、腺毛分泌中の二次代謝産物に関してどのような相関があるのだろう。また、キリの未熟な果実にも腺毛が見いだされており、こうした分布場所と分泌物の関係にも興味が持たれる。こうしたことからも、オニグルミの腺毛分泌物の成分研究を行うこととした。クルミ属の成分研究としては、オニグルミの母種のマンシュウグルミ (*J. mandshurica*) (根は、韓国で伝統医薬としてガン治療の目的で用いられている) から naphthoquinone 類や naphthalenyl glucoside 類が単離構されている (Kim et al., 1998; Lee et al., 2002)。



若い枝、葉およびぶそこに発達する腺毛



未熟な果実およびそこに発達するの腺毛

図 6-1. オニグルミの若い枝、葉および未熟な果実とそれらに発達する腺毛

2007 年 9 月に多摩川河川敷に生育するオニグルミより未熟な果実および若い枝に分布する腺毛分泌物をキムワイプにてそれぞれ拭き取り、Et_2O で流しだし、TLC サンプルを調整した。これら 2 つのサンプルは TLC にて同様のスポットパターンを示した。そこで、2008 年 8 月に同じく多摩川河川敷にてオニグルミの未熟な果実 4.5 Kg (170 個) を採取し、Et_2O (2L) に数秒間浸すことで分泌物を大量に集めた。溶媒を減圧下留去し、2.3 g の抽出物を得た。この抽出物を以下に示すスキーム (図 6-2)に従い、(glycosylated fatty-acyl)glycerol フラクション (Fr. OL-1–4) およびダンマラン型トリテルペン (**JM-1–11**) を得た。

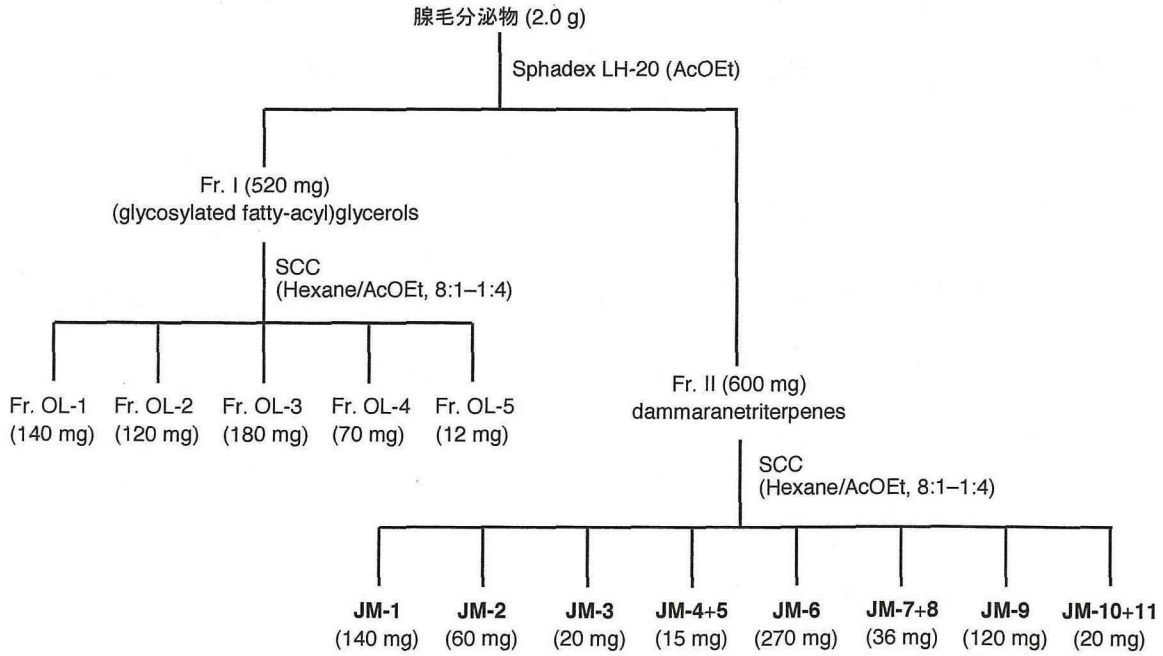


図 6-2. オニグルミの未熟果実の腺毛分泌物の単離精製スキーム

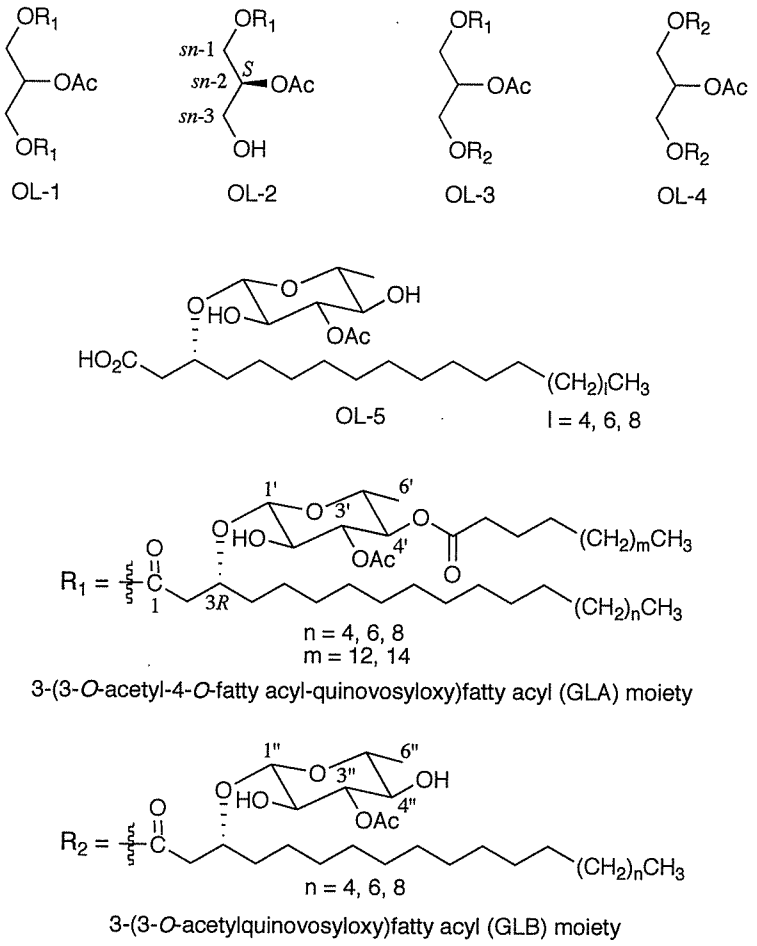


図 6-3. オニグルミ腺毛分泌物の(glycosylated fatty-acyl)glycerol 類の構造

OL-1

Fr. OL-1 は MALDI-TOFMS スペクトルにおいて、*m/z* 1524 (2), 1552 (4), 1580 (8), 1608 (14), 1636 (22), 1664 (24), 1692 (14), 1720 (7), 1748 (3), 1776 (2)に 28 mass unit ずつ異なるシリーズの $[M+H]^+$イオンピークを括弧内に示した比で与えた (図 6-4)。Fr. OL-1 の ^{1}H NMR スペクトルには、トリアシルグリセロールに帰属される 5H 分のシグナル δ 5.25 (*m*, H-*sn*-2), 4.36 (*dd*, *J* = 11.8 ,4.4, Hz, Ha-*sn*-1), 4.12 (*dd*, *J* = 11.8, 5.9 Hz, Hb-*sn*-1), 4.25 (*dd*, *J* = 12.0, 4.6 Hz, Ha-*sn*-3), 4.23 (*dd*, *J* = 12.0, 5.8 Hz, Hb-*sn*-3) (実験の

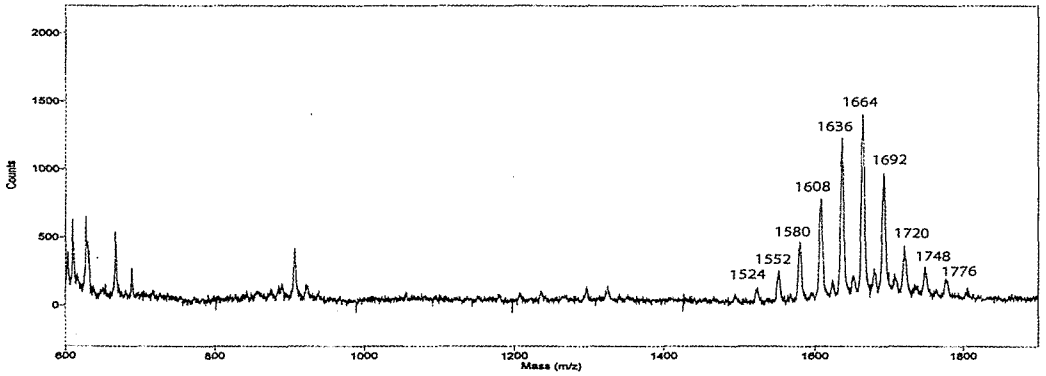


図 6-4. Fr. OL-1 の MALDI-TOF-MS スペクトル

部の *G*-4 参照) が観測された。これらに加えて、6-デオキシヘキソース部に帰属されるシグナル δ 4.42 (*d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′, 2H), 3.52 (*dd*, *J* = 9.4, 7.8 Hz, H-2′, 2H), 5.07 (*t*, *J* = 9.4 Hz, H-3′, 2H), 4.77 (*t*, *J* = 9.4 Hz, H-4′, 2H), 3.50 (*m*, H-5′, 2H), 1.18 (*d*, *J* = 6.2 Hz, H_3-6′, 6H)、3-ヒドロキシ脂肪酸に帰属されるオキシメチン水素 δ 4.08 (*m*, H-3, 2H) および 2 位のメチレンシグナル δ 2.70, 2.53 (*m*, H_2-2, 4H) (表 4-1 参照)、飽和脂肪酸の α 位に帰属されるメチレン水素 δ 2.27 (*t*, *J* = 7.8 Hz, H_2-2′′, 4H), アセチルシグナル δ 2.08 (*s*, 3H), 2.05 (*s*, 6H)、長鎖メチレン鎖 δ 1.25 および末端メチルシグナル δ 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz, 12H) が観測された (表 6-1)。グリセロール部分に帰属されるシグナル以外は、いずれも 2 セットあり、また化学シフトが重なっていることから、2 つの同じもしくは構造的に限りなく近いユニットがグリセロールの 1 位および 3 位にエステル結合していることが示唆された。6-デオキシヘキソース部分の構造については、H-H COSY スペクトルにおける相関により、1′位から 6′位までシグナルを帰属し、また、1′位から 4′位のシグナルに関して、すべて大きなスピン結合定数を有していたこと (表 6-1) および 1′位と 5′位の間に NOE 相関が観測されたことより 3,4-di-*O*-acyl-β-quinovose (3,4-di-*O*-acyl-6-deoxy-β-glucopyranose) と決定した。

^{13}C NMR スペクトルにおいて、5 つのエステルカルボニル δ 172.7, 171.0, 170.9, 170.6, 170.2、キノボースに帰属される 6 つのシグナル δ 102.1 (C-1′), 72.5 (C-2′), 74.2 (C-3′), 73.0 (C-4′), 70.0 (C5′), 17.5 (C-6′)、グリセロール部に帰属される 1 つのオキシメチン

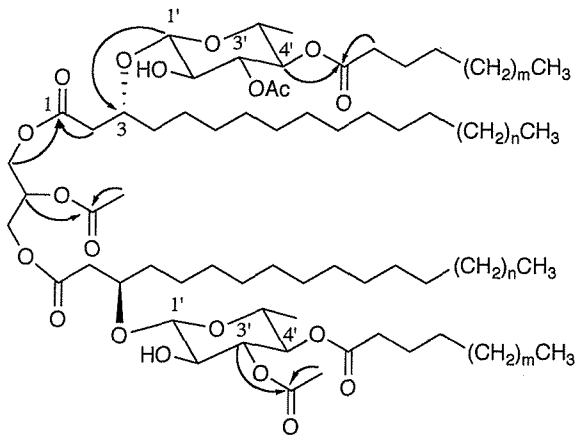


図 6-4. OL-1 の HMBC 相関

炭素 δ 69.1 および 2 つのオキシメチレン炭素 δ 62.3, 62.2 が 3-ヒドロキシ脂肪酸および飽和脂肪酸に由来するシグナルとともに観測された。

図 6-4 に Fr. OL-1 の HMBC スペクトルにおいて検出された、部分構造を結合させるのに重要な相関を示した。Fr. OL-,2, -3, -4 においても同様の相関が観測されたので、部分構造の基本的な結合は同じであることがわかった。すなわち、Fr. OL-1 の HMBC スペクトルにおいて、飽和脂肪酸の 2 位に帰属されるメチレン水素および糖部分の 4 位水素から δ 172.7 のエステルカルボニルに相関が観測されたこと、アセチルメチル δ 2.05 および糖部分の 3 位水素から δ 170.9 のエステルカルボニルに相関が観測されたことより、糖部分の構造は 3,4-di-*O*-fatty acyl-β-quinovose と決定した。また、アノマー水素から 3-ヒドロキシ脂肪酸のオキシメチンに対して相関が観測されたことより、図 6-2 に示したように、3-(3,4-di-*O*-acyl-β- quinovosyloxy)fatty acyl (GLA) 構造が明らかになった。さらに 3-ヒドロキシ脂肪酸の 2 位のメチレン水素およびグリセロール部分の 1 位および 3 位のメチレン水素から δ 172.0 のエステルカルボニルに対して、また、グリセロールの 2 位のオキシメチンとアセチルメチル δ 2.08 から δ 170.6 のエステルカルボニルに相関がそれぞれ観測されたことよりすべての結合が明らかになった。以上より、Fr. OL-1 の構造は 2-acetyl-1,3-di-{[3-(3-*O*-acetyl-4-*O*-fattyacyl-β-quinovosyloxy)]-fatty-acyl}glycerol と決定した。

飽和脂肪酸の組成に関して、Fr. OL-1 の(–)FABMS スペクトルにおいて、分子イオンピークは観測されなかったものの、飽和脂肪酸に由来するフラグメントイオン *m/z* 255 $[CH_3(CH_2)_{14}COO]^-$, 283 $[CH_3(CH_2)_{14}COO]^-$が 1:1 の比で観測されたことから飽和脂肪酸エステルは主にパルミチン酸エステル (C_{16}) およびステアリン酸エステル (C_{18}) であると決定した (図 6-5 参照)。3-ヒドロキシ脂肪酸部分に関しては生合成的な観点から OL-4 および OL-5 と同様な 3-hydroxyoctadecanoate (C_{18}), 3-hydroxyeicosanoate (C_{20}), 3-hydroxydocosanoate (C_{22}) (2:5:1 の比) を主成分とする混合物であると推定した。実際に、$[GLA\text{-}oxy]^-$ に相当するイオンが *m/z* 698, 726, 754, 782, 810 に検出された。先に示した MALDI-TOF-MS における 28 mass unit ごとのシリーズのピークは、上記の飽和脂肪酸部の炭素鎖長ならび 3-ヒドロキシ脂肪酸部の炭素分鎖長の組み合わせによる異性体によるものと理解できる。例えば、2 本の 3-ヒドロキシ脂肪酸がいずれも C_{20} であり、2 組の脂肪酸が C_{16} および C_{18} である場合は主成分である *m/z* 1636 に相当し、2 本の 3-ヒドロキシ脂肪酸がいずれも C_{20} であり、2 本の脂肪酸がいずれも C_{18} である場合は主成分である *m/z* 1664 に相当する。詳細な脂肪酸および 3-ヒドロキシ脂肪酸の組成ならびに後者の 3 位の立体化学に関しては、他の章での脂肪酸分析と同様に分析する必要がある。

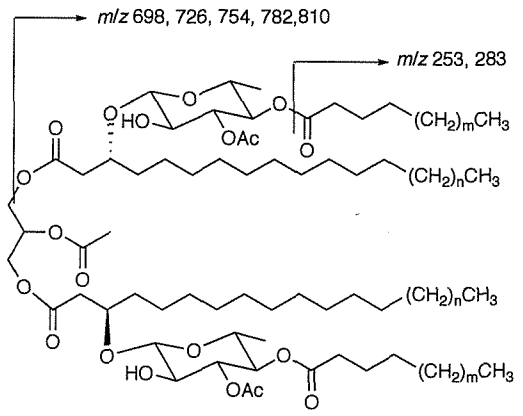


図 6-5. Fr. OL-1 における(–)FABMS フラグメンテーション

表 6-1. ^{1}H NMR spectroscopic data (150 MHz in $CDCl_3$) for Fr. OL-1–5[a]

	OL-1	OL-2	OL-3	OL-4	OL-5
sn-1	4.36(*dd*, 11.8, 4.4)	4.22 (*dd*, 12.2, 6.6)	4.35 (*dt*, 12.0, 4.4)	4.36 (*dd*, 11.8, 4.4)	-----
	4.12 (*dd*, 11.8, 5.9)	4.17 (*dd*, 12.2, 3.6)	4.12 (*ddd*, 12.0, 10.7 6.1,)	4.14 (*dd*, 11.8, 6.2)	-----
sn-2	5.25 (*m*)	5.07 (*m*)	5.25 (*m*)	5.26 (*m*)	-----
sn-3	4.25 (*dd*, 12.0, 4.6)	3.78 (*m*, 2H)	4.25 (*dd*, 12.0, 4.4)	4.27 (*dd*, 12.0, 4.4)	-----
	4.23 (*dd*, 12.0, 5.8)	-----	4.22 (*dd*, 12.0, 5.8)	4.23 (*dd*, 12.0, 5.8)	-----
2	2.70 (*m*, 2H)	2.71 (*dd*, 15.7, 7.2)	2.70 (*m*, 2H)	2.71 (*m*, 2H)	2.71 (*dd*, 15.4, 5.6)
	2.53 (*m*, 2H)	2.68 (*dd*, 15.7, 7.9)	2.54 (*m*, 2H)	2.53 (*m*, 2H)	2.54 (*brd*, 15.4)
3	4.08 (*m*, 2H)	4.10 (*m*)	4.09 (*m*)	4.10 (*m*)	4.12 (*m*)
$-(CH_2)_n\underline{CH_3}$	0.88 (*t*, 7.2, 12H)	0.88 (*t*, 7.2, 6H)	0.88 (*t*, 7.2, 9H)	0.88 (*t*, 7.2, 6H)	0.88 (*t*, 7.2, 3H)
$CO\underline{CH_2}(CH_2)_n$	2.27 (*t*, 7.8, 4H)	2.26 (*t*, 7.8, 2H)	2.25 (*t*, 7.8, 2H)	-----	-----
3-acetyl-4-acyl -quinovose					
1′	4.42 (*d*, 7.8, 2H)	4.42 (*d*, 7.8)	4.42 (*d*, 7.8)	-----	-----
2′	3.52 (*dd*, 9.4, 2H)	3.52 (*dd*, 9.5, 7.8)	3.52 (*dd*, 9.4, 7.8)	-----	-----
3′	5.07 (*t*, 9.4, 2H)	5.07 (*t*, 9.5)	5.07 (*td*, 9.4, 1.9)	-----	-----
4′	4.77 (*t*, 9.4, 2H)	4.77 (*t*, 9.5)	4.77 (*td*, 9.4, 1.9)	-----	-----
5′	3.50 (*m*, 2H)	3.50 (*m*)	3.50(*m*)	-----	-----
6′	1.18 (*d*, 6.2, 6H)	1.19 (*d*, 6.2)	1.18 (*d*, 6.2)	-----	-----
3-acetyl -quinovose					
1′′	-----	-----	4.40 (*d*, 7.8)	4.42 (*d*, 7.8), 4.41 (*d*, 7.8)	4.45 (*d*, 7.8)
2′′	-----	-----	3.47 (*dd*, 9.4,7.8)	3.47 (*dd*, 9.4, 7.8, 2H)	3.48 (*dd*, 9.1, 7.8)
3′′	-----	-----	4.84 (*t*, 9.4)	4.84 (*t*, 9.4, 2H)	4.86 (*t*, 9.1)
4′′	-----	-----	3.28 (*td*, 9.4, 6.6)	3.28 (*td*, 9.4, 6.6, 2H)	3.27 (*t*, 9.1)
5′′	-----	-----	3.36 (*m*)	3.36 (*m*, 2H)	3.37 (*m*)
6′′	-----	-----	1.31 (*d*, 6.1)	1.31 (*d*, 6.2, 6H)	1.31 (*d*, 6.0)
Ac	2.08 (*s*, 3H)	2.10 (*s*, 3H)	2.17 (*s*, 3H)	2.16 (*s*, 6H)	2.16 (*s*, 3H)
	2.05 (*s*, 6H)	2.05 (*s*, 3H)	2.08 (*s*, 3H)	2.08 (*s*, 3H)	
			2.06 (*s*, 3H)		

[a] Multiplicities and coupling constants (*J* in Hz) are in parentheses.

^{13}C NMR スペクトルにおいて 3-glycosyloxyfatty acid の周辺のシグナルが 1:1 の比でわずかに割れていることが観測された (δ 40.4915/40.4914 (C-2)、34.6604/34.5934 (C-4))。この分裂は、*sn*-1 に結合している GLA の 3 位付近と *sn*-3 に結合している GLA の 3 位付近は、グリセロールの *sn*-2 の不斉のためにジアステレオトピックとなり生じると理解される。予想される通り、この現象は Fr. OL-3 および Fr.OL-4 においても認められた。

OL-2

Fr. OL-2 は MALDI-TOF-MS スペクトルにおいて、*m/z* 844 (4), 872 (12), 900 (42), 928 (36), 956 (6) にシリーズの $[M+H]^+$イオンピークを括弧内に示す比で与えた (図 6-6)。Fr. OL-2 の ^{1}H NMR スペクトルにおいて、1,2-ジアシルグリセロールに帰属されるシグナル [δ 5.07 (*m*, H-*sn*-2), 4.22 (*dd*, *J* = 12.2, 6.6 Hz, Ha-*sn*-1), 4.17 (*dd*, *J* = 12.2, 3.6 Hz, Hb-*sn*-1), 3.78 (*m*, H_2-*sn*-3)] (2-1-5 参照) が観測された。また、Fr. OL-1 に見られた、GLA に帰属されるシグナルが観測された。ただし、その積分値より Fr. OL-1 と異なって GLA は 1 組だけ含まれていることがわかった。これらに加えて、アセチルメチルシグナル δ 2.11 (*s*) が観測された。^{13}C NMR スペクトルにおいて、4 つのエステルカルボニル δ 172.7, 171.2, 170.7, 170.5 を含む、1,2-diacylglycerol 構造および GLA 構造に帰属されるシグナルが観測された。HMBC スペクトルにより、すべての部分構造を結合することができた。グリセロールの 2 位の立体化学は *G-2* と同じ方法を用いて

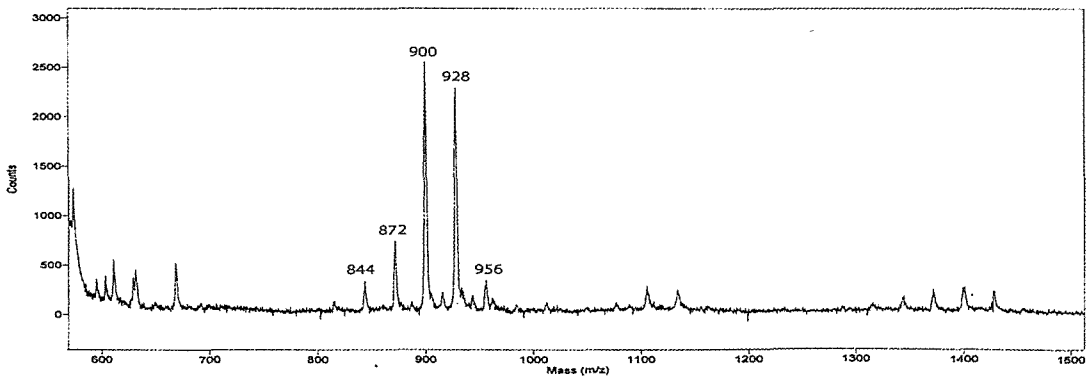


図 6-6. Fr. OL-2 の MALDI-TOF-MS スペクトル

S と決定した。以上より、Fr. OL-2 の構造を 2-acetyl-1-[3-(3-*O*-acetyl-4-*O*-acyl-β-quinovosyloxy)fatty acyl]-*sn*-glycerol と決定した。

飽和脂肪酸部分の組成は (–)FABMS スペクトルにおいて、*m/z* 255 と 283 が 1:1 の比で観測されたことから、Fr. OL-1 と同様、パルミチン酸とステアリン酸の 1:1 の混合物であると決定した (図 6-5 参照)。また、$[GLA\text{-}oxy]^-$ に相当するイオンが *m/z* 698, 726, 754, 782, 810 に OL-1 と同じ強度比で検出されたことから、GLA 部分の組成も OL-1 と同じであることがわかった。また、3-ヒドロキシ脂肪酸の組成に関しては、Fr. OL-1 と同様、Fr. OL-4 および OL-5 との生合成的関連性から主成分は C_{18}, C_{20}, C_{22} と考えられた。MALDI-TOF-MS における *m/z* 844 は C_{16}/C_{18} (飽和脂肪酸/3-ヒドロキシ脂肪酸)、872 は C_{18}/C_{18}, C_{16}/C_{20}、900 は C_{18}/C_{20}, C_{16}/C_{22}, 928 は C_{18}/C_{20} に相当する。

Fr. OL-2 に関して、^1H および ^{13}C NMR スペクトルにおいてマイナーながら 1,3-di-acylglycerol に由来するシグナル[δ 4.15 (*m*, H-*sn*-2), 4.32 (*dd*, *J* = 12.3, 6.2 Hz, Ha-*sn*-1 and Ha-*sn*-3), 4.27 (*dd*, *J* = 12.3, 6.6 Hz, Hb-*sn*-1 and Hb-*sn*-3)]が観測されていたが、第 2 章で記載したように、アシル転位によるアーティファクトである可能性が高く、本章では特に議論はしなかった。

OL-3

Fr. OL-3 は MALDI-TOF-MS スペクトルにおいて、*m/z* 1286 (1), 1314 (3), 1342 (8), 1370 (20), 1398 (36), 1426 (24), 1454 (4), 1482 (1), 1510 (1) に括弧に示した比でシリーズの[M+H]-イオンを示した (図 6-7)。

^1H NMR スペクトルにおいて、Fr. OL-1 と同様、トリアシルグリセロール、3,4-di-*O*-acyl-β-quinovose、3-ヒドロキシ脂肪酸および飽和脂肪酸に帰属されるシグナルが観測された。また、ヒドロキシ脂肪酸のオキシメチンおよび 2 位のメチレン水素の積分値がそれぞれ 2H と 4H、飽和脂肪酸の 2 位のメチレン水素が 2H、末端メチレンシグナルが 9H であったことより、3-ヒドロキシ脂肪酸が 2 組、飽和脂肪酸が 1 組

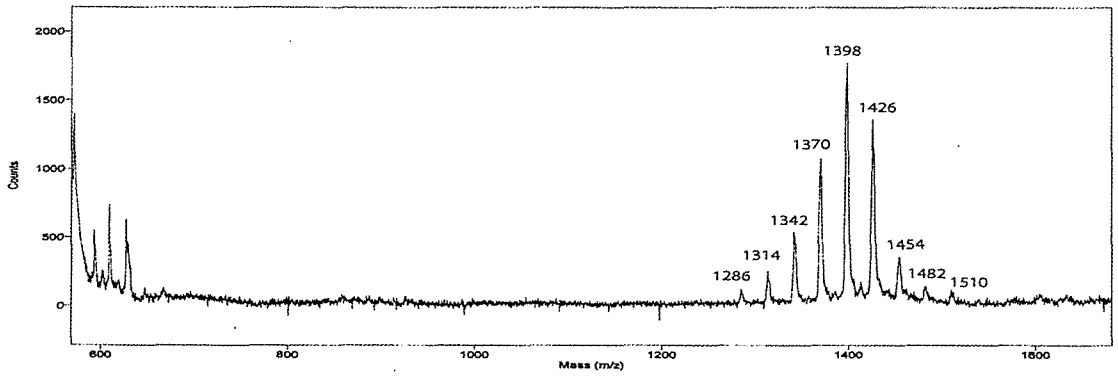


図 6-7. Fr. OL-3 の MALDI-TOF-MS スペクトル

存在することが明らかになった。これらのシグナルに加えて、6-デオキシヘキソースに帰属される一連のシグナル δ 4.40 (*d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′′), 3.47 (*dd*, *J* = 9.4, 7.8 Hz, H-2′′), 4.84 (*t*, *J* = 9.4 Hz, H-3′′), 3.28 (*td*, *J* = 9.4, 6.6 Hz, H-4′′), 3.36 (*m*, H-5′′), 1.31 (*d*, *J* = 6.1 Hz, H_3-6′′)および 3 つのアセチルメチル δ 2.17, 2.08, 2.06 が観測された (表 6-1)。糖部分の構造は H-H COSY、スピン結合定数および NOE スペクトルにより 3-*O*-acyl-β-quinovose であると決定した。

^{13}C NMR スペクトルにおいて、6 つのエステルカルボニル δ 172.9, 172.6, 171.0, 170.9, 170.7, 170.0、3,4-di-*O*-acyl-β-quinovose に帰属される δ 102.0 (C-1′), 72.4 (C-2′), 74.2 (C-3′), 73.0 (C-4′), 70.0 (C5′), 17.5 (C-6′)、3-*O*-acyl-β-quinovose に帰属される δ 102.1 (C-1′), 72.2 (C-2′), 78.2 (C-3′), 74.5 (C-4′), 72.1 (C5′), 17.6 (C-6′)、トリアシルグリセロール部に帰属される 1 つのオキシメチン炭素 δ 69.1 および 2 つのオキシメチレン炭素 δ 62.3, 62.2 が 3-ヒドロキシ脂肪酸および飽和脂肪酸に由来するシグナルとともに観測された。HMBC スペクトルにおいて、δ 2.08 のアセチルメチおよびグリセロールの 2 位水素から δ 170.0 のエステルカルボニルへ、δ 2.06 のアセチルメチルおよび 3,4-di-*O*-acyl-β-quinovose の 3 位水素から δ 170.7 のエステルカルボニルに対して、同じく 4 位水素と飽和脂肪酸の 2 位メチレン水素から δ 172.9 のエステルカルボニルへ、3-*O*-acyl-β-quinovose の 3 位および δ 2.17 のアセチルメチルから δ 172.6 のエステルカルボニルへ相関が観測されたことより、それぞれ 2-acetyl-1,3-diacylglycerol、

3-*O*-acetyl-4-*O*-acyl-β-quinovose および 3-*O*-acetyl-β-quinovose の存在が明らかになった。また、2 種類の糖部分はいずれもアノマー位にて 3-ヒドロキシ脂肪酸と結合していることも HMBC スペクトルによりわかった。以上より Fr. OL-3 は GLA 構造と GLB 構造がグリセロールの 1 位および 3 位にエステル結合した化合物であることが示された。従って、Fr. OL-3 は 2-acetyl-1-[3-(3-*O*-acetyl-4-*O*-acyl-β-quinovosyloxy)fatty acyl]-3-[3-(3-*O*-acetyl-β-quinovosyloxy)fatty acyl]glycerol であると決定した。

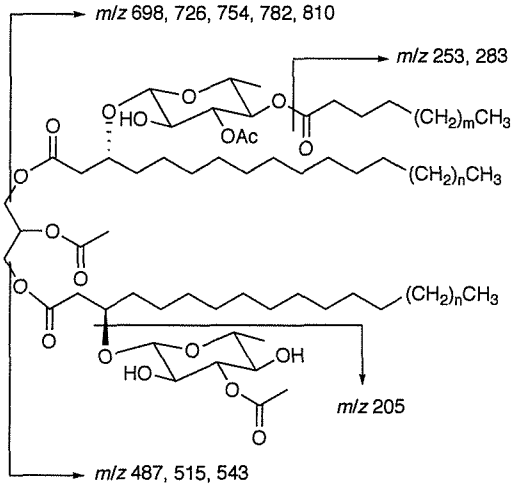


図 6-8. Fr. OL-3 における(–)FABMS フラグメンテーション

Fr. OL-3 の(–)FABMS スペクトルにおいて、Fr. OL-1 および 2 と同様のイオンピーク *m/z* 255 および 283 が観測されたことより、キノボースの 4 位に結合した脂肪酸は炭素数 C_{16} および C_{18} の混合物であることがわかった(図 6-8)。また、$[GLB\text{-}oxy]^-$ に相当するイオンピークが *m/z* 487, 515, 543 に 2:5:1 の比で観測されたことより、3-ヒドロキシ脂肪酸の炭素鎖は 18, 20, 22 が 2:5:1 の比であると決定した。また、$[GLA\text{-}oxy]^-$ に相当するフラグメントイオンが Fr. OL-2 の場合と同様な強度比で *m/z* 698, 726, 754, 782, 810 に観測されたことから、OL-2 と OL-3 における GLA 部分の炭素鎖長の組み合わせは同じであることがわかった。(–)FABMAS スペクトルでは、さらに *m/z* 205 に 3-*O*-acetyl-β-quinovose に由来するピークも観測された。これらのデータからも、Fr. OL-3 の構造が支持された。

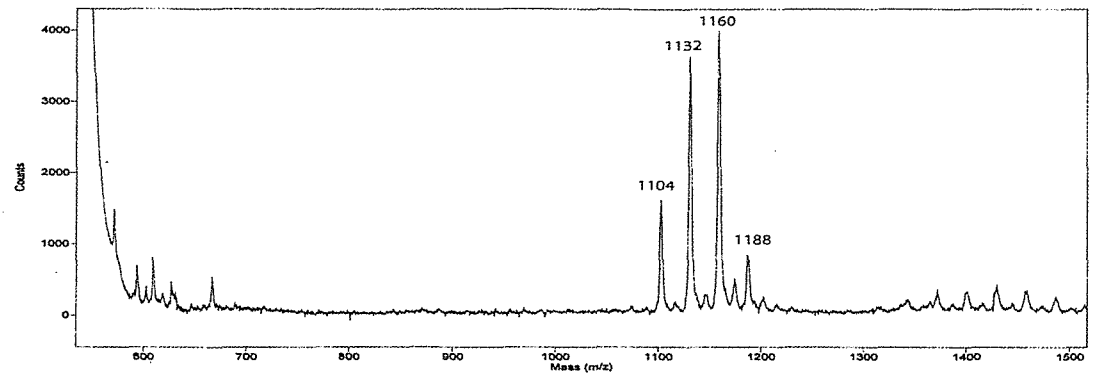


図 6-8. Fr. OL-4 の MALDI-TOF-MS スペクトル

OL-4

Fr. OL-4 は MALDI-TOF-MS において *m/z* 1104 (18), 1132 (36), 1160 (38), 1188 (8) にシリーズの $[M+H]^+$イオンピークを括弧内に示した比で与えた (図 6-8)。^{1}H NMR スペクトルにおいて、トリアシルグリセロールに帰属されるシグナル、**GLB** 構造に帰属される 2 組のシグナル、3 つのアセチルメチルシグナルを与えた。^{13}C NMR スペクトルデータも上記の部分構造に対応するシグナルが観測された。さらに、HMBC スペクトルによりこれらの部分構造は一義的に結合できた。以上より、Fr. OL-4 の構造を 2-acetyl-1,3-di-[3-(3-*O*-acetyl-β-quinovosyloxy)]fatty acyl]glycerol と決定した。(–)FABMS スペクトルにおいて、Fr. OL-3 の時と同様に $[GLB\text{-}oxy]^-$イオンが *m/z* 487, 515, 543 に 2:5:1 の比で観測されたことより、3-ヒドロキシ脂肪酸は炭素数 18, 20, 22 の 2:5:1 の混合物であることがわかった (図 6-5 参照)。

OL-5

Fr. OL-5 は、(–)HRFABMS スペクトルにおいて *m/z* 487.3276, 515.3535, 543.3865 $[M–H]^-$に偽分子イオンピークを与え、分子式 $C_{26}H_{48}O_8$, $C_{28}H_{52}O_8$, $C_{30}H_{56}O_8$ の混合物と推定された。(–)FABMS では、*m/z* 487, 515, 543 イオンの強度比は 2:5:1 であった。さらに、それぞれのイオンピークから 3-*O*-acetyl-β-quinovose (MW 206) が脱離した *m/z* 281, 309, 337 も同様の比で観測された。^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルデータを

Fr. 4のものと比較することで、Fr. OL-5は3-(3-*O*-acetyl-β-quinovosyloxy)fatty acid (GLB acid)であることがわかり、分子式から3-ヒドロキシ脂肪酸の炭素数は18, 20, 22と求まった。以上より、OL-5は3-(3-*O*-acetyl-β-quinovosyloxy)octadecanoic acid, 3-(3-*O*-acetyl-β-quinovosyloxy)eicosanoic acid, 3-(3-*O*-acetyl-β-quinovosyloxy)docosanoic acidの2:5:1の混合物であると決定した。

ダンマラントリテルペン

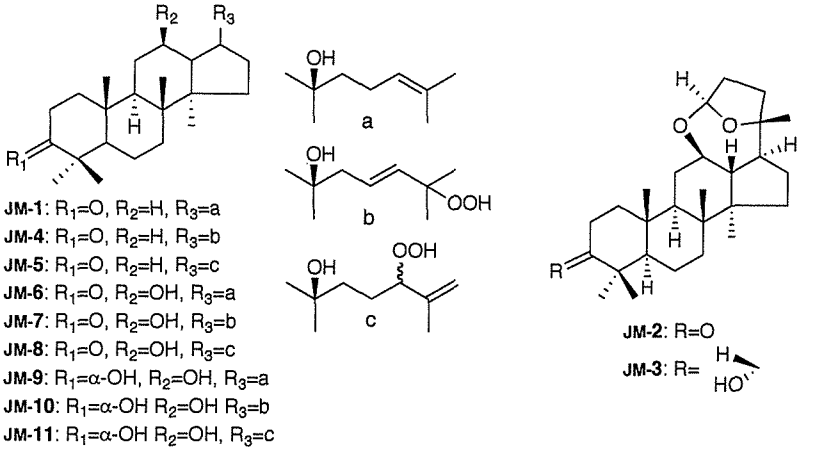


図6-9. オニグルミ腺毛分泌物に含まれるダンマラントリテルペンの構造

オニグルミの腺毛分泌物よりダンマラントリテルペン **JM-1–11** を得た (図 6-9)。**JM-1,-6,-9,-2** は報告されているスペクトルデータと比較することでそれぞれ、hydeoxydammarane II (**CY-3**), betulafolienediolone, betulafolienetriol (**IP-11**) (Asakawa et al., 1977), cylindrictone D (Tu et al., 2008) とそれぞれ同定した。また、**JM-10** および **JM-11** は probosciderol D (**IP-15**) および E (**IP-16**) と同定した。**JM-4, -5, -6** および **JM-7** はそれぞれ ^{1}H NMR スペクトルを、化合物 **IP-15, 16** と比較することで側鎖の構造および12位のα-水酸基の存在の有無を決定でき、また、**JM-1** のスペクトルと比較することにより3-ケト構造を明らかにすることができ、従って、図6-9に示した構造であると推定した。**JM-4, -5, -6** および **JM-7** は新規構造のため、詳細な構造決定については現在行っている。

化合物 **JM-3** は HREIMS スペクトルよりその分子式を $C_{27}H_{44}O_3$ と決定した。**JM-3** の ^1H および ^{13}C NMR スペクトルは、A 環に帰属されるシグナルを除いて、特徴的なヘミアセタールのシグナル δ_H 5.56 (*d*, *J* = 5.9 Hz), δ_c 102.2 を含めて **JM-2** のスペクトルデータと良い一致を示したことより、A 環以外の構造が同じノルダンマラントリテルペンであるとわかった (表 6-2)。また、A 環の構造は 2-2 に記載したトリテルペンのスペクトルと比較することで、3 位に α-OH 基を有する構造と決定した。以上より、**JM-3** の構造を **JM-2** の 3 位ケトンが α-OH に置換した化合物であると決定した。

表 6-2. ^{13}C NMR data (150 Hz, $CDCl_3$) for compounds **JM-2** and **3**[a]

Compound	**JM-3**	**JM-2**
1	33.5	39.7
2	25.4	34.0
3	76.1	217.7
4	37.6	47.3
5	49.5	55.2
6	18.2	19.6
7	34.6	34.0
8	39.8	39.5
9	49.4	49.1
10	37.3	37.2
11	30.1	30.6
12	73.9	73.5
13	47.6	47.3
14	49.9	49.7
15	31.9	31.9
16	23.7	23.7
17	52.8	52.7
18	15.7	15.7
19	16.0	15.8
20	87.6	87.6
21	26.9	26.9
22	28.9	28.8
23	37.2	37.2
24	102.2	102.2
28	28.3	26.8
29	22.1	21.0
30	17.1	16.9

[a] Assignments for all compounds were based on COSY, HMQC and HMBC experiments.

6-2. ブナ目植物の腺毛分泌物についてのまとめ

オニグルミの腺毛分泌物中には 2 つの化合物群、(glycosyloxy-fatty acyl)glycerol 類 (マイナー成分 OL-5 は glycosyloxy-fatty acid であった) とダンマラン型トリテルペンが含まれていた。2 つの群のトータルの割合はほぼ同程度であった。(glycosyloxy-fatty acyl)glycerol 類には 2 つの脂肪酸ユニット GLA および GLB が含まれており、グリセロール部分の置換様式の違う 4 つのフラクションが得られた。GLA および GLB に含まれる糖はキノボースであり、このように脂肪酸の 3 位にキノボースが置換した構造は初めてであり、また、グリセリドとして存在しているものも新規構造であった。Fr. OL-1–4 は分子量が非常に大きい化合物で、Fr. OL-1 では 1600 程度であった。脂肪鎖部位に関して、3-ヒドロキシ脂肪酸は主に C_{18}, C_{20}, C_{22} であり、飽和脂肪酸は主に C_{16} および C_{18} であった。

ダンマラン型トリテルペンに関して、天然では珍しい、C-25–C27 が切断されてヘミアセタールを介した環状構造を有する新規ノルダンマラントリテルペン **JM-3** が得られた。3 位がケト型の類縁体である **JM-2** も、*Viburnum cylidricum* の葉からのみ単離報告例がある (Tu et al., 2008)。また、オニグルミの腺毛に含まれるダンマラントリテルペンの特徴として、3 位ケト型の化合物が多かった (**JM-1, 4, 5, 6, 7, 8**)。これらのうち、推定構造ながら側鎖にヒドロペルオキシ基を有する **JM-4, 5, 7, 8** は新規化合物であった。

オニグルミでは、若い茎、葉、未熟な果実に腺毛が発達していた。いずれの場所に分布している腺毛も先端にラグビーボール状の細胞が並んでいた (図 6-1)。また、分泌細胞には黄色色素が含まれているなどの特徴もほぼ同じであった。オニグルミの腺毛分泌物の成分は、その分布場所によらず同じであった (キリは幼木の茎や葉の腺毛と成木での未熟な果実表面に分布する腺毛とでは分泌物が全く異なっていた)。さらに、東京と仙台のオニグルミの腺毛分泌物の成分を比較したところほとんど差がないことも確認した。このことより生育地域による差もほとんどないことが示唆された。

本章の冒頭で述べた様に、ブナ目はバラ目と系統的に近い。第4章でバラ目についてソメイヨシノとカジイチゴの2つの植物の腺毛分泌物を調べたが、バラ目の中でも、同じ木本であるソメイヨシノと本章で述べたオニグルミとでは腺毛分泌物に含まれる成分は詳細な化学構造は異なるものの、いずれも (glycosylated fatty acyl)glycerol とダンマラントリテルペンからなるという共通点を有しており、系統的な近縁さと分泌物の類似性との間に相関が見られた。

第 7 章　その他の目に属する植物の腺毛分泌物の成分

2 章から 6 章までは比較的時間をかけて調べた目の実験結果について述べたが、本章では、これらの目以外でフィールドワークにより腺毛が見いだされた 3 つの目の植物、ユリ目ユリ科ホトトギス、キク目キク科ノブキ、ナス目ナス科 *Nicotiana sylvestris* について述べる。

7-1. ユリ科ホトトギスの腺毛分泌物

ホトトギス (*Tricyrtis hirta*) はユリ目 (Liliales) ユリ科 (Liliaceae) の多年草であり、秋に開花する。開花前のつぼみの表面に腺毛を発達させていることを見いだした（図 7-1)。ユリ科は進化の初期の段階で分岐した植物であり（図 1-15)、腺毛分泌物の成分が他の植物とどのような関係にあるのか興味が持たれるが、ユリ目植物の腺毛分泌物の成分研究は行われていない。そこで、東北大学薬学部付属薬用植物園にて、2009 年 9 月、ホトトギスのつぼみをキムワイプにて拭き腺毛分泌物を採取した。



図 7-1. ホトトギスとその腺毛

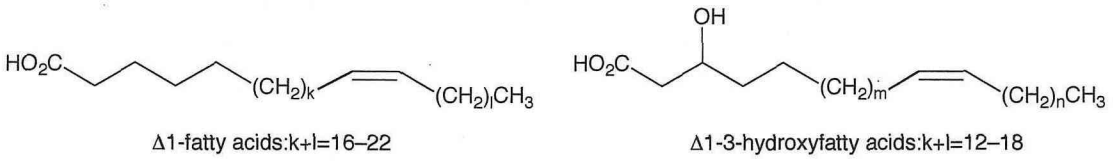


図 7-2. ホトトギス腺毛分泌物中に見られる脂肪酸類の構造

この分泌物はTLCにて2つの主スポットを示し（**TH-1**: Rf=0.44, **TH-2**: Rf=0.26 in $CHCl_3$/MeOH, 20:1)、これらをシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて分離した。**TH-1** は ^{1}H NMR スペクトルデータ [δ: 5.34 (*m*, 2H), 2.34 (*t*, *J* = 7.4 Hz, H_2-2, 2H), 2.01 (*m*, 4H), 1.25 (*m*, CH_2), 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz)] から、Δ1-脂肪酸と決定した。**TH-2** も同様に、^{1}H NMR データ [δ: 5.34 (*m*, 2H), 3.92 (*m*, H-3), 2.44 (*m*, Ha-2), 2.28 (*m*, Hb-2), 2.01 (*m*, 4H), 1.52-1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz)] に基づき、3-ヒドロキシ-Δ1-脂肪酸と決定した（図 7-2）。また、**TH-1** はメチルエステル体として、**TH-2** はメチルエステルのTMS 誘導体として EIMS 分析を行った。MS スペクトルデータより、**TH-1** は炭素数が C_{24} (4), C_{25} (4), C_{26} (24), C_{27} (19), C_{28} (26), C_{29} (19), C_{30} (4) の混合物であることがわかった (括弧内の%は MS スペクトルの M^+イオンの強度比から見積もった)。**TH-2** は同様に C_{20} (4), C_{21} (6), C_{22} (46), C_{23} (11), C_{24} (28), C_{25} (1), C_{26} (4) の混合物とわかった。cis-二重結合の位置に関してはまだ、決定していないが、2-4 と同様、ジメチルジスルフィドを用いた方法により決定できると考えている。

ホトトギスの変種のシロホトトギス（*Tricyrtis hirta* var. *albescens*）にも同じような腺毛が存在しており、その分泌物から Δ1-脂肪酸および 3-ヒドロキシ-Δ1-脂肪酸が得られた。

7-2. キク科ノブキの腺毛分泌物

キク目 (Asterales) では、第 1 章で記載したように、キク科 (Asteraceae) の植物でいくつかの報告例がある。しかしながら、それらの植物はヒマワリ属近縁の中南米の植物が大半である。一方ノブキ (*Adenocaulon himalaicum*) はヒマラヤ原産ではあるが、日本全国の山間部の半日陰によく見られる野草である。ノブキの種子には肉眼ではっきりと確認できるほど大きな腺毛があり、非常に粘性の高い油状物質を分泌している。メナモミ *Siegesbeckia pubescens*（キク科）は似た形態をもち果実の腺毛から粘着性の油状物質を分泌し、獣の毛に付着し種子の散布に役立っているとされており、ノブキ



