

博士論文

マメ科 *Bowdichia virgilioides* および  
ヒガンバナ科 *Crinum asiaticum* var. *japonicum* からの  
新規化学成分の探索

2020 年

遠藤 裕太



目次	1
略語	3
序論	4
本論	
第 1 章 ブラジル産薬用植物マメ科 <i>Bowdichia virgilioides</i> に含まれる化学成分の探索	
第 1 節 序論	11
第 2 節 <i>Bowdichia virgilioides</i> に含まれる化学成分の単離精製および構造解析	13
2-1 <i>Bowdichia virgilioides</i> に含まれる化学成分の単離精製	13
2-2 Sucupiranin A (1) の構造解析	19
2-3 Sucupiranin B (2) の構造解析	22
2-4 Sucupiranin C (3) の構造解析	23
2-5 Sucupiranin D (4) の構造解析	24
2-6 Sucupiranin E (5) の構造解析	26
2-7 Sucupiranin F (6) の構造解析	27
2-8 Sucupiranin G (7) の構造解析	29
2-9 Sucupiranin H (8) の構造解析	30
2-10 Sucupiranin I (9) の構造解析	32
2-11 Sucupiranin J (10) の構造解析	33
2-12 Sucupiranin K (11) の構造解析	34
2-13 Sucupiranin L (12) の構造解析	36
2-14 Sucupiranin M (13) の構造解析	38
2-15 Sucupiranin N (14) の構造解析	39
2-16 Sucupiranin O (15) の構造解析	41
2-17 Sucupiranin P (16) の構造解析	43
2-18 Sucupiranin Q (17) の構造解析	44
2-19 Sucupiranin 類の絶対立体構造の解析	46
第 3 節 単離化合物の生物活性試験	52
3-1 HeLa 細胞および HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験	52

3-2	LPS 誘導 NO 産生抑制試験	52
3-3	薬剤耐性 <i>Plasmodium falciparum</i> K1 株に対する抗マラリア活性試験	52
第 4 節 小括		54
第 2 章 高知県産薬用植物ヒガンバナ科 <i>Crinum asiaticum</i> var. <i>japonicum</i> に含まれる 化学成分の探索		
第 1 節 序論		55
第 2 節 <i>Crinum asiaticum</i> var. <i>japonicum</i> に含まれる化学成分の単離精製		58
2-1	<i>Crinum asiaticum</i> var. <i>japonicum</i> に含まれる化学成分の単離精製	58
2-2	Crijaponine A (21) の構造解析	61
2-3	Crijaponine B (22) の構造解析	63
2-4	Crijaponine 類の絶対立体構造の解析	65
第 3 節 単離化合物の生物活性試験		66
3-1	HeLa 細胞および HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験	66
3-2	アセチルコリンエステラーゼ阻害活性試験	66
第 4 節 小括		68
総括		69
実験の部		
第 1 章に関する実験の部		71
第 2 章に関する実験の部		78
謝辞		82
参考文献		84
主論文目録		90
学位論文審査委員		91

## 略語

AchE	: AcetylCholinEsterase
CHCl <sub>3</sub>	: Chloroform
CIMS	: Chemical Ionization Mass Spectrometry
COSY	: COrrelation SpectroscopY
DEPT	: Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	: DiMethyl SulfOxide
ECD	: Electronic Circular Dichroism
ESIMS	: ElectroSpray Ionization Mass Spectrometry
EtOAc	: Ethyl acetate
FABMS	: Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry
FBS	: Fetal Bovine Serum
HMBC	: Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy
HSQC	: Heteronuclear Single-Quantum Correlation spectroscopy
IR	: InfraRed
LPS	: LipoPolySaccharide
MeCN	: Acetonitrile
MEM	: Minimum Essential Media
MeOH	: Methanol
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance
NO	: Nitric Oxide
NOESY	: Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
ODS	: Octa Decyl Silyl
TLC	: Thin-Layer Chromatography

## 序論

現在、医薬は我々の生活に欠かせない役割を担っており、人類の進歩とともに医薬も進歩を遂げてきた。人々は、薬草や薬用植物と呼ばれる草、根、木、皮などを主とする「生薬」を直接的に医薬として利用してきた。古くは紀元前から、四大文明が興った時代において、植物の乾燥物をそのままもしくは加工して医薬として利用していたことがわかっている。<sup>[1-1, 1-2]</sup>

やがて、技術の進歩とともに、それらを素材から抽出、単離精製操作を行うことで、純粋な化合物として取り扱うようになった。例えば、18世紀後半になると、酒石酸や乳酸などの有機酸類が発見され、19世紀に入ると、*nicotine*, *carotene*, *quinine*, *morphine* 等が単離され、現在でも医薬として利用される化合物が、既に発見されていた。

さらに、有機合成化学、分光学や薬理学などの進歩に伴い、その化合物の化学構造が明らかにされ、薬理活性についても詳細に研究されることで、医薬となる重要な素材、すなわちリード化合物としての価値が見出され、磨かれることで、医薬として世の中に貢献してきた。また、安定的な供給を行うために、素材からの抽出ではなく、有機合成による工業規模での生産体制を構築することにより、安定的な供給も可能としてきた<sup>[1-2]</sup>。

その結果、臨床で用いられている抗がん剤や感染症に対する医薬は、植物や菌類の二次代謝産物として見出されたものも多く、植物由来であれば *Taxus brevifolia* 由来の *paclitaxel*<sup>[1-3]</sup>, *Vinca rosea* 由来の *vincristine*, *Artemisia annua* 由来の *artemisinin*, 放線菌由来であれば *Streptomyces* 属から単離された *doxorubicin* や *mitomycin C* などがある (Figure 1)。

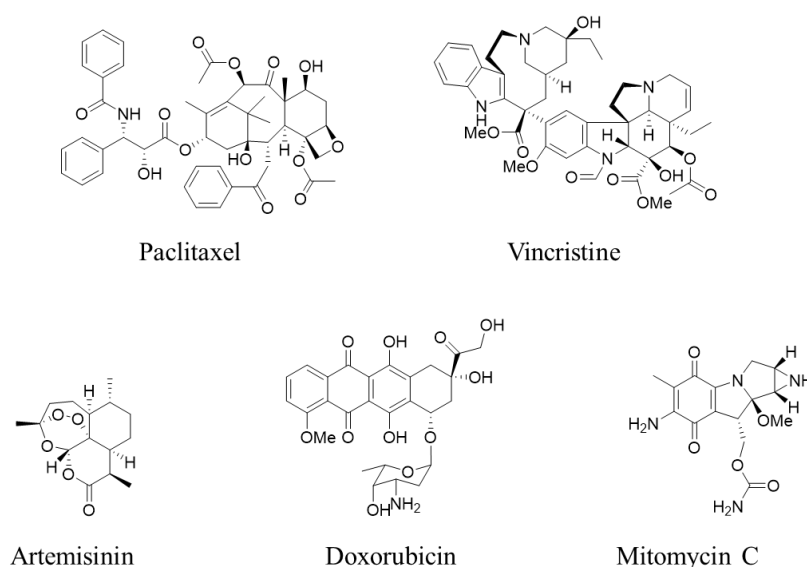
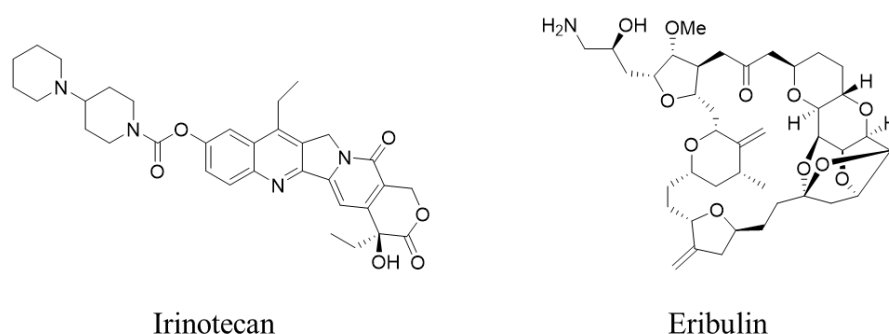


Figure 1. 天然物由来の医薬

また、天然物の構造を元にして、化学的に構造を改変した誘導体も多く存在し、例えば *Camptotheca acuminata* 由来の camptothecin を改良した irinotecan, *Halichondria* 属 *Halichondria okadai* 由来の halichondrin B を改良した eribulin などがあり、これらはいわゆる低分子医薬に分類される (Figure 2)。



**Figure 2.** 天然物を元に設計した医薬

一方で、昨今では低分子医薬ではなく、いわゆるタンパク質や抗体を医薬として用いる高分子医薬の需要が高まっている。例えば、2001年の医療用医薬品世界売上ランクにおいては、1位 Lipovas® (低分子)、2位 Lipitor® (低分子)、3位 Omepral® (低分子) と低分子が売上高上位を独占しており、売上10位までを見ても、高分子医薬は Erythropoietin 製剤である Procrit®のみである<sup>[1-4]</sup>。一方で、2016年の売上高においては、1位 Humira® (高分子, モノクローナル抗体)、2位 Enbrel® (高分子, モノクローナル抗体)、3位 Harvoni® (低分子) となっており、10位までには8つの高分子バイオ医薬品がランクインしており<sup>[1-5]</sup>、売上高からもそれを伺い知ることができる。

ここで、低分子医薬品と高分子医薬を比較すると、例えば次のようなメリットとデメリットがある。

- 低分子医薬は薬価が低めである。すなわち開発や生産にかかるコストが低いが、標的選択性が低く、副作用などの懸念がある。
- 高分子医薬は薬価が高めである。すなわち開発や生産にかかるコストは高いが、標的選択性が高い。

そのため、売上高ベースの観点では、高分子医薬が主となっていくことが予想されるが、汎用的な医薬や、我々の身近で用いられる医薬と言う観点では、今後も低分子医薬の需要が尽きることは無く、新たな低分子医薬の開発も推進されると考える。

さらに、低分子医薬単品や高分子医薬単品ではなく、抗体薬物複合体医薬も上市が進み、開発を進める製薬メーカーが増加している<sup>[1-6]</sup>。抗体薬物複合体医薬は、「抗体」、「リンカー」そして「低分子医薬」の3部位で構成されており (Figure 3)、抗体が持つ標的

選択性の高さを利用して、リンカーで結合した低分子医薬を標的部位まで運搬し、そこで低分子医薬が効果を発揮する医薬である。

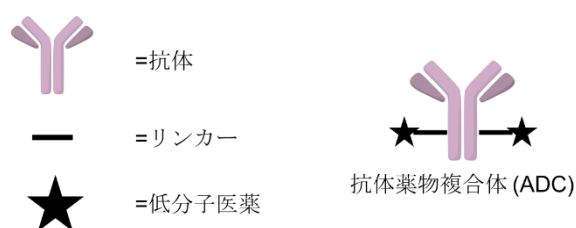


Figure 3. 抗体薬物複合体医薬模式図

例えば、ファイザー社の Mylotarg®は、モノクローナル抗体とリンカー、そして天然物である calicheamicin を元にした誘導体 ozogamicin を結合させた抗体薬物複合体医薬である。また、エーザイ社は、抗葉酸受容体  $\alpha$  抗体と、前述の抗がん剤である eribulin を結合した抗体薬物複合体医薬を、2019 年現在臨床フェーズIにて検討を進めている<sup>[1-7]</sup>。

更に、最近では、抗体薬物複合体に用いるリンカー部分を多機能化することにより、1種の抗体に複数の作用機序が異なる低分子医薬を結合させることで、薬剤耐性がんの治療手段になりうるとして研究が進められている。すなわち、様々な異なる作用機序を有する低分子医薬が求められている<sup>[1-8, 1-9]</sup>。

すなわち、低分子医薬は、抗体薬物複合体のパーツとして見直されており、今後も研究機関および製薬メーカーの研究開発対象となると考える。以上より、高分子医薬が台頭する現在においても、低分子医薬の重要性は過去と変わらず、身近で安価な医薬から最先端の抗体薬物複合体医薬まで、幅広い応用が期待される。

また、医薬を製造するという観点でも、低分子医薬の製造方法は進歩を遂げてきた。例えば、インフルエンザ治療薬のタミフル®は、有機分子触媒を用いた反応をキー反応として、ワンポットでの不斉全合成が達成されており<sup>[1-10]</sup>、複数の反応器を使用していた従来法からワンポット反応になることで、製造プロセスにおける熱エネルギー削減や廃溶媒削減による環境負荷低減、天然物を原料としないことによる安定供給を実現している。

また、反応に用いる試薬や触媒だけでなく、デバイスや装置も進化している。例えば、通常のフラスコ型反応器では実現できなかった反応を、フローマイクロリアクターを用いることで実現し、医薬中間体の効率的な合成の報告も増加してきている<sup>[1-11, 1-12]</sup>。この技術は、フラスコ型反応器では不可能な迅速混合や迅速伝熱、精密な滞留時間制御を利用することで、反応選択性の向上や、不安定な中間体を系中で発生させてそのまま次の反応に供することを可能にした。これにより、無保護での反応、反応ステップ数削減、生成物の物性の精密コントロールが見込まれており、低分子化合物から高分子化合物まで、適用例が数多く報告されている<sup>[1-13, 1-14, 1-15, 1-16]</sup>。また、フローマイクロリアクターは大規模な受託合成サービスにおいても採用され始めており、医薬中間体の高効率な合成



方法は多様化することが見込まれる<sup>[1-17]</sup>。

以上の様に、低分子医薬の需要に合わせて、製造する方法についても研究開発が進んでおり、これまで合成が困難であった低分子医薬や、製造コストが見合わず供給できなかった低分子医薬についても、上市の可能性が期待できる。

また一方で、天然化合物は、医薬としてではなく、身近な健康食品としての需要も大きい。これは、既に食経験が豊富であることから、医薬ほど強力な活性を有していない反面、安全性が高いため、一般利用しやすいという利点がある。例えば、日本茶に多く含まれる polyphenol の一種である catechin 類は、抗酸化作用<sup>[1-18]</sup>、抗炎症作用<sup>[1-19]</sup>などが報告されている他、内臓脂肪を減少させる効果があり<sup>[1-20]</sup>、花王社から高濃度茶カテキン配合飲料ヘルシア®として広く販売されている。

さらに、トマトに含まれる carotenoid 類の一種である lycopene にも、抗がん作用や<sup>[1-21]</sup>、花粉症の改善作用も報告されており、lycopene を主成分としたサプリメントが多数販売されている。

近年になっても、一般的な食材からの、新たな生物活性化合物の単離報告は数多く報告されており、タマネギ (*Allium fistulosum*) からは、抗腫瘍効果を有する onionin 類や、低酸素/再酸素化による HUVEC 細胞障害の阻害能を有する fistulosaponin 類が報告されている<sup>[1-22,1-23]</sup>。また、菌糸類であるエリンギ (*Pleurotus eryngii*) からは、抗炎症作用を有する pleurocin 類や、eringiacetal A が報告されている (Figure 4)<sup>[1-24]</sup>。

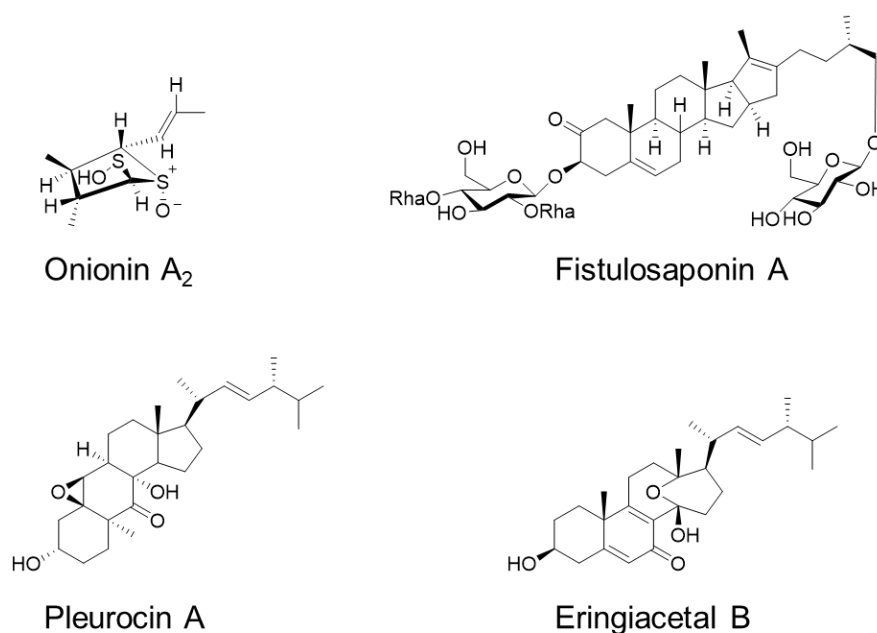


Figure 4. 一般的な食材から単離された生物活性化合物

以上のように、伝承医薬からだけでなく、日常の中で利用してきた食材からも、有用

な天然化合物の発見は続いており、その成分の探索や、含有化合物の活性を明らかにすることは、我々の生活を豊かにするうえで欠かせないものである。

今、低分子医薬は将来的にも需要があり、製造方法を含めて研究開発が進められていることを述べた。しかし、それらの需要に応えるためには医薬のシードが必要である。文頭において、植物や菌の二次代謝産物を抽出および単離精製し、その科学的構造や生物活性を明らかにすることで、低分子医薬の元となってきたことを述べた。現代においても、未だ発見されず、従来の医薬よりも有効な生理活性を持つ化合物が、天然には多く存在すると考えられており、創薬リード化合物探索という観点から、植物に含まれる化合物の研究は現在でも幅広くおこなわれている。また、それらの薬用植物の成分を詳細に解析し、未知の構造を持つ化合物にどのような有用な活性があるのかを研究することは、創薬において重要であるとともに、天然物そのものが医薬として利用されなくても、構造活性相関などを通じてフォーマコフォアとして新しい知見を得る助けになると考える。

筆者が所属する研究室では、人類の健康な生活に貢献することを目的として、世界各地から 2,000 種を超える薬用植物を収集し、がんや認知症などの難治疾患に対して有効な植物エキスを見出し、新しい有効成分の構造を明らかにする研究をおこなっている。

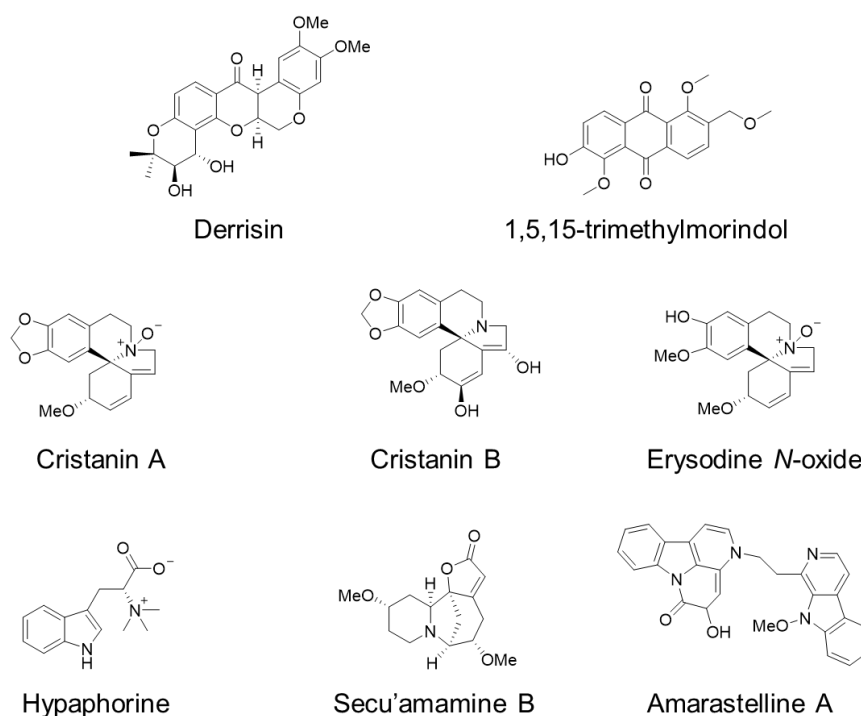
特に熱帯、亜熱帯産の植物に着目し、成分探索を行っており、熱帯、亜熱帯産植物を選定する理由は以下に示す 3 点がある。

1. 植物の多様性が豊富であり、成分未探索の植物種が多い
2. 伝承医薬として、古くから用いられている薬用植物が豊富である
3. 成分探索に用いる植物検体を、多量に入手しやすい

本研究室では、熱帯、亜熱帯産の植物を中心とし、様々な含有成分の単離、構造解析や、その生理活性や物性を明らかにしてきた (Table 1, Figure 5)。

**Table 1.** 当研究室で単離された化合物の一部<sup>[1-25-1-31]</sup>

原産地	科名	学名	化合物	生物活性
ブラジル	<i>Leguminosae</i> (マメ科)	<i>Derris malaccensis</i>	Derrisin (Rotenoid)	抗ヘリコバクター ピロリ活性
日本 (沖縄)	<i>Rubiaceae</i> (アカネ科)	<i>Morinda citrifolia</i>	1,5,15-trimethylmorindol (Anthraquinone)	TRAIL活性
ブラジル	<i>Leguminosae</i> (マメ科)	<i>Erythrina crista-galli</i>	Cristanine A, B (Erythrinan alkaloid)	抗炎症活性
ブラジル	<i>Leguminosae</i> (マメ科)	<i>Erythrina velutina</i>	Hypaphorine (Indole alkaloid) Erysodine N-oxide (Erythrinan alkaloid)	睡眠導入活性 TRAIL活性
ブラジル	<i>Simaroubaceae</i> (ニガキ科)	<i>Quassia amara</i>	Amarastelline A (Canthin and carboline Alkaloid)	細胞蛍光染色機能
日本 (奄美)	<i>Euphorbiaceae</i> (トウダイグサ科)	<i>Securinega suffruticosa</i> var. <i>amamiensis</i>	Secu'amamine B-D (Securinega alkaloid)	殺細胞活性



**Figure 5.** 当研究室で単離，構造解析された化合物

単離，構造解析を行ってきた化合物の種類は多岐にわたっており，それらの化合物が有する活性も抗菌活性，抗炎症活性から睡眠導入活性まで様々であることを報告してきた。また，生物活性だけでなく，Amarastelline A の様に，細胞に対する蛍光染色作用を有する，化学プローブとなる天然化合物まで，非常に幅広い範囲の植物成分を報告している。

また，同時に，天然物由来の化合物は多種多様な炭素骨格を有しており，その生物活性は未知なものが多い。さらに，コンビナトリアルケミストリーに代表されるような，網羅的合成手法ではカバーできていない構造についても，天然由来の化合物には存在する可能性も高い。すなわち，天然から得られた化合物のライブラリー化にも大きな価値がある。例えば，国内でも，アカデミアにおいては，東京医科歯科大学生体材料工学研究所内に，「医療機能分子開発室」を設置し，天然物を含む化合物ライブラリーを一般的に公開および利用促進を図っている。産業界においては，2011年に「次世代天然物化学技術研究組合」が発足され，武田薬品工業社やエーザイ社と言った製薬会社から，味の素社や花王社と言ったメーカーまでが組合員として，天然物由来の化合物を含む化合物ライブラリーの維持，拡充に努めている。

そこで，本研究では，南アメリカブラジル産 *Bowdichia virgilioides* および 高知県産 *Crinum asiaticum* var. *japonicum* の二種の植物成分について新規化学成分の探索

を行うとともに、これらの植物に含まれる成分の生物活性を調査およびライブラリー化を目的として研究活動を行った。

## 本論

### 第1章 ブラジル産薬用植物マメ科 *Bowdichia virgilioides* に含まれる化学成分の探索研究

#### 第1節 序論

マメ科に属する *Bowdichia virgilioides* は、南アメリカの熱帯地域に広く分布する薬用植物である。現地では、*sucupira* とも呼ばれ、その樹皮や種子の抽出物は、潰瘍、ヘルペス、梅毒、発熱、リウマチ、糖尿病、皮膚疾患など、様々な疾患に対する治療薬として使用されている。種子は、茶褐色をしており、直径 1-2 cm 程度の扁平状である (Figure 1-1)<sup>[2-1-1]</sup>。



Figure 1-1. *Bowdichia virgilioides* の種子

そのエキスの有効性については様々な報告があり、樹皮の水抽出物は、抗アレルギー活性<sup>[2-1-2]</sup>、エタノール抽出物は、口腔顔面痛を和らげる機能<sup>[2-1-3]</sup>、メタノール抽出物は、血糖降下作用が<sup>[2-1-4]</sup>、木部のシクロヘキササン抽出物が熱帯シマ蚊の幼虫に対する殺幼虫活性を有しており、その中の活性成分は *Maackiain* および *Medicarpin* であるといった報告がある<sup>[2-1-5]</sup>。さらに、葉部の精油成分には、*Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida stellatoidea*, *Micrococcus luteus*, *Trichophyton rubrum* などに対する抗微生物活性を有するといった報告もある<sup>[2-1-6]</sup>。

さらに、含まれる成分については、本植物の樹皮または木部からは、これまでに *ormosanine* 型アルカロイド、*homoormosanine* 型アルカロイド<sup>[2-1-8, 2-1-9]</sup>、*dihydrobenzofuran* 類<sup>[2-1-10]</sup>、*isoflavone* 類<sup>[2-1-11]</sup>、*isoflavone glucopyranoside* 類<sup>[2-1-12]</sup>の単離報告がある (Figure 1-2)。

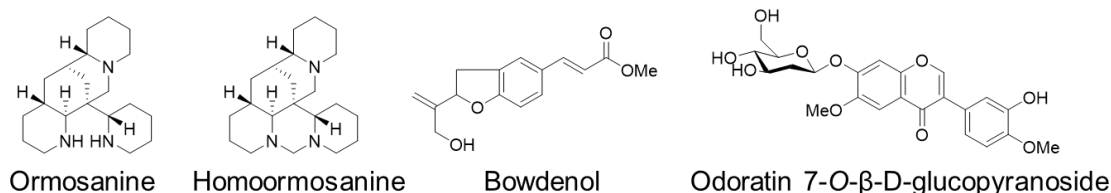
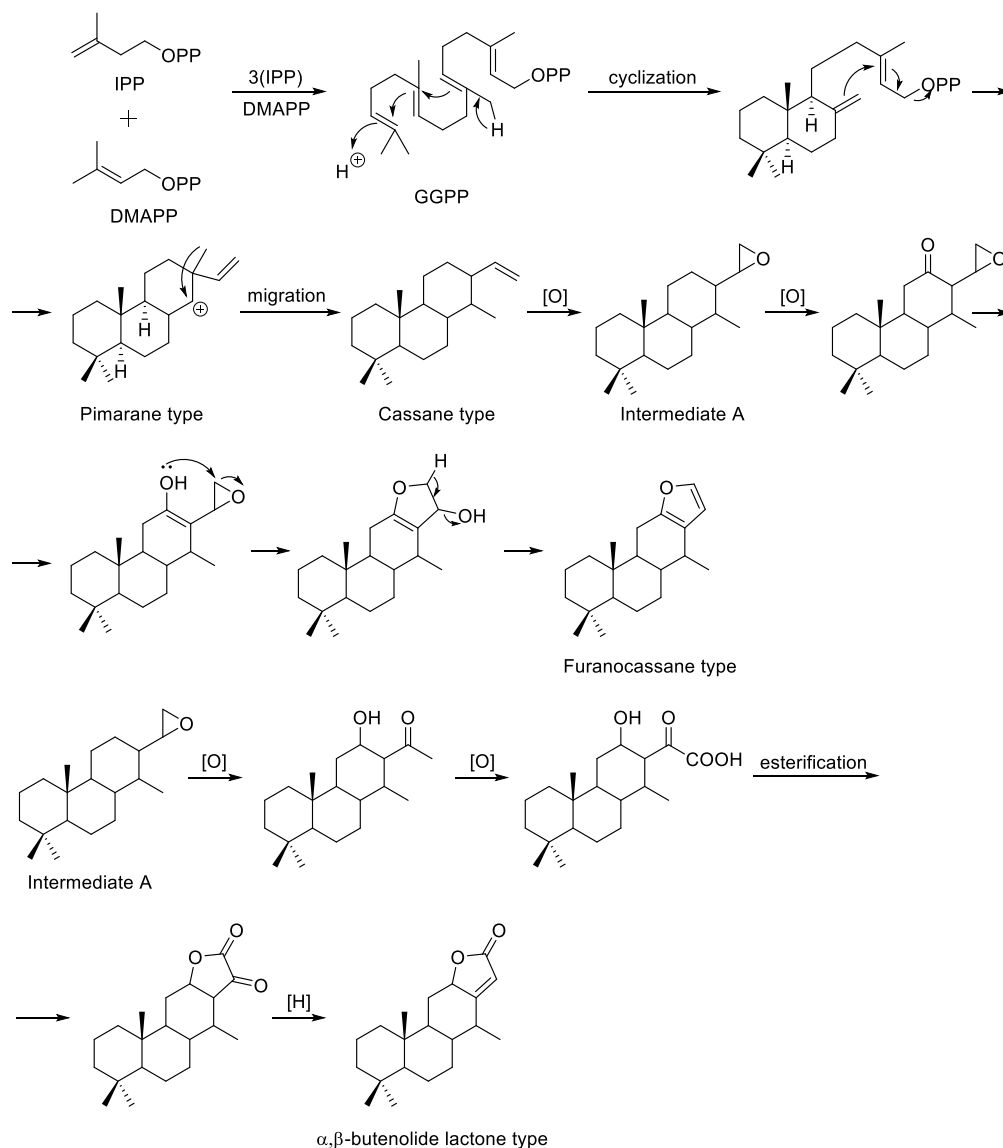


Figure 1-2. *B. virgilioides* から単離報告のある化合物群

しかしながら、種子部分に関する報告は少なく、種子の抽出物を用いた保湿用化粧品や<sup>[2-1-13]</sup>、ダイエットサプリメント<sup>[2-1-14]</sup>への用途特許が散見される程度である。

そこで、今回、*B. virgilioides*の種子部分について、含有成分を詳細に調査することを目的とし、実験を行った。成分分離においては、TLC用発色試薬である Ehrlich 試薬を用いた<sup>[2-1-15]</sup>。Ehrlich 試薬は、フラン部位やインドール部位を有する化合物と反応し、呈色する発色試薬である。本研究では、この Ehrlich 試薬の性質を利用して、**Figure 1-3**に示す生合成経路で合成される<sup>[2-1-16]</sup>、furanocassane 骨格 (vouacapan 骨格と称される場合もある) を有する化合物について、重点的に単離、精製した。また、得られた成分については、ヒトがん細胞である HeLa 細胞および HL-60 細胞に対する殺細胞毒性試験および抗マラリア原虫活性試験を実施した。



**Figure 1-3.** furanocassane 骨格の推定生合成経路

## 第2節 *Bowdichia virgilioides*に含まれる化学成分の単離精製および構造解析

### 2-1. *Bowdichia virgilioides*に含まれる化学成分の単離精製

*Bowdichia virgilioides* の種子を破砕し、MeOH に浸漬することで得られた溶液を、減圧濃縮し、MeOH 抽出物を得た。ここで得られた MeOH 抽出物は、薄い褐色で、粘性の高いオイル状物質であった。

続いて、MeOH 抽出物の一部について、ODS カラムクロマトグラフィーにより粗分画を実施した後、ODS-HPLC, LH-20 カラムクロマトグラフィーなどを繰り返し実施することで精製操作を行い、furanocassane 型ジテルペン *sucupiranin* A-F (**1-6**), H (**8**), I (**9**), M (**13**), P (**16**), Q (**17**) を得た。

また、残る MeOH 抽出物を *n*-hexane-90%MeOH 水溶液にて液-液分配を行い、得られた *n*-hexane 層および 90%MeOH 水溶液層を減圧濃縮した。ここで得られた 90%MeOH 水溶液層の濃縮残渣を水に溶解し、CHCl<sub>3</sub> 続いて EtOAc で液-液分配することにより、CHCl<sub>3</sub> 画分と EtOAc 画分を得た。

次に、得られた CHCl<sub>3</sub> 画分について、シリカゲルカラムクロマトグラフィーおよび ODS-HPLC にて精製操作を行い、*sucupiranin* G (**7**), J-L (**10-12**) および O (**15**) を、3 種の既知化合物 (**18-20**) と共に得た。

また、*n*-hexane 層の濃縮残渣について同様に精製操作を行うことで、*sucupiranin* N (**14**) を得た。

既知化合物 **18-20** は、<sup>1</sup>H NMR および <sup>13</sup>C NMR を文献値と比較することで、同定した<sup>[2-1-17]</sup>。それぞれ、6 $\alpha$ ,7 $\beta$ -dihydroxyvouacapan-17 $\beta$ -oate methyl ester (**18**), 6 $\alpha$ -acetoxy-7 $\beta$ -dihydroxyvouacapan-17 $\beta$ -oate methyl ester (**19**), 7 $\beta$ -acetoxy-6 $\alpha$ -hydroxyvouacapan-17 $\beta$ -oate methyl ester (**20**) であった。これらの既知化合物は、*B. virgilioides* と同じマメ科の *Pterodon* 属から単離報告があり、*Pterodon* 属からも、多様な furanocassane 型ジテルペンの単離報告がなされている。

加えて、*sucupiranin* A (**1**) について、MeOH および H<sub>2</sub>O の混合溶媒から再結晶を行うことで、単結晶を得た。また、*sucupiranin* J (**10**) について、*n*-hexane および CHCl<sub>3</sub> の混合溶媒からの再結晶により、単結晶を得た。

得られた新規化合物については、次項にて詳細な構造解析について記載する。

化合物リストを **Figure 1-4** に、分画のフローチャートを **Figure 1-5~1-11** に示す。詳細な分画操作については、実験の部に記載した。

