

博士論文

サガリバナ (*Barringtonia racemosa*) の成分研究を
例にした植物の分類体系解析

令和5年9月

吉川伸仁

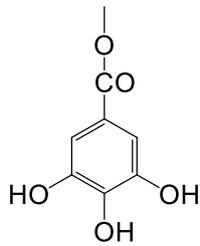
岡山大学大学院
医歯薬学総合研究科

目次

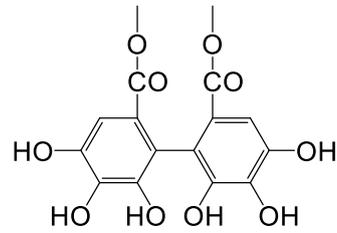
略語・略称・ナンバリング	3
緒言	7
第1章 サガリバナ <i>Barringtonia racemosa</i> のタンニン	
および関連ポリフェノール成分	15
1.1 ポリフェノール成分の抽出・分画	15
1.2 既知化合物の同定	26
1.3 Barringtonin M1 (1) の構造決定	27
1.4 Barringtonin D1 (2) の構造決定	35
1.5 Barringtonin D2 (3) の構造決定	51
1.6 Barringtonin D3 (4) の構造決定	64
1.7 Barricyclin D1 (5) の構造決定	76
1.8 新規化合物の NMR データまとめ	93
第2章 実験の部	
2.1 使用機器	98
2.2 <i>B. racemosa</i> の葉の抽出・分画	99
2.3 単離化合物のスペクトルデータおよび部分分解反応	100
第3章 サガリバナ <i>B. racemosa</i> に含まれる成分の生合成と植物分類体系について	
3.1 植物の進化	106
3.2 被子植物の分類体系	107
3.3 植物に含まれる化合物によるグルーピング	110
3.4 サガリバナに含まれるタンニンオリゴマーの特徴	116
3.5 サガリバナ科の植物分類体系	121
総括	
引用文献	125
本研究に関わる論文および学会発表	136
謝辞	137
化合物番号	138

略語・略称・ナンバリング

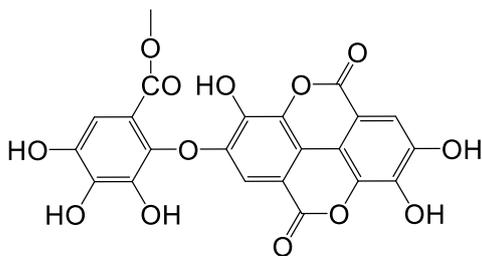
加水分解性タンニンに含まれる置換基の名称および略称は以下のものを使用する。



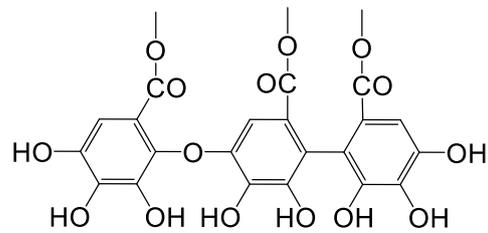
Gal: galloyl



HHDP: hexahydroxydiphenoyl



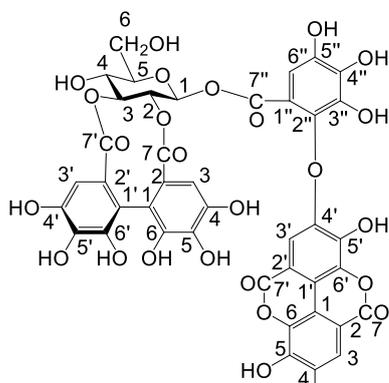
DLV: dilactonized valoneoyl



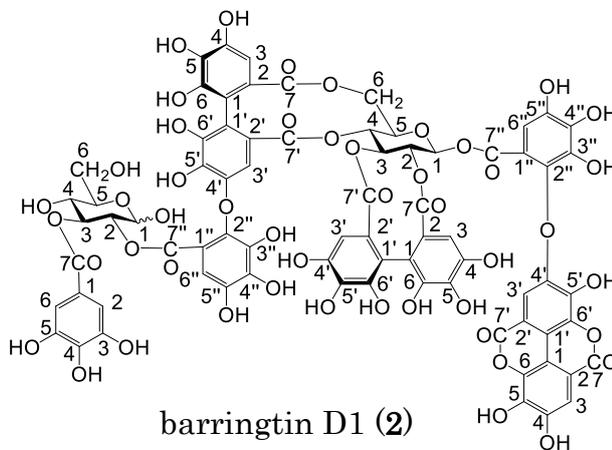
Val: valoneoyl

略語	完全表記
BuOH	Buthanol
CH ₃ CN	Acetonitrile
COSY	Correlation Spectroscopy
ECD	Electronic Circular Dichroism
EtOH	Ethanol
Fr.	Fraction
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
H ₂ SO ₄	Sulfuric acid
MeOH	Methanol
HR-ESI-MS	High-Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NP	Normal Phase
ODS	Octa Decyl Silyl
RP	Reverse phase
TFA	Trifluoroacetic Acid
t _R	Time Retention
UV	Ultraviolet

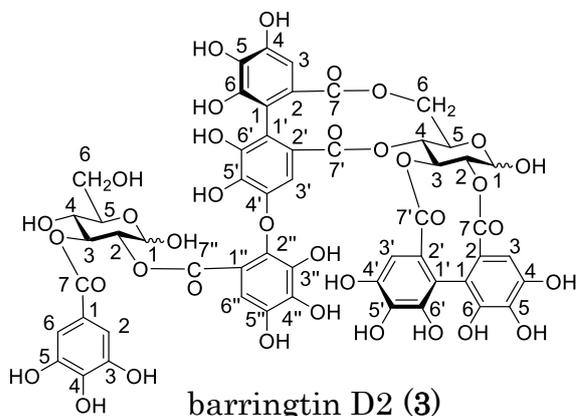
新規化合物の構造式中のナンバリングは以下の通りとする。



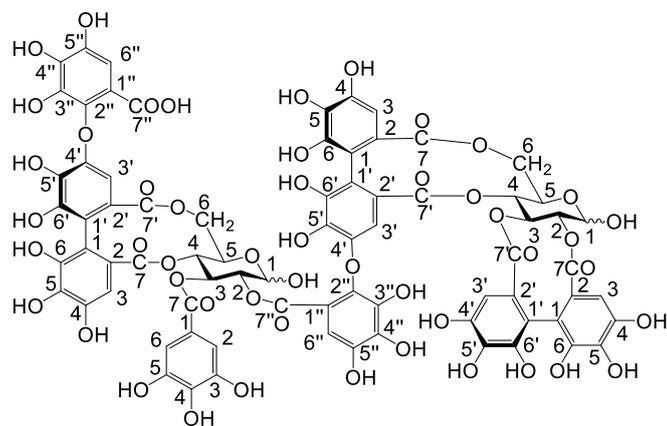
barrington M1 (1)



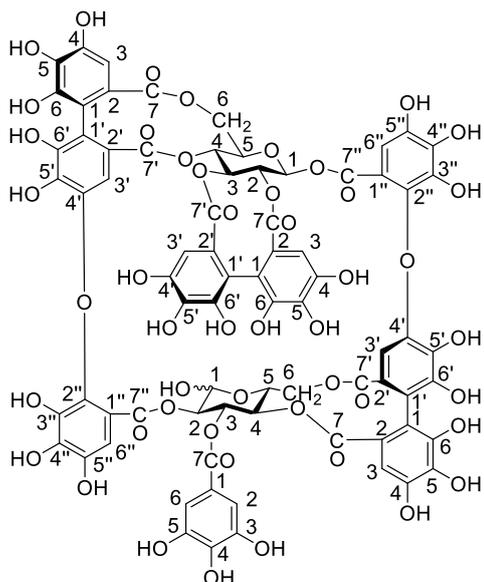
barrington D1 (2)



barrington D2 (3)



barrington D3 (4)



barricyclin D1 (5)

総論の部

緒言

植物がなぜ美しい花を咲かせるのか、それは目立つ色で昆虫たちを引き寄せ、雄しべの花粉を雌しべの柱頭まで運ぶのに風や水流など自然の力だけではなく、昆虫や小鳥、さらには小動物などの力を借りた方が、自然力による送粉よりも確実性ははるかに高いためである [1]。しかし、それに反して昆虫や小動物を呼び寄せることに非効率なように思える夜に花を咲かせる植物がある。月下美人、カラスウリ、オシロイバナ、オオマツヨイグサなどは身近なその例である。なぜあえて夜に咲くのか、それは夜行性動物に受粉してもらうためである [2]。花の色に白や黄色が多いのは暗がりでも目立つようにするためである。こうした花々は、競争相手の少ない夜に開花して夜の生き物たちをパートナーに選び、効率的に呼び寄せるように進化してきたものと考えられている [2]。

夜に開花する花の中で「幸運が訪れる」という花言葉をもつ植物がある。それがサガリバナである [3]。夜に咲いた花が朝になると水面に落ち (Figure 1) [4]、西表島ではシーズンになると幻想的な風景となり観光客を魅了する。実際に植物園での写真撮影を試みても (Figure 2)、開園時間では既に多くが落ちていたため満開の状態の花を映すことは難しい。サガリバナの受粉の媒介者はコウモリと考えられているが、西表島ではシロスジヒトリモドキ、シロシタサツマニシキ、キオビエダシヤク、ハグルマノメイガの 4 種の蛾が訪花し、吸蜜するのが確認されている [5]。このなんともしロマンティックな植物に興味を覚え、いつの日か「幸運が訪れる」ことを期待し、研究を開始した。



Figure 1. 横塚眞己人 (2011) さがりばな 講談社 からの抜粋



Figure 2. *B. racemosa* planted in Uji-city botanical garden

2020年8月 著者撮影

サガリバナ *Barringtonia racemosa* はツツジ目サガリバナ科の植物であり、熱帯、亜熱帯雨林気候を好み、水辺、川岸や淡水の沼地で生育するマングローブ植物である。東アフリカ、マダガスカル、バングラデシュ、スリランカ、インド、ミャンマー、中国南部、台湾、琉球列島、タイ、インド、そして、ポリネシア、ミクロネシアや北オーストラリアに至る各地に分布している [6, 7]。サガリバナはその名前の通り、70-100 cm の垂れ下がった総状花序に白から薄ピンク色の花が夜に咲き、翌朝には落ちる [8, 9]。サガリバナは各部位を様々な用途で伝統的に民族医療として用いられており [9] (**Table 1**)、特に葉については、中耳炎、高血圧、かゆみ、水疱瘡 [10, 11, 12]、蛇毒の治療 [13]、疥癬、破傷風、関節痛、骨折時の外用 [9] 等に、幅広く用いられている。その他、葉エキスについて抗酸化作用、抗菌作用、細胞毒性作用、細胞保護作用、抗炎症作用等、多くの報告がある [7, 8, 11, 14]。

Table 1. Representative ethnopharmacological uses of *B. racemosa* in various regions of the world

Ethnomedicinal properties	Area of use /Ethnic involved	Parts used / Method of Application	Ref.
Used as deobstruent, in the treatment of cough, asthma and diarrhoea. Also applied for skin diseases, colic and parturition	Sri Lanka	The fruits are used for the treatment of cough, asthma and diarrhoea. It is powdered to be used in skin diseases. The aromatic seeds are used in colic and parturition	15
Treatment of hypertension, itchiness and chicken pox	Malaysia	Its leaves are used to reduce high blood pressure and used as a depurative, in which the pounded leaves, roots and barks are used to reduce itchiness and chicken poxs.	16, 17
Treatment of malaria, cough, asthma, diarrhoea, eye inflammation, sores, rheumatism, fever and used for women in parturition	Africa (South Africa, Eastern Africa)	The Zulus use the fruit to treat malaria while the pulverized fruit is used as snuff. Seeds are used for the treatment of eye inflammation. Meanwhile, midwives use them for parturition. Bark decoction is applied externally for rheumatism treatment. Root decoction is used as febrifuge.	16, 18
Treatment of snake bite	Bagerhat district and Balidha village, Jessore district, Bangladesh by kavirajes	Leaves are used as a snake repellent and in Jessore and Bagerhat districts of Bangladesh, the leaves are smashed and the decoction is orally consumed for snake bite treatment.	19, 20, 21
Treatment of cough, asthma, diarrhoea, stomachache, ophtalmia and jaundice	Uttara Kannada, India	Aromatic seeds used in stomachache and ophthalmia; seed kernel with milk for treating jaundice. Also used in the preparation of skin ointment.	22
Treatment of scabies, tetanus and for placental apposition in women	Southeastern Madagascar	Leaves are used for scabies, tetanus and placental apposition.	23

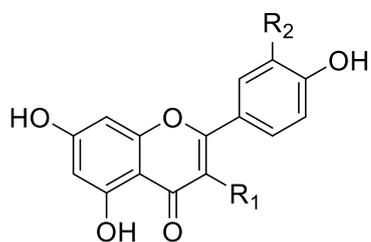
これまでサガリバナの葉の成分として報告がある化合物は、フラボノイドとして kaempferol, luteolin, rutin, naringin [13], quercetin [10], テルペノイドとして nigaichigoside F1, rosamultin, 23-hydroxytormentic acid, arjunic acid, maslinic acid [24], カロテノイドとして β -carotene, lycopene [25], ポリフェノールとして gallic acid, ellagic acid, protocatechuic acid [10], ferrulic acid [13] がある (Figure 3).

一方で、エキス成分と活性相関を調べた報告はごく僅かであり、例えば Kin らの報告 [26] によると、抗酸化活性の指標である FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power : 鉄(II) (Fe^{3+}) から鉄(I) (Fe^{2+}) への還元を利用して抗酸化能を測定する) や ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (抗酸化物質が ABTS ラジカルや DPPH ラジカルに 1 電子を供与することで基質を還元する) および superoxide anion radicals (活性酸素種) の消去活性が, EtOH エキス, AcOEt エキス, hexane エキスよりも水エキスが最も高かった. 含有するフラボノイド, テルペノイド, カロテノイドは水への溶解性は低いため, これら化合物の寄与は考えにくい. 低分子ポリフェノールは熱水で抽出されるが, gallic acid の活性は高くないことから, これら以外にも活性に関与する化合物の可能性が考えられた. さらに, 同植物の葉と茎に gallic acid と ellagic acid が多量に含まれることや [10], 生葉中のポリフェノール含量も高い [12] ことから, 種々のポリフェノールが相当量含まれていることが推測された. 順相 HPLC によるポリフェノール類の分析では, 加水分解性タンニンのオリゴマー (monomer が結合した重合体で dimer, trimer, tetramer, pentamer など) を検出可能である [27] ことから, 本研究の予備的検討としてこの方法を適用し葉のエキスについて分析を行ったところ, 加水分解性タンニンオリゴマーによると推定される化合物の存在が示唆された (Figure 4 に示す HPLC 分析では, 分子量が大きいくほど保持時間が長くなり, t_R 9.3 min 付近は dimer, t_R 16-17 min 付近は trimer, t_R 30 min 付近は tetramer, t_R 53 min 付近は pentamer の存在を示唆している). 近年の研究では, この加水分解性タンニンオリゴマーに強い PARP [ポリ(ADP-リボース) ポリメラーゼ] の阻害作用 [27, 28] や, camelliin B (6) [29], oenothein B (7) [30], woodfordin C (8) [31] などの大環状構造を持つ加水分解性タンニンオリゴマーにヒト口腔扁平上皮癌へのかなり高い腫瘍細胞毒性効果が認められ, その作用はモノマーより高い活性を示すことが示されている [32]. また, これらのうち 7 については, ヒト樹状細胞での免疫調節効果 [33], ケラチノサイト化学誘引物質産生と腹膜へ好中球誘導 [34], マウス脳の細胞外シグナル調節キナーゼ 2 (ERK2) シグナル伝達経路の活性化 [35] が報告されており, さらにヤナギラン (アカバナ科) の 7 の含量を規格化したエキスを用いたヒト試験では良性前立腺肥大症の改善が報告されている [36].

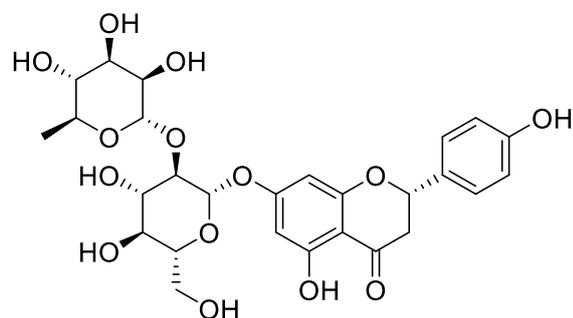
そこで本研究では, サガリバナの葉について高分子ポリフェノール成分を中心に検討を進めることとし, その結果, 以下に示すように数種の加水分解性タンニンおよび関連のポリフェノールを単離した.

こうした植物成分は、近縁植物間で類似していると考えられている。植物は、環境への適応や突然変異によって形質の変化が生じ分化や進化が起こる。これに伴い二次代謝産物の生合成経路も変化して、多種多様な植物成分が産生されるが、近縁の植物は類似した代謝、生合成経路を有しているためである [37]。実際、奥田ら [38] は、各植物に含まれる加水分解性タンニンのプロファイルが、クロンキスト体系に合致していると考察している。一方、1990 年代以降から DNA 解析による分類系統学の発展により、新たな分類体系が発表されている [39]。被子植物においては、1998 年には APG 分類体系としてまとめられ、その後、2003 年に APGII として改訂され、2009 年には APGIII が公表され、近年では 2016 年に APGIV が公表されており、植物分類体系の主流になりつつある。サガリバナ科は依拠する植物分類によって属する目が異なっており、今回単離した加水分解性タンニンの生合成について分類体系との関係を考察した。

Flavonoids

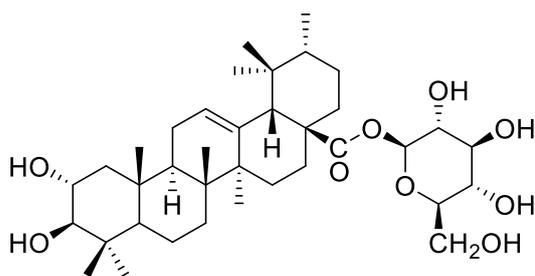


kaempferol : $R_1=OH, R_2=H$
 luteolin : $R_1=H, R_2=OH$
 quercetin : $R_1=OH, R_2=OH$
 rutin : $R_1=O-\beta-D-Glc-\alpha-L-Rham, R_2=OH$

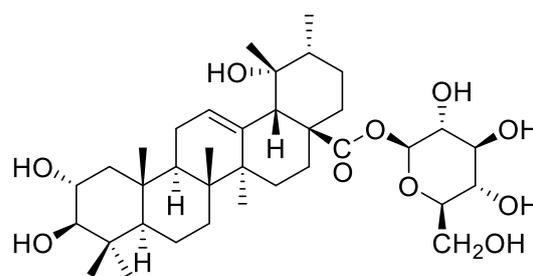


naringin

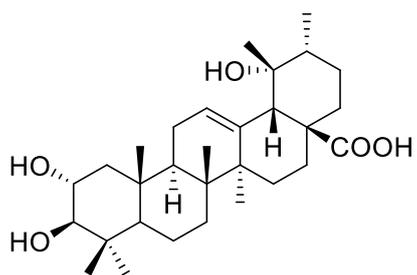
Terpenes



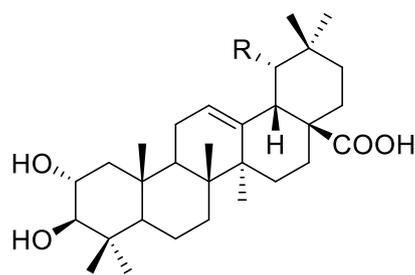
niga-ichigoside F1



rosamultin



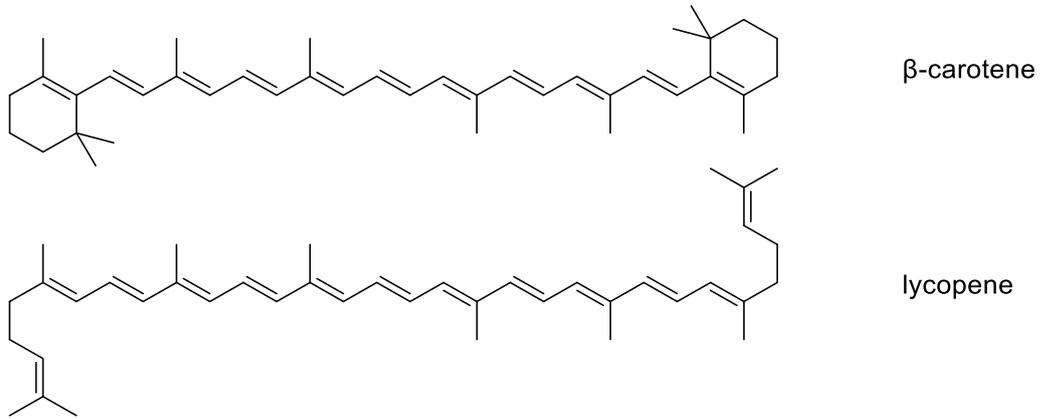
23-hydroxytormentonic acid



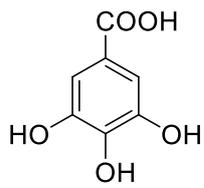
arjunic acid : $R=OH$
 maslinic acid : $R=H$

Figure 3.1 Isolated compounds from leaves of *B. racemosa*

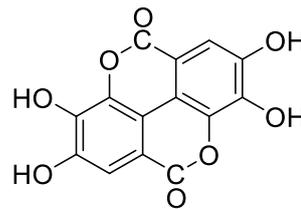
Carotenoids



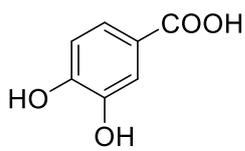
Low molecule polyphenols



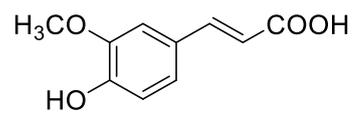
gallic acid



ellagic acid



protocatechuic acid



ferulic acid

Figure 3.2 Isolated compounds from leaves of *B. racemosa*

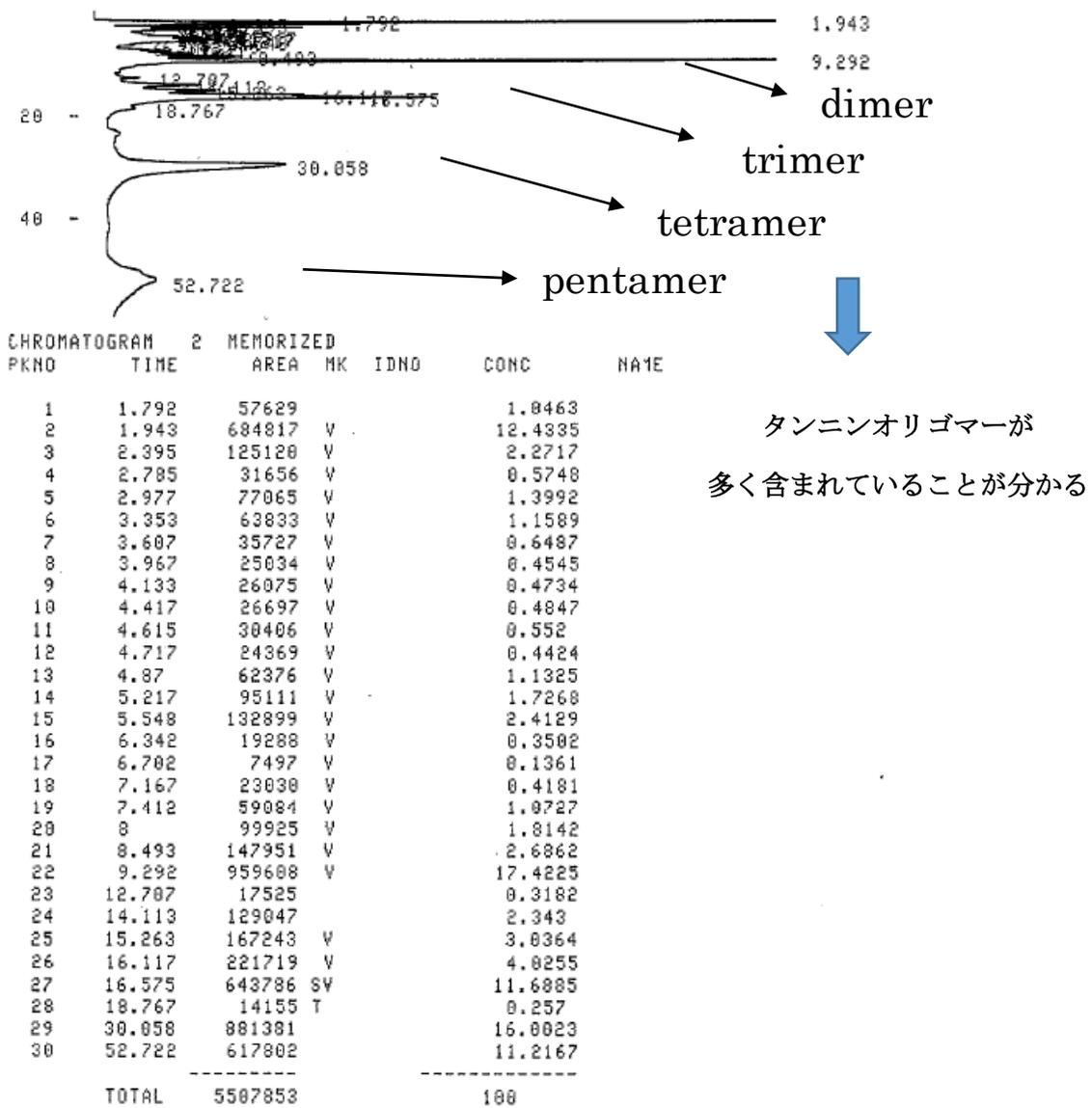


Figure 4. HPLC chart of MeOH extract

第1章 サガリバナ *Barringtonia racemosa* のタンニンおよび関連ポリフェノール成分

1. 1 ポリフェノール成分の抽出・分離

嘉義大学(台湾)で栽植されている *B. racemosa* の乾燥葉 450 g を 70% acetone 7.5 L 中でホモジナイズし抽出した。不溶物を濾過し、ろ液を 2L になるまで濃縮し、これを総エキスとした。総エキスに酢酸エチル 4L を加えて分液し、水分画と酢酸エチル分画に分けた。さらに水分画に *n*-ブタノール 2 L を加えて分画し、*n*-ブタノール分画および水分画を得た (Figure 5)。

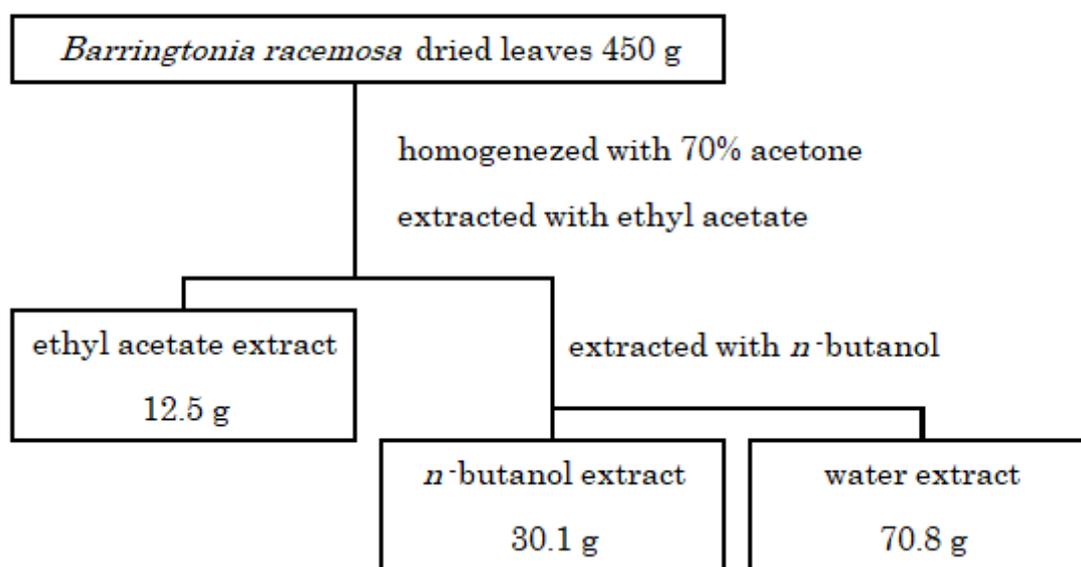


Figure 5. Extraction procedure from *B. racemosa* leaves

これらを順相 HPLC で分析する [27] ことにより, *n*-ブタノール分画および水分画には多くのタンニンオリゴマーが含まれていることが分かる (dimer 7-9 min, trimer 13-17 min, tetramer 29-30 min, pentamer 47-53 min) (Figure 6, 7, 8). そこでこれらを Diaion HP20 (三菱ケミカル) を用いて分画した.

Diaion HP20 はスチレンージビニルベンゼン系合成吸着剤で, これを用いて水/MeOH 系でカラムクロマトを行うと, 化合物の極性の順に溶出されてくる. 粒子が粗い (250-850 μm) ため常圧でカラムクロマトができることから, 比較的多くのエキスを処理することができる. Diaion HP20 による各分画部の中で, 特に 40%MeOH 溶出部にタンニンオリゴマーが多く含まれており収量も多いことから, この分画を Toyopearl HW-40 (Tosoh Bioscience) を用いて分画した.

Toyopearl HW-40 はサイズ排除クロマトグラフィー用充填剤で, これを用いて EtOH/水/acetone 系でカラムクロマトを行うと, 化合物の分子量の順に溶出されてくる. 粒子が細かい (30-60 μm) ため耐圧ガラス製液体クロマトカラムを用い, さらに送液ポンプを用いて移動相を押し出す必要があり, Diaion HP-20 によって分画された分画を精製する場合に使用する. そしてさらに YMC GEL ODS-A (YMC) や Sep-Pack (Waters) を用いて精製した.

YMC GEL ODS-A はシリカ系充填剤で, これを用いて水/MeOH 系でカラムクロマトを行うと, 化合物の極性の順に溶出されてくる. 粒子が細かい (75 μm) ため耐圧ガラス製液体クロマトカラムを用い, さらに送液ポンプを用いて移動相を押し出す必要があり, Toyopearl HW-40 によって分画された分画を精製する場合に使用する.

Sep-Pack (Waters) もシリカ系充填剤で, これを用いて水/MeOH 系でカラムクロマトを行うと, 化合物の極性の順に溶出されてくる. Sep-Pack はカートリッジ式のミニカラムであり, 極少量を短時間で精製処理する場合に使用する.

こうした特徴の異なる充填剤を組合わせてカラムクロマトを行い, 新規化合物 5 種を含む 7 種の化合物を単離した (Figure 9, 10). なお, これら以外にも同植物には多くのオリゴマーが含まれており, 既に trimer として 3 種, tetramer として 2 種の化合物を単離しており, それぞれ barricyclin T1, T2, T3, Q1, Q2 として構造解析している.

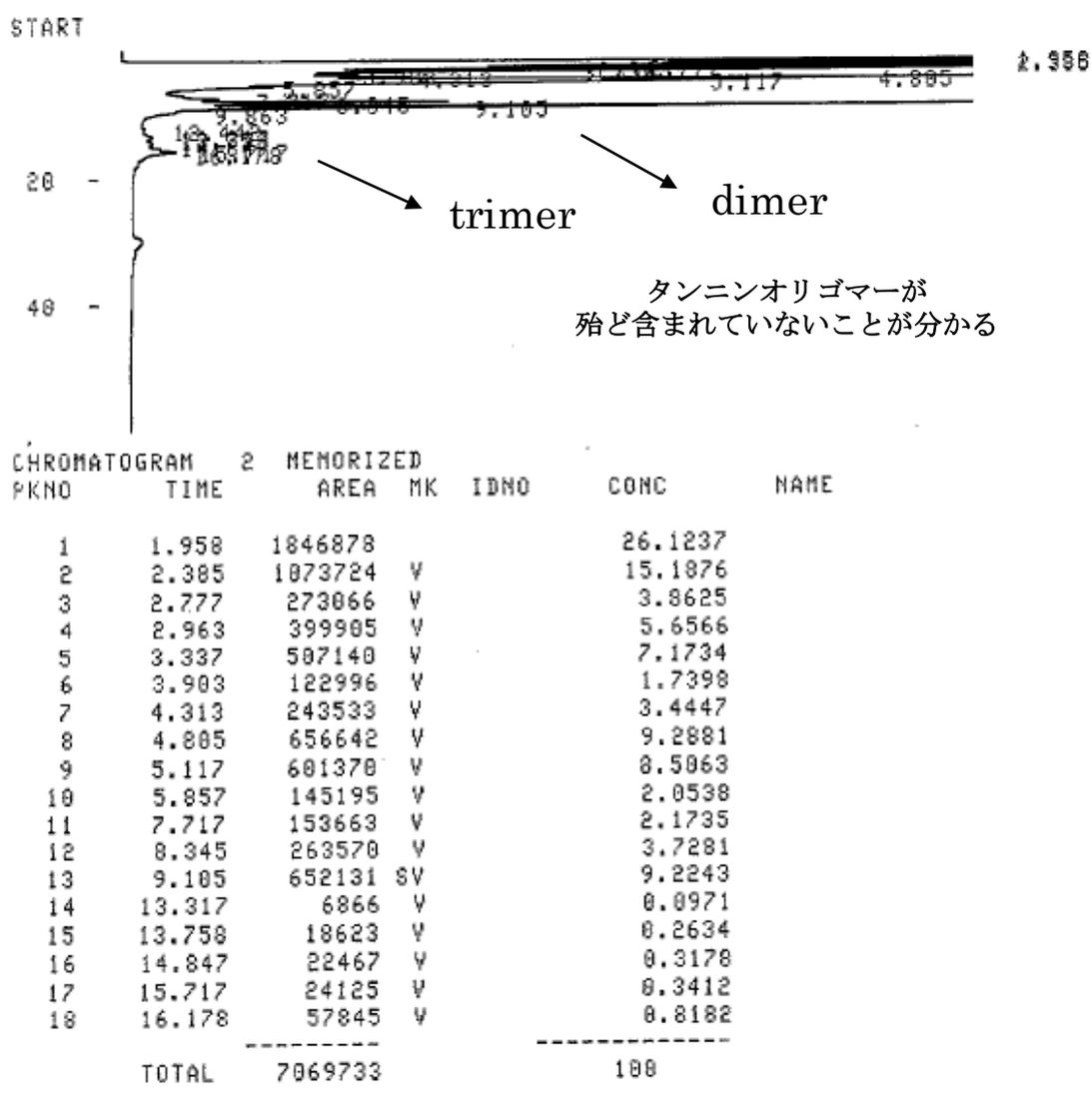
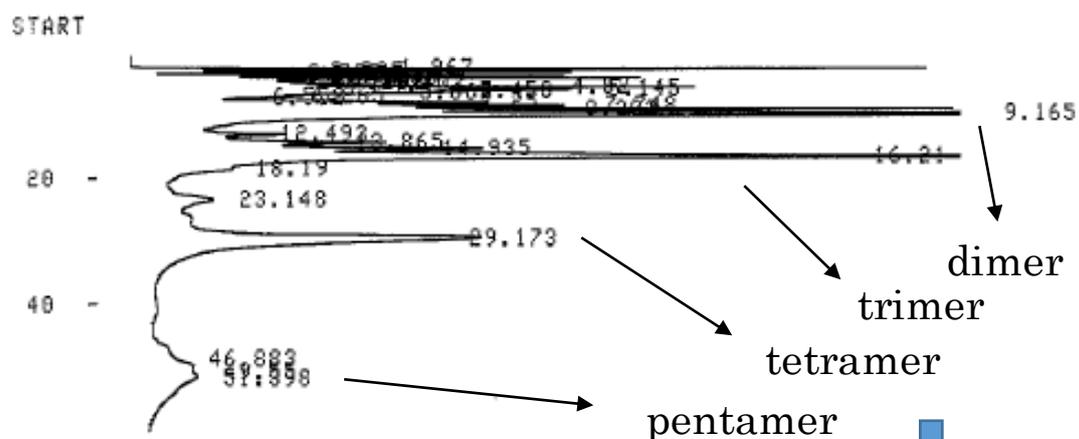


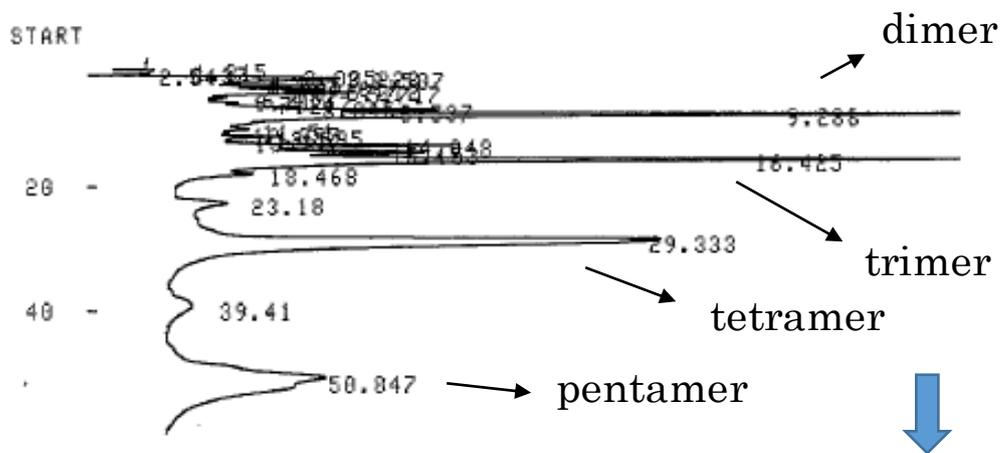
Figure 6. HPLC chart of ethyl acetate fraction



CHROMATOGRAM PKNO	TIME	3 MEMORIZED AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.967	256960			2.0613	
2	2.395	151553	V		1.2158	
3	2.788	61921	V		0.4967	
4	2.975	158432	V		1.2789	
5	3.35	145467	V		1.1669	
6	3.595	182427	V		0.8217	
7	3.933	89239	V		0.7159	
8	4.200	114884	V		0.9216	
9	4.483	133571	V		1.0715	
10	4.82	366280	V		2.9383	
11	5.145	338395	V		2.7146	
12	5.458	143027	V		1.1474	
13	5.667	246710	V		1.9791	
14	6.265	114956	V		0.9222	
15	6.552	49863	V		0.3936	
16	7.25	398630	V		3.1978	
17	7.748	485945	V		3.8982	
18	8.383	768527	V		6.1089	
19	9.165	3271226	V		26.2416	
20	12.493	229316	V		1.8396	
21	13.865	443355	V		3.5566	
22	14.935	512953	V		4.1149	
23	16.21	1867324	V		14.9796	
24	18.19	155486	V		1.2473	
25	23.148	186256	V		0.8524	
26	29.173	1122868	V		9.8076	
27	46.883	85496	V		0.6858	
28	49.55	165474	V		1.3274	
29	51.398	388058	V		3.1129	
TOTAL		12465785			100	

タンニンオリゴマーが
多く含まれていることが分かる

Figure 7. HPLC chart of *n*-BuOH fraction



CHROMATOGRAM PKNO	5 TIME	MEMORIZED AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.815	39566			0.3607	
2	2.37	29336	V		0.2674	
3	2.54	26290	V		0.2396	
4	3.005	73915			0.6738	
5	3.228	103903	V		0.9471	
6	3.507	305099	V		2.7811	
7	4.065	73757	V		0.6723	
8	4.283	61230	V		0.5581	
9	4.617	181810	V		1.6573	
10	5.312	270808	V		2.4685	
11	5.717	298875	V		2.7243	
12	6.413	84954	V		0.7744	
13	6.715	74565	V		0.6797	
14	7.217	164508	V		1.4995	
15	8.045	238129	V		2.1706	
16	8.537	344614	V		3.1413	
17	9.288	1657286	V		15.1066	
18	11.51	195098	V		1.7784	
19	12.057	91665	V		0.8356	
20	12.595	180863	V		1.6486	
21	13.117	74834	V		0.6821	
22	14.048	526111	V		4.7956	
23	15.153	410423	V		3.7411	
24	16.425	1581828	V		14.4188	
25	18.468	193553	V		1.7643	
26	23.18	112795			1.0282	
27	29.333	1810235			16.5008	
28	39.41	126325			1.1515	
29	50.847	1638224			14.9329	
TOTAL		10970596			100	

タンニンオリゴマーが
多く含まれていることが分かる

Figure 8. HPLC chart of H₂O fraction

n-ブタノール分画は, Diaion HP20 を用いて MeOH 濃度を 0→20→40→60→100%とあげて分画した. このうち 40%MeOH 溶出部は収量も多く, タンニンオリゴマーが多く含まれていることから Toyopearl HW-40F を用いて EtOH:H₂O:acetone 濃度を変えながら分画し, タンニンオリゴマーの精製度が高い 8 つの分画 (A~H) 部を得た. さらに A 分画を Toyopearl HW-40F を用いて同様に分画し, 続いて Sep-Pak や YMC Gel ODS-A を用いて精製し, valoneic acid dilactone (9) 29.0 mg および barrington M1 (1) 13.6 mg を単離した. B 分画は YMC Gel ODS-A を用いて精製し, barrington D3 (4) 15.6 mg および barricyclin D1 (5) 658.1 mg を単離した. 同様に C, E, F, G, H 分画を YMC Gel ODS-A を用いてそれぞれ精製し, C 分画より barricyclin T1 23.8 mg および barricyclin D1 (5) 799.0 mg, E 分画より barricyclin D1 (5) 209.3 mg および barricyclin T3 10.1 mg, F 分画より barricyclin T2 425.9 mg, G 分画より barricyclin T2 141.2 mg, H 分画より barricyclin Q1 76.3 mg, barricyclin Q2 16.3 mg および 53.7 mg を単離した. D 分画は barricyclin D1 (5) 495.0 mg である (Figure 9.2).

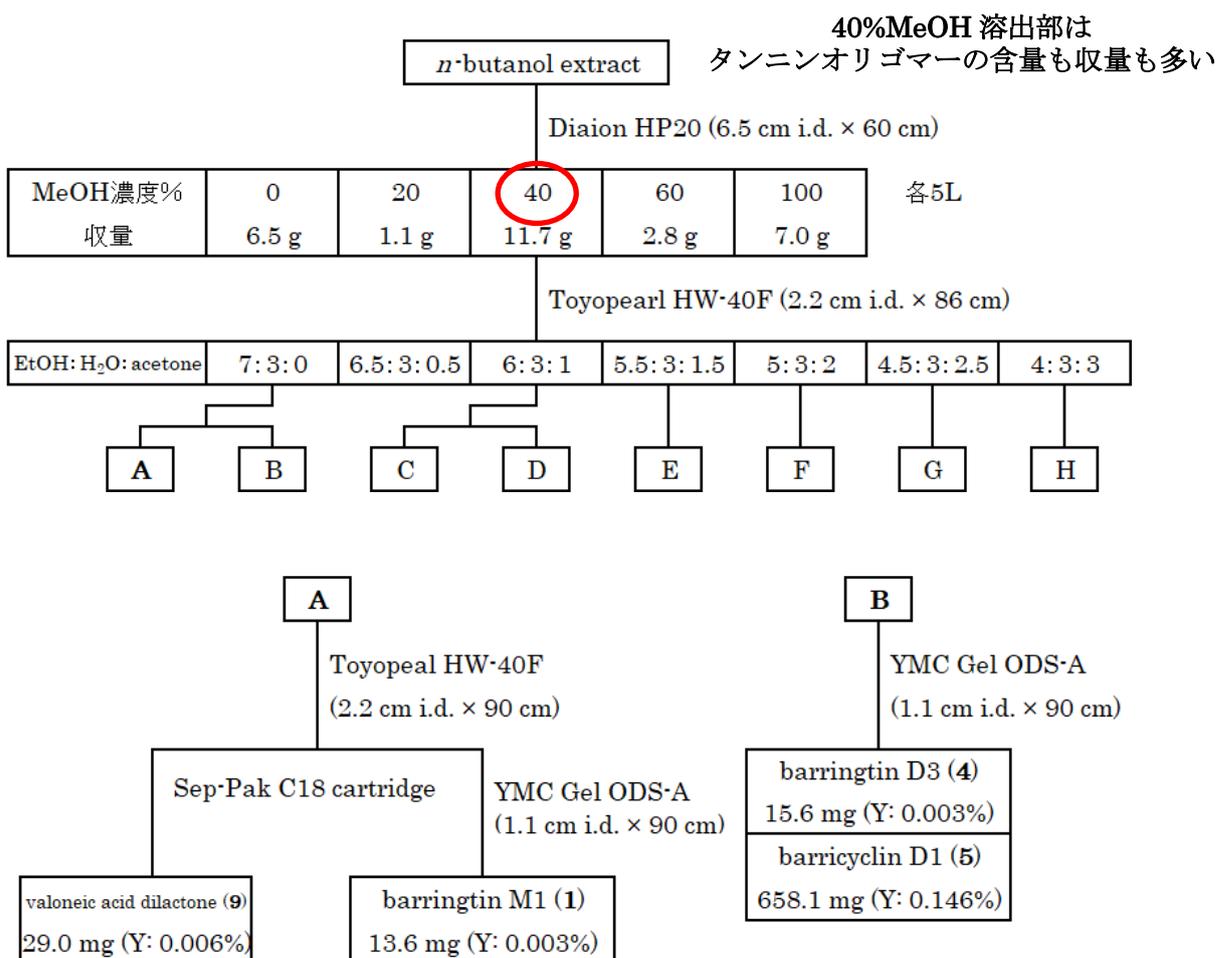


Figure 9.1. Isolation of compounds from the *n*-BuOH extract of *B. racemosa* leaves

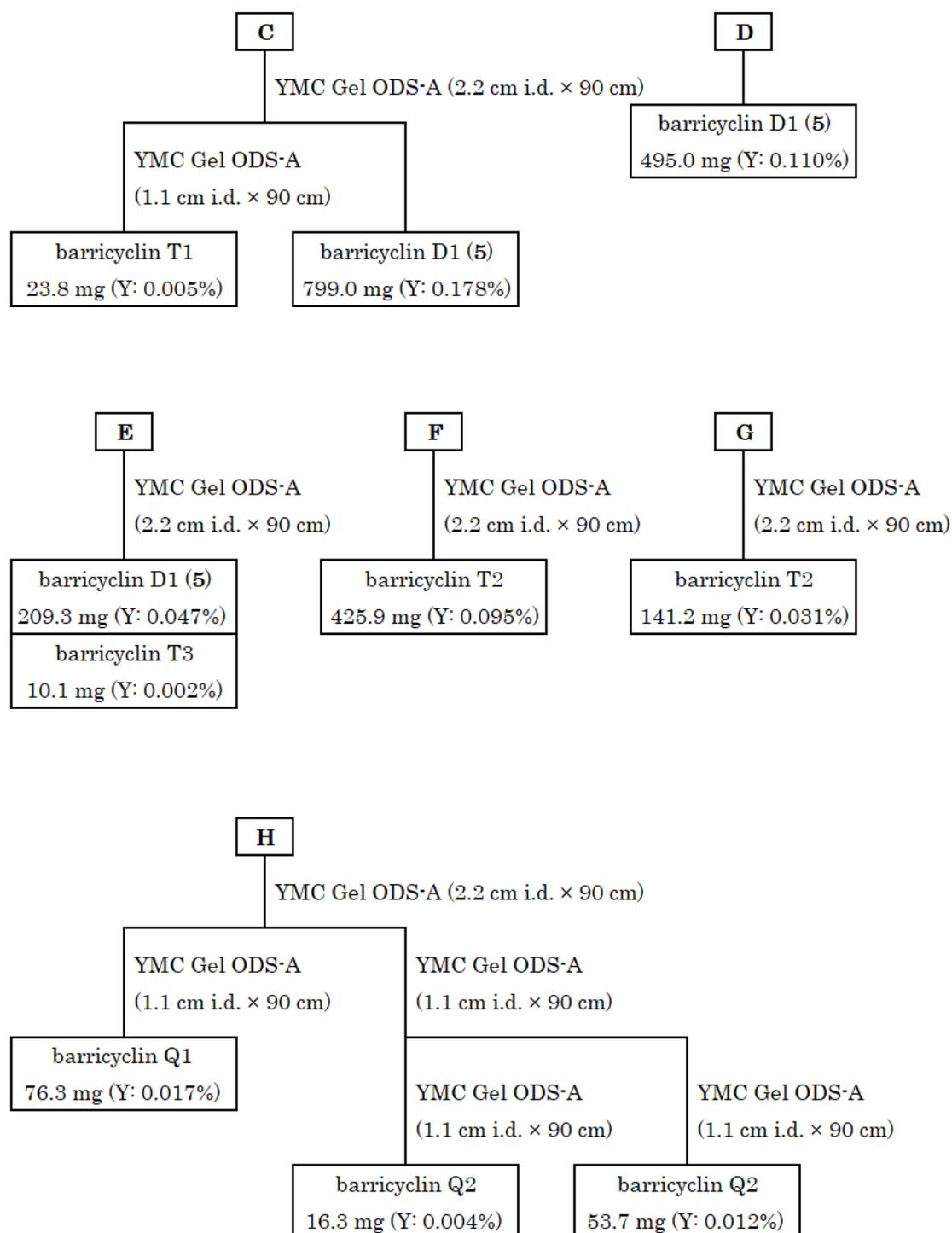


Figure 9.2. Isolation of compounds from the *n*-BuOH extract of *B. racemosa* leaves

水分画は, Diaion HP20 を用いて MeOH 濃度を 0→20→40→60→100%とあげて分画し, 20%MeOH 溶出部を YMC Gel ODS-A および Sep-Pak を用いて精製し, barrington D3 (4) 24.3 mg および shimawalin A (10) 56.8 mg を単離した. 40%MeOH 溶出部はタンニンオリゴマーを多く含み, 収量も多いことから 3 回に分けて Toyopearl HW-40F を用い, EtOH:H₂O:acetone 濃度を変えて分画し, タンニンオリゴマーの精製度の高い 15 分画 (K~Y) を得た. 続いて K~Y 分画を YMC Gel ODS-A および Sep-Pak 用いて精製し, K 分画より barrington D1 (2) 18.3 mg, L 分画より barricyclin T1 2.9 mg, T2 126.9 mg および T3 73.2 mg, M 分画より barricyclin T2 371.9 mg, N 分画より barricyclin T2 228.9 mg および barricyclin Q2 119.3 mg, O 分画より barrington D2 (3) 28.2 mg および barrington D1 (2) 23.6 mg, P 分画より barrington D3 (4) 26.7 mg, Q 分画より barricyclin T1 31.0 mg, R 分画より barricyclin T1 19.0 mg および T3 49.9 mg, S 分画より barricyclin T2 1374.5 mg, T 分画より barricyclin Q1 129.3 mg および Q2 168.1 mg, U 分画より barrington D1 (2) 21.2 mg, V 分画より barricyclin T1 91.3 mg, W 分画より barricyclin T3 30.2 mg, X 分画より barricyclin T3 114.8 mg, Y 分画より barricyclin T2 453.8 mg をそれぞれ単離した (Figure 10).