図 7-3. ノブキの果実とその腺毛およびメナモミの果実（右）

の腺毛分泌物も同様な目的で使用されているものと考えられるが、これらの成分に関する研究の報告はない。

ノブキの種子を東京都内の山道にて採取し、種子の腺毛部分だけを Et_2O に数秒間浸すことで、抽出物を得た。この抽出物は TLC において 1 つのスポットを与えた (Rf=0.35 in $CHCl_3$/MeOH, 20:1)。FABMS スペクトルにおいて、擬分子イオンピーク *m/z* 517 が観測された。^{1}H NMR スペクトルにおいて、1,2,3,6-*O*-tetracyl-*myo*-inositol に帰属される 6H 分のオキシメチン水素 δ 5.59 (*t*, *J* = 3.4 Hz, H-1), 5.05 (*dd*, *J* = 11.3, 3.4 Hz, H-2), 5.34 (*t*, *J* = 11.3 Hz, H-3), 3.89 (*t*, *J* = 11.3 Hz, H-4), 3. 55 (*t*, *J* = 11.3 Hz, H-5), 4.98 (*dd*, 11.3, 3.4 Hz, H-6) が観測された。^{13}C NMR スペクトルにおいても 4 つのエステルカルボニル δ 175.3, 172.6, 172.3, 171.8, 171.7、6 つのオキシメチン δ 68.4 (C-1), 68.9 (C-2), 70.2 (C-3), 70.9 (C-4), 71.3 (C-5), 73.0 (C-3) が観測された。この他に、^{1}H および ^{13}C NMR スペクトルにおいて、2-メチルブチリル基 および 3-メチルブチリル基に帰属されるシグナルが観測された。これらのことから、*myo*-inositol の 1,2,3,6 位が 2-メチルブチリル基および 3-メチルブチリル基のいずれかでエステル化されている化合物であることがわかった。この *myo*-inositol ester を TMS 化して GLC および GC-MS 分析を行った結果、4 本のメジャーピークを与え (**AH-1-di-TMS, AH-2-di-TMS, AH-3-di-TMS, AH-4-di-TMS**) (図 7-4)、また、それぞれ同じ EIMS スペクトルを与えたことより、この 4 つの主成分は、脂肪酸エステルの置換位置異性体であることが示された。このことは ^{1}H および ^{13}C NMR において、GLC のピーク比と同程度の強度比

で、*myo*-inositol 部分に帰属されるシグナルがわずかに分裂していたこととも矛盾しない。順層カラムクロマトグラフィー、逆相 HPLC、TLC を用いて分離を試みたが困難であることがわかった。しかしながら、^{13}C NMR スペクトルにおける主成分のシグナルだけを拾って帰属すると、*myo*-inositol 部分以外に、3 つの 3-メチルブチリル基に帰属されるシグナル δ 172.7, 172.3, 171.8, 43.1, 43.0, 42.8, 22.2-22.1 (6C), 25.5, 25.4, 25.2 および 1 つの 2-メチルブチリル基 δ 175.3, 41.2, 26.6, 16.8, 11.4 が観測され (Netzel et al., 1981, Dickschat et al., 2005)、また、HMBC スペクトルにおいて 2-メチルブチリル基に帰属されるエステルカルボニル対して、*myo*-inositol の 1 位水素から相関が観測されたことより (図 7-5)、主成分である **AH-2** の構造は図 7-5 に示した *myo*-inositol のテトラエステルとと決定した。**AH-1**, **-3**, **-4** については **AH-2** の脂肪酸エステル置換様式の異性体であると考えられるが、詳細な構造決定に先立ってこれらの有効な分離方法を見いだすことが必要である。

このように、ノブキの腺毛分泌物は、4 つの主成分 (**AH-1-4**) の混合物であるが、*myo*-inositol エステルのみで構成されていた。このようなイノシトールエステル類は脂肪酸エステル部の構造が異なっているものの、第 1 章に記載したヒマワリ属植物の腺毛分泌物として見いだされている。この結果は、これら以外にも他のキク科植物腺毛分泌物にも含まれている可能性がある。実際に、腺毛成分かどうかはっきりしないが、*Marshallia tenuifolia* および *Arnica angustifolia* からイノシトールエステル類の報告がある (Herz et al., 1987; Schmidt et al., 1995)。

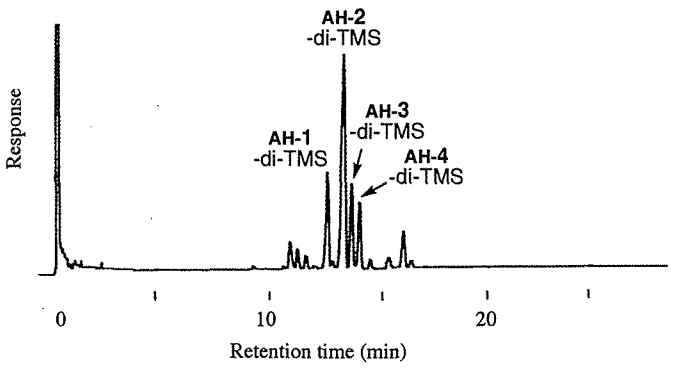


図 7-4. ノブキ腺毛分泌物の TMS 体の GLC クロマトグラム

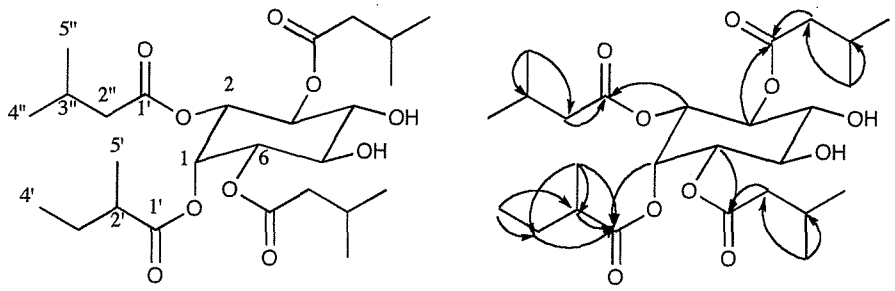


図 7-5. ノブキ腺毛分泌物の主成分 **AH-2** の構造およびその主な HMBC 相関

7-3. ナス科 *Nicotiana sylvestris* の腺毛分泌物

東山動植物園にて、*N. sylvestris* の腺毛分泌物をキムワイプにて採取したものを Et_2O で洗い流し、抽出物を得た。これらは 2 つの主スポットを示した。それぞれ単離精製し、1H NMR スペクトルデータによりそれぞれ cembratriene-diol および cembratrien-ol と決定した (図 1-5)。これらは *N. gossei* の腺毛分泌物と同じであった。最近、cembrantrien-ol 生合成酵素が腺毛特異的に発現していることが明らかにされ (Ennajdaoui et al., 2010)、これらの化合物が腺毛で特異的に生合成されていることが示された。

第 8 章　総　　括

第 2 章から 7 章にかけて、8 目 12 科 15 属 18 種の植物を対象に、有頭型腺毛分泌物の成分研究の結果を記載した。また、当初の目的通り、ほとんどの化合物が新規構造を有していた。さらに、これらの化合物は植物の他の組織にはほとんど存在せず、腺毛分泌物中に偏在していることも明らかにした。以下、本研究で得られた結果をもとに考察を進める。

8-1.　腺毛の分布場所と二次代謝産物の組成

腺毛は植物表面の様々な場所に発達していた。本研究で対象にした植物のうち、キリ、キバナツノゴマ、ソメイヨシノ、オニグルミに関して、腺毛の発達している場所ごとに区別して、分泌物に含まれている成分を比較した。その結果、キリだけが幼木の葉と未熟な果実表面の腺毛とで二次代謝産物が全く異なっており、その他の植物は部位によらず同じ成分を分泌していることがわかった。腺毛の形状に関して、キリ以外はどの部位でも同じ形状の腺毛を有していたが、キリの場合は、図 2-1 の様に、違う種類の腺毛が発達しており、これが成分の違いの要因になっていると考えられる。本研究から、同一個体上で、同じ形状の腺毛は同じ二次代謝産物を分泌している可能性が高いと言える。

8-2.　腺毛分泌物に含まれていた化学物質の構造

続いて、本研究での成分研究および第 1 章で記載した過去の研究で見いだされた化合物を生合成の観点をふまえた構造的特徴にもとづき大きく 4 つに分類した。はじめに最も多くの植物中に見いだされたヒドロキシ脂肪酸部分を有する化合物、次いで多くの植物に見られた糖を含む化合物、そしてテルペン類、最後に芳香族ポリケチドの順で述べる。

長鎖ヒドロキシ脂肪酸構造を有する化合物群

本研究で対象にした 18 種の植物のうち 12 種の腺毛分泌物に、長鎖ヒドロキシ脂肪酸構造を有する化合物が含まれており、ヒドロキシ脂肪酸関連化合物が腺毛分泌物において一般的な構造であることがわかった。腺毛分泌物として長鎖ヒドロキシ脂肪酸構造を有する化合物の報告は過去には例がなく、本研究が初めてであった。進化の初期に分岐したユリ科のホトトギスには (図1-17) 最も単純な3-ヒドロキシ脂肪酸が含まれており、バラ科のカジイチゴではそのアセチル体である 3-アセチルオキシ脂肪酸が含まれていた。ゴマ科の *Uncarina* 属植物には、3-ヒドロキシ/3-アセチルオキシ脂肪酸に加えて、3,5-ジヒドロキシ/3,5-ジアセチルオキシ脂肪酸、さらにもう 1 つ酸素官能基を有した脂肪酸が含まれていた。フリーのカルボン酸で言えば、ツノゴマ科のキバナツノゴマでは 6-ヒドロキシ脂肪酸が、ツノゴマでは 8-ヒドロキシ脂肪酸がそれぞれグルコシル化された化合物が主成分として含まれていた。ナデシコ科のシロバナマンテマやオランダミミナグサでは、キバナツノゴマやツノゴマに含まれていたグルコシル化された脂肪酸のカルボン酸がグルコースの水酸基 (シロバナマンテマでは 2 位が、オランダミミナグサでは 6 位がそれぞれ脂肪酸エステル化されていた) と分子内エステル結合することにより生じる大環状化合物が含まれていた。また、ヒドロキシ脂肪酸は遊離脂肪酸としてではなくグリセリドとして存在しているものも多かった。いずれもシソ目に属するキリの幼木、キバナツノゴマおよびツノゴマ、ヤセウツボでは、モノヒドロキシ脂肪酸/ジヒドロキシ脂肪酸およびそれらのモノ/ジアセチル体がグリセロールの *sn*-2 位にエステル化したグリセリドが共通してみられた。このとき、脂肪酸エステルは 1 つであり、他の水酸基はフリーもしくはアセチル化されていた。バラ目バラ科のソメイヨシノの分泌物の主成分もグリセリドであり、脂肪酸鎖は 1 本であったが、脂肪酸部分は 3 位にラムノースとグルコースからなる二糖構造を有するグリコシルオキ脂肪酸であり、また、脂肪酸エステルの位置もグリセロールの *sn*-1 位とシソ目に見られるグリセロール類と異なっていた。

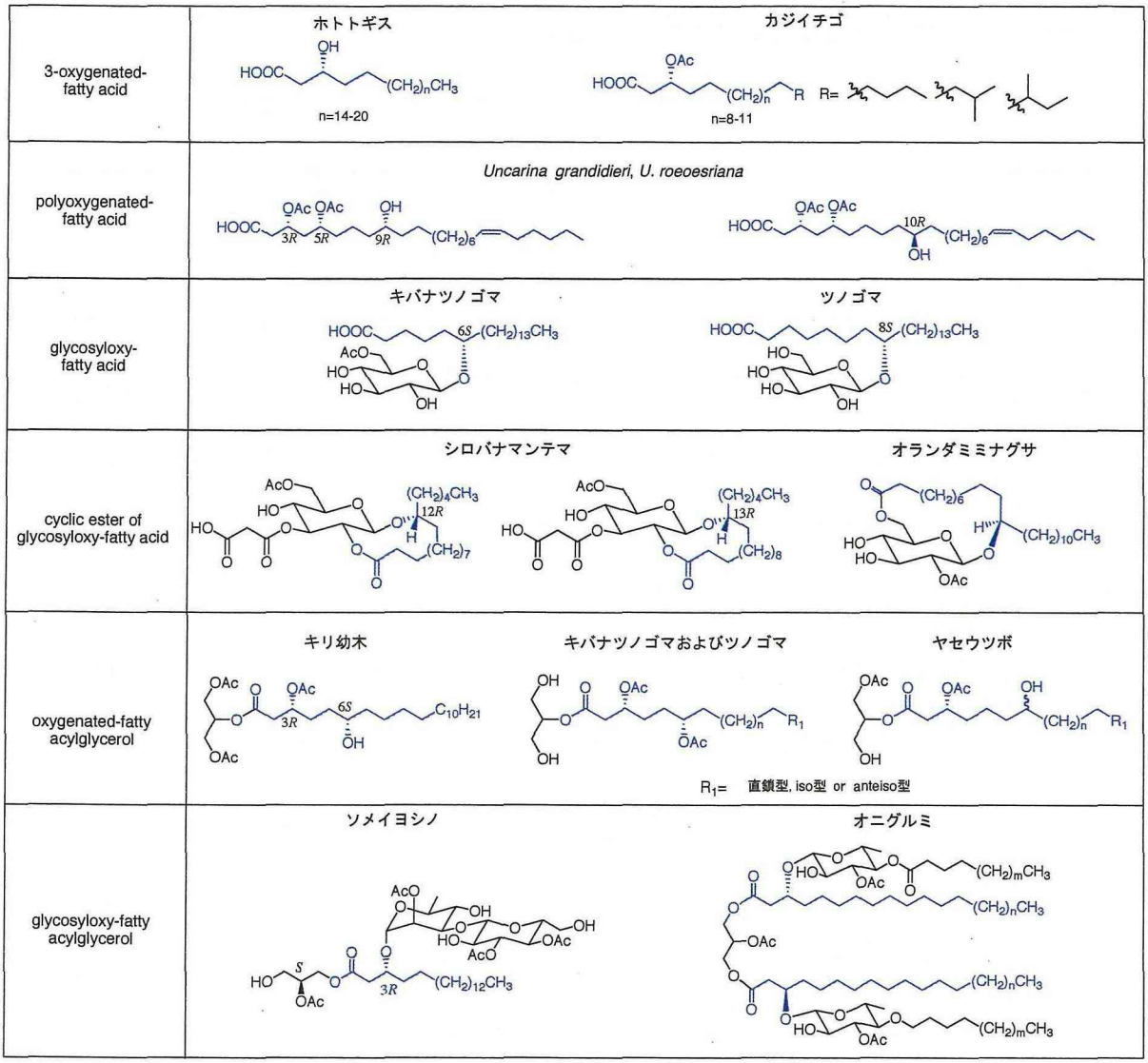


図 8-1. ヒドロキシ脂肪酸関連化合物の構造

ブナ目クルミ科のオニグルミの腺毛分泌物中にも主成分としてグリセロール類が含まれており、脂肪酸部分はソメイヨシノと同じく 3 位水酸基にキノボースが結合したグリコシルオキシ脂肪酸であり、ブナ目とバラ目が系統的に比較的近縁であることと良く一致しているが、グリセロールに体する脂肪酸エステルの数は、1 つのものもあったが、大半は 2 つで、分子量も非常に大きい分子であった。以上、ヒドロキシ脂肪酸の修飾に関して、構造的相関がつながるように順を追って説明した。

続いて脂肪酸の鎖長に関して述べる。本研究で明らかにしたヒドロキシ脂肪酸関連化合物の鎖長に関して、キリ (C_{18}, C_{20})、*Uncarina* 属植物 (C_{22}, C_{24}, C_{26})、シロバナマ

ンテマ (C_{18})、オランダミミナグサ (C_{22})、ソメイヨシノ (C_{18})、オニグルミ (C_{18}, C_{20}, C_{22}) はいずれも偶数鎖長の脂肪酸からなっていた。一般的に脂肪酸生合成において、スターターとしてアセチル CoA (C_2) が、伸長ユニットとしてマロニル CoA が用いられ、2 炭素ずつ伸びていくため偶数炭素の脂肪酸が作られる。このことから、上記の植物の腺毛分泌物に見られるヒドロキシ脂肪酸は通常通り原料にアセチル CoA を伸長単位としてマロニル CoA が用いられていると考えられる。一方、ホトトギス (C_{20}-C_{26})、カジイチゴ (C_{18}-C_{21})、キバナツノゴマ (C_{17}-C_{21})、ツノゴマ (C_{17}-C_{21})、ヤセウツボ (C_{18}-C_{22})ではそれぞれ連続した炭素数の脂肪酸鎖が含まれていた。先にあげた脂肪酸生合成を考慮に入れると、奇数炭素の脂肪酸が稀であることがわかる。これら奇数炭素鎖を有する植物のうち、キバナツノゴマ、ツノゴマ、ヤセウツボおよびカジイチゴは、末端構造に直鎖型、iso 型、anteiso 型を有しており、いずれの植物においても、直鎖型と iso 型は奇数および偶数炭素鎖に見られるが、anteiso 型は奇数炭素鎖だけで見られた。これらの特徴をふまえると、直鎖型はスターターとして、アセチル CoA (C_2) およびプロピオニル CoA (C_3) が、iso 型では isobutyryl CoA (C_3)および 3-methylbutylyl CoA (C_4) が、anteiso 型では 2-methylbutyryl CoA (C_4) が用いられていることによると考えられる。また、これらのスターターユニットは、いずれもアミノ酸由来と考えられる。すなわち、アセチル CoA はアラニン、プロピオニル CoA はトレオニン、isobutyryl CoA はバリン、3-methylbutyryl CoA はロイシン、2-methylbutyryl CoA はイソロイシンよりそれぞれ生合成されていると考えられる (Grice et al., 2008; Kroumova et al., 1994)。このように、いくつかの腺毛では、一般的な脂肪酸生合成とは異なり、アミノ酸由来の様々なスターターユニットを用いる独自の脂肪酸生合成経路が発達しているという興味深い特徴が示された。実際、タバコの葉表面に見られる分岐鎖脂肪酸生合成研究において、安定同位体の取り込み実験によりアミノ酸をスターターユニットの原料にする生合成経路の存在が明らかにされている (Kandra et al., 1990)。しかし、アミノ酸をスターターユニットの原料に用いる生合成系を有してい

ると考えられる植物であっても、キバナツノゴマ、ツノゴマおよびヤセウツボでは直鎖型が主成分であったものの詳細な組成比に違いが見られたこと、さらに、カジイチゴでは分岐型 (iso 型および anteiso 型) が主であるという植物成分では非常に珍しい特徴を有している等、植物ごとに好んで用いられるスターターユニットが異なることがわかった。続いて、酸素官能基化されている位置および立体化学について議論する。本研究で得られたヒドロキシ脂肪酸のうち、3 位に酸素官能基を有するものの立体化学はすべて 3*R* であった。脂肪酸生合成において、奇数の位置に酸素官能基がある場合、伸長過程にケトンが還元される際生じるオキシメチンがその後脱水されずに残ったと考えられ、この時にできる立体化学は *R* であることが一般的に知られている。このことより、これらの 3 位の酸素官能基は伸長過程によって構築されたと考えられる。*Uncarina* 属では 5 位のオキシメチンも *R* であったことより、3 位および 5 位は炭素鎖伸長過程に形成されたものと推測できる。一方、*Uncarina* 属の 9 位と 10 位（いずれも R)、オランダミミナグサの 9 位、10 位、11 位（いずれも R)、シロバナマンテマの 12 位と 13 位（いずれも *R*）の水酸基の導入は、水酸化酵素によるものと考えられるが、共通して *R* の立体化学を有する点は大変興味が持たれる。キリの幼木の場合も、7 位、8 位、9 位がいずれも *R* であり、同様に水酸化酵素によるものと考えている。但し、キリの 6 位においては例外的に *S* であり、キバナツノゴマ、ツノゴマにおいても同様であった。従って、6 位の水酸基の導入に関しては、他の部位とは立体特異性の異なる酵素の存在を考えなければならない。

分子内に糖を有する化合物群

糖を分子内に有する化合物は、本研究において扱った 18 種の植物のうち 10 種の植物に見いだされた。糖を分子内に有する化合物に関しては、第 1 章に記載したように、ナス科の腺毛分泌物の特徴的な成分としてグルコースエステルやスクロースエステルが見いだされている。エステル部位は C_2-C_8 の短い脂肪酸であった (図 1-5)。また、

キク科では *V. quinqueremis* より *myo*-inositol (擬似糖) エステルが同定されている (図1-7)。本研究において、フウロソウ目フウロソウ科 *G. maderense* の腺毛分泌物中にもナス科に特徴的に見られるグルコースエステルが含まれていることを明らかにした。エステル部分において、ナス科では飽和脂肪酸であったのに対し、*G. maderense* では二重結合を1つ有する angeloyl 基であった。また、*G. maderense*、ゲンノショウコ (*G. thunbergii*) およびアメリカフウロの腺毛分泌物には、ラムノースの1位がグルコースの2位に結合した二糖構造を基本骨格とした糖エステルが共通して主成分として含まれていた。これらはいずれも、グルコースのアノマー位が *n*-オクチルエーテル化されているという天然では非常に珍しい特徴を有していた。また、エステル構造は C_2-C_5 の飽和脂肪酸であった。*G. maderense*、ゲンノショウコおよびアメリカフウロは同じフウロソウ属の植物ではあるけれど、原産地、生育環境、形態など全く異なる植物である。しかしながら、両植物の腺毛分泌物に同じ二糖構造を母核とする糖エステルが含まれていたことは、ナス科の腺毛分泌物に共通してスクロースエステルが見られるように、フウロソウ属 (*Geranium* sp.) の腺毛分泌物に共通な成分として含まれている可能性が示唆される。二糖構造はソメイヨシノでもみられ、また、グルコースとラムノースからなるという点でフウロソウ属のものと共通していたが、結合位置がラムノースの3位とグルコースの1位で異なり、長鎖ヒドロキシ脂肪酸とグリコシド結合している点でも異なっていた。一方、シソ目キツネノマゴ科 *Brillantaisia* 属植物では、糖の脂肪酸エステルではなく、(–)-*epi*-α-bisabolol 6-deoxy-β-D-guloside が単一の成分として含まれていた。セスキテルペン配糖体が腺毛分泌物に含まれていた初めての例であった。この他にも、先のヒドロキシ脂肪酸を有する化合物として取り上げた、糖とヒドロキシ脂肪酸からなる化合物がシロバナマンテマ、オランダミミナグサ、ソメイヨシノ、キバナツノゴマ、ツノゴマ、オニグルミから見いだされた。糖としては、グルコースが最も多く、次いでラムノースが多かった。この他に、オニグルミでは植物には稀なキノボース、*Brillantaisia* 属では天然に稀な 6-deoxygulose が存在した。

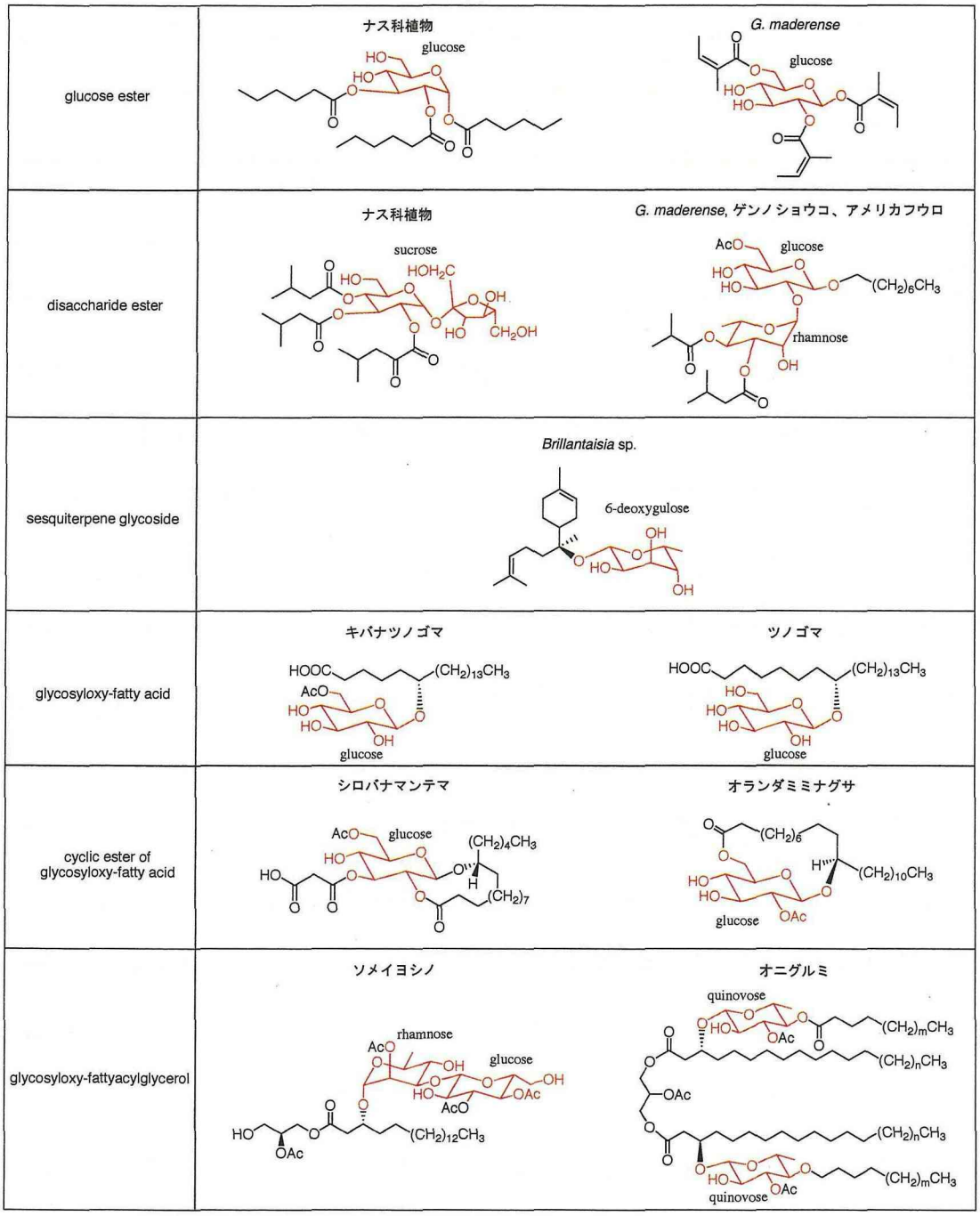


図 8-2. 分子内に糖を有する構造

テルペン類

テルペン類は、第 1 章に記載した通り、キク科とバラ科にセスキテルペンラクトンが多く見いだされており、また、キク科、ナス科およびシソ科の腺毛分泌物よりジテルペン類も見いだされている。また、盾型腺毛の主成分はモノテルペンやセスキテルペンであり、多くのシソ科植物より見いだされている。一方トリテルペンに関しては、

リンドウ科で oleanoic acid が報告されているだけであった。また、テルペンと芳香族ポリケチド化合物とのハイブリッド型化合物がアサ科の大麻やハゼリンソウ科の植物の腺毛分泌物より得られている。本研究では、18 種のうち 7 種にテルペン類もしくはテルペンユニットを含む化合物を見いだした。先にも述べたように、*Brillantaisia* 属植物の腺毛分泌物はセスキテルペン配糖体、ナス科の *Nicotiana sylvestris* ではセンブラン型ジテルペンだけが専ら分泌されていた。ソメイヨシノ、キバナツノゴマ、ツノゴマおよびオニグルミの腺毛分泌物中にはトリテルペンが含まれていた。ソメイヨシノ以外は分泌物中の約 5 割を占める主成分であった。

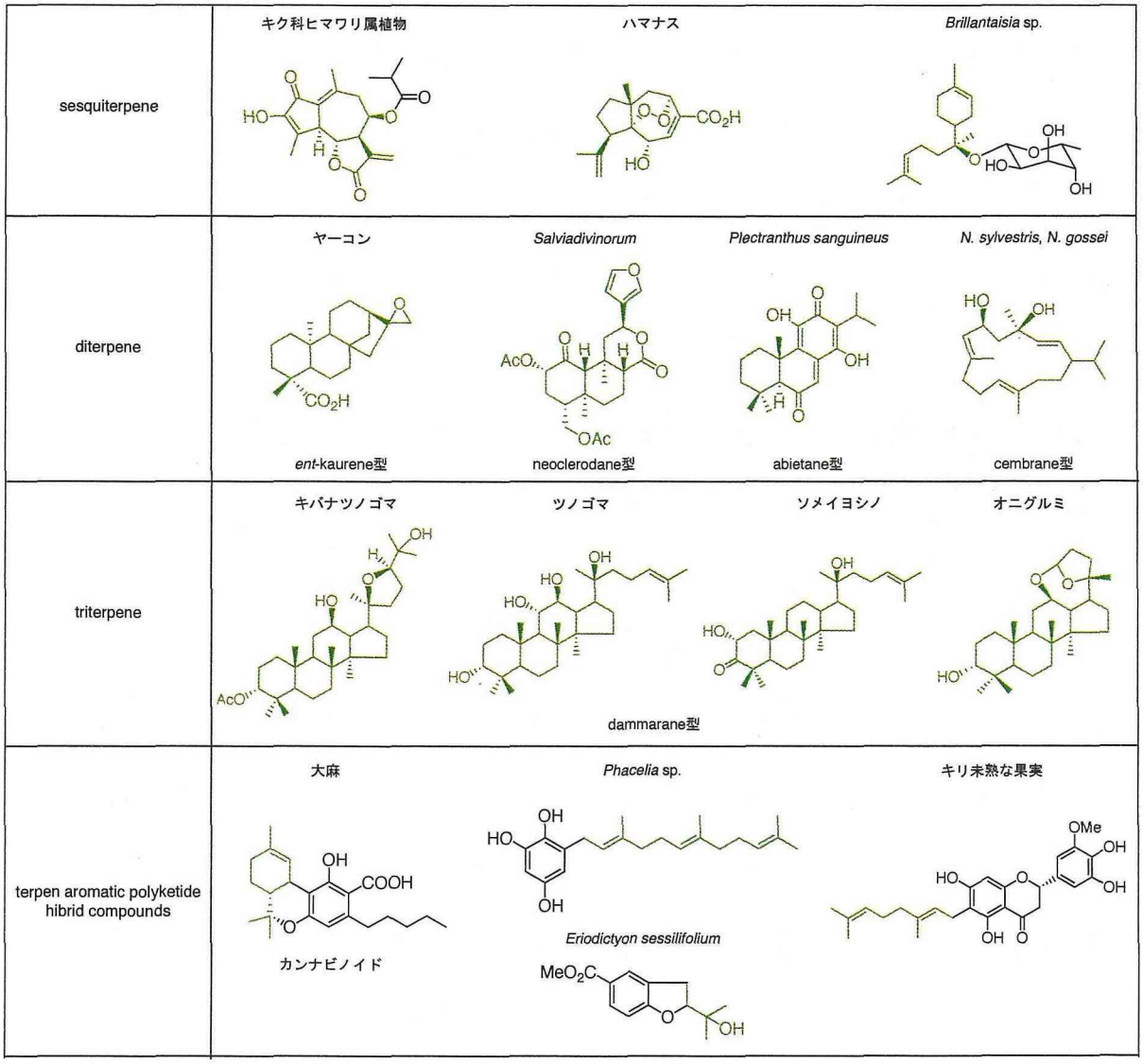


図 8-3. テルペンおよびテルペンユニットを含む化合物の構造

これらトリテルペンは、本研究で調べた範囲では科に関わらず、いずれもダンマラン型であり、腺毛分泌物に含まれるトリテルペンとして一般的である可能性が示唆された。テルペンと芳香族ポリケチドとのハイブリット型化合物に関して、キリの未熟な果実表面の腺毛分泌物中にはフラバノンの 6 位にゲラニル基が置換したものが特異的に存在していた。

芳香族ポリケチド

芳香族ポリケチド化合物には、第 1 章に記載したように、フウロソウ科テンジクアオイ属ゼラニウムの腺毛分泌物に含まれる anacardic acid、ヤブコウジ科サクラソウ属植物に共通してみられるフラボン、ツツジ科のジヒドロスチルベン、リンドウ科の xanthone 類、先のテルペン類でもあげたテルペン芳香族ポリケチドハイブリッド型化合物などが見いだされている。本研究では、対象にした 18 種のうち 2 種の腺毛分泌物中にのみ見いだされた。先のハイブリッド型と重複するが、キリの未熟な果実表面にはゲラニル化されたフラバノン類が、また、*Uncarina grandidieri* にはフラボンがマイナーながら含まれていた。フラボン類を除けば、これらの化合物は極めて種限定的である可能性が高い。

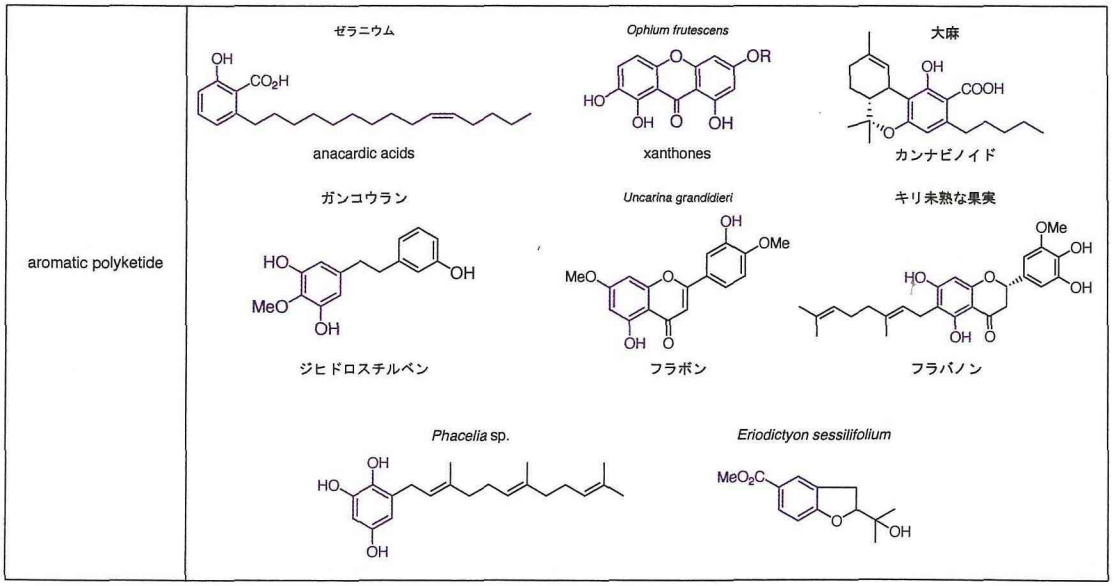


図 8-4. 芳香族ポリケチド化合物の構造

以上のように、過去の研究例を含めて、腺毛分泌物の成分を、大きく分けて4つに分類して記載した。2つの分類に属する化合物も多くみられたが、これは構造の類似性が連続していること示している。特にヒドロキシ脂肪酸関連化合物であり、かつ分子内に糖を有する化合物が多かった。4つの分類に共通していた点として、極性および疎水性ユニットを同一分子内に有していることがあげられる。極性ユニットとしてはグリセロール、糖、カルボン酸、ポリフェノールが見られ、疎水性ユニットとして長鎖および短鎖脂肪酸、テルペンが見られた。このように分子内に両極性のユニットを有することで油状の性質を獲得している。結晶性の高いトリテルペンやフラボノイドも分泌物中に見られたが、いずれも単一では存在せず、油状物質に混合していた。また、トリテルペンやフラボノイドが混合している油状物質は比較的粘性が高かった。

化合物群の種類

次に、同一個体において、腺毛分泌物中に何種類の化合物群が含まれているのかについて整理してみる。ここでは、fatty acid (FA)、acylglycerol (FG)、sugar ester (SE)、terpene (TP)、flavonoid (FV) の5つの群に分けて示した。

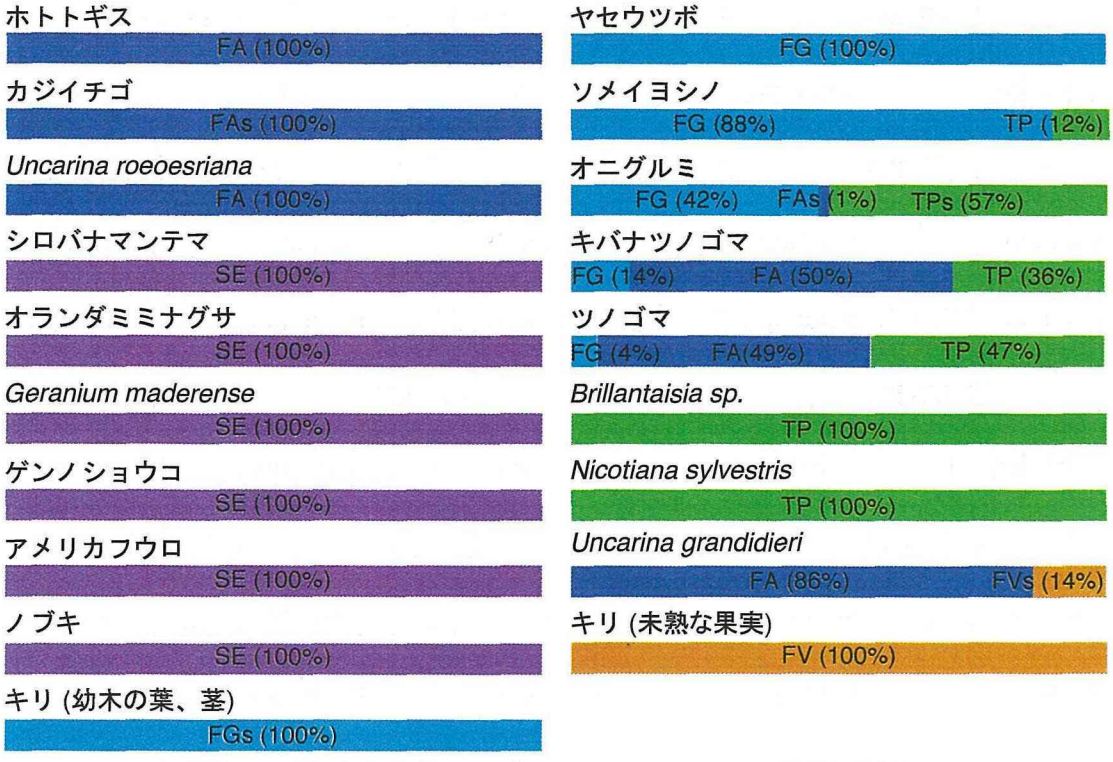


図 8-5. 腺毛分泌物中に含まれる化合物群の種類と割合

対象とした18種の植物のうち13種の植物の腺毛分泌物は単一の化合物群で構成されていた (図 8-5)。ソメイヨシノ、オニグルミ、キバナツノゴマ、ツノゴマでは、AGおよびFAはともにヒドロキシ脂肪酸関連化合物であり、構造的には類似している2つの化合物群にトリテルペンが混ざっていた。オニグルミ、キバナツノゴマ、ツノゴマではトリテルペンの割合が高く、ソメイヨシノでは低かった。*Brillantaisia* 属植物と *Nicotiana sylvestris* に含まれるテルペンは、セスキテルペン配糖体およびセンブラン型ジテルペンであり、単一の化合物群でも油状の性質を示した。第2章から7章までの各論で述べてきたように、置換位置や炭素鎖数などの詳細な構造の違いによる異性体は多数含まれているものの、化合物の種類で言えばほとんど単一、多くて3種類で構成されているケースが多かった。このことは、腺毛内では、複数の生合成経路が働いている訳ではなく、特定の経路が活発に働いていることを示唆する結果であった。

8-3. 植物の系統的分類と腺毛分泌物に含まれる化学成分との関連性

本研究では幅広い植物種を扱うことで、植物間の系統的な関係と腺毛分泌物に含まれる二次代謝産物の構造との間にどのような相関があるのかに関するいくつかの知見を得ることができたので順に説明する。

同属異種の植物として、*Uncarina* 属 (*U. grandidieri*, *U. roeoesriana*) フウロソウ属 (*Geranium maderense*, ゲンノショウコ, アメリカフウロ) において、それぞれ2種または3種について成分研究を行った。*Uncarina* 属では、*U. grandidieri* にだけフラボノイドが含まれていたが、*grandidieri* と *roeoesriana* ともに主成分として共通の長鎖脂肪酸を含んでいた (第2章)。フウロソウ属では、*G. maderense* にのみマイナー成分としてグルコースエステルが含まれていたが、主成分は共通してアノマー位に *n*-オクチルエーテルを有するグルコースとラムノースからなる二糖を母核とするユニークな糖エステルが含まれていた (第 5 章)。これらの結果は同じ属の植物の腺毛分泌物の成分の構造はほとんど同じであることを示唆した。キバナツノゴマとツノゴマは異

なる属に分類されているが、腺毛分泌物に含まれる二次代謝産物の組成はほとんど同じであった。さらに形態がとても良く似ていること、また、キバナツノゴマは1属1種の植物であることからも、ツノゴマ属に統合しても良いと考えられる。

同科異属の植物について、ナデシコ科およびバラ科での結果より推察する。ナデシコ科において、マンテマ属シロバナマンテマおよびミミナグサ属オランダミミナグサの2種の腺毛分泌物の成分は、脂肪酸エステル結合の位置がシロバナマンテマでは2位、オランダミミナグサでは6位であり、炭素数もシロバナマンテマはC_{18}であったのに対しオランダミミナグサではC_{22}と多少の違いはあったものの、主成分は共通して脂肪酸とグルコースからなる大環状エステルであった (第3章)。一方バラ科では、ソメイヨシノとカジイチゴの腺毛分泌物はヒドロキシ脂肪酸関連化合物が含まれているという点は共通していたがかなり異なっていた (第 4 章)。同科異属間での成分研究はこの2例しか行っていないので、予測の域を超えないが、第1章に記載したナス科の成分研究の例では属が異なっていても腺毛の成分が類似していたことを考えると、ソメイヨシノとカジイチゴでは木本と草本という形態的な大きな違いがあったこと、また、ソメイヨシノでは正確には腺毛ではなく類似の分泌組織であったために成分が違っていたと考えることができる。従って、同じ科の植物の間では腺毛分泌物の成分にある程度の類似性があると考えている。ソメイヨシノに関して、分泌物の成分はブナ目クルミ科のオニグルミの腺毛分泌物の成分と類似していた。これは、ブナ目とバラ目が比較的近縁で、かつ互いに木本であるという類似性によると考えられる。

同目異科の植物間については、シソ目で5科の植物を対象に成分研究を行ったので、その結果より推察することにする。ゴマノハグサ科キリ (幼木)、ツノゴマ科キバナツノゴマおよびツノゴマ、ハマウツボ科ヤセウツボには共通してジヒドロキシ脂肪酸およびそのアセチル化体がグリセロールの *sn*-2 位に結合したグリセロールが共通して含まれていた。脂肪酸の組成や水酸基の位置、また、それ以外に含まれる成分に関して違いはあるが、このように共通の成分も含まれていることがわかった。なお、本

論文では記載していないが、シソ目クマツヅラ科クマツヅラも、腺毛分泌物は類似の2-アシルグリセロールであることを見いだしている。ゴマ科 *Uncarina* 属にはグリセロールが含まれていなかったが構造的に関連のある長鎖ヒドロキシ脂肪酸誘導体であった。一方、キツネノマゴ科の *Brillantaisia* sp.はセスキテルペン配糖体と全く異なっていた。このような例外はあるものの、同じ目に属している植物は系統的にかなり近縁であり、腺毛分泌物の成分にも共通性がある程度存在することがわかった。

以上のことをまとめると、植物種の系統的な近縁さは腺毛分泌物の成分の類似性にある程度反映されることがわかった。また、系統的に初期に分岐したユリ目ユリ科のホトトギスとバラ科のカジイチゴは、系統的に離れているにもかかわらず、3位に酸素官能基を有する脂肪酸を分泌しているという点で非常に良く似ていた。このことに関して、後述するように、両植物とも表皮細胞から分化した初期の腺毛であり、表皮細胞の特徴が良く残っている為、シンプルなヒドロキシ脂肪酸誘導体を分泌していると考えられ、この点でカジイチゴとホトトギスの腺毛分泌物は類似していたと考えられる。

8-4. 腺毛と他の組織の関連性

キリの未熟な果実表面の腺毛はゲラニル化フラボノイドを分泌していた (第2章)。このようなプレニル化されたフラボノイドはアサ科ホップの未熟な果実表面のルプリン腺 (腺毛とされることもある) (Nagel et al., 2008) やトウダイグサ科オオバギの未熟な果実表面の腺鱗と呼ばれる粒状分泌物に多く含まれている (Kumazawa et al., 2010) (図 8-6)。これら成分の類似性から相同器官と考えられる。また、シソ目に多く共通してみられたアシルグリセロール類は、キリと同じゴマノハグサ科 *Diacia* 属植物やラン科 (Orchidaceae) の *Ornithophora radicans* の floral oil の成分として報告されている (Reis et al., 2003; Dumri et al., 2008)。このことから、腺毛とこれらの floral oil を分泌する蜜線とは相同器官あるいは同じ起源を持つ組織であると考えられる。

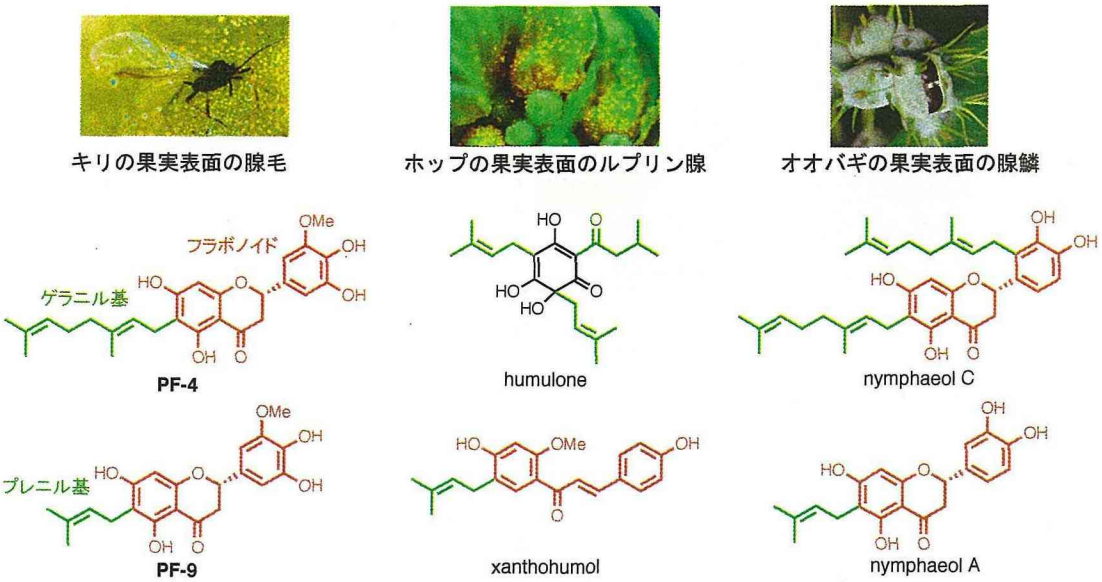


図 8-6. ゲラニルフラボノイドを特異的に分泌もしくは蓄積する組織
オオバギ：http://img02.ti-da.net/usr/okinawaneeprogram/IMGP1915.JPG
ホップ：(Nagel et al., 2008)

8-5. 腺毛と表皮細胞

腺毛は表皮細胞 (epidermal cell) が分化してできた組織であると考えられている (Weker et al., 2000)。表皮細胞はクチクラ層を形成するポリマーのモノマーを生合成および分泌している細胞である。植物表面には普遍的にクチクラ層が存在している (Pollard et al., 2008)。クチクラ層はクチンと呼ばれるポリマーによって形成される層とその上に分布するワックスで構成されている層であり、植物体からの水分、気体、栄養の流出の阻止、病原菌の感染からの保護など一次防御機能の役割を果たしており、植物の生命維持に必須の構造である。クチクラ層のワックスは長鎖脂肪酸や長鎖アルカンからなり、一方クチンは C_{16} や C_{18} のヒドロキシ脂肪酸やグリセロールが複雑にかつ高度にエステル化したポリマーで形成されている (Pollard et al., 2008)。本研究で明らかにした腺毛分泌物の成分の多くはヒドロキシ脂肪酸関連化合物であり、クチンのモノマー単位に良く類似していた。表皮細胞では、ヒドロキシ脂肪酸をポリマー化することで高分子膜を形成している。この際、グリセロールやジカルボン酸をジャンクションに取り入れることで、三次元的に広がり強度を増している。