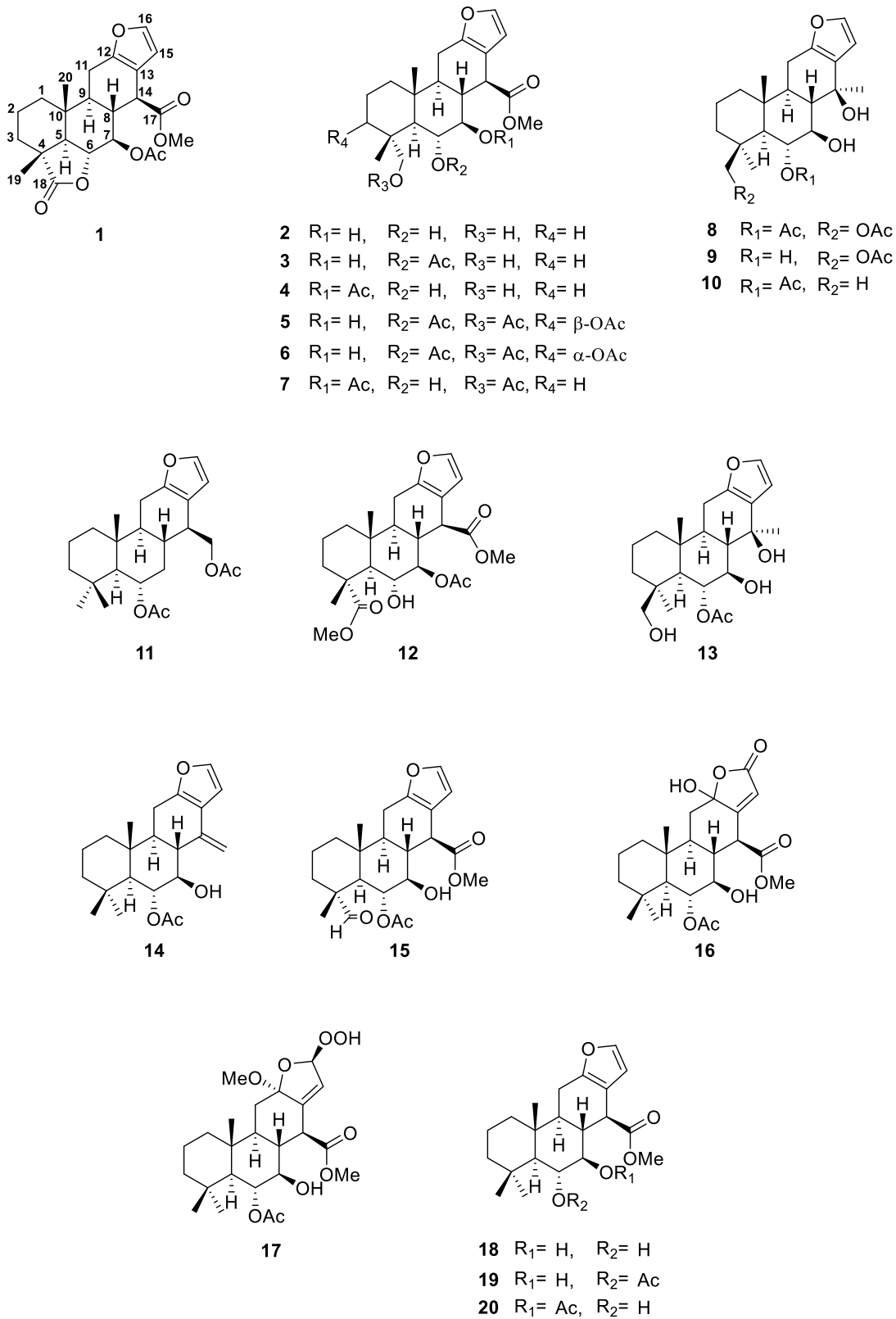


Figure 1-4. *B. virgilioides* から単離した化合物リスト



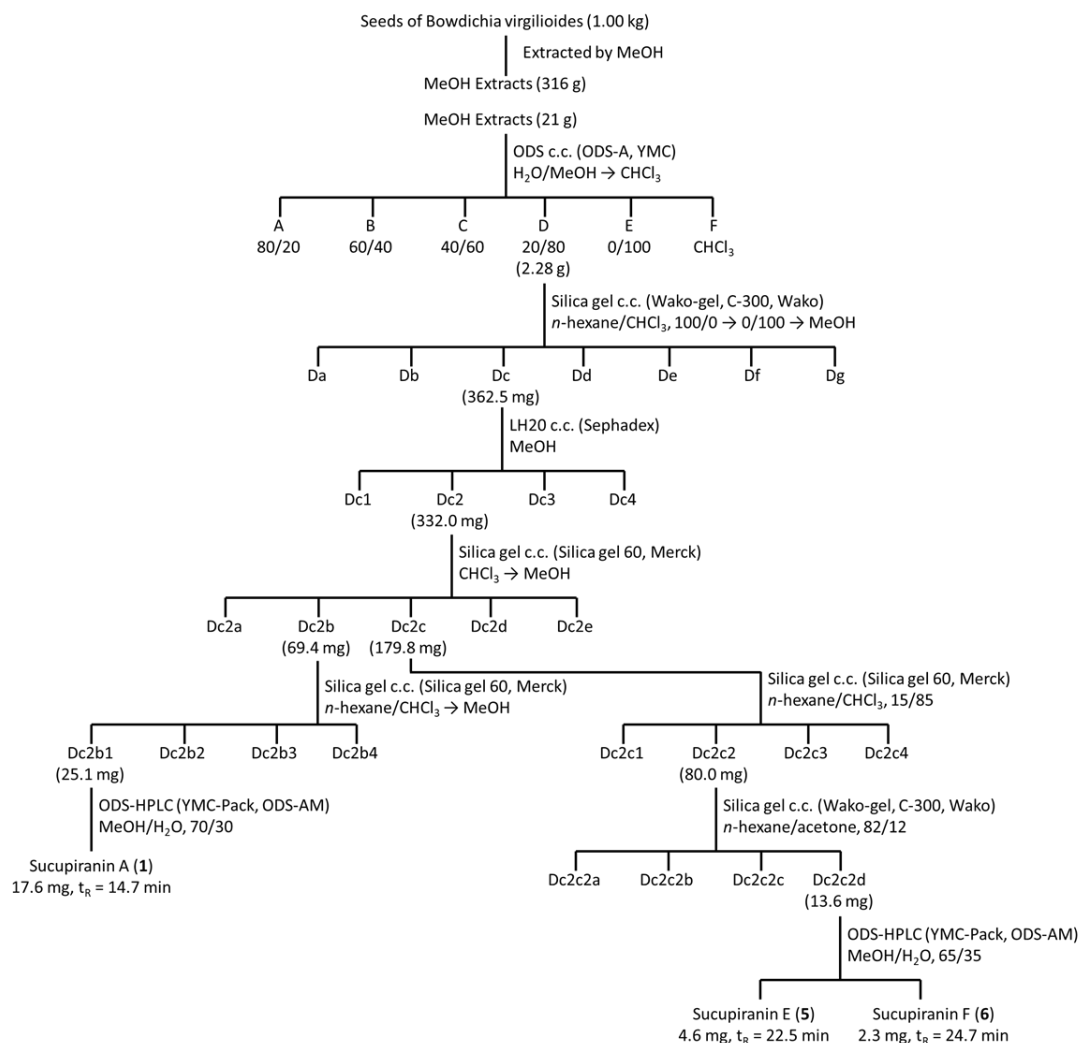


Figure 1-5. *B. virgilioides* の分画スキーム-1

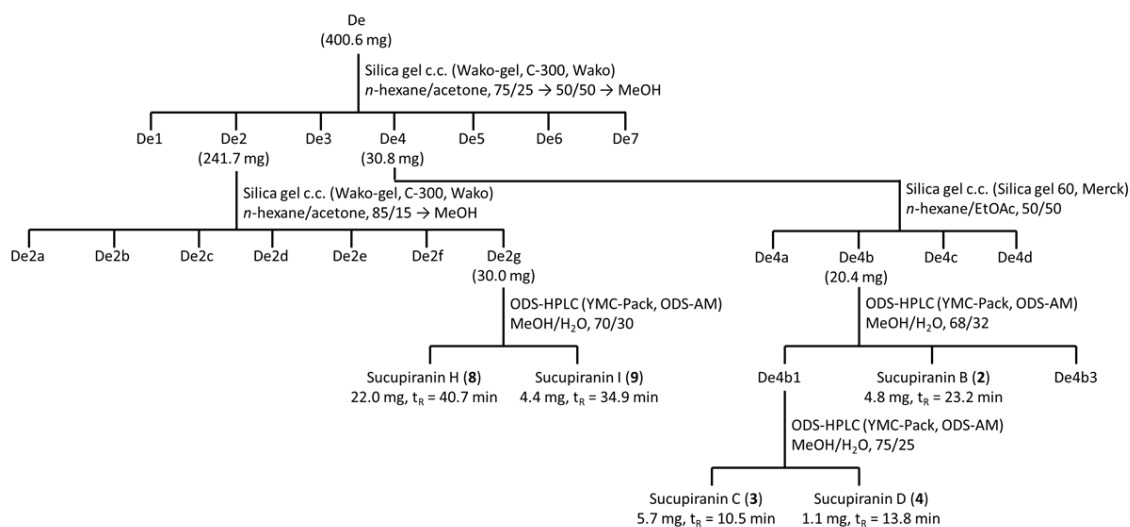
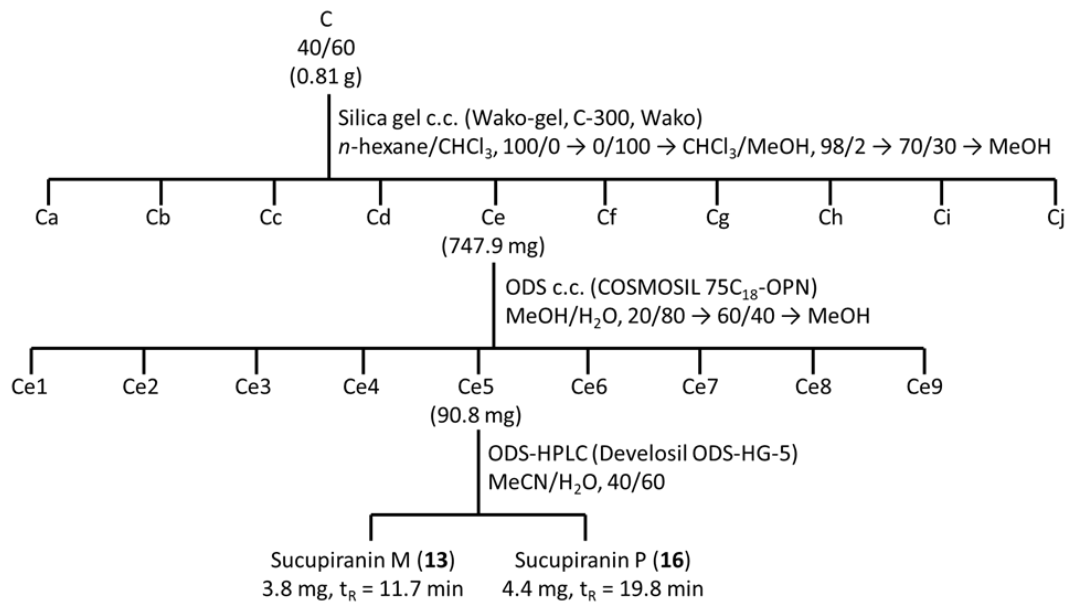
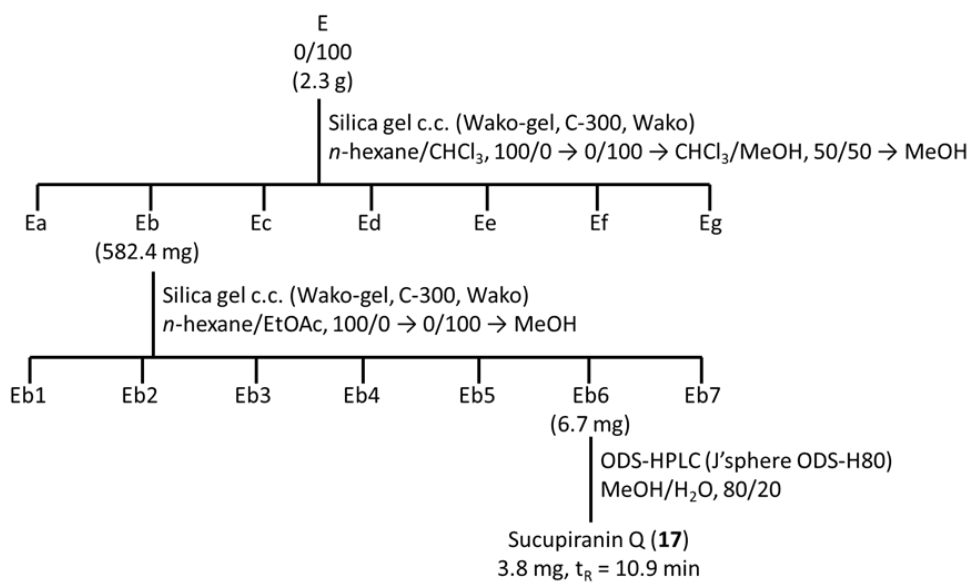


Figure 1-6. *B. virgilioides* の分画スキーム-2



**Figure 1-7.** *B. virgilioides* の分画スキーム-3



**Figure 1-8.** *B. virgilioides* の分画スキーム-4

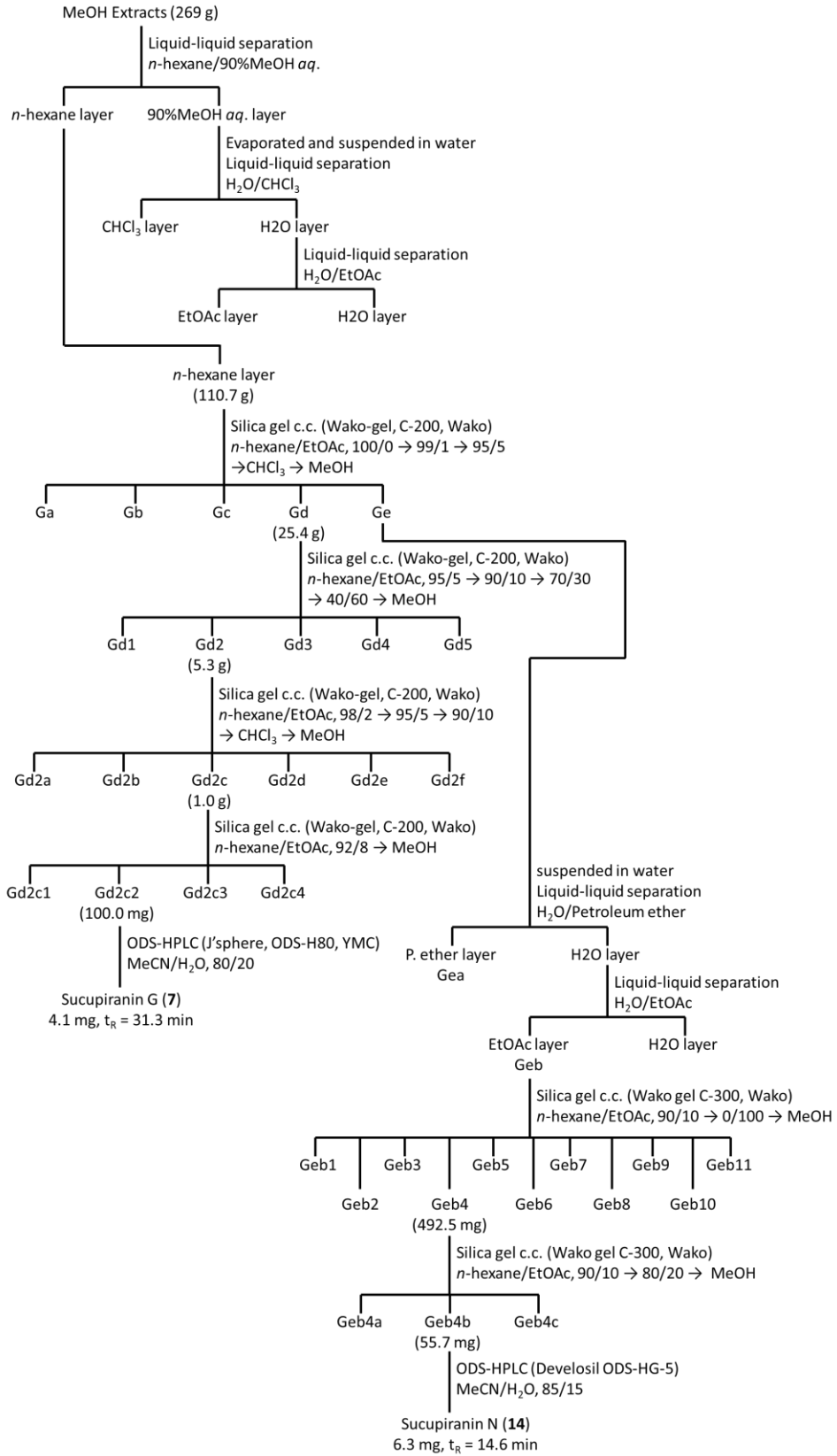


Figure 1-9. *B. virgilioides* の分画スキーム-5

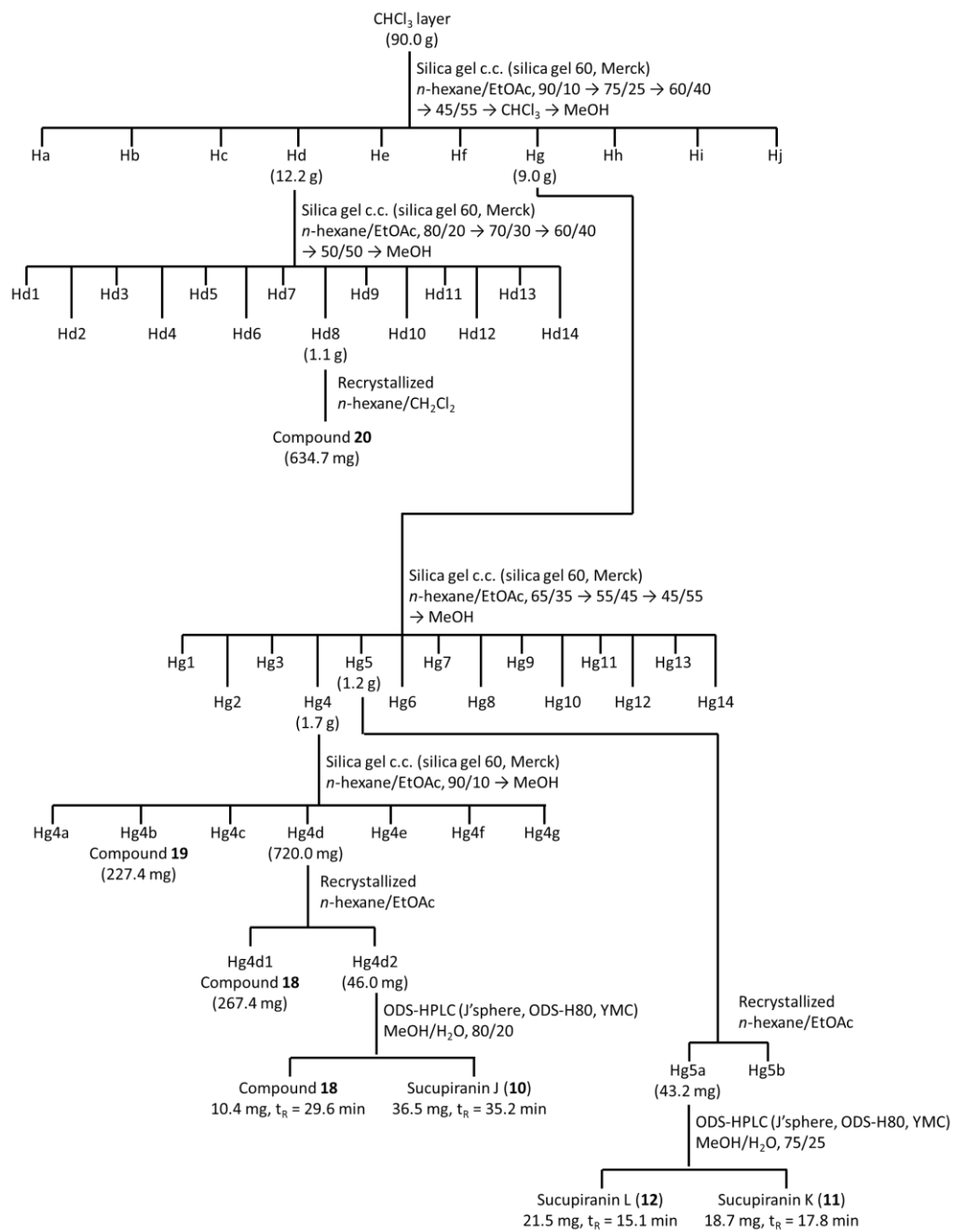


Figure 1-10. *B. virgilioides* の分画スキーム-6

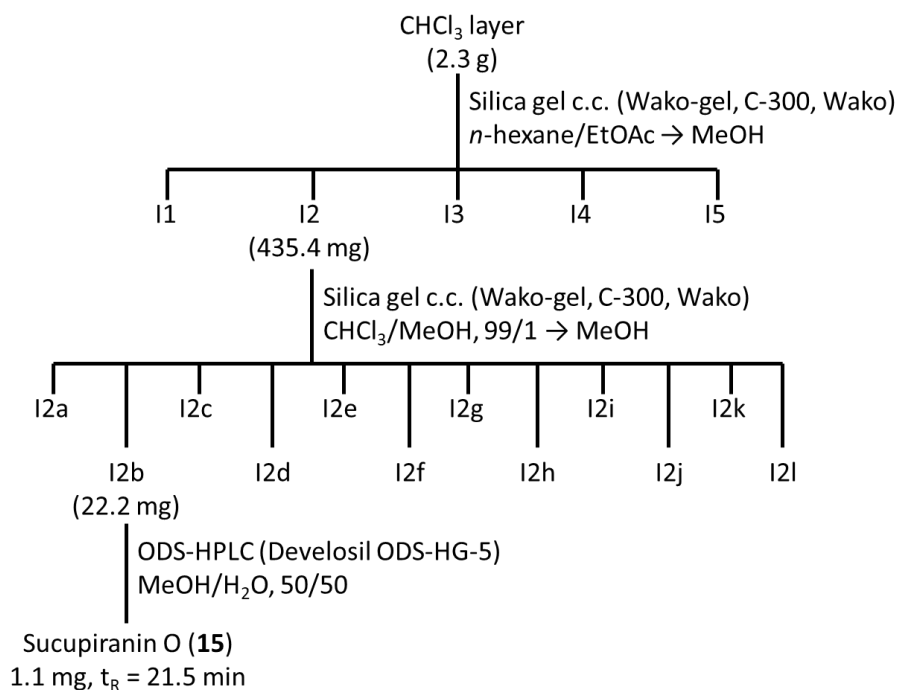


Figure 1-11. *B. virgilioides* の分画スキーム-7

## 2-2. Sucupiranin A (1) の構造解析

Sucupiranin A (1) は、無色結晶として得られた。高分解能 FABMS により、 $m/z$  417.1892 ( $[M+H]^+$ , calcd. for 417.1913) が観測されたため、分子式を  $C_{23}H_{28}O_7$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、1745 および  $1782\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、エステル基の存在が示唆された。

次に、平面構造について、1次元 NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT) および2次元 NMR ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC) を解析することにより推定した。 $^{13}\text{C}$  NMR の解析から、sucupiranin A は、アセチル基もしくはメチルエステル基を含む4つのメチル基、4つの  $\text{sp}^3$  メチレン基、4つの  $\text{sp}^3$  メチン基、酸素官能基が結合した2つの  $\text{sp}^3$  メチン基、1,2-二置換フラン部位に特徴的な2つの  $\text{sp}^2$  メチン基 ( $\delta_{\text{H}}$  6.15 (H-15) および 7.23 (H-16),  $\delta_{\text{C}}$  108.5 (C-15) および 141.7 (C-16)), 2つの  $\text{sp}^3$  4級炭素、フラン部位に特徴的な2つの  $\text{sp}^2$  4級炭素、3つのエステルカルボニル基 ( $\delta_{\text{C}}$  170.0 (7-OCOMe), 174.1 (C-17), 179.9 (C-18)) の存在が示唆された。また、分子式から算出した不飽和度は10であるが、そのうちの6はフラン部位および3つのカルボニル基に由来するため、残りの不飽和度4はラク톤部位を含む4つの環状構造に由来すると考えた。 $^1\text{H}$  および  $^{13}\text{C}$  NMR の化学シフト値リストを **Table 1-1** に示す。

$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY スペクトルから、 $\text{H}_2$ -1~ $\text{H}_2$ -3, H-5~H-9, H-9 と  $\text{H}_2$ -11, H-8 と H-14, H-15 と H-16 の結合が示唆された。続いて、HMBC スペクトルの解析において、 $\text{H}_3$ -19 から

C-3, C-4, C-5 および C-18 への相関より, C-4 は C-3, C-5, C-18 および C-19 と, H<sub>3</sub>-20 から C-1, C-5, C-9 および C-10 への相関より, C-10 は C-1, C-5, C-9 および C-20 と, H-14 から C-7, C-12, C-13 および C-17 への相関より, C-14 は C-8, C-13 および C-17 と結合していることが推定された。さらに, H<sub>2</sub>-11 から C-9 および C-10 への相関より, C-10 および C-11 は, C-9 を介して結合していることが推定された。加えて, H-15 および H-16 から C-12, C-13, C-15 への相関より, 1,2-二置換フラン部位の存在が示唆された。続けて, メトキシ基のプロトン ( $\delta_{\text{H}}$  3.75, 14-CO<sub>2</sub>Me) から C-17, H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  5.10) からアセチルカルボニル基 ( $\delta_{\text{C}}$  170.0, 7-OCOMe) への相関より, メトキシカルボニル基およびアセトキシ基が C-14 および C-7 に結合していると推定した。また, H-6 および C-6 のケミカルシフト値 ( $\delta_{\text{H/C}}$  4.34, 77.1) および C-18 (179.9) より, C-4 および C-6 を含む  $\gamma$ -ラクトン部位の存在が示唆された。以上より, **sucupiranin A** の平面構造を, **Figure 1-12** に示す furanocassane 骨格を有する化合物と推定した。

**1** の相対立体構造について, NOESY スペクトルの解析を行った。H-6 と H-8, H<sub>3</sub>-19 と H<sub>3</sub>-20, H<sub>3</sub>-20 と H-8 の NOESY 相関が確認されたことから, H-6, H-8, H<sub>3</sub>-19, H<sub>3</sub>-20 は  $\beta$  位であり, H-5 と H-7 および H-9, H-7 と H-14 への NOESY スペクトルより, H-5, H-7, H-9 および H-14 は  $\alpha$  位であることが示唆された (**Figure 1-13**)。

さらに, **sucupiranin A** の相対立体構造は, 単結晶 X 線構造解析によっても確認した。ORTEP 図を **Figure 1-14** に示す。

**Table 1-1.** **Sucupiranin A (1)** の化学シフト (<sup>1</sup>H NMR; 500 MHz, <sup>13</sup>C NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. ( <i>J</i> , Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. ( <i>J</i> , Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.04 dd (16.0, 7.0) 1.84 m	38.7	11	2.59 m 2.66 dd (19.5, 6.0)	21.3
2	1.74 m, 2H	18.9	12		149.7
3	1.46 dt (16.5, 6.5) 1.91 td (16.5, 4.0)	32.5	13		112.7
4		41.4	14	3.50 d (9.5)	44.2
5	1.60 d (15.0)	56.3	15	6.15 d (1.5)	108.5
6	4.34 dd (15.0, 11.0)	77.1	16	7.23 d (1.5)	141.7
7	5.10 dd (13.5, 11.0)	79.0	17		174.1
			18		179.9
			19	1.27 s	16.2
8	2.59 ddd (14.5, 13.5, 9.5)	39.1	20	1.09 s	14.4
9	1.65 dd (14.5, 6.0)	50.4	7-OCOMe		170.0
10		35.9	7-OCOMe	2.05 s	20.7
			17-OMe	3.75 s	52.3

in CDCl<sub>3</sub>

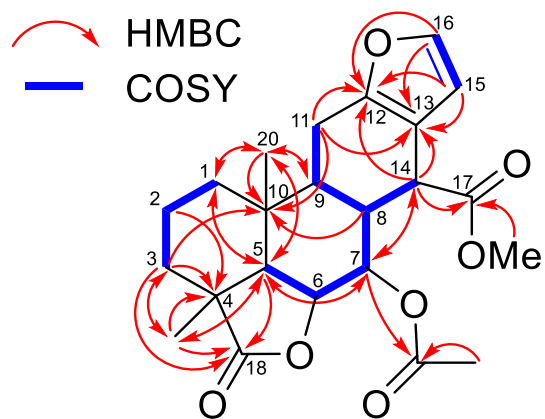


Figure 1-12. Sucupiranin A (1) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

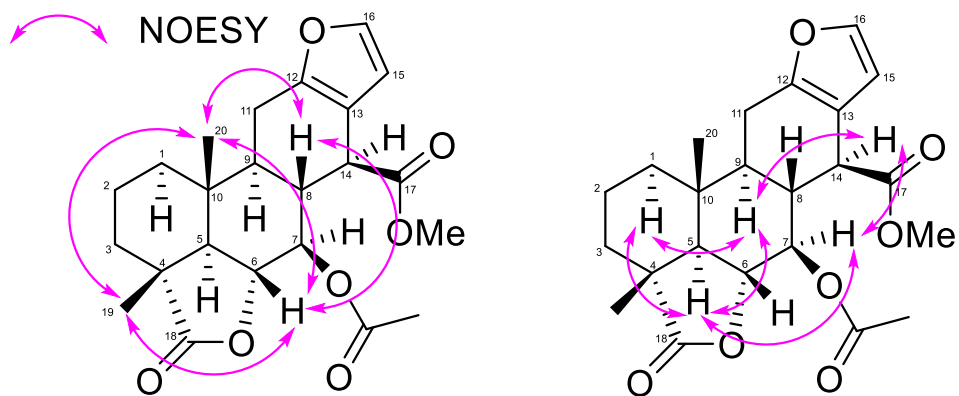


Figure 1-13. Sucupiranin A (1) の NOESY

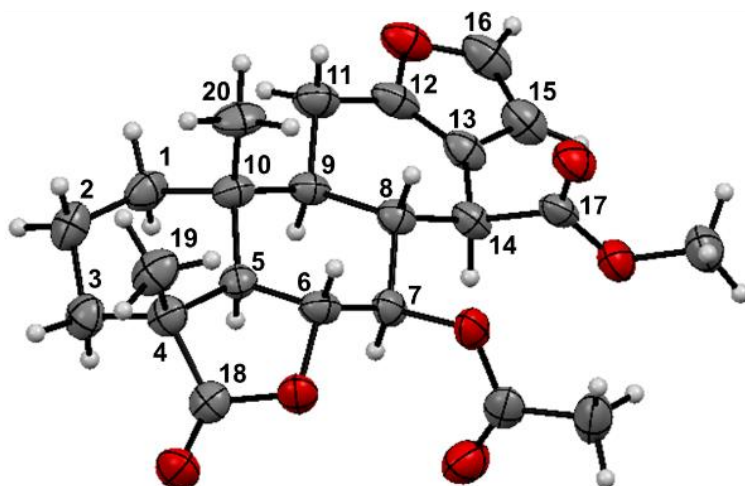


Figure 1-14. Sucupiranin A (1) の ORTEP 図

### 2-3. Sucupiranin B (2) の構造解析

Sucupiranin B (2) は、無色非晶質固体として得られた。高分解能 FABMS により、 $m/z$  379.2123 ( $[M+H]^+$ , calcd. for 379.2121) が観測されたため、分子式を  $C_{21}H_{30}O_6$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3406 および  $1735\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

$^1\text{H}$ NMR および  $^{13}\text{C}$ NMR スペクトルは 1 と類似しており、2 も 1 と同様に furanocassane 骨格を有することが示唆された (Table 1-2)。1 と比較して、2 においては H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3.70) および H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  3.27) が高磁場シフトしていることから、 $\gamma$ -ラクトン環は存在していないことが推定された。また、 $\text{H}_2$ -18 ( $\delta_{\text{H}}$  3.12, 3.59) のシグナルからは、1 において C-18 位がカルボニル基だったのに対し、2 ではヒドロキシメチレン基になっていることが推測された。したがって、2 は、1 の 6, 7, 18 位がヒドロキシ基に置換された構造であると推定した (Figure 1-15)。また、NOESY を解析した結果、相対立体配置は 1 と同様であることが示唆された (Figure 1-16)。

Table 1-2. Sucupiranin B (2) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.01 m	38.8	11	2.44 m	21.8
	1.68 m			2.67 dd (16.5, 5.5)	
2	1.56 m	18.1	12		150.5
	1.64 m		13		113.0
3	1.24 m	38.1	14	3.44 brd (9.0)	46.2
	1.40 m		15	6.18 d (1.5)	108.6
4		38.4	16	7.25 d (1.5)	141.4
5	1.38 d (11.0)	51.6	17		176.0
6	3.70 dd (11.0, 9.5)	73.2	18	3.12 d (11.5)	74.9
7	3.27 t (9.5)	83.0		3.59 d (11.5)	
8	2.34 m	40.5	19	1.04 s	15.7
9	1.53 m	48.1	20	0.98 s	18.3
10		38.0	17-OMe	3.77 s	52.4

in  $\text{CDCl}_3$

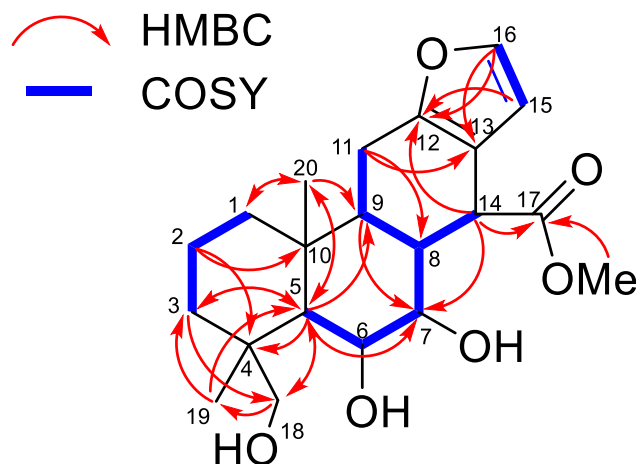


Figure 1-15. Sucupiranin B (2) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY



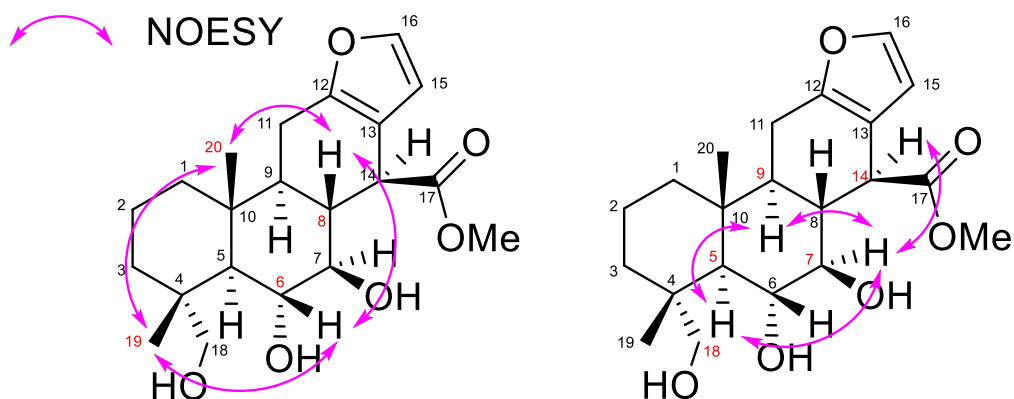


Figure 1-16. Sucupiranin B (2) の NOESY

#### 2-4. Sucupiranin C (3) の構造解析

Sucupiranin C (3) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 FABMS により、 $m/z$  421.2216 ( $[M+H]^+$ , calcd. for 421.2226) が観測されたため、分子式を  $C_{23}H_{32}O_7$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3449 および  $1741\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

3 の  $^1\text{H NMR}$  および  $^{13}\text{C NMR}$  スペクトルは 2 と非常によく似ており、furanocassane 骨格を有することが推測された (Table 1-3)。一方で、2 において H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3.70) であるのに対し、3 は、H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  5.26) と低磁場シフトしていた。さらに、H-6 から 6- $\text{O}^-\text{COMe}$  への HMBC 相関が観測されたことから、アセトキシ基が C-6 位に結合していることが示唆された。以上より、3 は 2 の 6 位ヒドロキシ基がアセチル化された構造を有する化合物であると推定した (Figure 1-17)。また、相対立体構造について、NOESY を測定した結果、2 と同様の立体配置であることが示唆された (Figure 1-18)。

Table 1-3. Sucupiranin C (3) の化学シフト ( $^1\text{H NMR}$ ; 500 MHz,  $^{13}\text{C NMR}$ ; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.01 m	38.6	11	2.44 m	21.9
	1.68 m			2.67 dd (16.5, 5.5)	
2	1.56 m	17.8	12		150.3
	1.64 m		13		113.2
3	1.24 m	37.5	14	3.44 brd (9.0)	46.1
	1.40 m		15	6.18 d (1.5)	108.5
4		37.7	16	7.25 d (1.5)	141.5
5	1.38 d (11.0)	46.8	17		175.5
6	3.70 dd (11.0, 9.5)	75.6	18	3.12 d (11.5)	73.4
7	3.27 t (9.5)	81.1		3.59 d (11.5)	
8	2.34 m	42.1	19	1.04 s	18.6
9	1.53 m	47.8	20	0.98 s	15.7
10		38.6	17-OMe	3.77 s	52.3

in  $\text{CDCl}_3$

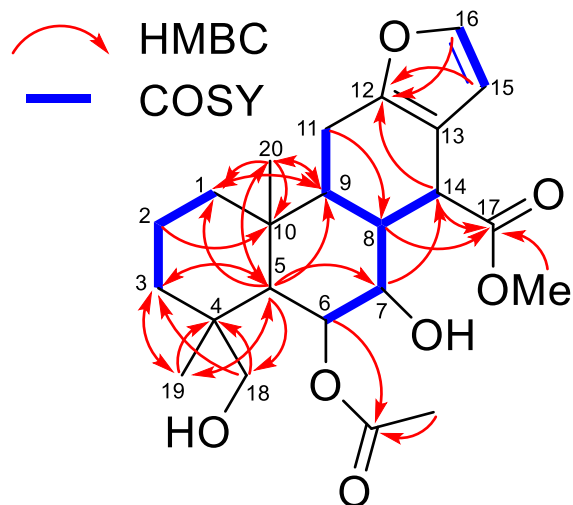


Figure 1-17. Sucupiranin C (3) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

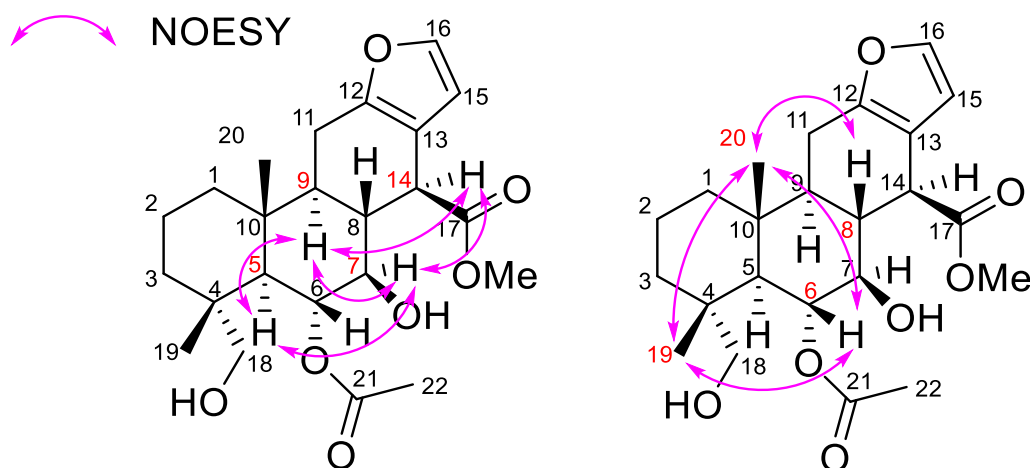


Figure 1-18. Sucupiranin C (3) の NOESY

## 2-5. Sucupiranin D (4) の構造解析

Sucupiranin D (4) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 FABMS により、 $m/z$  421.2236 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , calcd. for 421.2226) が観測されたため、分子式を  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_7$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3453 および  $1742\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

4 の  $^1\text{H}$ NMR および  $^{13}\text{C}$ NMR スペクトルは、2 と良く類似していた (Table 1-4)。しかしながら、2 において H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  3.27) であるのに対し、4 においては H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  4.83) と低磁場シフトしていた。加えて、H-7 から 7-OCOMe への HMBC 相関が観測されたことから、7 位にアセトキシ基が結合していることが示唆された。すなわち、4 は 2 の 7 位ヒ

ドロキシ基がアセチル化された構造であると推定した (Figure 1-19)。相対立体構造について、NOESY を解析した結果、**2** と同様の相対立体配置であることが示唆された (Figure 1-20)。

Table 1-4. Sucupiranin D (**4**) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.03 m	38.7	12		150.3
	1.67 m		13		112.9
2	1.57 m	18.0	14	3.36 ddd (12.5, 2.0, 2.0)	45.8
	1.63 m		15	6.11 d (2.0)	108.3
3	1.24 m	38.2	16	7.23 d (2.0)	141.6
	1.47 m		17		174.4
4		38.1	18	3.12 d (12.5)	74.6
5	1.49 d (14.0)	52.1		3.62 d (12.5)	
6	3.89 dd (14.0, 11.0)	72.3	19	0.97 s	18.1
7	4.83 dd (13.5, 11.0)	84.0	20	1.04 s	15.5
8	2.57 m	38.7	7-OCOMe	2.08 s	21.0
9	1.55 m	47.9	7-OCOMe		172.7
10		38.1	17-OMe	3.73 s	52.1
11	2.43 m	21.8			
	2.68 brdd (20.5, 6.5)				

in  $\text{CDCl}_3$

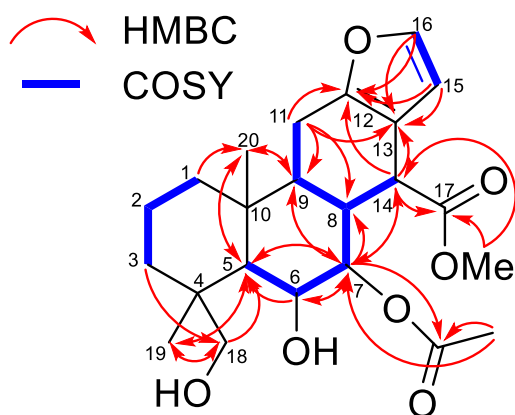


Figure 1-19. Sucupiranin D (**4**) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

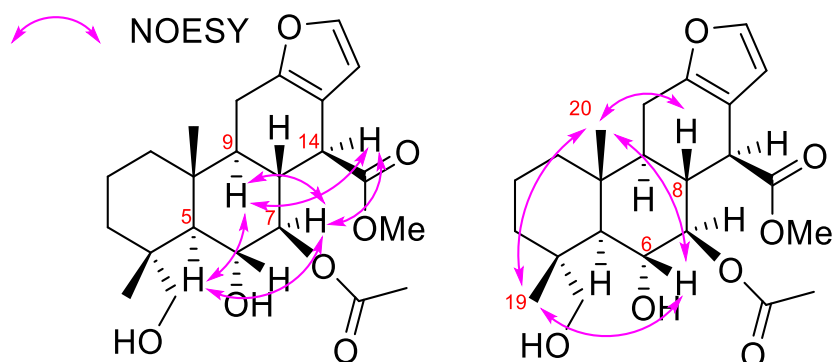


Figure 1-20. Sucupiranin D (**4**) の NOESY

## 2-6. Sucupiranin E (5) の構造解析

Sucupiranin E (5) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 FABMS 分析の結果,  $m/z$  521.2391 ( $[M+H]^+$ , calcd. for 521.2387) が観測されたため, 分子式を  $C_{27}H_{36}O_{10}$  と決定した。また, IR スペクトルにおいて, 3468 および  $1738\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから, ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

5 の  $^1\text{H NMR}$  および  $^{13}\text{C NMR}$  スペクトルは, 3 に類似している一方で, 3 において  $\text{H}_2$ -3 ( $\delta_{\text{H}}$  1.24) および  $\text{H}_2$ -18 ( $\delta_{\text{H}}$  2.98, 3.49) だった 2 つのメチレン基が, 5 においては, H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  4.80) および  $\text{H}_2$ -18 ( $\delta_{\text{H}}$  3.62, 4.01) と低磁場シフトしていた (Table 1-5)。また, H-3 から 3-OCOMe および  $\text{H}_2$ -18 から 18-OCOMe への HMBC 相関が観測されたため, アセトキシ基が C-3 および C-18 に結合していることが示唆された。すなわち, 5 は, 3 の 3 位にアセトキシ基が結合し, 18 位のヒドロキシ基がアセチル化された構造であると推定した (Figure 1-21)。

また, 相対立体配置については NOESY より推定した。その結果, 3 と同様の相対立体配置であることが示唆された。さらに, NOESY を精査した結果, H-3 は  $\text{H}_2$ -18 と相関を有することから, H-3 は  $\alpha$  配置であると推定した (Figure 1-22)。

Table 1-5. Sucupiranin E (5) の化学シフト ( $^1\text{H NMR}$ ; 500 MHz,  $^{13}\text{C NMR}$ ; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.30 dd (16.5, 4.5)	36.3	14	3.45 brd (10.0)	46.0
	1.77 ddd (16.5, 4.5, 4.0)		15	6.17, d (2.0)	108.4
2	1.66 m	22.6	16	7.24 d (2.0)	141.6
	1.86 ddd (15.0, 5.5, 5.0)		17		175.3
3	4.80 dd (15.0, 5.5)	74.0	18	3.62 d (14.5)	66.7
4		38.4		4.01 d (14.5)	
5	1.92 d (14.5)	46.3	19	1.17 s	15.9
6	5.31 dd (14.5, 12.0)	74.1			
7	3.32 dd (12.5, 12.0)	81.0	20	0.98 s	13.8
8	2.41 m	42.2	3-OCOMe		170.6
9	1.54 m	47.6	3-OCOMe	2.04 s	21.2
10		39.9	6-OCOMe		172.0
11	2.46 m	22.0	6-OCOMe	2.08 s	21.5
	2.67 dd (20.0, 6.0)		18-OCOMe		170.8
12		149.9	18-OCOMe	2.07 s	21.0
13		113.3	17-OMe	3.73 s	52.4

in  $\text{CDCl}_3$

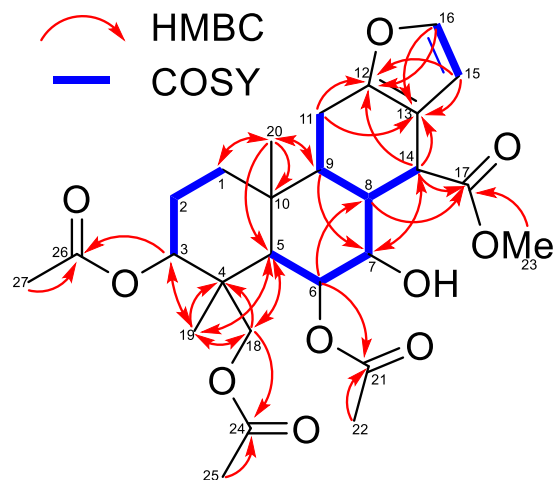


Figure 1-21. Sucupiranin E (5) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

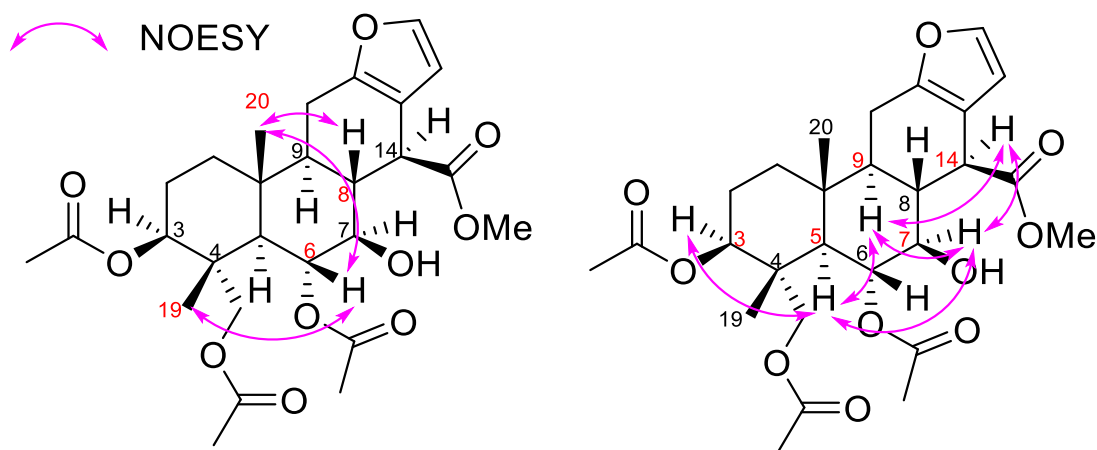


Figure 1-22. Sucupiranin E (5) の NOESY

### 2-7. Sucupiranin F (6) の構造解析

Sucupiranin F (6) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 FABMS 分析の結果、 $m/z$  521.2385 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , calcd. for 521.2387) が観測されたため、分子式を  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3474 および  $1735\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

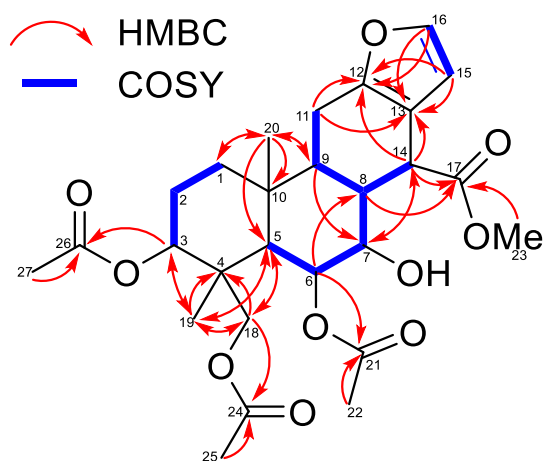
6 の  $^1\text{H}$ NMR および  $^{13}\text{C}$ NMR スペクトルは、5 に酷似しており (Table 1-6), 平面構造は 5 と同様であると推察した (Figure 1-23)。一方で、NOESY を精査したところ、5 において観測された、H-3 と H<sub>2</sub>-18 の相関が見られず、代わりに H-3 と H<sub>3</sub>-19 および H<sub>3</sub>-20 との相関が観測された。これより、H-3 が  $\beta$  配置であることが示唆された (Figure 1-24)。以上より、6 は、5 の C-3 に結合している水素原子およびアセトキシ基の立体が反

転したエピマーであると推定した。

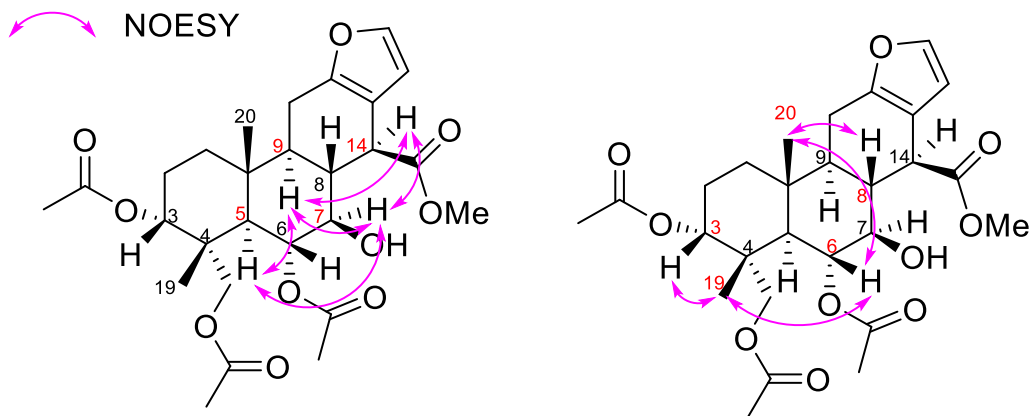
**Table 1-6.** Sucupiranin F (**6**) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. ( <i>J</i> , Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. ( <i>J</i> , Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.50 m, 2H	36.3	15	6.18 d (2.5)	108.4
2	1.81 m, 2H	21.6	16	7.24 d (2.5)	141.6
3	4.96 brt (3.5)	73.1	17		175.2
4		40.1	18	3.96 d (14.5)	70.7
5	1.83 d (14.5)	47.5		4.10 d (14.5)	
6	5.28 dd (14.5, 12.0)	73.9	19	1.08 s	18.0
7	3.36 dd (13.0, 12.0)	81.0	20	1.17 s	15.7
8	2.43 m	42.3	3-OCOMe		169.9
9	1.62 m	47.6	3-OCOMe	3.00 s	21.1
10		38.3	6-OCOMe		171.8
11	2.45 m	21.8	6-OCOMe	2.16 s	21.7
	2.71 dd (20.0, 7.0)		18-OCOMe		171.0
12		150.0	18-OCOMe	2.00 s	20.8
13		113.3	17-OMe	3.74 s	52.4
14	3.44 brd (13.0, 12.0)	46.1			

in  $\text{CDCl}_3$



**Figure 1-23.** Sucupiranin F (**6**) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY



**Figure 1-24.** Sucupiranin F (**6**) の NOESY

## 2-8. Sucupiranin G (7) の構造解析

Sucupiranin G (7) は無色非晶質固体として得られた。分子式について、高分解能 FABMS の分析結果を精査し、 $m/z$  463.2321 ( $[M+H]^+$ , calcd. For 463.2332) が観測されたため、分子式を  $C_{25}H_{34}O_8$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3464 および 1736  $cm^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

$^1H$  NMR および  $^{13}C$  NMR スペクトルを解析した結果、7 の NMR スペクトルは 4 と類似しているが (Table 1-7), 4 において  $H_2-18$  ( $\delta_H$  3.12, 3.62) であるのに対し、7 においては、 $H_2-18$  ( $\delta_H$  3.75, 4.63) と低磁場シフトしていた。さらに、 $H_2-18$  から 18-OCOMe への HMBC 相関が観測されたことから、18 位にアセトキシ基が結合していることが示唆された。以上より、7 は 4 の 18 位ヒドロキシ基がアセチル化された構造を有すると推定した (Figure 1-25)。

相対立体構造について精査するために、NOESY を解析した結果、4 と同様の相対立体配置であることが明らかになった (Figure 1-26)。

Table 1-7. Sucupiranin G (7) の化学シフト ( $^1H$  NMR; 500 MHz,  $^{13}C$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_H$ mult. (J, Hz)	$\delta_C$	position	$\delta_H$ mult. (J, Hz)	$\delta_C$
1	1.01 dt (12.5, 4.0)	38.7	13		113.0
	1.71 m		14	3.67 m	45.7
2	1.53-1.58 m, 2H	17.5	15	6.11 d(1.5)	108.3
3	1.35 m	37.8	16	7.23 d (1.5)	141.6
	1.49 m		17		174.3
		44.1	18	3.75 d (10.5)	180.5
5	1.37 d (10.5)	51.7		4.63 d (10.5)	
6	3.86 dd (10.5, 9.5)	71.6	19	1.07 s	16.6
7	4.78 dd (10.5, 9.5)	82.7	20	1.08 s	15.1
8	2.58 m	39.1	7-OCOMe		172.2
9	1.52 m	48.5	7-OCOMe	2.06 s	20.9
10		37.1	18-OCOMe		180.5
11	2.42 m	21.5	18-OCOMe	2.09 s	52.2
	2.70 dd (16.0, 5.0)		17-OMe	3.73 s	52.1
12		150.1			

in  $CDCl_3$

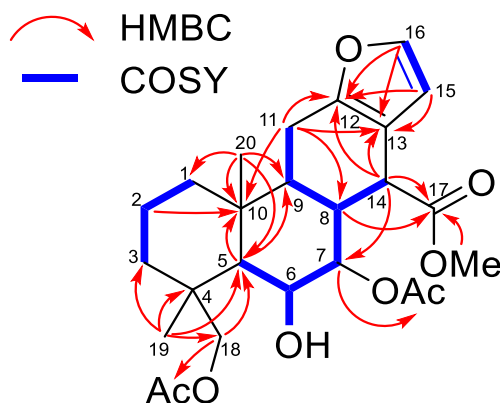


Figure 1-25. Sucupiranin G (7) の HMBC および  $^1H$ - $^1H$  COSY

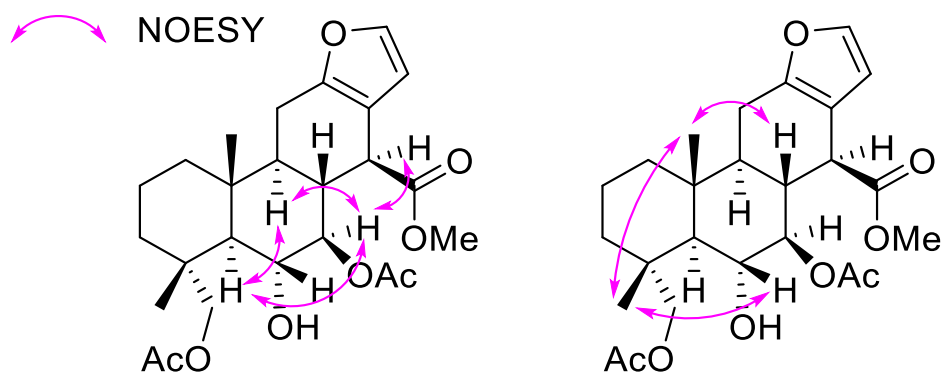


Figure 1-26. Sucupiranin G (7) の NOESY

### 2-9. Sucupiranin H (8) の構造解析

Sucupiranin H (8) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 FABMS の分析結果を精査し、 $m/z$  435.2385 ( $[M+H]^+$ , calcd. for 435.2383) が観測されたため、分子式を  $C_{24}H_{34}O_7$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3425 および  $1740\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

$^1\text{H}$  NMR および  $^{13}\text{C}$  NMR から、1~7 と同様に furanocassane 骨格を有することが示唆された (Table 1-8)。次に、 $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY スペクトルの解析においては、 $\text{H}_2$ -1 から  $\text{H}_2$ -3、 $\text{H}_5$  から  $\text{H}_9$ 、 $\text{H}_9$  から  $\text{H}_2$ -11 おおび  $\text{H}_5$  から  $\text{H}_6$  のクロスピークが観測された。また、HMBC 相関を精査すると、 $\text{H}_3$ -18 から C-3、C-4、C-5 および C-19 への相関が観測されたことから、C-3、C-5、C-18 および C-19 は C-4 に結合していると推定した。さらに、 $\text{H}_3$ -20 から C-1、C-5、C-9 および C-10 への相関も観測されたことから、C-1、C-5、C-9 および C-20 は、C-10 を通して結合していることが示唆された。加えて、 $\text{H}_3$ -17 から C-8 および C-14 への HMBC 相関より、C-8、C-13 および C-17 は C-14 を介して結合していることが、 $\text{H}_2$ -11 から C-8、C-9 および C-10 への HMBC 相関からは、C-8、C-10、C-11 は C-9 を通して結合していることが推定された。また、 $\text{H}_5$  および  $\text{H}_6$  から C-12 および C-13 の HMBC 相関は、C-12、C-13、C-15 および C-16 で構成される、2,3-二置換フラン部位の存在を示している。最後に、 $\text{H}_6$  から 6-OCOMe および  $\text{H}_2$ -19 から 19-OCOMe への相関より、6 位および 19 位にアセトキシ基が存在することが推察された。また、C-7 および C-14 には、ヒドロキシ基の存在が示唆された。以上より、8 の平面構造を Figure 1-27 の様に推定した。

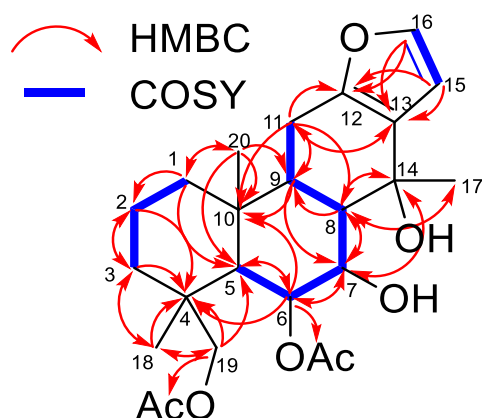
8 の相対立体構造を推定するために、NOESY を精査した。その結果、 $\text{H}_6$  と  $\text{H}_8$ 、 $\text{H}_2$ -19 および  $\text{H}_3$ -20、 $\text{H}_3$ -20 と  $\text{H}_8$  の NOESY 相関が観測されたことから、 $\text{H}_6$ 、 $\text{H}_8$ 、 $\text{H}_2$ -19、 $\text{H}_3$ -20 は  $\beta$  配置であることが示唆された。また、 $\text{H}_5$  と  $\text{H}_7$  および  $\text{H}_3$ -18、 $\text{H}_7$  と  $\text{H}_3$ -17 の NOESY 相関が観測されたことから、 $\text{H}_5$ 、 $\text{H}_7$ 、 $\text{H}_3$ -17 および  $\text{H}_3$ -18 は、それぞれ  $\alpha$  配置であることが推定された (Figure 1-28)。



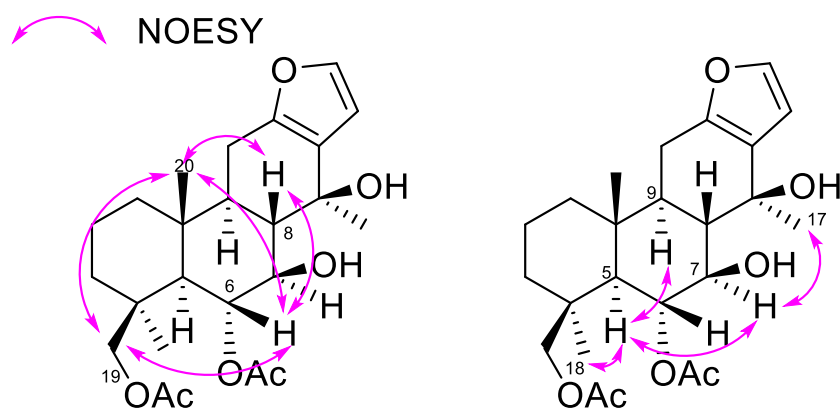
**Table 1-8.** Sucupiranin H (8) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.08 m, 2H 1.74 d	39.4	12		148.1
2	1.47 m, 2H	17.9	13		123.8
3	1.11 m 1.66 m	38.2	14		72.5
4		36.8	15	6.43 brs	107.2
5	1.45 d (10.5)	54.8	16	7.27 <sup>#</sup>	141.8
6	5.35 brt (10.5)	75.6	17	1.46 s	25.8
7	3.79 brt (10.5)	77.2	18	1.13 s	30.5
8	2.01 m	49.1	19	4.10 d (11.5)	66.9
9	1.46 m	46.8	20	4.23 d (11.5)	16.2
10		38.6	6-OCOMe	1.03 s	172.4
11	2.44 dd (16.5,10.0) 2.62 dd (16.5,6.5)	22.4	6-OCOMe	2.19 s	21.9
			19-OCOMe	2.05 s	171.2
			19-OCOMe		20.8

<sup>#</sup> Overlapped  
in  $\text{CDCl}_3$



**Figure 1-27.** Sucupiranin H (8) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY



**Figure 1-28.** Sucupiranin H (8) の NOESY

## 2-10. Sucupiranin I (9) の構造解析

Sucupiranin I (9) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 FABMS 分析の結果、 $m/z$  393.2274 ( $[M+H]^+$ , calcd for. 393.2277) が観測されたため、分子式を  $C_{22}H_{32}O_6$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3409 および  $1740\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

9 の  $^1\text{H}$  NMR および  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルは、8 と類似していることから (Table 1-9)、構造も類似していると考えた。詳細に解析すると、8 において H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  5.35) なのに対して、9 では、H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3.91) と高磁場シフトしていた。また、8 においては観測されたアセチル基由来のシグナル ( $\delta_{\text{H/C}}$  2.19/21.9, 172.4) が、9 においては観測できなかった。以上より、9 は、8 の 6 位アセトキシ基がヒドロキシ基に置換された構造であると推定した (Figure 1-29)。

相対立体構造について、NOESY を解析した結果、8 と同様の相対立体配置を有することが示唆された (Figure 1-30)。

Table 1-9. Sucupiranin I (9) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.04 m	39.7	12		148.4
	1.72 m		13		123.8
2	1.50 m, 2H	18.1	14		72.5
			15	6.43 d (2.5)	107.2
3	1.16 m	38.7	16	7.27 <sup>#</sup>	141.7
	1.67 m		17	1.47 s	25.9
4		36.7	18	1.24 s	30.9
5	1.21 d (12.5)	55.5	19	4.15 d (14.0)	68.7
6	3.91 t (12.5)	73.9		4.46 d (14.0)	16.7
7	3.69 m	77.5	20	1.03 s	
8	1.98 dd (15.5, 13.5)	48.3	6-OAc	2.19 s	
9	1.46 m	47.0	19-OCOMe		171
10		38.4	19-OCOMe	2.12 s	21.1
11	2.43 dd (20.5, 13.0)	22.4			
	2.61 dd (20.5, 8.0)				

<sup>#</sup> Overlapped  
in  $\text{CDCl}_3$

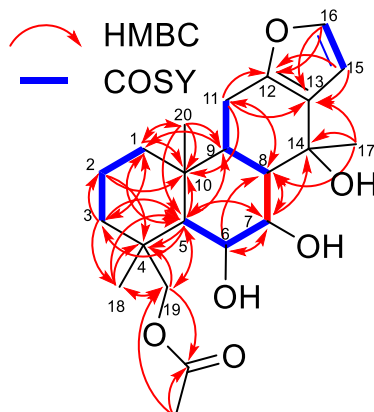


Figure 1-29. Sucupiranin I (9) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

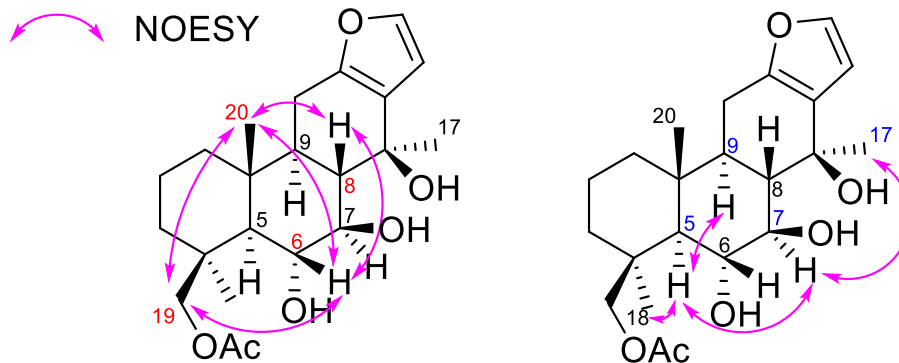


Figure 1-30. Sucupiranin I (9) の NOESY

### 2-11. Sucupiranin J (10) の構造解析

Sucupiranin J (10) は無色結晶として得られた。高分解能 CIMS の分析結果を精査し、 $m/z$  377.2324 ( $[M+H]^+$ , calcd. for 377.2328) が観測されたため、分子式を  $C_{22}H_{32}O_5$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3409 および  $1740\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

