

生薬・天然資源からの新規創薬シード探索研究
－桂皮及び紅旱蓮、金糸桃、
並びにオトギリソウ属関連植物の成分研究－

2021

丹羽 莞慈

本文中、以下の略語および略号を用いた。

Bu	butyl
BuOH	butanol
calcd	calculated
CC	column chromatography
CD	circular dichroism
con A	concanavalin A
COSY	correlated spectroscopy
DFT	density functional theory
DMSO	dimethyl sulfoxide
DMT-MM	4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride
2D NMR	two dimensional nuclear magnetic resonance
ECD	electronic circular dichroism
EtOAc	ethyl acetate
ESI	electrospray ionization
exptl	experimental
fr.	fraction
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HPLC	high performance liquid chromatography
HR	high resolution
HSQC	heteronuclear single-quantum correlation
<i>i</i> -	iso
IR	infrared
<i>J</i>	coupling constant
Me	methyl
MeCN	acetonitrile
mmu	milli mass unit
MS	mass spectrometry
MTPA	α -methoxy- α -(trifluoromethyl)phenylacetic
<i>n</i> -	normal
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear Overhauser enhancement spectroscopy
ODS	octadecylsilyl
OR	optical rotatio
Pr	propyl
PrOH	propanol

ROESY	rotating frame nuclear Overhauser effect spectroscopy
<i>sec</i>	secondary
TD	time dependent
<i>tert</i>	tertiary
TFA	trifluoroacetic acid
UV	ultraviolet
VCD	vibrational circular dichroism

生薬・天然資源からの新規創薬シード探索研究
-桂皮及び紅旱蓮、金糸桃、並びにオトギリソウ属関連植物の成分研究-

目次

緒言

第 1 章 生薬・天然資源に含まれる天然物について

第 2 章 桂皮成分に関する研究: 新規ジテルペン及びセスキテルペンの化学構造並びに生物活性

第 1 節 序論

第 2 節 抽出・分離

第 3 節 既知化合物の同定

第 4 節 新規ジテルペン (1-5) の構造解析

第 1 項 Cinncassiol H (1) 及び I (2) の構造解析

第 2 項 Cinncassiol D₅ (3) 及び D₆ (4)、並びに 18-hydroxycinnzeylanol (5) の構造解析

第 3 項 Cinncassiol H (1) 及び I (2) 並びに関連ジテルペンの生合成に関する考察

第 5 節 新規セスキテルペン cinnamcassiol A (6) 及び B (7) の構造解析

第 6 節 生物活性評価

小括

第3章 紅旱蓮及び金糸桃の成分に関する研究

第1節 序論

- 1) オトギリソウ属植物及びそれらを基原とする漢薬
- 2) *Hypericum* 属植物の特徴的成分について
 - 2.1) アシルフロログルシノール誘導体
 - 2.2) ジアンスロン誘導体
 - 2.3) キサントン
 - 2.4) メロテルペン

第2節 紅旱蓮から単離した新規ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体及び新規アシルフロログルシノール誘導体の化学構造と生物活性

第1項 抽出・分離

第2項 既知化合物の同定

第3項 新規ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体 (17-24) の構造解析

- 1) Hyperdioxane A (17) 及び B (18) の構造解析
- 2) Hyperdioxane A (17) 及び B (18) の生合成に関する考察
- 3) (+)-Sampson B (24)、hyperdioxane C (19) 及び D (20) の構造解析
- 4) Hyperdioxane E-G (21-23) の構造解析

第4項 新規アシルフロログルシノール誘導体 (25-30) の構造解析

- 1) Hypascylin A-E (25-29) 及び *ent*-hyphenrone J (30) の平面構造及び相対立体配置の帰属
- 2) Hypascylin A-E (25-29) 及び *ent*-hyphenrone J (30) の絶対立体配置の帰属
- 3) Hypascylin A-E (25-29) 及び *ent*-hyphenrone J (30) の生合成に関する考察

第5項 生物活性評価

第3節 金糸桃由来の新規メロテルペンの化学構造

第1項 抽出・分離

第2項 既知化合物の同定

第3項 新規メロテルペン (48-55) の構造解析

- 1) Merohyperin A-C (48-50) の構造解析
- 2) 4-*epi*-Hyperolactone A-C (51-53) の構造解析

- 3) Hyperolactone E (**54**) 及び 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) の構造解析
- 4) Merohyperin B (**49**) 及び C (**50**)、4-*epi*-hyperolactone A–C (**51–53**)、hyperolactone E (**54**)、並びに 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) の生合成に関する考察

小括

第 4 章 カンムリオトギリの地上部から単離した新規ケチド化合物の化学構造

第 1 節 序論

- 1) カンムリオトギリについて
- 2) 植物の倍数操作について

第 2 節 抽出・分離

第 3 節 既知化合物の同定

第 4 節 新規ケチド化合物 (**63–68**) の構造解析

- 第 1 項 Frondhyperin A–D (**63–66**) の構造解析
- 第 2 項 Frondhyperin E (**67**) 及び F (**68**) の構造解析

第 5 節 Frondhyperin A–D (**63–66**) の生合成に関する考察

小括

結語

謝辞

実験の部

参考文献

Supplementary data

緒言

植物や微生物が産生する天然物は構造の多様性が高く、様々な生物活性を示すことから、医薬品開発、特に感染症治療薬、抗菌剤や抗癌剤の開発に創薬シーズとして大きく貢献してきた¹。現在、SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) により引き起こされた COVID-19 (Coronavirus disease 2019) は世界中で蔓延しており、感染者が9千万人、死者数が200万人にも登っている。この SARS-CoV-2 に対する治療薬の開発は喫緊の課題である。天然物はその治療薬シーズとして注目されており、既存の天然物由来の医薬品の SARS-CoV-2 に対する作用の評価が行われている。その結果、2015年にノーベル生理学賞を受賞した大村らによって開発された抗生物質 ivermectin、イチイ科植物イヌガヤ (*Cephalotaxus harringtonii*) から単離された慢性骨髄性白血病の治療薬 homoharringtonine、並びにアカネ科植物トコン (*Psychotria ipeacacuanha*) の根から単離された抗原虫薬 emetine 等の天然物に一定の抗 SARS-CoV-2 活性が見出されており²、ivermectin については臨床試験が行われている。これらは未だ、SARS-CoV-2 治療薬の開発には繋がっていないが、天然物は創薬において重要な役割を果たし続けていることを示している。

一方、生薬が示す多様な薬能は、主成分の生物活性だけでは説明できない場合が多く、主成分以外の天然物が関与している³。加えて、詳細な生薬成分探索研究により、ユニークな化学構造を有し、多様な生物活性を示す天然物が見出されている⁴。分離機器や解析技術の発展により、これまでよりも微量成分の探索が可能になった現代において、既に成分が研究しつくされているとみなされている生薬においても、改めて主成分以外の天然物にも着目した成分研究を行う必要があると考えられる。

近年、細菌等の微生物の二次代謝におけるエピジェネティクス制御や遺伝子導入による新規創薬シード探索が精力的に行われているが⁵、植物における検討は栽培や変異種の作成が困難であることから、ほとんど行われていない。一方で、天然資源における有効成分の効率的生産を目的に、コルヒチンを用いた倍数操作により、有効成分を高含量に含む倍数体種の開発が行われている⁶。このような倍数体植物の詳細な成分研究例はほとんど無く、その成分組成に興味を持たれる。

上記の背景を踏まえ、著者は創薬シードの単離を目指し、生薬・天然資源に含まれる天然物の探索を行った。加えて、コルヒチン処理により作成された倍数体植物の含有成分に興味を持ち、その詳細な成分探索を行った。

第1章 生薬・天然資源に含まれる天然物について

生薬は非常に複雑な成分組成を有しており、生薬が示す多様な薬効は主成分の生物活性だけでは説明できない場合が多く、主成分以外の天然物はその活性に大きく関与している。

麻黄 (Ephedrae Herba) はマオウ科シナマオウ *Ephedra sinica* STAPF、*E. intermedia* SCHRENK、又は *E. equisetina* BUNGE の地上茎を乾燥させたもので、咳や発熱、鼻炎、身体痛の治療を目的とした漢方製剤に用いられている⁷。麻黄の気管支拡張や鼻粘膜充血除去作用には主成分として含まれるアドレナリン受容体刺激作用を有するエフェドリンアルカロイド (-)-ephedrin (I.1) や (+)-pseudoephedrin (I.2) が寄与すると考えられており、日本薬局方においても I.1 及び I.2 を含むアルカロイドの含量が 0.7 %以上と規定されている。一方、江戸時代中期の代表的な古方派、吉益東洞が自らの経験に基づき記した「薬徴」では、「喘咳、水気を主治するなり。傍ら悪風、悪寒、無汗、身疼、骨節痛、一身黄胆を治す。」と記載されており、下線部の薬効は主成分として含まれるエフェドリンアルカロイドで説明できるが、身疼、骨節痛に対する薬効、即ち鎮痛作用を示す天然物は明らかにされていない。

日向らは麻黄エキスが示す鎮痛作用には主成分以外の天然物が寄与していると考え、陽イオン交換樹脂を用いたカラムクロマトグラフィーにより調製したエフェドリンアルカロイド除去エキスの鎮痛作用を評価した。その結果、エフェドリンアルカロイド除去エキスが TRPV1 (熱侵害受容体) 刺激作用を示し^{3a}、またマウスを用いた formalin 誘発 paw licking 法における第二相の疼痛反応を抑制することが明らかになった^{3b} (Figure 1.1)。この日向らの研究成果は生薬が示す薬効に主成分以外の天然物が寄与していることを示す好例であると考えられる。

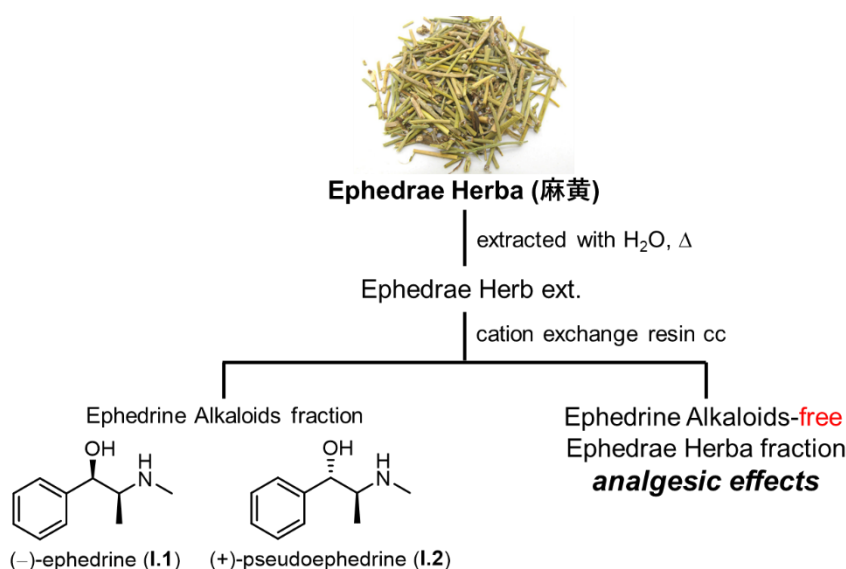


Figure 1.1. Analgesic effect of ephedrine alkaloids-free Ephedrae Herba extract.

この他にも、生薬や民間薬として使われる薬用資源からユニークな化学構造や生物活性を有する天然物が報告されている。以下にその一例を示す。

1) 当帰 (*Angelica acutiloba* 及び *A. sinensis*) から単離されたフタリド

日本ではセリ科植物トウキ *Angelica acutiloba* の根を、中国では *A. sinensis* の根を基原とする生薬・当帰が補血調経、活血行気の薬能を期待して用いられている。当帰の主成分はフタリド ligustilide (**1.3**) であり、日本薬局方 (第 18 局方より) の確認試験の指標成分となっている⁸。また、**1.3** の [2+2] あるいは [4+2] 環化付加により生合成された、多環式の骨格を持つフタリド二量体 (**1.4**)^{4a} 及び三量体 (**1.5**)^{4c} 等が報告されている。主成分である単量体の **1.3** には中枢抑制作用、向精神作用、血小板凝集阻害作用が見出されている一方で、**1.4** は単量体には見られないプロゲステロン様作用が報告されており^{4a}、婦人薬として用いられる当帰の薬能に寄与している可能性がある。

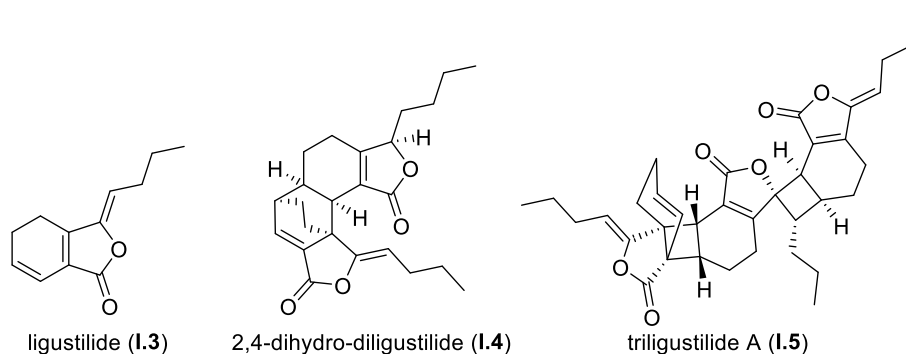


Figure 1.2. The structures of major (**1.3**) and minor compounds (**1.4** and **1.5**) contained in *Angelica acutiloba* and *A. sinensis*.

2) 十薬 (*Houttuynia cordata*) から単離されたフラボノイド

ドクダミ (ドクダミ科) の開花期地上部を基原植物とする生薬・十薬は、慢性皮膚疾患やウイルス性疾患に民間薬として広く用いられている。本植物には、フラボノイド配糖体や houttuynin (**1.6**) が主に含まれている⁹。Houttuynoid A (**1.8**)^{4c} は、フラボノール配糖体 hyperoside (**1.7**) と **1.6** の複合体構造を有する天然物であり、顕著な抗単純ヘルペスウイルス活性を示した。さらに水痘帯状疱疹ウイルスや HSV-2 ウイルスなど幅広いヘルペスウイルスに対しても阻害活性を示すことが明らかとなっていることから¹⁰、その解明に向けた研究が進められている。また、**1.8** と類縁化合物の全合成が 2018 年に達成されたほか、構造活性相関研究も展開されている¹¹。

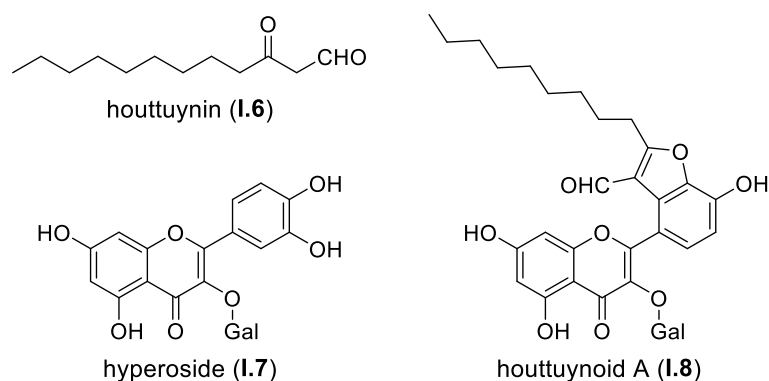


Figure 1.2. The structures of major (I.6 and I.7) and minor (I.8) compounds contained in *Houttuynia cordata*.

このように、生薬・天然資源の多様な薬能には、主成分以外の天然物の寄与が示唆されいるが、分離・分析が困難であることから詳細な成分組成の解明には至っておらず、完全な成分の組成が明らかになった生薬は皆無である。それらを新しい創薬シードとして注目した詳細な成分研究を行う必要があると考えられる。

以上の背景の下、著者は創薬シードの単離を目的に、漢薬として繁用される「桂皮」、並びに「紅旱蓮」及び「金糸桃」に含まれる主成分以外の天然物に着目した成分研究を行った。

さらに、コルヒチン処理により作成された倍数体植物が生産する特異な二次代謝成分の発見を期待し、後二者と同属植物の四倍体種であるカンムリオトギリについて詳細な成分研究を行った。

第 2 章 桂皮成分に関する研究: 桂皮由来の新規ジテルペン及びセスキテルペンの化学構造並びに生物活性

第 1 節 序論

1) 桂皮について

桂皮 (Cinnamomi Cortex) はクスノキ科植物 *Cinnamomum cassia* の樹皮を基原とする繁用生薬の一つである。C. cassia は主に中国南西部やベトナム南部で栽培されており、日本の市場では中国で栽培された「広南桂皮」及び「東興桂皮」が広く流通している¹²。

桂皮は、神農本草経^{*1)} において「菌桂」及び「牡桂」が上品に収載されている。また、神農本草経集注^{*2)} では、桂類生薬として「菌桂」、「牡桂」に加えて「桂」の記載があり、特に「桂」は、入薬最多と記載され、当時最も一般的に使用されていたと考えられている。また、名医別録^{*3)} で「桂は味が甘、辛、性が大熱、小毒がある。中を温め、肝肺の氣を利し、心腹の寒熱、冷疾、霍乱、転筋、頭痛、腰痛を主る。汗を出し、煩を止め、唾、欬嗽、鼻鼾を止め、能く墮胎させ、骨節を堅くし、血脈を通じ、疎不足を理す。百薬を宣導し、畏れる所は無い。久しく服すれば、神仙となり老いは無い。」とその薬能が記載されている¹³。

桂皮は風邪症状に用いられる葛根湯、桂枝湯、小青竜湯や、胃痛などに用いられる安中散や黄連湯などの処方に配剤されていることから、一般的には、芳香性健胃駆風薬と認識されている¹²。しかしながら、漢方医学的には、発汗解表、通用化気に加え、温通経脈、温裏祛寒、平衡降逆、補腎陽などの薬能も期待され、婦人薬の桂枝茯苓丸や、利尿薬の苓桂朮甘湯、腎炎などにも適用される五苓散や八味丸など、全方剤の 30%を超える処方に配剤される幅広い薬能を有する生薬である。また、桂皮水製エキスには、解熱作用¹⁴、抗補体作用¹⁵、免疫抑制作用¹⁶ に加え、in vitro におけるリンパ球の増殖刺激作用¹⁷ 等が報告されている。

(補足)

*1 「神農本草経」は中国最古の薬物学 (本草学) 書であり、一年の日数に合わせた 365 種の薬物を長期服用が可能な養命薬の上品 (120 種)、使い方次第では毒にもなる養性薬の中品 (120 種)、毒性が強く、長期服用が不可能な治病薬の下品 (125 種) の三種類に分類している。

*2 「神農本草経集注」は陶弘景がそれまでの本草書の記載を整理するとともに、自注を加えて計 730 薬を収載したものである。

*3 「名医別録」は陶弘景が神農本草経に収載される 365 薬とその条文を抽出し、編纂したものである。

2) 桂皮成分について

桂皮には主精油成分として約 2–3% の cinnamaldehyde が含有されている¹⁸。またプロシアニジン類が 10% 程度含有されている¹⁹。この他にも桂皮からは、リグナンを始めとした芳香族化合物、セスキテルペンやジテルペン等が多数報告されている。以下に桂皮及び *C. cassia* から単離報告された化合物の化学構造及び生物活性について述べる。

2.1) 芳香族化合物

主精油成分である cinnamaldehyde (II.1) に加え、関連化合物として II.2–II.5 が報告されている²⁰ (Figure 2.1)。II.1 には免疫抑制及び抗酸化活性²¹、チロシナーゼ阻害作用²⁰、並びに抗菌活性²² 等の多様な生物活性が見出されている他、TRPA1 (冷侵害受容体) を刺激することで、末梢血管の拡張による放熱、発汗等を引き起こす²³ ことが知られている。

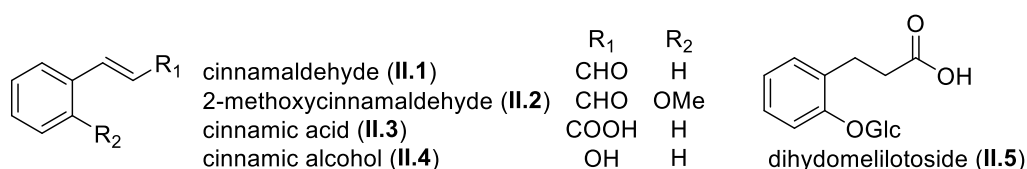


Figure 2.1. Cinnamaldehyde (II.1) and its analogues (II.2–II.5) isolated from Cinnamomi Cortex.

桂皮からは tetrahydronaphthalene 型及び 2,6-diarylhexahydrofuranofuran 型リグナンが多数報告されている²⁴。一方、*C. cassia* の葉からは 1,2-dioxetane 部分を有する cinnacassin J (II.6)、tetrahydrofuran 部分を持つ cinnacassin M (II.7) 等のネオリグナンや、フラボノール配糖体とリグナンの複合体構造を有する cinnamomoside A (II.8) などの天然物として珍しい構造を有するリグナン及びネオリグナンが報告されている²⁵ (Figure 2.2)。II.6 はヒト神経芽細胞の tunicamycin 誘導細胞死を阻害する神経保護作用を示すことが報告されている。

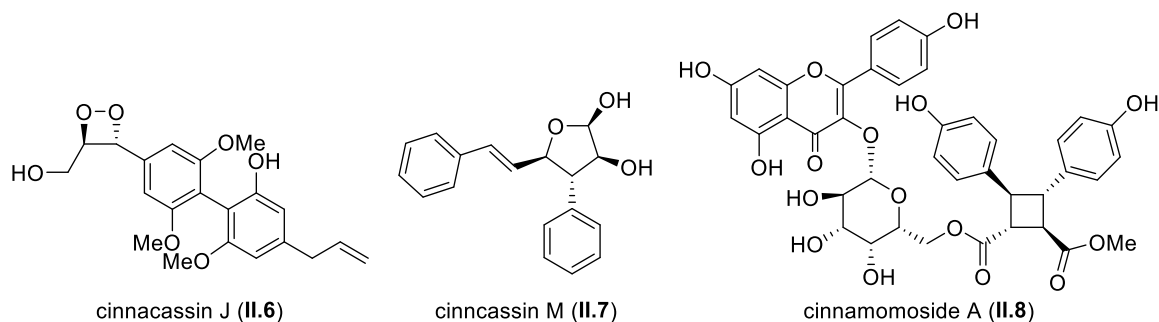


Figure 2.2. Neolignans (II.6 and II.7) and flavonoid-lignan conjugate (II.8) isolated from the leaves of *C. cassia*.

桂皮からは、プロシアニジン構成ユニットの (-)-epicatechin (II.9)、プロシアニジン二量体の procyanidin B-2 (II.10)、三量体の procyanidin C-1 (II.11)、四量体の cinnamtannin A₄ (II.12)、などの B 型プロシアニジン類が報告されている¹⁹ (Figure 2.3)。これらには protein

kinase 活性の抑制作用²⁶ や抗酸化作用²⁷ などが見出されている。また、Tempesta らは A 型結合を有するプロアントシアニジン四量体 cassiatannin A (II.13) を報告しているが²⁸、A 型結合を有するプロアントシアニジンは *C. cassia* と同属の *C. zeylanicum* 及び *C. sieboldii* の主プロアントシアニジンであり²⁹、これらは *C. cassia* には含有されないとの報告があることから、植物基原が誤っている可能性が考えられる。

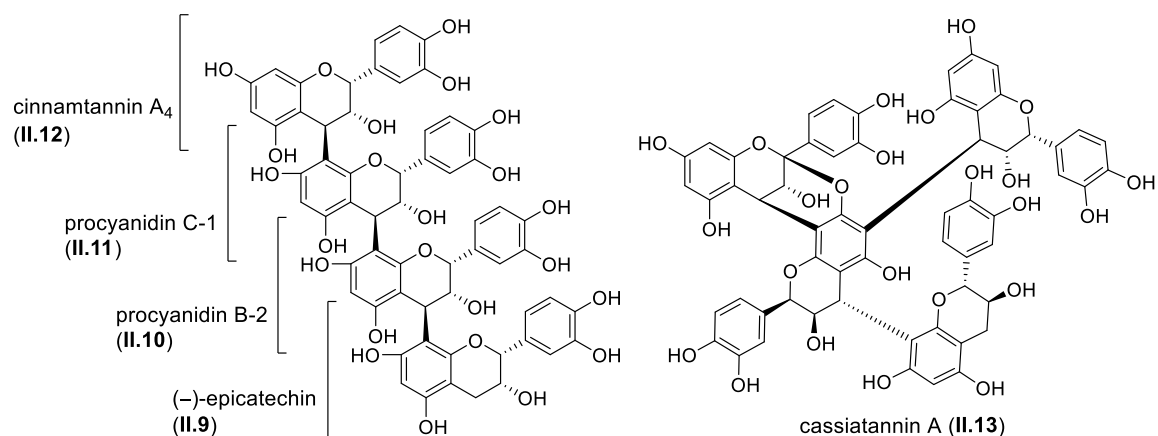


Figure 2.3. Proanthocyanidins (II.9–II.13) isolated from Cinnamomi Cortex.

桂皮に特徴的な芳香族化合物として、 α,β -diphenyl- γ -butyrolactone 構造を有する cinnamomulactone (II.14)³⁰ 及び cinnassin A (II.15)²⁵ や tetrahydrofurane 部分を有するゲラニルフェニル酢酸配糖体 cinnacaside A (II.16)³¹ が単離されている (Figure 2.4)。このうち、II.15 には II.5 と同様の神経保護作用が²⁵、II.16 には免疫刺激下のマウス脾臓細胞において弱い T 細胞及び B 細胞増殖阻害活性³² が見出されている。

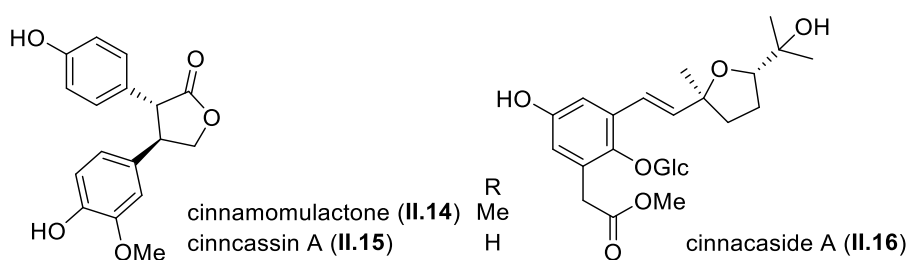


Figure 2.4. Phenolic compounds (II.14–II.16) isolated from Cinnamomi Cortex.

2.2) セスキテルペン

桂皮からはメガスティグマン型 (II.17) 及びカジナン型 (II.18) セスキテルペンを始めとし、様々な骨格を有するセスキテルペン (II.19–II.22) が報告されている³³ (Figure 2.5)。Yanらは桂皮から単離したセスキテルペンの抗糖尿病性腎炎作用を評価しており、高グルコース刺激系球体メサンギウム細胞において、II.19–II.21 存在下ではフィブロネクチン (単球走化性タンパク-1 及びインターロイキン-6) の発現が抑制されることを見出している^{33b}。

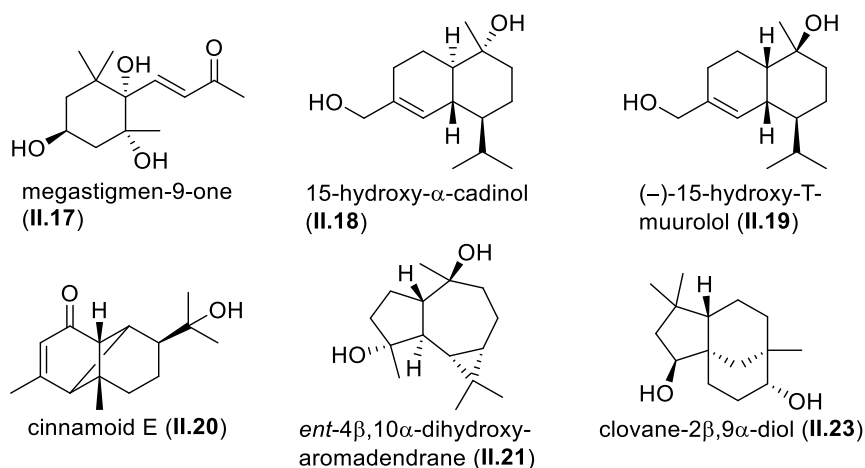


Figure 2.5. Sesquiterpenes (II.17–II.23) isolated from Cinnamomi Cortex.

2.3) ジテルペン

当研究室の柏田らは過去に桂皮水製エキスから、高度に酸化され、複雑に縮環したユニークな化学構造を有する一連のジテルペン (II.24–II.31) を単離し報告している^{15,34} (Figure 2.6)。なお、2017 年に Fraga らによってクスノキ科植物 *Persea indica* の地上部から cinncassiol E (II.31) が単離され、最初に報告した構造が訂正された³⁵。

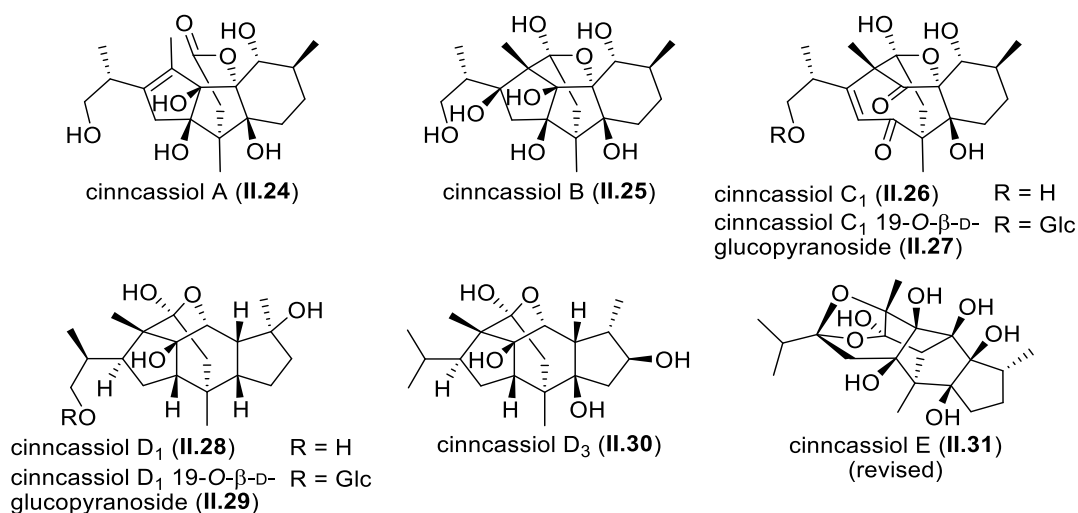
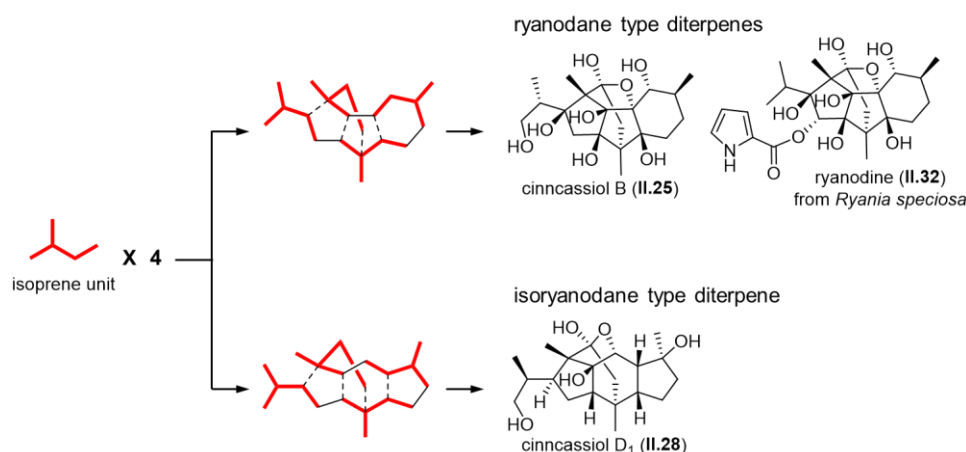


Figure 2.6. Diterpenes (II.24–II.31) isolated from Cinnamomi Cortex by our group.

上記の桂皮ジテルペンのうち、cinncassiol B (II.25)^{34a} はイイギリ科植物 *Ryania speciosa* から既に報告されていた ryanodine (II.32)³⁶ と同一の 6/5/5/6 四環性炭素骨格を有することからリアノダン型に分類される (Scheme 2.1)。一方、cinncassiol D₁ (II.28)^{34b,c} は柏田らによって見いだされた新規な 5/6/5/6 四環性炭素骨格を有しており、リアノダン型ジテルペンとの生合成的な関連から、イソリアノダン型に分類される。



Scheme 2.1. Possible biogenetic pathway of ryanodane and isoryanodane type diterpenes.

また、cinncassiol A (II.24)¹⁵ 及び C₁ (II.26)^{34d} は、それぞれリアノダン型ジテルペンの C-11/C-12 間、および C-7/C-8 間の炭素結合が開裂した骨格を有している (Figure 2.7)。さらに、cinncassiol E (II.31)^{34f,35} はイソリアノダン型ジテルペンの C-12/C-13 間の炭素結合の開裂、C-6/C-10 間の炭素結合の形成を経て構築される炭素骨格を有し、転位型イソリアノダン型ジテルペンに分類される。

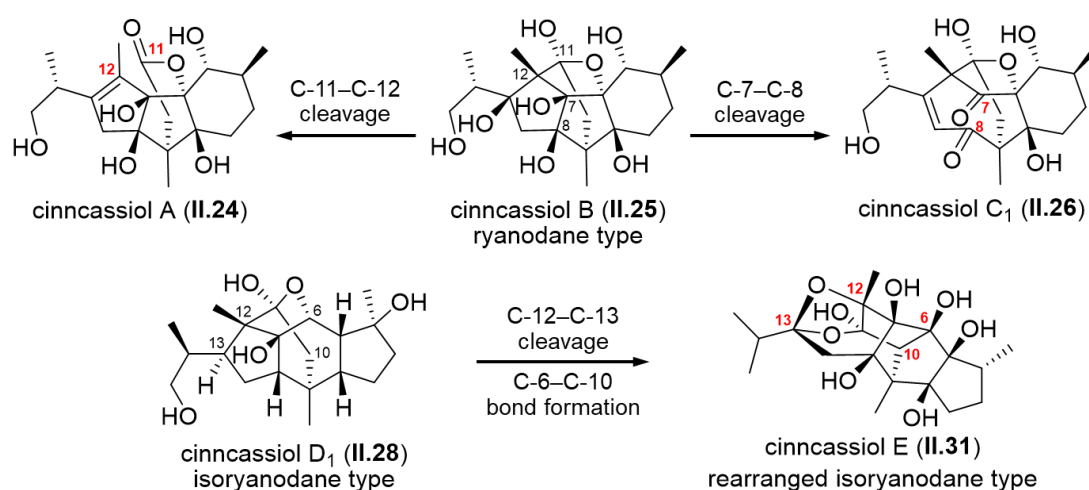


Figure 2.7. Carbon skeleton relationships of cinncassiol A–E.

これら桂皮ジテルペンの特異な化学構造に注目が集り、関連化合物の探索研究が盛んに行われた結果、*C. cassia* の樹皮³⁷ や葉³⁸、果実³⁹ から Figure 2.8 に示したジテルペンが見出されている。なお、葉から単離された cinnamomol A³⁸ は II.31^{34f,35} と同一の構造を有することから、本論文では cinnassiol E として扱う。これらジテルペンのうち、cinnassiol E (II.31) に加え F (II.33)³⁷、並びに cassiabudanol B (II.35)³⁹ は *C. cassia* から報告されているジテルペンの中でも特に複雑な環化様式を有しており、その生合成的な観点から、いずれも転位型ジテルペンに分類される。また、II.31³⁸ 及び II.35³⁹ は免疫刺激作用が報告されており、concanavalin A 刺激後のマウス脾臓細胞に添加することで、T 細胞の増殖及び Treg 細胞の減少が観察されている^{38,39}。一方、II.34³⁷ には同アッセイ系において免疫抑制作用が報告されている。

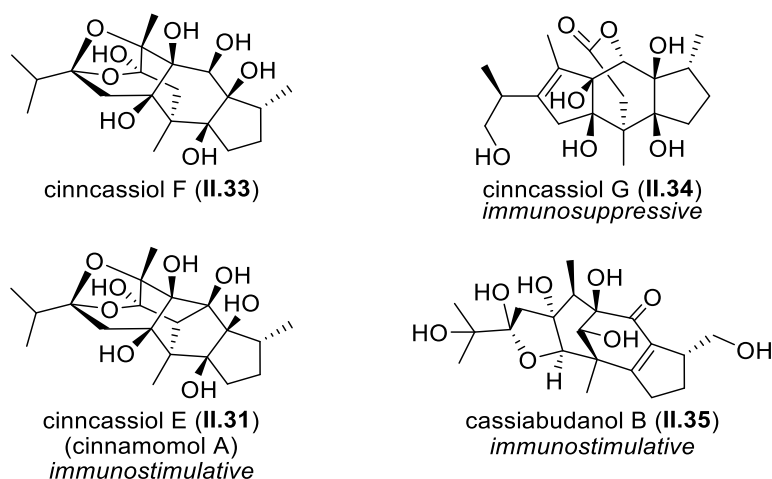
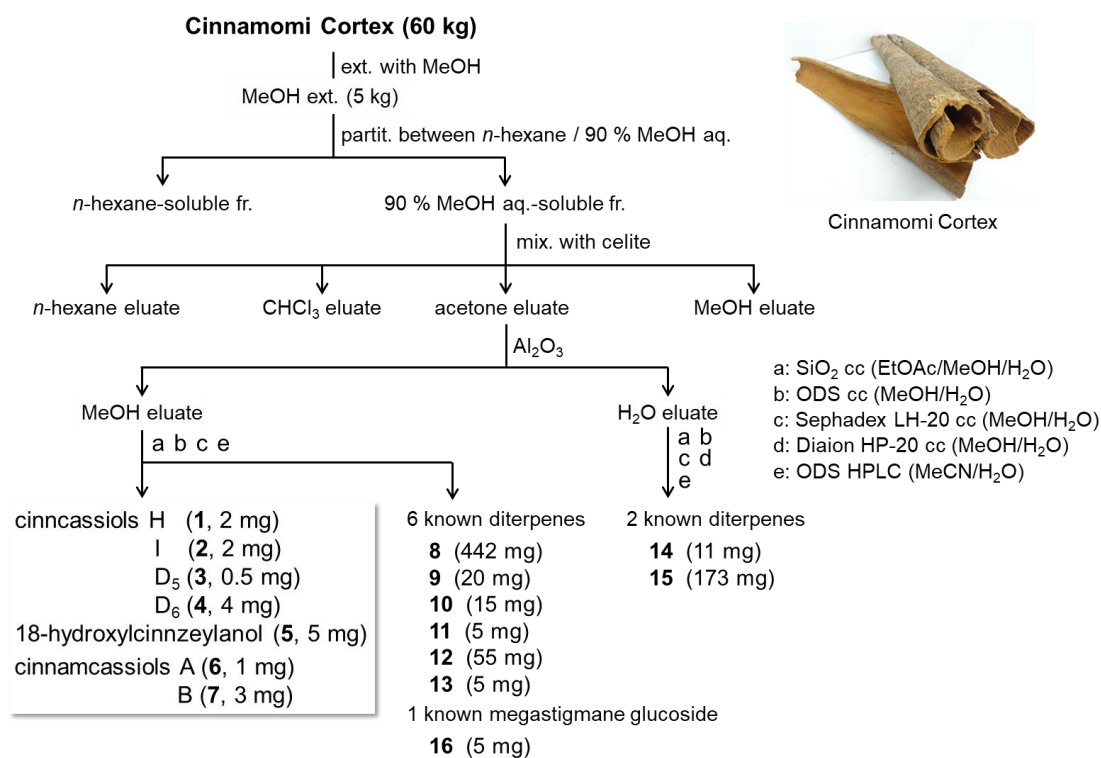


Figure 2.8. Diterpenes (II.31 and II.33–II.35) previously isolated from the barks, leaves, and buds of *Cinnamomum cassia*.

桂皮は多くの漢方処方に配合されているが、これらの方剤において桂皮はその主成分として含まれる cinnamaldehyde やプロシアニジン類の生物活性のみでは説明できない薬能が期待されて用いられている。また近年、桂皮から単離されたセスキテルペン (II.19–II.21)^{33b} やジテルペン (II.31, II.34, and II.35)^{37–39} に抗糖尿病性腎炎作用や免疫調節作用が見出されていることから、桂皮が有する多様な薬理活性に主成分以外の天然物が関与していると考えられる。そこで著者は、桂皮に含まれるユニークな化学構造および生物活性を有する天然物の詳細な探索研究を行った。

第2節 抽出・分離

桂皮 (東興桂皮, 60 kg) を MeOH で抽出し、エキスを得た。これを *n*-hexane と 90 % MeOH で分配した後、90 % MeOH 層をセライトと混和し、*n*-hexane、CHCl₃、acetone、MeOH の順に溶出させた。混在するタンニン類を除去するため、acetone 溶出部を Al₂O₃ に吸着させ、MeOH 溶出部と H₂O 溶出部に分画した。両画分をそれぞれ、silica gel、ODS、Sephadex LH-20、Diaion HP-20 カラムを用いて分離した後、ODS HPLC で精製し、5 種の新規ジテルペン cinnassiol H (1)、I (2)、D₅ (3)、D₆ (4)、並びに 18-hydroxycinnzeylanol (5) と 2 種の新規セスキテルペン cinnamcassiol A (6) 及び B (7) を単離した (Scheme 2.2)。また、新規化合物を単離する過程で既知化合物 8 種 (8-16) を単離した (Figure 2.9)。



Scheme 2.2. Isolation of new diterpenes (1–5) and sesquiterpenes (6 and 7) from Cinnamomi Cortex.

第3節 既知化合物の同定

7種の既知ジテルペン cinnzeylanol (**8**)⁴⁰、cinnzeylanine (**9**)⁴⁰、cinncassiol B (**10**)^{34a}、**C**₁ (**11**)^{34d}、**D**₁ (**12**)^{34b,c}、**D**₄ (**13**)^{34e}、**D**₂ 19-O-β-D-glucopyranoside (**14**)^{34c}、並びに **A** (**15**)¹⁵、1種のメガスティグマン配糖体 roseoside (**16**)⁴¹ を各種スペクトルデータを文献値と比較することで同定した (Figure 2.9)。

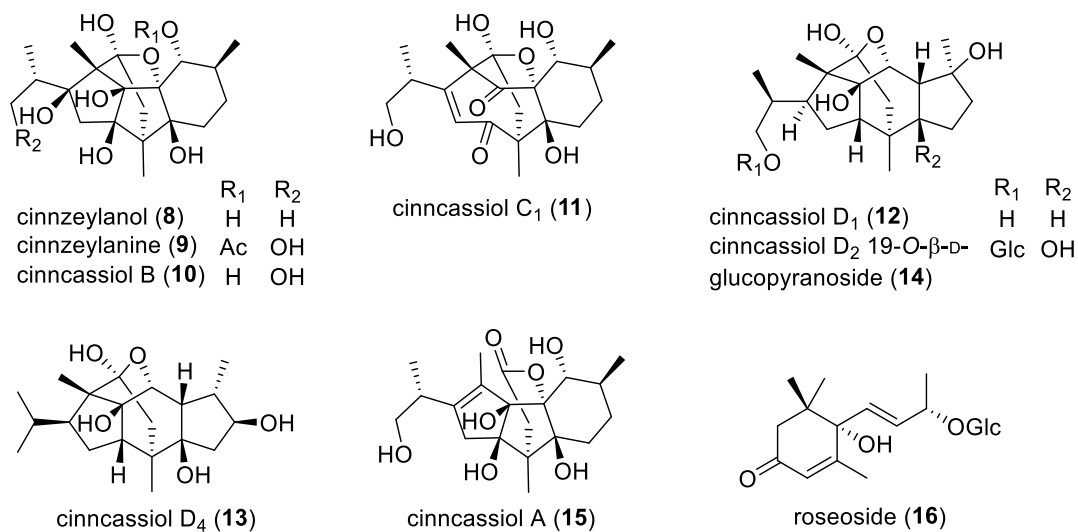


Figure 2.9. Structures of known compounds (**8–16**) isolated from Cinnamomi Cortex.

第4節 新規ジテルペン (1-5) の構造解析

第1項 Cinnassiol H (1) 及び I (2) の構造解析

Cinnassiol H (1) は光学活性 $\{[\alpha]_D^{26} +39.9 (c 0.10, \text{MeOH})\}$ な無色非結晶性固体として得られた。HRESIMS より、1 の分子式を $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_8 (m/z 419.1687 [\text{M}+\text{Na}]^+, \Delta+0.5 \text{ mmu})$ と帰属した。IR スペクトルからは水酸基 (3413 cm^{-1}) とカルボニル基 (1684 cm^{-1}) の存在が示唆された。 ^1H NMR スペクトルでは1個のオキシメチン、1個のオキシメチレン、3個の sp^3 メチン、2個の sp^3 メチレン、3個の *tert*-メチル、ならびに1個の *sec*-メチルのシグナルが観測された (Figure 2.10 and Table 2.1)。上述のデータと、特徴的な AB 型にカップリングしたシグナル $\{\delta_{\text{H}} 2.43 \text{ and } 1.88 (\text{d}, J = 13.7)\}$ から、本化合物を桂皮ジテルペンと推定した。 ^{13}C NMR 及び DEPT スペクトルから1個のケトン、1個のオレフィン、2個のアセタール炭素、3個の酸素原子が結合した三級炭素、並びに1個四級炭素を含む合計20個の炭素の存在が明らかになった。

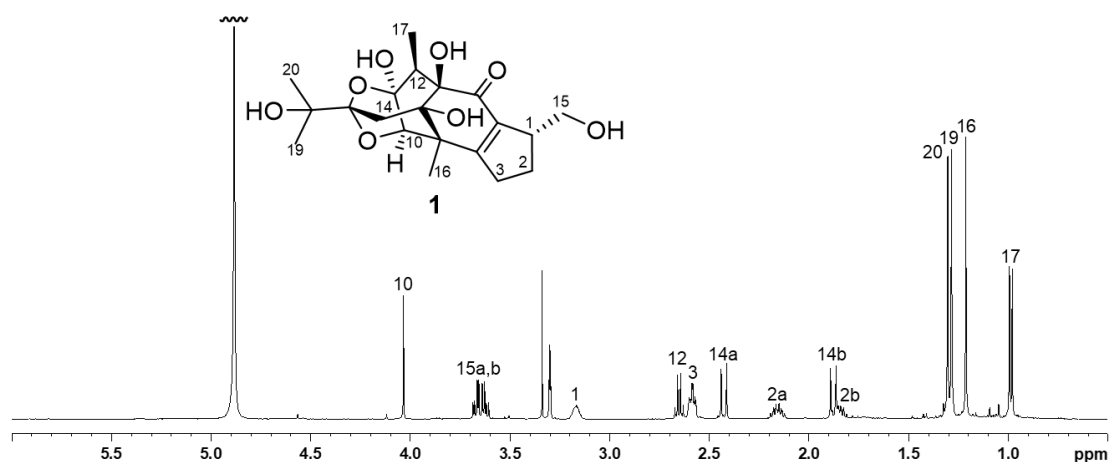


Figure 2.10. ^1H NMR spectrum of cinnassiol H (1) (500 MHz in CD_3OD).

Cinnassiol H (1) の平面構造を 2D NMR スペクトルの解析により明らかにした (Figure 2.11)。 $\text{H}_2\text{-15}/\text{H-1}$ 間、 $\text{H-1}/\text{H}_2\text{-2}$ 及び $\text{H}_2\text{-2}/\text{H}_2\text{-3}$ 間の $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$ COSY 相関と $\text{H}_2\text{-15}/\text{C-5}$ 及び $\text{H-3}/\text{C-4}$ 、 C-5 間の HMBC 相関から、 C-1 に hydroxymethyl 基が結合した cyclopent-2-ene 部分 ($\text{C-1}\text{-}\text{C-5}$) の存在を明らかにした。分構造を明らかにした。Cyclohexenone 環の存在は、IR スペクトルにおいて観測された 1684 cm^{-1} の吸収と C-4 ($\delta_{\text{C}} 164.3$)、 C-5 ($\delta_{\text{C}} 136.7$)、ならびに C-6 ($\delta_{\text{C}} 200.1$) の ^{13}C NMR ケミカルシフト値からも支持された。さらに、tetrahydropyrane ($\text{C-8}\text{-}\text{C-10}$, C-13 , and C-14) が cyclohexane ($\text{C-7}\text{-}\text{C-12}$) に結合し、2-oxabicyclo[3.3.1]nonane 部分 ($\text{C-7}\text{-}\text{C-14}$) を形成することを、 $\text{H}_2\text{-14}/\text{C-8}$ 、 C-13 間と $\text{H-10}/\text{C-13}$ 間の HMBC 相関から明らかにした。一方、2-hydroxy-2-methylethyl 基が C-13 に結合することを $\text{H}_3\text{-20}/\text{C-13}$ 、 C-18 、並びに C-19 間の HMBC 相関から明らかにした。最後に、

cinncassiol H (1) の分子量と C-11 (δ_C 106.1) と C-13 (δ_C 110.6) の ^{13}C NMR ケミカルシフト値を考慮することで、C-11/C-13 間がエーテルを介して結合し、特異な 2,9-dioxatricyclo[4.3.1.0^{3,8}]decane 骨格を形成していると推定した。以上の解析により、本化合物の平面構造を Figure 2.11 に示す構造と帰属した。

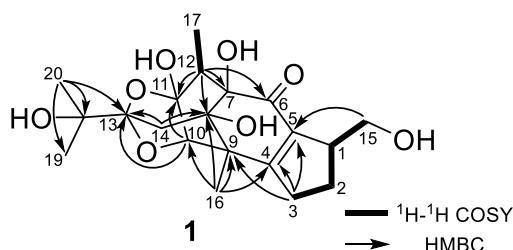


Figure 2.11. Selected 2D NMR correlations and gross structure of cinncassiol H (1).

Cinncassiol H (1) が有する 2,9-dioxatricyclo[4.3.1.0^{3,8}]decane 構造における C-7-C-11 および C-13 の相対立体位配置は Figure 2.12 に示した配置に制限される。さらに、H-1/H-3 β 間と H-3 α /H-10/H-12/H₂-15 間の NOESY 相関から、1*S**,12*S**配置を帰属した。

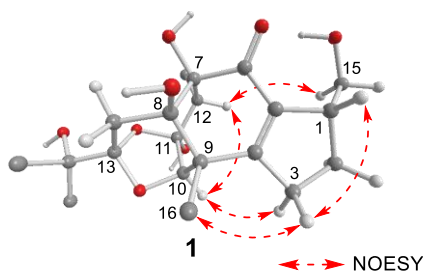


Figure 2.12. Selected NOESY correlations and the relative configuration of cinncassiol H (1) (protons of methyl groups are omitted).

1 の絶対立体配置を推定するために、ECD スペクトルの実測値と計算値の比較を行った。その結果、関連化合物の絶対立体配置と対応する (1*R*,7*R*,8*R*,9*R*,10*R*,11*S*,12*S*,13*S*)-体の計算値が実測値と類似したスペクトルを示したことから、cinncassiol H (1) の絶対立体配置を 1*R*,7*R*,8*R*,9*R*,10*R*,11*S*,12*S*,13*S* と推定した (Figure 2.13)。

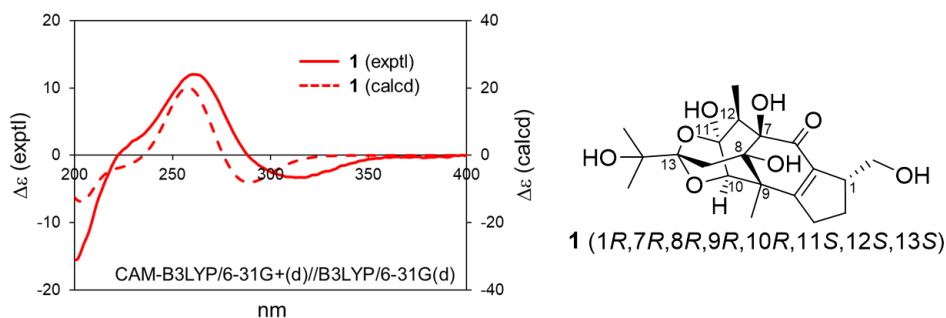


Figure 2.13. Experimental and calculated ECD spectra of cinncassiol H (1)

Table 2.1. ^1H and ^{13}C NMR data for cinnassiol H (**1**) in CD_3OD .

position	1	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (<i>J</i> in Hz)
1	47.3	3.17 (1H, m)
2	27.3	2.16 (1H, m)
		1.83 (1H, m)
3	32.5	2.59 (2H, m)
4	164.3	–
5	136.7	–
6	200.1	–
7	81.3	–
8	79.9	–
9	46.0	–
10	85.5	4.03 (1H, s)
11	106.1	–
12	44.7	2.65 (1H, q, 7.0)
13	110.6	–
14	36.0	2.43 (1H, d, 13.7)
		1.48 (1H, d, 13.7)
15	63.5	3.67 (1H, dd, 10.5, 9.5)
		3.62 (1H, dd, 10.5, 9.5)
16	17.8	1.21 (3H, s)
17	9.3	0.99 (3H, d, 7.0)
18	73.0	–
19	24.8	1.30 (3H, s)
	25.0	
20	17.8	1.29 (3H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

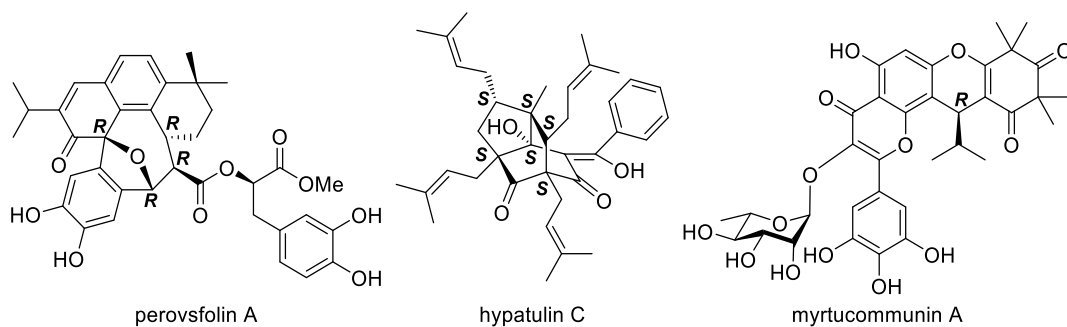
(補足)

ECD スペクトルによる絶対立体配置の帰属について

円偏光二色性スペクトルとは、左回りと右回り円偏光に対する吸光度の差を波長に対しプロットすることで得られるスペクトルのことである。この CD スペクトルのうち、紫外および可視領域に吸収を観測するものが ECD スペクトルである。ECD スペクトルは数十マイクログラムの試料で測定が可能であり、化合物の絶対立体配置を帰属する手法の一つとして用いられている。オクタント則⁴² やジベンゾエート則⁴³ などの経験と照らし合わせた手法や励起子キラリティー法⁴⁴ がこれまでに用いられてきた。近年では量子力学計算を用いた ECD スペクトルの計算が可能となり、ECD スペクトルの計算値と実測値の比較により絶対立体配置を帰属する手法が広く用いられるようになってきている。ECD スペクトルの計算は以下の手順で求められる。

- 1) 分子力学 (MM) 法により配座探索を行い、安定配座を求める。
- 2) 得られた安定配座のうちボルツマン分布 1%以上の配座を DFT 計算により最適化する。
- 3) 最適化された配座のうち、ボルツマン分布 1%以上について、TDDFT 法により旋光強度を求める。
- 4) 旋光強度から ECD スペクトルを計算する。
- 5) 安定配座のボルツマン分布に基づき ECD スペクトルを加重平均化する。

当研究室でも、量子力学計算を用いた ECD スペクトルの計算値を実測値と比較することで、perovsfolin A⁴⁵、hypatulin C⁴⁶、並びに myrtucommunin A⁴⁷ などの多環式骨格を有する天然物の絶対立体配置を明らかにしている。



Cinncassiol I (**2**) は無色非結晶性固体として得られ、比旋光度 $[\alpha]^{25}_D -23.0$ (c 0.10, MeOH) を示した。HRESIMS より分子式を $C_{20}H_{28}O_5$ と帰属した (m/z 371.1831 $[M+Na]^+$, $\Delta -0.3$ mmu)。また、**2** の UV スペクトルでは 243 nm (ϵ 13,000) に吸収が観測されたことから共役系の存在が示唆され、IR スペクトルの 1696 cm^{-1} の吸収からカルボニル基の存在を推定した。 ^1H NMR スペクトルでは、2 個の水酸基、5 個のメチレン (うち 1 個は水酸基と結合している)、3 個のメチン、3 個の *tert*-メチル、1 個の *sec*-メチルのシグナルが観測された (Figure 2.14 and Table 2.2)。これらのシグナルの中には、桂皮ジテルペンに特徴的な AB 型にカップリングしたメチレンのシグナルが観測されたことから、**2** を桂皮ジテルペンと推定した。しかしながら、イソリアノダン型ジテルペンの H-6 やリアノダン型ジテルペンの H-1 に帰属される低磁場側に観測されるオキシメチンのシグナルが **2** では観測されなかった。一方、 ^{13}C NMR スペクトルでは 2 個のケトン、2 個のオレフィン、酸素原子が結合した 2 個の三級炭素、並びに 2 個の四級炭素を含む合計 20 個の炭素シグナルが観測された。

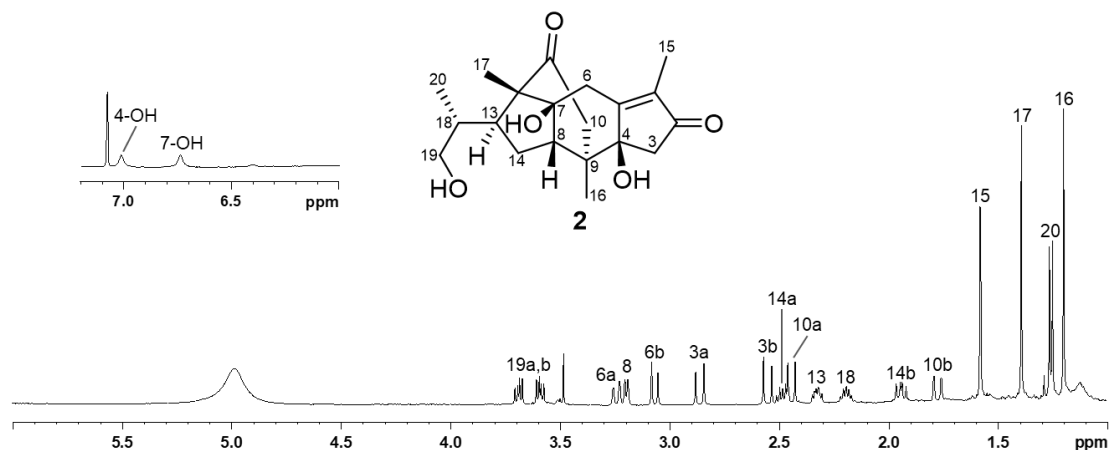


Figure 2.14. ^1H NMR spectrum of cinncassiol I (**2**) (500 MHz in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

Figure 2.15 に示した ^1H - ^1H COSY 相関と HMBC 相関から、既知イソリアノダン型ジテルペン cinncassiol D_3 ^{34d} に対応する C-1-C-5、C-7-C-9、並びに C-12-C-20 の部分構造の存在を確認し、C-1/C-5 間にオレフィン、C-2 にケトン炭素を有すると帰属した。

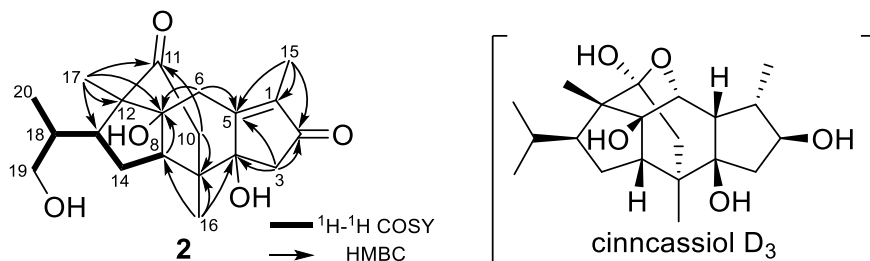


Figure 2.15. Selected 2D NMR correlations and gross structure of cinncassiol I (**2**).

さらに1個のAB型メチレンプロトン $\{\delta_{\text{H}} 2.44, 1.77 \text{ (each 1H, d, } J = 16.8 \text{ Hz)}\}$ から C-9 ($\delta_{\text{C}} 44.3$) とケトン ($\delta_{\text{C}} 210.9$) への HMBC 相関と H₃-17 からケトン炭素 ($\delta_{\text{C}} 210.9$) への HMBC 相関から、この AB 型メチレンプロトンを H₂-10 に、ケトン炭素を C-11 に帰属した。一方、残る AB 型メチレンメチレンプロトン $\{\delta_{\text{H}} 3.24, 3.07 \text{ (each 1H, d, } J = 14.4 \text{ Hz)}\}$ から C-5 ($\delta_{\text{C}} 169.7$) と C-8 ($\delta_{\text{C}} 49.9$) へ HMBC 相関が観測されたことから、この AB 型メチレンプロトンを H₂-6 と帰属した。以上の解析により、cinncassioli (2) の平面構造を Figure 2.15 に示した構造と帰属した。

Cinncassioli (2) の相対立体配置を NOESY 相関及びカップリング定数の解析により明らかにした (Figure 2.15)。即ち、H-8/H₃-16/H-3 β /4-OH/H-6 β /7-OH 間及び H-8/7-OH 間の NOESY 相関から、これらのプロトンを β -配置と帰属し、H-3 α /H-10/H-13 間の NOESY 相関から 12*S**,13*R**配置を帰属した (Figure 2.15A)。さらに、カップリング定数により H-13/H-18 は *gauche* ($^3J_{\text{H-13/H-18}} = 5.1 \text{ Hz}$) 配座を取ると結論し、H-19/H₃-17 間、H-18/H-13、H₃-17 間ならびに H₃-20/H₂-14 間の NOESY 相関から 18 位の相対立体配置を *R**と帰属した (Figure 2.16B)。

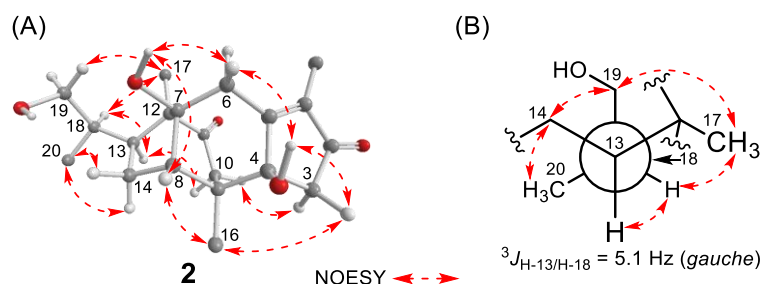


Figure 2.16. (A) Selected NOESY correlations and the relative configuration (protons of methyl groups are omitted); (B) projection for C-13 to C-18 of cinncassioli (2).

続いて、絶対立体配置を推定するために、ECD スペクトルの実測値と計算値の比較を行った。その結果、2の実測値が (4*S*,7*S*,8*S*,9*R*,12*S*,13*R*,18*R*)-2 の計算値と良く対応していたことから、2の絶対立体配置を 4*S*,7*S*,8*S*,9*R*,12*S*,13*R*,18*R* と推定した (Figure 2.17)。

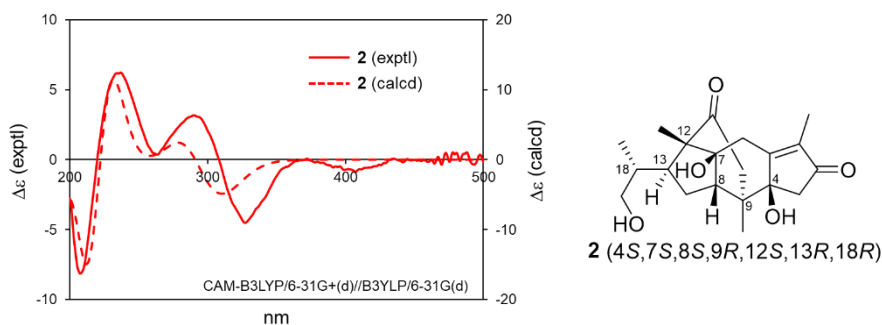


Figure 2.17. Experimental and calculated ECD spectra of cinncassioli (2)

Table 2.2. ^1H and ^{13}C NMR data for cinnassiol I (**2**) in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$.

position	2	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	136.9	–
2	205.5	–
3	46.3	2.86 (1H, d, 18.9) 2.55 (1H, d, 18.9)
4	79.5	–
5	169.7	–
6	33.5	3.24 (1H, d, 14.4) 3.07 (1H, d, 14.4)
7	82.6	–
8	49.9	3.19 (1H, d, 6.8)
9	44.3	–
10	44.2	2.44 (1H, d, 16.8) 1.77 (1H, d, 16.8)
11	210.9	–
12	62.8	–
13	45.6	2.32 (1H, ddd, 9.2, 6.8, 5.1)
14	26.1	2.49 (1H, dd, 13.3, 6.8) 1.94 (1H, dd, 13.3, 9.2)
15	7.9	1.58 (3H, s)
16	14.7	1.20 (3H, s)
17	9.6	1.39 (3H, s)
18	38.2	2.19 (1H, m)
19	67.7	3.69 (1H, dd, 10.5, 6.5) 3.59 (1H, dd, 10.5, 6.5)
20	14.7	1.26 (3H, d, 6.8)
4-OH		7.02 (1H, s)
7-OH		6.74 (1H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

第 2 項 Cinncassiol D₅ (**3**) 及び D₆ (**4**)、並びに 18-hydroxycinnzeylanol (**5**) の構造解析

Cinncassiol D₅ (**3**) は無色非結晶性の固体として得られ、比旋光度は $[\alpha]^{26}_D -9.2$ (c 0.04, MeOH) であった。¹H NMR スペクトルでは、4 個の水酸基、4 個のメチン、4 個のメチレン、並びに 5 個のメチルのシグナルに加え、イソリアノダン型ジテルペンの H-6 に帰属される特徴的なオキシメチンのシグナル $\{\delta_H 4.48$ (1H, d, $J=2.1$ Hz) $\}$ が観測されたことから、本化合物をイソリアノダン型ジテルペンと推定した (Figure 2.18 and Table 2.3)。さらに、HRESIMS の解析から、**3** は既知イソリアノダン型ジテルペン cinncassiol D₁ と同一の分子式 C₂₀H₃₂O₅ を有することが示唆された (m/z 375.2145 [M+Na]⁺, Δ -0.2 mmu)。**3** の ¹H 及び ¹³C NMR スペクトルは cinncassiol D₁ のそれらと類似していたが、cinncassiol D₁^{34c,d} の sp³ メチン (CH-3) 及びオキシメチレン (CH₂-19) のシグナルに代わり、**3** のスペクトルでは、酸素原子が結合した三級炭素 (δ_C 87.4) 及び *sec*-メチル $\{\delta_H$ 1.20 (3H, d, $J=6.5$ Hz); δ_C 19.1 $\}$ のシグナルが観測された。

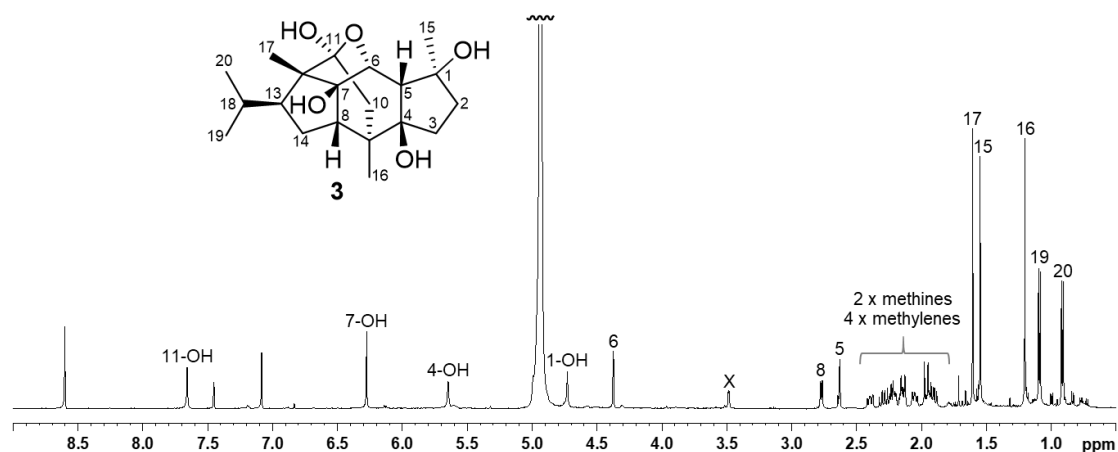


Figure 2.18. ¹H NMR spectrum of cinncassiol D₅ (**3**) (500 MHz in C₅D₅N).

本化合物の 2D NMR スペクトルの解析により (Figure 2.19)、**3** はイソリアノダン型ジテルペン骨格を有することを確認し、C-4 を水酸基が結合した三級炭素 (δ_C 87.4) に帰属した。

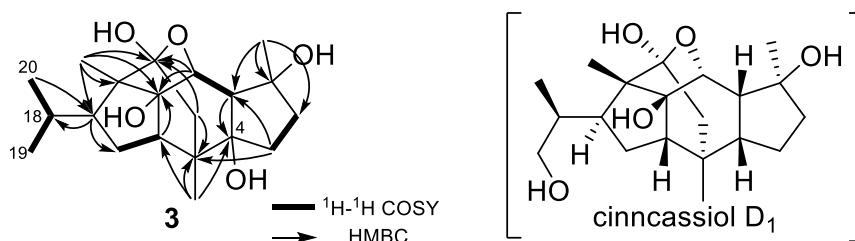


Figure 2.19. Selected 2D NMR correlations and gross structure of cinncassiol D₅ (**3**).

また、C-13に*i*-プロピル基 (C-18–C-20) が結合することを、H-18/H₃-19、H₃-20間の¹H-¹H COSY 相関及び H₃-20/C-13間の HMBC 相関から明らかにし、**3**の平面構造を Figure 2.19に示した構造と帰属した。Cinncassiol D₅ (**3**)の NOESY スペクトルにおいて、Figure 2.20に示した相関が得られたことから、1*S**,4*R**,5*S**,6*R**,7*R**,8*S**,9*R**,12*S**配置を帰属した。さらに、H₃-19/H₃-17/H-6間、H₃-19/7-OH間、並びに H-13/11-OH間の NOESY 相関から、*i*-プロピル基 (C-18–C-20)はβ配置に結合していると帰属した。なお、11-OHは環骨格による制限からα配置に制限される。以上の解析から、cinncassiol D₅ (**3**)の相対立体配置を Figure 2.20に示した配置と帰属した。なお、その絶対立体配置は未帰属である。

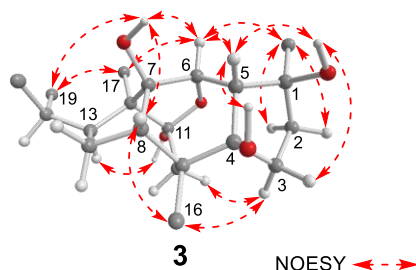


Figure 2.20. Selected NOESY correlations and the relative configuration of cinncassiol D₅ (**3**) (protons of methyl groups are omitted).

Cinncassiol D₆ (**4**)は比旋光度 $[\alpha]^{26}_D -23.9$ (c 0.10, MeOH)を示す無色非結晶性固体として得られた。HRESIMSの解析から、本化合物はcinncassiol D₅ (**3**)と同一の分子式を有することが示唆された $\{C_{20}H_{32}O_5Na$ (m/z 375.2135 $[M+Na]^+$, $\Delta -1.2$ mmu) $\}$ 。また、**4**の1D NMRスペクトルは**3**のそれらと類似していたが (Figures 2.21 and 2.18, and Table 2.3)、**3**のスペクトルで観測されたCH₃-15とCH₃-19に帰属されるシグナルに代わり、**4**では、1個の*sec*-メチル $\{\delta_H$ 1.22 (3H, d, $J = 6.4$ Hz); δ_C 15.8 $\}$ と1個のオキシメチレン $\{\delta_H$ 3.87 3.81 (each 1H, m); δ_C 67.9 $\}$ のシグナルが観測された。以上のスペクトルデータから、**4**を**3**の水酸基の結合位置が異なる化合物と推定した。

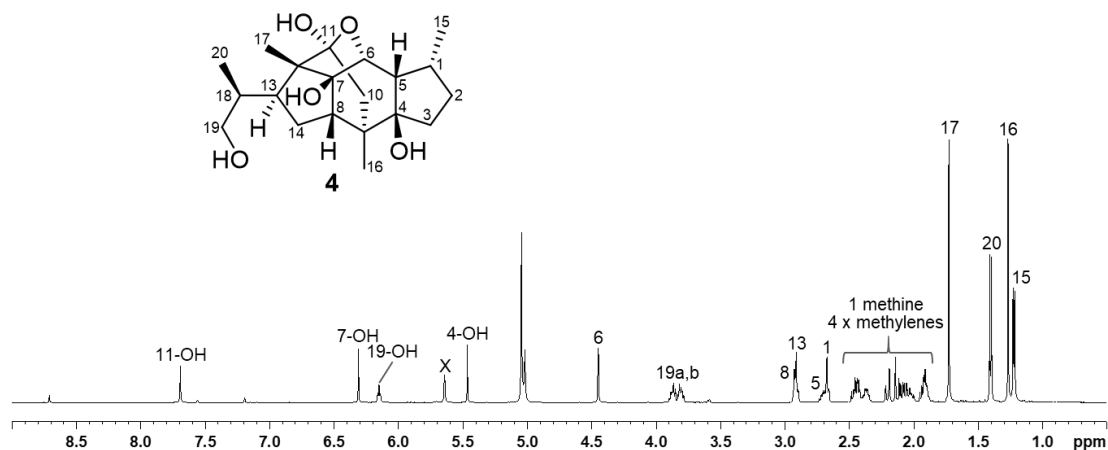


Figure 2.21. ¹H NMR spectrum of cinncassiol D₆ (**4**) (500 MHz in C₅D₅N).

Cinnassiol D₆ (**4**) の各種 2D NMR スペクトルの解析により、イソリアノダン型ジテルペン骨格の存在を確認した。また、H₃-15/H-1 間、H₃-20/H-18/H₂-19 間の ¹H-¹H COSY 相関と H₃-20/C-13、H₃-15/C-5 間の HMBC 相関から、*sec*-メチルが C-1 に、1-hydroxymethylethyl が C-13 に結合することを明らかにし、**4** の平面構造を Figure 2.22A に示す構造に帰属した。続いて、Figure 2.22B に示した NOESY 相関とイソリアノダン型ジテルペンの炭素骨格による制限から、1*R**,4*R**,5*S**,6*R**,7*R**,8*S**,9*R**,11*S**,12*S**,13*S**,18*R**配置を帰属した。側鎖部分 (C-18-C-20) の 18 位の相対立体配置は H₃-20/H₃-17、7-OH、H₂-19/H-14β、H-18/H-14α間に NOESY 相関が観測されたことから、18*S**配置を推定した。

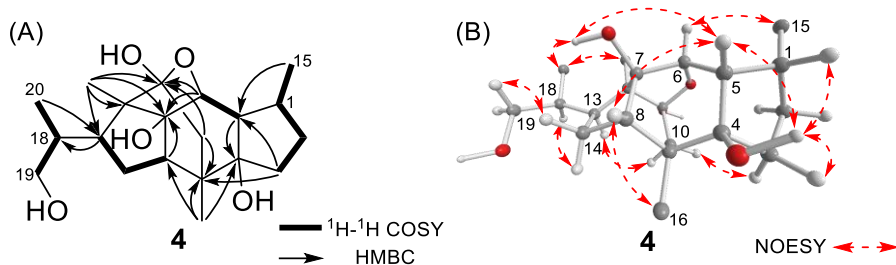


Figure 2.22. (A) Selected ¹H-¹H COSY and HMBC correlations; (B) selected NOESY correlations (protons of methyl groups are omitted) of cinnassiol D₆ (**4**).

Table 2.3. ^1H and ^{13}C NMR data for cinnassiol D₅ (**3**) and D₆ (**4**) in C₅D₅N.

position	3		4	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	81.5	–	54.4	2.69 (1H, m)
2	41.4	2.41, 2.16 (each 1H, m)	35.1	2.03, 1.90 (each 1H, m)
3	36.4	2.51 (1H, ddd, 12.4, 8.4, 1.6) 2.31 (1H, m)	37.6	2.43, 1.91 (each 1H, m)
4	87.4	–	87.2	–
5	62.6	2.74 (1H, brs)	36.3	2.67 (1H, brs)
6	76.3	4.48 (1H, d, 2.1)	76.9	4.50 (1H, brs)
7	89.5	–	89.5	–
8	49.1	2.88 (1H, d, 6.9)	49.2	2.92 (1H, d, 7.0)
9	42.2	–	42.5	–
10	44.4	2.25, 2.07 (each 1H, d, 14.1)	44.1	2.21, 2.13 (each 1H, d, 14.2)
11	107.8	–	107.7	–
12	57.6	–	57.5	–
13	47.1	2.27 (1H, m)	40.9	2.91 (1H, m)
14	26.9	2.33 (1H, m) 2.01 (1H, dd, 13.3, 8.4)	26.3	2.46 (1H, m) 2.08 (1H, dd, 13.5, 8.8)
15	24.6	1.66 (3H, s)	15.8	1.22 (3H, d, 6.4)
16	22.5	1.31 (3H, s)	23.0	1.27 (3H, s)
17	10.3	1.71 (3H, s)	10.5	1.73 (3H, s)
18	29.3	2.05 (1H, m)	37.6	2.37 (1H, m)
19	19.1	1.20 (3H, d, 6.5)	67.9	3.87, 3.81 (each 1H, m)
20	24.2	1.02 (3H, d, 6.7)	13.9	1.40 (3H, d, 6.6)
1-OH		4.84 (1H, s)		–
4-OH		5.76 (1H, s)		5.64 (1H, s)
7-OH		6.38 (1H, s)		6.31 (1H, s)
11-OH		7.77 (1H, s)		7.69 (1H, s)
19-OH		–		6.15 (1H, t, 5.3)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

18-Hydroxycinnzeylanol (**5**) は比旋光度+20.7 (c 0.10, MeOH) を示した。本化合物の ^1H 及び ^{13}C NMR スペクトルでは、1 個のアセタール炭素、6 個の酸素原子が結合した三級炭素、1 個のメチン、1 個のオキシメチン、4 個のメチレン (うち 2 個は AB 型カップリングメチレン)、4 個の *tert*-メチル、1 個の *sec*-メチルのシグナルが観測された (Figure 2.23 and Table 2.4)。これらのスペクトルデータは既知リアノダン型ジテルペン cinnzeylanol⁴⁰ のものと *i*-プロピル基 (C18-C-20) のシグナルを除き類似していたことから、本化合物をリアノダン型ジテルペンと推定した。また、HRESIMS の解析から、**5** は cinnzeylanol⁴⁰ よりも酸素原子 1 個分多い $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_8$ を有することが示唆された (m/z 423.1988 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Δ -0.7 mmu)。続いて、**5** の各種 2D NMR スペクトルの解析を行い (Figure 2.24)、**5** が側鎖部分 (C18-C-20) を除き、cinnzeylanol と同一の平面構造を有することを帰属した。さらに、C-18 のケミカルシフト値 (δ_{C} 76.7) 及び CH_3 -20/C-13、C-18、C-19 間の HMBC 相関から、**5** の C-18 に水酸基が結合することを明らかにした。

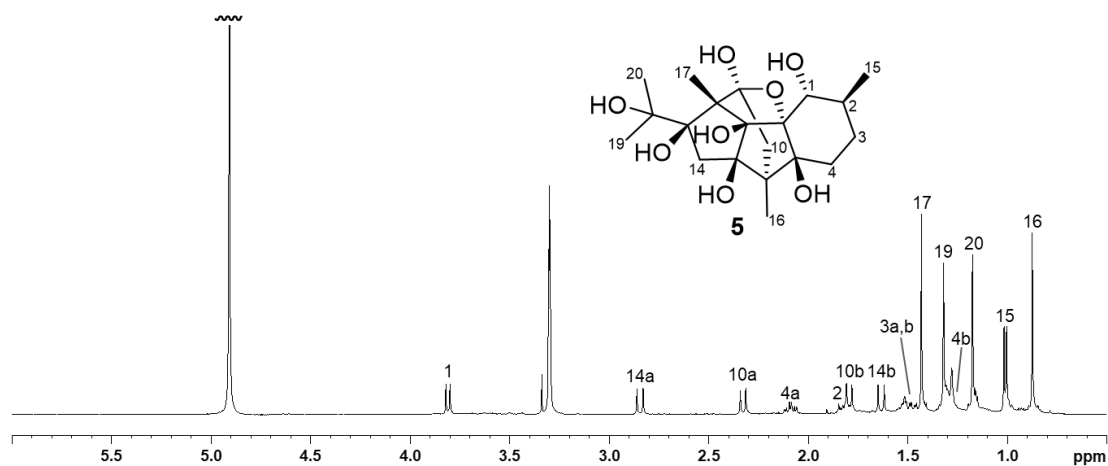


Figure 2.23. ^1H NMR spectrum of 18-hydroxycinnzeylanol (**5**) (500 MHz in CD_3OD).

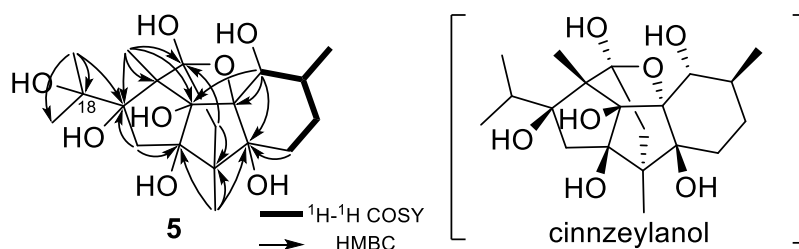


Figure 2.24. Selected 2D NMR correlations and gross structure of 18-hydroxycinnzeylanol (**5**).

18-Hydroxycinnzeylanol (**5**) の相対立体配置を帰属するため、カップリング定数と NOESY 相関の解析を行った (Table 2.4 and Figure 2.25)。H-1/H-2 間と H-4a/H-3 間のカップリング定数 ($^3J_{\text{H-1/H-2}} = 10.3 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-4a/H-3}} = 12.8 \text{ Hz}$) と H-1/H-3 及び H-2/H-4a 間の NOESY 相関から、シクロヘキサンはイス型配座をとり、H-1 及び H-4a は axial 位に位置することが明らかになった。さらに、H-4a/H-9b、H-9a/H-14b、H₃-20、H-14b/H₃-20 間ならびに H-4b/H₃-16/H-14b 間に NOESY 相関が観測されたことから $1R^*, 9R^*, 13S^*$ 配置を帰属した。さらに、リアノダン型ジテルペンの炭素骨格から C-5-C-8、C-11、並びに C-12 の相対立体配置は Figure 2.25 に示した配置に制限されることから、**5** の相対立体配置を $1R^*, 2S^*, 5S^*, 6R^*, 7R^*, 8R^*, 9R^*, 11S^*, 12S^*, 13S^*$ と帰属した。以上の解析から、**5** の構造を cinnzeylanol の 18 位に水酸基が結合した 18-hydroxycinnzeylanol と帰属した。絶対立体配置は未帰属であるが、cinnzeylanol を含む他のリアノダン型ジテルペンと同一の絶対立体配置を有すると推定される。

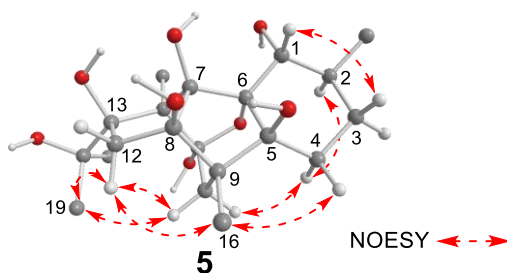


Figure 2.25. Selected NOESY correlations and relative configuration of 18-hydroxycinnzeylanol (**5**) (protons of methyl groups are omitted).

Table 2.4. ^1H and ^{13}C NMR data for 18-hydroxycinnzeylanol (**5**) in CD_3OD .

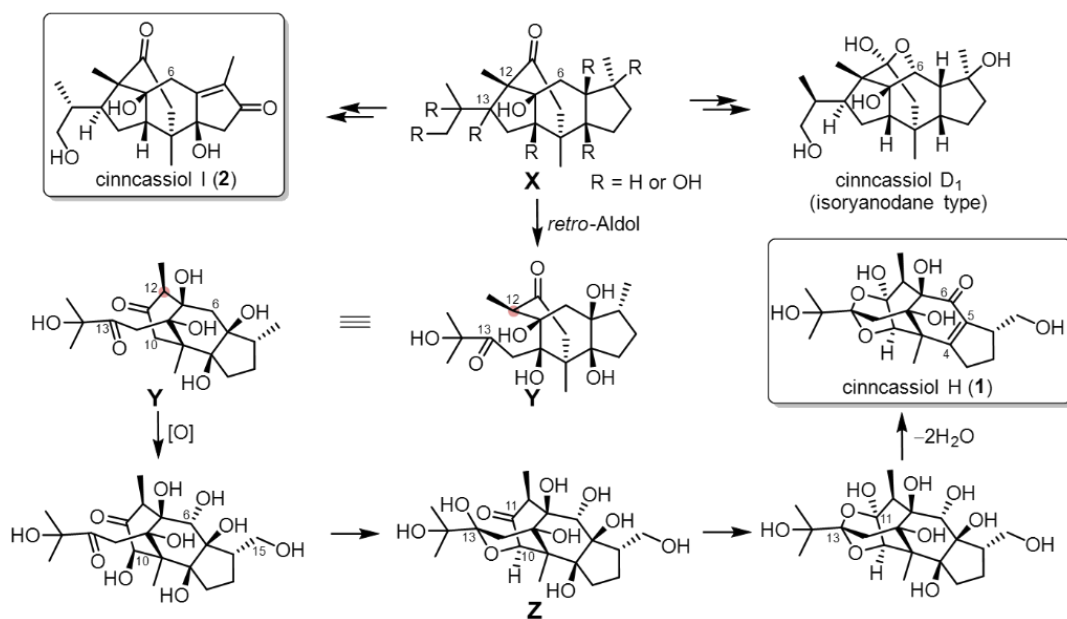
position	5	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	72.7	3.81 (1H, d, 10.3)
2	55.4	1.81 (1H, m)
3	29.5	1.56-1.39 (2H, m)
4	27.1	2.08 (1H, dd, 12.8, 5.3) 1.30 (1H, m)
5	86.3	–
6	88.3	–
7	98.5	–
8	89.8	–
9	49.7	–
10	44.3	2.33, 1.79 (each 1H, d, 13.5)
11	103.1	–
12	66.6	–
13	86.1	–
14	45.4	2.85, 1.63 (each 1H, d, 15.3)
15	19.0	1.01 (3H, d, 6.5)
16	11.2	0.88 (3H, s)
17	10.1	1.43 (3H, s)
18	76.7	–
19	27.6	1.32 (3H, s)
20	26.2	1.18 (3H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

第 3 項 Cinncassiol H (1) 及び I (2)、並びに関連ジテルペンの生合成に関する考察

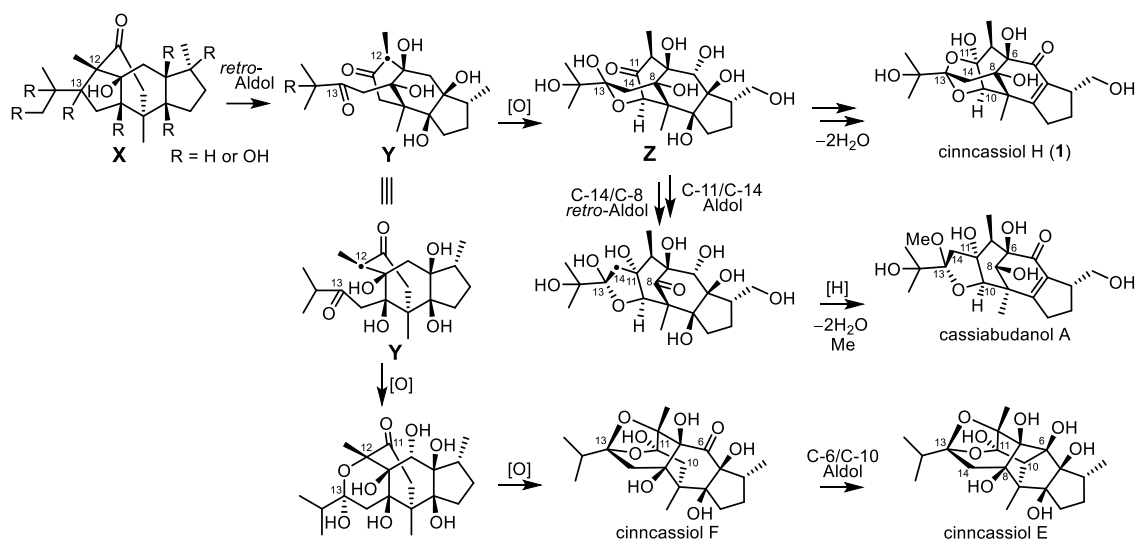
これまでに 20 種類以上のイソリアノダン型ジテルペンが *Cinnamomum cassia*^{34b,c,37}、*Itoa orientalis*⁴⁸、並びに *Persea indica*⁴⁹ から報告されているが、いずれも 6 位に酸素官能基を有している。一方、今回単離した cinncassiol I (2) は 6 位に酸素官能基を持たない初めてのイソリアノダン型ジテルペンである。Cinncassiol I (2) と同一の基本骨格を有する化合物 X は、6 位に酸素原子が結合したイソリアノダン型ジテルペンの生合成前駆体に相当すると考えられる (Scheme 2.3)。

Cinncassiol H (1) は、その予想される生合成経路から転位型イソリアノダン型ジテルペンに分類できる。即ち、本化合物の予想生合成前駆体 X の C-12/C-13 間の *retro*-aldol 反応により中間体 Y が生成した後、C-6 と C-10 の酸化に続き、C-10/C-13 間でアセタール結合を形成した中間体 Z が生成する。続いて、1,2-dioxolane 部分 (C-10, C-11, and C-13) が形成され、最後に脱水反応が起こり、cinncassiol H (1) が生合成されると考えられる。



Scheme 2.3. Possible biosynthetic pathway of cinncassiol H (1) and I (2).

Cinncassiol H (1) と構造的に関連する既知ジテルペンとして cinncassiol E^{34f,35,38} 及び F³⁷、並びに cassiabudanol A³⁹ が挙げられ、これらジテルペンの予想合成経路は関連している (Scheme 2.4)。Cassiabudanol A の基本構造は 1 と同一の予想合成中間体 Z の C-11/C-14 間の aldol 反応、C-8/C-14 間の *retro*-aldol 反応により形成されると考えられる。一方、cinncassiol F³⁷ は予想合成中間体 Y の 12 位の酸化により tetrahydropyran 環が形成した後、C-11/C-13 間がエーテルを介して結合することで生合成される。さらに、cinncassiol F³⁷ の C-10/C-6 間の aldol 反応による炭素結合の形成により cinncassiol E^{34f,35,38} は生合成されると考えられている。



Scheme 2.4. Possible biosynthetic pathway of rearranged isorynanodane diterpenes from possible biogenetic precursor (X).

第 5 節 新規セスキテルペン cinnamcassiol A (6) 及び B (7) の構造解析

Cinnamcassiol A (6) は比旋光度+3.6 (c 0.10, MeOH) を示し、 ^1H NMR スペクトルでは、1 個のエキシメチレン、1 個のオキシメチン、2 個のメチン、4 個のメチレン、1 個の二重結合上のメチル、ならびに 2 個の *tert*-メチルのシグナルが観測された (Figure 2.26 and Table 2.5)。一方、 ^{13}C NMR スペクトルでは、1 個のオレフィン、酸素原子が結合した 3 個の三級炭素を含む 15 個の炭素シグナルが観測された。以上のスペクトルデータと HRESIMS の解析から帰属した分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_4$ の不飽和度から (m/z 269.1752 $[\text{M}-\text{H}]^-$, Δ -0.1 mmu)、本化合物を二環性セスキテルペンと推定した。

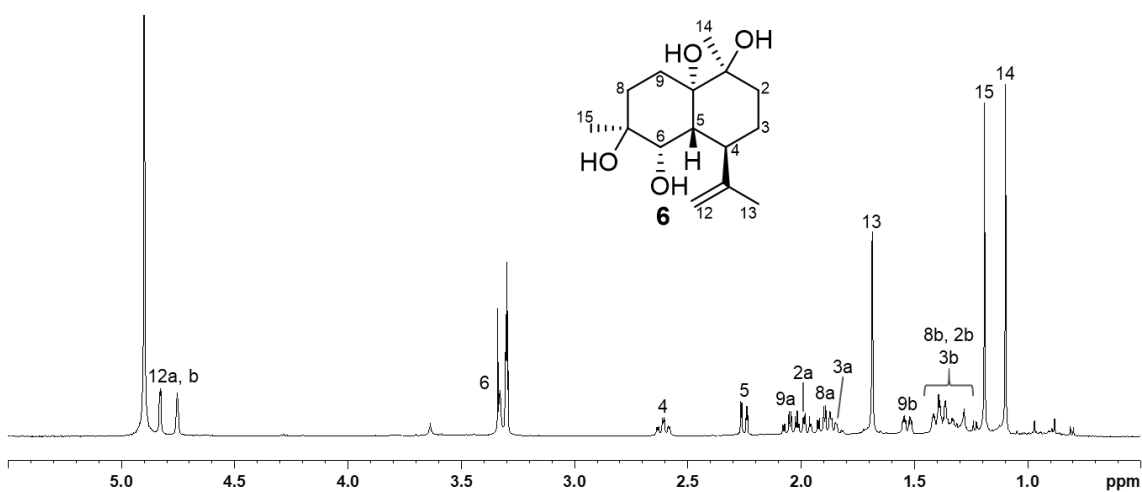


Figure 2.26. ^1H NMR spectrum of cinnamcassiol A (6) (500 MHz in CD_3OD).

Cinnamcassiol A (6) の ^1H - ^1H COSY スペクトルの解析により、C-8-C-9、C-3-C-6 の部分構造の存在が明らかになった (Table 2.5 and Figure 2.27)。さらに、HMBC スペクトルにおいて、 H_2 -2/C-3、 H -9/C-10 間、 H_3 -14/C-1、C-2、C-10 間、並びに H_3 -15/C-6、C-7、C-8 間に相関が観測されたことから、decalin 環の存在を明らかにするとともに、2 個のメチルの結合位置を C-1 と C-7 に帰属した。 ^{13}C NMR ケミカルシフト値から C-1 (δ_{C} 73.7)、C-7 (δ_{C} 72.3)、C-10 (δ_{C} 77.5) に酸素原子が結合し、 H_3 -13/C-4、C-11、C-12 間の HMBC 相関から isopropenyl が C-4 に結合すると結論した。以上の解析から、cinnamcassiol A (6) の平面構造を Figure 2.27 に示した構造に帰属した。

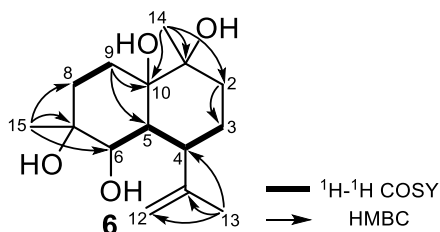


Figure 2.27. Selected 2D NMR correlations cinnamcassiol A (6).