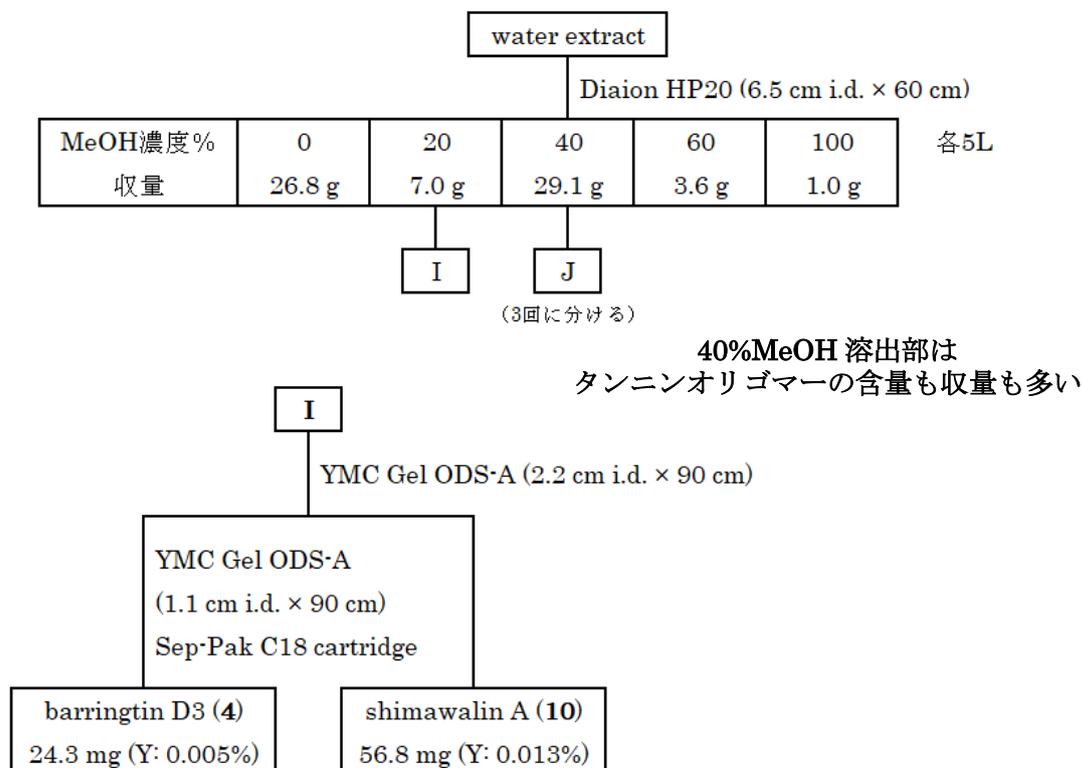


Figure 10.1. Isolation of compounds from the water extract of *B. racemosa* leaves

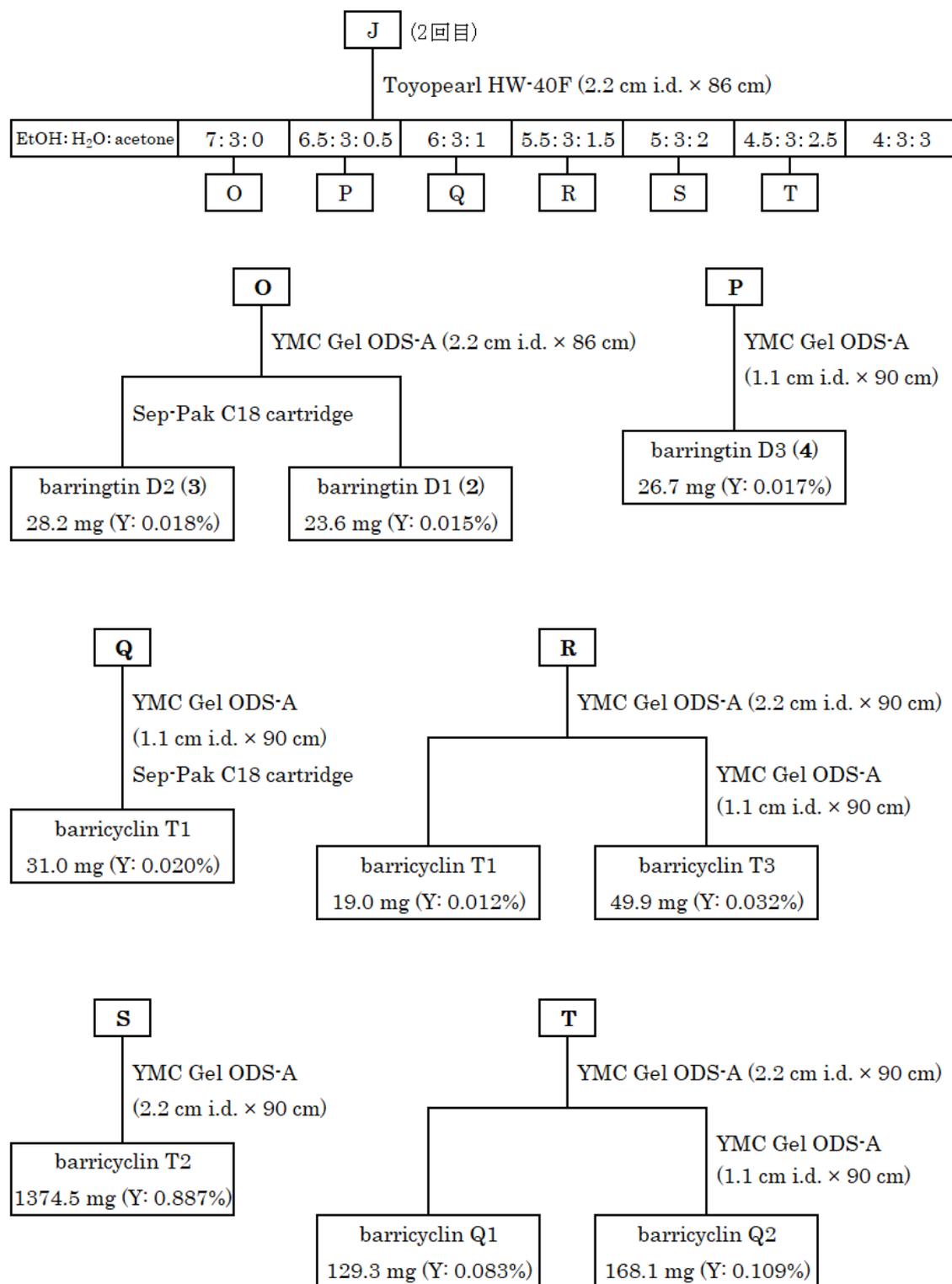


Figure 10.3 Isolation of compounds from the water extract of *B. racemosa* leaves

1. 2 既知化合物の同定

B. racemosa の乾燥葉より **Figure 5, 9, 10** に示した分画・精製を行い単離した 7 種の化合物のうち、化合物 **9** および **10** については、それぞれの文献値との NMR スペクトルの比較により valoneic acid dilactone (**9**) および shimawalin A (**10**) と同定した (**Figure 11**) .

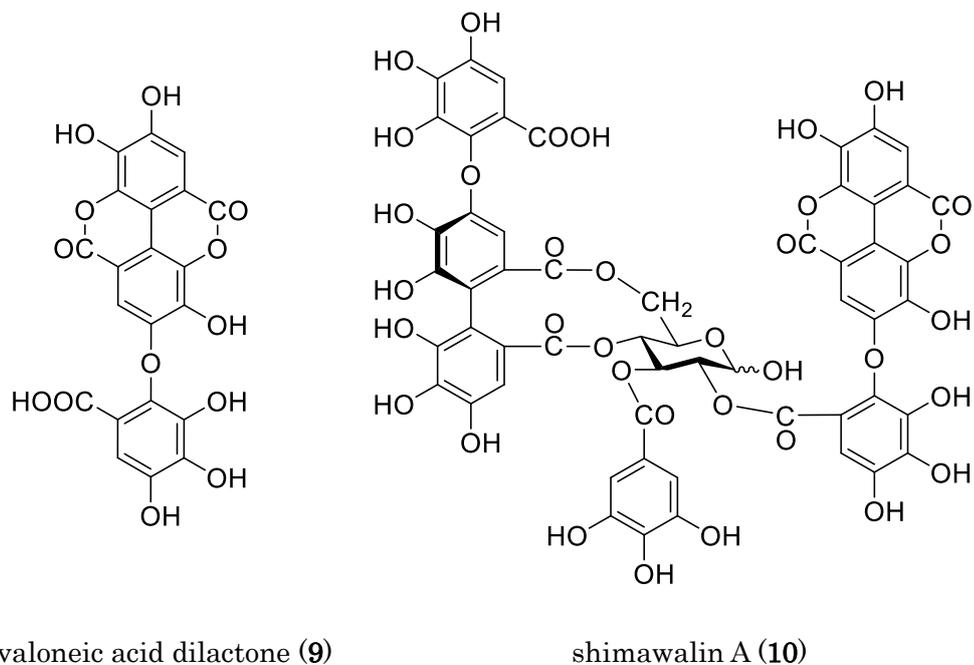


Figure 11. Isolated known compounds from *B. racemosa*

1. 3 Barrington M1 (1) の構造決定

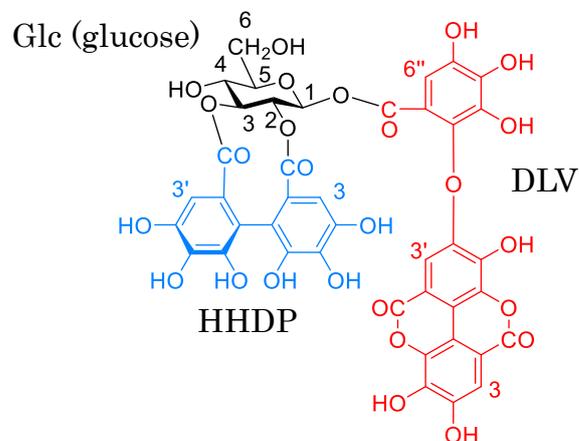
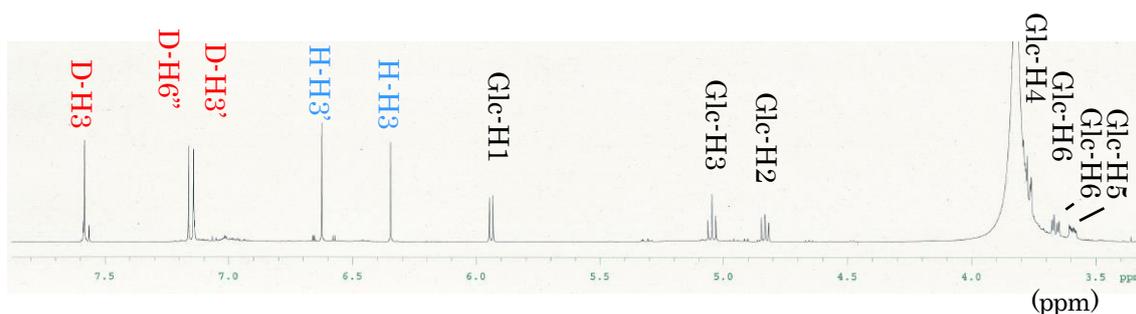


Figure 12. Structure of compound 1

化合物 1 (**Figure 12**) は褐色無晶形粉末として得た. 高分解能 ESI-MS より m/z 933.0649 に $[M-H]^-$ イオンピーク (calcd for $C_{41}H_{26}O_{26}-H$, 933.0640) を示したことから, 分子式は $C_{41}H_{26}O_{26}$ であり, 順相 HPLC 上での保持時間 (11.3 min), および以下の NMR データから, 加水分解性タンニン monomer であると考えられた. 1H -NMR スペクトル (**Figure 13**) では, 芳香族プロトン領域に 5 つのシングレットシグナル (δ 7.58, 7.16, 7.14, 6.63, 6.35) が観測された. これらのうち低磁場の 3 つのシグナルは dilactonized valoneoyl (DLV) 基に特徴的 [40] であり, 残る 2 つのシグナルは hexahydroxydiphenoyl (HHDP) 基のプロトンに帰属された (**Table 2**).



H: HHDP, D: Dilactonized valoneoyl, Glc: Glucose

Figure 13. 1H -NMR spectrum of compound 1 in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

^{13}C -NMR スペクトル (Figure 14) では化合物 1 が monomer であることを示した (Table 2). 脂肪族プロトン領域のシグナルについては, それぞれのカップリング定数および ^1H - ^1H COSY スペクトル (Figure 15) 上の各クロスピークから化合物 1 は $^4\text{C}_1$ conformation を有するグルコピラノースの存在が示された [41]. グルコピラノースの H-4 (δ 3.78) と H-6 (δ 3.66, 3.77) に帰属されるシグナルのケミカルシフトから, Glc の 4 位および 6 位上のヒドロキシル基はアシル化されていないと考えられる.

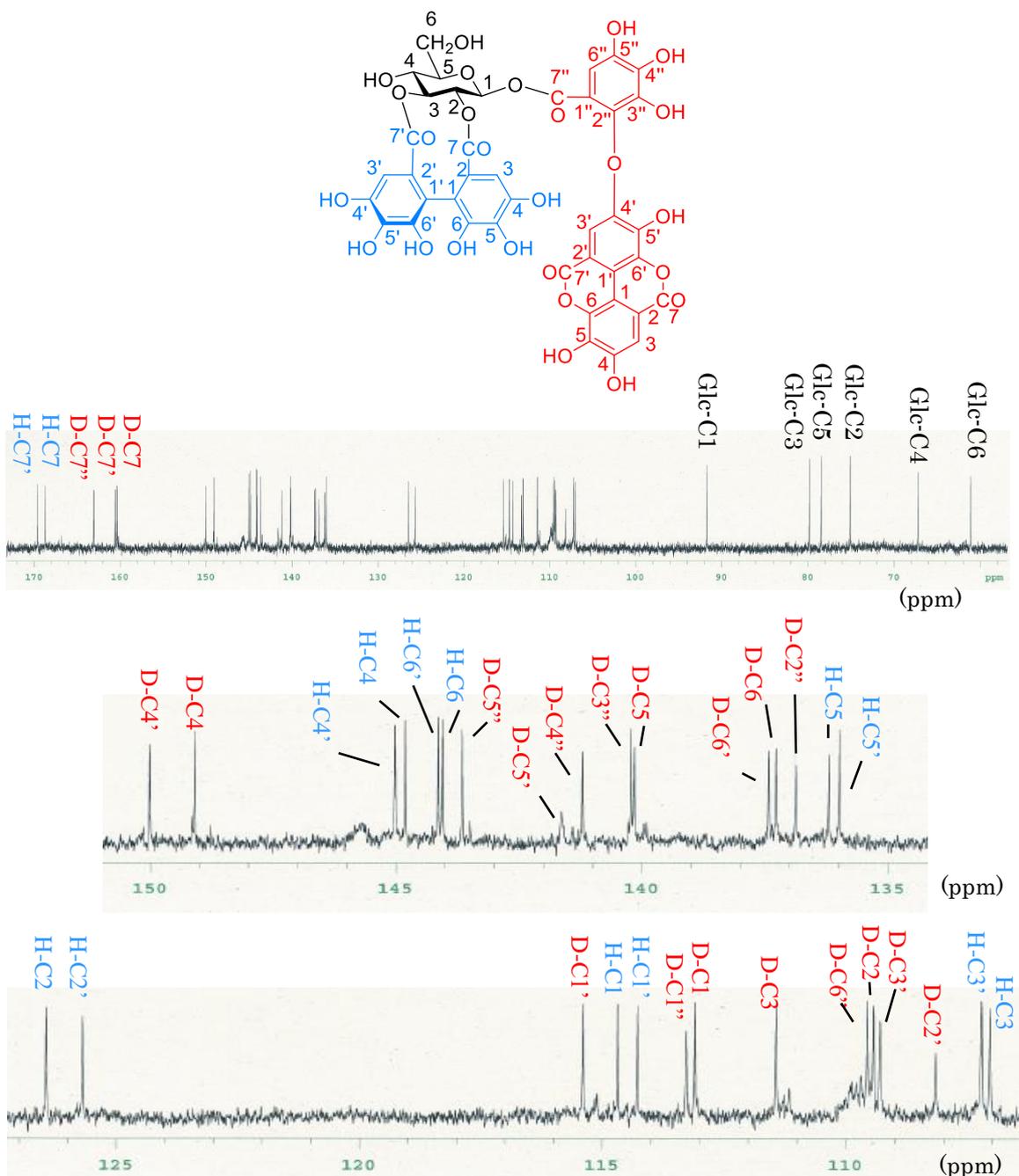


Figure 14. ^{13}C -NMR spectrum of compound 1 in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

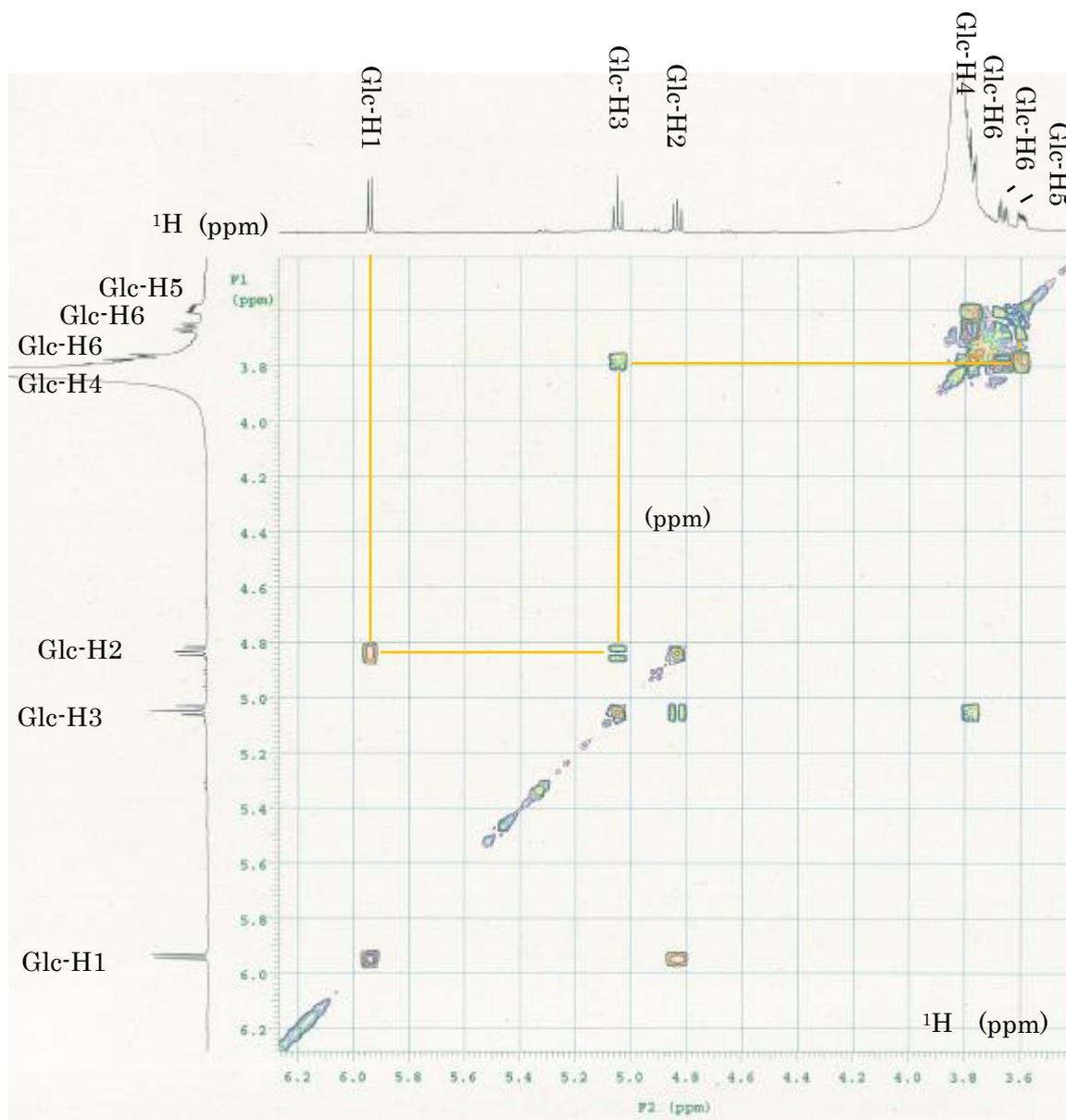


Figure 15. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **1** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

HSQC スペクトル (Figure 16) より, ^1H -NMR スペクトルのシグナルに対応する ^{13}C -NMR のシグナルを確認した.

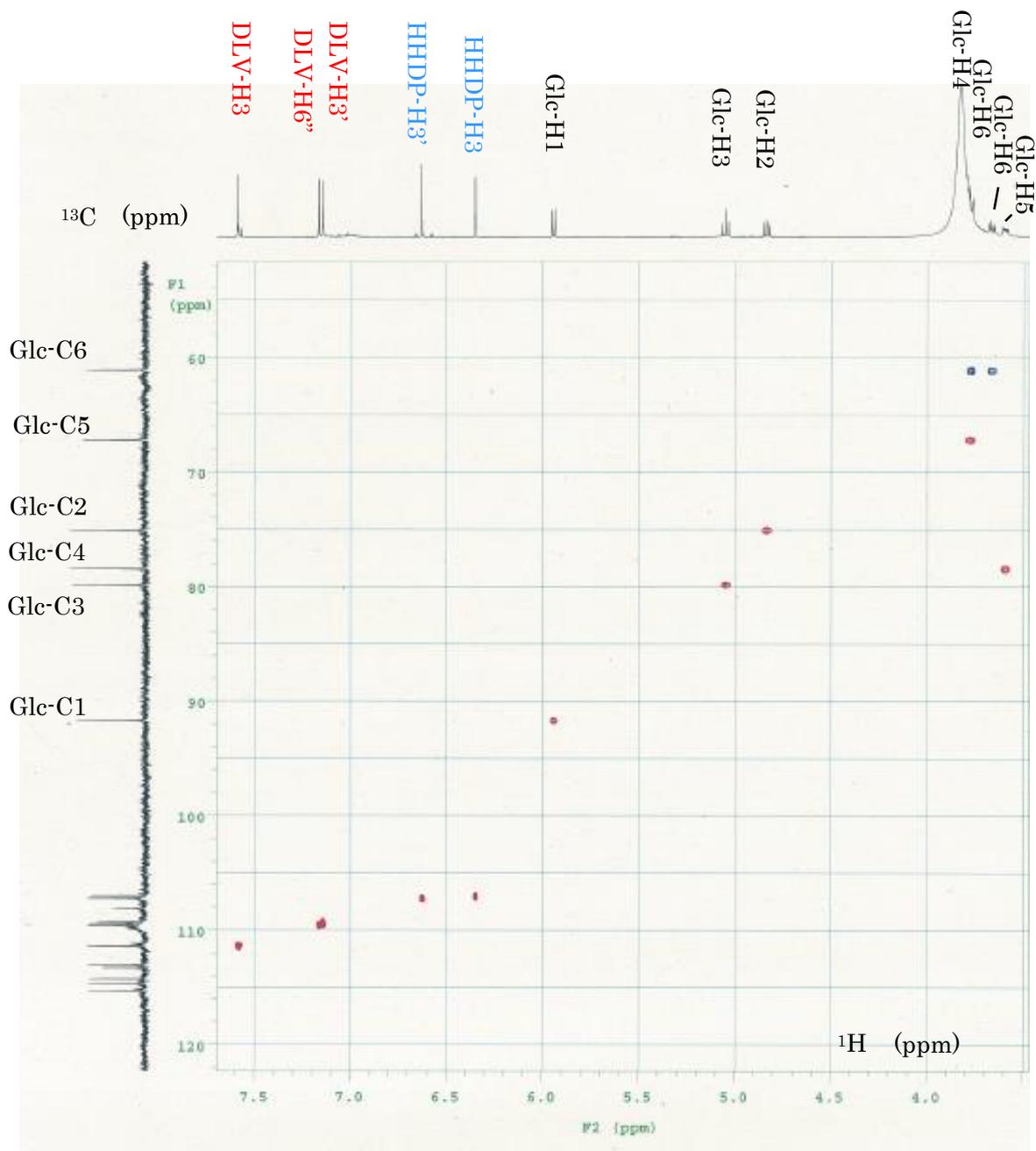


Figure 16. HSQC spectrum of compound 1 in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

HMBC スペクトル (Figure 17) では, DLV H-6" (δ 7.16) と Glc H-1 (δ 5.94) が, いずれも DLV C-7" (δ 163.1) と相関がみられ, DLV 基は Glc 1 位に結合していることが示された. また, HHDP H-3 (δ 6.35) – HHDP C-7 (δ 168.7) – Glc H-2 (δ 4.83) および HHDP H-3' (δ 6.63) – HHDP C-7 (δ 169.6) – Glc H-3 (δ 5.05) の HMBC 相関がみられた (Figure 18) ことから HHDP 基は Glc O-2 位と O-3 位に結合していることが明らかになった.

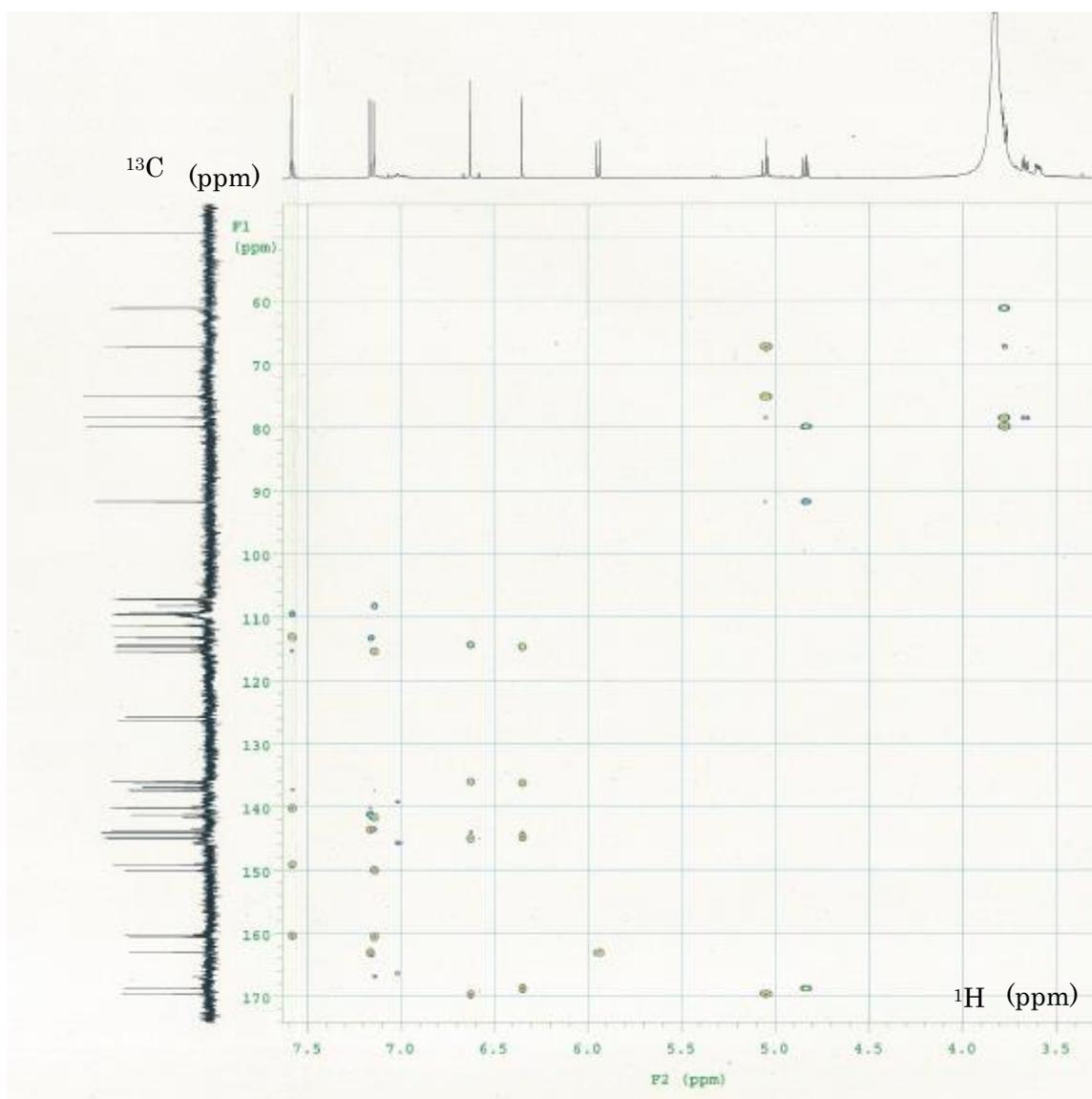


Figure 17. HMBC spectrum of compound 1 in acetone- d_6 - D₂O (9:1)

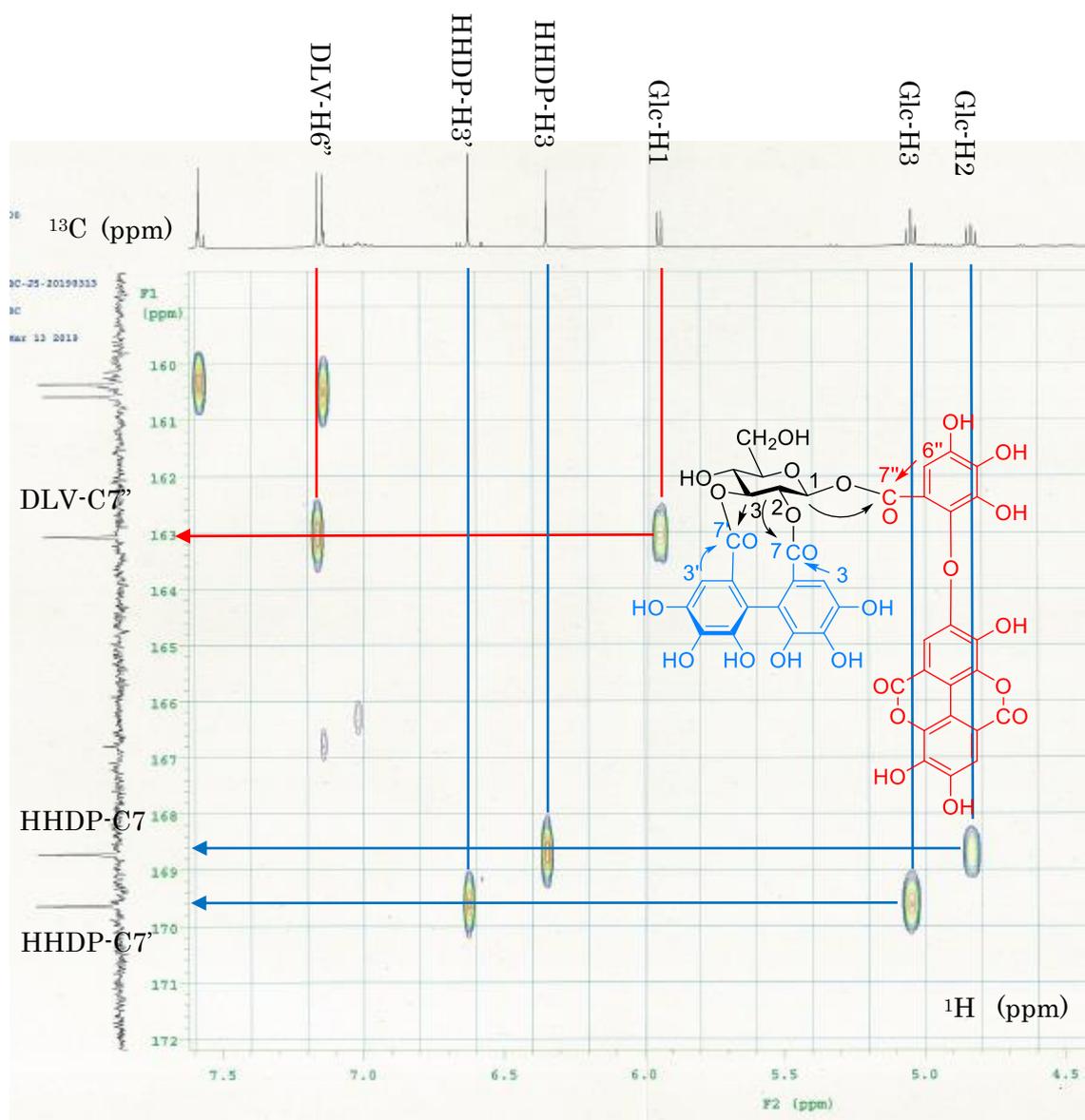


Figure 18. Key HMBC correlations of compound 1

Table 2. ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectroscopic data of the glucose moiety of compound 1

position	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1	5.94, d (8.4)	91.7
2	4.83, dd (8.4, 9.6)	75.1
3	5.05, t (9.6)	79.8
4	3.78, t (9.6)	67.2
5	3.59, ddd (2.4, 4.8, 9.6)	78.5
6a	3.77, dd (2.4, 12.0)	61.1
6b	3.66, dd (4.8, 12.0)	

HHDP 基の軸不斉については, ECD スペクトルにおいて 236 nm に極大 (正のコットン) が表れたことから (Figure 19), *S*配置と考えられる [42].

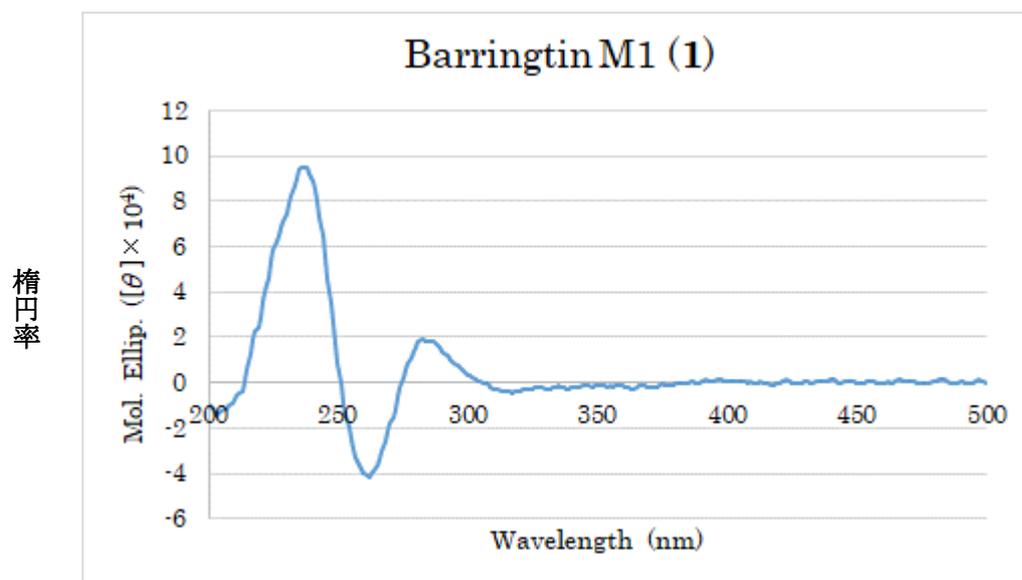


Figure 19. ECD spectrum of compound 1

さらに, 化合物 1 の構造を確かめるため 1 の部分分解を行ったところ (Figure 20), 9 および 2,3-HHDP-D-Glucose (11) の生成が順相および逆相 HPLC 上に認められた (Figure 21). 沸騰水による熱分解も試みたが, 分解反応が進みすぎてしまい, 生成物をうまく確認できなかった.

以上より barrington M1 と命名した化合物 1 は Figure 12 で示した構造であると決定した.

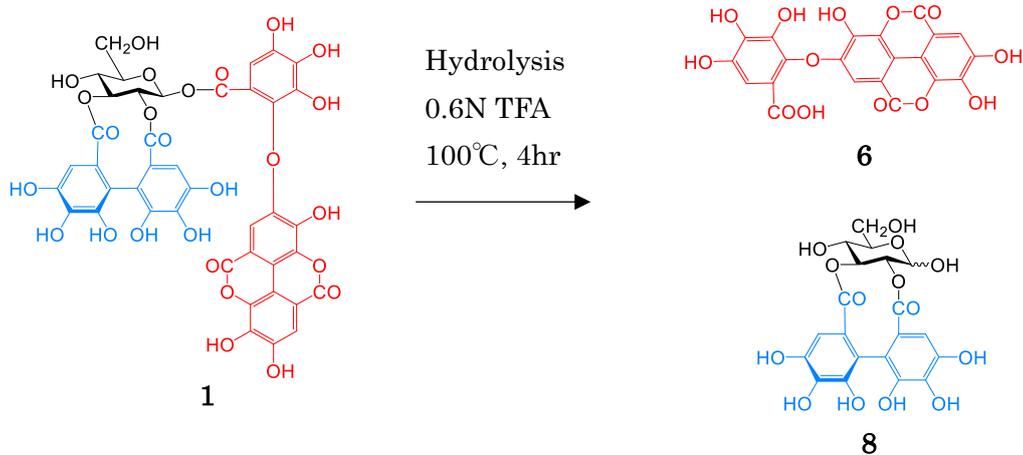
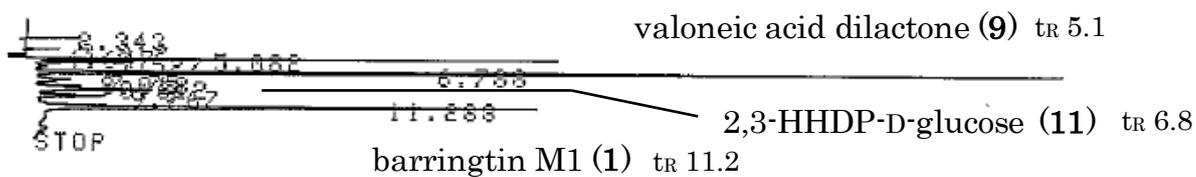


Figure 20. Partial hydrolysis of compound **1**

分解反応液を HPLC で分析

NP-HPLC



RP-HPLC

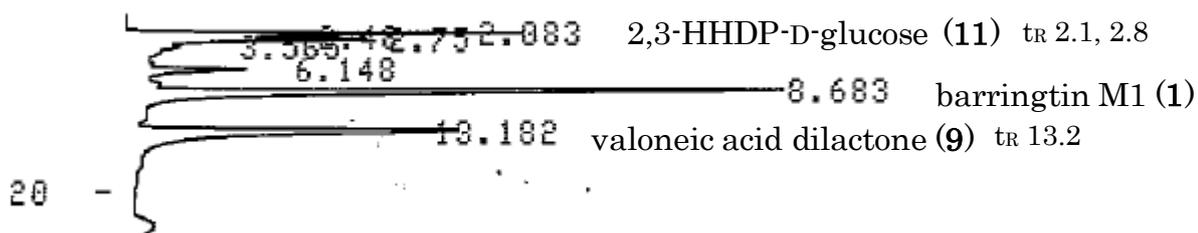


Figure 21. HPLC chart of partial hydrolysis reaction solution with compound **1**

NP-HPLC Column: YMC-Pack SILA-003

mobile phase: *n*-hexane-MeOH-THF-HCOOH (55:33:11:1) + oxalic acid 450 mg/L

RP-HPLC Column: YMC-Pack ODS-AA-302

mobile phase: 10 mM H₃PO₄-10 mM KH₂PO₄-CH₃CN (45:45:10)

1. 4 Barrington D1 (2) の構造決定

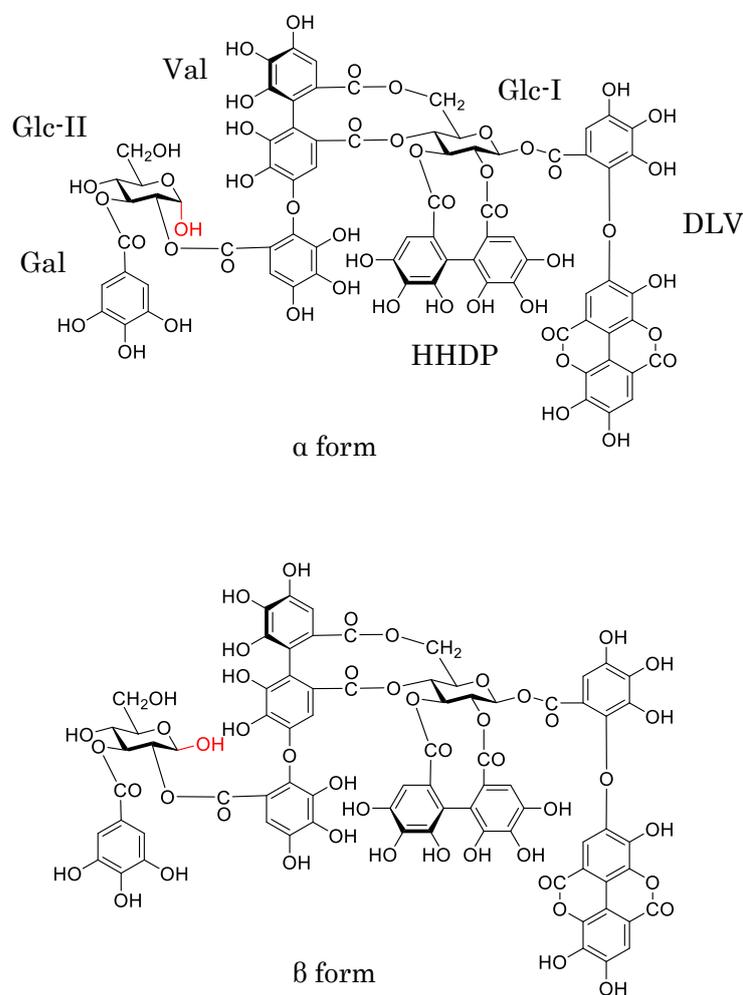
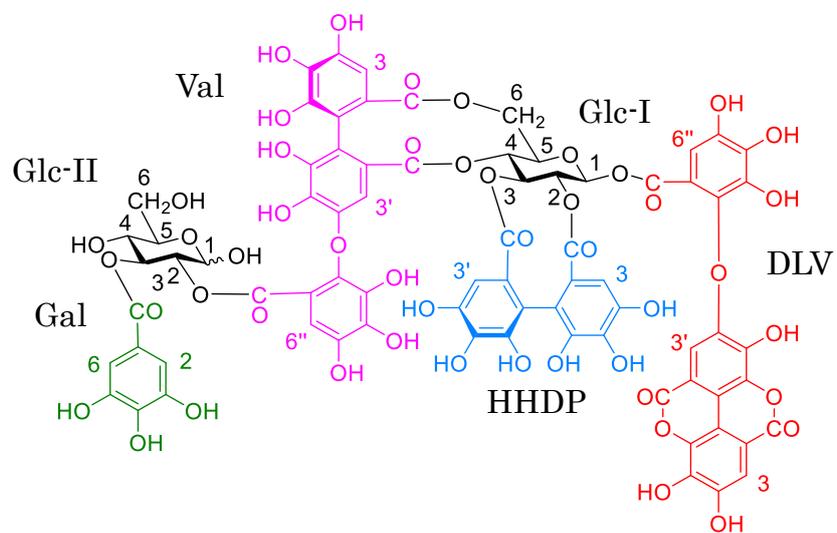
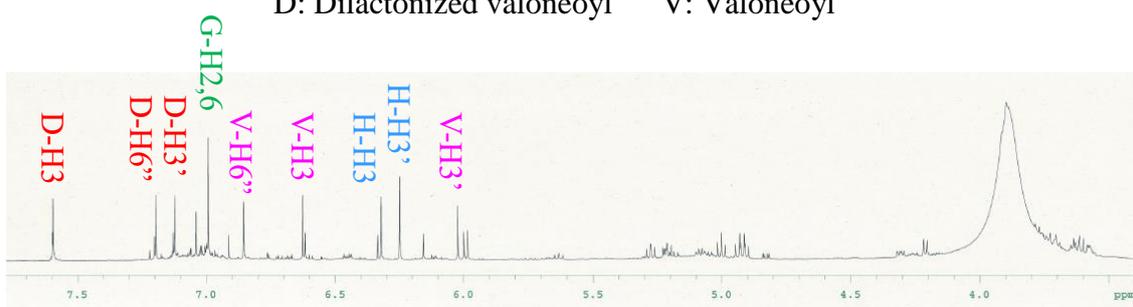


Figure 22. Structure of compound 2

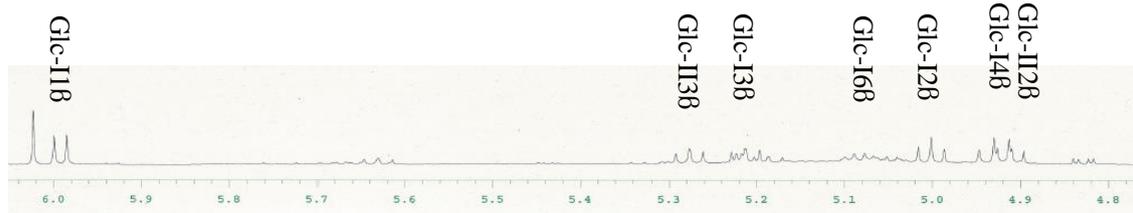
化合物 2 (Figure 22) は褐色無晶形粉末として得た. 高分解能 ESI-MS より m/z 1741.1306 に $[M+Na]^+$ イオンピーク (calcd for $C_{75}H_{50}O_{48} + Na$, 1741.1364) を示したことから, 分子式は $C_{75}H_{50}O_{48}$ であり, 順相 HPLC 上での保持時間 (20.1 min), および NMR データより加水分解性タンニン dimer であると考えられた. 1H -NMR スペクトル (Figure 23) では, 芳香族領域に 9 対のシグナル [δ 7.598/7.596 (1H in total), 7.201/7.196 (1H in total), 7.13/7.12 (1H in total), 7.04/6.99 (2H in total), 6.91/6.86 (1H in total), 6.63/6.62 (1H in total), 6.34/6.32 (1H in total), 6.25 (1H) and 6.16/6.02 (1H in total)] が観測された (Table 3).



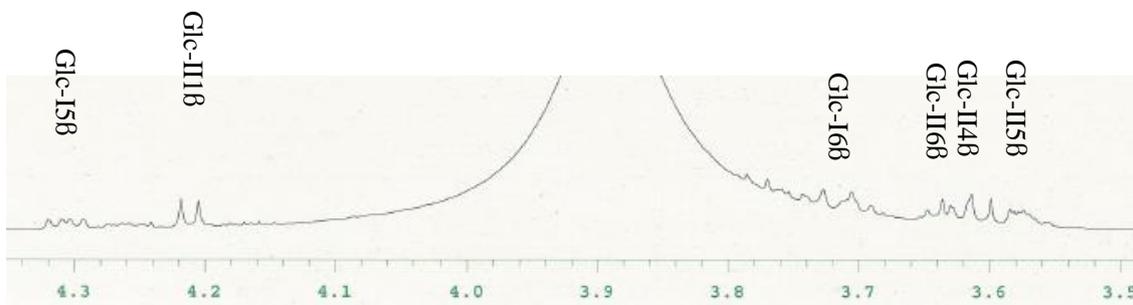
G: Galloyl H: HHDP
 D: Dilactonized valoneoyl V: Valoneoyl



(ppm)



(ppm)



(ppm)

Figure 23. ¹H-NMR spectrum of compound **2** in acetone-*d*₆ - D₂O (9:1)

化合物 **1** と **2** の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルと比較すると、**1** で見られた 5 本のシグナルが 2:5 に割れ、さらに別の 4 組のシグナルが認められる (**Figure 24**) ことから、これらのシグナルは α : β の割合が 2:5 のアノマー混合物であることを示している。芳香族シグナル δ 7.04/6.99 は galloyl (Gal) 基, 3 組の低磁場に表れているシグナルは DLV 基に帰属され [40], 残りのシグナルは HHDP 基と Val 基に相当すると考えられた。

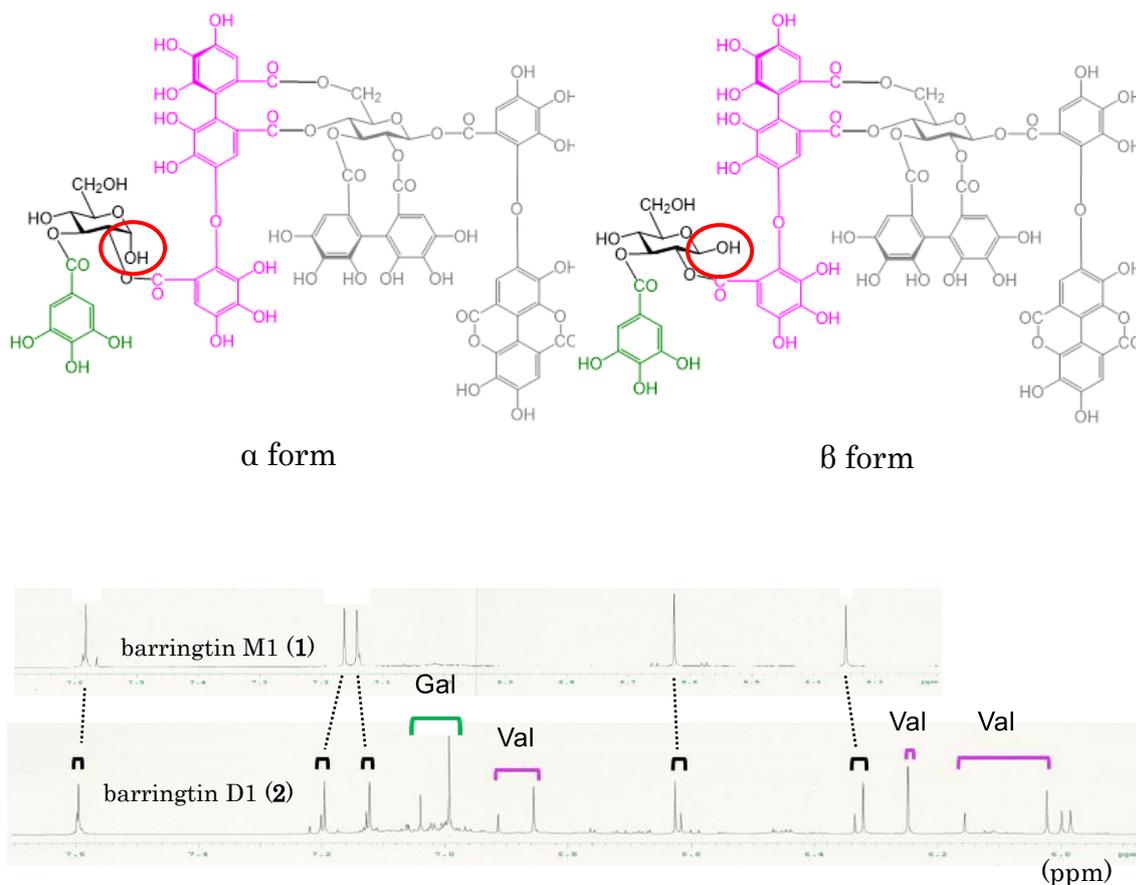


Figure 24. $^1\text{H-NMR}$ spectrum comparison in aromatic region between compounds **1** and **2**

$^{13}\text{C-NMR}$ スペクトル (**Figure 25**) では、化合物 **2** が dimer であることを示し (**Table 3**), $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY スペクトル (**Figure 26**) 上の各クロスピークから、それらは $^4\text{C}_1$ 配置 conformation を有する 2 つのグルコピラノースを示すことが分かった [41].