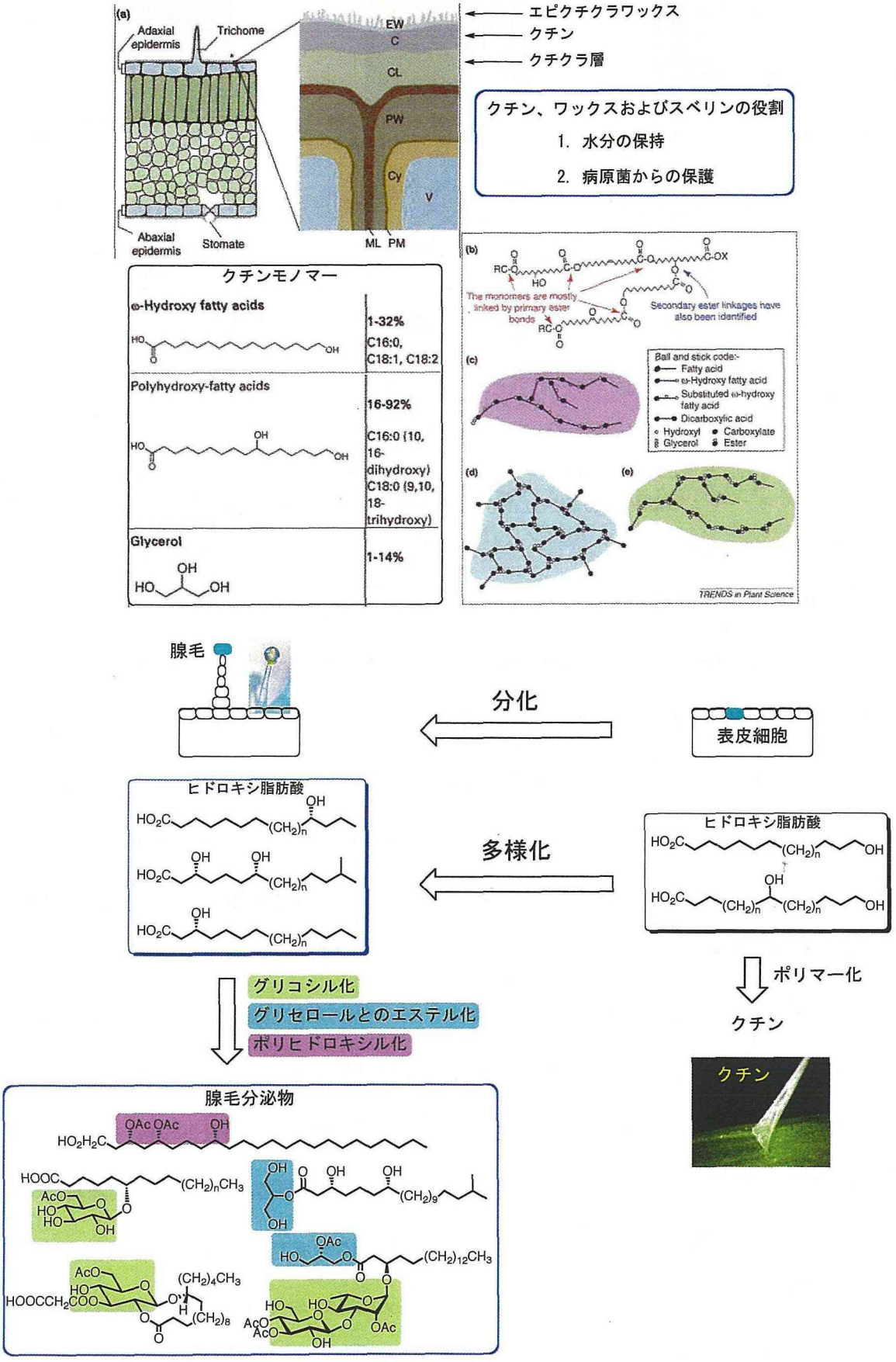


図 8-7. 腺毛と表皮細胞 (Schilmiller et al., 2008)

一方、腺毛では、単量体のヒドロキシ脂肪酸にグリコシル化、グリセロールとのエステル化やポリヒドロキシ化することで、油状の性質を獲得し、流動性に優れた油状膜を形成するのに役立っていると考えられる (図 8-7)。このように、表皮細胞および腺毛先端分泌細胞はいずれもヒドロキシ脂肪酸を原料にしているという点で関連性があることがわかった。すなわち図 8-7 に示したように、腺毛は、クチン形成モノマーを分泌する表皮細胞が柄細胞により持ち上げられて形成したと考えられる。先に述べたホトトギスとカジイチゴの関係について、ユリ目のホトトギスは進化の初期段階に分岐した植物であり、腺毛も表皮細胞の特徴が大きく残っているため 3-ヒドロキシ脂肪酸を分泌していたと考えられる。カジイチゴもバラ科で比較的進化の後半に分岐した植物だが、腺毛に関しては表皮細胞の特徴が残っておりあまり進化していないと考えられ、それ故ホトトギスと類似の 3-アセチルオキシ脂肪酸を分泌していたと考えられる。また、本論文には記載していないが、著者はツツジ科のモチツツジの腺毛分泌物の成分が 3-acetoxy-18-hydroxyoctadecanoate のオリゴマーで形成される大環状エステル体であることを明らかにしており (図 8-8)、ツツジも表皮細胞の特徴が色濃く残っている腺毛であると言える。さらに、重合する性質も残っており、表皮細胞から進化した初期の状態を非常に強く残していることがわかる。

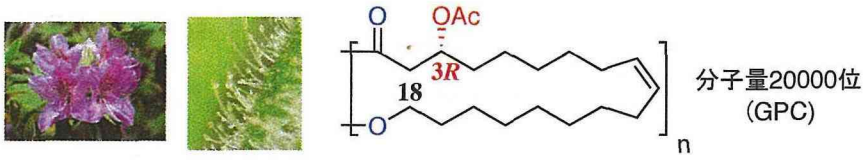


図 8-8. モチチツツジおよびその腺毛分泌物

本研究で対象とした植物にヒドロキシ脂肪酸関連化合物が多く見られたのは表皮細胞の性質が残っているためと考えられる。従って、腺毛の役割もクチクラ層の働きとなんらかの関係があると考えられる。ヒドロキシ脂肪酸関連化合物を分泌していた植物の多くは、成長段階の早い時期の葉や茎または花期限定的に花穂やガクなどに発

達していることが多かった。また、オニグルミやキリのような木本植物においても木化する前の若い茎や幼木の時期に腺毛が発達していた。これらの場所は成長にともなってダイナミックな動きをする部位である。例えばキリの幼木の葉は成長が非常に早く劇的に大きくなり、花穂は花期に急激に伸び、ガクは開花の時に柔らかな動きを必要とする。先にも述べたようにクチクラ層は植物の生命維持に必要な構造であるが、固体である。上述の部位ではクチクラ層でコーティングしてしまうと不都合な場所と考えられ、クチクラ層を薄くして代わりに流動性のある油状物質で覆うことでクチクラ層と同じ役割を担っているのではないだろうか。

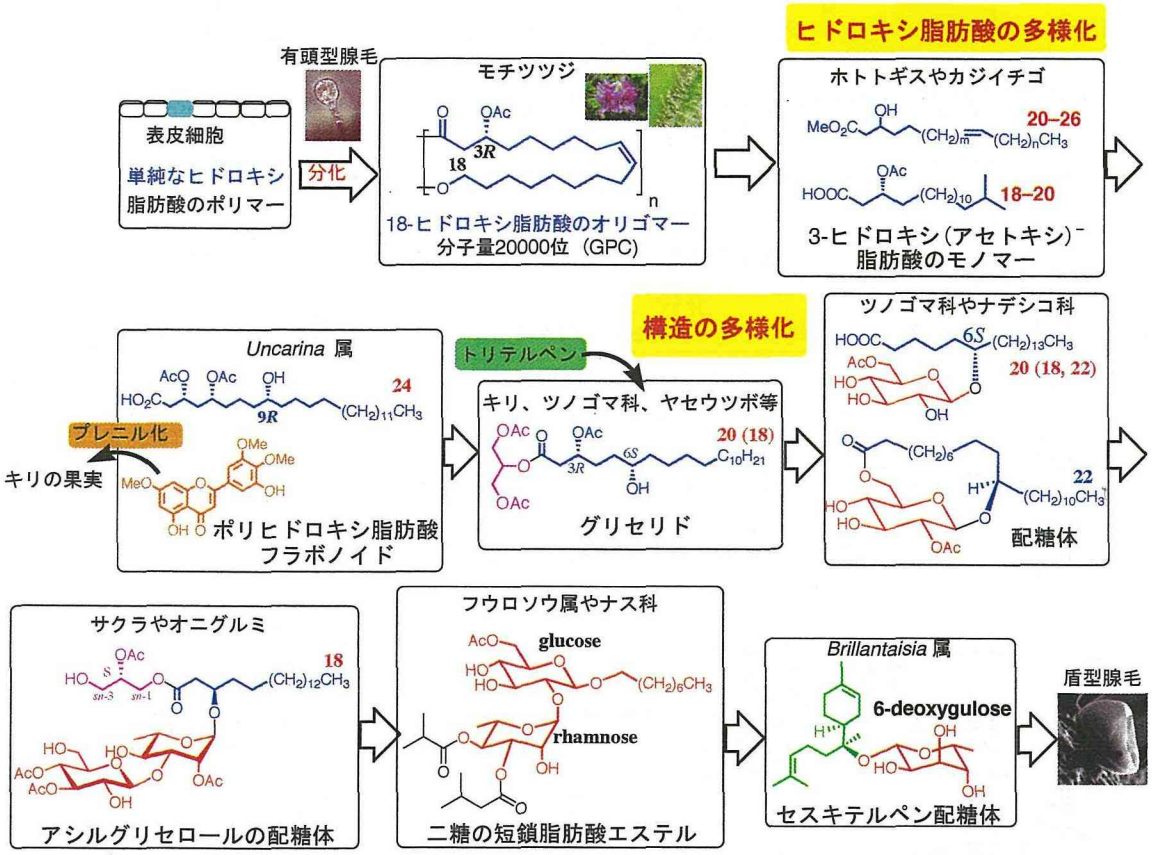


図 8-9. 表皮細胞から有頭型腺毛経た盾型腺毛への進化の経路

また、有頭型腺毛の分泌物に含まれる化学成分に関して、本研究結果で明らかにした化学成分を、構造の類似性を指標に並べてみた (図 8-9)。最も進化していると言われるキク科の腺毛分泌物がジテルペンやセスキテルペンラクトンと、ヒドロキシ脂肪酸関連化合物とはまた異なる化合物であったことは、植物の進化とともに腺毛も表皮

細胞では生産されない様々な二次代謝物の生合成能力を獲得し、独自の分泌様式を確立していったのではないだろうか (図 8-9)。腺毛は、まず表皮細胞から有頭型が分化して形成され、進化の過程で様々な生合成能力を獲得し、分泌する二次代謝物の構造が多様化していった。さらに、テルペン類生産能を獲得した腺毛が、揮発性モノテルペンを用いた害虫対策を発達させ、分泌量および蓄積量の増大させるために、盾型腺毛へと進化していったのではないだろうか。今後、植物の表皮系に関しての理解が深まり、それらと関連させることで、腺毛についてより多くの知見が得られると考えられる。

結　語

本研究で明らかにしたように、腺毛分泌物中には、実に多様な構造の化合物が含まれており、腺毛は天然物化学的な観点からみても非常に興味深い組織であることがわかった。また、これら化学成分はいずれも他の植物組織には見られず、分泌物中に偏在していた。いったい、これらの化学成分はどこで生合成されているのだろう。どこか植物体内の組織で生合成された後に、特異的に輸送されて蓄積したのか、それとも腺毛の分泌細胞内で独自に生産されたのか。そのことに関して、タバコ属特徴的なスクロースエステルやテルペノイド類が腺毛内で特異的に生合成されていることが遺伝子レベルで明らかにされており (Kandra and Wagner 1988; Guo et al., 1994)、さらに最近では、キク科のアルテミシニンを始め、様々な二次代謝物が腺毛内で特異的に生合成されていることが明らかにされつつあり、腺毛は独自の代謝系を有している可能性が高いといえる。腺毛が独自に生合成していることにより、植物体内の化学成分とは一線を画しており、腺毛分泌物に含まれる化合物がほとんど新規化合物であったことの要因となっているのではないだろうか。これまでの植物成分研究では、研究者が求める生物活性物質を得る目的で、植物体を地上部もしくは地下部と大きなくくりで分けて抽出して行われていたことより、二次代謝物がどこの組織に局在しているかという情報がなおざりにされてきた。とにかく望みの活性物質もしくは新規構造を有する化合物を得る為の単離構造決定がなされてきた。このような成分研究が行われてきたことにより、本来二次代謝物が植物にとってどのような役割を持つかについてはほとんどわからないというのが現状であった。植物は巧みな戦略により、化合物を適時適所に局在させて自己を守っているとしたら、本研究の様に、特定の組織に局在している二次代謝物を明らかにすることは非常に重要な知見を与えるものと考えられる。また、腺毛は二次代謝物を多量に分泌しており、これまでの成分研究では腺毛の存在に気づいていないだけで、さらに多様性に富んだ二次代謝物が腺毛で生合成されてい

るのかもしれない。本研究では腺毛分泌物に局在している化学物質を明らかにし、その構造から系統的な関係やクチクラ層との役割の関連性について考察した。しかし、これらの化合物がいったいどのように機能しているかについては、また、腺毛の役割を特定するには至らなかったが、今後、これらの機能に関して生態学的な研究が進み、本研究で明らかにした様々な二次代謝物、およびそれらの局在に関する情報が役に立つことを期待するとともに、今後より多様な二次代謝物が腺毛分泌物より発見されること、そして腺毛に関する研究が発展していくことを願いつつ、本博士論文を締めくくることにする。

実 験 の 部

General experimental procedures.

^{1}H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker DRX500 spectrometer (500 MHz for ^{1}H and 125 MHz for ^{13}C) and JEOL ECA600 (600 MHz for ^{1}H NMR and 150 MHz for ^{13}C) in either $CDCl_3$, $CDCl_3$-CD_3OD (9:1) or CD_3OD. Tetramethylsilane (δ 0.00) and CD_2HOD (δ 3.30) signals were used as the internal standards for ^{1}H shifts, while $CDCl_3$ (δ 77.00) and CD_3OD (δ 49.00) resonances were utilized as reference peaks for ^{13}C spectra. EIMS (70 eV), FABMS and HRFABMS spectra were obtained on a JEOL JMS-700 spectrometer. MALDI TOF-MS (Voyager, Applied Biosystems) spectra were recorded using α-cyano-4-hydroxycinnamic acid as a matrix. IR spectra were recorded on a JASCO-FT/IR-5300 spectrometer. Optical rotations were measured on a JASCO P-2200 polarimeter. GC-MS analyses were conducted on a Agilent Technologies 6890A gas chromatograph equipped with a J&W Scientific HP-5 capillary column (30 m x 0.32 mm, 0.25 mm film thickness), and a JEOL JMS-AM SUN200 mass spectrometer in EI (70 eV) mode with instrument parameters of: source temperature 250°C, injection temperature 250°C, a programmed column temperature 60°C for 1 min, which was then raised to 200°C at a rate of 70°C/min, and maintained at this temperature for 15 min, an interface temperature 300°C, He carrier gas, a flow rate of 1.2 mL/min, and splitless injection. GLC was carried out on a Shimadzu GC-14B apparatus equipped with a J&W Scientific DB-5 capillary column (15 m x 0.25 mm, 0.25 μm film thickness) in the conditions specified. MPLC was carried out on a Yamazen pump-540 using a silica gel-packed glass column (LiChroprep Si60, mesh 40-63, Merck). HPLC analysis was carried out on a Shimadzu LC-6A apparatus equipped with an UV detector (typically monitored at 215 nm) using a reversed-phase column under isocratic solvent conditions, unless otherwise cited. Column chromatography (CC) was performed on either Sephadex LH-20 (25-100mm, GE Healthcare Bio-Sciences AB), and silica gel (60-210 μm, Kanto Chemical, Japan) or silica gel 60N (40-100 μm, Kanto Chemical, Japan). Purification by PTLC was carried out using Kieselgel F254 plates with a 0.25 mm thickness (Merck).

Chapter 2.

2–1. *Paulownia tomentosa*

2-1-1. Fruits

Plant material

Fruits of the *P. tomentosa* were collected in September 2005 on the campus of Tokyo Institute of Technology. The plant was identified by A voucher specimen is deposited at Department of chemistry and materials science, Tokyo Institute of Technology. The source plant was identified by Prof. S.

Kohshima, Department of Biological Sciences, Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology.

Extraction and isolation

Fresh fruits of *P. tomentosa* (320 g) were dipped into MeOH (300 ml) for 5 seconds and the MeOH solution was concentrated to dryness under a reduced pressure. The oily residue (5.0 g) was chromatographed over silica gel with hexane-EtOAc-MeOH as eluents to give Fr.1 (20 mg), Fr.2 (130 mg), Fr. 3 (270 mg), Fr. 4 (144 mg) and Fr. 5 (40 mg). Fr. 1 was further purified by silica gel column chromatography (hexane-AcOEt, 20:1–8:1) to give **PF-1** (20 mg) and **PF-2+10** (120 mg). Fr. 2 was further purified using Sephadex LH-20 to give **PF-3** (120 mg). Fr. 3 was further purified by silica gel column chromatography (hexane-AcOEt, 10:1–5:1) to give **PF-4** (250 mg). Fr. 4 was further purified by silica gel column chromatography ($CHCl_3$-MeOH, 20:1–10:1) to give **PF-5+12** (60 mg) and **PF-6+14** (4.0 mg). Fr. 5 was further purified by reversed-phase HPLC (flow rate: 1.0 ml/min, solvent: 10 or 25% aqueous MeOH, UV detection at 282 nm) furnished compounds **PF-7** (2.0 mg), **PF-8** (6.0 mg), **PF-9** (2.0 mg), **PF-11** (72 mg), **PF-13** (14 mg) and **PF-15** (6.0 mg).

*6-Geranyl-5,7-dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavanone (**PF-1**)*

Yellow colored oil; $[\alpha]_D^{25}$ –6.6° (c, 1.0, $CHCl_3$); UV λ_{max}^{MeOH} (log ε): 204 (4.88), 232 (4.50), 292 (4.34) 342 (shoulder); CD (MeOH) $\Delta\varepsilon_{328}$ +4.49, $\Delta\varepsilon_{311}$ 0, $\Delta\varepsilon_{288}$ –18.8; EIMS: *m/z* 452 $[M]^+$ (81), 409 (5), 383 (20), 367 (21), 353 (22), 329 (72), 316 (10), 288 (6), 245 (5), 219 (100), 203 (30), 191 (8), 177 (10), 165 (38), 164 (32), 151 (26); HREIMS: *m/z* 452.2208 $[M]^+$ (calcd. for $C_{27}H_{32}O_6$, 452.2199); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-1 and 2-2.

*A mixture of 6-geranyl-3',5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavanone (**PF-2**) and 6-geranyl-4',5,7-trihydroxy-3'-methoxyflavanone (**PF-10**)*

Obtained as a 1:4 mixture of **PF-2** and **PF-10**; yellow colored oil; $[\alpha]_D^{25}$ –7.1 (c, 2.8, $CHCl_3$); UV λ_{max}^{MeOH} (log ε): 202 (4.71), 232 (4.23), 292 (4.10) 342 (shoulder); CD (MeOH) $\Delta\varepsilon_{328}$ +2.22, $\Delta\varepsilon_{312}$ 0, $\Delta\varepsilon_{289}$ –8.4; EIMS: *m/z* 438 $[M]^+$ (60), 395 (5), 381 (4), 369 (12), 353 (15), 315 (62), 302 (7), 288 (4), 245 (6), 231 (6), 219 (100), 203 (12), 177 (12), 165 (41), 150 (13), 135 (10); HREIMS: *m/z* 438.2055 $[M]^+$ (calcd. for $C_{26}H_{30}O_6$, 438.2042); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data of **PF-2**, see Tables 2-1 and 2-2.

A mixture of **PF-2/10** (3.0 mg) and ethereal CH_2N_2 (3.0 ml) was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was concentrated and purified by p-TLC to give 6-geranyl-5-hydroxy-3',4',7- trimethoxyflavanone (**PF-2a**) as a yellow powder (1.6 mg, 50%), EIMS: *m/z* 466 $[M]^+$ (75), 451 (4), 423 (5), 397 (13), 396 (11), 383 (12), 368 (10), 355 (11), 343 (70), 330 (13), 302 (5), 293 (3), 287 (3), 249 87), 245 (8), 233 (100), 219 (17), 191 (15), 179 (37), 164 (16), 151 (20), 149 (17); HREIMS: *m/z* 466.2317 $[M]^+$ (calcd. for $C_{28}H_{34}O_6$, 466.2355); ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 12.01 (1H, s, 5-OH), 7.00 (1H d, *J*=1.7, H-2'), 6.99 (1H, dd, *J*=8.1, 1.7, H-6'), 6.90 (1H, d, *J*=8.4,

H-5'), 6.09 (1H, s, H-8), 5.35 (1H, dd, *J*=13.2, 3.0, H-2), 5.20 (1H, brt, *J*=7.0, H-2"), 5.08 (1H, brt, *J*=6.8, H-7"), 3.92 (3H, s, 3'-OMe), 3.91 (3H, s, 4'-OMe), 3.83 (3H, s, 7-OMe), 3.28 (2H, d, *J*=7.1, H-1"), 3.11(1H, dd, *J*=16.8, 13.2, H-3α), 2.78 (1H, dd, *J*=17.1, 3.2, H-3β), 2.02 (2H, m, H-6"), 1.98 (2H, m, H-5"), 1.76 (3H, s, H-4"), 1.65 (3H, s, H-10"), 1.58 (3H, s, H-9").

*6-Geranyl-4',5,7-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavanone (**PF-3**)*

Yellow colored oil; $[\alpha]_D^{25}$ –21.2° (c, 2.3, $CHCl_3$); UV λ_{max}^{MeOH} (log ε): 209 (4.93), 232 (4.59), 292 (4.46) 342 (shoulder); CD (MeOH) $\Delta\varepsilon_{328}$ +4.32, $\Delta\varepsilon_{315}$ 0, $\Delta\varepsilon_{290}$ –14.3; EIMS: *m/z* 468 $[M]^+$ (55), 399 (12), 383 (20), 360 (21), 345 (52), 315 (22), 219 (100), 203 (50), 180 (78), 165 (73), 151 (19), 137 (16); HREIMS: *m/z* 468.2169 $[M]^+$ (calcd. for $C_{27}H_{32}O_7$, 468.2148); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, Tables 2-1 and 2-2.

*6-Geranyl-4',5,5',7-tetrahydroxy-3'-methoxyflavanone (**PF-4**)*

Yellow oil; $[\alpha]_D^{25}$ –17.6° (c, 1.6, $CHCl_3$); UV λ_{max}^{MeOH} (log ε): 206 (4.94), 233 (4.52), 294 (4.41) 342 (shoulder); CD (MeOH) $\Delta\varepsilon_{328}$ +3.88, $\Delta\varepsilon_{313}$ 0, $\Delta\varepsilon_{289}$ –12.2; EIMS: *m/z* 454 $[M]^+$ (56), 438 (5), 385 (18), 369 (20), 345 (18), 331 (70), 315 (40), 219 (100), 203 (24), 177 (16), 165 (83); HREIMS: *m/z* 454.1947 (calcd. for $C_{26}H_{30}O_7$, 454.1992); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, Tables 2-1 and 2-2.

*A mixture of 6-geranyl-3,3',5,7-tetrahydroxy-4'-methoxyflavane (**PF-5**) and 6-geranyl-3,4',5,7-tetrahydroxy-3'-methoxyflavane (**PF-12**)*

Obtained as a 2:3 mixture of **PF-5** and **PF-12**; yellow colored oil; $[\alpha]_D^{25}$ –3.2° (c, 2.6, $CHCl_3$); UV λ_{max}^{MeOH} (log ε): 206 (5.03), 232 (4.70), 292 (4.56), 342 (shoulder); CD (MeOH) $\Delta\varepsilon_{328}$ +6.31, $\Delta\varepsilon_{315}$ 0, $\Delta\varepsilon_{292}$ –22.2; EIMS: *m/z* 454 $[M]^+$ (60), 436 (8), 385 (10), 331 (58), 301 (24), 289 (52), 219 (53), 203 (15), 177 (24), 165 (100), 137 (72); HREIMS: *m/z* 454.1945 $[M]^+$ (calcd. for $C_{26}H_{30}O_7$, 454.1992); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data of **PF-5**, see Tables 2-1 and 2-2.

A mixture of **PF-5/12** (3.0 mg) and ethereal CH_2N_2 (3.0 ml) was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was concentrate and purified by p-TLC to give 6-geranyl-3,5-dihydroxy-3',4',7-trimethoxyflavanone (**PF-5a**) as a yellow powder (1.6 mg, 50%); EIMS: *m/z* 482 $[M]^+$ (78), 464 (10), 453 (5), 439 (4), 413 (10), 397 (12), 395 (13), 368 (19), 359 (62), 341 (16), 329 (20), 317 (12), 303 (67), 276 (10), 256 (8), 233 (55), 219 (10), 191 (16), 179 (100), 165 (20), 161 (80); HREIMS: *m/z* 482.2263 $[M]^+$ (calcd. for $C_{28}H_{34}O_7$, 482.2305); ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 11.23 (1H, s, 5-OH), 7.11 (1H, dd, *J*=8.4, 1.8, H-6'), 7.07 (1H, d, *J*=1.8, H-2'), 6.95 (1H, d, *J*=8.4, H-5'), 6.10 (1H, s, H-8), 5.18 (1H, brt, *J*=7.0, H-2"), 5.08 (1H, brt, *J*=6.8, H-7"), 5.00 (1H, d, *J*=11.7, H-2), 4.57 (1H, dd, *J*=11.7, 1.5, H-3α), 3.94 (3H, s, 3'-OMe), 3.91 (3H, s, 4'-OMe), 3.84 (3H, s, 7-OMe), 3.28 (2H, d, *J*=6.9, H-1"), 2.04 (2H, m, H-6"), 1.98 (2H, m, H-5"), 1.77 (3H, s, H-4"), 1.65 (3H, s, H-10"), 1.58 (3H, s, H-9").

*A mixture of 4',5,5',7-tetrahydroxy-3'-methoxy-6-[6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(E),7-octadienyl]-flavanone (**PF-6**) and 3',5,5',7-tetrahydroxy-4'-methoxy-6-[6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(E),7-octadienyl]-flavanone (**PF-14**)*

Obtained as a 1:4 mixture of **PF-6** and **PF-14**; yellow colored oil; $[\alpha]_D^{25}$ –5.9° (c, 0.34, MeOH); UV λ_{max}^{MeOH} (log ε): 205 (4.82), 232 (4.37), 292 (4.40) 342 (shoulder); CD (MeOH) $\Delta\varepsilon_{327}$ +3.49, $\Delta\varepsilon_{316}$ 0, $\Delta\varepsilon_{291}$ –13.5; EIMS: *m/z* 470 $[M]^+$ (7), 452 (13), 384 (10), 369 (10), 331 (31), 287 (8), 231 (8), 219 (31), 203 (30), 179 (14), 165 (100); HREIMS: *m/z* 470.1938 $[M]^+$ (calcd. for $C_{26}H_{30}O_7$, 470.1941); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data of **PF-6**, see Tables 2-1 and 2-2.

A mixture of **PF-6/14** (1.0 mg) and ethereal CH_2N_2 (3.0 ml) was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was concentrated, separated by p-TLC, and finally purified by reversed-phase HPLC (solvent, 20% aqueous MeOH) to yield **PF-6a** (0.15 mg, 12.5%) and **PF-14a** (0.6 mg, 50%). **PF-6a**: EIMS: *m/z* 512 $[M]^+$(40), 497 (8) 426 (66), 413 (20), 387 (10), 373 (90), 368 (60), 360 (30), 343 (30), 329 (10), 313 (9), 285 (11), 255 (22), 236 (40), 219 (33), 194 (44), 179 (100), 165 (10), 151 (26); HREIMS: *m/z* $[M]^+$ 512.2365 (calcd. for $C_{29}H_{34}O_8$, 512.2410); ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 12.04 (1H, s, 5-OH), 6.67 (2H, s, H-2'and 6'), 6.10 (1H, s, H-8), 5.33 (1H, dd, *J*=13.3, 2.9, H-2), 5.23 (1H, brt, *J*=7.3, H-2"), 4.89 (1H, brs, H-9"), 4.81 (1H, brs, H-2), 4.01 (1H, m, H-7"), 3.89 (6H, s, 3' and 5'-OMe), 3.87 (3H, s, 4'-OMe), 3.84 (3H, s, 7-OMe), 3.27 (2H, d, *J*=6.8, H-1"), 3.09 (1H, dd, *J*=17.1, 2.9), 2.79 (1H, dd, *J*=17.1, 2.9), 2.02 (2H, m, H-5"), 1.79 (3H, s, H-4"), 1.71 (3H, s, H-10"), 1.58 (2H, m, H-6"). **PF-14a**: ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 12.04 (1H, s, 5-OH), 6.99 (1H, d, *J*=2.4, H-2'), 6.98 (1H, d, *J*=8.2, 2.4, H-6'), 6.90 (1H, d, *J*=8.2, H-5'), 6.09 (1H, s, H-8), 5.34 (1H, dd, *J*=13.3, 2.9, H-2), 5.23 (1H, brt, *J*=7.3, H-2"), 4.89 (1H, brs, H-9"), 4.81 (1H, brs, H-9"), 4.02 (1H, m, H-7"), 3.93 (3H, s, 3'-OMe), 3.91 (3H, s, 4'-OMe), 3.83 (3H, s, 7-OMe), 3.27 (2H, d *J*=6.8, H-1"), 3.11 (1H, dd, *J*=17.1, 13.2), 3.79 (1H, dd, *J*=17.1, 2.9), 2.02 (2H, m, H-5"), 1.79 (3H, s, H-4"), 1.71 (3H, s, H-10"), 1.58 (2H, m, H-6").

(*R*)-MTPACl (1.0 μl) was added to a solution **PF-6a** (0.3 mg) in pyridine (30 μl) and the mixture was allowed to stand for 1 h at room temperature. The mixture was concentrated after addition of MeOH (30 μl), and purified by p-TLC to give the 6"-*O*-(*S*)-MTPA ester; ^1H-NMR ($CDCl_3$) δ 12.07 (1H, s, 5-OH), 6.09 (0.5H, s, H-8), 6.08 (0.5H, s, H-8), 4.99 (0.5H, brs, H-9"), 4.94 (0.5H, brs, H-9"), 4.90 (0.5H, brs, H-9"), 4.89 (0.5H, brs, H-9"), 3.84 (1.5H, s, 7-OMe), 3.83 (1.5H, s, 7-OMe), 3.54 (1.5H, brs, MTPAOMe), 3.52 (1.5H, brs, MTPAOMe), 3.27 (0.5H, d, *J*=7.1, H-1"), 3.25 (0.5H, d, *J*=7.1, H-1"), 1.76 (1.5H, s, H_3-10"), 1.71 (1.5H, s, H_3-10").

*3,3',4',5,7-Pentahydroxy-6-[6-hydroxy-3,7-dimethyl-2(E),7-octadienyl]flavanone (**PF-7**)*

Yellow colored oil; $[\alpha]_D^{25}$ +30.1° (c, 0.20, MeOH); UV λ_{max}^{MeOH} (log ε): 203 (4.84), 232 (4.42), 292 (4.31) 342 (shoulder); CD (MeOH) $\Delta\varepsilon_{332}$ +3.50, $\Delta\varepsilon_{317}$ 0, $\Delta\varepsilon_{293}$ –11.2; EIMS: *m/z* 456 $[M]^+$ (6), 438 (14), 370 (12), 355 (14), 331 (14), 317 (34), 301 (42), 299 (14), 287 (14), 219 (27), 203 (20), 177 (18), 165 (100); HREIMS: *m/z* 456.1775 $[M]^+$ (calcd. for $C_{26}H_{30}O_7$, 456.1784); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data of **PF-7**, see Tables 2-1 and 2-2.

A mixture of **PF-7** (1.0 mg) and ethereal CH_2N_2 (3.0 ml) was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was concentrated and purified by p-TLC to give **PF-7a** (0.6 mg, 50%); EIMS: *m/z* 498 $[M]^+$ (20), 480 (8) 412 (10), 383 (5), 368 (30), 359 (40), 343 (16), 329 (33), 319 (22), 301 (8), 233 (20), 219 (8), 179 (100), 165 (14), 151 (28); HREIMS: *m/z* $[M]^+$ 498.2285 (calcd. for $C_{28}H_{34}O_8$, 498.2254); ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 11.23 (1H, s, 5-OH), 7.11 (1H, dd, *J*=8.2, 2.4, H-6'), 7.07 (1H, d, *J*=2.4, H-2'), 6.94 (1H, d, 8.2, H-5'), 6.10 (1H, s, H-8), 5.22 (1H, brt, *J*=7.3, H-2"), 5.02 (1H, d, *J*=12.0, H-2), 4.58 (1H, brd, *J*=12.0, H-3), 4.89 (1H, brs, H-9"), 4.81 (1H, brs, H-9"), 4.03 (1H, m, H-7"), 3.94 (3H, s, 3'-OMe), 3.91 (3H, s, 4'-OMe), 3.84 (3H, s, 7-OMe), 3.28 (2H, d, *J*=6.8, H-1"), 2.02 (2H, m, H-5"), 1.79 (3H, s, H-4"), 1.71 (3H, s, H-10"), 1.58 (2H, m, H-6").

Conversion of **PF-7a** (0.3 mg) to the 3-*O*,6"-*O*-di-(*S*)-MTPA ester was carried out as described for **PF-6a**. **PF-7a**: ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 11.41 (0.5H, s, 5-OH), 11.40 (0.5H, s, 5-OH), 6.12 (0.5H, s, H-8), 6.11 (0.5H, s, H-8), 5.00 (0.5H, brs, H-9"), 4.94 (0.5H, brs, H-9"), 4.90 (0.5H, brs, H-9"), 4.89 (0.5H, brs, H-9"), 3.84 (1.5H, s, 7-OMe), 3.83 (1.5H, s, 7-OMe), 3.55 (1.5H, brs, MTPAOMe), 3.52 (1.5H, brs, MTPAOMe), 3.28 (0.5H, d, *J*=7.1, H-1"), 3.26 (0.5H, d, *J*=7.1, H-1"), 1.75 (1.5H, s, H_3-10"), 1.71 (1.5H, s, H_3-10").

3',4',5,7-Tetrahydroxy-6-[7-hydroxy-3,7-dimethyl-2(E)-octenyl]flavanone ***(PF-8)***

Yellow colored oil; $[\alpha]_D^{25}$ +18.3° (c, 0.60, MeOH); UV λ_{max}^{MeOH} (log ε): 203 (4.80), 232 (4.42), 292 (4.30) 342 (shoulder); CD (MeOH) $\Delta\varepsilon_{332}$ +3.25, $\Delta\varepsilon_{317}$ 0, $\Delta\varepsilon_{293}$ −12.9; (−)HRFABMS: *m/z* 457.1891 $[M-H]^-$ (calcd. for $C_{25}H_{29}O_8$, 457.1862); EIMS: *m/z* 458 $[M]^+$ (12), 440 (42), 422 (8), 355 (10), 317 (68), 299 (18), 289 (30), 233 (10), 219 (24), 203 (12), 177 (12), 165 (100), 150 (24), 123 (42); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, Tables 2-1 and 2-2.

6-(3-Methyl-2-butenyl)-4',5,5',7-tetrahydroxyflavanone ***(PF-9)***

Yellow colored oil; $[\alpha]_D^{25}$ +19.1° (c, 0.24, MeOH); UV λ_{max}^{MeOH} (log ε): 204 (4.73), 232 (4.34), 295 (4.22) 342 (shoulder); CD (MeOH) $\Delta\varepsilon_{328}$ +3.39, $\Delta\varepsilon_{316}$ 0, $\Delta\varepsilon_{292}$ −11.4; EIMS: *m/z* 402 $[M]^+$ (60), 384 (5), 373 (18), 369 (7), 346 (12), 317 (40), 221 (42), 219 (14), 203 (10), 180 (74), 165 (100), 153 (28), 139 (8), 123 (8); HREIMS: *m/z* 402.1278 $[M]^+$ (calcd. for $C_{21}H_{22}O_8$, 402.1315) ; for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, Tables 2-1 and 2-2.

Anti-oxidant activity

The DPPH radical scavenging activity was evaluated as reported previously (Jayasinghe et al., 2006). The concentration in μg/ml (mean values of triplicated experiments) required to scavenge DPPH free radicals by 50% (SC_{50}) were determined. The antioxidants, α-tocopherol and (+)-taxifolin, were used as reference compound.

Inhibition of lipid peroxidation was examined according to the published protocol (Bernheim et al., 1948). Rat liver microsomes were prepared from a phenobarbital-treated Wistar rat. The incubation mixtures contained microsomes (0.56 mg protein) and the indicated amount of sample in a mixture of

680 μL of 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.4) and 300 μL ethanol. Peroxidation was initiated by the addition of tert-butyl hydroperoxide (1 mM) and continued for 15 min at 37 °C. The peroxidation was terminated by an addition of 100 mL of 2,6-di-tertbutyl-*p*-cresol in ethanol (2%). The solution was then mixed with 2.0 mL of 15% trichloroacetic acid and 0.375% thiobarbituric acid in 0.25 M HCl. After incubation at 80 °C for 15 min, the precipitate was removed by centrifugation (3000 rpm, 20 °C, 20 min), and the difference between the absorbance at 535 nm and 600 nm was measured to gain a relative thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) formation. This assay was conducted by Ms. Kyoko Takahshi, Kyoritsu University of Pharmcy.

2-1-2. Leaves and stems of young trees

Plant Material.

Young leaves of the *Paulownia tomentosa* were collected in September in 2005 on the campus of Tokyo Institute of Technology. The plant was identified by Prof. S. Kohshima, Department of Biological Sciences, Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology. A voucher specimen (CMS17-01) was deposited in the Department of Chemistry and Materials Science, Tokyo Institute of Technology.

Extraction and Isolation

Fresh young leaves (fresh wt. 500 g, 70 leaves, average size 100 cm^2 per leave) were briefly (ca. 10 sec) rinsed twice in a beaker containing diethyl ether (total volume 600 mL) and the diethyl ether solution was concentrated to dryness (720 mg) under a reduced pressure. TLC pattern of the oily residue was identical with that of the sample collected selectively from the glandular trichomes by using glass capillary. The residue was subjected to CC (silica gel; hexane/AcOEt 10:1→AcOEt, and then AcOEt/MeOH 20:1→10:1 (total volume 1 l)). The fractions collected were combined to obtain eight fractions on the basis of TLC analysis. The first three fractions were combined (80 mg) and further purified by CC (flash silica gel: hexane/AcOEt 5:1→2:1) to give *G*-1 (14 mg), *G*-2 (18 mg) and G-3 (38 mg). The next three fractions were combined (440 mg) and further purified by CC (flash silica gel: hexane/AcOEt 4:1→1:2) to give a 1:1 mixture of *G*-4 and *G*-5 (160 mg), *G*-5 (72 mg) and *G*-6 (200 mg). The seventh and eighth fractions of the first column were designated as *G*-7 (84 mg) and *G*-8 (28 mg). *G*-1–*G*-8 were contained in the original ether extract as revealed by TLC ($CHCl_3$/MeOH 20:1) analysis, thus ruling out the possibility of the formation of the acetylated compounds during extraction and separation as artifacts. The leaves were wiped with cotton twice and the cotton was washed with ether to give the extract A. The leaves were then rinsed in ether to give the extract B. TLC comparison of the two extracts revealed that the extract A showed ca. five times more intense spots for *G*-1–*G*-8 than extract B. The leaves rinsed in ether were then homogenized in methanol-chloroform. This extract did not show any TLC spot of *G*-1–*G*-8.

Analysis of the fatty acyl moiety of Fr. G-1–G-8.

A suspension of the extract (30 mg) in DME (800 μl) and LiOH (8.0 mg)-water (200 μL) was stirred at room temperature for 36 h. Sat. aq. NH_4Cl was added and the mixture was partitioned between $CHCl_3$ and water. The $CHCl_3$ layer was separated and concentrated, and the residue was treated with ethereal CH_2N_2 (200 μl) at room temperature for 1 h. The resulting fatty acid methyl ester mixture (18 mg) showed two spots on TLC analysis (Rf=0.8 and 0.3, hexane/AcOEt 1:1), which were separated by CC (silica gel, hexane/AcOEt 2:1→1:1) to give the mono- and dihydroxy-fatty acid methyl ester fractions (3 and 15 mg). The latter fraction was further purified by PTLC (hexane/AcOEt 1:1, developed twice) to give methyl esters of 3,9-dihydroxyfatty acid (5.0 mg, Rf=0.38), 3,8-dihydroxyfatty acid (4.0 mg, Rf=0.34), 3,7-dihydroxyfatty acid (ca. 1.0 mg, Rf=0.28) and 3,6-dihydroxyfatty acid (5.0 mg, Rf=0.30).

The methyl esters of mono- and dihydroxyfatty acids (100 μg each) were separately mixed with hexamethyldisilazane and trimethylchlorosilane in pyridine (TMS-HT, 30 μL, *Tokyo Chemical Industry Co.*), and the solution was kept at 65°C for 1.5 h. Hexane (50 μL) and H_2O (50 μL) were added to the reaction mixture and the separated upper layer was analyzed with GLC and GC-MS. Parameters of GLC analysis for the trimethylsilylated methyl esters: injection temperature 270°C; column temperature 215°C; detection temperature 270°C. GC-MS analysis was carried out under the conditions described in General experimental procedure; HP-5 capillary column, source temperature 250°C; injection temperature 250°C; programmed column temperature 60°C for 1 min, which was then raised to 240°C at a rate of 20°C/min, and maintained at this temperature for 15 min; interface temperature 280°C. GLC chromatogram of the TMS derivative of the monohydroxyfatty acid methyl esters showed two peaks corresponding to the mono-TMS derivatives of methyl 3-hydroxyoctadecanoate at 8.3 min (relative abundance, 9%) and methyl 3-hydroxyeicosanoate at 15.4 min (91%). GC chromatogram (the same conditions as described above) of the TMS derivative of the dihydroxyfatty acid methyl esters showed eight peaks corresponding to the di-TMS derivatives of methyl 3,6-dihydroxyoctadecanoate at 13.5 min (4%), methyl 3,7-dihydroxyoctadecanoate at 13.7 min (4%), methyl 3,8-dihydroxyoctadecanoate at 14.1 min (2%), methyl 3,9-dihydroxyoctadecanoate at 14.3 min (1%), methyl 3,6-dihydroxyeicosanoate at 25.3 min (37%), methyl 3,7-dihydroxyeicosanoate at 25.4 min (3%), 3,8-dihydroxyeicosanoate at 26.3 min (27%), and methyl 3,9-dihydroxyeicosanoate at 26.7 min. (22%). Mass spectral data of the peaks obtained in GC-MS analysis are described in Table 2-6.

*Methyl 3-hydroxyeicosanoate/3-hydroxyoctadecanoate (**PL-31a/32a**)*

White solid. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): 4.00 (*m*, H-3); 3.71 (*s*, MeO); 2.82 (*d*, *J*=4.0, OH); 2.52 (*dd*, *J*=16.3, 3.0, Ha-2); 2.41 (*dd*, *J*=16.3, 9.0, Hb-2); 1.40-1.58 (*m*, CH_2); 1.25 (*m*, CH_2); 0.88 (*t*, *J*=7.0, H_3-20/18). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): 173.5 (C-1); 68.1 (C-3); 51.7 (MeO); 41.1 (C-2); 36.6 (C-4); 31.9 (C-18/16), 29.4-29.7 (CH_2); 25.5 (C-5); 22.7 (C-19/17); 14.1 (C-20/18). HRFABMS: 343.3244 ($[M+H]^+$, $C_{21}H_{43}O_3^+$; calc. 343.3212). TMS derivative of **PL-31a**: EI-MS: 399 ($[M-Me]^+$; (41)); 383

([M–OMe]$^+$; (1)); 175 (63); 159 (14); 129 (22); 73 (100). TMS derivative of **PL-32a**: EI-MS: 371 ([M–Me]$^+$; (51)); 355 ([M–OMe]$^+$; (2)); 175 (58); 129 (21); 73 (100).

To a solution of the ester **PL-31a/32a** (300 μg, 0.9 μmol) in $CHCl_3$ (30 μl) were added (*R*)-2NMA (300 μg, 1.4 μmol), EDC-HCl (1.0 mg, 5.2 μmol), DMAP (200 μg, 1.6 μmol) and DMAP-HCl (200 μg, 1.3 μmol), and the mixture was stirred at room temperature for 12 h. The reaction mixture was purified by PTLC (hexane/AcOEt 6:1) to give the (*R*)-2NMA derivative **PL-31b/32b** in 80% yield: Colorless oil. ^{1}H NMR data: Table 2-5. FAB-MS: 541 [M+H]$^+$. Reaction of the methyl ester **PL-31a**/**32a** with (*S*)-2NMA gave the (*S*)-2NMA derivative **PL-31c/32c** in the same manner: Colorless oil. ^{1}H NMR data: Table 2-5. FAB-MS: 541 [M+H]$^+$.

*Methyl 3,9-dihydroxyeicosanoate/3,9-dihydroxyoctadecanoate (**PL-39a/40a**)*

White solid. ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): 4.00 (*m*, H-3); 3.72 (*s*, MeO); 3.58 (*m*, H-9); 2.84 (*d*, *J*=4.0, OH); 2.51 (*dd*, *J*=16.4, 3.1, Ha-2); 2.41 (*dd*, *J*=16.4, 9.0, Hb-2); 1.33-1.58 (*m*, CH_2); 1.25 (*m*, CH_2); 0.88 (*t*, *J*=7.0, H_3-20/18). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): 173.5 (C-1); 72.0 (C-9); 68.0 (C-3); 51.7 (MeO); 41.1 (C-2); 37.6, 37.4 (C-8, 10); 36.4 (C-4); 31.9 (C-18/16); 29.4-29.7 (CH_2); 25.7, 25.6, 25.5 (C-5, 7, 11); 22.7 (C-19/17); 14.1 (C-20/18). HR-FAB-MS: 359.3123 ([M+H]$^+$, $C_{21}H_{43}O_4^+$; calc. 359.3161). TMS derivative of **PL-39a**: EI-MS: 487 ([M–Me]$^+$, (1)); 397 ([M–Me–TMSOH]$^+$, (5)); 347 (1); 315 (11); 257 (24); 247 (2); 225 (1); 175 (8); 143 (3); 129 (10); 73 (100). TMS derivative of **PL-40a**: EI-MS: 459 ([M–Me]$^+$, (1)); 369 ([M–Me–TMSOH]$^+$; (6)); 347 (2); 315 (8); 247 (2); 229 (22); 225 (1); 175 (4); 143 (3); 129 (5); 73 (100).

To a solution of the methyl ester **PL-39a/40a** (300 μg, 0.8 μmol) in $CHCl_3$ (30 μL) were added (*R*)-2NMA (200 μg, 1.0 μmol), EDC-HCl (1.0 mg, 5.2 μmol), DMAP (200 μg, 1.6 μmol) and DMAP-HCl (200 μg, 1.3 μmol), and the mixture was stirred at room temperature for 12 h. The reaction mixture was purified by PTLC (hexane/AcOEt, 4:1) to give 3-*O*- and 9-*O*-(*R*)-2NMA derivatives (**PL-39b/40b** and **PL-39d/40d**) as a 1:1 inseparable mixture in 60% yield: Colorless oil: ^{1}H-NMR data: *Table 2*. FAB-MS: 557 [M+H]$^+$. Reaction of the methyl ester **PL-39a/40a** with (*S*)-2NMA gave the (*S*)-2NMA derivatives **PL-39b/40b** and **PL-39d/40d**: Colorless oil. ^{1}H NMR data: Table 2-5. FAB-MS: 557 [M+H]$^+$.