続いて、**6** の相対立体配置を帰属するため、カップリング定数および NOESY 相関の解析を行った (Table 2.5 and Figure 2.28)。 ^1H NMR スペクトルにおける、H-2a (δ_{H} 1.99, td, $J = 13.4, 4.1$ Hz)、H-4 (δ_{H} 2.61, td, $J = 12.3, 3.6$ Hz)、H-5 (δ_{H} 2.25, dd, $J = 12.3, 2.4$ Hz)、並びに H-9a (δ_{H} 2.04, td, $J = 13.9, 4.3$ Hz) のカップリング定数からこれらのプロトンは axial 配置と推定した。さらに、H-2a/H-4 間、H-3/H-5/H-9a 間の NOESY 相関から、decalin 環は *trans* 縮合であり、2 個の cyclohexane 環はいずれもイス型配座を取ると結論した。さらに、H₃-14/H-9b、H₂-2 間、H-5/H-6/H₃-13 間、ならびに H₂-8/H₃-15/H-6 間の NOESY 相関から、相対立体配置を Figure 2.28 のように帰属し、**6** を新規カジナン型ジテルペンと結論した。

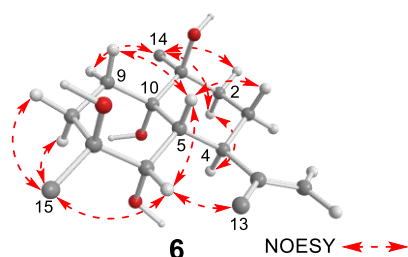


Figure 2.28. Selected NOESY correlations of cinnamcassiol A (**6**) (protons of methyl groups are omitted).

Cinnamcassiol B (**7**) は光学活性であり $\{[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 2.6$ (c 0.10, MeOH) $\}$ 、HRESIMS の解析から分子式は **6** と同一の $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_4$ であることが明らかになった (m/z 269.1763 $[\text{M}-\text{H}]^-$, $\Delta + 1.0$ mmu)。**7** の ^1H NMR スペクトルは H-4 及び H-5 に帰属されるシグナルを除き、**6** のものと類似していたことから (Figures 2.29 and 2.26, and Table 2.5)、両化合物はジアステレオマーの関係にあることが示唆された。このことは、**7** の 2D NMR スペクトルの解析から (Figure 2.30A)、**6** と同一の平面構造が得られたことから支持された。

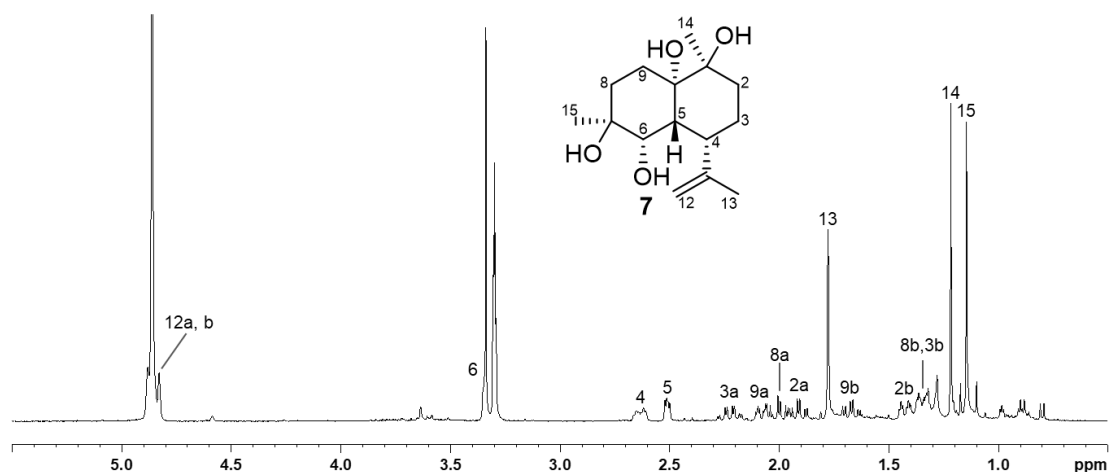


Figure 2.29. ^1H NMR spectrum of cinnamcassiol B (**7**) (500 MHz in CD_3OD).

Cinnamcassiol B (**7**) の相対立体配置は、重 DMSO 中で測定した ^1H NMR スペクトルのカップリング定数及び NOESY スペクトルの解析により明らかにした (Figure 2.30B and experimental section)。H-5/H-9b/7-OH 間及び 10-OH/H-8a/6-OH 間の NOESY 相関から、C-5–C-10 の cyclohexane 環はイス型配座をとると判断し、これらのプロトンはいずれも axial 位であることから、H-5 及び 7-OH を β 位に 6-OH 及び 10-OH を α 配置と帰属した。続いて、H-3a が axial 位に位置することを ^1H NMR スペクトルにおけるカップリング定数 (δ_{H} 2.13, qd, $J = 13.2, 3.7$ Hz) から推定し、H-3a/10-OH、H-5/1-OH/H-4 間に加え、H-3a/6-OH 間に NOESY 相関が観測されたことから、C-1-C-5、及び C-10 から構成される cyclohexane 環は舟形配座を取ると推定した。さらに、1-OH/H-9ax、H-4 間の NOESY 相関から、1-OH 及び H-4 を β 位に帰属した。以上の解析から、**7** を **6** の 4 位エピマーと結論し、新規ブルガレン型セスキテルペンと帰属した。

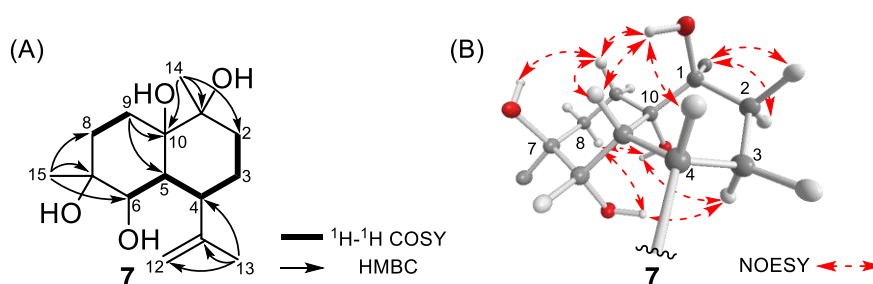


Figure 2.30. (A) Selected 2D NMR correlations; (B) selected NOESY correlations (protons of methyl groups are omitted) of cinnamcassiol B (**7**).

Table 2.5. ^1H and ^{13}C NMR data for cinnamcassiols A (**6**) and B (**7**) in CD_3OD .

position	6		7	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	73.7	–	74.5	–
2	36.3	1.99 (1H, td, 13.4, 4.1) 1.38 (1H, m)	38.0	1.91 (1H, td, 13.8, 4.5) 1.43 (1H, ddd, 13.8, 4.5, 3.7)
3	27.8	1.86, 1.34 (each 1H, m)	24.3	2.23 (1H, qd, 13.5, 3.7) 1.34 (1H, m)
4	43.2	2.61 (1H, td, 12.3, 3.6)	41.7	2.64 (1H, dt, 12.1, 3.7)
5	37.8	2.56 (1H, dd, 12.3, 2.4)	44.0	2.51 (1H, dd, 5.4, 3.3)
6	76.7	3.33 (1H, brs)	75.7	3.34 (1H, overlapped with HOD)
7	72.3	–	72.3	–
8	29.9	1.90 (1H, td, 13.9, 4.2) 1.40 (1H, ddd, 13.9, 4.2, 2.6)	33.5	2.00 (1H, td, 14.2, 4.2) 1.35 (1H, m)
9	27.2	2.04 (1H, td, 13.9, 4.2) 1.53 (1H, ddd, 13.9, 4.2, 2.6)	31.8	2.08 (1H, ddd, 13.7, 4.8, 2.7) 1.67 (1H, td, 13.7, 4.8)
10	77.5	–	74.4	–
11	149.1	–	148.6	–
12	112.4	4.83, 4.75 (each 1H, d, 2.3)	110.9	4.88, 4.83 (each 1H, brs)
13	18.9	1.69 (3H, s)	23.0	1.78 (3H, s)
14	23.3	1.10 (3H, s)	24.2	1.22 (3H, s)
15	27.8	1.19 (3H, s)	27.5	1.15 (3H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

第6節 生物活性評価

1) 免疫細胞に対する活性評価

転位型イソリアノダン型ジテルペンに分類される cinncassiol E³⁸ 及び cinnamomol B³⁹ には、concanavalin A 刺激下マウス由来脾臓細胞における T 細胞増殖刺激作用が報告されている。そこで今回、単離した新規化合物 cinncassiol H (1)、I (2)、D₆ (4)、18-hydroxycinnzeylanol (5)、並びに cinnamcassiol A (6) 及び B (7) に加え、既知化合物 cinnzeylanol (8)、cinnzeylanine (9)、cinncassiol B (10)、C₁ (11)、D₁ (12)、D₄ (13)、D₂ 19-O-β-D-glucopyranoside (14)、並びに A (15) の LPS 及び concanavalin A 刺激下、マウス由来脾臓細胞における B 細胞及び T 細胞の増殖に与える影響を評価した (Figure 2.31)。

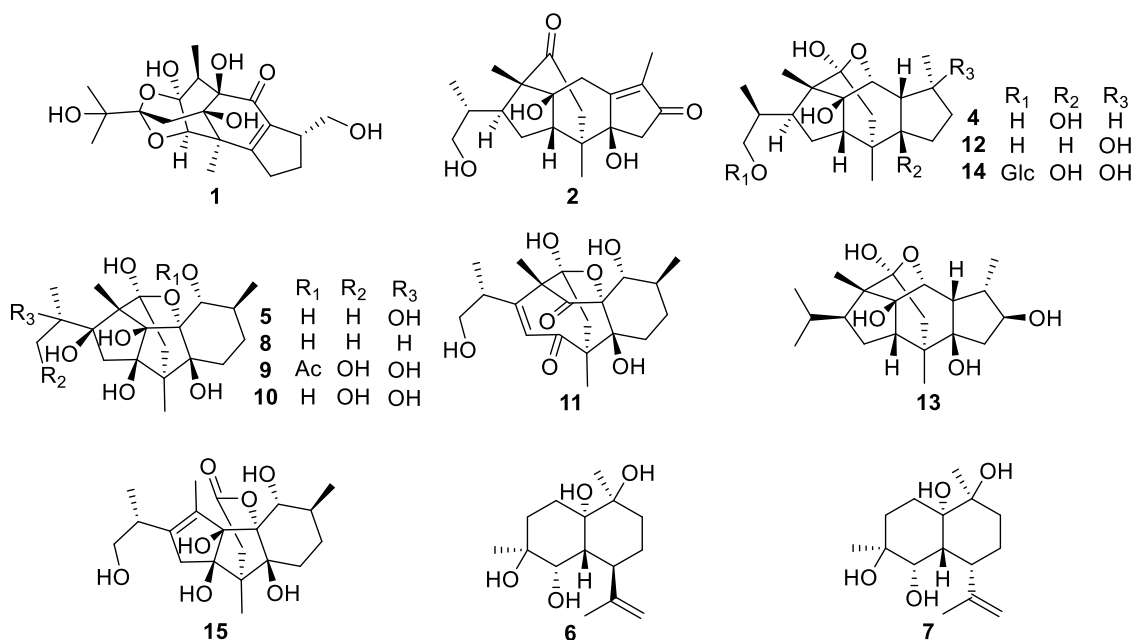


Figure 2.31. Compounds evaluated their anti-inflammatory activities.

LPS による刺激下で、**15** が 100 μM の濃度で B 細胞の増殖を抑制したが、他の化合物は、B 細胞の増殖に影響を与えなかった (Figure 2.32)。

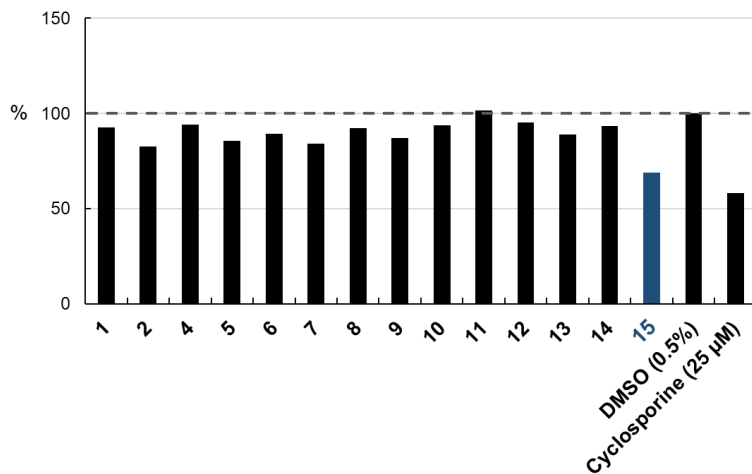


Figure 2.32. Effects of **1, 2, 4–15** (100 μM) on LPS (1 μM) induced B cell proliferation.

一方、concanavalin A 刺激下では、試料濃度 25 μM において **7** 及び **15** が T 細胞の増殖を抑制した。一方、**1, 2, 4, 5, 10, 11, 12, 13,** 及び **14** が T 細胞の増殖を促進した (Figure 2.33)。

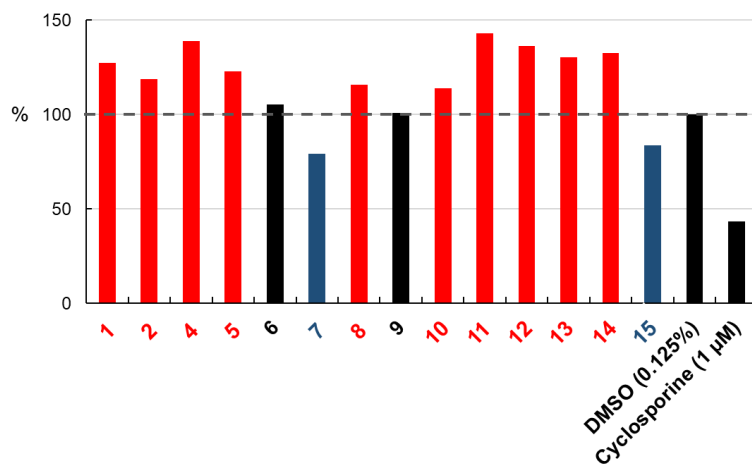


Figure 2.33. Effects of **1, 2, 4–15** (25 μM) on concanavalin A (1 μM) induced T cell proliferation.

続いて concanavalin A 刺激下 (0.5 μM) において、**1** が有する T 細胞増殖作用の容量依存性を 0.0005 μM –50 μM の濃度で評価した。その結果、**1** を 0.005 μM 添加した際に最も大きな細胞増殖促進傾向が観察された (Figure 2.34)。

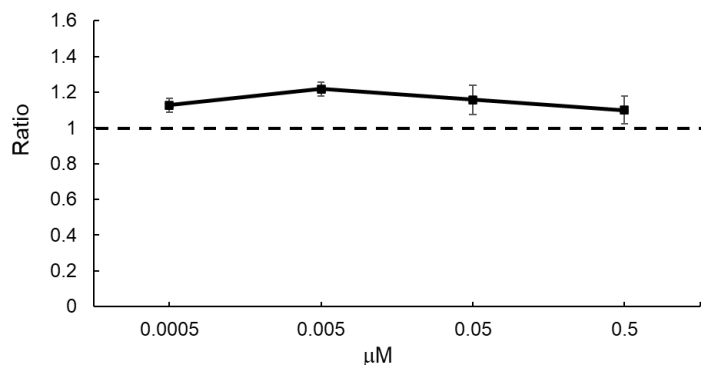


Figure 2.34. Effects of **1** (0.0005–50 μM) on concanavalin A (0.5 μM) induced T cell proliferation.

さらに、フローサイトメトリーにより、**1** 添加時 (0.005 μM) のマウス脾臓細胞における CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞の検出・定量を行った。その結果、**1** は CD3 陽性細胞 (CD4+、CD8+、CD4+CD8+細胞の合計) を増殖させ、特に CD4 陽性 T 細胞を有意に増殖させることが明らかになった (Figure 2.35)。

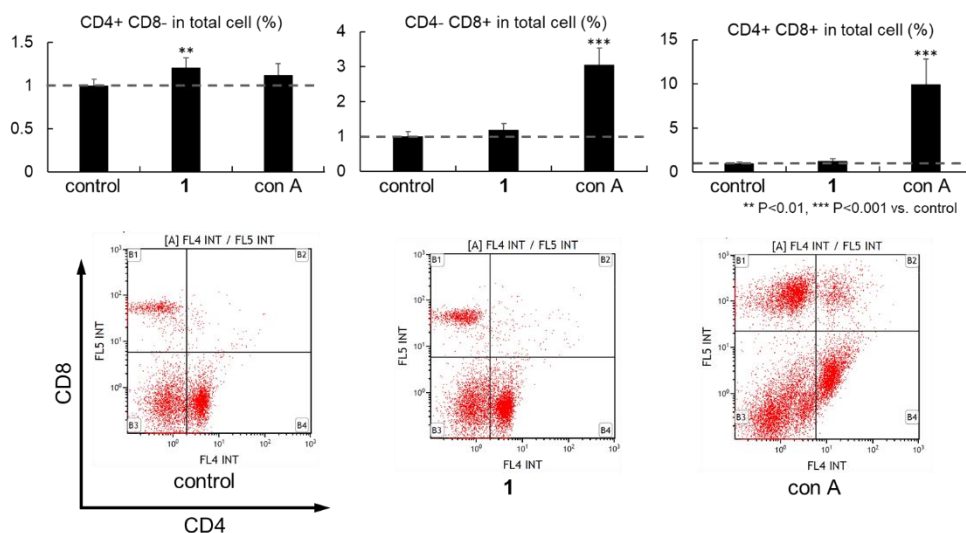


Figure 2.35. Effects of **1** (0.005 μM) and concanavalin A (0.5 μM) on spleen T cell subsets by FACS analysis. Representative FACS staining for CD8 or CD4 and the percentage of CD4+ and CD8+ T cells.

2) 神経細胞に対する抗炎症活性

上記化合物のうち、**15**を除いた化合物のLPS刺激によるミクログリア細胞株からのIL-1 β 遊離に対する抑制活性を評価した。しかしながら、いずれの化合物もIL-1 β の抑制活性を示さなかった。

小括

桂皮の詳細な成分研究を行い、5種の新規ジテルペン cinncassiol H (1)、I (2)、D₅ (3)、D₆ (4)、並びに 18-hydroxycinnzeylanol (5) と2種の新規セスキテルペン cinnamcassiol A (6) 及び B (7) に加え、既知化合物9種 (8-16) を単離した。

Cinncassiol H (1) はユニークな 2,9-dioxatricyclo[4.3.1.0^{3,8}]decane 骨格を有するジテルペンであり、その生合成的な観点から転位型イソリアノダン型ジテルペンに分類される。Cinncassiol I (2) は6位に酸素官能基を持たない初のイソリアノダン型ジテルペンであり、これまでに多く報告されている6位に酸素原子が結合したイソリアノダン型ジテルペンの生合成前駆体に相当すると考えられる。一方、cinnamcassiol A (6) 及び B (7) は、それぞれ新規カジナン及びブルガレン型セスキテルペンである。

単離した化合物の免疫刺激条件下におけるマウス脾臓細胞に対する免疫調節作用を評価したところ、concanavalin A 刺激下、試料濃度 25 μM において 7 及び 15 が T 細胞増殖抑制作用を、1、2、4、5、10、11、12、13、及び 14 が増殖促進作用を示すことが明らかになった。さらに、1 についてフローサイトメトリーを用いた解析を行い、1 は CD3 陽性細胞を増殖させ、特に CD4 陽性 T 細胞を有意に増殖させることを明らかにした。

桂皮水製エキス *in vitro* におけるリンパ球の活性化が報告されているが、その活性化化合物が未同定である。本研究の結果は、リンパ球の活性化に 1 を始めとする主成分以外の天然物がリンパ球の活性化に関与している可能性を示唆している。

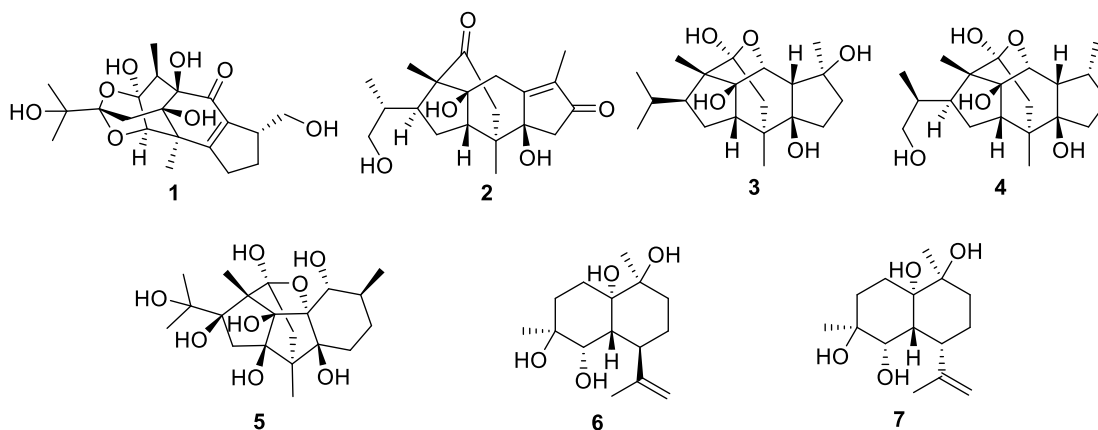


Figure 2.33. New diterpenes (1-5) and sesquiterpenes (6 and 7) isolated from Cinnamomi Cortex.

第3章 紅早蓮及び金糸桃の成分に関する研究

第1節 序論

1) オトギリソウ属植物及びそれらを基原とする漢薬

Hypericum 属植物はオトギリソウ科に属し、多年生草本、あるいは低木や亜低木など様々な形態を有する約500種が存在している⁵⁰。Nurkらは*Hypericum*属植物を形態学的、並びに遺伝学的な特徴により、Figure 3.1Aに示す8種の系統群に分類している⁵¹。本属植物の系統分類学上、葉や花に見られる白点と黒点の有無が重要な要素である (Figure 3.1B)。

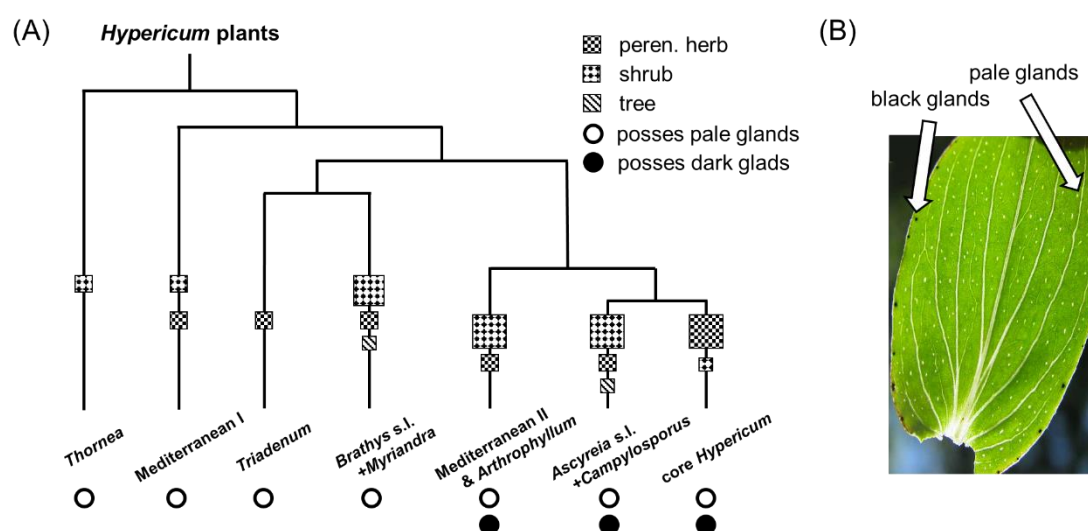


Figure 3.1. (A) Morphological evolution of *Hypericum* (the size of blocks reflects number of plants)⁵¹; (B) the picture for leaf of *Hypericum* plants⁵².

また、本属植物には創傷や火傷に対する民間薬として用いられる種も数多くある。以下にオトギリソウ属植物を基原とする漢薬について述べる。

1.1) 紅早蓮⁵³ (*Hypericum ascyron*)

Ascyreia 節に含まれる⁵⁰ *H. ascyron* (和名: トモエソウ) は東アジア全土に広く分布している高さ約1mほどの多年生草本で山地や丘陵の向陽地を好んで自生する。本植物の全草を「紅早蓮」と称し、中国では頭痛、悪心、腹痛等に、あるいは外用で膿瘍、腫れ物等の治療に用いられるが、根は薬用として用いられない。

1.2) 金糸桃⁵⁴ (*Hypericum chinense*)

Ascyreia 節に含まれる⁵⁰ *H. chinense* (和名: ビヨウヤナギ) は中国原産の高さ約1mの小低木であり、6~7月に5枚の花弁の美しい黄色の花を咲かせる。本植物の全草は「金糸

桃」と称し、中国では癰腫やリウマチ性腰痛、蛇による咬傷やハチによる刺傷の治療等に、特にその根が用いられている。一方、日本では主に観賞用に栽培されており、民間薬としての利用は限定的だが、徳島県ではその茎葉が婦人病の民間薬として使用されている。

1.3) 貫葉連翹⁵⁵ (*Hypericum perforatum*)

H. perforatum (和名: セイヨウオトギリ) は *core Hypericum* 節に分類され⁵⁰、主にヨーロッパから中央アジアにかけて分布している多年生植物である。本植物の全草あるいは根つきの全草が「貫葉連翹」として中国では吐血、外傷出血、リウマチによる骨痛、火傷に対する治療に用いられる。欧米では、本植物のエキス製剤が軽度～中程度のうつ症状に対するサプリメント等として用いられている。

1.4) 小連翹⁵⁶ (*Hypericum erectum*)

H. erectum (和名: オトギリソウ) は *core Hypericum* 節に分類され⁵⁰、中国の大部分の地域に分布しており、日本にも広く分布している。本植物の全草は中国において「小連翹」と称され、月経不順、乳汁不通、癰腫、打撲傷、創傷出血に用いられる。日本の民間療法では本植物の全草を外用薬として用い、生の葉や茎の汁を切傷や腫れ物の塗布薬に、煎液を打ち身や捻挫の湿布薬に使用されている。なお、蘇敬は神農本草経などを元に編纂した「新修本草」に「連翹には大翹と小翹の二種がある。」と記載しており、一般には大翹にレンギョウ、小翹にオトギリソウが充てられているが、記載されている大翹の特徴は *H. ascyron* のものと類似しており、古くから混同されていた可能性がある。

2) *Hypericum* 属植物に特徴的な成分について

上述した一部の *Hypericum* 属植物に見られる白点にはアシルフロログルシノール誘導体である hyperforin、黒点にはナフトジアンスロン誘導体である hypericin、が存在しており、これらは *Hypericum* 属植物における特徴的な化合物である。これらに加えて、本属植物からは多くのキサントンやメロテルペンが報告されている。以下、これらの特徴的な成分について述べる。

2.1) アシルフロログルシノール誘導体

Hypericum 属植物からは、主に高度にプレニル化されたアシルフロログルシノール誘導体 (PPAP: polyprenylated acylphloroglucinol) が報告されている。Hyperforin は貫葉連翹 (*H. perforatum*) から初めて報告された PPAP であり⁵⁷、貫葉連翹が示す抗うつ作用の活性本態とされている⁵⁸。この hyperforin が有するユニークな化学構造と生物活性に注目が集り、多くのオトギリソウ科植物に含まれる PPAP の探索研究が行われた結果、これまでに約 400 種の化合物が単離、報告されている⁵⁹。このうち、約 200 種は hyperforin (III.1) に代表される bicyclo[3.3.1]nonane-2,4,9-trione 骨格を有する PPAP であり、フロログルシノール環上

のアシル基とイソプレン部分の結合位置により type A 及び type B に分類される^{59a,d} (Figures 3.2 and 3.3)。

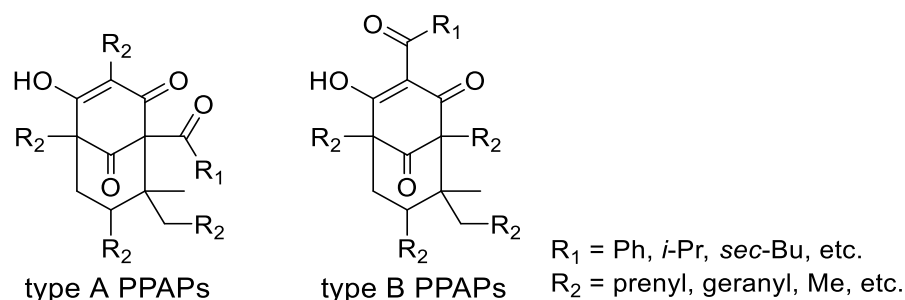


Figure 3.2. Relative positions of the acyl group and isoprene moieties on the phloroglucinol core for type A and type B PPAPs^{59a,d}.

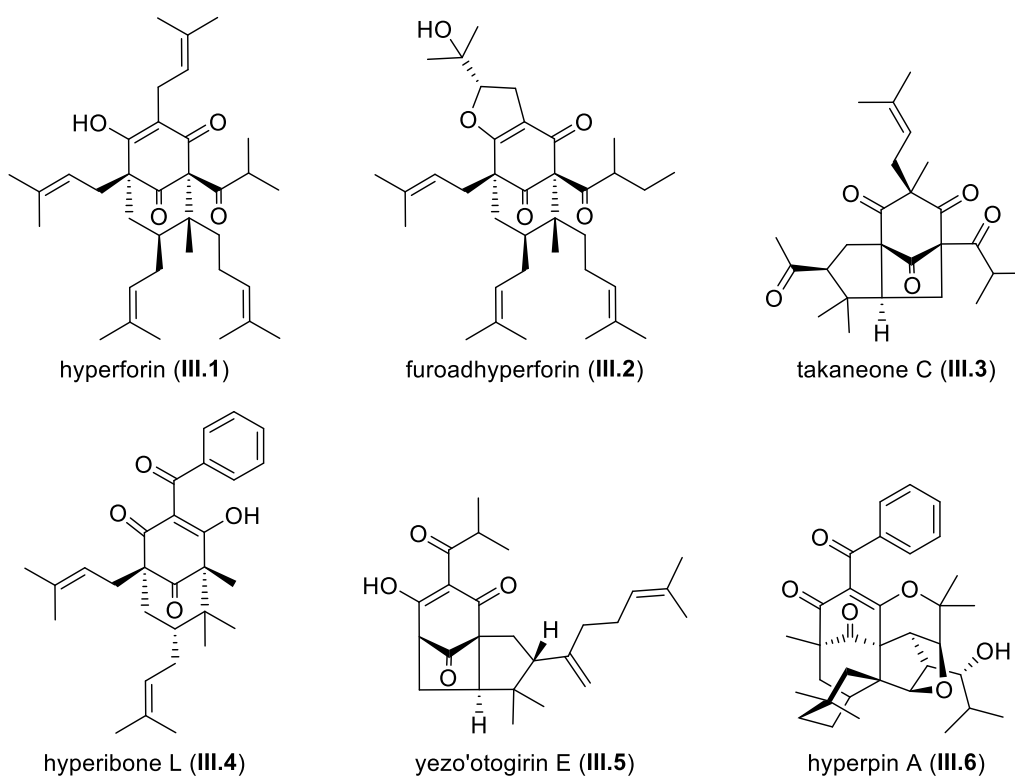


Figure 3.3. Type A (III.1–III.3) and B (III.4–III.6) PPAPs isolated from *Hypericum* plants.

当研究室では *Hypericum* 属植物の成分研究を行っており、type A に分類される furoadhyperforin (III.2)⁶⁰ や type B に分類される hyperibone L (III.4)⁶¹ に加え、type A 及び type B として珍しい bicyclo[3.2.1]octane-2,4,8-trione 骨格を有する takaneone C (III.3)⁶² 及び yezo'otogirin E (III.5)⁶³ を *H. shikokumontanum* 及び *H. yezoense* の地上部から単離し、報告している (Figure 3.3)。また、2020 年に Hou らが *H. przewalskii* から単離した hyperpin A (III.6)⁶⁴ は type B に分類される六環性の PPAP であり、高度に縮環したユニークな構造を

有している。III.5 は *Escherichia coli* 及び *Staphylococcus aureus* に対する抗菌活性を示すことが明らかになっている⁶⁴。

また、type A あるいは type B のさらなる分子内環化により、天然物として稀なアダマンタン型骨格あるいはホモアダマンタン型骨格を有する PPAP も単離されており、当研究室で *H. scabrum* から単離した hyperibone K (III.7)⁶¹ や、Yao らによって報告されたユニークな 2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptane 部分を有する dioxasampson A (III.8)⁶⁵ を始めとし (Figure 3.4)、これまでに約 70 種が報告されている^{59a}。III.8 は HeLa 細胞に対して増殖阻害活性を示すことが報告されている⁶²。

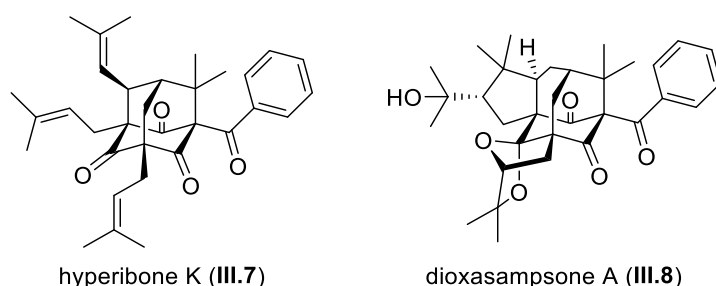


Figure 3.4. PPAPs with adamantane (III.7) and homo adamantane (III.8) core isolated from *Hypericum* plants.

上述の type A 及び B とは異なる構造の特徴を持った PPAP も報告されている。Hypercalin C (III.9)⁶⁶、chinesin II (III.10)⁶⁷、並びに hyphenrone J (III.11)⁶⁸ は *Ascyreia* 節に含まれる *H. henryi*、*H. chinense*、*H. calycinum* から単離された PPAP であり、フロログルシノールにイリダン型又はメンタン型モノテルペンが縮合した構造を有している (Figure 3.5)。

当研究室では紅早蓮 (*H. ascyron*) の地上部の成分研究を行い、III.9 より生合成され、5/6/6 三環性の骨格を持つ tomoeone A (III.12)⁶⁹ を単離し、報告している。

また、III.10 はヒト腸管癌細胞に対して強力な増殖阻害活性を示すことが知られており⁶³、2019 年には類縁体も含めた不斉全合成が達成されている⁷⁰。

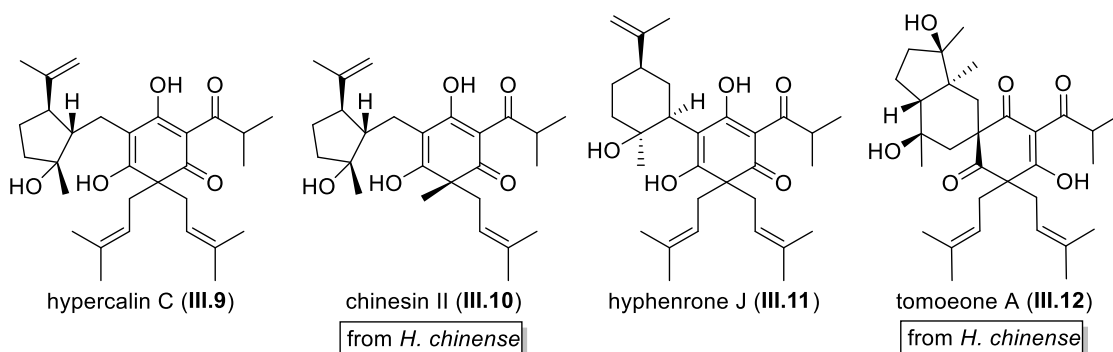


Figure 3.5. Other PPAPs (III.9–III.12) isolated from *Hypericum* plants.

2.2) ジアンスロン誘導体

ナフトジアンスロン誘導体である hypericin (III.13) は一部の *Hypericum* 属植物の葉や花に見られる黒点に存在する暗赤色素である⁷¹ (Figure 3.6)。また、III.13 は光増感作用に加え、腫瘍細胞に集積する作用を有していることから、癌の光線力学療法における光増感剤への応用研究が展開されている⁷²。Hypericin 関連化合物として *H. perforatum* からは pseudohypericin (III.14) が、*H. montanum* からは protohypericin (III.15) 及び hypericodehydrodianthrone (III.16) が報告されている⁷³。

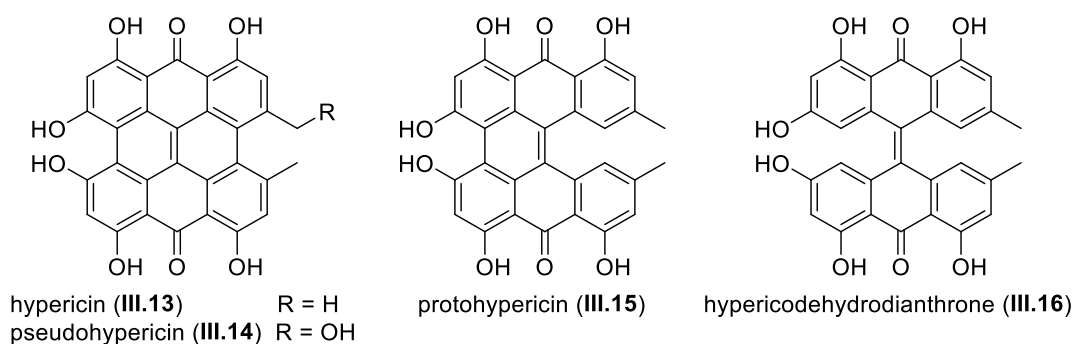


Figure 3.6. Dianthrone (III.13–III.16) isolated from *Hypericum* plants.

2.3) キサントン

Hypericum 属植物からは、高度にプレニル化されたキサントンが数多く報告されている (Figure 3.7)。当研究室の田中らによって金糸桃 (*H. chinense*) の根部から単離された biyouxanthone A–C (III.17–III.19) は、高度にプレニル化されたキサントン誘導体であり、III.17 及び III.18 は抗 C 型肝炎ウイルス活性を示した⁷⁴。

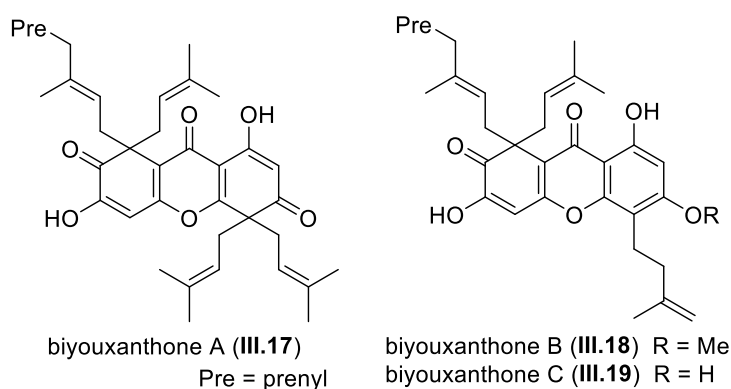


Figure 3.7. Xanthenes (III.17–III.21) and a biogenetically related depsidone (III.22) isolated from *Hypericum* plants.

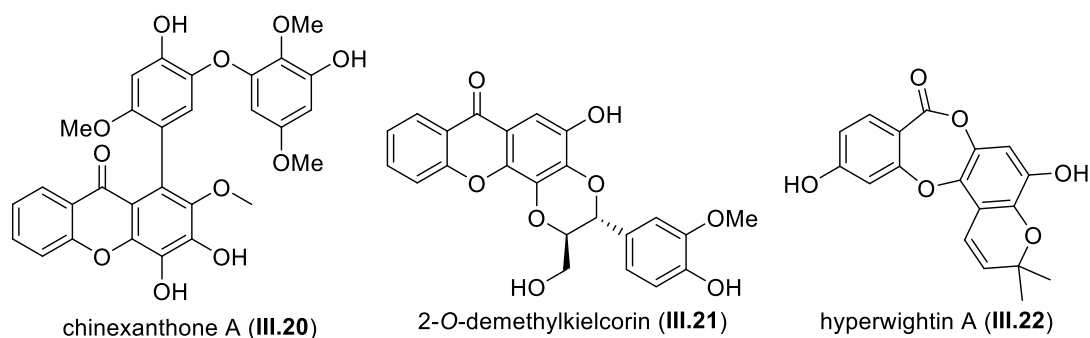


Figure 3.7. Continued.

また、田中らは同植物の葉及び茎からはジフェニルエーテル誘導体とキサントンの複合体である chinexanthone A (III.20) や xanthonolignoid である 2-O-demethylkielcorin (III.21) を始めとした約 50 種のキサントン誘導体を単離し、報告している⁷⁵。

オトギリソウ科植物からは、hyperwightin A (III.22) を始めとするデプシドン誘導体⁷⁶ が報告されており、これらはキサントンを前駆体として生合成されると考えられている。地衣類からの depsidone 骨格を有する天然物の単離例は多くあるが⁷⁷、高等植物からの報告は、オトギリソウ科植物からのみである。

2.4) メロテルペン

本属植物からは type A PPAP を前駆体とするメロテルペンが多く報告されている (Figure 3.8)。Xu らは紅旱蓮 (*H. ascyron*) の地上部の成分研究を行い、 γ -lactone と cycloheptane 環が縮合した二環性骨格を有する ascyronone A (III.23)⁷⁸ や cyclooctane 環を有する ascyronone C (III.24)⁷⁸ に加えて、nor-type A PPAP である norascyronone C (III.25)⁷⁹ を報告している。一方、当研究室の田中らは *H. yezoense* の地上部から III.25 と類似の構造を有する nor-type A PPAP を前駆体として生合成される yezo'otogirin A (III.26)⁸⁰ を単離、報告している。

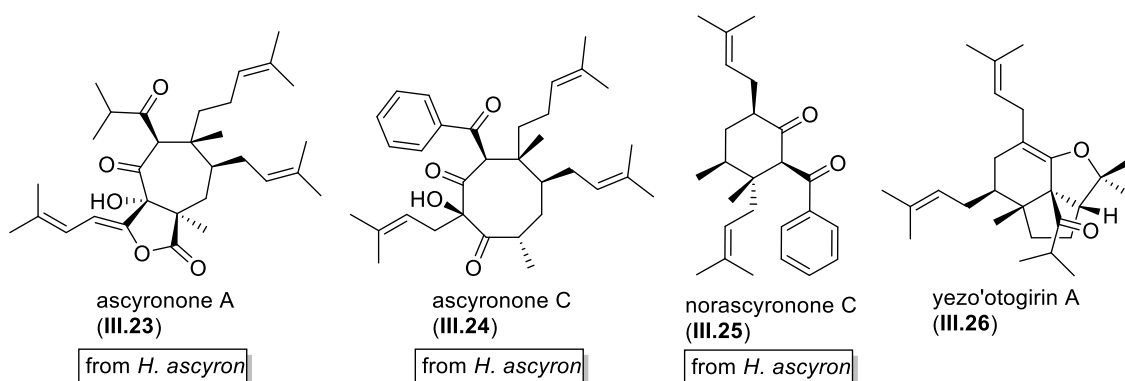


Figure 3.8. Meroterpenes (III.23–III.26) derived from type A PPAP isolated from *Hypericum* plants.

また、当研究室では type A PPAP 以外の PPAP を前駆体として生合成されるメロテルペンを報告している (Figure 3.9)。 *H. patulum* から見出した hypatulin A (III.27)⁸¹ は Baeyer-Villiger 酸化、脱炭酸を経てフロログルシノール骨格が失われることで生合成される、ユニークな 5/5/5 の三環性骨格を有するメロテルペンである。一方、金糸桃 (*H. chinense*) の根部からは二環性の γ -lactone と三環性の γ -lactone が C-C 結合した天然物としてユニークな構造を有するメロテルペン biyoulactone A (III.28)⁸² や octahydroinden 環にエノール型の β -ジケトンを含む側鎖と γ -lactone 部分が結合した構造を有する biyoulactone D (III.29)⁸³ を単離し、報告している。これら biyoulactone 類は、金糸桃の地上部から単離された PPAP である III.10 やアシル基の構造が異なる類縁化合物を前駆体として生合成されると考えている。

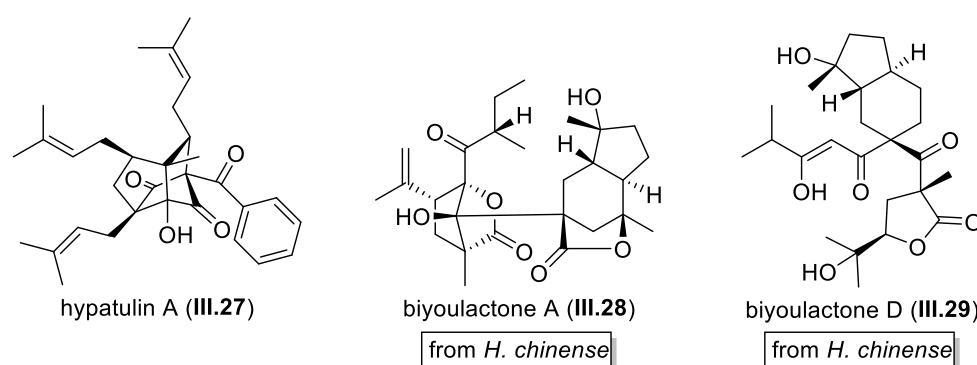


Figure 3.9. Other meroterpenes (III.27–III.29) isolated from *Hypericum* plants by our group.

また、金糸桃 (*H. chinense*) の葉からは、マロニル CoA 由来の C₂ ユニット 2 個のみとアシル基から構成される short ketide 部分と 1 個のイソプレンから構成される hyperolactone A–D (III.30–III.33)⁸⁴ が 1995 年に多田らによって報告されている (Figure 3.10)。

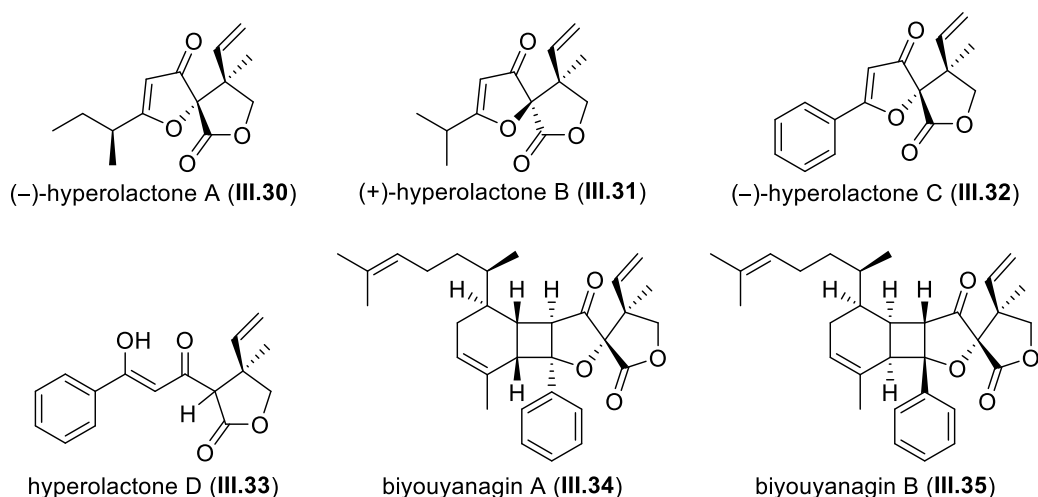


Figure 3.10. Hyperolactone congeners (III.30–III.35) isolated from *Hypericum chinense*.

当研究室の研究により金糸桃の葉から単離された biyouyanagin A (III.34)^{85,86} 及び B (III.35)^{87,88} は、セスキテルペン (*ent*-zingiberene) と III.32 が cyclobutane 環を介して結合する特異な構造を有しており、顕著な抗 HIV 活性を示すメロテルペンである^{85,88}。その特異な構造と生物活性に注目が集まり、全合成及び構造活性相関研究が展開されている⁸⁸。この過程で III.32 にも抗 HIV 活性が見出されている⁸⁸。

さらに、当研究室の田中らは short ketide 部分を持つメロテルペンとして yojironin A (III.36)⁸⁹ や yezo'otogirin G (III.37)⁶³ を *H. yojironum* 及び *H. yezoyense* の地上部から単離している (Figure 3.11)。なお、両化合物は生合成の過程で C₂-unit を 1 個失うことで short ketide 部分を形成していると推定しており^{63,89}、hyperolactone 類とは生合成の観点で区別される。

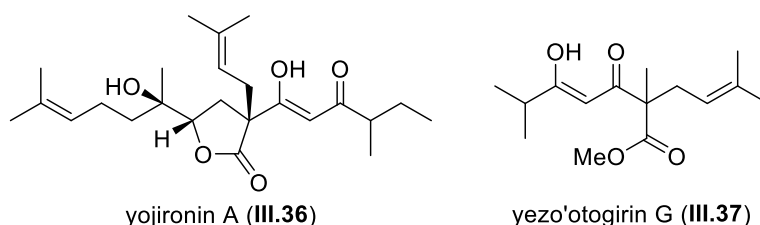


Figure 3.11. Meroterpenes (III.36 and III.37) with short ketide moiety isolated from *Hypericum* plants by our group.

以上のように、*Hypericum* 属植物には、ユニークな化学構造や生物活性を有する多様な天然物が報告されている。一方で、本属植物の成分研究例は、多くの種が薬用とされている地上部について行われたものが多く、根の成分研例は少ない。紅旱蓮 (*H. ascyron*) についても同様であり、全草を薬用として用いるが、その根の成分に関する研究はこれまでに行われておらず、根の含有成分に興味を持たれた。そこで今回、著者は地上部の成分とは異なるユニークな構造を持つ天然物の単離を目的に、紅旱蓮の根の成分探索を行った。

また、金糸桃のユニークな化学構造及び生物活性を有する hyperolactone 類の組成に興味を持ち、新規メロテルペンの単離を目的に金糸桃葉の成分研究を行った。

(補足)

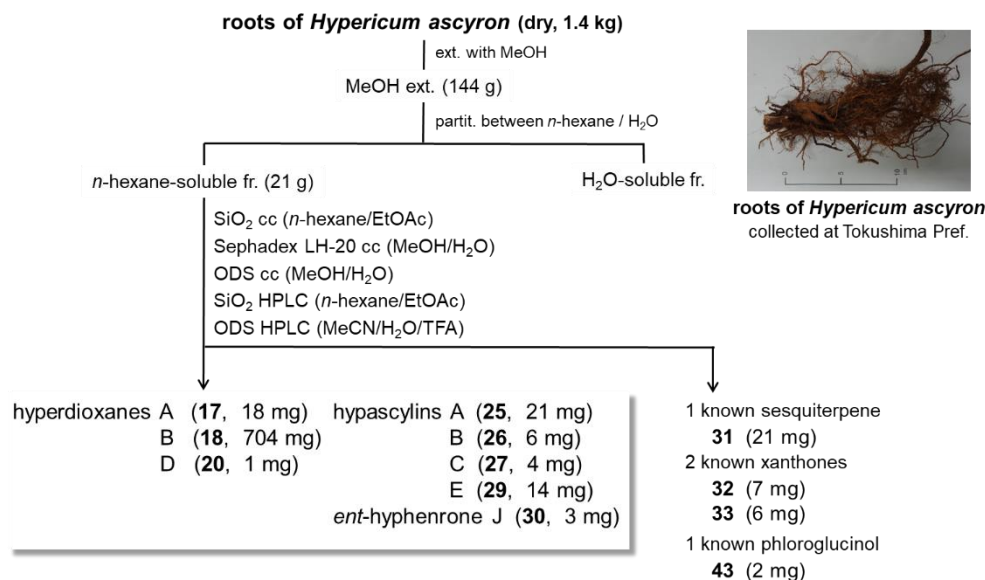
本論文では、「メロテルペン」及び「short ketide 部分」を以下のように定義した。

- 1.メロテルペン: アシル部分とマロニル CoA 由来の C₂ ユニット及びイソプレン部分からなる化合物群。
PPAP は、広義にはメロテルペンに分類されるが、本論文では、PPAP と区別した。また、PPAP の *retro*-aldole 反応や aldole 反応、脱炭酸等の分子内反応により、フロログルシノール部分が失われた化合物もメロテルペンに分類している。
- 2.short ketide 部分: アシルスターターと C₂-unit 1 個、あるいは 2 個のみからなる部分構造。

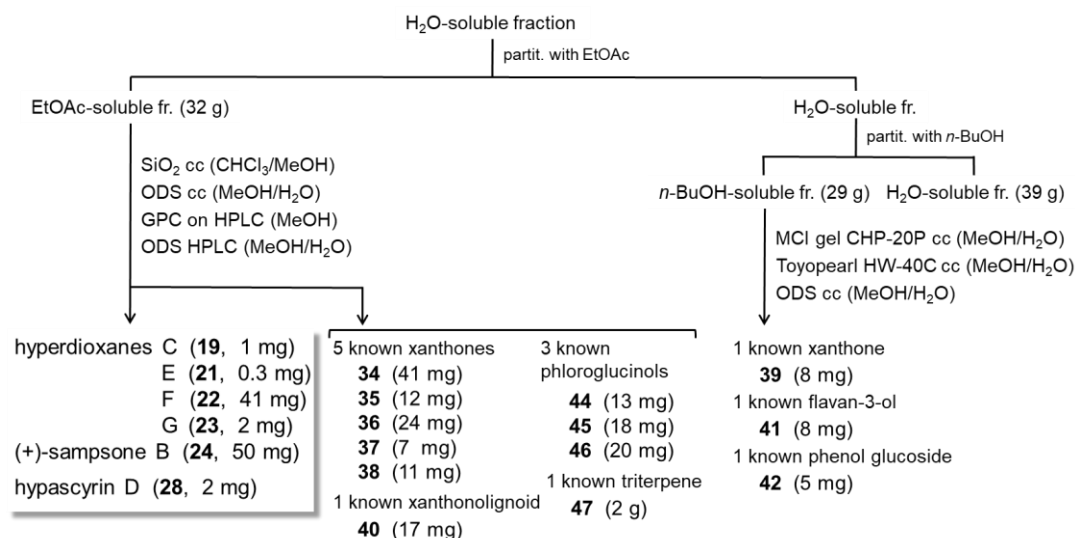
第2節 紅旱蓮から単離した新規ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体及び新規アシルフロログルシノール誘導体の化学構造と生物活性

第1項 抽出・分離

紅旱蓮 (*Hypericum ascyron*) の根 (1.4 kg) を MeOH で抽出し、抽出エキス 143.8 g を得た。これを *n*-hexane、EtOAc、*n*-BuOH、及び水で順次溶媒間分配し、*n*-hexane、EtOAc、*n*-BuOH を得た後、各可溶部をそれぞれ各種クロマトグラフィーにより繰り返し分離した。その結果、8 種の新規ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体 hyperdioxane A–G (**17–23**) 及び (+)-sampsone B (**24**)、並びに 6 種の新規 PPAP である hypascylin A–E (**25–29**) 及び *ent*-hyphenrone J (**30**) を単離した (Scheme 3.1)。加えて、17 種の既知化合物 (**31–47**) を単離した (Figure 3.12)。



Scheme 3.1. Isolation of new dibenzo-1,4-dioxanes (**17–24**) and PPAPs (**25–30**) from the roots of *Hypericum ascyron*.



Scheme 3.1. continued

第 2 項 既知化合物の同定

単離した既知化合物のスペクトルデータを文献値と比較することで、1種のセスキテルペン eremophil-9,11(13)-dien-8 β ,12-olide (**31**)⁹⁰、8種のキサントン、2-methoxyxanthone (**32**)⁹¹、garcimangoxanthone D (**33**)⁹²、1,3-dihydroxy-5-methoxyxanthone (**34**)⁹³、1,6-dihydroxyxanthone (**35**)⁹⁴、2-hydroxyxanthone (**36**)⁹¹、gentisein (**37**)⁹⁵、1-methoxy-3,5-dihydroxyxanthone (**38**)⁹³、1,7-dimethoxy-3,6-dihydroxyxanthone (**39**)⁹⁶、1種のキサントノリグノイド kielcorin (**40**)⁹⁷、1種のフラバン-3-オール (-)-epicatechin (**41**)⁹⁸、1種のフェノール配糖体 tachioside (**42**)⁹⁹、4種の PPAP hyphenrone K (**43**)⁶⁸、hypercalin C (**44**)⁶⁶、tomoeone A (**45**)⁶⁹ 及び H (**46**)⁶⁹、並びに1種のトリテルペン betulinic acid (**47**)¹⁰⁰ と同定した (Figure 3.12)。

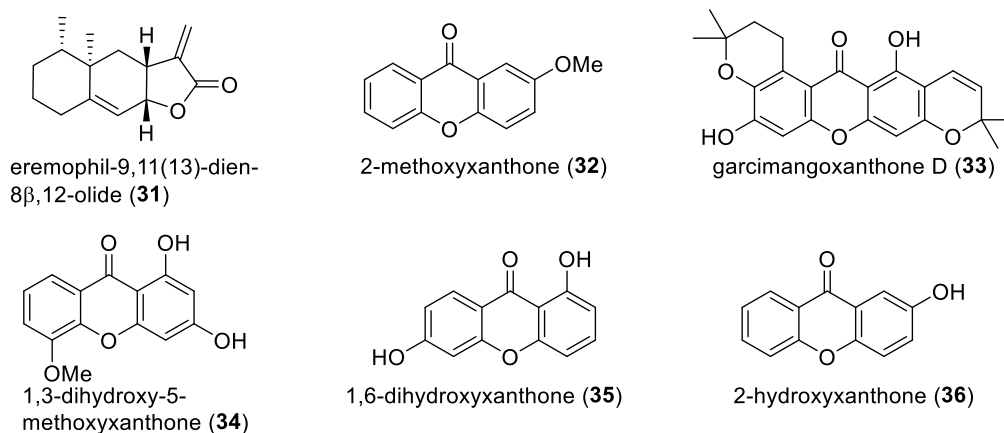


Figure 3.12. Structures of known compounds (**31–47**) isolated from the roots of *Hypericum ascyron*.

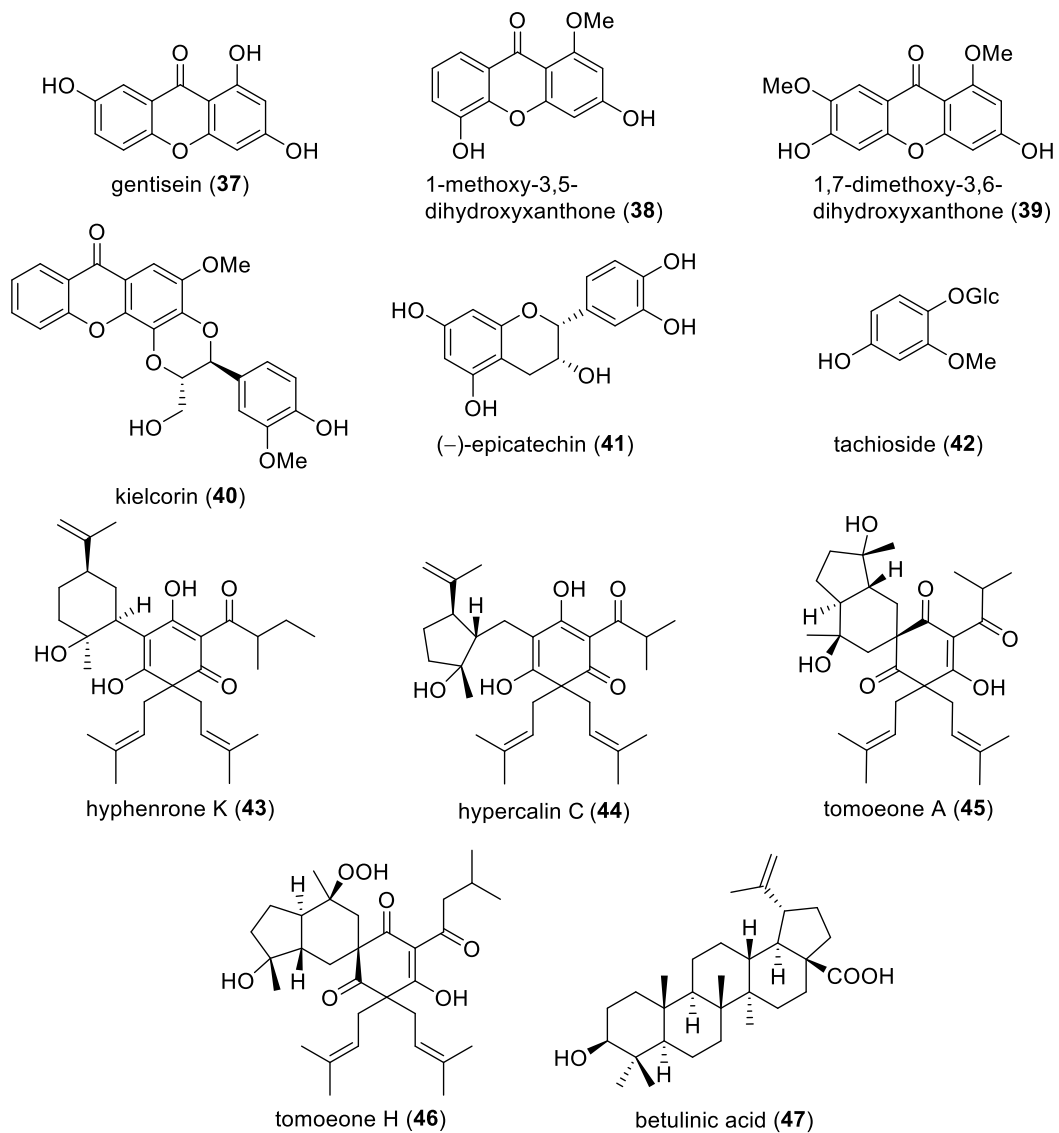


Figure 3.12. Continued

第2項 新規ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体 (17-24) の構造解析

1) Hyperdioxane A (17) 及び B (18) の構造解析

Hyperdioxane A (17) は光学活性な $\{[\alpha]_D^{23} -60.9 (c 0.10, \text{MeOH})\}$ 無色非結晶性の固体として得られた。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルでは1個の1,2,4-三置換ベンゼン、2個の三置換オレフィン、3個のメトキシ基、3個の sp^3 メチン (うち1個は酸素原子と結合する)、5個の sp^3 メチレン、1個の *sec*-メチル、1個の *tert*-メチルのシグナルが観測された (Figure 3.13 and Table 3.1)。 $^{13}\text{C NMR}$ スペクトルでは1個のケトン、1個のカルボニル、1個のアセタール、1個の酸素原子が結合した三級炭素、2個の四級炭素を含む合計30個の炭素に由来するシグナルが得られた。これらの NMR データと HRESIMS により得られた m/z 545.2136 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, $\Delta -1.6 \text{ mmu}$) のピークから 17 の分子式を $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{O}_8$ と帰属した。

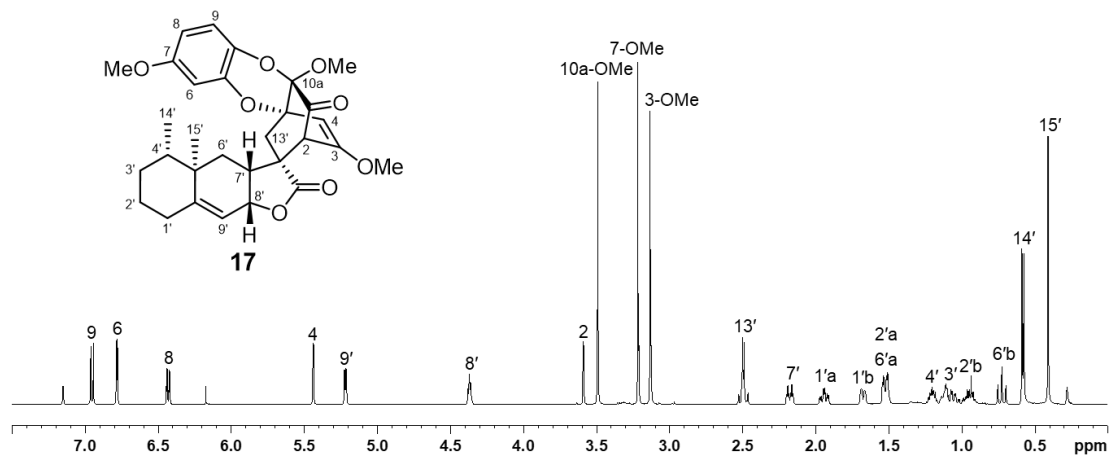


Figure 3.13. $^1\text{H NMR}$ spectrum of hyperdioxane A (17) (500 MHz in C_6D_6).

2D NMR スペクトルの解析により、hyperdioxane A (17) は2個の部分構造 (units A and B) を持つことが示唆された (Figure 3.14)。unit A として、1,2,4-trihydroxybenzen 部分を推定し、さらに C-7 にメトキシ基が結合することを 7-OMe/H-6、H-8 間の ROESY 相関から明らかにした。一方、unit B は Figure 3.13 に示した 2D NMR 相関を詳細に解析し、エレモフィラノライド型セスキテルペン (C-1'-C-15') と bicyclo[2.2.2]octenone 環が 11'位でスピロ縮合した構造と帰属した。さらに、C-3 ($\delta_{\text{C}} 150.1$)、C-4a ($\delta_{\text{C}} 78.5$)、並びに C-10a ($\delta_{\text{C}} 90.2$) のケミカルシフト値から、これらの炭素をそれぞれエノール型のオレフィン炭素、酸素原子が結合した三級炭素、アセタール炭素と帰属した。また、C-3a および C-10a にメトキシ基が結合することを HMBC スペクトルの解析から明らかにした。Unit B 中の γ -lactone の存在は、 1771 cm^{-1} に観測された IR 吸収からも支持された。

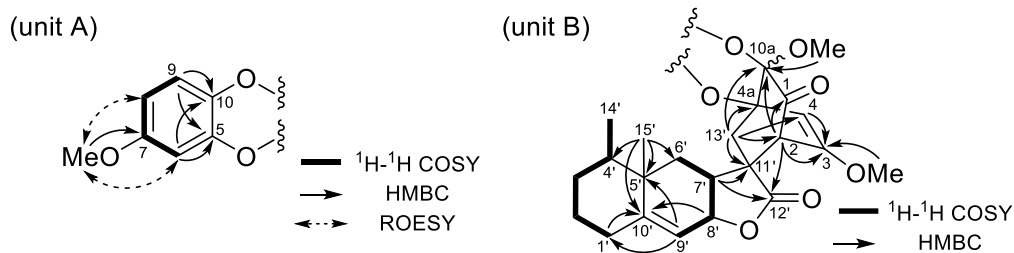


Figure 3.14. Selected 2D NMR correlations and partial structures (units A and B) of hyperdioxane A (**17**).

続いて、hyperdioxane A (**17**) の両 unit が C-10/C-10a 間及び C-5/C-4a 間でエーテル結合し、1,4-ジオキサン環を介して結合することを、H-9/10a-OMe 間の ROESY 相関と分子式を考慮することで推定した (Figure 3.14)。以上の解析より、hyperdioxane A (**17**) を Figure 3.15 に示したエリモフィラノライド型セスキテルペンとジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体の複合体構造に帰属した。

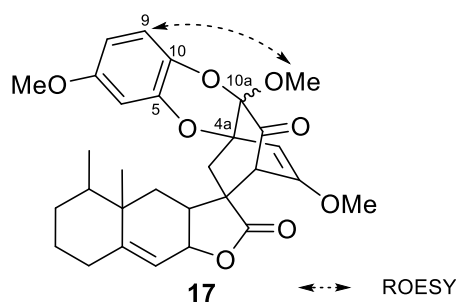


Figure 3.15. Gross structure of hyperdioxane A (**17**).

続いて、ROESY スペクトルの解析から hyperdioxane A (**17**) の相対立体配置を帰属した。即ち、Figure 3.16A に示した相関から、unit B の H-7 β 、H-8 β 、Me-14 α 、及び Me-15 α 、並びに 11'S*配置を明らかにした。さらに、H-9/H₃-14 間と H-4/10a-OMe 間に ROESY 相関が得られたことから (Figure 3.16B)、2S*,4aS*,10aR*配置と推定した。

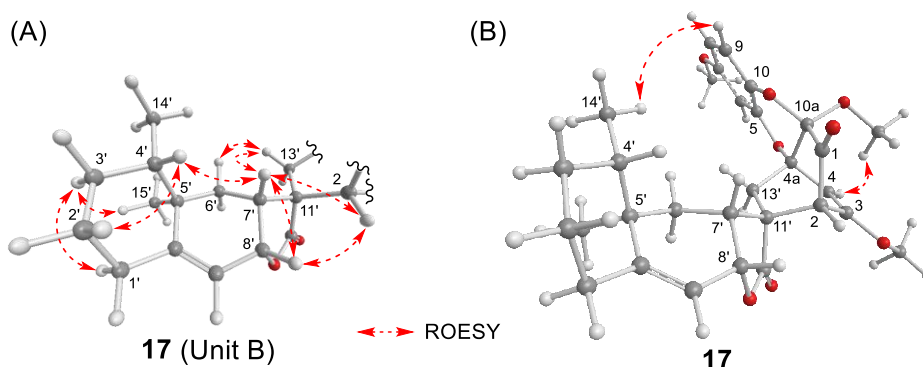


Figure 3.16. (A) Selected ROESY correlations and the relative configuration for the sesquiterpene moiety (unit B) of hyperdioxane A (**17**); (B) the relative configuration of **17**.

推定した相対立体配置は、**17** の ^1H NMR スペクトルにおいて、 $\text{H}_3\text{-14}'$ と $\text{H}_3\text{-15}$ がベンゼンの異方性効果により高磁場シフトしていることから支持された。なお、 $\text{H-9/H}_3\text{-14}$ 間の ROESY 相関の強度が弱かったことから、推定した相対立体配置に対応する (2*S*,4*aS*,10*aR*)-体の最安定配座を DFT 計算により求めた。得られた最安定配座における $\text{H-9/H-14}'$ 間の距離を算出したところ 3.57 Å であり、 $\text{H-9/H-14}'$ 間に ROESY 相関が観測されることに矛盾がないことを確認した。以上の解析から、hyperdioxane A (**17**) の相対立体配置を Figure 3.16B に示した配置と帰属した。

Dekkersらは、 β,γ -不飽和ケトンにおいて、カルボニル基と二重結合がFigure 3.17 (A) のような空間的配置をとる場合、300–350 nmに負のコットン効果を示し、その鏡像の位置関係となる場合、正のコットン効果を示すことを報告している¹⁰¹ (Figure 3.17)。

Hyperdioxane A (**18**) のECDスペクトルを測定したところ、330 nm 付近に β,γ -不飽和ケトン (C-1–C-4) の二重結合 ($\pi\rightarrow\pi^*$ 遷移) とカルボニル ($n\rightarrow\pi^*$ 遷移) に由来する負のコットン効果が観測されたことから (Figure 3.18)、カルボニル基と二重結合は、Figure 3.17 (A) の空間的配置をとることが示唆された。以上の解析から、hyperdioxane A (**17**) の絶対立体配置を2*S*,4*aS*,10*aR*,4'*S*, 5'*R*, 7'*R*, 8'*R*,11'*S*と帰属した。

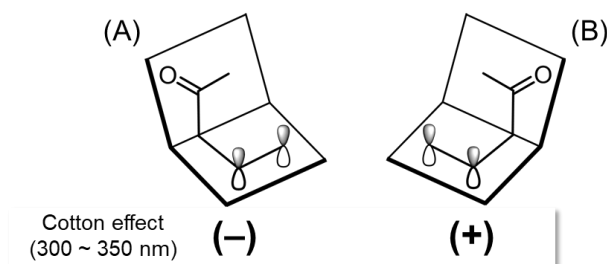


Figure 3.17. Enantiomeric chromophores associated with dissymmetric β,γ -unsaturated ketone¹⁰¹.

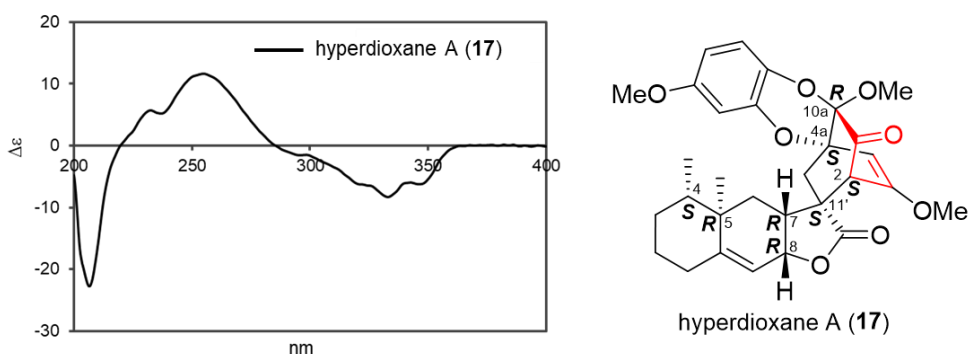


Figure 3.18. Experimental ECD spectrum and absolute configuration of hyperdioxane A (**17**).

Hyperdioxane B (**18**) は分子式 $C_{15}H_{14}O_6$ を有し $\{m/z\ 313.0689 ([M+Na]^+, \Delta+0.1\text{ mmu})\}$ 、光学活性な $\{[\alpha]_D^{24} -39.1 (c\ 0.20, CHCl_3)\}$ 黄色結晶として単離された。1D NMR スペクトルでは、1 個の 1,2,4-三置換ベンゼンと 1 個の共役カルボニル、2 個の三置換オレフィン、1 個のアセタール炭素、ならびに 3 個のメトキシ基のシグナルが観測された (Figure 3.19 and Table 3.1)。

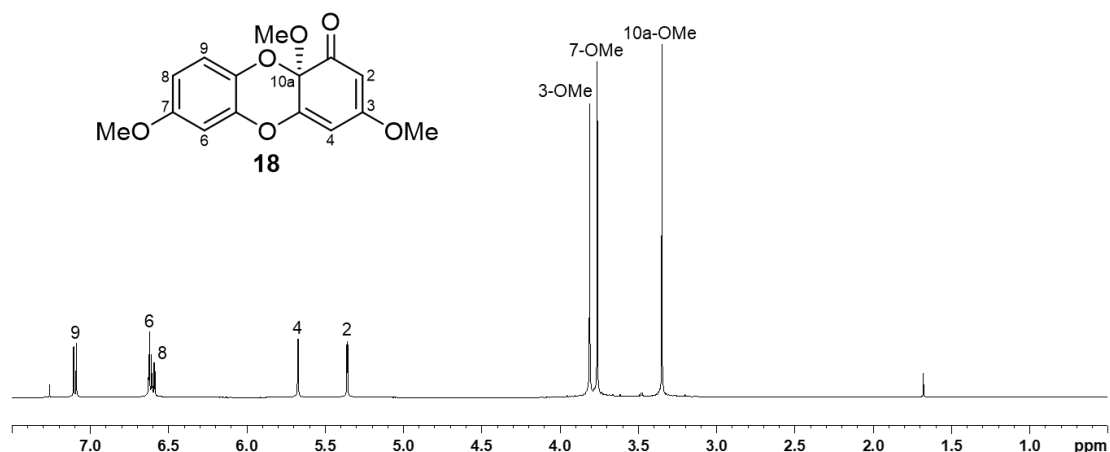


Figure 3.19. 1H NMR spectrum of hyperdioxane B (**18**) (500 MHz in $CDCl_3$).

2D NMR スペクトルの解析を行い、C-3 と C-10a にメトキシ基が結合した cyclohexadienone 部分 (C-1-C-4, C-4a, and C-10a) の存在を明らかにした (Figure 3.20)。さらに、分子式と 1,2,4-三置換ベンゼン部分の ^{13}C NMR ケミカルシフト値 {C-5 (δ_C 141.9), C-7 (δ_C 155.6), and C-10 (δ_C 132.4)} を考慮し、cyclohexadienone 部分と 1,2,4-三置換ベンゼン部分は 1,4-ジオキサン環を介して結合する平面構造を帰属した。C-7 にメトキシ基が結合することは、10a-OMe/H-9、7-OMe/H-6、並びに 7-OMe/H-8 間の NOESY 相関から明らかになった。

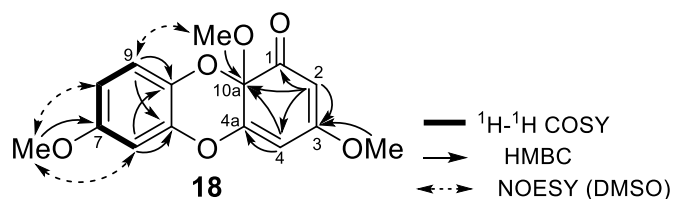


Figure 3.20. Selected 2D NMR correlations of hyperdioxane B (**18**).

Hyperdioxane B (**18**) の絶対立体配置は、本化合物の Pd/C を触媒とする接触還元により得られた hexahydro 誘導体 (**18a**) に改良モッシャー法¹⁰² を適用することで明らかにした。初めに **18a** の NOESY 相関 (Figure 3.21) とカップリング定数を解析することで、相対立体配置を帰属すると共に、シクロヘキサンはイス型配座を取り、1 位水酸基は equatorial 位に位置することを確認した。続いて **18a** を (*S*)-及び (*R*)-MTPA エステル (**18b** and **18c**) へと導き、 $\Delta\delta$ 値を求めたところ、Figure 3.22 の様に分布していたことから、**18a** の 1 位の絶対立体配置を *R* と帰属した。以上の解析から、hyperdioxane B (**18**) の絶対立体配置を 10a*R* と帰属した。

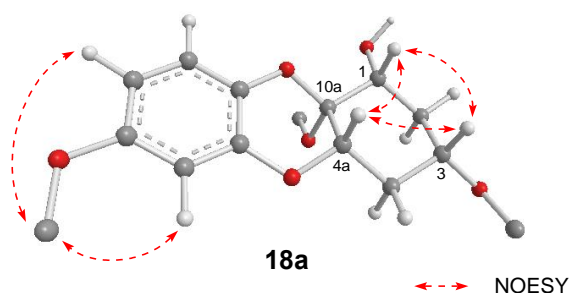


Figure 3.21. Selected NOESY correlations of hexahydrohyperdioxane B (**18a**) (protons of methyl groups are omitted).

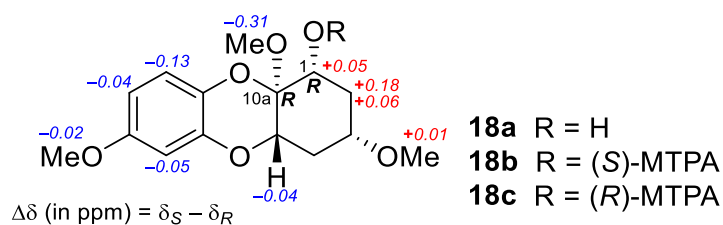


Figure 3.22. $\Delta\delta$ values [$\Delta\delta$ (in ppm) = $\delta_S - \delta_R$] obtained from the (*S*)- and (*R*)-MTPA esters (**18b** and **18c**, respectively) of hexahydrohyperdioxane B (**18a**).

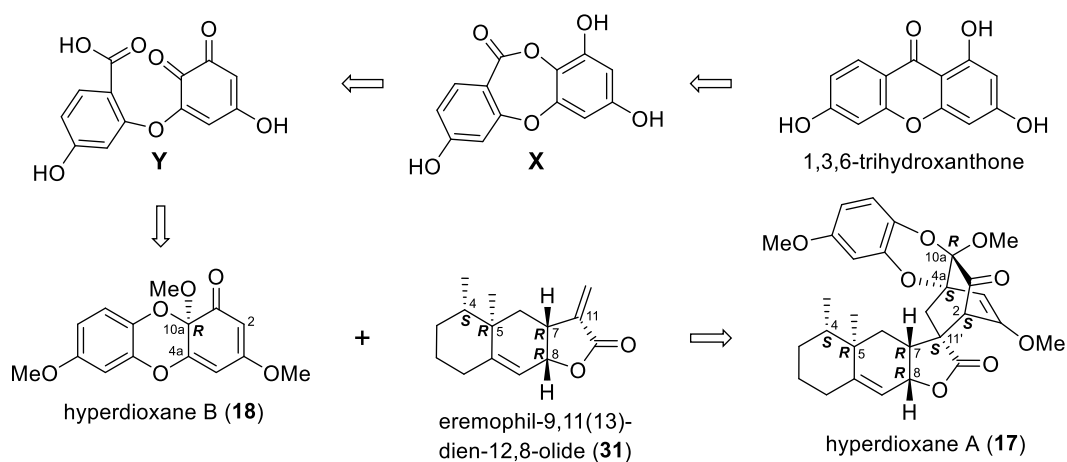
Table 3.1. ^1H and ^{13}C NMR data for hyperdioxanes A (**17**) and B (**18**).

position	17 (in C_6D_6)		18 (in CDCl_3)	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	195.7	–	187.3	–
2	56.6	3.59 (1H, d, 2.1)	94.7	5.37 (1H, d, 2.2)
3	150.1	–	172.6	–
4	99.9	5.43 (1H, d, 2.1)	99.7	5.69 (1H, d, 2.2)
4a	78.5	–	153.2	–
5	143.1	–	141.9	–
6	103.7	6.78 (1H, d, 2.8)	101.8	6.61 (1H, d, 2.8)
7	156.7	–	155.6	–
8	108.8	6.43 (1H, dd, 8.8, 2.8)	109.7	6.64 (1H, dd, 8.8, 2.8)
9	118.1	6.95 (1H, d, 8.8)	118.7	7.11 (1H, d, 8.8)
10	133.7	–	132.4	–
10a	90.2	–	86.4	–
3-OMe	55.5	3.14 (3H, s)	56.5	3.82 (3H, s)
7-OMe	55.2	3.22 (3H, s)	55.7	3.78 (3H, s)
10a-OMe	52.2	3.49 (3H, s)	49.8	3.36 (3H, s)
1'	31.9	1.94 (1H, td, 12.7, 4.7) 1.67 (1H, brd, 12.7)		
2'	29.4	1.52, 0.95 (each 1H, m)		
3'	30.5	1.11 (1H, brd, 12.1) 1.07 (1H, qd, 12.1, 4.1)		
4'	38.5	1.20 (1H, m)		
5'	38.8	–		
6'	32.1	1.50 (1H, dd, 14.0, 4.3) 0.73 (1H, t, 14.0)		
7'	37.5	2.17 (1H, dt, 14.0, 4.3)		
8'	72.8	4.37 (1H, t, 4.3)		
9'	112.8	5.22 (1H, d, 4.3)		
10'	156.7	–		
11'	47.9	–		
12'	176.0	–		
13'	31.8	2.51 (1H, d, 13.1) 2.48 (1H, d, 13.1)		
14'	15.2	0.58 (3H, d, 6.7)		
15'	19.4	0.41 (3H, s)		

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

2) Hyperdioxane A (17) 及び B (18) の生合成に関する考察

オトギリソウ科植物からはキサントン誘導体⁷⁵ やデプシドン誘導体⁷⁶ が単離されている。今回単離した hyperdioxane A (17) 及び B (18) の予想生合成経路を Scheme 3.2 に示した。すなわち、1,3,6-trihydroxyxanthone¹⁰³ の Baeyer-Villiger 酸化によりデプシドン (X) が得られる。18 は X の加水分解の後、酸化により生じる Y を経て生合成され、17 は 18 と既知セスキテルペン eremophil-9,11(13)-dien-8 β ,12-olide (31)⁹⁰ との [4+2] 環化付加により生合成されると考えられる。



Scheme 3.2. Possible biogenetic pathway of hyperdioxanes A (17) and B (18).

今回、hyperdioxane A 単離する過程で、その生合成前駆体として考えられる eremophil-9,11(13)-dien-8 β ,12-olide (31)⁹⁰ を単離することができた。31 の絶対立体配置は未帰属であったため⁹⁰、ECD スペクトルの計算値と実測値の比較による 31 の絶対立体配置の帰属を試みた。その結果、実測値が(4*S*,4*R*,7*R*,8*R*)-体の計算値とよく対応していたことから (Figure 3.23)、絶対立体配置を 4*S*,4*R*,7*R*,8*R* と推定した。

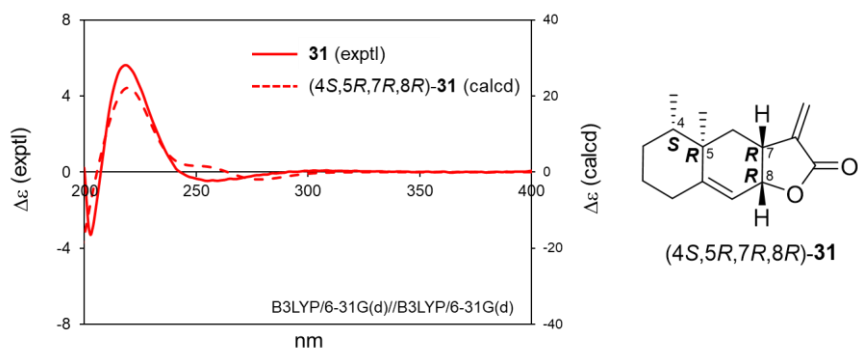


Figure 3.23. Experimental and calculated ECD spectra of 31 (calculated spectrum was red-shifted by 5 nm).

ECD スペクトルの解析により推定した hyperdioxane A の絶対立体配置は、これら予想合成前駆体の絶対立体配置と対応していることから、hyperdioxane A の構造は生合成の観点からも支持される。

3) (+)-Sampsonse B (**24**)、hyperdioxane C (**19**) 及び D (**20**) の構造解析

(+)-Sampsonse B (**24**) は無色非結晶性固体として得られた。HRESIMS の解析を行い、その分子式を $C_{16}H_{18}O_7$ と帰属した $\{m/z\ 345.0952, ([M+Na]^+, \Delta+0.2\text{ mmu})\}$ 。 1H および ^{13}C NMR スペクトルでは、1 個の sp^3 メチレン、4 個のメトキシ基、2 個のアセタール炭素、1 個の 1,2,4-三置換ベンゼン、並びに 1 個の α,β -不飽和ケトンのシグナルが観測された (Figure 3.24 and Table 3.2)。これらの 1D NMR データは、*Hypericum sampsonii* の地上部から単離された既知ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体 (-)-sampsonse B¹⁰⁴ のものと一致した。なお、(-)-sampsonse B の構造は、単結晶 X 線構造解析により相対立体配置まで帰属されている¹⁰⁴。しかしながら、**24** の比旋光度 $\{[\alpha]_D +94.8 (c\ 0.10, MeOH)\}$ は (-)-sampsonse B の比旋光度 $\{[\alpha]_D -12.8 (c\ 0.50, MeOH)\}$ ¹⁰⁴ とは異なる符号を示したことから、**24** を (+)-sampsonse B と結論した。

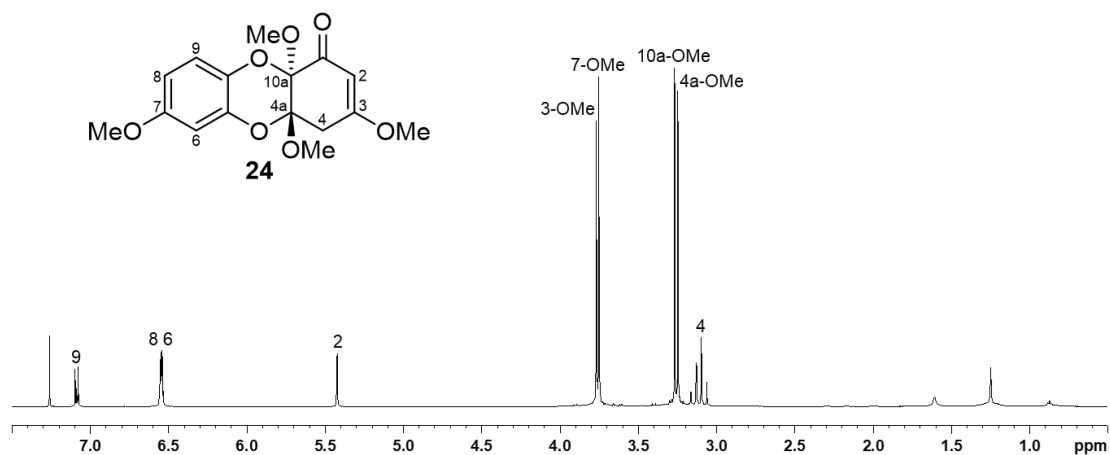


Figure 3.24. 1H NMR spectrum of (+)-sampsonse B (**24**) (500 MHz in $CDCl_3$).

(-)-Sampsonse B の絶対立体配置は未帰属であった¹⁰⁴。そこで、**25** の絶対立体配置を明らかにするため、ECD スペクトルの実測値と計算値の比較を行った。その結果、実測値が (4aS,10aS)-体の計算値と対応したことから (Figure 3.25)、(+)-sampsonse B の絶対立体配置を 4aS,10aS と推定した。

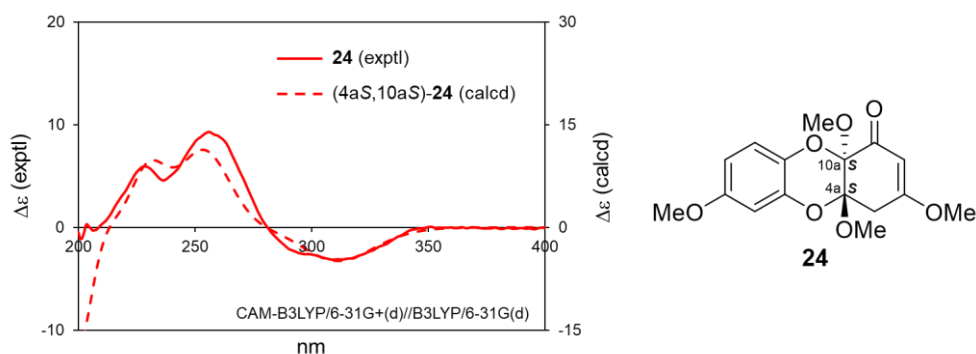


Figure 3.25. Experimental and calculated ECD spectra of (+)-sampsone B (**24**) (calculated spectrum was red-shifted by 15 nm).

また、(-)-sampsone B の単離報告論文には重メタノール中で測定した NMR データが記載されていたが¹⁰⁴、本研究から、これは重クロロホルム中で測定したデータの誤りである可能性が考えられる。

Hyperdioxane C (**19**) は光学活性な $\{[\alpha]_D^{28} +32.1$ (c 0.08, MeOH) $\}$ 無色非結晶性の油状物質であり、HRESIMS より分子式を $C_{15}H_{16}O_7$ と帰属した $\{m/z$ 331.0820, $([M+Na]^+$, $\Delta+2.6$ mmu) $\}$ 。本化合物の 1D NMR データは 1 個のメトキシ基のシグナルが消失したことを除き、(+)-sampsone B (**24**) のものと良く対応していた (Figures 3.26 and 3.24, and Table 3.2)。加えて、両化合物の ^{13}C NMR ケミカルシフト値には C-6-C-8 にわずかな違いが観測されたことから、**19** を **24** の 7-O-demethyl 体と結論した。この推定構造は、重 DMSO 中で測定した ROESY スペクトルにおいて 7-OH/H-8、H-6 間及び 10a-OMe/H-9 間に相関が観測されたことから支持された (Figure 3.27)。

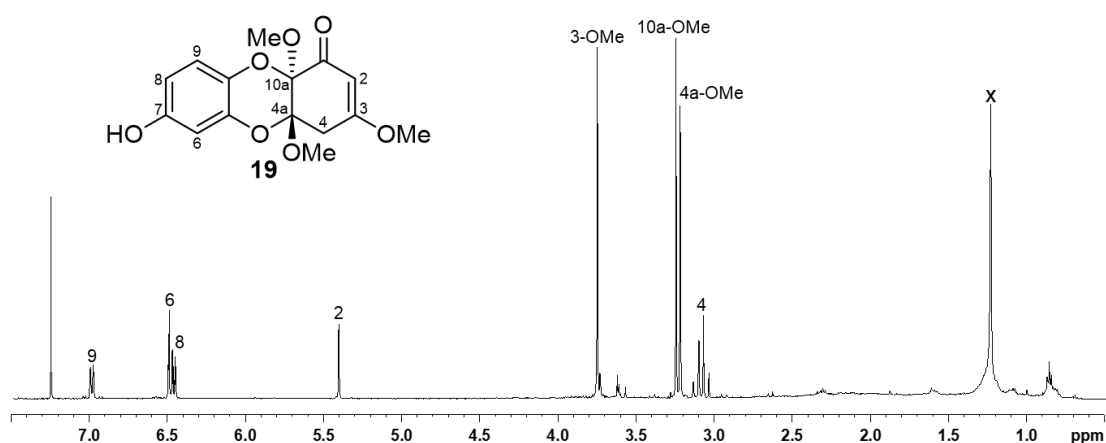


Figure 3.26. 1H NMR spectrum of hyperdioxane C (**19**) (500 MHz in $CDCl_3$).

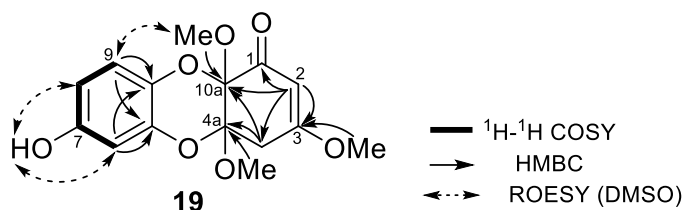


Figure 3.27. Selected 2D NMR correlations of hyperdioxane C (**19**).

続いて相対立体配置を帰属するために ROESY スペクトルの解析を行ったが、必要な相関を得ることが出来なかった。一方、hyperdioxane C (**19**) の ECD スペクトルを類似の構造を有する **24** のスペクトルと比較したところ (Figure 3.28)、両者は良く対応していたことから、**19** の絶対立体配置を **24** と同一の 4a*S*,10a*S* と推定した。

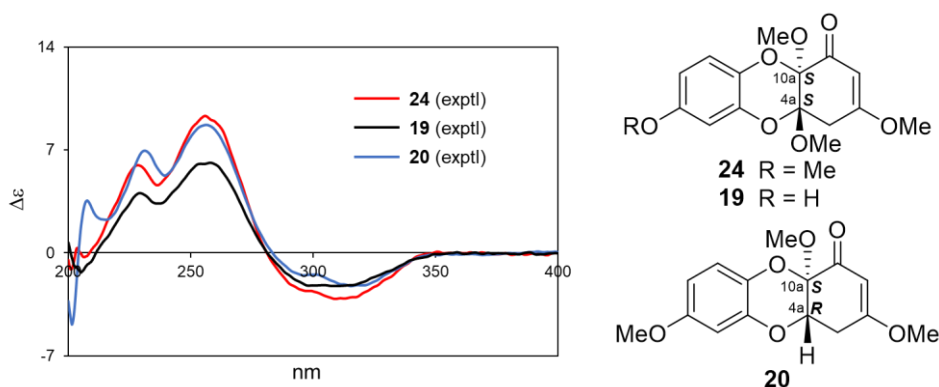


Figure 3.28. Experimental ECD spectra of hyperdioxanes C (**19**) and D (**20**), and (+)-sampsone B (**24**).