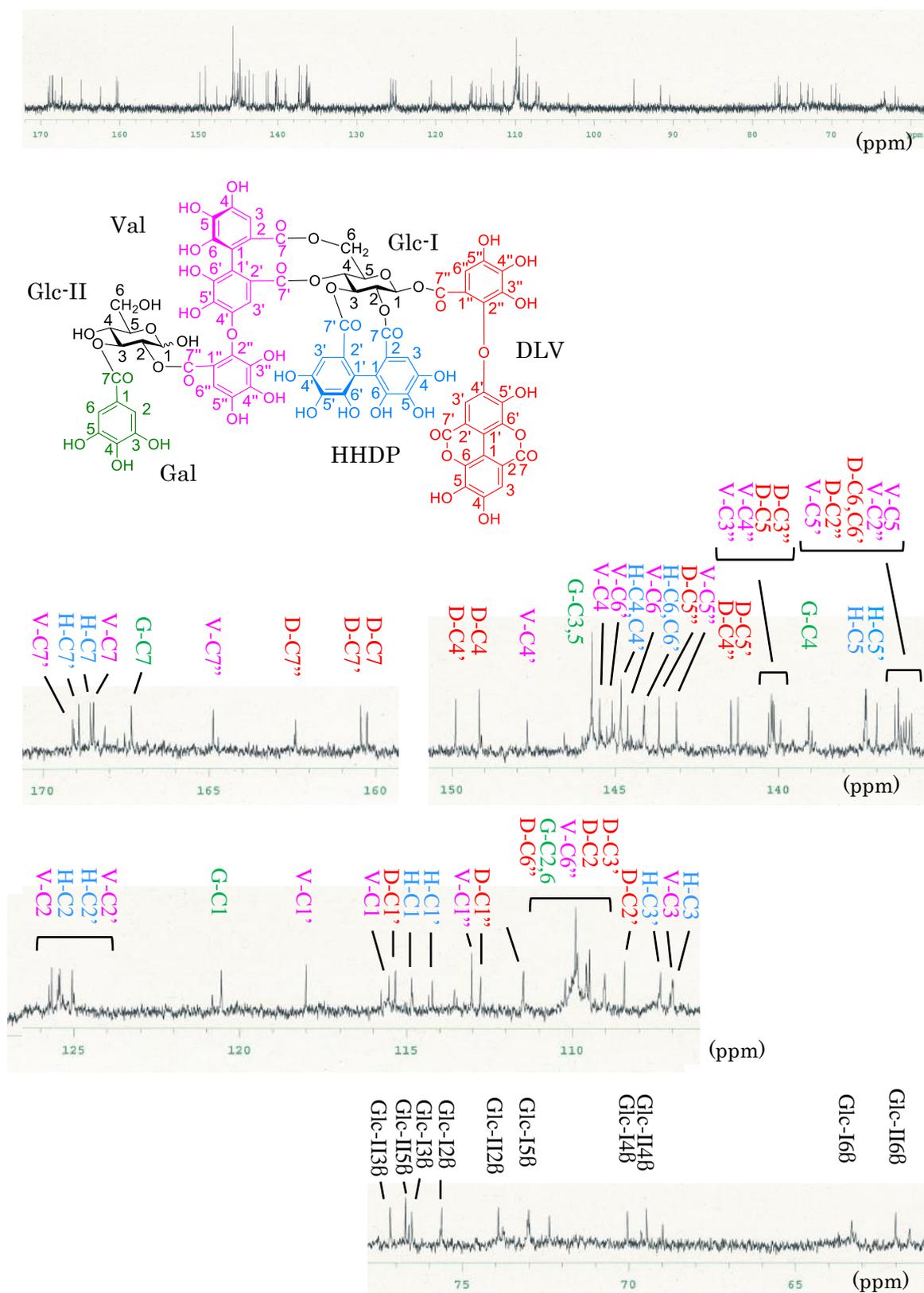


Figure 25. ^{13}C -NMR spectrum of compound **2** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

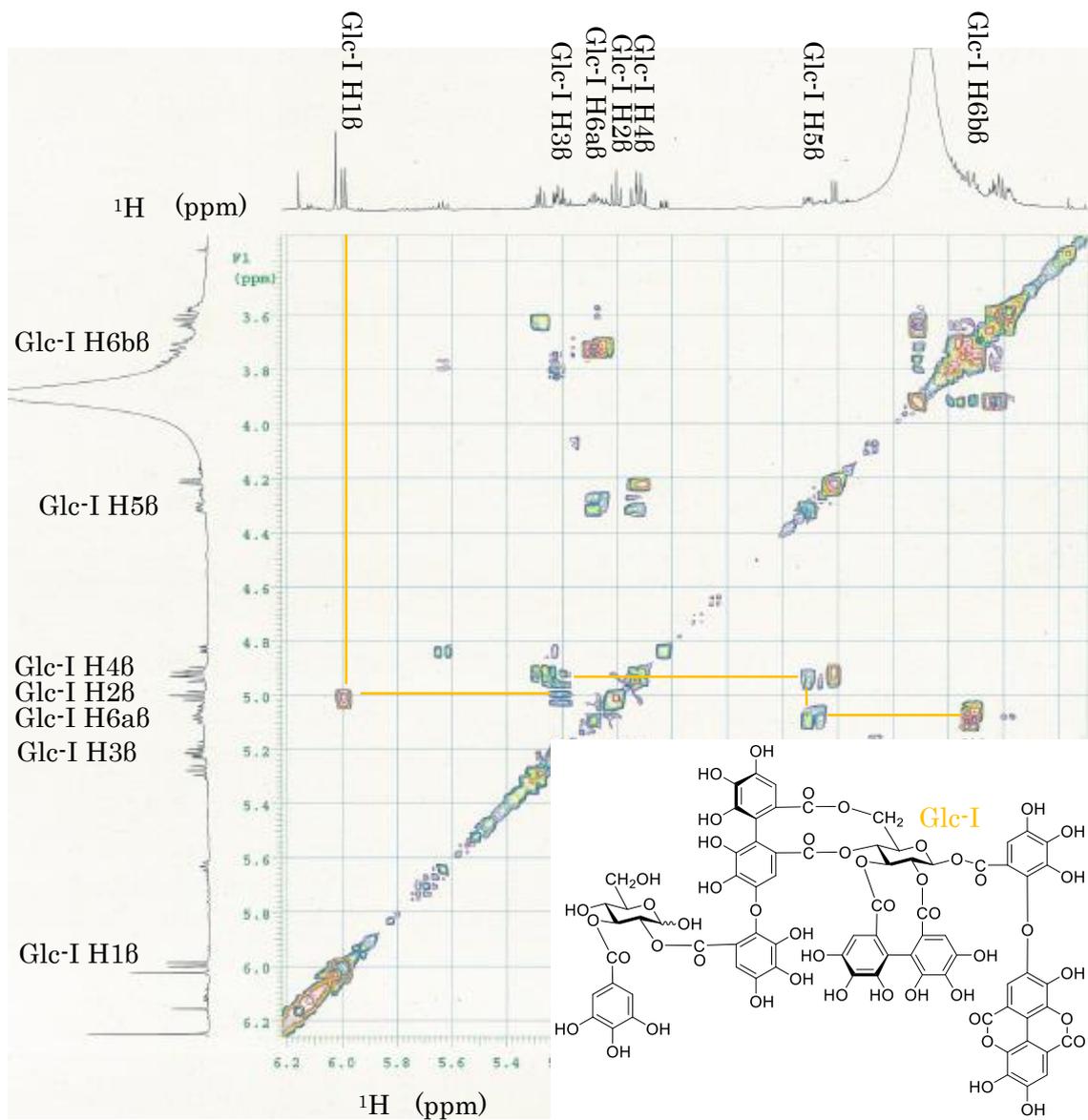


Figure 26.1 ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **2** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)
 Yellow lines indicate correlated proton signals in the β form of glucose-I.

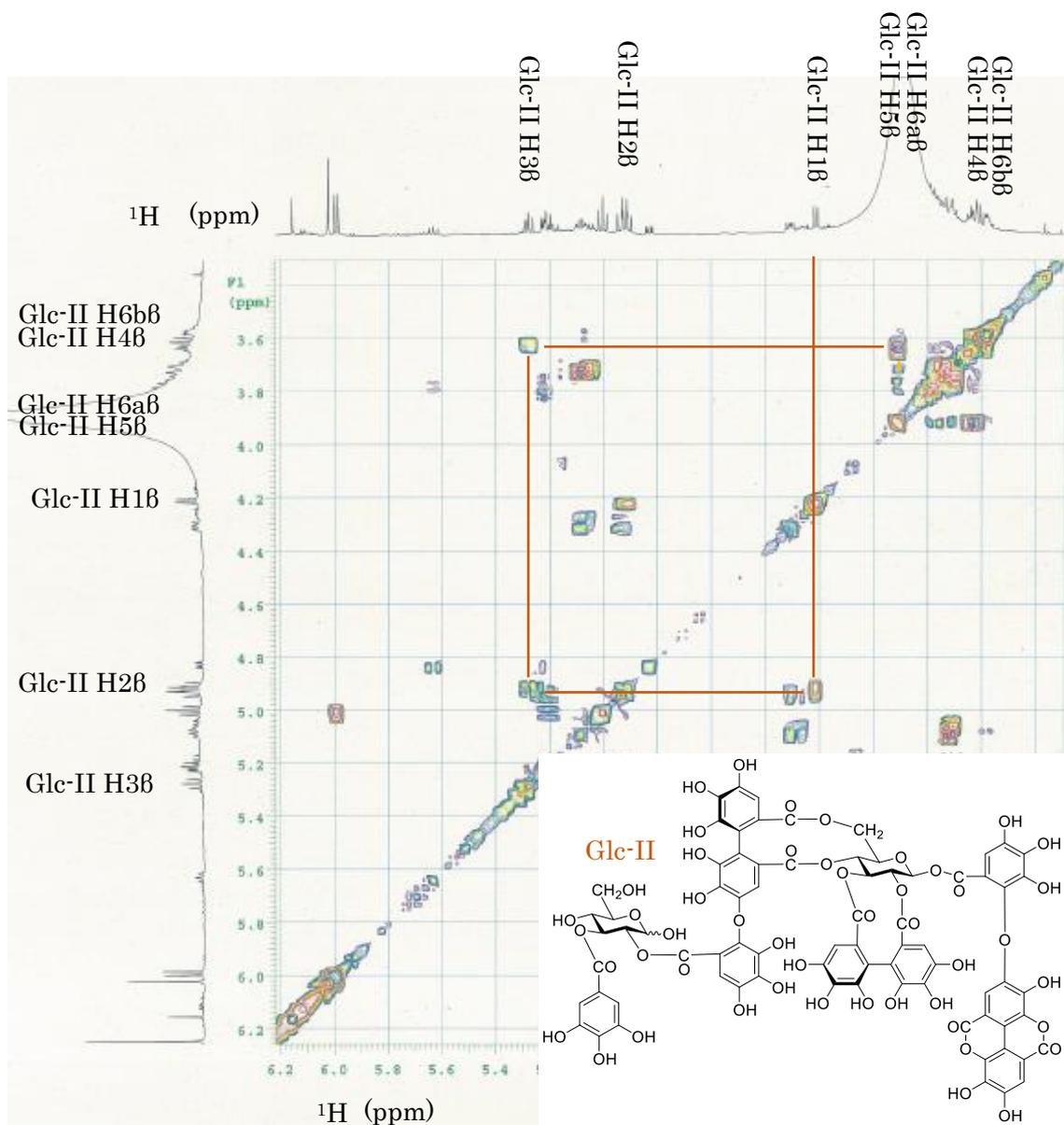


Figure 26.2. ^1H - ^1H COSY spectrum of β form of the compound **2** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)
Brown lines indicate correlated proton signals in the β form glucose-II.

$^1\text{H-NMR}$ での Glc H-1 のケミカルシフト (Glc-I, δ 5.99; Glc-II, δ 5.20/4.21) より, Glc-I O-1 位はアシル化され, Glc-II O-1 位はアシル化されていないことが分かる. また Glc-II の H-4 位と H-6 位のケミカルシフト [H-4 (δ 3.77/3.61), H-6a (δ 3.91/3.75), H-6b (δ 3.70/3.63)] から O-4 位と O-6 位はアシル化されていないことが分かる. さらに Glc-I 6 位の 2つのプロトンのケミカルシフトの差が大きい ($\Delta\delta$ 1.3/1.4). これは $^4\text{C}_1$ 配置の Glc O-4 と O-6 に HHDP 基 (或いは Val 基の HHDP 部分) がある場合のエラジタンニンに特徴的である (Figure 27) [43].

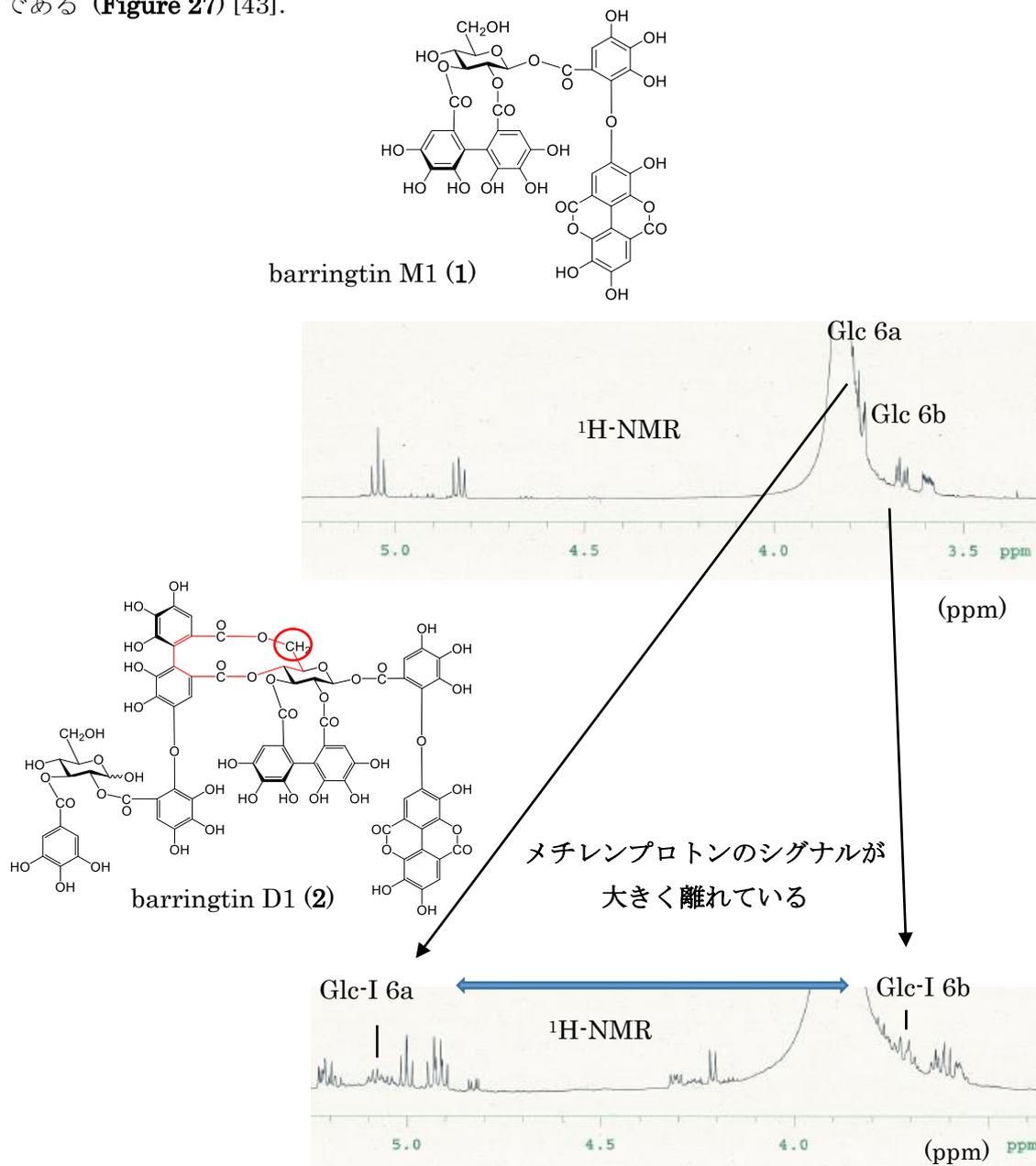


Figure 27. $^1\text{H-NMR}$ spectrum comparison in aliphatic region between compounds 1 and 2

HSQC スペクトル (Figure 28) より, $^1\text{H-NMR}$ スペクトルのシグナルに対応する $^{13}\text{C-NMR}$ のシグナルを確認した. $^1\text{H-NMR}$ や $^{13}\text{C-NMR}$ のシグナルで, 小さなシグナルが現れているが, それに対応する $^{13}\text{C-NMR}$ とのクロスピークがみられることから, これらは不純物ではなく, アノマー化合物のマイナー側のシグナルと考えられる (例 $^1\text{H-NMR}$ δ 5.63ppm は α form の glucose-II H3). α form についても全てを帰属することは困難であったが Table 3 にそれらをまとめることができた.

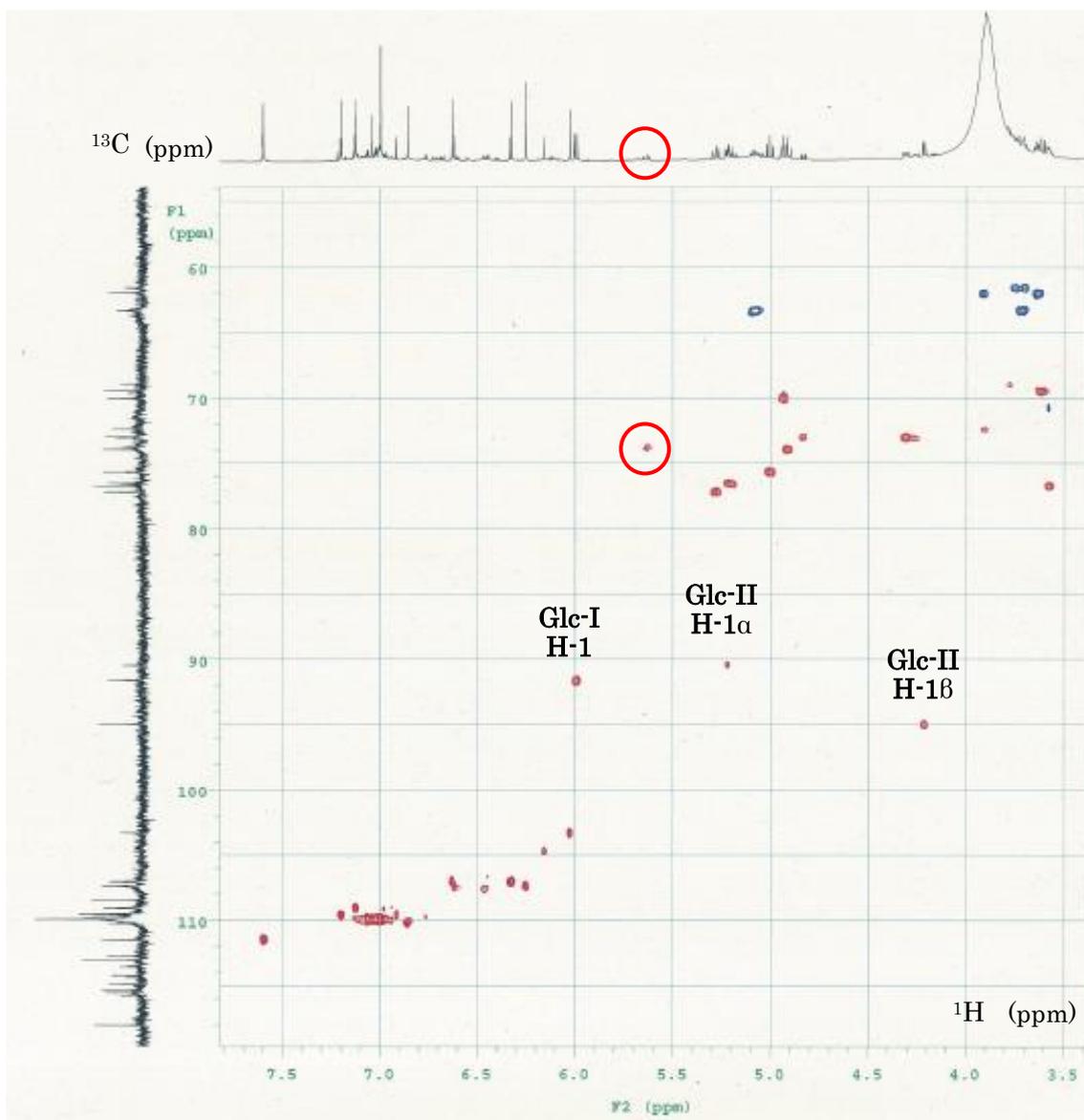


Figure 28. HSQC spectrum of compound 2 in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

Glc-II の β -anomer の HMBC スペクトル (**Figure 29**) では, Val H-3' (δ 6.02) – Val C-7' (δ 169.1) – Glc-I H-4 (δ 4.93) と Val H-3 (δ 6.63) – Val C-7 (δ 168.5) – Glc-I H-6 (δ 5.08/3.72) の相関が見られる (**Figure 30**) ことから, Glc-I O-4 と O-6 には Val 基の HHDP 部分が結合していることが分かった. さらに, Val H-6'' (δ 6.86) – Val C-7'' (δ 164.9) – Glc-II H-2 (δ 4.91) の相関も見られることから, Val 基は Glc-II の O-2 位に Gal 基部分が結合していることも確認できた. また Gal H-2/H-6 (δ 6.99) – Gal C-7 (δ 167.3) – Glc-II H-3 (δ 5.28) と DLV H-6'' (δ 7.20) – DLV C-7'' (δ 162.4) – Glc H-1 (δ 5.99) の相関も見られ, Glc-II O-3 位に Gal 基が結合し, Glc-I O-1 位に DLV 基が結合していることが分かった. また HHDP H-3 (δ 6.32) – HHDP C-7 (δ 168.6) – Glc-I H-2 (δ 5.00) および HHDP H-3' (δ 6.25) – HHDP C-7' (δ 168.9) – Glc-I H-3 (δ 5.21) の相関が見られることから, HHDP 基は, Glc-I O-2/O-3 位に結合していることが分かった.

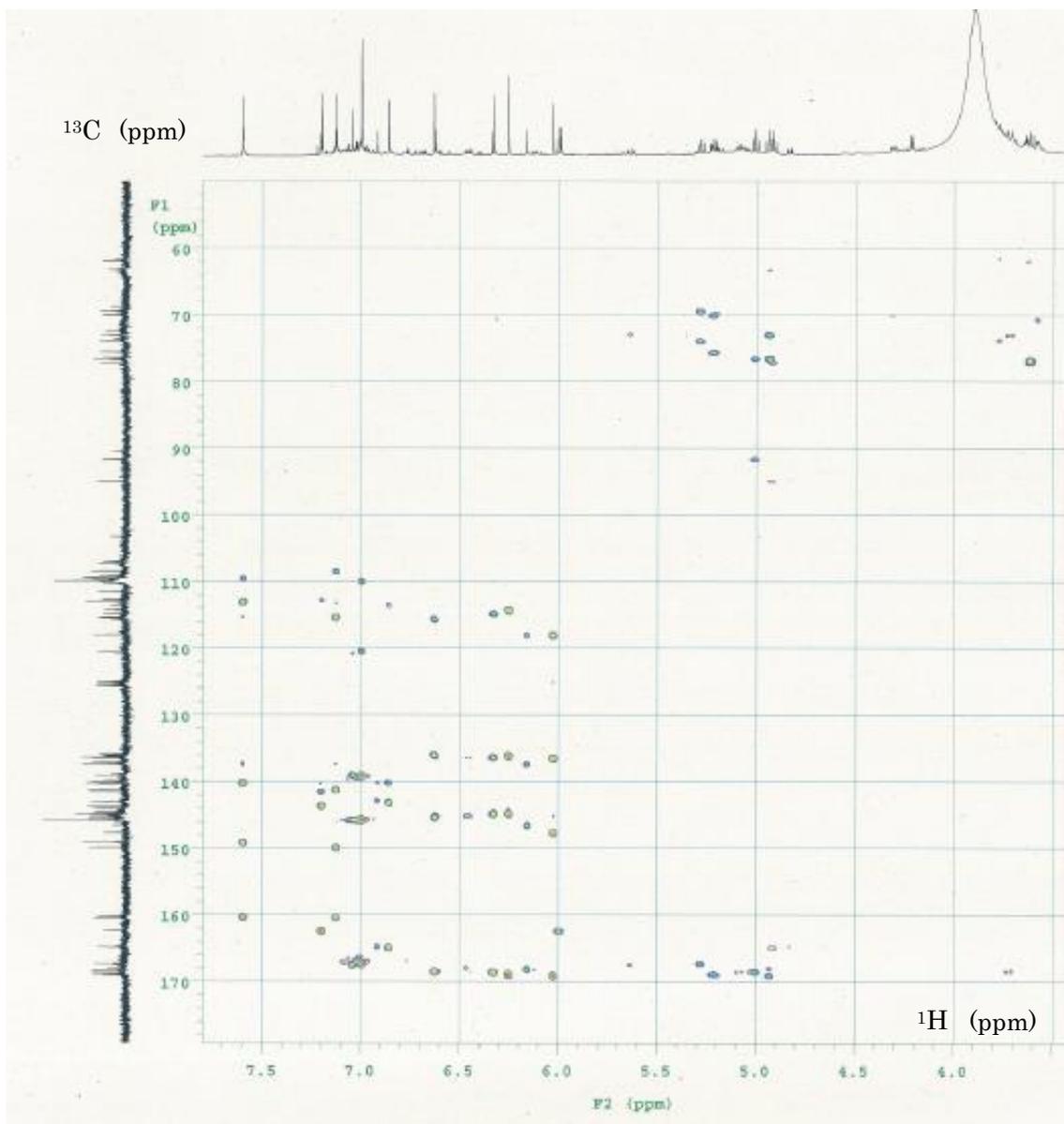


Figure 29. HMBC spectrum of compound **2** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

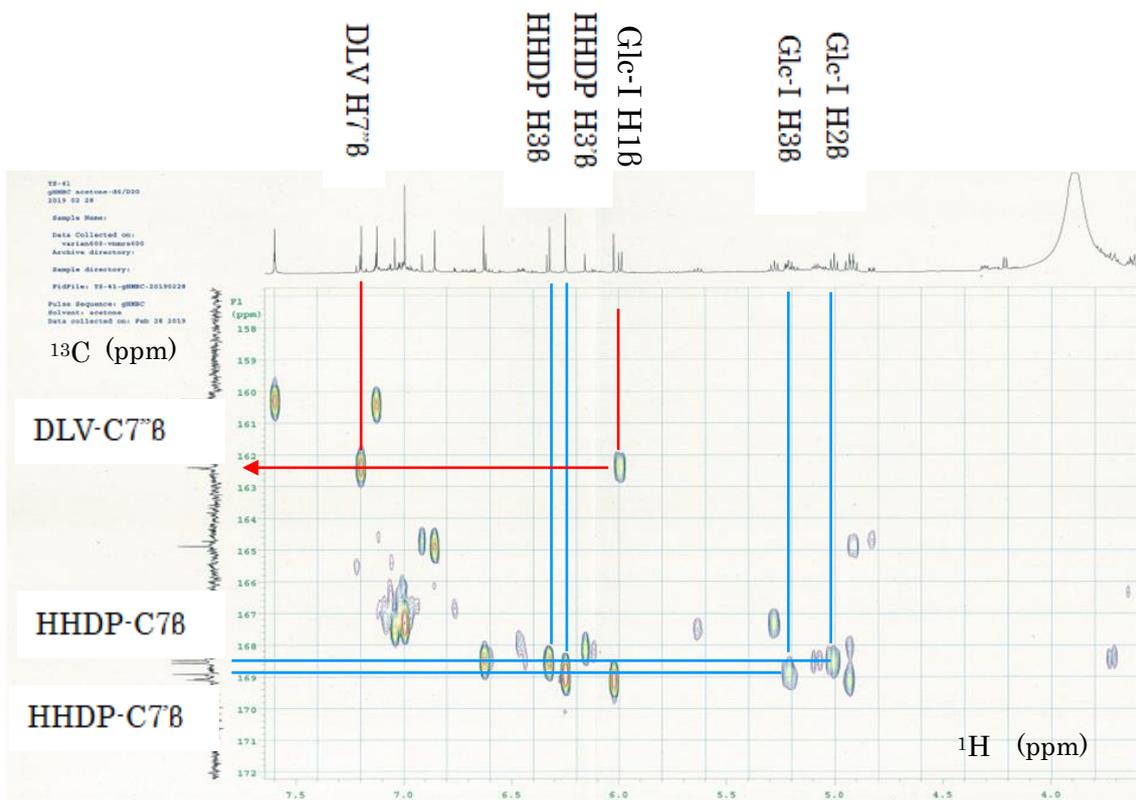
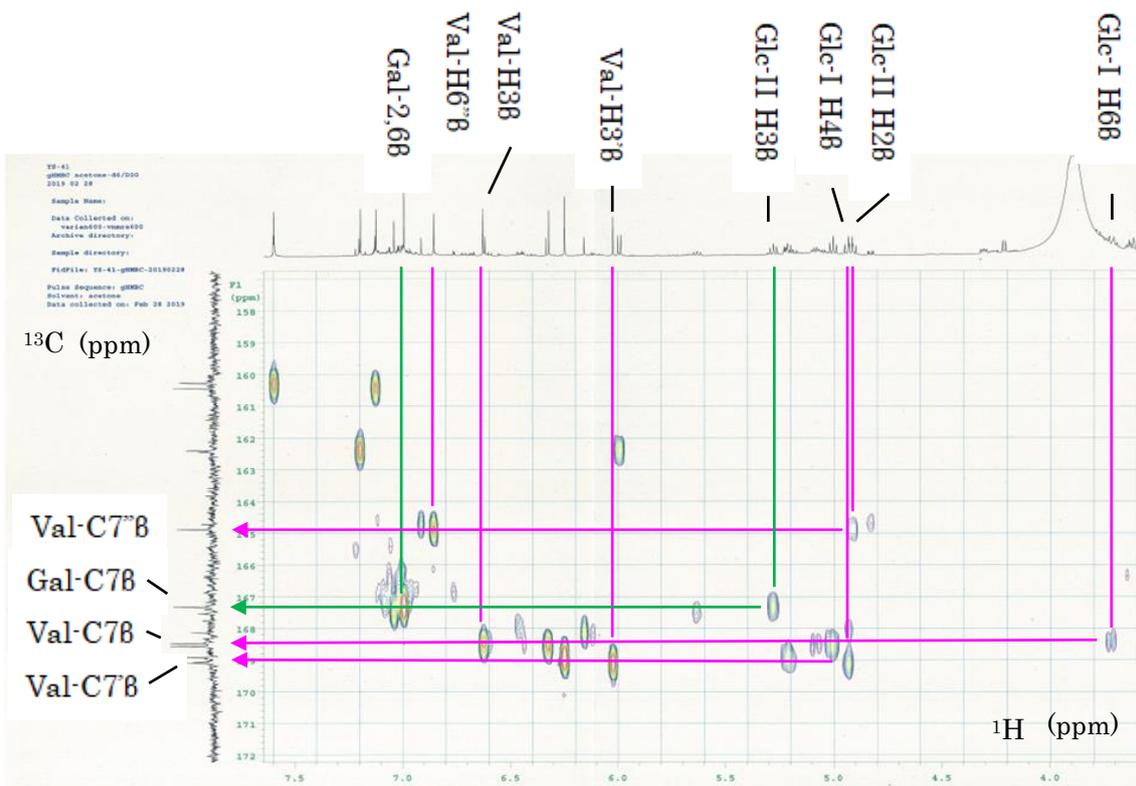


Figure 30.1 Key HMBC correlations of compound 2

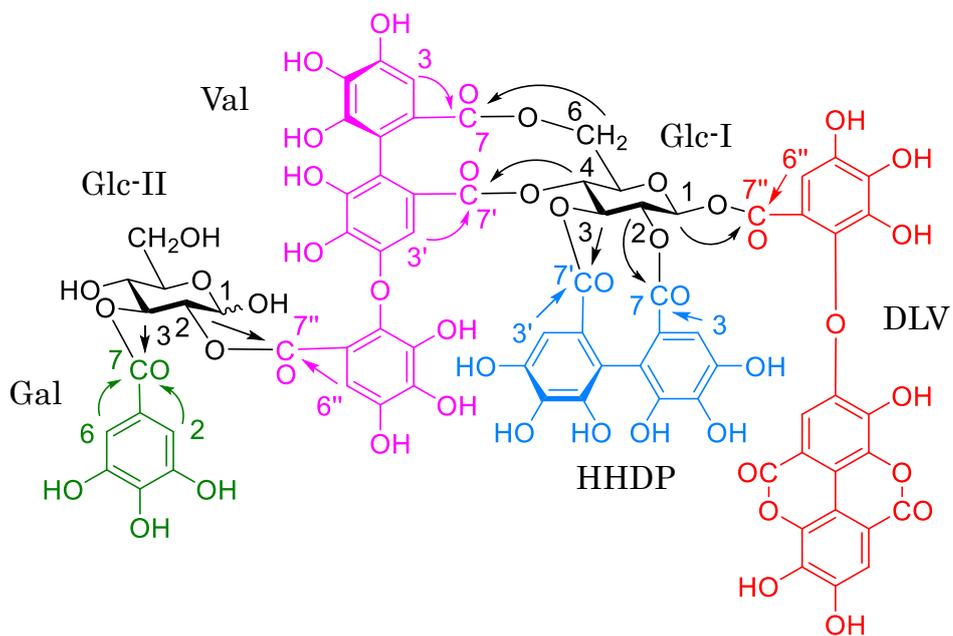


Figure 30.2. Key HMBC correlations of compound **2**

Table 3. ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectroscopic data of the glucose moiety of compound **2**

position		δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	
Glucose I	1	α	5.99, d (9.0)	91.62
		β		91.61
	2	α	5.00, t (9.0)	75.63
		β		75.62
	3	α	5.19, dd (9.0, 10.2)	76.6
		β	5.21, dd (9.0, 10.2)	76.5
	4	α	4.93, t (10.2)	69.6
		β		70.0
	5	α	4.26, dd (6.0, 10.2)	73.02
		β	4.31, dd (6.0, 10.2)	73.01
	6a	α	5.05, dd (6.0, 13.2)	63.31
		β	5.08, dd (6.0, 13.2)	63.32
	6b	α	3.72, d (13.2)	—
		β		
Glucose II	1	α	5.20, d (3.0)	90.4
		β	4.21, d (7.8)	95.0
	2	α	4.83, dd (3.0, 9.6)	73.0
		β	4.91, dd (7.8, 9.6)	73.9
	3	α	5.63, t (9.6)	73.8
		β	5.28, t (9.6)	77.2
	4	α	3.77, t (9.6)	69.0
		β	3.61, t (9.6)	69.5
	5	α	3.90, m	72.4
		β	3.57, m	76.7
	6a	α	3.75, dd (1.8, 12.6)	61.6
		β	3.91, dd (1.8, 12.6)	62.0
	6b	α	3.70, dd (5.4, 12.6)	—
		β	3.63, dd (7.2, 12.6)	

HHDP 基の軸不斉については, ECD スペクトルでは, 225nm に極大 (正のコットン) が見られることから (Figure 31), HHDP 基および Val 基の配置は *S* 配置 [42] と考えられる.

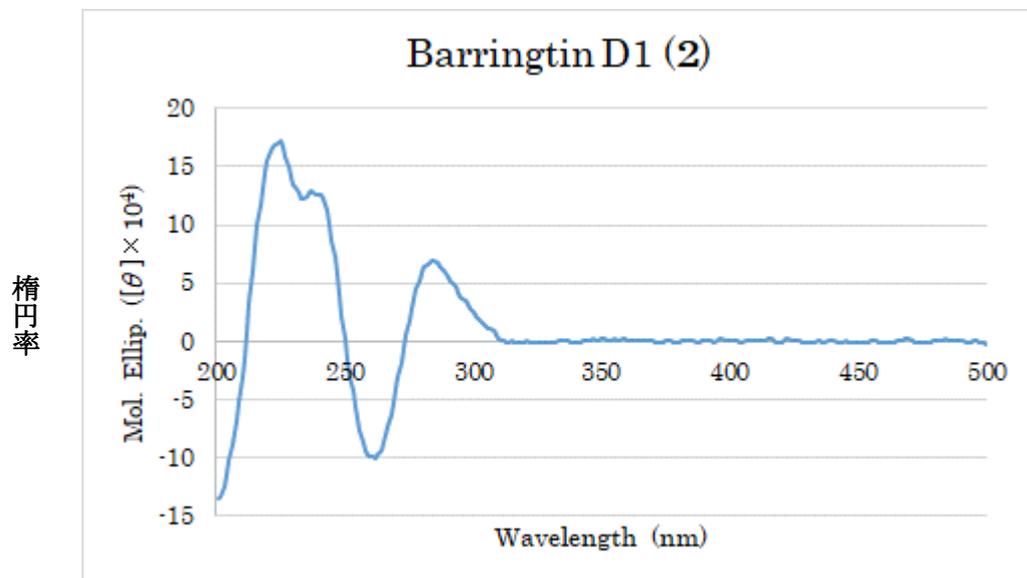


Figure 31. ECD spectrum of compound 2

さらに, 化合物 **2** の構造を確かめるため **2** の部分分解を行ったところ (Figure 32), **1** および oenothain C (**12**) の生成を順相および逆相 HPLC により認められた (Figure 33). TFA による酸加水分解や沸騰水による熱分解も試みたが, いずれも分解反応が進みすぎてしまい, 生成物をうまく確認できなかった.

以上より barrington D1 と命名した化合物 **2** は Figure 22 で示したアノマー混合物の構造であると決定した.

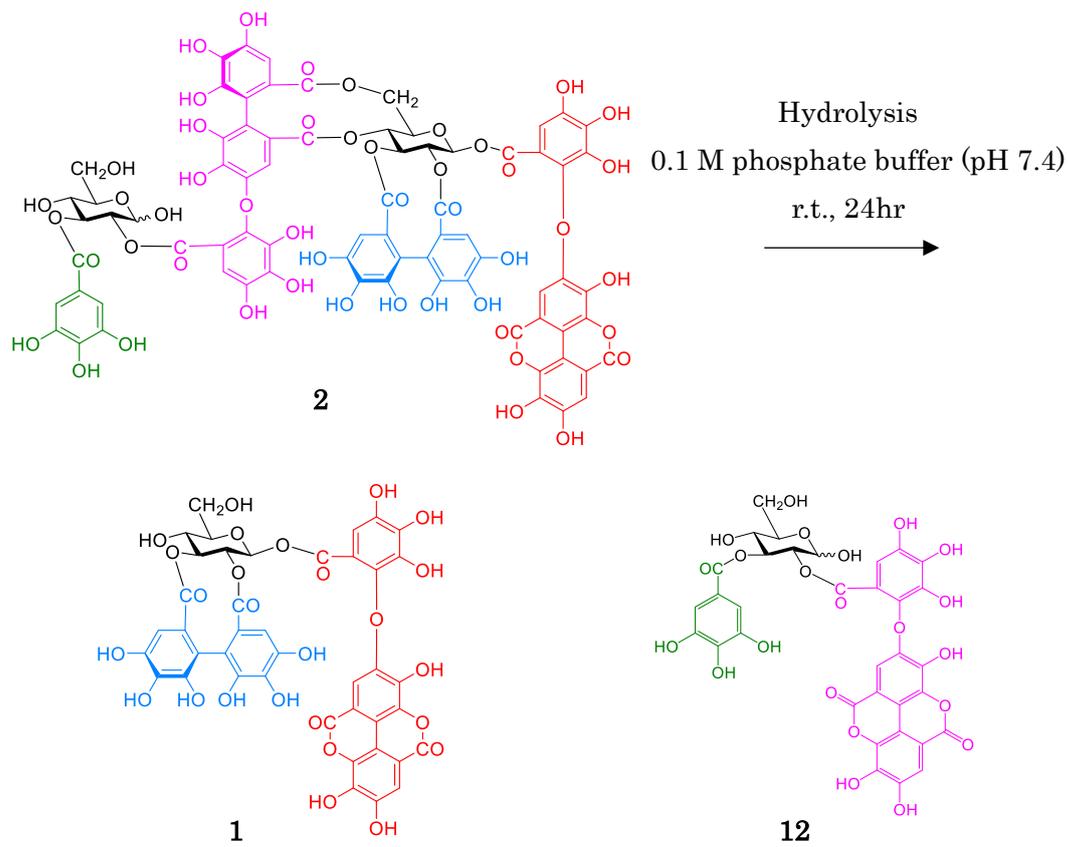


Figure 32. Partial hydrolysis of compound **2**

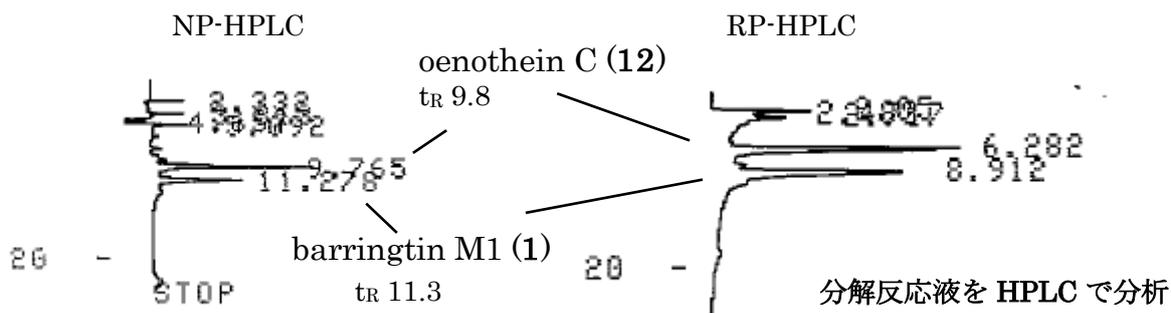


Figure 33. HPLC chart of partial hydrolysis reaction solution with compound **2**

NP-HPLC Column: YMC-Pack SILA-003

mobile phase: *n*-hexane-MeOH-THF-HCOOH (55:33:11:1) + oxalic acid 450 mg/L

RP-HPLC Column: YMC-Pack ODS-AA-302

mobile phase: 10 mM H₃PO₄-10 mM KH₂PO₄-CH₃CN (45:45:10)

化合物 **3** (Figure 34) は褐色無晶形粉末として得た. 高分解能 ESI-MS より m/z 1289.1377 に $[M+Na]^+$ イオンピーク (calcd for $C_{54}H_{42}O_{36} + Na$, 1289.1348) を示したことから, 分子式は $C_{54}H_{42}O_{36}$ であり, 順相 HPLC 上での保持時間 (16.8 min), および NMR データから, 加水分解性タンニン dimer であると考えられた. 1H -NMR スペクトル (Figure 35) では, 各プロトン 1 個分ずつが 4 本に分かれた 1 組のシグナルとなって現れ, 4 つの anomeric form の平衡混合物として存在し, その割合は α (Glc-I) – α (Glc-II), β (Glc-I) – α (Glc-II), α (Glc-I) – β (Glc-II), β (Glc-I) – β (Glc-II) として 1:1:3:3 であることを示している (Figure 36).

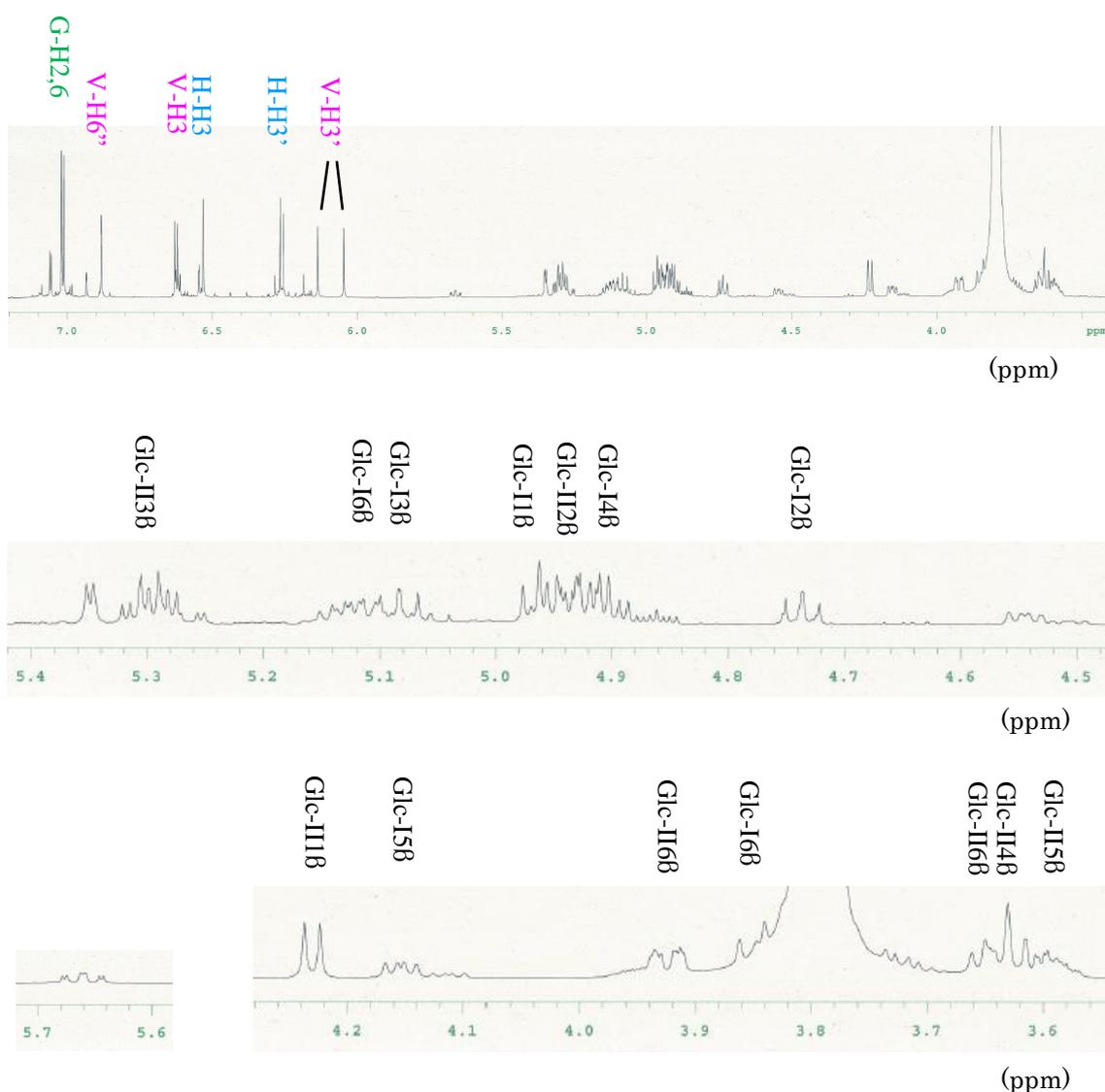
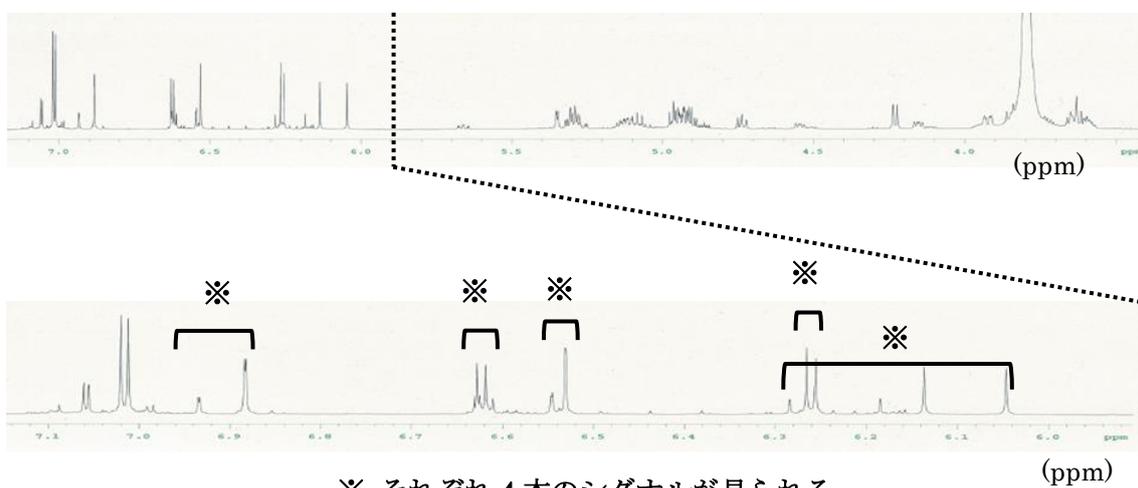
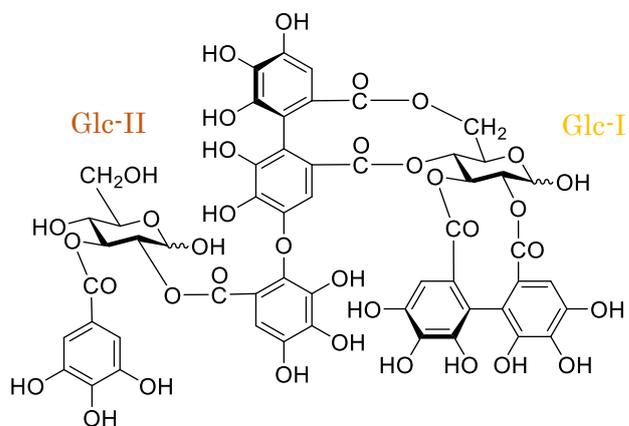


Figure 35. 1H -NMR spectrum of compound **3** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)



※ それぞれ 4 本のシグナルが見られる

Glucose I	α	β	α	β
Glucose II	α	α	β	β
ratio	1	1	3	3

Figure 36. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of compound **3** in aromatic region

^{13}C -NMR スペクトル (Figure 37) では、化合物 **3** が dimer であることを示した (Table 4). ^1H -NMR および ^{13}C -NMR のシグナルは、1 個分ずつが 4 本に分かれた 1 組のシグナルとなって現れているため複雑であり、全てを帰属することは困難であったが Table 4 にそれらをまとめることができた.