$^1\text{H}$  NMR および  $^{13}\text{C}$  NMR を精査すると、10 は 8 と類似したスペクトルを有していた (Table 1-10)。一方で、8 において存在した C-19 のアセトキシメチレン部位に由来するシグナルが消失しており、代わりにメチル基由来のシグナル ( $\delta_{\text{H}}$  0.96) が観測された。以上より、10 は 8 の C-19 位がメチル基に置換された構造を有すると推定した (Figure 1-31)。また、相対立体構造について、NOESY を用いて解析を行った結果、8 と同様の立体配置を有することが示唆された (Figure 1-32)。

加えて、10 は無色の単結晶を得ることができたため、単結晶 X 線構造解析を用いて相対立体構造を決定した (Figure 1-33)。

Table 1-10. Sucupiranin J (10) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. ( $J$ , Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. ( $J$ , Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.00 m	39.6	11	2.44 dd (16.5, 10.5)	22.4
	1.69 m			2.60 dd (16.5, 6.5)	
2	1.48 m	18.2	12		148.5
	1.55 m		13		123.8
3	1.24 m	43.4	14		72.8
	1.41 m		15	6.42 d (1.5)	107.2
4		33	16	7.26 d (1.5)	141.8
5	1.28 d (11.5)	54.4	17	1.46 s	25.7
6	5.32 dd (11.5, 9.0)	75.9	18	1.06 s	36.2
7	3.84 brdd (10.5, 9.0)	76.8	19	0.96 s	22.5
8	2.03 dd (10.5, 12.5)	49.6	20	1.06 s	15.7
9	1.48 m	46.8	6-OCOMe		172.1
10		38.7	6-OCOMe	2.16 s	21.9

in  $\text{CDCl}_3$

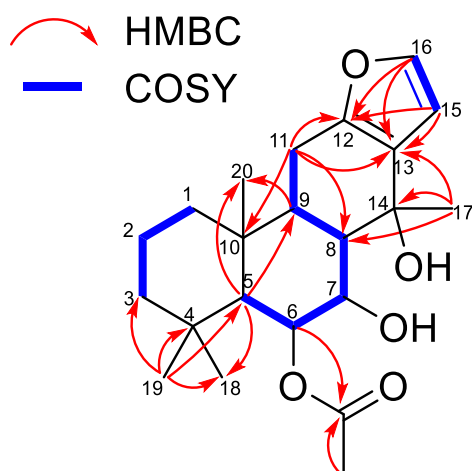


Figure 1-31. Sucupiranin J (10) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

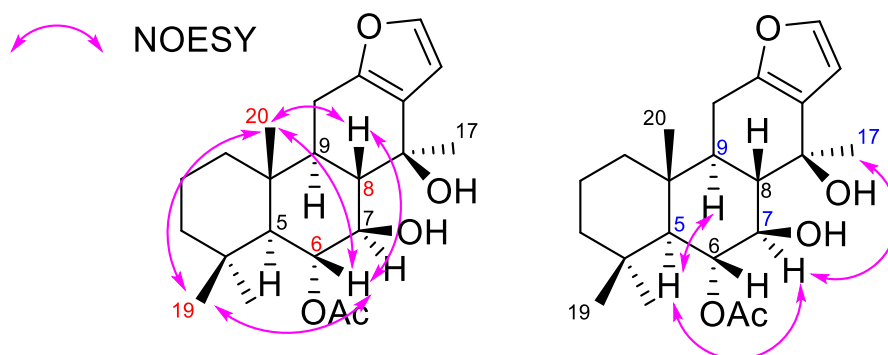


Figure 1-32. Sucupiranin J (10) の NOESY

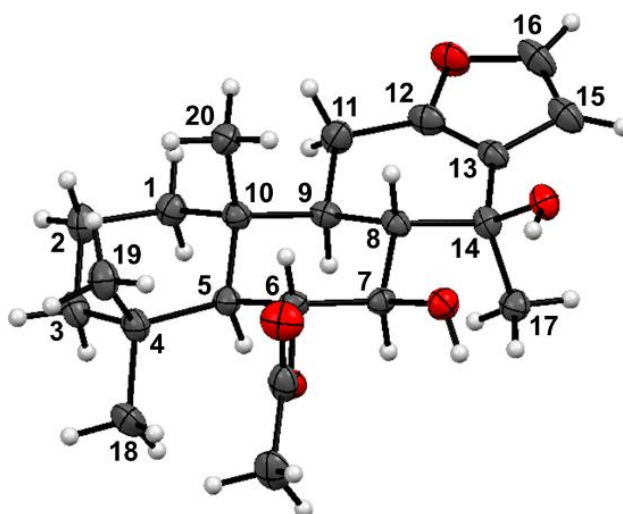


Figure 1-33. Sucupiranin J (10) の ORTEP 図

## 2-12. Sucupiranin K (11) の構造解析

Sucupiranin K (**11**) は無色非晶質固体として得られた。分子式について、高分解能 FABMS の分析結果を精査し、 $m/z$  403.2489 ( $[M+H]^+$ , calcd. for 403.2484) が観測されたため、分子式を  $C_{24}H_{34}O_5$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、 $1734\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、エステル基の存在が示唆された。

$^1\text{H}$ NMR および  $^{13}\text{C}$ NMR スペクトルを解析した結果、H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  108.9) や H-16 ( $\delta_{\text{H}}$  140.8) のシグナルが存在することから、**1-10** と同様に furanocassane 骨格を有しており、特に **4** のスペクトルと類似していることが明らかになった (Table 1-11)。一方で、**4** と比較すると、H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  1.20, 2.45), C-17 ( $\delta_{\text{C}}$  65.5) および H<sub>3</sub>-18 ( $\delta_{\text{H}}$  1.05) が高磁場シフトしていた。また、HMBC を解析した結果、H-6 から 6-OCOMe および H<sub>2</sub>-17 から 17-OCOMe への HMBC 相関が観測されたことから、アセトキシ基が C-6 および C-17 に結合していることが示唆された。加えて、 $^1\text{H}$ NMR および  $^{13}\text{C}$ NMR を詳細に解析した結果、**4** において C-7 に結合していたアセトキシ基および C-17 のメトキシカルボニル基由来のシグナルが消失しており、**11** においては、C-7 および C-17 が、それぞれメチレン基およびアセトキシメチレン基に置換された構造であることが推定された (Figure 1-34)。

相対立体構造について解析するために、NOESY を精査した。その結果、**11** の相対立体配置は、**4** と同様であることが示唆された (Figure 1-35)。

Table 1-11. Sucupiranin K (**11**) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.01 m	39.4	12		150.7
	1.69 m		13		116.4
2	1.48 m	18.4	14	1.69 m	34.2
	1.58 m		15	6.27 d (2.0)	108.9
3	1.26 m	43.3	16	7.23 d (2.0)	140.8
	1.38 m		17	3.97 dd (14.0, 8.0)	65.5
4		33		4.47 dd (14.0, 5.0)	
5	1.32 d (14.0)	57.1	18	1.05 s	36.4
6	5.16 ddd (14.0, 6.0, 6.0)	71.8	19	0.93 s	22.5
7	1.20 brd (14.0)	38.7	20	0.98 s	15.1
	2.45 m		6-OCOMe		170.3
8	2.50 m	40.5	6-OCOMe	2.06 s	22
9	1.42 m	50.4	17-OCOMe		171.1
10		38.8	17-OCOMe		21.1
11	2.32 m	22.3	17-OAc	2.04 s	
	2.63 dd (20.5, 6.5)				

in  $\text{CDCl}_3$

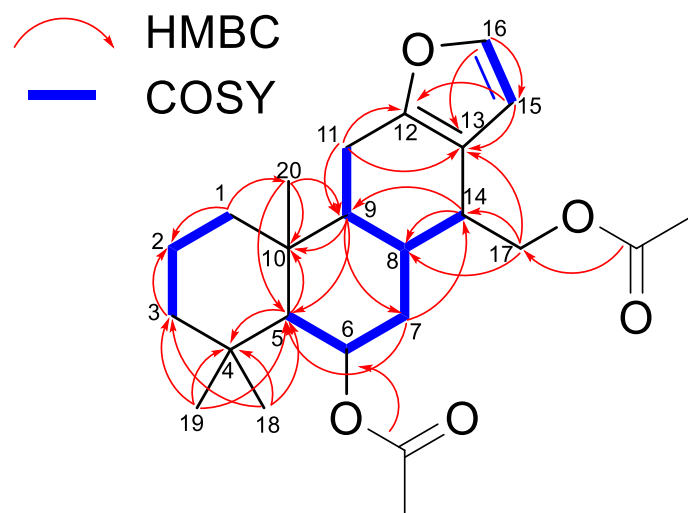


Figure 1-34. Sucupiranin K (11) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

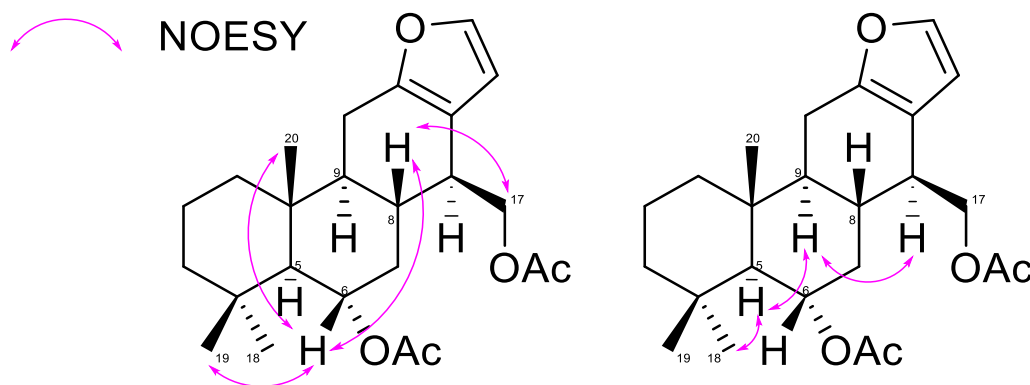


Figure 1-35. Sucupiranin K (11) の NOESY

### 2-13. Sucupiranin L (12) の構造解析

Sucupiranin L (12) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 FABMS の分析結果を精査し、 $m/z$  449.2171 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , calcd. for 449.2175) が観測されたため、分子式を  $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_8$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、 $3412$  および  $1740\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

$^1\text{H}$  NMR および  $^{13}\text{C}$  NMR を精査した結果、12 は 4 と類似した構造を有すると推定した (Table 1-12)。一方で、4 において存在していた C-18 のヒドロキシメチレン部位 ( $\delta_{\text{C}}$  74.6) が消失しており、代わりに C-18 にメトキシカルボニル部位 ( $\delta_{\text{C}}$  180.5) の存在が示唆された。さらに、 $18\text{-CO}_2\text{CH}_3$  から  $18\text{-CO}_2\text{CH}_3$  への HMBC 相関が観測されたことから、C-18 がメチルエステル基であることが支持された。すなわち、12 は、4 の C-18

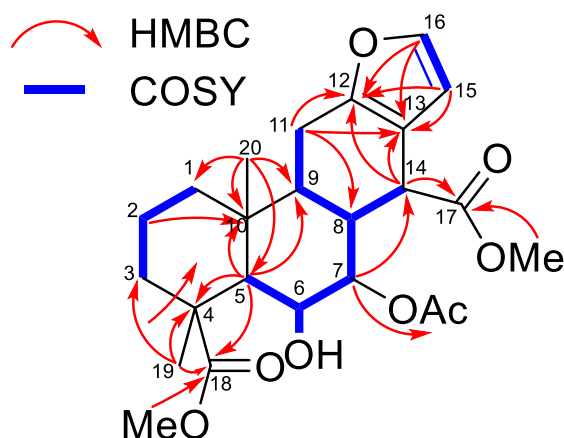
がメチルエステル基に置換された構造を有する化合物であると推測した (Figure 1-36)。

相対立体構造を明らかにするために、NOESY の精査を行った。その結果、**12** の相対立体配置は **4** と同様であることが示唆された (Figure 1-37)。

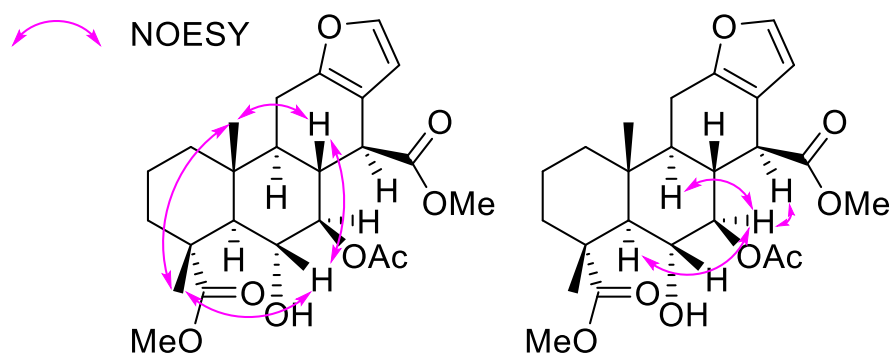
**Table 1-12.** Sucupiranin L (**12**) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.14 m	38.1	12		150.1
	1.72 m		13		113
2	1.59 m	17.5	14	3.37 m	45.8
	1.61 m		15	6.12 d (1.5)	108.3
3	1.62 m	37.8	16	7.24 d (1.5)	141.6
	1.67 m		17		174.3
4		44.1	18	1.35 s	180.5
5	2.21 d (11.5)	51.7	19	1.07 s	16.6
6	3.71 m	71.6	20		15.1
7	4.83 dd (10.5, 10.0)	82.7	7-O $\underline{\text{C}}\text{OMe}$		172.2
8	2.55 m	39.1	7-O $\underline{\text{C}}\text{OMe}$	2.04 s	20.9
9	1.61 m	48.5	17-OMe	3.74 s	52.1
10		37.1	18-OMe	3.63 s	52.2
11	2.46 m	21.5			
	2.70 dd (16.0, 5.0)				

in  $\text{CDCl}_3$



**Figure 1-36.** Sucupiranin L (**12**) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY



**Figure 1-37.** Sucupiranin L (**12**) の NOESY

## 2-14. Sucupiranin M (13) の構造解析

Sucupiranin M (13) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 ESIMS 分析を実施したところ、 $m/z$  391.2143 ( $[M-H]^-$ , calcd. for 391.2121) が観測されたため、分子式を  $C_{27}H_{36}O_{10}$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3461 および  $1732\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

13 の  $^1\text{H}$  NMR および  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルは、10 の NMR スペクトルに酷似しており、よく似た構造を有する化合物であることが推定された (Table 1-13)。しかしながら、10 において観測された  $\text{H}_3\text{-19}$  ( $\delta_{\text{H}}$  0.96) が消失しており、その一方で、ヒドロキシメチレン部位由来のシグナル  $\text{H}_2\text{-19}$  ( $\delta_{\text{H}}$  3.67, 3.73) が観測された。また、 $\text{H}_3\text{-18}$  から C-3, C-4, C-5 および C-19 への HMBC クロスピークが観測されたことから、C3, C-5, C-18 そして C-19 位のヒドロキシメチレン基が C-4 に結合していることが推測された。以上より、13 は、10 の 19 位メチル基が、ヒドロキシメチレン基に置換された構造を有する類縁体であると推定した (Figure 1-38)。

相対立体構造について、NOESY を精査した。その結果、H-6 と H-8,  $\text{H}_2\text{-19}$  と  $\text{H}_3\text{-20}$ ,  $\text{H}_3\text{-20}$  と H-8 にクロスピークが観測されたことから、H-6, H-8,  $\text{H}_2\text{-19}$  および  $\text{H}_3\text{-20}$  は  $\beta$  配置であることが示唆された。同様に、H-5 と H-7 および  $\text{H}_3\text{-18}$ , H-7 と H-9 および  $\text{H}_3\text{-17}$  の NOESY クロスピークから、H-5, H-7, H-9,  $\text{H}_3\text{-17}$ ,  $\text{H}_3\text{-18}$  は、 $\alpha$  配置であると推定した (Figure 1-39)。

Table 1-13. Sucupiranin M (13) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.07 m	37.4	12		148.4
	1.78 m		13		123.9
2	1.51 m, 2H	18.0	14		72.7
			15	6.42 d (1.5)	107.2
3	1.01 m	39.6	16	7.26 d (1.5)	141.8
	1.73 m		17	1.46 s	25.8
		38.7			
5	1.44 d (12.0)	54.9	18	1.15 s	30.3
6	5.37 dd (12.0, 9.5)	75.9	19	3.73 d (10.0)	65.5
7	3.80 td (9.5, 3.0)	77.2		3.67 d (10.0)	
8	2.01 dd (13.0, 9.5)	49.4	20	1.05 s	16.3
9	1.48 m	46.8	6-OCOMe		172.7
10		38.3	6-OCOMe	2.17 s	22.0
11	2.62 dd (16.5, 6.5)	22.5	7-OH	2.15 d (3.0)	
	2.44 dd (16.5, 11.0)				

in  $\text{CDCl}_3$



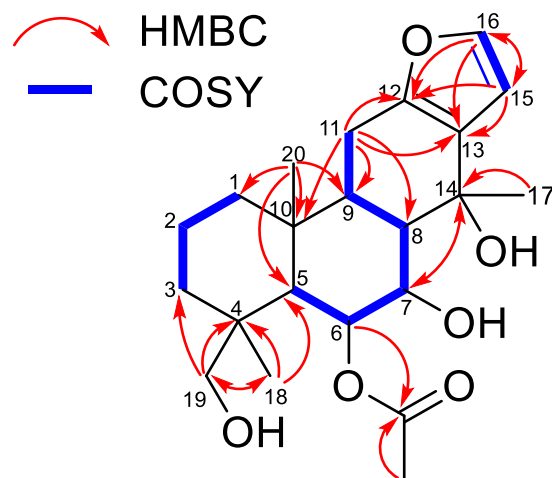


Figure 1-38. Sucupiranin M (13) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

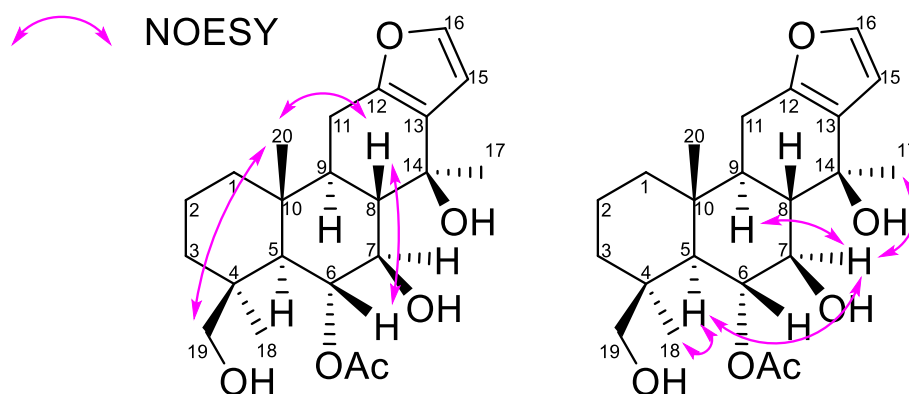


Figure 1-39. Sucupiranin M (13) の NOESY

### 2-15. Sucupiranin N (14) の構造解析

Sucupiranin N (14) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 ESIMS により分子量を分析した結果、 $m/z$  381.2054 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , calcd. for 381.2042) が観測されたため、分子式を  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_4$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3449 および  $1719\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

14 の  $^1\text{H}$ NMR および  $^{13}\text{C}$ NMR スペクトルは、13 に類似しており、furanocassane 骨格を有する化合物であると推定した (Table 1-14)。しかし、13 と比較すると、 $\text{H}_3$ -19 ( $\delta_{\text{H}}$  0.96) のシグナルが高磁場シフトしていることから、13 位がヒドロキシメチレン基からメチル基に置換されていると推測した。一方で、C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  139.9) および C-17 ( $\delta_{\text{C}}$  106.5) は、13 と比較して低磁場シフトしていた。さらに、末端メチレン由来の特徴的なシグナル  $\text{H}_2$ -17 ( $\delta_{\text{H}}$  5.21, 5.29) が観測されるなど、14 は 13 と異なる官能基を有することが示唆

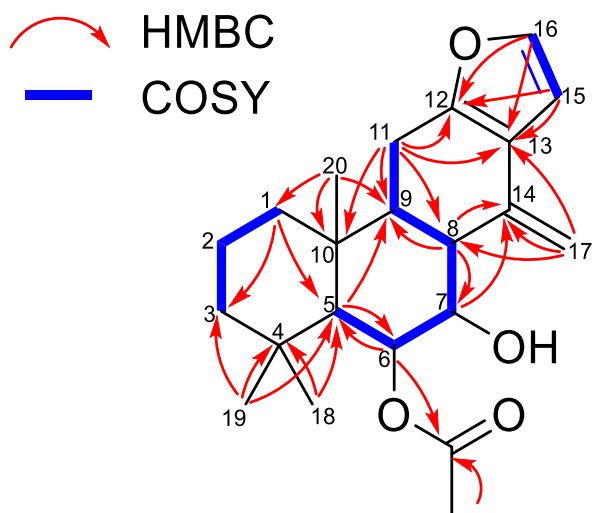
された。さらに、H<sub>2</sub>-17 から C-8, C-13 および C-14 への HMBC 相関クロスピークが観測されたことから、末端メチレン基は C-14 に結合しており、**Figure 1-40** に示す構造であると推定した。

NOESY を精査することにより、相対立体構造について解析を行った。その結果、相対立体配置は **13** と同様であることが示唆された (**Figure 1-41**)。

**Table 1-14.** Sucupiranin N (**14**) の化学シフト (<sup>1</sup>H NMR; 500 MHz, <sup>13</sup>C NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	0.99 m	39.7	12		151.3
	1.72 dd (13.5, 2.0)		13		119.6
2	1.48 m	18.2		2.73 d (17.0, 6.0)	
	1.53 m		14		139.9
3	1.24 m	39.7	15	6.44 d (2.0)	106.6
	1.40 m		16	7.24 d (2.0)	141.7
4		32.9	17	5.21 d (2.0)	106.5
5	1.31 d (12.0)	53.6		5.29 d (2.0)	
6	5.32 dd (12.0, 9.0)	77.0	18	1.06 s	36.2
7	3.87 td (9.0, 6.5)	76.2	19	0.96 s	22.4
8	2.39 m	45.9	20	1.09 s	15.7
9	1.56 m	50.1	6-OCOMe		172.5
10		38.2	6-OCOMe	2.18 s	22.0
11	2.51 dd (17.0, 11.5)	23.4	7-OH	2.17 <sup>#</sup>	

<sup>#</sup> Overlapped  
in CDCl<sub>3</sub>



**Figure 1-40.** Sucupiranin N (**14**) の HMBC および <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY

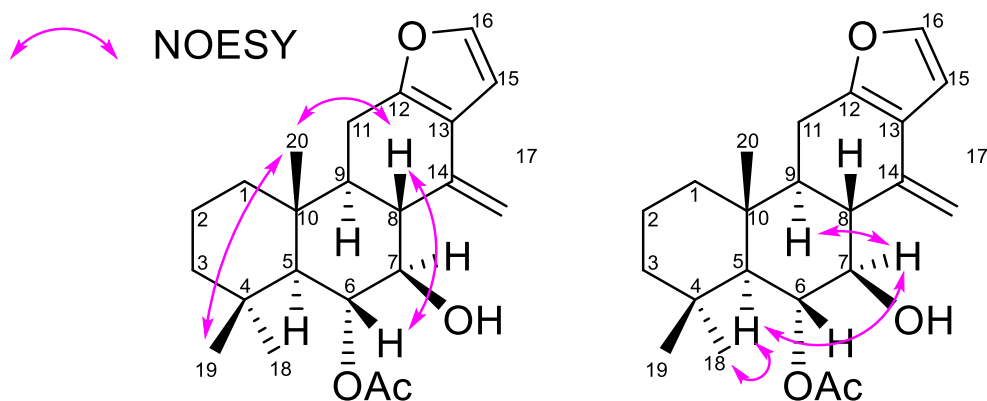


Figure 1-41. Sucupiranin N (14) の NOESY

## 2-16. Sucupiranin O (15) の構造解析

Sucupiranin O (15) は無色非晶質固体として得られた。分子式について、高分解能 ESIMS の分析結果を精査し、 $m/z$  441.1907 ( $[M+Na]^+$ , calcd. for 441.1889) が観測されたため、分子式を  $C_{24}H_{34}O_5$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3413 および 1724  $cm^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基とエステル基の存在が示唆された。

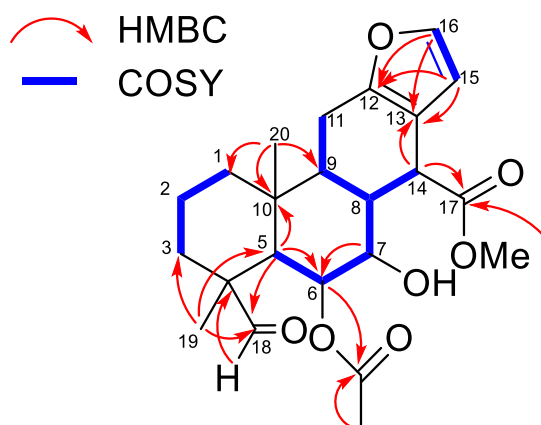
$^1H$ NMR および  $^{13}C$ NMR を精査することで、15 の平面構造は 14 に類似していることが明らかとなった (Table 1-15)。しかしながら、15 においてはアルデヒド基に特徴的なシグナル C-18 ( $\delta_c$  202.8) および H-18 ( $\delta_H$  9.14) が観測され、さらに 14 では末端メチレン基であった C-17 が、15 においては、メトキシカルボニル基であることが、C-17 ( $\delta_c$  175.2) より示唆された。さらに、HMBC の解析より、H-18 から C-4, H-3, H-5 および H<sub>3</sub>-19 から C-18 への HMBC 相関が観測されたことから、18 位にアルデヒド基を有すると推定した。また、17-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> から 17-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> への HMBC 相関から、17 位にメトキシカルボニル基が存在することが示唆された。以上より、15 は Figure 1-42 に示す平面構造を有すると推定した。

NOESY による相対立体構造の解析において、15 は 14 と類似の相対立体配置を有することが明らかとなった。まず、H<sub>3</sub>-20 と H<sub>3</sub>-19 および H-8, H-6 と H-8 の相関が観測されたことから、H-6, H-8, H<sub>3</sub>-19 および H<sub>3</sub>-20 は  $\beta$  配置であることが示唆された。さらに、H-5 と H-7 および H-18, H-7 と H-9 および H-14 の相関が観測されたことから、H-5, H-7, H-9, H-14 および H-18 は、 $\alpha$  配置であることが示唆された。(Figure 1-43)。

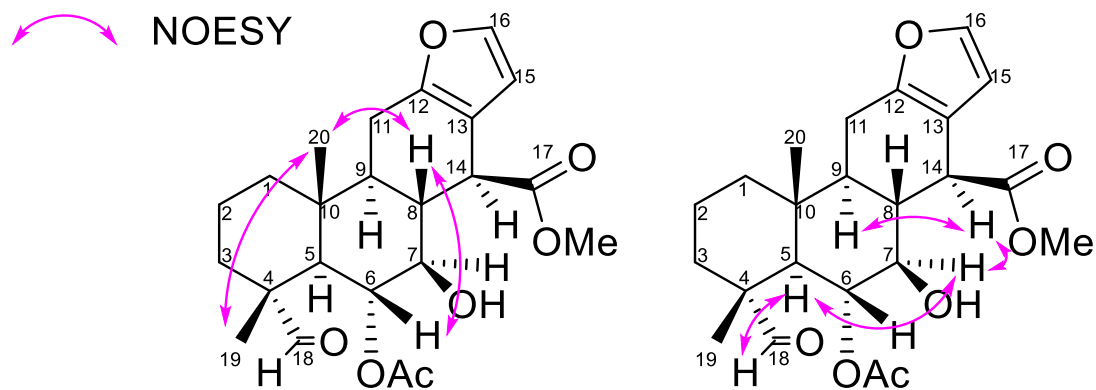
**Table 1-15.** Sucupiranin O (15) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.09 m	38.2	12		150.0
	1.81 m		13		113.4
2	1.68 m, 2H	16.7	14	3.45 m	46.0
			15	6.18 d, 2.0	108.5
3	1.16 m	31.5	16	7.25 d, 2.0	141.6
	1.33 m		17		175.2
4		47.2	18	9.14 s	202.8
5	1.79 d (11.5)	49.6	19	1.10 s	13.9
6	5.02 dd (11.5, 9.5)	73.8	20	1.14 s	15.4
7	3.38 q (9.5)	80.8	6-OCOMe		171.8
8	2.43 m	42.3	6-OCOMe	1.95 s	20.7
9	1.56 m	48.1	7-OH	1.90 d (9.5)	
10		37.0	17-OMe	3.73 s	52.3
11	2.48 m	21.6			
	2.70 dd, 16.0, 6.0				

in  $\text{CDCl}_3$



**Figure 1-42.** Sucupiranin O (15) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY



**Figure 1-43.** Sucupiranin O (15) の NOESY

## 2-17. Sucupiranin P (16) の構造解析

Sucupiranin P (16) は無色非晶質固体として得られた。高分解能 ESIMS の分析結果を精査し、 $m/z$  435.2000 ( $[M-H]^-$ , calcd. for 435.2019) が観測されたため、分子式を  $C_{23}H_{32}O_8$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3401 および  $1734\text{ cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

$^1\text{H}$ NMR および  $^{13}\text{C}$ NMR の解析において、16 のスペクトルは 15 によく似たスペクトルを示していることから、構造も類似していると推定した (Table 1-16)。しかしながら、1~15 までの化合物に特徴的であった、1,2-二置換フラン部位に特徴的なシグナル、すなわち 15 における H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  6.18) および H-16 ( $\delta_{\text{H}}$  7.25) が消失しているため、16 はフラン部位を有さないことが示唆された。一方で、 $\alpha,\beta$ -不飽和ブテノリド環に特徴的なシグナルとして C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  104.2) および C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  165.0) が観測され、さらに、H-15 から C-12 および C-16, H-11 から C-12 および C-13, H-14 から C-13 および C-15 の HMBC 相関クロスピークが観測されたことから、フラン部位が  $\alpha,\beta$ -不飽和ブテノリド環に変化している可能性が示唆された。また、2つのメチル基 H<sub>3</sub>-18 および H<sub>3</sub>-19 について、それぞれ H<sub>3</sub>-18 および H<sub>3</sub>-19 から C-4 への HMBC 相関より、H<sub>3</sub>-18 と H<sub>3</sub>-19 が C-4 に結合していると推定した。加えて、C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  104.2) について、MS スペクトルより算出した分子式より、ヒドロキシ基が結合したヘミケタール構造であると推測した。以上より、16 は Figure 1-44 に示す平面構造を有する化合物と推定された。

相対立体構造を推定するために、NOESY の解析を行った。その結果、16 の相対立体配置は 15 と同様であることが示唆された (Figure 1-45)。しかしながら、12 位に結合したヒドロキシ基については、NOESY 相関が観測されなかったことから、相対立体配置の決定に至らなかった。

Table 1-16. Sucupiranin P (16) の化学シフト ( $^1\text{H}$  NMR; 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1.04 m	39.0	12		104.2
	1.63 m		13		165.0
2	1.54 m, 2H	18.4	14	3.34 dd (10.5, 1.5)	48.3
			15	5.68 d (1.5)	115.0
3	1.23 m	43.3	16		169.4
	1.41 m		17		172.2
4		33.2	18	1.01 s	36.0
5	1.35 d (11.5)	55.1	19	0.90 s	22.0
6	5.16 dd (11.5, 9.5)	75.4	20	0.95 s	15.5
7	3.42 brt (9.5)	79.5	6-OCOMe		172.2
8	2.15 m	47.3	6-OCOMe	2.11 s	21.8
9	1.54 m	46.8	7-OH	1.99 <sup>#</sup>	
10		38.2	17-OMe	3.75 s	52.6
11	1.38 m	36.2			
	2.47 dd (10.5, 2.5)				

<sup>#</sup> Overlapped  
in  $\text{CDCl}_3$

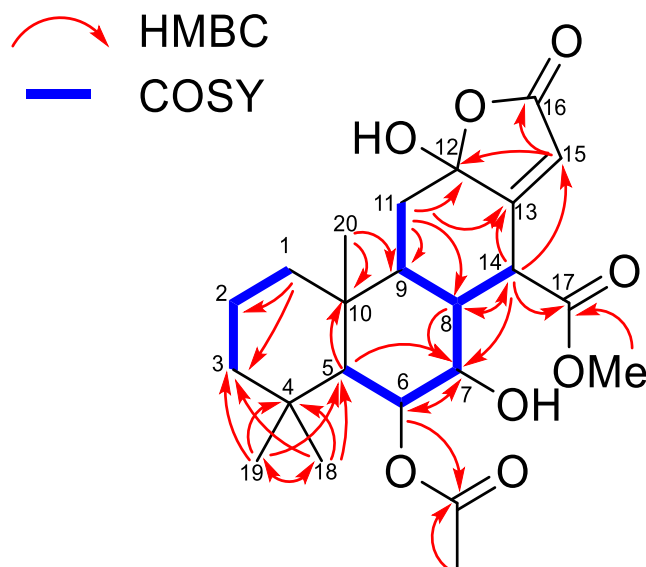


Figure 1-44. Sucupiranin P (16) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