Hyperdioxane D (**20**) の HRESIMS において m/z 315.0844 にナトリウム付加分子イオンピーク $[M+Na]^+$ が観測されたことから、**20** の分子式を $C_{16}H_{18}O_9$ と決定した ($\Delta -0.2$ mmu)。本化合物の 1D NMR データは *Hypericum reptans* の地上部から見出されたジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体 2,7,4a-trimethoxy-1,4,4a,8b-tetrahydrodibenzo-*p*-dioxin-4-one¹⁰⁵ (単結晶 X線構造解析により相対立体配置まで帰属) のそれらと一致していた (Figure 3.29 and Table 3.2)。しかしながら、比旋光度の符号は一致しなかった $\{[\alpha]_D^{26} +78.5$ (c 0.10, $CHCl_3$) for **21**; $[\alpha]_D -120.3$ (c 0.10, $CHCl_3$) literature data^{105} ことから、**20** を 2,7,4a-trimethoxy-1,4,4a,8b-tetrahydrodibenzo-*p*-dioxin-4-one のエナンチオマーと結論した。}

Hyperdioxane D (**20**) の ECD スペクトルが **24** のものとよく類似したことから 4a*S*,10a*R* 配置と推定した (Figure 3.28)。

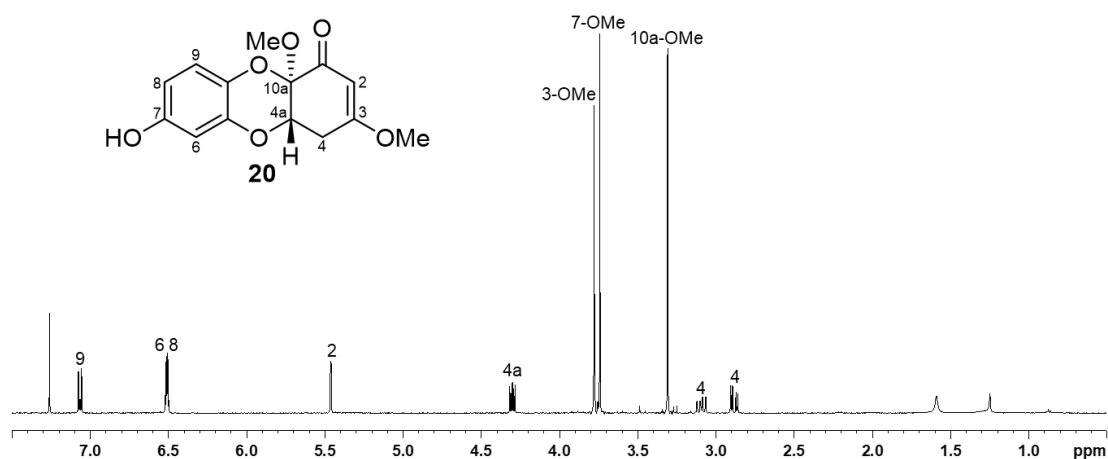


Figure 3.29. ^1H NMR spectrum of hyperdioxane D (**20**) (500 MHz in CDCl_3).

Table 3.2. ^1H and ^{13}C NMR data for (+)-sampsone B (**24**), and hyperdioxanes C (**19**) and D (**20**) in CDCl_3 .

position	24		19		20	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	188.4	–	188.6 ^c	–	188.4	–
2	99.7	5.43 (1H, d, 1.5)	104.4	5.42 (1H, d 1.0)	100.8	5.46 (1H, d, 1.5)
3	173.3	–	173.5	–	175.0	–
4	33.3	3.16 (1H, dd, 17.5, 1.5) 3.08 (1H, d 17.5)	33.3	3.13 (1H, dd, 17.5, 1.0) 3.07 (1H, d, 17.5)	32.7	3.09 (1H, ddd, 16.7, 10.5, 1.5) 2.88 (1H, dd, 16.7, 6.0)
4a	96.3	–	96.2	–	71.7	4.30 (1H, dd, 10.5, 6.0)
5	140.0	–	140.4	–	142.7	–
6	102.9	6.56 (1H, d, 2.9)	104.4	6.51 (1H, d, 3.0)	102.2	6.51 (1H, d, 2.5)
7	155.2	–	151.9 ^c	–	155.1	–
8	108.5	6.55 (1H, dd, 10.0, 2.9)	109.9	6.47 (1H, dd, 8.5, 3.0)	108.3	6.51 (1H, dd, 9.5, 2.5)
9	118.5	7.09 (1H, d, 10.0)	118.5	7.00 (1H, d, 8.5)	118.6	7.06 (1H, d, 9.5)
10	134.0	–	133.9 ^c	–	134.1	–
10a	92.8	–	92.7	–	91.9	–
3-OMe	56.4	3.77 (3H, s)	56.5	3.76 (3H, s)	56.5	3.78 (3H, s)
4a-OMe	49.5	3.25 (3H, s)	49.5	3.23 (3H, s)	–	–
7-OMe	55.7	3.76 (3H, s)	–	–	55.7	3.74 (3H, s)
10a-OMe	51.4	3.27 (3H, s)	51.3	3.26 (3H, s)	51.2	3.31 (3H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^c Detected by HMBC spectrum.

4) Hyperdioxane E-G (21-23) の構造解析

Hyperdioxane E (**21**) の ^1H NMR スペクトルでは 1 個の 1,2,4-三置換ベンゼン、1 個のオレフィンプロトン、2 個のメトキシ基、酸素原子が結合した 1 個の sp^3 メチン、1 個の sp^3 メチレンに帰属されるシグナルが観測された (Figure 3.30 and Table 3.3)。これらの ^1H NMR スペクトルの特徴は、*Hypericum x 'Hidocote'* から単離された hyperhidcotin¹⁰⁶ のものと類似していたが、**21** の H-1 (δ_{H} 4.63, t, $J=3.0$ Hz) と H₂-2 (δ_{H} 2.84, 2.76, each 1H, dd, $J=17.0, 3.0$ Hz) のシグナルのケミカルシフト値およびカップリング定数が文献値¹⁰⁶ とは異なっていた。また、HRESIMS の解析により帰属した **21** の分子式は hyperhidcotin と同一の $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_7$ であり { m/z 301.06881, ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, $\Delta \pm 0$ mmu)}, Figure 3.31A に示した 2D NMR 相関の解析から得られた平面構造は、hyperhidcotin と同一であったことから、**21** を hyperhidcotin のエピマーと推定した。

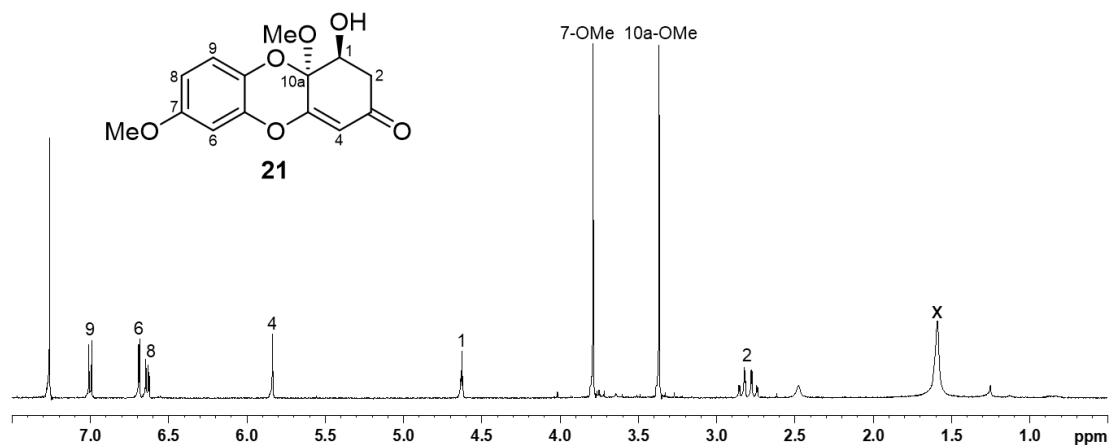


Figure 3.30. ^1H NMR spectrum of hyperdioxane E (**21**) (500 MHz in CDCl_3).

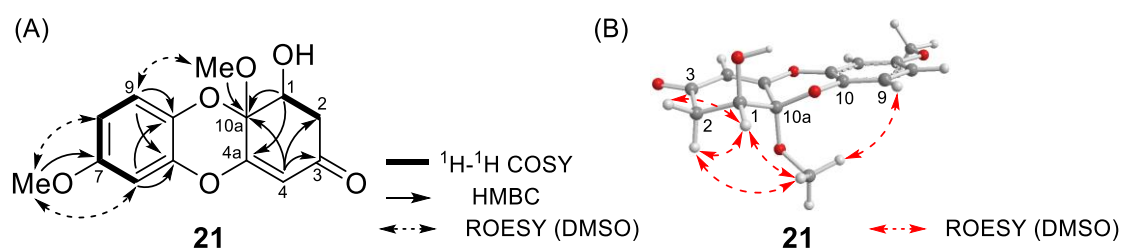


Figure 3.31. (A) Selected 2D NMR correlations; (B) selected NOESY correlations and relative configuration of hyperdioxane E (**21**).

Hyperdioxane E (**21**) の相対立体配置を帰属するため、カップリング定数および ROESY スペクトルの解析を行った。すなわち、1-OH/10a-OMe が *anti* 配置であることを H-1 のカップリング定数 ($J = 3.0$ Hz) 及び H-2ax/10a-OMe と H₂-2/H-1 間の NOESY 間 (Figure 3.31B) から帰属し、本化合物を hyperhidcotin の 1 位エピマーであると結論した。なお、hyperhidcotin の 1-OH/10a-OMe が *syn* 配置をとることは単結晶 X 線構造解析により帰属されている¹⁰⁶。

Hyperdioxane E (**21**) の ECD スペクトルの実測値は (1*S*,10a*R*)-体の計算値と類似していたため (Figure 3.32)、本化合物の絶対立体配置を 1*S*,10a*R* と推定した。

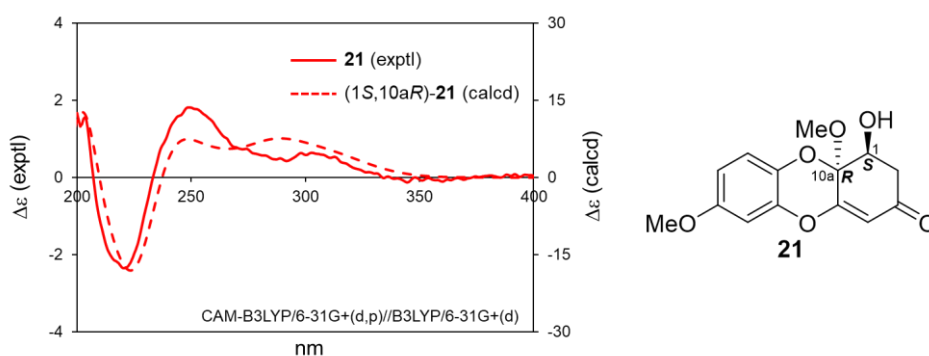


Figure 3.32. Experimental and calculated ECD spectra of hyperdioxane E (**21**) (calculated spectrum was red-shifted by 10 nm).

Hyperdioxane F (**22**) の ^1H NMR スペクトルは、ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体に特徴的なシグナルを示し、(+)-sampsone B (**24**) のものと類似していたが (Figures 3.33 and 3.24)、**25** の 4a-あるいは 10a-OMe のシグナルが消失し、代わりに水酸基のシグナル (δ_{H} 3.71, d, $J = 1.7$) が観測された。また、**22** の HRESIMS の解析から帰属した分子式は、**24** よりも CH_2 分少ない $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_7$ であったことから $\{m/z\ 307.0826, ([\text{M}-\text{H}]^-, \Delta + 0.8\ \text{mmu})\}$ 、**22** を **24** の 4a-O-demethyl あるいは 10a-O-demethyl 誘導体と推定した。

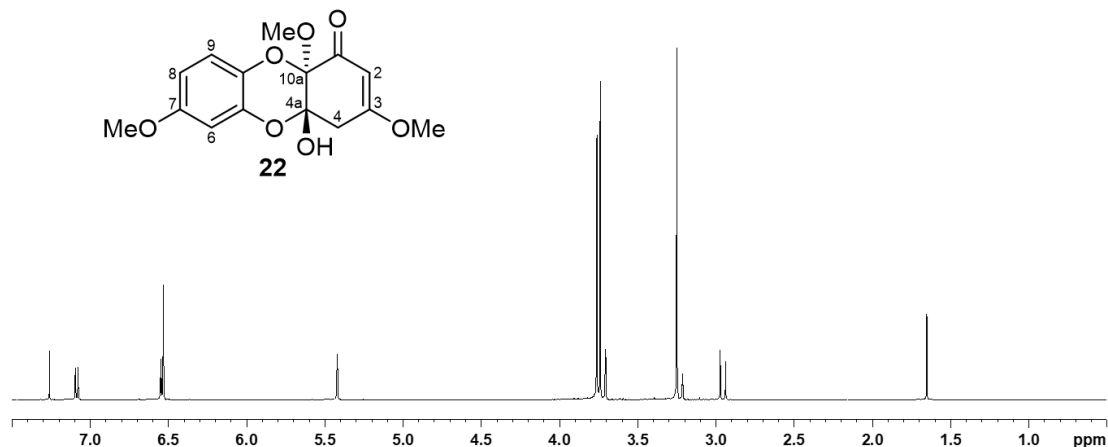


Figure 3.33. ^1H NMR spectrum of hyperdioxane F (**22**) (500 MHz in CDCl_3).

推定した平面構造を確かめるために 2D NMR スペクトルの解析を行った (Figure 3.34)。即ち、4a-OH/C-4a 間の HMBC 相関から、C-4a に水酸基が結合することを明らかにし、7-OMe/H-6、H-8、10a-OMe/H-9 間の ROESY 相関から、1,2,4-三置換ベンゼン部分の置換様式を Figure 3.34 に示した様式に帰属した。以上の解析から、**22** を **24** の 4a-O-demethyl 誘導体と帰属した。

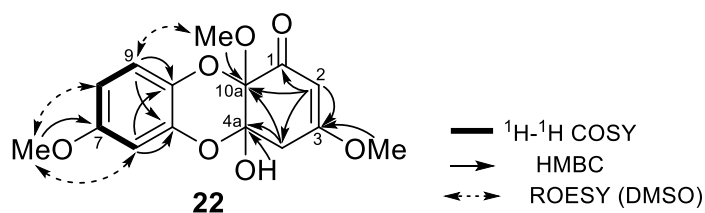


Figure 3.34. Selected 2D NMR correlations of hyperdioxane F (**22**).

Hyperdioxane F (**22**) の比旋光度は 0 であり、ラセミ体である可能性が考えられたため、キラル HPLC を用いた光学分割を行った。その結果、約 1:1 の比で両エナンチオマーを得た { t_R 13.2 min. {[α] $^{28}_D$ +112.8 (c 0.10, CHCl₃)} and 20.3 min. {[α] $^{28}_D$ -107.4 (c 0.10, CHCl₃)} (Figure 3.35)。

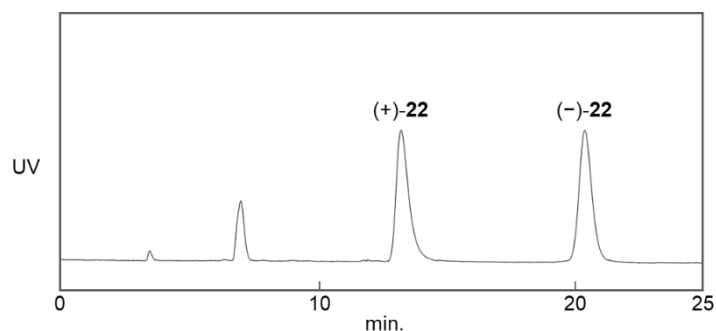


Figure 3.35. Chromatogram of chiral HPLC analysis for hyperdioxane F (**22**).

得られた (+)-hyperdioxane F (**22**) の相対立体配置の帰属を試みたが、十分な相関を示す NOESY スペクトルを得ることが出来ず、帰属出来なかった。そこで、**22** の取りうる 4 種のジアステレオマーの ECD スペクトルの計算値を算出し (Figure 3.36)、実測値との比較を行うことで、相対立体配置並びに絶対立体配置の推定を行った。その結果、(+)-**22** の実測値が (4a*S*,10a*S*)-体の計算値と対応していたことから (Figure 3.37)、(+)-**22** の絶対立体配置を 4a*S*,10a*S* と推定した。また、(+)-**22** の ECD スペクトルと鏡像のスペクトルを示した (-)-**22** の絶対立体配置を 4a*R*,10a*R* と推定した。

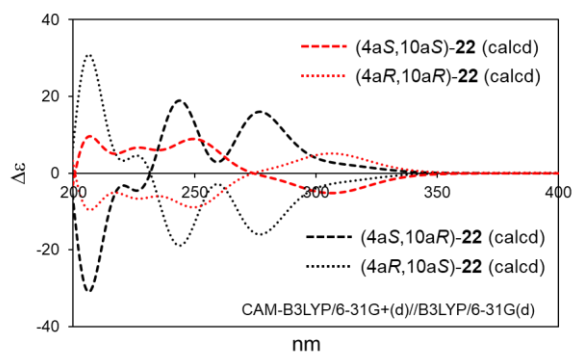


Figure 3.36. Calculated ECD spectra for possible four diastereomers of hyperdioxane F (**22**) (calculated spectra were red-shifted by 10 nm).

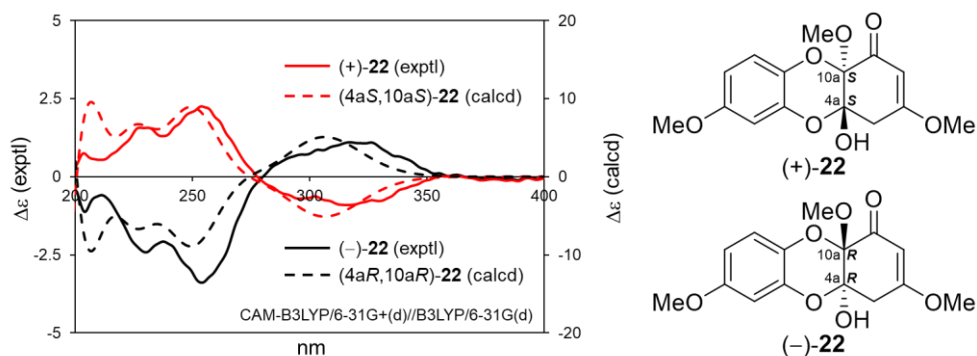


Figure 3.37. Experimental ECD spectra for (+)- and (-)-hyperdioxane F (**22**) and calculated ECD spectra for (4a*S*,10a*S*)-**22** and (4a*R*,10a*R*)-**22** (calculated spectra were red-shifted by 10 nm).

(+)-Hyperdioxane F (**22**) をメタノールに溶解させたところ、¹H NMR スペクトルでは、4a-OH/10a-OMe-*s* yn 体由来と考えられるシグナルが積分比 1 : 0.16 の割合で観測された (Figure 3.38)。その際の比旋光度を測定したところ、旋光性を示さなかったことから、(+)-**22** がメタノール中でラセミ化することが明らかになった。

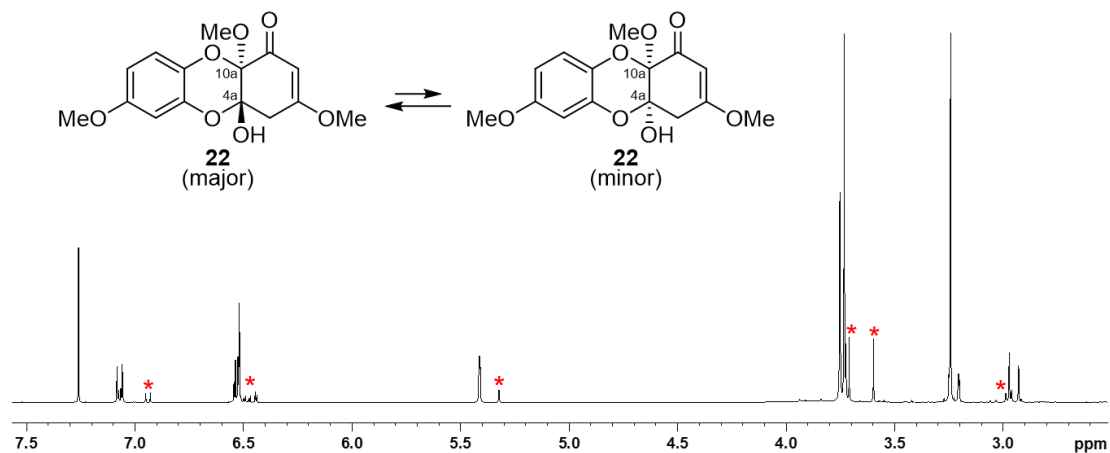
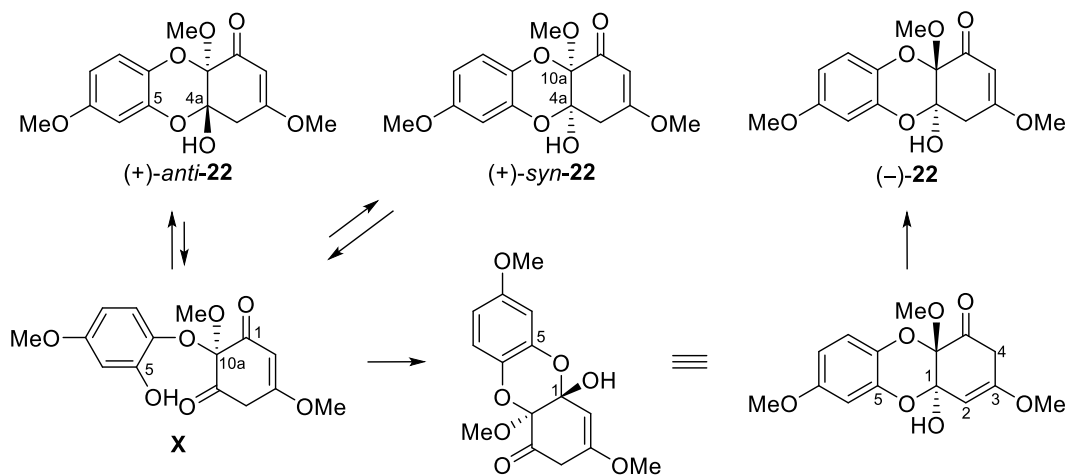


Figure 3.38. ¹H NMR spectrum for the mixture of major and minor diastereomer of hyperdioxane F (**22**) (500 MHz in CDCl₃). *Signals of minor diastereomer.

22 のラセミ化は Schem 3.3 に示した機構により進行すると推定した。即ち、プロトン性溶媒中では、C-4a/C-5 間のエーテル結合が開裂した後、**X** が生成する。さらに、1 位のケトン炭素が 5 位のフェノール性水酸基とアセタールを形成することで、10a 位の立体反転が起こる。次いで、C-2/C-3 間の二重結合が C-3/C-4 間に転位し、(-)-**22** が生成する。また、**X** の 5 位のフェノール性水酸基が 10a-OMe と *anti* 側から C-4a と再びエーテルを介して結合することで 4a-OH/10a-OMe-*syn* 体が生成すると考察している。



Scheme 3.3. Possible pathway for producing racemate of Hyperdioxane F (**22**).

Hyperdioxane G (**23**) の分子式を、HRESIMS の解析により **22** と同一の $C_{15}H_{16}O_7$ と帰属した $\{m/z\} 307.0822, ([M-H]^{-}, \Delta + 0.4 \text{ mmu})$ 。本化合物の 1D NMR データは 1,2,4-三置換ベンゼン部分 (C-5-C-10) を除き **22** のものと類似していたことから (Figures 3.39 and 3.34, and Table 3.3)、**23** は **22** の 7-OMe の結合位置が異なる類縁体であることが示唆された。

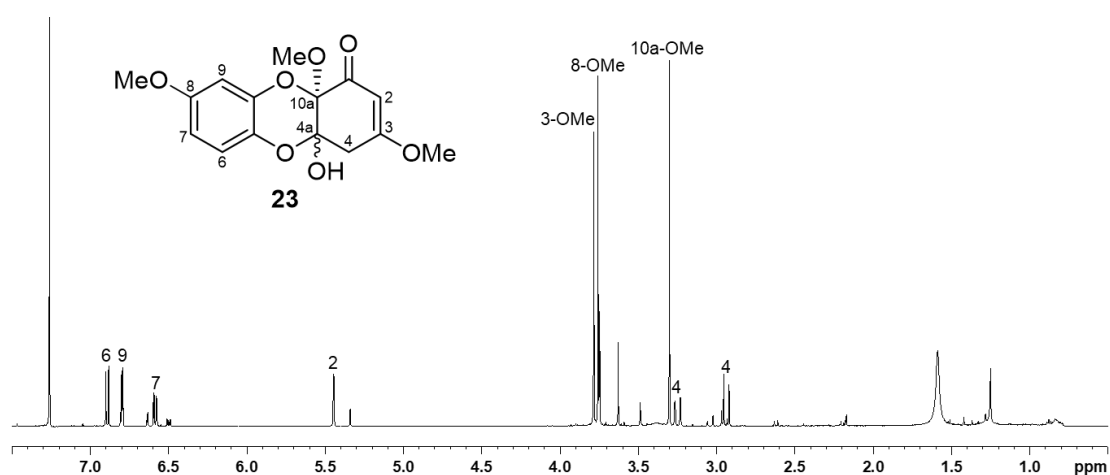


Figure 3.39. ^1H NMR spectrum of hyperdioxane G (**23**) (500 MHz in CDCl_3).

続いて、各種 2D NMR スペクトルの解析を行い (Figure 3.40)、**23** の cyclohexenone 部分は、**22** と同一であることを明らかにした。一方、H-9/10a-OMe 間に NOESY 相関が観測されなかったため、1,2,4-三置換ベンゼン上のメトキシ基の結合位置を明らかにすることが出来なかった。**23** の 1,2,4-三置換ベンゼンに由来するシグナルパターンが **22** のそれらと異なることから、メトキシ基は C-8 に結合していると推定している。また、 ^1H NMR スペクトルにおいて観測されていたマイナーシグナルについても 2D NMR スペクトルの解析を行ったところ、**22** と同一の平面構造が得られたことから、これらのシグナルは 4a-OH/10a-OMe が *syn* 配置を取るマイナージアステレオマーに由来するものであると推定した。なお、本化合物は旋光性を示さなかったことから、**22** と同様の機構で、分離操作中にラセミ化が進行したと考えられる。

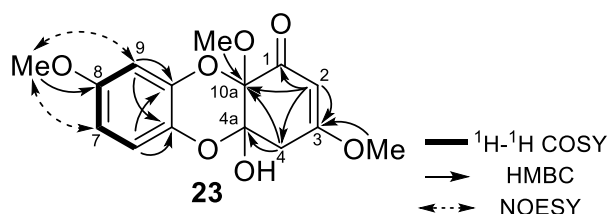


Figure 3.40. Selected 2D NMR correlations of hyperdioxane G (**23**).

Table 3.3. ^1H and ^{13}C NMR data for hyperdioxanes E–G (**21–23**) in CDCl_3 .

position	21		22		23 (major)	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	67.1	4.63 (1H, t, 3.0)	188.4	–	188.4 ^c	–
2	41.0	2.84, 2.76 (each 1H, dd, 17.0, 3.0)	99.3	5.42 (1H, d, 1.7)	99.2	5.45 (1H, d, 1.5)
3	194.7	2.76, (1H, dd, 17.0, 3.0)	174.8	–	174.9	–
4	107.7	–	38.8	3.23 (1H, dt, 17.2, 1.7) 2.96 (1H, d, 17.2)	39.0	3.25 (1H, dd, 17.5, 1.5) 2.94 (1H, d, 17.5)
4a	159.0	–	93.5	–	93.3	–
5	141.2	–	140.3	–	133.7	–
6	102.2	6.69 (1H, d, 2.5)	102.9	6.53 (1H, brs)	118.1	6.89 (1H, d, 9.0)
7	155.9	–	155.9	–	109.7	6.59 (1H, dd, 9.0, 3.0)
8	110.2	6.63 (1H, dd, 9.0, 2.5)	108.9	6.54 (1H, dd, 9.3, 2.9)	155.3	–
9	118.1	7.00 (1H, d, 9.0)	118.7	7.09 (1H, dt, 9.3, 1.2)	103.5	6.80 (1H, d, 3.0)
10	133.3	–	132.6	–	139.3	–
10a	94.1	–	93.0	–	93.2	–
3-OMe	–	–	56.5	3.76 (3H, s)	56.5	3.78 (3H, s)
4a-OH	–	–	–	3.71 (1H, d, 1.7)	–	–
7-OMe	55.8	3.79 (3H, s)	55.7	3.74 (3H, s)	–	– ^d
8-OMe	–	–	–	–	55.7	3.76 (3H, s)
10a-OMe	50.7	3.37 (3H, s)	51.6	3.25 (3H, s)	51.8	3.30 (3H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^c Detected by HMBC spectrum. ^d Not detected.

第3項 新規アシルフロログルシノール誘導体 (25–30) の構造解析

1) Hypascylin A–E (25–29) 及び *ent*-hyphenrone J (30) の平面構造及び相対立体配置帰属

Hypascylin A (25) は比旋光度+115.5 (c 0.10, MeOH) を示し、その分子式は HRESIMS より $C_{31}H_{46}O_5$ と決定した (m/z 497.2918 [M–H]⁻, Δ -1.2 mmu)。IR スペクトルでは、水酸基 (3396 cm^{-1}) 及びエノール化した β -ジケトン (1636 cm^{-1}) の吸収が観測された。重クロロホルム中で測定した ^1H NMR スペクトルでは、一対の非常に低磁場シフトした水素結合した水酸基のシグナルが積分比約 5 : 2 の割合で観測された (Figure 3.41 and Table 3.4)。この特徴的なシグナルは hypercalin C⁶⁶ や chinesin II⁶⁷ 等の PPAP が有するエノール型 β,β' -トリケトン部分のケト・エノール互変異性に基づくものであることから、本化合物を hypercalin C や chinesin I と類似の部分構造を有する PPAP と推定した。以下の構造解析は、主互変異性体 25a について行った (Figure 3.42)。25a の ^1H NMR スペクトルを詳細に解析し、3 個の三置換オレフィン、3 個の sp^3 メチン、5 個の sp^3 メチレン、並びに、複数のメチルの存在を推定した (Table 3.4)。一方、 ^{13}C NMR スペクトルでは、2 個のカルボニル、10 個のオレフィン、1 個の四級炭素、並びに酸素原子が結合した 1 個の三級炭素を含む合計 31 個の炭素シグナルが観測された。

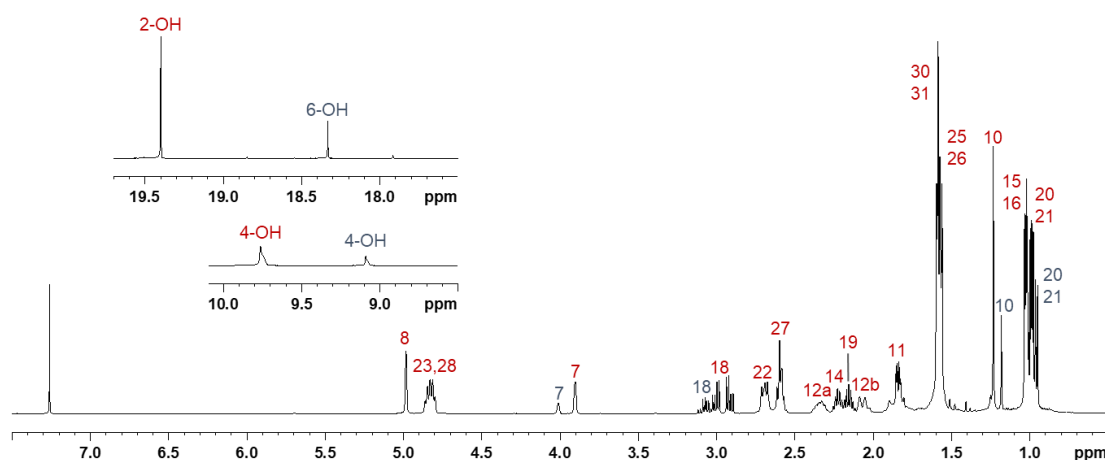


Figure 3.41. ^1H NMR spectrum of hypascylin A (25) (500 MHz in CDCl_3).

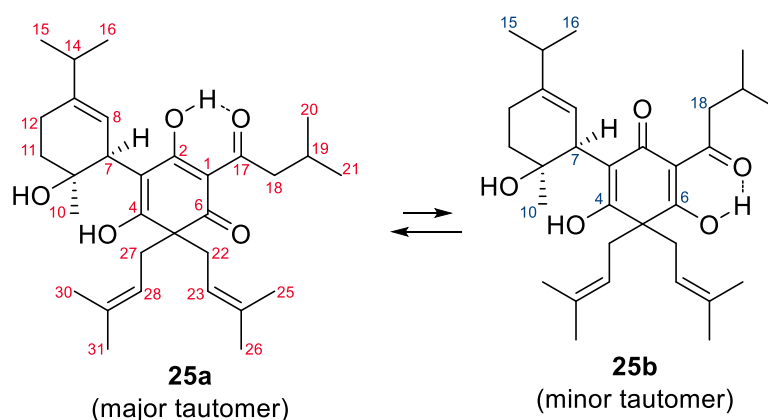


Figure 3.42. The structures of major (**25a**) and minor (**25b**) tautomers of hypascyrin A (**25**).

続いて、**25a** の平面構造を各種 2D NMR スペクトルの解析により帰属した。 ^1H - ^1H COSY 及び HMBC スペクトルの解析から (Figure 3.43)、2 個のプレニル基 (C-22–C-26 and C-27–C-31)、1 個の 3-methylbutanoyl 基 (C-17–C-21)、並びに 1-hydroxymenth-3-en 部分 (C-7–C-16) の存在を明らかにした。残る 6 個の炭素 (C-1–C-6) のケミカルシフト値から、1 個の共役カルボニル { δ_{C} 196.3 (C-6)}、2 個のエノール部分 { δ_{C} 108.5 (C-1), δ_{C} 190.1 (C-2), δ_{C} 111.5 (C-3), and δ_{C} 176.3 (C-4)}、1 個の sp^3 四級炭素 { δ_{C} 57.6 (C-5)} から構成されるフロログルシノール部分の存在を推定した。さらに、2 個のプレニル基、3-methylbutanoyl 基、並びに 1-hydroxymenth-3-en 部分がそれぞれ、フロログルシノール環の C-5、C-1、C-3 に結合することを H_2 -22、2-OH、H-7 からの HMBC 相関から明らかにした (Figure 3.43)。以上の解析から、hypascyrin A の主互変異性体 (**25a**) の平面構造を Figure 3.43 に示した構造と帰属した。また、マイナー互変異性体 (**25b**) についても同様に 2D NMR スペクトルを解析することで、Figure 3.44 に示した構造と帰属した (Table 3.5)。

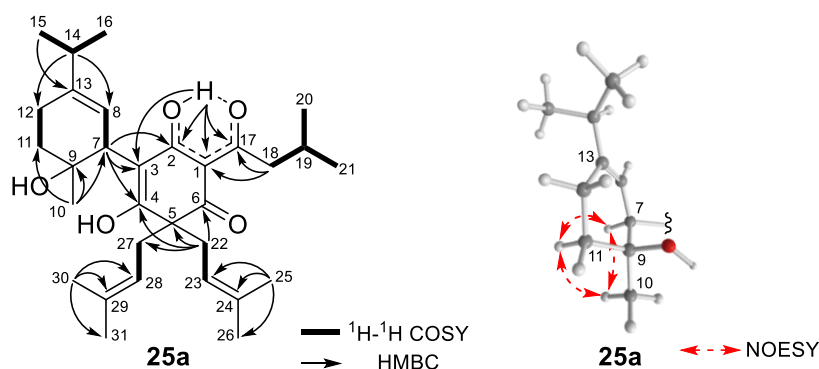


Figure 3.43. Selected 2D NMR correlations for the major tautomer (**25a**) of hypascyrin A (**25**).

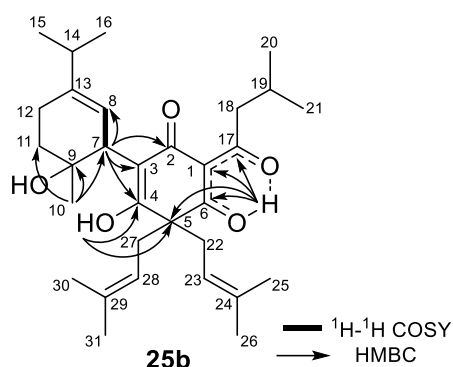


Figure 3.44. Selected 2D NMR correlations for the minor tautomer (**25b**) of hypascyrin A (**25**).

Hypascyrin A の主互変異性体 (**25a**) の NOESY スペクトルにおいて、H-7/H-11 α 間に相関が得られたことから (Figure 3.43)、これらのプロトンはそれぞれ pseudoaxial 位に位置することが明らかになった。さらに、Me-10 が α 位に位置することを、H₃-10/H-7 間の NOESY 相関から帰属した。以上の解析から、hypascyrin A (**25**) の相対立体配置を Figure 3.43 に示す配置と推定した。(絶対立体配置の帰属については後述する)。

Hypascyrin B (**26**) 及び C (**27**) の分子式を HRESIMS の解析を行い、それぞれ C₃₀H₄₄O₅ と C₃₁H₄₆O₅ と帰属した { m/z 483.3114, [M-H]⁻, Δ +0.4 mmu for **26**; 497.3250, [M-H]⁻, Δ -1.7 mmu for **27**}。 **26** 及び **27** の 1D NMR スペクトルは **25** のものと類似していたが、**25** のスペクトルにおいて観測された、3-methylbutanoyl 基のシグナルに代わり、**26** では 2-methylpropanoyl 基、**27** では 2-methylbutanoyl 基のシグナルが観測された (Figures 3.45, 3.46, and 3.41, and Table 3.4)。以上のスペクトルデータから、**26** 及び **27** を hypascyrin A (**25**) とはアシル基の構造が異なる化合物と推定した。各種 2D NMR スペクトルの解析を行い (Figure 3.47)、hypascyrin B (**26**) 及び C (**27**) の相対立体配置を含む構造を Figure 3.45 及び 3.46 に示す構造と帰属した。

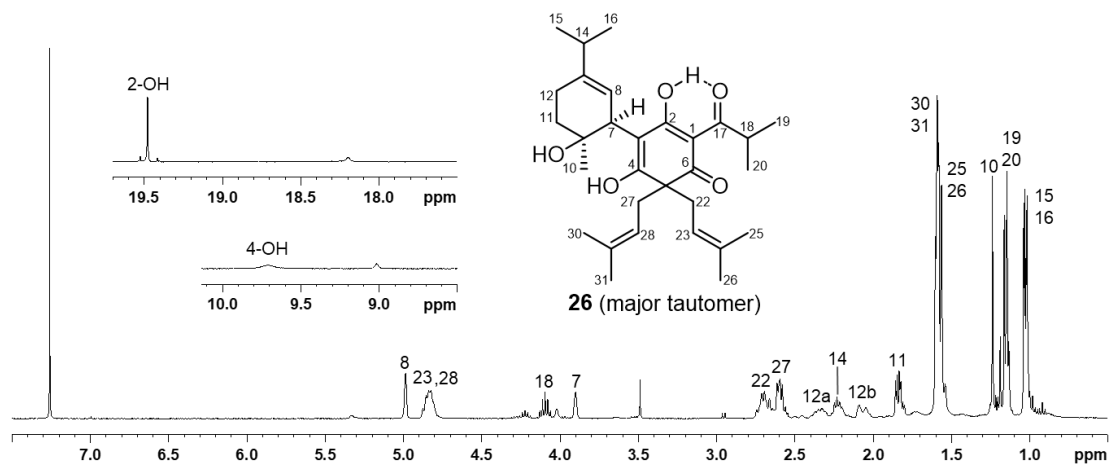


Figure 3.45. ^1H NMR spectrum of hypascyrin B (**26**) (500 MHz in CDCl_3).

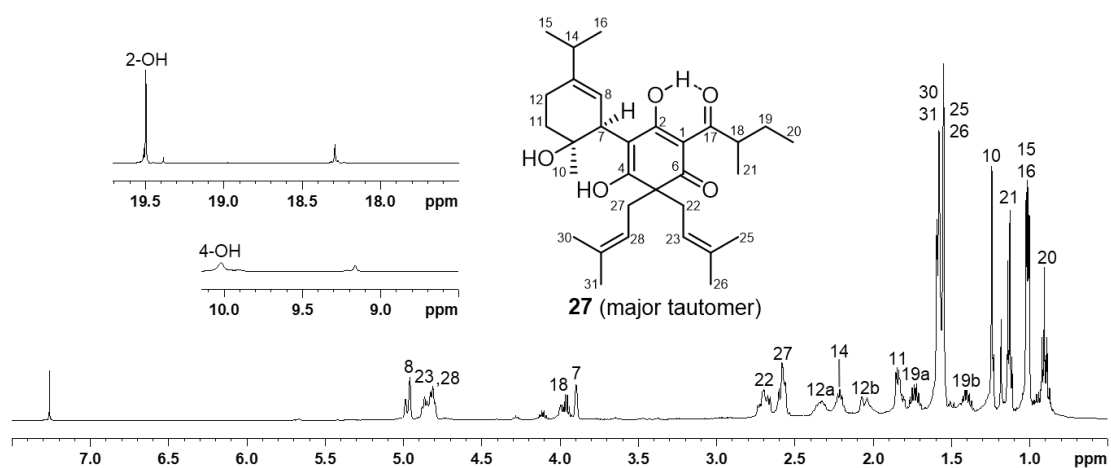


Figure 3.46. ^1H NMR spectrum of hypascyrin C (**27**) (500 MHz in CDCl_3).

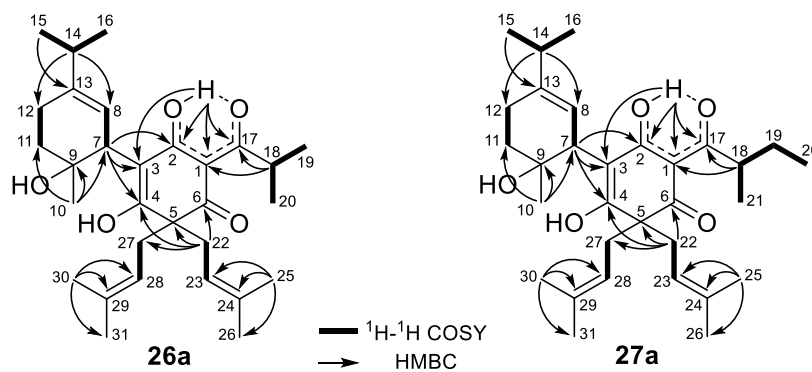


Figure 3.47. Selected 2D NMR correlations for major tautomers (**26a** and **27a**) of hypascyrins B (**26**) and C (**27**).

Table 3.4. ^1H and ^{13}C NMR data for major tautomers (**25a–27a**) of hypascyrins A–C (**25–27**) in CDCl_3 .

position	25a		26a		27a	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	108.5	–	111.3	–	107.8	–
2	190.1	–	190.3	–	190.3	–
3	111.5	–	107.1	–	111.5	–
4	176.3	–	176.5	–	176.4	–
5	57.6	–	57.7	–	57.7	–
6	196.3	–	196.1	–	196.3	–
7	40.3	3.90 (1H, brs)	40.3	3.90 (1H, brs)	40.3	3.90 (1H, brs)
8	119.4	4.98 (1H, brs)	119.4	4.99 (1H, brs)	119.5	4.96 (1H, brs)
9	73.8	–	73.8	–	73.8	–
10	27.8	1.23 (3H, s)	27.8	1.24 (3H, s)	27.8	1.24 (3H, s)
11	36.0	1.84 (2H, m)	36.0	1.84 (2H, m)	36.0	1.84 (2H, m)
12	22.9	2.34 (1H, m) 2.07 (1H, m)	17.3	2.35 (1H, m) 2.07 (1H, m)	22.9	2.33 (1H, m) 2.11 (1H, m)
13	145.0	–	144.9	–	144.7	–
14	34.8	2.23 (1H, sept, 7.0)	34.8	2.23 (1H, sept, 6.8)	34.8	2.21 (1H, sept, 6.5)
15	21.2	1.03 (3H, d, 7.0)	21.3	1.03 (3H, d, 6.8)	21.3	1.01 (3H, d, 6.5)
16	21.3	1.02 (3H, d, 7.0)	21.6	1.03 (3H, d, 6.8)	21.5	1.02 (3H, d 6.5)
17	201.9	–	206.9	–	206.4	–
18	48.1	2.92, (1H, dd, 14.0, 7.0) 3.00, (1H, dd, 14.0, 7.0)	35.4	4.10 (2H, sept, 6.8)	41.8	3.96 (1H, qt, 7.0, 7.0)
19	25.9	2.16, (1H, m)	19.1	1.16 (3H, d, 6.8)	26.4	1.73 (1H, m) 1.41 (1H, m)
20	22.8	0.98 (3H, d, 7.0)	18.8	1.15 (3H, d, 6.8)	11.9	0.91 (3H, t, 7.4)
21	22.7	0.99 (3H, d, 7.0)	–	–	16.8	1.13 (3H, d, 7.0)
22	39.5	2.60 (2H, m)	39.6	2.59 (2H, m)	39.7	2.58 (2H, m)
23	119.3	4.85 (1H, t, 7.7)	119.3	4.85 (1H, t, 6.8)	119.1	4.86 (1H, t, 7.3)
24	134.2	–	134.2	–	134.1	–
25	17.9	1.56 (3H, s)	17.9	1.56 (3H, s)	17.9	1.55 (3H, s)
26	25.9	1.58 (3H, s)	26.0	1.58 (3H, s)	25.9	1.58 (3H, s)
27	37.3	2.69 (2H, m)	37.4	2.70 (2H, m)	37.1	2.70 (2H, m)
28	118.6	4.81 (1H, t, 7.7)	118.7	4.82 (1H, t, 6.8)	118.7	4.81 (1H, t, 7.3)
29	134.1	–	134.1	–	134.0	–
30	17.9	1.59 (3H, s)	17.9	1.59 (3H, s)	17.9	1.58 (3H, s)
31	25.9	1.60 (3H, s)	26.0	1.60 (3H, s)	25.9	1.59 (3H, s)
HO-2		19.40 (1H, s)		19.48 (1H, s)		19.51 (1H, s)
HO-4		9.76 (1H, s)		9.75 (1H, s)		10.02 (1H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^1H and ^{13}C NMR data for corresponding signals of prenyl groups {(C-22 to C-26) and (C-27 to C-31)} may be interchangeable in each column.

Table 3.5. ^1H and ^{13}C NMR data for minor tautomer (**25b**) of hypascyrin A (**25**) in CDCl_3 .

position	25b	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	112.6	–
2	184.4	–
3	116.3	–
4	167.8	–
5	53.0	–
6	195.5	–
7	40.5	4.01 (1H, s)
8	120.2	overlap
9	73.9	–
10	27.8	1.18 (3H, s)
11	36.1	nd ^c
12	23.0	nd ^c
13	144.1	–
14	34.7	nd ^c
15	21.2	nd ^c
16	21.3	nd ^c
17	205.4	–
18	49.1	3.09, 3.04 (each, 1H, dd, 14.6, 7.0)
19	25.9	nd ^c
20	22.7	nd ^c
21	22.6	nd ^c
22	36.0	nd ^c
23	118.8	nd ^c
24	134.9	–
25	17.9	nd ^c
26	25.9	nd ^c
27	37.6	nd ^c
28	118.0	nd ^c
29	134.9	–
30	17.9	nd ^c
31	25.8	nd ^c
4-OH		9.09 (1H, s)
6-OH		18.33 (1H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^c Not detected. ^1H and ^{13}C NMR data for corresponding signals of prenyl groups {(C-22 to C-26) and (C-27 to C-31)} may be interchangeable.

Hypascyrin D (**28**) は光学活性な $\{[\alpha]^{26}_D +22 (c 0.10, \text{MeOH})\}$ 無色油状物質として単離され、HRESIMS の解析から、その分子式を **25** よりも 18 mass unit 大きい $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_6$ と帰属した $\{m/z 515.3353, [\text{M}-\text{H}]^-, \Delta -2.0 \text{ mmu}\}$ 。重クロロホルム中で測定した本化合物の 1D NMR スペクトルは、モノテルペン部分 (C-7-C-16) に由来するシグナルを除き **25** のものと類似していたことから (Figures 3.48 and 3.41, and Tables 3.4 and 3.6)、**28** を **25** と類似の構造を有する PPAP と推定した。

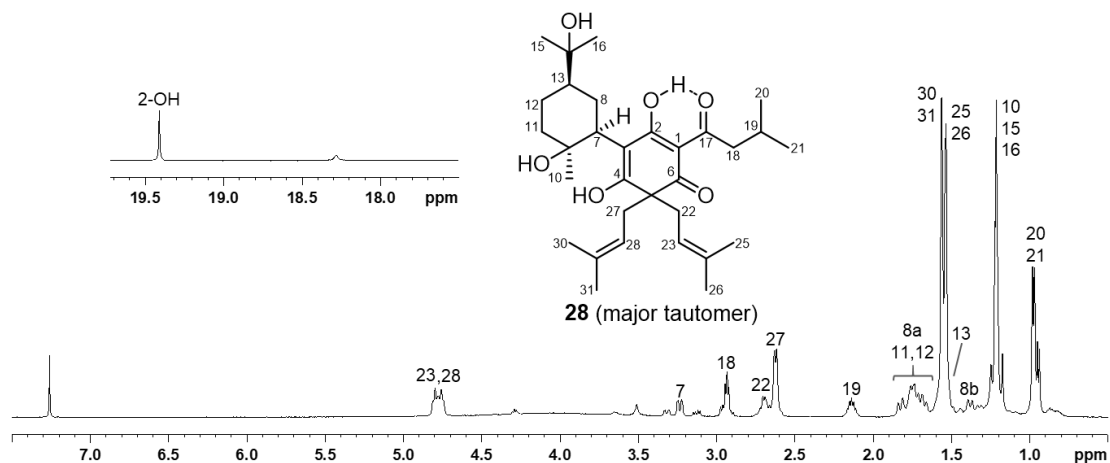


Figure 3.48. ^1H NMR spectrum of hypascyrin D (**28**) (500 MHz in CDCl_3).

さらに、**28** の各種 2D NMR スペクトルの解析を行い (Figure 3.49)、**25** と同一のフロログルシノール部分の構造を帰属すると共に、C-9 と C-14 に水酸基を有するメンタン型モノテルペン部分の構造を明らかにした。以上の解析から、hypascyrin D (**28**) の平面構造を Figure 3.49 に示す構造と帰属した。

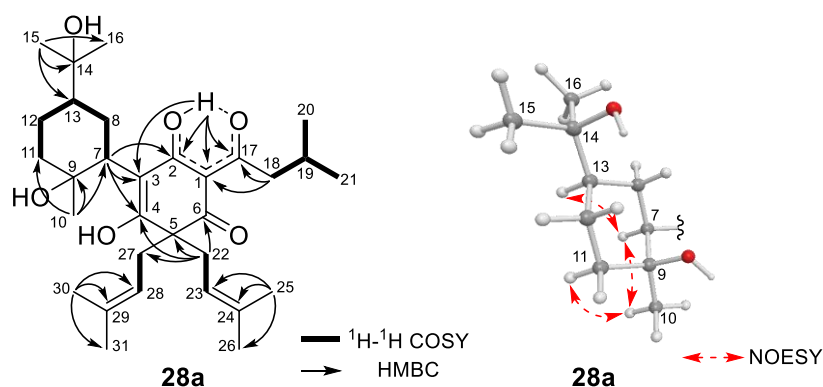


Figure 3.49. Selected 2D NMR correlations for the major tautomer (**28a**) of hypascyrin D (**28**).

相対立体配置の帰属は、重メタノール中で測定した ^1H NMR スペクトルにおけるカップリング定数及び NOESY スペクトルの解析により明らかにした (Figure 3.49 and Table 3.7)。始めに、H-13 の axial 配置をカップリング定数 (t , $J = 11.7, 3.3 \text{ Hz}$) から帰属した。さら

に、 $H_3-10/H-7$ 、 $H_3-10/H-11\alpha$ 、並びに $H-7/H-13$ 間の NOESY 相関から、 $7S^*,9S^*,13R^*$ 配置を帰属し、hypascyrin D (**28**) の相対立体配置を Figure 3.48 に示した配置であると結論した。

Hypascyrin E (**29**) の分子式は HRESIMS より $C_{31}H_{46}O_5$ であることが示唆された $\{m/z$ 497.3255, $[M-H]^-$, $\Delta -1.2$ mmu $\}$ 。本化合物の 1D NMR データはアシル基部分のシグナルを除き、*Hypericum henryi* から単離された既知フロログシノール誘導体 hyphenrone J⁶⁸ のものと類似していた (Figure 3.50 and Table 3.6)。本化合物において、C-1 に 3-methylbutanoyl 基が結合することを $H_2-18/H-19$ 、 $H-19/H_3-20$ 、 $H-19/H_3-21$ 間の $^1H-^1H$ COSY 相関と H_2-18 から C-1 への HMBC 相関から明らかにし、hypascyrin E (**29**) の平面構造を Figure 3.51 に示した構造と帰属した。

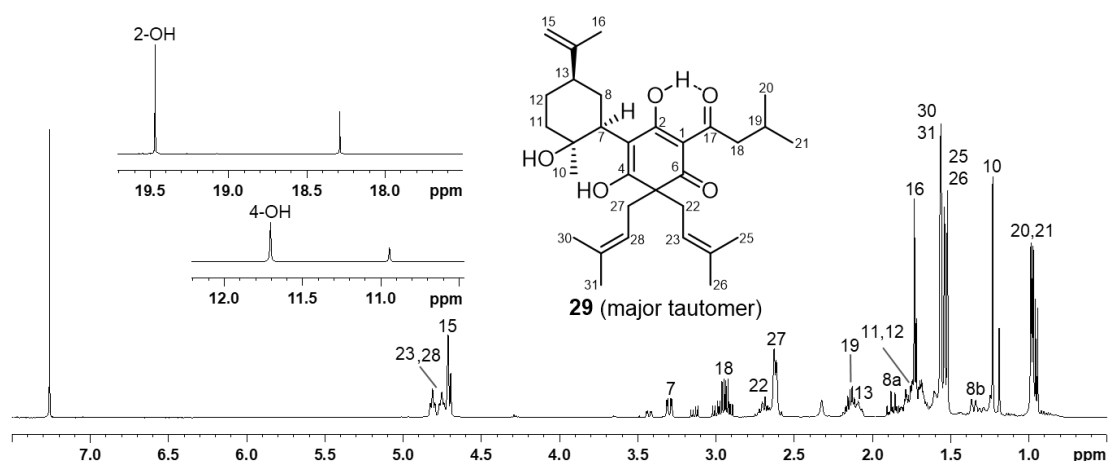


Figure 3.50. 1H NMR spectrum of hypascyrin E (**29**) (500 MHz in $CDCl_3$).

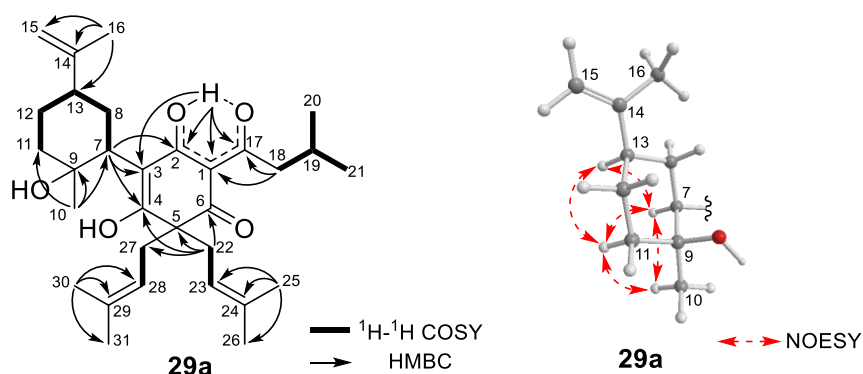


Figure 3.51. Selected 2D NMR correlations for the major tautomer (**29a**) of hypascyrin E (**29**).

Hypascyrin E (**29**) の NOESY スペクトルでは (Figure 3.51)、 $H-7/H-11\alpha/H-13$ 間に NOESY 相関が観測されていたことから、これらのプロトンは axial 位に位置すると判断し、cyclohexane 環 (C-7-C-9 and C-11-C-13) はイス型配座をとると結論した。さらに、9-OH

がβ配置であることを H₃-10/H-7 及び H₃-10/H-11α 間の NOESY 相関から明らかにし、hypascyrin E (29) の相対立体配置を Figure 3.51 に示した配置と帰属した。

30 の 1D (Figure 3.52 and Table 3.6) 及び 2D NMR スペクトルの解析を行ったところ、既知 PPAP hyphenrone J⁶⁸ と相対立体配置を含めた同一の構造が得られた。しかしながら、本化合物の比旋光度は文献値とは反対の符号であったことから {[α]²³_D +115.5 (c 0.10, MeOH) for 30; [α]²³_D -49 (c 0.20, MeOH) literature data⁶⁸}、その構造を hyphenrone J のエナンチオマーである *ent*-hyphenrone J (30) と結論した。

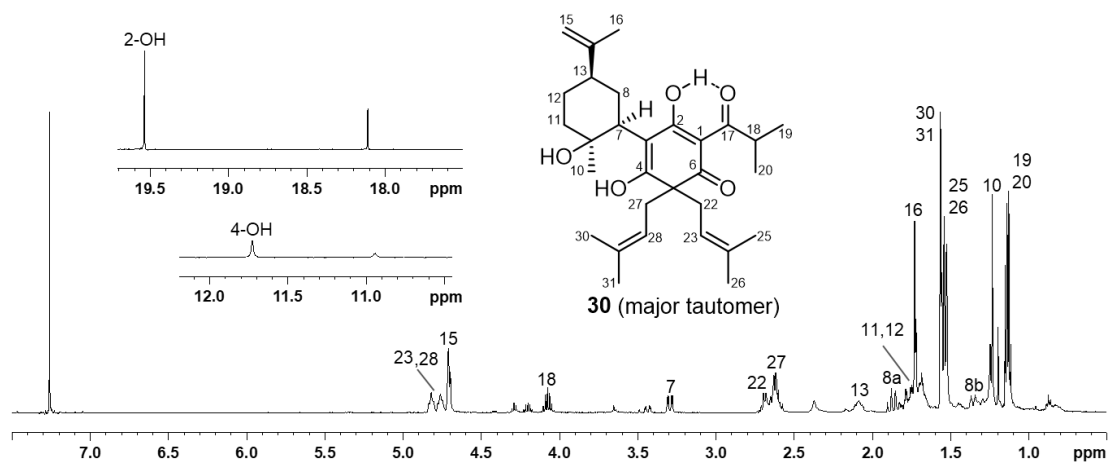


Figure 3.52. ¹H NMR spectrum of *ent*-hyphenrone J (30) (500 MHz in CDCl₃).

Table 3.6. ^1H and ^{13}C NMR data for major tautomers (**28a–30a**) of hypascyrins D (**28**) and E (**29**), and *ent*-hyphenrone J (**30**) in CDCl_3 .

position	28a		29a		30a	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	108.4	–	108.6	–	107.0	–
2	190.3	–	190.1	–	190.3	–
3	111.9	–	111.8	–	111.7	–
4	176.5	–	176.0	–	176.0	–
5	57.8	–	57.7	–	57.8	–
6	197.2	–	196.6	–	196.3	–
7	40.7	3.24 (1H, brd, 15.0)	40.7	3.30 (1H, dd, 13.5, 3.5)	40.7	3.29 (1H, dd, 13.0, 3.7)
8	26.5	1.76 (1H, m) 1.38 (1H, d, 15.0)	30.5	1.87 (1H, q, 13.5) 1.35 (1H, dt, 13.5, 3.5)	30.5	1.87 (1H, q, 13.0) 1.35 (1H, dt, 13.0, 3.7)
9	74.4	–	74.8	–	74.8	–
10	26.7	1.21 (3H, s)	27.9	1.23 (3H, s)	27.9	1.23 (3H, s)
11	40.1	1.82 (1H, m) 1.69 (1H, m)	40.4	1.77 (2H, m)	40.3	1.77 (2H, m)
12	22.0	1.75 (1H, m) 1.54 (1H, m)	26.5	1.69 (2H, m)	26.5	1.69 (2H, m)
13	48.7	1.53 (1H, m)	45.3	2.09 (1H, m)	45.3	2.09 (1H, m)
14	74.4	–	149.2	–	149.2	–
15	27.4	1.21 (3H, s)	108.8	4.71 (3H, s)	108.8	4.71 (3H, s)
16	27.6	1.21 (3H, s)	21.0	1.73 (3H, s)	21.1	1.73 (3H, s)
17	202.3	–	201.7	–	206.6	–
18	48.3	2.96 (2H, m)	48.1	2.97 (1H, dd, 13.9, 6.9) 2.92 (1H, dd, 13.9, 6.9)	35.3	4.08 (1H, sept, 6.8)
19	25.9	2.14 (1H, m)	25.9	2.13 (1H, m)	19.0	1.14 (3H, d, 6.8)
20	22.7	0.98 (3H, d, 6.0)	22.7	0.98 (3H, d, 6.7)	18.8	1.13 (3H, d, 6.8)
21	22.7	0.98 (3H, d, 6.0)	22.8	0.98 (3H, d, 6.7)	–	–
22	38.7	2.63 (2H, m)	38.7	2.71 (2H, m)	38.8	2.62 (2H, m)
23	118.8	4.80 (1H, t, 7.6)	119.0	4.83 (1H, t, 7.5)	119.0	4.82 (1H, t, 6.7)
24	134.3	–	134.2	–	134.1	–
25	18.0	1.56 (3H, s)	18.0	1.56 (3H, s)	18.0	1.56 (3H, s)
26	26.0	1.54 (3H, s)	25.9	1.52 (3H, s)	25.9	1.52 (3H, s)
27	38.1	2.70 (2H, m)	38.2	2.61 (2H, m)	38.2	2.68 (2H, m)
28	118.4	4.76 (1H, t, 7.6)	118.5	4.75 (1H, t, 7.5)	118.6	4.76 (1H, t, 6.7)
29	134.2	–	134.0	–	134.0	–
30	17.8	1.56 (3H, s)	17.9	1.57 (3H, s)	18.0	1.56 (3H, s)
31	25.9	1.54 (3H, s)	25.9	1.54 (3H, s)	26.0	1.54 (3H, s)
HO-2		19.41 (1H, s)		19.47 (1H, s)		19.54 (1H, s)
HO-4		nd ^c		11.71 (1H, s)		11.73 (1H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^c Not detected. ^1H and ^{13}C NMR data for corresponding signals of prenyl groups {(C-22 to C-26) and (C-27 to C-31)} may be interchangeable in each column.

Table 3.7. ^1H and ^{13}C NMR data for major tautomer (**28a**) of hypascyrin D (**28**) in CD_3OD .

position	28a	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	113.1	–
2	190.4	–
3	109.1	–
4	180.7 ^c	–
5	59.4	–
6	199.1	–
7	43.0	3.15 (1H, brd, 11.7)
8	28.3	1.81 (2H, brt, 11.7)
9	73.2	–
10	28.1	1.15 (3H, s)
11	41.0	1.84, 1.68 (each 1H, m)
12	23.4	1.68, 1.54 (each 1H, m)
13	50.7	1.47(1H, tt, 11.7, 3.3)
14	73.2	–
15	27.3	1.15 (3H, s)
16	26.8	1.15 (3H, s)
17	203.1	–
18	49.9	2.86 (2H, m)
19	27.2	2.09 (1H, m)
20	23.1	0.89 (3H, d, 6.5)
21	23.1	0.89 (3H, d, 6.5)
22	39.8	2.55 (2H, m)
23	120.1	4.83 (1H, t, 8.5)
24	135.2	–
25	18.2	1.57 (3H, s)
26	26.2	1.55 (3H, s)
27	39.5	2.63 (2H, m)
28	119.8	4.77 (1H, t, 8.5)
29	135.2	–
30	18.2	1.56 (3H, s)
31	26.2	1.53 (3H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^c Assigned with the aid of HMBC correlations. ^1H and ^{13}C NMR data for corresponding signals of prenyl groups {(C-22 to C-26) and (C-27 to C-31)} may be interchangeable.

2) Hypascylin A–E (**25–29**) 及び *ent*-hyphenrone **J** (**30**) の絶対立体配置の帰属

Hypascylin A (**25**) の絶対立体配置を推定するため、ECD スペクトルの計算値と実測値の比較を行った。本化合物は先に述べた通り、溶媒中ではケト・エノール互変異性を起こすことが明らかになっている (Figures 3.41 and 3.43)。初めに、メタノール中での主互変異性体の構造を明らかにするため、重メタノール中で測定した各種 1D (Table 3.8) 及び 2D NMR スペクトルの解析を行ったところ、主互変異性体 **25a** が約 80% の割合で存在していることが明らかになった。以上の結果から、ECD スペクトルの計算は **25a** についてのみを行い、スペクトル測定にはメタノールを用いた。Figure 3.53 に **25** の ECD スペクトルの実測値と取りうる 2 種のエナンチオマー (7*S*,9*S*)-**25a** 及び (7*R*,9*R*)-**25a** の計算値を示す。実測値が (7*R*,9*R*)-**25a** の計算値に比べ、(7*S*,9*S*)-**25a** の計算値と良く対応していたことから、**25** の絶対立体配置を 7*S*,9*S* と推定した。

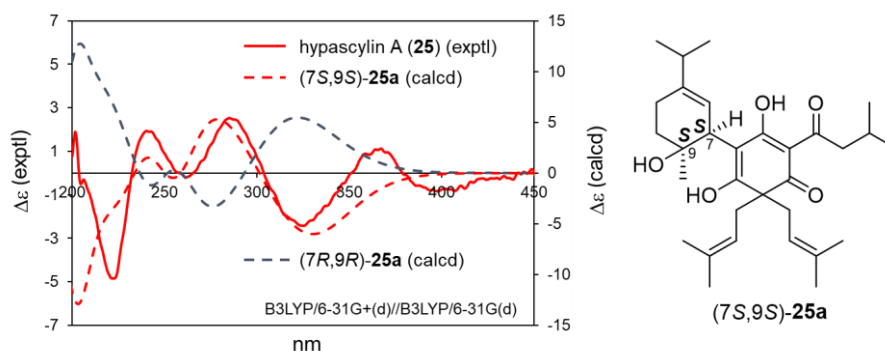


Figure 3.53. Experimental and calculated ECD spectra of hypascylin A (**25**).

また、hypascylin B (**26**) 及び C (**27**) の ECD スペクトルの実測値は hypascylin A (**25**) の実測値と類似のコットン吸収を示したことから (Figure 3.54)、**26** と **27** の絶対立体配置は **25** と同一の 7*S*,9*S* と推定した。なお、**27** の 18 位の絶対立体配置は未帰属である。

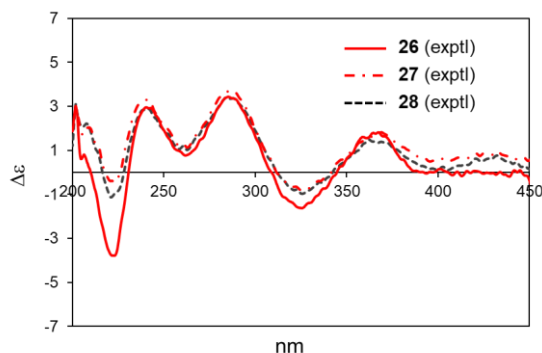
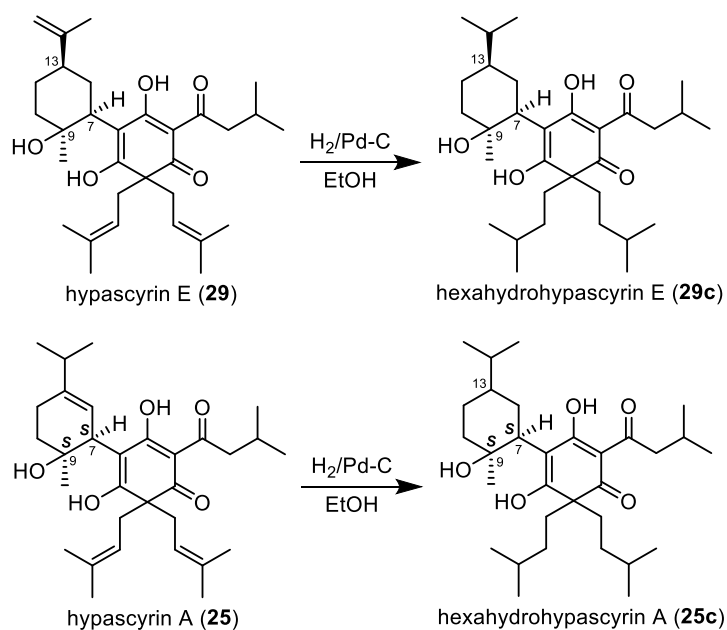


Figure 3.54. Experimental ECD spectra of hypascylins A–C (**25–27**).

続いて、hypascyrin E (**29**) の絶対立体配置を以下の手順に従い推定した。Hypascyrin E (**29**) を接触還元で付し、主還元体 **29c** を得た (Scheme 3.4)。先に絶対立体配置を推定した hypascyrin A (**25**) も同様に接触還元で付し、得られた還元体を精製して得た主生成物 **25c** の ^1H NMR スペクトルを **29c** のものと比較したところ、両者は一致した (Figure 3.55)。さらに、**29c** と **25c** の比旋光度の値は類似していたことから $\{[\alpha]^{22}_{\text{D}} + 39$ (c 0.1, CHCl_3) for **29c**; $[\alpha]^{22}_{\text{D}} + 29$ (c 0.1, CHCl_3) for **25c**}, 両者を同一の化合物と判断し、従って **29** の7位と9位の絶対立体配置は **25** と同一の $7\text{S}, 9\text{S}$ と結論した。以上の解析から、**29** の絶対立体配置を $7\text{S}, 9\text{S}, 13\text{R}$ と推定した。



Scheme 3.4. Catalytic hydrogenation of hypascylins A (**25**) and E (**29**).

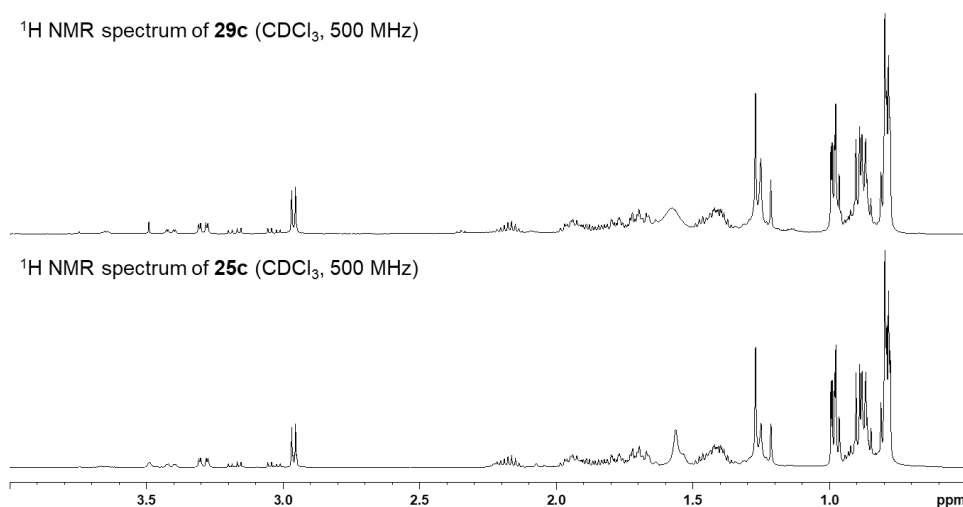


Figure 3.55. Comparison of ^1H NMR spectra for hexahydrohypascylins E (**29c**) and A (**25c**).

また、**29** と類似の構造を有する hypascyrin D (**30**) 及び *ent*-hyphenrone J (**30**) 並びに絶対立体配置が未帰属の既知 PPAP である hyphenrone K (**43**)⁶⁸ の ECD スペクトルを比較したところ、いずれも類似していたことから、**28**、**30**、並びに **43** の絶対立体配置を **29** と同一の 7*S*,9*S*,13*R* と結論した (Figure 3.56)。

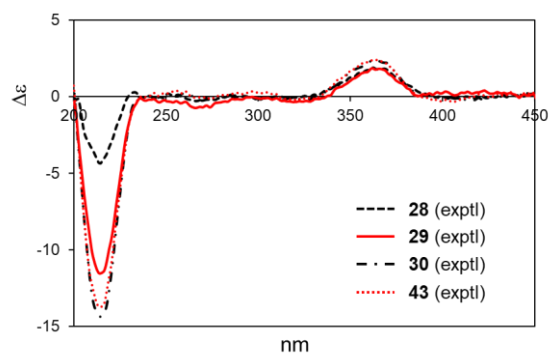


Figure 3.56. Experimental ECD spectra of hypascyrins D (**28**) and E (**29**), *ent*-hyphenrone J (**30**), and hyphenrone K (**43**)

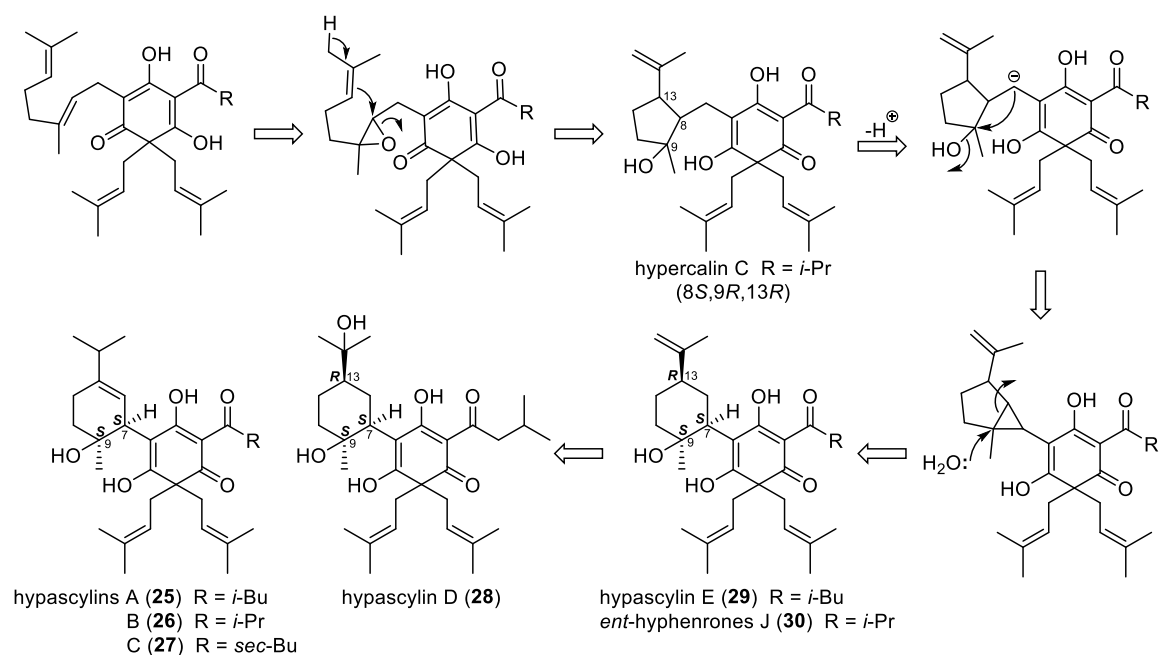
Table 3.8. ^1H and ^{13}C NMR data for major tautomer (**25a**) of hypascyrin A (**25**) in CD_3OD .

position	25a	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	109.3	–
2	191.2	–
3	113.5	–
4	179.6	–
5	59.1	–
6	198.9	–
7	41.9	3.84 (1H, brs)
8	120.9	4.88 (1H, brs)
9	73.7	–
10	27.8	1.20 (3H, s)
11	37.2	1.86, 1.79 (each, 1H, m)
12	24.0	2.39, 2.02 (each, 1H, m)
13	144.9	–
14	36.2	2.21 (1H, sept, 6.8)
15	23.2	0.97 (3H, d, 6.8)
16	23.1	0.97 (3H, d, 6.8)
17	203.1	–
18	49.7	2.90, 2.83 (each, 1H, dd, 13.1, 7.0)
19	27.2	2.11 (1H, m)
20	22.2	1.03 (3H, d, 6.5)
21	21.9	1.03 (3H, d, 6.5)
22	40.6	2.55 (2H, m)
23	120.0	4.85 (1H, t, 8.0)
24	135.7	–
25	18.2	1.56 (3H, s)
26	26.2	1.59 (3H, s)
27	38.4	2.61 (2H, m)
28	119.6	4.82 (1H, t, 8.0)
29	135.1	–
30	18.2	1.55 (3H, s)
31	26.2	1.59 (3H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^1H and ^{13}C NMR data for corresponding signals of prenyl groups {(C-22 to C-26) and (C-27 to C-31)} may be interchangeable.

3) Hypascylin A–E (25–29) 及び *ent*-hyphenrone J (30) の生合成に関する考察

Hypascylin 類と類似の構造を有する hyphenrone J の予想生合成経路が、Yao らにより提唱されており、hypercalin C 及びアシル基の構造が異なる類縁化合物の cyclopentane 部分の再構築により生合成されると考えられている⁶⁸ (Scheme 3.5)。今回、単離した hypascylin 類も同様の経路により、生合成されると推定している。なお、生合成前駆体の一つとして考えられる hypercalin C の絶対立体配置は単結晶 X 線構造解析により確かめられており⁶⁸、今回帰属した hypascylin E (29) の 13 位の立体は、hypercalin C の立体⁶⁸ と対応していることから支持される。



Scheme 3.5. Possible biogenetic pathway of of hypascylins A–E (25–29), and *ent*-hyphenrone J (30)

第4項 生物活性評価

1) 抗菌活性評価

今回、単離した化合物のうち新規化合物 hyperdioxane A (**17**)、B (**18**)、及び F (**22**)、(+)-sampsone B (**24**)、hypascyrin A (**25**)、C (**27**)、E (**29**)、*ent*-hyphenrone J (**30**) に加え、既知化合物 eremophil-9,11(13)-dien-8 β ,12-olide (**31**)、並びに hyphenrone K (**43**) について *Escherichia coli*、*Staphylococcus aureus* (MRSA)、*Staphylococcus aureus* (MSSA)、及び *Bacillus subtilis* に対する抗菌活性評価を行った。その結果、**25**、**27**、**29**、**30**、並びに **43** が *S. aureus* 及び *B. subtilis* に対して抗菌活性を示すことが明らかになった。

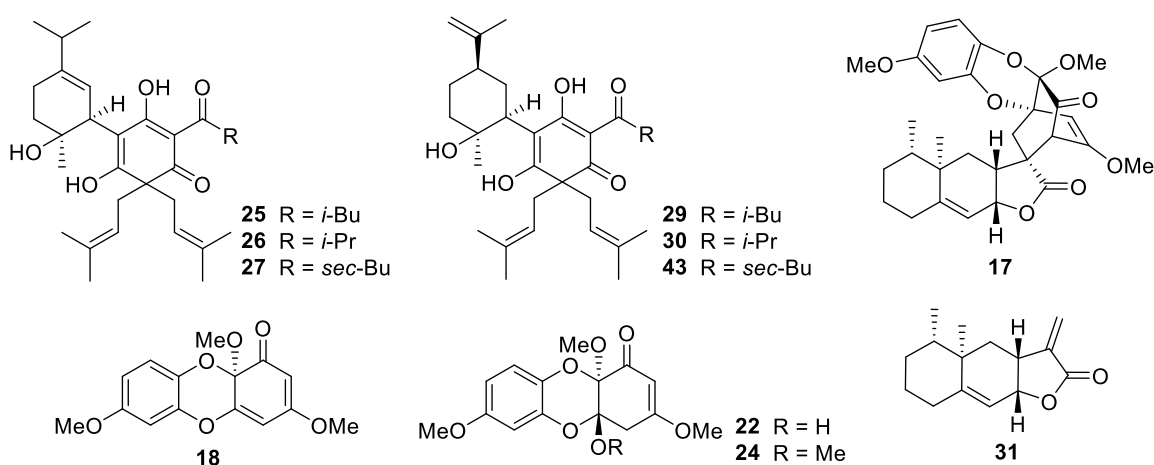


Figure 3.57. Compounds evaluated their anti-bacterial or anti-HIV or cytotoxicity or anti-inflammatory activities.

Table 3.9. Antibacterial activity (μ M) of isolated compounds from the roots of *Hypericum ascyron*.

strain		17	18	22	24	25	27	29	30	31	43
<i>Escherichia coli</i> (n=4)	MIC ₅₀	>64	>110	>110	>110	>64	>64	>64	>64	>110	>64
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (n=7)	MIC ₅₀	>64	>110	>110	>110	4	8	2	4	>110	2
	MIC range					4-8	4-8	1-2	4		1-2
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) (n=5)	MIC ₅₀	>110	>110	>110	>110	4	8	2	4	>110	2
	MIC range					4	4-8	1-2	2-4		1-2
<i>Bacillus subtilis</i> (n=1)	MIC	>110	>110	>110	>110	4	4	2	4	>110	1

2) 抗 HIV 活性

Hyperdioxane A (**17**)、B (**18**)、F (**22**)、(+)-sampsone B (**24**)、hypascyrin A (**25**)、B (**26**)、E (**29**)、*ent*-hyphenrone J (**30**)、hyphenrone K (**43**) の抗 HIV 活性を評価した。Hyperdioxane A (**17**) は抗 HIV 活性を示したが (IC₅₀ 5.3 μ M, TI 7.2)、その構成ユニットである hyperdioxane B (**18**) は示さなかったことから、**17** の抗 HIV 活性発現にはエレモフィラノライド型セスキテルペンとの複合体構造が重要であることが示唆された。(TI = CC₅₀/IC₅₀)

3) 培養腫瘍細胞 (A549, HeLa, and MCF7) に対する細胞毒性

Hyperdioxane A (**17**)、B (**18**)、及び F (**22**)、並びに (+)-sampsone B (**24**) のヒト由来培養腫瘍細胞 (A549、HeLa、MCF7) に対する増殖抑制効果を評価した。Hyperdioxane B (**18**) が A549、HeLa、MCF7 細胞に対し、中程度の増殖抑制活性を示した (Table 3.10)。

Table 3.10. Cytotoxicity of **17**, **18**, **22**, and **24** against human cancer cell lines (IC₅₀ in μ M).

Cell line	17	18	22	24
A549	>50	16.4	>50	>50
HeLa	>50	14.3	>50	>50
MCF7	>50	17.9	>50	>50

4) 神経細胞に対する抗炎症活性

Hyperdioxane A (**17**)、B (**18**)、及び F (**22**)、並びに (+)-sampsone B (**24**) の LPS 刺激によるミクログリア細胞株からの IL-1 β 放出に対する抑制効果を評価した。その結果、hyperdioxane B (**18**) が 12.5 μ M の濃度 (ミクログリア細胞生存率 77.7 %) において IL-1 β の放出抑制活性 (79.5 %抑制) を示し、神経系抗炎症抑制を有することが示唆された (Table 3.11)。

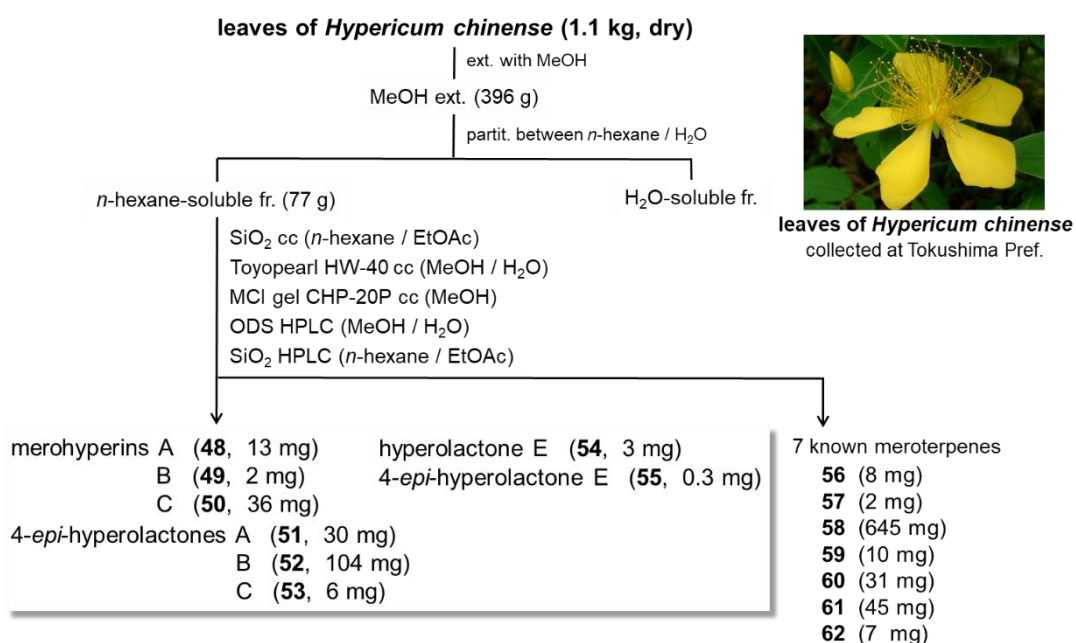
Table 3.11. Inhibitory effects of **17**, **18**, **22**, and **24** on IL-1 β production from LPS-stimulated microglial cells at 12.5 μ M.

	17	18	22	24
IL-1 β production (%)	-	79.5	29.3	8.2

第3節 金糸桃由来の新規メロテルペンの化学構造

第1項 抽出・分離

金糸桃の葉 (1.1 kg, dry) を MeOH で抽出し、396 g の抽出物を得た。抽出エキスを *n*-hexane と水で分配した。有機層を SiO₂ カラム、Toyopearl HW-40、ならびに MCI gel CHP-20P カラムを用いて繰り返し分離した後、hyperolactone 類を含む画分を得た。これらの画分を ODS HPLC やシリカゲル HPLC で精製し、8 種の新規メロテルペン merohyperin A–C (**48–50**)、4-*epi*-hyperolactone A–C (**51–53**)、hyperolactone E (**54**)、並びに 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) と共に 7 種の既知メロテルペン (**56–62**) を単離した (Scheme 3.6 and Figure 3.58)。



Scheme 3.6. Isolation of merohyperins A–C (**48–50**), 4-*epi*-hyperolactones A–C (**51–53**), hyperolactone E (**54**), and 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) from the leaves of *Hypericum chinense*.

第 2 項 既知化合物の同定

単離した既知メロテルペン biyouyanagin A (**56**)^{85,86} 及び B (**57**)^{87,88}、hyperolactone A–D (**58–61**)⁸⁴、並びに 5,6-dihydrohyperolactone D (**62**)⁸⁷ の構造を各種スペクトルデータを文献値と比較することで同定した (Figure. 3.58)。

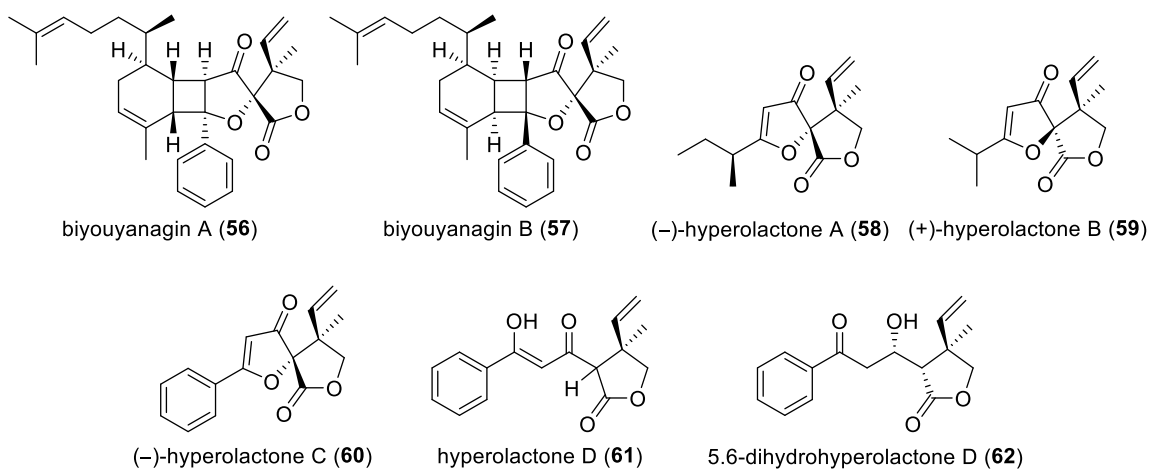


Figure 3.58. Structures of known meroterpenes isolated from the leaves of *Hypericum chinense*.

第3項 新規メロテルペン (48–55) の構造解析

1) Merohyperin A–C (48–50) の構造解析

Merohyperin A (48) は光学活性 $\{[\alpha]_D^{27} -43.5$ (c 0.25, MeOH) $\}$ な無色油状物質として得られた。HRESIMS の解析により、分子式を $C_{15}H_{16}O_4$ と帰属した (m/z 283.0938 $[M+Na]^+$, Δ -0.8 mmu)。IR スペクトルでは複数のカルボニル基 (1780 及び 1668 cm^{-1}) による吸収が観測された。 1H NMR スペクトルでは、1 個のフェニル基、1 個のヒドロキシ基、1 個のビニル基、2 個の sp^3 メチレン、1 個のメチル基のシグナルが観測された (Figure 3.59 and Table 3.12)。 ^{13}C NMR スペクトルでは 2 個のカルボニル炭素と 1 個の sp^3 四級炭素を含めた 15 個の炭素のシグナルが観測された。

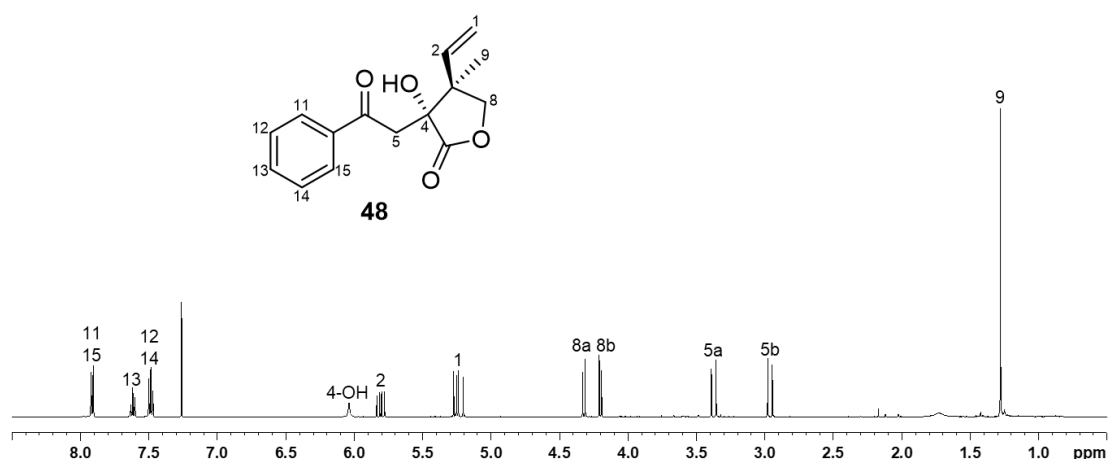


Figure 3.59. 1H NMR spectrum of merohyperin A (48) (500 MHz in $CDCl_3$).

H_3 -9/C-2、C-3、C-4、および C-8 間、 H_2 -8/C-7 間の HMBC 相関から、 γ -lactone の β 位にメチル基とビニル基が結合した部分構造を推定した (Figure 3.60A)。一方、H-11 (H-15)/C-6 間の HMBC 相関より benzoyl 基の存在が明らかとなった。 γ -lactone 部分と benzoyl 基が sp^3 メチレンを介して結合することを、 H_2 -5/C-4、C-6、および C-7 間の HMBC 相関、 H_2 -5/H-11 (H-15) 間の NOESY 相関から帰属した。

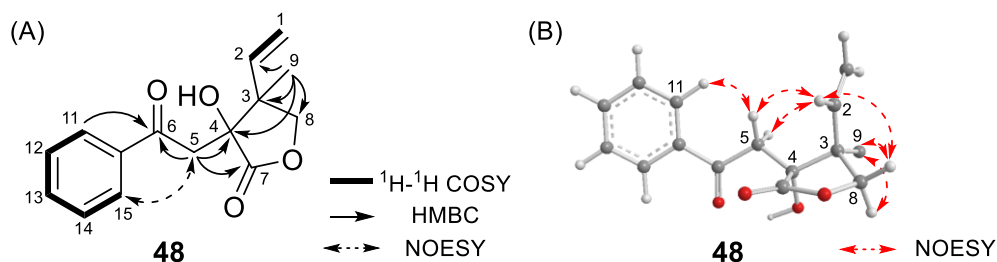


Figure 3.60. (A) Selected 2D NMR correlations; (B) selected NOESY correlations (protons of methyl groups are omitted) and relative stereochemistry for merohyperin A (48).

以上の解析から、merohyperin A (**48**) の平面構造を Figure 3.60A に示した構造と帰属した。さらに、H-2/H-8 β 、H-2/H-5a、H-2/H-5b、H₃-9/H-8 α 、並びに H₃-9/H-8 β 間に NOESY 相関が観測されたことから、OH-4 と H₃-3 はいずれも α 配置であると推定し、merohyperin A (**48**) の相対立体配置を Figure 3.60B に示す配置と帰属した。

Merohyperin B (**49**) は光学活性 $\{[\alpha]^{26}_D +20.3 (c 0.09, \text{MeOH})\}$ な無色非結晶性の固体として得られ、HRESIMS の解析により、分子式を C₁₅H₁₆O₂ と帰属した (m/z 251.1050 [M+Na]⁺, $\Delta+0.2$ mmu)。IR スペクトルでは、共役カルボニル基 (1660 cm⁻¹) に基づく吸収が観測された。¹H および ¹³C NMR スペクトルから 1 個のフェニル基、1 個のカルボニル炭素、1 個の三置換オレフィン、1 個のビニル基、1 個のメチル基、1 個の四級炭素、および 2 個の sp³ メチレンの存在が示唆された (Figure 3.61 and Table 3.12)。

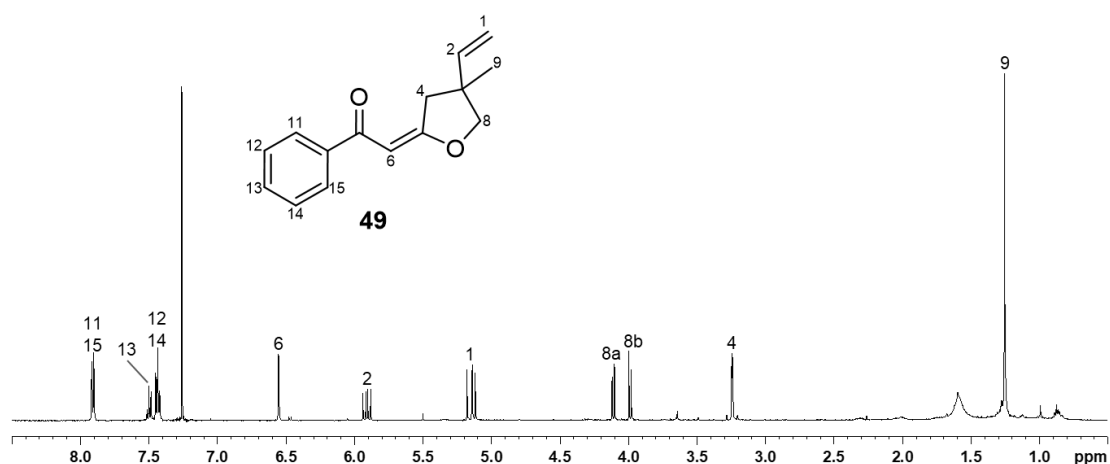


Figure 3.61. ¹H NMR spectrum of merohyperin B (**49**) (500 MHz in CDCl₃).

2D NMR スペクトルの解析より (Figure 3.62)、3-methyl-3-vinyltetrahydrofuran 部分 (C-1-C-5, C-8, and C-9) の存在が示唆され、C-5 のケミカルシフト値 (δ_C 178.3) より C-5 はオレフィン炭素と推測した。この部分構造は H₂-4/C-6 間の HMBC 相関、および H-6 と H₂-4 間の ⁴J カップリング ($J = 1.6$ Hz) が観測されたことから支持された。H-11 (H-15)/C-7 間の HMBC 相関より benzoyl 基の存在が示唆された。

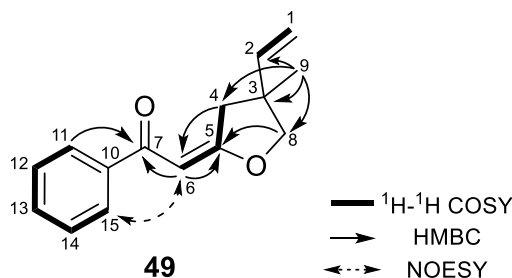


Figure 3.62. Selected 2D NMR correlations for merohyperin B (**49**).