*Methyl 3,8-dihydroxyeicosanoate/3,8-dihydroxyoctadecanoate (**PL-37a/38a**)*

White solid. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): 4.01 (*m*, H-3); 3.72 (*s*, MeO); 3.59 (*m*, H-8); 2.86 (*d*, *J*=4.0, OH); 2.51 (*dd*, *J*=16.4, 3.1, Ha-2); 2.42 (*dd*, *J*=16.4, 9.0, Hb-2); 1.33-1.58 (*m*, CH_2); 1.25 (*m*, CH_2); 0.88 (*t*, *J*=7.0, H_3-20/18). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): 173.5 (C-1); 71.9 (C-8); 68.0 (C-3); 51.7 (MeO); 41.1 (C-2); 37.6; 37.3; 36.5 (C-4, 7, 9); 31.9 (C-18/16); 29.4-29.7 (CH_2); 25.7; 25.6 (C-5, 10); 22.7 (C-19/17); 14.1 (C-20/18). HR-FAB-MS: 359.3126 ([M+H]$^+$, $C_{21}H_{43}O_4^+$; calc. 359.3161). TMS derivative of **PL-37a**: EI-MS: 487 ([M–Me]$^+$ (1)); 397 ([M–Me–TMSOH]$^+$, (5)); 333 (2); 301 (26); 271 (24); 247 (3); 243 (1); 211 (4); 175 (7); 143 (3); 129 (13); 73 (100). TMS derivative of **PL-38a**: EI-MS: 459 ([M–Me]$^+$, (1)); 369 ([M–Me–TMSOH]$^+$, (5)); 333 (1); 301 (18); 247 (2); 243 (22); 211 (3); 175 (8);

143 (4); 129 (7); 73 (100).

Reaction of the methyl ester **PL-37a/38a** with (*R*)-2NMA in the same manner as described for **PL-39a/40a** gave a mono-ester mixture that was separated by PTLC (hexane/AcOEt, 4:1, twice) to yield the 8-*O*-2NMA ester **PL-37d/38d** (30%, Rf=0.38) and 3-*O*-2NMA ester **PL-37b/38b** (29%, Rf=0.32). Data of **PL-37d/38d**: Colorless oil. ^{1}H-NMR data: *Table 2*. FAB-MS: 557 $[M+H]^+$. Data of **PL-37b/38b**: Colorless oil. ^{1}H-NMR data: Table 2-5. FAB-MS: 557 $[M+H]^+$. Reaction of **PL-37a/38a** with (*S*)-2NMA gave the 3-*O*- and 8-*O*-(*S*)-2NMA derivatives (**PL-37c/38c** and **PL-37e/38e**) as a 1:1 inseparable mixture (62% yield): Colorless oil. ^{1}H NMR data: Table 2-5. FAB-MS: 557 $[M+H]^+$.

*Methyl 3,7-dihydroxyeicosanoate/3,7-dihydroxyoctadecanoate (**PL-35a/36a**)*

White solid. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): 4.03 (*m*, H-3); 3.72 (*s*, MeO); 3.60 (*m*, H-7); 2.93 (*m*, OH); 2.52 (*dd*, *J*=16.5, 3.2, Ha-2); 2.43 (*dd*, *J*=16.5, 9.0, Hb-2); 1.40-1.60 (*m*, CH_2); 1.25 (*m*, CH_2); 0.88 (*t*, *J*=7.0, H_3-20/18). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 173.5 (C-1); 71.8 (C-7); 67.9 (C-3); 51.8 (MeO); 41.0 (C-2); 37.5; 37.1 (C-6, 8); 36.3 (C-4); 31.9 (C-18/16); 29.4-29.7 (CH_2); 25.7 (C-9); 22.7 (C-19/17); 21.5 (C-5); 14.1 (C-20/18). HR-FAB-MS: 359.3160 ($[M+H]^+$, $C_{21}H_{43}O_4^+$; calc. 359.3161); 331.2837 ($[M+H]^+$, $C_{19}H_{41}O_4^+$; calc. 331.2848). TMS derivative of **PL-35a**: EI-MS: 487 ($[M-Me]^+$, (1)); 397 ($[M-Me-TMSOH]^+$, (6)); 319 (6); 287 (23); 285 (22); 247 (4); 229 (1); 197 (1); 175 (4); 143 (2); 129 (11); 73 (100). TMS derivative of **PL-36a**: EI-MS: 459 ($[M-Me]^+$, (1)); 369 ($[M-Me-TMSOH]^+$, (3)); 319 (5); 287 (21); 257 (24); 247 (2); 229 (1); 197 (1); 175 (6); 143 (3); 129 (11); 73 (100).

Reaction of **PL-35a/36a** with (*R*)-2NMA in the same manner as described above gave the 3-*O*- and 7-*O*-(*R*)-2NMA derivatives (**PL-35b/36b** and **PL-35d/36d**) as a 1:1 inseparable mixture (59% yield): Colorless oil. ^{1}H-NMR data: *Table 2*. FAB-MS: 557 $[M+H]^+$. Reaction of **PL-35a/36a** with (*S*)-2NMA gave the 3-*O*- and 7-*O*-(*S*)-2NMA derivatives (**PL-35c/36c** and **PL-35d/36d**) as a 1:1 inseparable mixture (58% yield): Colorless oil. ^{1}H-NMR data: *Table 2-5*. FAB-MS: 557 $[M+H]^+$.

*Methyl 3,6-dihydroxyeicosanoate/3,6-dihydroxyoctadecanoate (**PL-33a/34a**)*

White solid. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): 4.05 (*m*, H-3); 3.72 (*s*, MeO); 3.62 (*m*, H-6); 2.86 (*m*, OH); 2.51 (*dd*, *J*=16.3, 3.7, Ha-2); 2.46 (*dd*, *J*=16.3, 8.3, Hb-2); 1.40-1.68 (*m*, CH_2); 1.25 (*m*, CH_2); 0.88 (*t*, *J*=7.0, H_3-20/18). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 173.4 (C-1); 71.8 (C-6); 67.9 (C-3); 51.8 (MeO); 41.2 (C-2); 37.7 (C-7); 33.7 (C-5); 33.1 (C-4); 31.9 (C-18/16); 29.4-29.7 (CH_2); 25.7 (C-9); 22.7 (C-19/17); 14.1 (C-20/18). HR-FAB-MS: 359.3139 ($[M+H]^+$, $C_{21}H_{43}O_4^+$; calc. 359.3161). TMS derivative of **PL-35a**: EI-MS: 487 ($[M-Me]^+$, (1)); 397 ($[M-Me-TMSOH]^+$, (4)); 305 (4); 299 (21); 273 (1); 247 (3); 215 (45); 183 (1); 175 (3); 143 (5); 129 (2); 73 (100). TMS derivative of **PL-36a**: EI-MS: 459 ($[M-Me]^+$, (1)); 369 ($[M-Me-TMSOH]^+$, (9)); 305 (3); 273 (2); 271 (21); 247 (4); 215 (43); 183 (1); 175 (4); 143 (10); 129 (3); 73 (100).

Reaction of the methyl ester **PL-33a/34a** with (*R*)-2NMA gave 3-*O*- and 6-*O*-(*R*)-2NMA derivatives (**PL-33b/34b** and **PL-33d/34d**) as an inseparable 1:1 mixture (60% yield): Colorless oil. ^{1}H-NMR data: *Table 2*. FAB-MS: 557 $[M+H]^+$. Reaction of **PL-33a/34a** with (*S*)-2NMA gave a mono-ester mixture

which was separated by PTLC (hexane/AcOEt 4:1, twice) to yield 3-*O*-(*S*)-2NMA ester **PL-33c/34c** (31%, Rf=0.30) and 6-*O*-(*S*)-2NMA ester **PL-33e/34e** (30%, Rf=0.34). Data of **33c/34c**: Colorless oil. ^{1}H NMR data: *Table 2-5*. FAB-MS: 557 $[M+H]^+$. Data of **PL-33e/34e**: Colorless oil. ^{1}H NMR data: Table 2-5. FAB-MS: 557 $[M+H]^+$.

*Fr. G-1 (compound **PL-1**)*

Colorless oil. $[\alpha]^{26}_D = 0.0$ (c = 0.72, $CHCl_3$). ^{1}H-NMR data: *Table 2-4*. ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): 170.5 (Ac x 2); 170.3 (Ac); 169.5 (C-1); 71.3 (C-6); 70.0 (C-3); 69.4 (C-*sn*-2); 62.2 (C-*sn*-1, 3); 39.2 (C-2); 37.7 (C-7); 32.5 (C-5); 31.9 (C-18/16); 30.1 (C-4); 29.4-29.7 (CH_2); 25.7 (C-8); 22.7 (C-19/17); 21.0 (Ac); 20.7 (Ac x 2); 14.1 (C-20/18). HR-FAB-MS: 545.3680 ($[M+H]^+$, $C_{29}H_{53}O_9^+$; calc. 545.3690).

G-1 (1.0 mg, 1.8 μmol) was treated with (*R*)-MTPACl (1.2 μL, 6.4 μmol) in pyridine (30 μL) at room temperature. After 30 min, MeOH (100 μL) was added to the reaction mixture and the solution was purified by PTLC (hexane/AcOEt, 4:1) to give the (*S*)-MTPA ester (1.3 mg, 93% yield): Colorless oil. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): 7.26-7.58 (*m*, 5H); 5.23 (*m*, H-*sn*-2); 5.22 (*m*, H-3); 5.09 (*m*, H-6); 4.30 (*dd*, *J*=9.2, 4.6, Ha-*sn*-1); 4.28 (*dd*, *J*=9.2, 4.2, Hb-*sn*-1); 4.14 (*dd*, *J*=12.1, 5.9, H_2-*sn*-3); 3.54 (*s*, MeO); 2.60 (*dd*, *J*=15.5, 7.5, Ha-2); 2.52 (*dd*, *J*=15.5, 5.0, Hb-2); 2.07 (*s*, Ac); 2.06 (*s*, Ac); 2.01 (*s*, Ac); 1.25-1.70 (CH_2); 0.88 (*t*, *J*=6.8, H_3-20/18). FAB-MS: 761 $[M+H]^+$.

Reaction of *G*-1 (1.0 mg, 1.8 μmol) with (*S*)-MTPACl (1.2 μL, 6.4 μmol) gave the (*R*)-MTPA ester (1.2 mg, 86% yield): Colorless oil. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): 7.26-7.58 (*m*, 5H); 5.23 (*m*, H-*sn*-2); 5.16 (*m*, H-3); 5.09 (*m*, H-6); 4.30 (*dd*, *J*=9.5, 4.3, Ha-*sn*-1); 4.28 (*dd*, *J*=9.5, 4.2, Hb-*sn*-1); 4.14 (*dd*, *J*=12.0, 5.8, Ha-*sn*-3); 4.13 (*dd*, *J*=12.0, 5.9, Hb-*sn*-3); 3.55 (*s*, MeO); 2.53 (*dd*, *J*=15.7, 8.1, Ha-2); 2.43 (*dd*, *J*=15.7, 4.8, Hb-2); 2.07 (*s*, Ac x 2); 2.01 (*s*, Ac); 1.25-1.70 (CH_2); 0.88 (*t*, *J*=6.8, H_3-20/18). FAB-MS: 761 $[M+H]^+$.

G-1 (2.0 mg, 3.7 μmol) was treated with Ac_2O and pyridine at room temperature overnight. Extractive workup gave a crude product, which was purified by PTLC (hexane/AcOEt, 4:1) to afford *G*-1 acetate (2.1 mg, 97% yield): Colorless oil. The ^{1}H and ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) data were essentially identical with those of G-4 acetate. FAB-MS: 587 $[M+H]^+$.

*Fr. G-2 (a mixture of compounds **PL-2** and **3**)*

Colorless oil. ^{1}H NMR data: *Table 2-4*. ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 170.9 (Ac x 2); 170.2 (C-1); 72.8 (*sn*-C-2); 70.7 (C-3); 62.2; 61.4 (*sn*-C-1, 3); 39.6 (C-2); 34.3 (C-4); 31.9 (C-18/16); 29.3-29.7 (CH_2); 25.1 (C-5); 22.7 (C-19/17); 21.1 (Ac); 20.7 (Ac); 14.1 (C-20/18). HR-FAB-MS: 487.3613 ($[M+H]^+$, $C_{27}H_{51}O_7^+$; calc. 487.3635).

A mixture of *G*-2 (8 mg, 16 μmol), imidazole (4.0 mg, 59 μmol) and TBDPSCl (8 μL, 31 μmol) in DMF (30 μL) was stirred at room temperature for 3 h. Ether was added, and the ether soluble portion was washed with saturated aqueous NH_4Cl and then brine, dried over Na_2SO_4 and concentrated to dryness. The residue was dissolved in CH_2Cl_2 (100 μL) and stirred at –78°C, after addition of DIBAL (1.0 M hexane solution, 100 μL) for 2 min under N_2. Ether and saturated aqueous NH_4Cl were added,

and the ether layer was washed with brine, dried over Na_2SO_4 and concentrated to dryness. The residue was chromatographed on silica gel with hexane/AcOEt 2:1 to give 3-TBDPS-*sn*-glycerol (4.2 mg, 77% from *G*-2): White solid. FAB-MS: 331 $[M+H]^+$. $[\alpha]^{26}_D$ = +5.4 (*c* = 0.56, $CHCl_3$). Crystallization from hexane/AcOEt 5:1 gave needles. M.p. 56-57°C (lit. $[\alpha]^{26}_D$ = +6.5 and M.p. 54°C for 3-TBDPS-*sn*-glycerol (Leftheris et al., 1990)).

The 3-TBDPS-*sn*-glycerol (0.5 mg 1.5 μmol) was reacted with (*R*)-MTPACl (1.0 μl, 5.4 μmol) in the same manner as described for G-1, and a crude product was purified by PTLC (hexane/AcOEt, 7:1) to give 1,2-di-(*S*)-MTPA-3-TBDPS-*sn*-glycerol (90% yield): White powder. ^1H NMR ($CDCl_3$): 7.27-7.58 (*m*, 20H); 5.36 (*m*, H-*sn*-2); 4.75 (*dd*, *J*=12.4, 3.2, Ha-*sn*-1); 4.50 (*dd*, *J*=12.4, 6.4, Hb-*sn*-1); 3.72 (*m*, H_2-*sn*-3); 3.44 (*s*, MeO); 3.38 (*s*, MeO); 1.01 (*s*, *t*-butyl). FAB-MS: 763 $[M+H]^+$.

*Fr. G-3 (a mixture of compounds **PL-4–8**)*

Colorless oil. ^1H NMR data: *Table 2-4*. ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 171.0 (Ac); 170.8 (Ac); 170.7 (Ac); 170.1/170.0/169.9 (C-1); 74.3 (C-7/8/9); 74.1 (C-8/9/7); 73.9 (C-9/7/8); 72.9/72.8/72.7 (*sn*-C-2); 70.5/70.4/70.3 (C-3); 62.2 (*sn*-C-1/3); 61.3 (*sn*-C-3/1); 39.6/39.5/39.4 (C-2); 34.1; 34.0; 33.9; 33.7; 31.9 (C-18/16); 29.7-29.1 (CH_2); 25.3; 25.1; 25.0; 24.9; 22.7 (C-19/17); 21.2 (Ac); 21.1 (Ac); 20.9 (Ac); 20.7 (Ac); 14.1 (C-20/18). HR-FABMS: 545.3652 ($[M+H]^+$, $C_{29}H_{53}O_9^+$; calc. 545.3690); 517.3392 ($[M+H]^+$, $C_{27}H_{49}O_9^+$; calc. 517.3377).

G-3 (8 mg, 15 μmol) was converted to 3-TBDPS-*sn*-glycerol (3.6 mg, 75% yield) in the same manner as described for G-2. 3-TBDPS-*sn*-glycerol: Colorless needles. $[\alpha]^{26}_D$ = +5.6 (*c* = 0.48, $CHCl_3$). This was further converted to 1,2-di-(*S*)-MTPA-3-TBDPS-*sn*-glycerol as described for 3-TBDPS-*sn*-glycerol derived from *G*-2. The ^1H NMR spectrum of 1,2-di-(*S*)-MTPA-3-TBDPS-*sn*-glycerol was essentially identical to that derived from *G*-2.

Fr. G-4 (a mixture of compounds **PL-9** *and* **10**):

Colorless oil. ^1H NMR data: *Table 2-4*. ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 171.5 (Ac); 170.4 (C-1); 75.8 (C-*sn*-2); 71.0 (C-3); 62.4 (C-*sn*-1/3); 62.1 (C-*sn*-3/1); 40.4 (C-2); 34.5 (C-4); 31.9 (C-18/16); 29.3-29.7 (CH_2); 25.2 (C-5); 22.7 (C-19/17); 21.1 (Ac); 14.1 (C-20/18). HR-FAB-MS: 445.3574 ($[M+H]^+$, $C_{25}H_{49}O_6$; calc. 445.3529).

G-4 (10 mg) was acetylated at room temperature overnight in the standard manner (Ac_2O and pyridine). PTLC (hexane/AcOEt, 6:1) purification of a crude product gave the less polar acetate (*G*-4 di-acetate) (4.2 mg, Rf=0.68): Colorless oil. ^1H NMR data: 5.27 (*m*, H-*sn*-2); 5.22 (*m*, H-3); 4.31 (*dd*, *J*=12.0, 4.2, Ha-*sn*-1/3); 4.29 (*dd*, *J*=12.0, 4.2, Hb-*sn*-1/3); 4.15 (*dd*, *J*=12.0, 5.9, Ha-*sn*-3/1); 4.14 (*dd*, *J*=12.0, 5.9, Hb-*sn*-3/1); 2.62 (*dd*, *J*=15.4, 7.5, Ha-2); 2.57 (*dd*, *J*=15.4, 10.0, Hb-2); 2.07 (*s*, Ac x 2); 2.03 (*s*, Ac); 1.51-1.62 (CH_2); 1.25 (CH_2); 0.88 (*t*, *J*=6.9, H_3-20/18). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$): 170.5 (x 2, Ac); 170.3 (Ac); 169.6 (C-1); 70.4 (C-3); 69.3 (C-*sn*-2); 62.2 (x 2, C-*sn*-1, 3); 39.1 (C-2); 34.0 (C-4); 31.9(C-18/16); 29.4-29.7 (CH_2); 25.1 (C-5); 22.7(C-19/17); 20.9 (Ac); 20.7 (x 2, Ac); 14.1 (C-20/18). HR-FAB-MS: 529.3730 ($[M+H]^+$, $C_{29}H_{53}O_8^+$; calc. 529.3740). The more polar product (5.0 mg, Rf

=0.30) was identified as *G*-5 di-acetate.

Fr. G-5 (A mixture of compounds ***PL-11–14****)*

Colorless oil. ^{1}H NMR data: *Table 2-4*. ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 170.9 (Ac); 170.8 (Ac); 169.9 (C-1); 72.9 (C-6); 71.0 (C-*sn*-2); 70.1 (C-3); 62.2 (C-*sn*-1/3); 61.3 (C-*sn*-3/1); 39.7 (C-2); 37.6 (C-7); 32.3 (C-5); 31.9 (C-18/16); 30.0 (C-4); 29.3-29.7 (CH_2), 25.7 (C-7); 22.7 (C-19/17); 21.1 (Ac); 20.7 (Ac); 14.1. HR-FAB-MS: 503.3586 ($[M+H]^+$, $C_{27}H_{51}O_8^+$; calc. 503.3584).

G-5 (10 mg, 20 μmol) was converted to 3-TBDPS-*sn*-glycerol (4.2 mg, 64% yield), $[\alpha]^{26}_D$ = +5.3 (*c* = 0.56, $CHCl_3$), and 1,2-di-(*S*)-MTPA-3-TBDPS-*sn*-glycerol in the same manner as described for *G*-2. The ^{1}H NMR spectrum of 1,2-di-(*S*)-MTPA-3-TBDPS-*sn*-glycerol was essentially identical with that derived from *G*-2.

G-5 (5.1 mg, 10 μmol) was converted to the acetate (5.6 mg, 98% yield) as described for *G*-1: Colorless oil. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): 5.27 (*m*, H-*sn*-2); 5.22 (*m*, H-3); 4.86 (*m*, H-6); 4.31 (*dd*, *J*=12.0, 4.2, Ha-*sn*-1/3); 4.29 (*dd*, *J*=12.0, 4.2, Hb-*sn*-1/3); 4.15 (*dd*, *J*=12.0, 5.9, Ha-*sn*-3/1); 4.14 (*dd*, *J*=12.0, 5.9, Hb-*sn*-3/1); 2.62 (*dd*, *J*=15.6, 7.6, Ha-2); 2.57 (*dd*, *J*=15.6, 5.2, Ha-2); 2.08 (*s*, Ac x 2); 2.04 (*s*, Ac); 2.03 (*s*, Ac); 1.25-1.67 (CH_2); 0.88 (*t*, *J*=6.9, H_3-20/18). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 170.8 (Ac); 170.5 (x 2, Ac); 170.2 (Ac); 169.4 (C-1); 73.6 (C-6); 69.9 (C-3); 69.4 (C-*sn*-2); 62.1 (x 2, C-*sn*-1, 3); 39.7 (C-2); 34.1 (C-7); 31.9 (C-18/16); 29.3-29.8 (CH_2); 25.3 (C-8); 22.7 (C-19/17); 22.0 (Ac); 21.0 (Ac); 20.7 (x 2, Ac); 14.1 (C-20/18). HR-FAB-MS: 587.3760 ($[M+H]^+$, $C_{31}H_{55}O_{10}^+$; calc. 587.3584).

Fr. G-6 (a mixture of compounds ***PL-15–18****)*

Colorless oil. ^{1}H NMR data: *Table 2-4*. ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 171.4 (Ac); 171.1 (Ac); 170.3 (C-1); 75.9 (C-*sn*-2); 74.3/74.1 (C-8/9); 70.9/70.7 (C-3); 62.6 (C-*sn*-1/3); 62.3 (C-*sn*-3/1); 40.4/40.3 (C-2); 34.4; 34.2; 34.0; 33.9; 31.9 (C-18/16); 29.3-29.7 (CH_2); 25.3; 25.1; 25.0; 24.9; 22.7 (C-19/17); 21.2 (Ac); 21.1 (Ac); 14.1. HR-FAB-MS: 503.3627 ($[M+H]^+$, $C_{27}H_{51}O_8^+$; calc. 503.3584); 475.3256 ($[M+H]^+$, $C_{25}H_{47}O_8^+$; calc. 475.3271).

Fr. G-7 (a mixture of compounds ***PL-19–26****)*

Colorless oil. ^{1}H NMR data: *Table 2-4*. ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 171.5/171.3 (Ac); 170.4/170.2 (C-1); 75.8 (C-*sn*-2); 69.9-71.9; 62.1-63.2; 40.3/40.2/40.1/39.7 (C-2); 37.1-37.7; 34.1-34.3; 32.2; 31.9 (C-18/16); 30.1; 29.2-29.7 (CH_2); 25.0-25.7; 22.7; 21.1 (Ac); 14.1 (C-20/18). (+)-HRFAB-MS: 461.3453 ($[M+H]^+$, $C_{25}H_{49}O_7^+$; calc. 461.3478), 433.3202 ($[M+H]^+$, $C_{25}H_{47}O_8^+$; calc. 433.3165).

Fr. G-8 (a mixture of compounds ***PL-27–30****)*

Colorless oil. The ^{1}H NMR spectrum showed the signals of 2-fattyacylglycerol listed in *Table 2-4* and the corresponding 1-fattyacylglycerol [($CDCl_3$/CD_3OD 9:1): 4.20 (*m*, H-3); 3.89 (0.33H, *m*); 3.65 (0.33H, *dd*, *J*=11.0, 4.0), 3.58 (0.33H, *dd*, *J*=11.0, 6.0)]. HR-FAB-MS: 419.3413 ($[M+H]^+$, $C_{27}H_{51}O_8^+$; calc. 419.3373).

GLC and GC-MS analysis of the ether extract and G-1–G-8 in the form of TMS ether.

Each sample (ca. 1 mg) was converted to the corresponding TMS ether in the same manner as described for **PL-31a/32a** and the resulting TMS ether was analyzed by GLC and GC-MS. Parameters of GLC analysis: injection temperature 290°C; programmed column temperature from 240°C to 280°C at a rate of 2°C/min and maintained at the final temperature for 10 min; detection temperature 290°C. Parameters of GC-MS analysis (*DB-1* capillary column): source temperature 250°C; injection temperature 250°C; programmed column temperature 60°C for 1 min, which was then raised to 280°C at a rate of 2°C/min and maintained at the final temperature for 15 min; interface temperature 280°C. The results are summarized in *Table 2-6*. In particular, the TMS ether derivative from G-8 showed eight peaks due to tetra-TMS ethers of the 2-fattyacylglycerides **PL-27**, **-28**, **-29** and **-30** at 12.0, 12.3, 12.6 and 12.9 min and their respective 1-fattyacyl isomers at 13.2, 13.4, 13.7 and 13.9 min in a 22:4:25:13:12:3:14:7 ratio. EI-MS of the **PL-27** isomer-$(TMS)_4$: 691 ($[M–Me]^+$, (1); 603 (2); 513 (4); 509 (4); 471 (1); 451 (6); 429 (1); 419 (5); 339 (24); 299 (15); 273 (18); 219; (10); 218 (8); 147; (20); 129 (21); 103 (20); 73 (100). EI-MS of the **PL-28** isomer-$(TMS)_4$: 691 ($[M–Me]^+$, (1); 603 (2); 523 (1); 513 (3); 471 (1); 451 (6); 429 (2); 339 (4); 287 (18); 285 (14); 219; (6); 218 (6); 147; (11); 129 (18); 103 (18); 73 (100). EI-MS of the **PL-29** isomer-$(TMS)_4$: (691 ($[M–Me]^+$, (1)); 603 (2); 513 (2); 471 (1); 451 (6); 429 (2); 339 (2); 301 (12); 271 (12); 219; (6); 218 (6); 147; (9); 129 (12); 103 (21); 73 (100). EI-MS of the **PL-30** isomer-$(TMS)_4$: 691 ($[M–Me]^+$, (1)); 603 (2); 551 (3); 513 (1); 471 (1); 451 (4); 429 (1); 339 (4); 315 (4); 257 (13); 219; (5); 218 (5); 147; (10); 129 (11); 103 (22); 73 (100).

1,2-Di-(S)-MTPA-3-TBDPS-sn-glycerol and 2,3-di-(S)-MTPA-1-TBDPS-sn-glycerol

3-TBDPS-*sn*-glycerol (M.p. 56-57°C; $[\alpha]^{26}_D$ = +5.0 (*c* = 0.20, $CHCl_3$)), prepared from (*S*)-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methanol according to the published method (Leftheris et al., 1990), was converted to 1,2-di-(*S*)-MTPA-3-TBDPS-*sn*-glycerol in the same manner as described for *G*-2. Data of 1,2-di-(*S*)-MTPA-3-TBDPS-*sn*-glycerol: White powder. The ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) data were identical to those of the sample derived from G-2. FAB-MS: 763 $[M+H]^+$.

1-TBDPS-*sn*-glycerol (M.p. 56-57°C; $[\alpha]^{26}_D$ = –5.6 (*c* = 0.26, $CHCl_3$)), prepared from (*R*)-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methanol, was converted to 2,3-di-(*S*)-MTPA-1-TBDPS-*sn*-glycerol as described above. Data of 2,3-di-(*S*)-MTPA-1-TBDPS-*sn*-glycerol: White powder. FAB-MS: 763 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): 7.58-7.27 (*m*), 5.40 (*m*, H-*sn*-2); 4.63 (*dd*, *J*=12.3, 3.2, Ha-*sn*-3); 4.39 (*dd*, *J*=12.4, 5.2, Hb-*sn*-3); 3.81 (*m*, H_2-*sn*-1); 3.43 (*s*, MeO), 3.37 (*s*, MeO), 1.01 (*s*, *t*-butyl). FAB-MS: 763 $[M+H]^+$.

2.2 *Ibicella lutea* and *Proboscidea louisiana*

Plant material

Preliminary studies were conducted using *Ibicella lutea* leaves kindly donated by Mrs. Akio Kaneko and Takeshi Hiratsuka from The Kyoto Botanical Garden, in July, 2006. *I. lutea* seeds, which were

kindly donated by Ms. Chiaki Shibata from The Insectivorus Plant Society, Japan, were planted in planters at the end of May, 2007, and the germinated plants were grown outdoors on the Tokyo Institute of Technology's campus. The exudate was collected from the leaf surface during August 2007. The plant was identified by both Mr. T. Hiratsuka and Ms. C. Shibata. A voucher sample (CMS 16-01) was deposited at Department of Chemistry and Materials Science, Tokyo Institute of Technology.

The leaves of *Proboscidea louisiana* were collected in Tokyo Metropolitan Medicinal Plants Garden, Kodaira city, Tokyo, in August 2007 through the generosity of Ms. Yukiko Suzuki of the Medicinal Plants Garden, who also identified the plant. A voucher sample (CMS 17-02) was deposited at the Tokyo Metropolitan Medicinal Plant Garden's herbarium.

Extraction and isolation

The glandular trichome exudate from *I. lutea* leaves (100 leaves, average size 50 cm^2 per leaf) was absorbed onto cotton by wiping the leaves. The cotton (10 g) was washed with Et_2O (500 mL), and the solvent was removed *in vacuo* at room temperature to give a yellowish oily material (1.2 g). This material was separated by silica gel CC (120 g), eluted with a gradient of hexane-EtOAc (20:1→1:4) and then EtOAc–MeOH (10:1→4:1); the eluents was combined into four fractions (Frs. I-1–I-4) on the basis of TLC analysis. Fr. I-1 (93 mg) was further separated by silica gel flash CC (15 g) eluting with hexane-EtOAc (8:1→3:1) to give **IP-7** (85 mg). Fr. I-2 (180 mg) was subjected to MPLC using $CHCl_3$-MeOH (100:1→60:1) to give **IP-8** (140 mg) and **IP-10** (20 mg). Fr. I-3 (260 mg) was separated using Sephadex LH-20 eluted with EtOAc to give **IP-9** (95 mg) and Fr. I-5 (150 mg). Fr. I-5 was further purified by flash silica gel CC (15 g) and eluted with hexane-EtOAc (3:1→1:1) to give Fr. 3*i* (90 mg) and Fr. 4*i* (46 mg). Fr. I-4 (600 mg) was subjected to silica gel CC (40 g) and eluted with $CHCl_3$-MeOH (30:1→3:1) to give Fr. 1*i* (400 mg) and Fr. 2*i* (75 mg).

The glandular trichome exudate of *P. louisiana* leaves was collected by wiping the leaves with cotton. The cotton (15 g) was washed with Et_2O (500 mL) and the solvent was removed in vacuo at room temperature to give an oily material (1.9 g). This material was separated by silica gel CC (150 g), eluted with a gradient of hexane-EtOAc (20:1→1:4) and then EtOAc-MeOH (10:1→4:1). Four fractions (Fr. P-1–P-4) were collected. Fr. P-4 (820 mg) was separated by silica gel CC (50 g) and eluted with $CHCl_3$-MeOH (8:1→2:1) to give Fr. 1*p* (85 mg), Fr. 2*p* (550 mg) and **IP-2B** (120 mg). Fr. P-3 (580 mg) was separated by silica gel flash CC (30 g) and eluted with $CHCl_3$-MeOH (20:1→4:1) to give **IP-13** (440 mg) and Fr. P-8 (28 mg). Fr. P-8 was further separated by PTLC (acetone-EtOAc-$CHCl_3$, 3:1:1, developed thrice) to give **IP-19** (5.2 mg), **IP-20** (5.6 mg), **IP-21/22** (6.1 mg) and **IP-23** (5.5 mg), respectively. Fr. P-2 (250 mg) was separated by flash silica gel CC (15 g) and eluted with $CHCl_3$-MeOH (30:1→10:1) to give **IP-12** (200 mg), Fr. P-6 (8 mg) and Fr. P-7 (15 mg). Fr. P-6 was further purified by PTLC ($CHCl_3$-MeOH, 15:1, developed twice) to give **IP-14** (1.8 mg), **IP-15** (2.2 mg) and **IP-16** (2.1 mg). Fr. P-7 was further purified by PTLC (EtOAc-$CHCl_3$-AcOH, 5:1:0.06, developed thrice) to give **IP-17** (6.4 mg) and **IP-18** (5.8 mg). Fr. P-1 (130 mg) was separated using Sephadex LH-20 to give Fr. P-5 (68 mg) and compound **IP-11** (43 mg). Fr. P-5 was further purified by

flash silica gel (5 g) CC and eluted with hexane-EtOAc (3:1→1:1) to give Fr. 3*p* (44 mg) and Fr. 4*p* (20 mg).

(Glycosyloxy)fatty acids

*6(S)-(6-O-Acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)eicosanoic acid (**IP-1B**)*

Fr. 1*i* (10 mg) was subjected to reversed-phase HPLC [solvent: CH_3CN-H_2O-AcOH (800:200:1), flow rate: 0.5 mL/min, retention times: 5.2, 9.4 and 17.5 min for **IP-1A**, **IP-1B** and **IP-1C**, respectively] to give compound **IP-1B** (8 mg) and two minor constituents **IP-1A** (0.3 mg) and **IP-1C** (0.9 mg).

Compound **IP-1B**: White amorphous solid; $[\alpha]_D$ –16.2 (*c* 0.51, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3450, 2910, 2850, 1735, 1710, 1500, 1420, 1280, 1210, 1190, 1110, 1060 cm^{-1}; (–)-HRFABMS *m/z*: 531.3508 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{28}H_{51}O_9$, 531.3533); ^1H NMR ($CDCl_3$-CD_3OD, 9:1) *δ*: 4.39 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.2 Hz, Ha-6′), 4.35 (1H, *d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 4.25 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 5.9 Hz, Hb-6′), 3.62 (1H, *m*, H-6), 3.46 (1H, *t*, *J* = 9.1 Hz, H-3′), 3.44 (1H, *m*, H-5′), 3.36 (1H, *t*, *J* = 9.1 Hz, H-4′), 3.29 (1H, *dd*, *J* = 9.1, 7.8 Hz, H-2′), 2.33 (2H, *t*, *J* = 7.3 Hz, H-2), 2.10 (3H, *s*, Ac), 1.68-1.40 (6H, *m*, H_2-3, H_2-5, H_2-7), 1.25 (26H, *m*, H_2-4, H_2-8–H_2-19), 0.88 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, H_3-20); ^{13}C NMR ($CDCl_3$-CD_3OD, 9:1) *δ*: 176.9 (C-1), 171.5 (Ac), 102.4 (C-1′), 80.3 (C-6), 76.2 (C-5′), 73.6 (C-3′), 73.5 (C-2′), 70.1 (C-4′), 63.4 (C-6′), 35.1 (C-2), 33.7/33.6 (C-5, C-7), 31.9 (C-18), 29.7-29.3 (C-9–C-17), 25.2/24.6/24.1 (C-3, C-4, C-8), 22.6 (C-19), 20.6 (Ac), 14.0 (C-20).

*Structural elucidation of compounds (**IP-1A-C**).*

Fr. 1*i* (5 mg) and 1.5 N HCl (0.2 mL) was heated at 80°C for 6 h and cooled to room temperature. The solution was partitioned between Et_2O (0.3 mL) and H_2O (0.3 mL), and the Et_2O layer was concentrated to dryness *in vacuo*. The residue was treated with excess ethereal diazomethane, and the product was separated by PTLC (hexane-EtOAc, 6:1) to give the methyl esters **IP-1a-c** (2.2 mg) as a white powder. (+)-FABMS *m/z*: 343 $[M+H]^+$ (weak ion peaks *m/z*: 315 and 371 were ascribed to $[M+H]^+$ ions of **IP-1a** and **IP-1c**, respectively); ^1H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 3.66 (3H, *s*, OMe), 3.60 (1H, *m*, H-6), 2.30 (2H, *t*, *J* = 7.6 Hz, H-2), 1.65-1.25 (*m*, CH_2), 0.88 (3H, *t*, *J* = 6.7 Hz, Me); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) *δ*: 174.2 (C-1), 71.7 (C-6), 51.5 (OMe), 37.6 (C-7), 37.0 (C-5), 34.1 (C-2), 31.9, 29.7-29.4, 25.7 (C-8), 25.2 (C-4), 24.9 (C-3), 22.7, 14.1.

*GLC and GC-MS analysis of TMS ether of **IP-1a-c***

The methyl esters **IP-1a-c** (100 μg) was converted to the corresponding TMS ether in the same manner as described for above and the resulting TMS ether was analyzed by GLC and GC-MS. Parameters of GLC analysis: injection temperature 290°C; column temperature 220°C; detection temperature 290°C. Parameters of GC-MS analysis (*DB-1* capillary column): source temperature 250°C; injection temperature 250°C; programmed column temperature 60°C for 1 min, which was then raised to 280°C at a rate of 2°C/min and maintained at the final temperature for 15 min; interface

temperature 280°C. The results are summarized in Table 2-8.

The methyl esters **IP-1a-c** (300 μg) were reacted with (*R*)-2NMA (300 μg, 1.4 μmol), EDC (1.0 mg, 5.2 μmol), DMAP (200 μg, 1.6 μmol) and DMAP-HCl (200 μg, 1.3 μmol) in the manner reported in our previous paper (Asai et al., 2009) to give the (*R*)-2NMA derivatives (380 μg). Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 568 $[M+H]^+$, 541 $[M+H]^+$ and 513 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 7.84-7.48 (7H, *m*), 4.90 (1H, *m*, H-6), 3.65 (3H, *s*, COOMe), 3.46 (3H, *s*, OMe), 2.21, (2H, *t*, *J* = 8.8 Hz, H_2-2), 1.52-1.19 (*m*, CH_2), 0.88 (3H, *t*, *J* = 6.8 Hz, Me).

The (*S*)-2NMA esters were similarly prepared. Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 568 $[M+H]^+$, 541 $[M+H]^+$ and 513 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 7.84-7.48 (7H, *m*), 4.90 (1H, *m*, H-6), 3.57 (3H, *s*, COOMe), 3.46 (3H, *s*, OMe), 1.84 (2H, *t*, *J* = 7.6 Hz, H-2), 1.52-0.84 (*m*, CH_2), 0.88 (3H, *t*, *J* = 6.8 Hz, Me).

The experimental data described above, in particular, GC-MS data summarized in Table 2-8 gave evidence for the presence of the minor constituents **IP-1A** and **IP-1C**.

*6(S)-(6-O-Acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)octadecanoic acid (**IP-1A**)*

(–)-HRFABMS *m/z*: 503.3268 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{26}H_{47}O_9$, 503.3220); ^{1}H NMR ($CDCl_3$-CD_3OD, 9:1) *δ*: 4.39 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.2 Hz, Ha-6′), 4.35 (1H, *d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 4.25 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 5.9 Hz, Hb-6′), 3.62 (1H, *m*, H-6), 3.46 (1H, *t*, *J* = 9.1 Hz, H-3′), 3.44 (1H, *m*, H-5′), 3.36 (1H, *t*, *J* = 9.1 Hz, H-4′), 3.29 (1H, *dd*, *J* = 9.1, 7.8 Hz, H-2′), 2.33 (2H, *t*, *J* = 7.3 Hz, H-2), 2.10 (3H, *s*, Ac), 1.68-1.40 (6H, *m*, H_2-3, H_2-5, H_2-7), 1.25 (22H, *m*, H_2-4, H_2-8–H_2-17), 0.88 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, H_3-18).

*6(S)-(6-O-Acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid (**IP-1C**)*

(–)-HRFABMS *m/z*: 559.3892 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{55}O_9$, 559.3846). ^{1}H NMR ($CDCl_3$-CD_3OD, 9:1) *δ*: 4.39 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.2 Hz, Ha-6′), 4.35 (1H, *d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 4.25 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 5.9 Hz, Hb-6′), 3.62 (1H, *m*, H-6), 3.46 (1H, *t*, *J* = 9.1 Hz, H-3′), 3.44 (1H, *m*, H-5′), 3.36 (1H, *t*, *J* = 9.1 Hz, H-4′), 3.29 (1H, *dd*, *J* = 9.1, 7.8 Hz, H-2′), 2.33 (2H, *t*, *J* = 7.3 Hz, H-2), 2.10 (3H, *s*, Ac), 1.68-1.40 (6H, *m*, H_2-3, H_2-5, H_2-7), 1.25 (30H, *m*, H_2-4, H_2-8–H_2-21), 0.88 (3H, *t*, *J* = 7.2, H_3-22).

*6(S)-(β-D-Glucopyranosyloxy)eicosanoic acid (**IP-2B**)*

Fr. 2*i* (9 mg) was subjected to reversed-phase HPLC [solvent: CH_3CN-H_2O-AcOH (400:200:1), flow rate: 0.5 mL/min, retention times: 5.4, 9.9 and 18.5 min for **IP-2A**, **IP-2B** and **IP-2C**] to give **IP-2B** (7 mg) and two minor constituents **IP-2A** (0.3 mg) and **IP-2C** (1 mg). *P. louisiana* yielded a glycolipid that showed the same chromatographic and spectroscopic properties as **IP-2B**.

Compound **IP-2B**. White amorphous solid; $[\alpha]_D^{24}$ –7.5 (*c* 0.32, MeOH); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3450, 2910, 2850, 1710, 1500, 1420, 1280, 1210, 1190, 1110, 1060 cm^{-1}; (–)-HRFABMS *m/z*: 489.3455 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{28}H_{51}O_9$, 489.3427); ^{1}H NMR (CD_3OD) *δ*: 4.31 (1H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-1′), 3.84 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.4 Hz, Ha-6′), 3.68 (1H, *m*, H-6), 3.67 (1H, *dd*, *J* =12.0, 6.6 Hz, Hb-6′), 3.35 (1H, *t*, *J* = 9.0 Hz, H-3′), 3.30 (1H, *t*, *J* = 9.0 Hz, H-4′), 3.25 (1H, *m*, H-5′), 3.16 (1H, *dd*, *J* = 9.0, 7.9 Hz, H-2′), 2.27 (2H,

t, *J* = 7.6 Hz, H_2-2), 1.62-1.35 (6H, *m*, H_2-3, H_2-5, H_2-7), 1.28 (26H, *m*, H_2-4, H_2-8–H_2-19), 0.89 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, H_3-20); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ: 178.3 (C-1), 103.4 (C-1′), 80.4 (C-6), 78.2 (C-5′), 77.7 (C-3′), 75.3 (C-2′), 71.8 (C-4′), 62.9 (C-6′), 36.0 (C-5), 35.2 (C-2), 34.6 (C-7), 33.1 (C-18), 30.9-30.4 (C-17–C-9), 26.4/26.3/25.6 (C-3, C-4, C-8), 23.7 (C-19), 14.4 (C-20).

*Structural elucidation of compounds (**IP-2A-C**)*

Fr. 2*i* (5 mg) was converted to the acid methyl esters (2.5 mg) in the same manner as described for Fr. 1*i*. The resulting methyl esters were identical to the methyl esters **IP-1a-c** obtained from Fr. 1*i* in all aspects [^{1}H NMR spectroscopic data, GLC retention times and GC-MS data of the TMS ethers and the (*R*)- and (*S*)-2NMA esters' ^{1}H NMR spectroscopic data]. The experimental data described above, in particular, GC-MS data summarized in Table 2-8 gave evidence for the presence of the minor constituents **IP-2A** and **IP-2C**.

*6(S)-(β-D-Glucopyranosyloxy)octadecanoic acid (**IP-2A**)*

(–)-HRFABMS *m/z*: 461.3120 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{24}H_{45}O_8$, 461.3114); ^{1}H NMR (CD_3OD) δ: 4.31 (1H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H′-1), 3.84 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.4 Hz, Ha-6′), 3.68 (1H, *m*, H-6), 3.67 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 6.6 Hz, Hb-6′), 3.35 (1H, *t*, *J* = 8.9 Hz, H-3′), 3.30 (1H, *t*, *J* = 8.9 Hz, H-4′), 3.25 (1H, *m*, H-5′), 3.16 (1H, *dd*, *J* = 8.9, 7.9 Hz, H-2′), 2.27 (2H, *t*, *J* = 7.6 Hz, H_2-2), 1.62-1.35 (6H, *m*, H_2-3, H_2-5, H_2-7), 1.28 (22H, *m*, H_2-4, H_2-8–H_2-17), 0.89 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, H_3-18).

*6(S)-(β-D-Glucopyranosyloxy)docosanoic acid (**IP-2C**)*

(–)-HRFABMS *m/z*: 517.3749 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{28}H_{53}O_8$, 517.3740); ^{1}H NMR (CD_3OD) δ: 4.31 (1H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H′-1), 3.84 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.4 Hz, Ha-6′), 4.35 (1H, *d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 3.68 (1H, *m*, H-6), 3.67 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 6.6 Hz, Hb-6′), 3.35 (1H, *t*, *J* = 8.9 Hz, H-3′), 3.30 (1H, *t*, *J* = 8.9 Hz, H-4′), 3.25 (1H, *m*, H-5′), 3.16 (1H, *dd*, *J* = 8.9, 7.8 Hz, H-2′), 2.27 (2H, *t*, *J* = 7.6 Hz, H_2-2), 1.62-1.35 (6H, *m*, H_2-3, H_2-5, H_2-7), 1.28 (30H, *m*, H_2-4, H_2-8–H_2-21), 0.89 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, H_3-22)

*8(S)-(6-O-Acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)eicosanoic acid (**IP-3A**) and 8(S)-(6-O-acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid (**IP-3B**)*

Fr. 1*p* (10 mg) was subjected to reversed-phase HPLC [solvent: CH_3CN-H_2O-AcOH (800:200:1), flow rate: 0.5 mL/min, retention times: 7.6 and 14.1 min for **IP-3A** and **IP-3B**, respectively] to give compounds **IP-3A** (3 mg) and **IP-3B** (5 mg).

*8(S)-(6-O-Acetyl-β-D-glucopyranosyloxy)eicosanoic acid (**IP-3A**)*

White amorphous solid; (–)-HRFABMS *m/z*: 531.3557 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{28}H_{51}O_9$, 531.3533); $[\alpha]_D^{24}$ –15.0 (*c* 0.46, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3450, 2910, 2850, 1735, 1710, 1500, 1420, 1280, 1210, 1190, 1110, 1060 cm^{-1}; ^{1}H NMR ($CDCl_3$-CD_3OD, 9:1) δ: 4.35 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.5 Hz, Ha-6′), 4.31 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 5.3 Hz, Hb-6′), 4.30 (1H, *d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 3.60 (1H, *m*, H-8), 3.49 (1H, *t*, *J* =

9.0 Hz, H-3′), 3.44 (1H, *m*, H-5′), 3.37 (1H, *t*, *J* = 9.0 Hz, H-4′), 3.31 (1H, *dd*, *J* = 9.0, 7.8 Hz, H-2′), 2.30 (2H, *t*, *J* = 7.3 Hz, H_2-2), 2.09 (3H, *s*, Ac), 1.63-1.58 (6H, *m*, H_2-3, H_2-7, H_2-9), 1.40-1.25 (26H, *m*, H_2-4–H_2-6, H_2-9–H_2-19), 0.88 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, H_3-20); ^{13}C NMR ($CDCl_3$-CD_3OD, 9:1) *δ*: 176.5 (C-1), 171.6 (Ac), 102.1 (C-1′), 80.4 (C-8), 76.2 (C-5′), 73.7 (C-3′), 73.6 (C-2′), 70.1 (C-4′), 63.7 (C-6′), 33.8 (C-7, C-9), 34.9 (C-2), 31.9 (C-18), 29.7-29.3 (C-4, C-5, C-10–C-17), 25.1 (C-3), 24.5 (C-6), 24.5 (C-10), 22.6 (C-19), 20.7 (Ac), 14.0 (C-20).

(S)-(6-O-Acetyl-β-D-gluco- pyranosyloxy)docosanoic acid ***(IP-3B)***

White amorphous solid; (–)-HRFABMS *m/z*: 559.3842 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{55}O_9$, 559.3846); $[\alpha]_D^{24}$ –15.6 (*c* 0.32, MeOH); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3450, 2910, 2850, 1735, 1710, 1500, 1420, 1280, 1210, 1190, 1110, 1060 cm^{-1}; ^{1}H NMR ($CDCl_3$-CD_3OD, 9:1) *δ*: 4.35 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.5 Hz, Ha-6′), 4.31 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 5.3 Hz, Hb-6′), 4.30 (1H, *d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 3.60 (1H, *m*, H-8), 3.49 (1H, *t*, *J* = 9.0 Hz, H-3′), 3.44 (1H, *m*, H-5′), 3.37 (1H, *t*, *J* = 9.0 Hz, H-4′), 3.31 (1H, *dd*, *J* = 9.0, 7.8 Hz, H-2′), 2.30 (2H, *t*, *J* = 7.3 Hz, H_2-2), 2.09 (3H, s, Ac), 1.63-1.58 (6H, *m*, H_2-3, H_2-7, H_2-9), 1.40-1.25 (30H, *m*, H_2-4–H_2-6, H_2-9–H_2-21), 0.88 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, H_3-22); ^{13}C NMR ($CDCl_3$-CD_3OD, 9:1) *δ*: 176.5 (C-1), 171.6 (Ac), 102.1 (C-1′), 80.4 (C-8), 76.2 (C-5′), 73.7 (C-3′), 73.6 (C-2′), 70.1 (C-4′), 63.7 (C-6′), 33.8 (C-7, C-9), 34.9 (C-2), 31.9 (C-20), 29.7-29.3 (C-4, C-5, C-10–C-19), 25.1 (C-3), 24.5 (C-6), 24.5 (C-10), 22.6 (C-21), 20.7 (Ac), 14.0 (C-22).