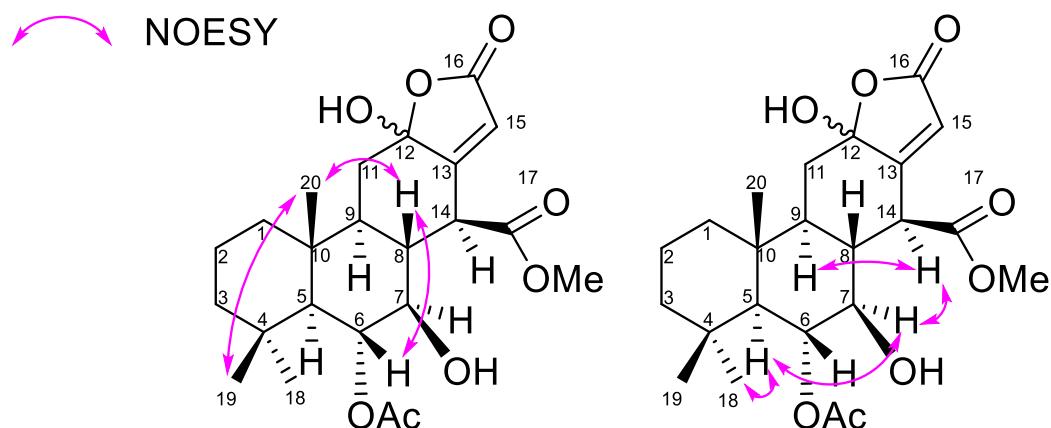


Figure 1-45. Sucupiranin P (16) の NOESY

### 2-18. Sucupiranin Q (17) の構造解析

Sucupiranin Q (17) は無色非晶質固体として得られた。分子式を決定するために、高分解能 ESIMS 測定を実施した。測定結果を精査したところ、 $m/z$  467.2301 ( $[\text{M}-\text{H}]^-$ , calcd. for 467.2281) が観測されたため、分子式を  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_5$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3469 および 1734  $\text{cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基およびエステル基の存在が示唆された。

$^1\text{H}$ NMR および  $^{13}\text{C}$ NMR を精査することで、17 が 16 によく似たスペクトルを有する

ことが明らかとなり、**16**と同様にフラン部位を有さない構造であることが示唆された (Table 1-17)。続いて、**16**が有していた12位のヘミケタール構造は、**17**においても存在していることが、C-12 ( $\delta_c$  110.2) から推定された。その一方で、メトキシ基由来のシグナル 12-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_H$  3.19) が観測され、さらに 12-OCH<sub>3</sub> から C-12 への HMBC 相関クロスピークが観測されたため、**16**において C-12 に結合していたヒドロキシ基が、メトキシ基に置き換わった構造が推定された。さらに、<sup>1</sup>H NMR においてヒドロペルオキシ基由来のシグナル ( $\delta_H$  8.73) が観測されており、MS スペクトルより算出した分子式において、余剰な酸素原子の存在が示唆されたことから、**17**は、ヒドロペルオキシ基を有すると推定した。加えて、C-16 ( $\delta_c$  118.3) は、**16**における4級炭素 C-16 ( $\delta_c$  169.4) と比較して高磁場シフトしており、ヒドロペルオキシド基は16位に結合していると推定した。最後に、ヒドロペルオキシド基の存在を確認するために、ヨウ化カリウムでんぷん紙 (Mquant™, Merck) を用いた定性試験を行った結果、ヒドロペルオキシド基とヨウ化カリウムの反応で生じる I<sub>2</sub> 分子とでんぷんとの呈色反応により生じる薄青色が確認できたため、陽性であると判断した。以上より、**17**は Figure 1-46 に示す平面構造を有する化合物であると推定した。

NOESY を利用して相対立体構造の推定を行った。まず、H-5 と H-7 および H-9, H-7 と H-14, 12-OCH<sub>3</sub> と H-14 および H-16 の NOESY 相関が観測されたことから、H-5, H-7, H-9, H-14, H-16 および 12-OCH<sub>3</sub> は同一平面上に存在し、 $\alpha$  配置であることが示唆された。その他部位については、**17**は**16**と類似した NOESY クロスピークが観測されたため、相対立体配置も**16**と同様であると推定した (Figure 1-47)。

Table 1-17. Sucupiranin Q (**17**) の化学シフト (<sup>1</sup>H NMR; 500 MHz, <sup>13</sup>C NMR; 125 MHz)

position	$\delta_H$ mult. (J, Hz)	$\delta_c$	position	$\delta_H$ mult. (J, Hz)	$\delta_c$
1	1.01 m	38.7	12		110.2
	1.63 m		13		144.4
2	1.50 m, 2H	18.4	14	2.92 dt (10.0, 2.0)	47.8
			15	5.47 brt (2.0)	108.4
3	1.12 m	43.3	16	5.98 brs	118.3
	1.38 m		17		173.1
4		33.2	18	0.99 s	36.0
5	1.34 d (11.0)	55.2	19	0.89 s	22.2
6	5.13 dd (11.0, 9.0)	75.5	20	0.93 s	15.5
7	3.32 q (9.0)	80.2	6-O $\underline{C}$ OMe		172.1
8	2.01 m	46.4	6-OCOMe	2.10 s	21.8
9	1.44 m	46.8	7-OH	1.55 d (9.0)	
10		38.1	12-OMe	3.19 s	50.2
11	1.26 m	36.8	16-OOH	8.73 s	
	2.32 dd (13.5, 3.5)		17-OMe	3.73 s	52.3

in CDCl<sub>3</sub>

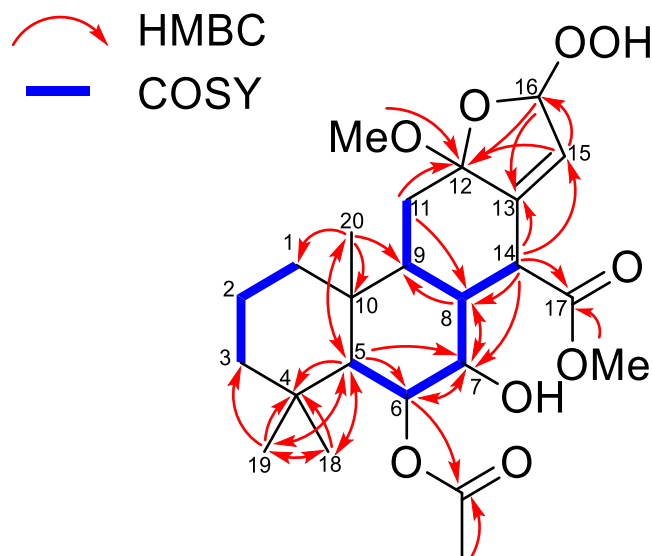


Figure 1-46. Sucupiranin Q (17) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

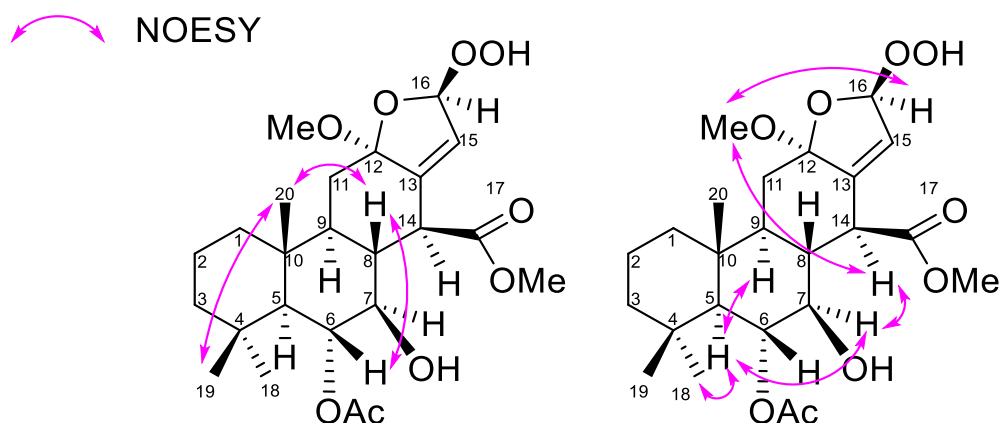


Figure 1-47. Sucupiranin Q (17) の NOESY

### 2-19. Sucupiranin 類の絶対立体構造の解析

これまで、furanocassane 骨格を有する化合物について、絶対立体構造の報告は複数あるが、いずれもモッシャー法や  $\gamma$ -ラクトン部位特異的な ECD スペクトルの利用であり、今回得られた化合物の絶対立体構造を決定するためには、情報が不十分であった。

そこで、今回得られた化合物の中で、ジオール構造を有し、かつ得量も多かった既知化合物 **18** を利用することを考えた。すなわち、ジオール部位に発色団を導入することができれば、励起子キラリティー法を用いてその発色団同士の空間的な捻じれから、絶対立体構造の決定ができる (Figure 1-48)。



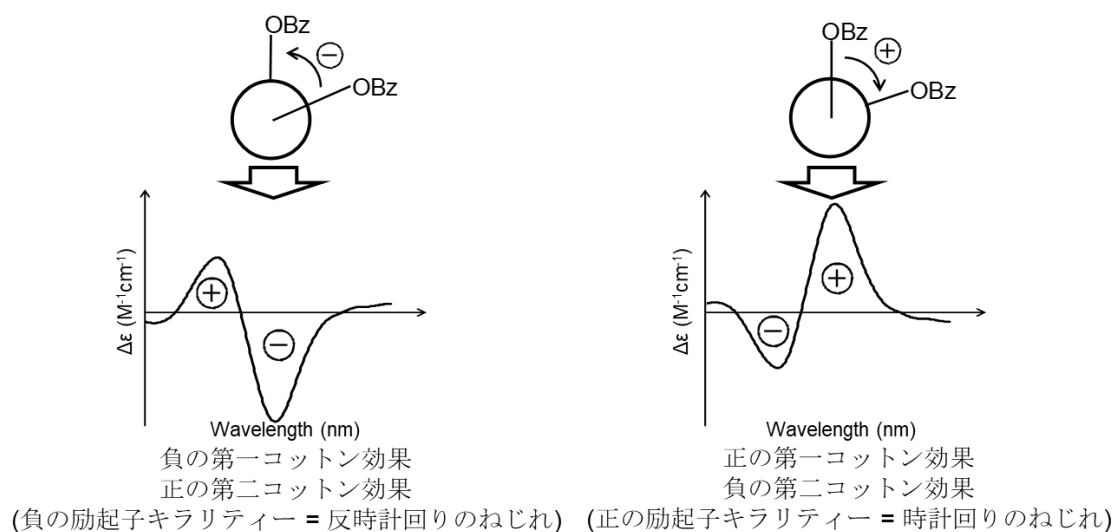


Figure 1-48. 励起子キラリティーと官能基の絶対立体配置

そこで、**18** に対し *p*-プロモベンゾイルクロライドを作用させることで、ジオールのヒドロキシ基それぞれを *p*-プロモベンゾエート化した化合物 **18a** を得た (Figure 1-49)。

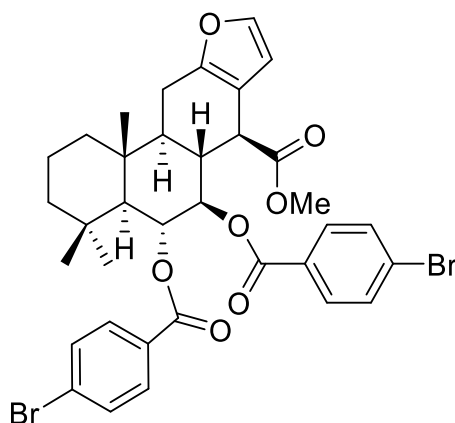


Figure 1-49. **18a** の化学構造

**18a** の ECD スペクトルは Figure 1-50 に示すように、第1コットン効果がポジティブ ( $\lambda_{\text{max}}$  255.0 nm)、第2コットン効果がネガティブ ( $\lambda_{\text{max}}$  239.4 nm) であることから、6位および7位の立体構造はそれぞれ *6R* および *7R* と推定できる。したがって、**18a** の絶対立体構造は (*5S, 6R, 7R, 8R, 9S, 10R, 14S*) であると決定した。

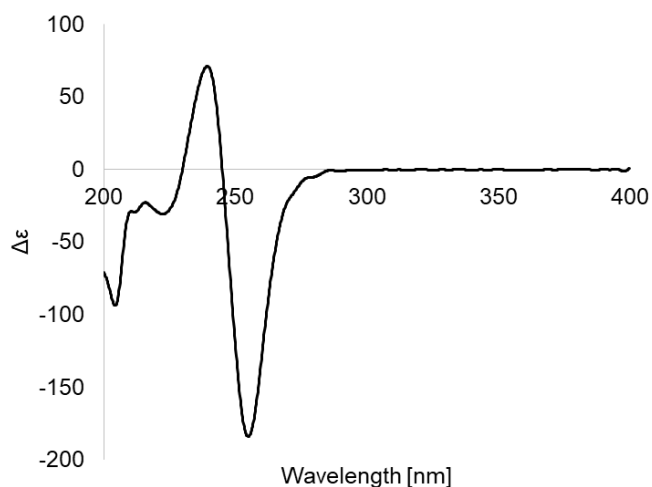


Figure 1-50. 誘導体 **18α** の ECD スペクトル

以上を用いて、誘導体化前の **18** と、今回得られた *sucupiranin* 類 **1-17** および既知化合物 **19-20** の ECD スペクトルを比較することで、絶対立体構造の決定を行うこととした。

初めに、**1** と **18** の ECD スペクトルを、Figure 1-51 に示す。ECD スペクトルは良い一致を示したことから、**1** の絶対立体配置を、(4*R*, 5*R*, 6*R*, 7*R*, 8*R*, 9*S*, 10*R*, 14*S*) と決定した。

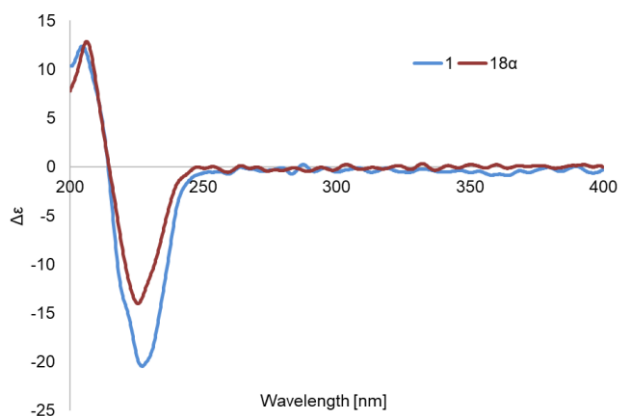


Figure 1-51. **1** および **18** の ECD スペクトル比較

続いて、各化合物の ECD スペクトルについて、**2-7**, **12**, **19-20** を Figure 1-52 に、**8-10** をそれぞれ Figure 1-53~1-55 に、**13** および **15-17** を Figure 1-56 に示す。これらの化合物は、どれも 220-230 nm 付近に類似したネガティブコトtonを有していることから、これらの化合物はいずれも (9*S*, 10*R*, 14*S*) の絶対立体配置を有すると決定した。

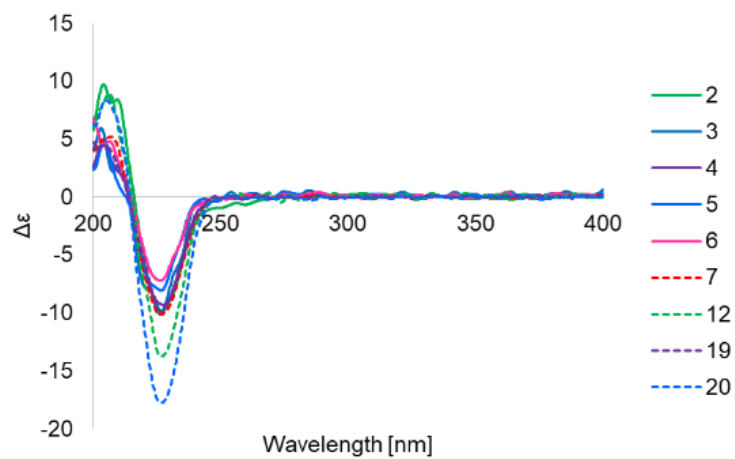


Figure 1-52. 2, 12 および 19-20 の ECD スペクトル

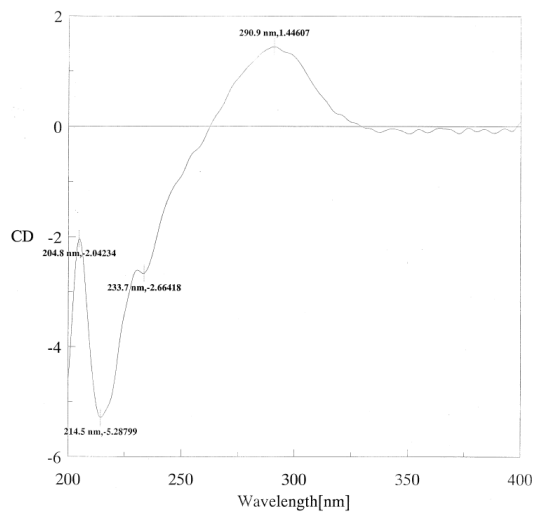


Figure 1-53. 8 の ECD スペクトル

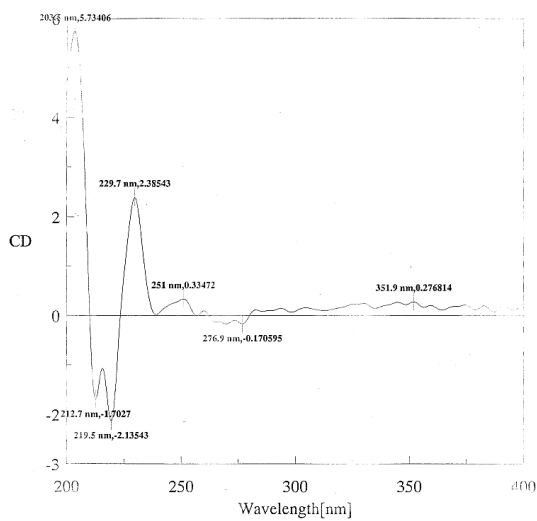


Figure 1-54. 9 の ECD スペクトル

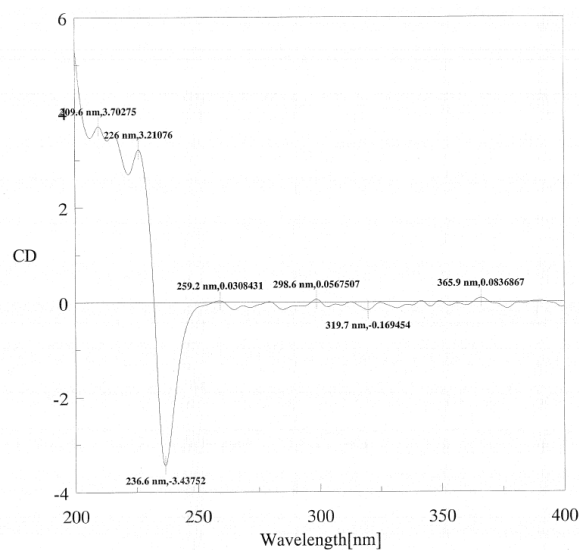


Figure 1-55. **10** の ECD スペクトル

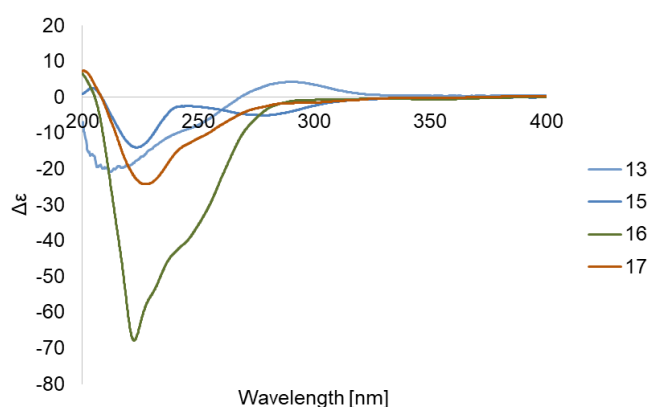


Figure 1-56. **13**, **15-17** の ECD スペクトル

一方で、**14** については、前述の化合物群と異なる ECD スペクトルを示したため、密度汎関数法を用いて、考えうる立体構造である (6*R*, 7*R*) 体およびそのエナンチオマーである (6*S*, 7*S*) 体の ECD スペクトルをシミュレーションした。その結果、**14** の ECD スペクトルは、(6*R*, 7*R*) 体のシミュレーション結果と良い一致を示した (Figure 1-57)。**14** の ECD スペクトルが、他の *sucupiranin* 類と異なる傾向を見せたのは、C-14 が  $sp^2$  炭素になることで、環の立体配座が変化したためであると考えられる。このことから、**14** もその他の *sucupiranin* 類と同様に、(9*S*, 10*R*) の絶対立体配置を有すると決定した。今回の検討から明らかになった各化合物の絶対立体配置は Table 1-18 のようになった。

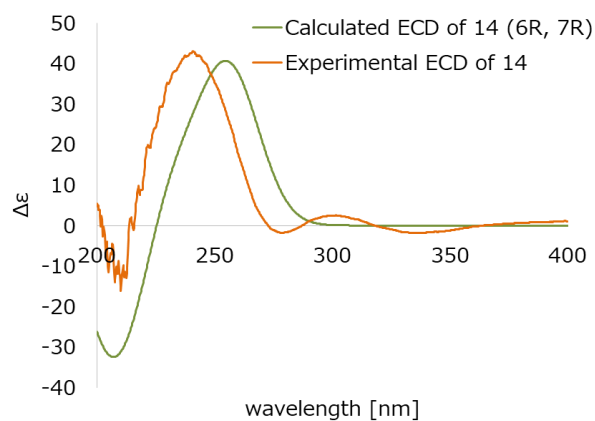


Figure 1-57. 14 の ECD 実測値およびシミュレーションの比較

Table 1-18. 得られた化合物の絶対立体配置

Carbon No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20
3	-	-	-	-	S	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	R	R	R	R	R	R	R	S	S	-	R	S	-	R	-	-	-	-	-
5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
6	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
7	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
8	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-	-
14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	S	S	S	S	S	S
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-

### 第3節 単離化合物の生物活性試験

#### 3-1. HeLa 細胞および HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験

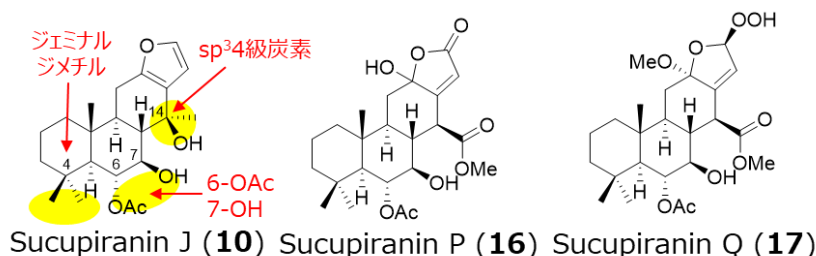
*Bowdichia virgilioides* の種子から得られた化合物 **1-20** について、ヒト子宮頸癌 HeLa 細胞およびヒト急性前骨髄球性白血病 HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験を行った。その結果、sucupiranin K (**11**) が HeLa 細胞に対する弱い活性を有しており、その IC<sub>50</sub> 値は 32.2 μM であった。また、HL-60 細胞に対しては、sucupiranin B (**2**), sucupiranin K (**11**) および sucupiranin P (**16**) が弱い活性を有しており、その IC<sub>50</sub> 値は、それぞれ 9.8, 32.6 および 10.8 μM であった。その他の化合物は IC<sub>50</sub> 値が 60 μM 以上であった。

この時、positive control として用いた mitomycin C の、HeLa 細胞および HL-60 細胞に対する IC<sub>50</sub> は、それぞれ 0.7 および 0.07 μM であった。

#### 3-2. LPS 誘導 NO 産生抑制試験

*Bowdichia virgilioides* の種子から得られた化合物 **1-14**, **16-20** について、LPS 誘導 NO 産生抑制試験を行った。その結果、sucupiranin J (**10**), sucupiranin P (**16**) および sucupiranin Q (**17**) が活性を有しており、その IC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 30.6, 44.0 および 54.3 μM であった。それぞれ、4 位にジェミナルジメチル部位、6 位アセトキシ基、7 位ヒドロキシ基、C-14 が sp<sup>3</sup>4 級炭素である構造的共通点が見られた (**Figure 1-58**)。

また、この時 positive control として用いた erythraline の IC<sub>50</sub> 値は 29.6 μM あった。



**Figure 1-58.** NO 産生抑制活性試験において活性を有する化合物の構造的特徴

#### 3-3. 薬剤耐性 *Plasmodium falciparum* K1 株に対する抗マラリア活性試験

*Bowdichia virgilioides* の種子から単離した化合物の内、**1-12** および **18-20** について薬剤耐性 *Plasmodium falciparum* K1 株に対する抗マラリア活性試験を実施した。また、活性が見られた化合物については、ヒト肺線維芽由来 MRC-5 細胞に対する細胞毒性試験も実施し、MRC-5 細胞に対する IC<sub>50</sub> 値を、*Plasmodium falciparum* K1 株に対する IC<sub>50</sub> 値をで除した selectivity index を算出した (**Table 1-19**)。

抗マラリア活性が見られた化合物 **10**, **11** および **18** の構造的共通点は 4 位にジェミナルジメチル構造を有している点であった。

**Table 1-19.** 抗マラリア活性試験結果

	IC <sub>50</sub> [μM]	CC <sub>50</sub> [μM]	selectivity index
	antimalarial activity (K1)	MRC-5	MRC-5/K1
<b>1</b>	>30.0		
<b>7</b>	>27.0		
<b>8</b>	>28.8		
<b>10</b>	32.2	139.3	4.3
<b>11</b>	23.5	44.1	1.9
<b>12</b>	>27.9		
<b>18</b>	22.9	>276.1	>12.0
<b>19</b>	>30.9		
<b>20</b>	>30.9	ND	
artemisinin	0.025	ND	
chloroquine	0.54		

#### 第4節 小括

ブラジル産マメ科 *Bowdichia virgilioides* の種子から、20種のジテルペンを単離精製し、1次元および2次元NMR、高分解能MSを用いて化学構造を解析した。その結果、単離化合物の内17種は新規化合物であり、Sucupiranin A-Q (1-17)と命名した。その他3種は既知化合物であり、それぞれ6 $\alpha$ ,7 $\beta$ -dihydroxyvouacapan-17 $\beta$ -oate methyl ester (18), 6 $\alpha$ -acetox-7 $\beta$ -dihydroxyvouacapan-17 $\beta$ -oate methyl ester (19), 7 $\beta$ -acetox-6 $\alpha$ -hydroxyvouacapan-17 $\beta$ -oate methyl ester (20)であった。

また、既知化合物18の6,7-ジオール部位を

-プロモベンゾエート誘導体へと変換し、そのECDスペクトルから励起子キラリティー法を用いることで、絶対立体構造を決定した。さらに、18とその他得られた化合物のECDスペクトルを比較することで、1-10, 12-17, 19, 20の絶対立体構造を決定した。

得られた化合物群について、HeLa細胞およびHL-60細胞に対する殺細胞活性試験を実施した結果、sucupiranin K (11)がHeLa細胞に対する弱い活性を有しており、そのIC<sub>50</sub>値は32.2  $\mu$ Mであった。また、HL-60細胞に対しては、sucupiranin B (2), sucupiranin K (11) および sucupiranin P (16)が弱い活性を有しており、そのIC<sub>50</sub>値は、それぞれ9.8, 32.6 および 10.8  $\mu$ Mであった。

次に、LPS誘導NO産生抑制試験を行った。その結果、sucupiranin J (10), sucupiranin P (16) および sucupiranin Q (17)が活性を有しており、そのIC<sub>50</sub>値はそれぞれ30.6, 44.0 および 54.3  $\mu$ Mであった。

最後に、*Plasmodium falciparum* K1株に対する抗マラリア活性試験およびMRC-5細胞に対する細胞毒性試験も実施し、抗マラリア活性およびselectivity indexを算出した。その結果、10, 11, 18が活性を有しており、IC<sub>50</sub>は32.2, 23.5, 22.9  $\mu$ M, selectivity indexは4.3 (32.2/139.3), 1.9 (23.5/44.1), >12.0 (22.9/>276.1)であった。

単離した化合物群は物性値と共に化合物ライブラリーに格納した。

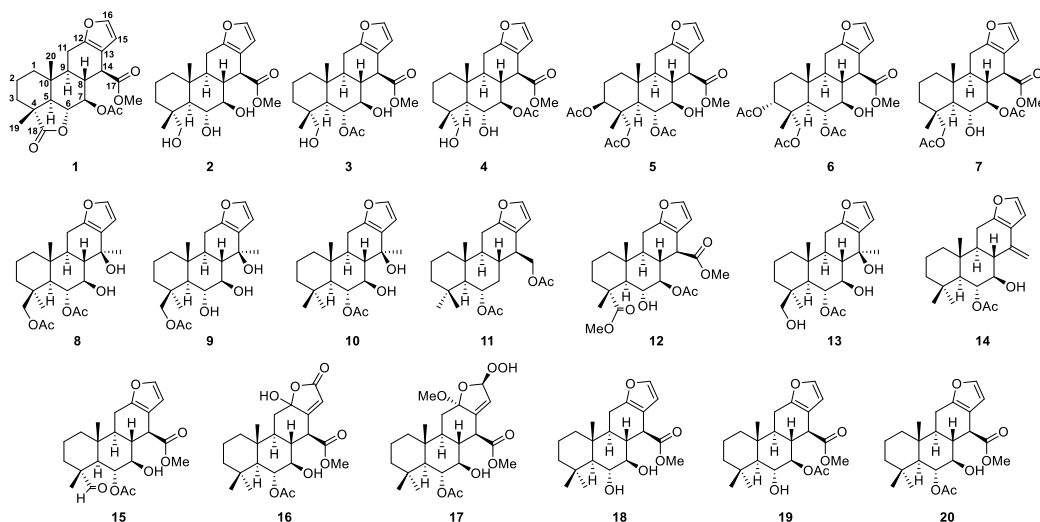


Figure 1-59. *B. virgilioides* 単離した化合物リスト



## 第2章 高知県産薬用植物ヒガンバナ科 *Crinum asiaticum* var. *japonicum* に含まれる化学成分の探索

### 第1節 序論

ヒガンバナ科 *Crinum asiaticum* var. *japonicum* (和名 ハマユウ, ハマオモト) は我が国では本州の関東以西から四国, 九州の海辺に分布している常緑多年草で, 帯状の大きな葉を持ち7月から9月に甘い香りを放つ白い花を咲かせる。(Figure 2-1)

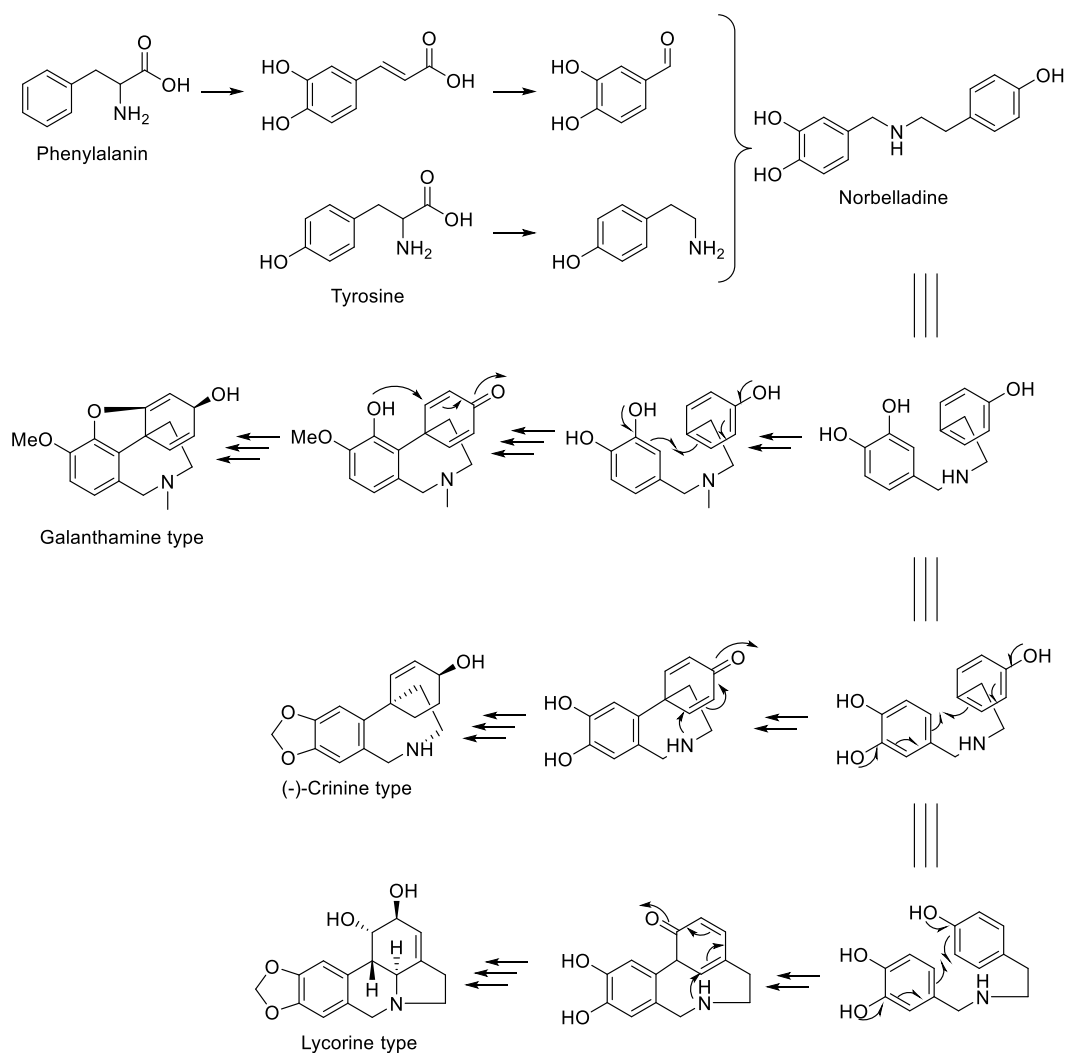
このハマユウは根茎にアルカロイドを豊富に含むため有毒植物として知られている。その一方で, 漢方においては石蒜 (せきさん) という生薬名を持ち利尿や去痰作用を持つとされている。さらに民間伝承薬としても, すり潰した根茎を土踏まずなどに湿布する事でむくみや肩こりの解消に効果があるとして用いられてきた。