さらに、H-6/C-7 間の HMBC 相関より、tetrahydrofuran 環部分がオレフィンを経由して benzoyl 基と結合することが明らかになった (Figure 3.62)。

Merohyperin B (**49**) の enone 部分 (C-5–C-7) の *s-cis* 配置を、H-6/H-15 (H-11) 間の NOESY 相関により確認した。一方、H₂-4/H-6 間に NOESY 相関が観測されなかったことから、二重結合のジオメトリーを *E* と推定した (Figure 3.63)。このジオメトリーを確認するため、**49** の ¹³C ケミカルシフトの実測値を DFT 法により計算した *E* 体および *Z* 体の計算値と比較した。実測値と計算値の差から求めた MAE および DP4 probability は *E* 体を支持したため (Table 3.11)、**49** の C-5/C-6 間の二重結合のジオメトリーを *E* と結論した。

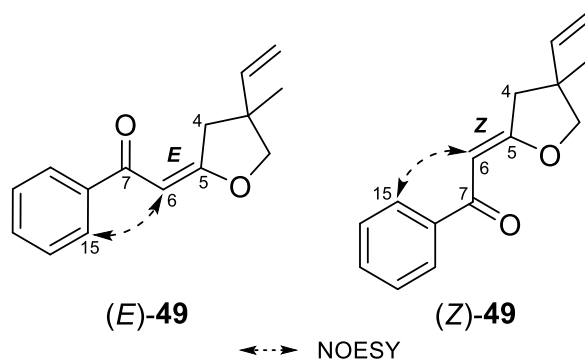


Figure 3.63. Two possible geometric isomers {(E)-**49** and (Z)-**49**} of merohyperin B (**49**).

Merohyperin C (**50**) は無色油状物質として得られ、HRESIMS の解析より、**50** の分子式を $C_{13}H_{20}O_3$ と帰属した (m/z 247.1300 $[M+Na]^+$, $\Delta -1.0$ mmu)。 1H および ^{13}C NMR スペクトルでは 1 個のカルボニル炭素、1 個の三置換オレフィン、1 個のオキシメチレン、1 個のビニル基、1 個の *sec*-ブチル基、および 1 個のメチル基のシグナルがそれぞれ一対ずつに観測されたため (Figure 3.64 and Table 3.13)、本化合物は重クロロホルム中で容易にエピメリ化し、ジアステレオマー混合物 (**50a** and **50b**) となることが示唆された。以下、merohyperin C (**50**) の構造解析はジアステレオマー混合物のスペクトルを用いて行った。

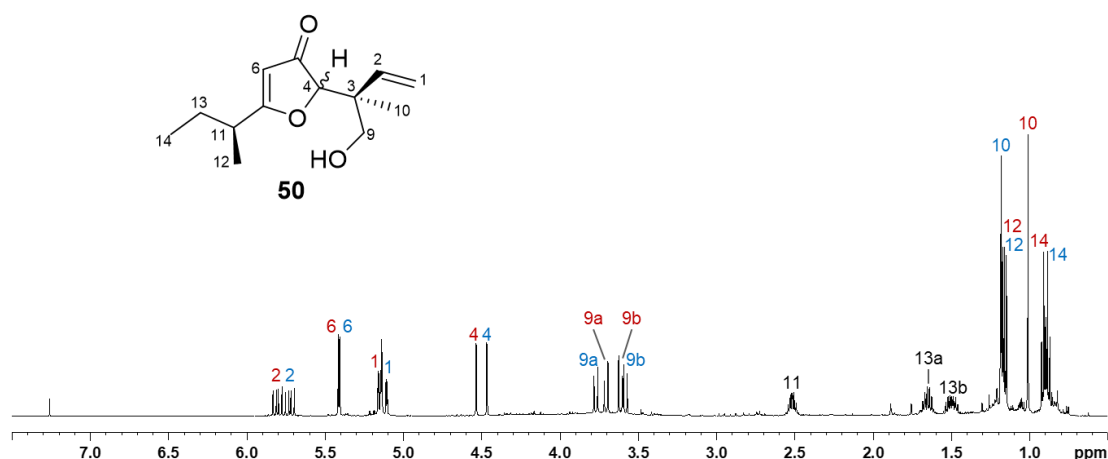


Figure 3.64. 1H NMR spectrum of merohyperin C (**50**) (500 MHz in $CDCl_3$).

1H - 1H COSY と HMBC 相関の解析より、**50** は 3-furanone の C-7 に *sec*-ブチル基が結合した部分構造を有することが明らかとなった (Figure 3.65)。さらに、 H_3 -10/C-2、C-3、C-9、および C-4 間の HMBC 相関より、ビニル基、メチル基、ならびにヒドロキシメチル基が四級炭素 (C-3) を介して C-4 に結合すると結論した。以上の解析により、merohyperin C (**50**) の平面構造を既知メロテルペン (-)-hyperolactone A と共通の部分構造を有する Figure 3.65 に示した構造に帰属した。

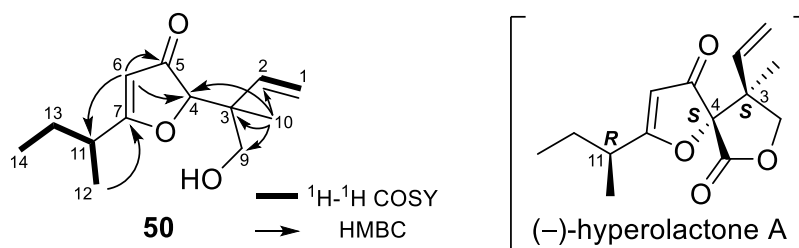


Figure 3.65. Selected 2D NMR correlations for merohyperin C (**50**).

(-)-Hyperolactone A の絶対立体配置は、Kinoshita らの全合成研究により 3*S*,4*S*,11*R* であることが明らかにされている^{107b}。(-)-Hyperolactone A を MeOH/H₂O 中 K₂CO₃ で処理したところ、**50c** が得られた。**50c** と merohyperin C (**50**) の ¹H NMR スペクトルを比較すると両者は一致し (Figure 3.66)、比旋光度も類似の値であったことから {[α]²⁶_D +47.2 (c 0.03, MeOH) for **50c**; [α]²⁷_D +32.2 (c 0.25, MeOH) for **50**}、両者は同一の化合物であると結論した。以上の解析から merohyperin C (**50**) の絶対立体配置を (-)-hyperolactone A と同一の 3*S*,11*R* と結論した。

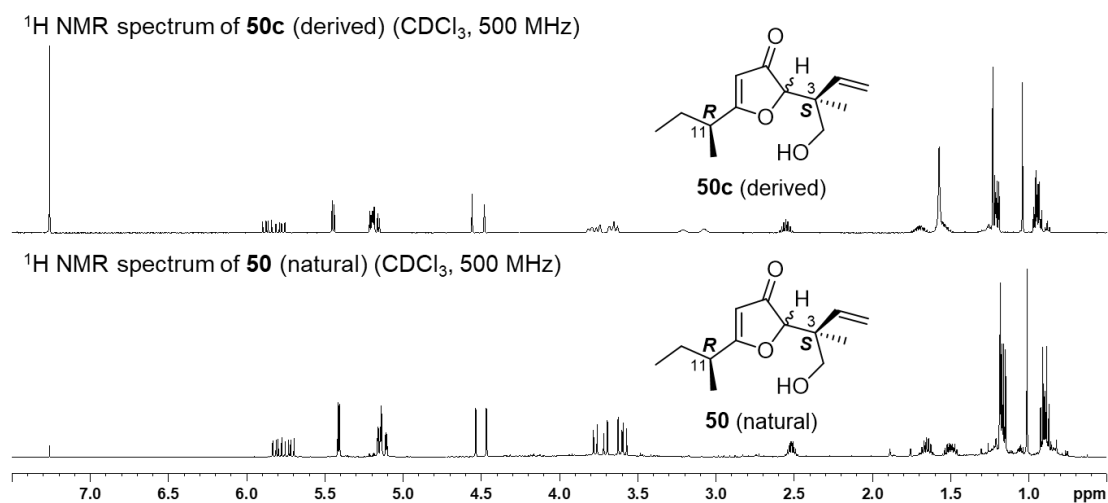


Figure 3.66. Comparison of ¹H NMR spectra of derived (**50c**) and natural (**50**) merohyperin C.

Table 3.12. ¹H and ¹³C NMR data for merohyperins A (**48**) and B (**49**) in CDCl₃ and calculated ¹³C NMR data for (*E*)- and (*Z*)-**49**.

position	48 (expt)		49 (expt)		(<i>E</i>)- 49 (calcd)	(<i>Z</i>)- 49 (calcd)
	¹³ C ^a	¹ H ^b (J in Hz)	¹³ C ^a	¹ H ^b (J in Hz)	¹³ C	¹³ C
1	116.3	5.26 (1H, d, 11.1) 5.22 (1H, d, 17.6)	114.0	5.16 (1H, d, 17.6) 5.13 (1H, d, 10.1)	116.9	117.2
2	137.7	5.80 (1H, dd, 17.6, 11.1)	141.3	5.91 (1H, dd, 17.6, 10.1)	142.2	141.6
3	49.3	–	44.0	–	40.2	39.4
4	78.3	–	44.3	3.26, 3.22 (each 1H, dd, 18.2, 1.6)	38.8	39.8
5	36.6	3.37, 2.97 (each 1H, d, 17.0)	178.3	–	179.1	168.4
6	201.3	–	96.2	6.55 (1H, t, 1.6)	97.4	102.2
7	176.0	–	190.3	–	186.6	191.3
8	74.8	4.31, 4.19 (each 1H, d, 8.5)	80.6	4.11, 3.99 (each 1H, d, 8.5)	72.9	74.2
9	15.5	1.27 (3H, s)	22.7	1.26 (3H, s)	17.6	16.9
10	136.6	–	139.7	–	138.8	139.4
11	128.3	7.92 (1H, d, 7.8)	127.6	7.91 (1H, dd, 7.7, 1.4)	129.7	130.1
12	128.8	7.49 (1H, t, 7.8)	128.4	7.44 (1H, t, 7.7)	128.9	128.2
13	134.2	7.62 (1H, t, 7.8)	131.8	7.50 (1H, tt, 7.7, 1.4)	132.1	131.7
14	128.8	7.49 (1H, t, 7.8)	128.4	7.44 (1H, t, 7.7)	128.4	127.1
15	128.3	7.92 (1H, d, 7.8)	127.6	7.91 (1H, dd, 7.7, 1.4)	128.2	131.3
4-OH	–	6.04 (1H, brs)				
MAE ^c					2.3	3.3
DP4 ^d					100 %	0 %

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^c Mean absolute error. ^d DP4 probability.

Table 3.13. ¹H and ¹³C NMR data for epimers of merohyperin C (**50**) in CDCl₃.

position	50a		50b	
	¹³ C ^a	¹ H ^b (J in Hz)	¹³ C ^a	¹ H ^b (J in Hz)
1	116.8	5.20 (1H, d, 11.1) 5.17 (1H, d, 17.6)	115.3	5.20 (1H, d, 11.0) 5.18 (1H, d, 17.6)
2	136.4	5.78 (1H, dd, 17.6, 11.1)	139.3	5.86 (1H, dd, 17.6, 11.0)
3	46.0	–	45.4	–
4	89.1	4.48 (1H, s)	88.3	4.56 (1H, s)
5	204.8 ^c	–	204.7 ^c	–
6	103.8	5.44 (1H, s)	103.8	5.45 (1H, s)
7	198.9	–	198.9	–
9	67.6 ^d	3.80, 3.64 (each 1H, d, 11.6)	67.5 ^d	3.75, 3.66 (each 1H, d, 11.5)
10	18.5	1.23 (3H, s)	14.7	1.03 (3H, s)
11	37.2	2.54 (1H, qt, 7.1, 7.1)	37.2	2.56 (1H, qt, 7.0, 7.0)
12	17.2 ^e	1.19 (3H, d, 7.1)	16.9 ^e	1.22 (3H, d, 7.0)
13	27.0	1.68, 1.53 (each 1H, m)	27.0	1.69, 1.55 (each 1H, m)
14	11.4 ^f	0.93 (3H, t, 7.4)	11.3 ^f	0.95 (3H, t, 7.0)
9-OH	–	3.28 (1H, brs)	–	3.16 (1H, brs)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

2) 4-*epi*-Hyperolactone A–C (51–53) の構造解析

既知メロテルペン (–)-hyperolactone A (58)、(–)-hyperolactone C (60)、並びに (+)-hyperolactone B (59) は、それぞれアシル基として *sec*-ブチル基、フェニル基、*i*-プロピル基を有しており、58 及び 60 の絶対立体配置は 3*S*,4*S* であるのに対し、59 の絶対立体配置は 3*S*,4*R* である。なお、58–60 の絶対立体配置を含む構造は全合成により、確認されている¹⁰⁷。

Hyperolactone A–C (58–60) の ¹H NMR スペクトルを比較すると、58 と 60 の H-9a と H-9b のケミカルシフト値の差はいずれも約 0.9 ppm であるのに対し、59 では約 0.4 ppm である (Figure 3.67)。すなわち、hyperolactone 類では、H-9a と H-9b の $\Delta\delta$ 値が約 0.9 ppm の場合、その相対立体配置は 3*S*^{*},4*S*^{*} であり、 $\Delta\delta$ 値が約 0.4 ppm の場合、3*S*^{*},4*R*^{*} と推定することができる。

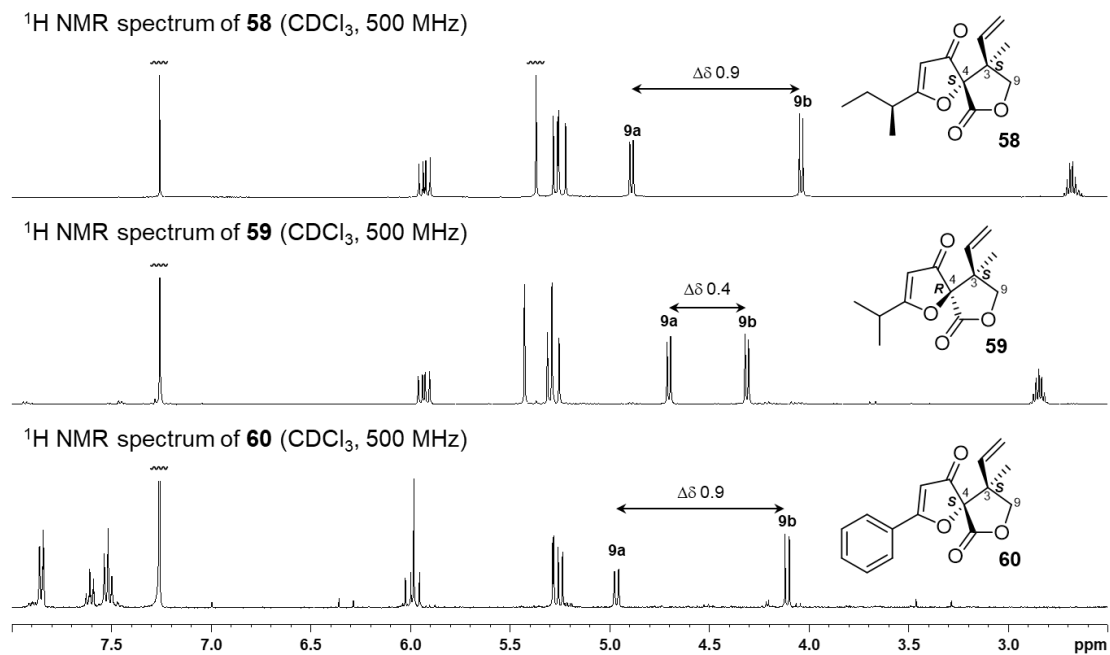


Figure 3.67. ¹H NMR spectra of hyperolactones A–C (58–60).

4-*epi*-Hyperolactone A–C (**51–53**) の分子式は、HRESIMS よりそれぞれ hyperolactone A–C (**58–60**) と同一であることが示唆された { m/z 273.1092 [M+Na]⁺, Δ –1.1 mmu for **51**; m/z 259.0911 [M+Na]⁺, Δ –3.5 mmu for **52**; m/z 293.0832 [M+Na]⁺, Δ –4.2 mmu for **53**}。 **51–53** の ¹H NMR スペクトルは H₂–9 のケミカルシフト値を除き、**58–60** のものとそれぞれ類似していた (Figures 3.68 and 3.67, and Table 3.14)。すなわち、**51** 及び **53** の H-9a と H-9b の $\delta\Delta$ 値が約 0.4 ppm であり、**52** の $\delta\Delta$ 値が約 0.9 ppm であったことから、**51–53** は **58–60** の 4 位エピマーであることが示唆された。なお、**51** の 11 位の相対立体配置は帰属することができなかった。

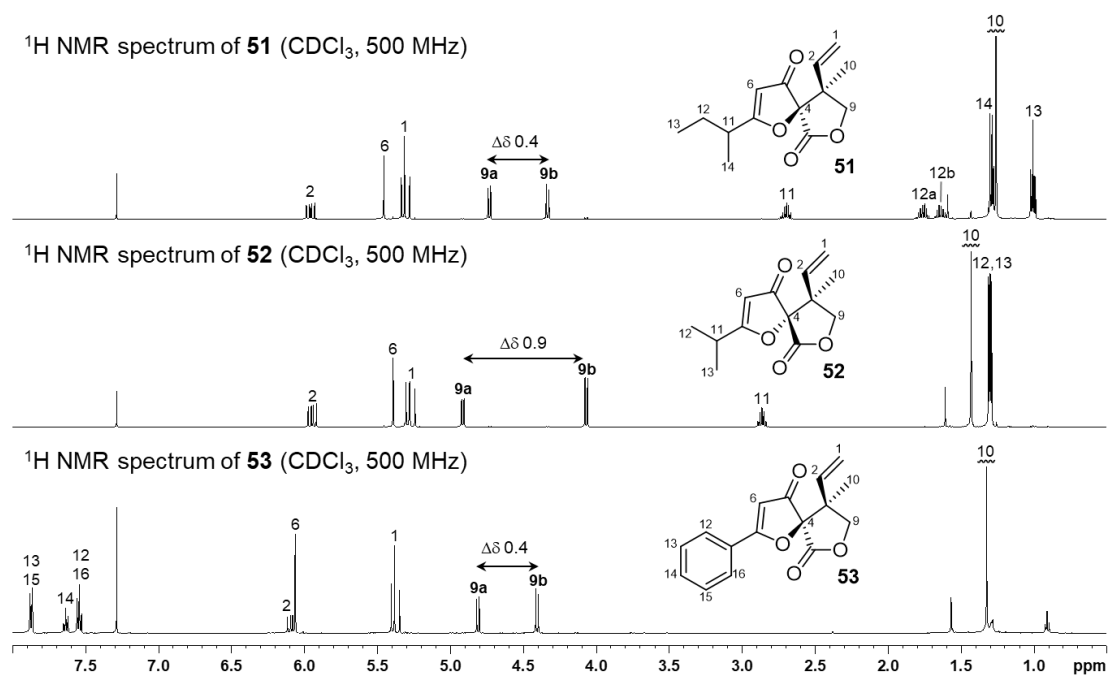


Figure 3.68. ¹H NMR spectra of 4-*epi*-hyperolactones A–C (**51–53**).

続いて、4-*epi*-hyperolactone A–C (**51–53**) の絶対立体配置を帰属するために、とり得る2種のエナンチオマーのECDスペクトルを計算し、実測値と比較した (Figures 3.69–3.71)。

4-*epi*-Hyperolactone B (**52**) の実測値は (3*S*,4*S*)-体の計算値と良く対応していたため、**52** の絶対立体配置を 3*S*,4*S* と推定した (Figure 3.69)。

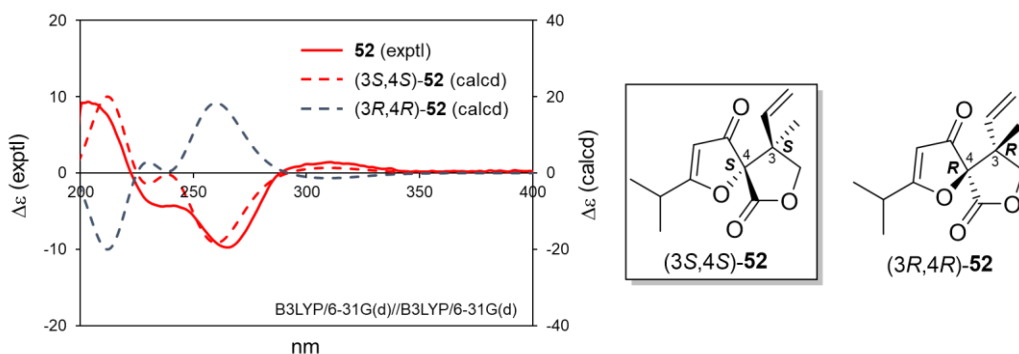


Figure 3.69. Experimental and calculated ECD spectra of possible enantiomers {(3*S*,4*S*)-**52** and (3*R*,4*R*)-**52**} of 4-*epi*-hyperolactone B (**52**).

4-*epi*-Hyperolactone A (**51**) の実測ECDスペクトルを (3*S*,4*R*,11*R*)-**51** 及び (3*R*,4*S*,11*S*)-**51** の計算値と比較した。しかし、実測値はいずれのエナンチオマーの計算値と一致せず、**51** の絶対立体配置を帰属することが出来なかった (Figure 3.70)。

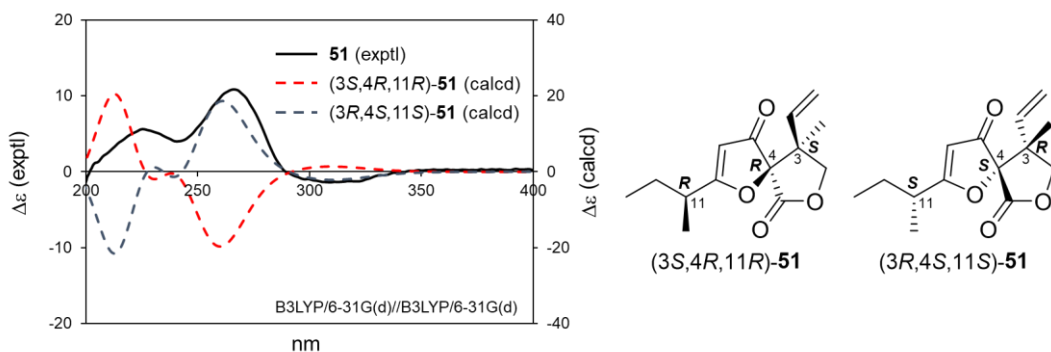


Figure 3.70. Experimental and calculated ECD spectra of possible enantiomers {(3*S*,4*R*,11*R*)-**51** and (3*R*,4*S*,11*S*)-**51**} of 4-*epi*-hyperolactone A (**51**).

4-*epi*-Hyperolactone C (**53**) についても同様に、取りうる2種のエナンチオマー {(3*S*,4*R*)-**53** 及び (3*R*,4*S*)-**53**} の ECD スペクトルを計算し、実測値と比較した。しかし、実測値を再現する計算値を得ることができず、絶対立体配置を帰属することが出来なかった (Figure 3.71)。

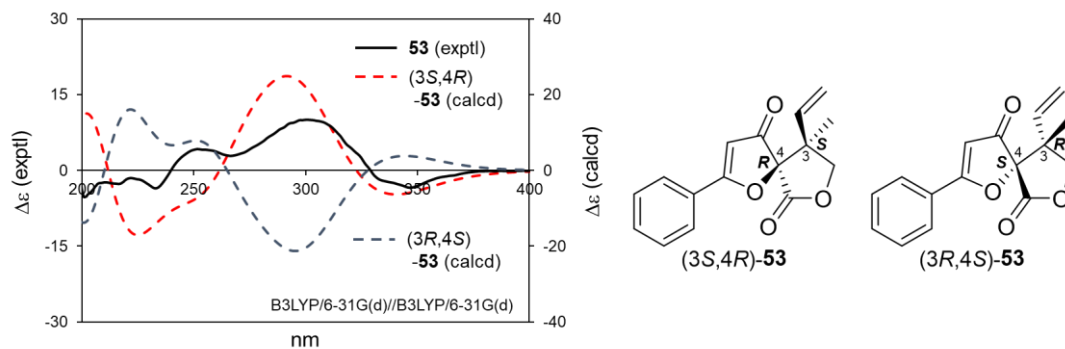


Figure 3.71. Experimental and calculated ECD spectra of possible enantiomers {(3*S*,4*R*)-**53** and (3*R*,4*S*)-**53**} of 4-*epi*-hyperolactone C (**53**).

4-*epi*-Hyperolactone A (**51**) 及び C (**53**) の絶対体立配置を ECD スペクトルの計算値と実測値の比較では帰属することができなかつたため、VCD 励起子キラリティー法による帰属を試みた。最初に、既知メロテルペン hyperolactone A–C (**58–60**) に VCD 励起子キラリティー法¹⁰⁸ を適用し、今回単離した新規メロテルペン 4-*epi*-hyperolactone A–C (**51–53**) に対して本手法が適用可能か確認した (Figure 3.72)。

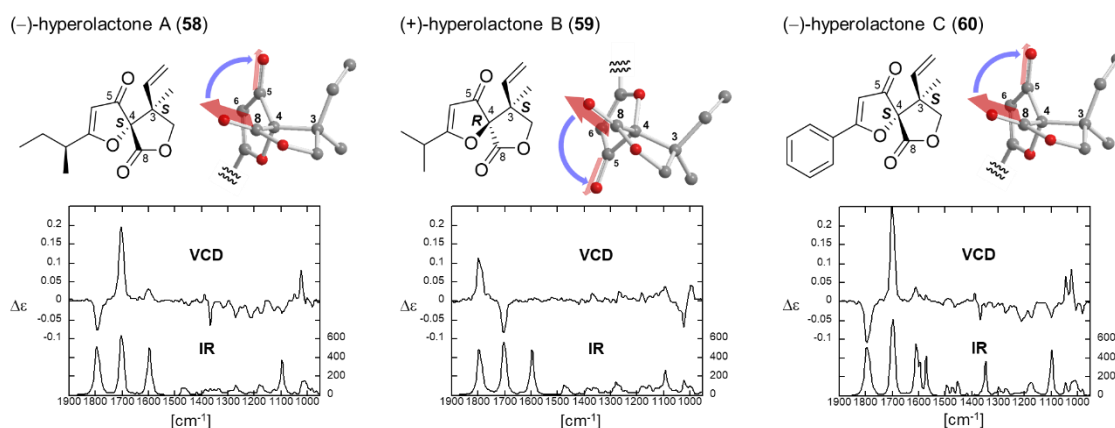


Figure 3.72. VCD spectra of hyperolactones A–C (**58–60**).

(–)-Hyperolactone A (**58**) 及び (–)-hyperolactone C (**60**) の VCD スペクトルでは (Figure 3.72)、いずれも 1700 cm^{-1} 付近に正の吸収が、1800 cm^{-1} に負の吸収が観測されたことから、5 位カルボニル基と 8 位カルボニル基の電気双極子モーメントの二面角が時計回りであることが明らかとなった。この結果は、**58** と **60** の絶対体立配置をいずれも 3*S*,4*S* と示唆した。一方、(+)-hyperolactone B (**59**) の VCD スペクトルでは、**58** 及び **60** と正負が逆の吸収が観測され (Figure 3.72)、5 位カルボニル基と 8 位カルボニル基の電気双極子モーメントの二面角が反時計回りであること、すなわち **59** の 3*S*,4*R* 配置を示唆した。

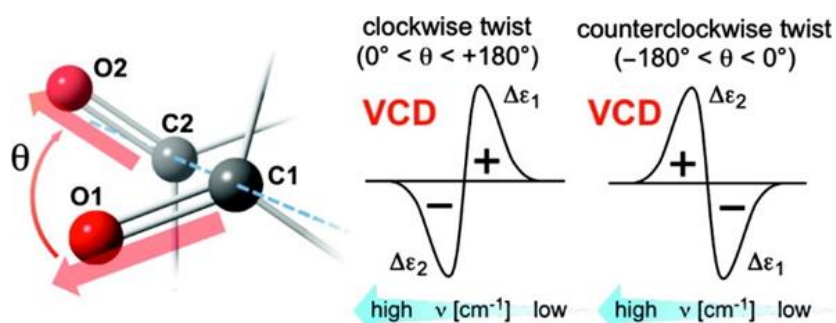
これらの絶対体立配置は報告された配置と同一であったことから、VCD 励起子キラリティー法は今回単離した新規メロテルペン 4-*epi*-hyperolactone A–C (**51–53**) の絶対体立配置の帰属に適用可能であると判断した。

(補足)

VCD 励起子キラリティー法¹⁰⁸ について

VCD は、「赤外円二色性スペクトル」と呼ばれ、赤外領域に吸収をもつキラル有機分子の構造解析に用いられている。その適用範囲はアミノ酸や複合脂質等の生体物質や天然有機化合物など様々である。VCD の応用例として最もよく用いられているのが絶対立体配置の帰属であり、理論計算により求めた計算値と実測値の比較によって、その絶対立体配置を帰属することが可能である。近年、より汎用性の高い手法として門出らにより提唱された手法が VCD 励起子キラリティー法である。

VCD 励起子キラリティー法では、カルボニル基を発色団として用い、二個の発色団の電気遷移モーメントのねじれにより絶対立体配置を帰属することができる。すなわち、VCD スペクトルで低波長側に正のピーク、高波長側に負のピークが観測された場合、手前から奥に向かって時計回りに配置されていることが分かる。一方、低波長側に負のピーク、高波長側に正のピークが観測された場合は、二個のモーメントは手前から奥に向かって反時計回りに配置されていることが分かる。上述のように、スペクトルのパターンから二個の発色団の立体的な位置関係が明らかとなり、絶対立体配置を帰属することができる。また、発色団にカルボニルを用いる理由として、他の官能基から独立した場所に強い吸収を示すことや、電気双極子モーメントが C=O 結合にほぼ並行に存在するということが挙げられる。



The signs of the couplet depend on the screw sense of the two electric dipole transition moments¹⁰⁸.

4-*epi*-Hyperolactone A–C (**51–53**) の VCD スペクトルを Figure 3.73 に示す。4-*epi*-Hyperolactone A (**51**) 及び C (**53**) の VCD スペクトルは 1700 cm^{-1} 付近に負のピークを示し、1800 cm^{-1} に正のピークを示した。一方、4-*epi*-hyperolactone B (**52**) の VCD スペクトルは 1700 cm^{-1} 付近に正のピークを示し、1800 cm^{-1} に負のピークを示した。この結果から、5 位カルボニル基と 8 位カルボニル基の電気双極子モーメントの二面角が **51** 及び **53** では反時計回り、**52** では時計回りであることが明らかとなり、**51** 及び **53** の絶対立体配置を 3*S*,4*R* と帰属し、**52** の絶対立体配置を 3*S*,4*S* と帰属した (Figure 3.73)。なお、VCD 励起子キラリティー法では、**52** の C-11 の絶対立体配置を帰属することができなかった。

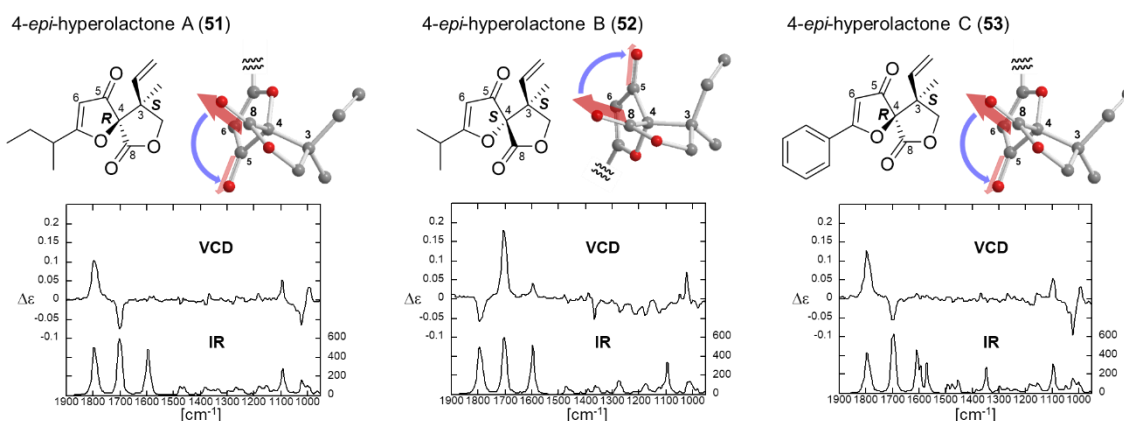


Figure 3.73. VCD spectra of 4-*epi*-hyperolactones A–C (**51–53**).

4-*epi*-Hyperolactone A (**51**) 及び C (**53**) は既に全合成により報告されているが¹⁰⁷、天然からの単離は初めての報告である。今回、単離した **51** の 1D NMR データは木下らによって報告された (3*S*,4*R*,11*R*)-hyperdioxane A のもの^{107b} と一致していたことから、**51** の 11 位の絶対立体配置を *R* と帰属した。

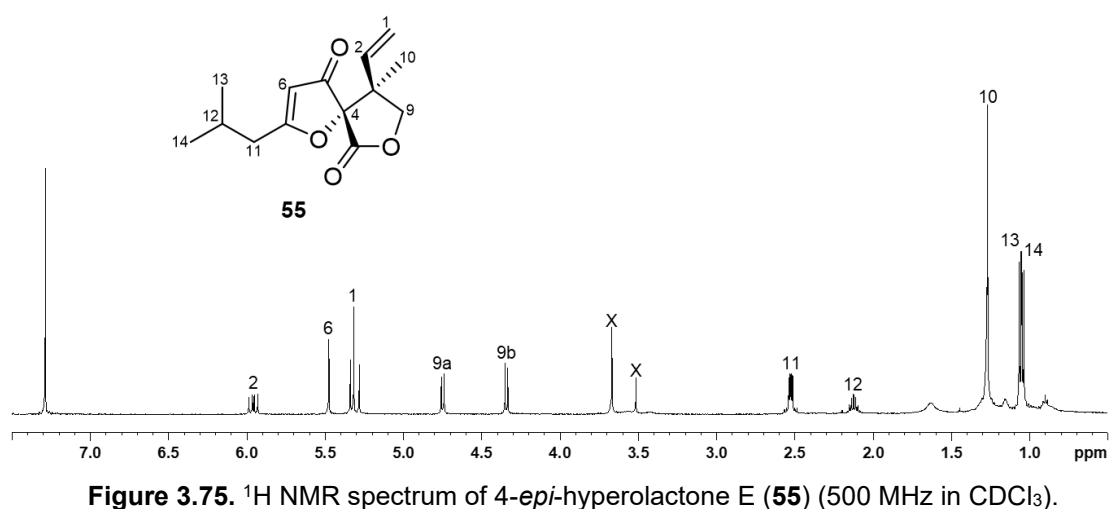
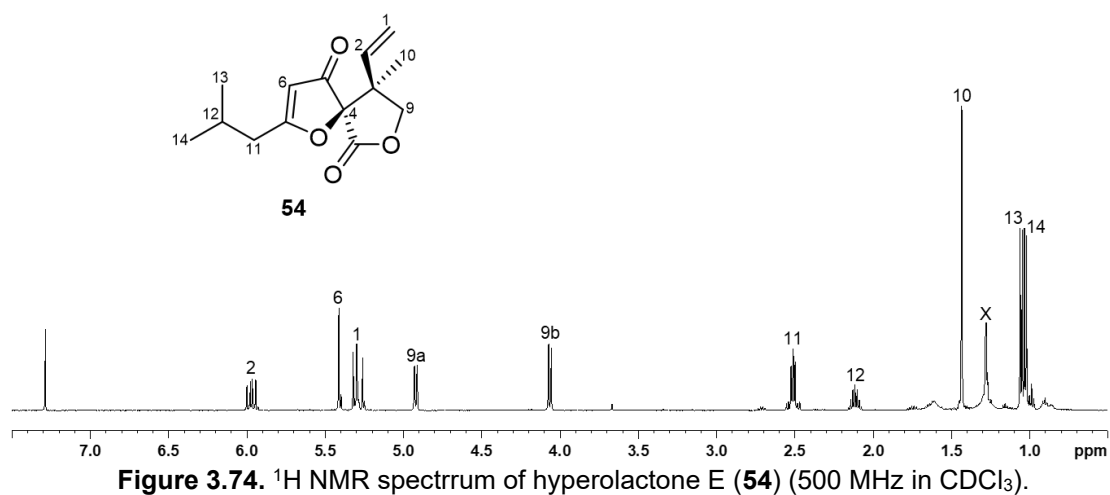
Table 3.14. ^1H and ^{13}C NMR data for 4-*epi*-hyperolactones A–C (**51–53**) in CDCl_3

position	51		52		53	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	115.9	5.30 (1H, d, 10.7) 5.27 (1H, d, 17.6)	118.8	5.27 (1H, d, 10.4) 5.23 (1H, d, 17.1)	116.2	5.37 (1H, d, 10.8) 5.34 (1H, d, 17.2)
2	136.8	5.93 (1H, dd, 17.5, 11.1)	134.4	5.92 (1H, dd, 18.0, 11.5)	136.9	6.06 (1H, dd, 17.2, 10.8)
3	48.4	–	48.4	–	48.9	–
4	91.7	–	92.5	–	92.3	–
5	197.4	–	197.4	–	196.6	–
6	102.3	5.43 (1H, s)	101.1	5.37 (1H, s)	100.4	6.04 (1H, s)
7	200.4	–	201.0	–	187.4	–
8	168.0	–	168.0	–	168.1	–
9	73.2	4.71, 4.46 (each 1H, d, 8.4)	74.0	4.89, 4.04 (each 1H, d, 8.5)	73.4	4.78, 4.38 (each 1H, d, 8.6)
10	17.2	1.24 (1H, s)	19.7	1.41 (3H, s)	15.6	1.30 (3H, s)
11	37.3	2.67 (1H, tq, 7, 7)	30.4	2.84 (1H, sept, 6.8)	127.7	–
12	27.1	1.74, 1.61 (each 1H, ddq, 14.0, 7.3, 6.5)	19.3	1.28 (3H, d, 6.8)	127.5	7.85 (1H, br d, 7.8)
13	11.3	0.98 (3H, t, 7.5)	19.4	1.27 (3H, d, 6.8)	129.1	7.52 (1H, t, 7.8)
14	15.4	1.27 (3H, d, 6.9)			133.6	7.61 (1H, br d, 7.8)
15					129.1	7.52 (1H, t, 7.8)
16						7.85 (1H, brd, 7.8)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

3) Hyperolactone E (**54**) 及び 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) の構造解析

Hyperolactone E (**54**) と 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) はそれぞれ光学活性な $\{[\alpha]^{21}_D - 248.6$ (c 0.20, MeOH) for **54**; $[\alpha]^{23}_D + 130.5$ (c 0.02, MeOH) for **55 $\}$ な無色非結晶性の固体として得られた。HRESIMS の解析より、分子式はいずれも $C_{14}H_{18}O_4$ であることが明らかとなった (m/z 273.1132 $[M+Na]^+$, $\Delta + 2.9$ mmu for **54**; m/z 273.1107 $[M+Na]^+$, $\Delta + 0.4$ mmu for **55**)。 **54** と (-)-hyperolactone A (**58**) の 1H NMR スペクトルは類似していたが、**54** では **58** の *sec*-ブチル基に代わり *i*-ブチル基のシグナルが観測されたため (Figure 3.74 and Table 3.14)、**54** の構造を **58** の *sec*-ブチル基に代わり、*i*-ブチル基を有する構造であると推定した。さらに、 H_2-9 のケミカルシフト値の差が 0.9 ppm であったことから、 $3S^*, 4R^*$ 配置を推定した。**



一方、**55** と **54** の ^1H NMR スペクトルは H_2-9 のシグナルを除き、類似していたことから、両者は4位ジアステレオマーの関係にある化合物であると推定した (Figures 3.75 and 3.74, and Table 3.15)。**54** 及び **55** の平面構造は各種 2D NMR スペクトルの解析からも支持された (Figure 3.76)。

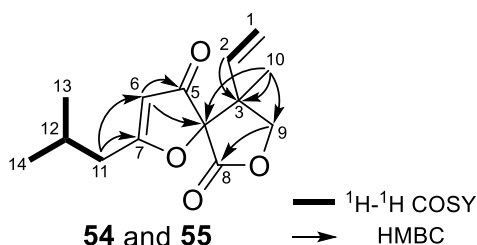


Figure 3.76. Selected 2D NMR correlations for hyperolactone E (**54**) and 4-*epi*-hyperolactone E (**55**).

続いて、hyperolactone E (**54**) の絶対立体配置 VCD 励起子キラリティー法¹⁰⁸ により帰属した。**54** の VCD スペクトルにおいて、 1700 cm^{-1} 付近に正の吸収、 1800 cm^{-1} に負の吸収が観測されたことから、5位カルボニル基と8位カルボニル基の電気双極子モーメントの二面角は時計回りであることが判明した。以上の結果から、hyperolactone E (**54**) の絶対立体配置を 3*S*,4*S* と帰属した (Figure 3.77)。

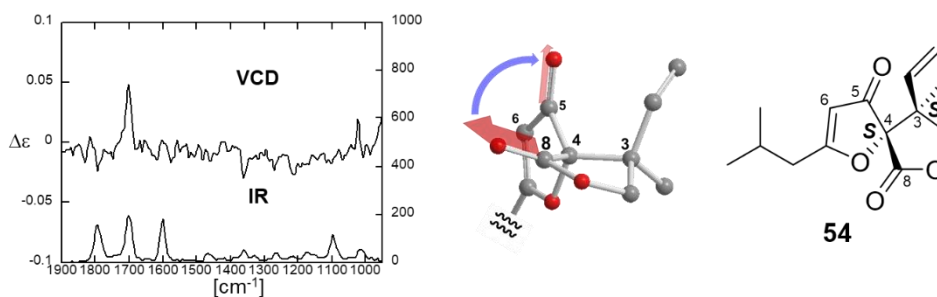


Figure 3.77. VCD spectrum of hyperolactone E (**54**).

一方、4-*epi*-hyperolactone E (**55**) は単離量が少なく、VCD スペクトルを測定することが出来なかった。そこで、**55** の実測 ECD スペクトルを VCD 励起子キラリティー法により絶対立体配置を帰属した hyperolactone B (**59**) のものと比較した。両者の ECD スペクトルは類似のコットン効果を示したことから、**55** の絶対立体配置を **59** と同一の 3*S*,4*R* と推定した (Figure 3.78)。

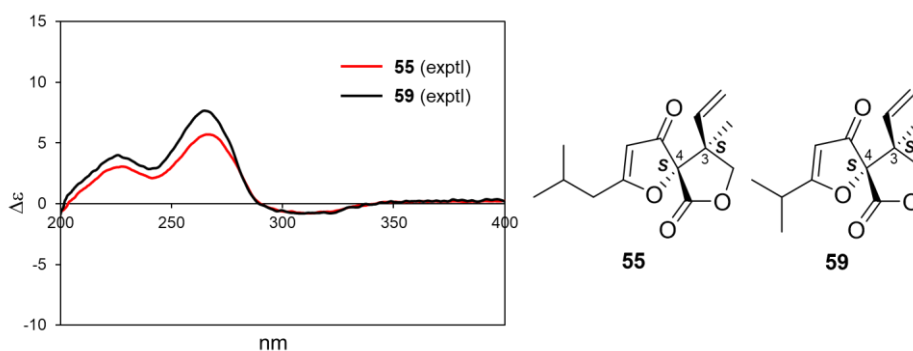


Figure 3.78. Experimental ECD spectra of 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) and hyperolactone B (**59**).

Table 3.14. ^1H and ^{13}C NMR data for hyperolactone E (**54**) and 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) in CDCl_3 .

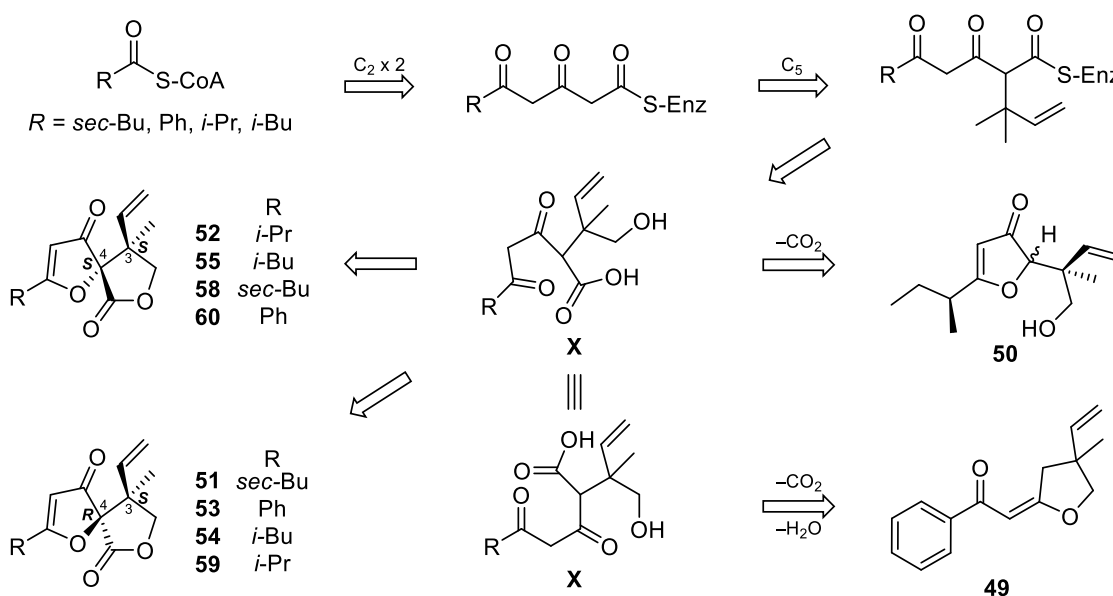
position	54		55	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	119.1	5.28 (1H, d, 11.3) 5.24 (1H, d, 17.3)	116.0	5.27 (1H, d, 17.5) 5.30 (1H, d, 11.0)
2	134.4	5.94 (1H, dd, 17.3, 11.3)	136.7	5.93 (1H, dd, 17.5, 11.0)
3	48.5	–	48.6	–
4	92.9	–	91.9	–
5	197.4	–	197.3	–
6	104.1	5.38(1H, s)	104.1	5.45(1H, s)
7	195.4	–	195.6 ^c	–
8	168.1	–	168.0 ^c	–
9	74.2	4.89, 4.04 (each 1H, d, 8.5)	73.2	4.32, 4.72 (each 1H, d, 8.8)
10	19.4	1.41 (3H, s)	15.4	1.24 (3H, s)
11	39.7	2.51, 2.46 (each 1H, dd, 14.7, 7.3)	39.6	2.52, 2.48 (each 1H, dd, 14.7, 7.3)
12	26.9	2.09 (1H, m)	26.8	2.10 (1H, m)
13	22.3	1.00 (3H, d, 6.7)	22.3	1.03 (3H, d, 8.5)
14	22.4	1.03 (3H, d, 6.7)	22.3	1.02 (3H, d, 8.5)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^c Detected by HMBC spectrum.

4) Merohyperin B (**49**) 及び C (**50**)、4-*epi*-hyperolactone A–C (**51–53**)、
hyperolactone E (**54**)、並びに 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) の生合成に関する考察

既知メロテルペン hyperolactone A–C (**58–60**) はアシル CoA と 2 個の C₂-unit からなるトリケトメチレンにプレニル基が導入された生合成中間体 **X** の分子内環化により生合成されると提唱されている⁸⁴。

今回、単離した 4-*epi*-hyperolactone A–C (**51–53**)、hyperolactone E (**54**)、並びに 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) も同様に生合成中間体 **X** の分子内環化により生合成されると考えられる。Merohyperin C (**50**) は **X** の脱炭酸と分子内環化を経て生合成され、merohyperin B (**49**) は **X** の脱炭酸と脱水を経て生合成されると考えられる (Scheme 3.7)。



Scheme 3.7. Possible biogenetic pathway of merohyperins B and C (**49** and **50**), 4-*epi*-hyperolactones A–C and E (**51–53**, and **55**), and hyperolactone E (**54**).

小括

紅旱蓮 (*Hypericum ascyron*) の根より、8 種の新規ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体 hyperdioxane A–G (17–23) 及び (+)-sampsone B (24)、並びに 6 種の新規 PPAP である hypascylin A–E (25–29) 及び *ent*-hyphenrone J (30) に加え、17 種の既知化合物 (31–47) を単離した。

Hyperdioxane A (17) は非常にユニークな bicyclo[2.2.2]octenone 環を含む七環性骨格を有する新規ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体である。17 はエレモフィラノライド型セスキテルペン (31) と hyperdioxane B (18) の [4+2]付加反応により生合成されると考えられ、同じ植物素材より単離したこれら構成ユニットについて、絶対立体配置を含む構造を明らかにすることでスペクトル解析により帰属した構造に矛盾がないことを確認した。

これまでに天然からのジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体の単離例は、*Hypericum* 属植物の地上部から報告された 3 例のみである。本研究により、紅旱蓮の根は多様なジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体の組成を持つことが明らかになった。

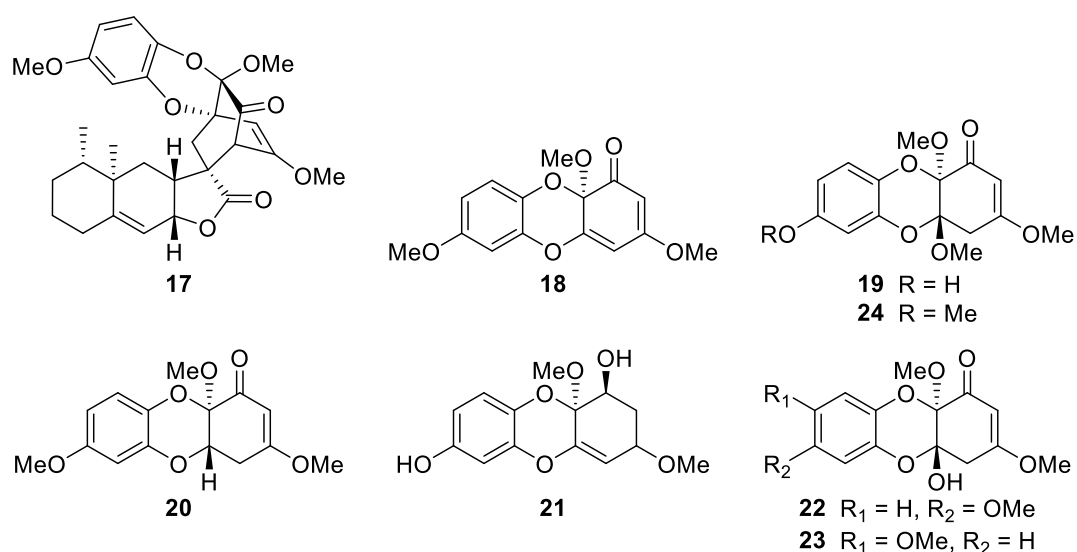


Figure 3.77. New dibenzo-1,4-dioxanes (17–23) isolated from the roots of *Hypericum ascyron*.

Hypascylin A–E (25–29) 及び *ent*-hyphenrone J (30) はいずれもメンタン型モノテルペン部分を有する PPAP である。これまでに報告されていた類縁化合物は絶対立体配置の議論が行われていなかったが、今回、25 の ECD スペクトルの実測値と計算値の比較及び化学変換により、その絶対立体配置を推定した。

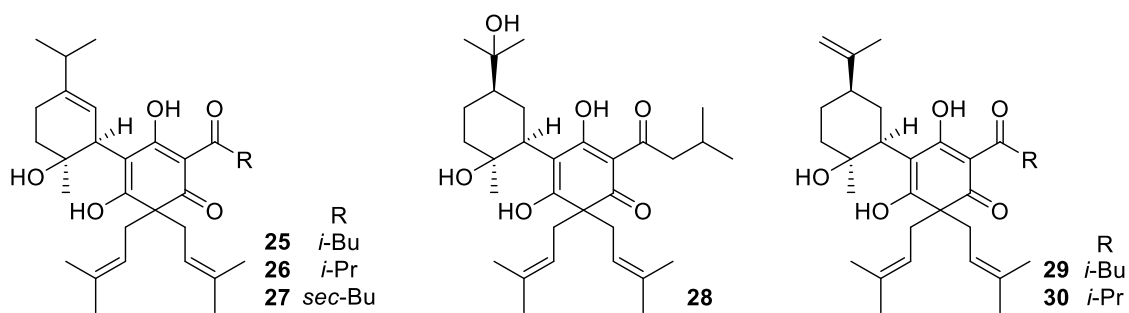


Figure 3.78. New PPAPs (25–30) isolated from the roots of *Hypericum ascyron*.

紅旱蓮の根から単離した化合物の抗菌活性、抗 HIV 活性、細胞毒性、並びに抗炎症活性を評価した。一部の PPAP (25, 27, 29, 30, and 43) が *S. aureus* 及び *B. subtilis* に対して抗菌活性を示したが、ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体には抗菌活性が見られなかった。一方、17 は抗 HIV 活性を、18 は培養腫瘍細胞 (A549, HeLa, and MCF7) に対する中程度の増殖抑制活性及び神経細胞に対する抗炎症活性を示すことが明らかになった。

金糸桃 (*Hypericum chinense*) の葉からは、8 種の新規メロテルペン merohyperin A–C (48–50)、4-*epi*-hyperolactone A–C (51–53)、hyperolactone E (54)、並びに 4-*epi*-hyperolactone E (55) と共に 7 種の既知メロテルペン (56–62) を単離し、構造を明らかにした。

Merohyperin A (48) 及び B (49) は、それぞれ γ -lactone と tetrahydrofuran 環を有する炭素数 15 の新規メロテルペンである。一方、51–55 は共通の 1,7-dioxaspiro[4,4]non-2-ene-4,6-dione 部分を有し、それぞれアシル基の構造及び C-4 の絶対立体配置が異なるメロテルペンである。これらの絶対立体配置を ECD スペクトルの実測値と計算値の比較と VCD 励起子キラリティー法を適用することで明らかにした。なお、全合成研究により 51–53 の構造は既に報告されているが、天然からの単離は初めてである。

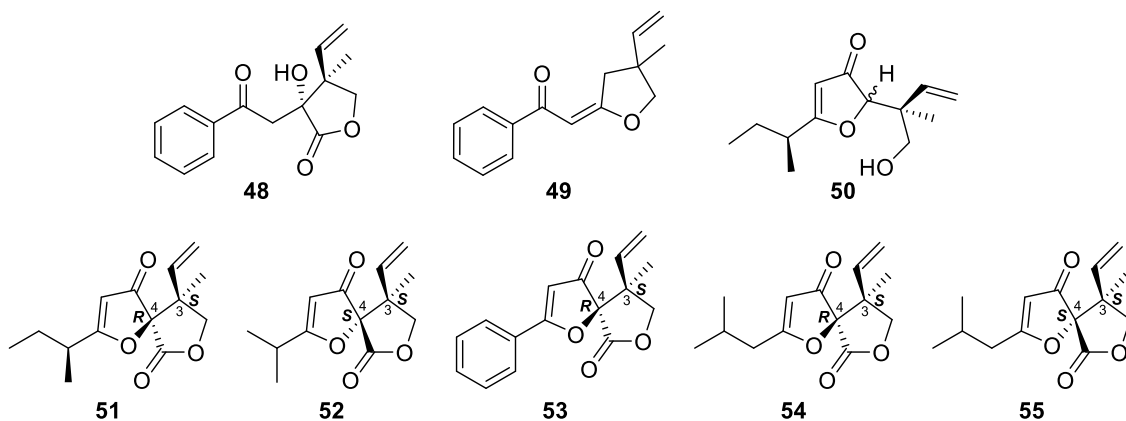


Figure 3.79. New meroterpenes (48–55) isolated from the leaves of *Hypericum chinense*.

第4章 カンムリオトギリの地上部から単離した新規ケチド化合物の化学構造

第1節 序論

1) カンムリオトギリについて

カンムリオトギリ (*Hypericum frondosum* 'Sunburst') はアメリカオトギリ (*H. frondosum*) のコルヒチン処理により作成した四倍体種であり、園芸種として栽培されている¹⁰⁹。原種のアメリカオトギリは、ケンタッキー州やノースカロライナ州等の東アメリカ、特にロッキー山脈の石灰質の土壌を好んで広く自生する小低木であり、雄しべが花弁から突き出した直径3 cm程の小さな花を多数つける¹¹⁰のに対し、カンムリオトギリは直径5 cm程の大きな花をつける。

なお、両種共に成分研究は行われていないが、Nurk らによる分類ではアメリカオトギリが *Branthys s.l.* + *Myriandra* 節に分類されている⁵¹。葉や茎に白点を有し、黒点を有さないため、hyperforin 等の PPAP は含有されているが、hypericin 等のナフトジアンスロンは含有されないと推測できる。

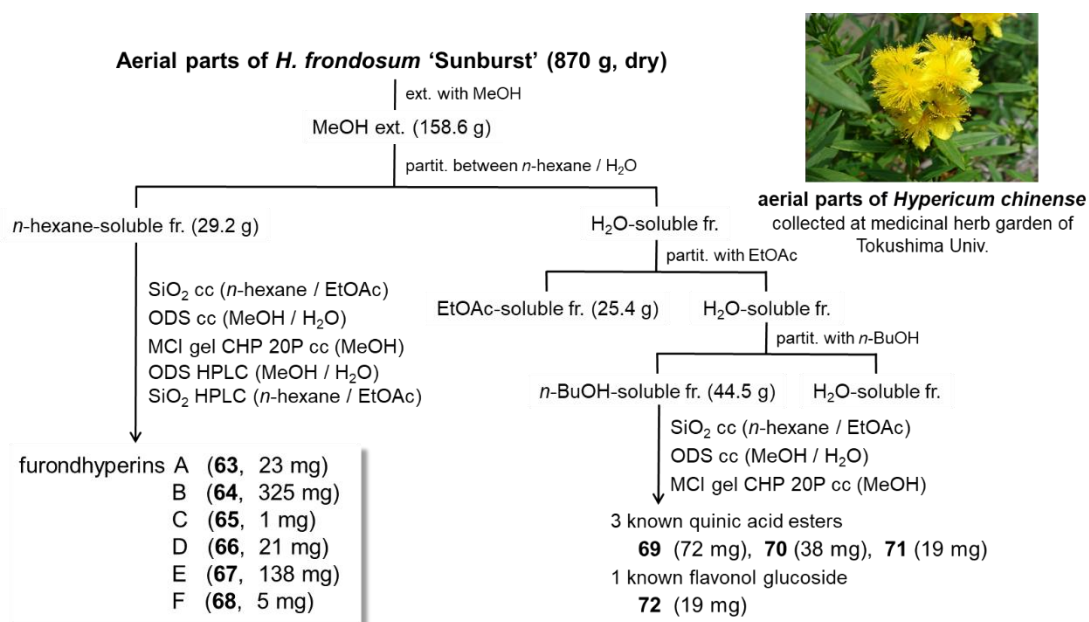
2) 植物の倍数操作について

植物の倍数操作は器官の大型化や果実の無核化(種なし化)等をもたらすため、園芸作物において有効な育種方法の一つであり、コルヒチン処理など的人為的な染色体倍化操作が頻繁に行われている。体細胞分裂の際に2個の娘細胞に染色体を配分するために必要な紡錘体の形成を阻害するコルヒチンは、一方で染色体分裂は阻害しないため、コルヒチン処理により染色体のセット数が倍加した倍数性の細胞を作成することができる。また、コルヒチン処理により、成分組成が変化することが明らかになっており、ステビア (*Stevia rebaudiana*) の甘味成分として知られる rebaudioside A 高含有種^{6a} やニチニチソウ (*Catharanthus roseus*) から見出された癌化学療法や免疫抑制剤として使用されるビンカアルカロイド類高含有種^{6b} の作成が報告されている。

Hypericum 属植物の成分研究の多くは薬用として用いられる種について多く行われており、園芸品種についての成分研究例は少ない。今回、コルヒチン処理により作成された倍数体種と他の *Hypericum* 属植物の成分組成の違いに興味を持ち、「紅旱蓮」及び「金桃糸」と同属植物であるカンムリオトギリ地上部の成分研究を行った。

第2節 抽出・分離

徳島大学薬学部薬用植物園にて 2015 年に採集したカヌムリオトギリ (*H. frondosum* ‘Sunburst’) の地上部 (870 g, dry) を MeOH で抽出し、抽出エキスを得た。これを *n*-hexane と水で分配した後、水層を EtOAc と *n*-BuOH で順次分配した。*n*-Hexane 層を SiO₂、ODS および MCI gel CHP-20P カラムを用いて分離した後、ODS HPLC や SiO₂ HPLC で精製し、6 種の新規ケチド化合物 frondhyperin A–F (**63–68**) を単離した (Scheme 4.1)。また、*n*-BuOH 層からは既知化合物 4 種 (**69–72**) を単離した (Figure 4.1)。



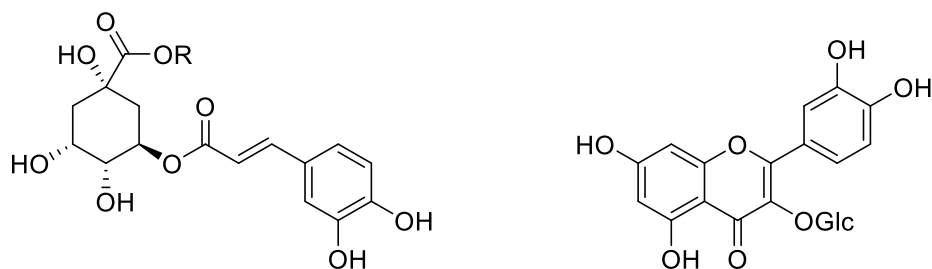
Scheme 4.1. Isolation of frondhyperins A–F (**63–68**) from the aerial parts of *Hypericum frondosum* ‘Sunburst’.

(補足)

本論文では、をアシルスターターと C₂-unit から成る化合物を「ケチド化合物」と総称する。

第 3 節 既知化合物の同定

n-BuOH 層から単離した 3 種の既知キナ酸エステル誘導体 3-*O*-caffeoyl quinic acid (**69**)¹¹¹、Me ester (**70**)¹¹¹、BuOH ester (**71**)¹¹¹、並びに 1 種のフラボノール配糖体 hyperin (**72**)¹¹² の構造をスペクトルデータを文献値と比較することで帰属した (Figure 4.1)。



3-*O*-caffeoyl quinic acid (**69**) R = H
3-*O*-caffeoyl quinic acid Me ester (**70**) R = Me
3-*O*-caffeoyl quinic acid Me ester (**71**) R = Bu

hyperin (**72**)

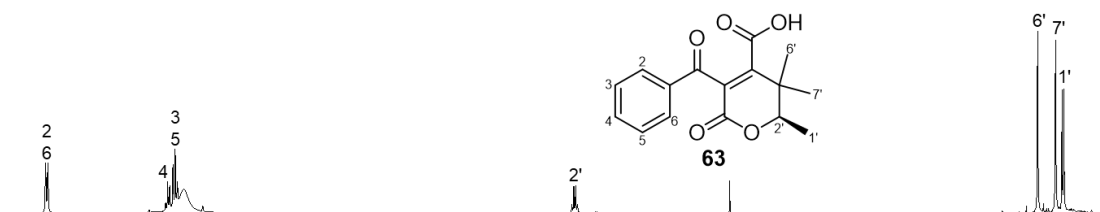
Figure 4.1. Structures of known compounds (**69–72**) isolated from the aerial parts of *Hypericum frondosum* 'Sunburst'.

第4節 新規ケチド化合物 (63–68) の構造解析

第1項 Frondhyperin A–D (63–66) の構造解析

Frondhyperin A (**63**) 及び B (**64**) は、それぞれ光学活性 $\{[\alpha]^{21}_D -43.1$ (c 0.40, MeOH) for **63**; $[\alpha]^{21}_D -35.1$ (c 0.10, MeOH) for **64 $\}$ な無色油状物質として得られた。HRESIMS より、**63** の分子式を $C_{16}H_{16}O_5$ (m/z 287.0899 $[M-H]^-$, Δ -2.0 mmu)、**64** の分子式を **63** より CH_2 多い $C_{17}H_{18}O_5$ (m/z 325.1034 $[M+Na]^+$, Δ -1.8 mmu) と帰属した。両化合物の 1H NMR スペクトルは類似しており (Figure 4.2)、共通して1個の一置換ベンゼン、1個の sp^3 オキシメチン、1個の *sec*-メチル、並びに2個の *tert*-メチルのシグナルが観測された。**64** の 1H NMR スペクトルでは、これらのシグナルに加え、メトキシ基に帰属されるシグナルが観測された (Table 3.2)。Frondhyperin A (**63**) 及び B (**64**) の ^{13}C NMR スペクトルでは、共通して3個のカルボニル炭素、8個の芳香族性またはオレフィン炭素、ならびに1個の sp^3 四級炭素のシグナルが観測された (Table 4.1)。**

1H NMR spectrum of **63** (C_5D_5N , 500 MHz)



1H NMR spectrum of **64** ($CDCl_3$, 500 MHz)

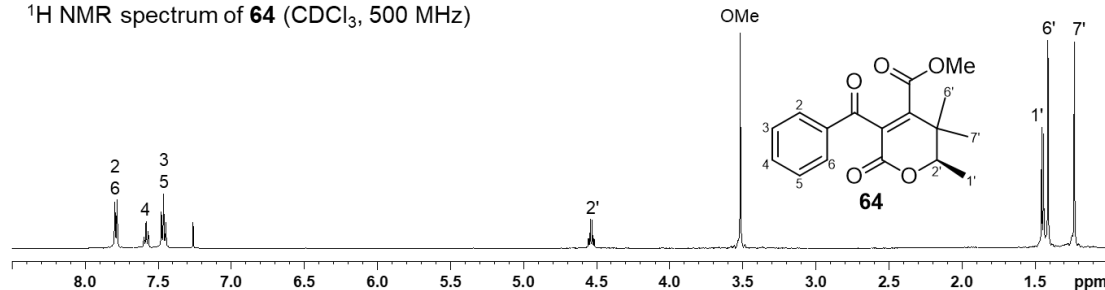


Figure 4.2. 1H NMR spectra of frondhyperins A (**63**) (500 MHz in C_5D_5N) and B (**64**) (500 MHz in $CDCl_3$).

また、**63** を MeOH 中 TMS-diazomethane で処理し、メチル化体 **63a** を得た。**63a** の 1H NMR スペクトルおよび比旋光度 $\{[\alpha]^{23}_D -39.1$ (c 0.03, MeOH) $\}$ は、**64** のものと一致したため、**64** は **63** のメチル化体であることが示唆された。

Fronthyperin B (**64**) の ^1H - ^1H COSY および HMBC スペクトルの解析より、メトキシカルボニル基 (unit A) とベンゾイル基 (unit B) の存在が示唆された。さらに、H-2'/C-9 間、H₃-7'/C-2'、C-3'、C-4'、及び C-6' 間の HMBC 相関と C-4' (δ_{C} 154.5)、C-8 (δ_{C} 132.0)、及び C-9 (δ_{C} 162.1) のケミカルシフト値から、三個のメチル基が結合した α,β -不飽和- δ -lactone 部分 (unit C) の構造を推定した (Figure 4.3)。

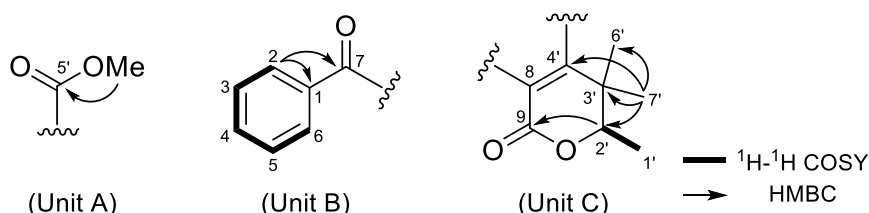


Figure 4.3. Selected 2D NMR correlations for fronthyperin B (**64**).

Fronthyperin B (**64**) は、四置換オレフィンとカルボニル炭素が結合する構造を有しており、2D NMR スペクトルの解析から前述の部分構造 (units A-C) の結合様式を明らかにすることは困難だった。そこで、Pd/C による接触還元を行い、**64** を還元体 **64a** へ導いた (Figure 4.4)。64a の H-7/H-8 間に ^1H - ^1H COSY 相関が観測されたことに加え (Figure 4.5)、H-2 (H-6)/C-7、H-4'/C-5'間に HMBC 相関が観測されたことから、64a の C-7/C-8 間と C-4'/C-5'間の結合が明らかとなった。以上の解析から、64 の平面構造を Figure 4.5 に示した構造と帰属した。

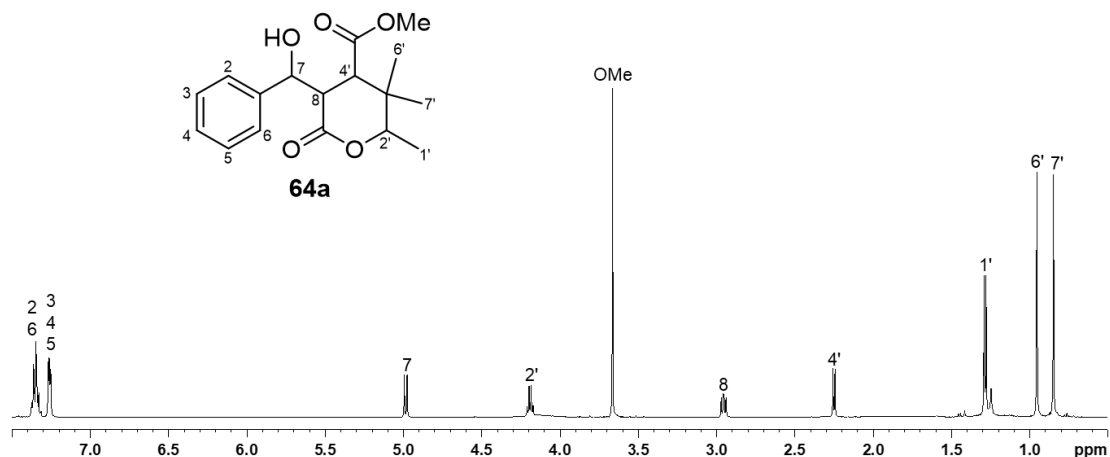


Figure 4.4. ^1H NMR spectrum of tetrahydro derivative (**64a**) of fronthyperin B (**64**) (500 MHz in CDCl_3).

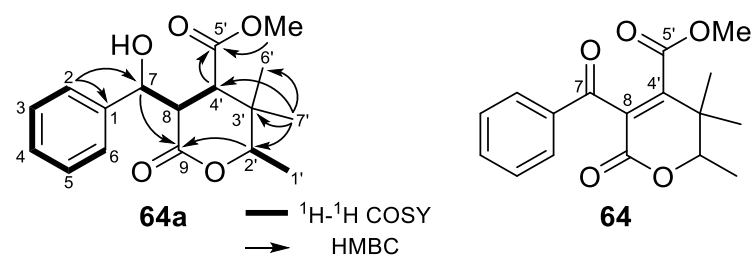


Figure 4.5. Selected 2D NMR correlations for tetrahydro derivative (**64a**) of frondhyperin B (**64**) and the gross structure of **64**.

続いて、frondhyperin B (**64**) の絶対立体配置を明らかにするために、ECD スペクトルの実測値と計算値の比較を行った。**64** の実測 ECD スペクトルが *2'R*-**64** の計算値と良く対応していたことから、**64** の絶対立体配置を *2'R* と推定した (Figure 4.6)。

Frondhyperin A (**63**) のメチル化体 **63a** と **64** の比旋光度が一致していることから、**63** の C-2' の絶対立体配置についても *R* と推定した。

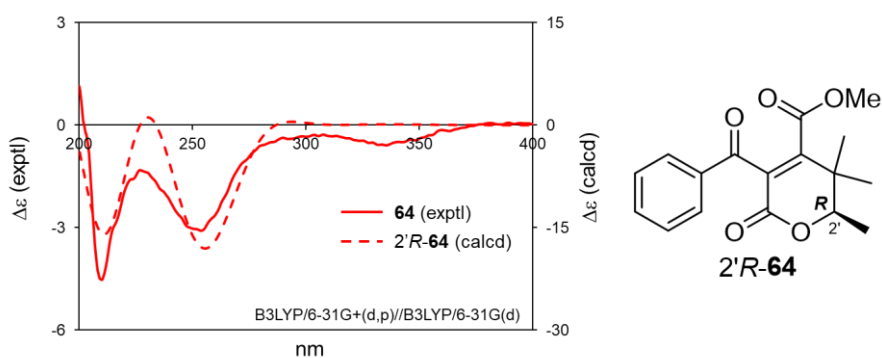


Figure 4.6. Experimental ECD spectrum of frondhyperin B (**64**) and calculated spectrum of *2'R*-**64** (calculated ECD spectrum was blue-shifted by 25 nm).

Fronthyperin C (**65**) は無色油状物質として得られ、比旋光度+17.5 (*c* 0.10, MeOH) を示した。HRESIMS より、分子式を **64** と同一の $C_{15}H_{18}O_5$ と帰属した (m/z 301.1029 $[M+Na]^+$, Δ -2.0 mmu)。また、IR スペクトルの 1771 および 1739 cm^{-1} の吸収から、**65** は複数のカルボニル基を持つと推定した。本化合物の ^1H NMR スペクトルは、**64** のものと類似していたが (Figures 4.7 and 4.2, and Table 4.1)、 ^{13}C NMR スペクトルでは、**64** のケトン炭素 (C-7, δ_C 191.3) のシグナルに代わり、**65** ではアセタール炭素 (δ_C 107.7) に帰属されるシグナルが観測された。

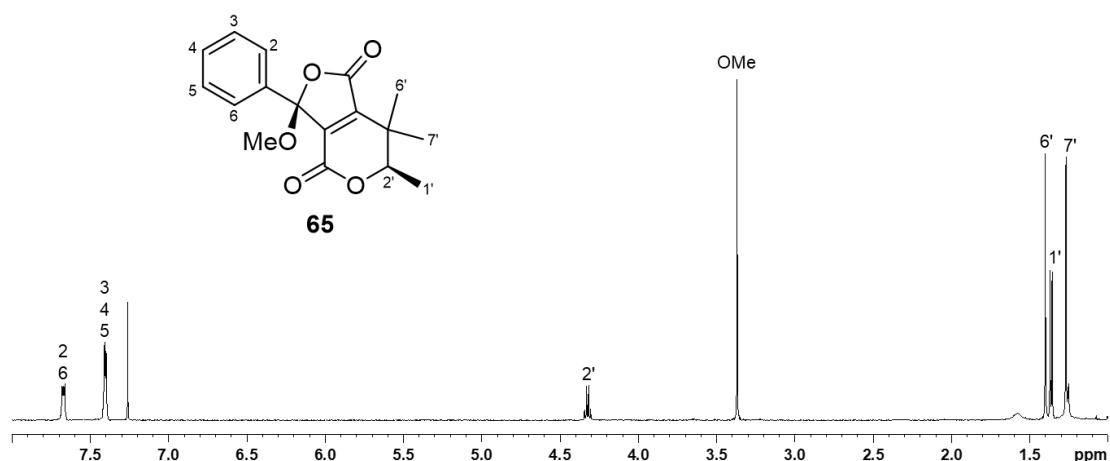


Figure 4.7. ^1H NMR spectra of frondhyperin C (**65**) (500 MHz in CDCl_3).

Fronthyperin C (**65**) の各種 2D NMR スペクトルの解析から、**65** は **64** と同一の α,β -不飽和- δ -lactone 部分 (C-8, C-9, C-1'-C-4', and C-6', C-7') を有し、アセタール炭素 (C-7, δ_C 107.7) を介してフェニル基とメトキシ基が結合する構造を持つことが明らかとなった。

Fronthyperin B (**64**) と同様の方法で **65** の接触還元を行い、還元体 **65a** を得た (Figure 4.8)。さらに、**65a** の H-8/C-7 間と H-4'/C-5'間の HMBC 相関から、C-7/C-8 間と C-4'/C-5'間の結合を明らかにした (Figure 4.9)。続いて、C-7 のケミカルシフト値 (δ_C 107.7) と **65a** の分子式 $C_{15}H_{18}O_5$ (m/z 327.1200 $[M+Na]^+$, Δ -0.8 mmu) を考慮し、 γ -lactone 環の存在を推定した。以上の解析から、**65** の平面構造を γ -lactone と δ -lactone から成る二環性の骨格に 1 個のフェニル基、1 個のメトキシ基、並びに 3 個のメチルが結合した Figure 4.9 に示した構造と帰属した。

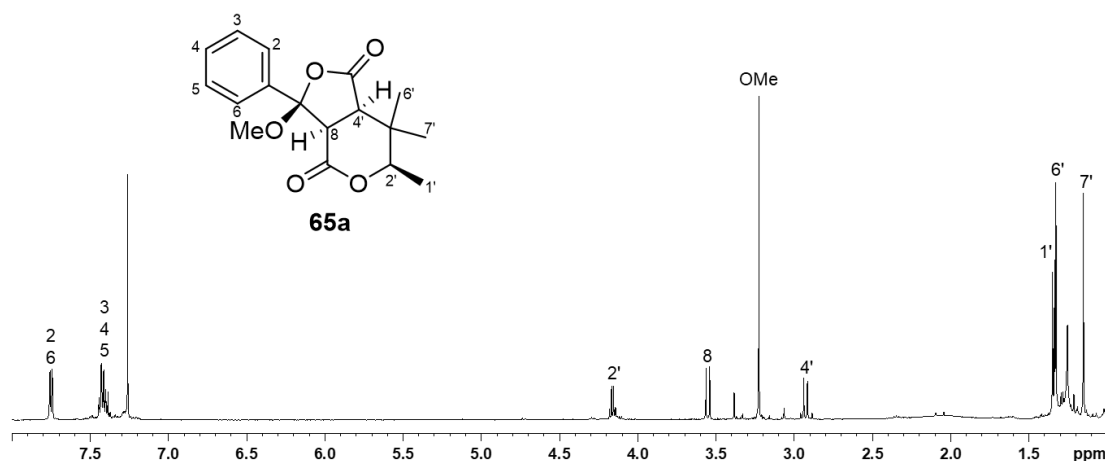


Figure 4.8. 1H NMR spectrum of dihydro derivative (**65a**) of frondhyperin C (**65**) (500 MHz in $CDCl_3$).

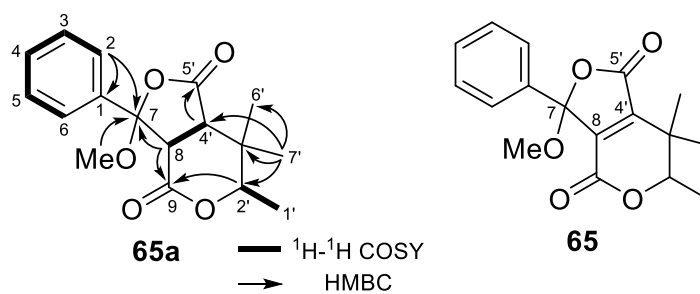


Figure 4.9. Selected 2D NMR correlations for tetrahydro derivative (**65a**) of frondhyperin C (**65**) and the gross structure of **65**.

また、**65a**の相対立体配置をNOESYスペクトルの解析から帰属した。すなわち、H-2'/H-4'およびH-8/H-2 (H-6)間のNOESY相関より (Figure 4.10)、2'-Meと7-OMeは*syn*配置であることが明らかになった。

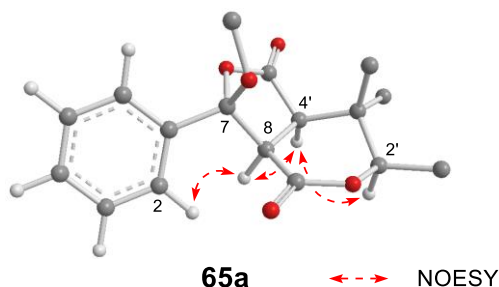


Figure 4.10. Selected NOESY correlations and stereochemistry for dihydro derivative (**65a**) of frondhyperin C (**65**).

Frondhyperin B (**64**)をMeOH中NaOHで処理したところ、**64b**が得られた。**64b**の¹H NMRスペクトルは**65**のものと一致し (Figure 4.11)、比旋光度は類似の値であったことから {[α]²¹_D +17.5 (c 0.10, MeOH) for **64b**, [α]²⁴_D +18.6 (c 0.10, MeOH) for **65**}, **64b**と**65**は同一の化合物と判断し、**65**のC-2'の絶対立体配置は**64**と同一の*R*配置と結論した。以上の解析と**65a**の相対立体配置を考慮し (Figure 4.10)、frondhyperin C (**65**)の絶対立体配置を2'*R*,7*R*と結論した。

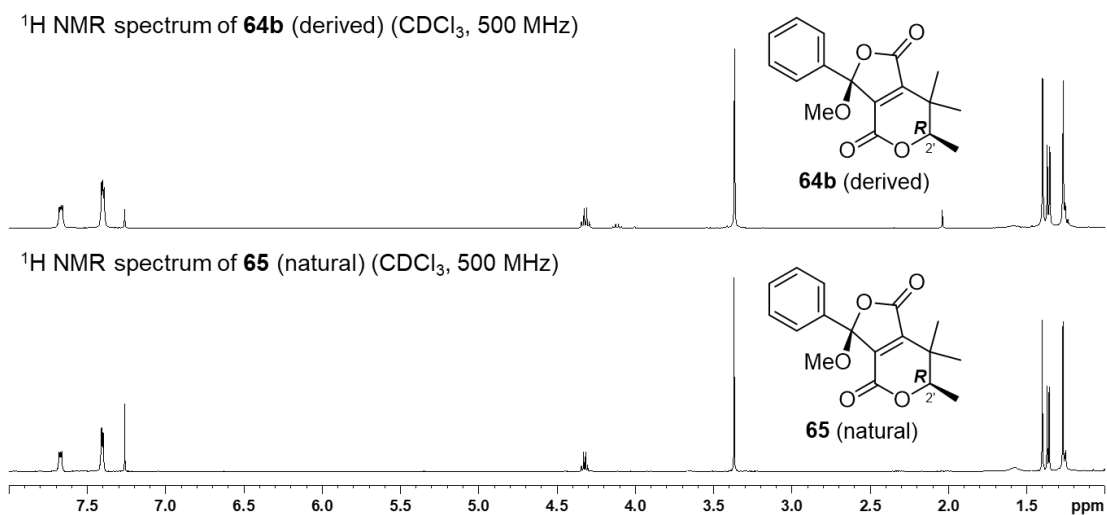


Figure 4.11. Comparison of ¹H NMR spectra (500 MHz in CDCl₃) of derived (**64b**) and natural frondhyperin C (**65**).

Fronthyperin D (**66**) は無色油状物質として得られ、比旋光度 -6.1 (c 0.10, MeOH) を示した。HRESIMS の解析より、**66** の分子式を $C_{15}H_{18}O_5$ と帰属した (m/z 301.1029 $[M+Na]^+$, Δ -2.3 mmu)。 1H NMR スペクトルではケト・エノール互変異性に由来すると考えられる異性体 **66a** と **66b** のシグナルが積分比 10:3 の比率で観測された (Figure 4.12 and Table 4.2)。

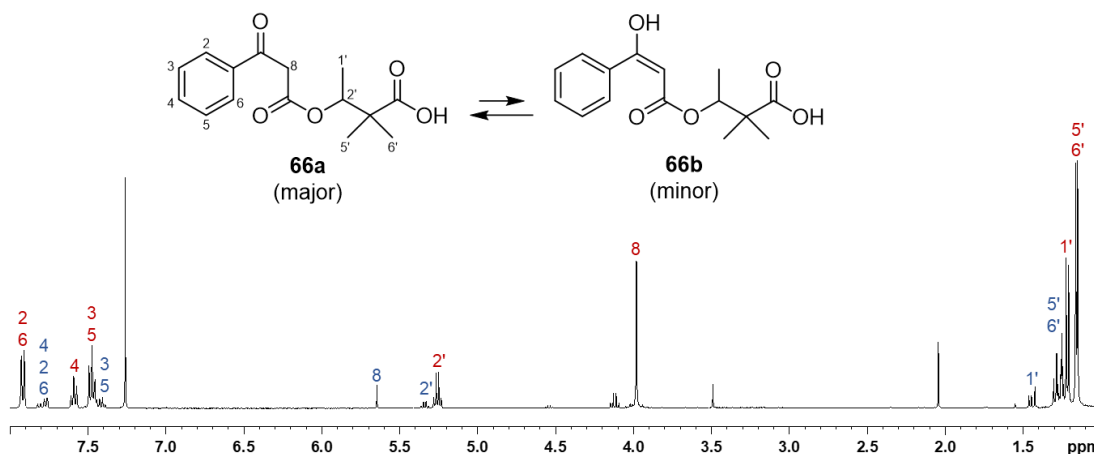


Figure 4.12. 1H NMR spectrum of fronthyperin D (**66**) (500 MHz in $CDCl_3$).

各種 2D NMR スペクトルの解析により (Figure 4.13)、主互変異性体 **66a** の平面構造をベンゾイル酢酸部分 (C-1-C-9) と 2,2-ジメチルブタン酸が縮合した構造と帰属した (Figure 4.13)。以上の解析から、**66a** はケトン型の β -ジケトン部分を有していることが示唆されたため、その互変異生体 **66b** はエノール型構造であることが明らかになった。

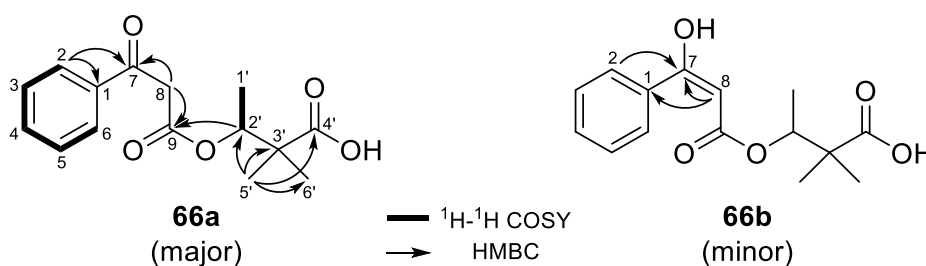


Figure 4.13. Selected 2D NMR correlations for major (**66a**) and minor (**66b**) tautomers of fronthyperin D (**66**).

Fronthyperin D (**66**)と(S)-(-)-phenylethylamine を縮合させ、**66c**を得た。**66c**の¹H NMRスペクトルでは、ジアステレオマー混合物に由来するシグナルが積分比 10:6 で観測された (Figure 4.14)。以上の結果から、**66** は 10:6 のラセミ混合物であることが明らかになった。

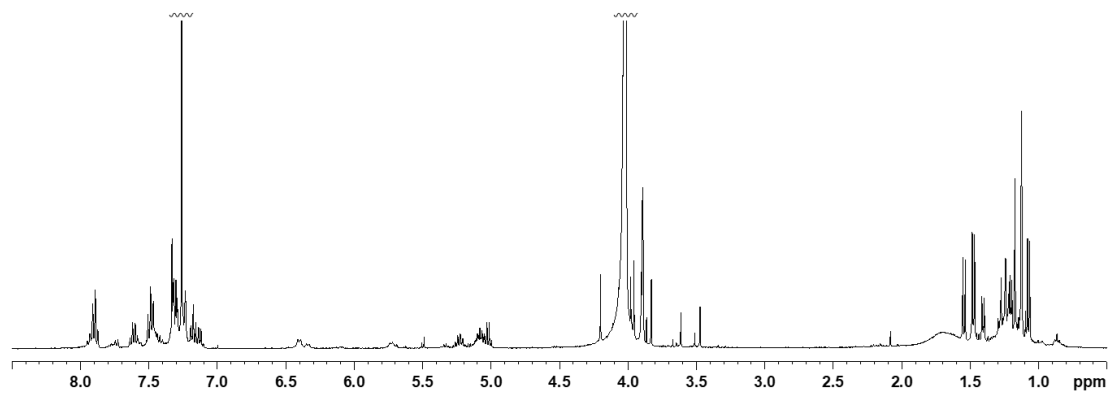


Figure 4.14. ¹H NMR spectrum of **66c** (500 MHz in CDCl₃).

Table 4.1. ¹H and ¹³C NMR data for frondhyperins A–C (**63**–**65**).

position	63 in C ₅ D ₅ N		64 in CDCl ₃		65 in CDCl ₃	
	¹³ C ^a	¹ H ^b (J in Hz)	¹³ C ^a	¹ H ^b (J in Hz)	¹³ C ^a	¹ H ^b (J in Hz)
1	137.3	–	135.6	–	134.2	–
2	129.4	8.25 (1H, d, 7.2)	128.9	7.79 (1H, d, 7.3)	126.6	7.67 (1H, m)
3	129.0	7.37 (1H, t, 7.2)	128.7	7.46 (1H, t, 7.3)	128.8	7.40 (1H, m)
4	133.4	7.43 (1H, t, 7.2)	133.9	7.58 (1H, t, 7.3)	129.9	7.40 (1H, m)
5	129.0	7.37 (1H, t, 7.2)	128.7	7.46 (1H, t, 7.3)	128.8	7.40 (1H, m)
6	129.4	8.25 (1H, d, 7.2)	128.9	7.79 (1H, d, 7.3)	126.6	7.67 (1H, m)
7	189.8 ^c	–	191.3	–	107.7	–
8	130.5	–	132.0	–	144.7	–
9	163.6	–	162.1	–	158.6	–
1'	14.6	1.30 (3H, d, 6.3)	14.6	1.45 (3H, d, 6.6)	13.7	1.37 (3H, d, 6.6)
2'	82.1	4.64 (1H, q, 6.3)	81.8	4.54 (1H, q, 6.6)	83.2	4.32 (1H, q, 6.6)
3'	37.9	–	37.9	–	35.5	–
4'	159.6	–	154.5	–	149.6	–
5'	169.0	–	164.9	–	166.6	–
6'	19.0	1.47 (3H, s)	18.9	1.41 (3H, s)	20.0	1.40 (3H, s)
7'	21.8	1.35 (3H, s)	21.8	1.23 (3H, s)	18.7	1.27 (3H, s)
OMe			52.3	3.51 (3H, s)	52.4	3.37 (3H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz. ^c Detected by HMBC spectrum.

Table 4.2. ¹H and ¹³C NMR data for major (**66a**) and minor (**66b**) tautomers of frondhyperin D (**66**) in CDCl₃.

position	66a		66b	
	¹³ C ^a	¹ H ^b (J in Hz)	¹³ C ^a	¹ H ^b (J in Hz)
1	136.0	–	133.4	–
2	128.5	7.92 (1H, d, 7.9)	128.8	7.77 (1H, d, 7.9)
3	128.8	7.47 (1H, t, 7.9)	126.1	7.41 (1H, t, 7.9)
4	133.7	7.59 (1H, t, 7.9)	131.3	7.46 (1H, m)
5	128.8	7.47 (1H, t, 7.9)	126.1	7.41 (1H, t, 7.9)
6	128.5	7.92 (1H, d, 7.9)	128.8	7.77 (1H, d, 7.9)
7	192.4	–	171.7	–
8	46.2	3.98 (2H, s)	87.4	5.64 (1H, s)
9	166.7	–	172.4	–
1'	14.8	1.21 (3H, d, 6.4)	15.2	1.29 (3H, d, 6.4)
2'	74.0	5.26 (1H, q, 6.4)	74.0	5.34 (1H, q, 6.4)
3'	46.2	–	46.2	–
4'	180.8	–	180.8	–
5'	20.8	1.16 (3H, s)	20.9	1.28 (3H, s)
6'	20.5	1.15 (3H, s)	20.7	1.25 (3H, s)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

第 2 項 Frondhyperin E (67) 及び F (68) の構造解析

Frondhyperin E (67) 及び F (68) の ^1H NMR スペクトルを frondhyperin B (64) のものと比較したところ、いずれも類似していたが、64 のメトキシ基のシグナルに代わりに、67 と 68 ではそれぞれエトキシ基とブトキシ基に帰属されるシグナルが観測された (Figure 4.15 and Tables 4.1 and 4.3)。以上の結果から、67 と 68 は 64 のメトキシカルボニルに代わり、それぞれエトキシカルボニルとブトキシカルボニルを有する化合物であると推定した。このことは、HRESIMS の解析からも支持された ($\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5$: m/z 339.1198 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Δ -1.0 mmu for 67, $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_5$: m/z 367.1490 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Δ -3.1 mmu for 68)。

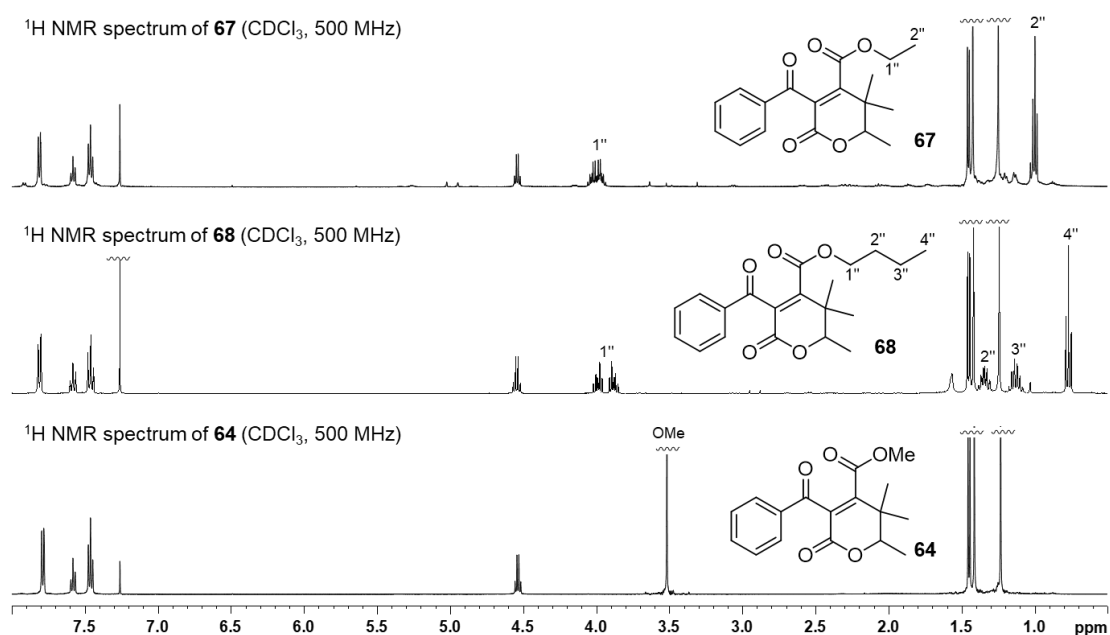


Figure 4.15. ^1H NMR spectra of frondhyperins B (64), E (67) and F (68) (500 MHz in CDCl_3).

67 と 68 の実測 ECD スペクトルと比旋光度はいずれも 64 のものと類似していたことから $\{[\alpha]^{23}_{\text{D}} -51.0$ (c 0.10, MeOH) for 67; $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -35.3$ (c 0.10, MeOH) for 68; $[\alpha]^{21}_{\text{D}} -35.1$ (c 0.40, MeOH) for 64}, 67 と 68 の絶対立体配置をいずれも *R* と推定した (Figure 4.16)。なお、frondhyperin A (63) も 64 と類似する ECD スペクトルを示した。

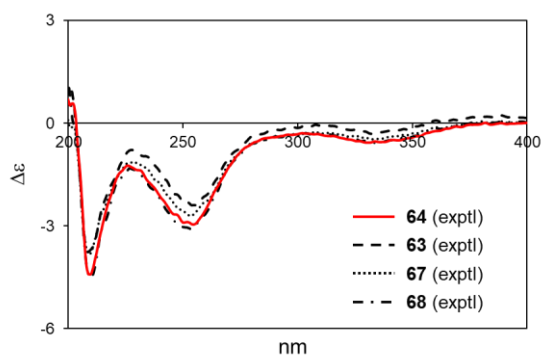


Figure 4.16. Experimental ECD spectra of frondhyperins A (**63**), B (**64**), E (**67**) and F (**68**).