Structure elucidation of compounds ***(IP-3A and 3B)***

Fr. 1*p* (5 mg) and 2N HCl (0.2 mL) were heated at 80°C for 6 h and cooled down to room temperature. The solution was partitioned between Et_2O and water and the Et_2O layer was concentrated with a stream of N_2. The residue was treated with excess ethereal diazomethane to give the 8-hydroxy-fatty acid methyl esters (a mixture of **IP-3a** and **IP-3b**, 2.1 mg, 63%) as a white powder. (+)-FABMS *m/z*: 371 $[M+H]^+$ and 343 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 3.66 (3H, *s*, OMe), 3.60 (1H, *m*, H-6), 2.30 (2H, *t*, *J* = 7.6 Hz, H-2), 1.65-1.25 (*m*, CH_2), 0.88 (3H, *t*, *J* = 6.7 Hz, Me).

The methyl esters **IP-3a/b** (100 μg) were converted to their TMS ether derivatives as described for **IP-1a-c**, and the derivatives were analyzed by GC-MS and GLC. EI-MS data of methyl 8-trimethylsilyloxyeicosanoate and methyl 8-(trimethylsilyloxy)docosanoate are shown in Table 2-8.

To a solution of the methyl esters **IP-3a/b** (300 μg) in $CHCl_3$ (30 μL) were added (*R*)-2NMA (300 μg), EDC (1.0 mg), DMAP (200 μg) and DMAP-HCl (200 μg), and the mixture was stirred at room temperature for 12 h. The reaction mixture was purified by PTLC (hexane-EtOAc, 6:1) to give the (*R*)-2NMA derivatives in 80% yield. Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 569, 541 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 7.84-7.48 (7H, *m*, Ar), 4.90 (1H, *m*, H-8), 3.66 (3H, *s*, COOMe), 3.46 (3H, *s*, OMe), 2.25, (2H, *t*, *J* = 7.6 Hz, H-2), 1.52-0.84 (*m*), 0.88 (3H, *t*, *J* = 6.8 Hz, Me). Reaction of the methyl esters with (*S*)-2NMA gave the (*S*)-2NMA derivatives (82%) in the same manner. Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 569 $[M+H]^+$ and 541 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 7.84-7.48 (7H, *m*, Ar), 4.90 (1H, *m*, H-8), 3.64 (3H, *s*, COOMe), 3.46 (3H, *s*, OMe), 2.09, (2H, *t*, *J* = 7.6 Hz, H-2), 1.52-1.20 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.8 Hz, Me).

*8(S)-(β-D-Glucopyranosyloxy)eicosanoic acid (**IP-4A**) and 8(S)-(β-D-glucopyranosyloxy)docosanoic acid (**IP-4B**)*

Fr. 2*p* (10 mg) was subjected to reversed-phase HPLC [solvent: CH_3CN-H_2O-AcOH (800:200:1), flow rate: 0.5 mL/min, retention times: 5.1 and 9.5 min for **IP-4A** and **IP-4B**, respectively] to give compounds **IP-4A** (3 mg) and **IP-4B** (5 mg).

Compound **IP-4A**. White amorphous solid; (–)-HRFABMS *m/z*: 489.3419 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{26}H_{49}O_8$, 489.3427); $[\alpha]_D^{24}$ –20.0 (*c* 0.32, MeOH); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3450, 2910, 2850, 1710, 1500, 1420, 1280, 1210, 1190, 1110, 1060 cm^{-1}; ^1H NMR (CD_3OD) *δ*: 4.30 (1H, *d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 3.84 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.4 Hz, Ha-6′), 3.67 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 6.6 Hz, Hb-6′), 3.66 (1H, *m*, H-8), 3.34 (1H, *t*, *J* = 8.9 Hz, H-3′), 3.29 (1H, *t*, *J* = 8.9 Hz, H-4′), 3.25 (1H, *m*, H-5′), 3.15 (1H, *dd*, *J* = 8.9, 7.8 Hz, H-2′), 2.27 (2H, *t*, *J* = 7.4 Hz, H_2-2), 1.68-1.58 (6H, *m*, H_2-3, H_2-7, H_2-9), 1.40-1.29 (26H, *m*, H_2-4–H_2-6, H_2-10–H_2-19), 0.88 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, H_3-20); ^{13}C NMR (CD_3OD) *δ*: 177.7 (C-1), 103.4 (C-1′), 80.5 (C-8), 78.2 (C-5′), 77.7 (C-3′), 75.3 (C-2′), 71.8 (C-4′), 62.9 (C-6′), 35.9 (C-2), 34.9/34.8 (C-7, C-9), 33.1 (C-18), 30.8-30.2 (C-4, C-5, C-11–C-17), 26.3 (C-3), 26.0/25.8 (C-6, C-10), 23.7 (C-19), 14.4 (C-20).

Compound **IP-4B**. White amorphous solid; (–)-HRFABMS *m/z*: 517.3721 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{28}H_{53}O_8$, 517.3740); $[\alpha]_D^{24}$ –20.1 (*c* 1.4, MeOH); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3450, 2910, 2850, 1710, 1500, 1420, 1280, 1210, 1190, 1110, 1060 cm^{-1}; ^1H NMR (CD_3OD) *δ*: 4.30 (1H, *d*, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 3.84 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 2.4 Hz, Ha-6′), 3.67 (1H, *dd*, *J* = 12.0, 6.6 Hz, Hb-6′), 3.66 (1H, *m*, H-8), 3.34 (1H, *t*, *J* = 8.9 Hz, H-3′), 3.29 (1H, *t*, *J* = 8.9 Hz, H-4′), 3.25 (1H, *m*, H-5′), 3.15 (1H, *dd*, *J* = 8.9, 7.8 Hz, H-2′), 2.27 (2H, *t*, *J* = 7.4 Hz, H H_2-2), 1.68-1.58 (6H, *m*, H_2-3, H_2-7, H_2-9), 1.40-1.29 (30H, *m*, H_2-4–H_2-6, H_2-10–H_2-21), 0.88 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz, H_3-22); ^{13}C NMR (CD_3OD) *δ*: 177.7 (C-1), 103.4 (C-1′), 80.5 (C-8), 78.2 (C-5′), 77.7 (C-3′), 75.3 (C-2′), 71.8 (C-4′), 62.9 (C-6′), 35.9 (C-2), 34.9/34.8 C-7, C-9), 33.1 (C-18), 30.8-30.2 (C-4, C-5, C-11–C-19), 26.3 (C-3), 26.0/25.8 (C-6, C-10), 23.7 (C-21), 14.4 (C-22).

The structures of **IP-4A** and **IP-4B** were established in the same manner as described for Fr. 1*i*. The methyl esters **IP-3a/b** derived from Fr. 2*p* were identical to the samples obtained from Fr. 1*p* in all respects [(+)-FABMS, the ^1H NMR spectroscopic data, GLC pattern of the TMS ether and the (*R*)- and (*S*)-2NMA esters' ^1H NMR data].

2-(Fattyacyl)glycerols

*Structural elucidation of 2-O-[(3R,6S)-3,6-diacetyloxyfattyacyl]glycerols (**IP-5A-L**)*

Fr. 3*i*. Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 539.3589 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{28}H_{52}O_8Na$, 539.3560), 525.3390 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{27}H_{50}O_8Na$, 525.3403), 511.3287 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{26}H_{48}O_8Na$, 511.3247), 497.3138 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{26}H_{48}O_8Na$, 497.3090) and 483.2888 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{25}H_{46}O_8Na$, 483.2934). The ^1H NMR spectrum showed signals indicative of a 2-*O*-acylglycerol and a 1-*O*-acylglycerol in an approximately 2:1 ratio. For simplicity, the data are separated for each isomer.

2-*O*-Acylglycerol: ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 5.33 (2H, *m*, H-3), 4.89 (1H, *m*, H-2′), 4.88 (1H, *m*, H-6), 3.83 (4H, *m*, H-1′, H-3′), 2.60 (2H, *m*, H_2-2), 2.07 (3H, *s*, Ac), 2.06 (*s*, Ac), 1.68-1.25 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.8 Hz, normal-Me), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso-Me), 0.85 (*t*, *J* = 7.2 Hz, anteiso-Me), 0.84 (*d*, *J* = 6.2 Hz, anteiso-Me); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) *δ*: 171.1 (Ac), 171.0 (Ac), 170.2 (C-1), 75.8 (H-2′), 73.6 (C-6), 70.4 (C-3), 62.4 (C-1′), 62.2 (C-3′), 40.3 (C-2), 39.0 (iso), 36.6 (anteiso), 34.4 (anteiso), 34.1 (C-7), 31.9, 30.2 (C-5), 30.0 (anteiso), 29.7-29.3, 27.9 (iso), 27.4 (iso), 27.2 (anteiso), 25.3 (C-8), 22.7, 22.6 (iso), 21.2 (Ac), 21.1 (Ac), 19.2 (anteiso), 14.1, 11.4 (anteiso). 1-*O*-Acylglycerol: ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 5.29 (1H, *m*, H-3), 4.88 (1H, *m*, H-6), 4.24 (0.5H, *dd*, *J* = 11.7, 4.4 Hz, Ha-1′)/4.20 (0.5H, *dd*, *J* = 11.5, 6.4 Hz, Ha-1′), 4.14 (0.5H, *dd*, *J* = 11.5, 4.4 Hz, Hb-1′)/4.09 (0.5H, *dd*, *J* = 11.6, 6.6 Hz, Hb-1′), 3.95/3.92 (1H, *m*, H-2′), 3.67 (1H, *m*, Ha-3′), 3.65 (1H, *m*, Hb-3′), 2.60 (2H, *m*, H-2), 2.06 (3H, *s*, Ac), 2.05 (3H, *s*, Ac), 1.68-1.25 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.8 Hz, normal-Me), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso-Me), 0.85 (*t*, *J* = 7.2 Hz, anteiso-Me), 0.84 (*d*, *J* = 6.2 Hz, anteiso-Me); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) *δ*: 171.1 (Ac), 171.0 (Ac), 170.3 (C-1), 73.6 (C-6) 70.4/70.2 (C-3), 69.9/69.8 (C-2′), 65.9/65.7 (C-1′), 63.1 (C-3′), 39.8/39.7 (C-2), 39.0 (iso), 36.6 (anteiso), 34.4 (anteiso), 34.1 (C-7), 31.9, 30.2 (C-5), 30.0 (anteiso), 29.7-29.3, 27.9 (iso), 27.4 (iso), 27.2 (anteiso), 25.3 (C-8), 22.7, 22.6 (iso), 22.6/21.1 (Ac), 21.2 (Ac), 19.2 (anteiso), 14.1, 11.4 (anteiso).

A mixture of Fr. 3*i* (10 mg) and benzoyl chloride (10 μL) in pyridine (0.1 mL) was stirred at room temperature for 3 h. MeOH (0.1 mL) was added to the mixture and the solvent was removed by passing a stream of N_2 over the solution. The crude products were purified by PTLC [two spots with Rf values of 0.4 and 0.3, developed twice with hexane-toluene-EtOAc (4:2:1)] to give the less polar 2-*O*-acyl-1,3-di-*O*-benzoylglycerol (9.0 mg) and the more polar 1-*O*-acyl-2,3-di-*O*-benzoylglycerol (4.2 mg) mixtures. 2-*O*-Acyl-1,3-di-*O*-benzoylglycerol: colorless oil; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 8.03 (4H, *brd*, *J* = 7.4 Hz, Ph), 7.58 (2H, *t*, *J* = 7.4 Hz, Ph), 7.45 (4H, *t*, *J* = 7.4 Hz, Ph), 5.60 (1H, *m*, H-2′), 5.22 (1H, *m*, H-3), 4.82 (1H, *m*, H-6), 4.63 (2H, *dd*, *J* = 12.0, 4.3 Hz, Ha-1′, Ha-3′), 4.52 (2H, *dd*, *J* = 12.0, 5.8 Hz, Hb-1′, Hb-3′), 2.65 (1H, *dd*, *J* = 15.7, 7.4 Hz, Ha-2), 2.59 (1H, *dd*, *J* = 15.7, 5.2 Hz, Hb-2), 2.01 (3H, *s*, Ac), 1.94 (3H, *s*, Ac), 1.67–1.25 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.7 Hz, normal-Me), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso-Me), 0.85 (*t*, *J* = 7.2 Hz, anteiso-Me), 0.84 (*d*, *J* = 6.2 Hz, anteiso-Me). 1-*O*-Acyl-2,3-di-*O*-benzoylglycerol: colorless oil; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 8.04 (2H, *brd*, *J* = 7.2 Hz, Ph), 8.02 (2H, *brd*, *J* = 7.2 Hz, Ph), 7.59 (1H, *t*, *J* = 7.2 Hz, Ph), 7.56 (1H, *t*, *J* = 7.2 Hz, Ph), 7.46 (2H, *t*, *J* = 7.2 Hz, Ph), 7.43 (2H, *t*, *J* = 7.2 Hz, Ph), 5.67 (1H, *m*, H-2′), 5.21 (1H, *m*, H-3), 4.83 (1H, *m*, H-6), 4.65 (0.5H, *dd*, *J* = 12.1, 4.4 Hz, Ha-3′)/4.64 (0.5H, *dd*, *J* = 12.1, 4.4 Hz, Ha-3′), 4.59 (0.5H, *dd*, *J* = 12.0, 5.8 Hz, Hb-3′)/4.57 (0.5H, *dd*, *J* = 12.0, 5.8 Hz, Hb-3′), 4.51 (0.5H, *dd*, *J* = 12.0, 4.0 Hz, Ha-1′)/4.50 (0.5H, *dd*, *J* = 12.0, 4.0 Hz, Ha-1′), 4.44 (*dd*, *J* = 12.0, 6.0 Hz, Hb-1′), 2.63 (0.5H, *dd*, *J* = 15.8, 7.7 Hz, Ha-2)/2.62 (0.5H, *dd*, *J* = 15.8, 7.7 Hz, Ha-2), 2.57 (0.5H, *dd*, *J* = 15.8, 5.0 Hz, Hb-2)/2.56 (0.5H, *dd*, *J* = 15.8, 5.0 Hz, Hb-2), 2.03 (1.5H, *s*, Ac)/2.02 (1.5H, *s*, Ac), 1.99 (1.5H, *s*, Ac)/1.97 (1.5H, *s*, Ac), 1.67-1.25 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.7 Hz, normal-Me), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso-Me), 0.85 (*t*, *J* = 7.2 Hz, anteiso-Me), 0.84 (*d*, *J* = 6.2 Hz, anteiso-Me).

To a solution of LiOH (6 mg) in water (0.15 mL) was added a solution of the

2-acyl-1,3-dibenzoylglycerol (8 mg) mixture in DME (600 μl). The mixture was stirred at room temperature for 48 h. Saturated aqueous NH_4Cl was added and the mixture was partitioned between $CHCl_3$ (2 mL) and H_2O (2 mL). The $CHCl_3$ layer was concentrated, and the residue was treated with excess ethereal diazomethane at room temperature for 1 h. The solvent was removed by passing a stream of N_2 over the solution, and the residue was purified by PTLC to give the methyl esters **IP-5a-l** (6 mg). Colorless oil; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 4.04 (1H, *m*, H-3), 3.72 (3H, *s*, OMe), 3.61 (1H, *m*, H-6), 2.51 (1H, *dd*, J = 16.4, 3.9 Hz, Ha-2), 2.46 (1H, *dd*, J = 16.4, 8.5 Hz, Hb-2), 1.67-1.25 (*m*), 0.88 (*t*, J = 6.7 Hz, normal-Me), 0.86 (*d*, J = 6.6 Hz, iso-Me), 0.85 (*t*, J = 7.2 Hz, anteiso-Me), 0.84 (*d*, J = 6.2 Hz, anteiso-Me). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 173.4 (C-1), 71.9 (C-6), 68.2 (C-3), 51.8 (OMe), 41.2 (C-2), 39.1 (iso), 37.7 (C-7), 36.6 (anteiso), 34.4 (anteiso), 33.7 (C-4), 33.1 (C-5), 31.9, 30.0 (anteiso), 29.7-29.3, 28.0 (iso), 27.4 (iso), 27.1 (anteiso), 25.7 (C-8), 22.7, 22.6 (iso), 19.2 (anteiso), 14.1, 11.4 (anteiso). The methyl esters **IP-5a-l** (100 μg) were converted to their di-TMS ethers in the same manner as described for compounds **IP-1a-c** and the TMS ethers were analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described for **IP-1a-c**. The EI-MS data are listed in Table 2-9.

The methyl esters **IP-5a-l** were subjected to reversed-phase HPLC (conditions: CH_3CN-H_2O, 7:1) to give samples **IP-5a**, **-5b**, **-5c**, **-5d**, (**-5e**+**-5f**), **-5h**, **-5i**, (**-5j**+**-5k**) and **-5l**. Each of the samples was analyzed by ^{1}H NMR ($CDCl_3$) and GC-MS. All samples showed the ^{1}H signals at δ: 4.04 (1H, *m*, H-3), 3.72 (3H, *s*, OMe), 3.61 (1H, *m*, H-6), 2.51 (1H, *dd*, J = 16.4, 3.9 Hz, Ha-2), 2.46 (1H, *dd*, J = 16.4, 8.5 Hz, Hb-2), 1.67-1.25 (*m*). Key signals in the methyl region were described in text. GC-MS data for all of the samples (analyzed as their TMS ethers) were in agreement with those listed in Table 2-9.

A portion of **IP-5a-l** (300 μg) was treated with (*R*)-2NMA to give the 3-*O*- and 6-*O*-(*R*)-2NMA derivatives (60% yield) as an inseparable 1:1 mixture in the same manner as described for a 3,6-dihydroxy-fatty acid methyl ester in our previous paper (Asai et al., 2009). Key ^{1}H-NMR spectroscopic data for the 3-*O*- and 6-*O*-(*R*)-2NMA derivatives are listed in Table 4, which were very similar to those reported in our previous paper (Asai et al., 2009), with the exception of small signals that were due to the presence of iso- and anteiso-structures. Reaction of the methyl esters (300 μg) with (*S*)-2NMA gave a mono-ester mixture that was separated by PTLC (developed twice with hexane/EtOAc, 4:1) to yield the 3-*O*-(*S*)-2NMA derivatives (31%, Rf=0.30) and the 6-*O*-(*S*)-2NMA derivatives (30%, Rf=0.34). Key ^{1}H-NMR spectroscopic data for the two esters are listed in Table 4, which were very similar to those reported in our previous paper (Asai et al., 2009), with the exception of small signals from small amounts of iso- and anteiso-compounds.

Fr. 3*p* obtained from *P. louisiana* was analyzed in the same manner as described for Fr. 3*i*. The relative abundance of the constituents **IP-5A-L** are listed in Table 2-12

*Structural elucidation of 2-O-[(3R)-3-acetyloxyfattyacyl]glycerols (**IP-6A-L**)*

Fr. 4*i*. Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 481.3553 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{26}H_{50}O_6Na$, 481.3505), 467.3350 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{25}H_{48}O_6Na$, 467.3349), 453.3199 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{24}H_{46}O_6Na$, 453.3192), 439.3013 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{23}H_{44}O_6Na$, 439.3036) and 425.2860 $[M+Na]^+$ (calcd for

$C_{22}H_{42}O_6Na$, 425.2879). 2-*O*-Acylglycerol: ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.33 (1H, *m*, H-3), 4.89 (1H, *m*, H-2′), 3.84 (4H, *m*, H-1′, H-3′), 2.59 (2H, *m*, H-2), 2.07 (3H, *s*, Ac), 1.68-1.25 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.8 Hz, normal-Me), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso-Me), 0.85 (*t*, *J* = 7.2 Hz, anteiso-Me), 0.84 (*d*, *J* = 6.2 Hz, anteiso-Me); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 171.1 (Ac), 170.4 (C-1), 75.8 (C-2′), 71.0 (C-3), 62.6 (C-1′), 62.3 (C-3′), 40.5 (C-2), 39.0 (iso), 36.6 (anteiso), 34.6 (C-4), 34.4 (anteiso), 31.9, 29.9 (anteiso), 29.7-29.3, 28.0 (iso), 27.4 (iso), 27.2 (anteiso), 25.2 (C-5), 22.7, 22.6 (iso), 21.1 (Ac), 19.2 (anteiso), 14.1, 11.4 (anteiso). 1-*O*-Acylglycerol: ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.29 (1H, *m*, H-3), 4.26 (0.5H, *dd*, *J* = 11.5, 4.2 Hz, Ha-1′)/4.20 (0.5H, *dd*, *J* = 11.5, 6.6 Hz, Ha-1′), 4.14 (0.5H, *dd*, *J* = 11.5, 3.8 Hz, Hb-1′)/4.07 (0.5H, *dd*, *J* = 11.5, 6.8 Hz, Hb-1′), 3.95 (0.5H, *m*, H-2′)/3.91 (0.5H, *m*, H-2′), 3.67 (1H, *m*, Ha-3′), 3.65 (1H, *m*, Hb-3′), 2.60 (2H, *m*, H-2), 2.05 (3H, *s*, Ac) 1.68-1.25 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.8 Hz, normal-Me), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso-Me), 0.85 (*t*, *J* = 7.2 Hz, anteiso-Me), 0.84 (*d*, *J* = 6.2 Hz, anteiso-Me); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 171.2 (Ac), 170.7/170.6 (C-1), 70.8/70.5 (C-3), 70.0/69.8 (C-2′), 65.9/65.4 (C-1′), 63.2/63.1 (C-3′), 39.9/39.8 (C-2), 39.0 (iso), 36.6 (anteiso), 34.4 (anteiso), 34.3 (C-4), 31.9, 29.9 (anteiso), 29.7-29.3, 28.0 (iso), 27.4 (iso), 27.2 (anteiso), 25.2 (C-5), 22.7, 22.6 (iso), 22.6/21.1 (Ac), 19.2 (anteiso), 14.1, 11.4 (anteiso).

Fr. 4*i* (10 mg) was hydrolyzed with LiOH in DME/H_2O and the resulting acid was treated with CH_2N_2 to give the methyl ester **IP-6a-l** (7 mg) mixture in the same manner as described for Fr. 3*i*. Methyl esters **IP-6a-l**: ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 4.00 (1H, *m*, H-3), 3.72 (3H, *s*, OMe), 2.52 (1H, *dd*, *J* = 16.5, 3.1 Hz, Ha-2), 2.41 (1H, *dd*, *J* = 16.5, 9.1 Hz, Hb-2), 1.54-1.25 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.8 Hz, normal-Me), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso-Me), 0.85 (*t*, *J* = 7.2 Hz, anteiso-Me), 0.84 (*d*, *J* = 6.2 Hz, anteiso-Me); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 173.5 (C-1), 68.0 (C-3), 51.7 (OMe), 41.1 (C-2), 39.1 (iso), 36.6 (anteiso), 36.5 (C-4), 31.9, 30.0 (anteiso), 29.7-29.4, 28.0 (iso), 27.4 (iso), 27.2 (anteiso), 25.4 (C-5), 22.7 (iso), 19.2 (anteiso), 14.1, 11.4 (anteiso). The methyl esters **IP-6a-l** (100 μg) were converted to their TMS ether derivatives in the same manner as described for compounds **IP-1a-c** and analyzed by GC-MS and GLC. Parameters of GLC analysis: injection temperature 290°C; column temperature 208°C; detection temperature 290°C. Parameters of GC-MS analysis (*DB-1* capillary column): source temperature 250°C; injection temperature 250°C; programmed column temperature 60°C for 1 min, which was then raised to 280°C at a rate of 2°C/min and maintained at the final temperature for 15 min; interface temperature 280°C. The results are summarized in Table 2-11.

Compounds **IP-6a-l** (300 μg) were converted to their 3-*O*-(*R*)- and (*S*)-2NMA derivatives in the same manner as described for compounds **IP-1a-c**. (*R*)-2NMA ester: ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.29 (1H, *m*, H-3), 3.21 (3H, *s*, COOMe), 2.50 (1H, *dd*, *J* = 15.7, 8.1 Hz, Ha-2), 2.42 (1H, *dd*, *J* = 15.7, 5.0 Hz, Hb-2). (*S*)-2NMA ester: ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.29 (1H, *m*, H-3), 3.57 (3H, *s*, COOMe), 2.61 (1H, *dd*, *J* = 15.6, 7.7 Hz, Ha-2), 2.52 (1H, *dd*, *J* = 15.6, 5.5 Hz, Hb-2).

Fr. 4*p* obtained from *P. louisiana* was analyzed in manner as described for Fr. 4*i*. The relative abundance of the constituents **IP-6A-L** are listed in Table 2-12.

Dammarane triterpens

Betulatriterpene C 3-acetate (IP-7)

White amorphous; (+)-HRFABMS *m/z*: 519.4085 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{32}H_{55}O_5$, 519.4050). $[\alpha]_D^{26}$ –43 (*c* 1.0, MeOH); IR (MeOH) λmax 3350, 2980, 1720, 1480, 1410, 1240 cm^{-1}; ^1H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 4.63 (1H, *brt*, *J* = 2.7 Hz, H-3), 3.85 (1H, *dd*, *J* = 9.0, 6.5 Hz, H-24), 3.54 (1H, *td*, *J* = 10.5, 4.5 Hz, H-12), 2.20 (1H, *m*, H-17), 2.08 (3H, *s*, Ac), 1.28 (3H, *s*, H-27), 1.27 (3H, *s*, H-21), 1.10 (3H, *s*, H-26), 0.99 (3H, *s*, H-18), 0.95 (3H, *s*, H-30), 0.88 (3H, *s*, H-28), 0.87 (3H, *s*, H-19), 0.83 (3H, *s*, H-29); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) *δ*: 170.7 (Ac), 86.5 (C-20), 85.4 (C-24), 78.2 (C-3), 71.0 (C-12), 70.1 (C-25), 52.1 (C-14), 50.9 (C-5), 50.3 (C-9), 49.3 (C-13), 48.0 (C-17), 39.9 (C-8), 37.2 (C-10), 36.7 (C-4), 34.7 (C-7), 34.2 (C-1), 32.6 (C-15), 31.2 (C-22), 31.2 (C-11), 28.6 (C-16), 27.9 (C-27), 27.9 (C-29), 27.6 (C-21), 26.1 (C-26), 25.0 (C-23), 22.9 (C-2), 21.6 (C-28), 21.4 (Ac), 18.3 (C-30), 18.1 (C-6), 16.1 (C-19), 15.4 (C-18).

Probosciderol A (IP-12)

Colorless crystals (from hexane-EtOAc, 4:1), mp 118-119°C; $[\alpha]_D^{24}$ +15.2 (*c* 1.6, $CHCl_3$); ν_{max} ($CHCl_3$) 3360, 2975, 1460, 1390, 1060 cm^{-1}; HRFABMS *m/z*: 475.3741 $[M-H]^-$ (calcd 475.3787 for $C_{30}H_{51}O_4$); for ^1H and ^{13}C NMR ($CDCl_3$) spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

Probosciderol B (IP-13)

Colorless crystals (from hexane-EtOAc, 4:1), mp 179-180°C; $[\alpha]_D^{24}$ +4.6 (*c* 0.83, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 3350, 2980, 1460, 1390, 1090, 980 cm^{-1}; (–)-HRFABMS *m/z*: 475.3807 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{51}O_4$, 475.3787); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

Probosciderol C (IP-14)

Colorless crystals (from MeOH), mp 83–85°C; $[\alpha]_D^{24}$ +28.8 (*c* 0.17, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3350, 2950, 2920, 1715, 1460, 1390, 1110 cm^{-1}; (–)-HRFABMS *m/z*: 473.3668 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{49}O_4$, 473.3631); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

Probosciderol D (IP-15)

Colorless crystals (from MeOH), mp 94–96°C; $[\alpha]_D^{24}$ +8.1 (*c* 0.17, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 3360, 2970, 2860, 1730, 1460, 1390, 890 cm^{-1}; (+)-HRFABMS *m/z*: 493.3897 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{53}O_5$, 493.3893); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

Probosciderol E (IP-16)

Colorless crystals (from MeOH), mp 78–80°C; $[\alpha]_D^{24}$ +5.6 (*c* 0.21, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 3360, 2920, 2860, 1730, 1460, 1390 cm^{-1}; (+)-HRFABMS *m/z*: 493.3906 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{53}O_5$, 493.3893); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

Probosciderol F (IP-17)

Colorless crystals (from MeOH), mp 115–117°C; $[\alpha]_D^{24}$ +13.8 (*c* 0.52, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3360, 2970, 2860, 1730, 1460, 1390, 890 cm^{-1}; (+)-HRFABMS *m/z*: 509.3846 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{53}O_6$, 509.3842); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

Probosciderol G (IP-18)

Colorless crystals (from MeOH), mp 123–125°C; $[\alpha]_D^{24}$ +12.3 (*c* 0.75, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3360, 2970, 2860, 1730, 1460, 1390 cm^{-1}; (+)-HRFABMS *m/z*: 509.3891 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{53}O_6$, 509.3842); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

Probosciderol H (IP-19)

Colorless crystals (from MeOH), mp 135–137°C; $[\alpha]_D^{24}$ –4.0 (*c* 0.40, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 3360, 2970, 2860, 1730, 1460, 1390, 890 cm^{-1}; (+)-HRFABMS *m/z*: 509.3885 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{53}O_6$, 509.3842); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

Compound **IP-19** (3 mg) was treated with triphenylphosphine (1 mg) in CH_2Cl_2 at room temperature for 2 h. The reaction mixture was dried by passing a stream of N_2 over it, and purified by PTLC (acetone-EtOAc-$CHCl_3$, 3:1:1) to give the 24-hydroxy compound **IP-19a** (2.5 mg, 86%) as colorless crystals (from MeOH), mp 127–129°C; (+)-FABMS *m/z*: 493 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 4.97 (1H, *brs*, Ha-26), 4.85 (1H, *brs*, Hb-26), 4.12 (1H, *m*, H-24), 3.79 (1H, *dd*, *J* = 11.0, 4.6 Hz, H-1), 3.67 (1H, *td*, *J* = 10.4, 5.6 Hz, H-12), 3.49 (1H, *brs*, H-3), 2.70 (1H, *m*, H-11), 1.73 (3H, *s*, H-27), 1.15 (3H, *s*, H-21), 0.99 (3H, *s*, H-18), 0.94 (3H, *s*, H-19), 0.92 (3H, *s*, H-29), 0.91 (3H, *s*, H-30), 0.84 (3H, *s*, H-28). The 24-hydroxy derivative (1.0 mg) was treated with (*S*)-MTPACl (0.6 μL) in pyridine (60 μL) at room temperature for 1 h. The reaction mixture was purified by PTLC ($CHCl_3$-MeOH, 15:1) to give the 12-*O*-(*R*)-MTPA derivative **IP-19b** (0.7 mg, 48%); (+)-FABMS *m/z*: 709 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 7.50-7.30 (5H, Ph), 4.99 (1H, *td*, *J* = 10.5, 5.4 Hz, H-12), 4.88 (1H, *brs*, Ha-26), 4.77 (1H, *brs*, Hb-26), 4.03 (1H, *m*, H-24), 3.88 (1H, *dd*, *J* = 11.2, 4.6 Hz, H-1), 3.50 (1H, *brs*, H-3), 3.49 (3H, *brs*, OMe), 3.08 (1H, *m*, H-11), 1.69 (3H, *s*, H-27), 1.12 (3H, *s*, H-21), 0.99 (3H, *s*, H-18), 0.97 (3H, *s*, H-19), 0.92 (3H, *s*, H-29), 0.90 (3H, *s*, H-30), 0.85 (3H, *s*, H-28).

The MTPA ester (350 μg) was further treated with (*R*)-MTPACl (0.4 μL) in pyridine (30 μL) at room temperature for 1 h. The reaction mixture was purified by PTLC ($CHCl_3$-MeOH, 30:1) to give 12-*O*-(*R*)-MTPA,24-*O*-(*S*)-MTPA diester **IP-19c**. (+)-FABMS *m/z*: 925 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 7.54-7.30 (10H, *m*, Ph), 5.32 (1H, *dd*, *J* = 8.8, 4.3 Hz, H-24), 4.99 (1H, *td*, *J* = 10.4, 5.3 Hz, H-12), 4.91 (1H, *s*, Ha-26), 4.88 (1H, *s*, Hb-26), 3.88 (1H, *dd*, *J* = 11.2, 4.5 Hz, H-1), 3.57 (3H, *s*, OMe), 3.52 (1H, *brs*, H-3), 3.46 (3H, *s*, OMe), 3.08 (1H, *m*, H-11), 1.62 (3H, *s*, H-27), 1.08 (3H, *s*, H-21), 0.99 (3H, *s*, H-19), 0.93 (3H, *s*, H-29), 0.91 (3H, *s*, H-18), 0.90 (3H, *s*, H-30), 0.85 (3H, *s*, H-28). The 12-*O*-(*R*)-MTPA,24-*O*-(*R*)-MTPA diester (**IP-19d**) was prepared in the same manner using (*S*)-MTPACl. (+)-FABMS: *m/z* 925 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 7.51-7.37 (10H, Ph), 5.33 (1H, *dd*, *J* = 8.9, 4.2 Hz, H-24), 5.00 (1H, *s*, Ha-26), 4.99 (1H, *td*, *J* = 10.2, 5.4 Hz, H-12), 4.93 (1H, *s*, Hb-26),

3.88 (1H, *dd*, *J* = 11.3, 4.5 Hz, H-1), 3.50 (1H, *brs*, H-3), 3.48 (3H, *s*, OMe), 3.43 (3H, *s*, OMe), 3.09 (1H, *m*, H-11), 1.71 (3H, *s*, H-27), 1.04 (3H, *s*, H-21), 0.99 (3H, *s*, H-19), 0.95 (3H, *s*, H-18), 0.93 (3H, *s*, H-29), 0.90 (3H, *s*, H-30), 0.85 (3H, *s*, H-28).

*Probosciderol I (**IP-20**)*

Colorless crystals (from MeOH), mp 134–136°C; $[\alpha]_D^{24}$ –5.6 (*c* 0.21, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 3360, 2970, 2860, 1730, 1460, 1390 cm^{-1}; (+)-HRFABMS *m/z*: 509.3882 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{53}O_6$, 509.3842); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

*A mixture of probosciderol J (**IP-21**) and probosciderol K (**IP-22**)*

Colorless crystals (from MeOH), mp 127-130 and 133–135°C; $[\alpha]_D^{24}$ –3.5 (*c* 0.40, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 3360, 2970, 2860, 1730, 1460, 1390, 890 cm^{-1}; (+)-HRFABMS *m/z*: 493.3893 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{53}O_5$, 493.3893); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

*Probosciderol L (**IP-23**)*

Colorless crystals (from MeOH), mp 142–144°C; $[\alpha]_D^{24}$ –9.0 (*c* 0.27, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 3360, 2970, 2860, 1730, 1460, 1390 cm^{-1}; (+)-HRFABMS *m/z*: 493.3893 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{53}O_6$, 493.3893); for ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-13 and 2-14.

2-3. *Orobanche minor*

Plant material

Aerial parts of *Orobanche minor* were collected in May 2008 on the campus of Tokyo Institute of Technology. A voucher specimen is deposited at Department of chemistry and materials science, Tokyo Institute of Technology.

Extraction and isolation

The Aerial parts of *O. minor* (fresh wt. 300 g) were dipped into Et_2O (500 ml) for 20 sec. and the Et_2O solution was concentrated to dryness in a reduced pressure. The oily residue (200 mg) was chromatographed over silica gel with hexane-EtOAc and then EtOAc-MeOH as eluents to give Y-1 (36 mg) and Fr. A (11 mg), and Y-4 (8.3 mg). Fr. A was further purified by silica gel with $CHCl_3$ and MeOH to give Y-2 (4.9 mg), overlapped fractions containing Y-2 and Y-3 (3.0 mg) and Y-3 (2.3 mg).

Fr. Y-1

Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 459, 472, 487, 501, 515 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 5.24 (*m* , H-*sn*-2), 5.08 (*m*, H-3), 4.29 (*dd*, *J* = 12.2, 4.8 Hz, Ha-*sn*-1), 4.22 (*dd*, *J* = 12.2, 6.0 Hz, Hb-*sn*-1), 3.77 (*dd*, *J* = 12.1, 4.4 Hz, Ha-*sn*-3), 3.71, (*dd*, *J* = 12.1, 5.7 Hz, Hb-*sn*-3), 2.62 (*dd*, *J* = 15.4, 7.5 Hz, Ha-2),

2.57 (*dd*, 15.4, 4.5 Hz, Hb-2), 2.07 (*s*, Ac), 2.04 (*s*, Ac), 1.65-1.20 (CH_2), 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz, normal), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 170.9 (C-1), 170.2 (Ac), 72.7 (C-*sn*-2), 70.6 (C-3), 62.2 (C-*sn*-1), 61.3 (C-*sn*-3), 39.6 (C-2), 39.0 (CH_2, iso), 34.3 (C-4), 31.9 (ω3), 29.9 (CH_2, iso), 29.7-29.3 (CH_2), 27.9 (CH, iso), 27.4 (CH_2, iso), 25.1 (C-5), 22.7 (ω 2, normal), 22.6 (Mex2, iso), 21.1 (Ac), 20.7 (Ac), 14.1 (ω1, normal).

Fr. Y-1 (1 mg) was converted to the corresponding fatty acid methyl esters in the same manner as described for G-1–G-8 in **2-1-2**. The methyl esters were silylated with TMS-HT and analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described for Fr. 4i in **2-2-2**. The chromatogram is shown in Fig. 2-23)

GC-MS data of **OM-1i**: *m/z* 515 $[M–Me]^+$ (1), 427 $[M–MeOH–TMS]^+$, 313 (2), 175 (60), 73 (100).

Fr. Y-2

Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 475, 489, 503, 517 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 5.24 (*m* , H-*sn*-2), 5.08 (*m*, H-3), 4.29 (*dd*, *J* = 12.1, 4.9 Hz, Ha-*sn*-1), 4.22 (*dd*, *J* = 12.1, 6.1 Hz, Hb-*sn*-1), 3.77 (*dd*, *J* = 12.1, 4.3 Hz, Ha-*sn*-3), 3.70, (*dd*, *J* = 12.1, 5.8 Hz, Hb-*sn*-3), 3.58 (*m*, H-7), 2.64 (*dd*, *J* = 15.4, 7.4 Hz, Ha-2), 2.57 (*dd*, 15.4, 4.4 Hz, Hb-2), 2.07 (*s*, Ac), 2.05 (*s*, Ac), 1.65-1.20 (CH_2), 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz, normal), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 170.9 (C-1), 170.0 (Ac), 72.8 (C-*sn*-2), 71.7 (C-7), 70.5 (C-3), 62.2 (C-*sn*-1), 61.4 (C-*sn*-3), 39.6 (C-2), 39.0 (CH_2, iso), 37.7 (C-8), 36.8 (C-6), 34.2 (C-4), 31.9 (ω3), 29.9 (CH_2, iso), 29.7-29.3 (CH_2), 27.9 (CH, iso), 27.4 (CH_2, iso), 25.7 (C-9), 22.7 (ω 2, normal), 22.6 (Mex2, iso), 21.2 (C-5), 21.1 (Ac), 20.7 (Ac), 14.1 (ω1, normal).

Fr. Y-2 (1 mg) was converted to the TMS ethers of the methyl esters in the same manner as described for Y-1 and analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described in Fr. 3i in **2-2-2**. The chromatogram is shown in Fig. 2-23)

Fr. Y-3

Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 417, 431, 445, 459, 473 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 5.31 (*m* , H-*sn*-2), 4.89 (*m*, H-3), 3.83 (*m*, H_2-*sn*-1, H_2-*sn*-3, 4H), 2.64 (*dd*, *J* = 15.4, 3.6 Hz, Ha-2), 2.57 (*dd*, 15.4, 9.1 Hz, Hb-2), 2.06 (*s*, Ac) 1.65-1.20 (CH_2), 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz, normal), 0.86 (*d*, *J* = 6.6 Hz, iso). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 171.5 (C-1), 170.4 (Ac), 75.9 (C-*sn*-2), 71.0 (C-3), 62.6 (C-*sn*-1), 62.3 (C-*sn*-3), 40.4 (C-2), 39.0 (CH_2, iso), 34.3 (C-4), 31.9 (ω3), 29.9 (CH_2, iso), 29.7-29.3 (CH_2), 27.9 (CH, iso), 27.4 (CH_2, iso), 25.1 (C-5), 22.7 (ω 2, normal), 22.6 (Mex2, iso), 21.1 (Ac), 14.1 (ω1, normal).

Fr. Y-3 (1 mg) was converted to the TMS ethers of the methyl esters in the same manner as described for Y-1 and analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described in Fr. 4i in **2-2-2**. The chromatogram is shown in Fig. 2-23)

Fr. Y-4

Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 433, 447, 461, 475 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 5.31 (*m* , H-*sn*-2), 4.89 (*m*, H-3), 3.83 (*m*, H_2-*sn*-1, H_2-*sn*-3, 4H), 3.58 (*m*, H-7), 2.64 (*dd*, *J* = 15.4, 3.6 Hz, Ha-2), 2.57

(*dd*, 15.4, 9.1 Hz, Hb-2), 2.06 (*s*, Ac) 1.65-1.20 (CH_2), 0.88 (*t*, J = 7.2 Hz, normal), 0.86 (*d*, J = 6.6 Hz, iso).

Fr. Y-4 (1 mg) was converted to the TMS ethers of the methyl esters in the same manner as described for Y-1 and analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described in Fr. 3i in **2-2-2**. The chromatogram is shown in Fig. 2-23)

2-4. *Uncarina sp.*

2-4-1. *Uncarina glandidieri*

Plant material

Preliminary studies were conducted using *Uncarina grandidieri* and *U. roeoesriana* leaves, kindly donated by Mr. Takeshi Hiratsuka from The Kyoto Botanical Garden, in July 2006. The exudate of *U. grandidieri* was collected from the leaf surface during August 2008 in The Ichikawa Botanical Garden. The exudate of *U. roeoesriana* was collected from the leaf surface during August 2008 in The Kyoto Botanical Garden.

Extraction and isolation

The leaf surface of *U. grandidieri* (100 leaves) were gently wiped with Kimwipe, which was then washed with Et_2O (500 ml). Concentration of the Et_2O washing under a reduced pressure gave an oily material (1.4 g). This was treated with AcOEt and AcOEt-soluble part Fr. A (1.2 g) was separated from insoluble part Fr. B (130 mg). The soluble part was chromatographed over silica gel with $CHCl_3$-MeOH as eluents to give Fr. C (240 mg), Fr. D (830 mg) and U-4 (25 mg). Fr. C was further purified by MPLC (flow rate: 8.0 ml/min, solvent: $CHCl_3$/MeOH, 20:1-9:1) furnished U-1 (320 mg). Fr. D was further purified by a combination of chromatographies over silica gel, Sephadex LH-20, and MPLC (flow rate: 8.0 ml/min, solvent: $CHCl_3$/MeOH, 20:1-9:1) to give U-1 (140 mg), U-2 (500 mg) and U-3 (70 mg). Fr. B was chromatographed over silica gel with $CHCl_3$-MeOH as eluents furnished luteolin 7,3′,4′-tri-*O*-methyl ether (80 mg) and tricetin 7,3′,4′-tri-*O*-methyl ether (20 mg).

Fr. U-1

Colorless oil; (–)-FABMS *m/z*: 481 (32), 483 (48), 509 (16), 511 (4) $[M–H]^-$; (–)-HRFABMS *m/z*: 481.3498 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{28}H_{49}O_6$, 481.3529), 483.3713 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{28}H_{51}O_6$, 483.3686), 509.3815 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{53}O_6$, 509.3842), 511.3981 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{55}O_6$, 511.3999); ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 5.36 (*m* , H_2-$\omega_{6,7}$,2Hx0.5), 5.24 (*m*, H-3), 4.94 (*m*, H-5), 2.69 (*dd*, 16.2, 5.8 Hz, Ha-2), 2.65 (*dd*, 16.2, 4.9 Hz, Hb-2), 2.05 (*s*, Ac), 2.04 (*s*, Ac), 2.04-1.96 (*m*, allyl, 4Hx0.5) 1.87 (*m*, H_2-4), 1.56 (*m*, H_2-6), 1.37-1.20 (CH_2), 0.89 (*t*, J = 7.2 Hz, 3Hx0.5, Δ1), 0.88 (*t*, J = 7.2 Hz, 3Hx0.5, Δ0). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 175.7 (C-1), 170.8 (Ac), 170.2 (Ac), 129.9 (C-$\omega_{6,7}$) 70.9 (C-5), 67.5 (C-3), 38.4 (C-2), 37.8 (C-4), 34.1 (C-6), 31.9 (ω_3, Δ0), 31.5 (ω_3, Δ1), 29.7-29.3 (CH_2), 27.2 (allyl, Δ1), 25.1

(C-7), 22.7 (ω_2, Δ0), 22.6 ($\omega_{2,}$, Δ1), 21.2 (Ac), 21.1 (Ac), 14.1 (ω_1, Δ0), 14.0 (ω_1, Δ1).

Fr. U-1 (10 mg) was converted to the corresponding methyl esters (**UG-1a-d**) with ethereal CH_2N_2. The methyl esters were analyzed by GC-MS and GLC. Parameters of GLC analysis: injection temperature 290°C, programmed column temperature from 220°C to 280°C at a rate of 1.5°C/min, and maintained at the initial and final temperature for 10 min, detection temperature 290°C. GC-MS analysis was carried out under the same conditions as described in General experimental procedure. The results are summarized in Table. 2-17. The EIMS data obtained by GC-MS analysis are as follows:

EIMS of **UG-1a**: *m/z* 376 [M–2AcOH] (72), 345 [M–2AcOH–MeO] (100), 331(32), 302 (36), 275 (28), 247 (18), 211 (24).

EIMS of **UG-1b**: *m/z* 378 [M–2AcOH] (78), 347 [M–2AcOH–MeO] (100), 333(22), 304 (44), 275 (22), 247 (16), 213 (34).

EIMS of **UG-1c**: *m/z* 404 [M–2AcOH] (10), 376 (50), 362 (50), 344 (50), 337 (86), 316 (38), 302 (42), 207 (100): EIMS of **UG-1d**: *m/z* 406 [M–2AcOH] (78), 378 (100), 364 (100), 346 (70), 304 (80), 207 (22)

The methyl esters of U-1 (200 μg) were treated with DMDS (20 μL) and I_2 (300 μg) in Et_2O (5 μL) at 40°C. After being stirred for 1 day, the mixture was diluted with 5% aqueous $Na_2S_2O_3$ and extracted with hexane and concentrated under a reduced pressure to yield the corresponding dimethylthiol derivatives (**1a-1**, **1c-1**). The derivative was analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described above. GLC (min); **UG-1b** (35.1), **UG-1d** (42.6), **UG-1a-1** (58.9), **UG-1c-1** (68.3). The EIMS fragments of **UG-1a-1** and **UG-1c-1** in the GC-MS analysis were summarized in Fig. 2-35.