また, 民間伝承薬としての効能だけでなく, 根茎部位の抽出物が抗肥満効果<sup>[3-1-1]</sup>, 抗炎症活性<sup>[3-1-2]</sup>などを有することが報告されている。

ヒガンバナ科の植物に含まれるアルカロイドの骨格は主に crinine 型, lycorine 型, galanthamine 型の3種である。Figure 2-2 に示すように, これらの骨格は phenylalanine や tyrosine を出発物質とする生合成経路により合成される。Tyramine とカフェ酸 (caffeic acid) から生成する 3,4-dihydroxybenzaldehyde とが縮合した norbelladine を前駆体として生成される。norbelladine の閉環様式により crinine 型, lycorine 型, galanthamine 型の生合成経路に分かれ, 第一段階の閉環はいずれも酸化カップリングによって起こり, *para-para* から結合すれば crinine 型, *para-ortho* から lycorine 型, *ortho-para* から galanthamine 型を生成する<sup>[3-1-3]</sup>。



Figure 2-1. *Crinum asiaticum* var. *japonicum* (上: 花; 左: 果実; 右: 根茎)



**Figure 2-2.** ヒガンバナアルカロイドの生合成経路

これまでも、ハマユウからは **crinine**, **lycorine**, **galanthamine** 骨格を有する類縁体や **Flavan** 類, トリテルペン類の単離報告がなされており<sup>[3-1-4, 3-1-5, 3-1-6, 3-1-7]</sup>, その含有成分は非常に多様である。

加えて, 上記の骨格を有する化合物はその類縁体も含め, 全合成が盛んに行われており, 2000 年には **Flippin** らによって **ungeremine**<sup>[3-1-8]</sup>, 2005 年には **Toste** らによって **(-)-galanthamine**<sup>[3-1-9]</sup>, 2008 年には **Cho** らによって **(±)-crinine** 及び **(±)-crinamine**<sup>[3-1-10]</sup>, 2008 年および 2009 年には **Takayama** らおよび **Yamada** らによって **(-)-lycorine** およびその類縁体の全合成が報告されている<sup>[3-1-11, 3-1-12]</sup>。さらに, 近年でも, これらアルカロイドが有する生物活性の詳細な調査や, 構造活性相関研究のために, より効率的な合成方法が数多く報告されている<sup>[3-1-13, 3-1-14]</sup>。

本研究においてはハマユウの根茎および果実部分を植物材料として用い, これまでに報告のない新規なアルカロイド成分の単離, 構造解析を目的とし, 研究を行った。

また主要骨格の 1 つである **galanthamine** 型アルカロイドは強いアセチルコリンエステラーゼ阻害活性及びニコチン性アセチルコリン受容体に対する増強作用を持つことから第 2 世代アルツハイマー病治療薬として 2011 年初頭に日本でも承認されたのレミニール®として知られる。さらに, **lycorine** も風邪, 咳止め薬であるリコデ®の主成分として用いられている他, 腫瘍壊死因子 (TNF- $\alpha$ ) 産生抑制作用や<sup>[3-1-15]</sup>, **Lycorine** 類縁体が AchE 阻害活性を有する報告されている<sup>[3-1-16]</sup>。また, **crinamine** が低酸素誘導因子 (HIF-1 $\alpha$ ) 阻害活性を持つことも報告されており<sup>[3-1-17]</sup>, ヒガンバナアルカロイドが持つ活性の一端がうかがえる。

得られたアルカロイド成分について, ヒト子宮頸癌 HeLa 細胞及びヒト骨髄性白血病 HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験を行った。また, アルツハイマー病治療薬の主たる作用機序であるアセチルコリンエステラーゼ阻害作用についても調査するためにアセチルコリンエステラーゼ阻害活性試験も実施し, それらの結果についても検討を行った。

## 第2節 *Crinum asiaticum* var. *japonicum* に含まれる化学成分の単離精製

### 2-1. *Crinum asiaticum* var. *japonicum* に含まれる化学成分の単離精製

*Crinum asiaticum* var. *japonicum* の果実および根茎部をそれぞれ別々に MeOH に浸漬し、MeOH 抽出物を得た。それぞれの MeOH 抽出物について、クエン酸水溶液 (pH 3) に溶解した後、petroleum ether および EtOAc で液-液分配を行い、残った水層に Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を添加して pH 10 に調整した。pH 10 の水槽に対し、CHCl<sub>3</sub>、EtOAc および *n*-BuOH で順次液-液分配を実施し、アルカロイド画分として CHCl<sub>3</sub>、EtOAc および *n*-BuOH 画分を得た。

果実および根茎部から得られたアルカロイド画分に対して、NH-silica gel カラムクロマトグラフィー、silica gel カラムクロマトグラフィーおよび ODS-HPLC などを用いた精製操作を実施した。精製操作により、果実部分から crinine 骨格を有する新規化合物 Crijaponine A (21) および galanthamine 骨格を有する新規化合物 crijaponine B (22) が、既知化合物 lycorine (24)<sup>[3-1-18]</sup>、2-*O*-acetyllycorine (25)<sup>[3-1-18]</sup>、1,2-*O*-diacetyllycorine (26)<sup>[3-1-18]</sup>、hamayne (29)<sup>[3-1-6]</sup>、(+)-epibuphanisine (30)<sup>[3-1-19]</sup>、crinamine (31)<sup>[3-1-10]</sup>、epinorgalanthamine (33)<sup>[3-1-20]</sup>が単離された。また、根茎部からは、既知化合物 ungeremine (23)<sup>[3-1-18]</sup>、(-)-crinine (27)<sup>[3-1-10]</sup>、11-hydroxyvittatine (28)<sup>[3-1-21]</sup>、yemenine A (32)<sup>[3-1-22]</sup>を単離した。単離した化合物群を Figure 2-3 に、単離スキームを Figure 2-4~2-9 に示す。詳細な単離方法については、実験の部で述べる。

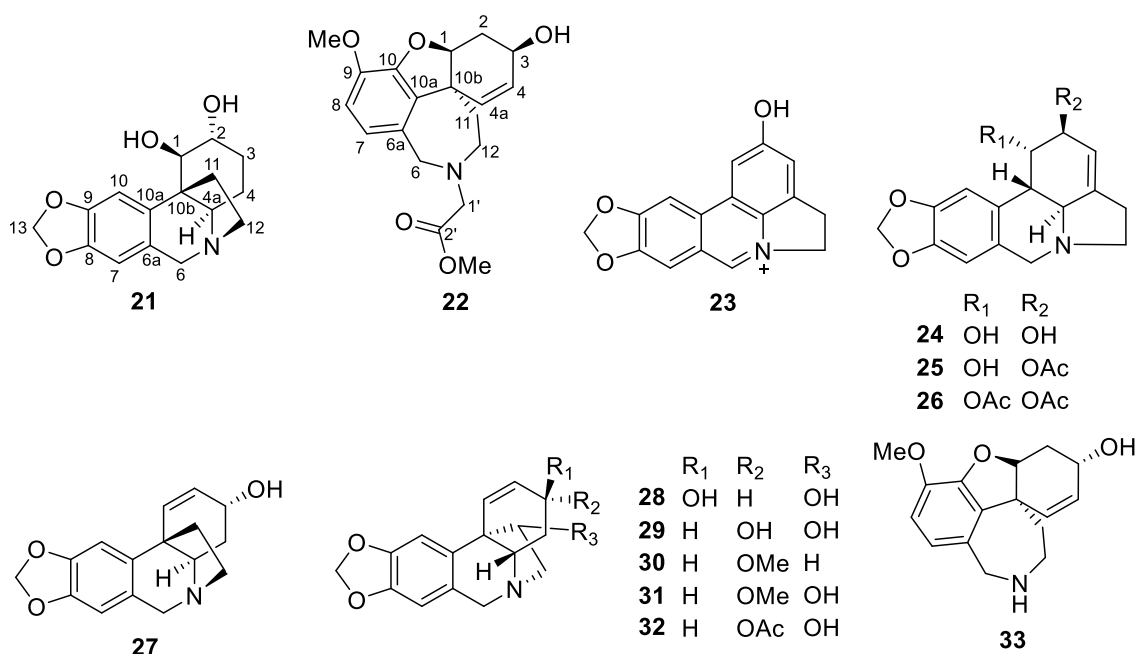


Figure 2-3. *Crinum asiaticum* var. *japonicum* から単離した化合物

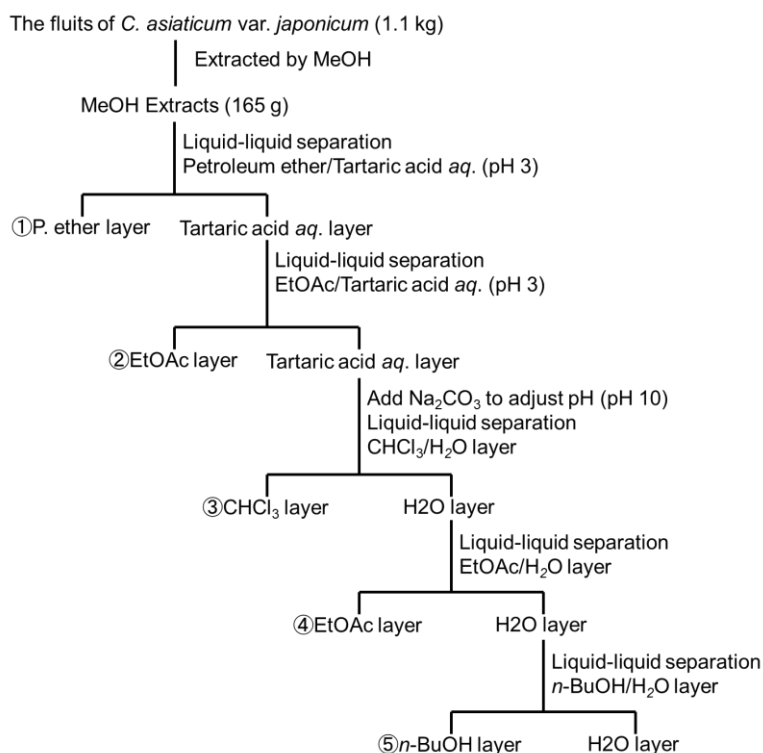


Figure 2-4. *Crinum asiaticum* var. *japonicum* 果実部の分画スキーム-1

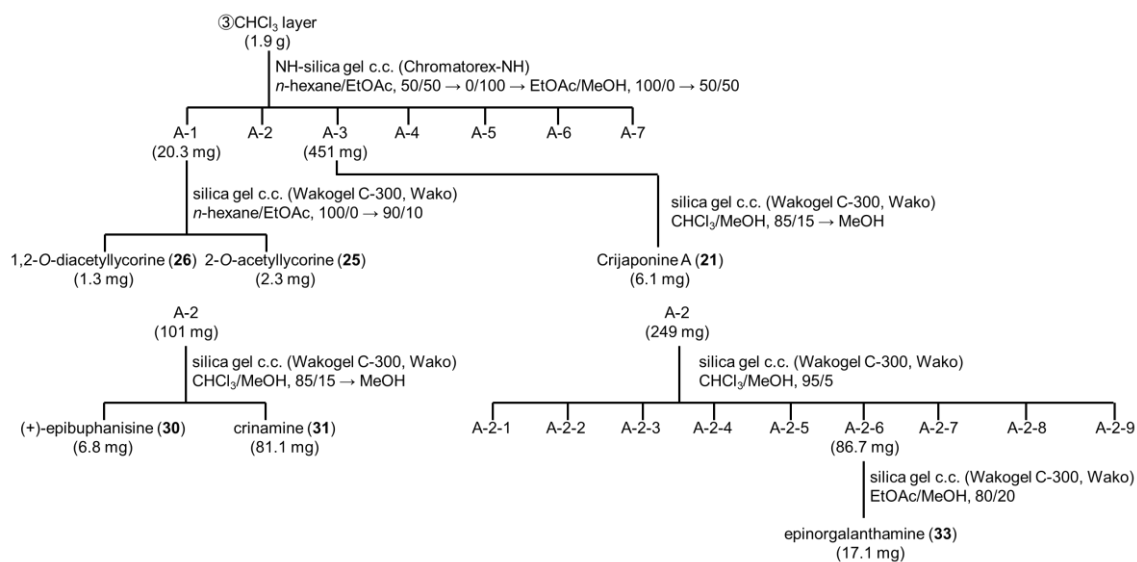


Figure 2-5. *Crinum asiaticum* var. *japonicum* 果実部の分画スキーム-2

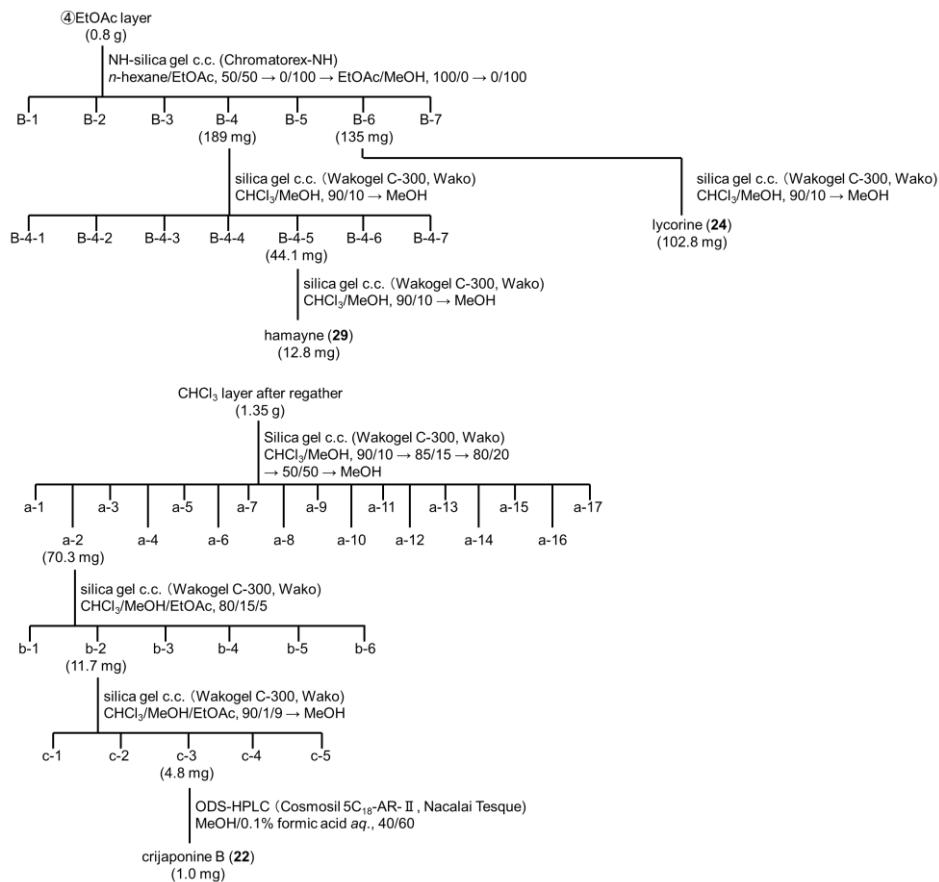


Figure 2-6. *Crinum asiaticum* var. *japonicum* 果実部の分画スキーム-3

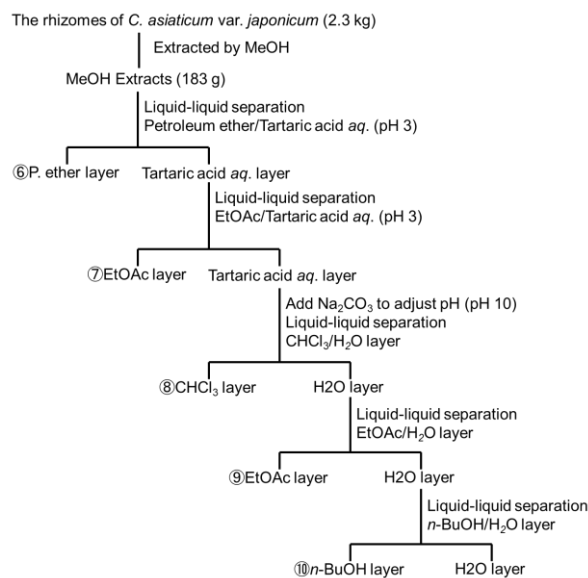


Figure 2-7. *Crinum asiaticum* var. *japonicum* 根茎部の分画スキーム-1

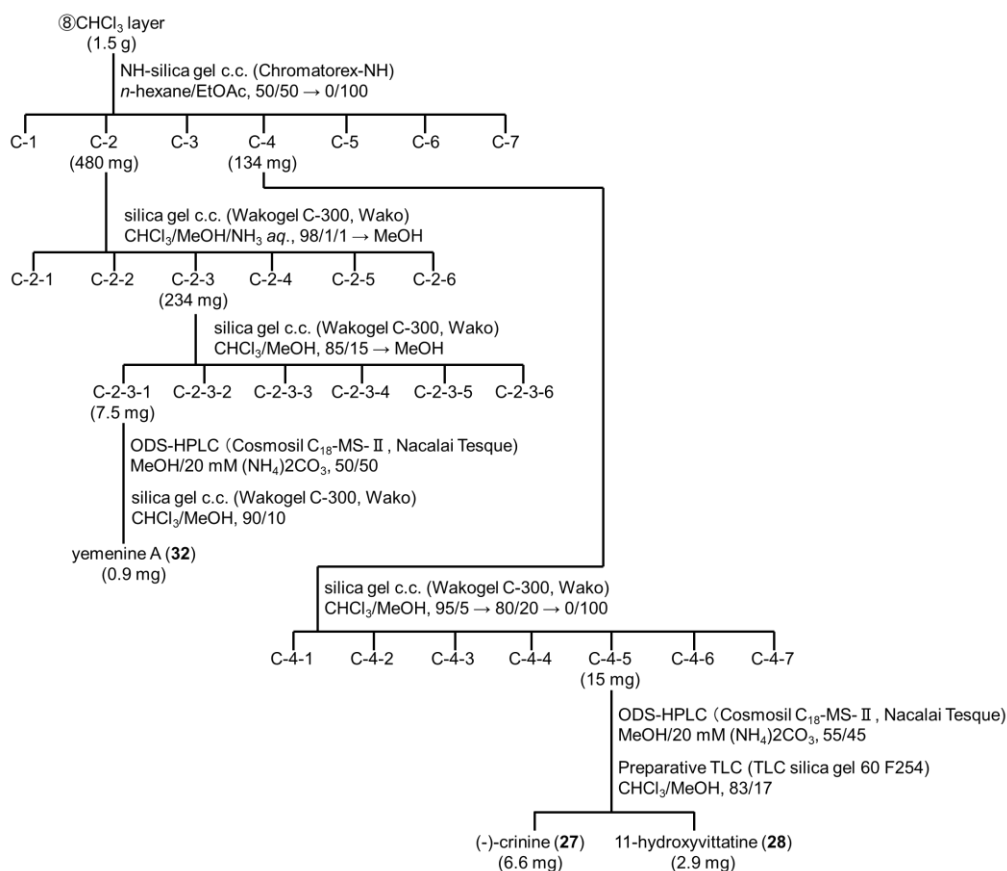


Figure 2-8. *Crinum asiaticum* var. *japonicum* 根茎部の分画スキーム-2

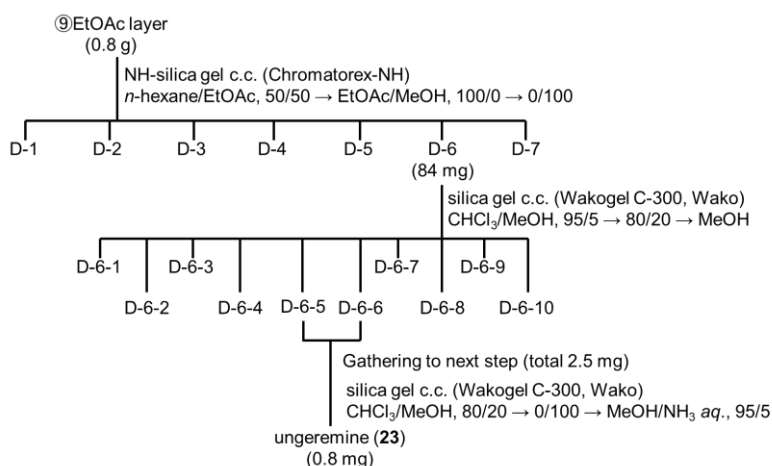


Figure 2-9. *Crinum asiaticum* var. *japonicum* 根茎部の分画スキーム-3

## 2-2. Crijaponine A (21) の構造解析

Crijaponine A (21) は、無色の非晶質として得られた。まず、分子式を推定するために、高分解能 ESIMS を測定したところ、 $m/z$  290.1374 ( $[M+H]^+$ , calcd. for 290.1392) が観

測されたため、分子式を  $C_{16}H_{19}NO_4$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、 $3348\text{ cm}^{-1}$  が観測されたため、ヒドロキシ基の存在が示唆された。同時に、 $3076$  および  $1620\text{ cm}^{-1}$  も観測されたことから、芳香環を有すると推定した。

また、詳細な構造解析を行うために、 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 、DEPT、および 2D NMR ( $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ 、HSQC、HMBC から得られたデータを精査した (Table 2-1)。21 は、6 つのメチレン炭素、3 つの  $\text{sp}^3$  メチン基、2 つの  $\text{sp}^2$  メチン基、1 つの  $\text{sp}^3$  4 級炭素および 4 つの  $\text{sp}^2$  4 級炭素を有していることが、 $^{13}\text{C NMR}$  および DEPT から明らかになった。続いて、C-6a ( $\delta_c$  125.7), C-7 ( $\delta_c$  106.9), C-8 ( $\delta_c$  147.3), C-9 ( $\delta_c$  147.7), C-10 ( $\delta_c$  106.7), C-10a ( $\delta_c$  142.7) の 6 つのシグナルから、四置換芳香環の存在が示唆された。続いて、 $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$  を解析した結果、H-1 から H-4a および H-11 から H-12 までの繋がりが明らかになった。次に、HMBC について精査を行い、H-7 から C-8, C-9, H-10 から C-6a および C-9, H-13 から C-8 および C-9 の HMBC 相関クロスピークが観測されたことから、芳香環 A がメチレンジオキシ部位を有すると推察した。さらに、H-6 から C-4a および C-7, H-7 から C-6, H-10 から C-10b の HMBC 相関クロスピークは、芳香環 A と環 B の繋がりを示すと考えた。加えて、H-1 から C-10a, H-2 から C-4 および C-10b, H-3 から C-1 および C-4a そして H-4 から C-2 の HMBC 相関クロスピークの存在から、環 B と環 C の繋がりが示唆された。最後に、H-1 から C-11, H-6 から C-12, H-11 から C-1, C-4a および C-10a, H-12 から C-6 の HMBC 相関クロスピークより、C-11 および C-12 を含む架橋部位が、C-10b および N-5 と結合していると推定した。以上より、21 の平面構造は Figure 2-10 に示す構造であると推定した。

次に、相対立体構造を明らかにするために NOESY の測定を行った。その結果、H-1 と H-4a, H-2 と H-11 にそれぞれ相関が確認されたことから、C-1 および C-2 に結合した 2 つのヒドロキシ基は、それぞれ *trans* 配置 ( $1\beta, 2\alpha$ ) であることが示唆された (Figure 2-11)。

Table 2-1. Crijaponine A (21) の化学シフト ( $^1\text{H NMR}$ ; 500 MHz,  $^{13}\text{C NMR}$ ; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_c$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_c$
1	3.97 d (4.5)	74.1	8		147.3
2	4.02 dd (3.5, 4.5)	70.9	9		147.7
3	1.56 ddd (3.0, 3.5, 14.0)	29.5	10	7.50 s	106.7
3	1.95 <sup>#</sup>		10a		142.7
4	1.46 m	21.4	10b		50.5
4	1.75 m		11	1.95 <sup>#</sup>	37.6
4a	2.99 dd (5.0, 12.0)	69.4	11	2.89 m	
6	3.76 d (16.5)	62.5	12	2.81 m	52.4
6	4.29 d (16.5)		12	3.40 m	
6a		125.7	13	5.85 d (1.5), 2H	101.9
7	6.46 s	106.9			

<sup>#</sup> Overlapped  
in MeOD



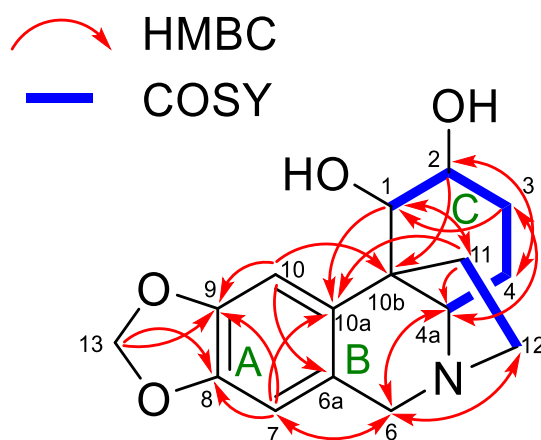


Figure 2-10. Crijaponine A (21) の HMBC および  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY

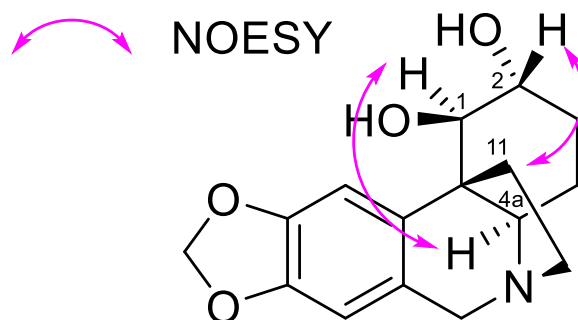


Figure 2-11. Crijaponine A (21) の Key NOESY

### 2-3. Crijaponine B (22) の構造解析

Crijaponine B (22) は無色非晶質固体として得られた。分子式について、高分解能 ESIMS の分析結果を精査し、 $m/z$  346.1641 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , calcd. for 346.1641) が観測されたため、分子式を  $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}_5$  と決定した。また、IR スペクトルにおいて、3371 および 1739  $\text{cm}^{-1}$  が観測されたことから、ヒドロキシ基とエステル基の存在が示唆された。

続いて、平面構造を解析するために  $^1\text{H}$  NMR および  $^{13}\text{C}$  NMR を精査すると、22 は同時に単離された既知化合物 epinorgalanthamine (33) に良く類似していることから galanthamine 骨格を有する化合物であると推定した (Table 2-2)。しかしながら、33 には見られない特徴的な  $^{13}\text{C}$  NMR シグナル C-1' ( $\delta_c$  54.0), C-2' ( $\delta_c$  171.5) および 2'-OMe ( $\delta_c$  51.8) が観測されたことから、22 はメチルアセテート部位を有することが示唆された。このメチルアセテート部位は、H-1'から C-6 および C-12 への HMBC 相関クロスピークより、N 原子を介して galanthamine 骨格と結合している構造であると考えた。すなわち、22 の平面構造は Figure 2-12 に示す構造である。

続いて、相対立体構造解析のために、NOESY の精査を行った。その結果、H-1 と H-

11, H-3 と H-11 の相関が観測されたことから, H-1, H-3 および H<sub>2</sub>-11 は  $\alpha$  配置であると推定した (Figure 2-13)。

Table 2-2. Crijaponine B (22) の化学シフト (<sup>1</sup>H NMR; 500 MHz, <sup>13</sup>C NMR; 125 MHz)

position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$	position	$\delta_{\text{H}}$ mult. (J, Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	4.61 br s	88.7	10a		133.0
2	2.01 m	29.9	10b		48.4
2	2.69 dt (1.7, 16.0)		11	1.60 <sup>#</sup>	33.9
3	4.14 m	62.0	11	1.98 m	
4	6.02 ddd (1.2, 4.6, 10.3)	127.8	12	3.20 br d (16.0)	52.1
4a	6.06 dd (1.2, 10.3)	126.7	12	3.51 <sup>#</sup>	
6	3.88 d (15.5)	58.3	1'	3.41 d (16.6)	54.0
6	4.29 d (15.5)		1'	3.37 d (16.6)	
6a		128.9	2'		171.5
7	6.60 d (8.0)	122.1	3-OH	2.39 d (11.0)	
8	6.66 d (8.0)	111.2	9-OMe	3.84 s	55.9
9		144.3	2'-OMe	3.73 s	51.8
10		146.0			

<sup>#</sup> Overlapped  
in CDCl<sub>3</sub>

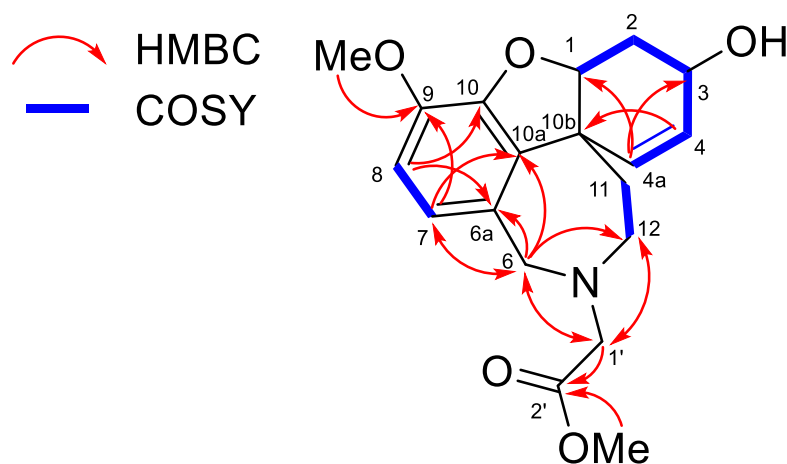


Figure 2-12. Crijaponine B (22) の HMBC および <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY

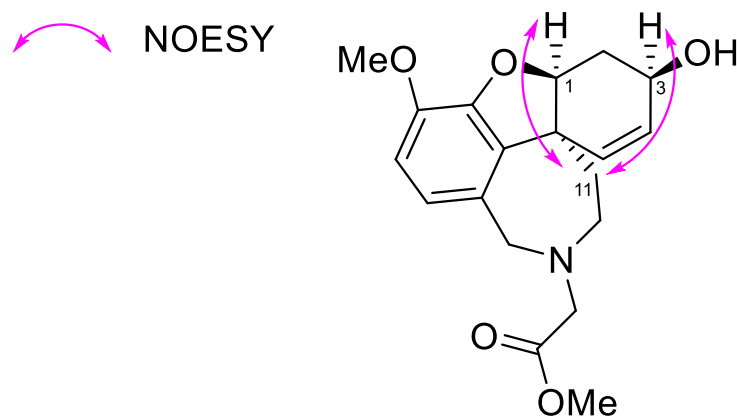


Figure 2-13. Crijaponine B (22) の Key NOESY

### 2-3. Crijaponin 類の絶対立体構造

Crijaponine A (**21**) および B (**22**) の絶対立体構造を決定するために、ECD スペクトルを測定した (Figure 2-14 および 2-15)。その結果、**21** について、コットン効果が 245.2 nm ( $\Delta\epsilon +1.88$ ) および 299.4 nm ( $\Delta\epsilon -0.21$ ) に観測されたことから *crimidine* と同様の絶対立体配置を有し、(1*R*, 2*R*, 4*aR*, 10*bS*) と推定した<sup>[3-1-23]</sup>。また、**22** において、コットン効果 242.0 nm ( $\Delta\epsilon -0.14$ ), 249.5 nm ( $\Delta\epsilon -0.27$ ) および 288.5 nm ( $\Delta\epsilon +0.36$ ) が観測されたことから、*galanthamine* と同様の絶対立体配置であり、(1*S*, 3*R*, 10*bS*) である推測した<sup>[3-1-24]</sup>。

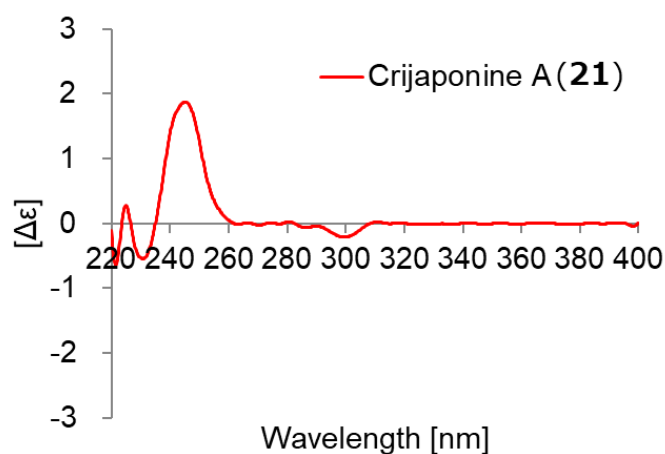


Figure 2-14. Crijaponine A (**21**) の ECD スペクトル

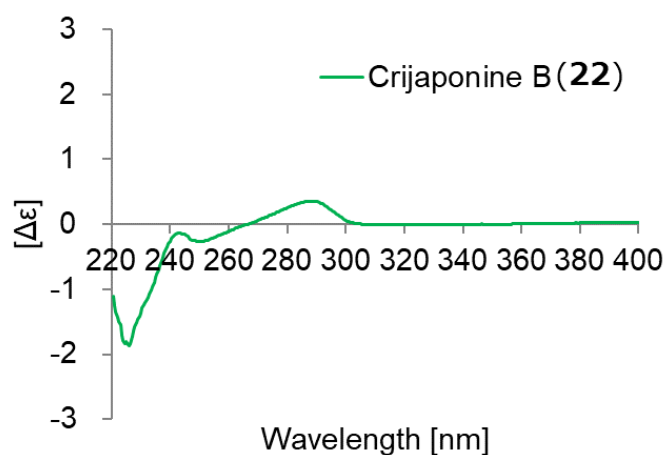


Figure 2-15. Crijaponine B (**22**) の ECD スペクトル

### 第3節 単離化合物の生物活性試験

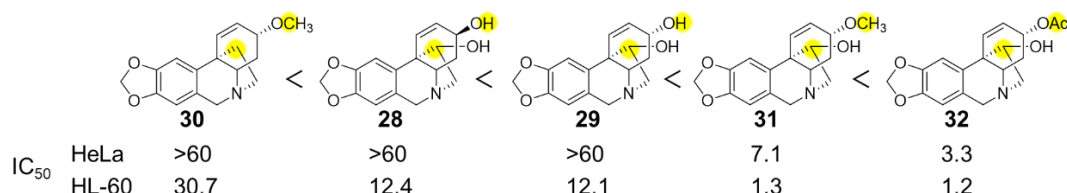
#### 3-1. HeLa 細胞および HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験