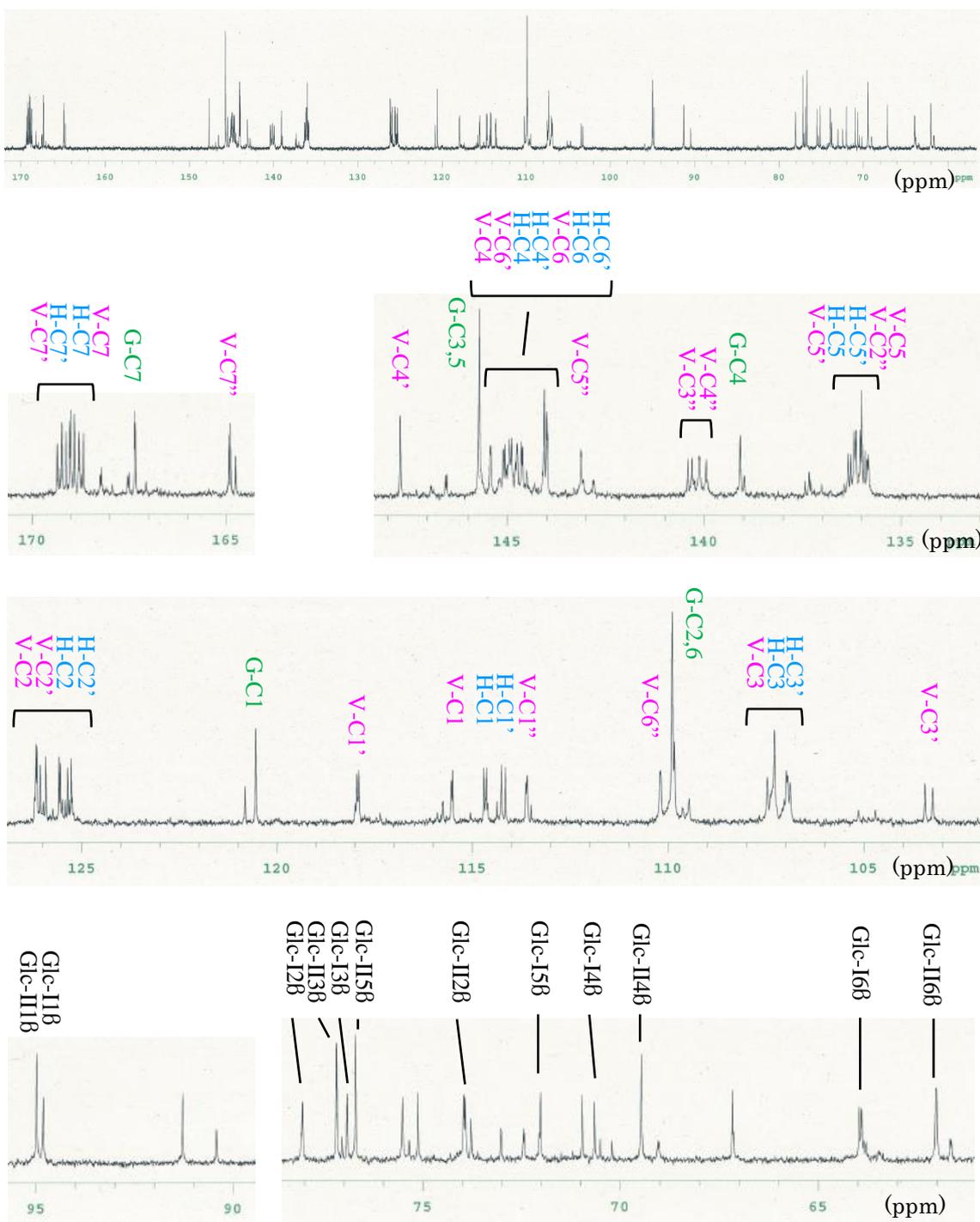


Figure 37. ^{13}C -NMR spectrum of compound **3** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

脂肪族プロトン領域では、カップリング定数および ^1H - ^1H COSY スペクトル (Figure 38) 上の各クロスピークから、化合物 **3** は $^4\text{C}_1$ 配置 conformation を有する 2 つのグルコピラノースを有することが分かった [41]. 芳香族領域では Gal 基による 2H 分のシグナル [δ 7.060/7.055/7.02/7.01 (2H in total)] が認められ、それ以外に 5 本のシグナル [6.94/6.93/6.883/6.882 (1H in total), 6.628/6.625/6.62/6.61 (1H in total), 6.546/6.545/6.530/6.529 (1H in total), 6.28/6.18/6.14/6.05 (1H in total), 6.27/6.25 (1H in total)] が現れており、Val 基と HHDP 基が存在を示していた.

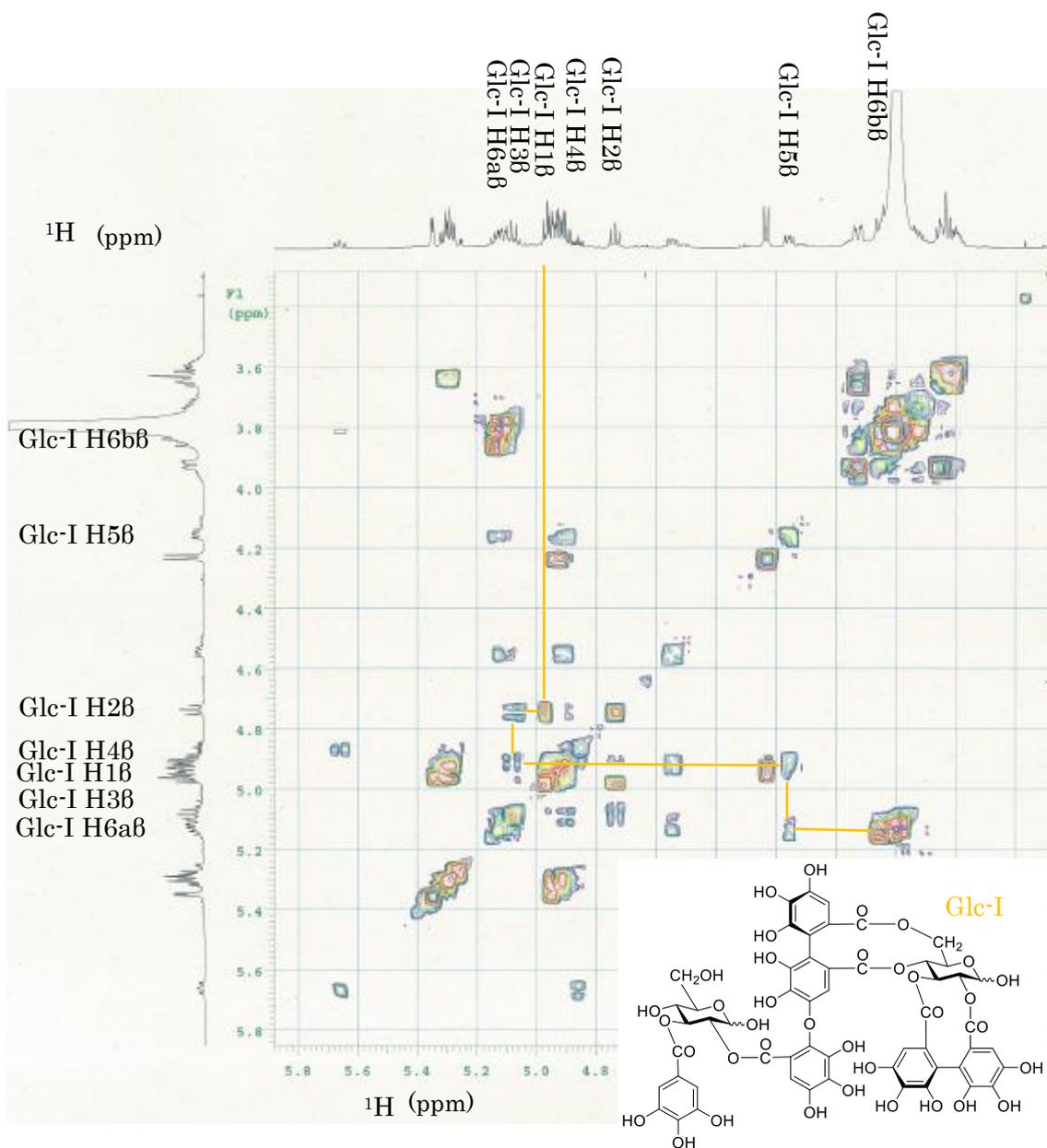


Figure 38.1 ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **3** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)
Yellow lines indicate correlated proton signals in the β form of glucose-I.

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルでの Glc のケミカルシフトを見ると, Glc-II H-4 (δ 3.63), H-6a (δ 3.93/3.92/3.80), H-6b (δ 3.72/3.71/3.65) であることから, これらはアシル化されていないことが分かる. また Glc-I H-6 位の 2 つのプロトンのケミカルシフトの差が大きい ($\Delta\delta$ 1.3/1.4) ことから, Glc-I O-4 と O-6 は Val 基の HHDP 部分であると考えられる [43].

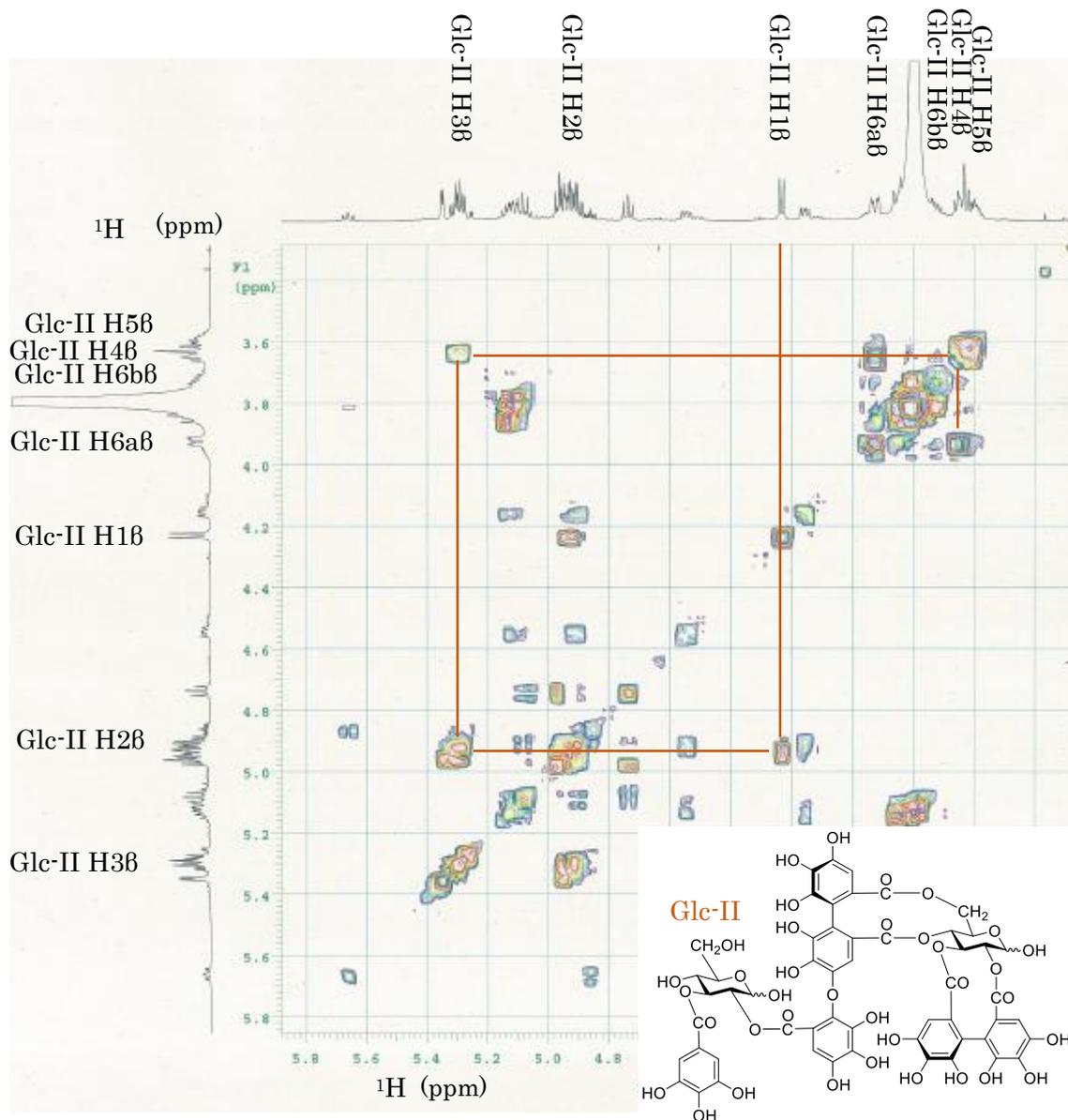


Figure 38.2 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY spectrum of compound **3** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)
Brown lines indicate correlated proton signals in the β form glucose-II.

HSQC スペクトル (Figure 39) より, ^1H -NMR スペクトルのシグナルに対応する ^{13}C -NMR のシグナルを確認した.

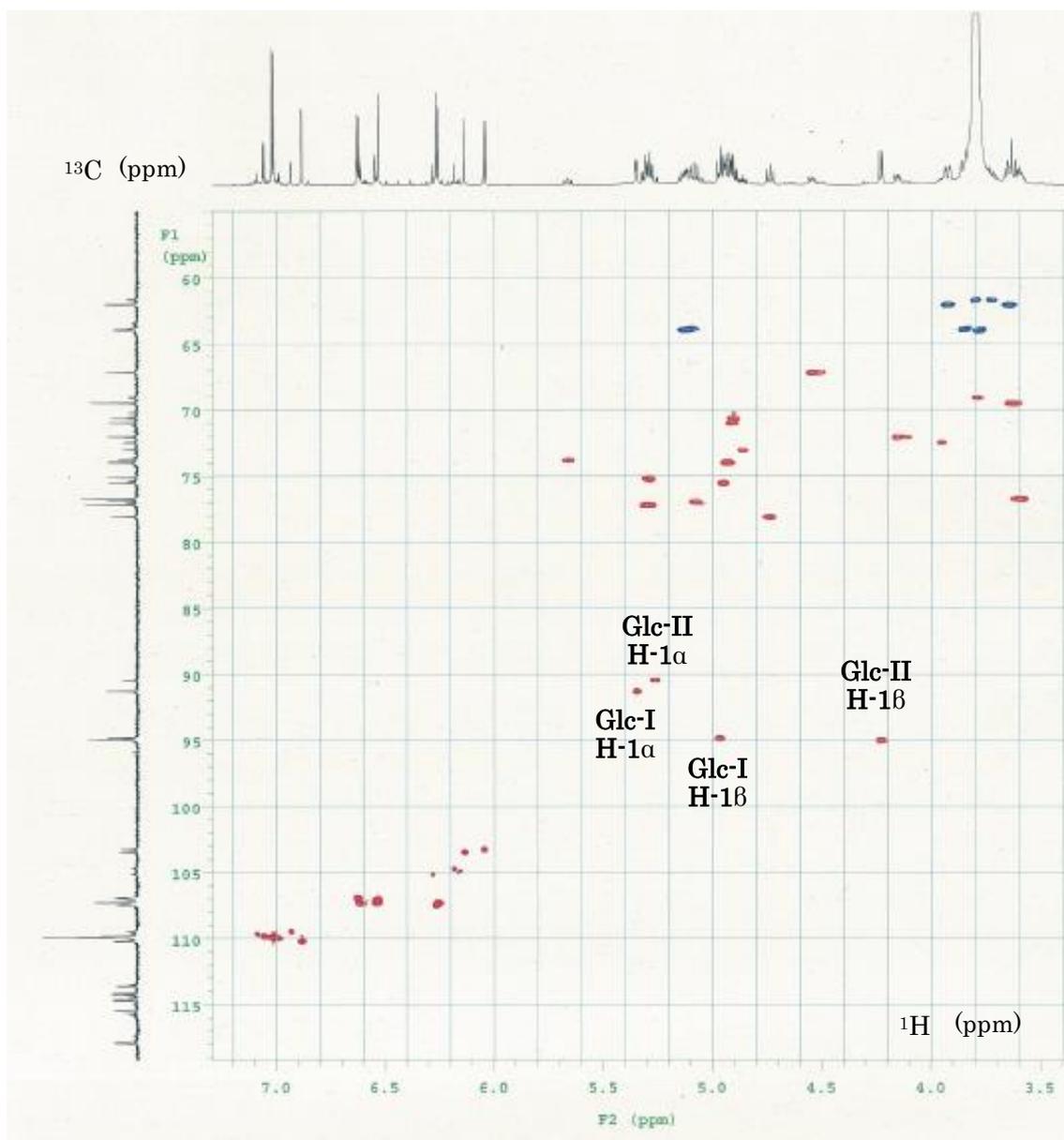


Figure 39. HSQC spectrum of compound **3** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

化合物 **3** の Glc-II の β -anomer の HMBC スペクトル (Figure 40) では, Val H-3' (δ 6.14/6.05) – Val C-7' (δ 169.3/169.2) – Glc-I H-4 (δ 4.90) と Val H-3 (δ 6.63/6.62) – Val C-7 (δ 168.8/168.7) – Glc-I H-6 (δ 5.12/3.85) の相関が見られ (Figure 41: ^{13}C -NMR でのカルボニルカーボンのシグナルが分かりにくいため縦軸 (^1H -NMR) と横軸 (^{13}C -NMR) を逆にしている), Val 基の HHDP 基部分が Glc-I O-4/O-6 位に結合していることが確認された. また, Val H-6'' (δ 6.88) – Val C-7'' (δ 164.9) – Glc-II H-2 (δ 4.93) の相関も見られ, Glc-II の O-2 位に Val 基の Gal 基部分が結合していることも確認できた. さらに HHDP H-3 (δ 6.530) – HHDP C-7 (δ 169.0/168.9) – Glc-I H-2 (δ 4.74) および HHDP H-3' (δ 6.27/6.25) – HHDP C-7' (δ 169.1/169.0) – Glc-I H-3 (δ 5.08/5.06) の相関が見られることから, HHDP 基は, Glc-I O-2/O-3 位に結合していることが明らかとなった.

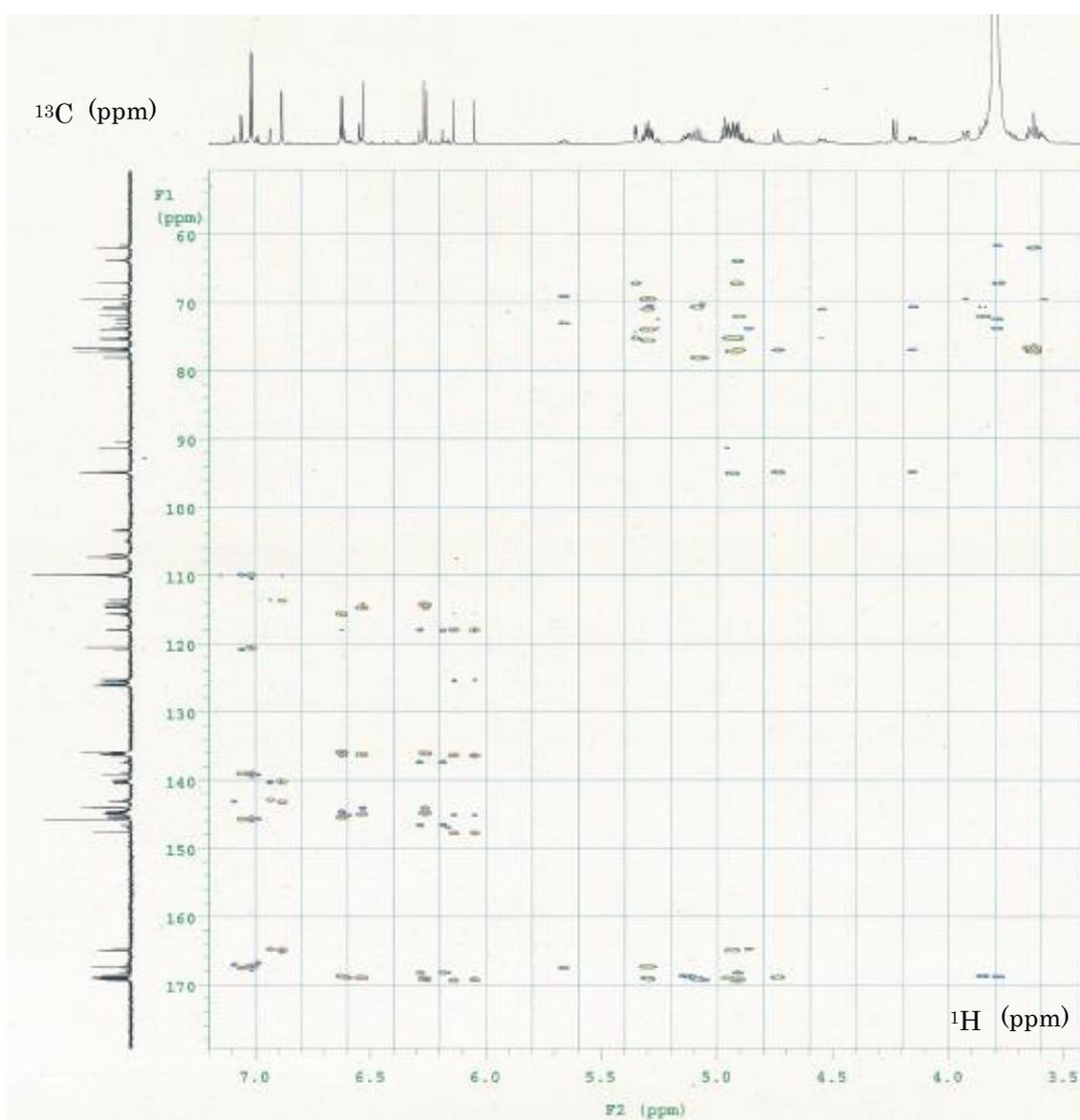


Figure 40. HMBC spectrum of compound **3** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

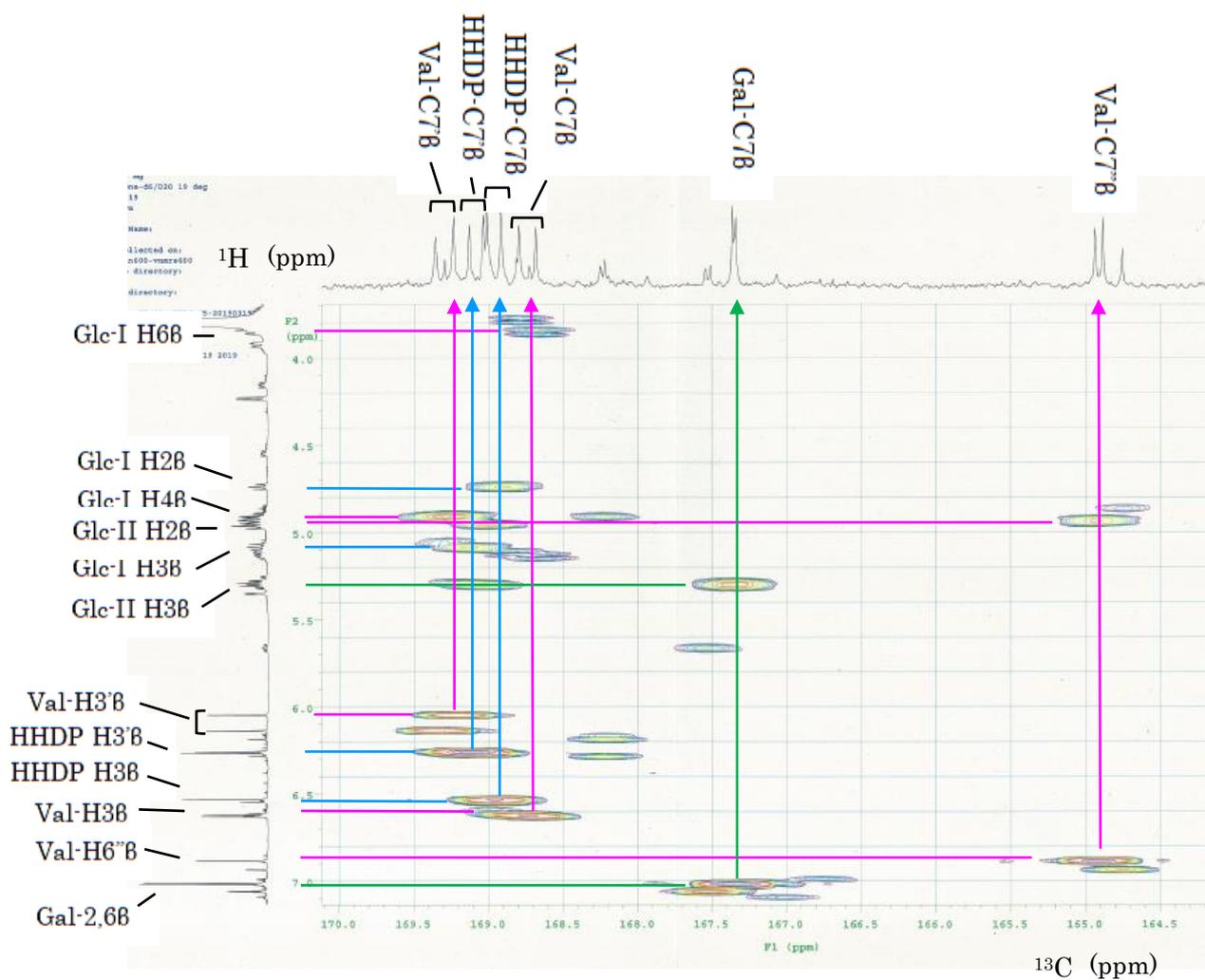


Figure 41. Key HMBC correlations of compound **3**

Table 4. ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectroscopic data for the glucose moiety of compound **3**

position		δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	
Glucose I	1	α	5.35, d (3.6)	91.3
		β	4.97, d (8.4)	94.8
	2	α	4.96, 4.94, dd (3.6, 9.0)	75.5
		β	4.74, t (8.4)	78.1
	3	α	5.30, 5.29, dd (9.0, 10.2)	75.3, 75.1
		β	5.08, 5.06, dd (8.4, 10.2)	77.0, 76.9
	4	α	4.91, t (10.2)	71.0, 70.5
		β	4.90, t (10.2)	70.7, 70.2
	5	α	4.54, 4.51, dd (6.6, 10.2)	67.2
		β	4.15, 4.11, dd (6.6, 10.2)	72.0
	6a	α	5.13, dd (6.6, 12.6)	64.0, 63.8
		β	5.12, dd (6.6, 12.6)	63.9, 63.8
	6b	α	3.78, d (12.6)	—
		β	3.85, d (12.6)	
Glucose II	1	α	5.27, 5.25, d (3.6)	90.4
		β	4.23, d (7.8)	95.0
	2	α	4.87, 4.86, dd (3.6, 9.6)	73.0
		β	4.933, 4.930, dd (7.8, 9.6)	74.0, 73.9
	3	α	5.67, 5.66, t (9.6)	73.8
		β	5.31, 5.29, t (9.6)	77.2
	4	α	3.79, t (9.6)	69.1, 69.0
		β	3.63, t (9.6)	69.5
	5	α	3.96, 3.95, ddd (1.8, 5.4, 9.6)	72.5, 72.4
		β	3.59, 3.58, ddd (1.8, 5.4, 9.6)	76.7
	6a	α	3.80, dd (1.8, 12.0)	61.7, 61.6
		β	3.93, 3.92, dd (1.8, 12.0)	62.0
	6b	α	3.72, 3.71, dd (5.4, 12.0)	—
		β	3.65, dd (6.6, 12.0)	

ECD スペクトルでは、222nm に極大（正のコットン）が見られることから (Figure 42), HHDP 基および Val 基の配置は *S* 配置である [42].

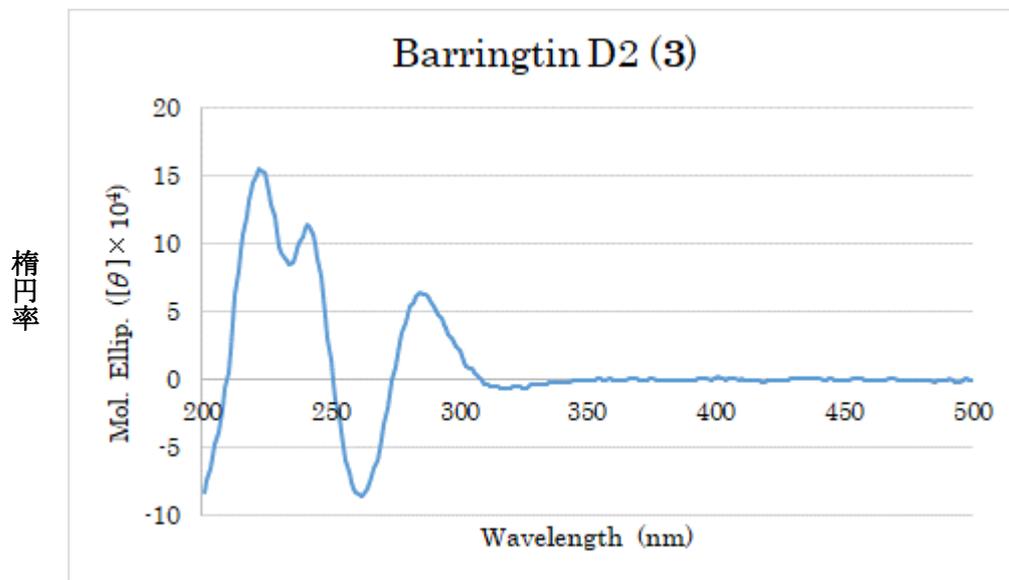


Figure 42. ECD spectrum of compound 3

さらに、化合物 **3** の構造を確認するため **3** の部分分解を行ったところ (Figure 43), **9**, **11** および **12** の生成を順相および逆相 HPLC により確認した (Figure 44).

以上より barrington D2 と命名した化合物 **3** は Figure 34 に示したアノマー混合物の構造であると決定した.

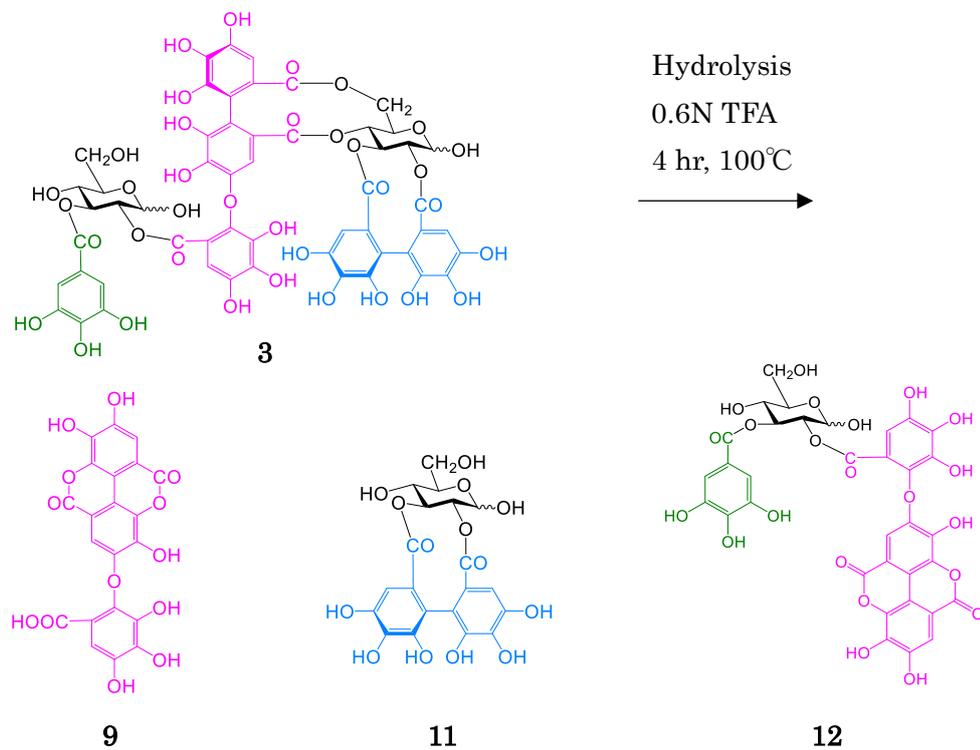
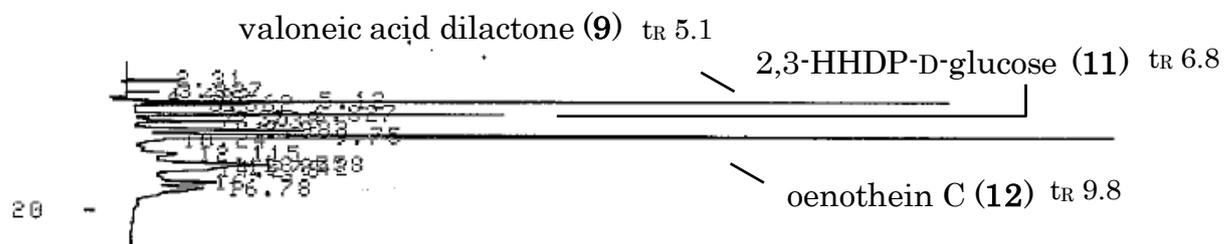


Figure 43. Partial hydrolysis of compound **3**

分解反応液を HPLC で分析

NP-HPLC



RP-HPLC

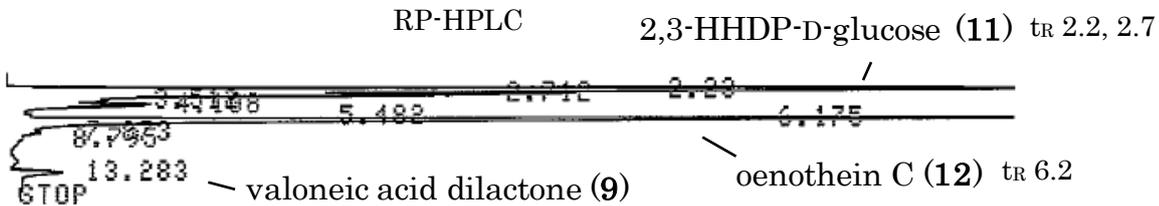


Figure 44. HPLC chart of partial hydrolysis reaction solution with compound **3**

NP-HPLC Column: YMC-Pack SIL A-003

mobile phase: *n*-hexane-MeOH-THF-HCOOH (55:33:11:1) + oxalic acid 450 mg/L

RP-HPLC Column: YMC-Pack ODS-AA-302

mobile phase: 10 mM H₃PO₄-10 mM KH₂PO₄-CH₃CN (45:45:10)

1. 6 Barrington D3 (4) の構造決定

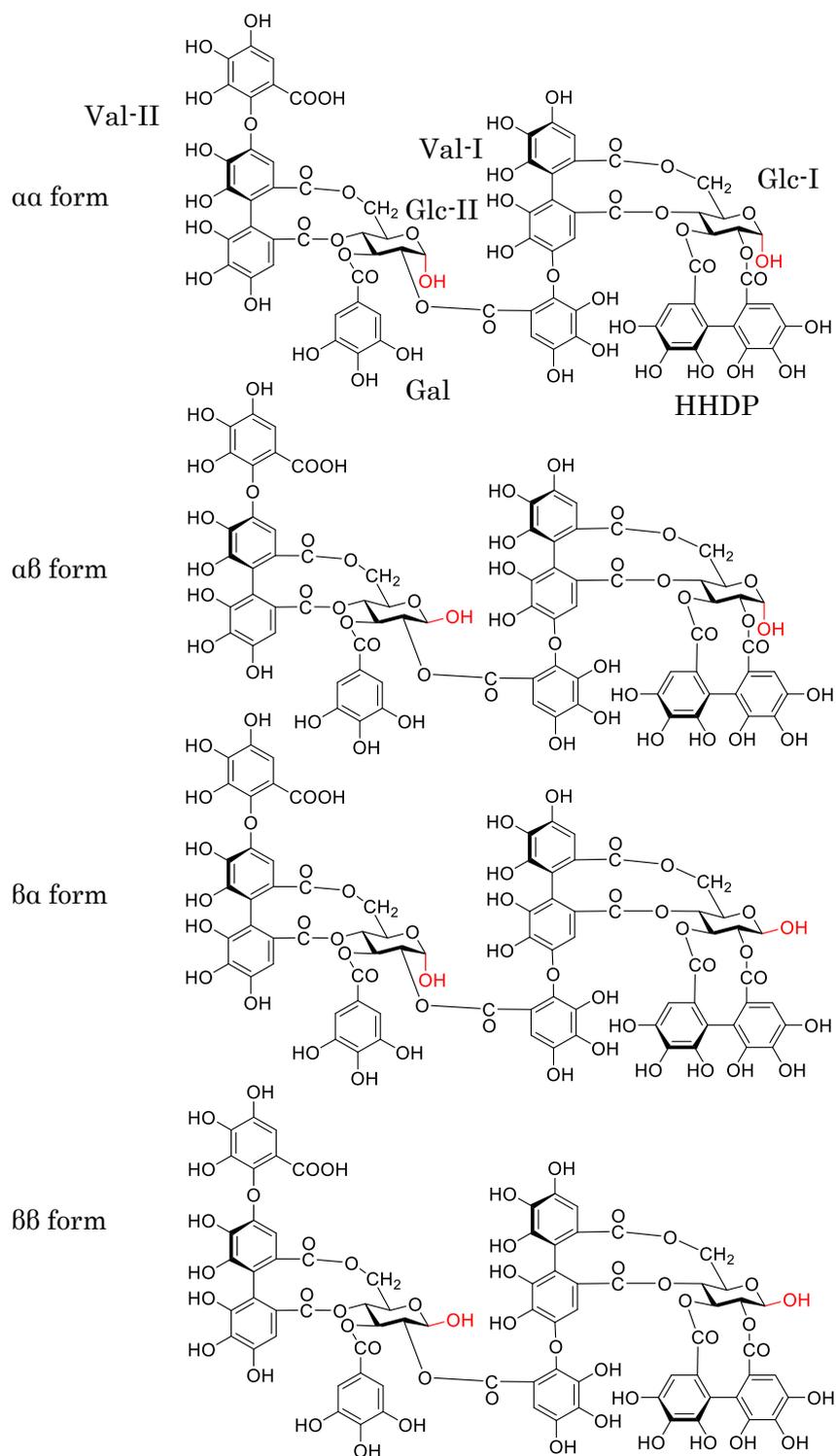


Figure 45. Structure of compound 4

化合物 **4** (Figure 45) は褐色無晶形粉末として得られた。高分解能 ESI-MS より m/z 1759.1358 に $[M+Na]^+$ イオンピーク (calcd for $C_{75}H_{52}O_{49} + Na$, 1759.1469) を示したことから、分子式は $C_{75}H_{52}O_{49}$ であり、順相 HPLC 上での保持時間 (19.0 min) および NMR データより加水分解性タンニン dimer であると考えられた。 1H -NMR スペクトル (Figure 46) では、化合物 **3** 同様、各プロトン 1 個分ずつが 4 本に分かれた 1 組のシグナルとなって現れ、4 つの anomeric form の平衡混合物として存在し、その割合は α (Glc-I) – α (Glc-II), β (Glc-I) – α (Glc-II), α (Glc-I) – β (Glc-II), β (Glc-I) – β (Glc-II) として 2:3:5:6 であることを示している (Figure 46)

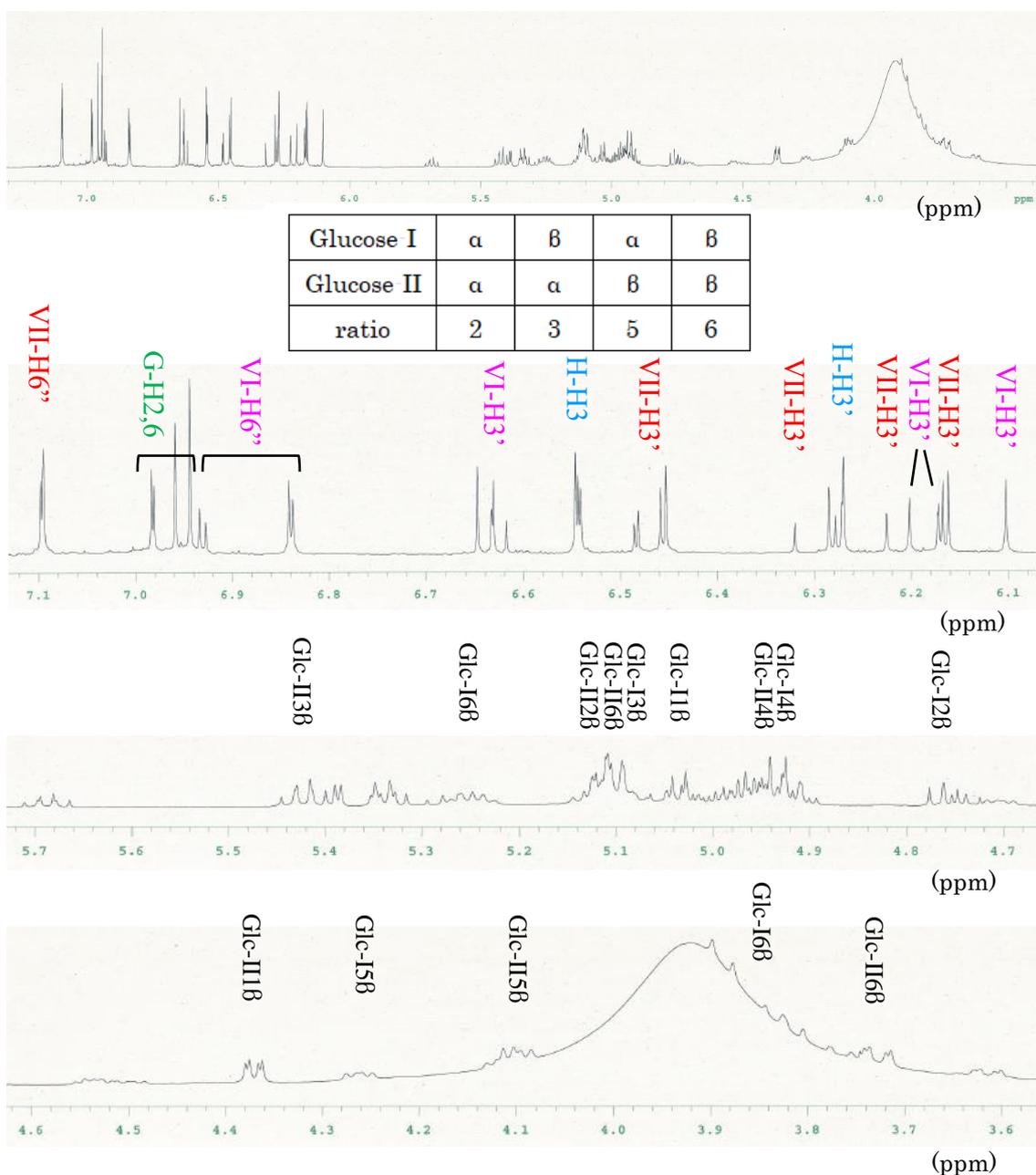


Figure 46. 1H -NMR spectrum of compound **4** in acetone- d_6 · D_2O (9:1)

^{13}C -NMR スペクトル (Figure 47) では、化合物 4 が dimer であることを示した (Table 5). ^1H -NMR および ^{13}C -NMR のシグナルは、1 個分ずつが 4 本に分かれた 1 組のシグナルとなって現れているため複雑であり、全てを帰属することは困難であったが Table 5 にそれらをまとめることができた.

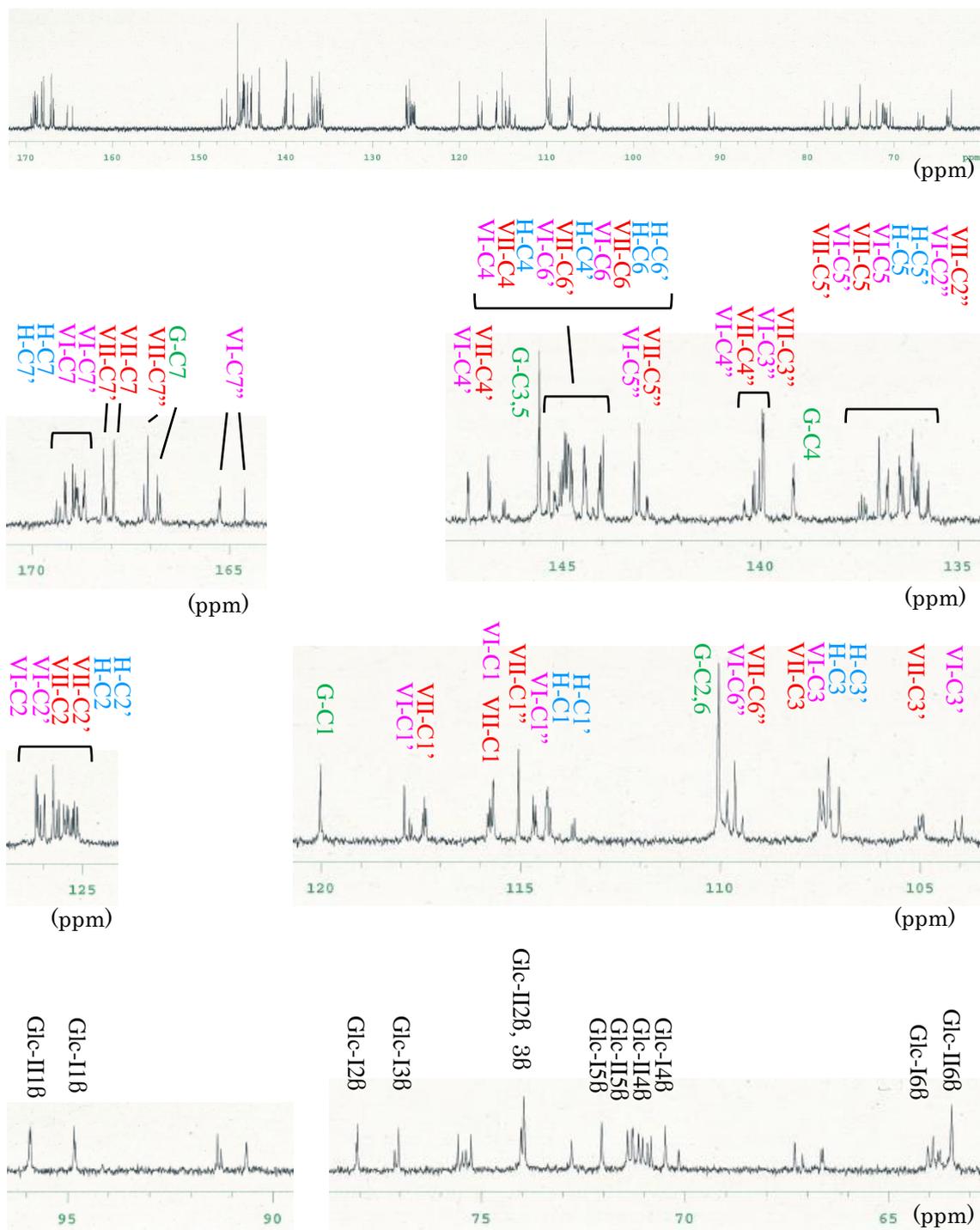


Figure 47. ^{13}C -NMR spectrum of compound 4 in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

脂肪族プロトン領域では、カップリング定数および ^1H - ^1H COSY スペクトル (Figure 48) 上の各クロスピークから、 $^4\text{C}_1$ 配置 conformation を有する 2 つのグルコピラノースを有することが分かった [41].

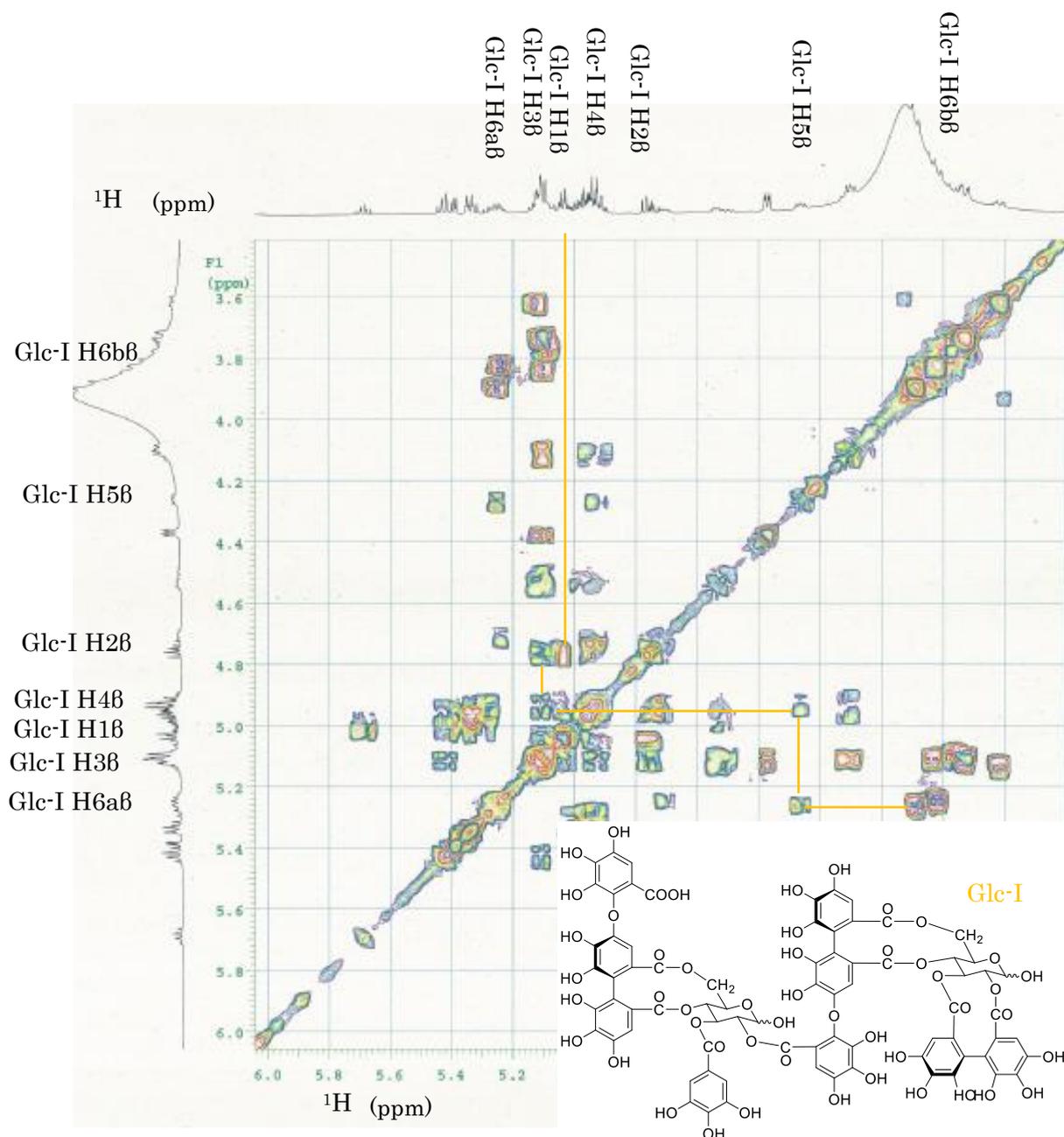


Figure 48.1 ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **4** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)
Yellow lines indicate correlated proton signals in the β form glucose-I.