Fr. U-1 (10 mg) was hydrolyzed in the same manner as described for G-1–G-8 in **2-1-2** and the resulting hydroxy acids were converted to the corresponding methyl esters (U-1-Me). (+)FABMS *m/z*: 414, 415, 441, 443 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 5.36 (*m* , H_2-$\omega_{6,7}$,2Hx0.5), 4.28 (*m*, H-3), 3.87 (*m*, H-5), 2.51 (*m*, H_2-2), 2.02 (*m*, allyl, 4Hx0.5), 1.56 (*m*, H_2-4), 1.54 (*m*, H_2-6), 1.37-1.20 (CH_2), 0.89 (*t*, *J* = 7.2 Hz, 3Hx0.5, Δ1), 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz, 3Hx0.5, Δ0). U-1-1 (2.0 mg) was treated with 1.1 eq of (*R*)-MTPACl in pyridine to yield 1:2 mixture of 3-*O*-(*S*)-MTPA/5-*O*-(*S*)-MTPA ester of U-1-Me. (+)FABMS *m/z*: 629, 631, 657, 659 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$); 3-*O*-(*S*)-MTPA: δ 5.63 (*m*, H-3), 3.71 (*m*, H-5), 3.59 (*s*, COOMe), 2.73 (*m*, H_2-2). 5-*O*-(*S*)-MTPA: δ 5.22 (*m*, H-5), 3.95 (*m*, H-3), 3.70 (*s*, COOMe), 2.46 (*dd*, *J* = 16.8, 3.2 Hz, Ha-2), 2.35 (*dd*, *J* = 16.8, 9.1 Hz, Hb-2). U-1-1 (2.0 mg) was treated with 1.1 eq of (*S*)-MTPACl in pyridine to yield 1:2 mixture of 3-*O*-(*R*)-MTPA/5-*O*-(*R*)-MTPA ester of U-1-1. (+)-FABMS *m/z*: 629, 631, 657, 659 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$); 3-*O*-(*R*)-MTPA: δ 5.62 (*m*, H-3), 3.67 (*s*, COOMe), 3.56 (*m*, H-5), 2.79 (*m*, H_2-2). 5-*O*-(*R*)-MTPA: δ 5.25 (*m*, H-5), 4.08 (*m*, H-3), 3.72 (*s*, COOMe), 2.54 (*dd*, *J* = 16.7, 3.2 Hz, Ha-2), 2.44 (*dd*, *J* = 16.7, 9.0 Hz, Hb-2).

Fr. U-2

Colorless oil; (–)-FABMS *m/z*: 497 (20), 499 (71) $[M–H]^-$; (–)-HRFABMS *m/z*: 497.3454 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{28}H_{49}O_7$, 497.3479), 499.3640 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{28}H_{51}O_7$, 499.3634); ^1H NMR ($CDCl_3$) δ

5.37 (*m*, H_2-$\omega_{6,7}$,2Hx0.4), 5.24 (*m*, H-3), 4.94 (*m*, H-5), 3.58 (*m*, H-9/10), 2.66 (*m*, H_2-2), 2.06 (*s*, Ac), 2.05 (*s*, Ac), 2.03 (*m*, allyl, 4Hx0.4) 1.89 (*m*, H_2-4), 1.56 (*m*, H_2-6), 1.42-1.20 (CH_2), 0.89 (*t*, J = 7.2 Hz, 3Hx0.4, Δ1), 0.88 (*t*, J = 7.2 Hz, 3Hx0.6, Δ0). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 174.8 (C-1), 170.8 (Ac), 170.3 (Ac), 129.9 (C-$\omega_{6,7}$) 71.8, 71.7 (C-9, 10), 70.7 (C-5), 67.6 (C-3), 38.4 (C-2), 37.8, 37.7, 37.5, 37.1, 36.8, 33.9, 33.8, 31.9 (ω_3, Δ0), 31.5 (ω_3, Δ1), 31.5, 29.7-29.3 (CH_2), 27.1 (allyl, Δ1), 25.6, 22.76 (ω_2, Δ0), 22.5 ($\omega_{2,}$, Δ1), 21.2 (Ac), 21.0 (Ac), 14.1 (ω_1, Δ0), 14.0 (ω_1, Δ1).

Fr. U-2 (10 mg) was converted to the corresponding methyl esters (**UG-2a-e**) upon treatment with ethereal CH_2N_2. The methyl esters were converted to the corresponding TMS ethers and analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described for U-1. The results are summarized in Table. 2-17. The EIMS data of **UG-2b**-OTMS and **UG-2c**-OTMS are as follows (see also Fig. 2-36):

EIMS of **UG-2b**: *m/z* 511 $[M–AcOH–Me]^+$ (8), 466 $[M–2AcOH]^+$ (2), 451 $[M–2AcOH–Me]^+$ (10), 436 $[M–TMSOH–AcOH]^+$ (3), 395 (2), 375 (16), 339 (3), 313 (70), 315 (75), 255 (45), 73 (100).

EIMS of **UG-2c**: *m/z* 511 $[M–AcOH–Me]^+$ (7), 466 $[M–2AcOH]^+$ (2), 451 $[M–2AcOH–Me]^+$ (18), 436 $[M–TMSOH–AcOH]^+$ (2), 395 (3), 389 (18), 339 (2), 329 (65), 299 (72), 269 (51), 73 (100).

Fr. U-2 (10 mg) was hydrolyzed and methylated to give the di-hydroxyfatty acid methyl esters as described for U-1. The methyl ester fraction showed two spots on TLC (hexane/AcOEt, 1:2), **UG-2b-1** (Rf=0.25) and **UG-2c-1** (Rf=0.3). The two spots were separated by PTLC with the same solvent system as a developing solvent. **UG-2b-1**: (+)-FABMS *m/z*: 431 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.29 (*m*, H-3), 3.91 (*m*, H-5), 3.72 (*s*, COOMe), 3.60 (*m*, H-9), 2.51 (*m*, H_2-2), 1.56 (*m*, H_2-4), 1.54 (*m*, H_2-6), 1.37-1.20 (CH_2), 0.88 (*t*, J = 7.2 Hz). **UG-2c-1**: (+)-FABMS *m/z*: 431 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.28 (*m*, H-3), 3.89 (*m*, H-5), 3.72 (*s*, COOMe), 3.59 (*m*), 2.51 (*m*, H_2-2), 1.56 (*m*, H_2-4), 1.54 (*m*, H_2-6), 1.37-1.20 (CH_2), 0.88 (*t*, J = 7.2 Hz). **UG-2b-1** and **UG-2c-1** were converted to the corresponding tri-TMS ethers and analyzed by GLC. The parameter of GLC: injection and detection temperature 270 °C, column temperature 245°C. The tri-TMS ether of **UG-2b-1** showed a single peak at 26.1 min. EIMS *m/z* 646 (>1), 632 (2), 616 (1), 599 (1), 557 (3), 541 (2), 527 (2), 466 (10), 457 (14), 451 (12), 345 (62), 313 (78), 255 (25), 247 (13), 201 (100), 175 (25), 147 (15), 129 (38), 73 (54). The tri-TMS ether of **UG-2c-1** showed a single peak at 26.6 min. EIMS *m/z* 646 (>1), 632 (3), 616 (2), 599 (1), 557 (3), 541 (2), 527 (2), 466 (10), 457 (14), 451 (12), 449 (11), 359 (34), 327 (21), 299 (98), 269 (22), 247 (13), 201 (100), 175 (28), 147 (21), 129 (25), 73 (54).

To a solution of **UG-2b-1** (1 mg) in DMF (30 μL) were added 2,2-dimethoxypropane (30 μL) and a catalytic amount of *p*-toluenesulfonic acid hydrate. After being stirred for 1day at 40°C, Et_2O and H_2O were added to the reaction mixture at 0°C. The organic layer was separated, washed with sat. aq. $NaHCO_3$, dried and concentrated under reduced pressure. The extract was purified by PTLC (hexane/AcOEt, 4:1) to yield acetonide derivative **UG-2b-2**; (+)-FABMS *m/z*: 471 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.29 (*m*, H-3), 3.84 (*m*, H-5), 3.69 (*s*, COOMe), 3.59 (*m*, H-9), 2.55 (*dd*, J = 15.6, 7.0 Hz, Ha-2), 2.39 (*dd*, J = 15.6, 6.5 Hz, Hb-2), 1.60 (*dt*, J = 12.5, 2.5 Hz, Ha-4), 1.54 (*m*, H_2-6), 1.45 (*s*, Me), 1.37 (*s*, Me) 1.42-1.20 (CH_2), 1.17 (*q*, J = 12.5 Hz, Hb-4), 0.88 (*t*, J = 7.2 Hz). **UG-2b-2** was converted

to the (*S*)-MTPA ester **UG-2b-3**; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 5.07 (*m*, H-9), 4.29 (*m*, H-3), 3.80 (*m*, H-5), 3.69 (*s*, COOMe), 2.55 (*dd*, *J* = 15.6, 7.0 Hz, Ha-2), 2.38 (*dd*, *J* = 15.6, 6.5 Hz, Hb-2), 1.53 (*dt*, *J* = 12.5, 2.5 Hz, Ha-4), 1.17 (*q*, *J* = 12.5 Hz, Hb-4). **UG-2b-2** was converted to the (*R*)-MTPA ester **UG-2b-4**; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 5.07 (*m*, H-9), 4.27 (*m*, H-3), 3.73 (*m*, H-5), 3.69 (*s*, COOMe), 2.54 (*dd*, *J* = 15.6, 7.0 Hz, Ha-2), 2.37 (*dd*, *J* = 15.6, 6.5 Hz, Hb-2), 1.47 (*dt*, *J* = 12.5, 2.5 Hz, Ha-4), 1.09 (*q*, *J* = 12.5 Hz, Hb-4).

UG-2c-1 (1 mg) was converted to the acetonide derivative **UG-2c-2** in the same manner as described for **UG-2b-1**. **UG-2c-2**; (+)-FABMS *m/z*: 471 $[M+H]^+$; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.29 (*m*, H-3), 3.84 (*m*, H-5), 3.69 (*s*, COOMe), 3.58 (*m*, H-10), 2.55 (*dd*, *J* = 15.5, 7.0 Hz, Ha-2), 2.38 (*dd*, *J* = 15.5, 6.5 Hz, Hb-2), 1.58 (*dt*, *J* = 12.5, 2.5 Hz, Ha-4), 1.54 (*m*, H_2-6), 1.45 (*s*, Me), 1.37 (*s*, Me) 1.42-1.20 (CH_2), 1.16 (*q*, *J* = 12.5 Hz, Hb-4), 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz). **UG-2c-2** was converted to the (*S*)-MTPA ester **UG-2c-3**; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 5.08 (*m*, H-10), 4.29 (*m*, H-3), 3.82 (*m*, H-5), 3.69 (*s*, COOMe), 2.56 (*dd*, *J* = 15.6, 7.0 Hz, Ha-2), 2.39 (*dd*, *J* = 15.6, 6.5 Hz, Hb-2), 1.59 (*dt*, *J* = 12.5, 2.5 Hz, Ha-4), 1.17 (*q*, *J* = 12.5 Hz, Hb-4). **UG-2c-2** was converted to the (*R*)-MTPA ester **UG-2b-4**; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 5.08 (*m*, H-10), 4.28 (*m*, H-3), 3.78 (*m*, H-5), 3.69 (*s*, COOMe), 2.55 (*dd*, *J* = 15.6, 7.0 Hz, Ha-2), 2.38 (*dd*, *J* = 15.6, 6.5 Hz, Hb-2), 1.55 (*dt*, *J* = 12.5, 2.5 Hz, Ha-4), 1.13 (*q*, *J* = 12.5 Hz, Hb-4).

Fr. U-3

Colorless oil; (–)-FABMS *m/z*: 353 (75), 355 (10), 381 (15) $[M-H]^-$; (–)-HRFABMS *m/z*: 353.3085 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{22}H_{41}O_3$, 353.3055), 355.3262 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{22}H_{43}O_3$, 355.3212), 381.3396 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{24}H_{45}O_3$, 381.3374); ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 5.34 (*m*, H_2-$\omega_{6,7}$), 4.02 (*m*, H-3), 2.52 (*m*, H_2-2), 2.01 (*m*, allyl), 1.33-1.20 (CH_2), 0.89 (*t*, *J* = 7.2 Hz).

Fr. U-3 (1 mg) was converted to corresponding methyl esters (**UG-3a-c**) in the same manner as described above. The methyl esters were converted to the corresponding TMS ethers and they were analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described in Fr. U-1. The results were summarized in Table 2-17. The EIMS fragmentations of **UG-3a-c** are described in the text.

The methyl esters of U-3 (200 μg) were converted to the corresponding dimethylthiol derivatives (**UG-3a-1**, **UG-3c-1**). The sample was converted to the TMS ethers (**UG-3a-1**-OTMS, **UG-3c-1**-OTMS) and analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described above. GLC: **UG-3b**-OTMS (17.5 min), **UG-3a-1**-OTMS (42.6 min), **UG-3c-1**-OTMS (50.0 min). The EIMS data of **UG-3a-1**-OTMS and **UG-3c-1**-OTMS are as follows (see also Fig. 2-37):

EIMS of **UG-3c-1**-OTMS: *m/z* 425 $[M-Me]^+$ (30), 367 (3), 276 (2), 175 (34), 73 (100).

EIMS of **UG-3b-1**-OTMS: *m/z* 427 $[M-Me]^+$ (40), 369 (3), 175 (54), 73 (100).

EIMS of **UG-3c-1**-OTMS: *m/z* 453 $[M-Me]^+$ (36), 395 (4), 346 (4), 304 (4), 175 (64), 73 (100).

UG-3a-c (1.0 mg) was treated with (*R*)-MTPACl (1.2 μL) in pyridine (30 μL) at room temperature. After 30 min, MeOH (100 μL) was added to the reaction mixture and the crude product was purified by PTLC (hexane/AcOEt, 6:1) to give the (*S*)-MTPA ester (0.7 mg, 93% yield): ^{1}H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 7.58–7.54 (*m*, 5H), 5.45 (*m*, H-3), 3.59 (*s*, CO_2Me), 3.47 (*d*, *J* = 1.0 Hz, OMe), 2.66 (*dd*, *J* = 16.0, 8.0

Hz, Ha-2), 2.58 (*dd*, J = 16.0, 5.1 Hz, Hb-2), 1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, J = 7.2 Hz). Reaction of **UG-3a-c** (1.0 mg) with (*S*)-MTPACl (1.2 μL) gave the (*R*)-MTPA ester (0.6 mg, 86% yield): Colorless oil; FABMS *m/z* 531 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 7.58–7.54 (*m*, 5H), 5.46 (*m*, H-3), 3.67 (*s*, CO_2Me), 3.55 (*d*, J = 1.2 Hz, OMe), 2.71 (*dd*, J = 16.0, 8.2 Hz, Ha-2), 2.61 (*dd*, J = 16.0, 4.7 Hz, Hb-2), 1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, J = 6.2 Hz).

Fr. U-4

Colorless oil; (–)-FABMS *m/z*: 369 (63), 371 (27), 397 (10) $[M-H]^-$; (–)-HRFABMS *m/z*: 369.3033 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{22}H_{41}O_4$, 369.3005); ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 5.34 (*m*, H_2-$\omega_{6,7}$), 4.03 (*m*, H-3), 2.48 (*m*, H_2-2), 2.01 (*m*, allyl), 1.44-1.20 (CH_2), 0.89 (*t*, J = 7.2 Hz).

Fr. U-4 (1 mg) was methylated to give the dihydroxy acid methyl esters (**UG-4a-c**) in the same manner as described above. **UG-4a-c** (200 μg) was converted to the corresponding dimethylthiol derivatives (**UG-4a-1**, **UG-4c-1**). These were converted to the di-TMS ethers (**UG-4a-1**-diOTMS, **UG-4c-1**-diOTMS) and analyzed by GC-MS and GLC under the same conditions as described above. GLC: **UG-4b**-diOTMS (23.7 min), **UG-4a-1**-diOTMS (47.7 min), **UG-4c-1**-diOTMS (54.8 min). The EIMS data of **UG-4a-1**-diOTMS and **UG-4c-1**-diOTMS in the GC-MS analysis are as follows (see also Fig. 2-39).

EIMS of **UG-4a** diOTMS: *m/z* 513 $[M-Me]^+$ (2), 438 [M–TMSOH] (5), 423 [M–TMSOH–Me] (14), 347 (4), 315 (6), 301 (10), 291 (8), 283 (6), 247 (8), 175 (12), 129 (11), 73 (100). 367 (3), 276 (2), 175 (34), 73 (100).

EIMS of **UG-4b**-diOTMS: *m/z* 515 $[M-Me]^+$ (1), 440 [M–TMSOH] (1), 425 [M–TMSOH–Me] (18), 347 (10), 315 (15), 285 (33), 247 (12), 175 (14), 129 (10), 73 (100).

EIMS of **UG-4c-di**OTMS: *m/z* 541 $[M-Me]^+$ (1), 466 [M–TMSOH] (3), 451 [M–TMSOH–Me] (12), 347 (6), 315 (6), 311 (10), 247 (6), 175 (12), 129 (11), 73 (100).

2-4-2. *Uncarina roeoesriana*

The tree of *Uncarina roeoesriana* is grown in a green house of the Kyoto Botanical Garden, from which the exudate sample was collected through the courtesy of Mr. Takeshi Hiratsuka of the Garden.

Extraction and isolation

The leaves of *U. roeoesriana* (100 leaves) were gently wiped with Kimwipe, which was washed with Et_2O (500 ml). The Et_2O washing was concentrated to dryness in a reduced pressure. The oily residue (1.2 g) was chromatographed over silica gel with $CHCl_3$-MeOH as eluents to give fractions UR-1 (460 mg) and UR-2 (500 mg).

Fr. UR-1

Colorless oil; (–)-FABMS *m/z*: 539 (50), 541 (30), 567 (15), 569 (5) $[M–H]^-$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 5.35 (*m*, H_2-$\omega_{6,7}$,2Hx0.5), 5.24 (*m*, H-3), 4.93 (*m*, H-5), 4.83 (*m*), 2.67 (*m*, H_2-2), 2.05 (*s*, Ac), 2.04 (*s*, Ac), 2.04 (*s*, Ac), 2.04-1.96 (*m*, allyl, 4Hx0.5) 1.88 (*m*, H_2-4), 1.58-1.20 (CH_2), 0.89 (*t*, *J* = 7.2 Hz, 3Hx0.5, Δ1), 0.88 (*t*, *J* = 7.2 Hz, 3Hx0.5, Δ0).

Fr. UR-2

Colorless oil; (–)-FABMS *m/z*: 497 (54), 499 (24), 525 (18), 527 (4) $[M–H]^-$; the ^1H NMR and ^{13}C NMR data were essentially identical to those of Fr. U-2.

2-5. *Brillantaisia* sp.

Plant material

The flowering shoots of *Brillantaisia* sp. were kindly donated from The Fukuoka Botanical Garden in October 2009.

Extraction and isolation

The flowering shoots of *Brillantaisia* sp. (fresh wt. 15 g) were dipped into Et_2O (300 mL) for 30 sec. and the Et_2O solution was concentrated to dryness under reduced pressure. The oily residue (200 mg) was chromatographed over silica gel with $CHCl_3$-MeOH as eluents to furnish compounds **BR-1** (185 mg)

*(–)-Epi-α-bisabolol 6-deoxy-β-D-gulopyranodide (**BR-1**)*

Colorless oil. $[\alpha]_D^{25}$ –64.8 (c, 1.8, MeOH), IR ($CHCl_3$) ν max 3580, 3005, 2965, 2925 cm^{-1}, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 2-17. EIMS *m/z* 368 (3, $[M]^+$), 350 (1), 285 (1), 273 (2), 256 (2), 233 (3), 205 (51), 204 (61), 149 (27), 147 (25), 121 (20), 119 (62), 109 (64), 94 (51), 93 (38), 81 (47), 73 (32), 69 (100), 57 (32), 55(34).

*Acidic hydrolysis of **BR-1***

A mixture of **BR-1** (12.6 mg), THF (0.5 mL) and 2N HCl (0.75 mL) was stirred at room temperature overnight. The mixture was neutralized by addition of $NaHCO_3$ (powder, 137 mg) and partitioned with Et_2O and water. The Et_2O layer was concentrated and the residue was chromatographed over silica gel to give (–)-epi-α-bisabolol (0.9 mg, eluted with hexane-EtOAc (15:1)). Colorless oil; $[\alpha]_D^{25}$ –65.6 (c, 0.09, MeOH) (lit. –67.5) [Grünther et al., 1993]; ^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 1.14 (*s*, 3H), 1.62 (*s*, 3H), 1.65 (*s*, 3H), 1.69 (*s*, 3H), 5.13 (*t*, 1H, 1.4 Hz), 5.40 (*m*, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 17.68, 22.30, 23.34, 23.98, 24.00, 25.72, 26.09, 31.08, 39.34, 43.34, 74.36, 120.77, 124.58, 131.77, 133.88 (Babin et al., 1981; Carman and Duffield, 1989). The water layer was concentrated and the residue was chromatographed over silica gel to give (–)-6-deoxy-D-gulose (4.2

mg), eluted with $CHCl_3$-MeOH (3:1) as colorless oil. $[\alpha]_D^{25}$ –32.9 (*c*, 0.42, water). ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ: 4.77 (*d*, 1H, *J* = 8.2 Hz, H-1), 4.02 (*qd*, 1H, *J* = 7.8, 6.6 Hz, H-5), 3.95 (*t*, 1H, *J* = 3.5 Hz, H-3), 3.50 (dd, 1H, J= 8.2, 3.4 Hz, H-2), 3.46 (dd, 1H, J= 3.6, 1.3 Hz, H-4), 1.20 (d, 3H, J= 6.7, CH_3-6), ^{13}CNMR (125 MHz, CD_3OD) δ: 94.32 (C-1), 72.39 (C-4), 72.06 (C-3), 69.43 (C-2), 68.76 (C-5), 15.00 (C-6). The sugar was identified by direct tlc and glc comparison with authentic sample. Tlc: Rf 0.30 (CHCl3-MeOH, 4:1). Glc (as TMS ether): retention times 4.28 and 4.85 min for the α- and β-anomers under the GLC conditions: injection temperature 270 °C, column temperature 150 °C, detection temperature 270 °C, He carrier gas flow rate of P1, 50 kPa and P2, 120 kPa, H_2 flow rate, 55 kPa, air flow rate, 45 kPa).

Chapter 3.

3-1. *Silene gallica*

Plant material

Silene gallica L. (Caryophyllaceae) were collected in May 2008 on the campus of Tokyo Institute of Technology. The plant was identified by Prof. S. Kohshima, Department of Biological Sciences, Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology. A voucher specimen (CMS20-01) was deposited in the Department of Chemistry and Materials Science, Tokyo Institute of Technology.

Extraction and isolation

Fresh upper aerial parts of *S. gallica* (fresh wt. 250 g) were briefly (ca. 2 sec) rinsed twice in a beaker containing Et_2O (total volume 500 mL) and the Et_2O solution was concentrated to dryness (160 mg) under a reduced pressure. The residue was subjected to silica gel (100 g) CC. The column was eluted with a gradient of hexane–AcOEt (8:1→1:1, total volume 400 mL) and AcOEt–MeOH (10:1→4:1, total volume 200 mL), and the fractions (30 mL each, total 20 fractions) were combined to give six fractions (Fr. 1–5 and **SG-9/10** (62.2 mg)) according to the TLC profile. Fr. 1 (24.2 mg, eluted with hexane–AcOEt, 2:1→1.5:1) was further separated by HPLC (CH_3CN–H_2O, 6:1; flow rate, 1.0 mL/min) to afford compounds **SG-1** (6.7 mg) and **SG-2** (14.6 mg) at 13.0 and 13.9 min, respectively. Fr. 2 (23.8 mg, eluted with hexane–AcOEt, 1.5:1→1:1) was further separated by HPLC (CH_3CN–H_2O, 8:1; flow rate, 1.0 mL/min) to give **SG-3** (5.2 mg) and **SG-4** (16.2 mg) at 13.8 and 14.9 min, respectively. Fr. 3 (13.1 mg, eluted with AcOEt–MeOH, 1:1→1:4) was further purified by HPLC (CH_3CN–H_2O, 6:1; flow rate, 1.0 mL/min) to afford **SG-5** (11.2 mg) at 10.3 min. Fr. 4 (22.6 mg, eluted with AcOEt) was further separated by HPLC (CH_3CN–H_2O, 6:1; flow rate, 1.0 mL/min) to give **SG-6** (2.6 mg) and **SG-7** (18.4 mg) at 9.2 and 10.0 min, respectively. Fr. 5 (6.1 mg, eluted with AcOEt–MeOH, 10:1→4:1) was further purified by HPLC (CH_3CN–H_2O, 3:1; flow rate, 1.0 mL/min)

to afford **SG-8** (5.3 mg) at 12.6 min.

*Gallicaside A (**SG-1**)*

Colorless oil; HRFABMS *m/z*: 551.3217 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{28}H_{48}O_9Na$, 551.3196); $[\alpha]_D^{24}$ –21.0 (*c* = 0.4, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1440, 1390, 1190, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-1 and 3-2, respectively.

A solution of **SG-1** (1.2 mg) in DME (0.2 mL) was added to a solution of LiOH (2.5 mg) in water (50 μL), and the mixture was stirred at room temperature for 48 h. 2 N HCl was added and the mixture was partitioned between $CHCl_3$ and H_2O. Concentration of the $CHCl_3$ layer gave the glucosyloxy-fatty acid (1.1 mg). A mixture of the material and 1.5 N HCl (0.1 mL) was heated at 80°C for 6 h and then was cooled to room temperature. The reaction mixture was partitioned between ether and water. The aqueous layer was concentrated and the residual material was identified as glucose by TLC (Rf, 0.55, CH_3CN-H_2O 85:15, developed three times) in comparison with authentic glucose. The residue (0.1 mg) was reacted with TMS-HT (30 μL) at 70 °C for 1.5 h and cooled to room temperature. Hexane (100 μL) and H_2O (50 μL) were added and a portion of the hexane layer was analyzed by GC-MS under the same conditions as described in *Paulownia tomentosa* section. The total ion monitor trace showed two major peaks corresponding to penta-*O*-TMS derivatives (*α*- and *β*-anomers) at 12.7 and 18.3 min, respectively. Both peaks exhibited a fragment ion at *m/z* 435 $[M–TMSOH–Me]^+$ and 360 $[M–(TMSOH)_2]^+$. TMS derivative prepared from authentic glucose showed the identical two peaks and mass fragmentation patterns.

The ether layer was concentrated, and the resulting material was treated with excess ethereal diazomethane to give methyl 13(*R*)-hydroxyoctadecanoate **SG-1a** (0.6 mg) after PTLC purification (hexane-AcOEt, 6:1) (the 13(*S*)-antipode has been reported in literature (Habel et al., 2007)). Amorphous; (+)-FABMS *m/z*: 314 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 3.67 (*s*, OMe), 3.59 (*m*, H-13), 2.30 (*t*, *J* = 7.6 Hz, H_2-2), 1.65-1.25 (CH_2), 0.89 (*t*, *J* = 6.7 Hz, H_3-18). A mixture of the methyl ester (100 μg) and TMS-HT (30 μL) was heated at 75°C for 1.5 h, and then the mixture was cooled to room temperature. Hexane (60 μL) and water (60 μL) were added to the reaction mixture and a part of the hexane layer was analyzed by GLC to confirm the absence of homologous compounds. TMS ether of **SG-1a**: EIMS *m/z*: 386 $[M]^+$ (3), 371 $[M–Me]^+$ (10), 355 $[M–MeO]^+$ (16), 315 (92), 286 (14), 173 (100), 153 (35), 136 (34), 73 (40).

The methyl ester (200 μg) was treated with (*R*)-MTPACl (1.0 μL) in pyridine (30 μL) to give the (*S*)-MTPA ester in a quantitative yield. Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 531 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 7.84-7.48 (*m*), 5.09 (*m*, H-13), 3.67 (*s*, $COOCH_3$), 3.46 (*s*, OCH_3), 2.31, (*t*, *J* = 7.5 Hz, H_2-2), 1.52-1.19 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.6 Hz, H_3-18). The (*R*)-MTPA ester was similarly prepared using (*S*)-MTPACl. Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 531 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 7.84-7.48 (*m*), 5.09 (*m*, H-13), 3.67 (*s*, $COOCH_3$), 3.46 (*s*, OCH_3), 2.31, (*t*, *J* = 7.5 Hz, H_2-2), 1.52-1.19 (*m*), 0.84 (*t*, *J* = 6.8 Hz, H_3-18).

Compound **SG-1** (2 mg) was treated with Ac_2O and pyridine at room temperature overnight.

Extractive workup gave a crude product which was purified by PTLC (hexane-AcOEt, 3:1) to afford per-acetyl derivative (**SG-1b**) (2.1 mg, 97% yield): Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 570 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.19 (*t*, *J* = 9.2 Hz, H-3′), 5.08 (*t*, *J* = 9.2 Hz, H-4′), 5.00 (*dd*, *J* = 9.2, 8.0 Hz, H-2′), 4.64 (*d*, *J* = 8.0 Hz, H-1′), 4.23 (*dd*, *J* = 12.1, 5.1 Hz, Ha-6′), 4.13 (*dd*, *J* = 12.1, 2.2 Hz, Hb-6′), 3.84 (*m*, H-13), 3.66 (*m*, H-5′), 2.28 (*t*, *J* = 7.0 Hz, H_2-2), 2.08 (*s*, Ac), 2.02 (*s*, Ac), 1.99 (*s*, Ac), 1.70-1.20 (CH_2), 0.91 (*t*, 6.8 Hz, H_3-18); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 172.2, 170.7, 170.5, 169.5, 96.5, 76.8, 73.3, 71.8, 71.4, 68.8, 62.3, 33.2, 32.7, 32.1, 31.5, 28.1, 27.6, 26.8, 26.7, 26.6, 25.1, 23.7, 22.8, 22.6, 20.8, 20.7, 20.6, 14.1.

Gallicaside B (SG-2)

Colorless oil; HRFABMS *m/z*: 529.3378 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{28}H_{49}O_9$, 529.3377); $[\alpha]_D^{24}$ –35.7 (*c* = 1.4, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1440, 1390, 1190, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-1 and 3-2, respectively.

Methyl 12(*R*)-hydroxyoctadecanoate **SG-2a** (Cymerman-Craig and Roy, 1965; Tulloch, 1978) was obtained from **SG-2** in the same manner as described for **1**. (+)-FABMS *m/z*: 314 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 3.67 (*s*, OMe), 3.59 (*m*, H-12), 2.30 (*t*, *J* = 7.6 Hz, H_2-2), 1.65-1.25 (CH_2), 0.89 (3H, *t*, *J* = 6.7 Hz, H_3-18). The methyl ester (100 μg) was converted to the corresponding TMS ether in the same manner as described for **SG-1** and was analyzed by GLC and EIMS. TMS ether of **SG-2a**: EIMS *m/z*: 386 $[M]^+$ (2), 371 $[M–Me]^+$ (6), 355 $[M–MeO]^+$ (10), 301 (100), 272 (12), 187 (90), 149 (35), 129 (11), 73 (52).

The methyl ester was converted to the (*S*)- and (*R*)-MTPA esters in the same manner as described for **SG-1a**. The (*S*)-MTPA ester: Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 531 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 7.84–7.48 (*m*), 5.08 (*m*, H-12), 3.67 (*s*, $COOCH_3$), 3.46 (*s*, OCH_3), 2.31, (*t*, *J* = 7.5 Hz, H_2-2), 1.52–1.19 (*m*), 0.88 (*t*, *J* = 6.8 Hz, H_3-18). The (*R*)-MTPA ester: Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 531 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 7.84–7.48 (*m*), 5.08 (*m*, H-12), 3.67 (*s*, $COOCH_3$), 3.46 (*s*, OCH_3), 2.31, (*t*, *J* = 7.5 Hz, H_2-2), 1.52-1.19 (*m*), 0.86 (*t*, *J* = 6.9 Hz, H_3-18).

Compound **SG-2** (3 mg) was treated with Ac_2O and pyridine at room temperature overnight. Extractive workup gave a crude product, which was purified by PTLC (hexane-AcOEt, 3:1) to afford per-acetyl derivative (**SG-2b**) (3.1 mg, 96% yield): Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 570 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.21 (*t*, *J*=9.3 Hz, H-3′), 5.08 (*t*, *J*=9.3 Hz, H-4′), 5.03 (*dd*, *J*=9.3, 7.9 Hz, H-2′), 4.69 (*d*, *J*=7.9 Hz, H-1′), 4.22 (*dd*, *J*=12.2, 5.3 Hz, Ha-6′), 4.13 (*dd*, *J*=12.2, 2.1 Hz, Hb-6′), 3.89 (*m*, H-12), 3.66 (*m*, H-5′), 2.28 (*t*, *J*=7.0 Hz, H_2-2), 2.07 (*s*, Ac), 2.02 (*s*, Ac), 1.99 (*s*, Ac), 1.70-1.20 (CH_2), 0.90 (*t*, 6.8 Hz, H_3-18); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 172.4, 170.6, 170.4, 169.4, 95.6, 75.5, 73.4, 71.8, 71.4, 68.9, 62.3, 33.6, 32.3, 31.8, 31.6, 29.6, 27.3, 26.7, 26.0, 26.0, 25.0, 24.2, 23.8, 22.7, 22.3, 20.7, 20.6, 20.6, 14.1.

Gallicaside C (SG-3)

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 529.3390 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{28}H_{49}O_9$, 529.3377); $[\alpha]_D^{24}$ –51.5

(c = 0.4, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1440, 1390, 1190, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-1 and 3-2, respectively. The acetate derivative that was prepared from **SG-3** was identified as **SG-1b**. The hydroxy-fatty acid methyl ester that was obtained from **SG-3** was identified as **SG-1a**.

Gallicaside D (SG-4)

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 529.3380 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{28}H_{49}O_9$, 529.3377); $[\alpha]_D^{24}$ –54.0 (c = 1.3, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1440, 1390, 1190, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-1 and 3-2, respectively. The acetate derivative that was prepared from **SG-4** was identified as **SG-2b**. The hydroxy-fatty acid methyl ester that was obtained from **SG-4** was identified as **SG-2a**.

Gallicaside E (SG-5)

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 487.3307 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{26}H_{47}O_8$, 487.3271); $[\alpha]_D^{24}$ –50.2 (c = 1.5, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1440, 1390, 1190, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-1 and 3-2, respectively. The acetate derivative that was prepared from **SG-5** was identified as **SG-2b**. The hydroxy-fatty acid methyl ester that was obtained from **SG-5** was identified as **SG-2a**.

Gallicaside F (SG-6)

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 487.3260 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{26}H_{47}O_8$, 487.3271); $[\alpha]_D^{24}$ –52.5 (c = 0.2, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1440, 1390, 1190, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Table 3-1 and 3-2, respectively. The acetate derivative that was prepared from **SG-6** was identified as **SG-1b**. The hydroxy-fatty acid methyl ester that was obtained from **SG-6** was identified as **SG-1a**.

Gallicaside G (SG-7)

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 487.3298 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{26}H_{47}O_8$, 487.3271); $[\alpha]_D^{24}$ –66.8 (c = 1.0, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1440, 1390, 1190, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-1 and 3-2, respectively. The acetate derivative that was prepared from **SG-7** was identified as **SG-2b**. The hydroxy-fatty acid methyl ester that was obtained from **SG-7** was identified as **SG-2a**.

Gallicaside H (SG-8)

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 467.3006 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{24}H_{44}O_7Na$, 467.2985); $[\alpha]_D^{24}$ –51.5 (c = 0.4, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1440, 1100, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-1 and 3-2, respectively. The acetate derivative that was prepared from **SG-8** was identified as **SG-2b**. The hydroxy-fatty acid methyl ester that was obtained

from **SG-8** was identified as **SG-2a**.

A mixture of SG-9 and SG-10

Colorless oil; (–)-HRFABMS *m/z*: 571.3118 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{29}H_{47}O_{11}$, 571.3118). The ^1H NMR spectrum recorded in $CDCl_3$ gave only broad signals, but the following resonances were observed: δ 5.11 (*m*, H-3′), 4.91 (*m*, H-2′), 4.75 (*m*, H-1′), 4.41 (*m*, Ha-6′), 4.27 (*m*, Hb-6′), 3.88 (*m*, H-12 or 13), 3.67 (*m*, H-4′), 3.64 (*m*, H-5′), 3.38 (*m*, Ha-2″), 3.28 (*m*, Hb-2″). The ^1H NMR spectrum recorded in $CDCl_3$-CD_3OD (9:1) exhibited sharp signals, several of which resonated as pairs of signals in a 1:5 ratio. **SG-9**: ^1H NMR (signals of lower intensities) δ: 5.06 (*t*, J = 9.5 Hz, H-3′), 4.89 (*dd*, J = 9.5, 7.9 Hz, H-2′), 4.66 (*d*, J = 7.9 Hz, H-1′), 4.43 (*brd*, J = 11.8 Hz, Ha-6′), 4.23 (*dd*, J = 11.8, 6.0 Hz, Hb-6′), 3.84 (*m*, H-12), 3.64 (*t*, J = 9.5 Hz, H-4′), 3.58 (*m*, H-5′), 3.37 (*m*, H_2-2″), 2.30 (*m*, H_2-2), 2.09 (*s*, Ac), 1.70–1.20 (CH_2), 0.89 (*t*, J = 6.8 Hz, H_3-18). **SG-10**: ^1H NMR (signals of higher intensities) δ: 5.09 (*t*, J = 9.5 Hz, H-3′), 4.93 (*dd*, J = 9.5, 7.9 Hz, H-2′), 4.71 (*d*, J = 7.9 Hz, H-1′), 4.43 (*brd*, J = 11.8 Hz, Ha-6′), 4.23 (*dd*, J = 11.8, 6.0 Hz, Hb-6′), 3.88 (*m*, H-12), 3.64 (*t*, J = 9.5 Hz, H-4′), 3.58 (*m*, H-5′), 3.37 (*m*, H_2-2″), 2.30 (*m*, H_2-2), 2.09 (*s*, Ac), 1.70–1.20 (CH_2), 0.89 (*t*, J = 6.8 Hz, H_3-18).

A part of the mixture (30 mg) was treated with ethereal diazomethane, and the resulting methyl ester mixture was separated by HPLC (solvent, CH_3CN–H_2O, 8:1; flow rate, 1.0 mL/min) to give **SG-9a** (4.2 mg) and **SG-10a** (22.3 mg) at 13.9 and 15.1 min, respectively.

Methyl ester of gallicaside I (SG-9a)

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 609.3291 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{30}H_{50}O_{11}Na$, 609.3251); $[\alpha]_D^{24}$ –35.0 (*c* = 0.3, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1715, 1460, 1440, 1310, 1210, 1170, 1110, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-1 and 3-2, respectively. The hydroxy-fatty acid methyl ester that was obtained from **SG-9a** was identified as **SG-1a**.

Methyl ester of gallicaside J (SG-10a)

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 587.3466 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{51}O_{11}$, 587.3432); $[\alpha]_D^{24}$ –47.2 (*c*=2.4, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3600, 2910, 2850, 1720, 1715, 1460, 1440, 1310, 1210, 1170, 1110, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-1 and 3-2, respectively. The hydroxy-fatty acid methyl ester that was obtained from **SG-10a** was identified as **SG-2a**.

3-2. *Cerastium glomeratum*

Plant material

The flowering shoots of *Cerastium glomeratum* (Caryophyllaceae) were collected in May 2010 in Kawasaki city in Kanagawa prefecture. The plant was identified by Prof. S. Kohshima, Department of Biological Sciences, Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology. A voucher specimen (CMS2202) was deposited in the Department of Chemistry and

Materials Science, Tokyo Institute of Technology.

Extraction and isolation

The flowering shoots of *Cerastium glomeratum* (fresh wt. 400 g) were briefly (ca. 10 sec) rinsed in a beaker containing Et_2O (1.5 L), and the Et2O solution was filtered and concentrated to dryness under reduced pressure. The residue (788 mg) was subjected to silica gel (80 g) CC. The column was eluted with a discontinuous gradient of hexane–EtOAc (10:1→EtOAc alone, total volume 1.4 L) and AcOEt–MeOH (50:1→3:1, total volume 450 mL), and the fractions (50 mL each, total 36 fractions) were combined to give a non-polar fraction (152 mg, frs.1–7, eluted with hexane–EtOAc, 10:1→1:1, the major substance was identified as a mixture of hydrocarbons) and six Fr. O-I–VI according to the TLC profile: Fr.O-1 (70 mg, Frs.18-20, a mixture of **CG-1**, **2** and **3**, eluted with hexane–EtOAc, 1:1), Fr. O-2 (159 mg, a mixture of **CG-4** and **CG-5**, Frs. 21–22, eluted with hexane–EtOAc, 1:2), Fr. O-3/4 (222 mg, Frs. 23–27, eluted with hexane–EtOAc, 1:2), Fr. O-5 (54 mg, a mixture of **CG-11** and **CG-12**, Frs. 28–33, eluted with EtOAc-MeOH, 5:1), Fr. O-6 (22 mg, a mixture of **CG-13** and **CG-14**, Frs. 34–36, eluted with EtOAc–MeOH, 5:1→3:1). The Fr. O-3/4 was further separated by silica gel CC with increasing polarity of hexane-EtOAc to give Fr. O-3 (195 mg, a mixture of **CG-6**, **7** and **8**, eluted with hexane–EtOAc, 1:2) and Fr. O-4 (23 mg, a mixture of **CG-9** and **CG-10**, eluted with EtOAc). A part of Fr. O-1 (21 mg) was further separated by HPLC (MeOH–H_2O, 20:1; flow rate, 1.0 mL/min) to afford **CG-1** (6.8 mg), **CG-2** (11.1 mg) and **CG-3** (6.8 mg) at 12.4, 12.8 and 13.3 min, respectively. A part of Fr. O-2 (10 mg) was further separated by HPLC (Shim-pack CLC-ODS, 15 cm x 4.6 mm i.d.; MeOH–H_2O, 20:1; flow rate, 1.0 mL/min, UV detection at 215 nm) to afford **CG-4** (7.8 mg) and **CG-5** (1.7 mg) at 13.9 and 14.7 min, respectively. A part of Fr. O-3 (18 mg) was further separated by HPLC (MeOH–H_2O, 20:1; flow rate, 1.0 mL/min) to afford **CG-6** (3.6 mg), **CG-7** (6.0 mg) and **CG-8** (4.4 mg) at 12.4, 12.8 and 13.4 min, respectively.

A part of Fr. O-4 (12 mg) in ether (100 μL) and MeOH (40 μL) was treated with $TMSCHN_2$ in hexane (0.6 M solution, 40 μL) at room temperature for 30 min. Removal of the solvent by flushing N_2 followed by purification by silica gel CC (eluted with hexane-EtOAc 2:1) yielded a mixture of the methyl esters **CG-9m** and **CG-10m** (11 mg). A part of Fr. O-5 (10 mg) was similarly converted to a mixture of the methyl esters **CG-11m** and **CG-12m** (9.0 mg). A part of Fr. O-6 (14 mg) was dissolved in EtOAc (200 μL) and ethereal CH_2N_2 was added until the yellow color persisted. Removal of the solvent by flushing N_2 followed by purification by silica gel CC (eluted with hexane-EtOAc 1:1) yielded a mixture of the methyl esters **CG-13m** and **CG-14m** (11 mg). The mixture of the methyl esters **CG-9m** and **CG-10m** (10 mg) was separated by HPLC (MeOH–H_2O, 20:1; flow rate, 1.0 mL/min) to afford **CG-9m** (7.4 mg) and **CG-10m** (1.8 mg) at 13.4 and 14.0 min, respectively. The mixture of the methyl esters **CG-11m** and **CG-12m** (17 mg) was separated by HPLC (MeOH–H_2O, 20:1; flow rate, 1.0 mL/min) to afford **CG-11m** (12 mg) and **CG-12m** (1.8 mg) at 15.3 and 15.9 min, respectively. The mixture of the methyl esters **CG-13m** and **CG-14m** (10.0 mg) was separated by HPLC (MeOH–H_2O, 20:1; flow rate, 1.0 mL/min) to afford **CG-13m** (5.7 mg) and **CG-14m** (2.0 mg)

at 11.8 and 12.3 min, respectively.

*Glomeraside A (**CG-1**)*

Colorless oil; HRFABMS *m/z*: 543.3894 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{55}O_8$, 543.3897); $[\alpha]_D^{25}$ –9.2 (*c* = 0.4, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

A solution of **CG-1** (3 mg) in DME (0.2 mL) was added to a solution of LiOH (2.5 mg) in water (50 μL), and the mixture was stirred at room temperature for 48 h. 2 N HCl was added and the mixture was partitioned between $CHCl_3$ and H_2O. Concentration of the $CHCl_3$ layer gave the glucosyloxy-fatty acid. A mixture of the material and 2N HCl (0.1 mL) was heated at 80°C for 1day and then was cooled to room temperature. The reaction mixture was partitioned between ether and water. The aqueous layer was concentrated and glucose was identified by TLC and GLC (in the form of TMS ether) as reported in our previous paper (Asai et al., 2009).

The ether layer was concentrated, and the resulting material was treated with excess ethereal diazomethane to give methyl 11(*R*)-hydroxydocosanoate **CG-15** (1.3 mg) after PTLC purification (hexane-EtOAc, 6:1). Amorphous; (+)-FABMS *m/z*: 371 $[M+H]^+$; EIMS *m/z*: 352 ($[M-H_2O]^+$, 1), 339 ($[M-MeO]^+$, 2), 320 ($[M-H_2O-MeO]^+$, 10), 215 (C-11/C-12 cleavage, 42), 186 (C-10/C-11 cleavage+H, 45), 183 (C-10/C-11 cleavage–H2, 42), 143 (23), 87 (42); ^1H NMR ($CDCl_3$) δ : 3.67 (*s*, OMe), 3.59 (m, H-11), 2.30 (*t*, *J* = 7.6 Hz, H_2-2), 1.65-1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, *J* = 7.8 Hz, H_3-22).

A mixture of a part of **CG-15** (0.3 mg) and TMS-HT (30 μL) was heated at 75°C for 1.5 h, and then cooled to room temperature. Hexane (100 μL) and water (100 μL) were added to the reaction mixture and a part of the hexane layer was analyzed by GLC and EIMS. EIMS of TMS derivative of 15: *m/z* 427 ($[M-Me]^+$, 9), 411 ($[M-MeO]^+$, 10), 395 (28), 287 (C-11/C-12 cleavage, 100), 257 (C-10/C-11 cleavage, 100), 129 (31), 73 (65), 57 (36).

CG-1 (2.2 mg) was treated with Ac_2O (20 μL) and pyridine (40 μL) at room temperature overnight. Removal of solvent by flushing with N_2 gave a crude product which was purified by PTLC (hexane-AcOEt, 3:1) to afford per-acetyl derivative **CG-1a** (2.5 mg): Colorless oil; $[\alpha]_D^{25}$ –1.0 (*c* = 0.22, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) *ν* max 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 cm–1; (+)-HRFABMS *m/z*: 649.3950 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{34}H_{58}O_{10}Na$, 649.3928); ^1H NMR δ : 0.88 (*t*, *J* = 6.9 Hz, H_3-22), 1.42-1.20 (*m*), 1.46 (*m*, H_2-10, H_2-12), 1.63 (*m*, Ha-3), 1.75 (*m*, Hb-3), 2.00 (*s*, H_3-Ac), 2.02 (*s*, H_3-Ac), 2.03 (*s*, H_3-Ac), 2.37 (*m*, H2-2), 3.56 (*m*, H-11), 3.69 (*ddd*, *J* = 7.2, 4.8, 1.8 Hz, H-5′), 4.09 (*dd*, *J* = 12.3, 4.6 Hz Ha-6′), 4.15 (*dd*, *J* = 12.3, 1.9 Hz Hb-6′), 4.53 (*d*, *J* = 8.0 Hz, H-1′), 4.98 (*dd*, *J* = 9.7, 8.0 Hz, H-2′), 5.10 (*dd*, *J* = 9.7 Hz, H-4′), 5.20 (*dd*, *J* = 9.6 Hz, H-3′), ^{13}C NMR δ : 14.11, 20.64, 20.65, 20.68, 22.68, 24.33, 24.35, 25.10, 26.88, 27.29, 27.52, 27.64, 28.14, 29.34, 29.61, 29.65, 29,65, 29.68, 29.93, 31.90, 34.12, 34.44, 34.60, 62.22, 68.28, 71.46, 71.77, 73.14, 80.85, 100.34, 169.28, 169.31, 170.43, 173.94.