*Crinum asiaticum* var. *japonicum* の果実および根茎部から得られた化合物 **21**, **23-33** について、ヒト子宮頸癌 HeLa 細胞およびヒト急性前骨髄球性白血病 HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験を行った。各化合物の IC<sub>50</sub> 値を **Table 2-3** に示す。

(+)-crinine 骨格を有する一連の化合物群においては、11 位にヒドロキシ基が存在することで、また 3 位に結合するヒドロキシ基が、脂溶性の高いエステル構造になるほど殺細胞活性が向上する傾向が見られた (**Figure 2-16**)。

**Table 2-3.** HeLa および HL-60 細胞に対する各化合物の IC<sub>50</sub> 値

	IC <sub>50</sub> [μM]	
	HeLa	HL-60
<b>21</b>	>60	>60
<b>22</b>	-	-
<b>23</b>	>60	17.1
<b>24</b>	2.4	0.6
<b>25</b>	>60	>60
<b>26</b>	>60	>60
<b>27</b>	>60	>60
<b>28</b>	>60	12.4
<b>29</b>	>60	12.1
<b>30</b>	>60	30.7
<b>31</b>	7.1	1.3
<b>32</b>	3.3	1.2
Taxol	0.002	0.001



**Figure 2-16.** (+)-crinine 骨格を有する化合物の比較

#### 3-2. アセチルコリンエステラーゼ阻害活性試験

*Crinum asiaticum* var. *japonicum* の果実および根茎部から単離した化合物 **21**, **23-33** についてアセチルコリンエステラーゼ (AchE) に対する酵素阻害活性試験を実施した。その結果、化合物 **26** および **33** に弱い活性が見られ、IC<sub>50</sub> 値は、それぞれ 6.9 および 2.0 μM であった。

この時、positive control として用いた galanthamine の IC<sub>50</sub> 値は 0.04 μM であった。

**33** は、既に上市されているアルツハイマー病治療薬 Reminyl®と同様に、galanthamine 骨格を有するため、活性が見られたと考えられる。一方で、**26** は、Torizuka や Elgorashi

らの研究において、活性が弱いことが示されている<sup>[3-1-11], [3-1-25]</sup>。また、同研究の中で 1-*O*-acetyllycorine には、強い活性があることが報告されているが、今回の成分探索では得られていない。

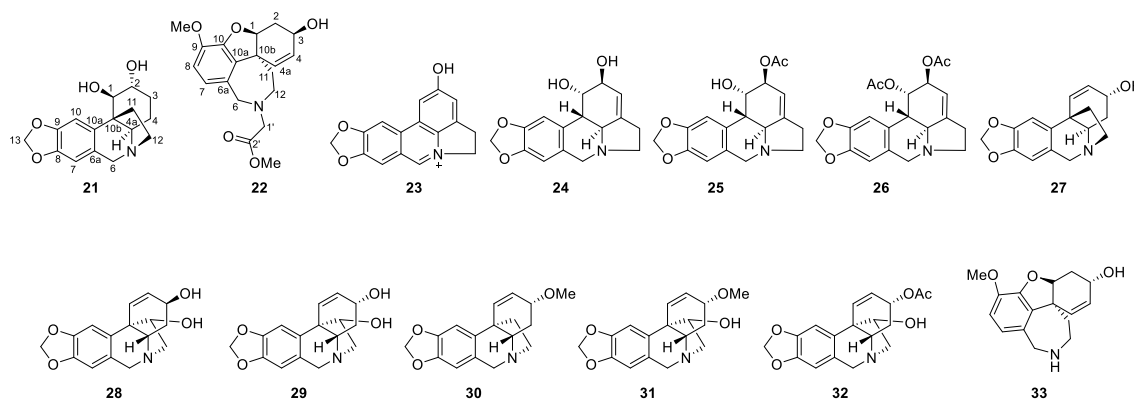
#### 第4節 小括

高知県産ヒガンバナ科 *Crinum asiaticum* var. *japonicum* の果実および根茎部から、13種のアルカロイドを単離精製し、1D および 2D NMR, 高分解能 MS を用いて構造解析を行った。その結果、2種が新規化合物であることが明らかとなり、それぞれ **crijaponin A (21)** および **B (22)** と命名した。また、ECD スペクトルを文献と比較することで、絶対立体構造も決定した (**Figure 2-17**)。

HeLa および HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験を実施した。その結果、いくつかの化合物に活性が見られた。また、(+)-*crinine* 骨格を有する一連の化合物群においては、11位にヒドロキシ基が存在することで、また3位に結合するヒドロキシ基が、脂溶性の高いエステル構造になると殺細胞活性が向上する傾向が見られた。

同様に、アセチルコリンエステラーゼ阻害活性試験を実施した結果、*galanthamine* 骨格を有する *epinorgalanthamine* に活性が見られた。

また、得られた全ての化合物について、化合物ライブラリーに格納した。



**Figure 2-17.** *C. asiaticum* var. *japonicum* から単離した化合物リスト

## 総括

第1章では、ブラジル産マメ科 (*Leguminosae*) *Bowdichia virgilioides* 種子の MeOH 抽出物から、フラン部位を有する化合物に特有な発色をする TLC 用発色試薬 Ehrlich 試薬を指標として、既知化合物3種 (**18-20**) を含む新規ジテルペン (**1-17**) を単離し、1D および 2D NMR や高分解能 MS データを精査することによってその構造を明らかにした。

既知化合物である **18-20** を含め、これら化合物の絶対立体構造を明らかにするために、2つ以上の発色団となる置換基を単一の化合物に導入することで生じる励起子キラリティー効果を利用した、具体的には、6,7-ジオール構造を有する既知化合物 **18** を原料として用い、これら2つのヒドロキシ基を *p*-ブロモベンゾエート化することにより、励起子キラリティー効果を生ずる構造に導き、ECD スペクトルを測定することで絶対立体構造を決定した。続けて、誘導体の原料として用いた **18** と、その他の単離した化合物群の ECD スペクトルを比較することにより、絶対立体構造を決定した。

また、化合物 **1** および **10** については、単結晶 X 線構造解析により、その構造を確認することができ、NMR および MS で推定した構造を支持するものであった。

生理活性試験においては、ヒト子宮頸癌 HeLa 細胞、ヒト急性前骨髄球性白血病 HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験、LPS 誘導 NO 産生抑制試験、抗マラリア活性試験を実施した。

単離した化合物群は、ほとんど殺細胞活性を有さず、HeLa 細胞に対して化合物 **11** が 32.2  $\mu\text{M}$ 、HL-60 細胞に対して化合物 **2**, **11** および **16** がそれぞれ 9.8, 32.6 および 10.8  $\mu\text{M}$  と弱い活性であった。序論で述べた通り、*B. virgilioides* 種子に期待する効果は、血糖値効果や抗炎症効果などが多く、がん細胞に対する効果ではないことから、単離した化合物群について殺細胞活性が見られないことは予測と合致する結果である。

一方で、LPS 誘導 NO 産生抑制活性試験においては、**10**, **16** および **17** が活性を有しており、その IC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 30.6, 44.0 および 54.3  $\mu\text{M}$  であった。positive control として用いた Erythraline の IC<sub>50</sub> 値 29.6  $\mu\text{M}$  と比較すると、化合物 **10** は比較的良い NO 産生抑制活性を有していると考えられる。

続いて、抗マラリア活性試験においては、化合物 **10**, **11** および **18** が活性を有しており、その IC<sub>50</sub> 値は、それぞれ 32.2, 23.5, 22.9  $\mu\text{M}$  であった。また、MRC-5 細胞に対する細胞毒性試験の CC<sub>50</sub> 値を前述の IC<sub>50</sub> 値で割り返した selectivity index の観点では、それぞれ 4.3, 1.9 および >12.0 であり、**18** が最も良い選択性を有していた。これらの抗マラリア活性が見られた化合物群は、C-4 にジェミナルのジメチル構造を有していることから、C-18 や C-19 の酸化は、抗マラリア活性において、活性を低下させる可能性が示唆された。

今回、furanocassane 骨格を有する化合物を選択的に単離精製することにより、多くの

新規 furanocassane 型化合物を発見し、その活性を調査することができた。しかし、今回の報告には含んでいないが、フラボノイドに分類されるジヒドロカルコン類縁体や、セスキテルペンに分類されるオイデスマン型化合物なども、種子の MeOH 抽出物から単離しており、furanocassane 以外にも多様な化合物が含まれている。そのため、より詳細に *B. virgilioides* 種子の成分探索を継続することで、新たな活性を有する化合物を発見できる可能性があると考ええる。

第 2 章では、高知県産ヒガンバナ科 (*Amaryllidaceae*) *Crinum asiaticum* var. *japonicum* に含まれるアルカロイド成分を精査し、果実部の MeOH 抽出物から、新規化合物 2 種 (21, 22) を含む、既知ヒガンバナ科アルカロイド lycorine (24), 2-*O*-acetyllycorine (25), 1,2-*O*-diacetyllycorine (26), hamayne (29), (+)-epibuphanisine (30), crinamine (31), epinorgalanthamine (33) を、根茎部の MeOH 抽出物から, ungeremine (23), (-)-crinine (27), 11-hydroxyvittatine (28), yemenine A (32) を単離した。果実部および根茎部どちらからも単離できた化合物も一部あるが、多くは部位特異的であることから、同じ植物内であっても、二次代謝産物の分布が大きく異なることが明らかとなった。

得られた 2 種の新規化合物については、crijaponine A が (-)-crinine 骨格, crijaponine B が galanthamine 骨格であり、ヒガンバナ科アルカロイドの代表的な 3 種の骨格に含まれるものであった。

新規化合物 21 および 22 は、1 次元および 2 次元 NMR と高分解能 MS などのデータを精査することで相対立体構造を推定し、絶対立体構造については、ECD を用いた参考文献との比較により決定した。

得られた化合物群について、ヒト子宮頸癌 HeLa 細胞, ヒト急性前骨髄球性白血病 HL-60 細胞に対する殺細胞活性試験およびアセチルコリンエステラーゼ阻害活性試験を実施した。HeLa 細胞および HL-60 細胞に対しては、(+)-crinine 骨格の化合物に着目すると、C-11 にヒドロキシ基が結合した化合物は活性が高く、さらに C-3 に結合しているヒドロキシ基がメトキシ基, アセトキシ基と脂溶性の高いエステル構造になるほど活性が向上する傾向が見られた。

アセチルコリンエステラーゼ阻害活性試験については、33 に最も活性が見られ、IC<sub>50</sub> 値 2.0 μM であった。これは、既に上市されている医薬 Reminyl® と同様の galanthamine 骨格を有するためであると考ええる。

最後に、今回単離した化合物は、それぞれの植物検体に含まれる成分のごく一部に過ぎないと考ええる。特に、マメ科 *B. virgilioides* については、furanocassane 以外の化合物についても探索を続けており、新たな構造の化合物を発見できる見込みがある。また、今回単離した化合物群は、全て天然物由来化合物ライブラリーに格納しており、医薬や健康食品と言った分野の基礎研究に役立てていきたい。



## 実験の部

### 第 1 章に関する実験

#### *Bowdichia virgilioides* の種子からの単離精製

*Bowdichia virgilioides* の種子 1 kg を破碎し、MeOH に浸漬した。得られた MeOH 抽出液をエバポレーターにて溶媒を留去し、MeOH 抽出物 316 g を得た。MeOH 抽出物から 21 g を ODS カラムクロマトグラフィー (H<sub>2</sub>O/MeOH, 80/20 → 60/40 → 40/60 → 20/80 → 0/100 → CHCl<sub>3</sub>, ODS-A, YMC) にて粗分画を行い、7 つのフラクション A~F を得た。この中のフラクション D (362.5 mg) について、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/CHCl<sub>3</sub>, 100/0 → 0/100 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) にて精製操作を行い、8 つのフラクション Da~Dg を得た。さらに、フラクション Dc (332.0 mg) を、ゲルろ過カラムクロマトグラフィー (MeOH, LH-20, Sephadex) により、4 つのフラクション Dc1~Dc4 に分画し、続いて Dc2 (332.0 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub> → MeOH, Silicagel 60, Merck) にて分離し、Dc2a~Dc2e の 5 つのフラクションに分画した。次いで、Dc2b (69.4 mg) をこれまでと同様にシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/CHCl<sub>3</sub>, 35/65, Silicagel 60, Merck) にて分離し、Dc2b1~Dc2b4 の 4 フラクションを得た。くわえて、Dc2b1 (25.1 mg) を ODS-HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O, 70/30, YMC-Pack, ODS-AM) にて精製し、**1** (17.6 mg, *t<sub>R</sub>* = 14.7 min) を得た。

また、Dc2C についてシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/CHCl<sub>3</sub>, 15/85, Silicagel 60, Merck) にて分画操作を行うことで、Dc2c1~Dc2c4 の 4 フラクションとした。さらに、Dc2c2 (80.0 mg) を、再度シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/acetone, 82/12, Wakogel, C-300, Wako) に供することで得られた 4 フラクション Dc2ca~Dc2cd から、Dc2cd (13.6 mg) について ODS-HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O, 65/35, YMC-Pack, ODS-AM) で精製し、**5** (4.6 mg, *t<sub>R</sub>* = 22.5 min) および **6** (2.3 mg, *t<sub>R</sub>* = 24.7 min) を得た。

同様にして、De (400.6 mg) について、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/acetone, 75/25 → 50/50 → MeOH, Wakogel, C-300, Wako) により分画し、De1~De7 の 7 フラクションを得た。次に、De2 (241.7 mg) を、更にシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/acetone, 85/15 → MeOH, Wakogel, C-300, Wako) にて分画し、得られた 8 フラクション De2a~De2g の内、De2g (30.0 mg) を ODS-HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O, 70/30, YMC-Pack, ODS-AM) にて精製操作を実施し、**8** (22.0 mg, *t<sub>R</sub>* = 40.7 min) および **9** (4.4 mg, *t<sub>R</sub>* = 34.9 min) を得た。

さらに、De4 (30.8 mg) について成分の精査を行うために、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 50/50, Silicagel 60, Merck) で 4 つのフラクション De4a~De4d に分画し、その内の De4b (20.4 mg) について、ODS-HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O, 68/32, YMC-

Pack, ODS-AM) にて更なる精製操作を行い, **2** (4.8 mg,  $t_R = 23.2$  min) と他 2 つのフラクション De4b1~De4b3 を得た。さらに, De4b1 に対して再度 ODS-HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O, 75/25, YMC-Pack, ODS-AM) での精製操作を行い, **3** (5.7 mg,  $t_R = 10.5$  min) および **4** (1.1 mg,  $t_R = 13.8$  min) を単離した。

ここで, フラクション C に戻る。フラクション C (0.81 g) について, シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/CHCl<sub>3</sub>, 100/0 → 0/100 → CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 98/2 → 70/30 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) にて粗分画し, 10 つのフラクション Ca~Cj を得た。このうち, Ce (747.9 mg) をさらに ODS カラムクロマトグラフィー (MeOH/H<sub>2</sub>O, 20/80 → 60/40 → MeOH, COSMOSIL 75C<sub>18</sub>-OPN) にて分画し, 得られた 9 フラクション Ce1~Ce9 の内, Ce5 (90.8 mg) をさらに ODS-HPLC (MeCN/H<sub>2</sub>O, 40/60, Develosil ODS-HG-5) にて精製を行い, **13** (3.8 mg,  $t_R = 11.7$  min) および **16** (4.4 mg,  $t_R = 19.8$  min) を得た。

続いて, フラクション E についても精査を行った。フラクション E (2.3 g) を, シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/CHCl<sub>3</sub>, 100/0 → 0/100 → CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 50/50 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) にて 7 フラクション Ea~Eg に分画後, Eb (582.4 mg) を, さらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 100/0 → 0/100 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) で Eb1~Eb7 の 7 フラクションに分画した。この中の Eb6 (6.7 mg) について, ODS-HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O, 80/20, J'sphere ODS-H80) にて精製することで, **17** (3.8 mg,  $t_R = 10.9$  min) を単離した。

ここで, 改めて MeOH 抽出物に着目し, MeOH 抽出物 (269 g) を 90%MeOH 水溶液に溶解後, *n*-hexane, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc にて液-液分配を実施することで, *n*-hexane 画分, CHCl<sub>3</sub> 画分, EtOAc 画分を得た。まず, *n*-hexane 画分を, シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 100/0 → 99/1 → 95/5 → CHCl<sub>3</sub> → MeOH, Wako-gel, C-200, Wako) にて粗分画し, Ga~Ge の 5 フラクションを得た。次いで, Gd (25.4 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 95/5 → 90/10 → 70/30 → 40/60 → MeOH, Wako-gel, C-200, Wako) で分画し, 得られた 5 フラクション Gd1~Gd5 中の Gd2 (5.3 g) をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 98/2 → 95/5 → 90/10 → CHCl<sub>3</sub> → MeOH, Wako-gel, C-200, Wako) で分離し, 6 つのフラクション Gd2a~Gd2f を取得した。この内, Gd2c (1.0 g) について, 再度シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 92/8 → MeOH, Wako-gel, C-200, Wako) に供して 4 フラクション Gd2c1~Gd2c4 に分画した後, Gd2c2 (100.0 mg) を ODS-HPLC (MeCN/H<sub>2</sub>O, 80/20, J'sphere ODS-H80, YMC) で精製し, **7** (4.1 mg,  $t_R = 31.3$  min) を得た。

続いて, *n*-hexane 画分から得られたフラクション Ge について, 再度 petroleum ether および EtOAc で液-液分配を行い, P. ether 画分 (Gea) と EtOAc 画分 (Geb) を得た。この EtOAc 画分 (Geb) について, シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 90/10 → 0/100 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) による分画操作を実施し, 得られた 11 フラクション Geb1~Geb11 の内, Geb4 (492.5 mg) についてシリカゲルカラムクロマト

グラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 90/10 → 80/20 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) を用いた更なる分画を実施した。ここで得られた 3 フラクシオン Geb4a~Geb4c の中の, Geb4b (55.7 mg) について, ODS-HPLC (MeCN/H<sub>2</sub>O, Develosil ODS-HG-5) による精製操作を実施することで, 単離した化合物が **14** (6.3 mg, *t<sub>R</sub>* = 14.6 min) である。

次は, CHCl<sub>3</sub> 画分の成分を精査した。CHCl<sub>3</sub> 画分 (90.0 g) を用いて, シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 90/10 → 75/25 → 60/40 → 45/55 → CHCl<sub>3</sub> → MeOH, Silicagel 60, Merck) による分画を行い, Ha~Hj までの 11 フラクシオンに分離した。続いてフラクシオン Hd をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 80/20 → 70/30 → 60/40 → 50/50 → MeOH) で分画した 14 フラクシオン Hd1~Hd14 の内, Hd8 (1.1 g) について, *n*-hexane/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> にて再結晶を行い, 結晶として **20** (634.7 mg) を取得した。

同じく, CHCl<sub>3</sub> 画分由来のフラクシオン Hg (9.0 g) をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 65/35 → 55/45 → 45/55 → MeOH, Silicagel 60, Merck) で 14 フラクシオン Hg1~Hg14 に分画した。その中の Hg5 (1.2 g) を *n*-hexane/EtOAc で再結晶し, 固液分離を行った後に得られた固形分 Hg5a (43.2 mg) を, さらに ODS-HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O, 75/25, J'sphere ODS-H80) による精製操作を実施し, **12** (21.5 mg, *t<sub>R</sub>* = 15.1 min) および **11** (18.7 mg, *t<sub>R</sub>* = 17.8 min) を得た。

さらに, フラクシオン Hg4 (1.7 g) について更なる分画をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 90/10 → MeOH, Silicagel 60, Merck) で行い, Hg4a~Hg4g の 7 フラクシオンを得た。この時, フラクシオン Hg4b として既知化合物 **19** (227.4 mg) が得られた。Hg4d (720.0 mg) は結晶性が良いフラクシオンであったため, *n*-hexane/EtOAc からの再結晶操作を実施し, 結晶として **18** (267.4 mg) を得た。また, この時得られた母液 (46.0 mg) について, ODS-HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O, 80/20, J'sphere ODS-H80) にて更なる精製操作を加えた結果, 結晶部と同じ成分である **18** (10.4 mg, *t<sub>R</sub>* = 29.6 mg) と共に **10** (36.5 mg, *t<sub>R</sub>* = 35.2 min) が得られた。

ここで改めて, CHCl<sub>3</sub> 画分の一部 (2.3 g) をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, Wako-gel, C-300, Wako) で I1~I5 の 5 フラクシオンに分画した後, I2 (435.4 mg) をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 99/1 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) で I2a~I2l の 12 フラクシオンに分離した。ここで得られたフラクシオン I2b (22.2 mg) を ODS-HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O, 50/50, Develosil ODS-HG-5) で精製することにより, **15** (1.1 mg, *t<sub>R</sub>* = 21.5 min) を取得した。

#### 得られた **sucupiranin** 類の物性値

Sucupiranin A (**1**): colorless crystals; mp 203.4–204.6 °C (MeOH/H<sub>2</sub>O); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> +63 (*c* 0.2, CHCl<sub>3</sub>); HRFABMS {*m/z* 417.1892 [M + H]<sup>+</sup>, calcd for C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>O<sub>7</sub> 417.1913}; IR (KBr)  $\nu_{\max}$  1745, 1782 cm<sup>-1</sup>; ECD (0.14 × 10<sup>-3</sup> M, MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 227.6 ( $\Delta\epsilon$  -20.4) nm.

Sucupiranin B (**2**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -33$  ( $c$  0.02,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  379.2123  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{O}_6$  379.2121}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3406, 1735  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $0.53 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 226.8 ( $-10.0$ )  $\text{nm}_0$

Sucupiranin C (**3**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -17$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  421.2216  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{O}_7$  421.2226}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3449, 1741  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $0.17 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 227.0 ( $-9.9$ )  $\text{nm}_0$

Sucupiranin D (**4**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -33$  ( $c$  0.02,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  421.236  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{O}_7$  421.2226}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3453, 1742  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $0.36 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 222.8 ( $-9.31$ )  $\text{nm}_0$

Sucupiranin E (**5**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -16$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  521.2391  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{O}_{10}$  521.2387}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3468, 1738  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $0.22 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 226.2 ( $-8.04$ )  $\text{nm}_0$

Sucupiranin F (**6**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -88$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  521.2385  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{O}_{10}$  521.2387}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3474, 1735  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $0.24 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 226.8 ( $-7.22$ )  $\text{nm}_0$

Sucupiranin G (**7**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -56$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  463.2321  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{O}_8$  463.2332; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3464, 1736  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $0.40 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 227.2 ( $-10.1$ )  $\text{nm}_0$

Sucupiranin H (**8**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +63$  ( $c$  0.2,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  435.2385  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{O}_7$  435.2383; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3425, 1740  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $9.21 \times 10^{-4}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 214.5 ( $-17.8$ ), 233.7 ( $-8.75$ )  $\text{nm}_0$

Sucupiranin I (**9**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +64$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  393.2274  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{O}_6$ : 393.2277}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3409, 1733  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $1.66 \times 10^{-4}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 212.7 ( $-3.11$ ), 219.5 ( $-3.78$ ), 229.7 ( $+4.22$ ), 251.0 ( $+0.61$ )  $\text{nm}_0$

Sucupiranin J (**10**): colorless crystals; mp 151.0–152.5  $^{\circ}\text{C}$ ;  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +44$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ); HRCIMS  $\{m/z$  377.2324  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{O}_5$  377.2328}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3399, 1723  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $7.25 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 236.6 ( $-1.43$ )  $\text{nm}_0$

Sucupiranin K (**11**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]_D^{25} +50$  ( $c$  0.02,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  403.2489  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{O}_5$ , 403.2484}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  1734  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $0.68 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 217.2 (-2.47), 224.6 (-1.92) nm.

Sucupiranin L (**12**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]_D^{25} -45$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ); HRFABMS  $\{m/z$  449.2171  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{O}_8$  449.2175}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3412, 1740  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $0.20 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 227.2 (-13.8) nm

Sucupiranin M (**13**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]_D^{26} +19$  ( $c$  0.2, MeOH); HRESIMS  $\{m/z$  391.2143  $[\text{M} - \text{H}]^-$ , calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{O}_6$  391.2121}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3461, 1732  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $7.4 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 214.6 (-20.0) nm.

Sucupiranin N (**14**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]_D^{20} +60$  ( $c$  0.10, MeOH); HRESIMS  $\{m/z$  381.2054  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{Na}$  381.2042}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3449, 1719  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $8.1 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 239.8 (+43.5) nm

Sucupiranin O (**15**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]_D^{29} +50$  ( $c$  0.02, MeOH); HRESIMS  $\{m/z$  441.1907  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_7\text{Na}$  441.1889}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3413, 1724  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $1.0 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 224.0 (-14.1) nm

Sucupiranin P (**16**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]_D^{26} -37$  ( $c$  0.2, MeOH); HRESIMS  $\{m/z$  435.2000  $[\text{M} - \text{H}]^-$ , calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{O}_8$  435.2019}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3401, 1734  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $5.9 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 222.0 (-67.9) nm

Sucupiranin Q (**17**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]_D^{26} -25$  ( $c$  0.04, MeOH); HRESIMS  $\{m/z$  467.2301  $[\text{M} - \text{H}]^-$ , calcd for  $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{O}_9$  467.2281}; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3469, 1731  $\text{cm}^{-1}$ ; ECD ( $1.5 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 227.0 (-24.3) nm

### 化合物 1 および 10 の単結晶 X 線構造解析データ

Crystal data for **1**: C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>7</sub>,  $M = 416.45$ ,  $0.20 \times 0.10 \times 0.10$  mm<sup>3</sup>, orthorhombic, space group P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>,  $a = 7.7640(7)$  Å,  $b = 10.8733(10)$  Å,  $c = 24.687(2)$  Å<sup>3</sup>,  $V = 2084.1(3)$  Å<sup>3</sup>,  $Z = 4$ ,  $D = 1.327$  mg/m<sup>3</sup>,  $\mu = 0.098$  mm<sup>-1</sup>,  $T = 100$  K, 12 127 refractions collected, 4760 [R(int) = 0.0303] independent refractions, final  $R_1 = 0.0468$  ( $wR_2 = 0.1127$ ). Flack parameter = 0.9(10). Colorless crystals of **1** were obtained from a mixture of MeOH/H<sub>2</sub>O.

Crystal data for **10**: C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub>,  $M = 376.48$ ,  $1.50 \times 1.50 \times 1.20$  mm<sup>3</sup>, orthorhombic, space group P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>,  $a = 6.6620(6)$  Å,  $b = 11.5786(11)$  Å,  $c = 25.333(2)$  Å<sup>3</sup>,  $V = 1954.1(3)$  Å<sup>3</sup>,  $Z = 4$ ,  $D = 1.280$  mg/m<sup>3</sup>,  $\mu = 0.089$  mm<sup>-1</sup>,  $T = 100$  K, 10 787 refractions collected, 4434 [R(int) = 0.0296] independent refractions, final  $R_1 = 0.0444$  ( $wR_2 = 0.0915$ ). Flack parameter = -0.2(9). Colorless crystals of **10** were obtained from a mixture of *n*-hexane/CHCl<sub>3</sub>.

### 誘導体 18α の合成と単離精製および物性値

化合物 **18** (10 mg, 0.03mmol) を pyridine (0.5 mL) に溶解し, *p*-bromobenzoyl chloride (42 mg, 6 eq.) および *N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (3 mg, 0.8 eq.) を加えた。そのまま室温で 2 週間攪拌した後, 水を加えて反応を止め, エバポレーションにて溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 95/5, Wako-gel, C-300, Wako) および分取 TLC (*n*-hexane/EtOAc, 90/10, silica gel 60 F254) で精製を行い, **18** の 6,7-bis-*p*-ブロモベンゾエート体として **18α** (5.1 mg, 23%) を得た。

以下に <sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C NMR のケミカルシフト, 高分解能 ESIMS により得られた分子式, ECD のコットン効果について記載する。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta_H$ : 7.62-7.65 (2H, m, 6-CO-*p*-BrPh), 7.62-7.65 (2H, m, 7-CO-*p*-BrPh), 7.41-7.45 (2H, m, 6-CO-*p*-BrPh), 7.41-7.45 (2H, m, 7-CO-*p*-BrPh), 7.22 d (1H, d,  $J=1.5$  Hz, 16-H), 6.05 (1H, d,  $J=1.5$  Hz, 15-H), 5.80 (1H, dd,  $J=10.0, 11.5$  Hz, 6-H), 5.39 (1H, t,  $J=10.0$  Hz, 7-H), 3.47 (1H, m, 14-H), 3.11 (3H, s, 17-OMe), 2.82 (1H, m, 8-H), 2.76 (1H, dd,  $J=5.0, 16.0$  Hz, 11-H), 2.51 (1H, m, 11-H), 1.80 (1H, m, 1-H), 1.68 (1H, m, 9-H), 1.63 (1H, d,  $J=11.5$  Hz, 5-H), 1.62 (1H, m, 2-H), 1.54 (1H, m, 2-H), 1.40 d (1H, d,  $J=14.0$  Hz, 3-H), 1.34 (3H, s, 20-H), 1.28 (1H, m, 3-H), 1.12 (1H, dt,  $J=13.0, 3.5$  Hz, 1-H), 1.00 (3H, s, 19-H), 0.93 (3H, s, 18-H)。

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta_C$  : 174.1 (C-17), 165.2 (6-CO-*p*-BrPh), 165.1 (7-CO-*p*-BrPh), 150.3 (C-12), 141.6 (C-16), 131.6, 131.2, 128.6, 128.1 (7-CO-*p*-BrPh), 131.5, 131.1, 128.2, 128.1 (6-CO-*p*-BrPh), 112.9 (C-13), 108.2 (C-15), 80.7 (C-6), 73.8 (C-7), 55.7 (C-5), 51.8 (17-OMe), 48.2 (C-9), 44.8 (C-14), 43.3 (C-3), 39.4 (C-8), 39.2 (C-1), 39.0 (C-10), 36.2 (C-18), 33.3 (C-4), 22.3 (C-19), 21.8 (C-11), 18.3 (C-2), 15.5 (C-20)。

HR-ESIMS  $m/z$  749.0703 ([M+Na]<sup>+</sup>, Calcd. 749.0680)

ECD ( $\text{CHCl}_3$ , 0.002 M)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 255.0 nm (-183), 239.4 nm (+70)

### **HeLa 細胞および HL-60 に対する殺細胞活性試験**

殺細胞試験：ヒト子宮頸癌細胞 (HeLa) を 96-well plate に 4000 cells/well (90  $\mu\text{L}$ ) 播種した (MEM, 10 % FBS, 1 % penicillin-streptomycin)。ヒト急性前骨髄球性白血病細胞 (HL-60) については 7000 cells/well (90  $\mu\text{L}$ ) を同様に播種した (RPMI Medium 1640, 10 % FBS, 1 % penicillin-streptomycin)。播種後、最終濃度が 1, 10, 60  $\mu\text{M}$  となるように各サンプル (DMSO 溶液 10  $\mu\text{L}$ , 最終 DMSO 濃度は 2%) を添加し, 37°C, 5 %  $\text{CO}_2$  でインキュベートした。Control として DMSO 0.2 % medium を, positive control として, mitomycin C を用いた。HeLa 細胞においては 72 時間後に, HL-60 細胞では 48 時間後に CCK-8 (Cell Counting Kit-8) を 10  $\mu\text{L}$ /well 添加した。HeLa 細胞では 2 時間, HL-60 細胞では 4 時間 インキュベートした後, Microplate reader を用いて吸光度を測定し (measurement filter: 450 nm, reference filter: 655 nm), 細胞生存率を算出した。

### **LPS 誘導 NO 産生抑制活性試験**

本活性試験については, 医療創生大学江藤忠洋先生に実施していただいた<sup>[1-26]</sup>。

### **抗マラリア活性試験**

本活性試験については, 北里大学大村智先生, 乙黒一彦先生, 岩月正人先生, 石山亜紀先生に実施していただいた<sup>[1]</sup>。

## 第 2 章に関する実験

### *Crinum asiaticum* var. *japonicum* の果実部からの単離精製

*Crinum asiaticum* var. *japonicum* の果実部 1.1 kg を破砕し、MeOH に浸漬し、得られた MeOH 抽出液をエバポレーターで濃縮し、MeOH 抽出物 165 g を得た。得られた MeOH 抽出物をクエン酸水溶液 (pH 3) に溶解し、petroleum ether, EtOAc にて順次液-液分配を実施した。残った水層に Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を添加し、pH を 11 に調整した。その後、CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, *n*-BuOH で順次液-液分配を行い。アルカロイド画分として CHCl<sub>3</sub> 画分, EtOAc 画分, *n*-BuOH 画分を得た。