芳香族領域では Gal 基による 2H 分のシグナル [δ 6.983/6.981/6.96/6.94 (2H in total)] が認められ, それ以外に 8 対のシグナル [δ 7.098/7.095 (1H in total), 6.934/6.928/6.842/6.838 (1H in total), 6.65/6.633/6.631/6.62 (1H in total), 6.55/6.544/6.541 (1H in total), 6.49/6.48/6.46/6.45 (1H in total), 6.32/6.23/6.17/6.16 (1H in total), 6.29/6.28/6.272/6.270 (1H in total), 6.20/6.173/6.172/6.10 (1H in total)] が見られ, Val 基 2 個と HHDP 基 1 個が存在すると推察された. $^1\text{H-NMR}$ スペクトルでは 2 つの Glc H-6 位のケミカルシフトの差が大きい ($\Delta\delta$ 1.3-1.5) ことから, 2 つの Glc O-4 と O-6 は Val 基の HHDP 部分であると考えられる [43].

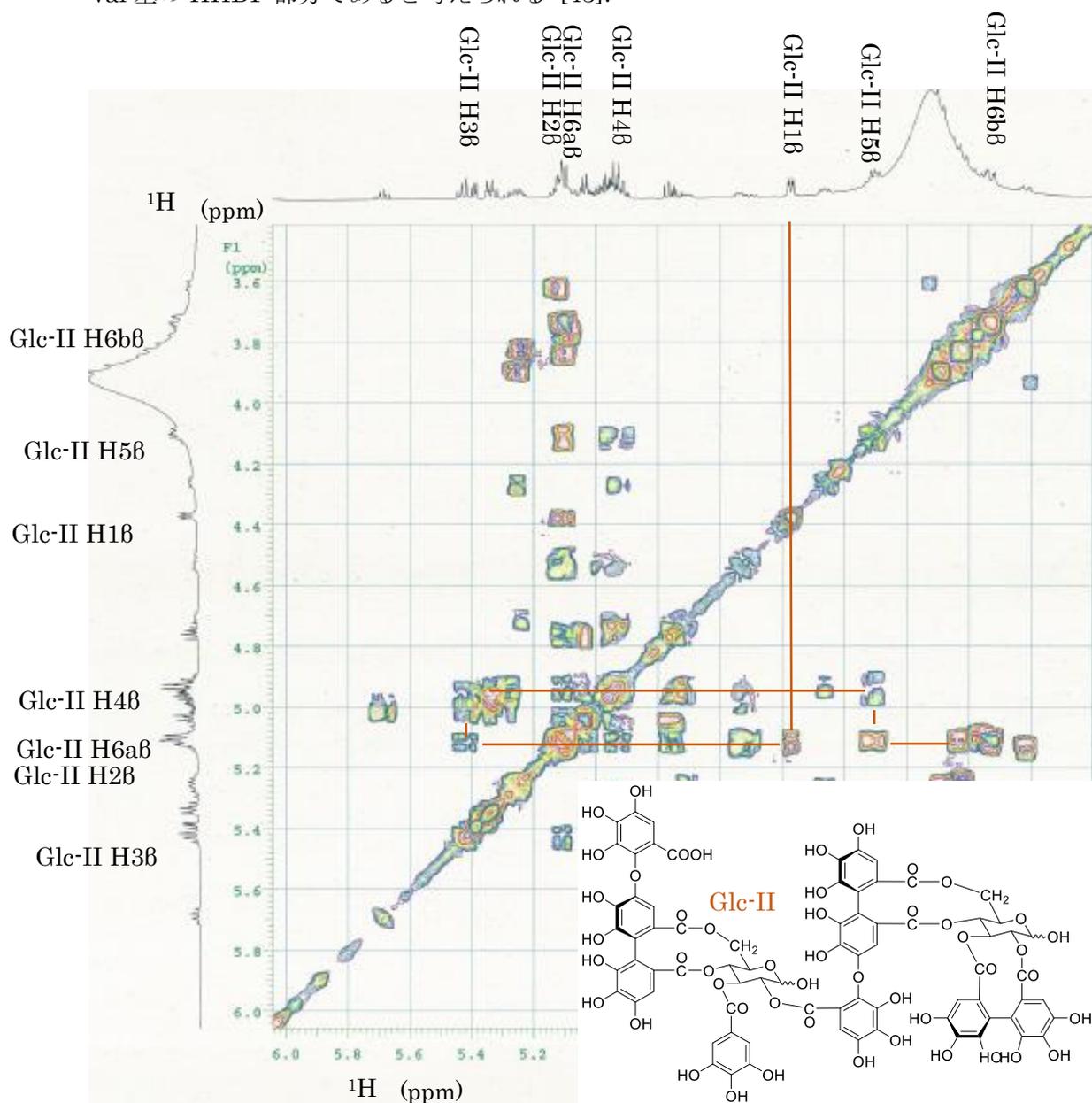


Figure 48.2. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **4** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)
Brown lines indicate correlated proton signals in the β form glucose-II.

HSQC スペクトル (Figure 49) より, ^1H -NMR スペクトルのシグナルに対応する ^{13}C -NMR のシグナルを確認した.

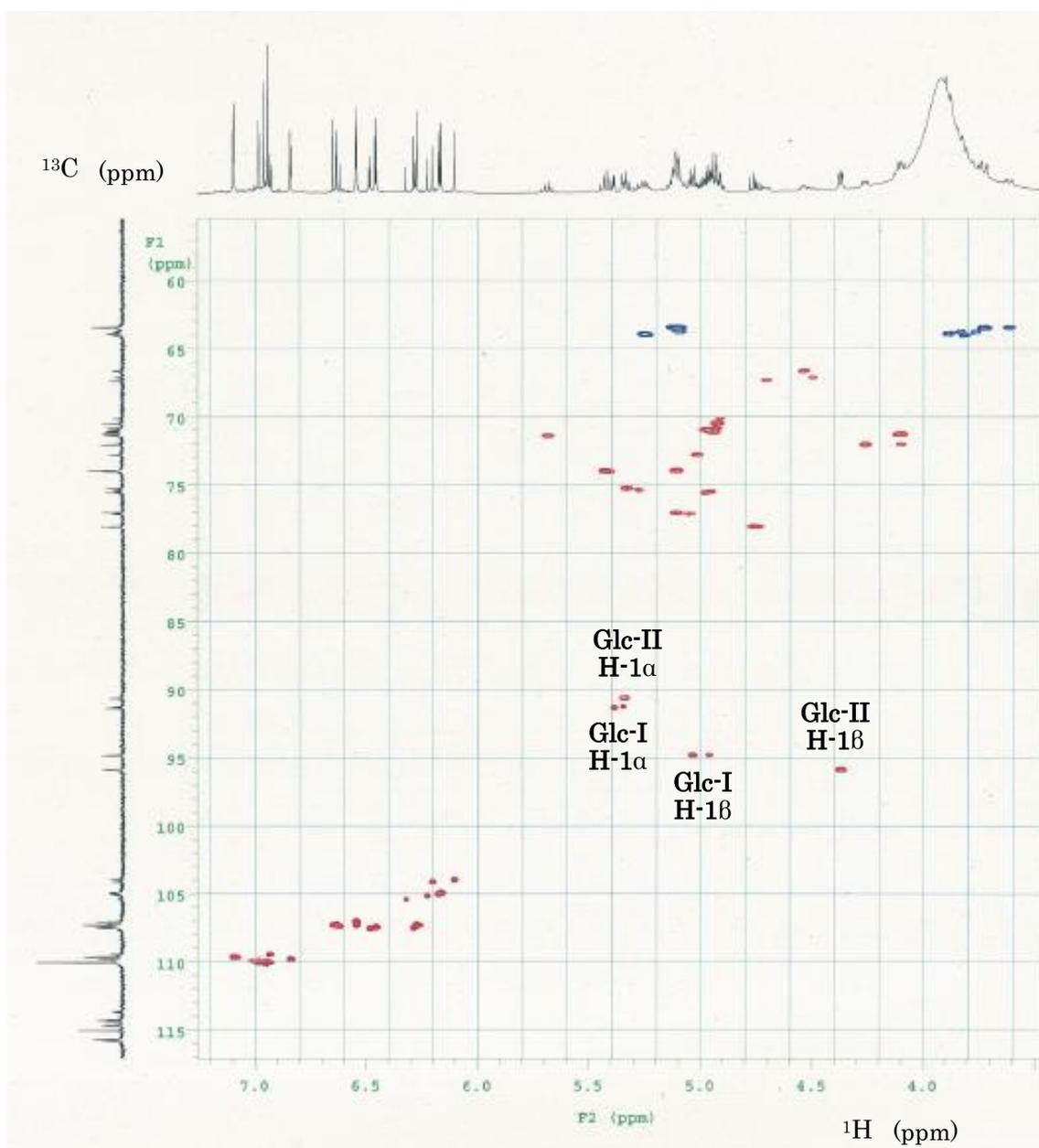


Figure 49. HSQC spectrum of compound 4 in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

化合物 **4** の Glc-II の β -anomer の HMBC スペクトル (**Figure 50**) では, Val-I H-3' (δ 6.20/6.10) – Val-I C-7' (δ 168.7) – Glc-I H-4 (δ 4.93/4.91) と Val-I H-3 (δ 6.65/6.63) – Val-I C-7 (δ 168.7) – Glc-I H-6 (δ 5.25/5.09/ 3.89/3.83) の相関が見られ (**Figure 51.1**: ^{13}C -NMR でのカルボニルカーボンのシグナルが分かりにくいので縦軸 (^1H -NMR) と横軸 (^{13}C -NMR) を逆にしている), Glc-I O-4/O-6 位に Val 基の HHDP 部分が結合していること, Val-I H-6'' (δ 6.84) – Val-I C-7'' (δ 165.3/165.2) – Glc-II H-2 (δ 5.11) の相関も見られ, Glc-II の O-2 位に Val 基の Gal 基部分が結合していることも確認できた.

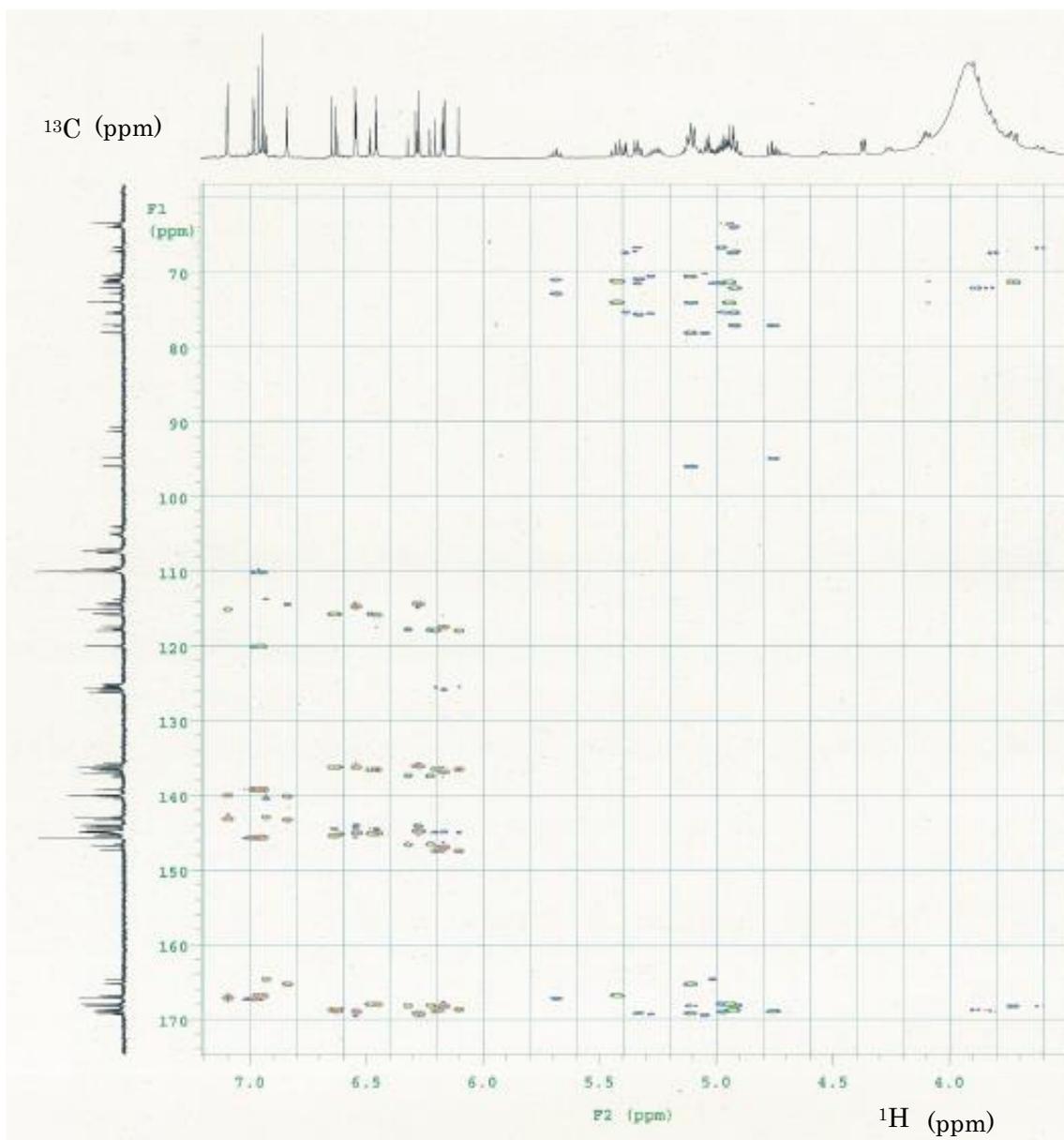


Figure 50. HMBC spectrum of compound **4** in acetone- d_6 - D $_2$ O (9:1)

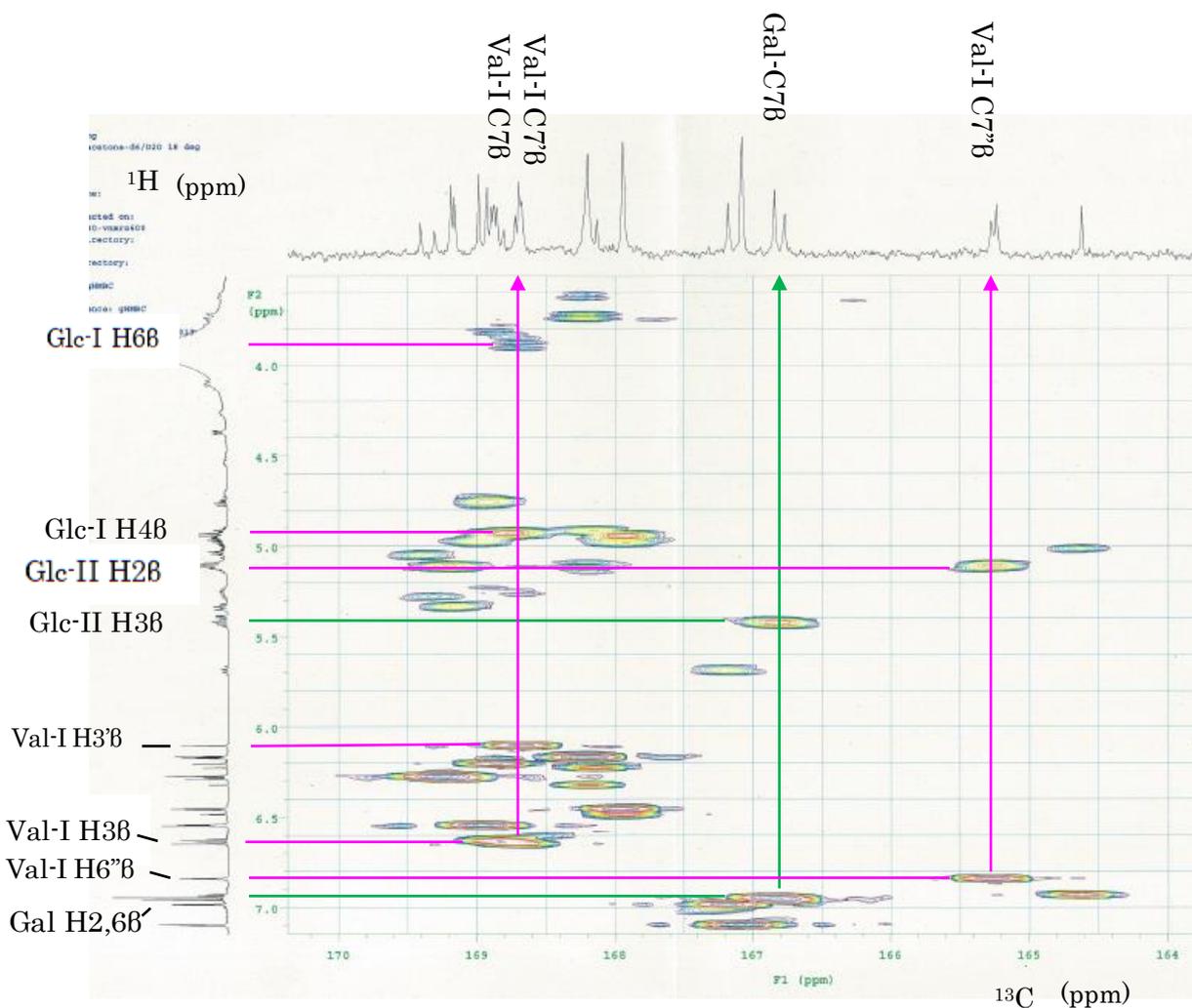


Figure 51.1. Key HMBC correlations of compound **4**

また, Val-II H-3 (δ 6.46/6.45) – Val-II C-7 (δ 167.9) – Glc-II H-4 (δ 4.94) と Val-II H3' (δ 6.17/6.16) – Val-II C-7' (δ 168.2) – Glc-II H-6 (δ 5.10/3.73) の相関が見られ, Val 基が Glc-II O-4/O-6 位に HHDP 部分が結合していることが分かった (**Figure 51.2**) . Gal 基は, Gal H-2/H-6 (δ 6.96/6.94) – Gal C-7 (δ 166.8) – Glc-II H-3 (δ 5.43/5.42) との相関より Glc-II O-3 位に結合していることが分かった. さらに, HHDP H-3 (δ 6.55/6.54) – HHDP C-7 (δ 168.9) – Glc-I H-2 (δ 4.76/4.74) と HHDP H-3' (δ 6.27) – HHDP C-7' (δ 169.4/169.2) – Glc-I H-3 (δ 5.11/5.05) との相関が見られることから, HHDP 基は Glc-I O-2/O-3 位に HHDP 基が結合していることが分かった (**Figure 51.3**).

Table 5. ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectroscopic data for the glucose moiety of compound **4**

position		δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	
Glucose I	1	α	5.39, 5.35, d (3.6)	91.4, 91.3
		β	5.04, 4.96, d (8.4)	94.8
	2	α	4.97, 4.95, dd (3.6, 9.6)	75.6, 75.5
		β	4.76, 4.74, t (8.4)	78.1
	3	α	5.33, 5.28, t (9.6)	75.4, 75.3
		β	5.11, 5.05, dd (8.4, 9.6)	77.1, 77.0
	4	α	4.93, 4.92, t (9.6)	70.8, 70.5
		β	4.93, 4.91, t (9.6)	70.5, 70.2
	5	α	4.70, 4.50, dd (6.6, 9.6)	67.3, 67.1
		β	4.26, 4.12, dd (6.6, 9.6)	72.1
	6a	α	5.24, 5.09, dd (6.6, 12.6)	64.0, 63.8
		β	5.25, 5.09, dd (6.6, 12.6)	63.9, 63.7
	6b	α	3.82, 3.76, d (12.6)	—
		β	3.89, 3.83, d (12.6)	
Glucose II	1	α	5.35, 5.33, d (3.6)	90.6
		β	4.372, 4.367, d (8.4)	95.93, 95.90
	2	α	5.02, dd (3.6, 9.6)	72.8
		β	5.11, dd (8.4, 9.6)	74.0, 73.9
	3	α	5.69, 5.68, t (9.6)	71.4
		β	5.43, 5.42, t (9.6)	74.0, 73.9
	4	α	4.97, t (9.6)	70.9
		β	4.94, t (9.6)	71.1
	5	α	4.54, dd (6.0, 9.6)	66.7, 66.6
		β	4.10, dd (6.6, 9.6)	71.3
	6a	α	5.13, dd (6.0, 12.6)	63.5
		β	5.10, dd (6.6, 12.6)	
	6b	α	3.62, 3.61, d (12.6)	—
		β	3.731, 3.725, d (12.6)	

ECD スペクトルでは、224nm に極大 (正のコットン) が見られる (Figure 52) ことから、HHDP 基および Val 基の配置は *S* 配置である [42]. さらに、化合物 4 の構造を確認するため 4 の部分分解を行い (Figure 53), 9, 10, 11 および 12 の生成を順相および逆相 HPLC により確認した (Figure 54). 沸騰水による熱分解も試みたが、分解反応が進みすぎてしまい、生成物をうまく確認できず、一方で 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) による分解反応では分解が進行しなかった.

以上より barrington D3 と命名した化合物 4 は Figure 45 に示したアノマー混合物の構造であると決定した.

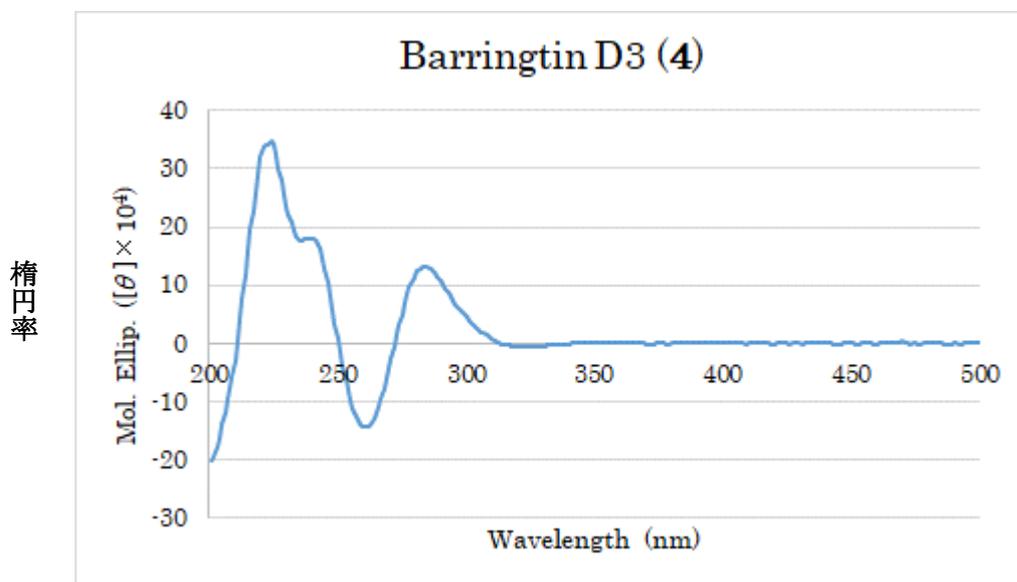


Figure 52. ECD spectrum of compound 4

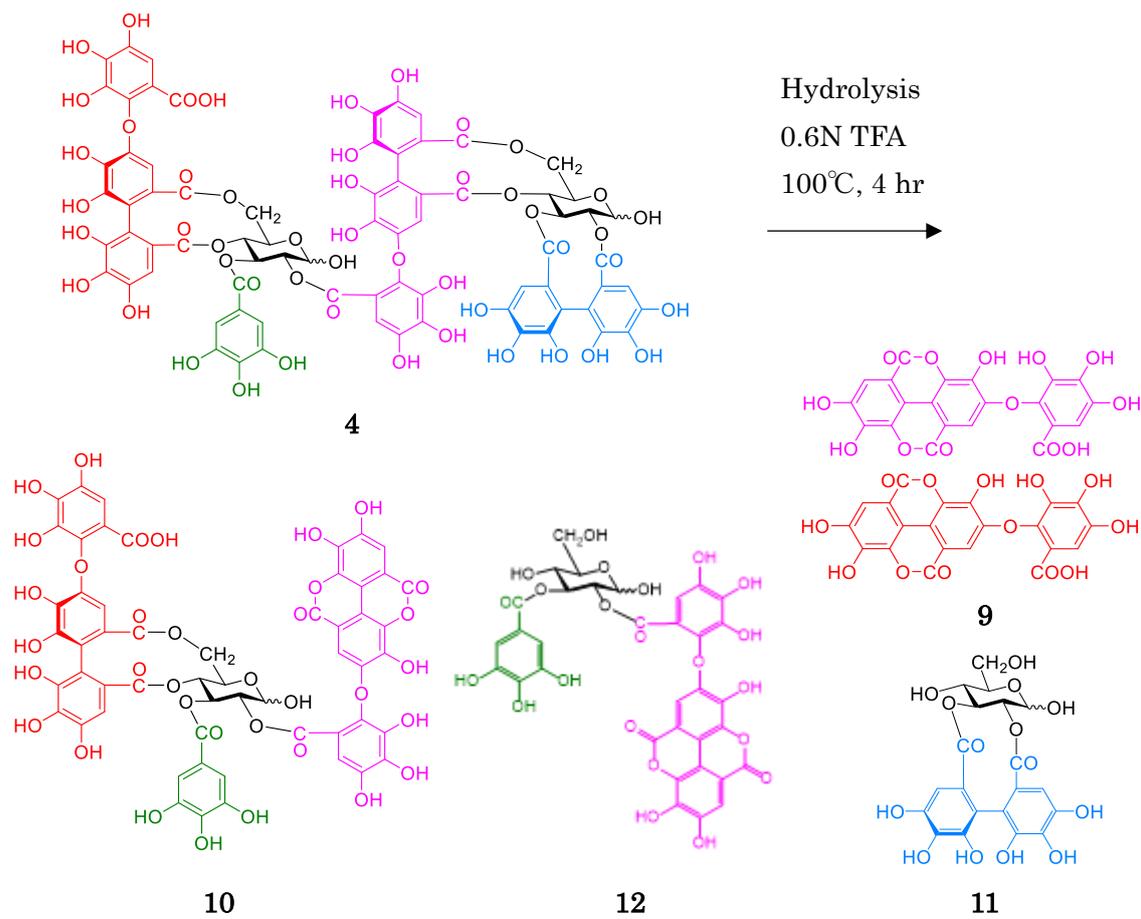


Figure 53. Partial hydrolysis of compound **4**

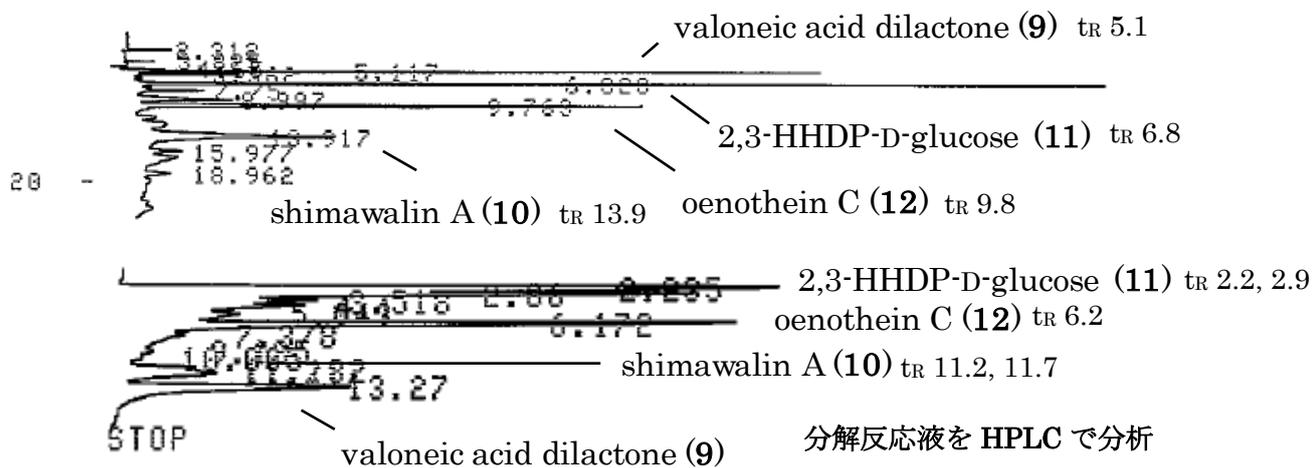


Figure 54. HPLC chart of partial hydrolysis reaction solution with compound **4**

NP-HPLC Column: YMC-Pack SIL A-003

mobile phase: *n*-hexane-MeOH-THF-HCOOH (55:33:11:1) + oxalic acid 450 mg/L

RP-HPLC Column: YMC-Pack ODS-AA-302

mobile phase: 10 mM H₃PO₄-10 mM KH₂PO₄-CH₃CN (45:45:10)

1. 7 Barricyclin D1 (5) の構造決定

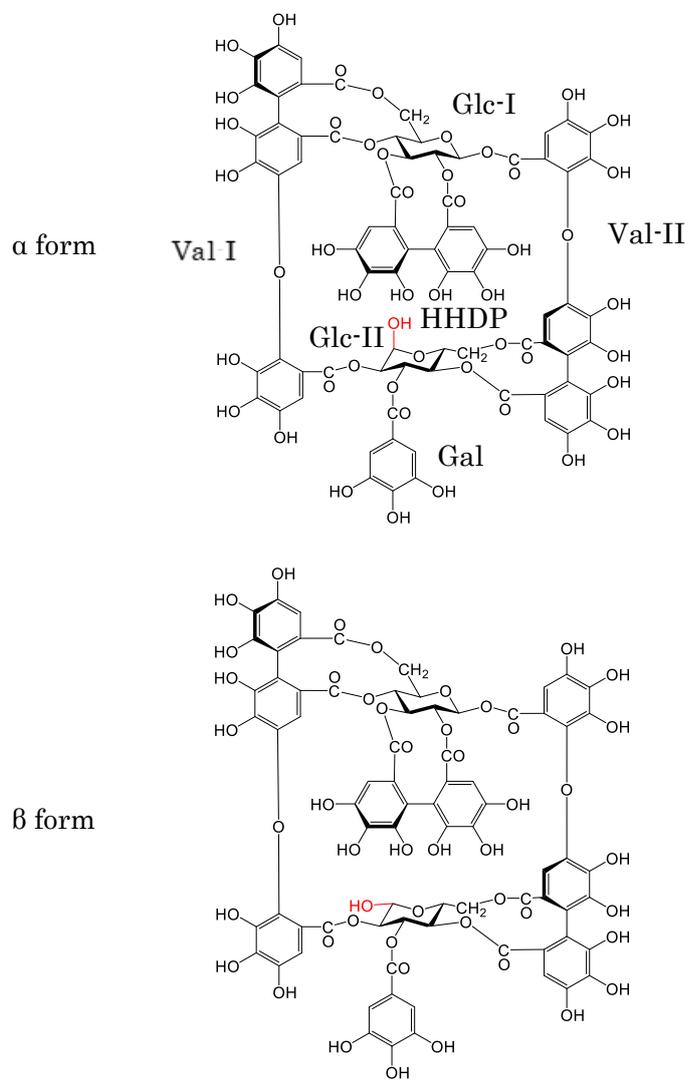


Figure 55. Structure of compound 5

^{13}C -NMR スペクトル (**Figure 57**) では化合物 **5** が dimer であることを示した (**Table 6**). 脂肪族プロトン領域では, カップリング定数および ^1H - ^1H COSY スペクトル (**Figure 58**) 上の各クロスピークから, それらは $^4\text{C}_1$ 配置 conformation を有する 2 つのグルコピラノースを示すことが分かった [41]. また, プロトンケミカルシフト (**Table 6**) より, Glc-II H-1 のシグナルが高磁場 (δ 5.33) に現れていることからアシル化されていないこと, 他の Glc のプロトン残基はアシル化されていること明らかである. 芳香族プロトン領域では Gal 基のシグナル (δ 7.06) 以外に, 計 8H 分のシグナル (δ 7.25, 7.12, 6.83, 6.75, 6.50, 6.44, 6.34, 6.18) が見られ, Val 基 2 個と HHDP 基 1 個が存在すると考えられた. ^1H -NMR における Glc 部分の各シグナルは COSY スペクトル (**Figure 58**) により帰属することができた. 2 つの Glc の 6 位のプロトンのケミカルシフトが離れている ($\Delta\delta$ 0.8-1.2) ことから, O-4/O-6 には HHDP 基あるいは Val 基の HHDP 部分が結合し [43], 残りの HHDP 基あるいは Val 基の HHDP 部分は Glc-I O-2/O-3 位に結合していると推察できた.

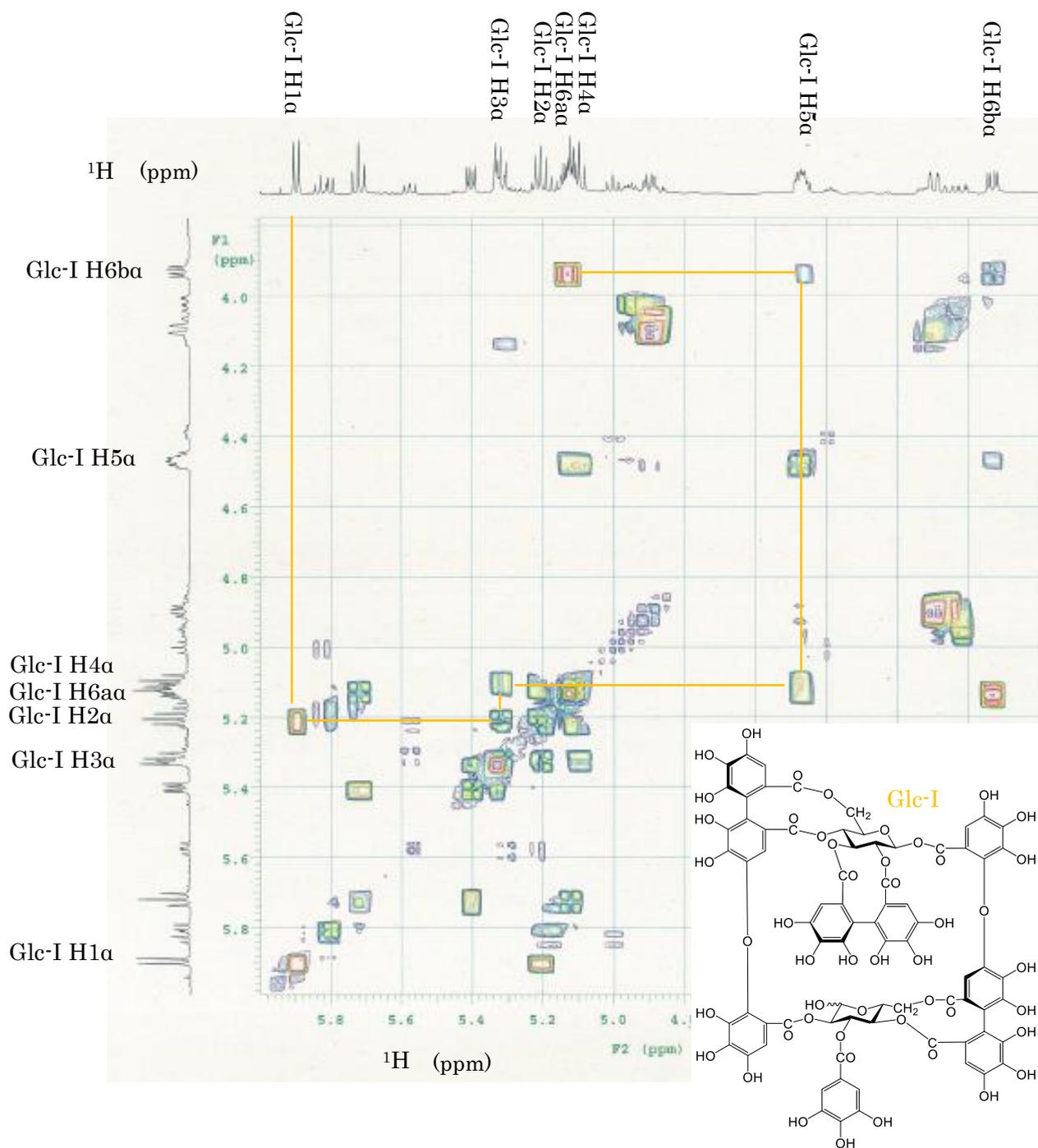


Figure 58.1 ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **5** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)
 Yellow lines indicate correlated proton signals in the α form of glucose-I.

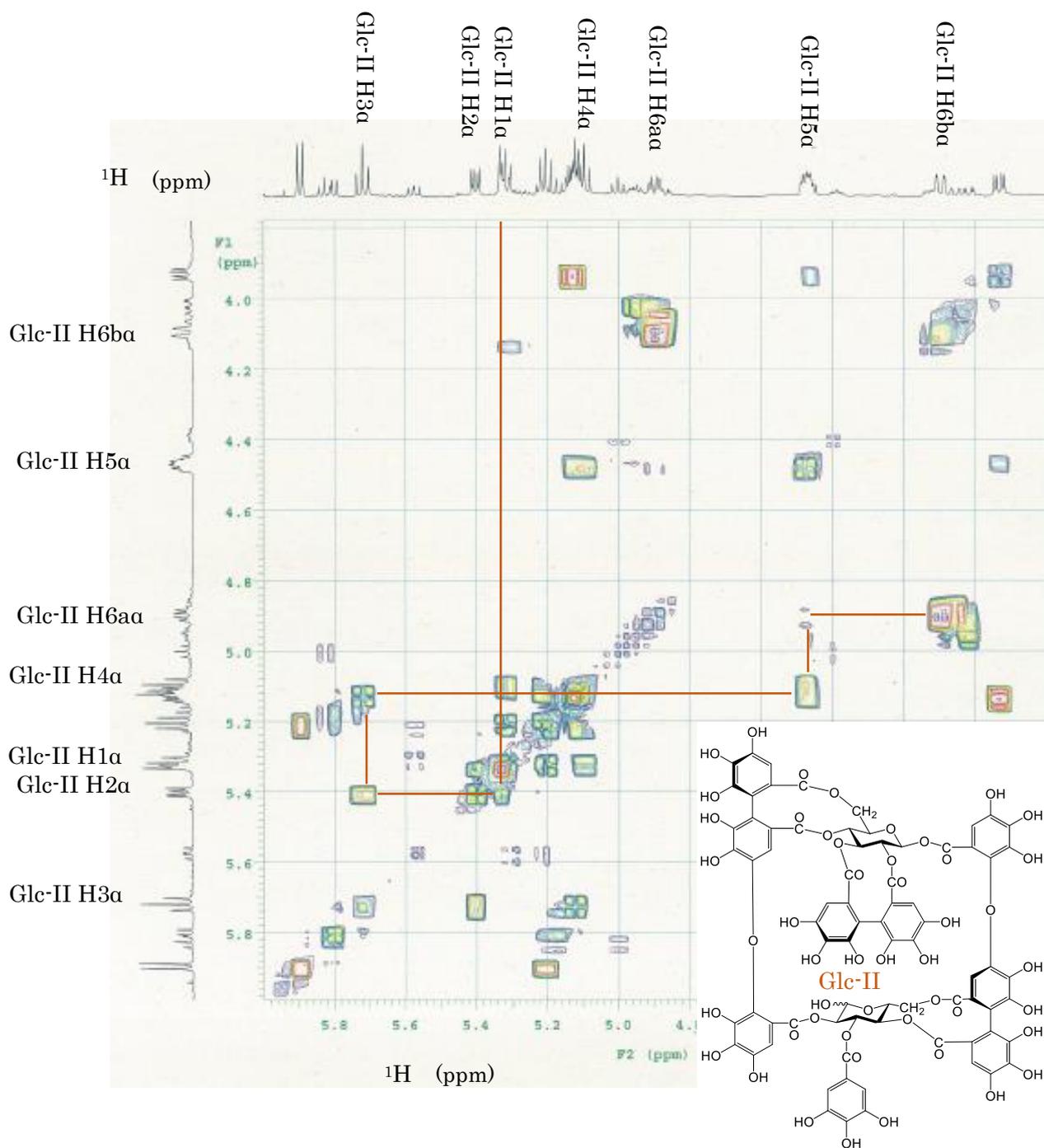


Figure 58.2 ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **5** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)
Brown lines indicate correlated proton signals in the α form of glucose-II.

HSQC スペクトル (Figure 59) より, ^1H -NMR スペクトルのシグナルに対応する ^{13}C -NMR のシグナルを確認した.

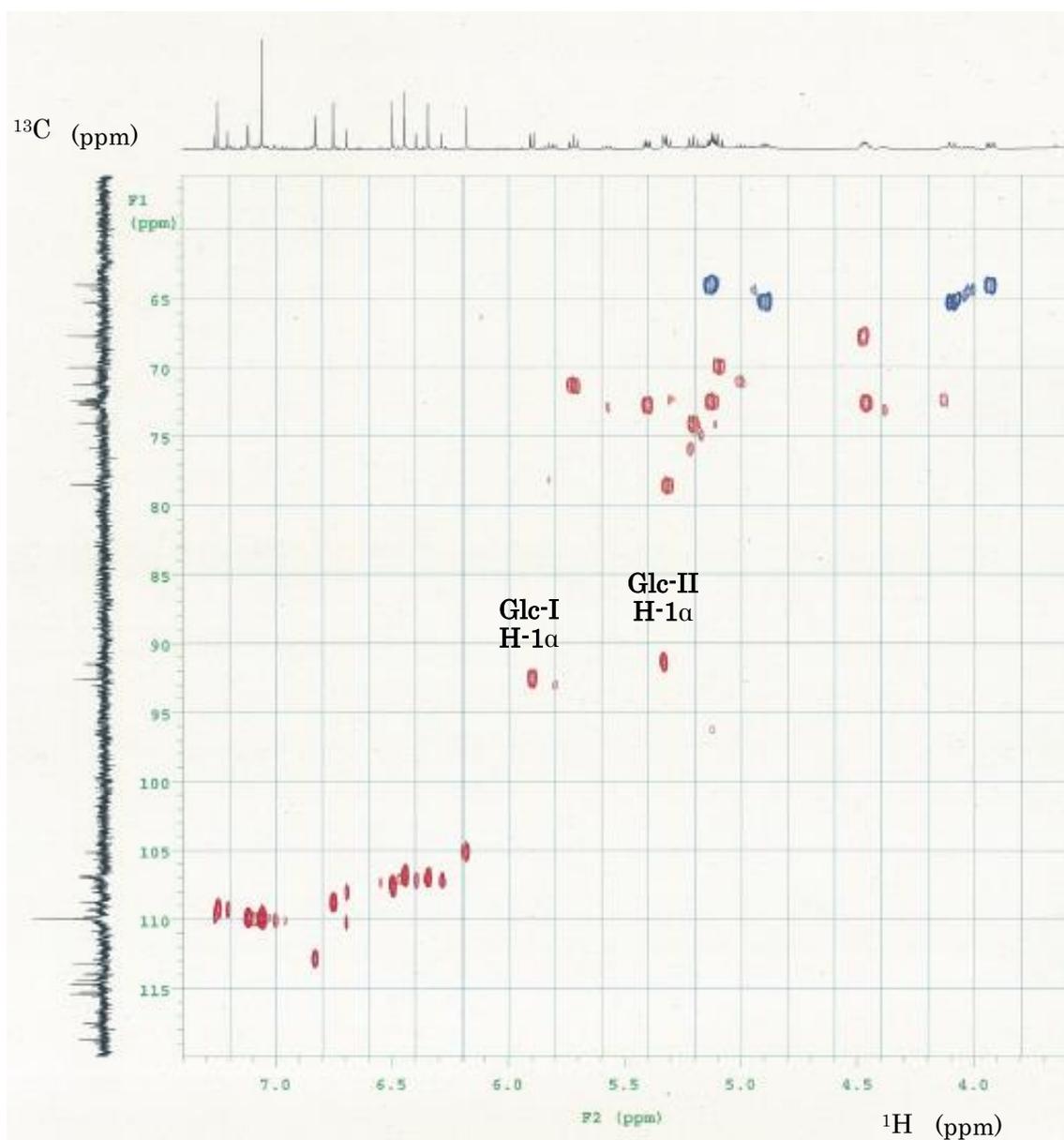


Figure 59. HSQC spectrum of compound **5** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

化合物 **5** の Glc-II の α -anomer の HMBC スペクトル (**Figure 60**) では, Val-I H-3' (δ 6.83) – Val-I C-7' (δ 166.8) – Glc-I H-4 (δ 5.10), Val-I H-3 (δ 6.75) – Val-I C-7 (δ 168.8) – Glc-I H-6 (δ 5.13/3.93), Val-II H-3 (δ 6.44) – Val-II C-7 (δ 168.4) – Glc-II H-4 (δ 5.12) と Val-II H-3' (δ 6.18) – Val-II C-7 (δ 168.7) – Glc-II H-6 (δ 4.90/4.10) の相関が見られ, さらに, Val-I H-6'' (δ 7.12) – Val-I C-7'' (δ 164.4) – Glc-II H-2 (δ 5.40) と Val-II H-6'' (δ 7.25) – Val-I C-7'' (δ 162.1) – Glc-I H-1 (δ 5.89) の相関も見られ, Glc-II の O-2 位と Glc-I の O-1 位に Val 基の Gal 基部分が結合していることも確認できた. Gal 基は Gal H-2/H-6 (δ 7.06) – Gal C-7 (δ 166.8) – Glc-II H-3 (δ 5.72) の相関が見られることから Glc-II O-3 位に結合していることが分かった. HHDP 基は, HHDP H-3 (δ 6.50) – HHDP C-7 (δ 169.0) – Glc-I H-2 (δ 5.20) および HHDP H-3' (δ 6.34) – HHDP C-7' (δ 169.7) – Glc-I H-3 (δ 5.32) の相関が見られることから, Glc-I O-2/O-3 位に結合していることが分かった (**Figure 61**).