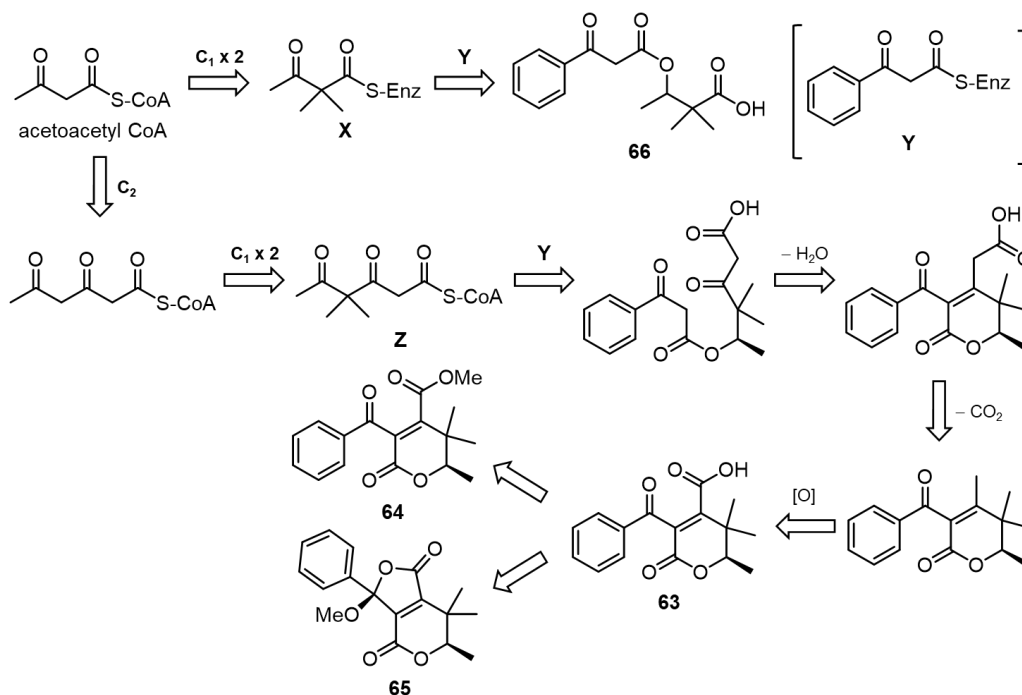
Table 5.3. ^1H and ^{13}C NMR data for frondhyperins E (**67**) and F (**68**) in CDCl_3 .

position	67		68	
	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^b$ (J in Hz)
1	135.7	–	135.7	–
2	128.7	7.81 (1H, d, 7.6)	129.0	7.81 (1H, d, 7.3)
3	129.0	7.47 (1H, t, 7.6)	128.7	7.46 (1H, t, 7.9)
4	123.9	7.58 (1H, t, 7.6)	133.9	7.58 (1H, t, 7.3)
5	129.0	7.47 (1H, t, 7.6)	128.7	7.46 (1H, t, 7.9)
6	128.7	7.81 (1H, d, 7.6)	129.0	7.81 (1H, d, 7.3)
7	191.3	–	191.3	–
8	131.9	–	131.8	–
9	162.2	–	162.2	–
1'	14.6	1.46 (3H, d, 6.4)	14.6	1.45 (3H, d, 6.6)
2'	81.8	4.54 (1H, q, 6.4)	81.8	4.55 (1H, q, 6.5)
3'	37.9	–	37.9	–
4'	154.5	–	154.6	–
5'	164.9	–	164.6	–
6'	19.0	1.43 (3H, s)	19.0	1.42 (3H, s)
7'	21.7	1.25 (3H, s)	21.8	1.24 (3H, s)
1''	62.0	4.00 (2H, m)	65.9	3.99 (1H, m) 3.88 (1H, m)
2''	13.3	1.00 (3H, t, 7.4)	29.9	1.35 (2H, m)
3''			18.9	1.13 (2H, m)
4''			13.5	0.77 (3H, t, 7.4)

^a Recorded at 125 MHz. ^b Recorded at 500 MHz.

第 5 節 Frondhyperin A–D (63–66) の生合成に関する考察

Frondhyperin D (66) はアセトアセチル CoA に 2 個のメチル基が結合した中間体 (X) と、ベンゾイル CoA に C₂-unit が 1 個縮合した phenylketide (Y) から生合成されると考えられる (Scheme 4.2)。また、frondhyperin A (63) はアシルスターター (アセチル CoA) と C₂-unit 2 個のみから構成される short ketide 中間体 (Z) とベンゾイル酢酸 (phenylketide) が縮合した後に、分子内環化、脱炭酸、酸化を経て生合成されると考えられる。Frondhyperin B (64) 及び C (65) は frondhyperin A (63) から得られたと推定している。



Scheme 4.2. Possible biogenetic pathway of frondhyperins A–D (63–66).

Hypericum 属植物の特徴的な含有成分である PPAP、ナフトジアンスロン、キサントンは、いずれも 3 個以上の C₂-unit がから構成される部分構造を有している (Figure 4.17)。一方、脱炭酸等の分子内反応を経ずに C₂-unit が 1 個あるいは 2 個のみから構成される部分構造、即ち short ketide 部分を持つ天然物は hyperolactone 類のみであり、今回単離した frondhyperin 類が二例目である。

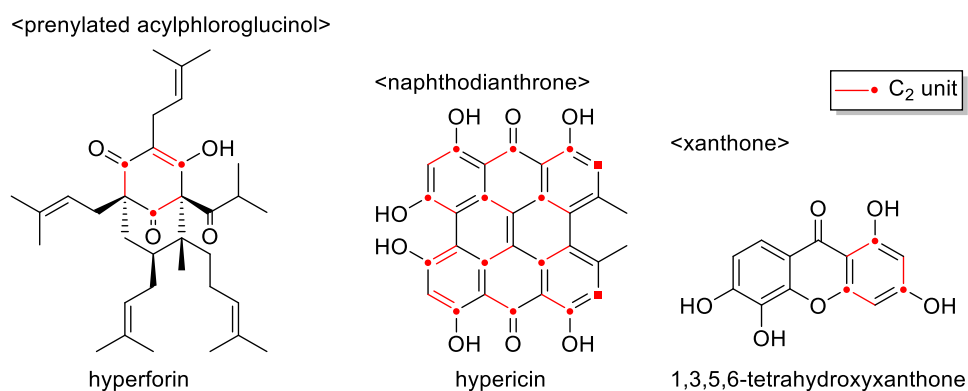


Figure 4.17. Representative compounds from *Hypericum* plants.

小括

カンムリオトギリ (*Hypericum frondosum* 'Sunburst') 地上部の成分探索を行い、6 種の新規ケチド化合物 frondhyperin A–F (**63–68**) を単離した。これらの構造を化学誘導、各種スペクトルデータの解析、および ECD スペクトルの計算値と実測値の比較により明らかにした。**66** は 10:6 のラセミ混合物と帰属した。Frondhyperin A–F (**63–68**) は共通して天然物として珍しい short ketide 部分を有するケチド化合物であり、生合成の観点からも興味を持たれる。本研究では、カンムリオトギリに当初予想していた PPAP の含有が確認できず、代わりに生合成的に全く異なる frondhyperin 類を単離することができた。この結果はコルヒチン処理により作成された倍数体種の天然物探索源としての可能性を示すものであると考えている。

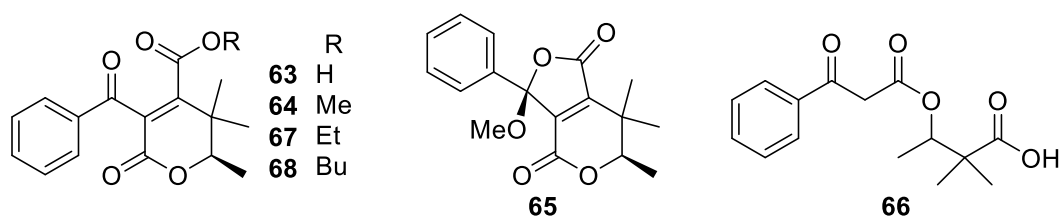


Figure 4.18. New short ketide–phenylketide conjugates (**63–68**) isolated from aerial parts of *Hypericum frondosum* 'Sunburst'.

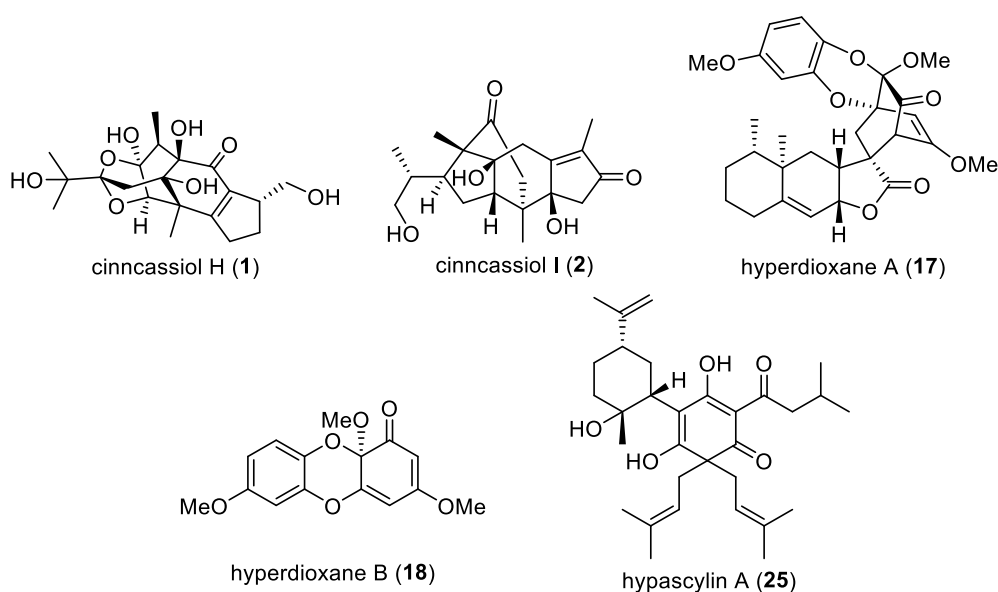
結語

著者は新規創薬シードの探索を目的に、漢薬として繁用される「桂皮」、並びに「紅旱蓮」及び「金糸桃」に加え、後二者と同属植物の四倍体種カンムリオトギリについて詳細な成分研究を行った。

その結果、桂皮からは7種の新規化合物 (1-7) と9種の既知化合物を、紅旱蓮の根からは13種の新規化合物 (17-30) と17種の既知化合物を、金糸桃の葉からは8種の新規化合物 (48-55) と7種の既知化合物を、カンムリオトギリからは6種の新規化合物 (63-68) と4種の既知化合物を単離し、これらの化学構造を各種スペクトルデータの解析、ECD スペクトルの計算値と実測値の比較、並びに化学誘導等により明らかにした。

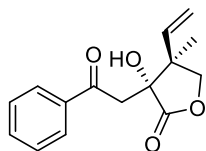
Cinncassiol H (1) はユニークな 2,9-dioxatricyclo[4.3.1.0^{3,8}]decane 骨格を有する転位型イソリアノダン型ジテルペンであり、cinncassiol I (2) は6位に酸素官能基を有さない初のイソリアノダン型ジテルペンである。1 及び 2 は低濃度 (0.0005 μ M) で免疫刺激条件下のマウス脾臓細胞において T 細胞増殖刺激作用を示した。この結果は、主成分の生物活性では説明できない桂皮の薬能に、これらの天然物が関与する可能性を示唆している。

Hyperdioxane A (17) はエレモフィラノライド型セスキテルペンと hyperdioxane B (18) の複合体構造を有するジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体であり、bicyclo[2.2.2]octenone 部分を含む特異な七環性の骨格を有している¹¹³。一方、hypascylin A (25) はメンタン型モノテルペン部分を有する PPAP である¹¹⁴。単離した化合物の生物活性を評価したところ、17 が抗 HIV 活性を、18 が培養腫瘍細胞に対する増殖抑制活性及び神経細胞に対する抗炎症活性を示し、ジベンゾ-1,4-ジオキサン誘導体は多様な生物活性を有することが示唆された。また、25 を含む新規 PPAP の一部は *S. aureus* 及び *B. subtilis* に対して抗菌活性を示した¹¹⁴。

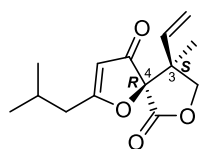


Merohyperin A (**48**)¹¹⁵ は、 γ -lactone 環を有する炭素数 15 の新規メロテルペンであり、hyperolactone E (**54**) は *i*-ブチル基を有する初めての hyperolactone 類縁体である。**54** の絶対立体配置は VCD 励起子キラリティー法¹⁰⁸ を適用することで明らかにした。

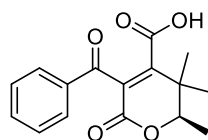
Fronthyperin A (**63**) 及び D (**66**) はいずれも珍しい short ketide 部分を有する天然物であり、生合成の観点からも興味を持たれる¹¹⁷。本研究により、倍体種の天然物探索源としての可能性を示すことができた。



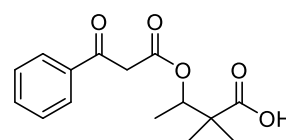
merohyperin A (**48**)



hyperolactone E (**54**)



fronthyperin A (**63**)



fronthyperin D (**66**)

謝辞

本研究を行うにあたり、多大なる御指導・御鞭撻を賜りました、徳島大学大学院医歯薬学研究部 生薬学分野 柏田 良樹 教授に心より感謝致します。

本論文作成に種々の有益な御教示、ご助力を賜りました徳島大学大学院医歯薬学研究部 生薬学分野 田中 直伸 准教授に心より感謝致します。

免疫細胞に対する活性を評価していただきました、徳島大学大学院医歯薬学研究部 薬物動態制御学分野 石田 竜弘 教授、清水 太郎 特任助教に感謝致します。

神経細胞に対する抗炎症活性及び培養腫瘍細胞に対する細胞毒性を評価していただきました、徳島大学大学院医歯薬学研究部 創薬生命工学分野 伊藤 孝司 教授、辻 大輔 助教に感謝致します。

抗菌活性を評価していただきました、国際医療福祉大学 八木 秀樹 教授、多田納 豊 准教授に厚く御礼致します。

抗 HIV 活性を測定するにあたり御協力頂きましたデューク大学医療センターChin-Ho Chen 教授、ノースカロライナ大学エシエルマン薬学部 Kuo-Hsiung Lee 教授に感謝いたします。

HRESIMS の一部を測定していただきました、北海道医療大学薬学部 高上馬 希重 准教授、金 尚永 講師に感謝致します。

VCD スペクトルを測定していただきました、北海道大学大学院先端生命科学研究院 門出 健二 教授、谷口 透 講師に感謝致します。

植物材料の収集にあたりご協力いただきました、徳島大学薬学部 今林 潔 技術専門職員、北海道大学大学院薬学研究院 草間 大志 修士、杜植物園 杜 和彦 氏に感謝致します。

経済的支援を賜りました公益財団法人 戸部眞紀財団 様に感謝致します。

御協力を賜り、励ましてくださいました、徳島大学薬学部生薬学研究室の皆様へ深く感謝致します。

最後に、応援してくれた私の家族、心の支えとなってくれた友人達に心から感謝致します。

Experimental

General Experimental Procedures. Optical rotations and IR spectra were recorded on a JASCO P-2200 digital polarimeter and a JASCO FT/IR-6200 spectrophotometer, respectively. UV spectra were obtained using a Hitachi UV U-3900H spectrophotometer. CD spectra were taken on a JASCO J-1500 spectrophotometer. VCD spectra were recorded on a Bio Tools Chiralir 2X. NMR spectra were measured by a Bruker Avance 500 or 400 spectrometers. The resonances of residual C_6D_6 (δ_H 7.15 and δ_C 128.0), $CDCl_3$ (δ_H 7.26 and δ_C 77.0), C_5D_5N (δ_H 8.71 and δ_C 135.5), CD_3OD (δ_H 3.31 and δ_C 49.0), and $DMSO-d_6$ (δ_H 2.49 and δ_C 39.7) were used as internal references for the 1H and ^{13}C NMR spectra, respectively. HRESIMS spectra were run on a Waters LCT PREMIER 2695 and a JEOL JMS-T100LP. HPLCs were performed on a JASCO apparatus consisting of a PU-2089 Plus pump, and a UV-2075 Plus spectrometer (at the wavelength of 254 or 210 nm).

Chapter 2

1. Plant material. The dried barks of *Cinnamomum cassia* were purchased from Mitsuboshi pharmaceutical Co., Ltd.

2. Extraction and Isolation.

The dried barks of *Cinnamomum cassia* (15 x 4 kg) were extracted with MeOH (15 L x 4 times) to afford the extract (5.0 kg), which was partitioned with *n*-hexane and 90 % MeOH-aq. The 90 % MeOH-aq.-soluble materials were mixed with celite, and then eluted successively with *n*-hexane, $CHCl_3$, acetone, and MeOH. Chromatography of the acetone-soluble fraction with an Al_2O_3 column afforded the MeOH (fr. 1) and H_2O (fr. 2) eluate fractions. Fr. 1 was separated by repeated silica gel column chromatographies eluting with $CHCl_3/MeOH$ (100:0 \rightarrow 70:30) to give six fractions (frs. 1.1–1.6). Purification of fr. 1.2 by ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (ϕ 20 x 250 mm, MeOH/ H_2O , 30:70) gave 18-hydroxycinnzeylanol (**5**, 5 mg), cinncassiol C₁ (**11**, 5 mg), cinnzeylanol (**8**, 20 mg), and cinnamcassiols A (**6**, 1 mg) and B (**7**, 3 mg). Cinnzeylanine (**9**, 20 mg) was isolated from fr. 1.1 by ODS column chromatography (MeOH/ H_2O , 0:100 \rightarrow 100:0). Fr. 1.3 was loaded to MPLC on an ODS column (MeOH/ H_2O , 0:100 \rightarrow 100:0) to give seven fractions (frs. 1.3.1–1.3.7), and then fr. 1.3.3 was separated by ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (ϕ 20 x 250 mm, MeOH/ H_2O , 30:70). Further purification of fr. 1.3.3.3 by ODS HPLC on YMC Hydrosphere C₁₈ (ϕ 10 x 250 mm, MeOH/ H_2O , 5:95) afforded cinncassiol H (**1**, 2 mg). Fr. 1.3.3.4 was further purified by ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (ϕ 20 x 250 mm, MeOH/ H_2O , 10:90) and YMC Hydrosphere C₁₈ (ϕ 10 x 250 mm, MeOH/ H_2O , 5:95) to give

cinnassiol D₆ (**4**, 4 mg). Purification of fr.1.3.6 by ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (φ10 x 250 mm, MeCN/H₂O, 17:83) gave cinnassiol D₅ (**3**, 0.5 mg). Cinnassiol I (**2**, 2 mg) was isolated from fr. 1.5.3.4 by ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-MS-II (φ10 x 250 mm, MeCN/H₂O, 13:87). Fr. 1.4 was subjected to ODS MPLC (MeOH/H₂O, 0:100→100:0) to give eight fractions (frs. 1.4.1-8), and then fr.1.4.4 and 1.4.7 were purified by ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (φ20 x 250 mm, MeOH/H₂O, 30:70 for fr. 1.4.4) and YMC Hydrosphere C₁₈ (φ10 x 250 mm, MeOH/H₂O, 5:95 for fr. 1.4.7) to furnish cinnassiol D₁ (**12**, 55 mg) and D₄ (**13**, 5 mg), respectively. Fr. 2 was subjected to a Diaion HP-20 column (MeOH/H₂O, 0:100→100:0) to give seven fractions (frs. 2.1–2.7). Fractionation of fr. 2.5 by Sephadex LH-20 column (MeOH/H₂O, 10:90→100:0) gave seven fractions (frs. 2.5.1–2.5.7). Fr. 2.5.2 was further purified by ODS HPLC on YMC Hydrosphere C₁₈ (φ10 x 250, MeOH/H₂O, 4:96) to furnish cinnassiol D₂ glucoside (**14**, 11 mg). Cinnzeylanol (**8**, 422 mg) and cinnassiol B (**10**, 15 mg) were obtained from fr. 2.5.7 by repeated separation by silica gel (CHCl₃/MeOH, 90:10 → 30:70) and ODS (MeOH/H₂O, 0:100 → 100:0) column chromatographies. Separation of fr. 2.6 by silica column chromatography (CHCl₃/MeOH, 90:10→30:70) gave seven fractions (frs. 2.6.1–2.6.7). Fr. 2.6.6 was applied to a Sephadex LH-20 column (MeOH/H₂O, 10:90→100:0) to afford seven fractions (frs. 2.6.6.1–2.6.6.7). Fr. 2.6.6.2 was separated by ODS column chromatography (MeOH/H₂O, 10:90→100:0) to give 11 fractions (frs. 2.6.6.2.1–2.6.6.2.11). Crystallization of fr. 2.6.6.2.1 from MeOH and separation of fr. 2.6.6.2.7 by an MCI gel CHP-20P column (MeOH/H₂O, 10:90 → 100:0) afforded cinnassiol A (**15**, 173 mg).

2.1. Cinnassiol H (**1**): colorless gum; $[\alpha]_D^{26} +39.9$ (c 0.10, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 3413 and 1684 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 258 (ε 8,700) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) -3.2 (313) and +12.1 (260); ¹H and ¹³C NMR (Table 2.1); HRESIMS *m/z* 419.1687 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₀H₂₈O₈Na, 419.1682).

2.2. Cinnassiol I (**2**): colorless gum; $[\alpha]_D^{25} -23.0$ (c 0.10, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 3412 and 1696 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 243 (ε 13,000) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) -0.8 (407), -4.5 (327), +3.2 (290), +0.4 (263), +6.2 (237), and -8.1 (208); ¹H and ¹³C NMR (Table 2.2); HRESIMS *m/z* 371.1831 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₀H₂₈O₅Na, 371.1834).

2.3. Cinnassiol D₅ (**3**): colorless gum; $[\alpha]_D^{26} -9.2$ (c 0.04, MeOH); ¹H and ¹³C NMR (Table 2.3); HRESIMS *m/z* 375.2145 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₀H₃₂O₅Na, 375.2147).

2.4. Cinnacassiol D₆ (**4**): colorless gum; $[\alpha]_D^{26} -23.9$ (c 0.10, MeOH); ¹H and ¹³C NMR (Table 2.3); HRESIMS m/z 375.2135 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₀H₃₂O₅Na, 375.2147).

2.5. 18-Hydroxycinnzeylanol (**5**): colorless gum; $[\alpha]_D^{24} +20.7$ (c 0.10, MeOH); ¹H and ¹³C NMR (Table 2.4); HRESIMS m/z 423.1988 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₀H₃₂O₈Na, 423.1995).

2.6. Cinnamcassiol A (**6**): colorless gum; $[\alpha]_D^{25} +3.6$ (c 0.10, MeOH); ¹H and ¹³C NMR (Table 2.5); HRESIMS: m/z 269.1752 [M-H]⁻ (calcd for C₁₅H₂₅O₄, 269.1753).

2.7. Cinnamcassiol B (**7**): colorless gum; $[\alpha]_D^{25} +2.6$ (c 0.10, MeOH); ¹H and ¹³C NMR (Table 2.5); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H 5.79 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, 6-OH), 5.66 (1H, brs, 10-OH), 4.79 and 4.70 (each 1H, s, H₂-12), 4.10 (1H, s, 7-OH), 3.95 (1H, s, 1-OH), 3.06 (1H, brd, $J = 6.1$ Hz), 2.54 (1H, overlapped with a signal of DMSO-*d*₆, H-4), 2.37 (1H, dd, $J = 5.3, 3.2$ Hz, H-5), 2.13 (1H, qd, $J = 13.2, 3.7$ Hz, H-3a), 1.88–1.78 (2H, H-9a and H-8a), 1.76 (1H, td, $J = 13.5, 4.1$ Hz, H-2a), 1.69 (3H, s, H₃-13), 1.56 (1H, td, $J = 14.8, 4.8$ Hz, H-9b), 1.27 (1H, m, H-2b), 1.20–1.11 (2H, H-8b and H-3b), 1.09 (3H, s, H₃-14), and 1.00 (3H, s, H₃-15), and 6.85 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-9); HRESIMS: m/z 269.1752 [M-H]⁻ (calcd for C₁₅H₂₅O₄, 269.1753).

Chapter 3

1. Plant material. *Hypericum ascyron* was collected at Tokushima prefecture, Japan in 2014. The voucher specimen (HYA201407) was deposited at the herbarium of Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tokushima University. The leaves of *Hypericum chinense* were collected at Mori Botanical Garden in Tokushima prefecture in July, 2013.

2. Extraction and Isolation of the roots of *H. ascyron*.

The dried roots of *H. ascyron* (1.4 kg) were extracted with MeOH (15 L x 3 times) to afford the extract (144 g), which was partitioned with *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH, and H₂O. The *n*-hexane-soluble materials (29 g) were subjected to silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 90:10→50:50) to give 11 fractions (frs. 1–11). Fr. 3 was separated by ODS column chromatography (MeOH/H₂O, 80:20→100:0) to give six fractions (frs. 3.1–5.6). Fr. 3.6 was chromatographed on a silica gel column (CHCl₃/MeOH, 98:2→0:100) to yield eight fractions (frs. 5.6.1–5.6.8). Fr. 5.6.2 was separated by silica gel HPLC on COSMOSIL 5SL-II (ϕ 20 x 250 mm, *n*-hexane/EtOH, 99:1), and then purified by ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (ϕ 10 x 250 mm, MeCN/H₂O/TFA, 98:2:0.1) to afford hypascyrins A (**25**, 21 mg), B (**26**,

6 mg), and C (**27**, 4 mg), and hyphenrone K (**43**, 2 mg). Hypascyrin E (**29**, 14 mg) and *ent*-hyphenrone J (**30**, 3 mg) were isolated from fr. 5.6.3 by using silica gel HPLC on COSMOSIL 5SL-II (ϕ 20 x 250 mm, *n*-hexane/EtOH, 99:1) and ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (ϕ 10 x 250 mm, MeCN/H₂O/TFA, 98:2:0.1). Fractionation of fr. 5 by an ODS column (MeOH/H₂O, 70:30→100:0) gave six fractions (frs. 5.1–6). Fr. 5.2 was purified by HPLC on GPC (Shodex, GS-310 2G, MeOH) to afford 1-methoxy-3,5-dihydroxyxanthone (**38**, 11 mg) and eremophil-9,11(13)-dien-8 β ,12-olide (**31**, 21 mg). Fr. 5.6 was separated by silica gel column chromatography (CHCl₃/MeOH, 99:1→90:10), and further purified by silica gel HPLC on COSMOSIL 5SL-II (ϕ 20 x 250 mm, *n*-hexane/EtOH, 99:1) to furnish garcimangoxanthone D (**33**, 6 mg). The MeOH-soluble materials of fr. 6 were loaded on an ODS column (MeOH/H₂O, 80:20 →100:0) to give eight fractions (frs. 6.1–8). Frs. 6.5 and 6.6 were separated by silica gel column chromatography (CHCl₃/MeOH, 98:2→90:10) to give hyperdioxane A (**17**, 18 mg) and 2-methoxyxanthone (**32**, 7 mg), respectively. Separation of fr. 9 by silica gel column chromatography (CHCl₃/MeOH, 98:2→90:10) afforded 6 fractions (frs. 9.1–6). Crystallization of fr. 9.2 from MeOH gave hyperdioxane B (**18**, 704 mg). Fr. 10 was separated by silica column chromatography (CHCl₃/MeOH, 99:1→90:10) to give four fractions (frs. 10.1–4). Frs. 14.2 was applied to an ODS column (MeOH/H₂O, 70:30→100:0) to afford five fractions (frs. 10.2.1–5). Fr. 10.2.1 was separated by HPLC on GPC (Shodex, GS-310 2G, MeOH) and further purified by ODS HPLC on YMC triart PFP (MeCN/H₂O, 35:65) to furnish hyperdioxane D (**20**, 1.0 mg).

The EtOAc-soluble materials (32 g) were separated by chromatography on a silica gel column (*n*-hexane/EtOAc, 80:20→0:100) to give seven fractions (frs. 1'–7'). Crystallization of fr. 3' from MeOH afforded betulinic acid (**47**, 2 g). The mother liquor was loaded on an ODS column (MeOH/H₂O, 60:40→100:0) to give three fractions (fr. 3'.1–3). Fr. 3'.2 was repeatedly separated by silica gel column chromatographies (CHCl₃/MeOH, 98:2 → 90:10; *n*-hexane/EtOAc, 80:20→50:50) to yield 1,6-dihydroxyxanthone (**35**, 12 mg) together with two fractions (fr. 3'.2.1–2). Purification of fr. 3'.2.2 by using HPLC on GPC (Shodex, GS-310 2G, MeOH) gave 2-hydroxyxanthone (**36**, 24 mg). Fr. 3'.3 was purified by HPLC on GPC (Shodex, GS-310 2G, MeOH) to give 1,3-dihydroxy-5-methoxyxanthone (**34**, 41 mg). Fractionation of fr. 4' by an MCI gel CHP-20P column (MeOH/H₂O, 60:40→100:0) gave eight fractions (frs. 4'.1–8). Fr. 4'.1.1 was separated by silica gel HPLC on COSMOSIL 5SL-II (ϕ 20 x 250 mm, *n*-hexane/EtOH, 99:1) and further purified by ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (ϕ 10 x 250 mm, MeCN/H₂O/TFA, 65:35:0.1) to furnish hypascrin D (**28**, 2 mg) together with hypercalin C (**44**, 13 mg) and tomoeones A (**45**, 18 mg) and H (**46**, 20 mg). Gentisein (**37**, 7 mg) was isolated from fr. 4'.6 by using HPLC on GPC (Shodex, GS-310 2G, MeOH). Fr. 4'.7 was applied to a silica gel column (CHCl₃/MeOH, 95:5→90:10) to afford (+)-sampsone B (**24**,

50 mg). Fr.5' was subjected to an MCI gel CHP-20P column (MeOH/H₂O, 60:40→100:0) to give eight fractions (frs. 5'.1–8). Fr.5'.5 was chromatographed on a silica gel column (CHCl₃/MeOH, 95:5→90:10) to yield six fractions (frs. 5'.5.1–6). Fr. 5'.5.5 was further separated by HPLC on GPC (Shodex, GS-310 2G, MeOH) to furnish six fractions (frs. 5'.5.5.1–6). Crystallization of fr. 5'.5.5.5 from MeOH gave hyperdioxane F (**22**, 41 mg), and followed purification of the mother liquor by silica gel HPLC on COSMOSIL 5SL-II (ϕ20 x 250 mm, *n*-hexane/EtOAc, 70:30) gave hyperdioxanes C (**19**, 1 mg) and G (**23**, 2 mg). Hyperdioxane E (**21**, 0.3 mg) was isolated from fr. 5'.5.5.6 by using ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-MS-II (ϕ10 x 250 mm, MeOH/H₂O, 40:60). Fractionation of fr. 6' by Toyopearl HW-40C column chromatography (MeOH/H₂O, 6:4 to 10:0) gave 10 fractions (frs. 6'.1–10). Fr. 6'.4 was purified by crystallization from MeOH to give kielcolin (**40**, 17 mg).

The *n*-BuOH-soluble materials (39 g) were separated by chromatography on an MCI gel CHP-20P column (MeOH/H₂O, 10:90 → 100:0) to give eight fractions (frs. 1''–8''). Fractionation of fr. 2'' by a Toyopearl HW-40C column (MeOH) gave five fractions (frs. 2''.1–5). Fr. 2''.2 was applied to an ODS column (MeOH/H₂O, 20:80→100:0) to afford eight fractions (frs. 2''.2.1–8). Fr. 2''.2.3 was purified by silica gel column chromatography (CHCl₃/MeOH, 92:8→80:20) to furnish tachioside (**42**, 5 mg). Fr. 2''.3 was chromatographed on a silica gel column (CHCl₃/MeOH/H₂O, 80:20:2→70:30:5) to yield (–)-epicatechin (**41**, 2.0 mg). Fr. 5'' was loaded on a Toyopearl HW-40C column (MeOH) and then purified by silica gel column chromatography (CHCl₃/MeOH, 92:8→8:2) to afford 1,7-dimethoxy-3,6-dihydroxyxanthone (**39**, 8 mg).

2.1. Hyperdioxane A (**17**): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{23}$ –60.9 (c 0.10, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 1771, 1748, and 1502 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 202 (ϵ 5,000) and 287 (3,500) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) –6.2 (346), –8.3 (333), –6.3 (322), +11.7 (255), +5.8 (233), and –22.8 (206); ¹H and ¹³C NMR (Table 3.1); HRESIMS *m/z* 545.2136 [M+Na]⁺ (calcd for C₃₀H₃₄O₈Na, 545.2151).

2.2. Hyperdioxane B (**18**): yellow crystals; mp 124–127 °C; $[\alpha]_D^{24}$ –39.1 (c 0.20, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 1698 and 1508 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 214 (ϵ 40,500), 259 (8,300), and 371 (4,100) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) –4.9 (379), +2.4 (297), +9.3 (258), +16.0 (235), –2.5 (218), +3.0 (209), and –10.6 (202); ¹H and ¹³C NMR (Table 3.1); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H 7.13 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-9), 6.79 (1H, d, *J* = 2.9 Hz, H-6), 6.67 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.9 Hz, H-8), 5.93 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-4), 5.47 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 3.83 (3H, s, 3-OMe), 3.72 (3H, s, 7-OMe), and 3.19 (3H, s, 10a-OMe); HRESIMS *m/z* 313.0689 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₅H₁₄O₆Na, 313.0688).

2.3. (+)-Sampson B (**24**): colorless gum; $[\alpha]^{26}_D +94.8$ (c 0.10, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 2360, 2342, 1684, 1608, and 1559 cm^{-1} ; UV (MeOH) λ_{\max} 220 (ϵ 8,800), 255 (15,100), and 284 (4,500, sh) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) -3.2 (309), $+9.3$ (256), $+5.9$ (228), and -0.3 (206); ^1H and ^{13}C NMR (Table 3.2); HRESIMS m/z 345.0952 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{Na}$, 345.0950).

2.4. Hyperdioxane C (**19**): colorless gum; $[\alpha]^{28}_D +32.0$ (c 0.08, MeOH); UV (MeOH) λ_{\max} 219 (ϵ 9,200 sh), 255 (12,200), and 284 (5,200, sh) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) -2.3 (308), $+6.1$ (258), $+4.1$ (229), and -1.3 (205); ^1H and ^{13}C NMR (Table 3.2); ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{H} 9.22 (1H, s, 7-OH), 6.85 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-9), 6.38 (1H, dd, $J = 8.0, 2.5$ Hz, H-8), 6.38 (1H, brs, H-6), 5.46 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 3.76 (3H, s, 3-OMe), 3.22 (1H, d, $J = 17.5$ Hz, H-4a), 3.14 (3H, s, 4a-OMe), 3.09 (3H, s, 10a-OMe), and 3.00 (1H, dd, $J = 17.5, 2.0$ Hz, H-4b); HRESIMS m/z 331.0820 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{Na}$, 331.0794).

2.5. Hyperdioxane D (**20**): colorless gum; $[\alpha]^{22}_D +78.5$ (c 0.10, CHCl_3); UV (MeCN) λ_{\max} 224 (ϵ 6,500), 255 (12,100), and 286 (3,200, sh) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) -2.4 (315), $+8.8$ (256), $+7.0$ (231), $+3.6$ (207), and -5.0 (202); ^1H and ^{13}C NMR (Table 3.2); HRESIMS m/z 315.0844 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{Na}$, 315.08446).

2.6. Hyperdioxane E (**21**): colorless gum; $[\alpha]^{25}_D +42.9$ (c 0.03, MeOH); UV (MeCN) λ_{\max} 224 (ϵ 3,500), 252 (3,200), and 294 (2,400) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) $+0.6$ (306), $+1.8$ (249), and -2.4 (220); ^1H and ^{13}C NMR (Table 3.3); ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{H} 7.13 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-9), 6.85 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-6), 6.71 (1H, dd, $J = 9.0, 2.5$ Hz, H-8), 5.71 (1H, s, H-4), 4.61 (1H, t, $J = 3.0$ Hz, H-1), 3.74 (3H, s, 7-OMe), 3.29 (3H, s, 10a-OMe), 2.77 (1H, dd, $J = 16.5, 3.0$ Hz, H-2a), and 2.44 (1H, dd, $J = 16.5, 3.0$ Hz, H-2b); HRESIMS m/z 301.0688 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{Na}$, 301.0688).

2.7. Hyperdioxane F (**22**): colorless gum; $[\alpha]^{24}_D \pm 0$ (c 0.10, CHCl_3); UV (MeCN) λ_{\max} 224 (ϵ 13,000), 252 (22,900), and 286 (5,800, sh) nm; IR (KBr) ν_{\max} 3374, 2943, 1680, 1605, 1597, and 1506 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 3.3); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{H} 7.53 (1H, s, 4a-OH), 6.96 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-9), 6.51 (1H, dd, $J = 9.1, 3.0$ Hz, H-8), 6.50 (1H, brs, H-6), 5.44 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2), 3.75 (3H, s, 3-OMe), 3.68 (3H, s, 7-OMe), 3.12 (1H, dd, $J = 17.2, 1.6$, H-4a), 3.07 (1H, s, 10a-OMe), and 2.89 (1H, d, $J = 17.2$ Hz, H-4b); HRESIMS m/z 307.0826 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_7$, 307.0818).

2.8. Hyperdioxane G (**23**): colorless gum; $[\alpha]^{24}_{\text{D}} \pm 0$ (c 0.05, MeCN); UV (MeCN) λ_{max} 227 (ϵ 4,800), 253 (7,300), and 287 (2,200) nm; ^1H and ^{13}C NMR (Table 3.3); HRESIMS m/z 307.0822 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_7$, 307.0818).

2.9. Hypascyrin A (**25**): colorless gum; $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +117$ (c 0.10, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 223 (ϵ 16,700), 325 (10,700 sh), and 355 (14,500) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) 432 (+0.8), 362 (+1.5), 326 (-1.0), 284 (+3.4), 242 (+2.9), and 221 (-1.1) nm; IR (KBr) ν_{max} 3396, 2962, 2927, 1636, 1593, 1524, and 1430 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (CDCl_3 , Tables 3.4 and 3.5; CD_3OD , Table 3.8); HRESIMS m/z 497.3253 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_5$, 497.3267).

2.10. Hypascyrin B (**26**): colorless gum; $[\alpha]^{23}_{\text{D}} +121$ (c 0.10, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 223 (ϵ 20,900), 324 (13,200 sh), and 355 (18,000) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) 398 (-0.8), 367 (+1.2), 325 (-2.4), 285 (+2.6), 262 (-0.2), 240 (+2.0), and 223 (-4.8); IR (KBr) ν_{max} 3393, 2965, 2927, 1634, 1586, 1520, and 1444 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 3.4); HRESIMS m/z 483.3114 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{O}_5$, 483.3110).

2.11. Hypascyrin C (**27**): colorless gum; $[\alpha]^{25}_{\text{D}} +117$ (c 0.10, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 223 (ϵ 16,000), 322 (9,600 sh), and 355 (13,400) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) 432 (+1.0), 369 (+1.8), 326 (-0.8), 288 (+3.7), 241 (+3.3), and 223 (-0.5) nm; IR (KBr) ν_{max} 3394, 2964, 2927, 1636, 1591, 1518, and 1443 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 3.4); HRESIMS m/z 497.3250 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_5$, 497.3267).

2.12. Hypascyrin D (**28**): colorless gum; $[\alpha]^{26}_{\text{D}} +22$ (c 0.10, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 225 (ϵ 18,800), 322 (11,600 sh), and 357 (16,000) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) 362 (+1.9) and 215 (-4.4) nm; IR (KBr) ν_{max} 3419, 2963, 2929, 1686, 1635, 1592, 1521, and 1448; ^1H and ^{13}C NMR (CDCl_3 , Table 3.6; CD_3OD , Table 3.7); HRESIMS m/z 515.3353 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{O}_6$, 515.3373).

2.13. Hypascyrin E (**29**): colorless gum; UV (MeOH) λ_{max} 224 (ϵ 20,100), 321 (11,700 sh), and 357 (18,300) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) 363 (+2.4) and 215 (-13.7) nm; IR (KBr) ν_{max} 3376, 2963, 2928, 1633, 1586, 1520, and 1449 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 3.6); HRESIMS m/z 497.3255 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_5$, 497.3267).

2.14. *ent*-Hyphenrone J (**30**): colorless gum; $[\alpha]^{21}_{\text{D}} +86$ (c 0.10, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 224 (ϵ 16,800), 322 (9,600 sh), and 358 (14,000) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) 362 (+1.8) and 214 (-11.6) nm; IR (KBr) ν_{max} 3461, 2960, 2926, 1686, and 1437 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR

(Table 3.6); HRESIMS m/z 483.3110 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{30}H_{43}O_5$, 483.3110).

2.15. Eremophil-9,11(13)-dien-8 β ,12-olide (**31**): colorless oil; $[\alpha]^{27}_D +53.9$ (c 0.12, $CHCl_3$); UV (MeOH) λ_{max} 202 (ϵ 11,200), 218 (5,400), and 303 (300); ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) -0.5 (255), +5.6 (218), and -3.3 (202); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H 6.26 and 5.61 (each 1H, d, $J = 2.6$ Hz, H₂-13), 5.46 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-9), 4.86 (1H, dd, $J = 7.0, 3.8$ Hz, H-8), 3.18 (1H, m, H-7), 2.24 (1H, td, $J = 13.3, 4.8$ Hz, H-1a), 2.03 (1H, brd, $J = 13.3$ Hz, H-1b), 1.82 (1H, m, H-2), 1.79 (2H, m, H₂-6), 1.48 and 1.42 (each 1H, m, H₂-3), 1.41 (1H, m, H-4), 1.29 (1H, m, H-2), 0.96 (3H, s, H₃-15), and 0.87 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H₃-14); ^{13}C NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_C 170.5 (C-12), 153.7 (C-10), 140.1 (C-11), 121.5 (C-13), 114.9 (C-9), 74.6 (C-8), 42.0 (C-4), 37.9 (C-5), 36.8 (C-6), 35.8 (C-7), 32.5 (C-1), 30.5 (C-3), 28.3 (C-2), 20.0 (C-15), and 15.4 (C-14).

2.16. Hyphenrone K (**43**): colorless gum; $[\alpha]^{22}_D +95$ (c 0.10, MeOH); ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) 362 (+1.8) and 214 (-11.6) nm; 1D NMR data were identical to those described in the literature⁶⁸.

3. Catalytic hydrogenation of hyperdioxane B (18). A mixture of hyperdioxane B (**18**, 52 mg) and 10% Pd/C (150 mg) in EtOAc (5.0 mL) was stirred under H₂ atmosphere at room temperature for 12 h. Filtration and concentration of the reaction mixture gave a residue, which was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 7:3) to afford hexahydrohyperdioxane B (**18a**, 40 mg).

3.1. Hexahydrohyperdioxane B (**18a**): colorless amorphous solid; 1H NMR (500 MHz, C_5D_5N) δ_H 7.53 (1H, brd, $J = 4.4$ Hz, 1-OH), 7.08 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-9), 6.77 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-6), 6.62 (1H, dd, $J = 8.8, 2.9$ Hz, H-8), 4.12 (1H, dt, $J = 12.4, 4.4$ Hz, H-1), 3.86 (1H, dd, $J = 12.4, 4.4$ Hz, H-4a), 3.81 (3H, s, 10a-OMe), 3.62 (3H, s, 7-OMe), 3.46 (1H, tt, $J = 12.4, 4.4$ Hz, H-3), 3.31 (3H, s, 3-OMe), 2.55 (1H, m, H-2eq), 2.54 (1H, m, H-4eq), 2.20 (1H, q, $J = 12.4$ Hz, H-4ax), and 2.19 (1H, q, $J = 12.4$ Hz, H-2ax); ^{13}C NMR (125 MHz, C_5D_5N) δ_C 155.3 (C-7), 144.9 (C-5), 135.8 (C-10), 118.0 (C-9), 107.8 (C-8), 103.1 (C-6), 95.5 (C-10a), 73.6 (C-4a), 73.5 (C-3), 71.2 (C-1), 56.0 (3-OMe), 55.6 (7-OMe), 49.6 (10a-OMe), 37.7 (C-2), and 34.1 (C-4); HRESIMS m/z 319.1167 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{15}H_{20}O_6Na$, 319.1157).

4. Preparation of (S)- and (R)-MTPA esters (18b and 18c) of hexahydrohyperdioxane B (18a). A mixture of **18a** (1.0 mg), (*R*)-MTPACl (5.1 μ L), 4-(dimethylamino)pyridine (9.6 mg), and triethylamine (3.6 μ L) in CH_2Cl_2 (500 μ L) was stirred at room temperature for 10 hr.

After evaporation of solvent, the residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 7:3) to afford (*S*)-MTPA ester (**18b**, 0.7 mg) of **18a**. Similarly, the (*R*)-MTPA ester (**18c**, 0.6 mg) of **18a** was prepared.

4.1. (*S*)-MTPA ester (**18b**) of hexahydrohyperdioxane B: colorless gum; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_H 7.65 (2H, m, Ph), 7.49 (3H, m, Ph), 6.714 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-9), 6.471 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.9 Hz, H-8), 6.407 (1H, d, *J* = 2.9 Hz, H-6), 5.278 (1H, dd, *J* = 12.3, 4.5 Hz, H-1), 3.809 (1H, dd, *J* = 12.3, 4.5 Hz, H-4a), 3.705 (3H, s, 7-OMe), 3.66 (3H, s, OMe), 3.603 (1H, tt, *J* = 12.3, 4.5 Hz, H-3), 3.402 (3H, s, 3-OMe), 2.879 (3H, s, 10a-OMe), 2.381 (1H, dtd, *J* = 12.3, 4.5, 1.7 Hz, H-4eq), 2.334 (1H, dtd, *J* = 11.3, 4.5, 1.7 Hz, H-2eq), 1.808 (1H, dt, *J* = 12.3, 11.3 Hz, H-2ax), and 1.723 (1H, q, *J* = 12.3 Hz, H-4ax); HRESIMS *m/z* 535.1555 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₅H₂₇O₈F₃Na, 535.1556).

4.2. (*R*)-MTPA ester (**18c**) of hexahydrohyperdioxane B: colorless gum; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_H 7.64 (2H, m, Ph), 7.50 (3H, m, Ph), 6.845 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-9), 6.510 (1H, dd, 8.8, 2.9 Hz, H-8), 6.453 (1H, d, *J* = 2.9 Hz, H-6), 5.228 (1H, dd, *J* = 12.3, 4.5, H-1), 3.864 (1H, dd, *J* = 12.3, 4.5 Hz, H-4a), 3.721 (3H, s, 7-OMe), 3.66 (3H, s, OMe), 3.610 (1H, tt, *J* = 12.3, 4.5 Hz, H-3), 3.397 (3H, s, 3-OMe), 3.186 (3H, s, 10-OMe), 2.404 (1H, dtd, *J* = 12.3, 4.5, 1.6 Hz, H-4eq), 2.276 (1H, dtd, *J* = 12.3, 4.5, 1.6 Hz, H-2eq), 1.736 (1H, q, *J* = 12.3 Hz, H-4ax), and 1.625 (1H, q, *J* = 12.3 Hz, H-2ax); HRESIMS *m/z* 535.1559 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₅H₂₇O₈F₃Na, 535.1556).

5. Optical resolutions of hyperdioxane F (22). Optical resolution of hyperdioxane F (**22**) was performed on chiral HPLC (CHIRAL-ART Amylose-SA, YMC Co., Ltd., φ4.6 x 250 mm, flow rate 1.0 mL/min, UV detection 254 nm) at rt with eluent of *n*-hexane/EtOAc (50:50) to give (+)- and (-)-enantiomers in the integral ratio of ca. 1:1. (+)-**22**: t_R 13.2 min; [α]_D²⁸ +112.8 (c 0.10, CHCl₃); CD (MeCN) Δε (nm) +1.6 (228), +2.2 (254), and -0.9 (316). (-)-**22**: t_R 20.3 min; [α]_D²⁸ -107.4 (c 0.10, CHCl₃); CD (MeCN) Δε (nm) -2.4 (229), -3.4 (254), +1.1 (317).

6. Calculations.

6.1. Calculation of the distances between H-9 and H-14' in the most stable conformer of (2*S*,4*aS*,10*aR*,4'*S*,5'*R*,7'*R*,8'*R*,11'*S*)-hyperdioxane A (17). Conformational searches and DFT calculations were carried out on Spartan 14¹¹⁷ program and Gaussian 09¹¹⁸ program, respectively. Possible stereoisomers (2*S*,4*aS*,10*aR*,4'*S*,5'*R*,7'*R*,8'*R*,11'*S*)-hyperdioxane A (**17**) were submitted to conformational searches with the Molecular Mechanics (MMFF94s). The initial stable conformers for (2*S*,4*aS*,10*aR*,4'*S*,5'*R*,7'*R*,8'*R*,11'*S*)-**17** with Boltzmann

distributions over 1% (two conformers) were further optimized by DFT calculations at the B3LYP/6-31G(d,p) level in the presence of benzene with a polarizable continuum model (PCM) to give the most stable conformers. The distance between H-9 and H-14' in the most stable conformer of (2*S*,4*aS*,10*aR*,4'*S*,5'*R*,7'*R*,8'*R*,11'*S*)-**17** was calculated to be 3.57 Å.

6.2. Calculation of the ECD Spectrum of eremophil-9,11(13)-dien-8 β ,12-olide (**31**).

Conformational search of (4*S*,5*R*,7*R*,8*R*)-eremophil-9,11(13)-dien-8 β ,12-olide (**31**) with the Molecular Mechanics (MMFF94S) gave two initial conformers with Boltzmann distributions over 1%. The conformers were optimized by DFT calculation using the B3LYP/6-31G(d) level in the presence of MeOH with a PCM, and subjected to TDDFT calculations at the same level. The resultant rotatory strengths of the lowest 30 excited states for each conformer were converted into Gaussian-type curves with half-bands (0.3 eV) using SpecDis v1.61¹¹⁹. The calculated CD spectra were composed after correction based on the Boltzmann distribution, and red-shifted by 5 nm.

6.3. Calculation of the ECD Spectrum of (+)-sampsone B (**24**), hyperdioxanes E (**21**) and F (**22**).

The conformational searches of (4*aS*,10*aS*)-**24** of sampsone B (**24**), (1*S*,10*aR*)-**21** of hyperdioxane E (**21**), and (4*aS*,10*aS*)- and (4*aR*,10*aS*)-**21** of hyperdioxane F (**21**) were separately carried out by the Molecular Mechanics (MMFF94s) on Spartan 18¹²⁰ program to give their initial stable conformers. The initial stable conformers with over 1% of Boltzmann distributions (eight, four, eight, nine conformers, respectively) were further optimized by DFT calculations at the B3LYP/6-31G(d) level in the presence of MeOH for (4*aS*,10*aS*)-**24**, at the B3LYP/6-31G+(d) level in the presence of MeOH for (1*S*,10*aR*)-**24**, at the B3LYP/6-31G(d) level in the presence of MeCN for (4*aS*,10*aS*)- and (4*aR*,10*aS*)-**22** with PCM on Gaussian 09 program, respectively. The stable conformers for (4*aS*,10*aS*)-**24**, (1*S*,10*aR*)-**21**, and (4*aS*,10*aS*)-**22** and (4*aR*,10*aS*)-**22** with Boltzmann distributions over 1% were subjected to TDDFT calculations at the CAM-B3LYP/6-31G+(d) level. The resultant rotatory strengths of the lowest 30 excited states for each conformer were converted into Gaussian-type curves with half-bands (0.3 eV) using SpecDis v1.61¹¹⁹. The calculated ECD spectra were composed after correction based on the Boltzmann distribution of the stable conformers. The mirror image for the calculated ECD spectrum of (4*aS*,10*aS*)-**22** and (4*aR*,10*aS*)-**22** were provided as the calculated spectrum of (4*aR*,10*aR*)-**22** and (4*aS*,10*aR*)-**22**. Calculated ECD spectra of (4*aS*,10*aS*)-**24** and (1*S*,10*aR*)-**21** were red-shifted by 15 and 10 nm, respectively. Calculated ECD spectra of (4*aS*,10*aS*)-**22**, (4*aR*,10*aS*)-**22**, (4*aR*,10*aR*)-**22** and (4*aS*,10*aR*)-**22** were also red-shifted by 10 nm, respectively.

6.4. Calculation of the ECD Spectrum of Hypascyrin A (25). Initial conformational searches and DFT calculations were run on the Spartan 14¹¹⁷ and Gaussian 09¹¹⁸ programs, respectively. The major tautomer of (7*S*,9*S*)-hypascyrin A, (7*S*,9*S*)-**25a**, was subjected to initial conformational search using Molecular Mechanics with MMFF94S. The initial stable conformers of (7*S*,9*S*)-**25a** with over 1% of Boltzmann distributions (seven conformers) were further optimized by DFT calculations at the B3LYP/6-31G(d) level. TDDFT calculations of the stable conformers with over 1% of Boltzmann distributions at the B3LYP/6-31G+(d) level with PCM (MeOH) were performed to give rotatory strengths. Conversion of the resultant rotatory strengths of the lowest 30 excited states for each conformer into Gaussian-type curves with half-bands (0.3 eV) were carried out on SpecDis v1.61¹¹⁹. The calculated ECD spectra were composed after correction based on the Boltzmann distribution of the stable conformers. The mirror image for the calculated ECD spectrum of (7*S*,9*S*)-**25a** was provided as the calculated spectrum of (7*R*,9*R*)-**25a**.

7. Catalytic hydrogenation of hypascyrins A (25) and E (29). A mixture of **29** (2.0 mg) and 10% Pd/C (0.8 mg) in EtOH (2.0 mL) was stirred under H₂ atmosphere at rt for 20 h. The reaction mixture was filtrated and concentrated to give hexahydrohypascyrin E (**29c**, 1.2 mg). Similarly, catalytic hydrogenation of hypascyrin A (**25**, 2.5 mg) was carried out to give a residue, which was purified by ODS HPLC on COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (ϕ10 x 250 mm, MeCN/H₂O/TFA, 95:5:0.1) to afford hexahydrohypascyrin A (**25c**, 1.5 mg).

7.1. Hexahydrohypascyrin E (29c): colorless gum; $[\alpha]^{22}_{\text{D}} +39$ (c 0.10, CHCl₃); ¹H NMR spectrum (500 MHz, CDCl₃) of **29c** was identical to that of hexahydrohypascyrin A (**25c**); HRESIMS *m/z* 503.3740 [M-H]⁻ (calcd for C₃₁H₅₁O₅, 503.3737).

7.2. Hexahydrohypascyrin A (25c): colorless gum; $[\alpha]^{22}_{\text{D}} +29$ (c 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) data of major tautomer: δ_H 19.49 (1H, s), 11.75 (1H, s), 3.29 (1H, dd, 13.5, *J* = 4.0 Hz), 2.96 (2H, d, 7.0 Hz), 2.16 (1H, m), 1.98–1.63 (11H, m), 1.49–1.36 (8H, m), 1.27 (3H, s), 0.99 (3H, d, *J* = 6.5 Hz), 0.98 (3H, d, *J* = 6.5 Hz), 0.90 (3H, d, *J* = 6.5 Hz), 0.87 (3H, d, *J* = 6.5 Hz), 0.80–0.78 (12H, m); HRESIMS *m/z* 503.3726 [M-H]⁻ (calcd for C₃₁H₅₁O₅, 503.3737).

8. Extraction and Isolation of the leaves of *H. chinense*.

The dried leaves of *H. chinense* (1.1 kg) was extracted with MeOH (15 L x 3). The MeOH extracts were concentrated under reduced pressure to give a residue (396 g), which was partitioned with *n*-hexane and H₂O. The *n*-hexane-soluble material (76.8 g) was subjected to

silica gel column chromatography (*n*-hexane/acetone, 99:1→0:100) to give 13 fractions (frs. 1–13). Further separation of fr. 7 by silica gel column chromatography (*n*-hexane/acetone, 90:10→0:100) afforded 7 fractions (frs. 7.1–7). Fractionation of fr. 7.5 by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 90:10→0:100) gave 8 fractions (frs. 7.5.1–8). Fr. 7.5.6 was loaded on silica gel HPLC on Mightysil Si60 (φ20 x 250 mm; *n*-hexane/EtOAc, 90:10) to give 8 fractions (frs. 7.5.6.1–8). Hyperolactone E (**54**, 3 mg) was isolated by purification of fr. 7.5.6.3 using a silica gel column (*n*-hexane/diethyl ether, 95:5→90:10→MeOH). Purification of fr. 7.5.6.5 by ODS HPLC on COSMOSIL πNAP (φ10 x 250 mm; MeOH/H₂O, 70:30) gave 4-*epi*-hyperolactone E (**55**, 0.3 mg). Crystallization of fr. 7.5.6.4 (*n*-hexane/EtOAc, 90:10) gave (–)-hyperolactone A (**58**, 645 mg), and the mother liquor was applied to silica gel HPLC on Mightysil Si60 (φ20 x 250 mm; *n*-hexane/*i*-PrOH, 90:10) to yield 4-*epi*-hyperolactones A (**51**, 30 mg) and B (**52**, 104 mg), and (+)-hyperolactone B (**59**, 10 mg). Separation of fr. 8 by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 95:5→0:100) afforded 6 fractions (frs. 8.1–6). Fr. 8.2 was further separated by ODS HPLC on YMC-Actus Triart C₁₈ (φ20 x 250 mm, MeOH/H₂O, 80:20) to yield 7 fractions (frs. 8.2.1–7). Purification of fr. 8.2.2 by ODS HPLC on COSMOSIL πNAP (φ10 x 254 mm; MeOH/H₂O, 80:20) afforded merohyperin B (**49**, 2 mg). Separation of fr. 9 by MCI CHP-20P column chromatography (MeOH/H₂O, 50:50→100:0) gave 10 fractions (frs. 9.1–10). Fr. 9.4 and 9.7 were separately purified by ODS HPLC on YMC-Actus Triart C₁₈, (φ20 x 250 mm, 5.0 mL/min; 254 nm; MeOH/H₂O, 70:30) to afford merohyperins A (**48**, 13 mg) and C (**50**, 36 mg), together with hyperolactone D (**61**, 45 mg) and 5,6-dihydrohyperolactone D (**62**, 7 mg). Fractionation of fr. 9.9 by HPLC on GPC (Shodex, GS-310 2G, MeOH) gave 9 fractions (frs. 9.9.1–9). 4-*epi*-Hyperolactone C (**53**, 6 mg) and (–)-hyperolactone C (**60**, 30.8 mg) were isolated by purification of fr. 9.9.5 using silica gel HPLC on Mightysil Si60 (φ20 x 250 mm, *n*-hexane/*i*-PrOH, 90:10). Separation of fr. 3 by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 99:1→0:100) afforded 5 fractions (frs. 3.1–5). Fr. 3.2 was loaded on ODS column (MeOH/H₂O, 50:50→100:0) to give 8 fractions (frs. 3.2.1–8). Purification of fr. 3.2.2 by ODS HPLC on YMC-Actus Triart C₁₈ (φ20 x 250 mm, MeOH/H₂O, 95:5) gave biyouyanagins A (**56**, 8 mg) and B (**57**, 2 mg), respectively.

8.1. Merohyperin A (**48**): colorless gum; $[\alpha]^{27}_{\text{D}} -43.5$ (*c* 0.25, MeOH); IR (KBr) ν_{max} 3558, 2969, 2931, 1780, and 1668 cm^{-1} ; ¹H and ¹³C NMR (Table 4.1); HRESIMS: *m/z* 283.0938 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₅H₁₆O₄Na, 283.0946).

8.2. Merohyperin B (**49**): colorless amorphous solid; $[\alpha]^{26}_{\text{D}} +20.3$ (*c* 0.09, MeOH); IR (KBr) ν_{max} 2962, 2928, 1660, 1590, and 1572 cm^{-1} ; ¹H and ¹³C NMR (Table 4.1); HRESIMS: *m/z* 251.1050 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₅H₁₆O₂Na, 251.1048).

8.3. Merohyperin C (**50**): colorless gum; $[\alpha]^{27}_D +32.2$ (c 0.25, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 3529, 2967, 2933, 1743, and 1587 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 4.2); HRESIMS: m/z 247.1300 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{Na}$, 247.1310).

8.4. 4-*epi*-Hyperolactone A (**51**): colorless oil; $[\alpha]^{23}_D +219.1$ (c 0.25, EtOH); IR (KBr) ν_{\max} 2965, 2925, 2850, 1796, 1703, and 1597 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 4.3); HRESIMS: m/z 273.1092 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{Na}$, 273.1103).

8.5. 4-*epi*-Hyperolactone B (**52**): colorless amorphous solid; $[\alpha]^{23}_D -228.5$ (c 0.25 EtOH); IR (KBr) ν_{\max} 2978, 2880, 1793, 1702, and 1597 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 4.3); HRESIMS: m/z 259.0911 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{Na}$, 259.0946).

8.6. 4-*epi*-Hyperolactone C (**53**): colorless needles; $[\alpha]^{23}_D +267.7$ (c 0.25, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 2962, 2992, 2851, 1794, 1697, 1606, and 1571 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 4.3); HRESIMS: m/z 293.0832 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{Na}$, 293.0790).

8.7. Hyperolactone E (**54**): colorless amorphous solid; $[\alpha]^{21}_D -248.6$ (c 0.20, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 2995, 2928, 2872, 1791, 1690, and 1603 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 4.4); HRESIMS: m/z 273.1132 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{Na}$, 273.1103).

8.8. 4-*epi*-Hyperolactone E (**55**): colorless amorphous solid; $[\alpha]^{23}_D +130.5$ (c 0.02, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 2962, 2922, 2850, 1794, 1704, and 1603 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR (Table 4.4); HRESIMS: m/z 273.1107 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{Na}$, 273.1103).

9. Methanolysis of (–)-hyperolactone A (58). (–)-Hyperolactone A (**58**, 2.0 mg) was treated with K_2CO_3 (2.0 mg) in 50% MeOH aq. (400 μL) at rt with stirring for 4 h. The reaction mixture was extracted with CHCl_3 (300 μL x 3). The CHCl_3 layer was concentrated under reduced pressure to give hydrolysate (**58c**, 1.1 mg) of hyperolactone A.

9.1. Hydrolysate (**58c**) of hyperolactone A (**58**): colorless gum; $[\alpha]^{21}_D +47.6$ (c 0.03, MeOH); ^1H NMR spectrum (500 MHz, CDCl_3) of **58c** was identical to that of merohyperin C (**50**); HRESIMS: m/z 247.1299 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{Na}$, 247.1310).

10. Calculations.

10.1. Calculation of the ECD spectra of 4-*epi*-hyperolactones A–C (51–53). The conformational searches of enantiomers {(3*S*,4*R*,11*R*-**51**) and (3*R*,4*S*,11*S*-**51**) of 4-*epi*-hyperolactone A (**51**)}; {(3*S*,4*S*-**52**) and (3*R*,4*R*-**52**) of 4-*epi*-hyperolactone B (**52**)}; {(3*S*,4*R*-**53**) and (3*R*,4*S*-**53**) of 4-*epi*-hyperolactone C (**53**)} were carried out by the Molecular Mechanics (MMFF94s) on Spartan 14 program¹¹⁷ to give initial stable conformers, which were further optimized by DFT calculations at the B3LYP/6-31G(d) level in the presence of MeOH with PCM on Gaussian 09 program¹¹⁴. The stable conformers for enantiomers of **51**–**53** with Boltzmann distributions over 1% were subjected to TDDFT calculations at the B3LYP/6-31G (d) level for enantiomers of **51**–**53**. The resultant rotatory strengths of the lowest 30 excited states for each conformer were converted into Gaussian-type curves with half-bands (0.3 eV) using SpecDis v1.61¹¹⁹. The calculated ECD spectra were composed after correction based on the Boltzmann distribution of the stable conformers.

10.2. Calculation of ¹³C NMR chemical shifts of (*E*)-merohyperin B (50) and (*Z*)-merohyperin B (49). Conformational searches of (*E*)-**49** and (*Z*)-**49** by the Molecular Mechanics (MMFF94s) on Spartan 14 program¹¹⁷ (Wavefunctional Inc., Irvine, CA) gave initial stable conformers, which were further optimized by DFT calculation at the MPW1PW91/6-31G(d) level in the presence of CHCl₃ with a polarizable continuum model (PCM) on Gaussian 09 program. The stable conformers with Boltzmann distributions over 1% were subjected to DFT calculations (MPW1PW91/6-31G(d), in CHCl₃ with PCM, Gaussian 09¹¹⁸) to afford the ¹³C NMR chemical shifts, which were referenced by a multi-standard approach¹²¹. The calculated ¹³C NMR chemical shifts were composed after correction based on the Boltzmann distribution of the stable conformers.

Chapter 4

1. Plant material. The aerial parts of *Hypericum frondosum* 'Sunburst' were collected at the medicinal herb garden of Tokushima University in 2015.

2. Extraction and Isolation.

Extraction of the dried aerial parts of *H. frondosum* 'Sunburst' (871 g) with MeOH (12 L x 3) gave the extract (159 g). The extract (11 g) was partitioned successively with *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH, and H₂O. The *n*-hexane-soluble material (3 g) was separated by a silica gel column chromatography (*n*-hexane/acetone, 90:10→0:100) to yield 15 fractions (frs. 1–15). Fractionation of fr. 5 by TOYOPEARL HW-40 column chromatography (CHCl₃/MeOH, 10:20

→0:100) gave five fractions (frs. 5.1–5). Further separation of fr. 5.3 by ODS HPLC on YMC-Actus Triart C₁₈ (φ20 x 250 mm, MeOH/H₂O, 70:30) afforded frondhyperin A (**63**, 23 mg), frondhyperin D (**66**, 21 mg), frondhyperin E (**67**, 9 mg), and frondhyperin F (**68**, 5 mg), respectively. Separation of fr. 8 by an ODS cartridge column Strata C₁₈ (MeOH/H₂O, 60:40 → 100:0) gave five fractions (frs. 8.1–5). Frondhyperin C (**65**, 1 mg) was isolated by purification of fr. 8.2 using ODS HPLC on YMC-Actus Triart C₁₈ (φ20 x 250 mm, MeOH/H₂O, 70:30). Subsequent separation of fr. 3 by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 90:10→0:100) gave frondhyperin B (**64**, 325 mg). The *n*-BuOH-soluble material (45 g) was subjected to TOYOPEARL HW-40 column chromatography (MeOH/H₂O, 10:90→100:0) to give 6 fractions (frs. 1'–6'). Fr. 4' was separated by an MCI gel CHP-20P column (MeOH/H₂O, 10:90 → 100:0) to give eight fractions (frs. 4'.1–8). Fr. 4'.5 was chromatographed on Sephadex LH-20 column chromatography (MeOH/H₂O, 10:90→100:0) to yield five fractions as frs. 4'.5.1–5 including 5-*O*-caffeoyl quinic acid Bu ester (**71**, 72 mg). Fr. 4'.5.1 were purified by silica gel column chromatography (EtOAc/MeOH/H₂O, 50:3:2→20/3/2) and ODS column chromatography on cartridge Strata C₁₈ (MeOH/H₂O, 60:40→100:0) to afford hyperin (**72**, 19 mg). Separation of fr. 3' by a Sephadex LH-20 column (MeOH/H₂O, 30:70→100:0) gave 5-*O*-caffeoyl quinic acid (**69**, 72 mg) and its Me ester (**70**, 38 mg)

2.1. Frondhyperin A (**63**): colorless gum; $[\alpha]_D^{21}$ -43.1 (c 0.40, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 1736 and 1672 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 251 (ϵ 12,700) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) -0.6 (331), -3.0 (255), and -4.4 (210); ¹H and ¹³C NMR (Table 5.1); HRESIMS: *m/z* 287.0899 [M-H]⁻ (calcd for C₁₆H₁₅O₅, 287.0919).

2.2. Frondhyperin B (**64**): colorless gum; $[\alpha]_D^{21}$ -35.1 (c 0.10, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 2984, 1721, and 1677 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 248 (ϵ 13,300) nm; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) -0.6 (336), -3.1 (254), and -4.5 (210); ¹H and ¹³C NMR (Table 5.1); HRESIMS: *m/z* 325.1034 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₇H₁₈O₅Na, 325.1052).

2.3. Frondhyperin C (**65**): colorless gum; $[\alpha]_D^{24}$ +17.5 (c 0.10, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 1771 and 1739 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 230 (ϵ 13,200 sh) and 278 (3,200 sh) nm; ¹H and ¹³C NMR (Table 5.2); HRESIMS: *m/z* 325.1032 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₇H₁₈O₅Na, 325.1052).

2.4. Frondhyperin D (**66**): colorless gum; $[\alpha]_D^{23}$ -6.1 (c 0.14, MeOH); IR (KBr) ν_{\max} 2984, 1739, and 1686 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 245 (ϵ 10,300) and 283 (3,000) nm; ¹H and ¹³C NMR (Table 5.3); HRESIMS: *m/z* 301.1029 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₅H₁₈O₅Na, 301.1052).

2.5. Frondhyperin E (**67**): colorless oil; $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -51.0$ (c 0.10, MeOH); ^1H and ^{13}C NMR (Table 5.4); HRESIMS: m/z 339.1198 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{Na}$, 339.1208).

2.6. Frondhyperin F (**68**): colorless oil; $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -35.3$ (c 0.10, MeOH); ^1H and ^{13}C NMR (Table 5.4); HRESIMS: m/z 367.1490 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_5\text{Na}$, 367.1521).

3. Methylation of frondhyperin A (63). A solution of frondhyperin A (**63**, 0.5 mg) in MeOH (500 μL) was treated with TMS-diazomethane (0.6 M solution in *n*-hexane, 20 μL) at rt for 1 h. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure to furnish **63a** (0.5 mg).

3.1. 5'-O-Methylfrondhyperin A (**63a**): colorless amorphous solid; $[\alpha]^{23}_{\text{D}} -39.1$ (c 0.03, MeOH); ^1H NMR spectrum (500 MHz, CDCl_3) of **63a** was identical to that of frondhyperin B (**65**); HRESIMS: m/z 325.1022 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{Na}$, 325.1052).

4. Catalytic hydrogenation of frondhyperin B (64). A mixture of frondhyperin B (**64**, 33 mg) and 10% Pd/C (108 mg) in EtOH (4 mL) was stirred under H_2 atmosphere at rt for 10 h. After filtration of insolubles, the filtrate was concentrated under reduced pressure to a residue, which was purified by ODS HPLC on COSMOSIL πNAP ($\phi 10 \times 250$ mm, MeOH/ H_2O 65:35) to give tetrahydrofrondhyperin B (**64a**, 2.3 mg).

4.1. Tetrahydrofrondhyperin B (**64a**): colorless amorphous solid; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 7.35 (3H, m, H-3, H-4, and H-5), 7.26 (2H, m, H-2 and H-6), 4.99 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-7), 4.19 (1H, q, $J = 6.4$ Hz, H-2'), 3.66 (3H, s, OMe), 2.96 (1H, dd, $J = 9.0, 6.7$ Hz, H-8), 2.25 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-4'), 1.28 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H_3-1'), 0.95 (3H, s, H_3-6'), and 0.85 (3H, s, H_3-7'); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} 174.7 (C-9), 171.5 (C-5'), 139.0 (C-1), 128.7 x 3 (C-3, C-4, and C-5), 126.9 (C-2 and C-6), 79.5 (C-2'), 72.3 (C-7), 51.6 x 2 (OMe and C-4'), 46.7 (C-8), 37.0 (C-3'), 27.8 (C-6'), 18.2 (C-7'), and 14.4 (C-1'); HRESIMS: m/z 329.1344 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{Na}$, 329.1365).

5. Chemical conversion of frondhyperin B (64) into frondhyperin C (64b). Frondhyperin B (**64**, 19 mg) was treated with NaOH (19 mg) in MeOH (10 mL) at rt for 10 h. After neutralization by cation-exchange resin (Dowex 50WX8-100), the reaction mixture was filtered, and concentrated to a residue, which was purified by a ODS column chromatography (MeOH/ H_2O) and a silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc) to give **64b** (8 mg).

5.1. Frondhyperin C (**64b**, derived): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{21} +18.6$ (*c* 0.10, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) was identical to that of natural frondhyperin C (**65**).; HRESIMS: m/z 325.1031 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{Na}$, 325.1052).

6. Catalytic hydrogenation of frondhyperin C (64b). A mixture of frondhyperin C (**64b**, 1 mg) and 10% Pd/C (3 mg) in EtOAc (2 mL) was stirred under H_2 atmosphere at rt for 10 h. The reaction mixture was worked up as described above to give dihydrofrondhyperin C (**65a**, 0.8 mg).

6.1. Dihydrofrondhyperin C (**65a**): colorless amorphous solid; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 7.75 (2H, m, H-2 and H-6), 7.41 (3H, m, H-3, H-4, and H-5), 4.16 (1H, q, $J = 6.6$ Hz, H-2'), 3.23 (3H, s, OMe), 3.55 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, H-8), 2.93 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, H-4'), 1.35 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, $\text{H}_3\text{-1}'$), 1.33 (3H, s, $\text{H}_3\text{-7}'$), and 1.15 (3H, s, $\text{H}_3\text{-6}'$); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} 173.7 (C-5'), 165.7 (C-9), 137.5 (C-1), 129.3 (C-4), 128.6 x 2 (C-3 and C-5), 126.8 x 2 (C-2 and C-6), 108.6 (C-7), 83.1 (C-2'), 51.9 (OMe), 49.6 (C-8), 49.0 (C-4'), 34.7 (C-3'), 24.3 (C-7'), 14.5 (C-6'), and 14.4 (C-1'); HRESIMS: m/z 327.1200 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{Na}$, 327.1208).

7. Condensation of frondhyperin D (66) with (S)-phenylethylamine. To a solution of frondhyperin D (**66**, 3 mg) in MeOH (2 mL) was added (S)-1-phenylethylamine (6 μL) and 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride (DMT-MM, 16 mg), and the mixture was stirred at rt for 10 h. After concentration of the reaction mixture, the residue was dissolved in EtOAc (30 mL), which was washed successively with 1N HCl, water, and brine, and concentrated to a residue. Purification of the residue by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc) and ODS column chromatography (MeOH/ H_2O) afforded a mixture of diastereomers (**66c**) (2.5 mg).

7.1. A mixture of diastereomer (**66c**): colorless gum; HRESIMS: m/z 380.1860 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{NO}_4$, 380.1862).

8. Calculation of the ECD spectrum of frondhyperin B (64). The conformational searches of 2'*R*-**64** of frondhyperin B (**64**) was carried out by the Molecular Mechanics (MMFF94s) on Spartan 14 program¹¹⁷ to give initial stable conformers, which were further optimized by DFT calculations at the B3LYP/6-31G(d) level in the presence of MeOH with PCM on Gaussian 09 program¹¹⁸. The stable conformers for 2'*R*-**64** of frondhyperin B (**64**) with Boltzmann distributions over 1% were subjected to TDDFT calculations at the B3LYP/6-

31G+(d,p) level for (2'*R*-**64**) of frondhyperin B (**64**). The resultant rotatory strengths of the lowest 30 excited states for each conformer were converted into Gaussian-type curves with half-bands (0.3 eV) using SpecDis v1.61¹¹⁹. The calculated ECD spectra were composed after correction based on the Boltzmann distribution of the stable conformers. Calculated ECD spectra was blue-shifted by 25 nm.

References

- 1) Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J Nat. Prod.* **2020**, *83*, 770–803.
- 2) (a) Wang, Z.; Yang, L. *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, 1013. (b) Ohashi, H.; Watashi, K.; Saso, W.; Shionoya, K.; Iwanami, S.; Hirokawa, T.; Shirai, T.; Kanaya, S.; Ito, Y.; Kim, K. S.; Nishioka, K.; Ando, S.; Ejima, K.; Koizumi, Y.; Tanaka, T.; Aoki, S.; Kuramochi, M.; Suzuki, T.; Maenaka, K.; Matano, T.; Muramatsu, M.; Saijo, M.; Aihara, K.; Iwami, K.; Takeda, M.; Mckeating, J. A.; Wakita, T. *bioRxiv* **2020**, doi.org/10.1101/2020.04.14.039925. (c) Caly, L.; Druce, J. D.; Gattton, M. G.; Jans, D. A.; Wagstaff, K. M. *Antiviral Res.* **2020**, *178*, 104787. (d) Choy, K.-T.; Wong, A. Y.-L.; Kaewpreedee, P.; Sia, S. F.; Chen, D.; Hui, K. P. Y.; Chu, D. K. W.; Chan, M. C. W.; Cheung, P. P.-H.; Huang, X.; Peiris, M.; Yen, H.-L. *Antiviral Res.* **2020**, *178*, 104786.
- 3) (a) Hyuga, S.; Hyuga, M.; Oshima, N.; Maruyama, T.; Kamakura, H.; Yamashita, T.; Yoshimura, M.; Amakura, Y.; Hakamatsu, T.; Odaguchi, H.; Goda, Y.; Hanawa, T. *J. Nat. Med.* **2016**, *70*, 571–583. (b) Takemoto, H.; Takahashi, J.; Hyuga, S.; Odaguchi, H.; Uchiyama, N.; Maruyama, T.; Yamashita, T.; Hyuga, M.; Oshima, N.; Yoshiaki, A.; Hakamatsu, T.; Goda, Y.; Hanawa, T.; Kobayashi, Y. *Biol. Pharm. Bull.* **2018**, *41*, 247–253.
- 4) (a) Lim, L. S.; Shen, P.; Gong, Y. H.; Yong, E. L. *Phytochemistry* **2006**, *67*, 728–734. (b) Chen, S. D.; Gao, H.; Zhu, Q.C.; Wang, Y.Q.; Li, T.; Mu, Z. Q.; Wu, H. L.; Peng, T.; Yao, X. S. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1772–1775. (c) Zou, J.; Chen, G.-D.; Zhou, H.; Huang, Y.; Luo, X.; Xu, W.; He, R.-R.; Hu, D.; Yao, X.-S.; Gao, H. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 884–887.
- 5) Wu, G.; Zhou, H.; Zhang, P.; Wang, X.; Li, W.; Zhang, W.; Liu, X.; Liu, H.-W.; Keller, N. P.; An, Z.; Yin, W.-B. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 1832–1835.
- 6) (a) Hata, S.; Yomo, T.; Fujita, S. *NETTAI NOGYO* **2001**, *45*, 281–289. (b) Xing, S.-H.; Guo, X.-B.; Wang, Q.; Pan, Q.-F.; Tian, Y.-S.; Liu, P.; Zhao, J.-Y.; Wang, G.-F.; Sun, X.-F.; Tang, K.-X. *J. Biomed. Biotechnol.* **2011**, *2011*, 793198.
- 7) 田中 久 他監修, 第 17 改正日本薬局方解説書, 日本薬局方解説書編集委員会編, 廣川書店, 東京, **2016**, D917–922.
- 8) 田中 久 他監修, 第 17 改正日本薬局方解説書, 日本薬局方解説書編集委員会編, 廣川書店, 東京, **2016**, D687–692.
- 9) 田中 久 他監修, 第 17 改正日本薬局方解説書, 日本薬局方解説書編集委員会編, 廣川書店, 東京, **2016**, D468–471.
- 10) Li, T.; Liu, L.; Wu, H.; Chen, S.; Zhu, Q.; Gao, H.; Yu, X.; Wang, Y.; Su, W.; Yao, X. S.; Peng, T. *Antiviral Res.* **2017**, *144*, 273–280.
- 11) Jian, J.; Fan, J.; Yang, H.; Lan, P.; Li, M.; Liu, P.; Gao, H.; Sun, P. *J. Nat. Prod.*, **2018**, *81*, 371–377.
- 12) 田中 久 他監修, 第 17 改正日本薬局方解説書, 日本薬局方解説書編集委員会編, 廣川書店, 東京, **2016**, D272–277.
- 13) 伏見 裕利編, 和漢医薬学総合研究所年報, **2013**, *40*, 2–11.
- 14) Zhao, J.; Ma, J.-S. *J. Pharm. Phytochem.* **2016**, *4*, 27–34.
- 15) Yagi, A.; Tokubuchi, N.; Nohara, T.; Nonaka, G.; Nishioka, I.; Koda, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1980**, *28*, 1432–1436.
- 16) Zeng, J.; Xue, Y.; Lai, Y.; Yao, G.; Luo, Z.; Zhang, Y.; Zhang, J. *Molecules* **2014**, *19*, 17727–17734.
- 17) Shan, B. E.; Yoshida, Y.; Sugiura, T.; Yamashita, U. *Int. J. Immunopharmacol.* **1999**, *21*, 149–159.
- 18) Heide, R. T. *J. Agric. Food Chem.* **1972**, *20*, 4, 747–751.
- 19) Miyamura, M.; Nohara, T.; Tomimatsu, T.; Nishioka, I. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 215–218.

- 20) Ngoc, T. M.; Lee, I.-S.; Ha, D. T.; Kim, H.-J.; Min, B.-S.; Bae, K.-H. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1205–1208.
- 21) Mateen, S.; Rehman, M. T.; Shahzad, S.; Naeem, S. S.; Faizy, A. F.; Khan, A. Q.; Khan, M. S.; Husain, F. M.; Moin, S. *Eur. J. Pharmacol.* **2019**, *852*, 14–24.
- 22) Friedman, M. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65*, 10406–10423.
- 23) Ye, W.; Tu, Y.-H.; Cooper, A. J.; Zhang, Z.; Katritch, V.; Liman, E. R. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 17104.
- 24) Wang, J.; Su, B.; Jiang, H.; Cui, N.; Yu, Z.; Yang, Y.; Sun, Y. *Fitoterapia* **2020**, *146*, 104675.
- 25) Liu, X.; Fu, J.; Yao, X.-J.; Yang, J.; Liu, L.; Xie, T.-G.; Jiang, P.-C.; Jiang, Z.-H.; Zhu, G.-Y. *J. Nat. Prod.* **2018**, *81*, 1333–1342.
- 26) Mackenzie, G. G.; Adamo, A. M.; Decker, N. P.; Oteiza, P. I. *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *75*, 1461–1471
- 27) Ge, Z.-Z.; Dong, X.-Q.; Zhu, W.; Zhang, Y.; Li, C.-M. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63*, 8991–8998.
- 28) Killday, K. B.; Davey, M. H.; Glinski, J. A.; Duan, P.; Veluri, R.; Proni, G.; Daugherty, F. J.; Tempesta, M. S. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 1833–1841.
- 29) (a) Morimoto, S.; Nonaka, G.; Nishioka, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 4338–4345. (b) Morimoto, S.; Nonaka, G.; Nishioka, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 633–642. (c) Morimoto, S.; Nonaka, G.; Nishioka, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 643–649.
- 30) Kim, G. J.; Lee, J. Y.; Choi, H. G.; Kim, S. Y.; Kim, E.; Shim, S. H.; Nam, J.-W.; Kim, S.-H.; Choi, H. *Arch. Pharm. Res.* **2017**, *40*, 304–310.
- 31) Liao, S.-G.; Yuan, T.; Zhang, C.; Yang, S.-P.; Wu, Y.; Yue, J.-M. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 883–887.
- 32) Zeng, J.-F.; Zhu, H.-C.; Lu, J.-W.; Hu, L.-Z.; Song, J.-C.; Zhang, Y.-H. *Nat. Prod. Res.* **2017**, *37*, 1812–1818.
- 33) (a) Wu, M.; Ni, L.; Lu, H.; Xu, H.; Zou, S.; Zou, X. *J. Chem.* **2020**, *2020*, 5097542. (b) Yan, Y.-M.; Fang, P.; Yang, M.-T.; Li, N.; Lu, Q.; Cheng, Y.-X. *J. Ethnopharmacol.* **2015**, *165*, 141–147.
- 34) (a) Nohara, T.; Tokubuchi, N.; Kuroiwa, M.; Nishioka, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1980**, *28*, 2682–2686. (b) Nohara, T.; Kashiwada, Y.; Tomimatsu, T. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2647–2648. (c) Nohara, T.; Kashiwada, Y.; Murakami, K.; Tomimatsu, T.; Kido, M.; Yagi, A.; Nishioka, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 2451–2459. (d) Kashiwada, Y.; Nohara, T.; Tomimatsu, T.; Nishioka, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 2686–2688. (e) Nohara, T.; Kashiwada, Y.; Tomimatsu, T.; Nishioka, I. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2130–2132. (f) Nohara, T.; Kashiwada, Y.; Nishioka, I. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 1849–1850.
- 35) Fraga, B. M.; Terrero, D.; Balaños, P.; Díaz, C. E. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 2261–2263.
- 36) Rogers, E. F.; Koniuszy, F. R.; Shavel, J.; Folkers, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 3086–3088.
- 37) Zeng, J.; Xue, Y.; Shu, P.; Qian, H.; Sa, R.; Xiang, M.; Li, X.-N.; Luo, Z.; Yao, G.; Zhang, Y. *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 1948–1954.
- 38) Zhou, L.; Tuo, Y.; Hao, Y.; Guo, X.; Tang, W.; Xue, Y.; Zeng, J.; Zhou, Y.; Xiang, M.; Zuo, J.; Yao, G.; Zhang, Y. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 3029–3032.
- 39) Zhou, H.; Guoruoluo, Y.; Tuo, Y.; Zhou, J.; Zhang, H.; Wang, W.; Xiang, M.; Aisa, H. A.; Yao, G. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 549–553.
- 40) (a) Isogai, A.; Suzuki, A.; Tamura, S.; Murakoshi, S.; Ohashi, Y.; Sasada, Y. *Agric. Biol. Chem.* **1976**, *40*, 2305–2306. (b) Isogai, A.; Murakoshi, S.; Suzuki, A.; Tamura, S. *Agric. Biol. Chem.* **1977**, *41*, 1779–1784.
- 41) Wu, Z.-G.; Wei, W.; Xu, H.-Y.; Zheng, L.-L.; Ma, C.-M.; Wang, Y.-C. *J. Nat. Prod.* **2019**, *82*, 2707–2712.

- 42) Snatzke, G.; Eckhardt, G. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 4543–4558.
- 43) Harada, N.; Nakanishi, K. In *Circular Dichroic Spectroscopy-Excitation Coupling in Organic Stereochemistry*; University Science Books: Mill Valley, **1983**; pp. 1–31.
- 44) Harada, N.; Nakanishi, K. *Acc. Chem. Res.* **1972**, *5*, 257–263.
- 45) Tanaka, N.; Niwa, K.; Kajihara, S.; Tsuji, D.; Itoh, K.; Mamadalieva, N. Z.; Kashiwada, Y. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 7677–7670.
- 46) Tanaka, N.; Niwa, K.; Yano, Y.; Kashiwada, Y. *J. Nat. Med.* **2020**, *74*, 264–268.
- 47) Tanaka, N.; Jia, Y.; Niwa, K.; Imabayashi, K.; Tatano, Y.; Yagi, H.; Kashiwada, Y. *Tetrahedron* **2018**, *74*, 117–123.
- 48) (a) Chai, X.-Y.; Bai, C.-C.; Shi, H.-M.; Xu, Z.-R.; Ren, H.-Y.; Li, F.-F.; Lu, Y.-N.; Song, Y.-L.; Tu, P.-F. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 5743–5747. (b) Tang, W.; Wei, X.; Xu, H.; Zeng, D.; Long, L. *Fitoterapia* **2009**, *80*, 286–289.
- 49) (a) Fraga, B. M.; González-Coloma, A.; Gutiérrez, C.; Terrero, D. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 880–883. (b) González-Coloma, A.; Gutiérrez, C.; Hübner, H.; Achenbach, H.; Terrero, D.; Fraga, B. M. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 4419–4424.
- 50) Avato, P. In *Studies in Natural Products Chemistry*; Atta-ur-Rahman, Ed.; Elsevier Science B.V.: Amsterdam, **2005**; Vol. 30, pp 603–634.
- 51) Nürk, N. M.; Madriña'n, S.; Carine, M. A.; Chase, M. W.; Blattner, F. R. *Mol. Phylogenet. Evol.* **2013**, *66*, 1–16.
- 52) Excerpts from Jim Conrad's Naturalist Newsletter, https://www.backyardnature.net/n/h/st_john.htm, January 27th, 2021.
- 53) 嶋野 武 他校閲, 中薬大辞典, 江蘇新医学院編, 上海化学技術出版社 小学館, **1985**, *1*, 699.
- 54) 嶋野 武 他校閲, 中薬大辞典, 江蘇新医学院編, 上海化学技術出版社 小学館, **1985**, *1*, 535.
- 55) 嶋野 武 他校閲, 中薬大辞典, 江蘇新医学院編, 上海化学技術出版社 小学館, **1985**, *1*, 398.
- 56) 嶋野 武 他校閲, 中薬大辞典, 江蘇新医学院編, 上海化学技術出版社 小学館, **1985**, *2*, 1280.
- 57) (a) Bystrov, N. S.; Chernov, B. K.; Dobrynin, V. N.; Kolosov, M. N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 2791–2794.; (b) Gurevich, A. I.; Dobrynin, V. N.; Kolosov, M. N.; Popravko, S. A.; Ryabova, I. D.; Chernov, B. K.; Derbentseva, N. A.; Aizenman, B. E.; Garagulya, A. D. *Antibiotiki* **1971**, *16*, 510–513.
- 58) Medina, M. A.; Martinez-Poveda, B.; Amores-Sanchez, M. I.; Quesada, A. R. *Life Sci.* **2006**, *79*, 105–111.
- 59) (a) Ciochina, R.; Grossman, R. B. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3963–3986. (b) Tanaka, N.; Kobayashi, J. *Heterocycles* **2015**, *90*, 23–40. (c) Zhao, J.; Liu, W.; Wang, J.-C. *Chem. Biodiversity* **2015**, *12*, 309–349. (d) Yang, X.-W.; Grossman, R. B.; Xu, G. *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 3508–3558. (e) Bridi, H.; Meirelles, G. C.; von Poser, G. L. *Phytochemistry* **2018**, *155*, 203–232.
- 60) Hashida, C.; Tanaka, N.; Kashiwada, Y.; Ogawa, M.; Takaishi, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **2008**, *56*, 1164–1167.
- 61) Tanaka, N.; Takaishi, Y.; Shikishima, Y.; Nakanishi, Y.; Bastow, K.; Lee, K.-H.; Honda, G.; Ito, M.; Takeda, Y.; Kodzhimatov, O. K.; Ashurmetov, O. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1870–1875.
- 62) Tanaka, N.; Kashiwada, Y.; Sekiya, M.; Ikeshiro, Y.; Takaishi, Y. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 2799–2803.
- 63) Tanaka, N.; Tsuji, E.; Kashiwada, Y.; Kobayashi, J. *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 991–995.
- 64) Zong, J.-F.; Hu, Z.; Shao, Y.-Y.; Shi, Q.; Zhang, M.-M.; Zhou, Y.-B.; Li, J.; Hou, A.-J. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 2797–2800.
- 65) Tian, W.-J.; Qui, Y.-Q.; Yao, X.-J.; Chen, H.-F.; Dai, Y.; Zhang, X.-K.; Yao, X.-S. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 6346–6349.

- 66) Decosterd, L. A.; Stoeckil-Evans, H.; Chapuis, J.-C.; Sordat, B.; Hostettmann, K. *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 1833–1845.
- 67) Nagai, M.; Tada, M. *Chem. Lett.* **1987**, *16*, 1337–1340.
- 68) Yang, X.-W.; Li, M.-M.; Liu, X.; Ferreira, D.; Ding, Y.; Zhang, J.-J.; Liao, Y.; Qin, H.-B.; Xu, G. *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 885–895.
- 69) Hashida, W.; Tanaka, N.; Kashiwada, Y.; Sekiya, M.; Ikeshiro, Y.; Takaishi, Y. *Phytochemistry* **2008**, *69*, 2225–2230.
- 70) Tao, Y.; Reisenauer, K.; Taube, J. H.; Romo, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 2734–2738.
- 71) Agostinis, P.; Vantighem, A.; Merlevede, W.; de Witte, P. A. M. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2002**, *34*, 221–241.
- 72) Verebová, V.; Benes, J.; Staničová, J. *Molecules* **2020**, *25*, 5666.
- 73) Kitanov, G. M.; Blinova, K. F. *Chem. Nat. Compd.* **1987**, *23*, 151–166.
- 74) Tanaka, N.; Mamemura, T.; Abe, S.; Imabayashi, K.; Kashiwada, Y.; Takaishi, Y.; Suzuki, T.; Takebe, Y.; Kubota, T.; Kobayashi, J. *Heterocycles* **2010**, *80*, 613–621.
- 75) (a) Tanaka, N.; Kashiwada, Y.; Kim, S.-Y.; Sekiya, M.; Ikeshiro, Y.; Takaishi, Y. *Phytochemistry* **2009**, *70*, 1456–1461. (b) Tanaka, N.; Takaishi, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 19–21. (c) Tanaka, N.; Takaishi, Y. *Phytochemistry* **2006**, *67*, 2146–2151.
- 76) (a) Ito, C.; Miyamoto, Y.; Nakayama, M.; Kawai, Y.; Rao, K. S.; Furukawa, H. *Chem. Pharm. Bull.* **1997**, *45*, 1403–1413. (b) Stark, T. D.; Salger, M.; Frank, O.; Balemba, O. B.; Wakamatsu, J.; Hofmann, T. *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 234–240. (c) Yang, L.; Wang, Z.-M.; Wang, Y.; Li, R.-S.; Wang, F.; Wang, K. *Phytochemistry* **2019**, *165*, 112049.
- 77) (a) Sauviat, M.-P.; Colas, A.; Chauveau, M.-J.; Drapier, J.-C.; Negrierie, M. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 510–514. (b) Nguyen, D. M. T.; Do, L. M. T.; Nguyen, V. T.; Chavasiri, W.; Mortier, J.; Nguyen, P. P. K. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*, 261–268.
- 78) Kong, L.-M.; Long, X.-W.; Yang, X.-W.; Xia, F.; Khan, A.; Yan, H.; Deng, J.; Li, X.; Xu, G. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 2113–2117.
- 79) Hu, Y.-L.; Hu, K.; Kong, L.-M.; Xia, F.; Yang, X.-W.; Xu, G. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 1007–1010.
- 80) Tanaka, N.; Kakuguchi, Y.; Ishiyama, H.; Kubota, T.; Kobayashi, J. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 4747–4750.
- 81) Tanaka, N.; Yano, Y.; Tatano, Y.; Kashiwada, Y. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5360–5363.
- 82) Tanaka, N.; Abe, S.; Hasegawa, K.; Shiro, M.; Kobayashi, J. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5488–5491.
- 83) Tanaka, N.; Abe, S.; Kobayashi, J. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 1507–1510.
- 84) (a) Aramaki, Y.; Chiba, K.; Tada, M. *Phytochemistry* **1995**, *38*, 1419–1421. (b) Tada, M.; Nagai, M.; Okumura, C.; Osano, Y.; Matsuzaki, T. *Chem. Lett.* **1989**, *18*, 683–686.
- 85) Tanaka, N.; Okasaka, M.; Ishimaru, Y.; Takaishi, Y.; Sato, M.; Okamoto, M.; Oshikawa, T.; Ahmed, S. U.; Consentino, L. M.; Lee, K.-H. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2997–2999.
- 86) Nicolaou, K. C.; Wu, T. R.; Sarlah, D.; Shaw, D. M.; Rowcliffe, E.; Burton, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11114–11121.
- 87) Tanaka, N.; Kashiwada, Y.; Kim, S.-Y.; Hashida, W.; Sekiya, M.; Ikeshiro, Y.; Takaishi, Y. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1447–1452.
- 88) Nicolaou, K. C.; Sanchini, S.; Sarlah, D.; Lu, G.; Wu, T. R.; Nomura, D. K.; Cravatt, B. F.; Cubitt, B.; de la Torre, J. C. Hessell, A. J.; Burton, D. R. *PNAS* **2011**, *108*, 6715–6720.
- 89) Mamemura, T.; Tanaka, N.; Shibazaki, A.; Gono, T.; Kobayashi, J. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 3575–3578.
- 90) Bohlmann, F.; Trinks, C.; Jakupovic, J.; Huneck, S. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 995–997.
- 91) Fernandes, E. G. R.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A.S.; Silva, F. M.; Borges, M. F. M.; Pinto, M. M. M. *Magn. Reson. Chem.* **1998**, *36*, 305–309.