初めに、CHCl<sub>3</sub> 画分 1.9 g をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 50/50 → 0/100 → EtOAc/MeOH, 100/0 → 50/50, Chromatorex-NH) で粗分画を行い、7つのフラクション A-1~A-7 を得た。続いて、A-1 (20.3 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 100/0 → 90/10, Wako-gel, C-300, Wako) で精製し、**26** (1.3 mg) および **25** (2.3 mg) を単離した。

同様に、フラクション A-2 の一部 (101 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 85/15 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) で精製することで、**30** (6.8 mg) および **31** (81.1 mg) を得た。さらに、残った A-2 (249 mg) を別途シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 85/15 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) で分画し、9 フラクション A-2-1~A-2-9 を得た。この中の A-2-6 (86.7 mg) について、さらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/MeOH, 80/20, Wako-gel, C-300, Wako) による精製操作を行うことで、**33** (17.1 mg) が得られた。

同じように、フラクション A-3 (451 mg) についても、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 85/15 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) での精製を行い、新規化合物 **21** (6.1 mg) を取得した。

単一の化合物となったフラクションを除き、これまで種々の条件で分画した CHCl<sub>3</sub> 画分について、更なる成分探索のために、再度混合し、濃縮することで CHCl<sub>3</sub> 画分 after regather とした。この CHCl<sub>3</sub> 画分 after regather について、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 90/10 → 85/15 → 80/20 → 50/50 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) による粗分画を実施し、a-1~1-17 の 17 フラクションに分離した。次いで、a-2 (70.3 mg) を再度シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/EtOAc, 80/15/5 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) で分画して得られた 6 フラクション b-1~b-6 の中から、b-2 について、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/EtOAc, 90/1/9 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) 更なる精製を行うことで、5 フラクション c-1~c-5 を得た。ここで、フラクション c-3 (4.8 mg) を、ODS-HPLC (MeOH/0.1% formic acid aq. , 40/60, Cosmosil 5C<sub>18</sub>-AR-II, Nacalai Tesque) で精製することで新規化合物 **22** (1.0 mg) を取得した。



次に、EtOAc 層について、CHCl<sub>3</sub> 層と同様にアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 50/50 → 0/100 → EtOAc/MeOH, 100/0 → 0/100, Chromatorex-NH) にて粗分画を行い、B-1~B-7 の 7 フラクションを得た。初めに、フラクション B-4 (189 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 90/10 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) にて分画することで得られた 7 フラクション B-4-1~B-4-7 から、B-4-5 (44.1 mg) をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 90/10 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) で精製することにより、**29** (12.8 mg) を単離した。

また、フラクション B-7 については、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 90/10 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) で精製を行うことで、**24** (102.8 mg) を得た。

### *Crinum asiaticum* var. *japonicum* の根茎部からの単離精製

*Crinum asiaticum* var. *japonicum* の根茎部 2.3 kg を破砕し、MeOH に浸漬し、得られた MeOH 抽出液をエバポレーターで濃縮し、MeOH 抽出物 183 g を得た。得られた MeOH 抽出物をクエン酸水溶液 (pH 3) に溶解し、petroleum ether, EtOAc にて順次液-液分配を実施した。残った水層に Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を添加し、pH を 11 に調整した。その後、CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, *n*-BuOH で順次液-液分配を行い。アルカロイド画分として CHCl<sub>3</sub> 画分, EtOAc 画分, *n*-BuOH 画分を得た。

上記で得られた CHCl<sub>3</sub> 画分について、アミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 50/50 → 0/100, Chromatorex-NH) を用いて粗分画を行い、フラクション C-1~C-7 を得た。フラクション C-2 (480 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/NH<sub>3</sub> aq., 98/1/1 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) で分画することにより得られた 6 フラクション C-2-1~C-2-6 から、さらに C-2-3 (234 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 85/15 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) で分画を実施し、6 つのフラクション C-2-3-1~C-2-3-6 を得た。最後に、ODS-HPLC (MeOH/20 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> aq., 50/50, Cosmosil 5C<sub>18</sub>-MS-II, Nacalai Tesque) およびシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 90/10, Wako-gel, C-300, Wako) での精製操作を行うことで、**32** (0.9 mg) を単離した。

続けて、フラクション C-4 もシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 95/5 → 80/20 → 0/100, Wako-gel, C-300, Wako) による分画操作を行い、7 フラクション C-4-1~C-4-7 に分画した。この内の C-4-5 (15 mg) について、ODS-HPLC (MeOH/20 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> aq., 55/45, Cosmosil 5C<sub>18</sub>-MS-II, Nacalai Tesque) と、それに続く分取 TLC (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 83/17, silica gel 60 F254) での精製によって、**27** (6.6 mg) と **28** (2.9 mg) を得た。

次に、EtOAc 画分の成分探索を行うために、アミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc, 50/50 → EtOAc/MeOH, 100/0 → 0/100) による粗分画操作を行っ

た。ここで得られた7フラクションD-1~D-7の中から、D-6(84 mg)についてさらなる調査をおこなうために、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 95/5 → 80/20 → MeOH, Wako-gel, C-300, Wako) での分画を行うことで、10つのフラクションD-6-1~D-6-10を取得した。次にフラクションD-6-5およびD-6-6合わせて2.5 mgについて、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 80/20 → 0/100 → MeOH/NH<sub>3</sub> aq., 95/5, Wako-gel, C-300, Wako) での精製を行い、**23** (0.8 mg) を単離した。

#### Crijaponine A (21) および B (22) の物性値

Crijaponine A (**21**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]_D^{25} +16$  (c 0.1, MeOH); HRESIMS  $\{m/z$  290.1374  $[M + H]^+$ , calcd for C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub> 290.1392; ECD ( $2.5 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\max} (\Delta\epsilon)$  245.2 (+1.88), 299.4 (-0.21) nm

Crijaponine B (**22**): colorless, amorphous solid;  $[\alpha]_D^{25} -40$  (c 0.02, CHCl<sub>3</sub>); HRFABMS  $\{m/z$  346.1641  $[M + H]^+$ , calcd for C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>5</sub> 346.1641; ECD ( $4.6 \times 10^{-3}$  M, MeOH)  $\lambda_{\max} (\Delta\epsilon)$  242.0 nm (-0.14), 249.5 nm (-0.27), 288.5 nm (+0.36) nm

#### HeLa 細胞および HL-60 に対する殺細胞活性試験

殺細胞試験：ヒト子宮頸癌細胞 (HeLa) を 96-well plate に 4000 cells/well (90  $\mu$ L) 播種した (MEM, 10 % FBS, 1 % penicillin-streptomycin)。ヒト急性前骨髄球性白血病細胞 (HL-60) については 7000 cells/well (90  $\mu$ L) を同様に播種した (RPMI Medium 1640, 10 % FBS, 1 % penicillin-streptomycin)。播種後、最終濃度が 1, 10, 60  $\mu$ M となるように各サンプル (DMSO 溶液 10  $\mu$ L, 最終 DMSO 濃度は 2%) を添加し、37°C, 5 % CO<sub>2</sub> でインキュベートした。Control として DMSO 0.2 % medium を、positive control として, mitomycin C を用いた。HeLa 細胞においては 72 時間後に、HL-60 細胞では 48 時間後に CCK-8 (Cell Counting Kit-8) を 10  $\mu$ L/well 添加した。HeLa 細胞では 2 時間、HL-60 細胞では 4 時間 インキュベートした後、Microplate reader を用いて吸光度を測定し (measurement filter: 450 nm, reference filter: 655 nm), 細胞生存率を算出した。

#### アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害活性試験

氷冷下 (10°C) において、96 穴マイクロプレートの各 well に 0.25 units/mL となるように phosphate buffer (pH 7.6) に溶解させた AchE を播種した。播種後、最終濃度が 0.1, 1, 10  $\mu$ M となるように、それぞれ検体を添加し (50  $\mu$ L/well), インキュベート (room temperature) した後、冷蔵庫で 5 分間プレートを冷却した。次に、氷冷下 (10°C) で 2 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 水溶液に ATCI (Acetylthiocholine iodide) を 17.35 mg/100 mL, DTNB (5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid)) を 19.81 mg/100 mL となるように溶解させた基質溶液を各 well に 100  $\mu$ L/well となるように添加して氷冷下 (10 °C) で 10 分間インキュベートし

た後、マイクロプレートリーダーを用いて吸光度を測定し (measurement filter: 405 nm, reference filter: 650 nm), 阻害率を算出した。

## 謝辞

本研究は、日本大学大学院 総合基礎科学研究科 天然物化学研究室 大崎愛弓教授および東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 薬化学分野 影近弘之教授のご指導の下で行った成果であり、終始ご指導およびご鞭撻を賜りました大崎愛弓教授および影近弘之教授に、心より感謝し、厚く御礼申し上げます。

機器測定や構造解析、論文執筆に至るまで本研究全般に関して、ご指導ご鞭撻を賜りました千葉大学大学院 薬学研究院 活性構造化学研究室 石橋正己教授に心より感謝し、厚く御礼申し上げます。

構造解析から論文執筆に至るまで、研究全般においてご指導およびご鞭撻賜りました日本大学大学院 総合基礎科学研究科 天然物化学研究室 舟崎真理子助手に心より感謝し、厚く御礼申し上げます。

ECD スペクトル測定および単結晶 X 線構造解析について、ご助力いただきました徳島文理大学 薬学部 福山愛保教授、久保美和准教授、原田研一講師に心より感謝し、厚く御礼申し上げます。

ヒトがん細胞を用いた活性試験や研究全般に関して、ご指導ご鞭撻を賜りました東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 物質医工学分野 岸田晶夫教授に心より感謝し、厚く御礼申し上げます。

誘導体合成や機器測定に関して、ご指導ご鞭撻を賜りました大阪薬科大学 医薬分子化学研究室 平野智也教授に心より感謝し、厚く御礼申し上げます。

LPS 誘導 NO 産生抑制活性試験について、評価をして下さいました医療創生大学 薬学部 江藤忠洋准教授に心より感謝し、厚く御礼申し上げます。

機器測定にご助力いただき、ご指導ご鞭撻いただきました日本大学 薬学部 生薬学研究室 松崎 桂一教授に心より感謝し、厚く御礼申し上げます。

誘導体合成や機器測定に関して、ご指導およびご鞭撻賜りました東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 薬化学分野 藤井晋也准教授および増野弘幸氏に心より感謝し、厚く御礼申し上げます。

抗マラリア活性について評価をして下さいました北里大学基礎研究所熱帯病研究セ

ンター 岩月正人准教授，石山亜紀特任助教，乙黒一彦先生，大村智教授に深く御礼申し上げます。

業務外での研究に関してご快諾下さり，応援いただきました味の素株式会社 バイオ・ファイン研究所 泉井裕所長，中村純室長，大森一成室長，金子弘グループ長，金子雅哉マネージャーに心より感謝し，厚く御礼申し上げます。

研究生として活動するにあたり，実験にご助力いただきました日本大学大学院 総合基礎科学研究科 天然物化学研究室の学生諸兄に心より感謝し，厚く御礼申し上げます。

最後になりましたが，著者の研究生活をご理解いただき，支援してくださいました両親，家族に心より感謝致します。

## 参考文献

(序論)

- [1-1] 斉藤和季, 植物はなぜ薬を作るのか, 文藝春秋, 20-24 (2017)
- [1-2] 山崎幹夫, 斉藤和季, 薬学教科書シリーズ 薬用資源学, 丸善株式会社, 1-4 (1997)
- [1-3] Mansukhlal C. Wani, Harold Lawrence Taylor, Monroe E. Wall, Philip Coggon, Andrew T. McPhail, Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 2325-2327 (1971)
- [1-4] 医薬品産業ビジョン内医薬品産業ビジョンの概要 (2002年8月30日, 厚生労働省発行), 7
- [1-5] 医薬品産業強化総合戦略～グローバル展開を見据えた創薬～内「医薬品産業強化総合戦略」(参考資料) (2015年9月4日発行, 2017年12月22日改訂), 9
- [1-6] “Maturing antibody–drug conjugate pipeline hits 30” Mullard, A., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **12**, 329 (2013)
- [1-7] エーザイ株式会社 統合報告書 2019 (<https://www.eisai.co.jp/ir/library/annual/pdf/pdf2019ir.pdf>)
- [1-8] Amit Kumar, Krista Kinneer, Luke Masterson, Ebele Ezeadi, Philip Howard, Herren Wu, Changshou Gao, Nazzareno Dimasi, Synthesis of a heterotrifunctional linker for the site-specific preparation of antibody-drug conjugates with two distinct warheads, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **28**, 3617-3621 (2018)
- [1-9] Amit Kumar, Krista Kinneer, Luke Masterson, Ebele Ezeadi, Philip Howard, Herren Wu, Changshou Gao, Nazzareno Dimasi, Characterization and in vitro data of antibody drug conjugates (ADCs) derived from heterotrifunctional linker designed for the site-specific preparation of dual ADCs, *Data in Brief*, **21**, 2208-2220 (2018)
- [1-10] T. Mukaiyama, H. Ishikawa, H. Koshino, Y. Hayashi, One-Pot Synthesis of (–)-Oseltamivir and Mechanistic Insights into the Organocatalyzed Michael Reaction, *Chem. Eur. J.*, **19**, 17789-17800 (2013)
- [1-11] A. Nagaki, K. Hirose, O. Tonomura, T. Taga, S. Taniguchi, S. Hasebe, N. Ishizuka, J. Yoshida, Design of a Numbering-up System of Monolithic Microreactors and Its Application to Synthesis of a Key Intermediate of Valsaltan, *Org. Process Res. Dev.*, **20**, 687-691 (2016)
- [1-12] J. Yoshida, A. Nagaki, H. Kim, D. Ichinari, フラッシュケミストリー フラスコではできない合成化学を目指して, *Kagaku*, **70**, 19-24 (2015)
- [1-13] H. Kim, K. I. Kim, K. Inoue, D. J. Im, D. P. Kim, J. Yoshida, Submilli second Organic Synthesis: Outpacing Fries Rearrangement through Microfluidic Rapid Mixing, *Science*, **352**, 691-694 (2016)
- [1-14] A. Nagaki, K. Imai, S. Ishiuchi, J. Yoshida, Reactions of Difunctional Electrophiles with

- Functionalized Aryllithium Compounds: Remarkable Chemoselectivity by Flash Chemistry, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**, 1914-1918 (2015)
- [1-15] Y. Endo, M. Furusawa, T. Shimazaki, Y. Takahashi, Y. Nakahara, A. Nagaki, Molecular Weight Distribution of Polymers Produced by Anionic Polymerization Enables Mixability Evaluation, *Org. Process Res. Dev.*, **23**, 635-640 (2019)
- [1-16] Y. Nakahara, M. Furusawa, Y. Endo, T. Shimazaki, K. Ohtsuka, Y. Takahashi, Y. Jiang, A. Nagaki, Practical Continuous-Flow Controlled/Living Anionic Polymerization, *Chem. Eng. Technol.*, **42**, 2154-2163 (2019)
- [1-17] 原料を連続的に供給し混合・反応させる  
化学合成法「フロー合成法」を用いた化成品の製造受託サービスを開始  
[https://www.fujifilm.co.jp/corporate/news/articleffnr\\_1246.html](https://www.fujifilm.co.jp/corporate/news/articleffnr_1246.html)
- [1-18] Sotirios Kiokias, Theodoros Varzakas, Activity of flavonoids and  $\beta$ -carotene during the auto-oxidative deterioration of model food oil-in water emulsions, *Food Chemistry*, **150**, 280-286 (2014)
- [1-19] E. Nakano, D. Kamei, R. Murase, I. Taki, K. Karasawa, K. Fukuhara, S. Iwai, Anti-inflammatory effects of new catechin derivatives in a hapten-induced mouse contact dermatitis model, *Eur. J. Pharmacol.*, **845**, 40-47 (2019)
- [1-20] T. Nagao, T. Hase, I. Tokimitsu, A Green Tea Extract High in Catechins Reduces Body Fat and Cardiovascular Risks in Humans, *OBESITY*, **15**, 1473-1483 (2007)
- [1-21] M. Takeshima, M. Ono, T. Higuchi, C. Chen, T. Hara, S. Nakano, Anti-proliferative and apoptosis-inducing activity of lycopene against three subtypes of human breast cancer cell lines, *Cancer Sci.*, **105**, 252-257 (2014)
- [1-22] T. Nohara, Y. Fujiwara, R. Kudo, K. Yamaguchi, T. Ikeda, K. Murakami, M. Ono, T. Kajimoto, M. Takeya, Isolation and Characterization of New Onionins A<sub>2</sub> and A<sub>3</sub> from *Allium cepa*, and of Onionins A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, and A<sub>3</sub> from *Allium fistulosum*, *Chem. Pharm. Bull.*, **62**, 1141-1145 (2014)
- [1-23] Wei Lai, Zhijun Wu, Houwen Lin, Tiejun Li, Lianna Sun, Yifeng Chai, Wansheng Chen, Anti-ischemia Steroidal Saponins from the Seeds of *Allium fistulosum*, *J. Nat. Prod.*, **73**, 1053-1057 (2010)
- [1-24] T. Kikuchi, Y. Horii, Y. Maekawa, Y. Masumoto, Y. In, K. Tomoo, H. Sato, A. Yamano, T. Yamada, R. Tanaka, Pleurocins A and B: Unusual 11(9 $\rightarrow$ 7)-abeo-Ergostanes and Eringiacetal B: A 13, 14-seco-13, 14-Epoxyergostane from Fruiting Bodies of *Pleurotus eryngii* and Their Inhibitory Effects on Nitric Oxide Production, *J. Org. Chem.*, **82**, 10611-10616 (2017)
- [1-25] J. Takashima, N. Chiba, K. Yoneda, A. Ohsaki, Derrisin, a New Rotenoid from *Derris malaccensis* Plain and Anti-*Helicobacter pylori* Activity of Its Related Constituents, *J. Nat. Prod.*, **65**, 611-613 (2002)

- [1-26] J. Takashima, Y. Ikeda, K. Komiyama, M. Hayashi, A. Kishida, A. Ohsaki, New Constituents from the Leaves of *Morinda citrifolia*, *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 343-345 (2007)
- [1-27] M. Ozawa, S. Kawamata, T. Etoh, M. Hayashi, K. Komiyama, A. Kishida, C. Kuroda, A. Ohsaki, Structures of New Erythrinan Alkaloids and Nitric Oxide Production Inhibitors from *Erythrina crista-galli*, *Chem. Pharm. Bull.*, **58**, 1119—1122 (2010)
- [1-28] M. Ozawa, K. Honda, I. Nakai, A. Kishida, A. Ohsaki, Hypaphorine, an indole alkaloid from *Erythrina velutina*, induced sleep on normal mice, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 3992-3994 (2008)
- [1-29] M. Ozawa, T. Etoh, M. Hayashi, K. Komiyama, A. Kishida, A. Ohsaki, TRAIL-enhancing activity of Erythrinan alkaloids from *Erythrina velutina*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**, 234-236 (2009)
- [1-30] K. Taniguchi, S. Takizawa, T. Hirano, S. Murata, H. Kagechika, A. Kishida, A. Ohsaki, Amarastelline A: A Fluorescent Alkaloid from *Quassia amara* and Its Properties in Living Cells, *ChemPlusChem*, **77**, 427-431 (2012)
- [1-31] A. Ohsaki, Y. Kobayashi, K. Yoneda, A. Kishida, H. Ishiyama, Securinega Alkaloids from the Wood of *Securinega suffruticosa* var. *amamiensis*, *J. Nat. Prod.*, **70**, 2003–2005 (2007)

(1 章)

- [2-1-1] Hashimoto, G. Illustrated Cyclopedic of Brazilian Medicinal Plants; ABOC-SHA: Kamakura, 643 (1996)
- [2-1-2] Juliane Pereira da Silva, Janylle Nunes de Souza Ferro, Benisio Ferreira da Silva Filho, Luiz Antônio Ferreira da Silva, Tayhana Priscila Medeiros Souza, Heloisa de Carvalho Matos, Vinicius de Frias Carvalho, Renato Santos Rodarte, Emiliano Barreto, Aqueous extract of *Bowdichia virgilioides* stem bark inhibition of allergic inflammation in mice, *J. Med. Plants Res.*, **10**, 575-584 (2016)
- [2-1-3] Andrea Yu Kwan Villar Shan, Elis Cristiane Valença de Almeida, André Luiz Lima Menezes dos Santos, Amanda do Carmo Bion de Lima, Clisiane Carla de Souza Santos, Marília Trindade de Santana Souza, Nicole Prata Damascena, Silvan Silva de Araújo, Jymmys Lopes dos Santos, Monica Silveira Paixão, Anderson Carlos Marçal, Lucindo José Quintans Júnior, Brancilene Santos de Araujo, Charles dos Santos Estevam, Antioxidant and antinociceptive effect of the hydroethanolic extract and fractions of the bark of *Bowdichia virgilioides* in orofacial pain, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, **10**, 320-329 (2016)
- [2-1-4] Ana Carolina Mazei Silva, Máisa Pavani dos Santos, Suélem Aparecida de França, Virginia Claudia da Silva, Luiz Everson da Silva, Uir Santana de Figueiredo, Evandro Luiz Dall'Oglio, Paulo Teixeira de Sousa Júnior, Carbone França Lopes, Amanda Martins Baviera, Nair Honda Kawashita, Acute and subchronic antihyperglycemic activities of *Bowdichia*



- virgilioides* roots in nondiabetic and diabetic rats, *J. Intercult. Ethnopharmacol.*, **4**, 57-63 (2015)
- [2-1-5] Patrícia C. Bezerra-Silva, Jefferson C. Santos, Geanne K.N. Santos, Kamilla A. Dutra, Andrea L.B.D. Santana, Claudia A. Maranhão, Márcia S. Nascimento, Daniela M.A.F. Navar.ro, LotharW. Bieber, Extract of *Bowdichia virgilioides* and maackiain as larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito, *Exp. Parasitol.*, **153**, 160-164 (2015)
- [2-1-6] Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida, Raimundo Nonato da Silva-Filho, Xirley Pereira Nunes, Celidarque da Silva Dias, Fillipe de Oliveira Pereira, Edeltrudes de Oliveira Lima, Antimicrobial activity of the essential oil of *Bowdichia virgilioides* Kunt., *Braz. J. Pharmacogn.*, **16**, 638-641 (2006)
- [2-1-7] R. G. Torrenegra, R. S. Escarria, P. Bauereiß, H. Achenbach, Homoormosanine, The Major Alkaloid of the Bark from *Bowdichia virgilioides*, *Planta Med.*, **51**, 276-277 (1985)
- [2-1-8] Ruben Torrenegra, Peter Bauereiß, Hans Achenbach, Homoormosanine-type alkaloids from *Bowdichia virgilioides*, *Phytochemistry*, **28**, 2219-2221 (1989)
- [2-1-9] José Maria Barbosa-Filho, Jackson Roberto Guedes Da Silva Almeida, Vicente Carlos De Oliveira Costa, Emídio Vasconcelos Leitão Da-Cunha, Marcelo Sobral Da Silvar.aimundo Braz-Filho, *Asian Nat. Prod.Res.*, **6**, 11-17 (2004)
- [2-1-10] Francisca N. Melo, Vanessa R. Navar.ro, Marcelo S. Da Silva, Emidio V.L. Da-cunha, José M. Barbosa-Filho, Raimundo Braz-filho, *Nat. Prod. Lett.*, **15**, 261-266 (2001)
- [2-1-11] Débora B. F. Juck, Larissa C. De Rezende, Juceni P. David, Luciano P. De Queiroz, Jorge M. David, *Nat. Prod. Res.*, **20**, 27-30 (2006)
- [2-1-12] Leosvaldo S.M. Velozo, Bernadete P. da Silvar.obson R. Bernardo, JoseÂ P. Parente, *Phytochemistry*, **52**, 1473-1477 (1999)
- [2-1-13] ブラジル特許公開番号 BR 2010000622 (2011)
- [2-1-14] ブラジル特許公開番号 BR 2010000743 (2011)
- [2-1-15] Carol L. O'Neal, Dennis J. Crouch, Alim A. Fatah, *Forensic Sci. Int.*, **109**, 189-201 (2000)
- [2-1-16] Wenhua Jing, XinXin Zhang, Hongxia Zhou, Ying Wang, Maoqiang Yang, Liping Long, Huiyuan Gao, Naturally occurring cassane diterpenoids (CAs) of *Caesalpinia*: A systematic review of its biosynthesis, chemistry and pharmacology, *Fitoterapia*, **134**, 226-249 (2019)
- [2-1-17] M. Fascio, W.B. Mors, B. Gilbert, J.R. Mahajan, M.B. Monteiro, D. Dos Santos Filho, W. Vichnewski, Diterpenoid furans from *Pterodon* species, *Phytochemistry*, **15**, 201-203 (1976)

(2 章)

- [3-1-1] Yong Joon Jeong, Eun-Hwa Sohn, Yong-Hwan Jung, Weon-Jong Yoon, Young Mi Cho, Inhye Kim, Sung Ryul Lee, Se Chan Kang, Anti-obesity effect of *Crinum asiaticum* var. *japonicum* Baker extract in high-fat diet-induced and monogenic obese mice, *Biomed.*

*Pharmacother.*, **82**, 35-43 (2016)

[3-1-2] Young Heui Kim, Ki Ho Kim, Chang Sung Han, Sun Hee Park, Hong Chul Yang, Bang Yong Lee, Sang-Yong Eom, Young-Sil Kim, Jong-Heon Kim, Nam Ho Lee, Anti-inflammatory activity of *Crinum asiaticum* Linne var. *japonicum* extract and its application as a cosmeceutical ingredient, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **59**, 419-430 (2008)

[3-1-3] 天然物化学改訂第6版, 南江堂, 304-305 (2003)

[3-1-4] Byung Sun MIN, Jiang Jing GAO, Norio NAKAMURA, Young Ho KIM, Masao HATTORI, Cytotoxic Alkaloids and a Flavan from the Bulbs of *Crinum asiaticum* var. *japonicum*. *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 1217-1219 (2001)

[3-1-5] Shuzo Takagi, Masae Yamaki, On the Constituents of Bulbs of *Crinum asiaticum* var. *japonicum* BAK. On the Natural Constituents, *YAKUGAKU ZASSHI*, **97**, 1155-1157 (1977)

[3-1-6] Masamitsu Oti, Hitoshi Otsuki, Kosho Nagao, The Structure of Hamayne, a New Alkaloid from *Crinum asiaticum* L. var. *japonicum* Baker, *B. Chem. Soc. Jpn.*, **49**, 3363-3364 (1976)

[3-1-7] Young Ho KIM, Eun Jung PARK, Mi Hyun PARK, Uranchimeg BADARCH, Girma Moges WOLDEMICHAEL, John Albert BEUTLER, *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 2140-2142 (2006)

[3-1-8] Lucy M. Stark, Xiao-Fa Lin, Lee A. Flippin, Total Synthesis of Amaryllidaceae Pyrrolophenanthridinium Alkaloids via the Ziegler-Ullmann Reaction: Tortuosine, Criasbetaine, and Ungeremine, *J. Org. Chem.*, **65**, 3227-3230 (2000)

[3-1-9] Barry M. Trost, Weiping Tang, F. Dean Toste, Divergent Enantioselective Synthesis of (-)-Galanthamine and (-)-Morphine, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 14785-14803 (2005)

[3-1-10] Nguyen Thanh Tam, Jayhyok Chang, Eun-Ju Jung, Cheon-Gyu Cho, Total Syntheses of (±)-Crinine, (±)-Crimamine, and (±)-6a-epi-Crimamine via the Regioselective Synthesis and Diels-Alder Reaction of 3-Aryl-5-bromo-2-pyrone, *J. Org. Chem.*, **73**, 6258-6264 (2008)

[3-1-11] Yosuke Toriizuka, Eri Kinoshita, Noriyuki Kogure, Mariko Kitajima, Aki Ishiyama, Kazuhiko Otaguro, Haruki Yamada, Satoshi Omura, Hiromitsu Takayama, New lycorine-type alkaloid from *Lycoris traubii* and evaluation of antitrypanosomal and antimalarial activities of lycorine derivatives, *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 10182-10189 (2008)

[3-1-12] Ken-ichi Yamada, Mitsuaki Yamashita, Takaaki Sumiyoshi, Katsumi Nishimura, Kiyoshi Tomioka, Total Synthesis of (-)-Lycorine and (-)-2-epi-Lycorine by Asymmetric Conjugate Addition Cascade, *Org. Lett.*, **11**, 1631-1633 (2009)

[3-1-13] Mrinal K. Das, Nivesh Kumar, Alakesh Bisai, Catalytic Asymmetric Total Syntheses of Naturally Occurring Amaryllidaceae Alkaloids, (-)-Crinine, (-)-epi-Crinine, (-)-Oxocrinine, (+)-epi-Elwesine, (+)-Vittatine, and (+)-epi-Vittatine, *Org. Lett.*, **20**, 4421-4424 (2018)

[3-1-14] Ya-Ru Gao, Da-Yu Wang, and Yong-Qiang Wang, Asymmetric Syntheses of Amaryllidaceae Alkaloids (-)-Crinane and (+)-4a-Dehydroxycrinamabine, *Org. Lett.*, **19**, 3516-3519 (2017)

- [3-1-15] Satoru Yui, Masaaki Mikami, Yoshihiro Mimaki, Yutaka Sashida, Masatoshi Yamazaki, Inhibition Effect of Amaryllidaceae Alkaloids, Lycorine and Lycoricidinol on Macrophage TNF- $\alpha$  Production, *YAKUGAKU ZASSHI*, **121**, 167-171 (2001)
- [3-1-16] Yosuke Toriizuka, Doctoral theses (2009)
- [3-1-17] Young Ho KIM, Eun Jung PARK, Mi Hyun PARK, Uranchimeg BADARCH, Girma Moges WOLDEMICHAEL, John Albert BEUTLER, Crinamine from *Crinum asiaticum* var. *japonicum* Inhibits Hypoxia Inducible Factor-1 Activity But Not Activity of Hypoxia Inducible Factor-2, *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 2140-2142 (2006)
- [3-1-18] Lamoral-Theys D., Andolfi A., Goietsenoven G. V., Cimmino A., Le Calvé B., Wauthoz N., Mégalizzi V., Gras T., Bruyère C., Dubois J., Mathieu V., Kornienko A., Kiss R., Evidente A., Lycorine, the main phenanthridine Amaryllidaceae alkaloid, exhibits significant antitumor activity in cancer cells that display resistance to proapoptotic stimuli: an investigation of structure–activity relationship and mechanistic insight, *J. Med. Chem.*, **52**, 6244–6256 (2009)
- [3-1-19] Viladomat F., Bastida J., Codina C., Campbell W. E., Mathee S., Alkaloids from *Boophane flava*, *Phytochemistry*, **40**, 307–311 (1995)
- [3-1-20] Bastida J., Viladomat F., Bergonon S., Fernandez J. M., Codina C., Rubiralta M., Quirion J. C., Alkaloids from *Narcissus leonensis*, *Phytochemistry*, **34**, 1656–1658 (1993)
- [3-1-21] Abou-Donia A. H., Toaima S. M., Hammada H. M., Shawky E., Kinoshita E., Takayama H., Phytochemical and biological investigation of *Hymenocallis littoralis* Salisb, *Chem. Biodivers.*, **5**, 332–340 (2008)
- [3-1-22] Abdel-Halim O. B., Morikawa T., Ando S., Matsuda H., Yoshikawa M., New crinine-type alkaloids with inhibitory effect on induction of inducible nitric oxide synthase from *Crinum yemense*, *J. Nat. Prod.*, **67**, 1119–1124 (2004)
- [3-1-23] Wagner J., Pham H. L., Doepke W., Alkaloids from *Hippeastrum equestre* Herb.—5. Circular dichroism studies, *Tetrahedron*, **52**, 6591–6600 (1996)
- [3-1-24] DeAngelis G. G., Wildman W. C., Identification of Amaryllidaceae alkaloids utilizing ORD and CD spectroscopy, *Tetrahedron Lett.*, **9**, 729–732 (1969)
- [3-1-25] Elgorashi E. E., Stafford G. I., Staden, J., Acetylcholinesterase enzyme inhibitory effects of amaryllidaceae alkaloids, *Planta Med.*, **70**, 260-262 (2004).

(実験の部)

- [J-1] Otoguro K., Kohama A., Manabe C., Ishiyama A., Vi H., Shiomi K., Yamada H., Omura S., *J. Antibiot.*, **54**, 658–663 (2001)

## 主論文目録

本学位論文内容は、下記の発表論文による。

主論文

1. Endo, Y., Kasahara, T., Harada, K., Kubo, M., Etoh, T., Ishibashi, M., Ishiyama, A., Iwatsuki, M., Otaguro, K., Ōmura, S., Akisue, G., Hirano, T., Kagechika, H., Fukuyama, Y., Ohsaki, A. Sucupiranins A-L, Furanocassane Diterpenoids from the Seeds of *Bowdichia virgilioides*. J.Nat. Prod. 80: 3120-3127 (2017).
2. Endo, Y., Sugiura, Y., Funasaki, M., Kagechika, H., Ishibashi, M., Ohsaki, A. Two new alkaloids from *Crinum asiaticum* var. *japonicum*. J. Nat. Med. 73: 648-652 (2019).
3. Endo, Y., Kasahara, T., Asakura, K., Mori, A., Funasaki, M., Akisue, G., Etoh, T., Harada, K., Fukuyama, Y., Matsuzaki, K., Ishibashi, M., Ohsaki, A., Sucupiranins M–Q, five new furanocassane-type diterpenoids from the seeds of *Bowdichia virgilioides*. Tetrahedron. 75: 130511 (2019).

## 学位論文審査委員

本学位論文の審査は、千葉大学薬学研究院において指名された下記の審査委員により行われた。

主査 千葉大学大学院教授 (薬学研究院) 薬学博士 石橋正己

副査 千葉大学大学院教授 (薬学研究院) 薬学博士 高山廣光

副査 千葉大学大学院教授 (薬学研究院) 薬学博士 西田篤司

副査 千葉大学大学院教授 (薬学研究院) 薬学博士 斉藤和季