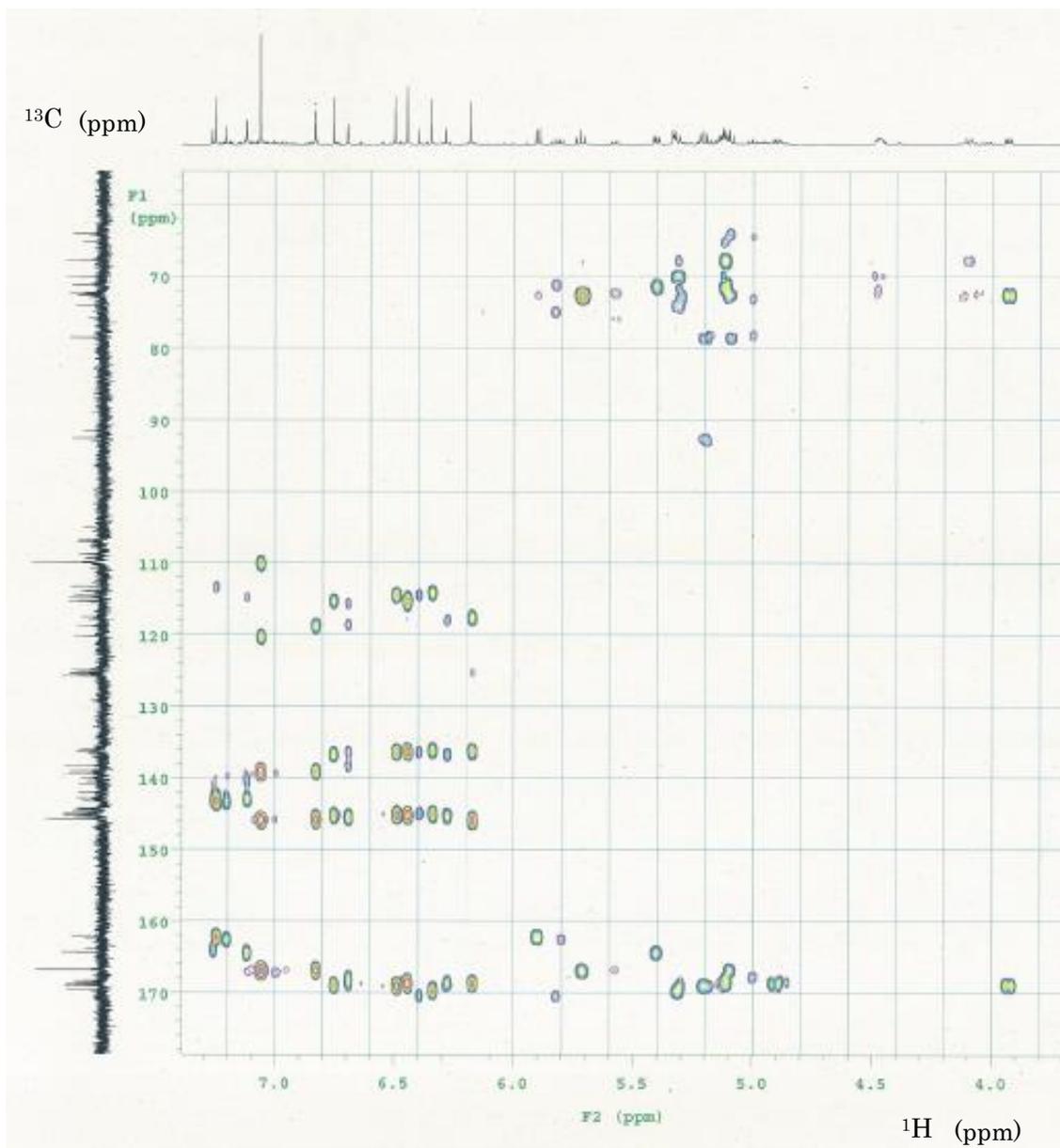


Figure 60. HMBC spectrum of compound **5** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

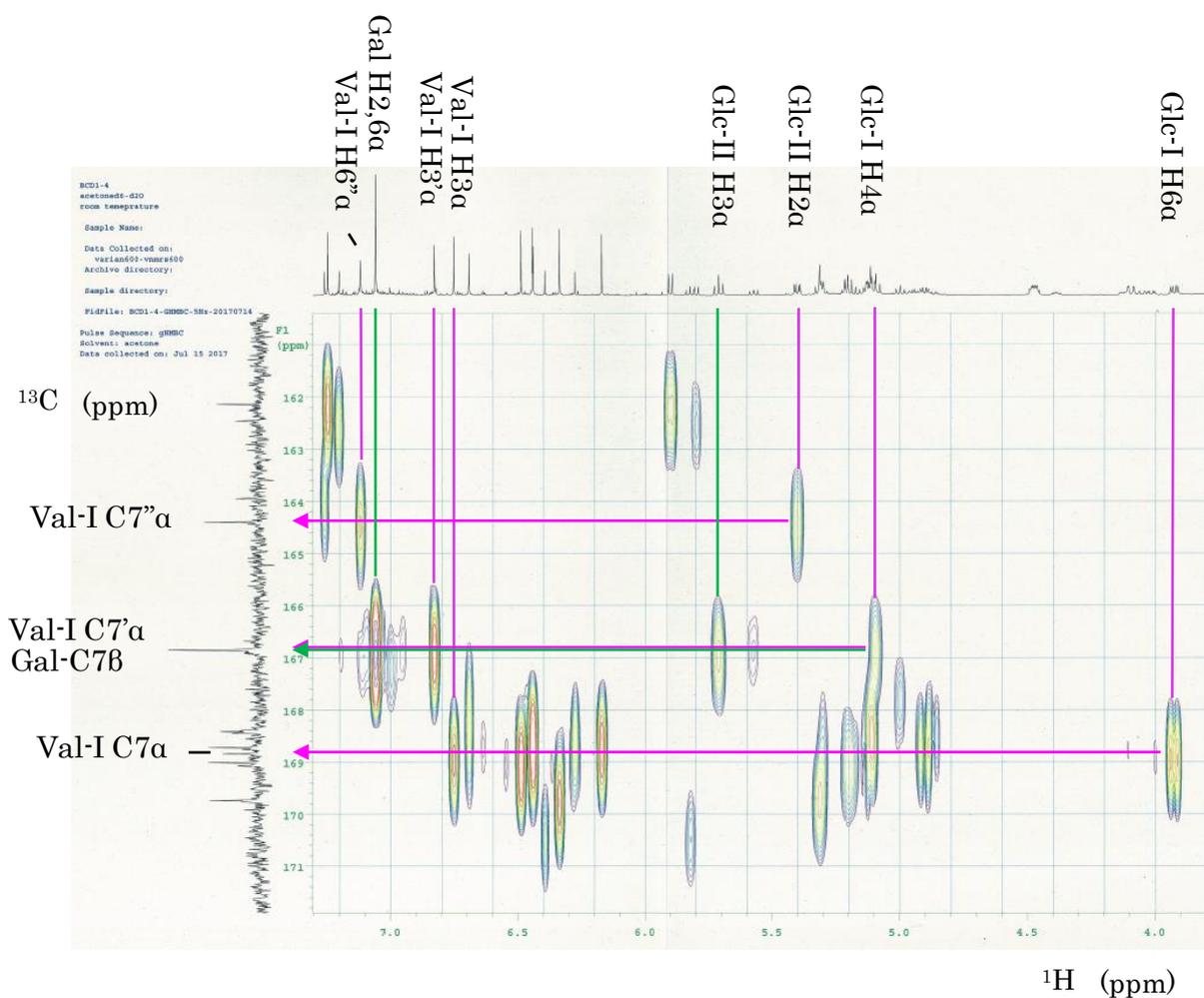


Figure 61.1 Key HMBC correlations of compound **5**

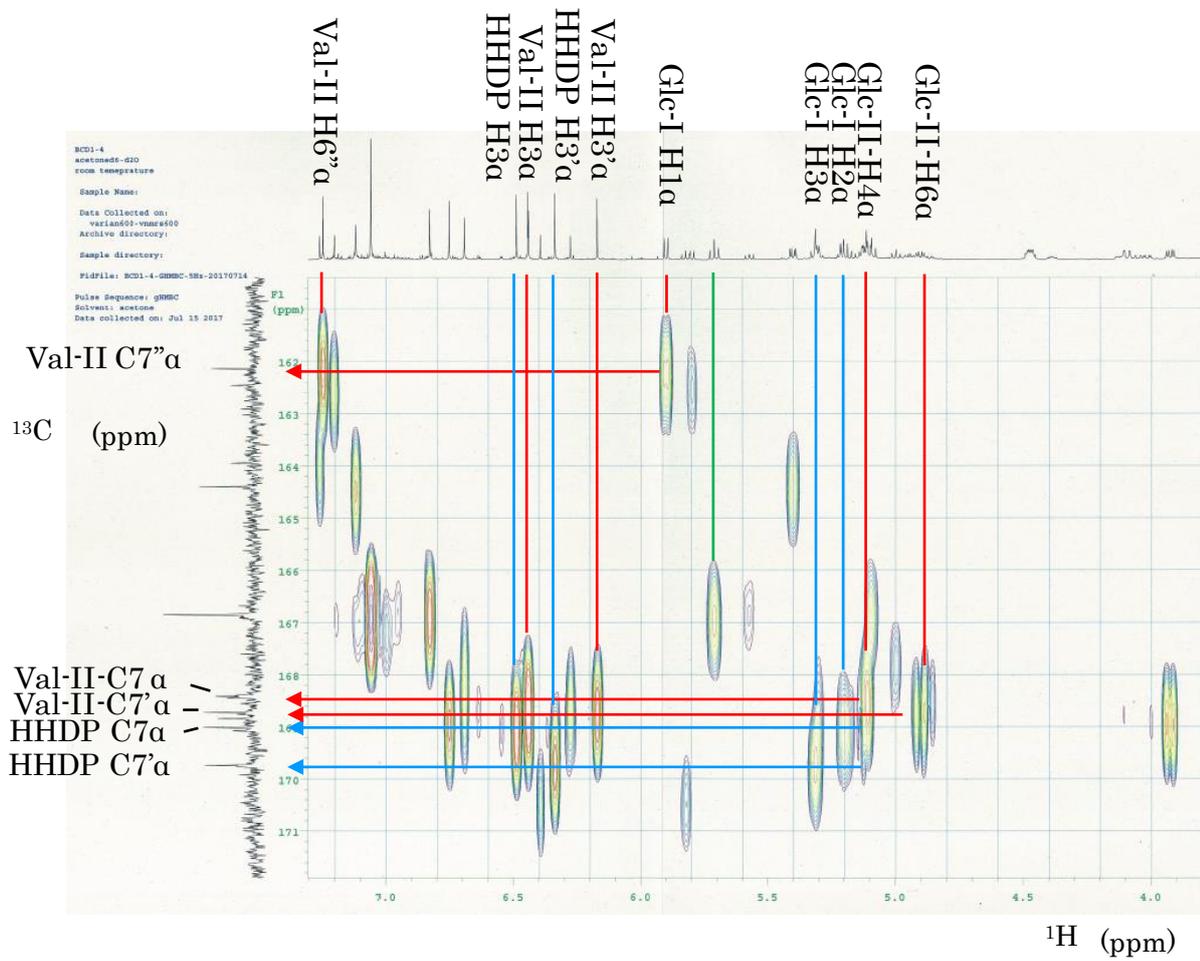


Figure 61.2 Key HMBC correlations of compound **5**

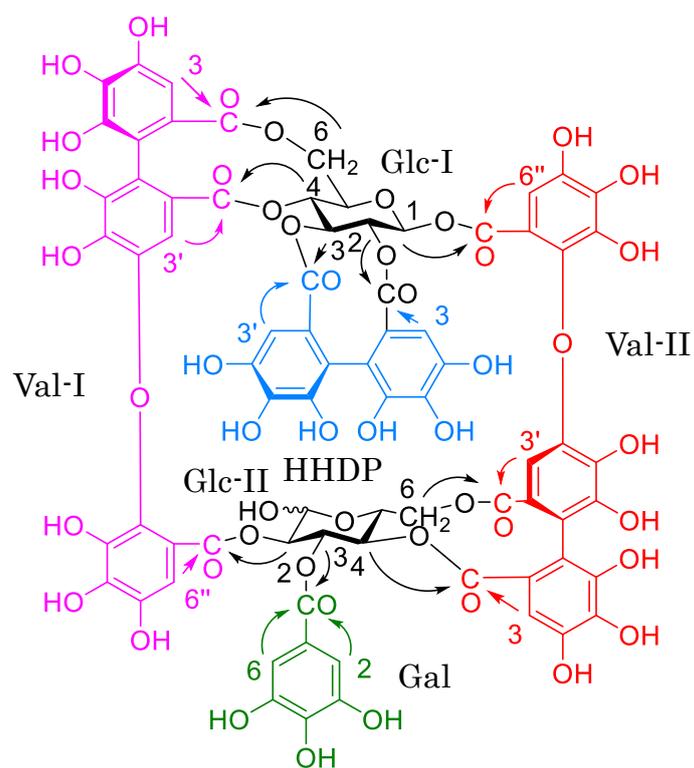


Figure 61.3 Key HMBC correlations of compound 5

Table 6. ^1H -NMR and ^{13}C -NMR spectroscopic data for the glucose moiety of compound **5**

position		δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	
Glucose I	1	α	5.89, d (9.0)	92.6
		β	5.80, d (9.0)	93.1
	2	α	5.20, dd (9.0, 9.6)	74.1
		β	5.17, t (9.0)	74.9
	3	α	5.32, t (9.6)	78.5
		β	5.83, dd (9.0, 9.6)	78.2
	4	α	5.10, t (9.6)	70.0
		β	5.00, t (9.6)	71.1
	5	α	4.46, ddd (4.8, 7.8, 9.6)	72.6
		β	4.39, ddd (3.6, 7.2, 9.6)	73.1
	6a	α	5.13, dd (7.8, 12.6)	64.1
		β	4.95, dd (7.2, 12.6)	64.4
	6b	α	3.93, dd (4.8, 12.6)	—
		β	4.02, dd (3.6, 12.6)	
Glucose II	1	α	5.33, d (3.6)	91.5
		β	5.12, d (7.8)	96.2
	2	α	5.40, dd (3.6, 9.6)	72.7
		β	5.22, t (7.8)	75.8
	3	α	5.72, t (9.6)	71.2
		β	5.57, dd (7.8, 9.6)	72.9
	4	α	5.12, t (9.6)	72.5
		β	5.31, t (9.6)	72.3
	5	α	4.48, ddd (1.8, 4.8, 9.6)	67.8
		β	4.13, ddd (1.2, 4.8, 9.6)	72.4
	6a	α	4.90, dd (4.8, 12.6)	65.3
		β	4.87, dd (4.8, 12.6)	64.8
	6b	α	4.10, dd (1.8, 12.6)	—
		β	4.05, dd (1.2, 12.6)	

ECD スペクトルでは, 224nm に極大 (正のコットン) が見られる (Figure 62) ことから, HHDP 基および Val 基の配置は *S* 配置である [42].

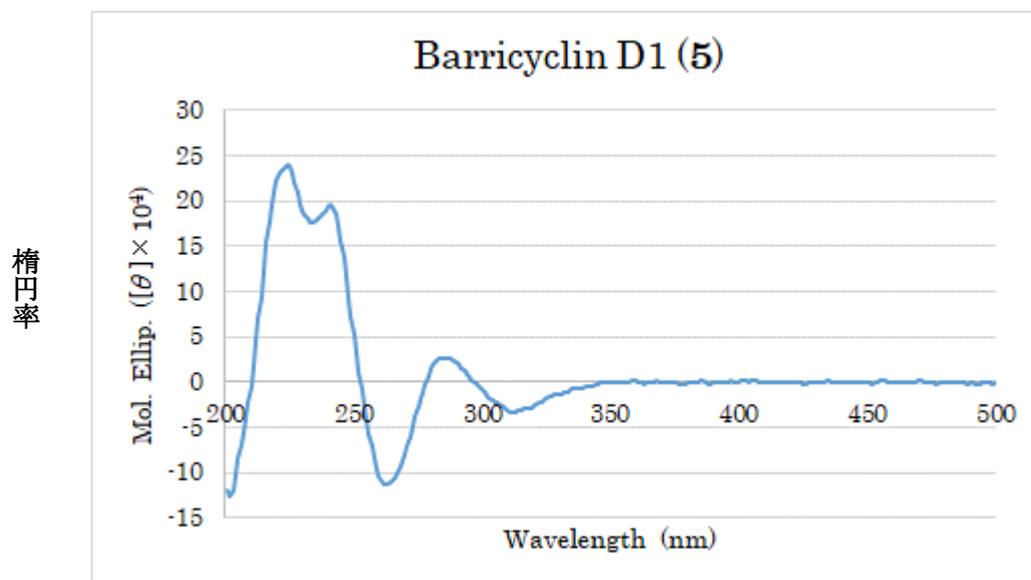


Figure 62. ECD spectrum of compound 5

さらに, barricyclin D1 の構造を確認するため **5** を酸により部分分解 (**Figure 63**) 後, 生成物をカラムクロマトによって分画し, 精製単離した **1**, **2**, **9** および **12** を $^1\text{H-NMR}$ により確認した. また **5** を酵素分解 (**Figure 64**) 後, 生成物をカラムクロマトによって分画し, 精製単離した **4** を $^1\text{H-NMR}$ により確認した.

以上より barricyclin D1 と命名した化合物 **5** は **Figure 55** に示したアノマー構造であると決定した.

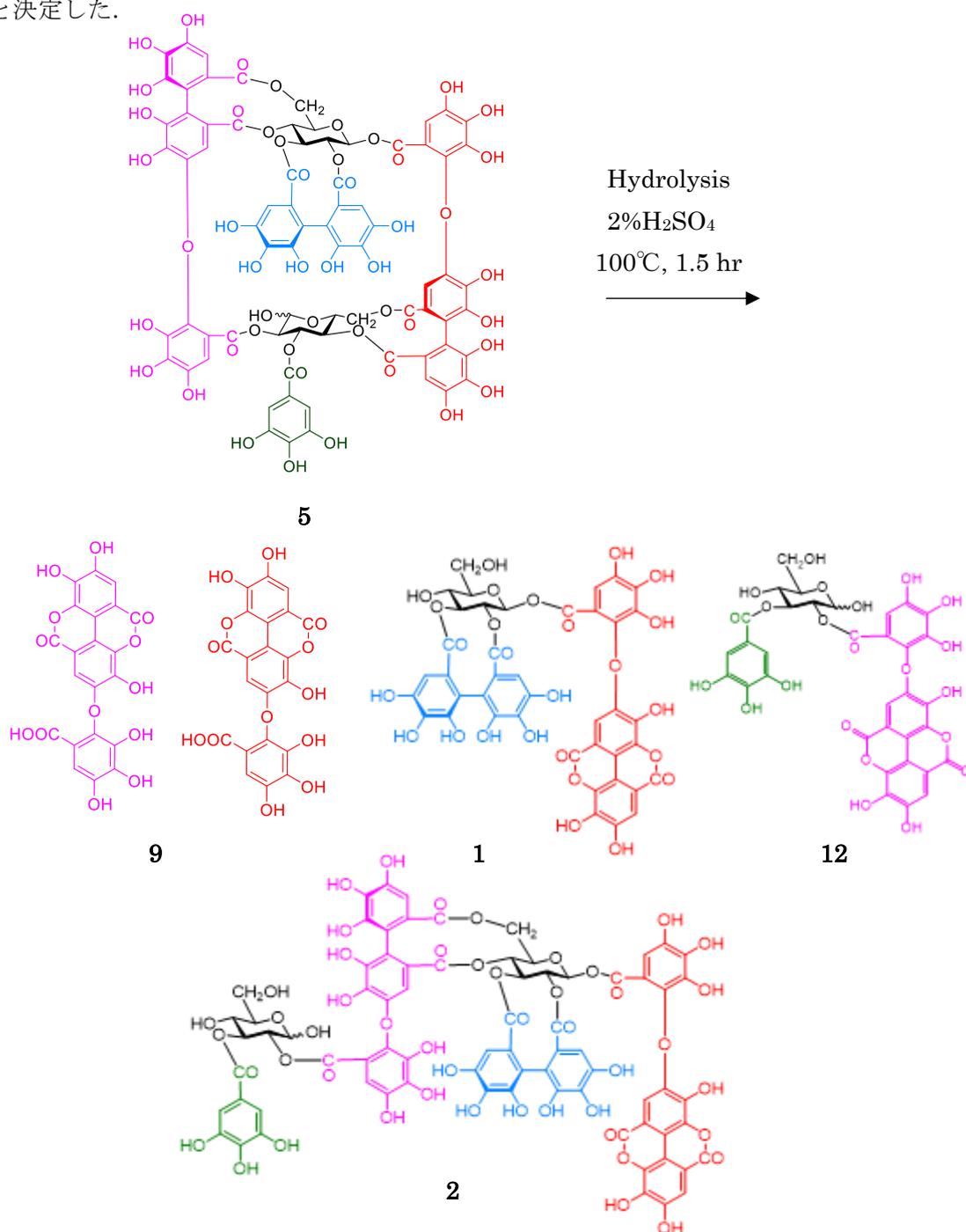


Figure 63. Partial hydrolysis of compound **5** with dilute sulfuric acid

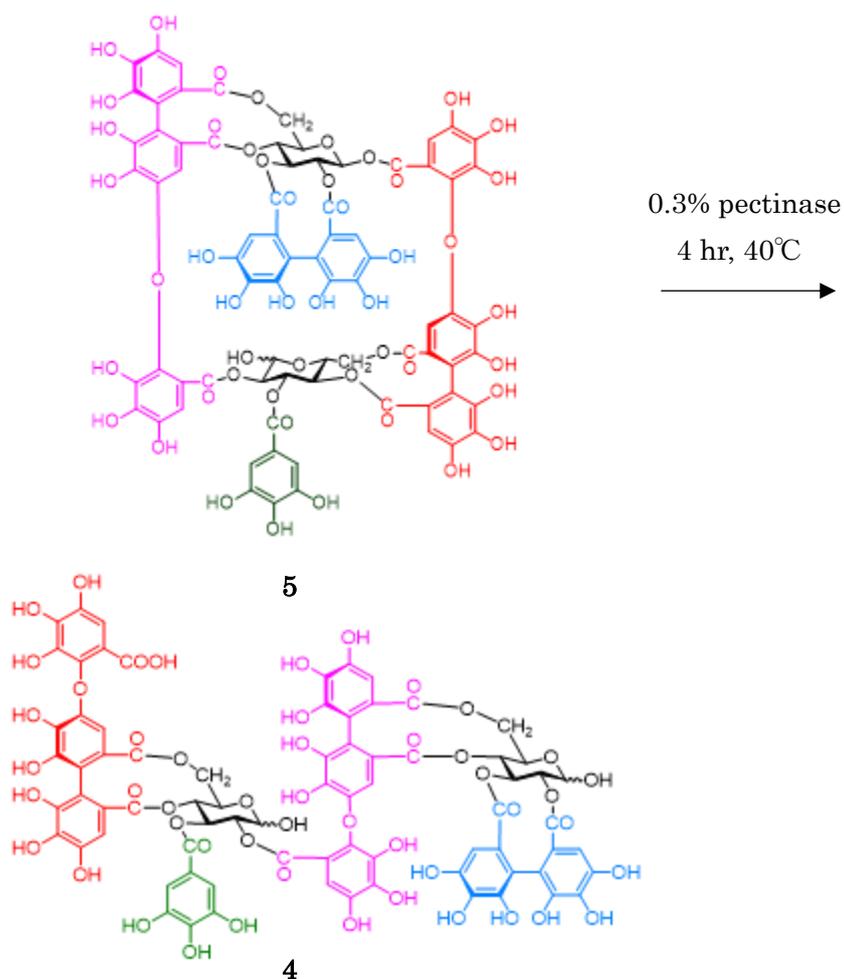


Figure 64. Enzymic hydrolysis of compound **5** with pectinase

化合物 **5** の部分分解条件については、**Table 7** に示す方法で検討した。化合物 **1, 2, 3, 4** では収量が少なかったため、部分分解によって生成した化合物を HPLC 分析によって確認したが、**5** は収量も多いことから、部分分解後の反応液を精製し単離したものを NMR で確認すること考えた。また、部分分解の条件検討として **1, 2, 3, 4** で用いたトリフルオロ酢酸は、後処理工程で残存し NMR の測定結果に影響を及ぼすことを懸念し使用しなかった。条件検討の結果、2% 硫酸を用いて部分分解し、反応液を処理、精製し **2** を得た。

さらに、化合物 **4** を生成する条件についても検討したが、**5** の Glc-I の 1 位のエステル結合が弱いため、酸やアルカリの濃度、温度、時間を変えた部分分解や、0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) の温度や時間を変えた部分分解では、分解反応が **4** で留まるようなマイルドな反応条件は見いだせなかった。そこで、市販されている各種酵素 (**Table 8**) を用いて選択的な部分分解ができないか検討した。その結果、ペクチナーゼ (ヤクルト薬品工業株式会社 ペクチナーゼ HL) およびプロテアーゼ (ナガセケムテックス株式会社 プロテアーゼ XP-415) を用いると反応初期で **4** を生成することが分かったことから、最終的にはペクチナー

ゼを用いて化合物 **5** から **4** への分解反応を試み、40℃ 4h 反応液を精製して **4** を単離し、これを NMR で確認することができた。

Table 7 Partial hydrolysis condition of **5**

	濃度 (%)	温度 (°C)	時間 (h)	生成物 (HPLCによる確認)
H ₂ SO ₄	2	80	18	1, 2, 5, 9, 11, 12
	2	100	1	1, 2, 5, 9, 11, 12
	2	100	2	1, 2, 5, 9, 11, 12
	2	100	4	1, 2, 5, 9, 11, 12
	2	40	1.5	ほぼ変化なし
	10	r.t.	168	ほぼ変化なし
	10	37	14	ほぼ変化なし
	10	50	2.5	ほぼ変化なし
	10	80	2.5	1, 2, 5, 9, 11, 12
NaOH	0.004	100	2	過剰分解
	0.04	r.t.	7	過剰分解
	0.2	r.t.	1	過剰分解
	0.4	r.t.	0.5	過剰分解
Buffer	—	r.t.	2	ほぼ変化なし
	—	r.t.	168	過剰分解
	—	100	1h	過剰分解
	—	100	4h	過剰分解

Table 8 Enzyme used to partial hydrolysis condition of **5**

酵素	サンプル数
アミラーゼ	2
グルコシダーゼ	1
グルタミナーゼ	1
セルラーゼ	7
タンナーゼ	3
ナリンギナーゼ	1
プロテアーゼ	8
ペクチナーゼ	9

1. 8 新規化合物の NMR データまとめ

本研究により単離した新規化合物 **1**, **2**, **3**, **4**, **5** に関して, $^1\text{H-NMR}$ のデータを **Table 9**, $^{13}\text{C-NMR}$ のデータを **Table 10**, HMBC のデータを **Table 11** にまとめた.

Table 9. $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopic data (δ_{H} , J in Hz)
for the glucose protons of compounds **1-5** in acetone- d_6 - D_2O (9:1)

position	1	2 ^a		3 ^b		4 ^c		5 ^d	
	δ_{H} (J in Hz)	α anomer δ_{H} (J in Hz)	β anomer δ_{H} (J in Hz)	α anomer δ_{H} (J in Hz)	β anomer δ_{H} (J in Hz)	α anomer δ_{H} (J in Hz)	β anomer δ_{H} (J in Hz)	α anomer δ_{H} (J in Hz)	β anomer δ_{H} (J in Hz)
Glucose I									
1	5.94, d (8.4)	5.99, d (9.0)	5.99, d (9.0)	5.35, d (3.6)	4.97, d (8.4)	5.35/5.39, d (3.6)	4.96/5.04, d (8.4)	5.89, d (9.0)	5.80, d (9.0)
2	4.83, dd (8.4, 9.6)	5.00, t (9.0)	5.00, t (9.0)	4.94/4.96, dd (3.6, 9.0)	4.74, t (8.4)	4.95/4.97, dd (3.6, 9.6)	4.74/4.76, t (8.4)	5.20, dd (9.0, 9.6)	5.17, t (9.0)
3	5.05, t (9.6)	5.19, dd (9.0, 10.2)	5.21, dd (9.0, 10.2)	5.29/5.30, dd (9.0, 10.2)	5.06/5.08, dd (8.4, 10.2)	5.28/5.33, t (9.6)	5.05/5.11, dd (8.4, 9.6)	5.32, t (9.6)	5.83, dd (9.0, 9.6)
4	3.78, t (9.6)	4.93, t (10.2)	4.93, t (10.2)	4.91, t (10.2)	4.90, t (10.2)	4.92/4.93, t (9.6)	4.91/4.93, t (9.6)	5.10, t (9.6)	5.00, t (9.6)
5	3.59, ddd (2.4, 4.8, 9.6)	4.26, dd (6.0, 10.2)	4.31, dd (6.0, 10.2)	4.51/4.54, dd (6.6, 10.2)	4.11/4.15, dd (6.6, 10.2)	4.50/4.70, dd (6.6, 9.6)	4.12/4.26, dd (6.6, 9.6)	4.46, ddd (4.8, 7.8, 9.6)	4.39, ddd (3.6, 7.2, 9.6)
6	3.77, dd (2.4, 12.0)	5.05, dd (6.0, 13.2)	5.08, dd (6.0, 13.2)	5.13, dd (6.6, 12.6)	5.12, dd (6.6, 12.6)	5.09/5.24, dd (6.6, 12.6)	5.09/5.25, dd (6.6, 12.6)	5.13, dd (7.6, 12.6)	4.95, dd (7.2, 12.6)
	3.66, dd (4.8, 12.0)	3.72, d (13.2)	3.72, d (13.2)	3.78, d (12.6)	3.85, d (12.6)	3.76/3.82, d (12.6)	3.83/3.89, d (12.6)	3.93, dd (4.8, 12.6)	4.02, dd (3.6, 12.6)
Glucose II									
1'		5.20, d (3.0)	4.21, d (7.8)	5.25/5.27, d (3.6)	4.23, d (7.8)	5.33/5.35, d (3.6)	4.367/4.372, d (8.4)	5.33, d (3.6)	5.12, d (7.8)
2'		4.83, dd (3.0, 9.6)	4.91, dd (7.8, 9.6)	4.86/4.87 (3.6, 9.6)	4.930/4.933 (7.8, 9.6)	5.02, dd (3.6, 9.6)	5.11, dd (8.4, 9.6)	5.40, dd (3.6, 9.6)	5.22, t (7.8)
3'		5.63, t (9.6)	5.28, t (9.6)	5.67/5.66, t (9.6)	5.29/5.31, t (9.6)	5.68/5.69, t (9.6)	5.42/5.43, t (9.6)	5.72, t (9.6)	5.57, dd (7.8, 9.6)
4'		3.77, t (9.6)	3.61, t (9.6)	3.79, t (9.6)	3.63, t (9.6)	4.97, t (9.6)	4.94, t (9.6)	5.12, t (9.6)	5.31, t (9.6)
5'		3.90, m	3.57, m	3.95/3.96, ddd (1.8, 5.4, 9.6)	3.58/3.59, ddd (1.8, 5.4, 9.6)	4.54, dd (6.0, 9.6)	4.10, dd (6.6, 9.6)	4.48, ddd (1.8, 4.8, 9.6)	4.13, ddd (1.2, 4.8, 9.6)
6'		3.75, dd (1.8, 12.6)	3.91, dd (1.8, 12.6)	3.80, dd (1.8, 12.0)	3.92/3.93, dd (1.8, 12.0)	5.13, dd (6.0, 12.6)	5.10, dd (6.6, 12.6)	4.90, dd (4.8, 12.6)	4.87, dd (4.8, 12.6)
		3.70, dd (5.4, 12.6)	3.63, dd (7.2, 12.6)	3.71/3.72, dd (5.4, 12.0)	3.65, dd (6.6, 12.0)	3.61/3.62, d (12.6)	3.725/3.731, d (12.6)	4.10, dd (1.8, 12.6)	4.05, dd (1.2, 12.6)

^a: Ratio of anomer sets, [α (Glc II)] and [β (Glc II)] : 2:5

^b: Ratio of anomer sets, [α (Glc I) - α (Glc II)], [β (Glc I) - α (Glc II)], [α (Glc I) - β (Glc II)] and [β (Glc I) - β (Glc II)] : 1:1:3:3

^c: Ratio of anomer sets, [α (Glc I) - α (Glc II)], [β (Glc I) - α (Glc II)], [α (Glc I) - β (Glc II)] and [β (Glc I) - β (Glc II)] : 2:3:5:6

^d: Ratio of anomer sets, [α (Glc II)] and [β (Glc II)] : 3:1

Table 10. ^{13}C -NMR Spectroscopic data (δ_{C})
for the glucose carbons of compounds **1-5** in acetone- d_6 -D₂O (9:1)

	1		2		3		4		5	
	α anomer	β anomer								
Glucose I										
1	91.7	91.62	91.61	91.3	94.8	91.3/91.4	94.8	92.6	93.1	
2	75.1	75.63	75.62	75.5	78.1	75.5/75.6	78.1	74.1	74.9	
3	79.8	76.6	76.5	75.1/75.3	76.9/77.0	75.3/75.4	77.0/77.1	78.5	78.2	
4	67.2	69.6	70.0	70.5/71.0	70.2/70.7	70.5/70.8	70.2/70.5	70.0	71.1	
5	78.5	73.02	73.01	67.2	72.0	67.1/67.3	72.1	72.6	73.1	
6	61.1	63.31	63.32	63.8/64.0	63.8/63.9	63.8/64.0	63.7/63.9	64.1	64.4	
Glucose II										
1	-	90.4	95.0	90.4	95.0	90.6	95.90/95.93	91.5	96.2	
2	-	73.0	73.9	73.0	73.9/74.0	72.8	73.9/74.0	72.7	75.8	
3	-	73.8	77.2	73.8	77.2	71.4	73.9/74.0	71.2	72.9	
4	-	69.0	69.5	69.0/69.1	69.5	70.9	71.1	72.5	72.3	
5	-	72.4	76.7	72.4/72.5	76.7	66.6/66.7	71.3	67.8	72.4	
6	-	61.6	62.0	61.6/61.7	62.0	63.5	63.5	65.3	64.8	

See the table 9 for the ratio of α and β anomer

Table 11. HMBC correlations of major anomer sets of compounds 1 – 5.

		¹ H signal		Correlated carbon signals	
Compound 1	Glc	H-1	δ 5.94	DLV C-7"	
		H-2	δ 4.83	HHDP C-7	
		H-3	δ 5.05	HHDP C-7'	
	HHDP	H-3	δ 6.35	HHDP C-1, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 6.63	HHDP C-1', C-4', C-5', C-7'	
	DLV	H-3	δ 7.58	DLV C-1, C-2, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 7.14	DLV C-1', C-2', C-4', C-5', C-7'	
		H-6"	δ 7.16	DLV C-1", C-4", C-5", C-7"	
	Compound 2	Glc-I	H-1	δ 5.99	DLV C-7"
H-2			δ 5.00	HHDP C-7	
H-3			δ 5.21	HHDP C-7'	
H-4			δ 4.93	Val C-7'	
H-6a			δ 5.08	Val C-7	
H-6b			δ 3.72	Val C-7	
Glc-II		H-2	δ 4.91	Val C-7"	
		H-3	δ 5.28	Gal C-7	
Gal		H-2,6	δ 6.99	Gal C-1, C-2(6), C-3(5), C-4, C-7	
HHDP		H-3	δ 6.32	HHDP C-1, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 6.25	HHDP C-1', C-4', C-5', C-7'	
DLV		H-3	δ 7.60	DLV C-1, C-2, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 7.12	DLV C-1', C-2', C-4', C-5', C-7'	
		H-6"	δ 7.20	DLV C-1", C-4", C-5", C-7"	
Val		H-3	δ 6.63	Val C-1, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 6.02	Val C-1', C-2', C-4', C-5', C-7'	
		H-6"	δ 6.86	Val C-1", C-4", C-5", C-7"	
Compound 3		Glc-I	H-2	δ 4.74	HHDP C-7
			H-3	δ 5.06/5.08	HHDP C-7'
			H-4	δ 4.90	Val C-7'
			H-6a	δ 5.12	Val C-7
	H-6b		δ 3.85	Val C-7	
	Glc-II	H-2	δ 4.930/4.933	DLV C-7"	
		H-3	δ 5.291/5.305	Gal C-7	
	Gal	H-2,6	δ 7.01/7.02	Gal C-1, C-2,6, C-3,5, C-4, C-7	

	HHDP	H-3	δ 6.529/6.530	HHDP C-1, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 6.25/6.27	HHDP C-1', C-4', C-5', C-7'	
	Val	H-3	δ 6.62/6.63	Val C-1, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 6.05/6.14	Val C-1', C-2', C-4', C-5', C-7'	
		H-6''	δ 6.882/6.883	Val C-1'', C-4'', C-5'', C-7''	
Compound 4	Glc-I	H-2	δ 4.74/4.76	HHDP C-7	
		H-3	δ 5.05/5.11	HHDP C-7'	
		H-4	δ 4.91/4.93	Val-I C-7'	
		H-6a	δ 5.09/5.25	Val-I C-7	
		H-6b	δ 3.83/3.89	Val-I C-7	
	Glc-II	H-2	δ 5.11	Val-I C-7''	
		H-3	δ 5.42/5.43	Gal C-7	
		H-4	δ 4.94	Val-II C-7	
		H-6a	δ 5.10	Val-II C-7'	
		H-6b	δ 3.725/3.731	Val-II C-7'	
	Gal	H-2,6	δ 6.94/6.96	Gal C-1, C-2(6), C-3(5), C-4, C-7	
	HHDP	H-3	δ 6.54/6.55	HHDP C-1, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 6.270/6.272	HHDP C-1', C-4', C-5', C-7'	
	Val-I	H-3	δ 6.63/6.65	Val-I C-1, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 6.10/6.20	Val-I C-1', C-2', C-4', C-5', C-7'	
		H-6''	δ 6.838/6.842	Val-I C-1'', C-4'', C-5'', C-7''	
	Val-II	H-3	δ 6.45/6.46	Val-II C-1, C-4, C-5, C-7	
		H-3'	δ 6.16/6.17	Val-II C-1', C-2', C-4', C-5', C-7'	
		H-6''	δ 7.10	Val-II C-1'', C-4'', C-5'', C-7''	
	Compound 5	Glc-I	H-1	δ 5.89	Val-II C-7''
			H-2	δ 5.20	HHDP C-7
			H-3	δ 5.32	HHDP C-7'
			H-4	δ 5.10	Val-I C-7'
			H-6a	δ 5.13	Val-I C-7
			H-6b	δ 3.93	Val-I C-7
Glc-II		H-2	δ 5.40	Val-I C-7''	
		H-3	δ 5.72	Gal C-7	
		H-4	δ 5.12	Val-II C-7	
		H-6a	δ 4.90	Val-II C-7'	
		H-6b	δ 4.10	Val-II C-7'	
Gal		H-2,6	δ 7.06	Gal C-1, C-2(6), C-3(5), C-4, C-7	

HHDP	H-3	δ 6.50	HHDP C-1, C-4, C-5, C-7
	H-3'	δ 6.34	HHDP C-1', C-4', C-5', C-7'
Val-I	H-3	δ 6.75	Val-I C-1, C-4, C-5, C-7
	H-3'	δ 6.83	Val-I C-1', C-4', C-5', C-7'
	H-6''	δ 7.12	Val-I C-1'', C-4'', C-5'', C-7''
Val-II	H-3	δ 6.44	Val-II C-1, C-4, C-5, C-7
	H-3'	δ 6.18	Val-II C-1', C-2', C-4', C-5', C-7'
	H-6''	δ 7.25	Val-II C-1'', C-4'', C-5'', C-7''

第2章 実験の部

2. 1 使用機器

旋光度は JASCO DIP-1000 型旋光光度計, 円二色性は JASCO J-720W 円二色性分光計, UV スペクトルは紫外可視分光光度計 Shimadzu UV-1800 を用いて測定した. $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは Varian INOVA 600AS (600MHz for ^1H and 151MHz for ^{13}C) を用い, 溶媒シグナルを TMS 標準 δH : 2.04 (1H), δC : 29.8 (^{13}C) [acetone- d_6], δH : 3.30 (1H), δC : 49.8 (^{13}C) [methanol- d_4] に設定して測定し, ケミカルシフトは δ (ppm) で示した. ESI-MS は amazon X and ETD (Bruker) を用い, 溶媒として ① $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}=50:50$ (v/v) + 4240 Series Accurate-Mass Quadrupole Time-of-Flight (Q-TOF) LC/MS を用いて溶媒として $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}=50:50$ (v/v) + 0.1% formic acid を用い分析を行った.

・順相高速液体クロマトグラフィー (NP-HPLC)

Column: YMC-Pack SIL A-003 (4.6 mm i.d. \times 250 mm; YMC, Kyoto, Japan)

Temperature: Room temperature

Flow rate: 1.5 ml/min

Wavelength: 280 nm

Mobile phase: *n*-hexane: MeOH: THF: HCOOH= 55: 33: 11:1 + oxalic acid 450 mg/L

Pump: Shimadzu LC-6A, JASCO PU-980

Detector: Shimadzu SPD-6A

・逆相高速液体クロマトグラフィー (RP-HPLC)

Column: YMC-Pack ODS-AA-302 column (4.6 mm i.d. \times 150 mm)

Temperature: 40°C

Flow rate: 1.0 ml/min

Wavelength: 280 nm

Mobile phase: 10 mM H_3PO_4 /10 mM KH_2PO_4 / CH_3CN (45:45:10)

Pump: Shimadzu LC-6A

Detector: Shimadzu SPD-6A

2. 2 *B. racemosa* の葉の抽出・分画

2015年4月嘉義大学(台湾)にて採取した *B. racemosa* の乾燥葉 450 g を 70% acetone 7.5 L とともにミキサーで破碎し抽出した。不溶物を濾過し、得られたエキスをエバポレーターで 2 L になるまで溶媒を除去し、これを総エキスとした。総エキスを酢酸エチル 4 L で分液後、*n*-ブタノール 2 L で分液を行うことで、酢酸エチル分画 (12.5 g), *n*-ブタノール分画 (30.1 g), 水分画 (70.8 g) を得た。

n-ブタノールの分画部を Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー (6.5 cm i.d.×60 cm, H₂O → 20% → 40% → 60% → 100%MeOH, 各 5 L) で分画した。40%MeOH 溶出部 11.7 g から 10.0 g を Toyopearl HW-40F カラムクロマトグラフィー (2.2 cm i.d.×86 cm, 70% EtOH) で分画し、さらに fr. 1-24 (694 mg) を Toyopearl HW-40F カラムクロマトグラフィー [2.2 cm i.d.×90 cm, EtOH-H₂O-acetone (70:30:0 → 65:30:5 → 60:30:10 → 55:30:15 → 50:30:20 → 0:30:70)] で分画した。EtOH-H₂O-acetone (50:30:20) 溶出部 32.7 mg を Sep-Pak C18 カートリッジ (5%MeOH → 25%MeOH) で分画し、15-25%MeOH 溶出部より valoneic acid dilactone (**9**) (29.0 mg) を単離した。70%acetone 溶出部 43.4 mg を YMC GEL ODS-A column (1.1 × 90 cm, MeOH 20 → 27.5%) で分画し、27.5%MeOH 溶出部より barrington M1 (**1**) (13.6 mg) を単離した。EtOH-H₂O-acetone (60:30:10) 溶出部での fr. 79-128 1.3 g を YMC GEL ODS-A column (2.2 × 90 cm, 0 → 20% MeOH) で分画し、20% MeOH 溶出部より barricyclin D1 (**5**) (799.0 mg) を単離した。

水分画部を Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー (6.5 cm i.d.×60 cm, H₂O → 20% → 40% → 60% → 100%MeOH, 各 5 L) で分画した。20% MeOH 溶出部 7.0 g から 4.9 g を YMC GEL ODS-A column (2.2 × 90 cm, 0 → 35% MeOH) で分画し、35% MeOH 溶出部より schimawalin A (**10**) (56.8 mg) を単離した。12.5% MeOH 溶出部 264.7 mg を YMC GEL ODS-A column (1.1 × 90 cm, 0 → 22.5% MeOH) で分画し、22.5% MeOH 溶出部 43.4 mg をさらに Pak C18 カートリッジ (0%MeOH → 35%MeOH) で分画し、25-35%MeOH 溶出部より barrington D3 (**4**) (24.3 mg) を単離した。

Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィーでの 40% MeOH 溶出部 29.1 g から 10.0 g を Toyopearl HW-40F カラムクロマトグラフィー (2.2 cm i.d.×86 cm, 70%EtOH) で分画し、fr. 39-60 (219.1 mg) を YMC GEL ODS-A column (2.2 × 90 cm, 0 → 30% MeOH) で分画し、30% MeOH 溶出部より barrington D1 (**2**) (23.6 mg) を単離した。15% MeOH 溶出部をさらに Pak C18 カートリッジ (0%MeOH → 25%MeOH) で分画し、25%MeOH 溶出部より barrington D2 (**3**) (28.2 mg) を単離した。

2. 3 単離化合物のスペクトルデータおよび部分分解反応

Barrington M1 (1)

褐色無晶形粉末

$[\alpha]^{25}_{\text{D}} +13$ (c 0.5, MeOH)

ECD (MeOH) $[\theta]$ (nm): $+9.5 \times 10^4$ (236), -4.1×10^4 (262), $+1.9 \times 10^4$ (282)

HR-ESI-MS found, m/z : 933.0649 [M-H]⁻; calculated for C₄₁H₂₆O₂₆ - H, 933.0640

¹H-NMR: δ 6.35 [s, hexahydroxydiphenoyl (HHDP) H-3], 6.63 (s, HHDP H-3'), 7.14 [s, dilactonized valoneoyl (DLV) H-3'], 7.16 (s, DLV H-6''), 7.58 (s, DLV H-3) (see **Figure 5** for the acyl groups). Glucose (Glc) protons, see **Table 2**.

¹³C-NMR: δ 107.0 (HHDP C-3), 107.2 (HHDP C-3'), 108.2 (DLV C-2'), 109.3 (DLV C-3'), 109.4 (DLV C-2), 109.6 (DLV C-6''), 111.4 (DLV C-3), 113.1 (DLV C-1), 113.3 (DLV C-1''), 114.3 (HHDP C-1'), 114.7 (HHDP C-1), 115.4 (DLV C-1'), 125.7, 126.4 (HHDP C-2, C-2'), 136.0 (HHDP C-5'), 136.2 (HHDP C-5), 136.9 (DLV C-2''), 137.3 (DLV C-6), 137.4 (DLV C-6'), 140.15, 140.22 (DLV C-5, DLV C-3''), 141.2 (DLV C-4''), 141.6 (DLV C-5'), 143.6 (DLV C-5''), 144.8, 145.0 (HHDP C-6, C-6'), 144.8, 145.0 (HHDP C-4, C-4'), 149.1 (DLV C-4), 150.0 (DLV C-4'), 160.4 (DLV C-7), 160.6 (DLV C-7'), 163.1 (DLV C-7''), 168.7 (HHDP C-7), 169.6 (HHDP C-7').

Barrington M1 (1) の部分分解

化合物 (1) 0.5 mg をトリフルオロ酢酸 30 μ L を含む水溶液 0.5 mL 中で 4 時間沸騰水浴中加熱し, HPLC 上での標準品との比較により **9** (NP-HPLC: retention time [t_R] 5.1 min, RP-HPLC: [t_R] 13.2 min) および **11** (NP-HPLC: retention time [t_R] 6.8 min, RP-HPLC: [t_R] 2.1, 2.8 min) の生成を確認した.

Barrington D1 (2)

褐色無晶形粉末

$[\alpha]^{25}_{\text{D}} +21$ (c 0.5, MeOH)

ECD (MeOH) $[\theta]$ (nm): $+1.3 \times 10^5$ (225), $+1.7 \times 10^5$ (243), -9.3×10^4 (265), $+3.1 \times 10^4$ (288), -9.6×10^3 (321)

HR-ESI-MS found, m/z : 1741.1306 [M+Na]⁺; calculated for C₇₅H₅₀O₄₈ + Na, 1741.1364

¹H-NMR: δ 6.16 [s, valoneoyl (Val) H-3'], 6.25 (s, HHDP H-3'), 6.34 (s, HHDP H-3), 6.62 (s, Val H-3), 6.91 (s, Val H-6''), 7.04 [s, galloyl (Gal) H-2, H-6], 7.13 (s, DLV H-3'), 7.20 (s, DLV H-6''), 7.60 (s, DLV H-3) (α -anomer); δ 6.02 (s, Val H-3'), 6.25 (s, HHDP H-3'), 6.32 (s, HHDP H-3), 6.63 (s, Val H-3), 6.86 (s, Val H-6''), 6.99 (s, Gal H-2, H-6), 7.12 (s, DLV H-3'), 7.20 (s, DLV H-6''), 7.60 (s, DLV H-3) (β -anomer). Glc protons, see **Table 3**. The

approximate ratio of 2:5 for α - and β -anomers for Glc-II was shown by the spectrum.

^{13}C -NMR: δ 103.3 (Val C-3'), 107.0 (HHDP C-3), 107.0 (Val C-3), 107.4 (HHDP C-3'), 108.4 (DLV C-2'), 109.0 (DLV C-3'), 109.5, 109.6 (DLV C-2, C-6''), 109.9 (Gal C-2, C-6), 110.2 (Val C-6''), 111.5 (DLV C-3), 112.8 (DLV C-1''), 113.0 (DLV C-1), 113.6 (Val C-1''), 114.2 (HHDP C-1'), 114.8 (HHDP C-1), 115.3 (DLV C-1'), 115.5 (Val C-1), 118.0 (Val C-1'), 120.6 (Gal C-1), 125.1 (Val C-2'), 125.4, 125.5, 125.7 (HHDP C-2, C-2', Val C-2), 136.0 (Val C-5), 136.1 (HHDP C-5'), 136.3 (HHDP C-5), 136.3 (DLV C-2''), 136.4 (Val C-5'), 137.0 (Val C-2''), 137.33, 137.34 (DLV C-6, C-6''), 139.1 (Gal C-4), 140.1, 140.18, 140.22, 140.3 (DLV C-5, C-3'', Val C-3'', C-4''), 141.2 (DLV C-5'), 141.5 (DLV C-4''), 143.1 (Val C-5''), 143.7 (DLV C-5''), 144.1 (HHDP C-6, C-6'), 144.6 (Val C-6), 144.8, (HHDP C-4, C-4'), 145.1 (Val C-6'), 145.5 (Val C-4), 145.7 (Gal C-3, C-5), 147.7 (Val C-4'), 149.2 (DLV C-4), 149.9 (DLV C-4'), 160.3 (DLV C-7), 160.4 (DLV C-7'), 162.4 (DLV C-6''), 164.9 (Val C-7''), 167.3 (Gal C-7), 168.5 (Val C-7), 168.6 (HHDP C-7), 168.9 (HHDP C-7'), 169.1 (Val C-7') (β -anomer). Although most of the ^{13}C signals of the α -anomer overlapped with the corresponding carbon signals of the β -anomer, the following ester carbonyl carbon signals could be discriminated from the β -anomer signals: δ 160.3 (DLV C-7), 160.4 (DLV C-7'), 162.5 (DLV C-6''), 164.7 (Val C-7''), 167.5 (Gal C-7), 168.1 (Val C-7'), 168.4 (Val C-7), 168.6 (HHDP C-7), 168.9 (HHDP C-7').

Barrington D1 (2) の部分分解

化合物 (2) 0.5 mg を 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 mL 中で室温 24 時間静置し, HPLC 上での標準品との比較により 1 (NP-HPLC: retention time [t_R] 11.3 min, RP-HPLC: [t_R] 8.9 min) および 12 (NP-HPLC: retention time [t_R] 9.8 min, RP-HPLC: [t_R] 6.3 min) の生成を確認した。

Barrington D2 (3)

褐色無晶形粉末

[α]_D²⁵ +36 (*c* 1.0, MeOH)

ECD (MeOH) [θ] (nm): +1.6 \times 10⁵ (222), +1.1 \times 10⁵ (241), -8.5 \times 10⁴ (262), +6.4 \times 10⁴ (285), -6.7 \times 10³ (319)

HR-ESI-MS found, *m/z* 1289.1377 [M+Na]⁺; calculated for C₅₄H₄₂O₃₆ + Na, 1289.1348)

^1H -NMR: δ 6.18/6.28 (s, Val H-3'), 6.25/6.27 (s, HHDP H-3'), 6.545/6.546 (s, HHDP H-3), 6.61/6.63 (s, Val H-3), 6.93/6.94 (s, Val H-6''), 7.055/7.060 (s, Gal H-2, H-6) [signals of the anomer sets α (Glc-I) - α (Glc-II) and β (Glc-I) - α (Glc-II)]; δ 6.05/6.14 (s, Val H-3'), 6.25/6.27 (s, HHDP H-3'), 6.529/6.530 (s, HHDP H-3), 6.62/6.63 (s, Val H-3), 6.882/6.883

(s, Val H-6”), 7.01/7.02 (s, Gal H-2, H-6) [signals of anomer sets $\alpha(\text{Glc-I}) - \beta(\text{Glc-II})$ and $\beta(\text{Glc-I}) - \beta(\text{Glc-II})$]. Glc protons, see **Table 4**. The spectrum indicated the approximate ratio of 1:1:3:3 for the anomer sets $\alpha(\text{Glc-I}) - \alpha(\text{Glc-II})$, $\beta(\text{Glc-I}) - \alpha(\text{Glc-II})$, $\alpha(\text{Glc-I}) - \beta(\text{Glc-II})$, and $\beta(\text{Glc-I}) - \beta(\text{Glc-II})$ in the solution.

$^{13}\text{C-NMR}$: δ 103.2/103.4 (Val C-3’), 106.9/106.96/106.99/107.3/107.4/107.5 (HHDP C-3, HHDP C-3’, Val C-3), 109.9 (Gal C-2, C-6), 110.2 (Val C-6”), 113.59/113.63 (Val C-1”), 114.2/114.3 (HHDP C-1’), 114.6/114.7 (HHDP C-1’), 115.50/115.54 (Val C-1), 117.9/118.0 (Val C-1’), 120.5 (Gal C-1), 125.3/125.4 (Val C-2’), 125.5/125.6/125.9/126.1/126.15/126.17 (HHDP C-2, HHDP C-2’, Val C-2), 135.8/135.9 (Val C-5), 135.9/136.00/136.00/136.04 (HHDP C-5’, Val C-2”), 136.15/136.20 (HHDP C-5), 136.28/136.34 (Val C-5’), 139.1 (Gal C-4), 139.9/140.1/140.3/140.4 (Val C-3”, Val C-4”), 143.11/143.14 (Val C-5”), 143.98/143.99/144.1/144.1 (HHDP C-6, HHDP C-6’), 144.61/144.64 (Val C-6), 144.7/144.8 (HHDP C-4’), 144.90/144.94 (HHDP C-4), 145.06/145.11 (Val C-6’), 145.42/145.44 (Val C-4), 145.7 (Gal C-3, C-5), 147.7 (Val C-4’), 164.88/164.93 (Val C-7”), 167.3/167.4 (Gal C-7), 168.7/168.8 (Val C-7), 168.9/169.0 (HHDP C-7), 169.0/169.1 (HHDP C-7’), 169.2/169.3 (Val C-7”) [signals of the anomer sets $\alpha(\text{Glc-I}) - \beta(\text{Glc-II})$ and $\beta(\text{Glc-I}) - \beta(\text{Glc-II})$]. The minor peaks of carbons for the remaining anomer sets were not clearly discernible.