- 92) Zhou, X.; Huang, R.; Hao, J.; Huang, H.; Fu, M.; Xu, Z.; Zhou, Y.; Li, X.-E; Qiu, S. X.; Wang, B. *Helv. Chim. Acta* **2011**, *94*, 2092–2098.
- 93) Hong, D.; Yin, F.; Hu, L.-H.; Lu, P. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 2595–2598.
- 94) Singh, S.; Gray, A. I.; Waterman, P. G. *Nat. Prod. Lett.* **1993**, *3*, 53–58.
- 95) Li, W.; Chan, C.; Leung, H.; Yeung, H.; Xiao, P. *Pharm. Pharmacol. Commun.* **1998**, *4*, 415–417.
- 96) Hu, L.-H.; Yip, S.-C.; Sim, K.-Y. *Phytochemistry* **1999**, *52*, 1371–1373.
- 97) Coqueiro, A.; Choi, Y. H.; Verpoorte, R.; Gupta, K. B. S. S.; Mieri, M. D.; Hamburger, M.; Young, M. C. M.; Stapleton, P.; Gibbons, S.; Bolzani, V. D. S. *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 470–476.
- 98) Zhong, X.-N.; Otsuka, H.; Ide, T.; Hirata, E.; Takeda, Y. *Phytochemistry* **1999**, *52*, 923–927.
- 99) Foo, L. Y.; Newman, R.; Waghorn, G.; McNabb, W. C.; Ulyatt, M. J. *Phytochemistry* **1996**, *41*, 617–624.
- 100) Tan, Y. P.; Xue, Y.; Savchenko, A. I.; Houston, S. D.; Modhiran, N.; McMillan, C. L. D.; Boyle, G. M.; Bernhardt, P. V.; Young, P. R.; Watterson, D.; Williams, C. M. *J. Nat. Prod.* **2019**, *82*, 2828–2834.
- 101) Schippers, P. H.; Dekkers, H. P. J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 79–84.
- 102) Ohtani, I.; Kusumi, T.; Kashman, Y.; Kakisawa, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4092–4096.
- 103) Wabo, H. K.; Kowa, T. K.; Lonfouo, A. H. N.; Tchinda, A. T.; Tane, P.; Kikuchi, H.; Frederich, M.; Oshima, Y. *Rec. Nat. Prod.* **2012**, *6*, 94–100.
- 104) Xin, W.-B.; Jin, G.-L.; Mao, Z.-J.; Qin, L.-P. *Helv. Chim. Acta* **2011**, *94*, 686–692.
- 105) Niu, Y.; Zhang, L.; Zhou, Z.-Y.; Zhu, Y.-C.; Liu, J.-K. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2010**, *12*, 719–722.
- 106) Sun, L.; Rahman, M. M.; Skelton, B. W.; Gibbons, S. *Fitoterapia* **2009**, *80*, 226–229.
- 107) (a) Ueki, T.; Ichinari, D.; Yoshihara, K.; Morimoto, Y.; Kinoshita, T. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 667–668. (b) Ueki, T.; Doe, M.; Tanaka, R.; Morimoto, Y.; Yoshihara, K.; Kinoshita, T. *J. Heterocyclic. Chem.* **2001**, *38*, 165–172. (c) Zheng, H.; Wang, Y.; Xu, C.; Xu, X.; Lin, L.; Liu, X.; Feng, X. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 9168.
- 108) Taniguchi, T.; Monde, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 3695–3698.
- 109) Blackmore, S. In *Bulletin of the British Museum*; Short, M.J., Ed.; The Natural History Museum, **1996**; Vol. 2, pp 96–97.
- 110) MISSOURI BOTANICAL GARDEN, <http://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?kempercode=a654>, January 24th, 2021.
- 111) Cheminat, A.; Zawatzky, R.; Becker, H.; Brouillard, R. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 2787–2794.
- 112) Markham, K. R.; Anderson, O. M. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 3919–3920.
- 113) Niwa, K.; Tanaka, N.; Kim, S.-Y.; Kojoma, M.; Kashiwada, Y. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 5977–5980.
- 114) Niwa, K.; Tanaka, N.; Tatano, Y.; Yagi, H.; Kashiwada, Y. *J. Nat. Prod.* **2019**, *82*, 2754–2760.
- 115) Tanaka, N.; Niwa, K.; Kashiwada, Y. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 3175–3178.
- 116) Niwa, K.; Tanaka, N.; Kashiwada, Y. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 1495–1498.
- 117) *Spartan 14*; Wavefunction Inc.: Irvine, CA, 2014.
- 118) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitano, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Jr. Montgomery, J. J.; Peralta, E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene,

M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09*, Revision C.01; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2010.

119) *SpecDis*, Version 1.61; Bruhn, T.; Schaumlöffel, A.; Hemberger, Y.; Bringmann, G. University of Wuerzburg: Germany, 2013.

120) *Spartan 18*; Wavefunction Inc.: Irvine, CA, 2018.

121) Sarotti, A. M. and Pellegrinet, A. C. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, *19*, 7254–7260.

Supplementary Data (Chapter 2)

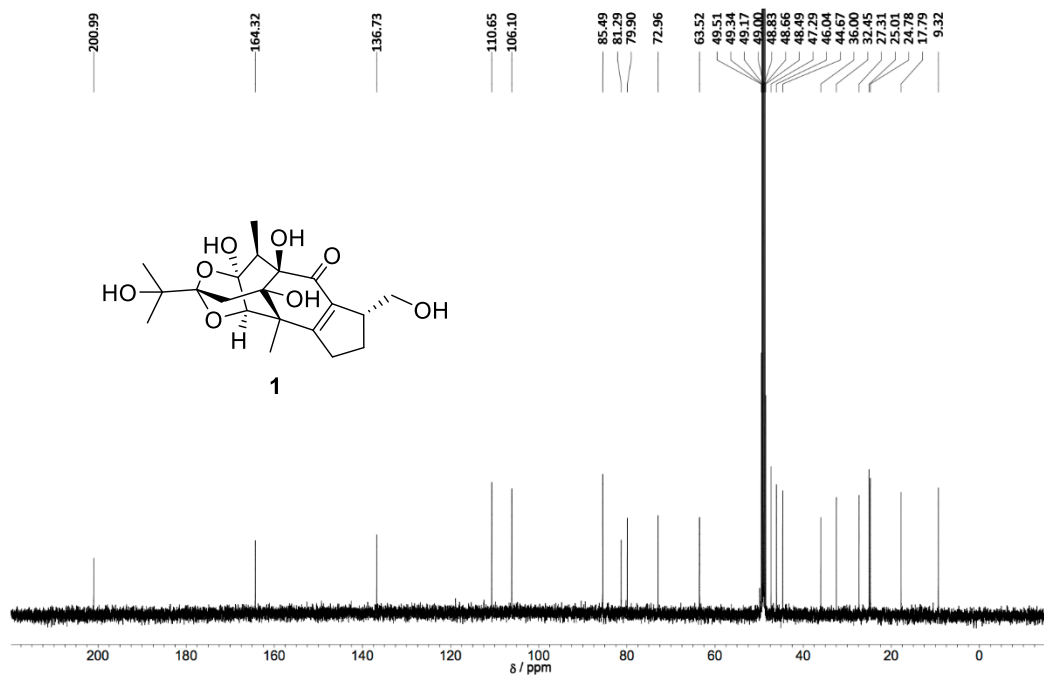


Figure S2.1. ^{13}C NMR spectrum of cinnassiol H (1) in CD_3OD (125 MHz).

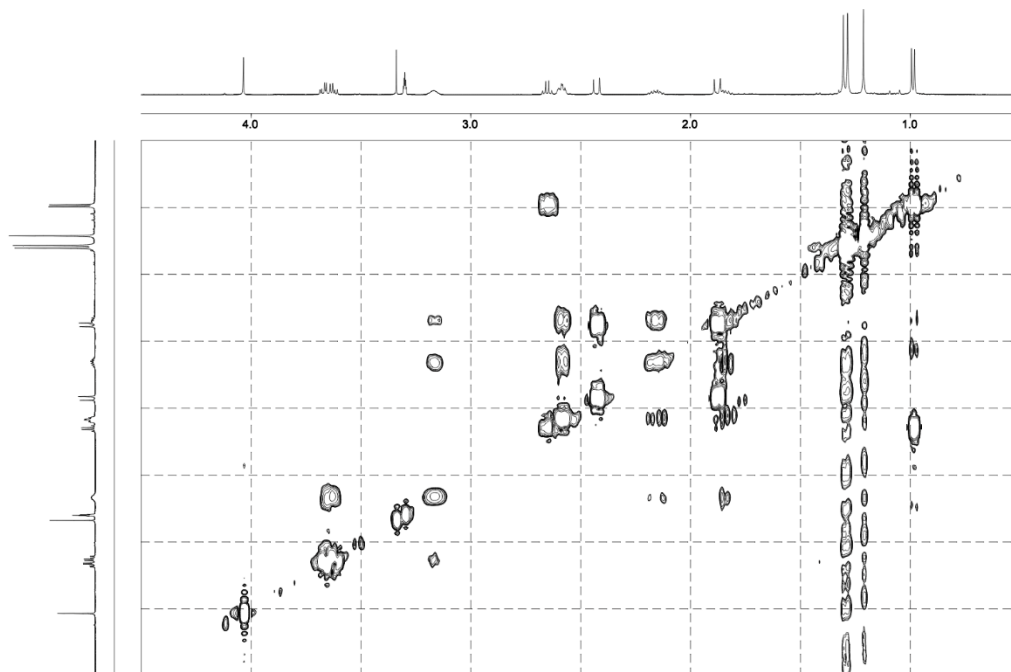


Figure S2.2. ^1H - ^1H COSY spectrum of cinnassiol H (1) in CD_3OD (500 MHz).

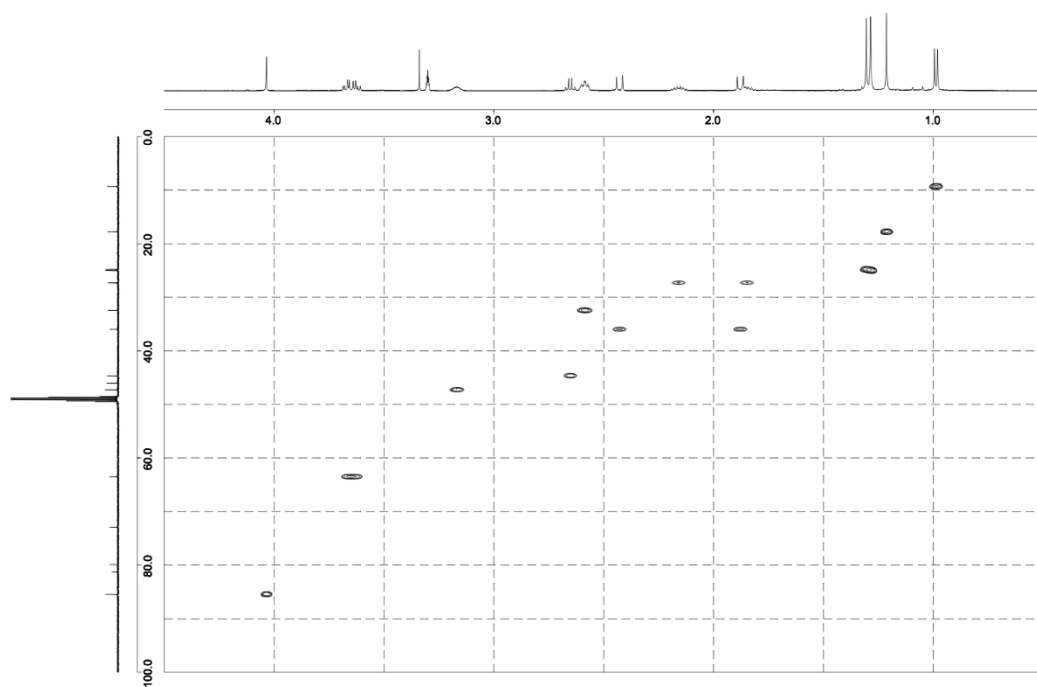


Figure S2.3. HSQC spectrum of cinnassiol H (1) in CD₃OD (500 MHz).

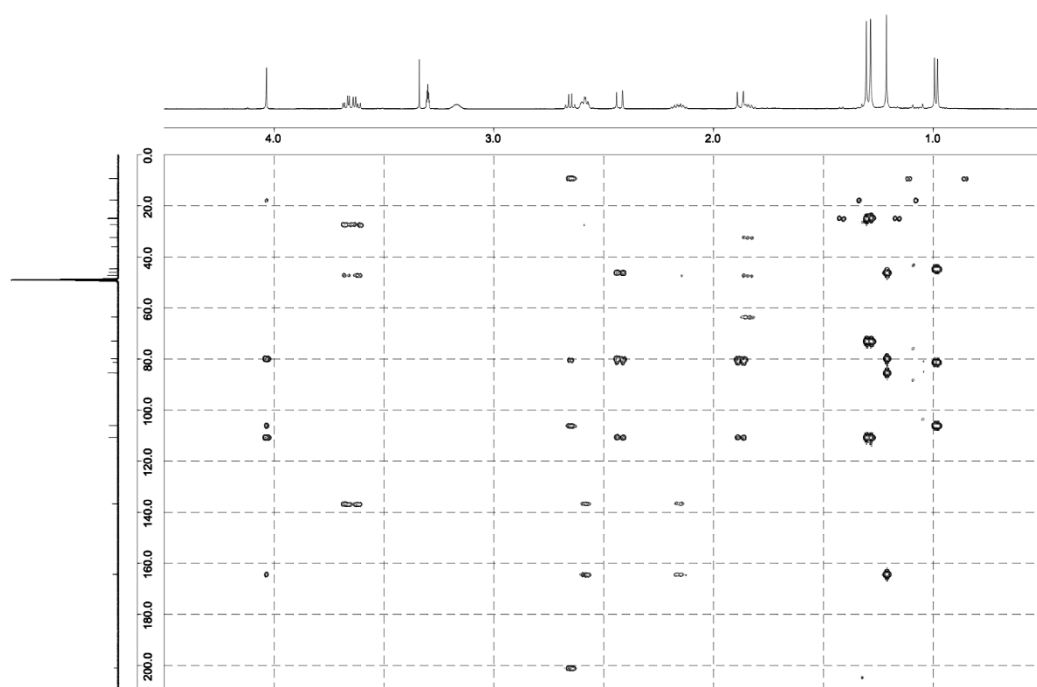


Figure S2.4. HMBC spectrum of cinnassiol H (1) in CD₃OD (500 MHz).

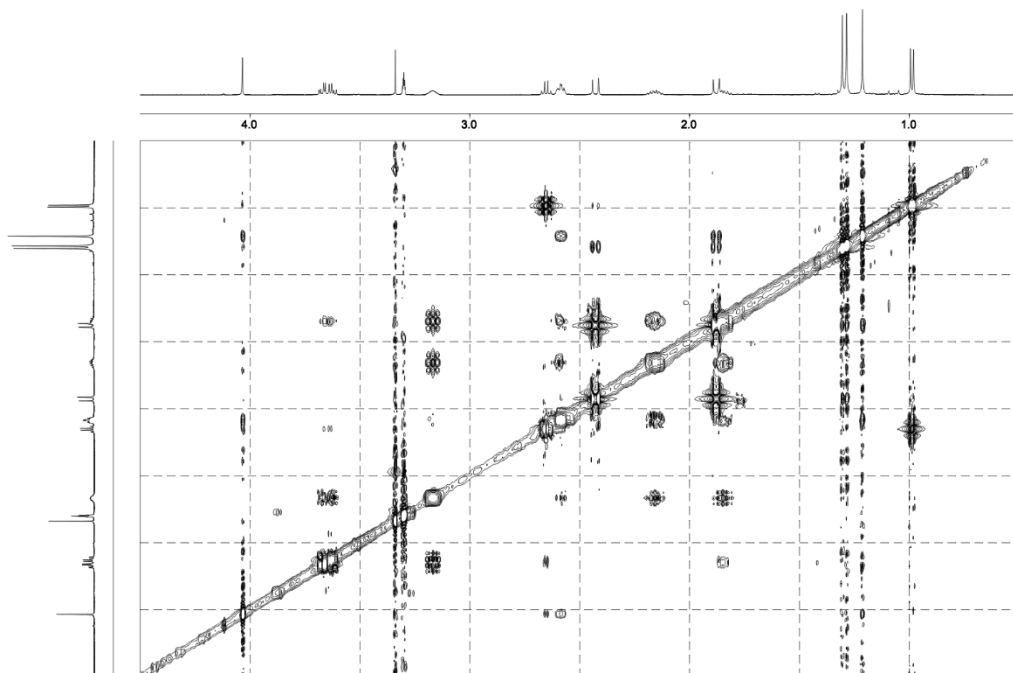


Figure S2.5. NOESY spectrum of cinnassiol H (1) in CD₃OD (500 MHz).

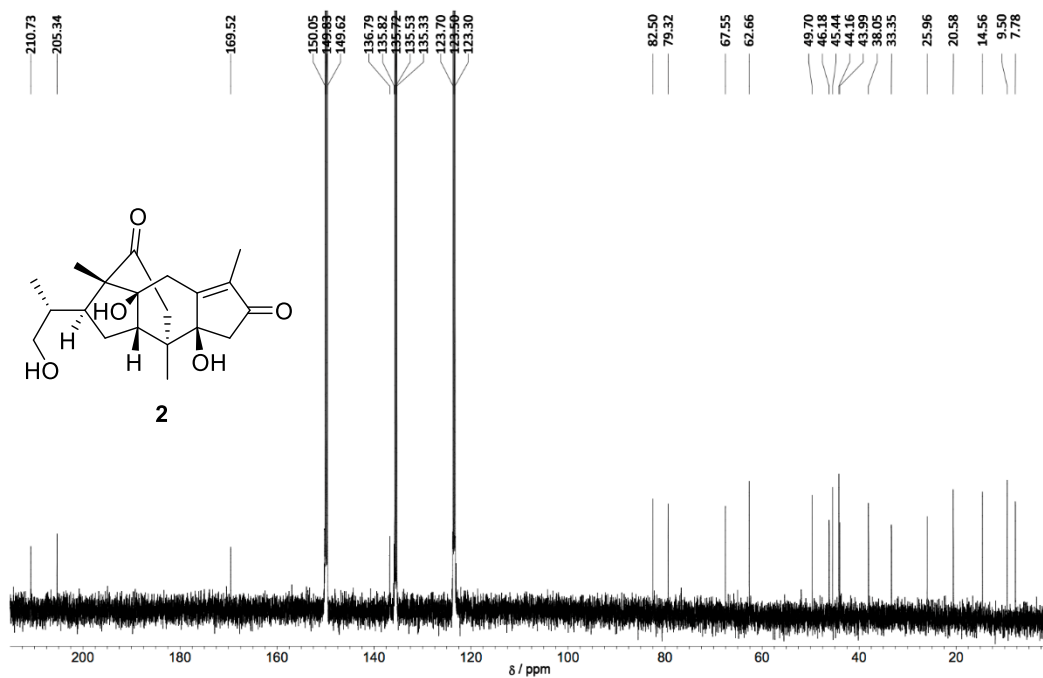


Figure S2.6. ¹³C NMR spectrum of cinnassiol I (2) in C₅D₅N (125 MHz).

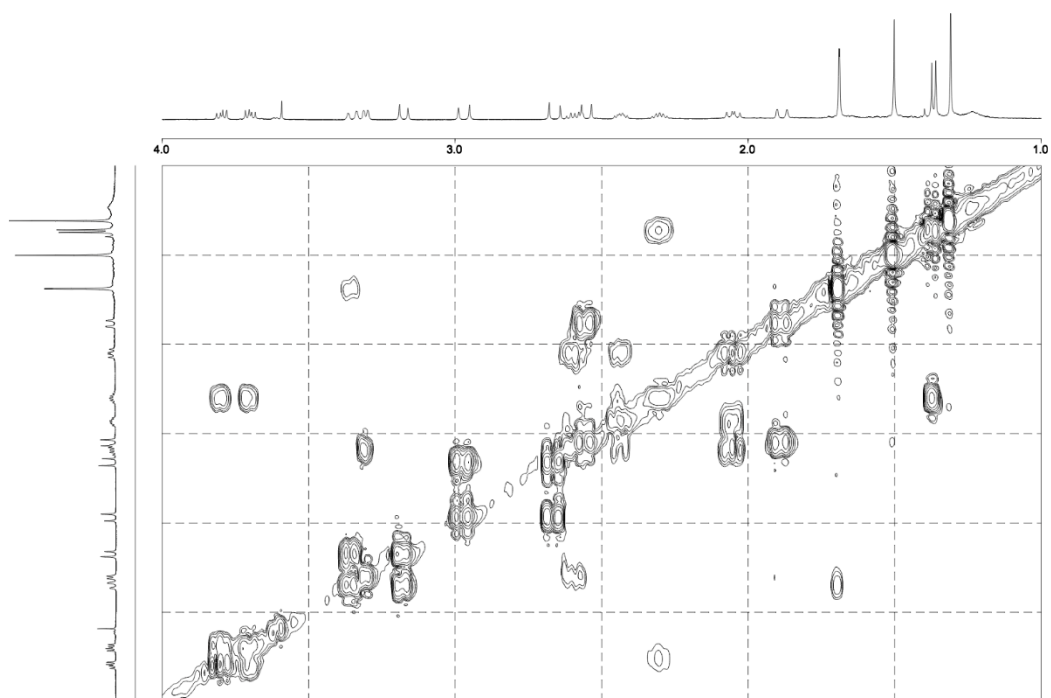


Figure S2.7. ^1H - ^1H COSY spectrum of cinnassiol I (**2**) in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (500 MHz).

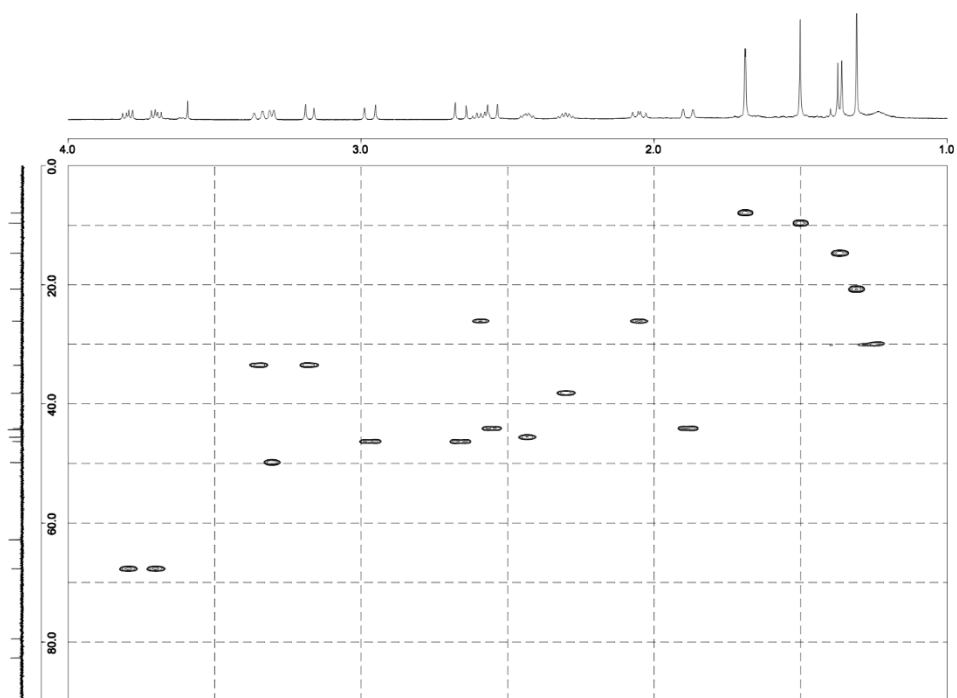


Figure S2.8. HSQC spectrum of cinnassiol I (**2**) in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (500 MHz).

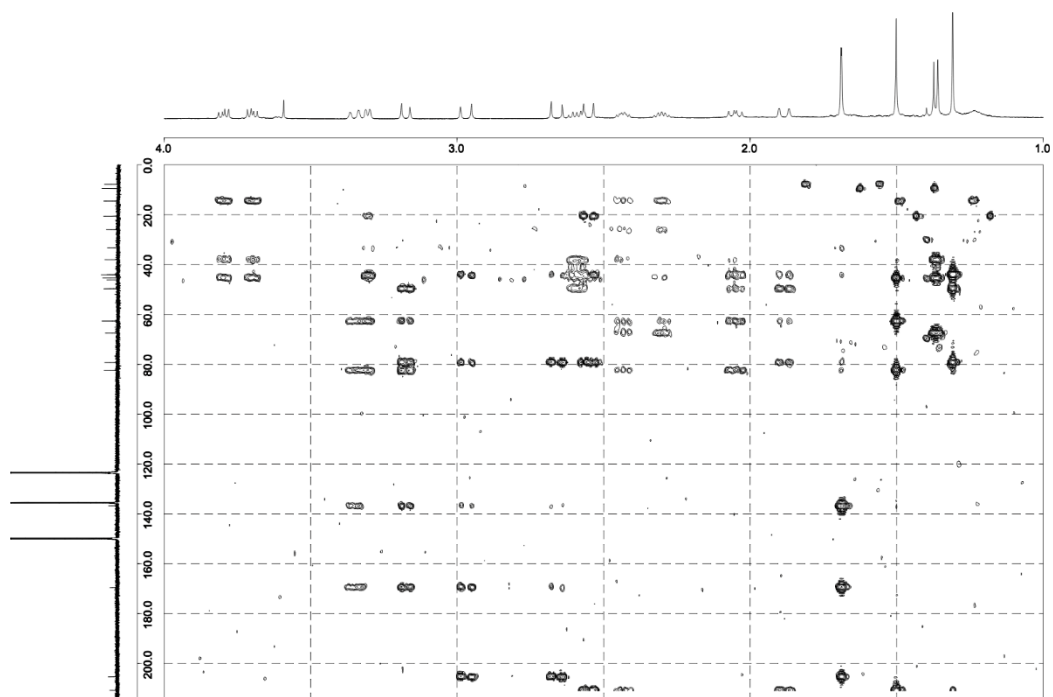


Figure S2.9. HMBC spectrum of cinnassiol I (**2**) in C_5D_5N (500 MHz).

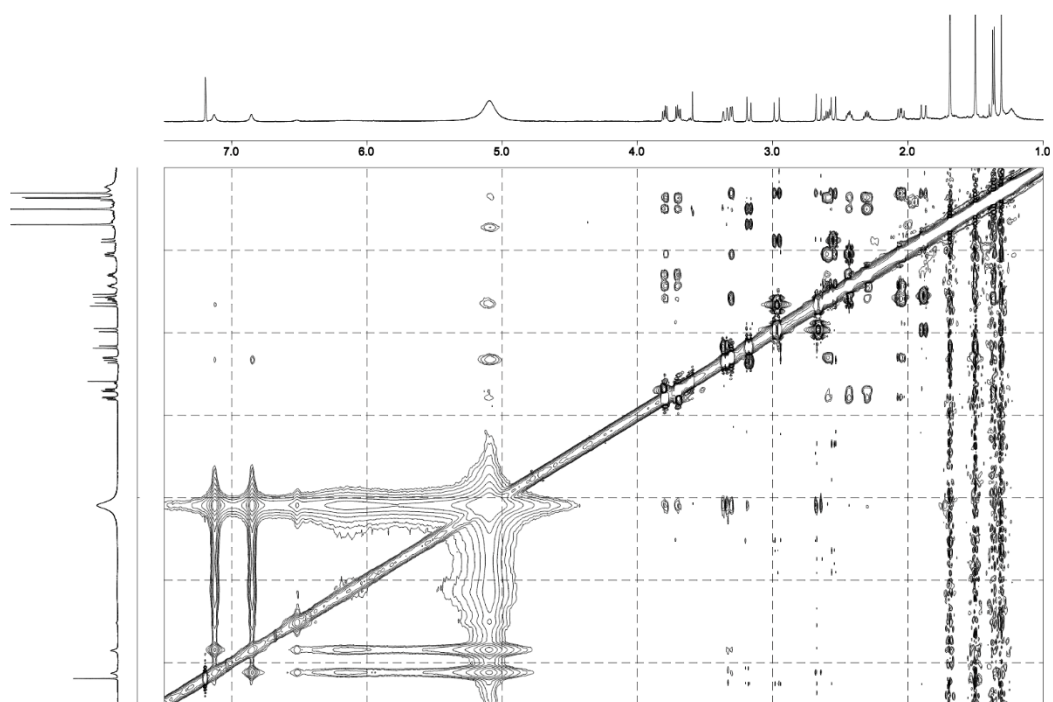


Figure S2.10. NOESY spectrum of cinnassiol I (**2**) in C_5D_5N (500 MHz).

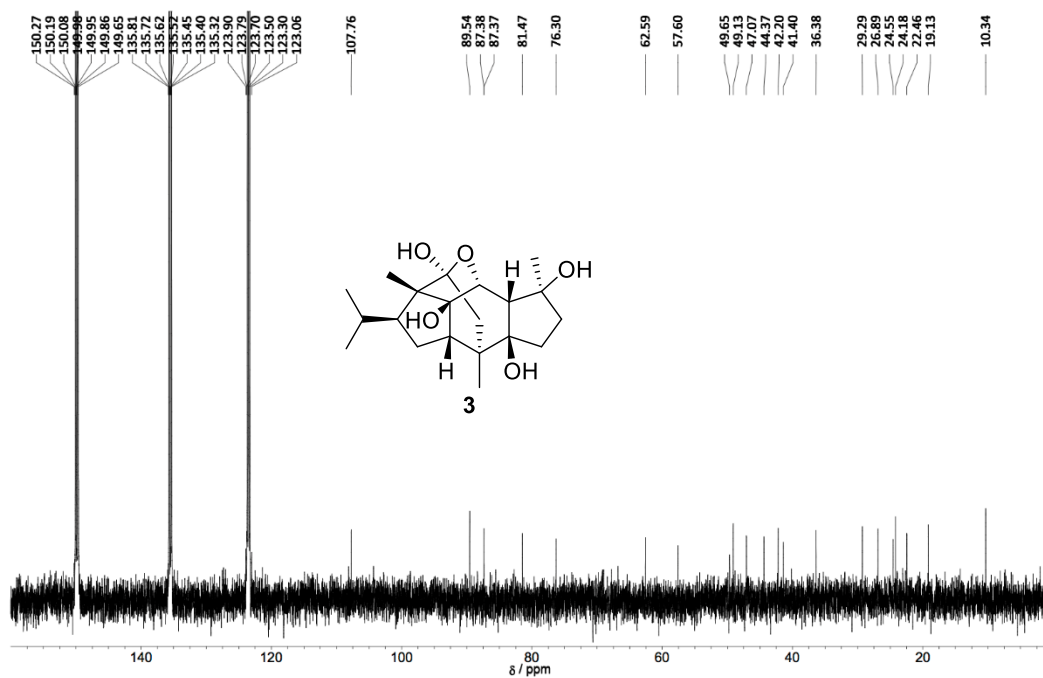


Figure S2.11. ¹³C NMR spectrum of cinnassiol D₅ (3) in C₅D₅N (500 MHz).

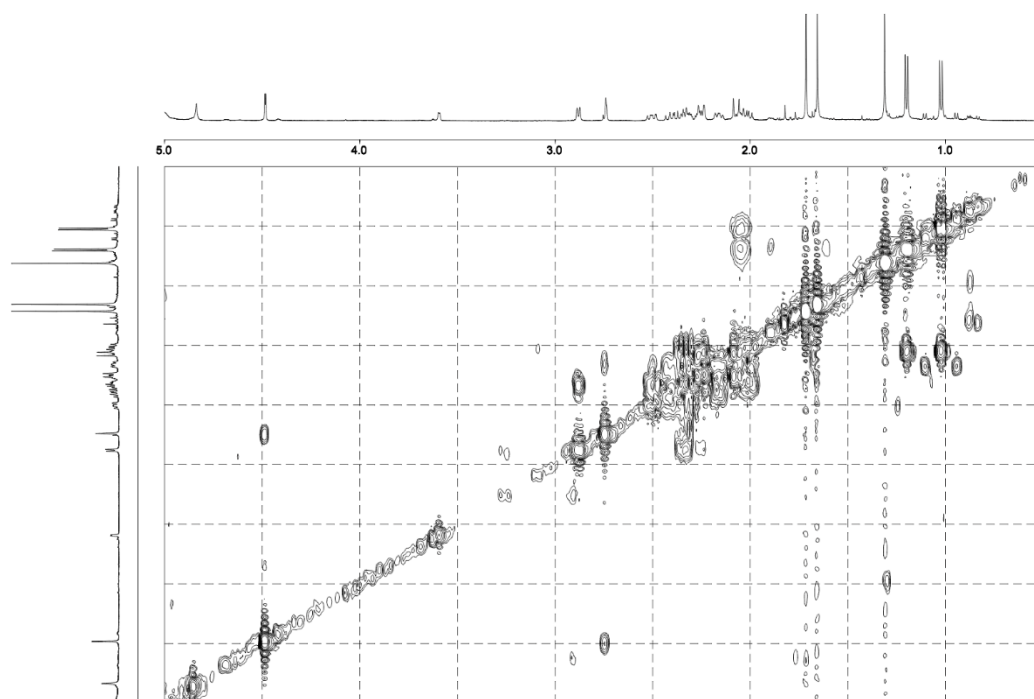


Figure S2.12. ¹H-¹H COSY spectrum of cinnassiol D₅ (3) in C₅D₅N (500 MHz).

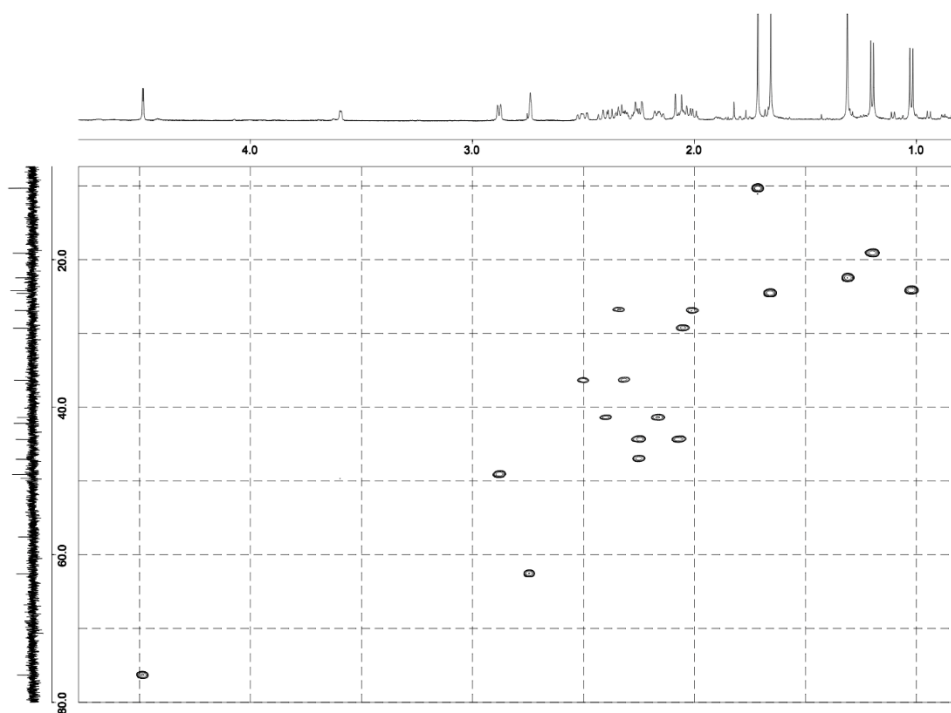


Figure S2.13. HSQC spectrum of cinnassiol D₅ (**3**) in C₅D₅N (500 MHz).

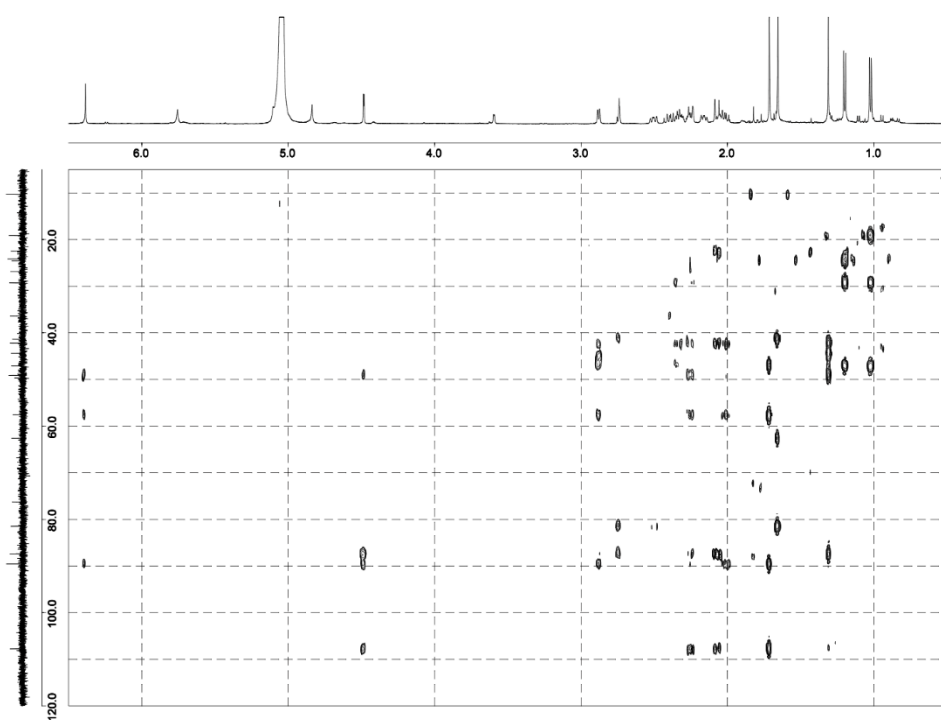


Figure S2.14. HMBC spectrum of cinnassiol D₅ (**3**) in C₅D₅N (500 MHz).

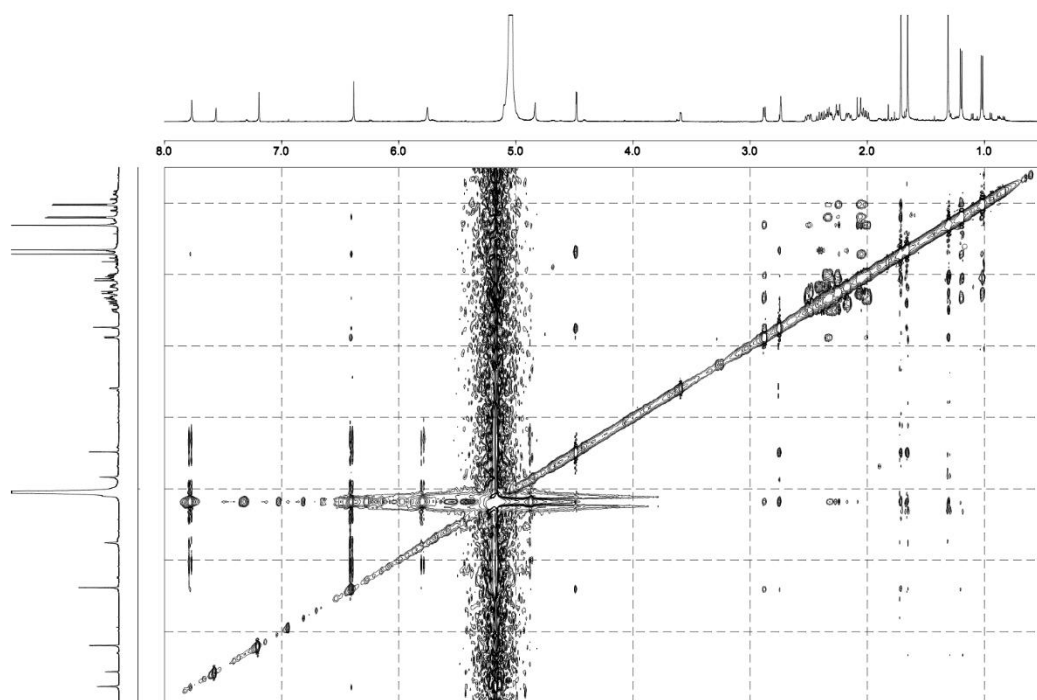


Figure S2.15. NOESY spectrum of cinnassiol D₅ (**3**) in C₅D₅N (500 MHz)

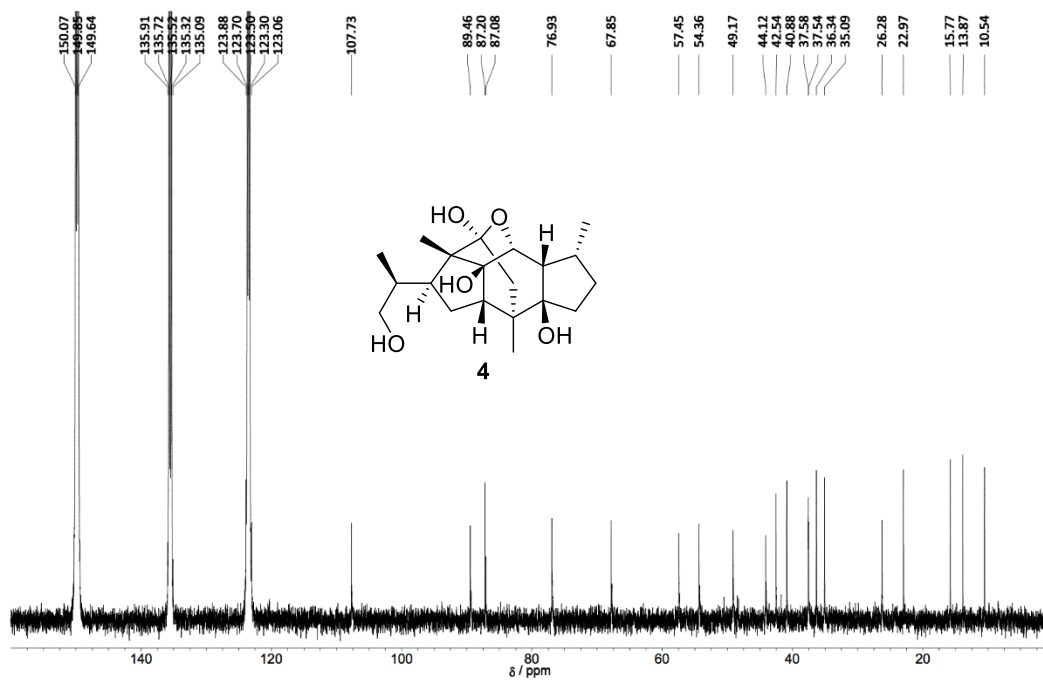


Figure S2.16. ¹³C NMR spectrum of cinnassiol D₆ (**4**) in C₅D₅N (500 MHz).

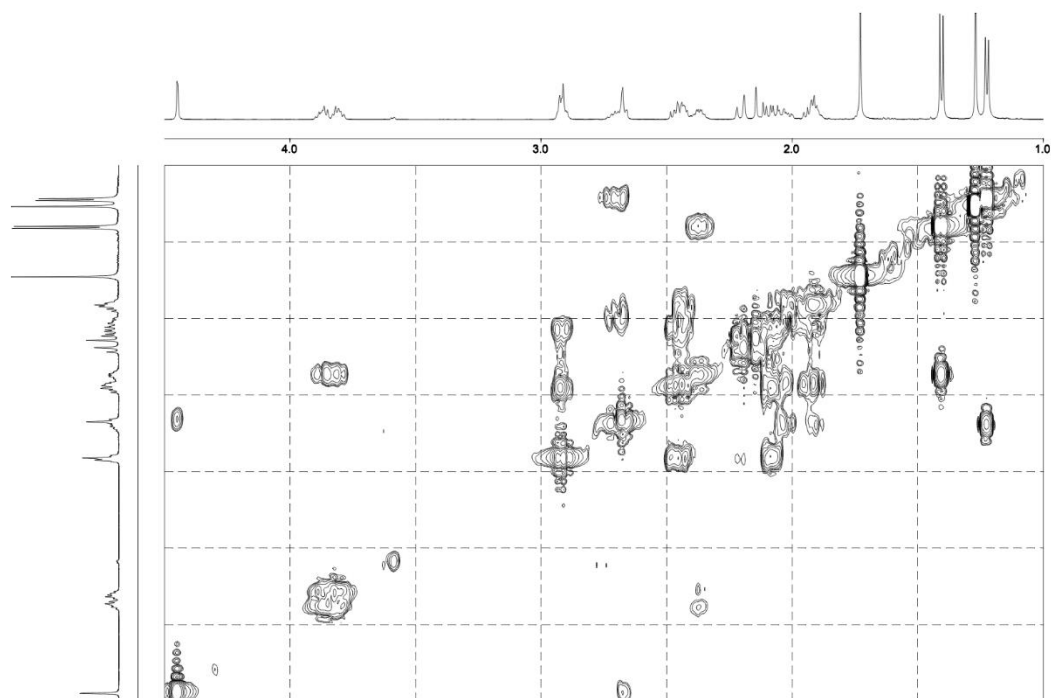


Figure S2.17. ¹H-¹H COSY spectrum of cinnassiol D₆ (**4**) in C₅D₅N (500 MHz).

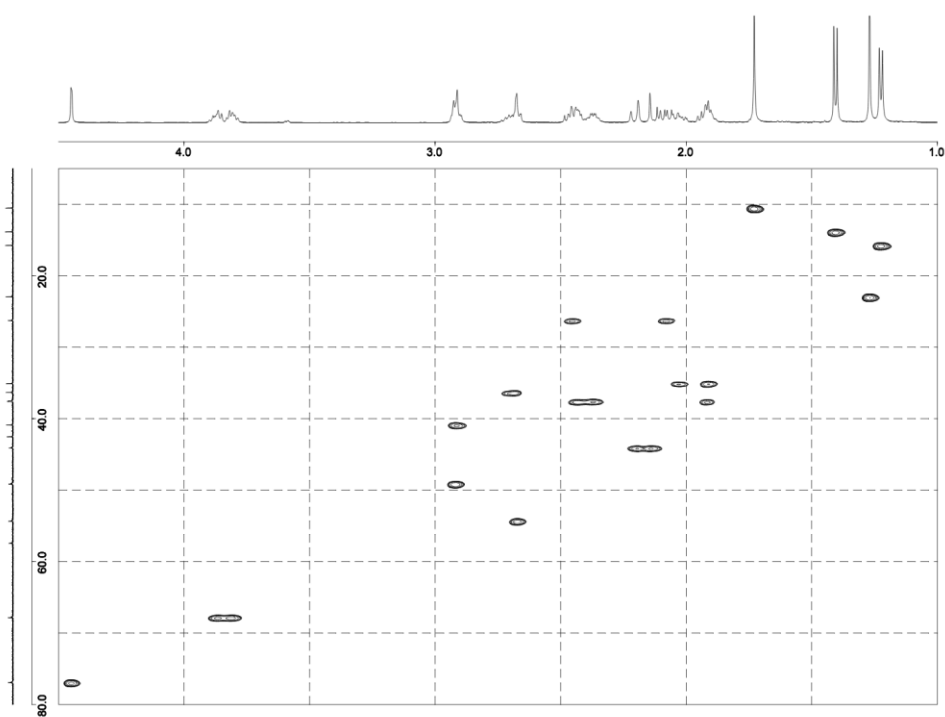


Figure S2.18. HSQC spectrum of cinnassiol D₆ (**4**) in C₅D₅N (500 MHz).

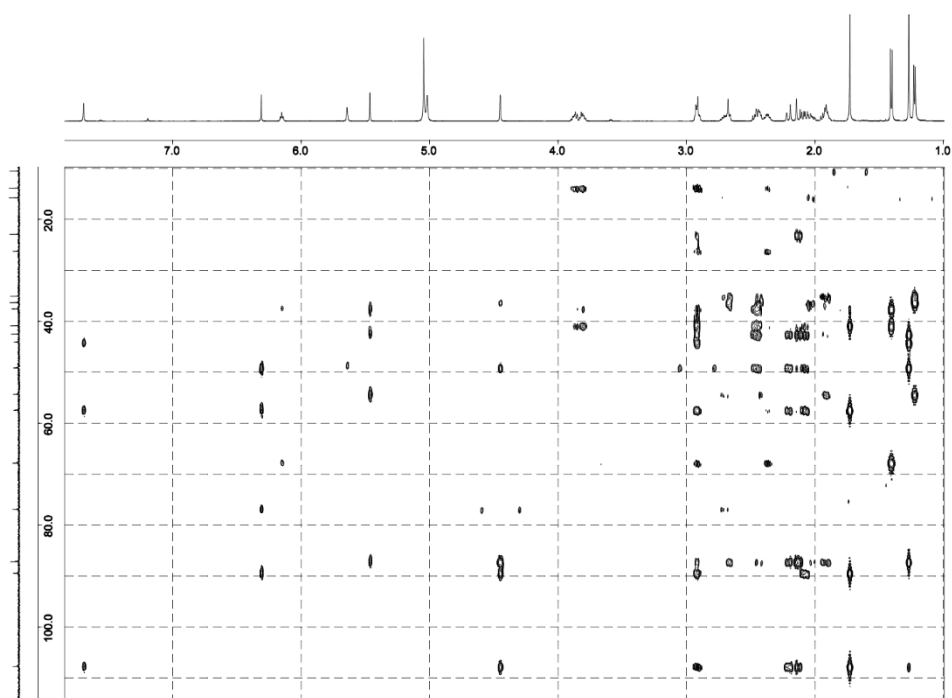


Figure S2.19. HMBC spectrum of cinnassiol D₆ (**4**) in C₅D₅N (500 MHz).

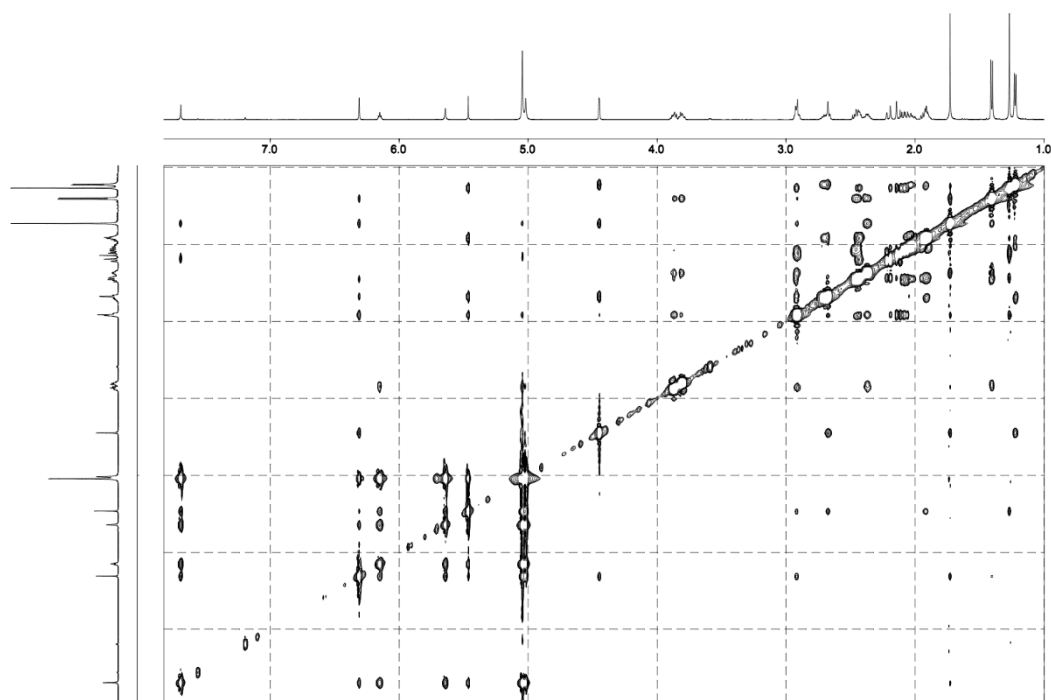


Figure S2.20. NOESY spectrum of cinnassiol D₆ (**4**) in C₅D₅N (500 MHz).

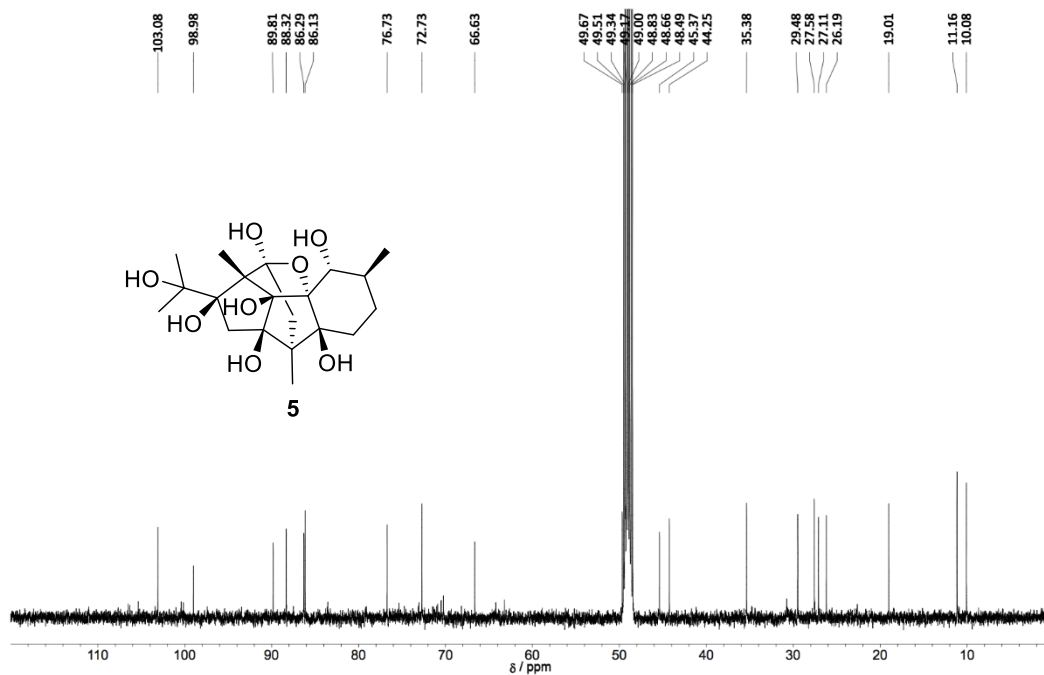


Figure S2.21. ¹³C NMR spectrum of 18-hydroxycinnzeylanol (5) in CD₃OD (500 MHz).

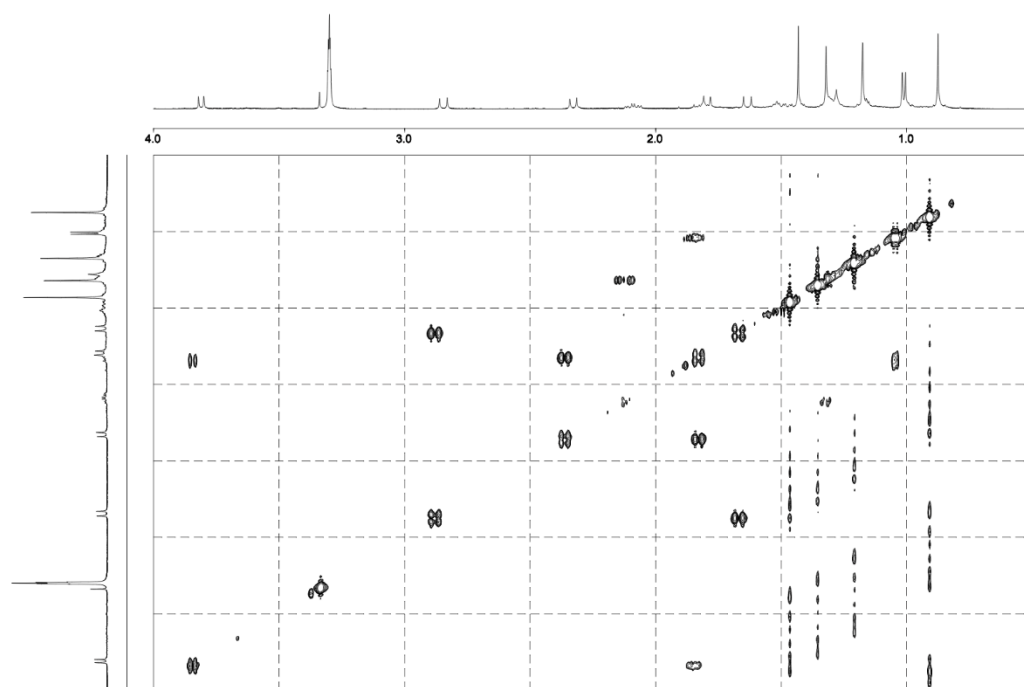


Figure S2.22. ¹H-¹H COSY spectrum of 18-hydroxycinnzeylanol (5) in CD₃OD (500 MHz).

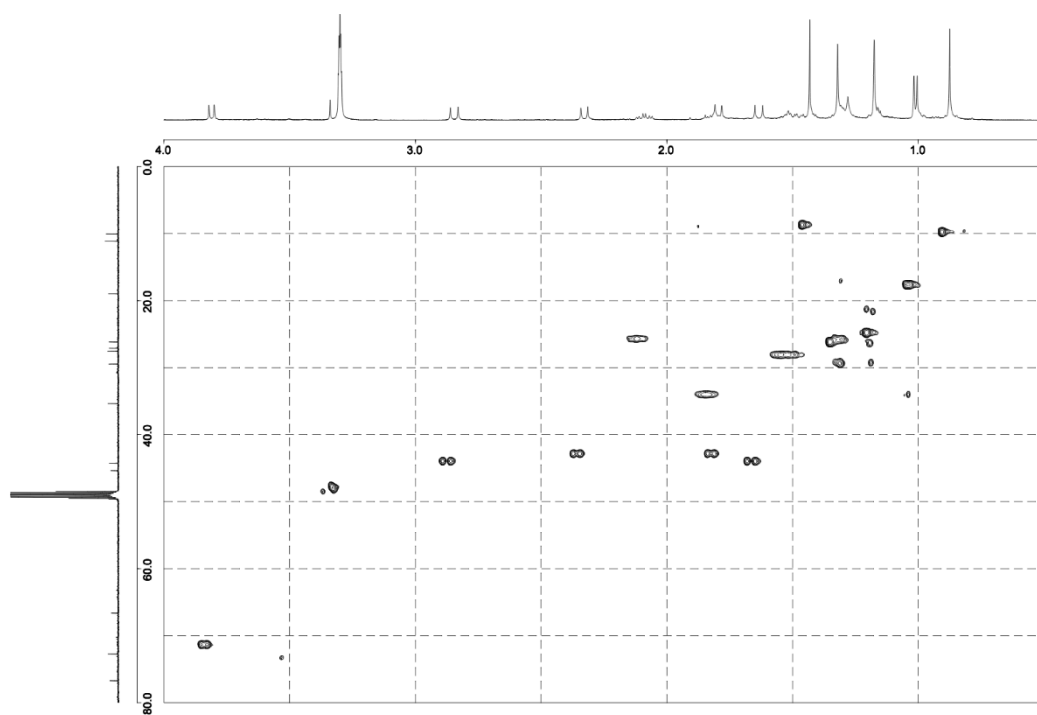


Figure S2.23. HSQC spectrum of 18-hydroxycinnzeylanol (5) in CD₃OD (500 MHz).

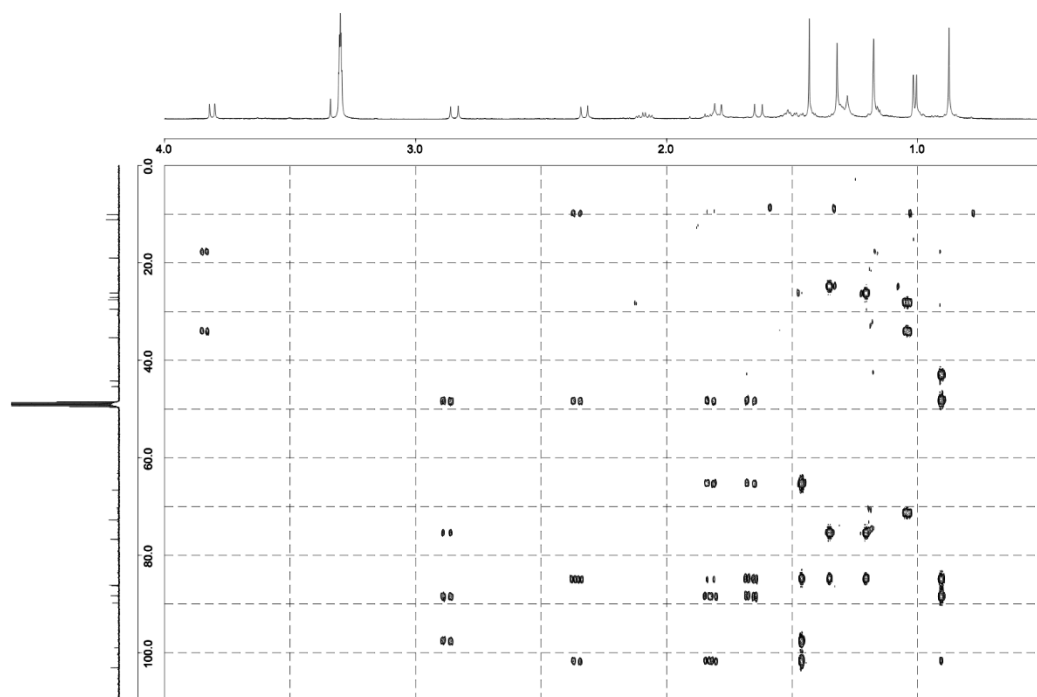


Figure S2.24. HMBC spectrum of 18-hydroxycinnzeylanol (5) in CD₃OD (500 MHz).

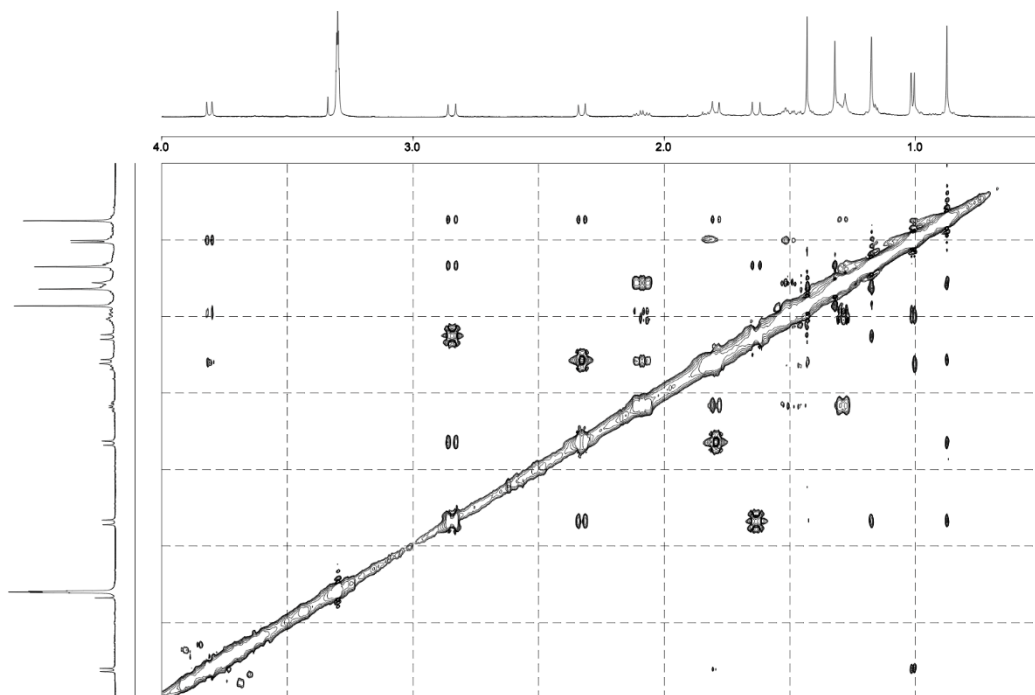


Figure S2.25. NOESY spectrum of 18-hydroxycinnzeylanol (**5**) in CD₃OD (500 MHz).

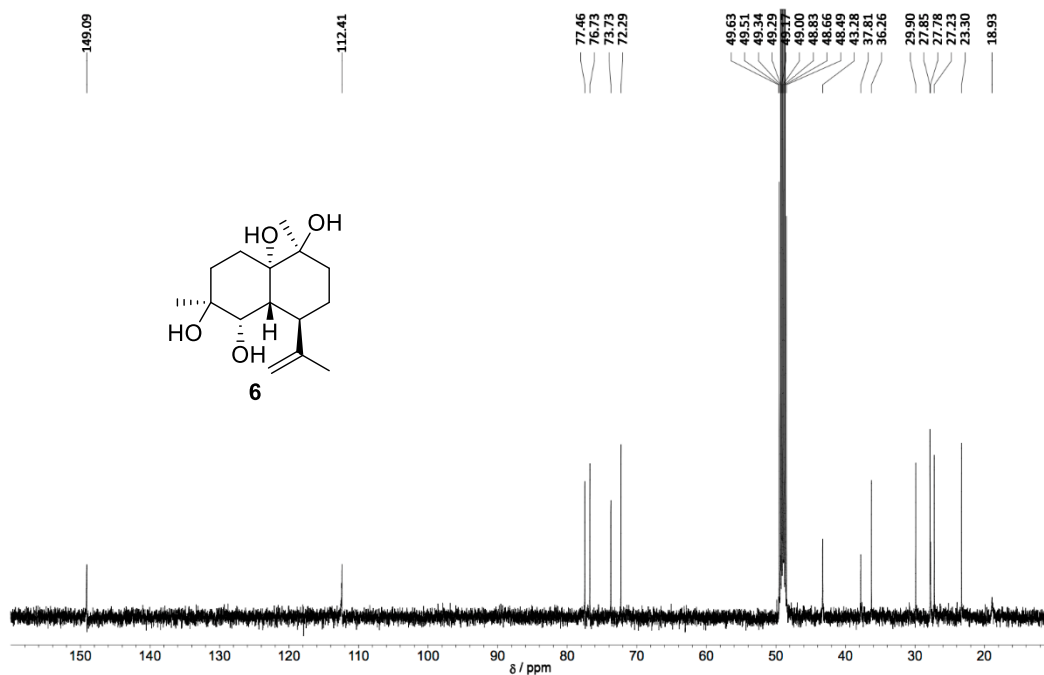


Figure S2.26. ¹³C NMR spectrum of cinnamcassiol A (**6**) in CD₃OD (500 MHz).

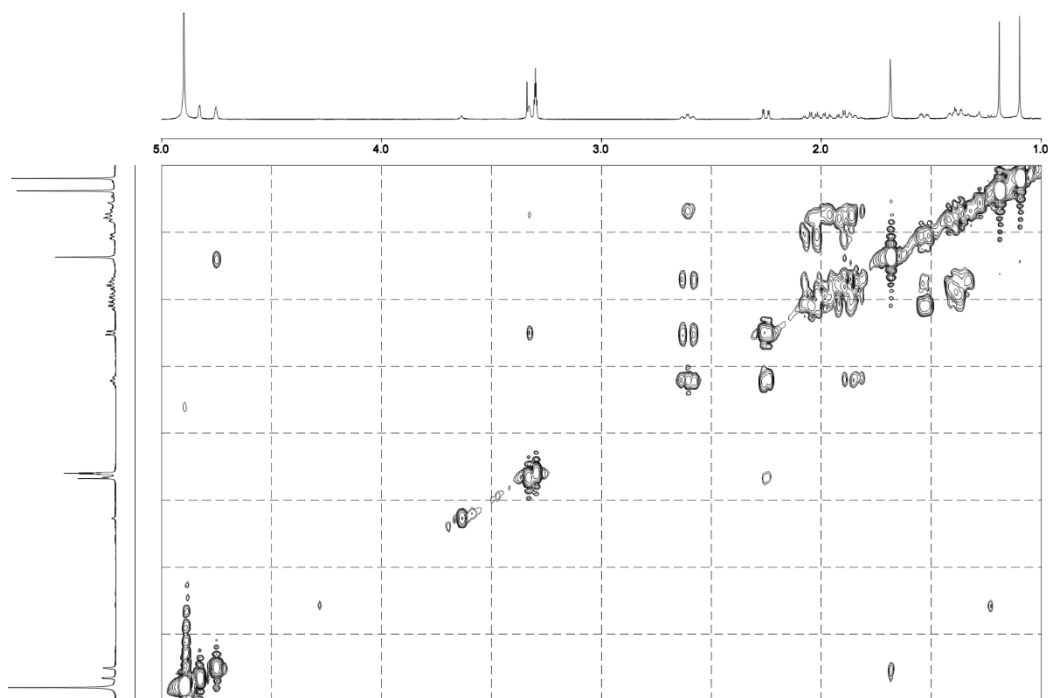


Figure S2.27. ^1H - ^1H COSY spectrum of cinnamcassiol A (**6**) in CD_3OD (500 MHz).

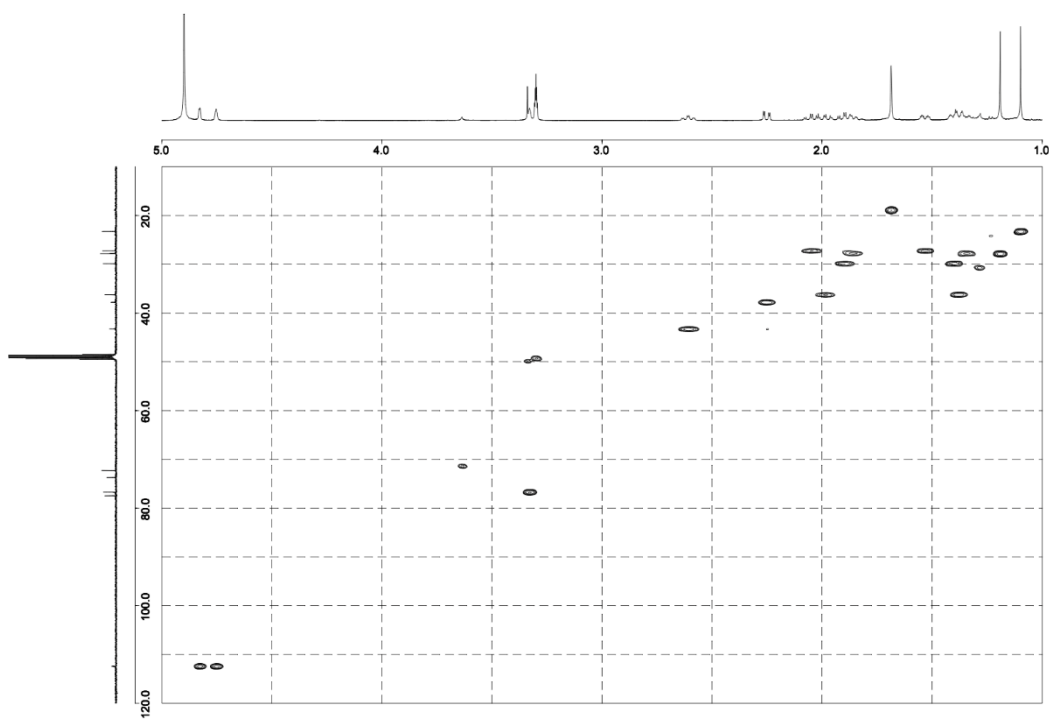


Figure S2.28. HSQC spectrum of cinnamcassiol A (**6**) in CD_3OD (500 MHz).

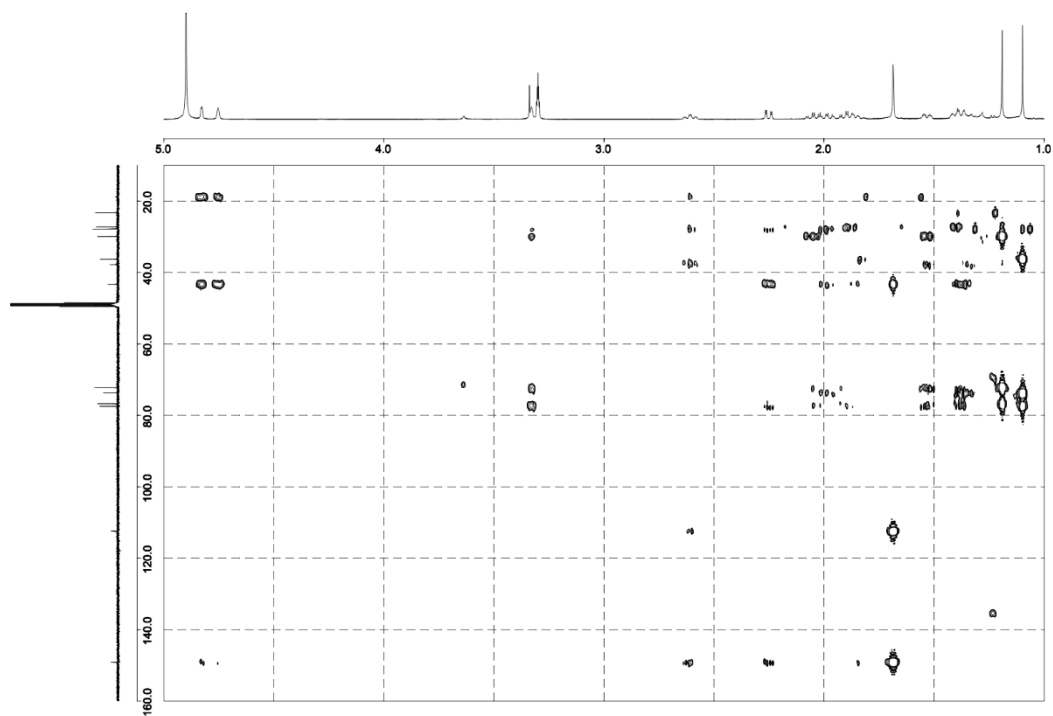


Figure S2.29. HMBC spectrum of cinnamcassiol A (**6**) in CD₃OD (500 MHz).

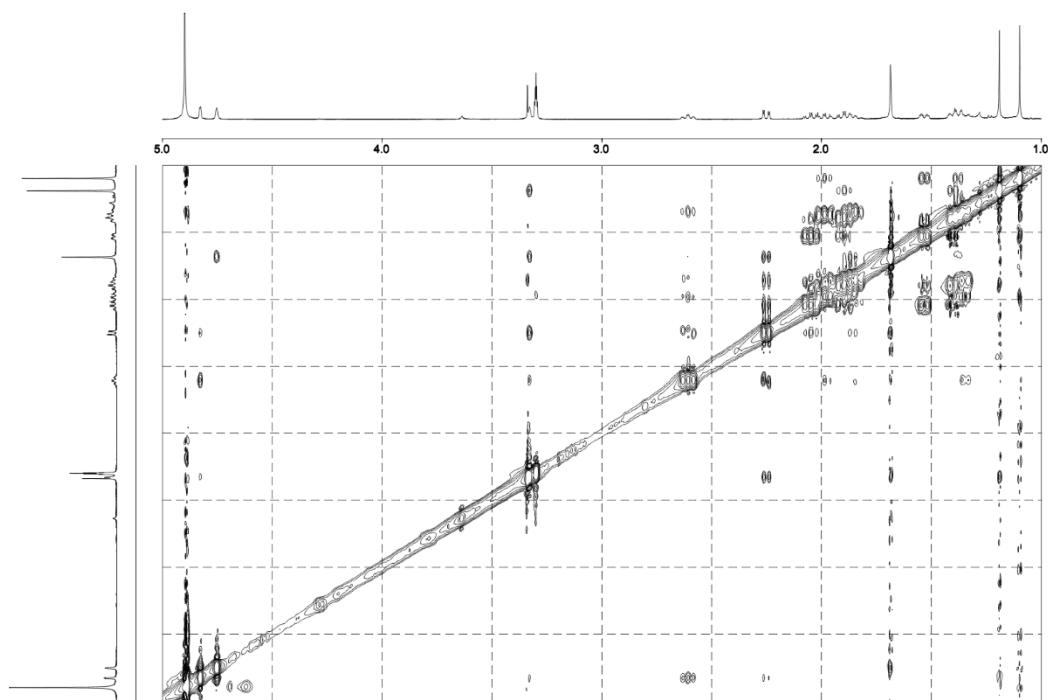


Figure S2.30. NOESY spectrum of cinnamcassiol A (**6**) in CD₃OD (500 MHz).

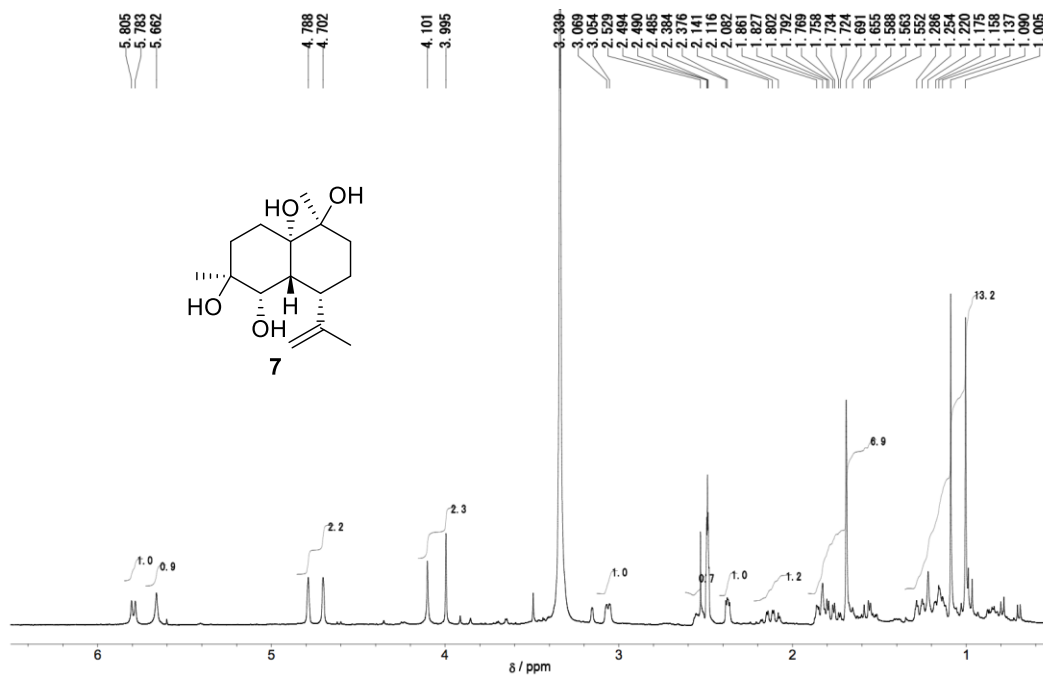


Figure S2.31. ¹H NMR spectrum of cinnamcassiol B (7) in DMSO-*d*₆ (500 MHz).

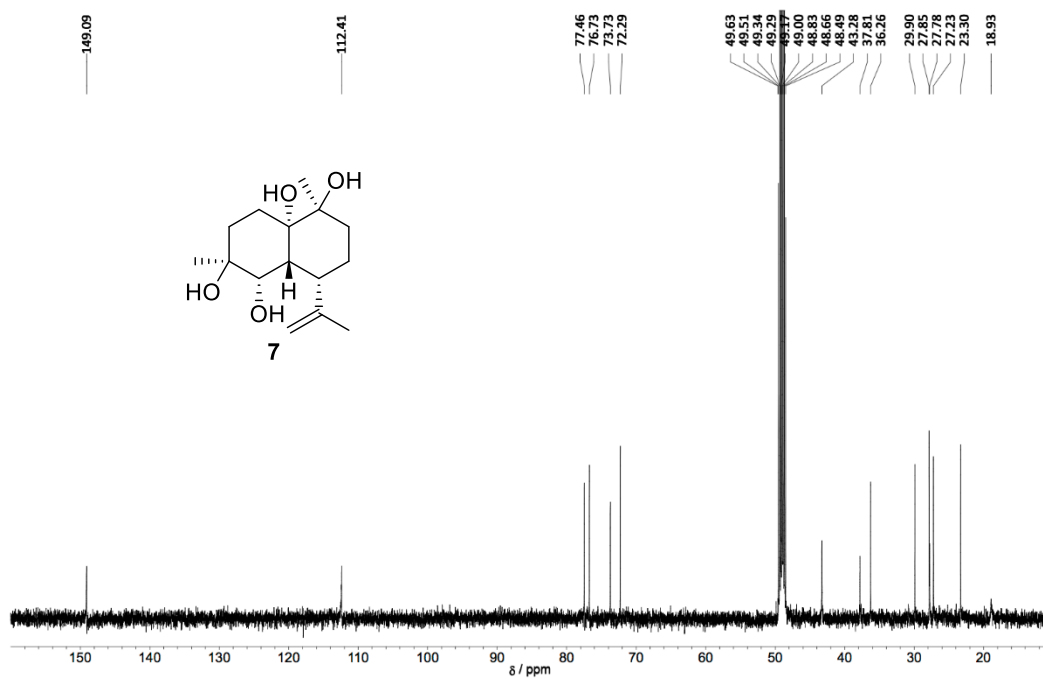


Figure S2.32. ¹³C NMR spectrum of cinnamcassiol B (7) in CD₃OD (500 MHz).

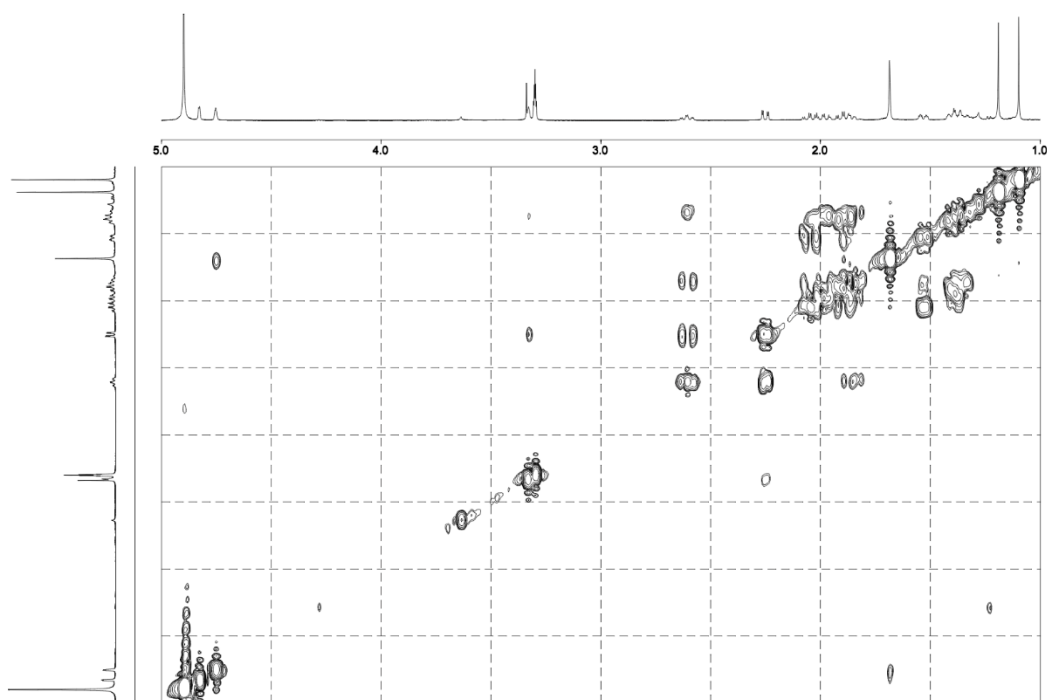


Figure S2.33. ^1H - ^1H COSY spectrum of cinnamcassiol B (**7**) in CD_3OD (500 MHz).

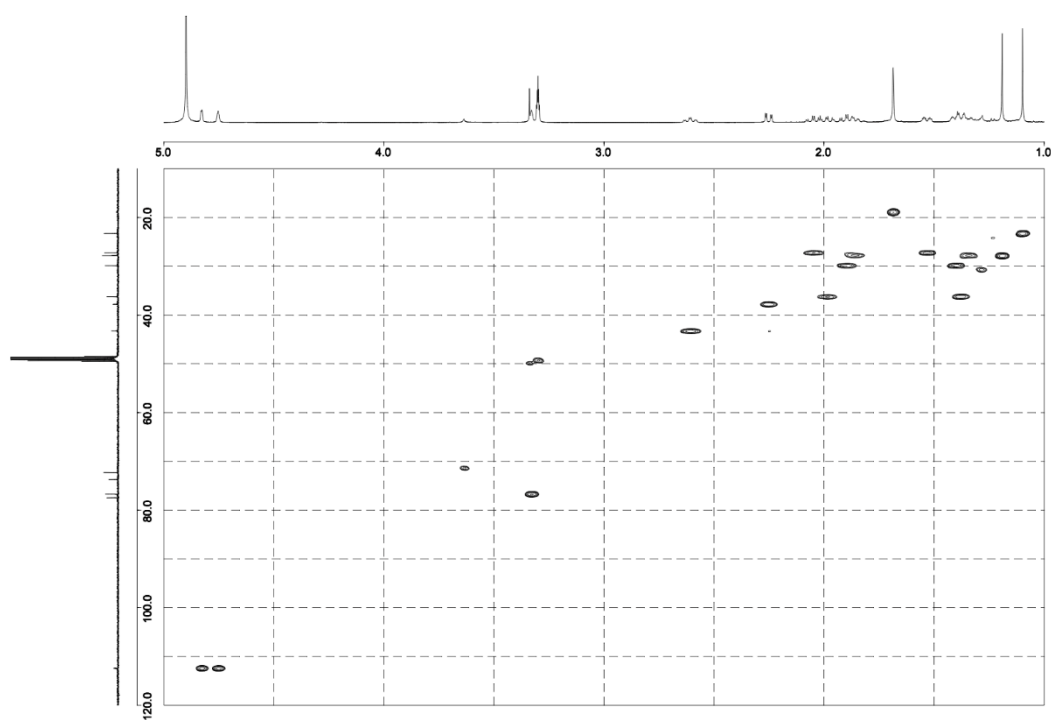


Figure S2.34. HSQC spectrum of cinnamcassiol B (**7**) in CD_3OD (500 MHz).

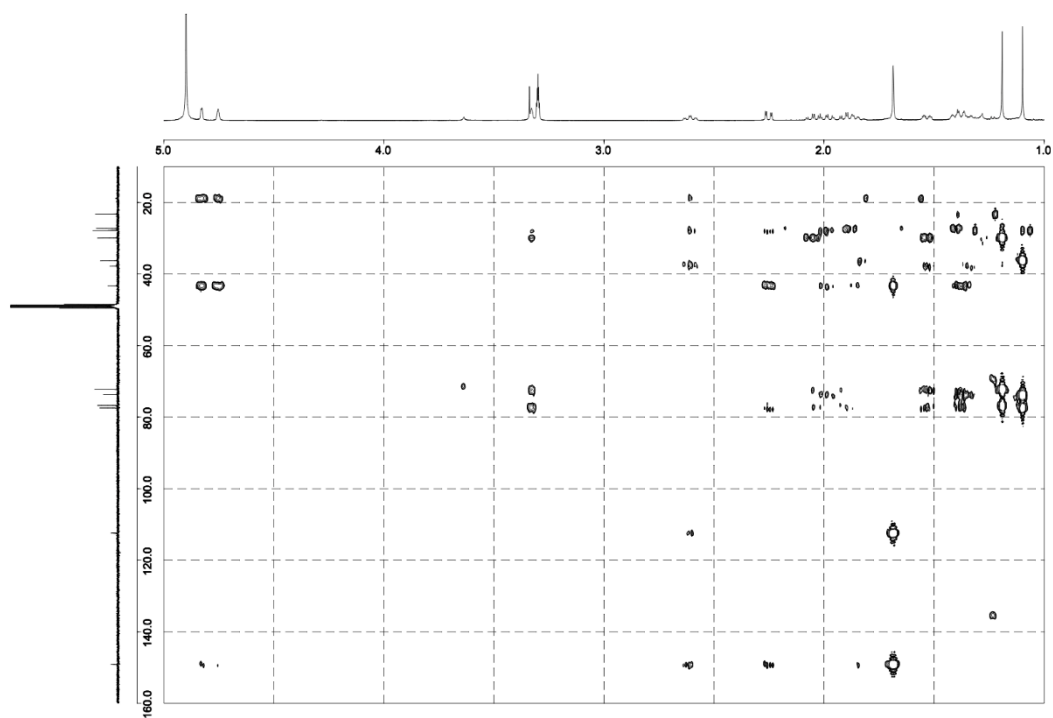


Figure S2.35. HMBC spectrum of cinnamcassiol B (7) in CD₃OD (500 MHz).

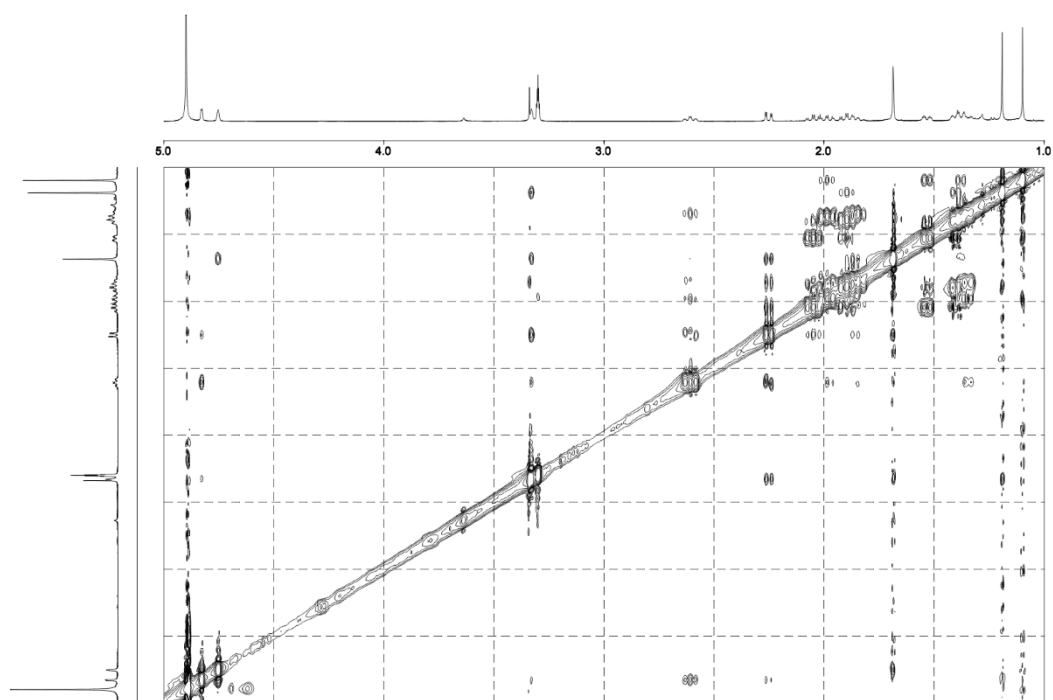


Figure S2.36. NOESY spectrum of cinnamcassiol B (7) in CD₃OD (500 MHz).

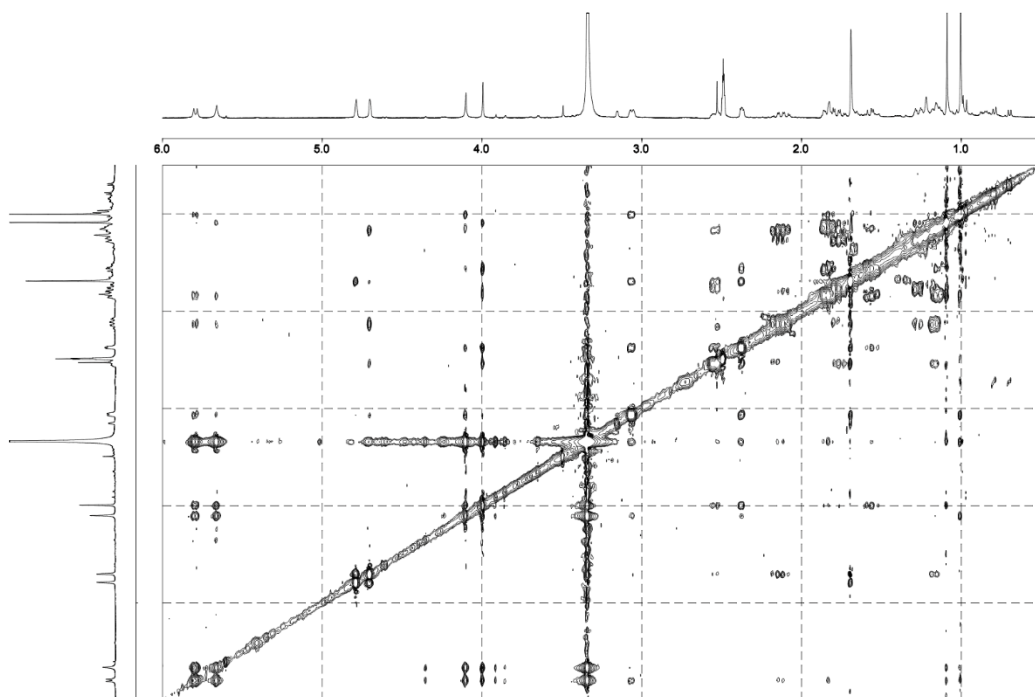


Figure S2.37. NOESY spectrum of cinnamcassiol B (7) in DMSO- d_6 (500 MHz).

Supplementary Data (Chapter 3)

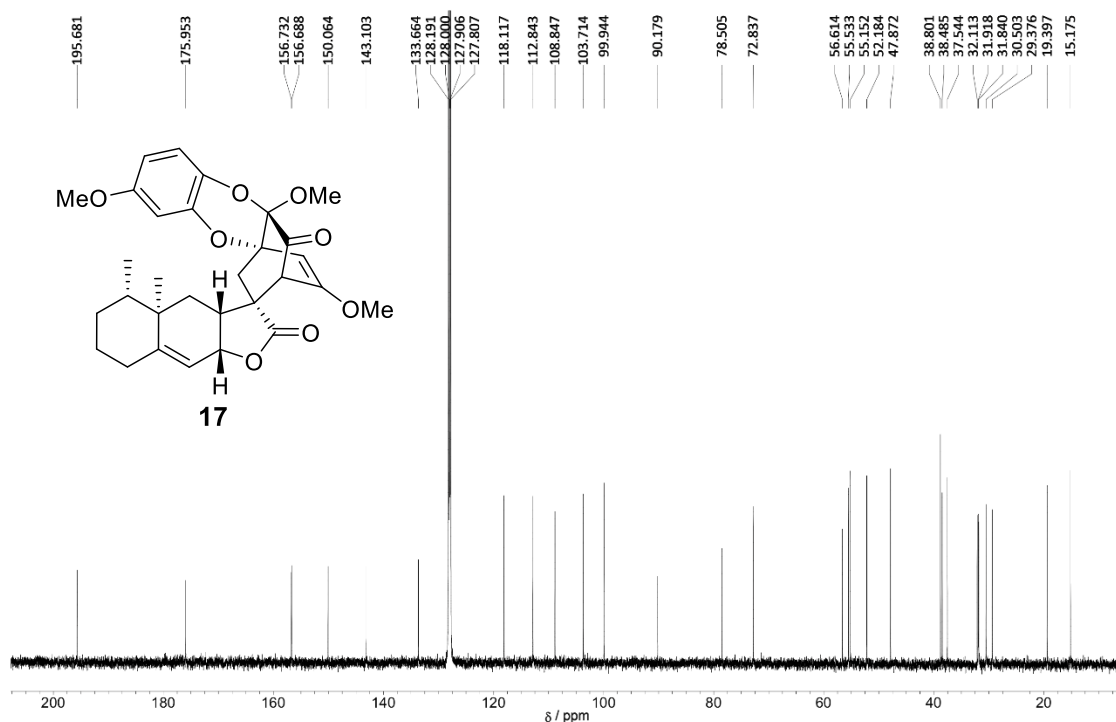


Figure S3.1. ^{13}C NMR spectrum of hyperdioxane A (17) in C_6D_6 (125 MHz).