*Glomeraside B (**CG-2**)*

Colorless oil; HRFABMS *m/z*: 543.3919 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{55}O_8$, 543.3897); $[\alpha]_D^{25}$ –6.3 (*c* = 1.1, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

Methyl 10(*R*)-hydroxydocosanoate **16** (0.8 mg) was obtained from 2 (2.0 mg) in the same manner as described for **CG-1**. (+)-FABMS *m/z*: 371 $[M+H]^+$; EIMS *m/z*: 352 ($[M–H_2O]^+$, (1), 339 ($[M–MeO]^+$ (2), 320 ($[M–H_2O–MeO]^+$ (10), 201 (C-10/C-11 cleavage) (53), 172 (C-9/C-10 cleavage+H) (46), 169 (C-9/C-10 cleavage–H_2) (100), 143 (14), 87 (42), 55(24); ^1H NMR (CDCl3) δ : 3.67 (*s*, OMe), 3.59 (*m*, H-10), 2.30 (*t*, *J* = 7.6 Hz, H_2-2), 1.65-1.25 (CH_2), 0.88 (3H, *t*, *J* = 6.7 Hz, H_3-18). A part of **CG-16** (0.1 mg) was converted to the corresponding TMS ether in the same manner as described for **CG-15** and was analyzed by GLC and EIMS. EIMS of TMS derivative of 16: *m/z* 427 ($[M-Me]^+$ (4), 411 ($[M–MeO]^+$) (10), 395 (6), 273 (C-10/C-11 cleavage, 100), 271 (C-9/C-10 cleavage) (100), 129 (12), 73 (29), 57 (39).

CG-2 (2.2 mg) was converted to the corresponding acetate **CG-2a** (2.4 mg) as described for **CG-1**: Colorless oil; $[\alpha]_D^{25}$ –5.0 (*c* = 0.24, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν max 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 cm^{-1}; HRFABMS *m/z*: 649.3906 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{34}H_{58}O_{10}Na$, 649.3928); ^1H NMR ($CDCl_3$) δ : 0.88 (t, J = 6.9 Hz, H3-22), 1.37-1.20 (m), 1.42 (m, H2-9, H2-11), 1.65 (m, Ha-3), 1.71 (m, Hb-3), 2.01 (s, Ac), 2.03 (s, Acx2), 2.37 (m) 3.58 (m, H-10), 3.69 (ddd, J = 7.5, 5.1, 2.0 Hz, H-5′), 3.97 (dd, J = 12.2, 5.5 Hz, H-6′), 4.23 (dd, J = 12.1, 1.9 Hz, H-6′), 4.57 (d, J = 8.0 Hz, H-1′), 4.98 (dd, J = 9.7, 8.0 Hz, H-2′), 5.07 (dd, J = 9.7 Hz, H-4′), 5.21 (dd, J = 9.7 Hz, H-3′); ^{13}C NMR δ :14.13, 20.66x2, 20.70, 22.69, 23.66, 24.37, 25.05, 26.21, 26.59, 27.00, 27.09, 29.36, 29.65, 29.67 (x3), 29.71, 29.90, 31.92, 33.82, 34.01, 34.36, 62.28, 68.59, 71.26, 71.83, 73.18, 80.20, 100.24, 169.30, 169.37, 170.45, 173.91.

*Glomeraside C (**CG-3**)*

Colorless oil; (+)HRFABMS *m/z*: 543.3807 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{55}O_8$, 543.3897); $[\alpha]_D^{25}$ +1.17 (*c* = 0.68, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

Methyl 9(*R*)-hydroxyoctadecanoate **CG-17** (0.8 mg) was obtained from **CG-3** (2.0 mg) in the same manner as described for **CG-1**. **CG-17**: (+)-FABMS *m/z*: 371 $[M+H]^+$; EIMS *m/z*: 352 ($[M–H_2O]^+$ (1), 339 ($[M–MeO]^+$ (2), 320 ($[M–H2O–MeO]^+$ (10), 187 (C-9/C-10 cleavage) (45), 158 (C-8/C-9 cleavage+H) (45), 155 (C-8/C-9 cleavage–H_2) (100), 87 (30), 55 (20); ^1H NMR ($CDCl_3$) δ : 3.67 (*s*, OMe), 3.59 (*m*, H-9), 2.30 (*t*, *J* = 7.6 Hz, H_2-2), 1.65-1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, *J* = 7.8 Hz, H_3-22). The methyl ester **CG-17** (0.1 mg) was converted to the corresponding TMS ether in the same manner as described for **CG-15** and analyzed by GLC and EIMS. EIMS of TMS derivative of **CG-17**: *m/z* 427 ($[M-Me]^+$ (9), 411 ($[M–MeO]^+$ (12), 395 (12), 285 (C-9/C-10 cleavage) (100), 259 (C-8/C-9 cleavage) (100), 129 (28), 73 (55), 57 (53).

CG-3 (3.0 mg) was converted to the corresponding acetate **CG-3a** (3.2 mg) as described for compound 1. Colorless oil; $[\alpha]_D^{25}$ –18.1 (*c* = 0.21, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν max 3590, 3440, 2930,

2860, 1720 cm^{-1}; (+)-HRFABMS *m/z*: 649.3953 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{34}H_{59}O_{10}$, 649.3928); ^1H NMR δ : 0.88 (*t*, *J* = 6.9 Hz, H_3-22), 1.36-1.20 (*m*), 1.41 (*m*, H_2-8, H2-10), 1.60 (*m*, Ha-3), 1.70 (*m*, Hb-3), 2.00 (*s*, Ac), 2.03 (*s*, Ac), 2.04 (*s*, Ac), 2.39 (*t*, *J* = 6.0 Hz, H_2-2′), 3.50 (*m*, H-9), 3.79 (*ddd*, *J* = 10.0, 7.2, 2.7 Hz, H-5′), 4.08 (*dd*, *J* = 12.1, 7.2 Hz, H-6′), 4.12 (*dd*, *J* = 12.1, 2.6 Hz, H-6′), 4.54 (*d*, *J* = 8.0 Hz, H-1′), 4.95 (*dd*, *J* = 9.8 Hz, H-4′), 4.96 (*dd*, *J* = 9.8, 8.0 Hz, H-2′), 5.21 (*dd*, *J* = 9.6 Hz, H-3′); ^{13}C NMR δ : 14.11, 20.63 (x2), 20.68, 22.68, 23.25, 24.42, 25.38, 26.90, 27.17, 27.54, 29.35, 29.65 (x4), 29.68 (x2), 29.87, 31.91, 34.25 (x2), 35.24, 62.28, 69.01, 71.54, 71.85, 72.99, 82.57, 100.86, 169.19, 169.46, 170.37, 173.77.

Glomeraside D ***(CG-4)***

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 543.3881 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{55}O_8$, 543.3897); $[\alpha]_D^{25}$ –26.1 (*c* = 1.1, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 $^{cm-1}$; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

CG-4 (2.0 mg) was converted to the per-acetate (2.1 mg) in the same manner as described for **CG-1**. The per-acetate was identified with **CG-1a** by ^1H and ^{13}C NMR, FABMS and HPLC. HPLC identification of the per-acetate with **CG-1a** was carried out as follows. The per-acetates **CG-1a**, **2a** and **3a** could not be separated with routine ODS columns (either MeOH-H_2O or CH_3CN-H_2O as an elution solvent), but separated with the use of Inertsil ODS-P column, 15 cm x 4.6 mn i.d. (GL Science Inc.); solvent, CH_3CN; flow rate, 0.8 L/min; UV detection at 215 nm). Retention times for **CG-1a**, **2a** and **3a** were 9.43, 10.05 and 10.80 min, respectively.

Glomeraside E ***(CG-5)***

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 543.3901 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{55}O_8$, 543.3897); $[\alpha]_D^{25}$ –21.3 (*c* = 0.15, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

CG-5 (1.7 mg) was converted to the corresponding per-acetate (1.8 mg) in the same manner as described for **CG-1**. The per-acetate was identified as **CG-2a** (^1H and ^{13}C NMR, FABMS, HPLC).

Glomeraside F ***(CG-6)***

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 501.3804 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{28}H_{53}O_7$, 501.3791); $[\alpha]_D^{25}$ –27.8 (*c* = 0.36, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 1 and 2, respectively.

CG-6 (1.8 mg) was converted to the corresponding per-acetate (2.0 mg) in the same manner as described for **CG-1**. The per-acetate was identified as **CG-1a** (^1H and ^{13}C NMR, FABMS, HPLC).

Glomeraside G ***(CG-7)***

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 501.3825 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{28}H_{53}O_7$, 501.3791); $[\alpha]_D^{25}$ –25.5 (*c* = 0.60, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR

spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

Compound **CG-7** (2.1 mg) was converted to the corresponding acetate (2.2 mg) in the same manner as described for **CG-1**. The resulting acetate was identified as **CG-2a**.

*Glomeraside H (**CG-8**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 501.3782 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{28}H_{53}O_7$, 501.3791); $[\alpha]_D^{25}$ –16.0 (*c* = 0.44, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3590, 3440, 2930, 2860, 1720 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

CG-8 (2.2 mg) was converted to the corresponding acetate (2.4 mg) in the same manner as described for **CG-1**. The resulting acetate was identified as **CG-3a** (^1H and ^{13}C NMR, FABMS, HPLC).

*Glomeraside I methyl ester (**CG-9m**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 643.4080 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{34}H_{59}O_{11}$, 643.4057); $[\alpha]_D^{25}$ –17.2 (*c* = 0.29, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3500, 2930, 2860, 1760, 1720 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

CG-9m (3.0 mg) was converted to a hydroxy-fatty acid methyl ester, which was identified with methyl 11(*R*)-hydroxydocosanoate **CG-15** (1.1 mg) by TLC, EIMS of TMS ether derivative and ^1H NMR of (R)-ACC ester.

CG-9m (2.5 mg) was converted to the corresponding acetate **CG-9a** (2.7 mg) in the same manner as described for **CG-1**. **CG-9a**: Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 685.4143 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{36}H_{61}O_{12}$, 685.4163); $[\alpha]_D^{25}$ –5.9 (*c* = 0.34, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 2930, 2860, 1750 cm^{-1}; ^1H NMR δ : 0.88 (*t*, *J* = 7.0 Hz, H_3-22), 1.41-1.20 (*m*), 1.47 (*m*, H_3-10, H_2-12), 1.63 (*m*, Ha-3), 1.76 (*m*, Hb-3), 2.02 (*s*, Ac), 2.04 (*s*, Ac), 2.32 (*ddd*, *J* = 14.5, 9.0, 4.0 Hz, Ha-2), 2.43 (*ddd*, *J* = 14.5, 8.0, 4.5 Hz, Hb-2), 3.34 (*s*, H-2″), 3.56 (*m*, H-11), 3.69 (*m*, H-5′), 3.72 (*s*, OMe), 4.09 (*dd*, *J* = 12.0, 4.5 Hz, Ha-6′), 4.16 (*dd*, *J* = 12.0, 2.0 Hz, Hb-6′), 4.54 (*d*, *J* = 8.0 Hz, H-1′), 5.03 (*dd*, *J* = 9.5, 8.0 Hz, H-2′), 5.10 (t, J = 9.5 Hz, H-4′), 5.23 (t, J = 9.5 Hz, H-3′); ^{13}C NMR δ : 14.10, 20.60, 20.62, 22.68, 24.34 (x2), 25.20, 26.89, 27.32, 27.53, 27.66, 28.14, 29.35, 29.62, 29.67 (x3), 29.89, 31.90, 34.09, 34.38, 34.53, 41.08, 52.55, 62.16, 68.37, 71.56, 72.43, 72.61, 80.76, 99.99, 164.73, 166.29, 169.31, 170.44, 173.90.

*Glomeraside J methyl ester (**CG-10m**)*

Colorless oil; (–)-HRFABMS *m/z*: 643.4030 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{34}H_{59}O_{11}$, 643.4057); $[\alpha]_D^{25}$ –13.3 (*c* = 0.07, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν max 3500, 2930, 2860, 1760, 1720 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

CG-10m (1.7 mg) was converted to the corresponding acetate **CG-10a** (1.7 mg) in the same manner as described for **CG-1**. **CG-10a**: Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 685.4176 [M+H]+ (calcd for $C_{36}H_{61}O_{12}$, 685.4163); $[\alpha]_D^{25}$ –0.0 (c = 0.15, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 2930, 2860, 1750 cm^{-1}; ^1H

NMR δ : 0.88 (*t*, *J* = 7.0 Hz, H_3-22), 1.36-1.20 (*m*), 1.43 (*m*, H_3-9, H_2-11), 1.65 (*m*, Ha-3), 1.70 (*m*, Hb-3), 2.03 (*s*, Ac), 2.04 (*s*, Ac), 2.36 (*m*, H_2-2), 3.34 (*s*, H-2"), 3.59 (*m*, H-10), 3.69 (*m*, H-5'), 3.72 (*s*, OMe), 3.97 (*dd*, *J* = 12.0, 5.5 Hz, Ha-6'), 4.24 (*dd*, *J* = 12.0, 2.0 Hz, Hb-6'), 4.57 (*d*, *J* = 8.0 Hz, H-1'), 5.03 (*dd*, *J* = 9.5, 8.0 Hz, H-2'), 5.07 (*t*, *J* = 9.5 Hz, H-4'), 5.23 (*t*, *J* = 9.5 Hz, H-3'); ^{13}C NMR δ : 14.11, 20.62 (x2), 22.68, 23.67, 24.37, 25.14, 26.27, 26.58, 27.00, 27.11, 29.35, 29.65, 29.67, 29.68 (x3), 29.86, 31.92, 33.85, 33.96, 34.29, 41.08, 52.56, 62.19, 68.66, 71.33, 72.47, 72.65, 80.00, 99.82, 164.74, 166.31, 169.36, 170.46, 173.87.

CG-10a (1.6 mg) was converted to a hydroxy-fatty acid methyl ester (0.5 mg), which was identified with methyl 10(*R*)-hydroxydocosanoate **CG-16** by TLC, EIMS of TMS ether derivative and ^{1}H NMR of (*R*)-ACC ester.

*Glomeraside K methyl ester (**CG-11m**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 643.4069 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{34}H_{59}O_{11}$, 643.4057); $[\alpha]_D^{25}$ –24.7 (*c* = 0.60, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3500, 2930, 2860, 1720 cm^{-1}; ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively. The hydroxy-fatty acid methyl ester obtained from **11m** was identified as 15.

CG-11m (3.0 mg) was converted to a hydroxy-fatty acid methyl ester, which was identified with methyl 11(*R*)-hydroxydocosanoate **CG-15** (1.1 mg) by TLC, EIMS of TMS ether derivative and ^{1}H NMR of (*R*)-ACC ester.

*Glomeraside L methyl ester (**CG-12m**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 643.4086 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{34}H_{59}O_{11}$, 643.4057); $[\alpha]_D^{25}$ –36.7 (*c* = 0.03, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3500, 2930, 2860, 1760, 1720 cm^{-1}; ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

CG-12m (1.7 mg) was converted to a hydroxy-fatty acid methyl ester (0.5 mg), which was identified with methyl 10(*R*)-hydroxydocosanoate **CG-15** (1.1 mg) by TLC, EIMS of TMS ether derivative and ^{1}H NMR of (R)-ACC ester.

*Glomeraside M methyl ester (**CG-13m**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 601.3933 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{32}H_{57}O_{10}$, 601.3952); $[\alpha]_D^{25}$ –16.9 (*c* = 0.32, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3580, 3500, 2930, 2930, 2860, 1760, 1720 cm^{-1}; ; ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

CG-13m (2.0 mg) was converted to the corresponding acetate (1.7 mg) in the same manner as described for **CG-1**, which was identified with **CG-9a** by ^{1}H and ^{13}C NMR, FABMS and HPLC. HPLC identification of the per-acetate with **CG-9a** was carried out as follows. The per-acetates **CG-9a** and **CG-10a** were separated with the use of Inertsil ODS-P column (GL Science Inc., 4.6 x 15 cm). Retention times for **CG-9a** and **10a** were 9.95 and 10.52 min, respectively, CH_3CN-H_2O 40:1, at a flow rate of 0.8 L/min).

*Glomeraside N methyl ester (**CG-14m**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 601.3941 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{32}H_{57}O_{10}$, 601.3952); $[\alpha]_D^{25}$ –11.1 (*c* = 0.17, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν_{max} 3580, 3500, 2930, 2930, 2860, 1760, 1720 cm–1; ; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 3-3 and 3-4, respectively.

Compound **CG-14m** (2.0 mg) was converted to the corresponding acetate (1.7 mg) in the same manner as described for **CG-1**, which was identified with **CG-10a** by ^1H and ^{13}C NMR, FABMS, HPLC.

*Determination of the configuration at the oxymethine center of methyl 11-, 10-, and 9-hydroxydocosanoates **CG-15, 16 and 17***

The methyl ester **CG-15** (0.5 mg) was treated with (*R*)-ACC acid (3 mg), EDC (6 mg) and dimethylaminopyridine (0.5 mg) in CH_3CN (50 μL)-toluene (50 μL) for two days at room temperature. After removal of the solvent by flushing with nitrogen, the product was purified by p-TLC (developing solvent: $CHCl_3$-hexane 1:3) to yield the oily (*R*)-ACC derivative **CG-15b** in good yield. Reaction of **CG-15** with the (*S*)-ACC acid in place of (*R*)-ACC acid gave (*S*)-ACC derivative **CG-15c**. Compounds **CG-16** and **17** were similarly converted to the corresponding derivatives **CG-16b** and **16c**, and **17b** and **17c**. **CG-6b**: (+)-FABMS *m/z*: $[M+H]^+$; ^1H-NMR δ : 8.62 (2H, *s*), 8.47 (2H, *s*), 8.08 ((2H, *m*), 7.61 (2H, *m*), 4.73 (1H, *m*), 4.48 (1H, *td*, 12.0, 3.5 Hz), 3.67 (3H, *s*, OCH_3), 3.56 (1H, *td*, 12.0, 3.5 Hz), 2.20 (2H, *t*, *J* = 7.5 Hz, H2-2), 2.18 (1H, *m*), 1.87 (2H, *m*), 1.50-0.84 (5H, *m*), 0.867 (3H, *t*, *J* = 7.2 Hz). Chemical shifts of the key ^1H signals of these derivatives are summarized in table 3-5. μ

Stereochemically defined methyl 10(*R*)-hydroxydocosanoate was synthesized by reacting (*S*)-10,11-epoxyundecanoic acid methyl ester with undecanylmagnesium bromide in the presence of CuI according to the published protocol (Ohtaki et al., 2005). The (*S*)-epoxide was obtained by kinetic resolution of the racemic epoxide according to the published method (Schaus et al., 2002), which was prepared by *m*-CPBA treatment of a commercially available methyl undec-10-enoate.

Chapter 4.

4-1. *Cerasus yedoensis*

Plant material

Stipules and young leaves of the *Prunus yedoensis* (Rosaceae) were collected in May in 2008 on the campus of Tokyo Institute of Technology. The plant was identified by Prof. S. Kohshima, Department of Biological Sciences, Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institue of Technology. A voucher specimen (CMS19-04) was deposited in the Department of Chemistry and Materials Science, Tokyo Institute of Technology.

Extraction and isolation

Fresh young stipules (fresh wt. 7.2 g, ca. 1.0 cm wide and 2.5 cm long, 800 stipules) were briefly (ca. 2 sec) rinsed twice in a beaker containing Et_2O (total volume 100 mL), the Et_2O solution being concentrated to dryness (230 mg) under a reduced pressure. The extract was mixed with hexane and the hexane soluble part (42 mg) was subjected to silica gel (10 g) CC. Elution with a gradient of hexane–AcOEt (10:1→1:1, total volume 50 mL) to yield **CY-2** (18 mg, eluted with hexane–AcOEt 6:1) and **CY-3** (12 mg, eluted with hexane–AcOEt 4:1). The hexane insoluble part (180 mg) was applied to silica gel (20 g) CC. Elution with a gradient of $CHCl_3$–MeOH (30:1→10:1, total volume 60 mL) gave **CY-1** (160 mg, eluted with $CHCl_3$–MeOH 20:1).

Fresh young leaves (fresh wt. 700 g, ca. 3.0 cm wide and 5.0 cm long, 400 leaves) were similarly processed to give the Et_2O extract (30 mg), from which **CY-1** (20 mg), **CY-2** (1.5 mg) and **CY-3** (0.8 mg) were isolated.

*2-Acetyl-1-{3-[β-D-3,4-di-O-acetylglucopyranosyl-(1 → 3)-α-L-2-O-acetylrhamnopyranosyloxy]octadecanoyl}-sn-glycerol (**CY-1**)*

Colorless oil; negative HRFABMS *m/z*: 849.4509 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{41}H_{69}O_{18}$, 849.4484); $[\alpha]_D^{24}$ +3.0 (*c* = 1.3, MeOH); for ^1H and ^{13}C NMR ($CDCl_3$) spectroscopic data, see Table 4-1.

A mixture of **CY-1** (5 mg) and TBDPSCl (8 μL) in pyridine (50 μL) was stirred at room temperature for 12 h. Et_2O (0.3 mL) was added, and Et_2O-soluble portion was washed with saturated aqueous NH_4Cl, and then brine, dried (Na_2SO_4) and concentrated. The resulting di-TBDPS ether (12 mg) was reduced with DIBAL in the same manner as reported previously (Asai et al., 2009) to yield 3-*O*-TBDPS-*sn*-glycerol (1.5 mg, 77% from **CY-1**). The TBDPS ether (0.5 mg) was reacted with (*R*)-MTPACl (1.0 μL) in the same manner as described in *Paulownia tomentosa* section and a crude product was purified by PTLC (hexane-AcOEt, 7:1) to give 1,2-di-*O*-(*S*)-MTPA-3-*O*-TBDPS-*sn*-glycerol (90% yield). The ^1H NMR ($CDCl_3$) spectroscopic data [*δ*: 7.58-7.27 (20H, *m*), 5.36 (1H, *m*), 4.75 (1H, *dd*, *J* = 12.4, 3.2 Hz), 4.50 (1H, *dd*, *J* = 12.4, 6.4 Hz), 3.72 (2H, *m*), 3.44 (3H, *s*, MeO), 3.38 (3H, *s*, MeO), 1.01 (9H, *s*, ^{t}Bu)] were identical to those of authentic sample, but different from those of 2,3-di-*O*-(*S*)-MTPA-1-*O*-TBDPS-*sn*-glycerol (Asai et al., 2009).

To a solution of LiOH (10 mg) in water (200 μL) was added a solution of **CY-1** (15 mg) in DME (800 μL) and the mixture was stirred at room temperature for 48 h. Saturated aqueous NH_4Cl was added and the mixture was partitioned between $CHCl_3$ and H_2O. The $CHCl_3$ layer was concentrated to give a glycosylated fatty acid (6.5 mg, 90%). Colorless oil; $[\alpha]_D^{24}$ –23.1 (*c* = 8.7, MeOH); negative HRFABMS *m/z* 607.3664 $[M–H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{55}O_{12}$, 607.3694); ^1H NMR (CD_3OD) *δ*: 4.81 (*d*, *J* = 1.5 Hz, H-1′), 4.50 (*d*, *J* = 7.7 Hz, H-1″), 4.08 (*m*, H-3), 4.04 (*dd*, *J* = 3.0, 1.8 Hz, H-2′), 3.80 (*dd*, *J* = 11.9, 2.4 Hz, Ha-6″), 3.72 (*m*, Hb-6″), 3.72 (*m*, H-5′), 3.70 (*dd*, *J* = 9.5, 2.4 Hz, H-3′), 3.53 (*t*, *J* = 9.5 Hz, H-4′), 3.37 (*m*, H-3″), 3.36 (*m*, H-4″), 3.28 (*m*, H-2″), 3.28 (*m*, H-5″), 2.49 (*d*, *J* = 6.4 Hz, H_2-2), 1.61-1.25 (CH_2), 1.22 (*d*, *J* = 7.4 Hz, H_3-6′), 0.89 (*t*, *J* = 6.7 Hz, CH_3). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) *δ*: 175.2 (C-1), 105.8 (C-1″), 99.9 (C-1′), 83.2 (C-3′), 77.7 (C-3″), 77.7 (C-5″), 75.5 (C-3), 75.4 (C-2″), 72.6

(C-4′), 71.9 (C-2′), 70.9 (C-4″), 69.9 (C-5′), 62.1 (C-6″), 41.2 (C-2), 34.4 (C-4), 33.1 (C-16), 30.8-30.5 (CH_2), 25.9 (C-5), 23.7 (C-17), 18.0 (C-6′), 14.4 (C-18).

A mixture of the glycosylated fatty acid (5 mg) and 1.5 N HCl (200 μL) was heated at 80 °C for 6 h and cooled down to room temperature. The solution was partitioned between ether and water, and the ether layer was concentrated to dryness in vacuo. The residue was treated with excess ethereal diazomethane, and the product was separated by PTLC (hexane-AcOEt, 6:1) to give methyl 3-hydroxyoctadecanoate (2.2 mg) as a white powder, (+)-FABMS *m/z*: 315 $[M+H]^+$; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data was identical with those reported in our previous paper (Asai et al., 2009).

Methyl 3-hydroxyoctadecanoate (0.5 mg) was treated with (*R*)-MTPACl (1.2 μL) in pyridine (30 μL) at room temperature. After 30 min, MeOH (100 μL) was added to the reaction mixture and the solution was purified by PTLC (hexane/AcOEt, 6:1) to give the (*S*)-MTPA ester (0.7 mg, 93% yield). Colorless oil; FABMS *m/z* 531 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 7.58–7.54 (*m*, 5H), 5.47 (*m*, H-3), 3.59 (*s*, CO_2Me), 3.47 (*d*, *J* = 1.0 Hz, OMe), 2.65 (*dd*, *J* = 16.1, 8.0 Hz, Ha-2), 2.57 (*dd*, *J* = 16.1, 5.1 Hz, Hb-2), 1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, *J* = 6.7 Hz, H_3-18). Reaction of methyl 3-hydroxyoctadecanoate (0.5 mg) with (*S*)-MTPACl (1.2 μL) gave the (*R*)-MTPA ester (0.6 mg, 86% yield). Colorless oil; FABMS *m/z* 531 $[M+H]^+$; ^1H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 7.58–7.54 (*m*, 5H), 5.47 (*m*, H-3), 3.66 (*s*, CO_2Me), 3.54 (*d*, *J* = 1.2 Hz, OMe), 2.70 (*dd*, *J* = 15.9, 8.3 Hz, Ha-2), 2.60 (*dd*, *J* = 15.9, 4.6 Hz, Hb-2), 1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, *J* = 6.7 Hz, H_3-18).

Per-acetyl derivative of ***CY-1*** *(**CY-1a**)*

Compound **CY-1** (5.0 mg) was treated with Ac_2O and pyridine at room temperature overnight. Extractive workup gave a crude product which was purified by PTLC (hexane-AcOEt, 1:1) to afford **CY-1** acetate (**CY-1a**) (5.6 mg, 93% yield): Colorless oil; negative FABMS *m/z*: 1017 $[M-H]^-$; for ^1H NMR ($CDCl_3$) spectroscopic data, see Table 4-1.

*(2α,20S)-2,20-Dihydroxydammar-24-en-3-one (**CY-2**)*

White amorphous powder; $[\alpha]_D^{24}$ +29.7° (*c* = 0.15, $CHCl_3$); ν_{max} ($CHCl_3$) 3600, 3500, 2920, 1700, 1460, 1390, 1380 cm^{-1}; HREIMS *m/z*: 458.3639 $[M]^+$ (458.3631 calcd for $C_{30}H_{49}O_4$). ^1H NMR ($CDCl_3$) *δ*: 5.12 (*t*, *J* = 7.0 Hz, H-24), 4.53 (*ddd*, *J* = 12.4, 7.0, 3.2 Hz, H_b-2), 2.49 (*dd*, *J* = 12.6, 7.0 Hz, H_b-1), 2.05 (*m*, H_2-23), 1.69 (*s*, H_3-26), 1.62 (*s*, H_3-27), 1.19 (*s*, H_3-19), 1.15 (*s*, H_3-28), 1.15 (*s*, H_3-21), 1.14, (*dd*, *J* = 12.6, 12.4 Hz, H_a-1), 1.11 (*s*, H_3-29), 1.01 (*s*, H_3-18), 0.85 (*s*, H_3-30); for ^{13}C NMR ($CDCl_3$) spectroscopic data, see Table 4-2.

4-2. *Rubus trifdus*

Plant materials.

The leaves and stems of *Rubus trifidus* were collected in Kawasaki in May 2009.

Extraction and isolation

The glandular trichomes on the stems of *R. trifidus* were gently wiped with Kimwipe, which was *washed* with Et_2O (20 ml). Concentration of the washing under a reduced pressure gave an oily material (1.0 mg). This was chromatographed over silica gel with hexane-EtOAc as eluents furnished Fr. RT (0.7 mg).

Fr. RT

Colorless oil; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.22 (*m*, H-3), 2.55 (*dd*, J = 15.4, 8.3 Hz, Ha-2), 2.42 (*dd*, J = 15.4, 4.6 Hz, Hb-2), 1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, J = 6.7 Hz, H_3-18).

Fr. RT (1.0 mg) was hydrolyzed and methylated to give the 3-hydorxy-fatty acid methyl esters in the same manner as described for Fr. U-1 in **2-4**. This was silylated with TMS-HT and the TMS ether was analyzed by GLC and GC-MS under the conditions described for 2-4. The GLC chromatogram is shown in Fig. 4-6. For the EIMS data, refer Table 2-11.

Fr. RT (2.0 mg) was reacted with *p*-bromophenacyl bromide (1.5 mg) in the presence of disopropylethylamine (1 μL) in CH_3CN-MeOH (9:1, 250 μL) overnight. The resulting ester was purified by p-TLC (hexane-AcOEt 6:1) and further separated by HPLC (Shim-pack CLC-ODS; solvent, CH_3CN-THF (5:1); flow rate 1.0 ml/min; detection, UV 254 nm), see Fig. 4-7. The peak RT-a' (7.74 min) was found to be pure iso-form on the basis of ^{1}H-NMR data (δ 0.860 (d, J=7.0 Hz)), while the peak RT-c'/d' (10.14 min) was assigned as a 9:1 mixture of anteiso- and iso-forms: ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ: 0.838 (d, J=6.5 Hz, Me), 0.853 (t, J=7.0 Hz, Me), an overlap of weal signals at 0.860 (d, J=7.0 Hz, di-Me of iso-form), 1.25 (m), 2.07 (s, Ac), 2.72 (dd, J=15.5, 5.5 Hz, H-2a), 2.76 (dd, J=15.5 Hz, 7.5 Hz, H-2b), 5.28 (m, H-3), 5.28 (s, $COCH_2O$, 2H), 7.63 (d, J=8.5 Hz, 2H, Ar), 7.76 (d, J=8.5 Hz, 2H, Ar).

Chapter 5

5-1. *Geranium carolinianum*

Plant material

Geranium carolinianum was collected in May 2010 in Kawasaki city of Kanagawa prefecture. The plant was identified by Prof. S. Kohshima, Department of Biological Sciences, Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology. A voucher specimen (CMS2204) was deposited in the Department of Chemistry and Materials Science, Tokyo Institute of Technology.

Extraction and isolation

Fresh upper aerial parts (stems and calyxes) of G. carolinianum (fresh wt. 399 g) were briefly (ca. 10 sec) rinsed in a beaker containing Et_2O (1.5 L), and the Et_2O solution was filtered and concentrated

to dryness (670 mg) under reduced pressure. The residue was subjected to silica gel (15 g) CC. The column was eluted with a discontinuous gradient of $CHCl_3$–MeOH to give Fr. 1 (439 mg, $CHCl_3$–MeOH 1:0–30:1, found to be a mixture of hydrocarbons), Fr. 2 (15 mg, $CHCl_3$–MeOH 20:1), Fr. 3 (35 mg, $CHCl_3$–MeOH 10:1), Fr. 4 (120 mg, $CHCl_3$–MeOH 8:1) and Fr. 5 (5 mg, $CHCl_3$-MeOH 6:1). Fr. 4 corresponded to the intense spot in a preliminary TLC analysis of the sample, which was obtained by gently wiping the surface of the calyxes with cotton. A part (20 mg) of Fr. 4 was separated by HPLC (Shimadzu Shim-Pack CLC-ODS, 15 cm x 4.6 mm; MeOH-water, 6:1; flow rate, 1 mL/min; UV detection at 215 nm) to give **CA-1** (11.8 mg, 8.82 min) and compound **CA-2/3** (3.5 mg, 10.76 min).

*n-Octyl 4-O-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-6-O-isobutyryl-β-D-glucopyranoside (Caroliniaside-A) (**CA-1**)*

Colorless oil; (+)-HR-FAB-MS *m/z*: 601.3203 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{28}H_{50}O_{12}Na$, 601.3200); $[\alpha]_D^{25}$ –82.0 (*c* = 0.41, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) cm^{-1}: 3450, 2920, 2880, 2860, 1720, 1480, 1390, 1190, 1160, 1140, 1090; ^1H- and ^{13}C-NMR data, see Table 1. Colorless oil; (–)-HRFABMS *m/z*: 615.3386 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{28}H_{52}O_{12}Na$, 615.3356); $[\alpha]_D^{25}$ –72.9 (*c* = 0.31, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) ν max 3450, 2980, 2920, 2880, 2860, 1720, 1480, 1390, 1190, 1090 cm^{-1}; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Table 5-1

*n-Octyl 4-O-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-6-O-(2-methylbutyryl)-β-D-glucopyranoside (Caroliniaside-B) (**CA-2**) and n-octyl 4-O-(2-methylbutyryl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-6-O-(isobutyryl)-β-D-glucopyranoside (Caroliniaside-C) (**CA-3**)*

Colorless oil; (+)-HR-FAB-MS *m/z*: 615.3386 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{29}H_{52}O_{12}Na$, 615.3356); $[\alpha]_D^{25}$ –72.9 (*c* = 0.31, $CHCl_3$); IR ($CHCl_3$) cm^{-1}: 3450, 2980, 2920, 2880, 2860, 1720, 1480, 1390, 1190, 1160, 1140, 1090; ^1H- and ^{13}C-NMR data (recoded in $CDCl_3$-CD_3OD 20:1 and pyridine-d_5), see Table 5-1.

GLC and GC-MS analysis

A mixture of TMS-HT (30 μL) and **CA-1** (0.4 mg) was heated at 75°C for 1.5 h, and then the mixture was cooled to room temperature. Hexane (50 μl) and H_2O (50 μl) were added to the reaction mixture and a part of the hexane layer was analyzed by GLC (a J&W Scientific DB-5 capillary column (15 m x 0.25 mm, 0.25 μm film thickness), conditions: injection temperature of 275 °C, column temperature of 275 °C, detection temperature of 280 °C, He carrier gas flow rate of 50 kPa (P1) and 120 kPa (P2), H_2 flow rate of 50 kPa, air flow rate of 50 kPa and split (40:1) injection) and GC-MS (DB-1 capillary column (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm film thickness, J & W Scientific), conditions: source temperature of 250°C, injection temperature of 250 °C; column temperature programmed from 80 °C to 280 °C, which increases at a rate of 20 °C/min and is held at the final temperature for 20 min, interface temperature 280 °C and He carrier gas flow rate of 1.0 ml/min with splitless injection). The

fraction containing compounds **CA-1–3** and a mixture of **CA-2/3** were similarly converted to the TMS ether and analyzed. EI-MS of **CA-1**-$(TMSO)_4$ (peak A in Fig. 5-2) *m/z*: 851 $[M–Me]^+$ (tr), 737 (tr), 720 (tr), 695 (tr), 607 (1), 578 (1), 488 (1), 361 (3), 273 (17), 204 (43), 143 (17), 73 (100). EI-MS of **CA-2**-$(TMSO)_4$ (peak B in Fig. 5-2) *m/z*: 865 $[M–Me]^+$ (tr), 751 (tr), 735 (tr), 709 (tr), 622 (tr), 578 (tr), 502 (tr), 475 (tr), 449 (tr), 361 (3), 273 (17), 231 (3), 204 (40), 182 (6), 143 (14), 103 (3), 73 (100). EI-MS of **CA-3**-$(TMSO)_4$ (peak C in Fig. 5-2) *m/z*: 865 $[M–Me]^+$ (tr), 751 (tr), 720 (tr), 695 (tr), 621 (tr), 607 (tr), 592 (tr), 519 (tr), 488 (tr), 375 (3), 361 (3), 273 (26), 231 (6), 204 (66), 182 (11), 143 (25), 103 (9), 73 (100).

Sugar analysis

A solution of LiOH (0.65 mg) in H_2O (100 μL) was added to a solution of **CA-1** (2 mg) in dimethoxyethane (400 μl) and the mixture was stirred at room temperature for 20 h. The mixture was neutralized by the addition of sat. aq. NH_4Cl and partitioned between *n*-BuOH and H_2O. Concentration of the *n*-BuOH layer under reduced pressure gave an oily residue. This was mixed with 2 *N* HCl (200 μl), and heated at 80 °C for 48 h. The mixture was partitioned between Et_2O and H_2O. The aqueous layer was concentrated and the residual material was identified as glucose and rhamnose by TLC (*Rf* values, 0.24 (glucose) and 0.55 (rhamnose), developed with CH_3CN-H_2O 85:15) by comparison with authentic sugars. The sugar fraction was converted to the TMS ether of the thiazolidine derivative, as reported by Hara et al. (Hara et al., 1987) and analyzed by GLC (conditions: injection temperature 270 °C, column temperature 195 °C, detection temperature 270 °C, He carrier gas flow rate of P1, 50 kPa and P2, 120 kPa, H_2 flow rate, 54 kPa, air flow rate, 46 kPa and split (40:1) injection) which showed two peaks at 11.0 and 18.4 min, identical to those of the TMS ethers derived from L-rhamnose and D-glucose.

5-2. *Geranium maderense*

Plant material

The flowering shoots of *Geranium maderense* were kindly donated by Mr. Takeshi Hiratsuka, The Kyoto Botanical Garden, in October 2009.

Extraction and isolation

The flowering shoots of *G. maderense* (fresh wt. 20 g) were dipped into Et_2O (200 ml) for 20 sec. and the Et_2O solution was concentrated to dryness under a reduced pressure. The oily residue (80 mg) was chromatographed over silica gel with hexane-EtOAc and then EtOAc-MeOH as eluents furnished **GM-4** (4.0 mg) and fraction 1 (50 mg). The fraction 1 was further purified by using reversed-phase HPLC (Inertsil ODS-3, 15 cm x 4.6 mm; flow rate: 1.0 ml/min, solvent: 50% aqueous CH_3CN, UV detection at 215 nm) furnished compounds **GM-1** (4.7 min, 10.2 mg), **GM-2** (8.9 min, 24.1 mg) and **GM-3** (13.1 min, 12.1 mg).

*n-Octyl 4-O-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside (**GM-1**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 549.2900 [M–H] (calcd for $C_{26}H_{45}O_{12}$, 549.2911); $[\alpha]_D^{25}$ –62.1 (*c*=1.02, $CHCl_3$); ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 5-2 and 5-3, respectively.

*n-Octyl 4-O-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-6-O-isobutyryl-β-D-glucopyranoside (**GM-2**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 577.3187 [M–H] (calcd for $C_{28}H_{49}O_{12}$, 577.3224); $[\alpha]_D^{25}$ –60.1 (*c*=1.21, $CHCl_3$); ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 5-2 and 5-3, respectively.

*n-Octyl 4-O-(isobutyryl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-6-O-(2-methylbutyryl)-β-D-glucopyranoside (**GM-3**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 591.3387 [M–H] (calcd for $C_{28}H_{49}O_{12}$, 591.3381); $[\alpha]_D^{25}$ –69.4 (*c*=0.83, $CHCl_3$); ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 5-2 and 5-3, respectively.

*1,2,6-tri-O-angeroyl-β-D-glucopyranose (**GM-4**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z:* 449.1778 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{21}H_{30}O_9Na$, 449.1788); $[\alpha]_D^{25}$ –18.2 (*c*=0.22, $CHCl_3$); ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Table 5-4.

5-3. *Geranium thunbergii.*

Plant material

The flowing shoots of *Geranium thunbergii* were collected at The Medicinal Plants Garden of Tohoku University in September 2009.

Extraction and isolation

The flowering shoots of G. thunbergii were gently wiped with Kimwipe, which was washed with Et_2O (500 ml). The Et_2O solution was concentrated to dryness under a reduced pressure to give an oily residue (56 mg). This was chromatographed over silica gel with hexane-EtOAc and then EtOAc-MeOH as eluents to give Fr. 1 (**GT-1 and 2**, 16 mg) and Fr. 2 (**GT-3 and 4**, 22 mg). Fr. 1 and 2 were finally separated by reversed-phase HPLC (Mightysil-ODS, 25 cm 4.6 mm i.d.); flow rate, 1.0 ml/min; solvent, 30-50% aqueous CH_3CN; UV detection at 215 nm) furnished compounds **GT-1** (5 mg), **GT-2** (7 mg), **GT-3** (12 mg) and **GT-4** (6 mg) in the order of elution.

*n-Octyl 4-O-isobutyryl-3-O-(3-methylbutyryl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside (**GT-1**)*

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 633.3483 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{31}H_{54}O_{13}$, 633.3486); $[\alpha]_D^{25}$ –63.3 (*c*=0.24, $CHCl_3$); ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 5-2 and 5-3, respectively.

n-Octyl 3,4-di-O-isobutyryl-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside ***(GT-2)***

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 577.3254 [M–H] (calcd for $C_{28}H_{50}O_{12}$, 577.3224); $[\alpha]_D^{25}$ –63.3 (*c*=0.24, $CHCl_3$); ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 5-2 and 5-3, respectively.

n-Octyl 4-O-isobutyryl-3-O-(3-methylbutyryl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-β-D-glucopyranoside ***(GT-3)***

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 591.3406 [M–H] (calcd for $C_{29}H_{51}O_{12}$, 591.3381); $[\alpha]_D^{25}$ –50.9 (*c*=1.14, $CHCl_3$); ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 5-2 and 5-3, respectively.

n-Octyl 4-O-isobutyryl-3-O-(2-methylbutyryl)-α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside ***(GT-4)***

Colorless oil; (+)-HRFABMS *m/z*: 605.3569 [M–H] (calcd for $C_{30}H_{53}O_{12}$, 605.3537); $[\alpha]_D^{25}$ –58.3 (*c*=0.48, $CHCl_3$); ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 5-2 and 5-3, respectively.

Chapter 6.

Plant material

The young stems (fresh wt. 300 g) and fruits of *Juglans mandshurica var. sieboldiana* were collected at Tama river side in August 2008.

Extraction and isolation

The fruits (fresh wt. 4.5 kg) were dipped into Et_2O (2.0 L) and the Et_2O solution was concentrated to dryness (2.3 g) under a reduced pressure. The extract was separated by Sephadex LH-20 with methanol as an eluent to afford Fr. I and Fr. II. Fr. I was further separated over silica gel with hexane-EtOAc to give Fr. OL-1 (140 mg), Fr. OL-2 (120 mg), Fr. OL-3 (180 mg), Fr. OL-4 (70 mg), Fr. OL-5 (12 mg). Fr. II was similarly separated to give **JM-1** (140 mg), **JM-2** (60 mg), **JM-3** (20 mg), **JM-4+5** (15 mg), **JM-6** (270 mg), **JM-7+8** (36 mg), **JM-9** (120 mg), **JM-10+11** (20 mg).

The young stems of *Juglans mandshurica var. sieboldiana* were wiped with Kimwipe, which was washed with Et_2O and the Et_2O solution was concentrated to dryness under a reduced pressure to give an oily material. The sample showed essentially identical TLC pattern with that obtained from fruits.

Fr. OL-1

Colorless oil; (+)-MALDI-TOF-MS, see Fig. 6-4; (–)-FABMS *m/z*: 810, 782, 754, 726, 698, 283, 255; ^1H NMR data, see Table 6-1. ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 172.7, 171.0, 170.9, 170.6, 170.2, 102.1, 76.5, 76.4, 74.2, 73.0, 72.4, 70.0, 69.1, 62.3, 62.2, 40.5, 34.7, 34.6, 34.1, 31.9, 29.7-29.3, 25.3, 24.9, 22.7, 20.9, 20.8, 17.5, 14.1.

Fr. OL-2

Colorless oil; (+)-MALDI-TOF-MS, see Fig. 6-6; (–)-FABMS *m/z*: 810, 782, 754, 726, 698, 283, 255; ^{1}H NMR data, see Table 6-1. ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 172.7, 171.2, 170.7, 170.5, 101.9, 76.4, 74.2, 73.0, 72.5, 70.0, 62.4, 61.3, 40.5, 34.5, 34.2, 31.9, 29.7-29.3, 25.2, 24.9, 22.7, 21.0, 20.8, 17.5, 14.1.

Fr. OL-3

Colorless oil; (+)-MALDI-TOF-MS, see Fig. 6-7; (–)-FABMS *m/z*: 810, 782, 754, 726, 698, 543, 515, 487, 337, 309, 283, 281, 255, 205; ^{1}H NMR data, see Table 6-1. ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 172.8, 172.6, 171.0, 170.9, 170.7, 170.0, 102.0, 78.2, 76.5/76.3, 76.4, 74.4, 74.2, 73.0, 72.4, 72.2, 72.1, 70.0, 69.1, 62.3/62.2, 62.2, 40.6, 40.5, 34.73, 34.66, 34.61, 34.55, 31.9, 29.7-29.3, 25.3, 24.9, 22.7, 21.0, 20.9, 20.8, 17.6, 17.5, 14.1.

Fr. OL-4

Colorless oil; (+)-MALDI-TOF-MS, see Fig. 6-8; (–)-FABMS *m/z*: 543, 515, 487, 337, 309, 281, 205; ^{1}H NMR data, see Table 6-1. ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 172.7, 171.0, 170.9, 170.0, 102.0, 78.1, 76.5, 74.4, 72.1, 69.1, 62.3, 62.2, 40.5, 34.7, 34.6, 31.9, 29.7-29.3, 25.3, 22.7, 21.0, 20.9, 17.6, 14.1.

Fr. OL-5

Colorless oil; (–)-HRFABMS *m/z*: 487.3276 [M–H] (calcd for $C_{26}H_{47}O_8$, 487.3271), 515.3535 [M–H] (calcd for $C_{28}H_{51}O_8$, 515.3584), 543.3865 [M–H] (calcd for $C_{30}H_{55}O_8$, 543.3897); (–)-FABMS *m/z*: 543 [M–H], 515 [M–H], 487 [M–H], 337 [M–205]$^-$, 309 [M–205]$^-$, 281 [M–205]$^-$, 205; ^{1}H NMR data, see Table 6-1. ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ: 172.7 (C-1), 102.1 (C-1′), 78.1 (C-3′), 76.8 (C-3), 74.4 (C-2′), 72.1 (C-4′, C-5′), 40.7 (C-2), 34.9 (C-4), 31.9, 29.7-29.3, 25.4 (C-5), 22.7, 21.1 (Ac), 17.5 (C-6′) 14.1.

Compound JM-3

Colorless oil; (+)-HREIMS *m/z*: 416.3280 [M]$^+$ (calcd for $C_{27}H_{44}O_3$, 416.3290); ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.56 (*d*, *J* = 5.9 Hz, H-24), 3.79 (*td*, *J* = 11.0, 5.9 Hz, H-12), 3.40 (*brs*, H-3), 1.29 (*s*, H_3-28), 1.29 (*s*, H_3-21), 0.98 (*s*, H_3-19), 0.94 (*s*, H_3-28), 0.93 (*s*, H_3-30), 0.88 (*s*, H_3-18), 0.84 (*s*, H_3-29), (C-1), 102.1 (C-1′), 78.1 (C-3′), 76.8 (C-3), 74.4 (C-2′), 72.1 (C-4′, C-5′), 40.7 (C-2), 34.9 (C-4), 31.9, 29.7-29.3, 25.4 (C-5), 22.7, 21.1 (Ac), 17.5 (C-6′), 14.1.^{13}C NMR spectroscopic data, see Tables 6-2.

Chapter 7.

7-1. *Tricytis hirta*

Plant material

The plants of *Tricytis hirta* were grown at The Medicinal Plants Garden of Tohoku University, from

which the exudate sample was collected in September 2009.

Extraction and isolation

The outer surface of the buds of *T. hirta* was gently wiped with Kimwipe, which was washed with Et_2O (500 mL) and the Et_2O solution was concentrated to dryness in a reduced pressure to give an oily material (27 mg). The extract was chromatographed over silica gel with hexane-EtOAc and then EtOAc-MeOH as eluents to give Fr. TH-1 (8 mg) and Fr. TH-2 (10 mg).

Fr. TH-1

Colorless oil; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.34 (*m*, 2H), 2.34 (*t*, J = 7.4 Hz, H_2-2, 2H), 2.01 (*m*, 4H), 1.63 (*m*, H_2-3, 2H), 1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, J = 7.2 Hz).