Barrington D2 (3) の部分分解

化合物 (3) 0.5 mg をトリフルオロ酢酸 30 μL を含む水溶液 0.5 mL 中で 4 時間沸騰水浴中加熱し, HPLC 上での標準品との比較により **9** (NP-HPLC: retention time [t_{R}] 5.1 min, RP-HPLC: [t_{R}] 13.3 min), **11** (NP-HPLC: retention time [t_{R}] 6.8 min, RP-HPLC: [t_{R}] 2.2, 2.7 min) および **12** (NP-HPLC: retention time [t_{R}] 9.8 min, RP-HPLC: [t_{R}] 6.2 min) の生成を確認した.

Barrington D3 (4)

褐色無晶形粉末

$[\alpha]_{25\text{D}} +53$ (c 1.0, MeOH)

ECD (MeOH) [θ] (nm): $+3.5 \times 10^5$ (224), $+1.8 \times 10^5$ (240), -1.4×10^5 (261), $+1.3 \times 10^5$ (283), -5.7×10^3 (320)

HR-ESI-MS found, m/z 1759.1358 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (calculated for $\text{C}_{75}\text{H}_{52}\text{O}_{49} + \text{Na}$, 1759.1469)

$^1\text{H-NMR}$: δ 6.172/6.173 (s, Val-I H-3’), 6.23/6.32 (s, Val-II H-3’), 6.27/6.28 (s, HHDP H-3’), 6.48/6.49 (s, Val-II H-3), 6.54 (s, HHDP H-3), 6.62/6.63 (s, Val-I H-3), 6.928/6.934 (s, Val-I H-6”), 6.981/6.983 (s, Gal H-2, H-6), 7.10 (s, Val-II H-6”) [signals of anomer sets $\alpha(\text{Glc-I}) - \alpha(\text{Glc-II})$ and $\beta(\text{Glc-I}) - \alpha(\text{Glc-II})$]; δ 6.10/6.20 (s, Val-I H-3’), 6.16/6.17 (s, Val-II

H-3'), 6.27/6.29 (s, HHDP H-3'), 6.45/6.46 (s, Val-II H-3), 6.54/6.55 (s, HHDP H-3), 6.63/6.65 (s, Val-I H-3), 6.838/6.842 (s, Val-I H-6"), 6.94/6.96 (s, Gal H-2, H-6), 7.10 (s, Val-II H-6") [signals of anomer sets α (Glc-I) – β (Glc-II) and β (Glc-I) – β (Glc-II)]. Glc protons, see **Table 5**. The spectrum showed the ratio of approximately 2:3:5:6 for α (Glc-I) – α (Glc-II), β (Glc-I) – α (Glc-II), α (Glc-I) – β (Glc-II), β (Glc-I) – β (Glc-II).

¹³C-NMR: δ 104.0/104.1 (Val-I C-3'), 104.9/105.0 (Val-II C-3'), 107.0 (HHDP C-3), 107.3 (HHDP C-3'), 107.3 (Val-I C-3), 107.4 (Val-II C-3), 109.6 (Val-II C-6"), 109.8 (Val-I C-6"), 110.0 (Gal C-2, C-6), 114.25/114.32 (HHDP C-1', Val-I C-1"), 114.6/114.7 (HHDP C-1), 115.0 (Val-II C-1"), 115.66/115.73/115.78/115.82 (Val-I C-1, Val-II C-1'), 117.37/117.40 (Val-II C-1'), 117.9 (Val-I C-1'), 120.0 (Gal C-1), 125.1–126.2 (HHDP C-2, HHDP C-2', Val-I C-2, Val-I C-2', Val-II C-2, Val-II C-2'), 135.7/135.8 (Val-I C-2", Val-II C-2"), 136.00/136.04 (HHDP C-5'), 136.1/136.15/136.17/136.18 (HHDP C-5, Val-I C-5), 136.4/136.45/136.48/136.50 (Val-I C-5', Val-II C-5), 136.77/136.81 (Val-II C-5'), 139.1/139.2 (Gal C-4), 139.9/139.95/139.96/140.03 (Val-I C-3", Val-II C-3", Val-II C-4"), 140.15/140.20 (Val-I C-4"), 143.1 (Val-II C-5"), 143.2 (Val-I C-5"), 144.0/144.05/144.08 (HHDP C-6, HHDP C-6'), 144.40/144.42/144.45/144.47 (Val-I C-6, Val-II C-6), 144.76/144.78 (HHDP C-4'), 144.9 (Val-II C-6'), 144.9/145.0 (HHDP C-4, Val-I C-6'), 145.0/145.1 (Val-II C-4), 145.3/145.4 (Val-I C-4), 145.59/145.61 (Gal C-3), 146.8/146.9 (Val-II C-4"), 147.40/147.41 (Val-I C-4"), 165.2/165.3 (Val-I C-7"), 166.75/166.83 (Gal C-7), 167.1 (Val-II C-7"), 167.9 (Val-II C-7), 168.2 (Val-II C-7), 168.7 (Val-I C-7'), 168.7 (Val-I C-7), 168.9 (HHDP C-7), 169.2/169.4 (HHDP C-7') [signals of anomer sets α (Glc-I) – β (Glc-II) and β (Glc-I) – β (Glc-II)]. The minor signals of the remaining two sets of signals were not clearly discernible.

Barrington D3 (4) の部分分解

Barrington D3 (4) 0.5 mg をトリフルオロ酢酸 30 μ L を含む水溶液 0.5 mL 中で 4 時間沸騰水浴中加熱し, HPLC 上での標準品との比較により **9** (NP-HPLC: retention time [t_R] 5.1 min, RP-HPLC: [t_R] 13.3 min), **11** (NP-HPLC: retention time [t_R] 6.8 min, RP-HPLC: [t_R] 2.2, 2.9 min), **12** (NP-HPLC: retention time [t_R] 9.8 min, RP-HPLC: [t_R] 6.2 min) および **10** (NP-HPLC: retention time [t_R] 13.9 min, RP-HPLC: [t_R] 11.2, 11.7 min) の生成を確認した。

Barricyclin D1 (5)

褐色無晶形粉末

[α] ²⁵D -22 (*c* 1.0, MeOH)

ECD (MeOH) [θ] (nm): $+2.4 \times 10^5$ (224), $+2.0 \times 10^5$ (241), -1.1×10^5 (262), $+2.7 \times 10^4$ (284), -3.3×10^4 (311)

HR-ESI-MS found, m/z 1736.1732 [$M+NH_4$]⁺ (calculated for $C_{75}H_{50}O_{48} + NH_4$, 1736.1810)

¹H-NMR δ : 6.18 (s, Val-II H-3'), 6.34 (s, HHDP H-3'), 6.44 (s, Val-II H-3), 6.50 (s, HHDP H-3), 6.75 (s, Val-I H-3), 6.83 (s, Val-I H-3'), 7.06 (s, Gal), 7.12 (s, Val-I H-6''), 7.25 (s, Val-II H-6'') (α -anomer); 6.28 (s, Val-II H-3'), 6.39 (s, HHDP H-3'), 6.44 (s, HHDP H-3), 6.44 (s, Val-II H-3), 6.69 (s, Val-I H-3), 6.69 (s, Val-I H-3'), 7.06 (s, Gal), 7.21 (s, Val-II H-6''), 7.26 (s, Val-I H-6'') (β -anomer). Glc protons, see **Table 6**. The spectrum showed the ratio of approximately 3:1 for α - and β -anomers for Glc-II.

¹³C-NMR δ : 105.1 (Val-II C-3'), 106.9 (Val-II C-3), 107.0 (HHDP C-3'), 107.8 (HHDP C-3), 108.8 (Val-I C-3), 109.3 (Val-II C-6''), 109.9 (Val-I C-6''), 110.0 (Gal C-2, C-6), 112.9 (Val-I C-3'), 113.3 (Val-II C-1''), 114.0 (HHDP C-1'), 114.4 (HHDP C-1'), 114.7 (Val-I C-1''), 115.2, 115.4 (Val-I C-1, Val-II C-1), 117.5 (Val-II C-1'), 118.7 (Val-I C-1'), 120.3 (Gal C-1), 125.0, 125.1, 125.4, 125.5, 125.77, 125.83 (HHDP C-2, C-2', Val-I C-2, C-2', Val-II C-2, C-2'), 136.1, 136.18, 136.20, 136.3 (HHDP C-5, C-5', Val-II C-5, C-5'), 136.6 (Val-I C-5), 138.2, 139.5 (Val-I C-2'', Val-II C-2''), 139.1 (Gal C-4), 139.1 (Val-I C-5'), 140.0 (Val-I C-3''), 140.5 (Val-I C-4''), 140.8 (Val-II C-3''), 142.1 (Val-II C-4''), 142.8 (Val-I C-5''), 143.3 (Val-II C-5''), 144.3, 144.36, 144.38, 144.67, 144.69, 144.71 (HHDP C-6, C-6', Val-I C-6, C-6', Val-II C-6, C-6'), 144.9, 145.2, 145.2, 145.2 (HHDP C-4, C-4', Val-I C-4, Val-II C-4), 145.8 (Val-I C-4'), 145.8 (Gal C-3, C-5, Val-II C-4'), 162.1 (Val-II C-7''), 164.4 (Val-I C-7''), 166.8 (Gal C-7), 166.8 (Val-I C-7), 168.4 (Val-II C-7), 168.7 (Val-II C-7), 168.8 (Val-I C-7), 169.0 (HHDP C-7), 169.7 (HHDP C-7') (α -anomer). Although most of the minor β -anomer signals overlapped with the corresponding signals of the α -anomer, the following ester carbonyl signals could be distinguished from the α -anomer signals: 162.5 (Val-II C-7''), 163.9 (Val-I C-7''), 166.8 (Gal C-7), 167.8 (Val-I C-7), 168.5 (Val-II C-7), 168.5 (Val-II C-7), 168.8 (Val-I C-7), 169.1 (HHDP C-7), 170.5 (HHDP C-7').

Barrieyclin D1 (5) の部分分解

Barrieyclin D1 (5) 100 mg を 2% H_2SO_4 100 mL で 1.5 時間沸騰水浴中加熱後, 1M NaOH 溶液で中和し, 濃縮した. 濃縮物の MeOH 可溶部を Toyopearl HW-40F カラムクロマトグラフィー [1.1 cm i.d.×86 cm, EtOH– H_2O –acetone (70:30:0 → 65:30:5 → 60:30:10 → 55:30:15 → 50:30:20 → 45:30:25 → 40:30:30)] で分画した. 70%EtOH 溶出部を Sep-Pack C18 カートリッジで精製し, **12** (2.9 mg) および **1** (2.1 mg) を得た. また EtOH– H_2O –acetone (50:30:20) 溶出部および EtOH– H_2O –acetone (45:30:25) も同様に Sep-Pack C18

カートリッジで精製し, **9** (1.9 mg) および **2** (5.8 mg) を単離した. これらは¹H-NMRにより構造を確認した.

また barricyclin D1 (**5**) 100 mg を水 100 mL に溶解し, ペクチナーゼ (300 mg) (Yakult Pharmaceutical Industry, Tokyo, Japan) を添加後 40°C で 4 時間加熱した. これをろ過後, Toyopearl HW-40F カラムクロマトグラフィー [1.1 cm i.d.×90 cm, EtOH–H₂O–acetone (70:30:0 → 65:30:5 → 60:30:10)] で分画した. EtOH–H₂O–acetone (60:30:10) 溶出部を Sep-Pack C18 カートリッジで精製し, **4** (3.0 mg) を得, これを¹H-NMRにより構造を確認した.

3. 1 植物の進化

植物は自ら動けないため移動や分布の拡大には散布体が必要となる [44]. 陸上植物のおもな散布体は孢子と種子である. 種子植物は, 花と呼ばれる生殖器官の特殊化が進んで胚珠(種子になる部分)が心皮にくるまれて子房の中に収まっている被子植物と, 胚珠がむき出しになっている裸子植物に分けられる (Figure 65).

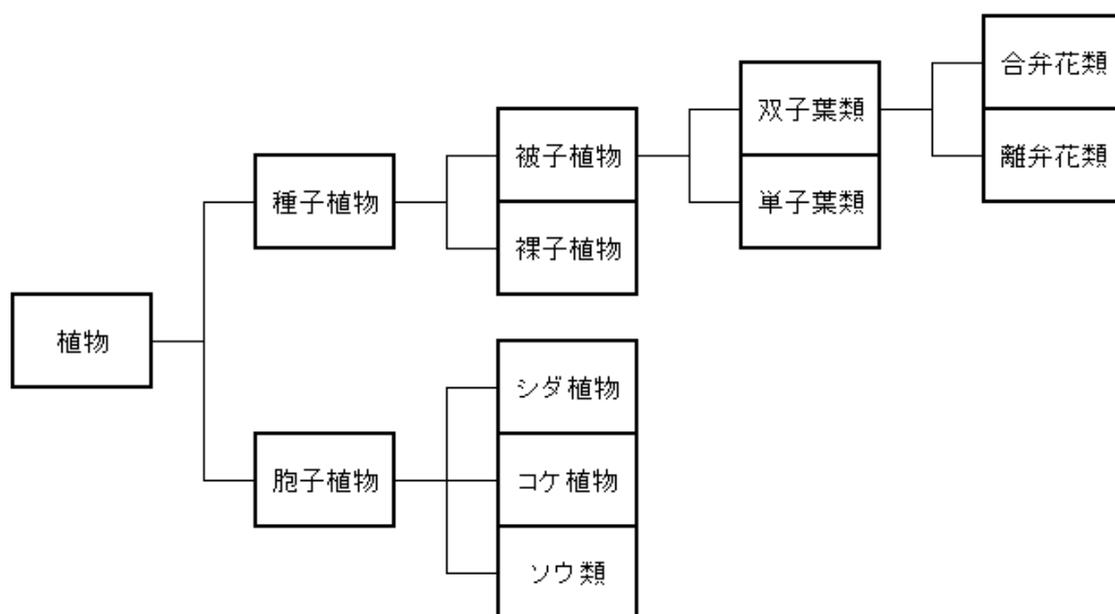


Figure 65. 新エングラー体系による植物の分類

被子植物は, 陸上植物全体で 26 万 5,000 種のうち, 被子植物は 23 万 5,000 種であり, 約 9 割が被子植物である [45]. 陸上で如何に成功してきた植物群であるかが分かる. 花を持つことによって多様化が進み, 繁栄していくことができたと考えられている. 一方の裸子植物は胚珠がむき出しであるため低温や乾燥には弱いため, 地球規模の変化に対応できず, 裸子植物が絶滅したところへ, 胚珠の周りに子房をもつ被子植物が台頭してきたと思われる [46]. また, 裸子植物は花粉を風によって拡散させるため花粉をたくさん生産しなければならないが, 被子植物は花粉を動物に運んでもらうため, 受粉効率が上がり, 花粉の生産数を減らすことが可能になった. その一方で蜜を生産したり, 花弁に色を付けたりするなどの変化が必要となり, どの動物と共生関係を結ぶかによって様々な形態や生態を持つことになった. 例えば, 本研究の対象であるサガリバナと同様, 夜に咲く花として有名な月下美人の場合は強い匂いでコウモリを誘い花粉を運び [47], カラスウリは長い口をもったスズメ蛾のような大型の蛾が花粉を運ぶ [48]. いずれも花は白や黄色で, 夜でも目立ちやすい

色をしている。

こうした生物の進化という考えは、ダーウィンの種の起源以降一般的に受け入れられているが、生命進化や地球環境の変遷までを見通せる可能性を秘めているのが分類学である。その種が遂げてきた進化の歴史や現在の分布域がどのように形成されてきたか、生物を分類することによって明らかにすることができる [49]、いわば分類学は天然物化学の醍醐味である。

3. 2 被子植物の分類体系

植物の分類体系の歴史は、実質的にはリンネが 1735 年に出版した「自然の体系」において、花の特徴とくに雄ずいと雌ずいを重要視して植物を 24 の綱に区分した。現在用いられている被子植物の分類体系のもとになったものは 19 世紀につくられ、その代表的なものはエングラートとプランテルの体系と、ベンサムとフッカーの体系である [50]。エングラートは花の進化の方向を考え、単純な構造の花を持つ植物を前に、複雑な花をもつ植物を後ろに配列した [51]。花の有無や構造の違いなどの形態情報に基づいて植物の進化的な関係を推定して分類体系を構築し、その後 1964 年に改訂され、新エングラート体系と呼ばれる分類体系ができた。またクロンキストは、おもに花の形質を重視し可能な限り系統進化を反映するように分類体系を構築した [50]。両体系 (Table 12) などは形態情報に基づいた分類体系であり、分かりやすいことから今でも市販の植物図鑑等で用いられているが、一方で近年、APG (Angiosperm Phylogeny Group) 体系 (Figure 66) と呼ばれる別のシステムに変わってきている。APG 体系は DNA 解析を用いた分子系統学による分類体系であり、他の 2 つの体系とは根本的に分類手法が異なる。そのため APG 体系ではいくつかの変更があった。ユキノシタ科やユリ科目が解体され、ラン目やケシ目は消滅し、旧バラ科は多系統群となり内容が大きく入れ替わったことは、その代表例である [49]。

Table 12. Modified Engler system and Cronquist classification outline

新エングラータ体系

双子葉植物綱
古生花被植物亜綱
モクマオウ目
クルミ目
バラノプス目
ライトネリア目
ヤナギ目
ブナ目
イラクサ目
ヤマモガシ目
ビャクダン目
バラノフォルム目
メドゥサンドラ目
タデ目
中心子目
サボテン目
モクレン目
キンポウゲ目
コショウ目
ウマノスズクサ目
オトギリソウ目
サラセニア目
ケシ目
バティス目
バラ目
ヒドロスタキス目
カワゴケソウ目
フウロソウ目
ミカン目
ムクロジ目
ユリアニア目
ニシキギ目
クロウメモドキ目
アオイ目
ジンチョウゲ目
スマレ目
ウリ目
フトモモ目
散形花目

クロンキスト体系

モクレン綱
ビワモドキ亜綱
ビワモドキ目
ツバキ目
アオイ目
サガリバナ目
ウツボカズラ目
スマレ目
ヤナギ目
フウチョウソウ目
バティス目
ツツジ目
イワウメ目
カキノキ目
サクラソウ目
バラ亜綱
バラ目
マメ目
ヤマモガシ目
カワゴケソウ目
アリノトウグサ目
フトモモ目
ヒルギ目
ミズキ目
ビャクダン目
ラフレシア目
ニシキギ目
トウダイグサ目
クロウメモドキ目
アマ目
ヒメハギ目
ムクロジ目
フウロソウ目
セリ目

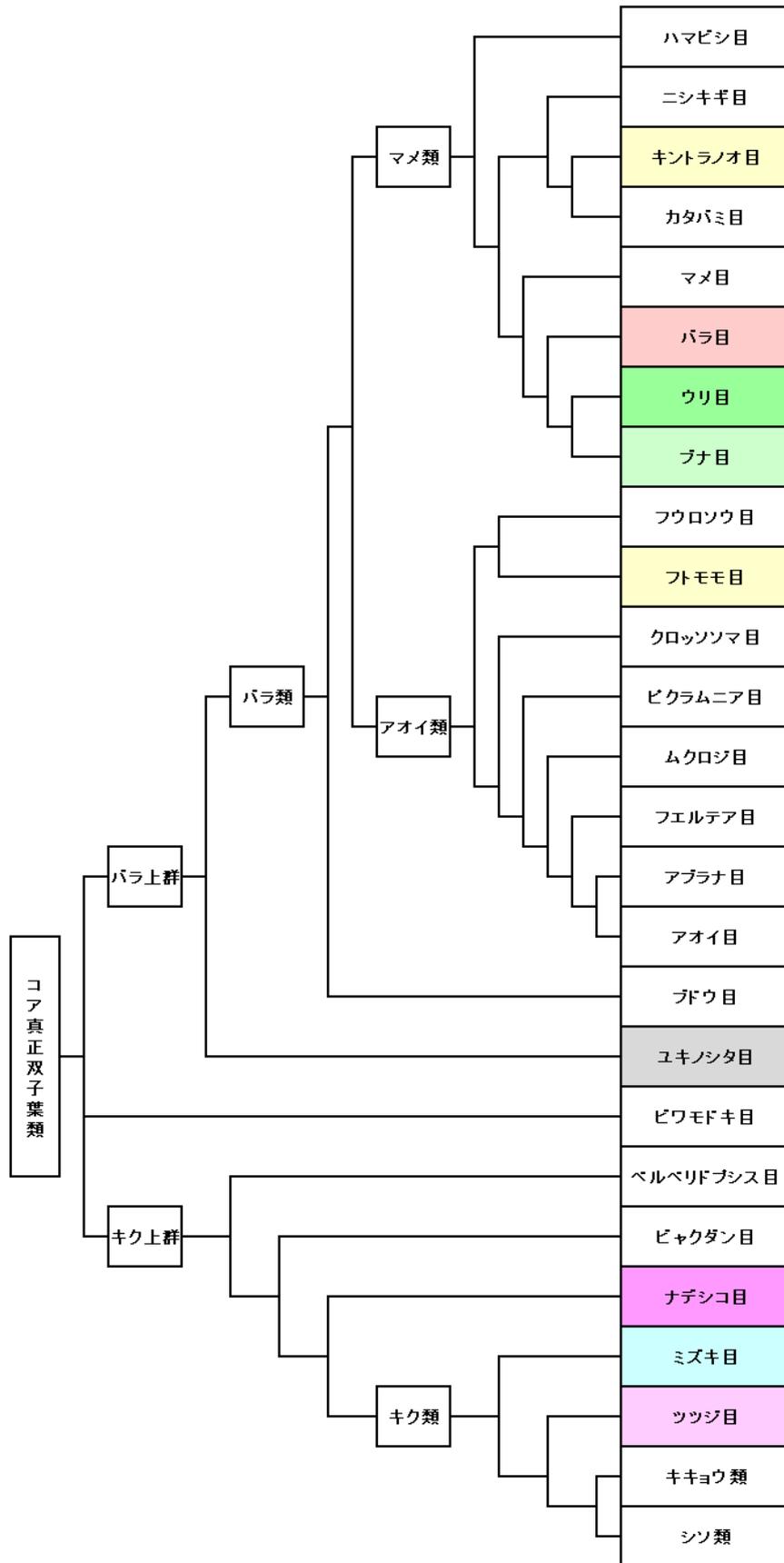
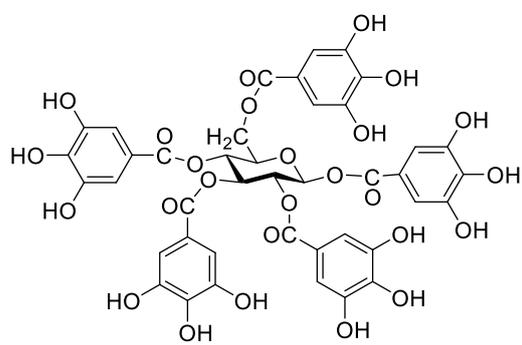


Figure 66. APG classification outline

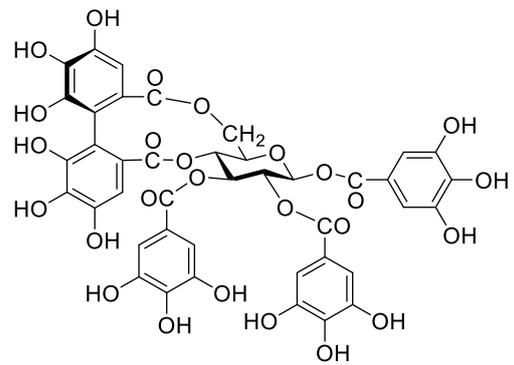
3. 3 植物に含まれる化合物によるグルーピング

加水分解性タンニンの構造は、基本的にグルコースと, gallic acid または gallic acid の 2 量体である hexahydroxydiphenoyl (HHDP) がエステル結合したものであり, 前者として pentagalloylglucose のようなガロタンニン, 後者として tellimagrandin II のようなエラジタンニンがある. エラジタンニンには, さらに geraniin のような dehydrohexahydroxydiphenoyl を有するものや, casuarinin のようなグルコースが開環した C-glucoside エラジタンニン [52], camelliatannin A のような C-glucoside エラジタンニンとフラバンが C-C 結合した複合型タンニンがある (Figure 67) [53, 54]. そして, これらモノマー同士の C-O 分子間結合様式により様々なバラエティーに富むオリゴマーが形成される. 例えば galloyl 基同士が酸化的にカップリングした dehydrodigalloyl (DHDG) 基や isodehydrodigalloyl 基, galloyl 基と hexahydroxydiphenoyl (HHDP) 基が酸化的にカップリングした Val 基や tergalloyl 基 (Figure 68) は, dimer を形成するための基本構造であるが, 植物の進化の過程で近縁の植物は類似した代謝, 生合成経路を有していると考えられている [37].

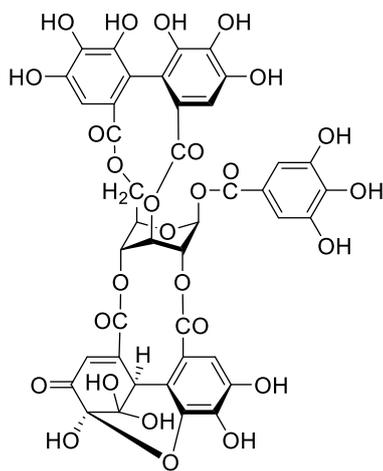
加水分解性タンニンオリゴマーの構造は複雑であるが, その構造様式と基原植物についてまとめられたもの [27] を基原植物順に並び替え, 植物分類体系を加えてみると (Table 13, Figure 69), 構造様式が類似した化合物は, 近縁の植物から単離されていることが良く分かる. 例えば, キントラノオ目植物から C タイプのタンニンオリゴマーが数多く単離報告されている. ウリ目からは C タイプ, ブナ目からは主に B2 と D タイプ, フトモモ目からは A3, A4, B2 タイプのタンニンオリゴマーが主に単離されている. A と B タイプは, グルコースの 2,3 位に Gal unit か HHDP unit を有するかの違いであり, 構造様式が同じ *m*-DOG である A3, A4 と B2 は生合成的に近い構造であると考えられることができる.



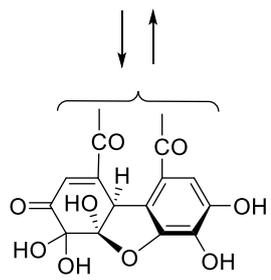
pentagalloylglucose



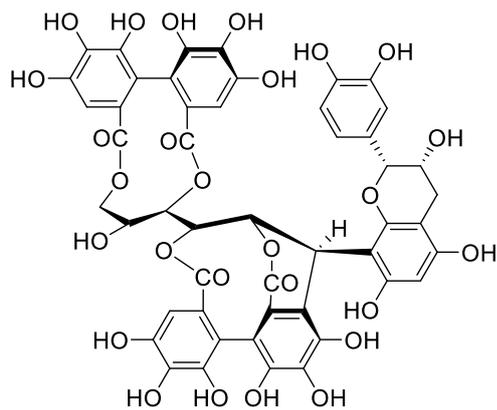
tellimagrandin II



casuarinin



geraniin



camelliatannin A

Figure 67. Structures of gallocatechin, ellagitannin, dehydroellagitannin, *C*-glucosidic ellagitannin and complex tannin

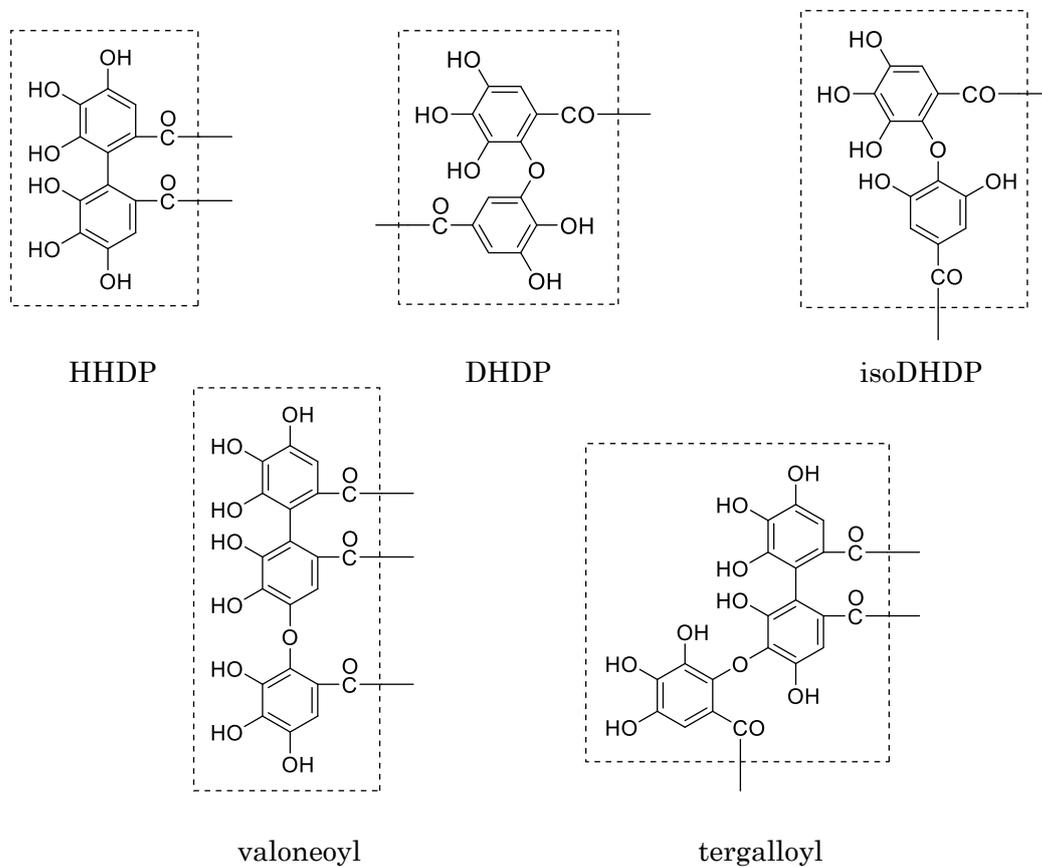


Figure 68. Structures of polyphenolic functional groups

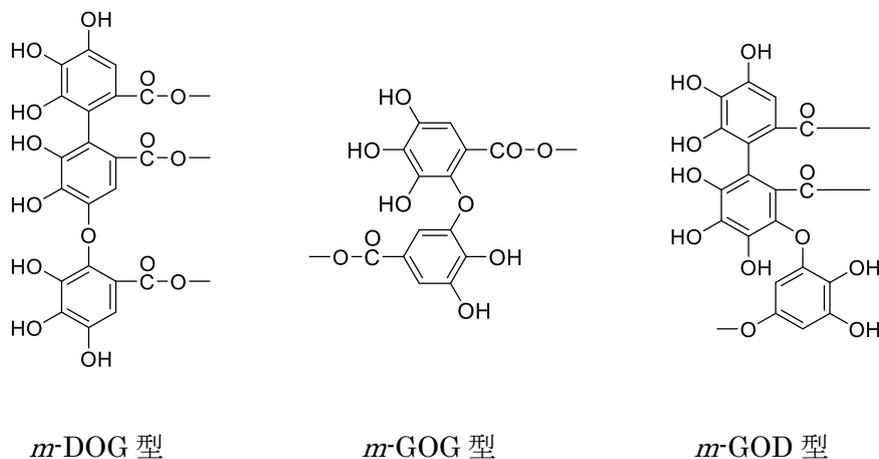
Table 13. Plant Sources and Structural Units of Oligomeric Hydrolyzable Tannins

属	構造様式	化合物名	APG		クロンキスト		新エングララー		Ref. 新	
			科	目	科	目	科	目		
<i>Nuphar</i>	C1	Nuparin C, D, E, F	スイレン	スイレン	スイレン	スイレン	スイレン	キンボウゲ	55	
<i>Antidesma</i>	C2	Antidesmin A	コミカンソウ	キントラノオ	トウダイグサ	トウダイグサ	トウダイグサ	フウロソウ	56	
<i>Bischofia</i>	C2	Bischofianin	コミカンソウ	キントラノオ	トウダイグサ	トウダイグサ	トウダイグサ	フウロソウ	57	
<i>Euphorbia</i>	B2	Eusupinin A							58	
		Euprostin B							59	
	C1	Jolkianin							60	
	C2	Euphorbin A, B, C, D, E, F	トウダイグサ	キントラノオ	トウダイグサ	トウダイグサ	トウダイグサ	トウダイグサ	フウロソウ	61 65
		Euphorhelin								60
		Eumaculin A, B								58, 66
Tirucallin B									61	
<i>Excoecaria</i>	C2	Excoecarinin A, B	トウダイグサ	キントラノオ	トウダイグサ	トウダイグサ	トウダイグサ	フウロソウ	67	
<i>Mallotus</i>	C2	Mallotannin A, B	トウダイグサ	キントラノオ	トウダイグサ	トウダイグサ	トウダイグサ	フウロソウ	68	
<i>Agrimonia</i>	A1	Agrimoniin	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	69	
<i>Geum</i>	B1	Gemin A, B, C	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	70	
<i>Rosa</i>	A1	Laevigatin B, C, D, E, F, G							71, 72	
		Davuriciin D2, T1							73	
	A2	Roshenin A, B, C, D, E							74	
	A4	Rugosin F	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	75
		Davuriciin D1								76
		Roxbin A								77
	B2	Rugosin D, E, G							75	
<i>Rubus</i>	A2	Lambertianin C, D	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	78	
<i>Sanguisorba</i>	A2	Sanguiin H 3, 6, 8, 9, 10, 11	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	バラ	79	
<i>Coriaria</i>	B1	Coriariin A, C	ドクウツギ	ウリ	ドクウツギ	キンボウゲ	ドクウツギ	ムクロジ	80, 81	
	B2	Coriariin D, E	ドクウツギ	ウリ	ドクウツギ	キンボウゲ	ドクウツギ	ムクロジ	81	
<i>Casuarina</i>	D	Casuglaunin A, B	モクマオウ	ブナ	モクマオウ	モクマオウ	モクマオウ	モクマオウ	82	
<i>Quercus</i>	B2	Phillyraeoidin A, B, C, D							83	
	D	Alienanin A, B	ブナ	ブナ	ブナ	ブナ	ブナ	ブナ	84	
		Roburin A, B, C, D							85	
<i>Corylus</i>	A4	Degalloylrugosin F							86	
		Heterophylliin D	カバノキ	ブナ	カバノキ	ブナ	カバノキ	ブナ	86	
	B2	Heterophylliin B, C							86	

Table 13. Plant Sources and Structural Units of Oligomeric Hydrolyzable Tannins
(continued)

属	構造様式	化合物名	APG		クロンキスト		新エングレー		Ref. 新
			科	目	科	目	科	目	
<i>Anogeissus</i>	D	Anogeissusin A, B	シクンシ	フトモモ	シクンシ	フトモモ	シクンシ	フトモモ	87
		Anogeissinin							87
<i>Terminalia</i>	A4	Calamanin B, C	シクンシ	フトモモ	シクンシ	フトモモ	シクンシ	フトモモ	88
<i>Lagerstroemia</i>	A3	Reginin D	ミソハギ	フトモモ	ミソハギ	フトモモ	ミソハギ	フトモモ	89
	A4	Reginin A, B, C							90, 89
	B2	Lagerstronin							91
<i>Woodfordia</i>	B2	Woodfordin A, B, C, D, E, F, G, H, I	ミソハギ	フトモモ	ミソハギ	フトモモ	ミソハギ	フトモモ	82, 92, 93, 94
<i>Heterocentron</i>	A3	Nobotanin G, H, I, J	ノボタン	フトモモ	ノボタン	フトモモ	ノボタン	フトモモ	95, 96
	A4	Nobotanin K							97
<i>Melastoma</i>	A3	Melabathrin B, C	ノボタン	フトモモ	ノボタン	フトモモ	ノボタン	フトモモ	97
<i>Medinilla</i>	A4	Medinillin B	ノボタン	フトモモ	ノボタン	フトモモ	ノボタン	フトモモ	98
<i>Tibouchina</i>	A3	Nobotanin B	ノボタン	フトモモ	ノボタン	フトモモ	ノボタン	フトモモ	99
	A4	Nobotanin A, C, E, F, L, M, N							100, 99, 101
<i>Eucalyptus</i>	B2	Eucalbanin B, C	フトモモ	フトモモ	フトモモ	フトモモ	フトモモ	フトモモ	102
<i>Oenothera</i>	B2	Oenothelin A, B	アカバナ	フトモモ	アカバナ	フトモモ	アカバナ	フトモモ	93, 103
<i>Trapa</i>	B2	Trapanin A, B	ミソハギ	フトモモ	ミソハギ	フトモモ	ミソハギ	フトモモ	104
<i>Liquidambar</i>	B2	Isorugosin D, E, G	フウ	ユキノシタ	マンサク	マンサク	マンサク	バラ	105, 106, 107
<i>Loropetalum</i>	B2	Loropetalin A, C	マンサク	ユキノシタ	マンサク	マンサク	マンサク	バラ	108
<i>Reaumuria</i>	B1	Hirtellin A, B, C, E, F, T1	ギョリュウ	ナデシコ	ギョリュウ	スマレ	ギョリュウ	スマレ	109, 106, 110
<i>Tamarix</i>	B1	Tamarixinin A, B, C	ギョリュウ	ナデシコ	ギョリュウ	スマレ	ギョリュウ	スマレ	109, 111
<i>Camptotheca</i>	B2	Camptothin A, B	ヌママズキ	ミズキ	ミズキ	ミズキ	ミズキ	ミズキ	112
<i>Cornus</i>	B2	Cornusinin A, C, D, E, F, G	ミズキ	ミズキ	ミズキ	ミズキ	ミズキ	ミズキ	113, 114, 115
<i>Camellia</i>	A3	Camelliatannin D, H	ツバキ	ツツジ	ツバキ	ツバキ	ツバキ	オトギリソウ	116
	A4	Camelliin A							117
	B2	Camelliin B							117
<i>Schima</i>	B2	Schimawalin B	ツバキ	ツツジ	ツバキ	ツツジ	ツバキ	オトギリソウ	118
<i>Barringtonia</i>	A4	Barringtonin D1, D2, D3, Barricyclin D1	サガリバナ	ツツジ	サガリバナ	サガリバナ	サガリバナ	フトモモ	—

- A: glucose 2,3 位に HHDP unit を有するタンニンオリゴマー
- A1: *m*-GOG (DHDG) unit を有するタンニンオリゴマー
 - A2: *m*-GOD (sanguisorbonyl) unit を有するタンニンオリゴマー
 - A3: *m*-DOG (valoneoyl) unit を有するタンニンオリゴマー
 - A4: 4,6 位に *m*-DOG (valoneoyl) unit を有するタンニンオリゴマー
- B: glucose 2,3 位に Gal unit を有するタンニンオリゴマー
- B1: GOG unit を有するタンニンオリゴマー
 - B2: DOG unit を有するタンニンオリゴマー
- C: 1C_4 或いは skew boat 型の conformation を有するタンニンオリゴマー
- C1: *m*-GOG unit を有するタンニンオリゴマー
 - C2: *m*-DOG unit を有するタンニンオリゴマー
- D: C-Glucosidic タンニンオリゴマー
- glucose 1 位で開環化し C-C 結合を有するタンニンオリゴマー



m-DOG 型: HHDP unit と galloyl unit の結合. HHDP unit から O を供与している.
m-GOG 型: galloyl unit と galloyl unit の結合.
m-GOD 型: HHDP unit と galloyl unit の結合. Galloyl unit から O を供与している.

Figure 69. タンニンオリゴマーの結合様式

3. 4 サガリバナに含まれるタンニンオリゴマーの特徴

これまで加水分解性タンニンオリゴマーは、キントラノオ目 (コミカンソウ科/トウダイグサ科), バラ目 (バラ科), ウリ目 (ドクウツギ科), ブナ目 (モクマオウ科/ブナ科/カバノキ科), フトモモ目 (シクンシ科/ミソハギ科/ノボタン科/フトモモ科/アカバナ科), ユキノシタ目 (フウ科/マンサク科), ナデシコ目 (ギョリュウ科), ミズキ目 (ヌマミズキ科/ミズキ科), ツツジ目 (ツバキ科) 植物等から単離報告されている. 例えば, ギョウリュウ科植物からは tellimagrandin II の 2 分子が分子間で DHDG 結合 (C-2 の galloyl 基と C-1 の galloyl 基の間で C-O カップリング) した hirtellin A (**Figure 70**) [109], アカバナ科およびフトモモ科植物からは tellimagrangin I (**18**) 2 分子が分子間で Val 結合 (C-2 の galloyl 基と C-4,6 の HHDP 基の間で C-O カップリング) した oenothein B (**7**) [30], グミ科からは castalagin [119] と vescalagin [119] の分子間で C-C カップリングによって生成した casuglaunin A (**Figure 71**) [82] 等は化学構造上特徴的な化合物である.

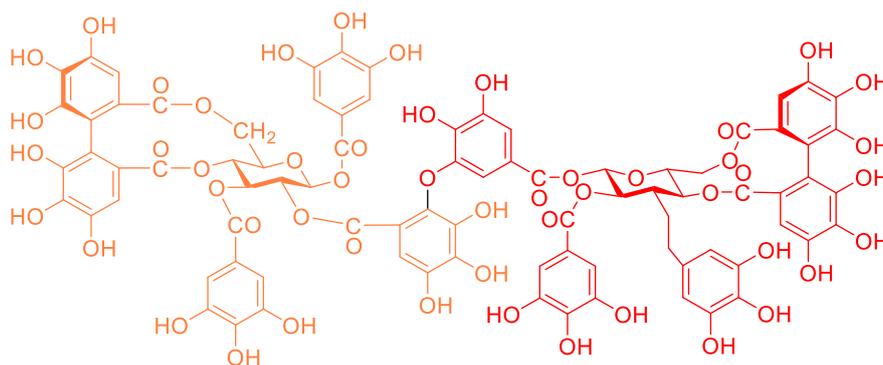


Figure 70 Structure of hirtellin A

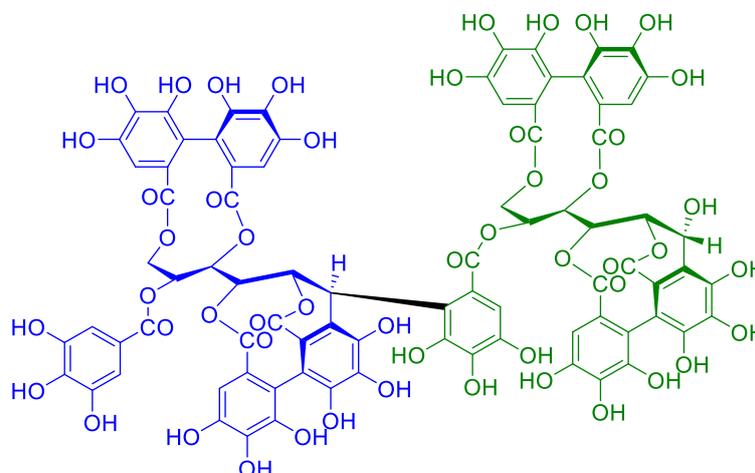
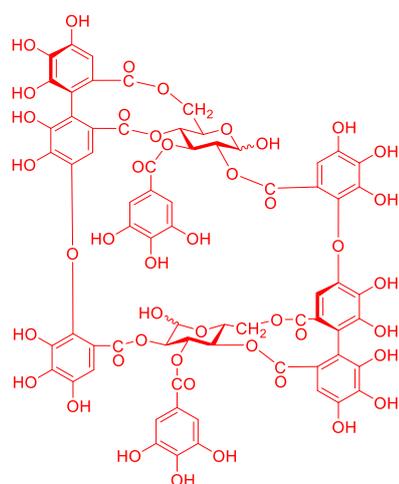


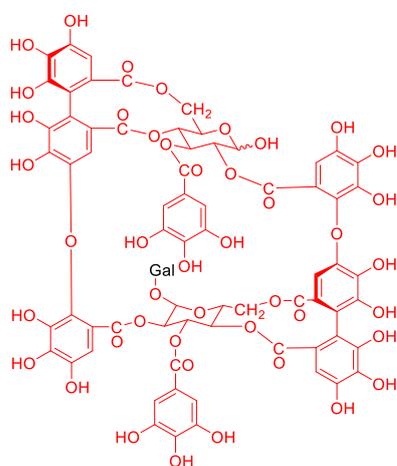
Figure 71. Structure of casuglaunin A

サガリバナ科については、これまでタンニンの単離報告例はなかったが、本研究によりその一部が解明された。特に単離された **barricyclin D1 (5)** については、Val 基を有する大環状構造のタンニンオリゴマーであった。これまでに同様の特徴を有する化合物は、ミソハギ科 *Woodfordia fruticosa* より単離された **oenothein A (14)** [93], **woodfordin C (8)** [31], **D (15)** [93], **E (16)**, **F (17)**, **I (13)** [94], アカバナ科 *Oenothera erythrosepala* より単離された **oenothein B (7)** [30], **oenothein D, F** [120], フトモモ科 *Eugenia uniflora* より単離された **eugeniflorin D1, D2** [121], ミソハギ科 *Cuphea hyssopifolia* より単離された **cuphiin D1, D2** [122] がある。これら環状オリゴマーの構造は全て **7** 或いはその **isomer** を基本骨格としている (**Figure 72**)。これは、環状構造を形成する 2 つのグルコースの一方の C-2 水酸基と、Val 基の Gal 部分がエステル結合をしており、植物中の **18** の 2 つの分子から生合成されると推察されている (**Figure 73**) [123]。これらのタンニンとは対照的に、**barricyclin D1 (5)** は、**18** と Glc O-2/O-3 に HHDP 基を有する **casuarictin (19)** とで構成される最初の例である (**Figure 74**)。サガリバナは植物中に **18** があるにも関わらず、**7** を生合成するのではなく、**20** より別途生合成された **casuarictin (19)** (**Figure 75**) [124] との組合せにより **5** を生合成することを選択したことになる。サガリバナからは **7** の存在を確認できていないことから、選択的に **5** を生合成していることに興味を抱かずにいられない。

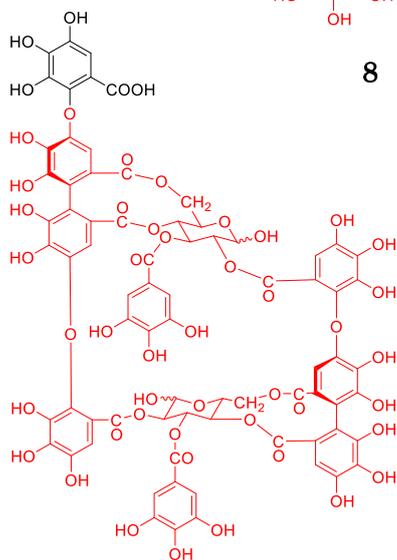
タンニンは分子量の増加に伴い水酸基の数が増え、ラジカルスカベンジャーとしての活性も高くなることが報告されている [125]。化合物 **7** の構造には gallic acid 由来のユニットが 8 個あるのに対し、化合物 **5** は 9 個ある。植物は周りの自然環境から生じるラジカル等の活性酸素から身を守るためにオリゴマーを生成すると考えられが、サガリバナも熱帯、亜熱帯雨林という厳しい環境の中で生き抜く術として、少しでも分子量を増やすことで水酸基の数を増やし、ラジカルスカベンジャーとしての活性を高めようと進化し、そしてその一方で、特定の生物をパートナーに選ぶことで競争相手の少ない夜に開花し、効果的に受粉を行なう戦略をとるよう進化してきたのかも知れない。



7

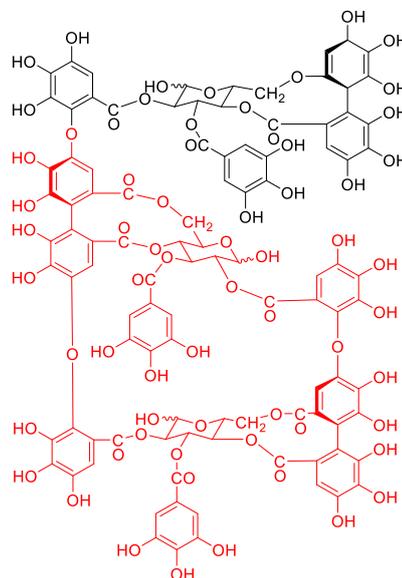


8



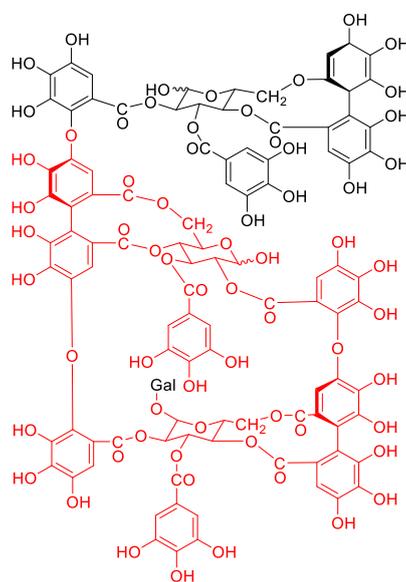
13

oenothein B 構造部分を赤色で示す



14

Gal: galloyl



15

Figure. 72 Tannin oligomers with macrocyclic structures

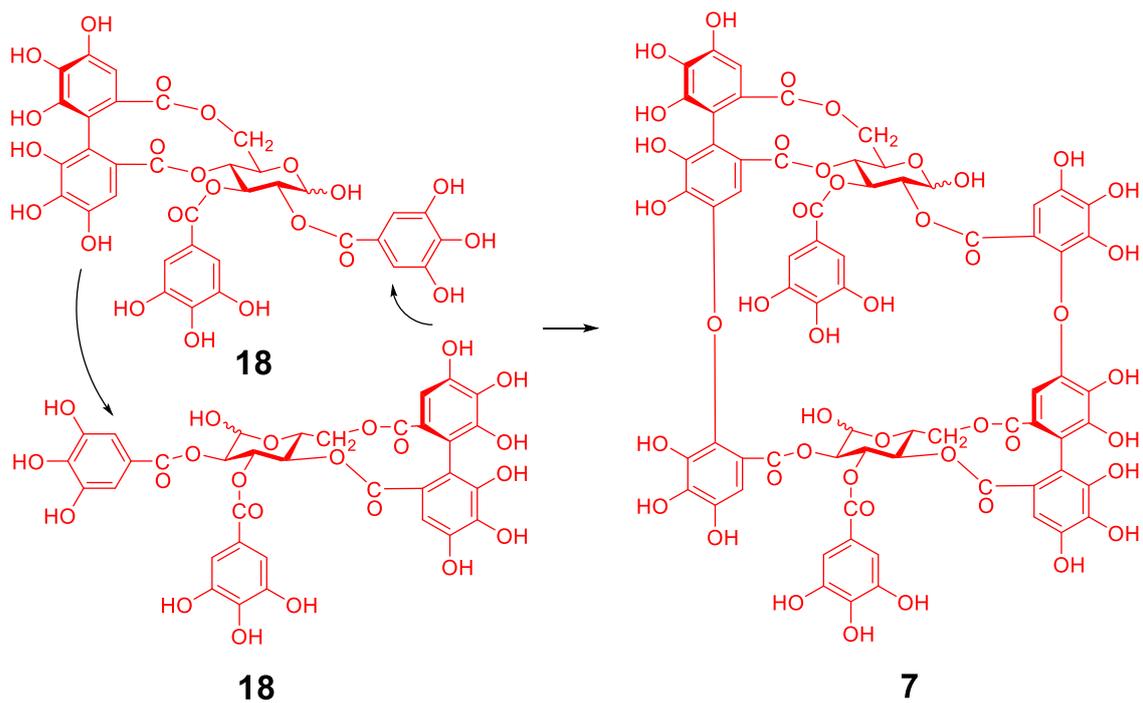


Figure 73. Presumed biogenesis of oenothein B (5) from tellimagrandin I (18)

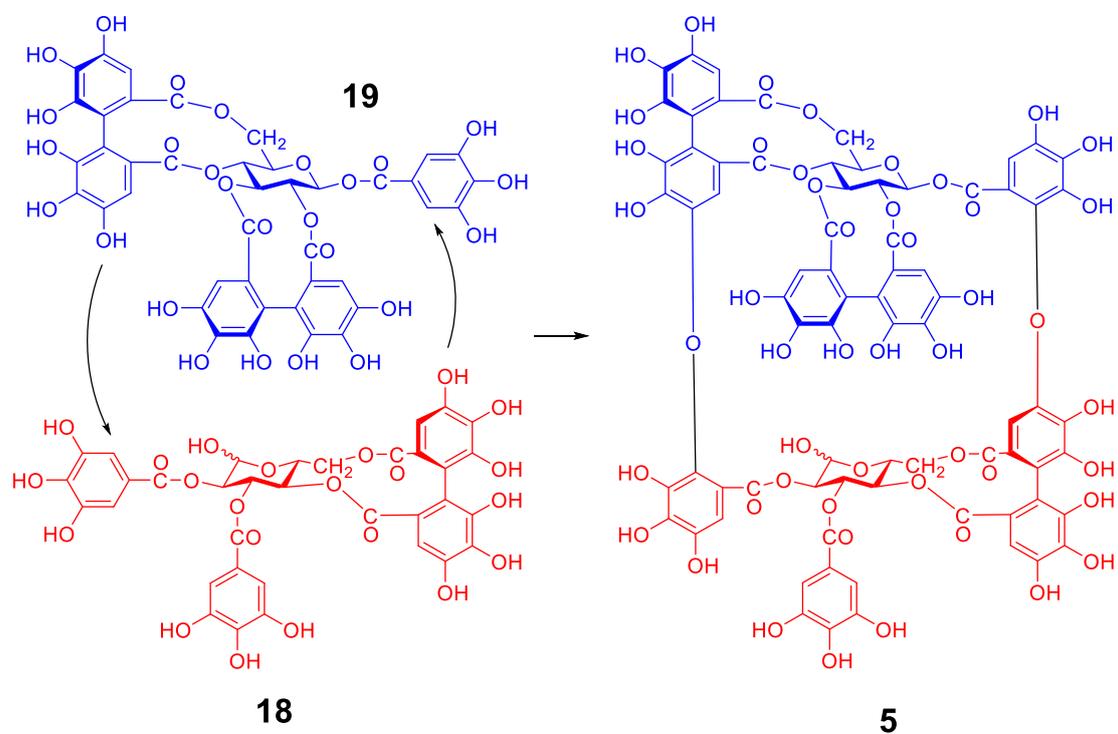


Figure 74. Presumed biogenesis of barricyclin D1 (5)
from tellimagrandin I (18) and casuarictin (19)

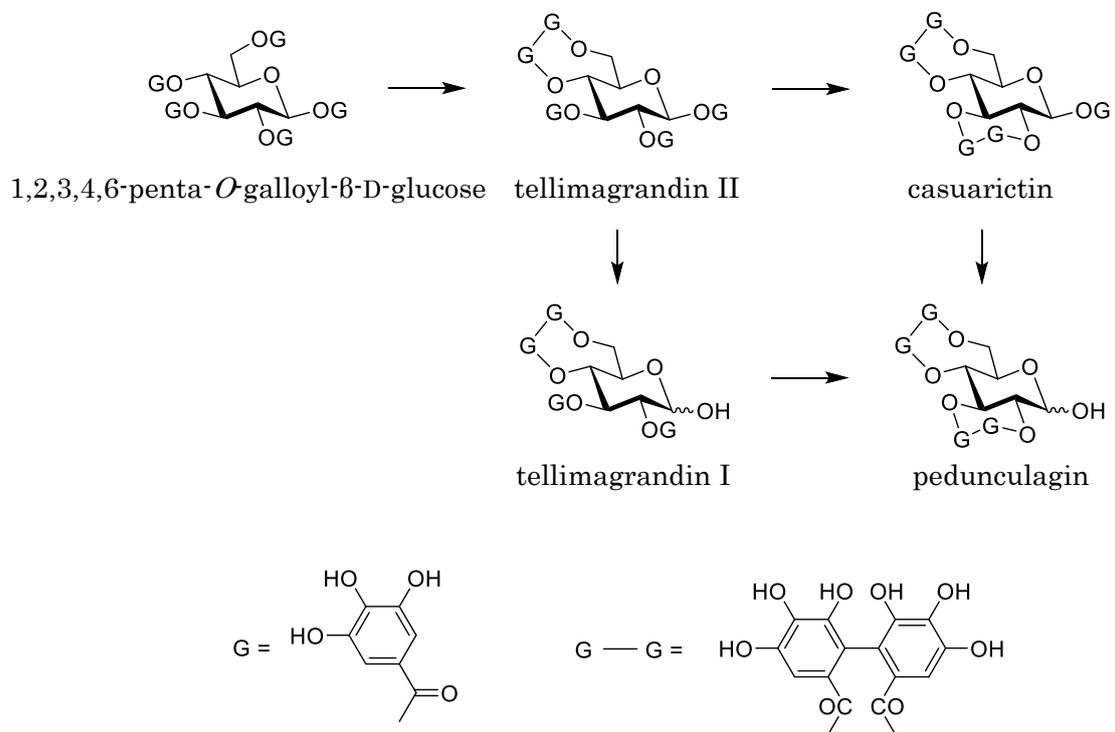


Figure 75. Biosynthetic pathway of monomeric ellagitannins

3. 5 サガリバナ科の植物分類体系

本研究の対象であるサガリバナ科は、新エングレー体系としてフトモモ科／ミソハギ科／アカバナ科と同じフトモモ目に、クロンキスト体系ではサガリバナ目として独立させ、APG 体系ではツツジ目に分類されてきた (Table 14). サガリバナ科が新エングレー体系ではフトモモ目に入れられてきたのは、開花するとすぐに落ちる花卉、宿存する萼片、子房下位の雌しべ、極端に多い雄しべの数などの特徴がフトモモ目に似ているからであった。しかしその共通性は見かけだけのものであり、近縁と考えられる植物が見当たらないことから、クロンキスト体系ではサガリバナ目として独立させた経緯がある [126].