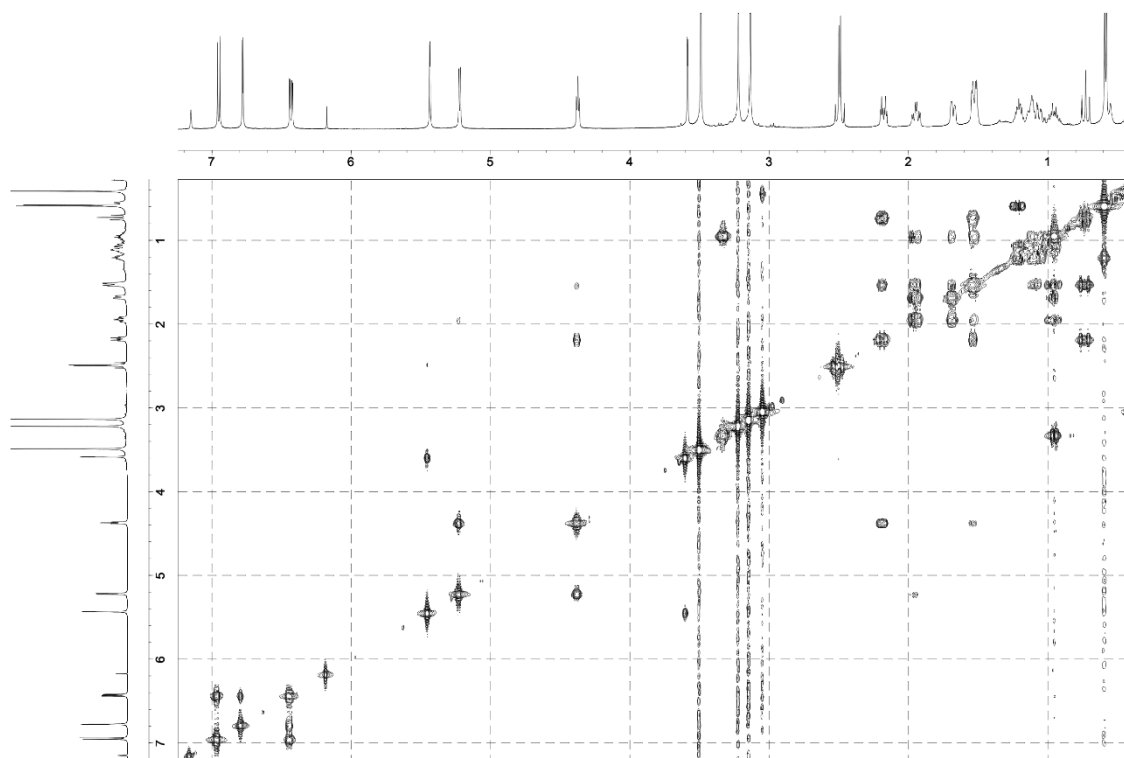


Figure S3.2. ^1H - ^1H COSY spectrum of hyperdioxane A (17) in C_6D_6 (500 MHz).

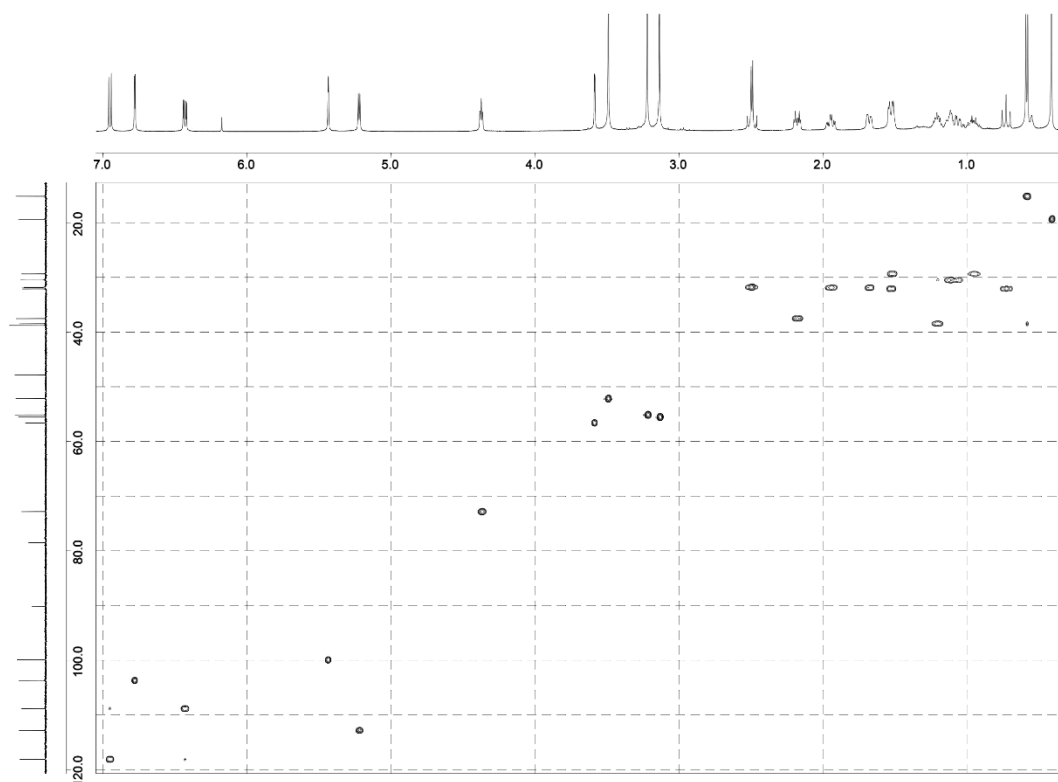


Figure S3.3. HSQC spectrum of hyperdioxane A (**17**) in C₆D₆ (500 MHz).

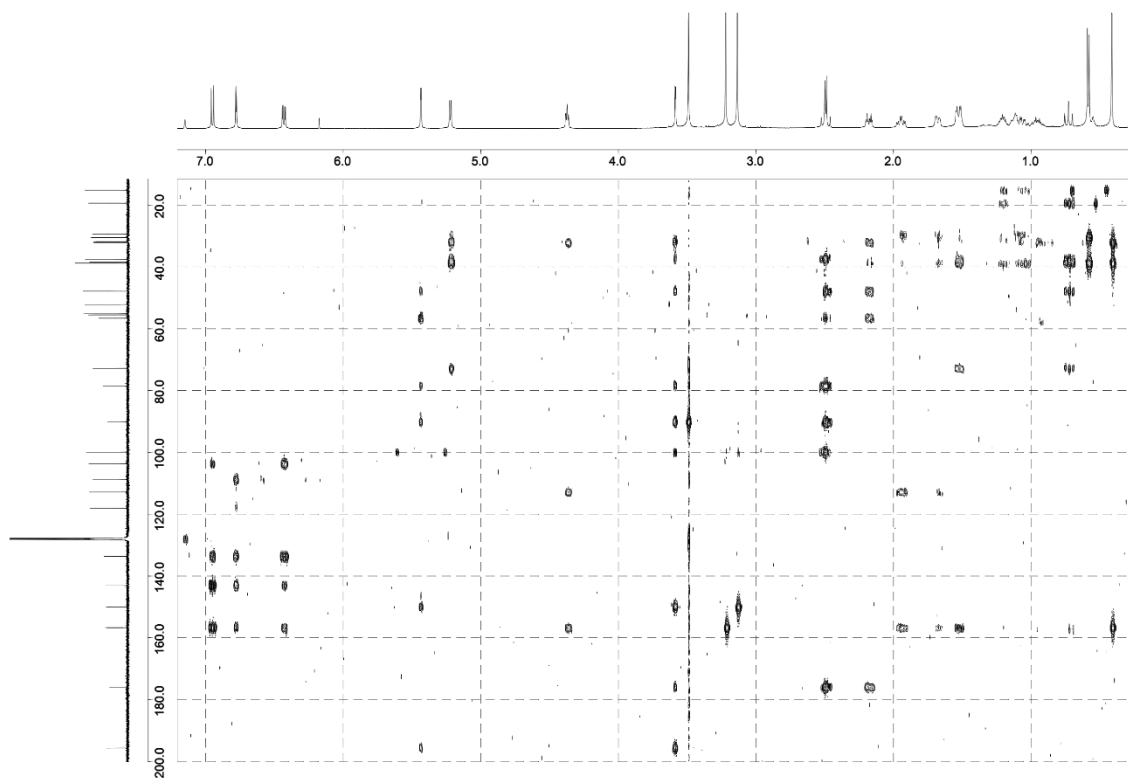


Figure S3.4. HMBC spectrum of hyperdioxane A (**17**) in C₆D₆ (500 MHz).

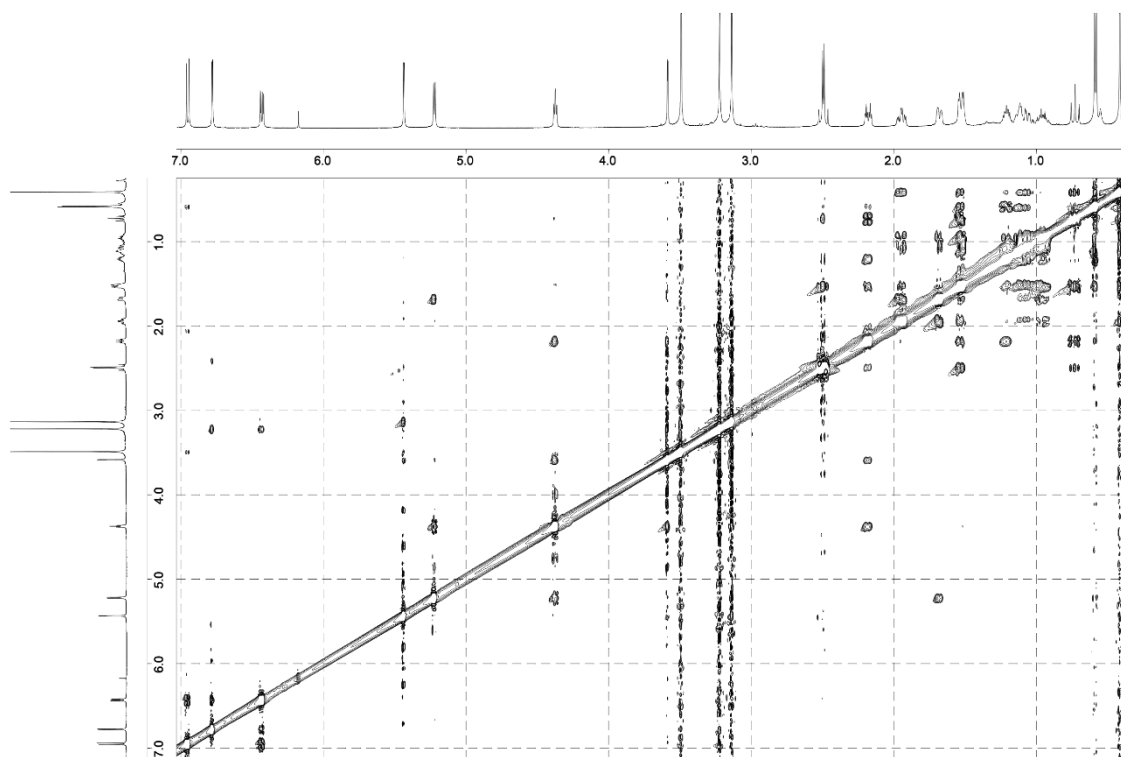


Figure S3.5. ROESY spectrum of hyperdioxane A (17) in C_6D_6 (500 MHz).

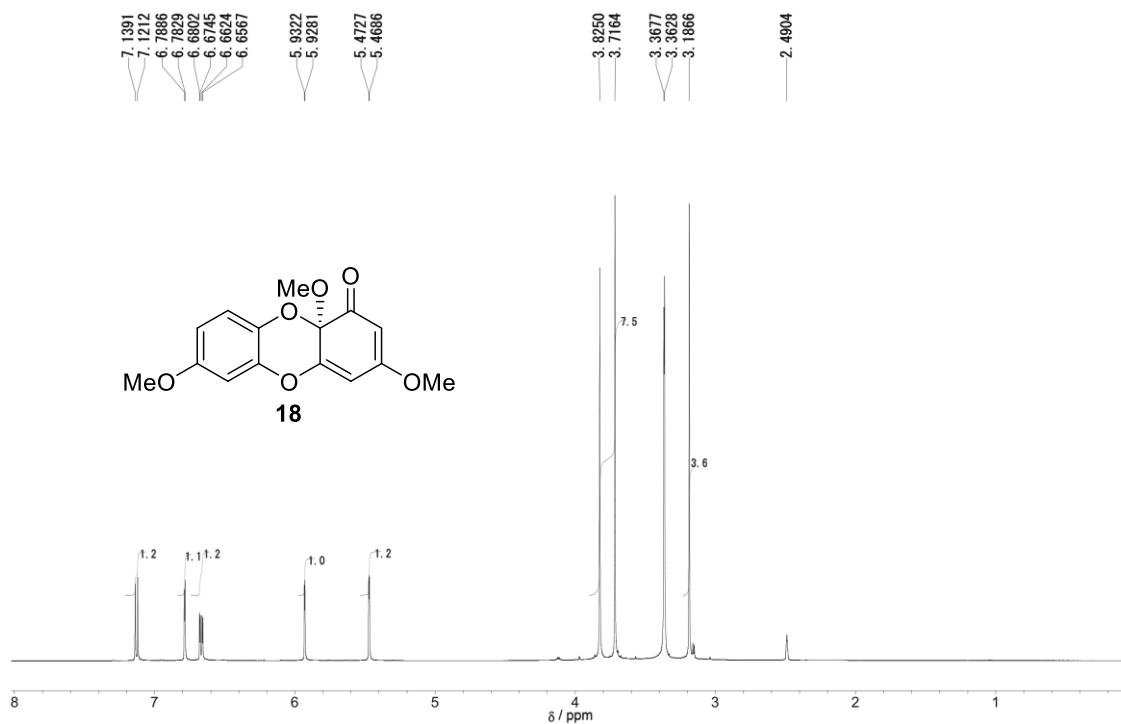


Figure S3.6. 1H NMR spectrum of hyperdioxane B (18) in $DMSO-d_6$ (500 MHz).

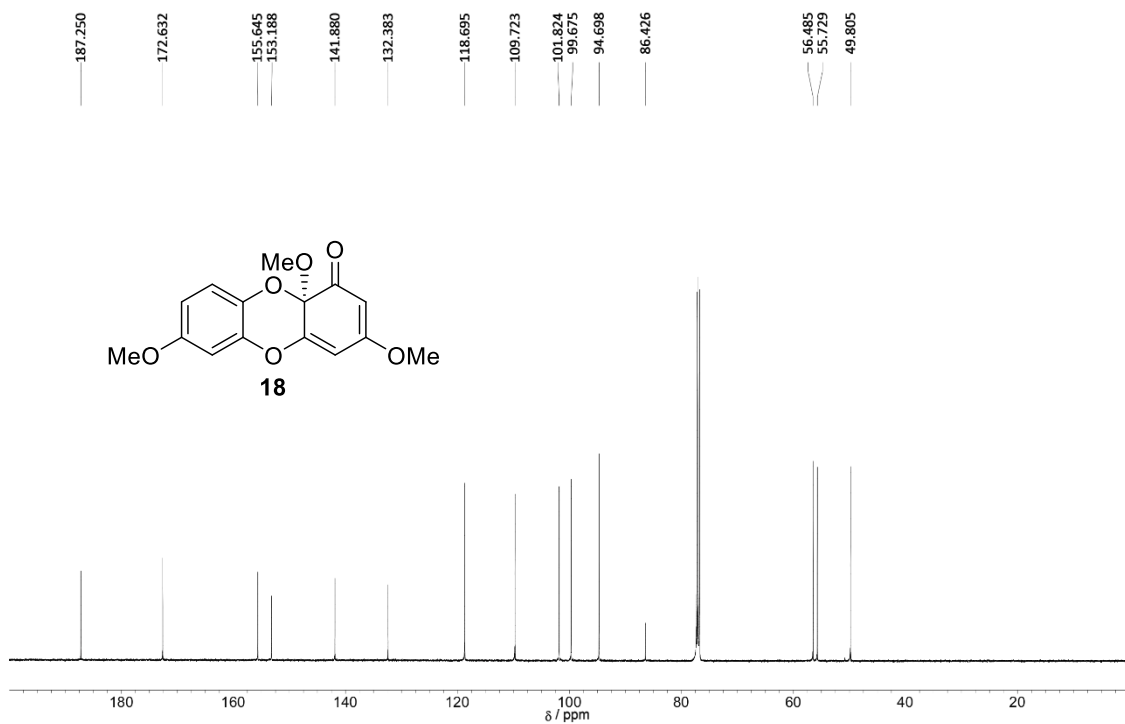


Figure S3.7. ¹³C NMR spectrum of hyperdioxane B (**18**) in CDCl₃ (125 MHz).

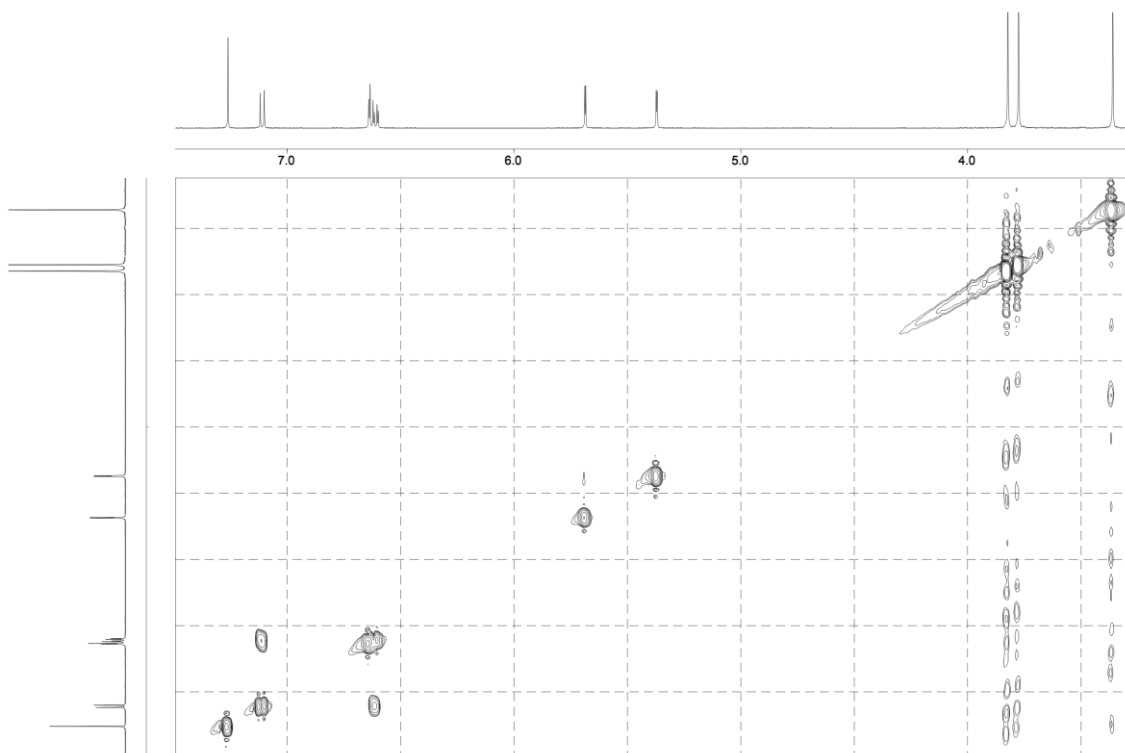


Figure S3.8. ¹H-¹H COSY spectrum of hyperdioxane B (**18**) in CDCl₃ (500 MHz).

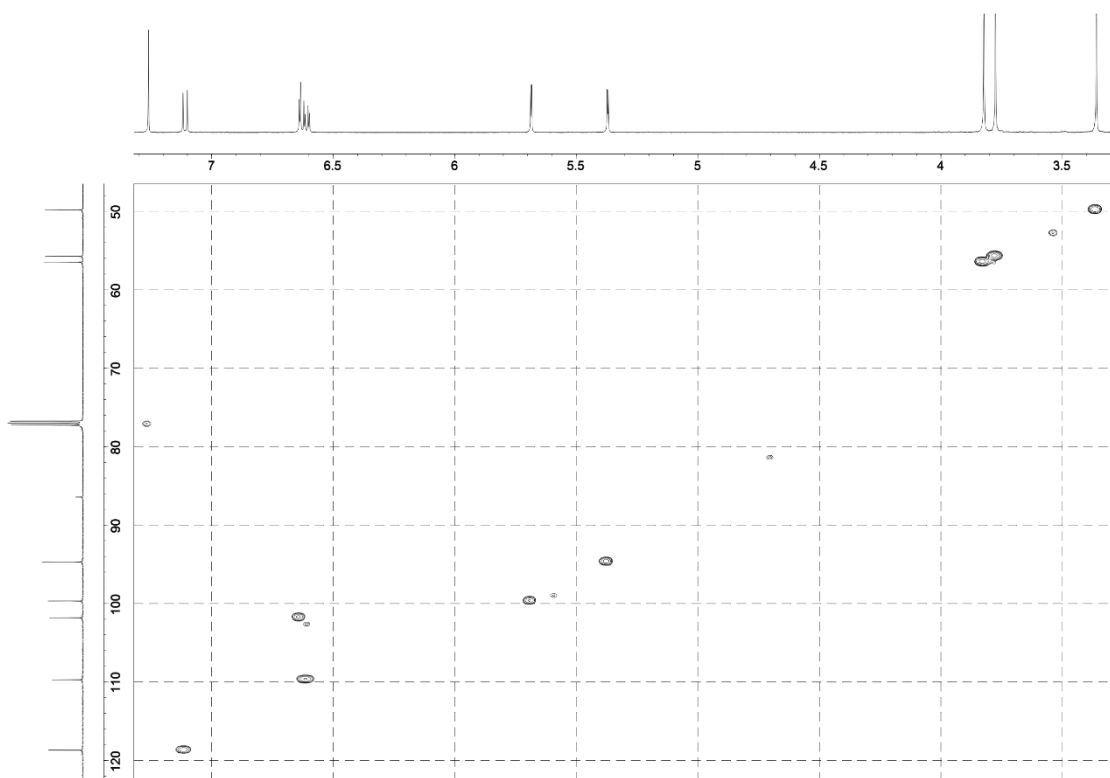


Figure S3.9. HSQC spectrum of hyperdioxane B (**18**) in CDCl_3 (500 MHz).

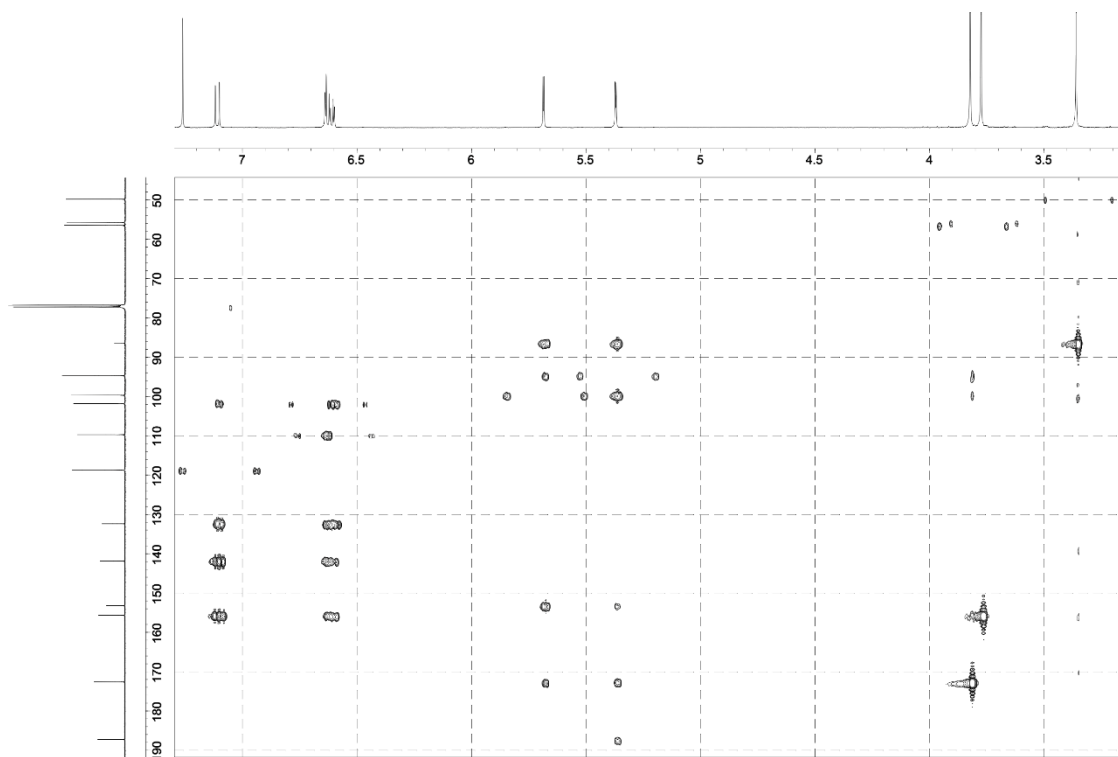


Figure S3.10. HMBC spectrum of hyperdioxane B (**18**) in CDCl_3 (500 MHz).

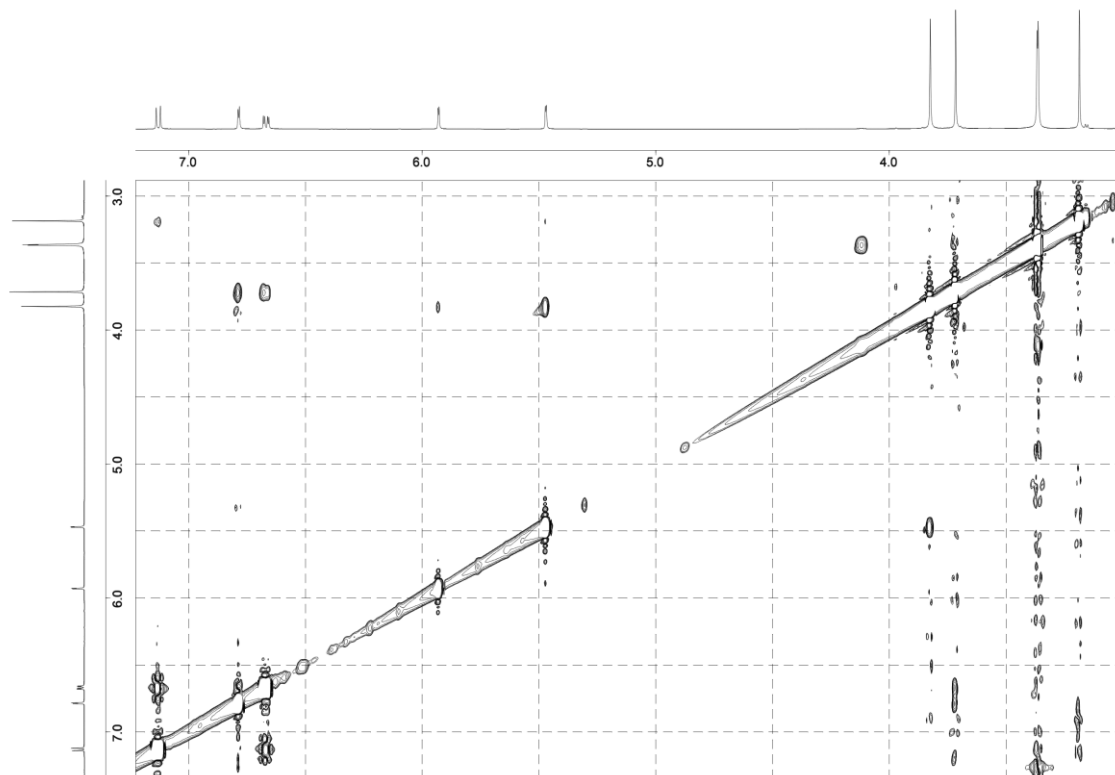


Figure S3.11. NOESY spectrum of hyperdioxane B (**18**) in DMSO- d_6 (500 MHz).

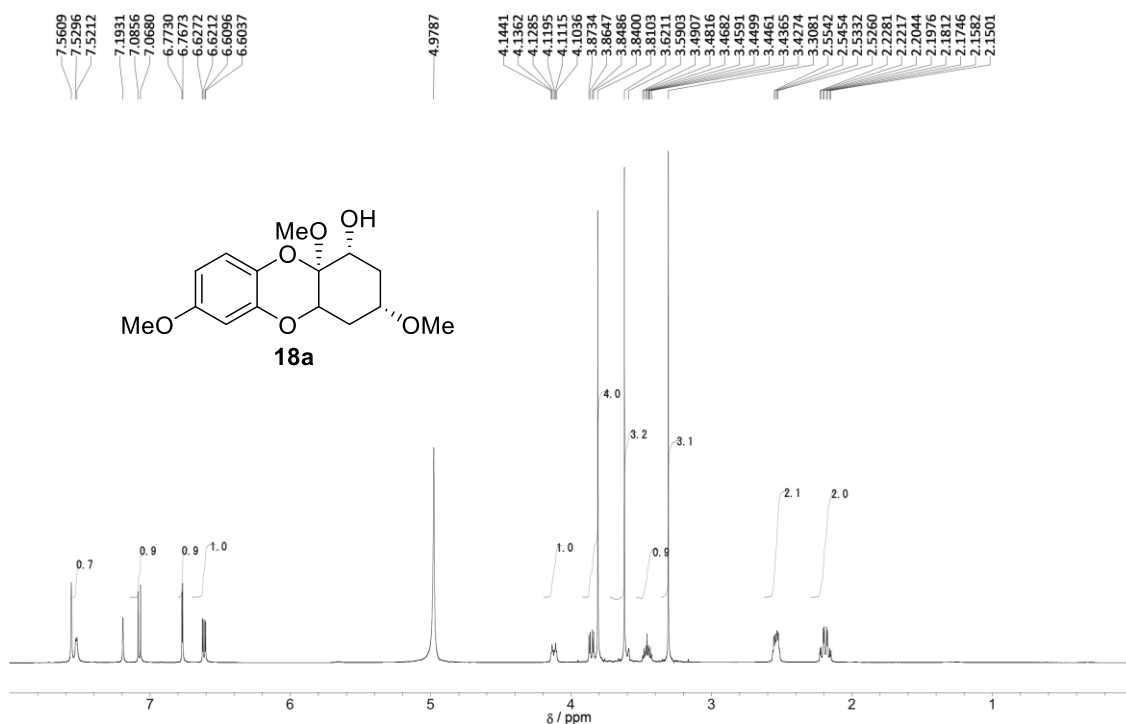


Figure S3.12. ^1H NMR spectrum of hexahydrohyperdioxane B (**18a**) in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (500 MHz).

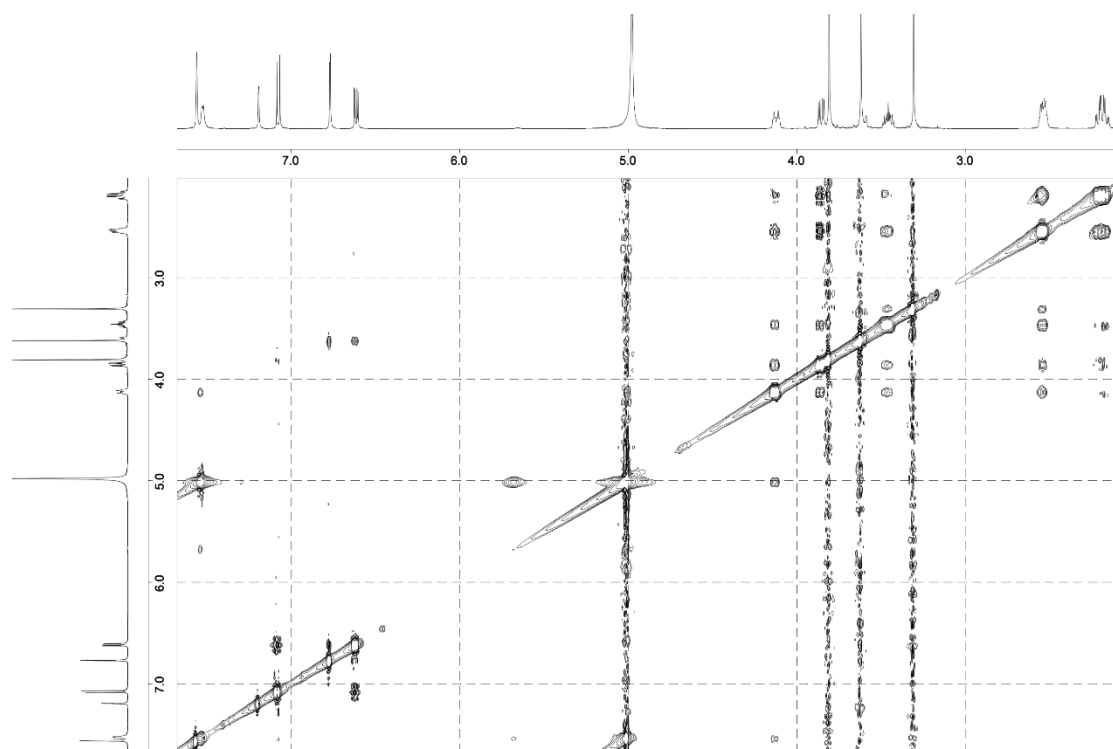


Figure S3.13. NOESY spectrum of hexahydrohyperdioxane B (**18a**) in C_5D_5N (500 MHz).

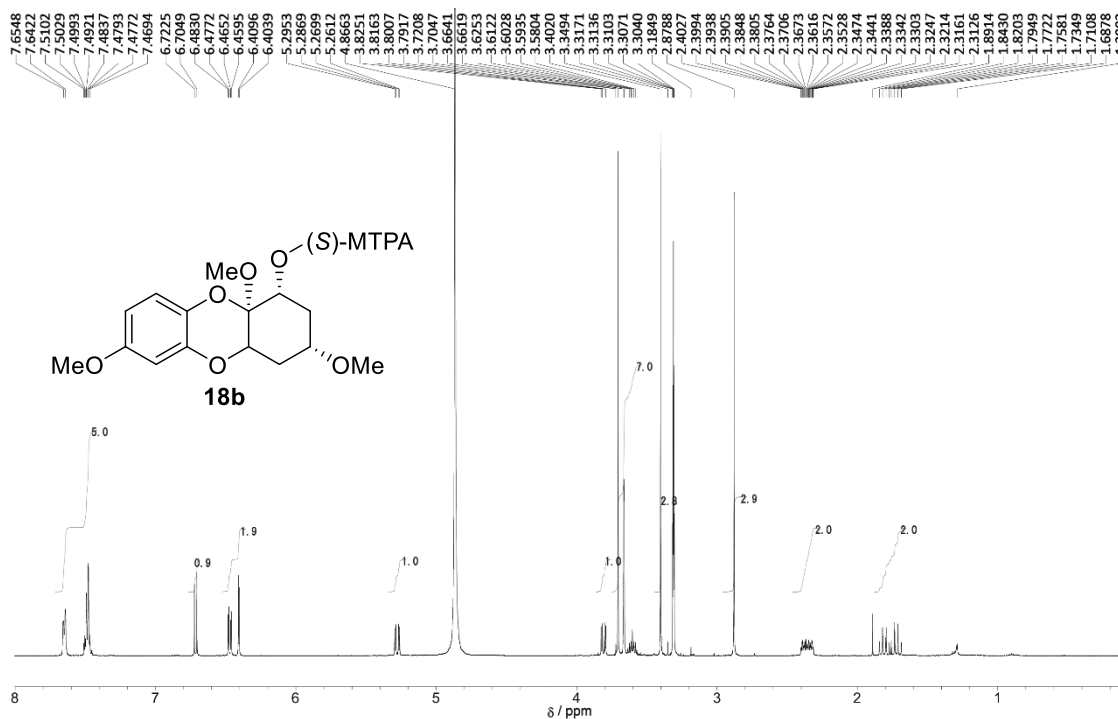


Figure S3.14. 1H NMR spectrum of (*S*)-MTPA ester (**18b**) of hexahydrohyperdioxane B in CD_3OD (500 MHz).

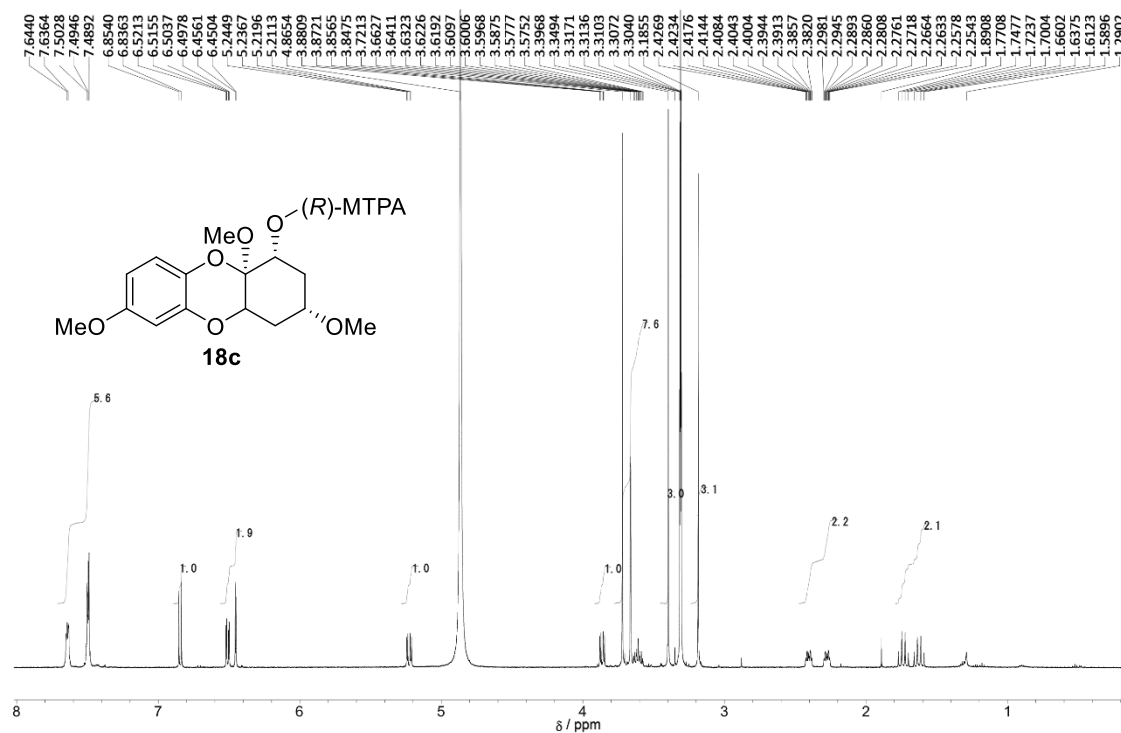


Figure S3.15. ^1H NMR spectrum of (*R*)-MTPA ester (**18c**) of hexahydrohyperdioxane B in CD_3OD (500 MHz).

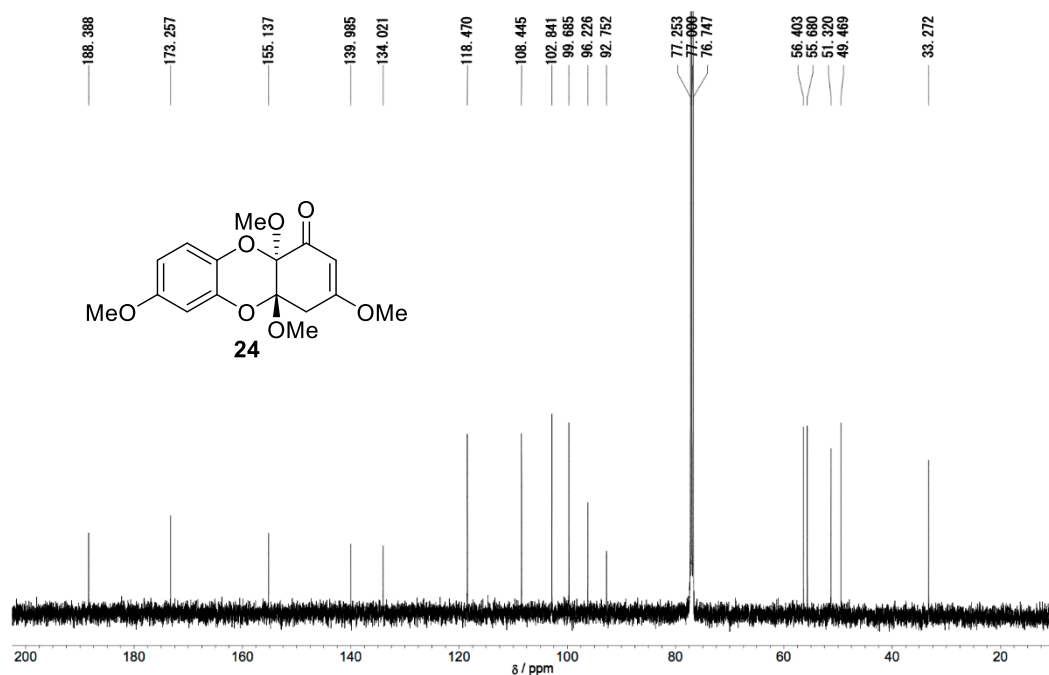


Figure S3.16. ^{13}C NMR spectrum of (+)-sampsone B (**24**) in CDCl_3 (125 MHz).

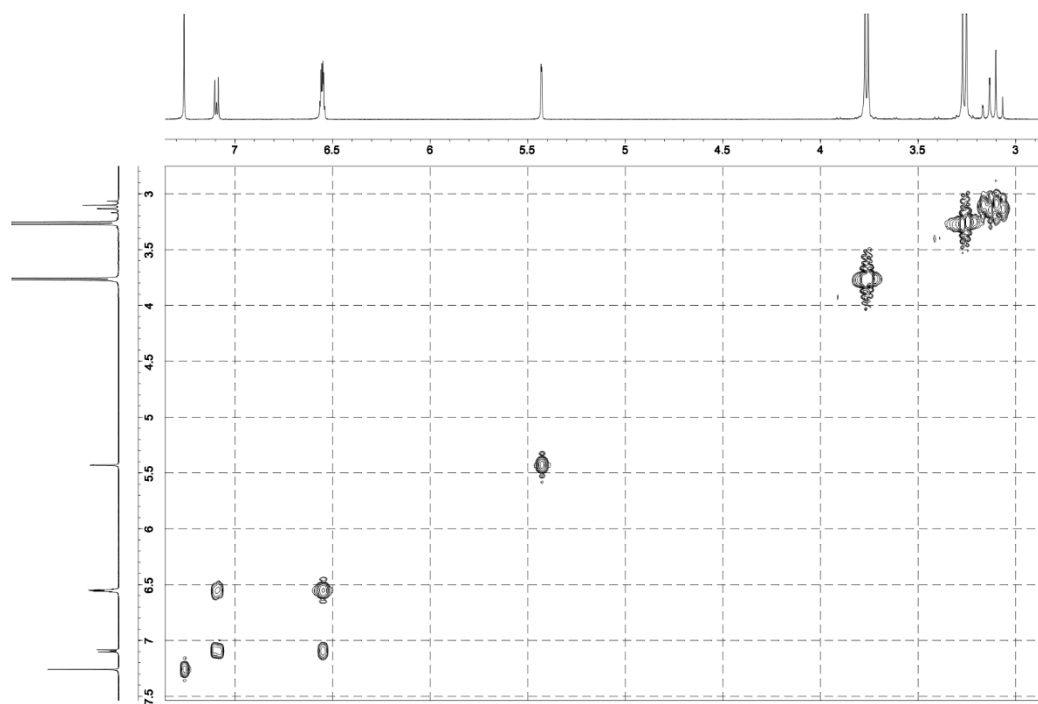


Figure S3.17. ^1H - ^1H COSY spectrum of (+)-sampsone B (**24**) in CDCl_3 (500 MHz).

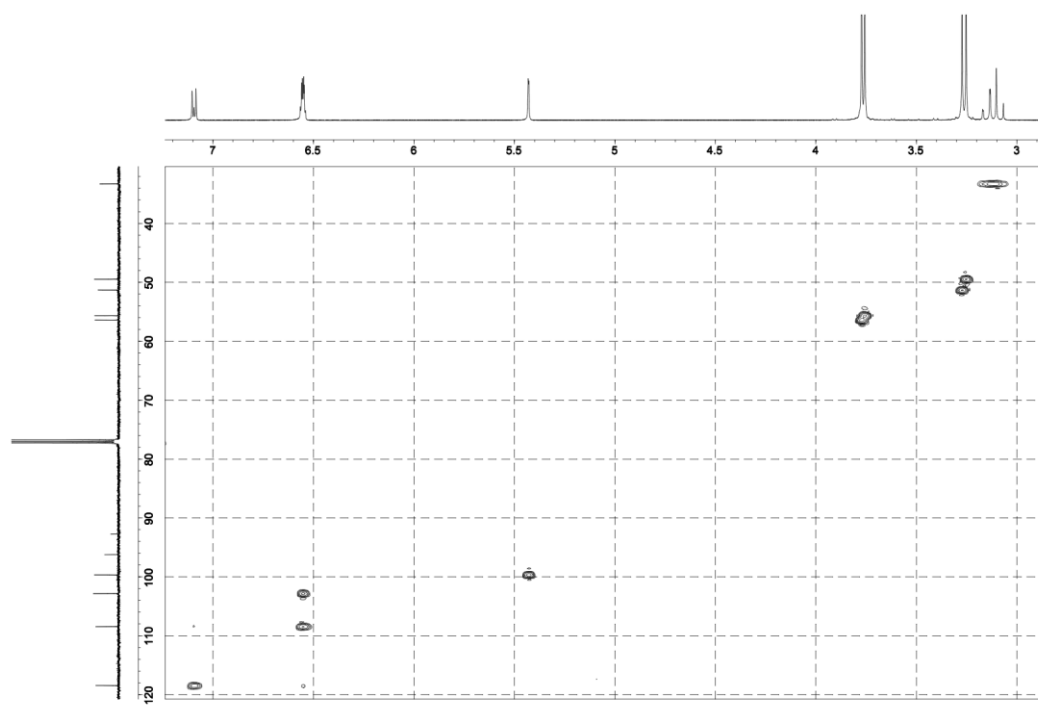


Figure S3.18. HSQC spectrum of (+)-sampsone B (**24**) in CDCl_3 (500 MHz).

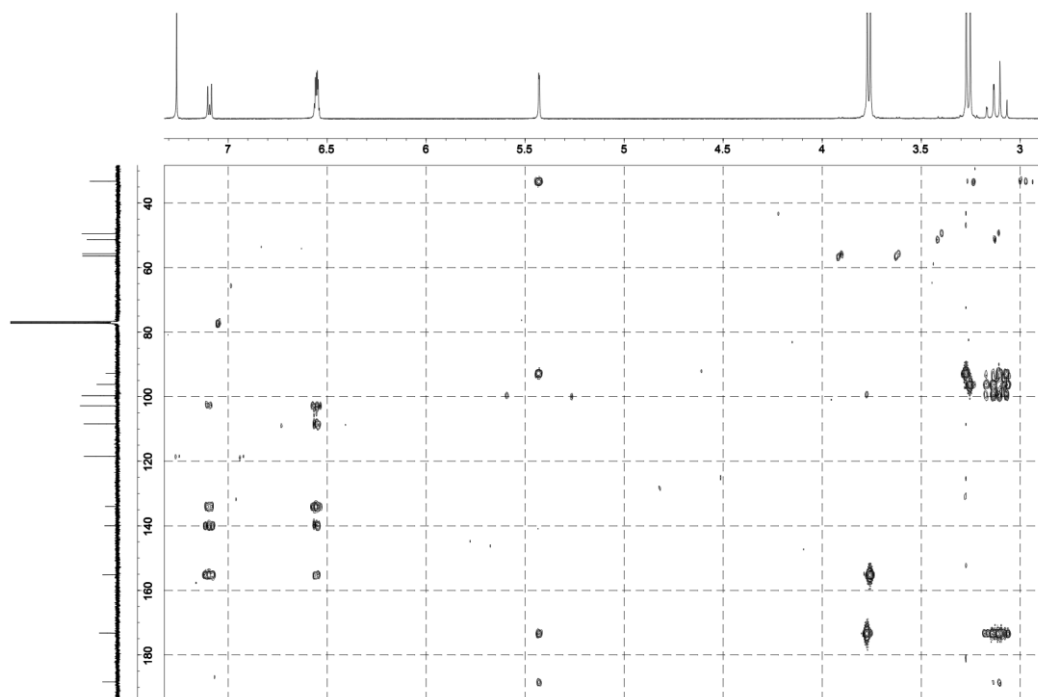


Figure S3.19. HMBC spectrum of (+)-sampsone B (**24**) in CDCl_3 (500 MHz).

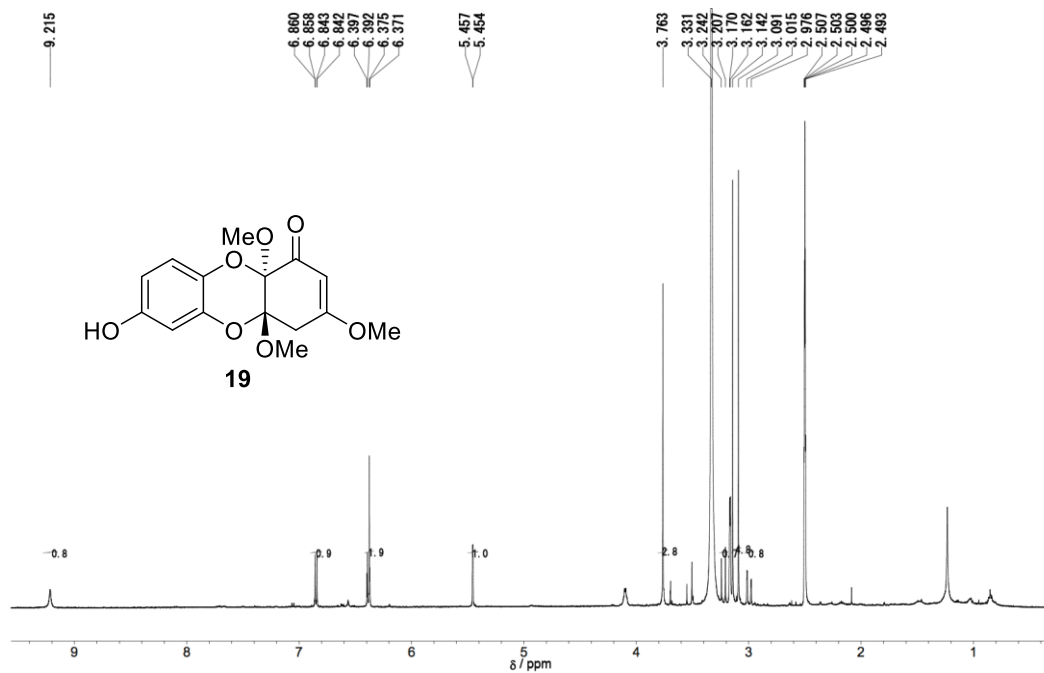


Figure S3.20. ^1H NMR spectrum of hyperdioxane C (**19**) in $\text{DMSO}-d_6$ (500 MHz).

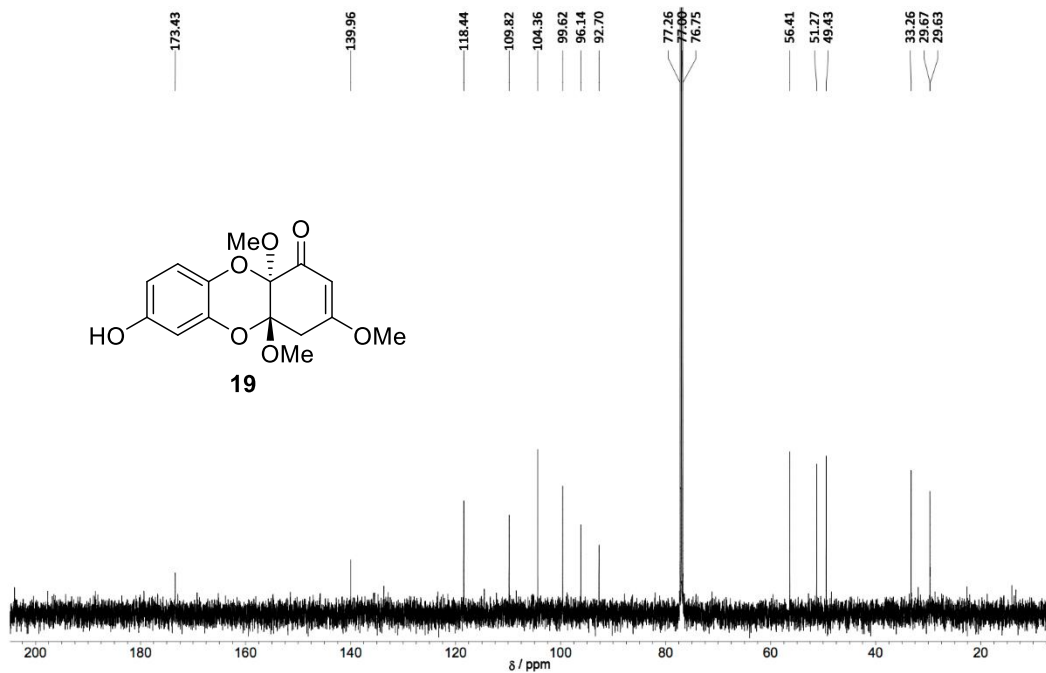


Figure S3.21. ¹³C NMR spectrum of hyperdioxane C (19) in CDCl₃ (125 MHz).

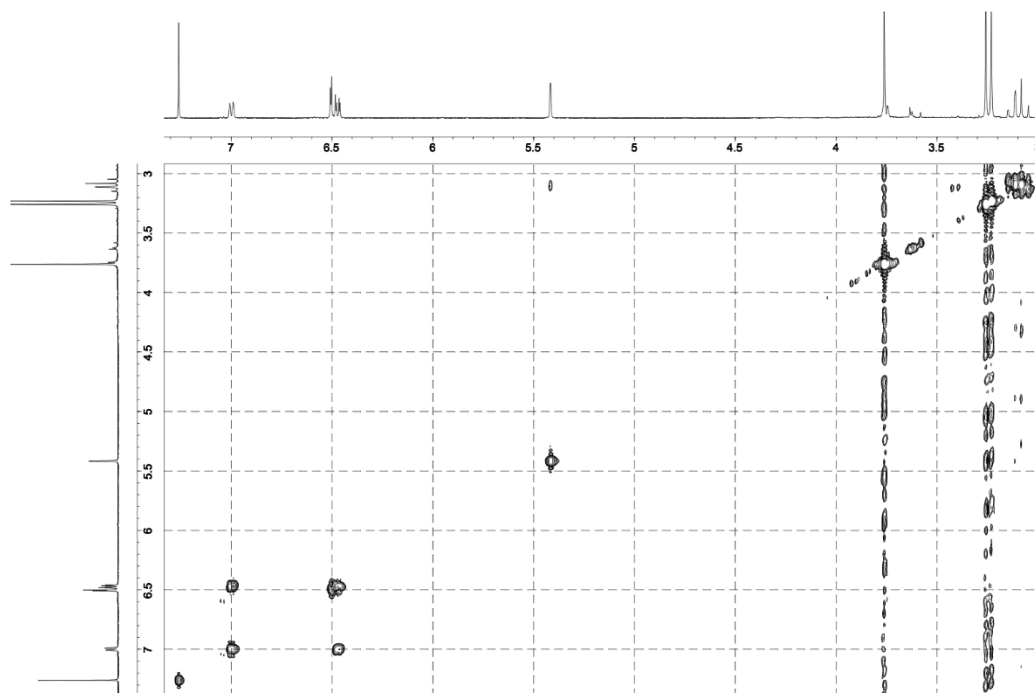


Figure S3.22. ¹H-¹H COSY spectrum of hyperdioxane C (19) in CDCl₃ (500 MHz).

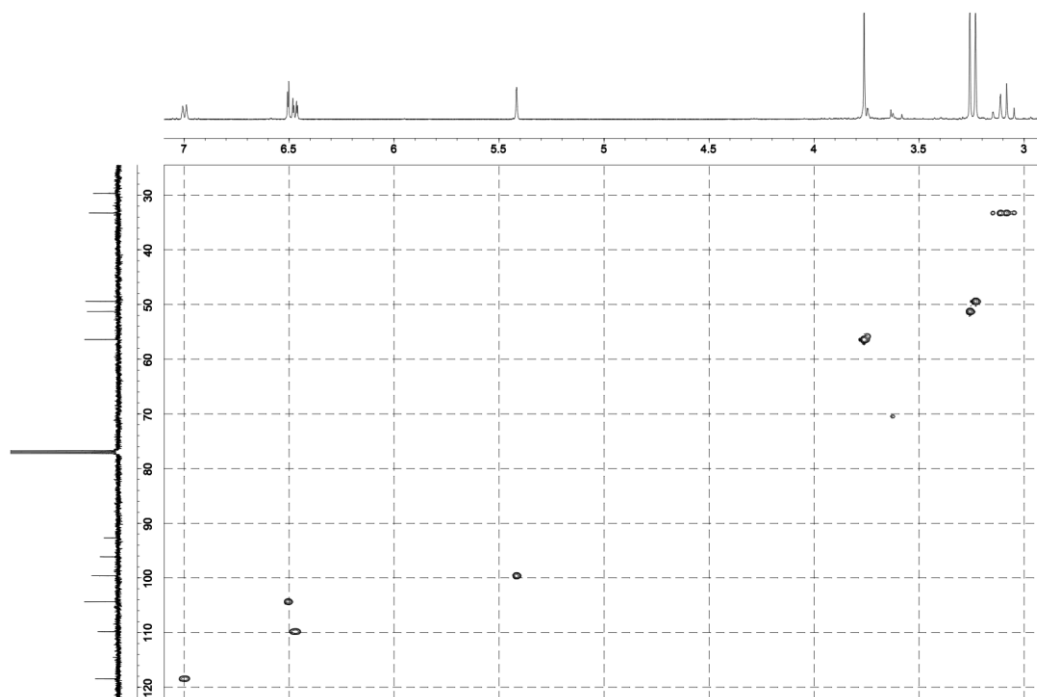


Figure S3.23. HSQC spectrum of hyperdioxane C (**19**) in CDCl₃ (500 MHz).

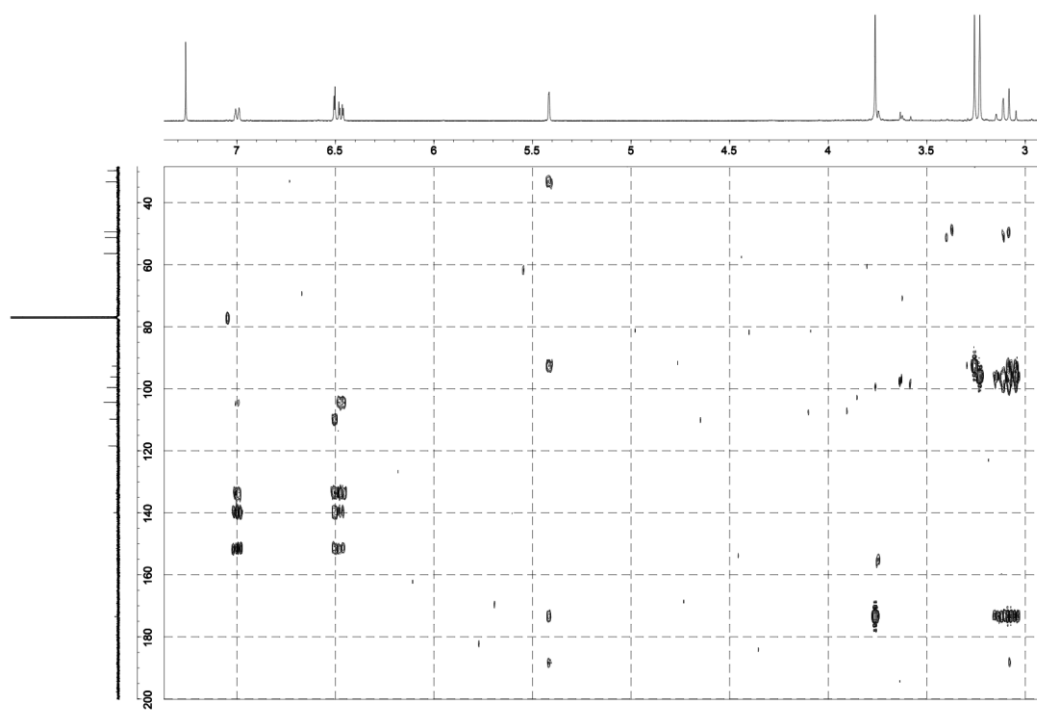


Figure S3.24. HMBC spectrum of hyperdioxane C (**19**) in CDCl₃ (500 MHz).

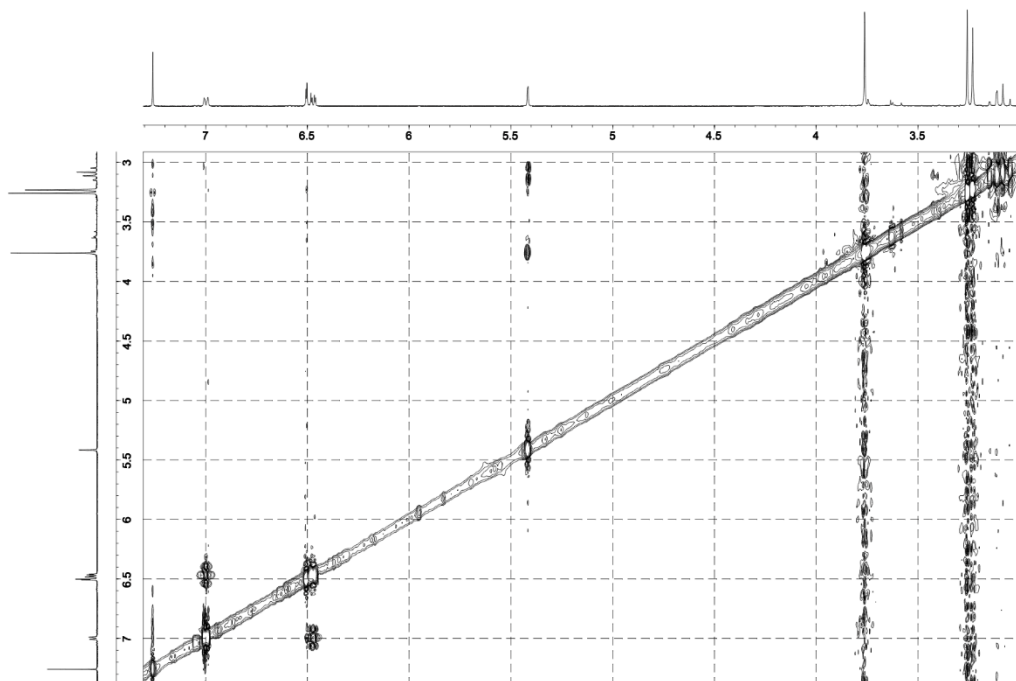


Figure S3.25. NOESY spectrum of hyperdioxane C (**19**) in CDCl₃ (500 MHz).

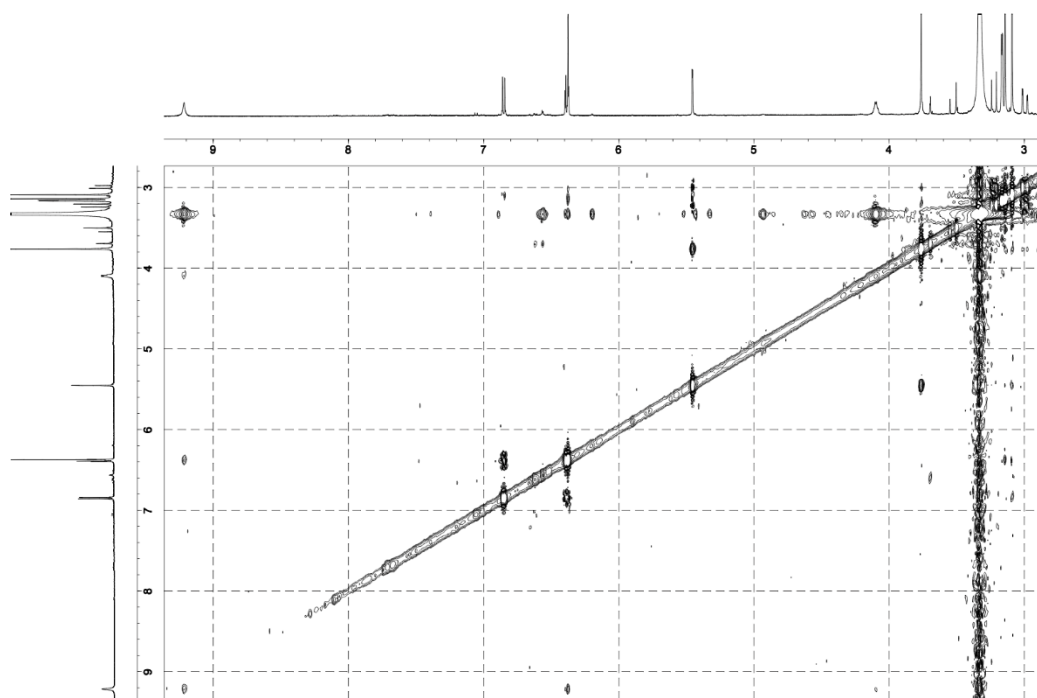


Figure S3.26. ROESY spectrum of hyperdioxane C (**19**) in DMSO-*d*₆ (500 MHz).

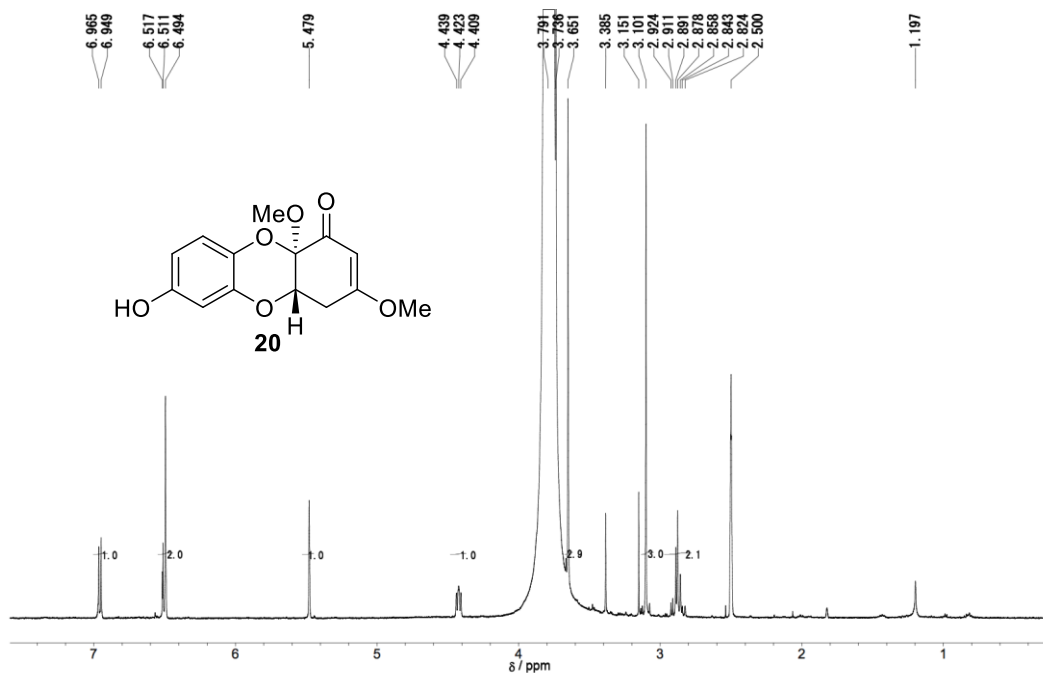


Figure S3.27. ¹H NMR spectrum of hyperdioxane D (20) in DMSO-*d*₆ (500 MHz).

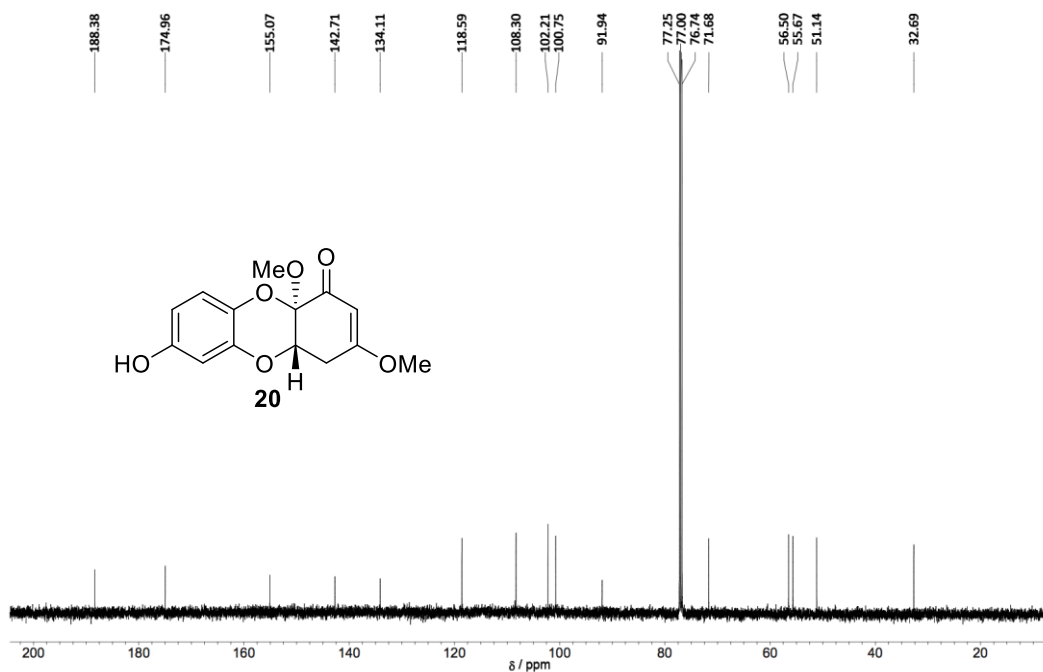


Figure S3.28. ¹³C NMR spectrum of hyperdioxane D (20) in CDCl₃ (125 MHz).

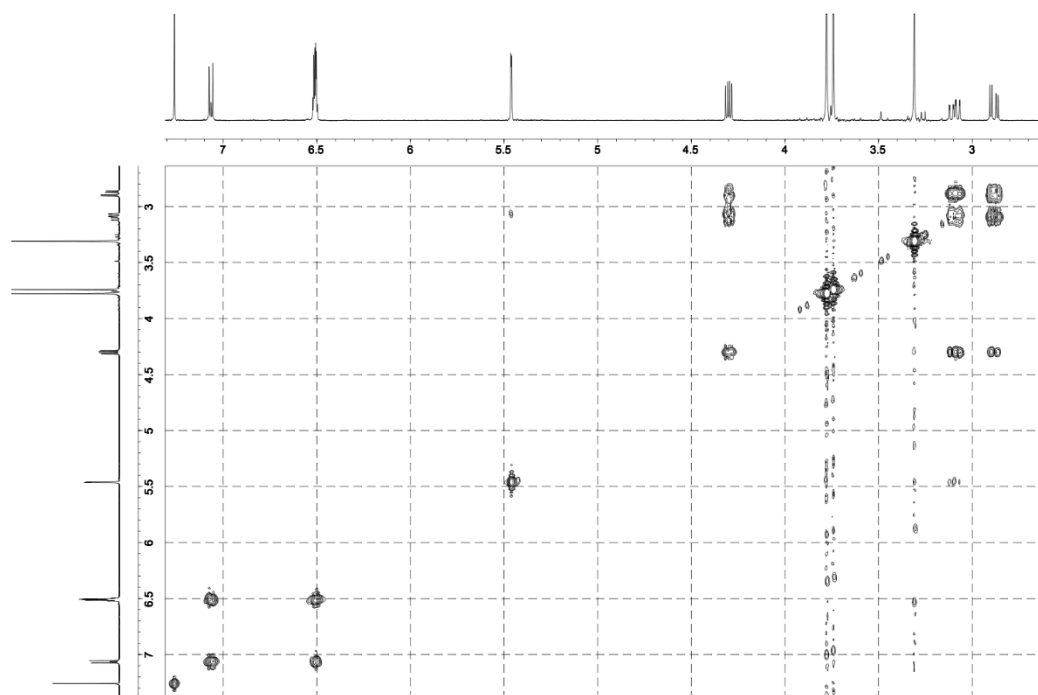


Figure S3.29. ^1H - ^1H COSY spectrum of hyperdioxane D (**20**) in CDCl_3 (500 MHz).

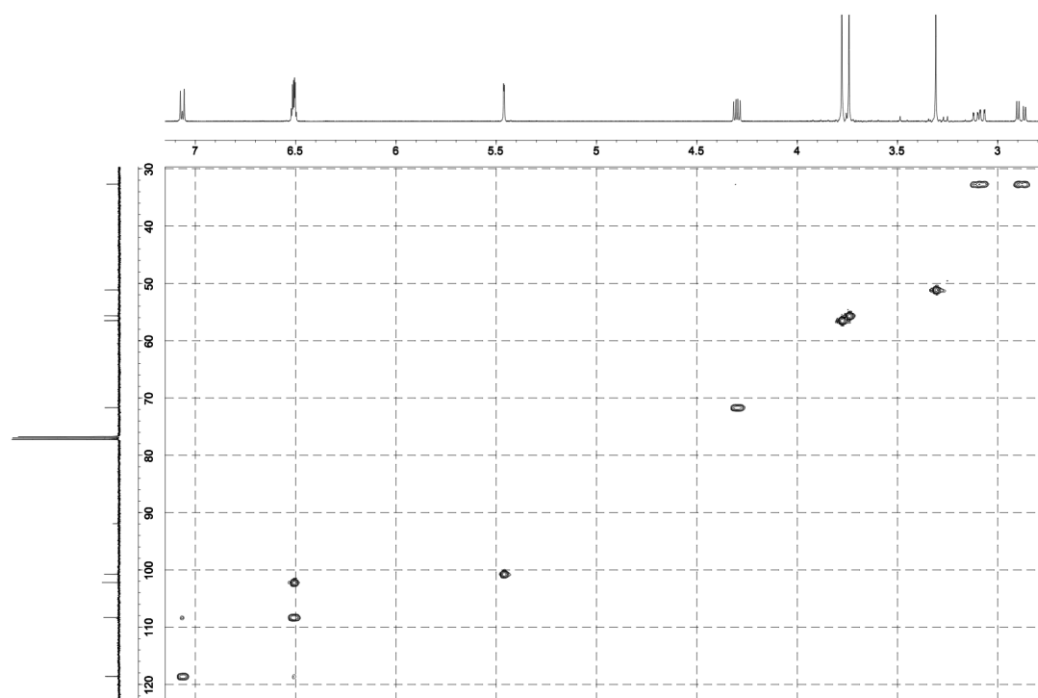


Figure S3.30. HSQC spectrum of hyperdioxane D (**20**) in CDCl_3 (500 MHz).

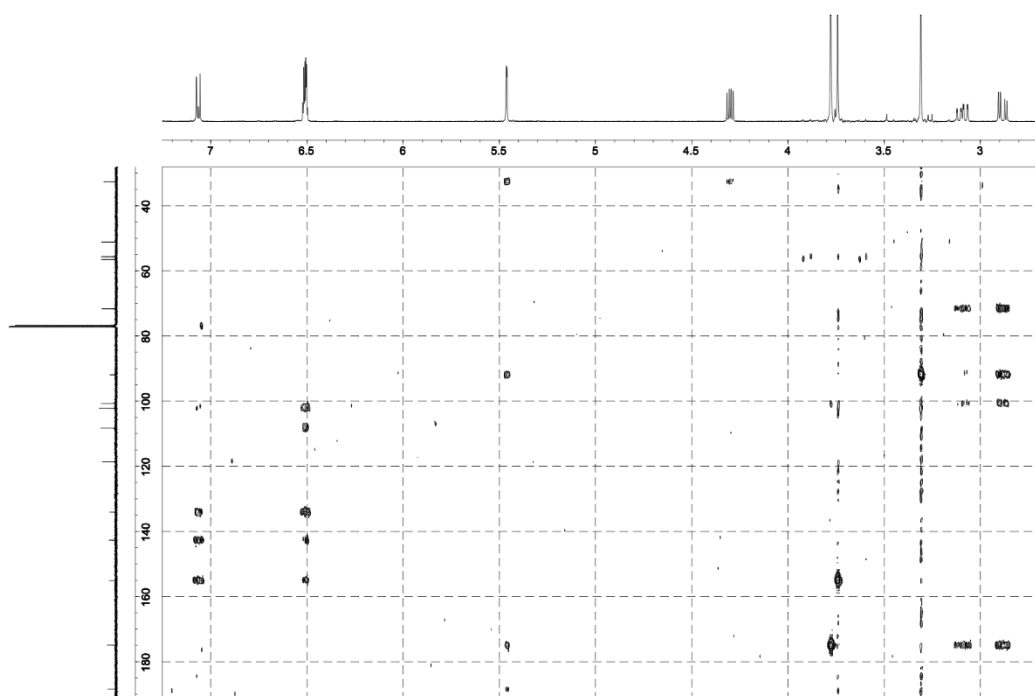


Figure S3.31. HMBC spectrum of hyperdioxane D (**20**) in CDCl_3 (500 MHz).

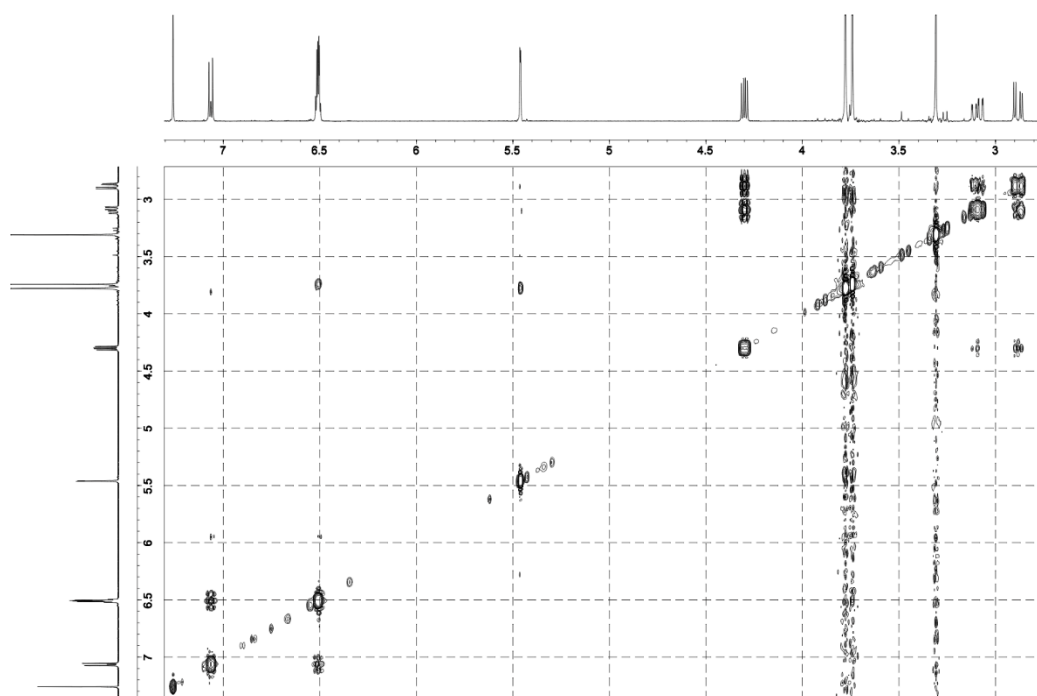


Figure S3.32. NOESY spectrum of hyperdioxane D (**20**) in CDCl_3 (500 MHz).

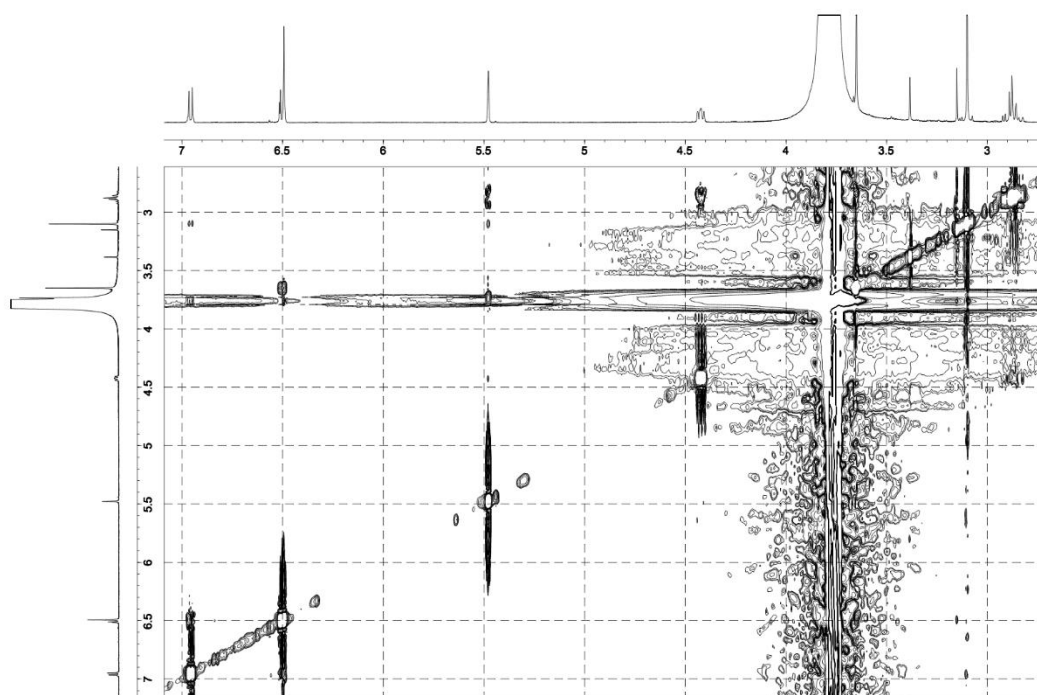


Figure S3.33. NOESY spectrum of hyperdioxane D (**20**) in DMSO- d_6 (500 MHz).

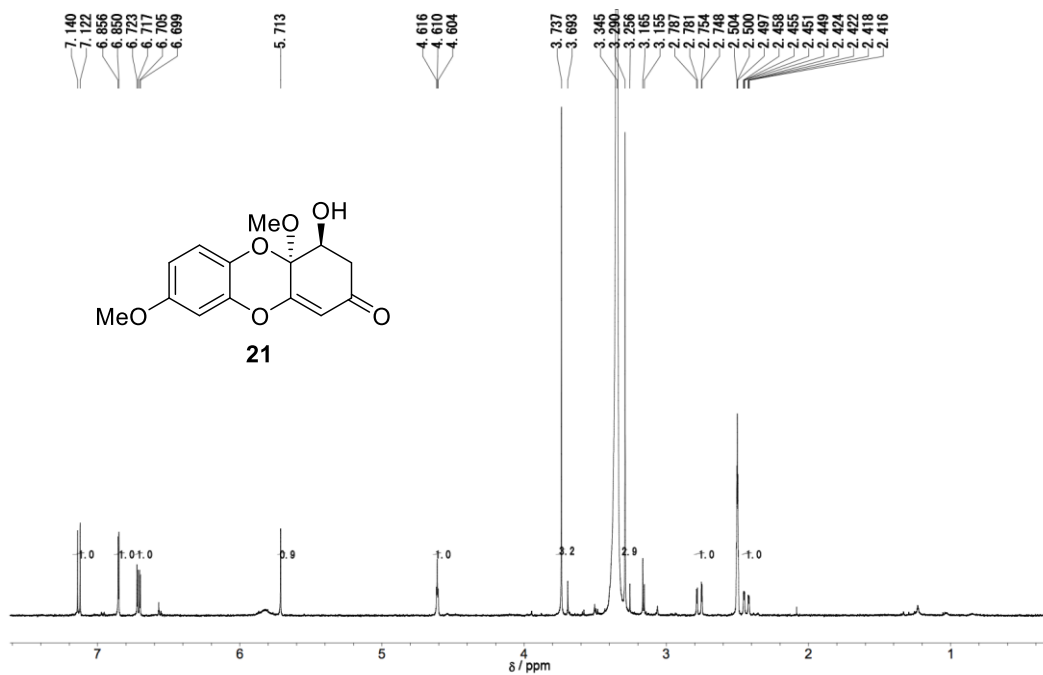


Figure S3.34. ^1H NMR spectrum of hyperdioxane E (**21**) in DMSO- d_6 (500 MHz).

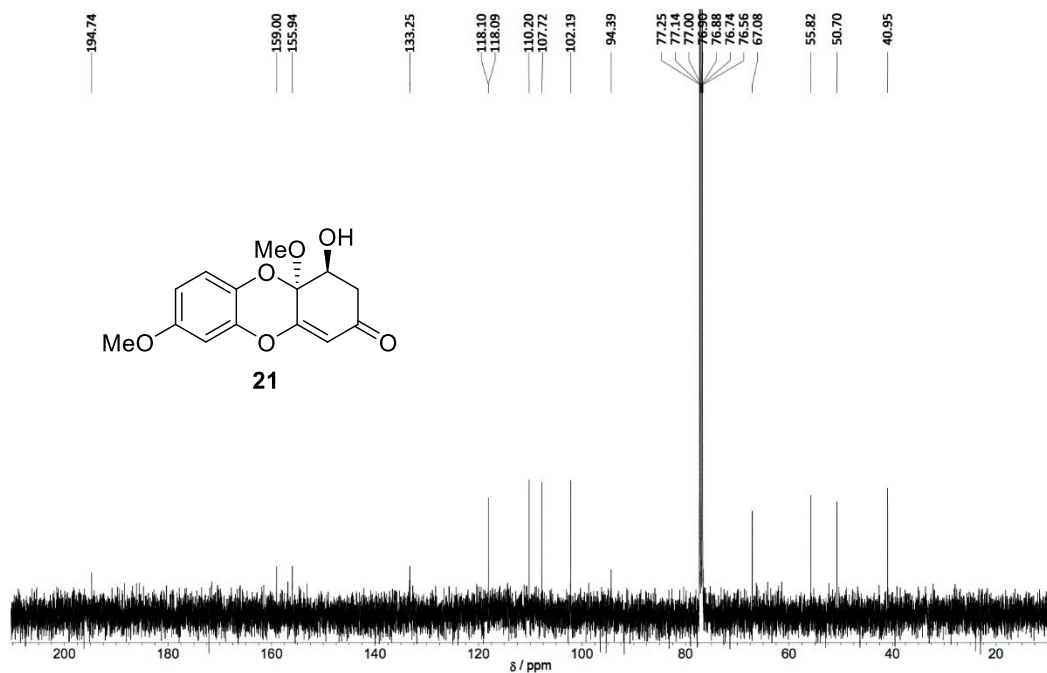


Figure S3.35. ¹³C NMR spectrum of hyperdioxane E (21) in CDCl₃ (125 MHz).

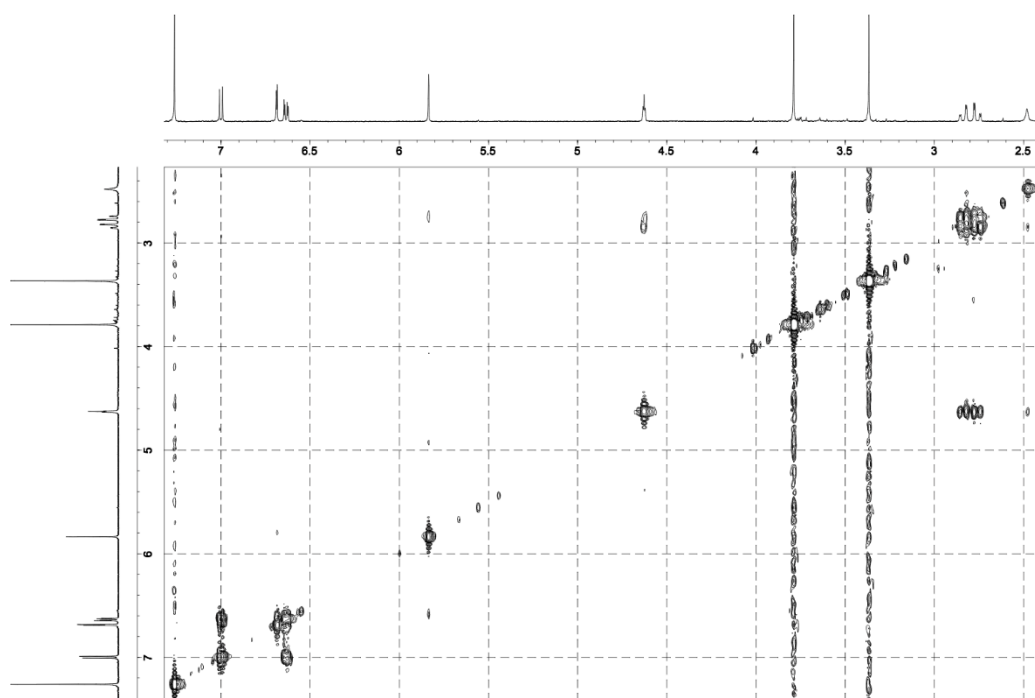


Figure S3.36. ¹H-¹H COSY spectrum of hyperdioxane E (21) in CDCl₃ (500 MHz).

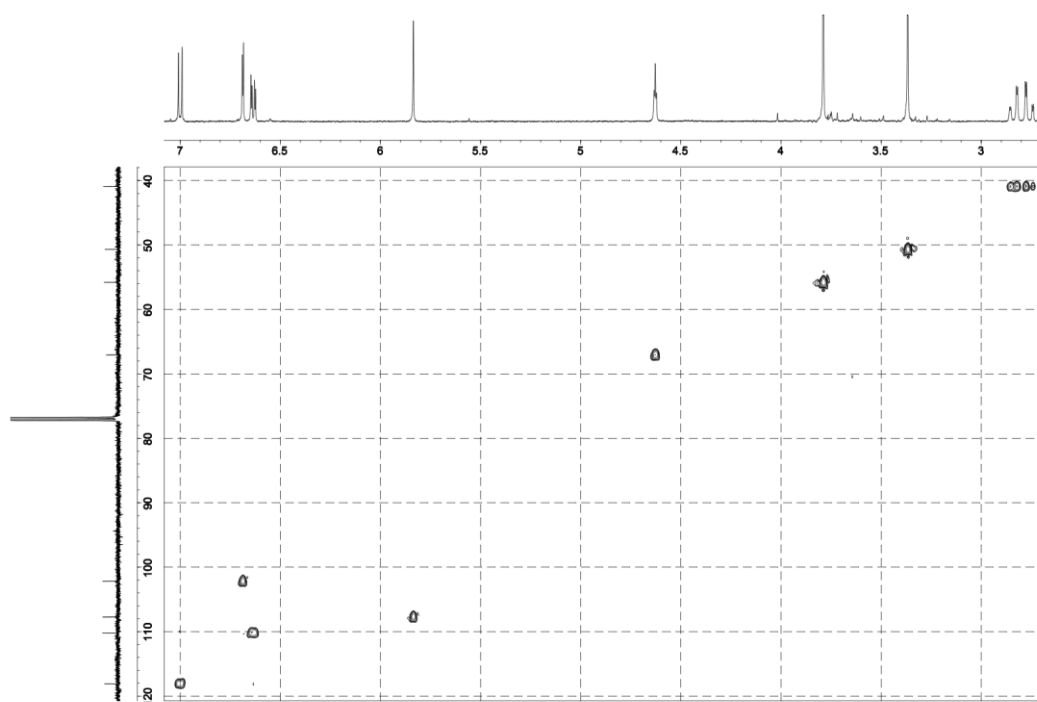


Figure S3.37. HSQC spectrum of hyperdioxane E (**21**) in CDCl_3 (500 MHz).

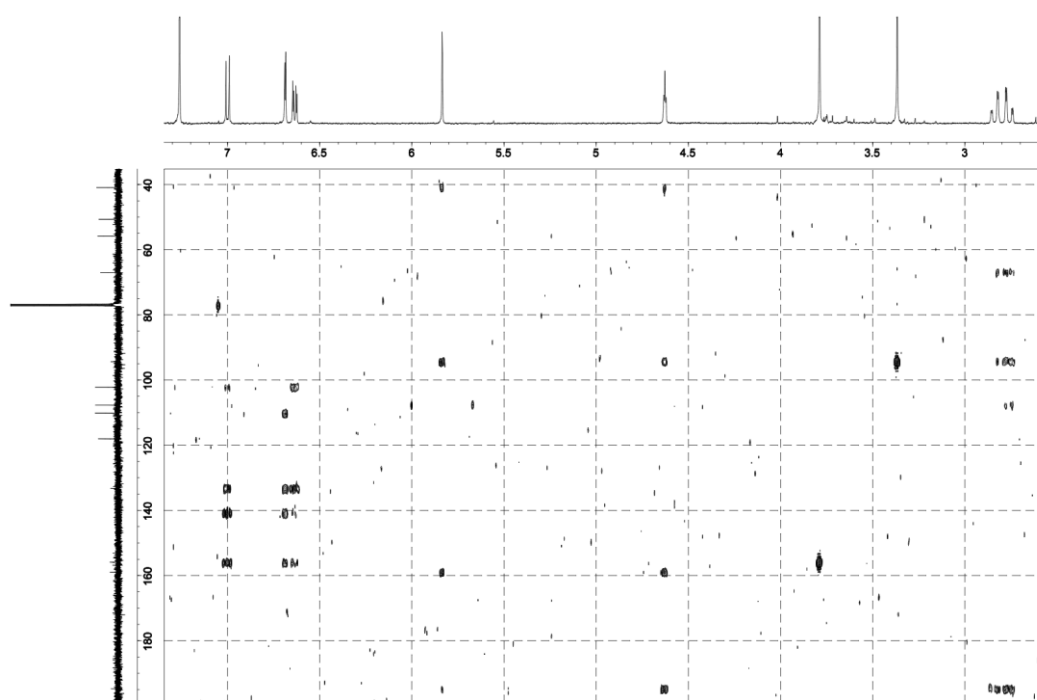


Figure S3.38. HMBC spectrum of hyperdioxane E (**21**) in CDCl_3 (500 MHz).

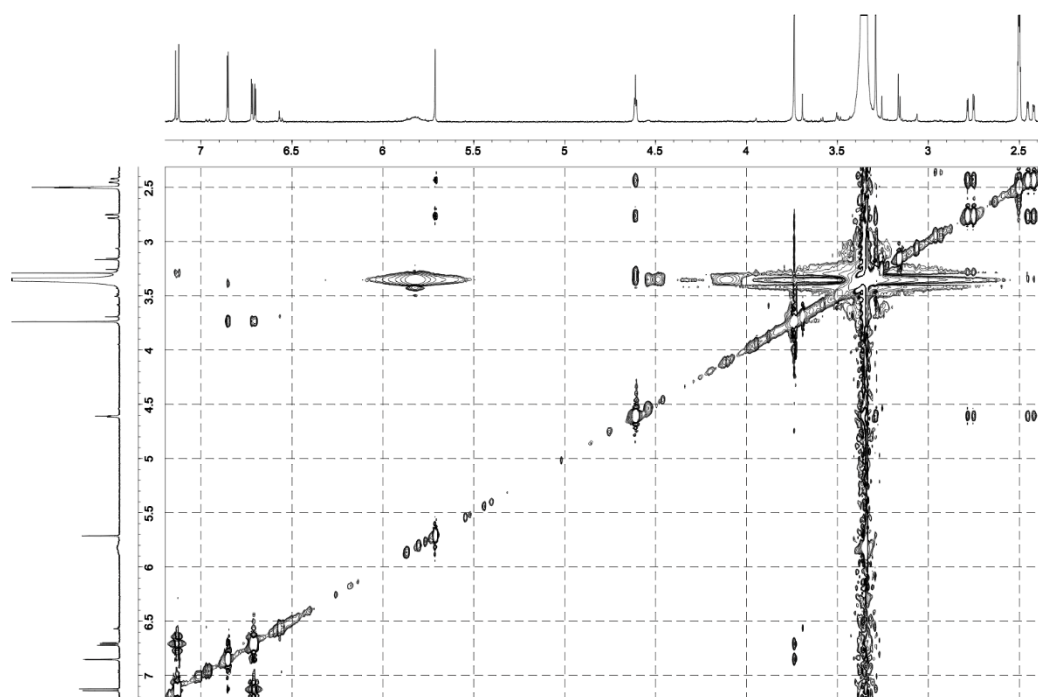


Figure S3.39. NOESY spectrum of hyperdioxane E (**21**) in DMSO- d_6 (500 MHz).