Fr. TH-1 was converted to the corresponding methyl ester by ethereal CH_2N_2; EIMS *m/z*: 464 (8), 450 (38), 436 (52), 422 (36), 408 (48), 394 (8), 380 (8) $[M]^+$.

Fr. TH-2

Colorless oil; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 5.34 (*m*, 2H), 3.92 (*m*, H-3), 2.44 (*m*, Ha-2), 2.28 (*m*, Hb-2), 2.01 (*m*, 4H), 1.52-1.25 (CH_2), 0.88 (*t*, J = 7.2 Hz).

Fr. TH-2 was converted to the methyl ester with CH_2N_2, which was then silylated with TMS-HT. EIMS *m/z*: 468 (4), 454 (1), 440 (28), 426 (11), 412 (46), 398 (6), 384 (4) $[M]^+$, 453 (8), 439 (2), 425 (56), 401 (22), 497 (92), 483 (12), 469 (4) $[M–Me]^+$.

7-1. *Tricytis hirta* var. *albescens*

Plant material

The plants of *Tricytis hirta* were grown at The Medicinal Plants Garden of Tohoku University, from which the exudate sample was collected in September 2009.

Extraction and isolation

The outer surface of the buds of *T. hirta* var. *albescens* was treated in the same manner as described for *T. hirta* to give an oily material (25 mg). This was chromatographed over silica gel with hexane-EtOAc as eluents to give a Δ^1-fatty acid mixture (Fr. TH-1a, 6 mg) and a 3-hydroxy-Δ^1-fatty acid mixture (Fr. TH-2a, 9 mg). The two fatty acid mixtures were analyzed by EIMS after conversion to the (trimethylsilylated) methyl ester. The analysis showed the essentially same results as described for TH-1 and TH-2 from *T. hirta*.

7-2. *Adenocaulon himalacium*

Plant material

The seeds of *Adenocaulon himalacium* were collected on the mountain road in Tokyo in September 2008.

Extraction and isolation

The seeds of *A. himalacium* (fresh wt. 9 g) were dipped into Et_2O (100 mL) for 30 sec and the Et_2O solution was concentrated to dryness under a reduced pressure. The oily residue (100 mg) was chromatographed over silica gel with hexane-EtOAc to yield Fr. AH (90 mg).

Fr. AH

Colorless oil; (+)-FABMS *m/z*: 517 $[M+H]^+$, 499, 415, 331, 313, 211; ^1H NMR (**AH-2**) ($CDCl_3$) δ: 5.59 (*t*, *J* = 3.4 Hz, H-1), 5.34 (*t*, *J* = 11.3 Hz, H-3), 5.50 (*dd*, *J* = 11.3, 3.4 H, H-2), 4.98 (*dd*, *J* = 11.3, 3.4 Hz, H-6), 3.89 (*t*, *J* = 11.3 Hz, H-4), 3.55 (*t*, *J* = 11.3 Hz, H-5), 2.43 (*m*, H-2′), 2.20 (*m*, H_2-2″), 2.06 (*m*, H-3″), 1.71 (*m*, Ha-3′), 1.52 (*m*, Hb-3′), 1.20 (*d*, *J* = 6.2 Hz, H_3-5′), 1.03-0.87 (H_3-4′, H_3-4″, H_3-5″); ^{13}C NMR (**AH-2**) ($CDCl_3$) δ: 175.3 (C-1′), 172.7 (C-1″), 172.3 (C-1″), 171.8 (C-1″), 73.0 (C-3), 71.3 (C-5), 70.9 (C-4), 70.2 (C-3), 68.9 (C-2), 68.4 (C-1), 43.1, 43.0, 42.8 (C-3″), 41.2 (C-2′), 26.6 (C-3′), 22.2-22.1 (C-4″, C-5″, 6C), 25.5, 25.4, 25.2 (C-2″), 16.8 (C-5′), 11.4 (C-4′).

Fr. AH was silylated with TMS-HT and the TMS ether was analyzed by GLC (injection and detection temperature 290°C, column temperature 240°C) and GC-MS (standard conditions described in General experimental). The GLC chromatogram is shown in Fig. 7-4, which showed four main peaks, the TMS ethers of AH-1 (12.6 min, 14.4), AH-2 (13.4 min, 43.7), AH-3 (13.7 min, 11.2) and AH-4 (14.0 min, 9.3).

EIMS of **AH-2-di-TMS** *m/z*: 646 $[M-14]^+$ (12), 559 (1), 517 (1), 474 (2), 459 (4), 357 (11), 282 (13), 271 (24), 199 (8), 183 (15), 159 (20), 129 (12), 73 (100). **AH-1-di-TMS**, **AH-3-di-TMS**, **AH-4-di-TMS** showed the same EIMS fragment pattern as that of **AH-2-di-TMS**.

7-3. *Nicotiana sylvestris*

Plant material

The plants were cultivated at the Higashiyama Botanical Garden in Nagoya, from which the exudate sample was obtained in August 2009.

Extraction and isolation

The leaf surface (ca. 20 leaves) of the plants was gently wiped with Kimwipe, which was washed with Et_2O (50 mL) and the Et_2O solution was concentrated to dryness under a reduced pressure to give an oily material (23 mg). The extract was chromatographed over silica gel with hexane-EtOAc as eluents to give cembratrien-ol (8 mg) and cembratriene-diol (10 mg), which were identified by comparing their ^1H NMR and EIMS data with the reported values (Olsson et al., 1993).

参 考 文 献

Asai, T., Hara, N., Kobayashi, S., Kohshima, S., Fujimoto, Y., 2009. Acylglycerols in the glandular trichomes on the leaves of *Paulownia tomentosa*. Helv. Chim. Acta, 92, 1473-1492.

Adriani, C., Bonini, C., Iavarone, C., Trogolo, C., 1981. Isolation and characterization of paulownioside, a new highly oxygenated iridoid glucoside from *Paulownia tomentosa*. J. Nat. Prod. 44, 739-744.

Alonso, P. E., Cerdeiras, M. P., Fernandez, J., Ferreira, F., Moyna, P., Soubes, M., Vázquez, A., Vero, S., Zunino, L., 1995. Screening of Uruguayan medicinal plants for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol. 45, 67-70.

Ambróaio, A. R., Oki, Y., Heleno, V. C. G., Chaves, J. S., Nascimento, P. G. B. D., Lichston, J. E., Constantino, M. G., Varanda, E. M., Da Costa, F. B., 2008. Constituents of glandular trichomes of *Tithonia diversifolia*: Relationship to herbivory and antifeedant activity. Phytochemistry 69, 2052-2060.

Antogoni, F., Zheng S., Pagnucco, C., Baraldi, R., Poli, F., Biondi, S., 2007. Induction of flavonoids production by UV-B radiation in *Passiflora quadrangularis* callus culture. Fitoterapia 78, 345-352.

Antonious, G. F., Kochhar, T. S., Simmons, A. M., 2005. Natural products: seasonal variation in trichome counts and contents in *Lycopersicum hirsutum f. glabratum*. J. Environ. Sci. Health B40, 619-631.

Asakawa, J., Kasai, R., Yamasaki, K., Tanaka, O., 1977. 13C NMR study of ginseng sapogenins and their related dammarane type triterpenes. Tetrahedron 33, 1935-1939.

Atopkina, L. N., Denisenko, V. A., Uvarova, N. I., Elyakov, G. B., 1988. Semisynthetic analogues of ginsenosides, glycosides from ginseng. Carbohydr. Res. 177, 101-109.

Avé, D. A., Gregory, P., Tingey, Q. M., 1987. Aphid repellent sesquiterpenes in glandular trichomes of *Solanum bethaultii* and *S. tuberosum*. Entomol. Experi. Appli. 44, 131-138.

Babin, D., Fourneron, J. –D., Julia, M. 1981. Prénylation en Mileu Acide du (-)-Et du (+)-Limonéne. Tetrahedron, 37, 1-7.

Bernheim, F. M., Bernheim, L. C., Wilbur, K. M., 1948. The reaction between thiobarbituric acid and the oxidation products of certain lipids. J. Biol. Chem. 174, 257–264.

Bertea, C. M., Freije, J. R., van der Woude, H., Verstappen, F. W11., Perk, L., Marquez, V., de Kraker, J. W., Posthumus, M. A., Jansen, B. J., de Groot, A., Franssen, M. C., bouwmeester, H. J., 2005. Identification of intermediates and enzymes involved in the early steps of artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua*. Planta Med. 71, 40-47.

Bertea, C. M., Voster, A., Verstappen, F. W., Maffei, M., Beekwilder, J., Bouwmeester, H. J., 2006. Isoprenoid biosynthesis in *Artemisia annua*: cloning and heterologus expression of a germacrene A synthase from a glandular trichome cDNA library. Arch. Biochem. Biophys. 448, 3-12.

Blokker, P., Schouten, S., Ende, H. V. D., Leeuw, J. W. D., Damsté, J. S. S., 1998. Cell wall-specific ω-hydroxy fatty acids in some freshwater green mictoalgae. Phytochemistry 49, 691-695.

Buta, J. G., Lusby, W. R., Neal, Jr., J. W., Waters, R. M., Pittarelli, G. W., 1993. Sucrose esters from *Nicotiana gossei* active against the greenhouse whitefly *Trialeuroides vaporaro-rium*. Phytochemistry 32, 859-864.

Carballeira, N. M., Cruz, C., 1998. 5,9-Nonadecadienoic acid in *Malvaviscus arboreus* and *Allamanda cathartica*. Phytochemistry 49, 1253-1256.

Carman, R.M., Duffield, A.R., 1989. (+)- α -Bisabolol and (+)-Anymol. A repetition of the synthesis from the limonene 8,9-epoxides. Aust. J. Chem. 42, 2035-2039.

Cerderias, M. P., Fernandez, J., Soubes, M., Vero, S., Ferreira, F., Moyna, P., Olano, I., Vázquez, A., 2000. A new antibacterial compound from *Ibicella lutea*. J. Ethnopharmacol. 73, 521-525.

Chortyk, O. T., Severson, R. F., Cutler, H. G., Sisson, V. A., 1993. Antibiotic activities of sugar esters isolated from selected *Nicotiana* species. Biosci., Biotechnol., Biochem. 57, 1355-1356.

Chortyk, O.T., Stanley, J.K., Quincy, T., 1997. Characterisation of insecticidal sugar esters of *Petunia*. J. Agric. Food Chem. 45, 270–275.

Covello, P. S., Teoh, K. H., Polichuk, D. R., Reed, D. W., Nowak, G., 2007. Functional genomics and the biosynthesis of artemisinin. Phytochemistry 68, 1864-1871.

Covello, P. S., 2008. Making artemisinin. Phytochemistry 69, 2881-2885.

Cymerman-Craig, J.; Roy, S. K., 1965. Optical rotatory dispersion and absolute configuration. VI. Structure and absolute configuration of helenynolic acid. J. Org. Chem. 30, 4342-4343.

Damtoft, S., Jensen, S. R., 1993. Tomentoside and 7-hydroxytomentoside, two iridoid glucosides from *Paulownia tomentosa*. Phytochemistry 34, 1636–1638.

Dickschat, J. S., Helmke, E., Schulz, S., 2005. Volatile organic compounds from arctic bacteria of the Cytophaga Flavobacterium Bacteroides group: A retrobiosynthetic approach in chemotaxonomic investigation. Chem. Biodivers. 2, 318-353.

Drewes, S. E., Mudau, K. E., van Vuuren, S. F., Viljoen A. M., 2006. Antimicrobial monomeric and dimeric diterpenes from the leaves of *Helichrysum tenax* var *tenax*. Phyrochemistry 67, 716-722.

Du, X., Shi, Y. -P., Li, Z. -G., Li, Y., 2004. Isolation and structure elucidation of flavones from flower of *Paulownia tomentosa*. Zhongcaoyao 35, 245–247.

Dubois, M. A. L., Hanquet, B., Cui, Z. H., Lou, Z. C., Wagner, H., 1997. Jenissensosides C and D, biologically active acylated triterpene saponins from *Silene jenisseensis*. Phytochemstry 45, 985-990.

Duke, S. O., 1994. Commentary: Glandular trichome–a focal point of chemical and structural interactions. Int. J. Plant Sci., 155, 617-620.

Duke, S. O., Canel, C., Rimando, A. M. Tellez, M. R., Duke, M. V., Paul, R. N., 2000. Current and potential exploitation of plant glandular trichome productivity. Adv. Botan. Res. 31, 121-151.

Dumri, K., Seipold, L., Schmid, J., Gerlach, G., Dötterl, S., Ellis, A. G., Wessjohann, L. A., 2008. Non-volatile floral oils of *Diascia* spp. (Scrophulariaceae). Phytochemistry 69, 1372-1383.

Ennajdaoui, H., Vachon, G., Giacalone, C., Besse, I., Sallaud, C., Herzog, M., Tissier, A., 2010. Trichome specific expression of the tobacco (*Nicotiana sylvestris*) cembratrien-ol synthase gene is controlled by both activating and repressing *cis*-regions. Plant Mol. Biol. 73, 673-685.

Fico, G., Rodondi, G., Flamini, G., Passarella D., Tomé, F., 2007. Comparative phytochemical and morphological analyses of three Italian *Primula* species. Phytochemistry 68, 1683-1691.

Fu, H., Koike, K., Li, W., Nikaido, T., Lin, W., Guo, D., 2005. Silenorubicosides A–D, triterpenoid saponins from *Silene rubicunda*. J. Nat. Prod. 68, 754-758.

Gadow A.V, Joubert E., Hansmann C.F., 1997. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α

-tocopherol, BHT, and BHA, J. Agric. Food Chem. 45, 632-638.

Ganenko, T. V., Semoenov, A. A., Vereschagin, A. L., Ushakov, I. A., Chuvashov, Y. A., 2001. Cyclic glycolipids of *Stellaria dichotoma* L. above-ground parts. Rastitel'nye Resursy 37, 43-48.

Gaffield, W., 1970. Circular dichroism, optical rotatory dispersion and absolute configuration of flavanones, 3-hydroxyflavanones and their glycosides: Determination of aglycone chirality in flavanone glycosides. Tetrahedron 26, 4093–4108.

Gaidi, G., Miyamoto, T., Laurens, V., Dubois, M. A. L., 2002. New acylated triterpene saponins from *Silene fortunei* that modulate lymphocyte proliferation. J. Nat. Prod. 65, 1568-1572.

Gang, D. R., Wang, J., Dudareva, N., Nam, K. H., Simon, J. E., 2001. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropens in sweet basil. Plant physiol. 125, 539-555.

Giner, F. J. A., 1988. Three new bezoic acid derivatives from the glandular excretion of *Eriodictyon sessilifolium* (Hydrophyllaceae). Z. Naturforsch. 43c, 337-340.

Giner, F. J. A., Wollenweber, E., Dorr, M., 1993. Bibenzyls from crowberry leaves. Phytochemistry 33, 725-726.

Glensk, M., Wray, V., Nimtz, M., Schöpke, T., 1999. Silenesides A–C, triterpenoid saponins from *Silene vulgaris*. J. Nat. Prod. 62, 717-721.

Greuter, W., 1995. Silene (Caryophyllaceae) in Greece: a subgeneric and sectional classification. Taxon 44, 543-581.

Grice, K., Lu, H., Zhou, Y., Williams, H. S., Farquhar, G., 2008, Biosynthetic and environmental effects on the stable carbon isotopic compositions of anteiso- (3-methyl) and iso- (2-methyl)alkanes in tobacco leaves. Phytochemistry 69, 2807-2814.

Grünther, K., Carle, R., Fleischehauser, I., Merget, S. 1993. Semi-preparative liquid-chromatographic separation of all four stereoisomers of α-bisabolol on tribenzoylcelluose. Fresenius J. Anal. Chem. 345, 787-790.

Guo, A. H., Severson, R. F., Wagner, G. J., 1994. Biosybthesis of the diterpene cis abienol in cell free extracts of tobacco trichomes. Arch. Biochem. Biophys. 308, 103-108.

Habel, A.; Spiteller, D.; Boland, W. 2007. 1-Phenylethyl isocyanate is a powerful reagent for the chiral analysis of secondary alcohols and hydroxy fatty acids with remote stereogenic centres. J. Chromatography, A, 1165, 182-190.

Hara S., Okabe H., Mihashi K., 1987. Gas-liquid chromatographic separation of aldose enantiomers as trimethylsilyl ethers of methyl 2-(polyhydroxyalkyl)thiazolidine-4(*R*)-carboxylates. Chem. Pharm. Bull., 35, 501-506.

Hasegawa, M., Shirota, T., 1952. Flavonoids of various *Prunus* species. II. The flavonoids in the wood of *Prunus yedoensis*. J. Am. Chem. Soc. 74, 6114.

Hashidoko, Y., Tahara, S., Mizutani, J., 1992. Rugosal A and related carotane sesquiterpenes in the glandular trichome exudates of *Rosa rugosa*. Phytochemistry 31, 779-782.

Hashidoko, Y., Tahara, S., Mizutani, J., 1993. Sesquiterpenoids from *Rugosa* leaves. Phytochemistry 32, 387-390.

Hashidoko, Y., Tahara, S., Mizutani, J., 1994. Six sesquiterpenoids from glandular trichome exudates of *Rosa rugosa*. Phytochemistry 35, 325-329.

Hassan, E. A., Awadi, E. E., 2009. Study on the trichomes of the parasitic weed broomrape: Morphology and histochemistry.

Hoeven, R. S. V., Steffen, J. C. 2000. Biosynthesis and elongation of short- and medium-chain-length fatty acid. Plant Physiology 122, 275-282.

Holley, J. D., King, R. R., Singh, R. P., 1987. Glandular trichomes and resistance of *Solanum berthaultii* (PI 473340) to infection from *Phytophtora infestans*. Can. J. Plant pathol. 9, 291-294.

Homhual, S., Bunyapraphatsara, N., Kondratyuk, T., Herunsalee, A., Chaukul, W., Pezzuto, J. M., Fong, H. H. S., Zhang, H. J., 2006. Bioactive dammarane triterpenes from mangrove plant *Bruguiera gymnorrhiza*. J. Nat. Prod. 69, 421-424.

Humphrey, A. J., Beale, M. H., 2006. Strigol: Biogenesis and physiological activity. Phytochemistry 67, 636-640.

Ina, H., Ono, M., Sushida, Y., Iida, H., 1987. (+)-Piperitol from *Paulownia tomentosa*. Planta Med. 53, 504.

Innan, H., Terauchi, R., Miyashita, N. T., Tsunewaki, K., 1995. DNA fingerprinting study on the intraspecific variation and the origin of *Prunus yedoensis* (Someiyoshino). Japanese J. Genetics 70, 185-196.

Jayasinghe, L., Rupasinghe, G. K., Hara, N., Fujimoto, Y., 2006. Geranylated phenolic constituents from the fruits of *Artocarpus nobilis*. Phytochemistry 67, 1252-1258.

Kakuta, H., Seki, T., Hashidoko, Y., Mizutani, J., 1992. *Ent*-kaurenic acid and its related compounds from glandular trichome exudates and leaf extracts of *Polymnia sonchifolia*. Biosci. Biotech. Biochem. 56 1562-1564.

Kandra, L., Wagner, G. J., 1988. Studies of the site and mode of biosynthesis of tobacco trichome exudates components. Arch. Biochem. Biophys. 265, 425-432.

Kandra, L., Severson, R., Wagner, G. J., 1990. Modified branched-chain amino acid pathways give rise to acyl acid of sucrose esters exudated from tobacco leaf trichomes. Eur. J. Biochem. 188, 385-391.

Kang, K. H., Huh, H., Kim, B. K., Lee, C. K., 1999. An antiviral furanoquinone from *Paulownia tomentosa* Steud. Phytotherapy Res. 13, 624-626.

Kelsey, R. G., Shafizadeh, F. , 1980. Glandular trichomes and sesquiterpene lactones of *Artemisia nova* (Asteraceae). Biochem. System Ecol. 8, 371-377.

Kennedy, B. S., Nielsen, M. T., Severson, R. F., 1995. Biorationals from *Nicotiana* protect cucumbers against *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. & Halst Disease development. J. Chem. Ecol. 21, 221-231.

Kim, S. H., Lee, K. S., Son, J. K., Je, G. H., Lee. J. S., Lee, C. H., Cheong, C. J., 1998. Cytotoxic compounds from *Juglans mandshurica*. J. Nat. Prod. 61, 643-645.

Kim, Y. A, Park, M. S., Kim, Y. H., Han, S. Y., 2003. Synthesis of 1-lyso-2-palmitoyl-rac-glycero-3-phosphocholine and its regioisomers and structural elucidation by NMR spectroscopy and FAB tandem mass spectrometry. Tetrahedron 59, 2921-2928.

King, R. R., Singh, R. P., Calhoun, L. A., 1987. Variation in sucrose esters from the type B glandular trichomes of certain wild potato species. Am. Potato J. 64, 529-534.

King, R. R., Calhoun, L. A., 1988a. 2,3-Di-*O*- and 1,2,3-tri-*O*-acylated glucose esters from the glandular trichomes of *Datura metel*. Phytochemistry 27, 3761-3763.

King, R. R., Calhoun, L. A., Singh, R. P., 1988b. 3,4-Di-*O*- and 2,3,4-tri-*O*-acylated glucose ester from the glandular trichomes of nontuberous *Solanum* species. Phytochemistry 27, 3765-3768.

King, R. R., Singh, R. P., Calhoun, L. A., 1988c. Elucidation of structures for unique class of 2,3,4,3′-tetra-*O*-acylated sucrose esters from type B glandular trichomes of *Solanum neocardenasiii* hawkes and hjerting. Carbohydr. Res. 173, 235-241.

King, R. R., Calhoun, L. A., Singh, R. P., Boucher, A., 1990. Sucrose esters associated with glandular trichomes of wild *Lycopersicon* species. Phytochemistry 29, 2115-2118.

King, R. R., Calhoun, L. A., Singh, R. P., Boucher, A., 1993. Characterization of 2,3,4,3′-tetra-*O*-acylated sucrose esters associated with the glandular trichomes of *Lycopersicon typicum*. J. Agric. Food Chem. 41, 469-473.

Kinjo, J., Hitoshi, M., Tsuchihashi, R., Korematsu, Y., Miyakoshi, M., Murakami, T., Niiho, D., Mizutani, K., Nohara, T., Okawa, M., Okabe, H., 2006. Hepatoprotective constituents in plants 15: protective effects of natural-occurring flavonoids and miscellaneous phenolic compounds as determined in an HepG2 cell cytotoxicity assay. J. Nat. Med. 60, 36-41.

Kobayashi, H., Ohashi, J., Fujita, T., Iwashita, T., Nakao, Y., Matsunaga, S., Fusetani, N., 2007. Complete structure elucidation of shishididemniol, complex lipids with tyramine-derived tether and two serinol units, from a marine tunicate of family Didemnidae. J. Org. Chem. 72, 1218-1225.

Kobayashi, S., Asai, T., Fujimoto, Y., Kohshima, S., 2008. Anti-herbivore structures of *Paulownia tomentosa*: morphology, distribution, chemical constituents, and changes during shoot and leaf development. Ann. Botany 101, 1035-1047.

Kodali, D. R., Tercyak. A., Fahey, D. A., Small, D. M., 1990. Acyl migration in 1,2-dipalmitoyl-sn-glycerol. Chem. Phys. Lipids 52, 163-170.

Kootstra, A., 1994. Protection from UV-B-induced DNA damage by flavonoids. Plant Mol. Biol. 26, 771-774.

Kroumova, A. B., Xie, Z., Wagner, G. J., 1994. A pathway for the biosynthesis of straight and branched, odd- and even-length, medium-chain fatty acid in plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 11437-11441.

Kumazawa, S., Goto, H., Hamasaka, T., Fukumoto, S., Fujimoto, T., Nakayama, T., 2004. A new prenylated flavonoid from propolis collected in Okinawa, Japan. Biosci. Biotechnol. Biochem. 68, 260–262.

Kusumi, T., Takahashi, H., Hashimoto, T., Kan, Yukiko,, Asakawa, A., 1994. Structure and absolute stereochemistry of bisconicasterone from the marine sponge *Theonella swinhoei*. Chem. Lett. 23, 1093-1094.

Lee, K. S., Li, G., Kim, S. H., Lee, C. S., Woo, M. H., Lee, S. H., Jhand, Y. D., Son, J. K., 2002. Cytotoxic diarylheptanoids from the roots of *Juglans mandshurica*. J. Nat. Prod. 65, 1707-1708.

Leftheris, K., Goodman, M., 1990. Synthesis and β-adrenergic antagonist activity of stereoisomeric practolol and propranolol derivatives. J. Med. Chem. 33, 216-223.

Li, J., Huang, H., Zhou, W., Feng, M., Zhou, P., 2008. Anti-hepatitis B virus activities of *Geranium carolinianum* L. extracts and identification of the active components. Biol. Pharm. Bull. 31, 743-747.

Li, J., Lee, T. M. O., Raba, R., Amundson, R. G., Last, R. L., 1993. Arabidopsis flavonoids mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. The plant cell 5, 171-179.

Lodari, C., Hattori, K., Futsuhara, Y., 1989. Morphological difference on leaf surface and pollen grains in genus *Artemisia*. Japan J. Breed. 39, 9-14.

Marin, M., Koko, V., Lausevi′c, S. D., Marin, P. D., Ranci′c, D., Stevanovic, Z. D., 2006. Glandular trichomes on the leaves of *Rosmarinus officinalis*: Morphology stereology and histochemistry. South African journal of Botany 72, 378-382.

Maruyama, T., Kamakura, H., Hanajiri, R., Gouda, Y., 2008. Authentication and ultra performance liquid chromatography (UPLC)/MS analysis of magic mint, *Salvia divinorumi* and its related plant. Yakugaku Zasshi 128, 179-183.

Matsuzaki, T., Shinozaki, Y., Hagimori, M., Tobita, T., Shigematsu, H., Koiwai, A., 1992. Novel glycerolipids and glycolipids from the surface lipids of *Nicotiana benthamiana*. Biosci. Biotech. Biochem. 56, 1565-1569.

Matsushita, Y., Kang, W., Charlwood, B. V., 1996. Cloning and analysis of a cDNA encoding farnesyl dipjosphate synthase from *Artemisia annua*. Gene 172, 207-209.

Matsuzaki, T., Koseki, K., Koiwai, A., 1988. Germination and growth inhibition of surface lipids from. *Nicotiana* species and identification of sucrose esters. Agric. Biol. Chem. 52, 1889-1897.

Mercke, P., Croock, J., Croteau, R., Brodelius, P. E., 1999. Cloning expression, and characterization of epi-cedrol synthase, a sesquiterpene cyclase from *Artemisia annua* L. Arch. Biochem. Biophys. 369, 213-222.

Mercke, P., Bengtsson, M., Bouwmeester, H. J., Posthumus, M. A., Brodelius, P. E., 2000. Molecular cloning, expression, and characterization of amorpha-4,11-diene synthase, a key enzyme of artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. Arch. Biochem. Biophys. 381, 173-180.

Mikhoca, B., Duddeck, H., Taskova, R., Mitova, M., Alipieva, K., 2004. Oxygenated bisabolane fucosides from *Carthamus lanatus* L. Z. Naturforsch. 59c, 244-248.

Moghadam, F. M., Ruedi, P., Eugster, C. H., 1987. Drusenfarbstoffe aus labiaten: Identifizierung von 17 abietanoiden aus *Plectranthus sanguineus* Britten. Helv. Chim. Acta 70, 975-987.

Neal. J. J., Tingey, W. M., Steffens, J. C. 1990. Sucrose esters of carboxylic acids in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* deter settling and probing by green peach aphid. J. Chem. Ecol. 16, 487-497.

Netzel, D. A., McKay, D. R., Heppner, R. A., Guffey, F. D., Cooke, S. D., Varie, D. L., Linn, D. E., 1981. 1H- and 13C-n.m.r. studies on naphtha and light distillate saturate hydrocarbon fractions obtained from in-situ shale oil. Fuel 60, 307-320.

Nishioka, S., Araya, H., Murasaki, C., Sahai, M., Fujimoto, Y., 1994. Determination of absolute stereochemistry at carbinol stereocenters of tetrahydrofuranic acetogenins by the advanced Mosher ester method. Nat. Prod. Lett. 5, 117-121.

Nonomura, T., Xu, L., Wada, M., Kawamura, S., Miyajima, T., Nishitomi, A., Kakutani, K., Takikawa, Y., Matsuda, Y., Toyoda, H., 2009. Trichome exudates of *Lycopersicon pennellii* form a chemical barrier to suppress leaf-surface germination of *Oidiumneolycopersici* conidia. Plant Science 176, 31-37.

Ohtaki, T., Akasaka, K., Kabuto, C., Ohrui, H., 2005. Chiral discrimination of secondary alcohols by both 1H-NMR and HPLC after labeling with a chiral derivatization reagent, 2-(2,3-anthracene-dicarboximide)cyclohexane acid. Chirality 17, 171-176.

Ohtani, I., Kusumi, T., Kashman, Y., Kakisawa, H., 1991. High-field FT NMR application of Mosher's method. The absolute configuration of marine terpenoids. J. Am. Chem. Soc. 113, 4092-4096.

Olsson, E., Berg, J. E., Wahiberg, I., 1993. Eight new cembranoids from tobacco–Structual elucidation and conformational studies. Tetrahedron 49, 4975-4992.

Ooshiro, A., Hiradate, S., Kawano, S., Takushi, T., Fujii, Y., Natsume, M., Abe, H., 2009. Identification and activity of ethyl gallate as an antimicrobial compound produced by Geranium carolinianum. Weed Biol. Management, 9, 169-172.

Pakhathirathien, C., Karalai, C., Ponglimanont, C., Subhadhiraskul, S., Chantrapromma, K., 2005. Dammarane triterpenes from hypocotyls and fruits of *Ceriops tagal*. J. Nat. Prod. 68, 1787-1789.

Phillips, W. R., Baj, N. J., Gunatilaka, A. A. L., Kingston, G. I., 1996. C-Geranyl compounds from *Mimulus clevelandii*. J. Nat. Prod. 59, 495-497.

Phommart, S., Sutthivaiyakit, P., Chimnoi, N., Ruchirawat, S., Sutthivaiyakit, S., 2005. Constituents of the leaves of *Macaranga tanarius*. J. Nat. Prod. 68, 927–930.

Picaud, S., Brodelius, M., Brodelius, P. E., 2005. Expression, purification and characterization of recombinant (*E*)-β-farnesene from *Artemisia annua*. Phytochemistory 66, 961-967.

Plouvier, V., 1971. The heterosides of Catalpa bignonioides Walt. (Bignoniaceae) and of *Paulownia tomentosa* C. Koch. (Scrophulariaceae). Comp. Rend. Acad. Sci. 272D, 1443-1446.

Ranger C. M., Winter, R. E. K., Rottinghaus, G. E., Backus, E. A., Johnson, D. W., 2005. Mass spectral characterization of fatty acid amides from alfalfa trichomes and their deterrence against the potato leafhopper. Phytochemistry 66. 529-541.

Reynolds, G. W., Rodoriguez, E., 1986. Dermatotoxic phenolics from glandular trichomes of *Phacelia campanularia* and *P. pedicellata*. Phytochemistry 25, 1617-1619.

Rodoriguez, E., Sanchez, B., Grieco, P. A., Majetich, G., Oguri, T., 1979. Gerin, a eudesmane methyl esters in trichome exudates of *Geraea viscida*. Phytochemistry 18, 1741-1742.

Roh, M. S., Cheong, E. J., Choi, I. –Y., Joung, Y. H., 2007. Characterization of wild *Prunus yedoensis* analyzed by inter-simple sequence repeat and chloroplast DNA. Scientia Horticulturae 114, 121-128.

Roitman, J. N., Wollenweber, E., Giner, F. J. A., 1992. Xanthones and triterpen acid as leaf exudates constituents in *Orphium frutescens*. J. Plant Physiol. 139, 632-634.

Rustaiyan, A., Dabiri, M., Gupta, R. K., Bohlmann, F., 1981. α-Bisabolol-6-deoxy-β-altropyranoside from *Cathamus turkistanikus*. Phytochemistry 20, 1429-1430.

Sadikov, Z. T., Saatov, Z., Girault, J. P., Lafont, R., 2000. Sileneoside H, a new phytoecdysteroid from *Silene brahuica*. J. Nat. Prod. 63, 987-988.

Saito, R., 2005, 共立薬科大学修士論文.

Sanchez, I. J. F., Verpoorte, R., 2008. Secondary metabolism in cannabis. Phytochem. Rev. 7, 615-639.

Sang, S., Cheng, X., Stark, R. E., Rosen, R. T., Yang, C. S., Ho, C. T., 2002. Chemical studies on antioxidant mechanism of tea catechins: analysis of radical reaction products of catechin and epicatechin with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. Bioorg. Med. Chem. 10, 2233-2237.

Sasaki, H., Taguchi, H., Endo, T., Yosioka, I., Higashiyama, K., Otomasu, H., 1978. The glycosides of *Martynia louisiana* Mill. a new phenylpropanoid glycoside, martynoside. Chem. Pharm. Bull. 26, 2111-2121.

Sawai, Y., 2007. NMR analytical approach to clarify the molecule mechanisms of the antioxidative and radical-scavenging activities of antioxidants in tea: reaction of polyphenols with stable free radicals. 野菜茶業研究所研究報告 6, 23-58.

Schilmiller, A. L., Last, R. L., Pichersky, E., 2008, Harnessing plant trichome biochemistry for the production of useful compounds. The plant journal 54, 702-711.

Schaus, S. E., Brandes, B. D., Larrow, J. F., Tokunaga, M., Hansen, K. B., Gould, A. E., Furrow, E. M., Jacosen, E. N. 2002. Highly selective hydrolytic kinetic resolution of terminal epoxides catalyzed by chiral (salen)CoIII complexes. Practical synthesis of enantioenriched terminal epoxides and 1,2-diols, 124, 1307-1315.

Schulz, D. J., Cahoon, E. B., Shanklin, J., Craig, R., Foster, D. L. C., 1996. Expression of Δ^9 14:0-acyl carrier protein fatty acid desaturase gene is necessary for the production of ω^5 anacardic acid found in pest-resistant geranium (*Pelargonium x hortorum*). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 8771-8775.

Seipold, L., Gerlach, G., Wessjohann, L., 2004. A new type of floral oil from *Malpighia coccigera* (Malpighiaceae) and chemical considerations on the evolution of oil flowers. Chem. Biodivers. 1. 1519-1528.

Severson, R. F., Arrendale, R. F., Chortyk, O. T., Green, C. R., Thome, F. A., Stewart, J. L., Johnson, A. W., 1985. Isolation and characterization of the sucrose esters of the cuticlar waxes of green tobacco leaf. J. Agric. Food Chem. 33, 870-875.

Sharma, S., Sangwan, N. S., Sangwan, R. S., 2003. Developmental process of essential oil glandular trichome collapsing in menthol mint. Current Science 84, 544-550.

Shoyama, Y., 2008, 大麻研究. 長崎国際大学論業 8, 265-274.

Shulz, S., Toft, S., 1993. Branched long chain alkyl methyl esters: a new class of lipids from spider silk. Tetrahedron 31, 6805-6820.

Siebert, D. J., 2004. Localization of salvinorin A and related compounds in glandular trichomes of the psychoactive sage, *Salvia divinorum*. Ann. Botany 93, 763-771.

Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D. J., 2005, Spectroscopic identification of organic compounds, 7th edition, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey.

Simirgiotis, M. J., Jiménez, C., Rodríguez, J., Giordano, O. S., Tonn, C. E., 2003. New dammarane triterpenes from the aerial parts of *Ibicella lutea* growing in Argentina. J. Nat. Prod. 66, 1586-1592.

Simon, A., Tóth, N., Tóth, G., Kele, Z., Groska, J., Báthori, M., 2009. Ecdysteroids from *Silene viridiflora*. Helv. Chim. Acta 92, 754-761.

Šmejkal, K., Grycová, L., Merek, R., Lemiére, F., Jankovská, D., Forejtníková, H., Vanco, J., Suchy, V., 2007. *C*-Geranyl compounds from *Paulownia tomentosa* Fruits. J. Nat. Prod. 70, 1244-1248.

Šmejkal, K., Chudík, S., Kloucek, P., Merek, R., Cvacka, J., Urbanová, Julínek, O., Kokoska, L., Slapetová, T., Holubová, P., Zima, A., Dvorská, M., 2008. Antibacterial *C*-geranylflavonoids from *Paulownia tomentosa* fruits. J. Nat. Prod. 71, 706-709.

Slade, D., Ferreira D., Marais, J. P. J., 2005. Circular dichroism, a powerful tool for the assessment of absolute configuration of flavonoids. Phytochemistry 66, 2177-2215.

Snyder, J. C., Guo, Z., Thacker, R., Goodman, J. P., Pyrek, J. S., 1993. 2,3-Dihydroxyfarnesoic acid, a unique terpene from trichomes of *Lycopersicon hirsutum* repels sipider mites. J. Chem. Ecol. 19, 2981-2997

Soo, K. E., Mahlberg, P. G., 1997. Cytochemical localization of cellulase in glandular trichomes of *Cannabis* (Cannabaceae). J. Plant Biol. 40, 61-66.

Spring, O., Benz, T., Ilg, M., 1989. Sesquiterpene lactones of the capitate glandular trichomes of *Helianthus annuus*. Phytochemistry 28, 745-749.

Spring, O., Vargas, D., Fischer, N. H., 1991a. Sesquiterpene lactones and benzofurans in glandular trichomes of three *Pappobolous* species. Phytochemistry 30, 1861-1867.

Spring, O., 1991b. Sesquiterpene lactones from *Helianthus* tuberosus. Phytochemistry 30, 519-522.

Spring, O., Heil, N., Vogler, B., 1997. Sesquiterpene lactones and flavanones in *Scalesia* species. Phytochemistry 46, 1369-1373.

Spring, O., 2000. Chemotaxonomy based on metabolites from glandular trichomes. Adv. Botani. Res. 31, 153-174.

Spring, O., Zipper, R., Reeb, S., Vogler, B., Da Costa, F. B., 2001. Sesquiterpene lactones and myoinositol from glandular trichomes of *Viguiera quinqueremis* (Heliantheae; Asteraceae). Phytochemistry 57, 267-272.

Spring, O., Zipper, R., Conrad, J., Vogler, B., Klaiber, I., Da Costa, F. B., 2003. Sesquiterpene lactones from glandular trichomes of *Viguiera radula* (Heliantheae; Asteraceae). Phytochmiestry 62, 1185-1189.

Takabayashi, J. 植物はなぜ話すのか? 植物? 植食者? 捕食者三者相互作用ネットワーク. Aroma Res. 31: 76-81

Takahashi, K., Nakagawa, T., 1966. Studies on constituents of medicinal plants. VIII. The stereochemistry of paulownin and isopaulownin. Chem. Pharm. Bull. 14, 641–647.

Tao, H., Hao, X., Liu, J., Ding, J., Fang, Y., Gu, Q., Zhu, W., 2008. Resin glycosides constituents of *Ipomoea pes-caprae* (Beach Morning Glory). J. Nat. Prod. 71. 1998-2003

Taura, F., Syoyama, Y., Morimoto, S., 2005. 大麻幻覚成分 THCA の生合成研究. 生物物理 45, 178-184.

Tellez, M. R., Canel, C., Rimando, A. M., Duke, S. O. 1999. Differential accumulation of isoprenoids in glanded and glandless *Artemisia annua* L. Phytochemistry 52, 1035-1040.

Terao, J., Nagao, A., Park, D. K., Lim, B. P., 1992. Lipid hydroperoxide assay for antioxidant activity of carotenoids. Method Enzymol. 213, 454-461.

The Angiosperm Phylogeny group, 2003. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Botanical J. Linnean Soc. 141, 399–436.

Tripp, E. 2006. Brillantaisia. Version 13 November 2006. http://tolweb.org/ *Brillantaisia*/ 65588/2006.11.13 in The Tree of Life Web Project, http://tolweb.org/

Tulloch, A.P., 1978. Carbon-13 NMR spectra of all the isomeric methyl hydroxy- and acetoxyoctadecanoates. Determination of chemical shifts by deuterium isotopic effects. Org. Mag. Res. 11, 109–161.

Tu, L., Zhao, Y., Yu, Z. Y., Cong, Y. W., Gang, X., Peng, L. Y., Zhang, P. T., Cheng, X., Zhao, Q. S., 2008. Six new dammarane triterpenoids from *Viburnum cylindricum*. Helv. Chim. Acta 91, 1578-1587.

Turner, G., W., Gershenzon, J., Croteau, R. B., 2000a. Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of Peppermint. Plant Physiol. 124, 655-663.

Turner, G., W., Gershenzon, J., Croteau, R. B., 2000b. Development of peltate glandular trichomes of Peppermint.. Plant Physiol. 124, 665-679.

Varentino, G. S., Bisio, A., Cornara, L., Ciarallo, G., 1997. Structure and histochemical investigation of the glandular trichome of *Salvia aurea* L. leaves, and chemical analysis of the essential oil. Ann. Botany 79, 329-336.

Walter, 1996 Living on Leaves: Mites, Tomenta, and Leaf Domatia. Ann. Rev. Entomol. 41, 101-114.

Werker, E., Putievsky, E., Ravid, U., Dudai, N., Katzir, I., 1993. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). Ann. Botany 71, 43-50.

Werker, E., 2000. Trichome diversity and development. Adv. Bota. Res., 31, 1-35.

Wollenweber, E., Schober, I., Schilling, G., Giner, F. J. A., Roitman, J. N., 1989. A geranyl α -pyrone from the leaf resin of *Diplacus aurantiacus*. Phytochemistry 28, 3493–3496.

Yamashita, H., Masuda, K., Kobayashi, T., Ageta, H., Shiojima, K., 1998. Dammarane triterpenoids from rhizomes of *Pyrrosia lingua*. Phytochemistry 49, 2461-2466.

Yamazaki, K., Iwashima, T., Kitajima, J., Gamou, Y., Yoshida, A., Tannowa, T., 2007. External and internal flavonoids from Madagascarian *Uncarina* species (Pedaliaceae). Biochem. System. Ecol. 35, 743-749.

Yin, H., He, J., Wang, B., Xu, L. 2007. Comparison research of content of the gallic acid in eight kinds of *Geranium*. Zhongyaocai 30, 637-638.

謝　　辞

本論文の作成、本研究の遂行にあたり、終始ご指導、ご助言を賜りました東京工業大学大学院理工学研究科 藤本善徳教授に心より感謝申し上げます。

各種スペクトルの測定において多くの有益なご助言とご指導を賜りました元東京工業大学大学院理工学研究科助手 原典行氏に感謝致します。

本研究を開始するきっかけや、植物微細構造に関して多くの有益なご助言を下さいました京都大学野生生物研究センター教授 幸島司郎博士ならびに小林佐和博士に感謝致します。

ゲラニルフラボノイド類のリポソーム中における抗酸化活性試験を行っていただきました、共立薬科大学助手（現慶応大学）高橋恭子博士に感謝致します。

本研究の対象である腺毛分泌物採取にあたり、植物体および腺毛分泌物採取にご協力いただきました、市川市立動植物園の皆様、京都府立植物園の平塚健一様ならびに職員の皆様、東京都薬用植物園の鈴木幸子様ならびに職員の皆様、福岡市立動植物園の皆様、名古屋市立東山動植物園の皆様に感謝申し上げます。

キバナツノゴマの種子をご提供くださいました、日本食虫植物研究会柴田千晶博士に感謝致します。

多くの絶対配置決定に用いた不斉試薬（*R*)-および（*S*)-2NMAをご提供いただきました、東京工業大学化学系 G-COE 特任教授 楠見武徳博士に感謝致します。

GC-MS 測定を行って下さいました東京工業大学理工学研究科物質科学専攻 大山清助教に感謝致します。

MALDI TOF-MS を測定させていただきました、東北大学大学院薬学研究科 山口雅彦教授に感謝致します。

本研究を進める上で、有益なご指摘、ご討論、ご協力をいただき、また、長期にわたり良い研究生活をともに過ごさせていただいた藤本研究室の現役の方々、またご卒業されたOB, OGの皆様方に感謝致します。

本研究を引き続き進めさせていただき、また有益なご指導をいただきました東北大学大学院薬学研究科 大島吉輝教授ならびに医薬資源化学分野のスタッフの皆様、学生の皆様に感謝致します。

最後に、長年に渡る研究生活を暖かく支援していただきました両親をはじめ家族に心から感謝いたします。

主論文

1. Geranylated flavanones from the secretion on the surface of the immature fruits of *Paulownia tomentosa*, T. Asai, N. Hara, S. Kobayashi, S. Kohshima, Y. Fujimoto, Phytochemistry, 69, 1234-1241 (2008).

2. Acylglycerols (=glycerides) from the glandular trichome exudate on the leaves of *Paulownia tomentosa*, T. Asai, N. Hara, S. Kobayashi, S. Kohshima, Y. Fujimoto, Helv. Chim. Acta, 92, 1473-1492 (2009).

3. Fatty acid derivatives and dammarane triterpenes from the glandular trichome exduates of *Ibicella lutea* and *Proboscidea louisiana*, T. Asai, N. Hara, Y. Fujimoto, Phytochemistry, 71, 877-894 (2010).

4. Cyclic fatty acyl glucosides from the glandular trichome exduate of *Silene gallica*, T. Asai, Y. Fujimoto, Phytochemistry, 71, 1410-1417 (2010).

5. 2-Acety-1-(3-glycosyloxyoctadecanoyl)glycerol and dammarane triterpenes in the exudates from secretary organs on the stipules and leaves of *Cerasus yedoensis*, T. Asai, Y. Fujimoto, Phytochemistry Lett. Available online 18 November 2010.

6. Cyclic glycolipids from the glandular trichome exudate of *Cerastium glomeratum*, T. Asai, Y. Nakamura, Y. Hirayama, K. Ohyama, Y. Fujimoto, submitted.

7. *n*-Octyl α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside derivatives from the glandular trichome exudate of *Geranium carolinianum*, T. Asai, T. Sakai, K. Ohyama, Y. Fujimoto, submitted.

参考論文

1. Further studies on the constituents of the gorgonian octocoral *Pseudopterogorgia elisabethae* collected in San Andres and Providencia islands, Colombian Caribbean: isolation of a putative biosynthetic intermediate leading to erogorgiaene, C. Duque, M. Puyana, L. Castellanos, A. Arias, H. Correa, O. Osorno, T. Asai, N. Hara, Y. Fujimoto, Tetrahedron, 62, 4205-4213 (2006).

2. Hyosmin, a new lignan from Hyocyamus niger L, A. S. Begum, S. Verma, M. Sahai, T. Asai, N. Hara, Y Fujimoto, J. Chem. Res., 675-677 (2006).

3. Apollineanin: a new flavanone from *Tephrosia apollinea*, A. Hisham, S. John, W. Shuaily, T. Asai, Y. Fujimoto, Nat. Prod. Res., 20, 1046-1052 (2006).

4. A new kaempferol diglycoside from *Datura suaveolens* Humb. & Bonpl. ex. Willd, A. S. Begum, M. Sahai, Y. Fujimoto, T. Asai, K. Schneider, G. Nicholson, R. Suessmuth, Nat. Prod. Res., 20, 1231-1236 (2006).

5. Hyosgerin, a new optically active coumarinolignan, from the seeds of *Hyosymus niger*, S. Begum, M. Sahai, R. Suessmuth, T. Asai, N. Hara, Y. Fujimoto, Chem. Pharm. Bull., 54, 538-541 (2006).

6. Radermachol and naphthoquinone derivatives from *Tecomella undulata*: complete 1H and 13C NMR assignments of radermachol with the aid of computational 13C shift prediction, P. Singh, P. Khandelwal, N. Hara, T. Asai, Y. Fujimoto, Ind. J. Chem. Sec B, 47B, 1865-1870 (2008).

7. Anti-herbivore structures of *Paulownia tomentosa*: morphology, distribution, chemical constituents, and changes during shoot and leaf development, S. Kobayashi, T. Asai, Y. Fujimoto, S. Kohshima, Ann. Botany, 101, 1035-1047 (2008).

8. Artabotryols A-E, new lanostane triterpenes from the seeds of *Artabotrys odoratissimus*, C. Gupta, S. Prasad, M. Sahai, T. Asai, N. Hara, Y. Fujimoto, Helv. Chim. Acta, 93, 1925-1932 (2010).