次に、他の大環状構造の分子構造に目を向けると、*oenothein* 類および *woodfordin* 類化合物はフトモモ目 (フトモモ科／ミソハギ科／アカバナ科) 植物より単離されており、それらの基本骨格は *oenothein B (7)* である (Table 15) [127]. その結合様式は、一つのグルコースの 2 位に *valoneoyl* 基が結合している (Figure 76). 同じ大環状構造を有し、*Camellia japonica* (ツバキ科) より単離された *camelliin B (6)* (Figure 76) [29] の構造は、本研究で単離した *barricyclin D1 (5)* の構造に酷似しており、*glucose-I* の 2,3 位が *galloyl* 基と *HHDP* 基の違いだけであり、どちらも *glucose* の 1 位に *valoneoyl* 基が結合している。植物より単離された化合物が大環状構造という大きなくくりではサガリバナ科はフトモモ科／ミソハギ科／アカバナ科と類似しているように思えるが、分子の構造にまで目を向けると、サガリバナ科とツバキ科が同じツツジ目に分類されている APG 体系と良好な相関を示していたことはケモタキノミーの観点から興味深く、サガリバナ科の進化が類推される。

また他の植物の例として、ドクウツギ科 (*Coriaria* 属) がクロンキスト体系ではキンポウゲ目であったが、APG 分類体系ではウリ目に移った。キンポウゲ目はコア真正双子葉類には含まれないが、ウリ目は加水分解性タンニンオリゴマーを多く単離しているブナ目やバラ目とも近い関係にある。

モクマオウ科 (*Caurarina* 属) はクロンキスト体系ではモクマオウ目であったが、APG 分類体系ではブナ科に吸収されている。同じブナ科 (*Quercus* 属) からは *C-glucosidic* タンニンオリゴマーが単離されている。

ギョリュウ科 (*Reaumuria* 属および *Tamarix* 属) はクロンキスト体系ではスミレ目であった。APG 分類体系ではスミレ目がキントラノオ目、アオイ目またはナデシコ目などに分散し、ギョリュウ科はナデシコ目に含まれ、¹³C₄ confirmation 化合物を多く単離しているキントラノオ目には含まれなかった。

植物の分類体系とそれに含まれる化合物の構造には密接な関係があり、これまでの形態情報に基づいて作成された分類体系よりも、DNA 解析を用いた分子系統学による APG 分類体系の方が、実際の植物の進化を示していることを単離した化合物の構造から伺うことができた。植物から成分を精製単離して構造を明らかにすることは、植物の分類体系の精度を上げることに繋がり、植物の進化を類推する上で価値のあることだと考える。

Table 14. 植物の分類体系

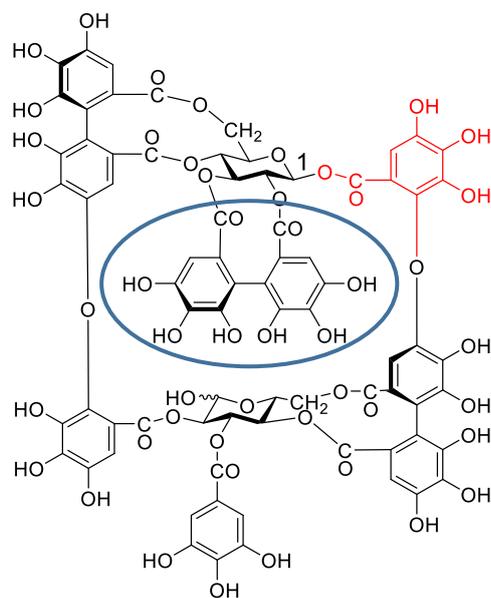
体系	サガリバナ科	ツバキ科	フトモモ科	ミソハギ科	アカバナ科
新エングラール	古生花被亜綱 フトモモ目	古生花被亜綱 オトギリソウ目	古生花被亜綱 フトモモ目	古生花被亜綱 フトモモ目	古生花被亜綱 フトモモ目
クロンキスト	ピワモドキ亜綱 サガリバナ目	ピワモドキ亜綱 ツバキ目	バラ亜綱 フトモモ目	バラ亜綱 フトモモ目	バラ亜綱 フトモモ目
APG	キク類 ツツジ目	キク類 ツツジ目	真正バラ類 アオイ群 フトモモ目	真正バラ類 アオイ群 フトモモ目	真正バラ類 アオイ群 フトモモ目

Table 15. 大環状構造タンニンオリゴマーとその基原植物

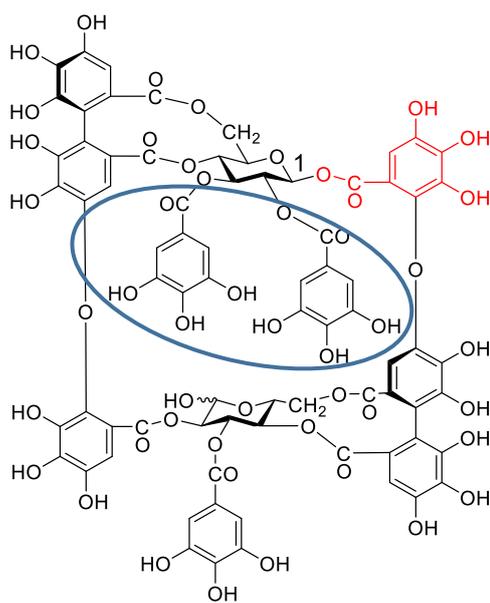
compounds	Origins	基本骨格	属	科	目
oenothein A	<i>Woodfordia fruticosa</i>	OEB	<i>Woodfordia</i>	ミソハギ	フトモモ
oenothein B (7)	<i>Oenothera species,</i> <i>Epilobium species,</i> <i>Lythrum anceps,</i> <i>Woodfordia fruticosa</i>	OEB	マツヨイグサ アカバナ ミソハギ <i>Woodfordia</i>	アカバナ アカバナ ミソハギ ミソハギ	フトモモ
oenothein D	<i>Oenothera laciniata</i>	isoOEB	マツヨイグサ	アカバナ	フトモモ
oenothein F					
woodfordin C	<i>Woodfordia fruticosa</i>	OEB	<i>Woodfordia</i>	ミソハギ	フトモモ
woodfordin D					
woodfordin E					
woodfordin F					
woodfordin I					
cuphiin D1	<i>Cuphea hyssopifolia</i>	OEB	ヒメハナヤナギ	ミソハギ	フトモモ
cuphiin D2					
eugeniflorin D1	<i>Eugenia uniflora</i>	OEB	<i>Eugenia</i>	フトモモ	フトモモ
eugeniflorin D2					
camelliin B (6)	<i>Thea species,</i> <i>Schima wallichii</i>		ツバキ ヒメツバキ	ツバキ ツバキ	ツツジ
barricyclin D1 (5)	<i>Barringtonia racemosa</i>		サガリバナ	サガリバナ	ツツジ

OEB: oenothein B

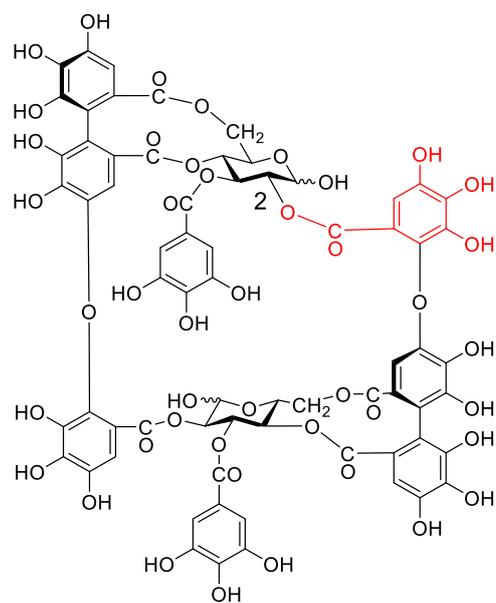
isoOEB: oenothein B isomer



barricyclin D1 (5)



camelliin B (6)



oenothein B (7)

Figure 76. Structural feature of 5, 6 and 7

総括

サガリバナ *Barringtonia racemosa* は、熱帯、亜熱帯地域で民間薬として古くから葉を初めとする各部位を利用している。そして各部位より単離された化合物は、フラボノイドやテルペノイドといった非極性化合物が殆どであった。サガリバナの幅広い作用や水エキスでの効果を考えると、これらの化合物だけでは作用を説明できない。そこで本研究では、サガリバナの葉について、高分子ポリフェノール成分を中心に化学成分の探索・構造解明を行った。

第1章では *B. racemosa* の葉に含まれる成分の探索を行い、新規化合物 5 種を含む計 7 種の化合物を単離した。新規化合物 5 種は加水分解性タンニンであり、それぞれ barringtonin M1 (1), D1 (2), D2 (3), D3 (4) および barricyclin D1 (5) と命名した。

第2章では詳細な実験方法を記載した。

第3章では *B. racemosa* の植物化学およびケモタキソノミーの観点から、本研究により単離した大環状エラジタンニンオリゴマーである **5** は、これまでフトモモ目植物より単離報告例のある大環状オリゴマーの基本骨格である oenothain B (7) とは構造が異なり、tellimagrandin I (18) と casuarictin (19) とで構成される最初の例であった。サガリバナ科は APG 体系ではキク類ツツジ目に分類され、同じツバキ目のツツジ科植物より単離された camelliin B (6) の構造とオリゴマーの形成様式に共通点があり APG 分類と良好な相関を示している。新規な成分を単離し報告するだけでなく、化合物の構造からケモタキソノミーを考察し植物分類体系を確立することで、その種が遂げてきた進化の歴史を明らかにすることができることは“ものとり屋”の新たな発展の方向性であると考えられる。

近年の研究では加水分解性タンニンに PARP 阻害作用、抗腫瘍作用、免疫調節作用、シグナル伝達経路の活性化など様々な薬理学的特性を持つことが報告されている。Sakagami らの報告では、特に **6**, **7**, woodfordin C (8), D (15) といった大環状構造化合物に強い抗腫瘍活性を認めており、その活性は monomer より高く、gallic acid や緑茶の主要成分である epigallocatechin gallate より 1 桁活性が強かった [32]。本研究で単離した **5** についても強力な効果が期待され、単離収量も多かったことからサガリバナのこれまでに報告されている作用についてもそれらの一端を担っている可能性が考えられる。

今後は、単離済みのタンニンオリゴマーの構造を解析し、ケモタキソノミーの観点で trimer や tetramer の構造の特徴を見出すと共に、一方で、抗酸化作用を始めとする生理活性についても確認していきたい。

引用文献

1. 大場秀章. はじめての植物学 植物たちの生き残り戦略. 株式会社筑摩書房, 2013
2. 株式会社ネイチャー&サイエンス 佐々木孝行, 荒井正 企画・編集. 小林正明 監修. にほんの植物. 株式会社アマナイメーجز, 2015
3. 横塚眞己人. さがりばな. 株式会社講談社, 2011
4. 湯浅浩史. 世界の不思議な花と果実 さまざまなしくみと彩り. 株式会社誠文堂新光社, 2009
5. Tanaka N. Pollination of *Barringtonia racemosa* (Lecythidaceae) by Moths on Iriomote Island, Japan. 筑波実験植物園研報. 2014; 23: 17-20
6. 牧野富太郎. 原色牧野植物大圖鑑 合弁花・離弁花編. 株式会社北隆館, 1996
7. Kabir Z, Rahman M, Islam R, Paul PK, Rahman S, Jahan R, Rahmatullah M. A Review on a Mangrove Species from the Sunderbans, Bangladesh: *Barringtonia racemosa* (L.) Roxb. Am Eurasian J Sustain Agric. 2013; 7(5): 356-372.
8. Osman NI, Sidik NJ, Awal A. Pharmacological Activities of *Barringtonia racemosa* L. (Putat), A Tropical Medicinal Plant Species. J Pharm Sci Res. 2015; 7(4): 185-188.
9. Osman NI, Sidik NJ, Awal A. Ethnobotanical Profiles and Phytochemical Constituents of *Barringtonia racemosa* L. for Potential Scrutiny of Bioactive Compounds through Plant Biotechnology. J Nat Remedies. 2017; 17(2): 57-68.
10. Kin WK, Sarni MJ, Amin I, Norhaniza A, Azlina AA. Polyphenols in *Barringtonia racemosa* and their protection against oxidation of LDL, serum and haemoglobin. Food Chem. 2014; 146: 85-89.
11. Chan EWC, Baba S, Chan HT, Kainuma M, Inoue T, Wong SK. Ulam herbs: A review on the medicinal properties of *Anacardium occidentale* and *Barringtonia racemosa*. J App Pharm Sci. 2017; 7(2): 241-247.
12. Nurul S, Rabeta MS. Antioxidant activities of *Barringtonia racemosa* leaves. Food Res. 2018; 2(2): 194-200.
13. Hussin NM, Muse R, Ahmad S, Ramli J, Mahmood M, Sulaiman MR, Shukor MYA, Rahman MFA, Aziz KNK. Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Barringtonia racemosa* L. (Lecythidaceae). Afr J Biotechnol. 2009; 8(12): 2835-2842.
14. Saha S, Sarkar KK, Hossain L, Hossain A, Barman AK, Ahmed I, Sadhu SK. Bioactivity Studies on *Barringtonia racemosa* (Lam.) Bark, Pharmacologyonline. 2013; 1: 93-100.
15. Jayaweera DMA. Medicinal plants, III. National Science Council of Sri Lanka. 1981: 128-129.
16. Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Simons A. Agroforestry Database: A tree

- reference and selection guide version 4.0. 2009.
17. Ong HC, Nordiana M. Malay ethno-medico botany in Machang, Kelantan, Malaysia. *Fitoterapia*. 1999; 70: 502–513.
 18. Kaume RN. *Barringtonia racemosa* (L.) Spreng. In: Jansen PCM, Cardon D, editors. PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l’Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. 2005: 37-39.
 19. Dey A, De JN. Traditional use of plants against snakebite in Indian subcontinent: A review of the recent literature. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2012; 9(1): 153–174.
 20. Rahmatullah M, Hasan MM, Ahmed M, Khan MW, Hossain MS, Rahman MM, Nasrin D, Miajee ZUMEU, Hossain MS, Jahan R, Khatun MAA. Survey of medicinal plants used by folk medicinal practitioners in Balidha village of Jessore District, Bangladesh. *Am-Eurasian J Sustain Agric*. 2010; 4(2): 111–116.
 21. Biswas M, Roy DM, Rahman MM, Hossen M. Medicinal plants for snake bite and sexual dysfunction in Jessore and Bagerhat districts of Bangladesh. *Int J Med Arom Plants*. 2013; 3(4): 486–491.
 22. Chandran SMD, Ramachandra TV, Joshi NV, Prakash M, Mesta PN, Settur B, Mukri VD. Conservation and management of mangroves in Uttara Kannada, central western Ghats. *Environmental Information System Technical Report*. 2012; 50: 1–160.
 23. Razafindraibe M, Kuhlman AR, Rabarison H, Rokotoarimanana V, Rajeriarison C, Rakotoarivelo N, Randrianarivony T, Rakotoarivony F, Ludovic R, Randrianasolo A, Bussmann RW. Medicinal plants used by women from Agnalazaha littoral forest (Southeastern Madagascar). *J Ethnobiol Ethnomed*. 2013; 9: 73.
 24. Van QTT, Vien LT, Hanh TTHH, Huong PTT, Thanh NV, Cuong NX, Nam NHN, Minh CV. Triterpenoid derivatives from *Barringtonia racemosa*. *Vietnam J Chem*. 2019; 57(1): 96-100.
 25. Nurul MH, Radzali M, Johari R, Syahida A, Maziah M. Antioxidant Activities of Different Aerial Parts of Putat (*Barringtonia racemosa* L.). *Malaysian J Biochem Mol Biol*. 2008; 16(2): 15-19.
 26. Kin WK, Sarni MJ, Norhaniza A, Amin I, Azlina AA. Antioxidant activities and polyphenolics from the shoots of *Barringtonia racemosa* (L.) Spreng in a polar to apolar medium system. *Food Chem*. 2012; 134: 324-332.
 27. Okuda T, Yoshida T, Hatano T. Hydrolyzable Tannins and Related Polyphenols, *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. 1995; 66: 1-117.

28. Blenn C, Wyrsh P, Althaus FR. The Ups and Downs of Tannins as Inhibitors of Poly (ADP-Ribose) glycohydrolase, *Molecules*. 2011; 16(2): 1854–1877.
29. Yoshida T, Chou T, Haba K, Okano Y, Shingu T, Miyamoto K, Koshiura R, Okuda T. Camelliin B and Nobotanin I, Macrocyclic Ellagitannin Dimers and Related Dimers, and Their Antitumor Activity, *Chem Pharm Bull*. 1989; 37(11): 3174-3176.
30. Hatano T, Yasuhara T, Matsuda M, Yazaki K, Yoshida T, Okuda T, Oenothien B, a dimeric hydrolysable tannin of cyclic structure. *Chem Pharm Bull*. 1989; 37(8): 2269-2271.
31. Yoshida T, Chou T, Nitta A, Miyamoto K, Koshiura R, Okuda T, Woodfordin C, a Macro-ring Hydrolysable Tannin Dimer with Antitumor Activity, and Accompanying Dimers from *Woodfordia fruticosa* Flowers. *Chem Pharm Bull*. 1990; 38(5): 1211-1217.
32. Sakagami H, Jiang Y, Kusama K, Atsumi T, Ueha T, Toguchi M, Iwakura I, Satoh K, Ito H, Hatano T, Yoshida T. Cytotoxic ctivity of hydrolyzable tannins against human oral tumor cell lines - A possible mechanism. *Phytomedicine*. 2000; 7(1): 39-47.
33. Yoshimura M, Akiyama H, Kondo K, Sakata K, Matsuoka H, Amakura Y, Teshima R, Yoshida T. Immunological Effects of Oenothien B, an Ellagitannin Dimer, on Dendritic cells. *Int J Mol Sci*. 2012; 14(1): 46-56.
34. Schepetkin IA, Kirpotina LN, Jakiw L, Khlebnikov AI, Blaskovich C, Jutila MA, Quinn MT. Immunomodulatory Activity of Oenothien B isolated from *Epilobium angustifolium*. *J Immunol*. 2009; 183(10): 6754-6766.
35. Okuyama S, Furukawa Y, Yoshimura M, Amakura Y, Nakajima M, Yoshida T. Oenothien B, a Bioactive Ellagitannin, Activates the Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 Signaling Pathway in the Mouse Brain, *Plants (Basel)*. 2021; 10(5): 1030-1036.
36. Esposito C, Santarcangelo C, Masselli R, Buonomo G, Nicotra G, Insolia V, Avino MD, Caruso G, Buonomo AR, Sacchi R, Sommella E, Campiglia P, Tenore GC, Daglia M. *Epilobium angustifolium* L. extract with high content in oenothien B on benign prostatic hyperplasia: A monocentric, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Biomed Pharmacother*. 2021; 138: 111414.
37. Yoshikawa M. ケモタキシノミー. *ファルマシア*. 2013; 49(8): 738.
38. Okuda T, Yoshida T, Hatano T. Correlation of oxidative transformations of hydrolyzable tannins and plant evolution. *Phytochemistry*. 2000; 55: 513-529.
39. 土橋 豊. 最新 園芸・植物用語集. 株式会社淡交社, 2019

40. Yoshida T, Chou T, Nitta A, Okuda T. Tannins and Rrelated Polyphenols of Theaceous Plants, IV, Monomeric and Dimeric Hydrolyzable Tannins Having a Dilactonized Valoneoyl Group from *Schima wallichii* Korth. Chem Pharm Bull. 1991; 39(9): 2247-2251.
41. Orabi MA, Taniguchi S, Sakagami H, Yoshimura M, Yoshida T, Hatano T. Hydrolyzable tannins of tamaricaceous plants, V, Structures of Monomeric-Trimeric Tannins and Cytotoxicity of Macrocyclic-Type Tannins Isolated from *Tamarix nilotica* (1). J Nat Prod. 2013; 76: 947-956.
42. Okuda T, Yoshida T, Hatano T, Koga T, Toh N, Kuriyama K. Circular dichroism of hydrolysable tannins-I ellagitannins and gallotannins. Tetrahedron Lett. 1982; 23: 3937-3940.
43. Gupta RK, Al-Shafi SMK, Layden K, Haslam E. The Metabolism of Gallic Acid and Hexahydroxydiphenic Acid in Plants. Part 2. Esters of (*S*)-Hexahydroxydiphenic Acid with D-Glucopyranose. J. Chem. Soc. Perkin Trans 1. 1982: 2525-2534.
44. 伊藤元己. 植物の系統と進化. 裳華房, 2012.
45. 戸部 博. 植物自然史. 朝倉書店, 1994.
46. 倉田薫子. APG 分類体系と植物の進化. 生態環境研究. 2020; 26(1): 53-65.
47. 鷺谷いづみ, 埴 沙萌, 田中 肇. 花はなぜ咲くか. 株式会社山と溪谷社, 2007
48. 佐藤有恒. 花の色のふしぎ. 株式会社あかね書房, 1988
49. 伊藤元己, 井鷺裕司. 新しい植物分類体系. 文一総合出版, 2018.
50. 伊藤元己. 植物分類学. 東京大学出版会, 2013.
51. 小林正明. 植物のふしぎ. 株式会社ポプラ社, 2011.
52. Yoshida T, Amakura Y, Yoshimura M. Structural Features and Biological Properties of Ellagitannins in Some Plant Families of the Order Myrtales. Int J Mol Sci. 2010 Jan; 11(1): 79–106.
53. Okuda T, Yoshida T, Hatano T, Ito H. Ellagitannins renewed the concept of tannins, “Chemistry and Biology of Ellagitannins. An Underestimated Class of Bioactive Plant Polyphenols” (ed. by Quideau, S.), World Scientific Publishing Co. Pte Ltd., Hackensack, NJ, USA, 1-54.
54. Yoshida T, Hatano T, Ito H. High molecular weight plant polyphenols (Tannins): Prospective functions, JT Romeo (Ed.), Recent Advance in Phytochemistry. 2005; 39: Chemical Ecology and Phytochemistry of Forest Ecosystems, Elsevier Science, Amsterdam, 163-190.
55. Ishimatsu M, Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I, Nishizawa M, Yamagishi T. Tannins and Related Compounds, LXXIX: Isolation and Characterization of Novel Dimeric

- and Trimeric Hydrolyzable Tannins, Nupharins C, D, E and F, from *Nuphar japonicum* DC. Chem Pharm Bull. 1989; 37(7): 1735-1743.
56. Yoshida T, Namba O, Lu C-F, Yang L-L, Yen K-Y, Okuda T. Antidesmin A, a New Dimeric Hydrolyzable Tannin from *Antidesma pentandrum* var. *barbathum*. Chem Pharm Bull. 1992; 40(2): 338-342.
 57. Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I, Kouno I, Ho F-C. Dehydroellagitannin from *Bischofia javanica*, Phytochem. 1995; 38(2): 509-513.
 58. Agata I, Hatano T, Nakaya Y, Sugaya T, Nishibe S, Yoshida T, Okuda T. Tannins and Related Polyphenols of Euphorbiaceous Plants, VIII: Eumaculin A and Eusupinin A, and Accompanying Polyphenols from *Euphorbia maculata* L. and *E. supina* Rafin. Chem Pharm Bull. 1991; 39(4): 881-883.
 59. Yoshida T, Namba O, Chen L, Liu Y, Okuda T. Ellagitannin Monomers and Oligomers from *Euphorbia prostrata* Ait. and Oligomers from *Loropetalum chinense* Oliv. Chem Pharm Bull. 1990; 38(12): 3296-3302.
 60. Lee S-H, Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I. Tannins and Related Compounds, CV: Monomeric and Dimeric Hydrolyzable Tannins Having a Dehydrohexa hydroxydiphenoyl Group, Supinanin, Euphorscopin, Euphorhelin and Jolkianin, from *Euphorbia* Species. Chem Pharm Bull. 1991; 39(3): 630-638.
 61. Yoshida T, Yokoyama K, Namba O, Okuda T. Tannins and Related Polyphenols of Euphorbiaceous Plants, VII, Tirucallins A, B and Euphorbin F, Monomeric and Dimeric Ellagitannins from *Euphorbia tirucalli* L. Chem Pharm Bull. 1991; 39(5): 1137-1143.
 62. Yoshida T, Chen L, Shingu T, Okuda T. Euphorbins A and B, Novel Dimeric Dehydroellagitannins from *Euphorbia hirta* L. Chem Pharm Bull. 1988; 36(8): 2940-2949.
 63. Yoshida T, Namba O, Chen L, Okuda T. Euphorbin C, an Equilibrated Dimeric Dehydroellagitannin Having a New Tetrameric Galloyl Group. Chem Pharm Bull. 1990; 38(1): 86-93.
 64. Yoshida T, Namba O, Yokoyama K, Okuda T. Hydrolyzable Tannin Oligomers from Euphorbiaceous Plants. Symposium Papers of the 31st Symposium on the Chemistry of Natural Products. 1989: p. 601.
 65. Yoshida T, Namba O, Chen L, Okuda T. Euphorbin E, a Hydrolyzable Tannin Dimer of Highly Oxidized Structure from *Euphorbia hirta*. 1990; 38(4): 1113-1115.
 66. Agata I, Sugaya T, Nishibe S, Hatano T, Yoshida T, Okuda T. Tannins of *Euphorbia maculata* and *E. supina*. Abstract Papers (2) of the 111th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan. 1991: p. 177.

67. Lin J-H., Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I, Chen I-S. Tannins and Related Compounds, XCVIII: Structures of Three New Dimeric Ellagitannins, Excoecarianin and Excoecarinins A and B, Isolated from the Leaves of *Excoecaria kawakamii* Hayata. Chem Pharm Bull. 1990; 38(8): 2162-2171.
68. Saijo R, Nonaka G, Nishioka I, Chen I-S, Hwang T-H. Tannins and Related Compounds, LXXXVIII: Isolation and Characterization of Hydrolyzable Tannins from *Mallotus japonicus* (Thunb.) Mueller-Arg, and *M. philippinensis* (LAM.) Mueller-Arg. Chem Pharm Bull. 1989; 37(11): 2940-2947.
69. Okuda T, Yoshida T, Kuwahara M, Memon MU, Shingu T. Agrimoniin and Potentillin, Ellagitannin Dimer and Monomer Having an α -Glucose Core. J Chem Soc Chem Commun. 1982: 163-164.
70. Yoshida T, Maruyama Y, Memon MU, Shingu T, Okuda T. Gemins A, B, and C, New Dimeric Ellagitannins from *Geum japonicum*. J Chem Soc Perkin Trans 1, 1985: 315-321.
71. Yoshida T, Tanaka K, Chen X-M, Okuda T. Hydrolyzable Tannins with Dehydrodigalloyl Group from *Rosa laevigata* Mischx. Chem Pharm Bull. 1989; 37(4): 920-924.
72. Yoshida T, Tanaka K, Chen X-M, Okuda T. Dimeric Ellagitannins, Laevigatins E, F and G, from *Rosa laevigata*. Phytochem. 1989; 28(9): 2451-2454.
73. Yoshida T, Jin Z-X, Okuda T, Hydrolyzable Tannin Oligomers from *Rosa davurica*. Phytochem. 1991; 30(8): 2747-2752.
74. Yoshida T, Feng W-S, Okuda T. Tannins and Related Polyphenols of Rosaceous Medicinal Plants, XII: Roshenins A-E, Dimeric Hydrolyzable Tannins from *Rosa henryi* Boul. Chem Pharm Bull. 1992; 40(8): 1997-2001.
75. Hatano T, Ogawa N, Shingu T, Okuda T. Rugosins D, E, F and G, Dimeric and Trimeric Hydrolyzable Tannins with Valoneoyl Group(s), from Flower Petals of *Rosa rugosa* Thunb. Chem Pharm Bull. 1990; 38(12): 3341-3346.
76. Yoshida T, Jin Z-X, Okuda T, Hydrolyzable Tannin Oligomers from *Rosa davurica*. Phytochem. 1991; 30(8): 2747-2752.
77. Yoshida T, Chen X-M, Hatano T, Fukushima M, Okuda T. Tannins and Related Polyphenols of Rosaceous Plants, IV: Roxbins A and B from *Rosa roxburghii* Fruits. Chem Pharm Bull. 1987; 35(5): 1817-1822.
78. Tanaka T, Tachibana H, Nonaka G, Nishioka I, Hsu F-L, Kohda H, Tanaka O, Tannins and Related Compounds, CXXII: New Dimeric Trimeric and Tetrameric Ellagitannins, Lambertianins A-D, from *Rubus lambertianus* Seringe. Chem Pharm Bull. 1993; 41(7): 1214-1220.

79. Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I. Tannins and Related Compounds, Part 28: Revision of the Structures of Sanguins H-6, H-2, and H-3, and Isolation and Characterization of Sanguin H-11, a Novel Tetrameric Hydrolysable Tannin, and Seven Related Tannins, from *Sanguisorba officinalis*. J Chem Res (M) 1985; 6: 2001-2029.
80. Hatano T, Hattori S, Okuda T. Tannins of *Coriaria japonica* A, Gray, I: Coriariins A and B, New Dimeric and Monomeric Hydrolyzable Tannins. Chem Pharm Bull. 1986; 34(10): 4092-4097.
81. Hatano T, Hattori S, Okuda T. Coriariins C, D, E and F, New Dimeric and Monomeric Hydrolyzable Tannins. Chem Pharm Bull. 1986; 34(11): 4533-4539.
82. Shimokawa H, Nonaka G, Nishioka I. Tannins of *Casuarina glauca*. Abstract Papers (2) of the 111th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan. 1991: 147; Abstract Papers of the 38th Annual Meeting of the Japanese Society of Pharmacognosy. 1991: p. 104.
83. Nonaka G, Nakayama S, Nishioka I. Tannins and Related Compounds, LXXXIII: Isolation and Structure of Hydrolyzable Tannins, Phillyraeoidins A–E from *Quercus phillyraeoides*. Chem Pharm Bull. 1989; 37(8): 2030-2036.
84. Nonaka G, Sakai T, Mihashi K, Nishioka I. Tannins and Related Compounds, CIX: Isolation of Alienanins A and B, Novel C, C-Linked Ellagitannin Dimers from *Quercus aliena* Blume. Chem Pharm Bull. 1991; 39(4): 884-888.
85. Penhoat CLMH, Michon VMF, Peng S, Viriot C, Scalbert A, Gage D. Structural Elucidation of New Ellagitannins from *Quercus robur* L. Roburins A–E. J Chem Soc. Perkin Trans 1 1991; 7: 1653-1660.
86. Yoshida T, Jin Z-X, Okuda T. Heterophyllins A, B, C, D and E, Ellagitannin Monomers from *Corylus heterophylla* Fisch. Chem Pharm Bull. 1991; 39(1): 49-54.
87. LIN T-C, Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I, Young T-J. Tannins and Related Compounds, CVIII: Isolation and Characterization of Novel Complex Tannins (Flavano-ellagitannins), Anogeissinin and Anogeissusins A and B, from *Anogeissus acuminata* (Roxb ex DC.) Guill. et Perr, var. *lanceolata* Wall. ex Clarke. Chem Pharm Bull. 1991; 39(5): 1144-1147.
88. Tanaka T, Morita A, Nonaka G, Lin T-C, Nishioka I, Ho F-C. Tannins and Related Compounds, CIII: Isolation and Characterization of New Monomeric, Dimeric and Trimeric Ellagitannins, Calamansanin and Calamanins A, B and C, from *Terminalia calamansanai* (Blanco) Rolfe. Chem Pharm Bull. 1991; 39(1): 60-63.
89. XU Y-M, Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I. Tannins and Related Compounds, CVII: Structure Elucidation of Three New Monomeric and Dimeric Ellagitannins, Flosin

- B and Reginins C and D, Isolated from *Lagerstroemia flos-regina* Retz. Chem Pharm Bull. 1991; 39(3): 647-650.
90. XU Y-M, Sakai T, Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I. Tannins and Related Compounds, CVI: Preparation of Aminoalditol Derivatives of Hydrolyzable Tannins Having α - and β -Glucopyranose Cores, and Its Application to the Structure Elucidation of New Tannins, Reginins A and B and Flosin A, Isolated from *Lagerstroemia flos reginae* Retz. Chem Pharm Bull. 1991; 39(3): 639-646.
 91. Tanaka T, Ueda M, Nonaka G, Nishioka I. Tannins from *Lagerstroemia indica* L. Abstract Papers of the 108th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan. 1988: p. 278.
 92. Kadota S, Takamori Y, Nyein KN, Kikuchi T, Tanaka K, Ekimoto H. Constituents of *Woodfordia fruticosa* Kurz, I: Isolation, Structure, and Proton and Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Signal Assignments of Woodfruticosin (Woodfordin C), an Inhibitor of Deoxyribonucleic Acid Topoisomerase II. Chem Pharm Bull. 1990; 38(10): 2687-2697.
 93. Yoshida T, Chou T, Matsuda M, Yasuhara T, Yazaki K, Hatano T, Nitta A, Okuda T. Woodfordin D and Oenothain A, Trimeric Hydrolyzable Tannins of Macro-ring Structure with Antitumor Activity. Chem Pharm Bull. 1991; 39(5): 1157-1162.
 94. Yoshida T, Chou T, Nitta A, Okuda T. Hydrolyzable Tannin Oligomers with Macrocyclic Structures, and Accompanying Tannins from *Woodfordia fruticosa* Kurz. Chem Pharm Bull. 1992; 40(8): 2023-2030.
 95. Yoshida T, Haba K, Nakata F, Okano Y, Shingu T, Okuda T. Tannins and Related Polyphenols of Melastomataceous Plants, III: Nobotanins G, H and I, Dimeric Hydrolyzable Tannins from *Heterocentron roseum*. Chem Pharm Bull. 1992; 40(1): 66-71.
 96. Yoshida T, Nakata F, Hosotani K, Nitta A, Okuda T. Tannins from *Melastoma malabathricum*. Phytochem. 1992; 31(8): 2829-2833.
 97. Yoshida T, Hatano T, Okuda T. Chromatography of Tannins, IV: Separation of Labile Oligomeric Hydrolysable Tannins and Related Polyphenols by Centrifugal Partition Chromatography. J Chromatogr. 1989; 467(1): 139-147.
 98. Yoshida T, Ikeda Y, Ohbayashi H, Ishihara K, Ohwashi W, Shingu T, Okuda T. Dimeric Ellagitannins in Plants of Melastomataceae. Chem Pharm Bull. 1986; 34(6): 2676-2679.
 99. Yoshida T, Ohwashi W, Haba K, Ohbayashi H, Ishihara K, Okano Y, Shingu T, Okuda T. Nobotanins B, C and E, Hydrolyzable Tannin Dimer and Trimers from *Tibouchina semidecandra* Cogn. Chem Pharm Bull. 1991; 39(9): 2264-2270.

100. Yoshida T, Ohbayashi H, Ishihara K, Ohwashi W, Haba K, Okano Y, Shingu T, Okuda T. Hydrolyzable Tannins from *Tibouchina semidecandra* Cogn. Chem Pharm Bull. 1991; 39(9): 2233-2240.
101. Nakata F, Yoshida T, Okuda T. Ellagitannins from *Tibouchina semidecandra*. Abstract Papers (2) of the 112th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, 1992: p. 206.
102. Yoshida T, Maruyama T, Nitta A, Okuda T. Eucalbanins A, B and C, Monomeric and Dimeric Hydrolyzable Tannins from *Eucalyptus alba* Reinw. Chem Pharm Bull. 1992; 40(7): 1750-1754.
103. Hatano T, Yasuhara T, Matsuda M, Yazaki K, Yoshida T, Okuda T. Oenothetin B, a Dimeric Hydrolysable Tannin with Macrocyclic Structure and Accompanying Tannins from *Oenothera erythrosepala*. J Chem Soc Perkin Trans 1. 1990; 10: 2735-2743.
104. Hatano T, Okonogi A, Yazaki K, Okuda T. Trapanins A and B, Oligomeric Hydrolyzable Tannins from *Trapa japonica* Flerov. Chem Pharm Bull. 1990; 38(10): 2707-2711.
105. Hatano T, Kira R, Yasuhara T, Okuda T. Tannins of Hamamelidaceous Plants, III: Isorugosins A, B and D, New Ellagitannins from *Liquidambar formosana*. Chem Pharm Bull. 1988; 36(10): 3920-3927.
106. Yoshida T, Hatano T, Ahmed AF, Okonogi A, Okuda T. Structures of Isorugosin E and Hirtellin B, Dimeric Hydrolyzable Tannins Having a Trisgalloyl Group. Tetrahedron. 1991; 47(22): 3575-3584.
107. Hatano T, Okonogi A, Okuda T. Oligomeric Hydrolyzable Tannins from *Liquidambar formosana* and Spectral Analysis of the Orientation of Valoneoyl Groups in Their Molecules. In: Plant Polyphenols. Synthesis, Properties, Significance (Hemingway R W and Laks P E, eds.), New York: Plenum Press. 1992: p.195.
108. Yoshida T, Tanei S, Liu Y-Z, Yuan K, Ji C-R, Okuda T. Hydrolyzable Tannins from *Loropetalum chinense*. Phytochem. 1993; 32(5): 1287-1292.
109. Yoshida T, Ahmed AF, Memon MU, Okuda T. New Monomeric and Dimeric Hydrolyzable Tannins from *Reaumuria hirtella* and *Tamarix pakistanica*. Chem Pharm Bull. 1991; 39(11): 2849-2854.
110. Ahmed AF, Yoshida T, Okuda T. Tannins of Tamaricaceous Plants, V: New Dimeric, Trimeric and Tetrameric Ellagitannins from *Reaumuria hirtella*. Chem Pharm Bull. 1994; 42(2): 246-253.

111. Yoshida T, Ahmed AF, Okuda T. Tamarixinins B and C, Dimeric Hydrolyzable Tannins from *Tamarix pakistanica*. *Phytochem.* 1993; 33(1): 197-202.
112. Hatano T, Ikegami Y, Shingu T, Okuda T. Camptothins A and B, New Dimeric Hydrolyzable Tannins from *Camptotheca acuminata* Decne. *Chem Pharm Bull.* 1988; 36(6): 2017-2022.
113. Hatano T, Ogawa N, Kira R, Yasuhara T, Okuda T. Tannins of Cornaceous Plants, I: Cornusiins A, B and C, Dimeric, Monomeric and Trimeric Hydrolyzable Tannins from *Cornus officinalis*, and Orientation of Valoneoyl Group in Related Tannins. *Chem Pharm Bull.* 1989; 37(8): 2083-2090.
114. Hatano T, Yasuhara T, Okuda T. Tannins of Cornaceous Plants, II: Cornusiins D, E and F, New Dimeric and Trimeric Hydrolyzable Tannins from *Cornus officinalis*. *Chem Pharm Bull.* 1989; 37(10): 2665-2669.
115. Hatano T, Yasuhara T, Abe R, Okuda T. Galloylated Monoterpene Glucoside and a Dimeric Hydrolyzable Tannin from *Cornus officinalis*. *Phytochem.* 1990; 29(9): 2975-2978.
116. Hatano T, Han L, Taniguchi S, Chou T, Shingu T, Sakagami H, Takeda M, Nakashima H, Murayama T, Yamamoto N, Yoshida T, Okuda T. Anti HIV Tannins from *Camellia japonica* and Related Plant Species. *Symposium Papers of the 34th Symposium on the Chemistry of Natural Products*, 1992: p. 510.
117. Yoshida T, Chou T, Maruyama Y, Okuda T. Camelliins A and B, Two New Dimeric Hydrolyzable Tannins from Flower Buds of *Camellia japonica* L. and *Camellia sasanqua* Thunb. *Chem Pharm Bull.* 1990; 38(10): 2681-2686.
118. Yoshida T, Chou T, Nitta A, Okuda T. Monomeric and Dimeric Hydrolyzable Tannins Having a Dilactonized Valoneoyl Group from *Schima wallichii* Koeth. *Chem Pharm Bull.* 1991; 39(9): 2247-2251.
119. Nonaka G, Sakai T, Tanaka T, Mihashi K, Nishioka I. Tannins and Related Compounds, XCVII, Structure Revision of C-Glycosidic Ellagitannins, Castalagin, Vescalagin, Casuarinin and Stachyurin, and Related Hydrolyzable Tannins. *Chem Pharm Bull.* 1990; 38(8): 2151-2156.
120. Yoshida T, Chou T, Shingu T, Okuda T. Oenothin D, F and G, hydrolysable tannin dimers from *Oenothera laciniata*. *Phytochem.* 1995; 40(2): 555-561.
121. Lee MH, Nishimoto S, Yang LL, Yen KY, Hatano T, Yoshida T, Okuda T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. *Phytochem.* 1997; 44(7): 1343-1349.
122. Chen LG, Yen KY, Yang LL, Hatano T, Okuda T, Yoshida T. Macrocyclic ellagitannin dimers, cuphiins D1 and D2, and accompanying tannins from *Cuphea hyssopifolia*.

- Phytochem. 1999; 50(2): 307-312.
- 123.谷口抄子, 波多野 力, 矢崎一史. 木本性植物の組織培養によるタンニン生産と生合成. 木材学会誌. 2006; 52(2): 67-76.
- 124.Salminen JP, Ossipov V, Haukioja E, Pihlaja K. Seasonal variation in the content of hydrolysable tannins in leaves of *Betula pubescens*. Phytochem. 2001; 57(1): 15-22.
- 125.Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, Yoshida T, Okuda T. Effect of the Interaction of Tannins with Co-existing Substances, VI, Effects of Tannins and Related Polyphenols on Superoxide Anion Radical, and on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical. Chem Pharm Bull. 1989; 37(8): 2016-2021.
- 126.Mori S, Hotta M. 植物の世界. 朝日新聞社, 1997.
- 127.Yoshida T, Yoshimura M, Amakura Y. Chemical and Biological Significance of Oenothien B and Related Ellagitannin Oligomers with Macrocyclic Structure. Molecules. 2018; 23(3): 552-572.

本研究に関わる論文および学会発表

論文

1. Barricyclin D1-a dimeric ellagitannin with a macrocyclic structure-and accompanying tannins from *Barringtonia racemosa*. Yoshikawa S, Chen LG, Yoshimura M, Amakura Y, Hatano T, Taniguchi S, Biosci Biotechnol Biochem. 2021 Jun 24;85(7):1609-1620. (2021年 IF 2.043)

謝辞

本研究を終えるにあたり，貴重な知識のご教授や研究結果に対する考察等，長きにおいてご指導ご鞭撻を賜りました岡山大学 波多野 力 名誉教授に心より感謝致します。

博士論文をまとめるにあたり，ご指導，ご助言をいただきました岡山大学学術研究院医歯薬域 久保田 高明 教授に心より感謝致します。

また，博士論文のまとめだけでなく，研究の遂行にあたり多方面にご尽力いただいた岡山大学学術研究院医歯薬域 谷口 抄子准教授に深く感謝致します。

さらに，研究することの楽しさや苦しさを教えていただいた岡山大学 奥田 拓男 名誉教授，吉田 隆志 名誉教授に深く感謝致します。

最後になりましたが，研究生生活のなかで，共に切磋琢磨し，支えていただきました諸先輩，同輩，後輩の皆様心より感謝致します。

サガリバナを通じて，こうした皆様との出会いが私に幸運をもたらせてくださったのだと思います。本当に有難うございました。

令和5年9月 吉川伸仁

化合物番号

1. barrington M1
2. barrington D1
3. barrington D2
4. barrington D3
5. barricyclin D1
6. camelliin B
7. oenothain B
8. woodfordin C
9. valoneic acid dilactone
10. schimawalin A
11. 2,3-HHDP-glucose
12. oenothain C
13. woodfordin I
14. oenothain A
15. woodfordin D
16. woodfordin E
17. woodfordin F
18. tellimagrandin I
19. casuarictin