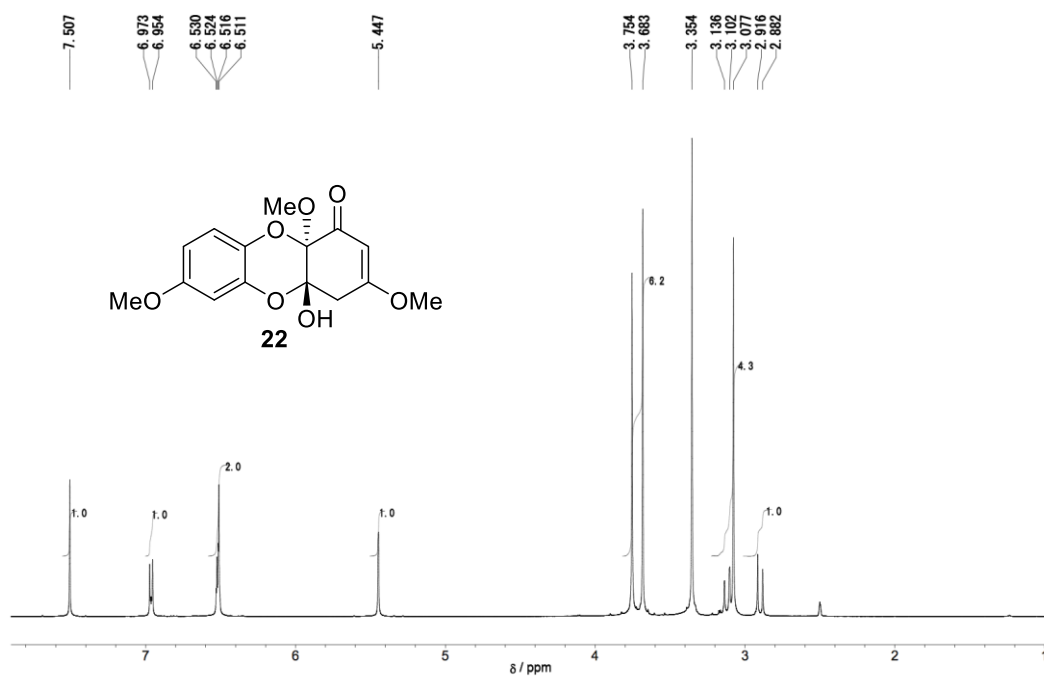


Figure S3.40. ^1H NMR spectrum of hyperdioxane F (**22**) in DMSO- d_6 (500 MHz).

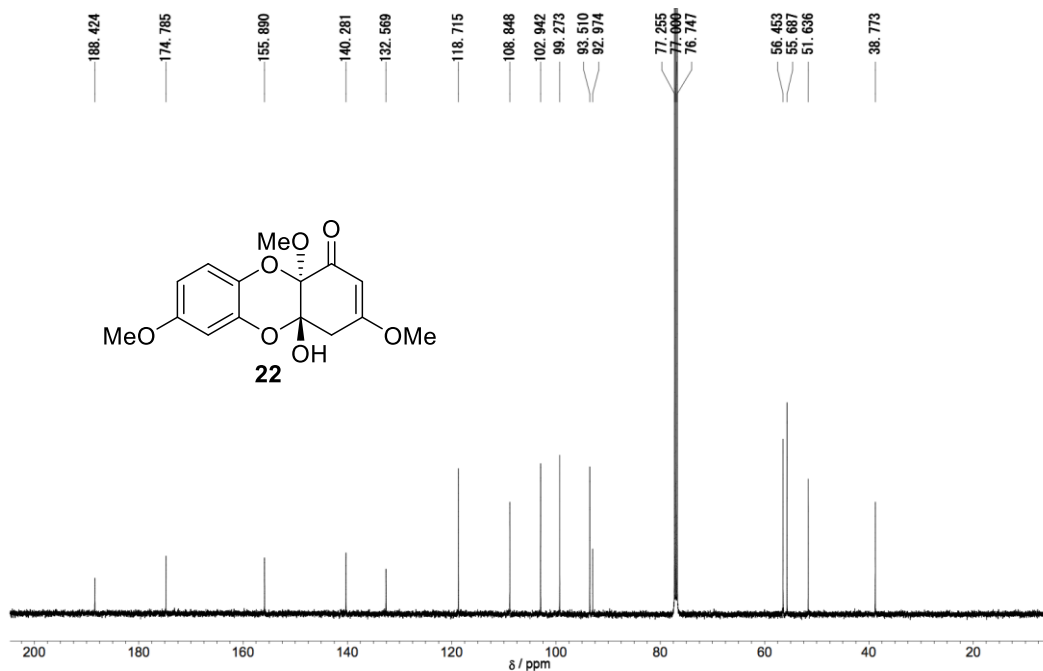


Figure S3.41. ¹³C NMR spectrum of hyperdioxane F (22) in CDCl₃ (125 MHz).

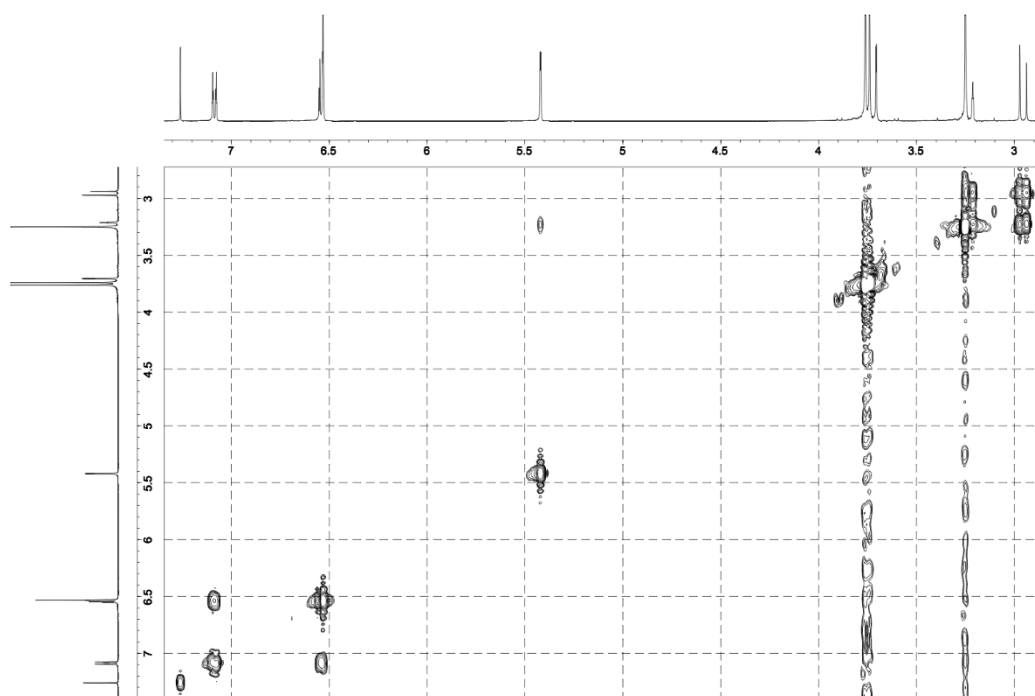


Figure S3.42. ¹H-¹H COSY spectrum of hyperdioxane F (22) in CDCl₃ (500 MHz).

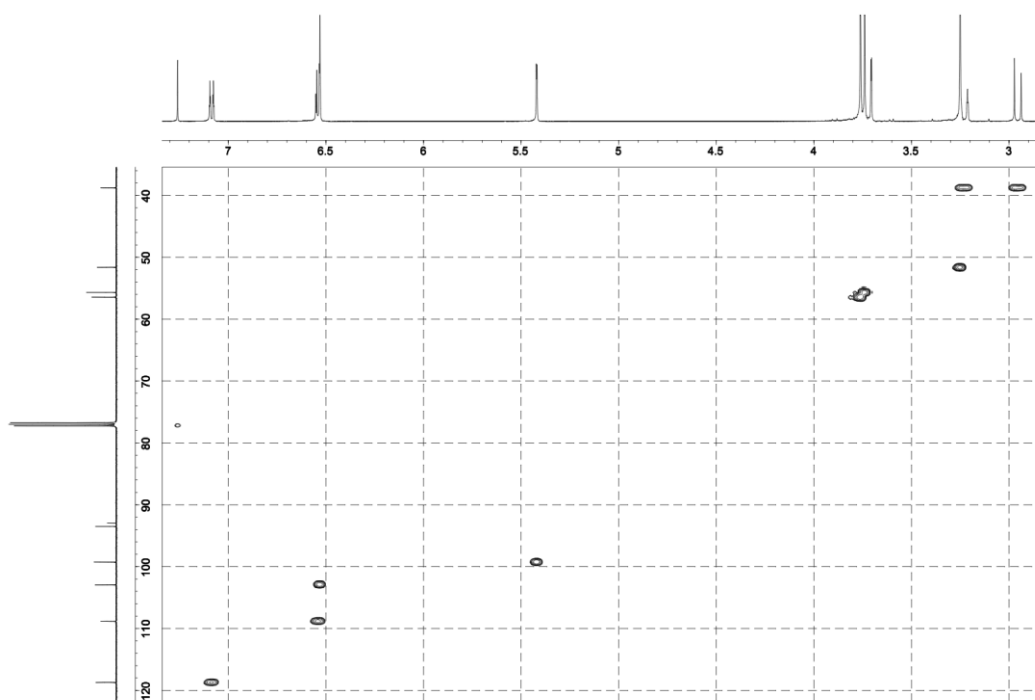


Figure S3.43. HSQC spectrum of hyperdioxane F (**22**) in CDCl_3 (500 MHz).

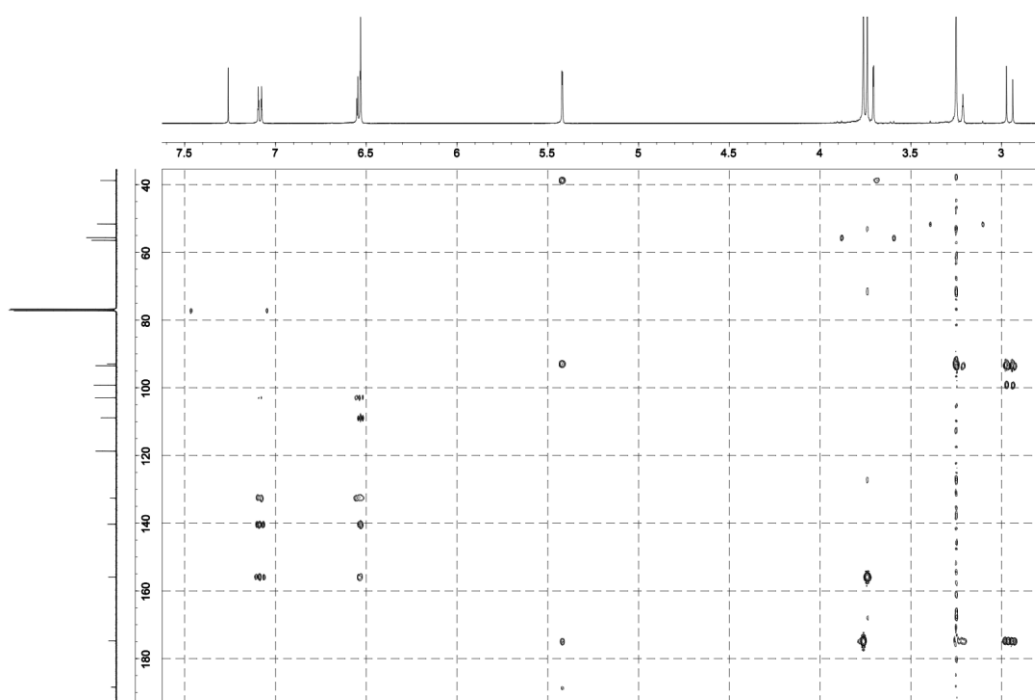


Figure S3.44. HMBC spectrum of hyperdioxane F (**22**) in CDCl_3 (500 MHz).

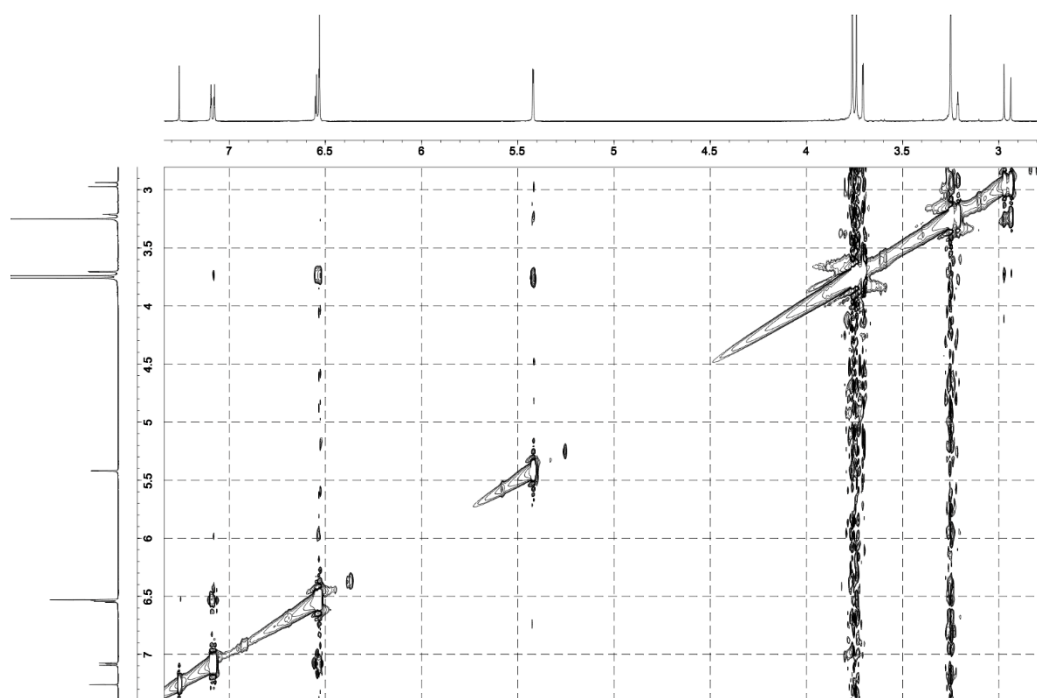


Figure S3.45. NOESY spectrum of hyperdioxane F (**22**) in CDCl_3 (500 MHz).

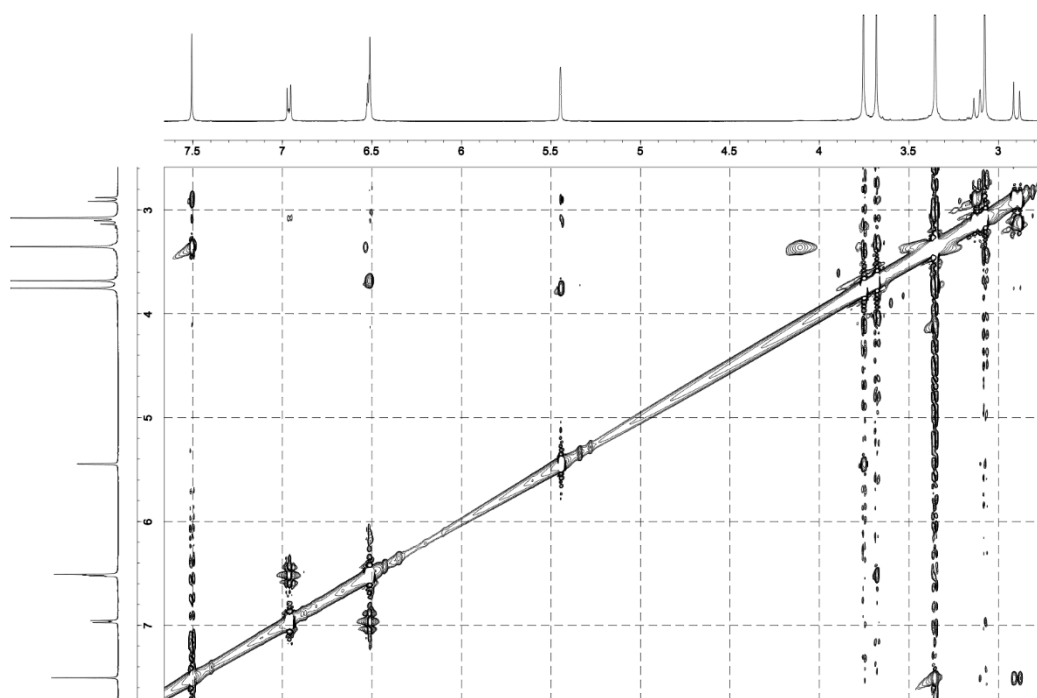
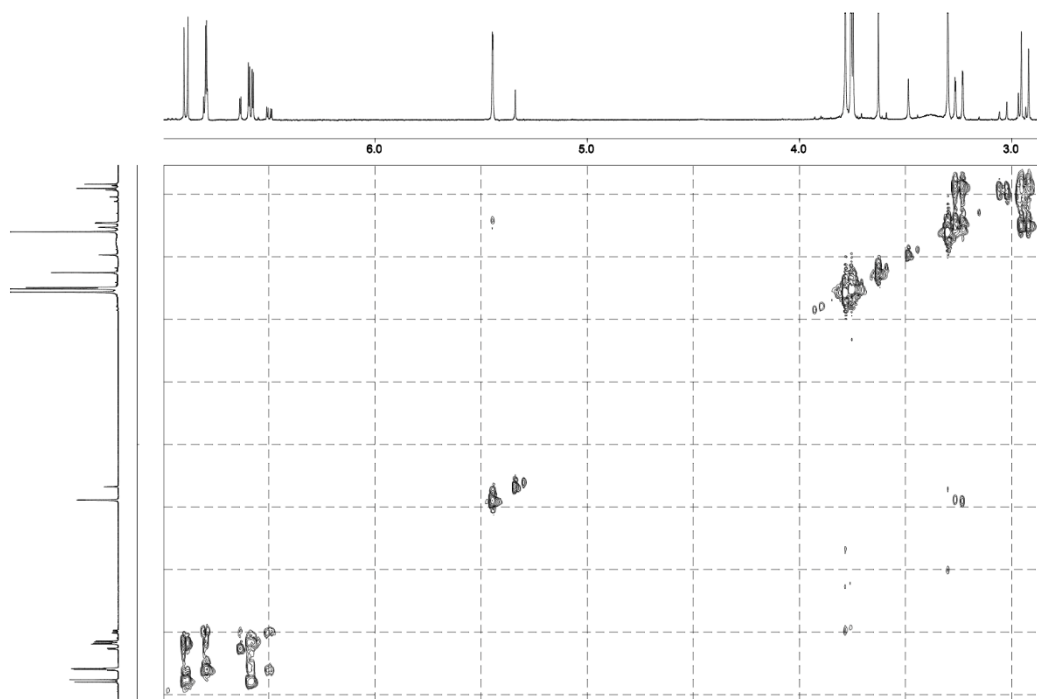
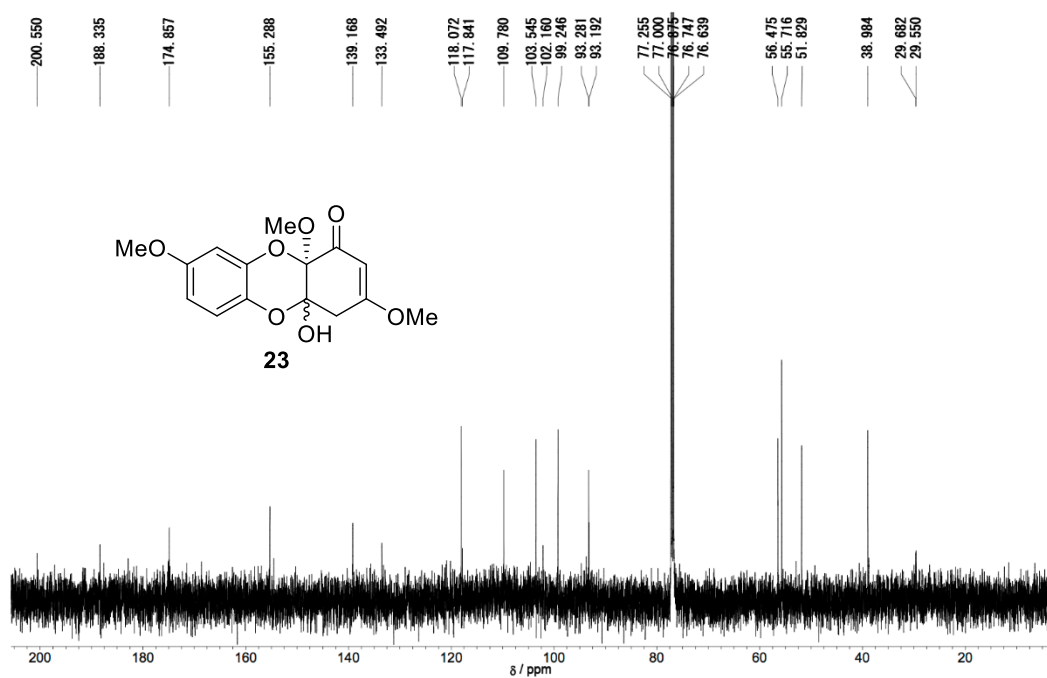


Figure S3.46. NOESY spectrum of hyperdioxane F (**22**) in $\text{DMSO}-d_6$ (500 MHz).



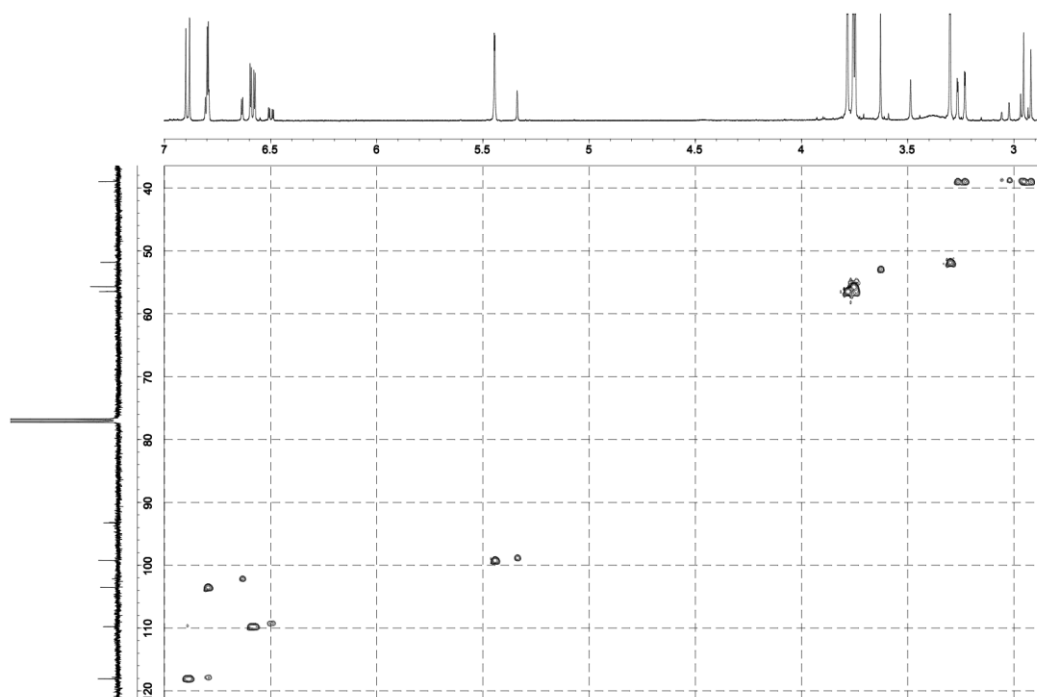


Figure S3.49. HSQC spectrum of hyperdioxane G (**23**) in CDCl_3 (500 MHz).

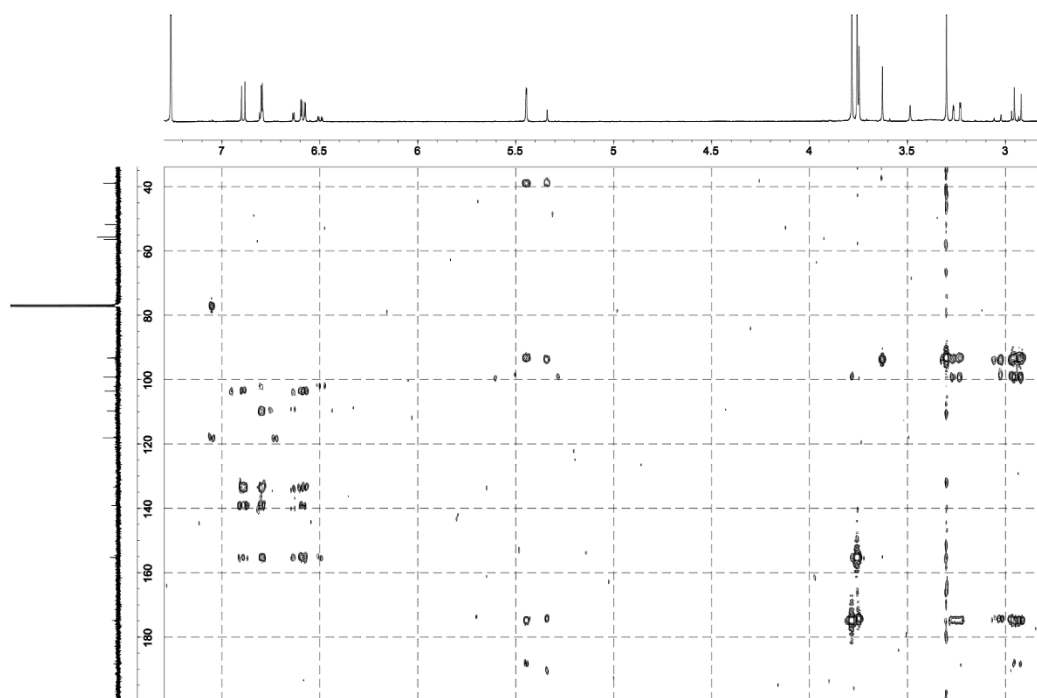


Figure S3.50. HMBC spectrum of hyperdioxane G (**23**) in CDCl_3 (500 MHz).

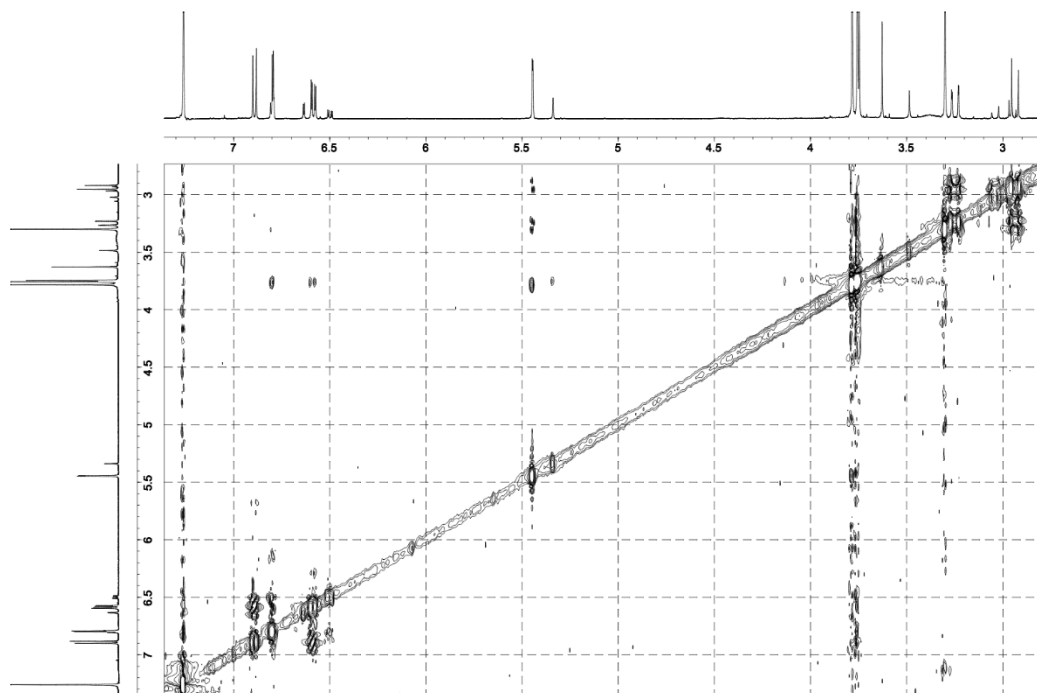


Figure S3.51. NOESY spectrum of hyperdioxane G (**23**) in CDCl_3 (500 MHz).

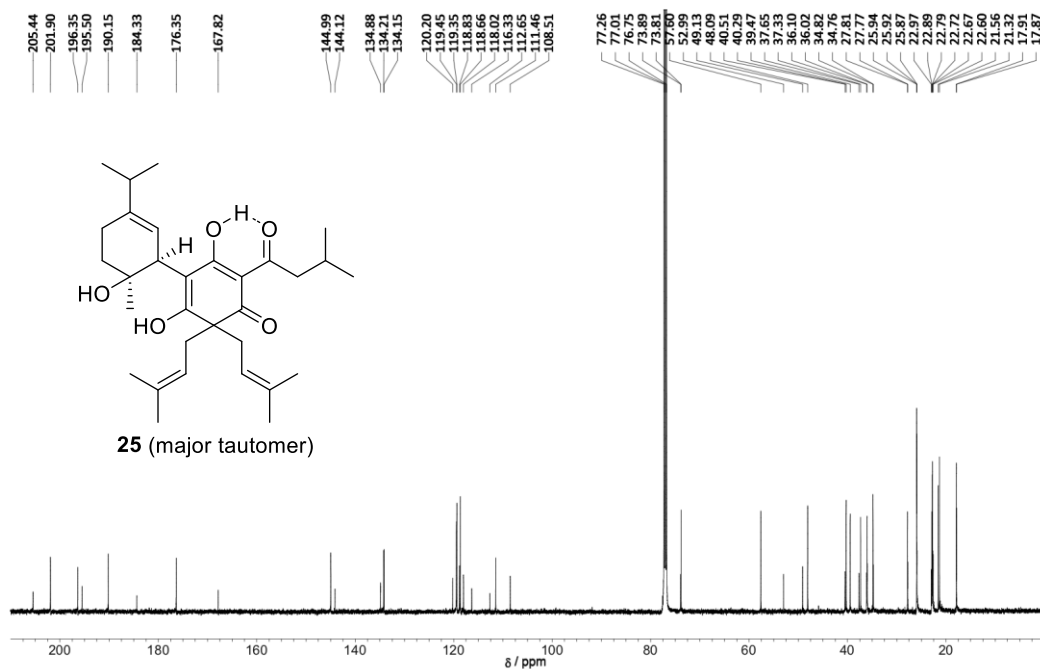


Figure S3.52. ^{13}C NMR spectrum of hypascyrin A (**25**) in CDCl_3 (125 MHz).

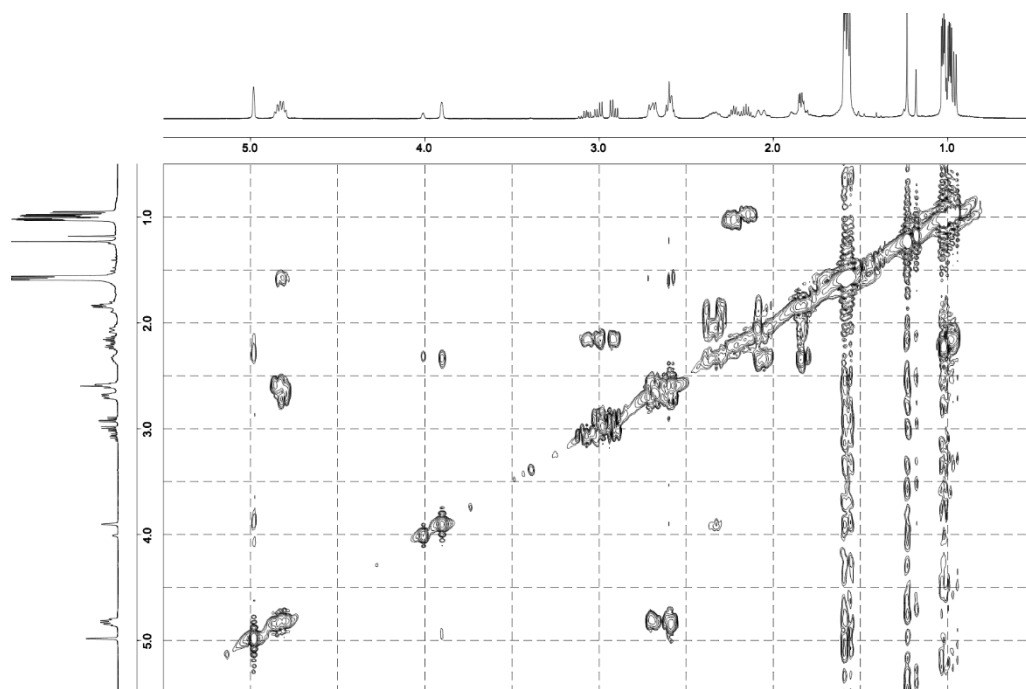


Figure S3.53. ^1H - ^1H COSY spectrum of hypascyrin A (**25**) in CDCl_3 (500 MHz).

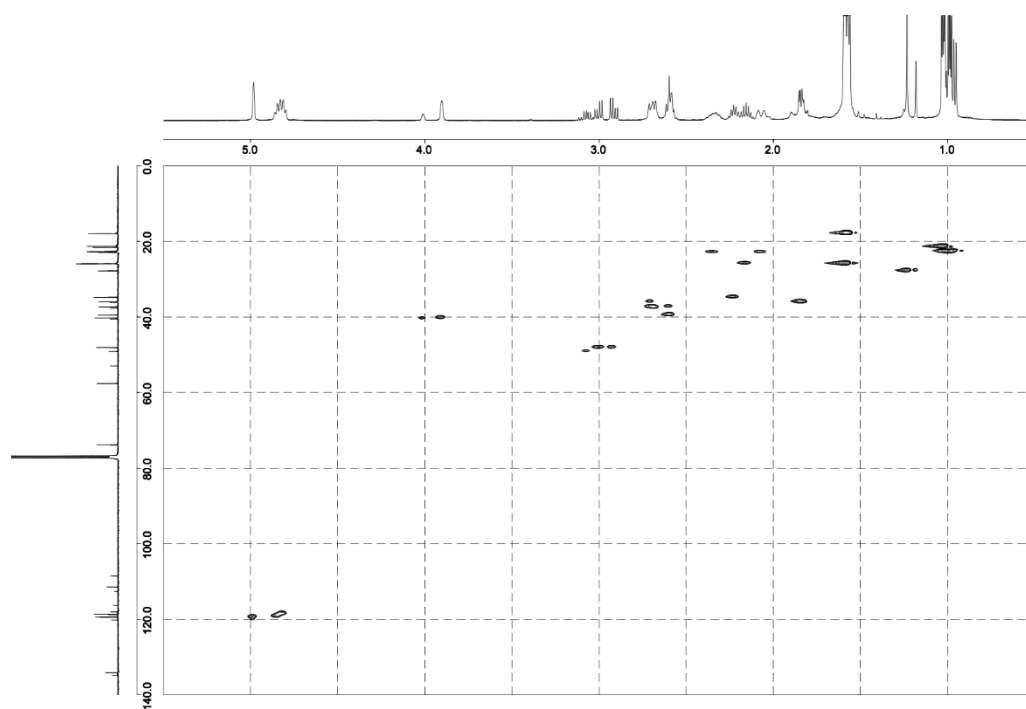


Figure S3.54. HSQC spectrum of hypascyrin A (**25**) in CDCl_3 (500 MHz).

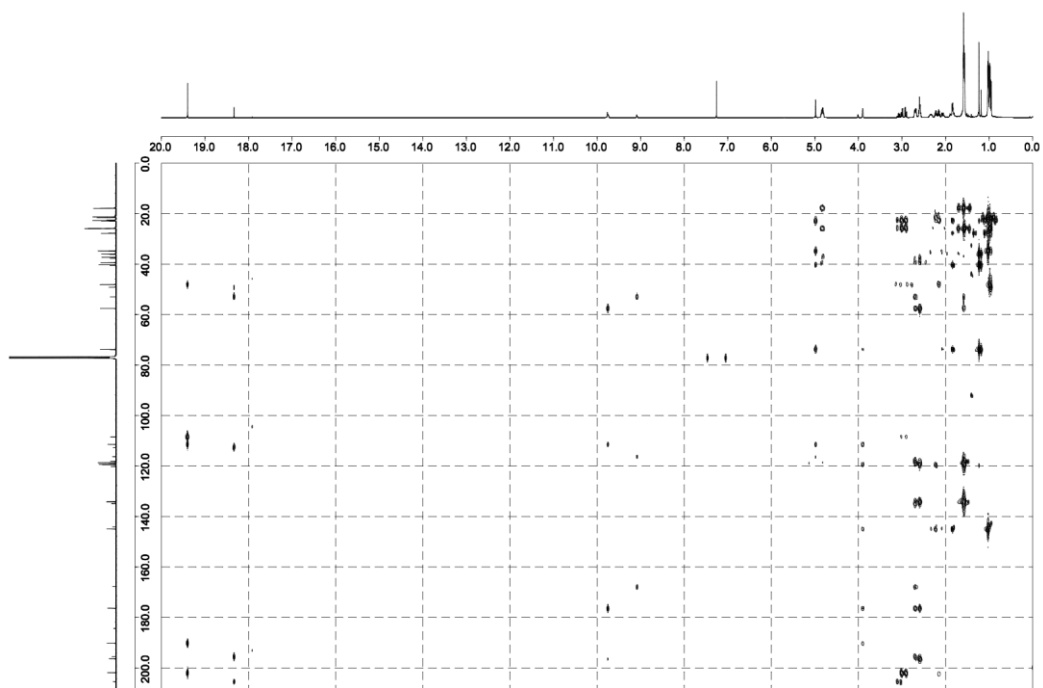


Figure S3.55. HMBC spectrum of hypascyrin A (**25**) in CDCl_3 (500 MHz).

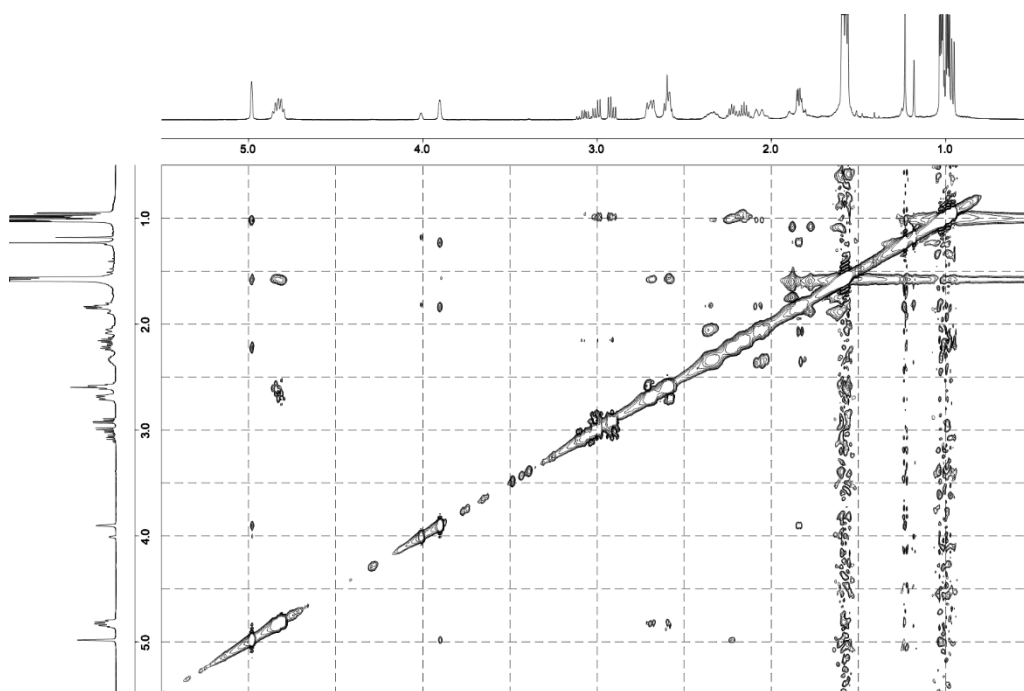


Figure S3.56. NOESY spectrum of hypascyrin A (**25**) in CDCl_3 (500 MHz).

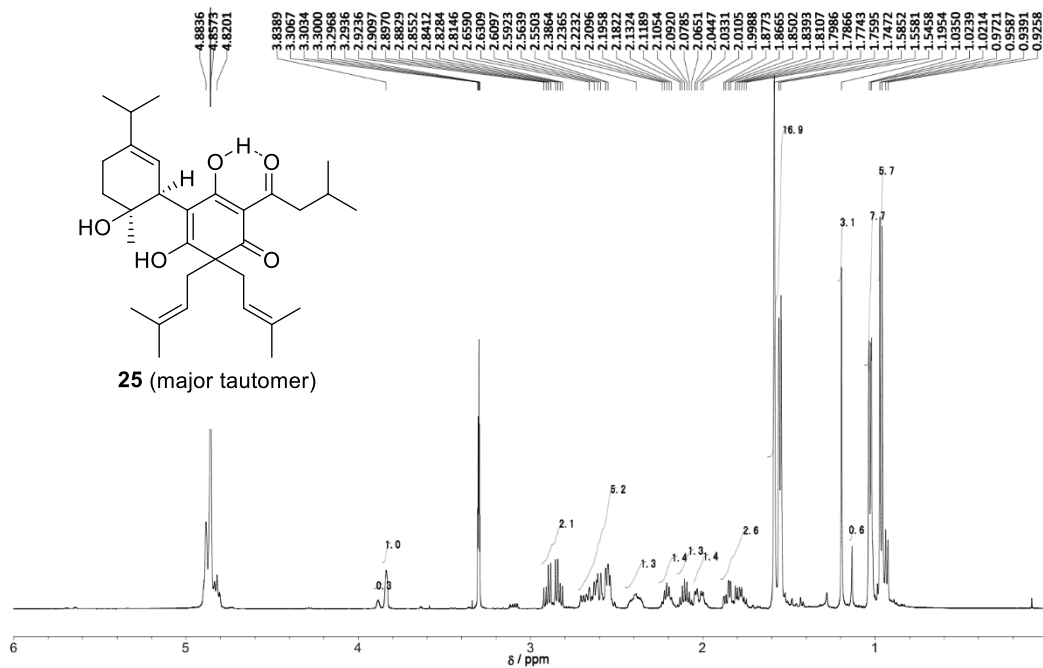


Figure S3.57. ^1H NMR spectrum of hypascyrin A (**25**) in methanol- d_4 (500 MHz).

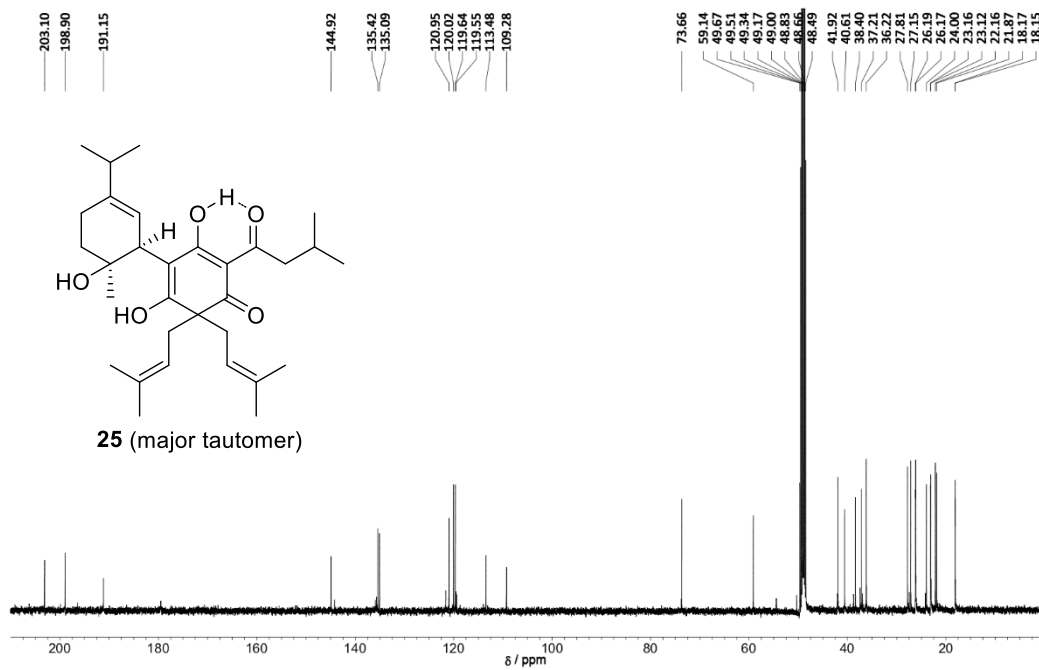


Figure S3.58. ^{13}C NMR spectrum of hypascyrin A (**25**) in methanol- d_4 (125 MHz).

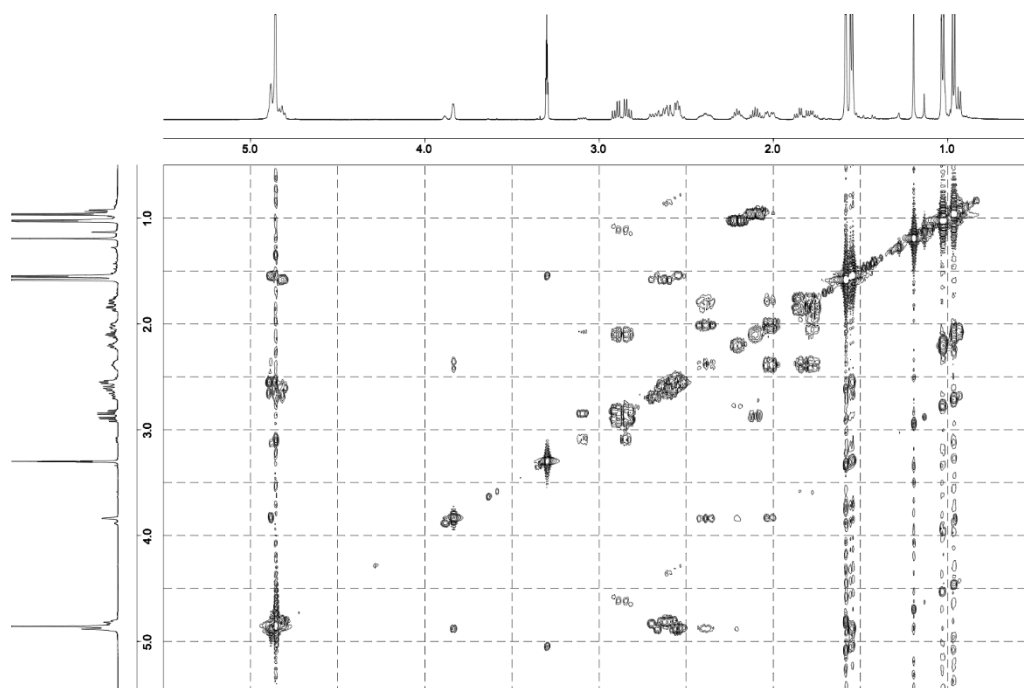


Figure S3.59. ^1H - ^1H COSY spectrum of hypascyrin A (**25**) in methanol- d_4 (500 MHz).

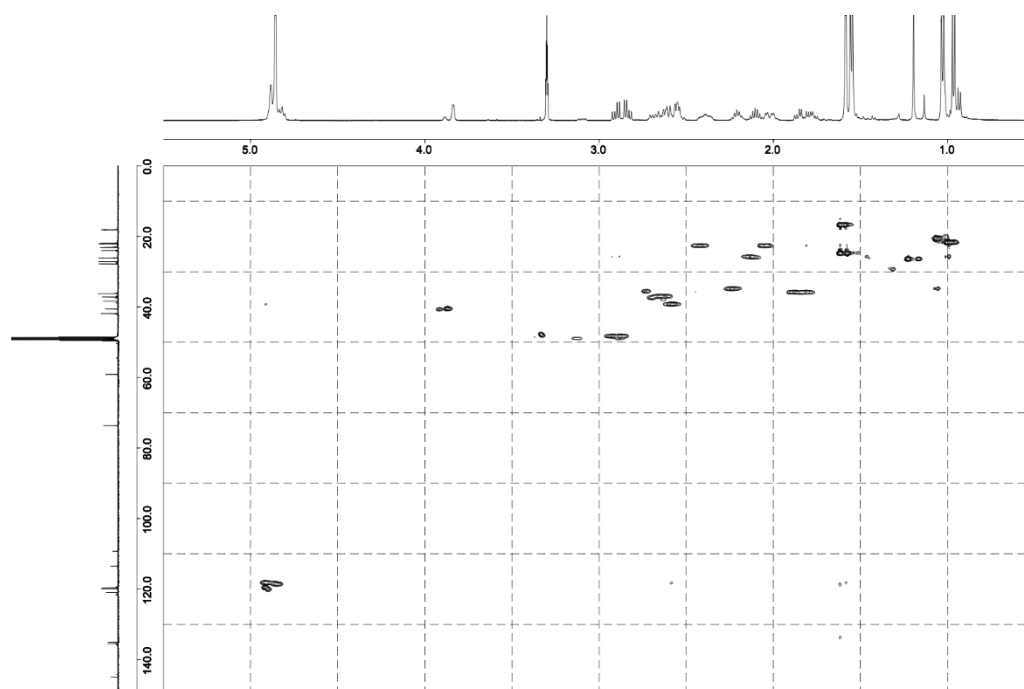


Figure S3.60. HSQC spectrum of hypascyrin A (**25**) in methanol- d_4 (500 MHz).

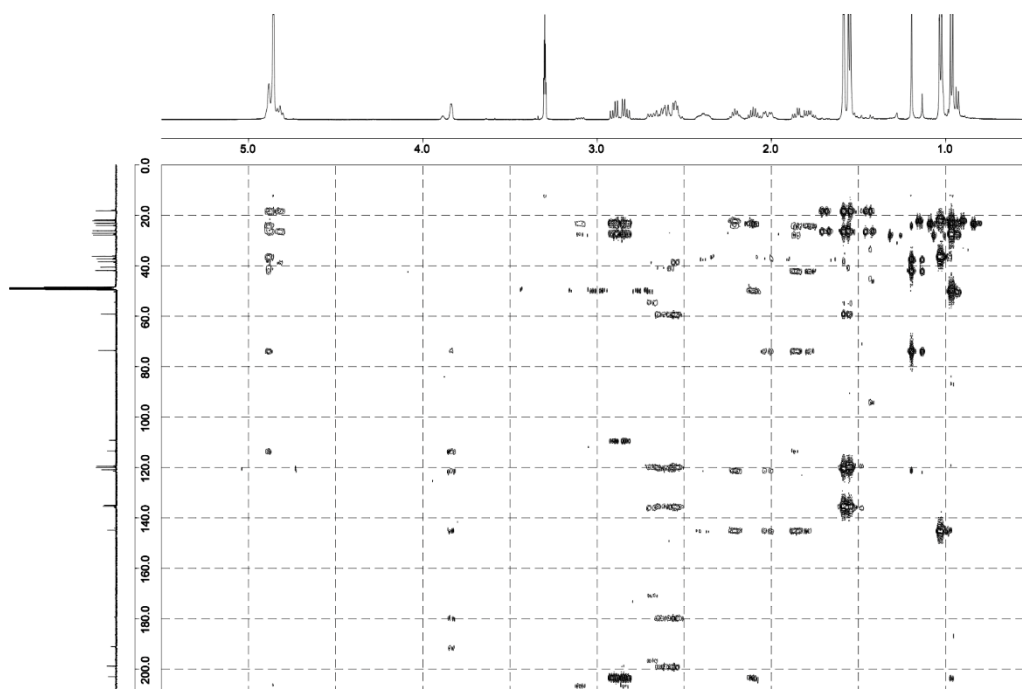


Figure S3.61. HMBC spectrum of hypascyrin A (**25**) in methanol- d_4 (500 MHz).

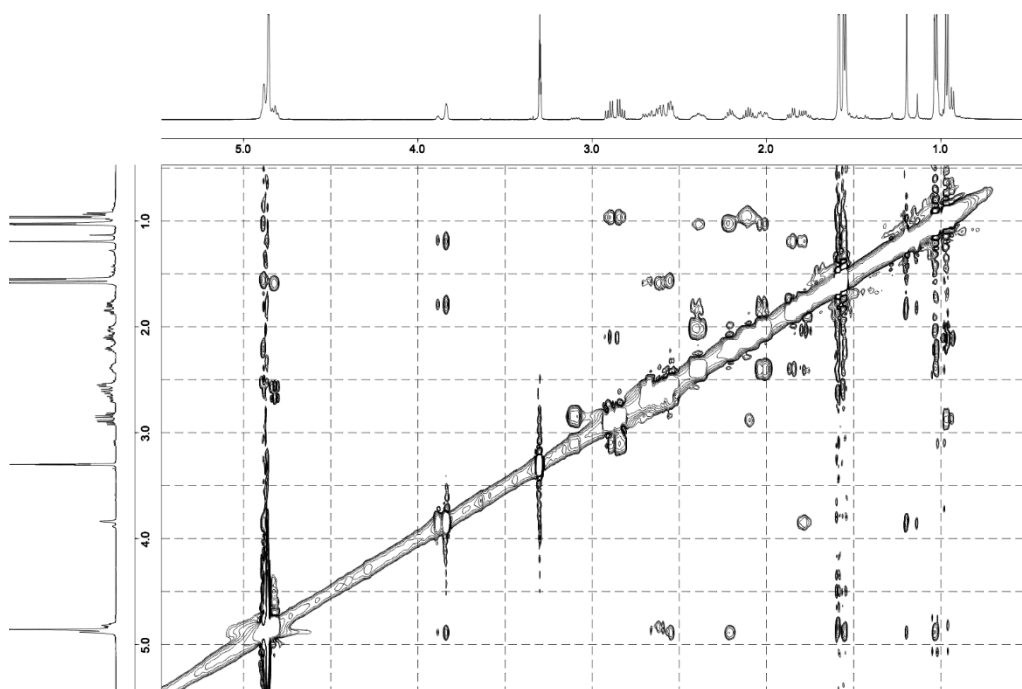


Figure S3.62. NOESY spectrum of hypascyrin A (**25**) in methanol- d_4 (500 MHz).

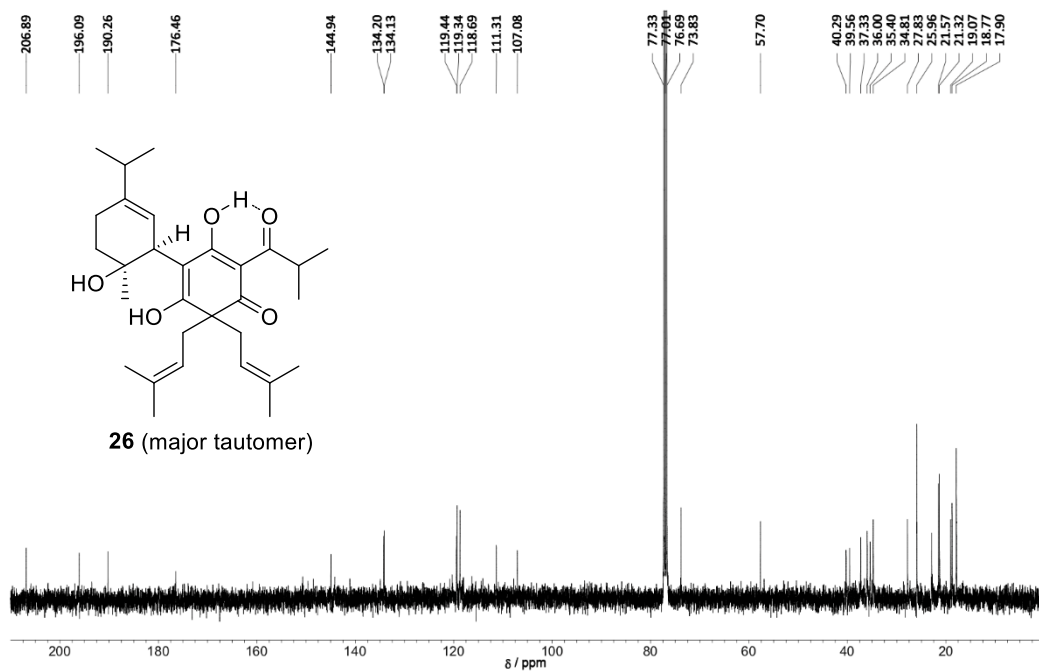


Figure S3.63. ^{13}C NMR spectrum of hypascyrin B (**26**) in CDCl_3 (125 MHz).

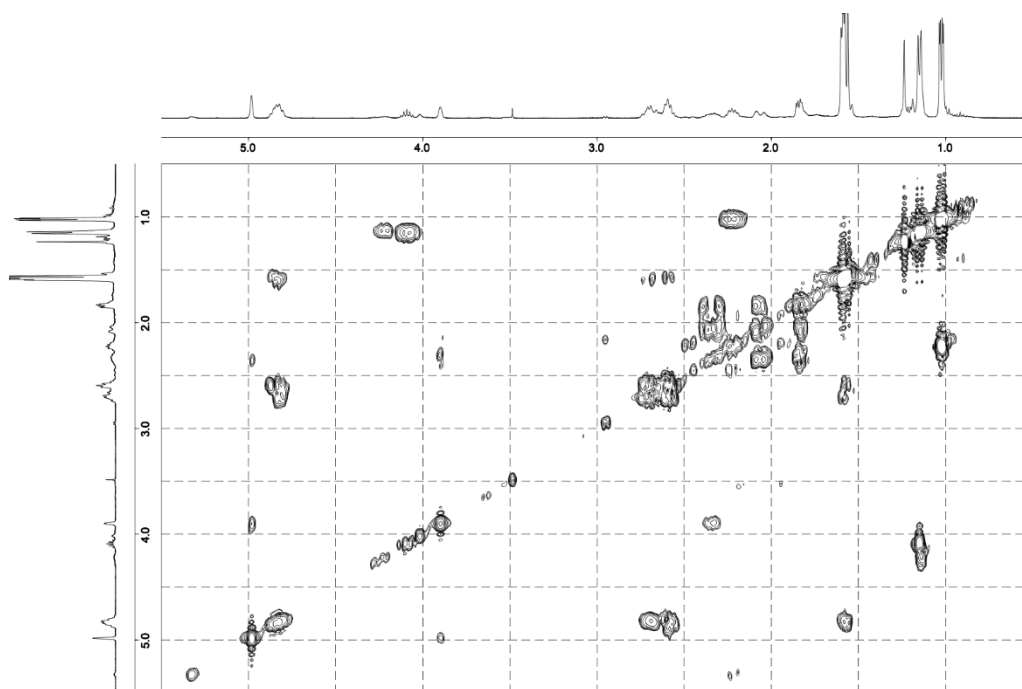


Figure S3.64. ^1H - ^1H COSY spectrum of hypascyrin B (**26**) in CDCl_3 (500 MHz).

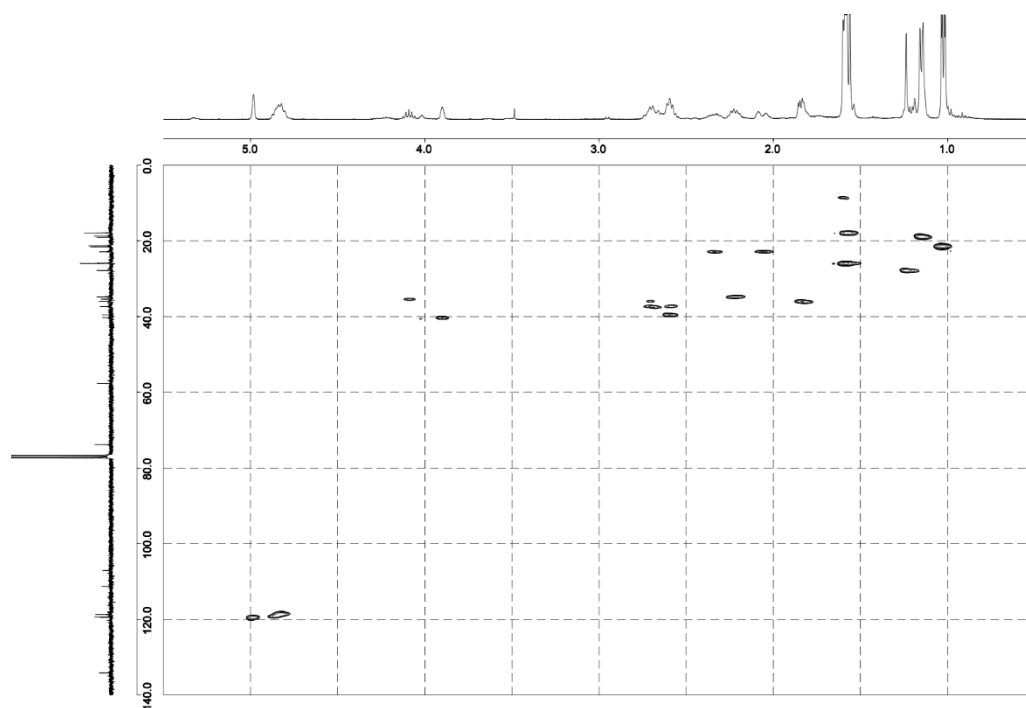


Figure S3.65. HSQC spectrum of hypascyrin B (**26**) in CDCl₃ (500 MHz).

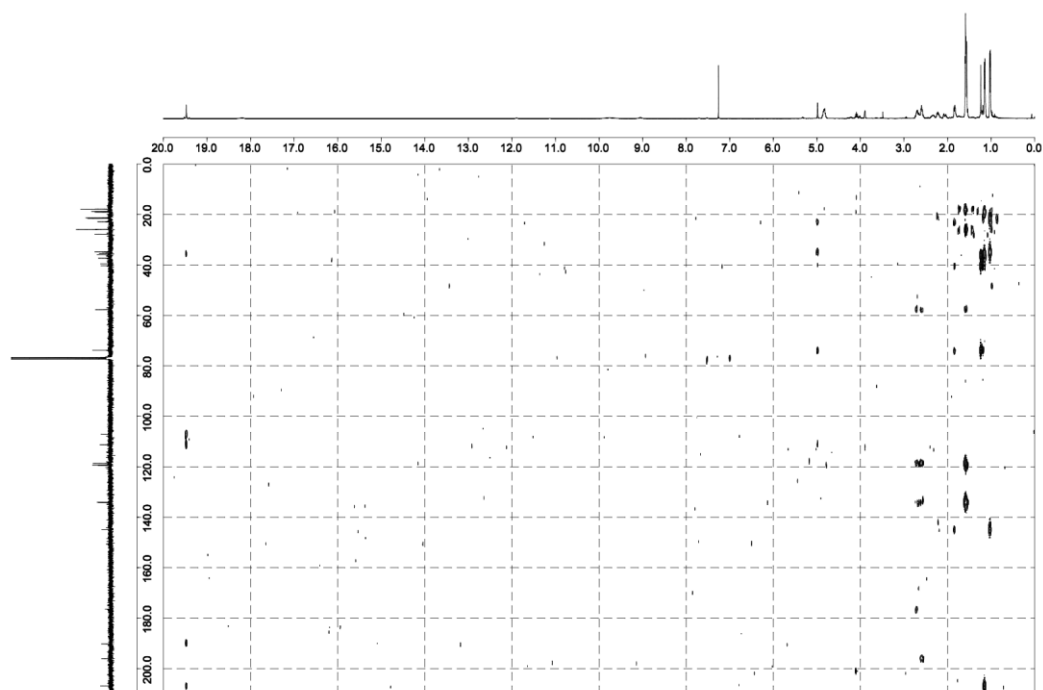


Figure S3.66. HMBC spectrum of hypascyrin B (**26**) in CDCl₃ (500 MHz).

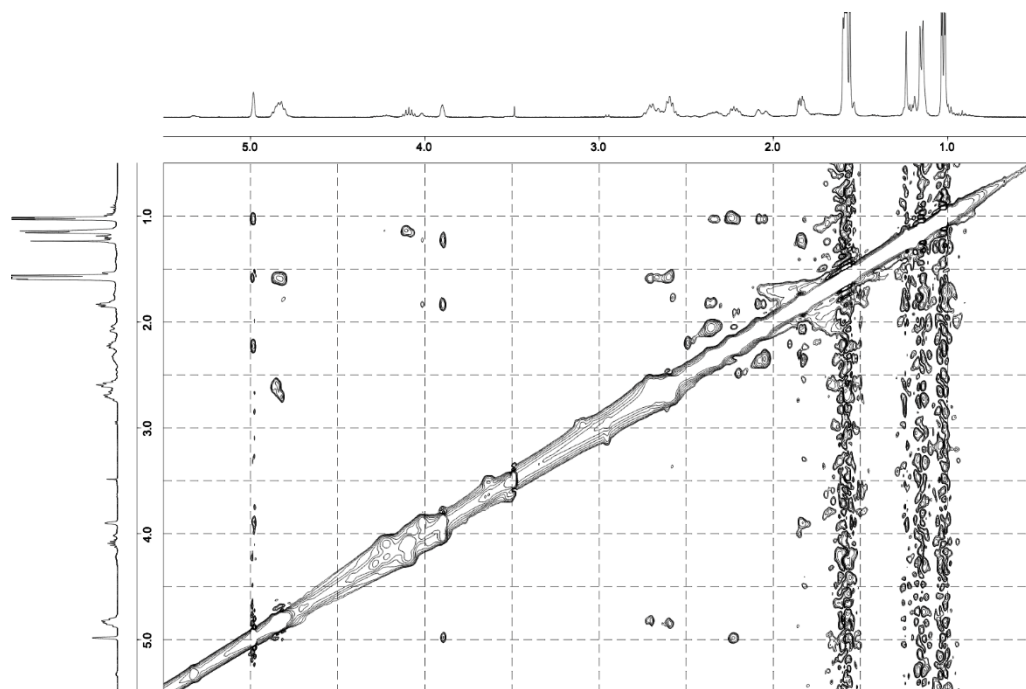


Figure S3.67. NOESY spectrum of hypascyrin B (**26**) in CDCl_3 (500 MHz).

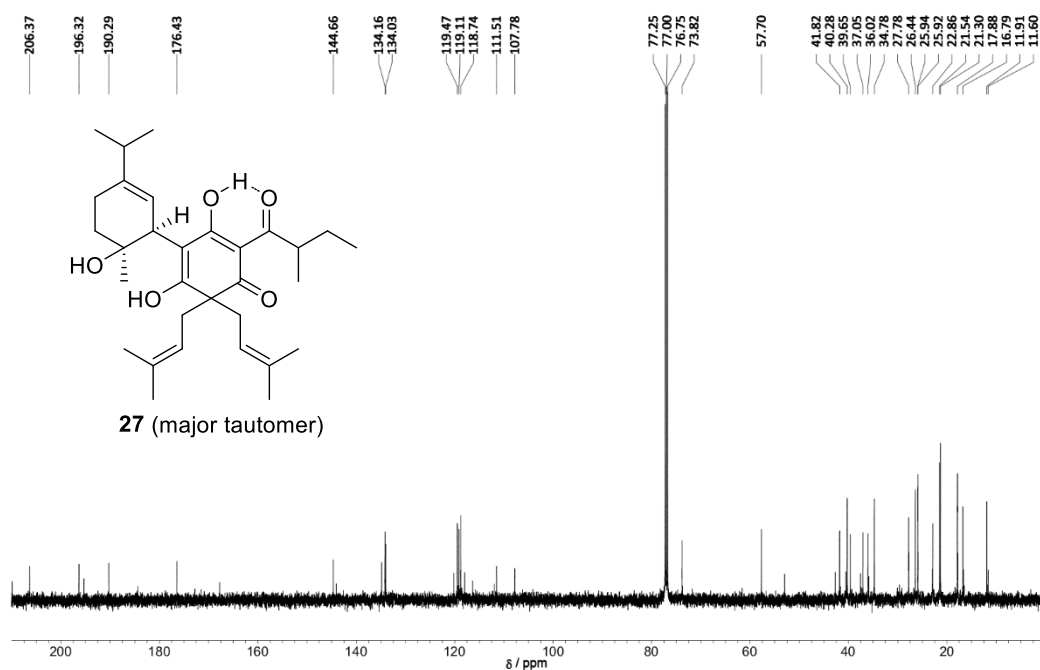


Figure S3.68. ^{13}C NMR spectrum of hypascyrin C (**27**) in CDCl_3 (125 MHz).

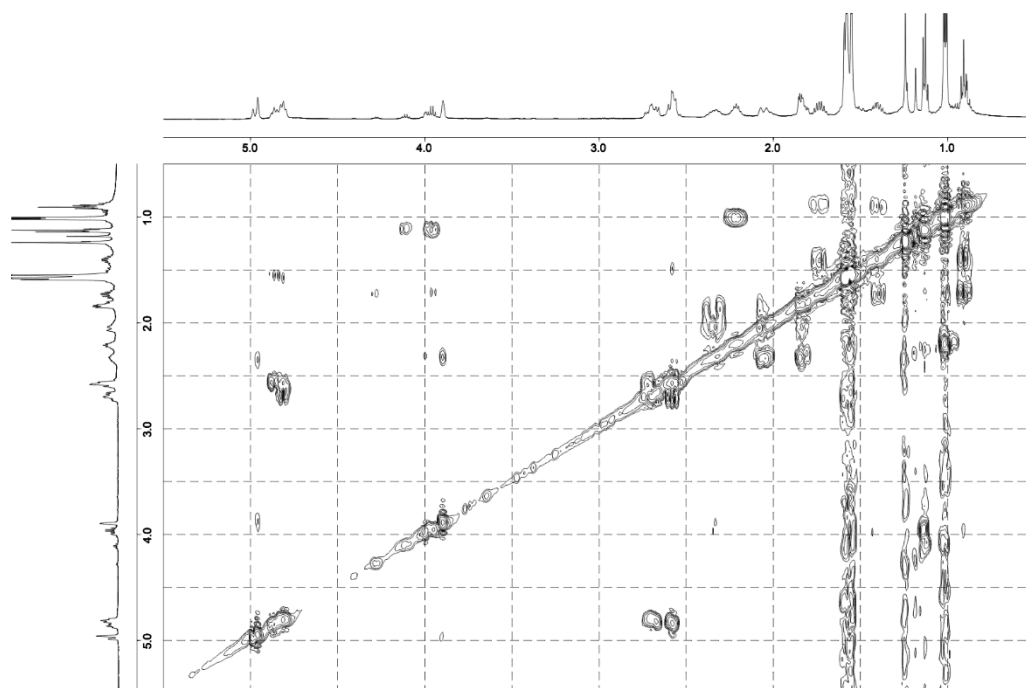


Figure S3.69. ¹H-¹H COSY spectrum of hypascyrin C (**27**) in CDCl₃ (500 MHz).

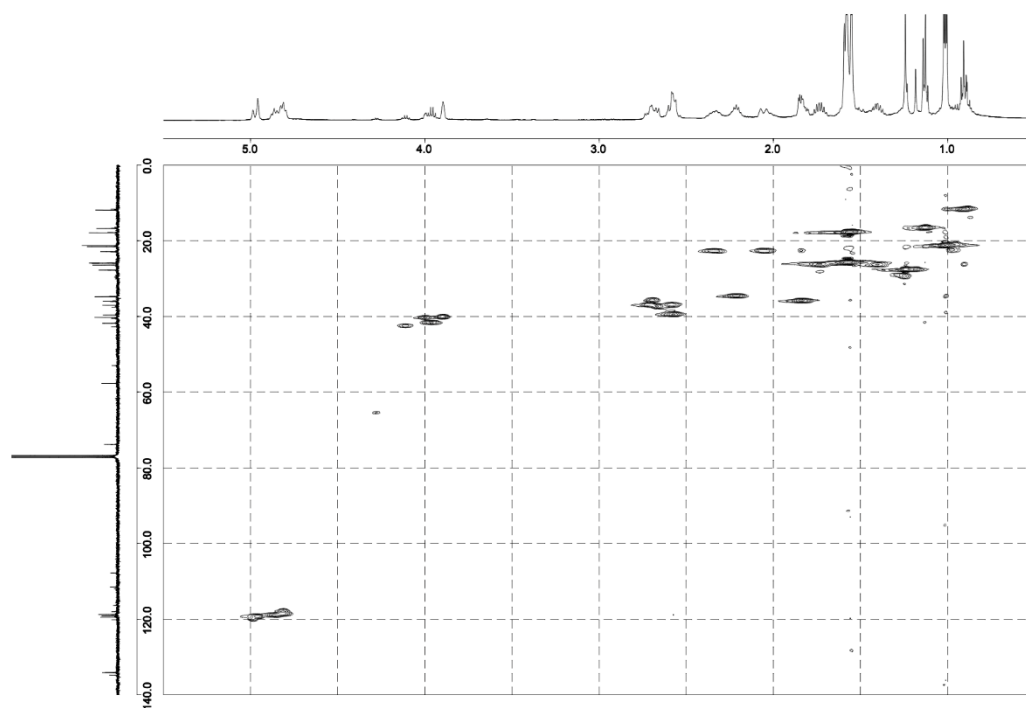


Figure S3.70. HSQC spectrum of hypascyrin C (**27**) in CDCl₃ (500 MHz).

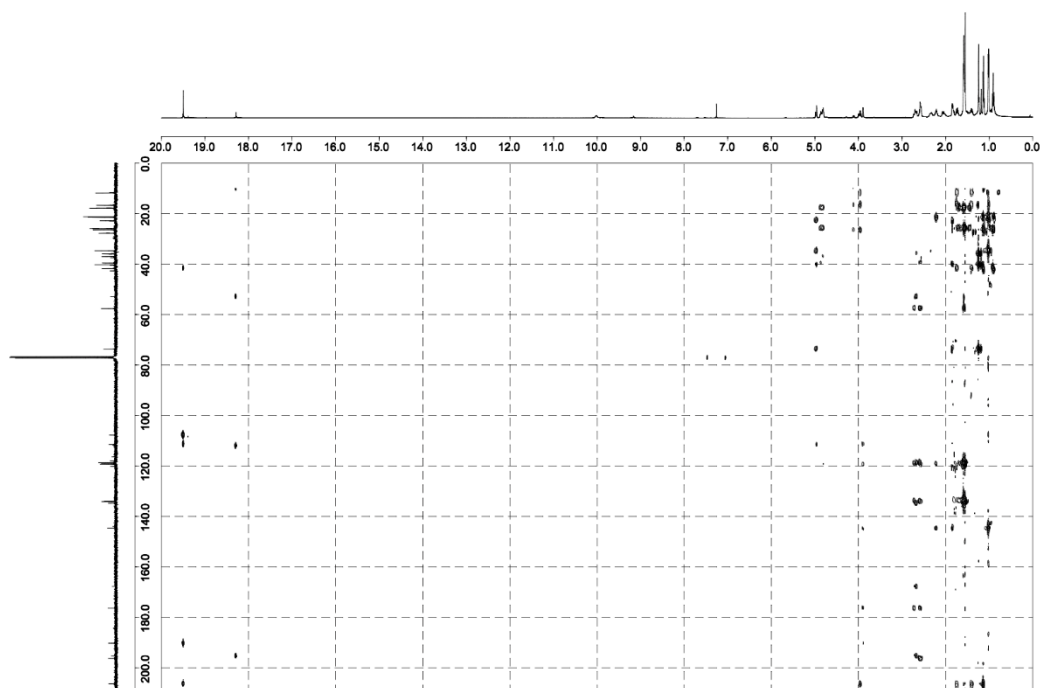


Figure S3.71. HMBC spectrum of hypascyrin C (**27**) in CDCl₃ (500 MHz).

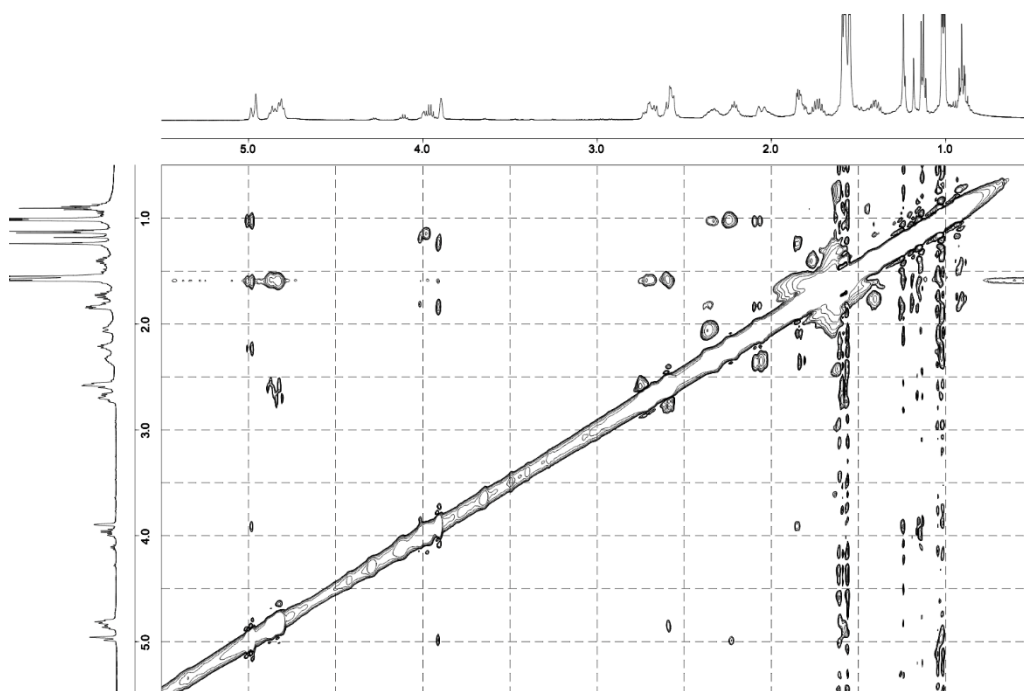


Figure S3.72. NOESY spectrum of hypascyrin C (**27**) in CDCl₃ (500 MHz).

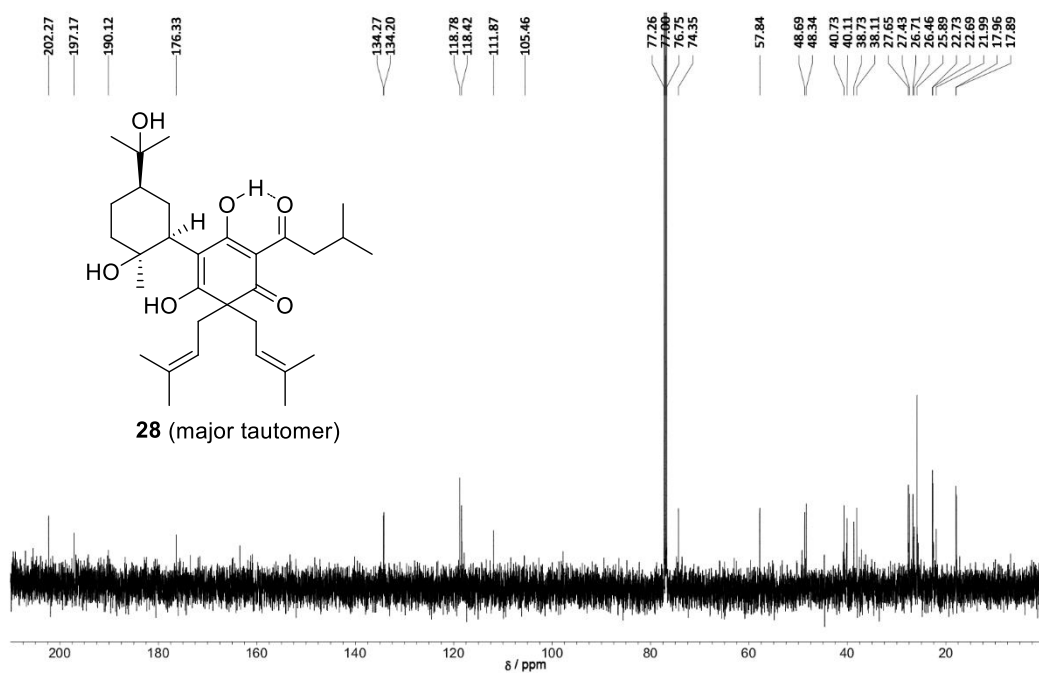


Figure S3.73. ^{13}C NMR spectrum of hypascyrin D (28) in CDCl_3 (125 MHz).

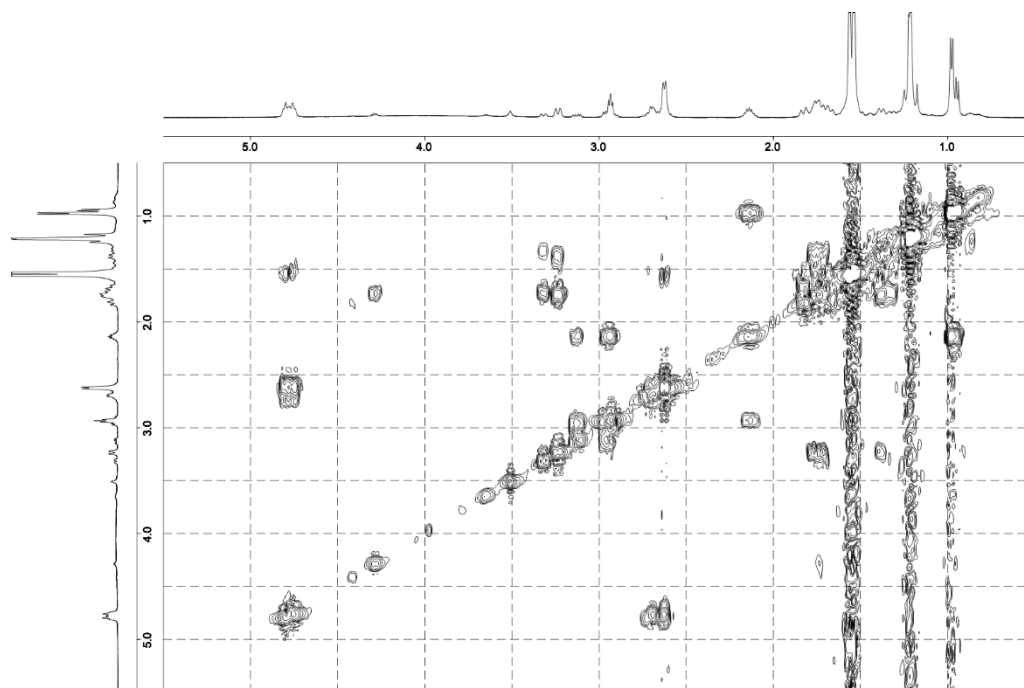


Figure S3.74. ^1H - ^1H COSY spectrum of hypascyrin D (28) in CDCl_3 (500 MHz).

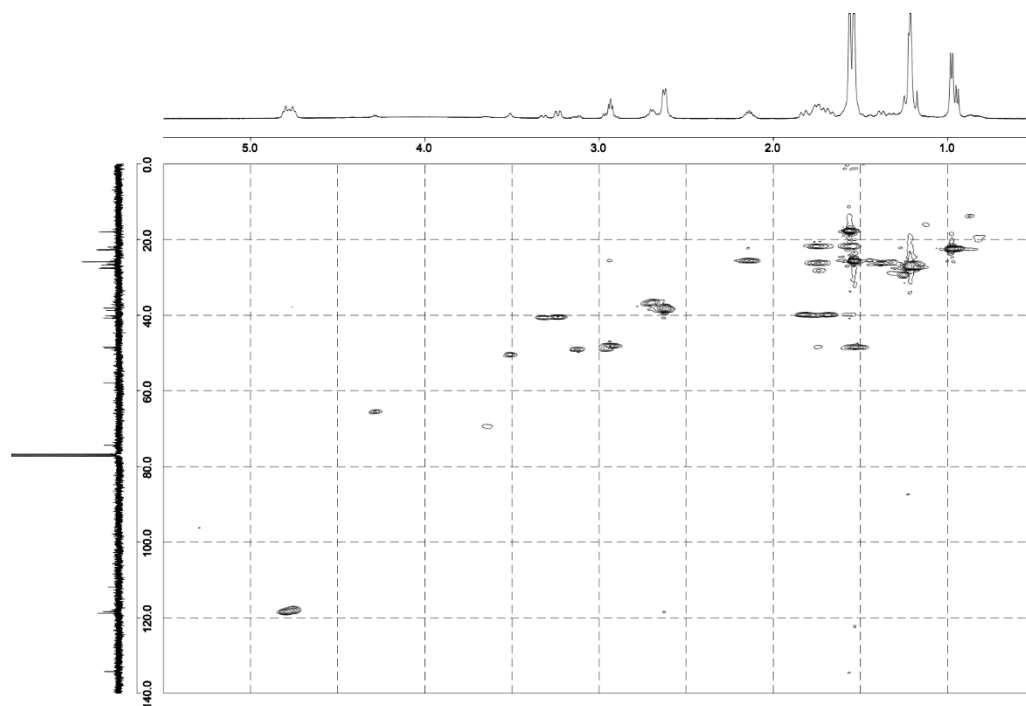


Figure S3.75. HSQC spectrum of hypascyrin D (**28**) in CDCl₃ (500 MHz).

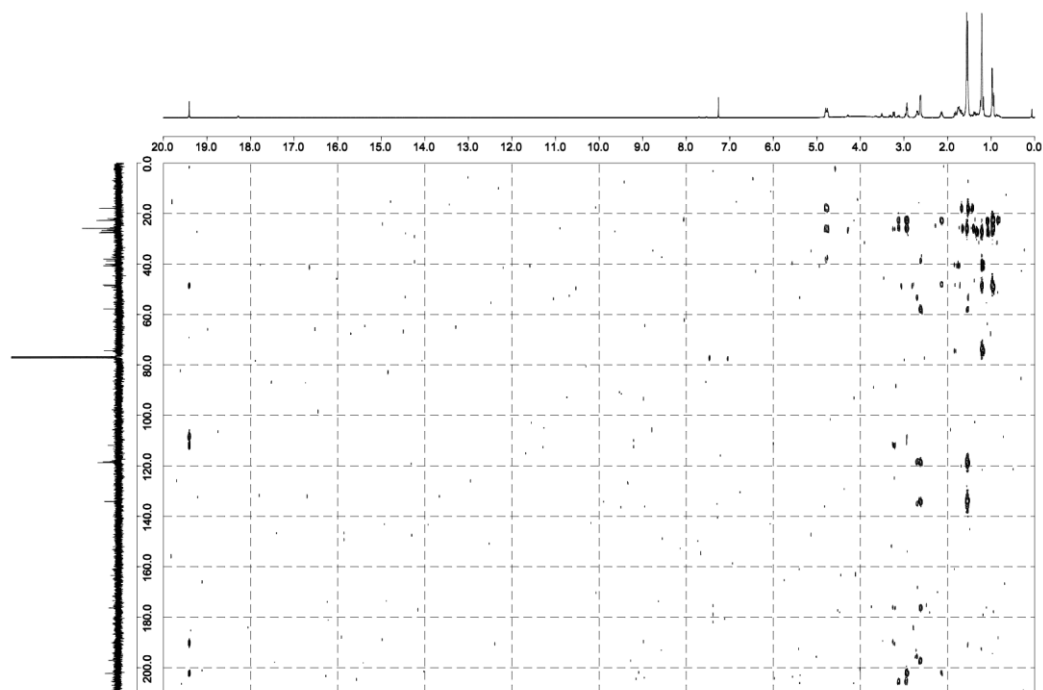


Figure S3.76. HMBC spectrum of hypascyrin D (**28**) in CDCl₃ (125 MHz).

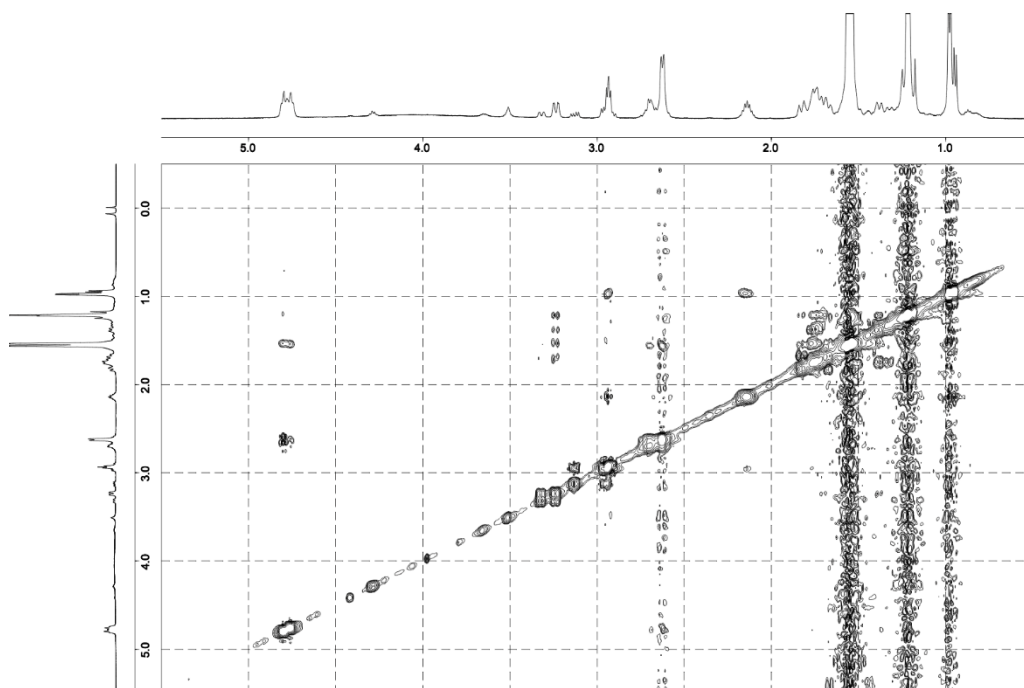


Figure S3.77. NOESY spectrum of hypascyrin D (**28**) in CDCl_3 (500 MHz).

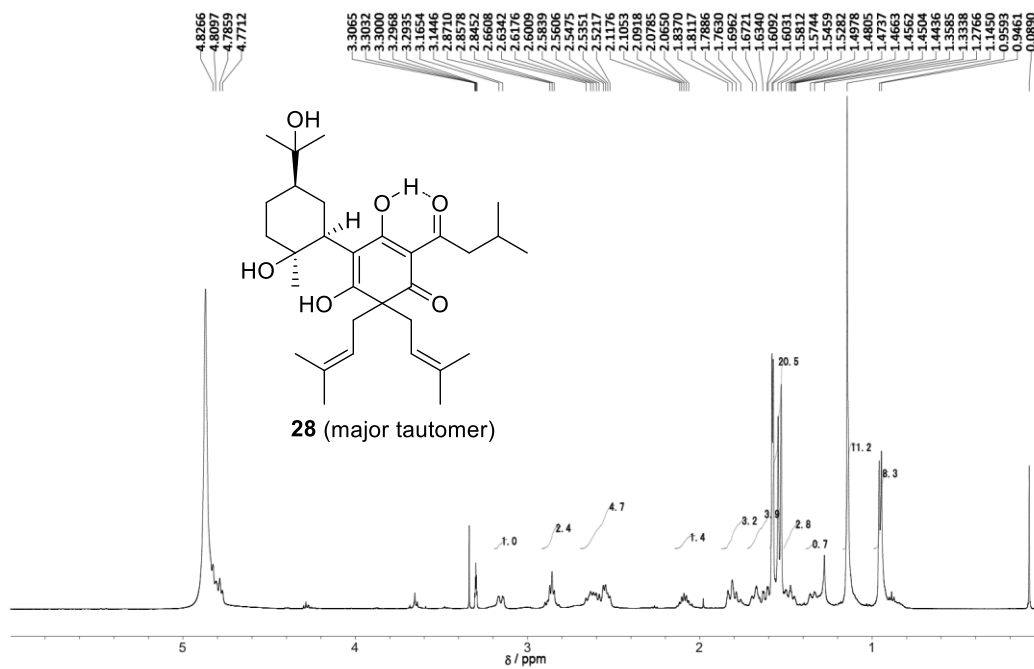


Figure S3.78. ^1H NMR spectrum of hypascyrin D (**28**) in $\text{methanol-}d_4$ (500 MHz).

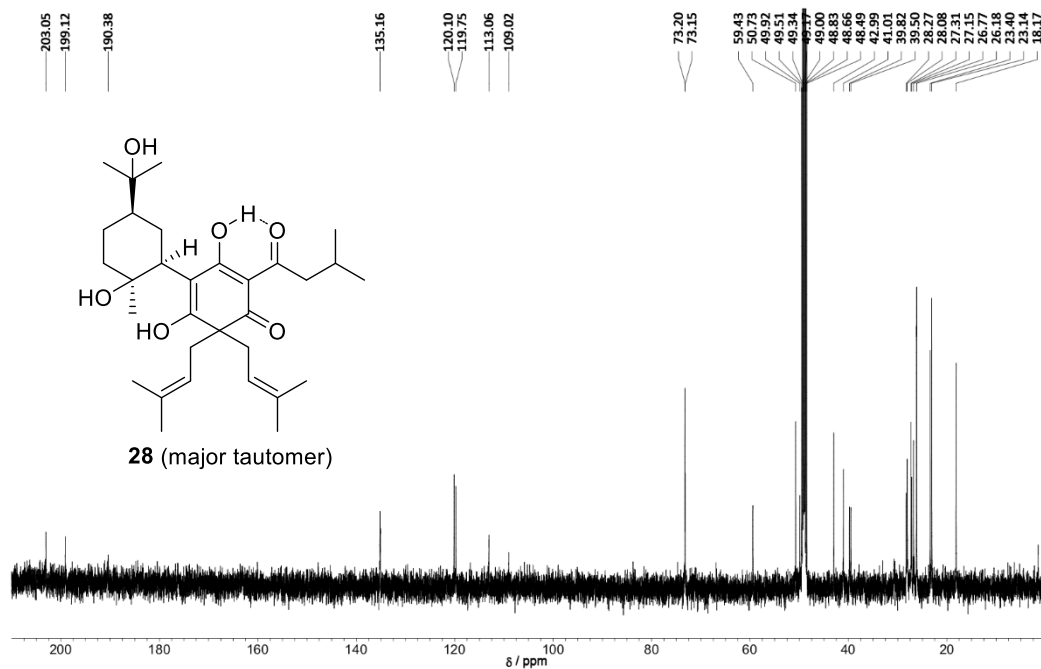


Figure S3.79. ^{13}C NMR spectrum of hypascyrin D (**28**) in methanol- d_4 (125 MHz).

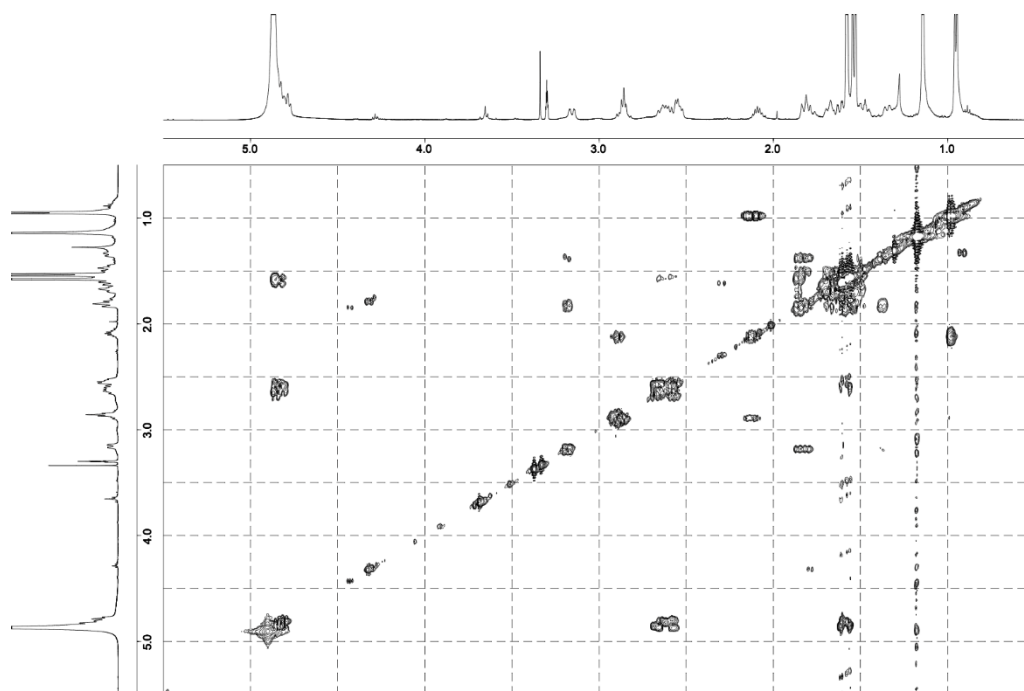


Figure S3.80. ^1H - ^1H COSY spectrum of hypascyrin D (**28**) in methanol- d_4 (500 MHz).

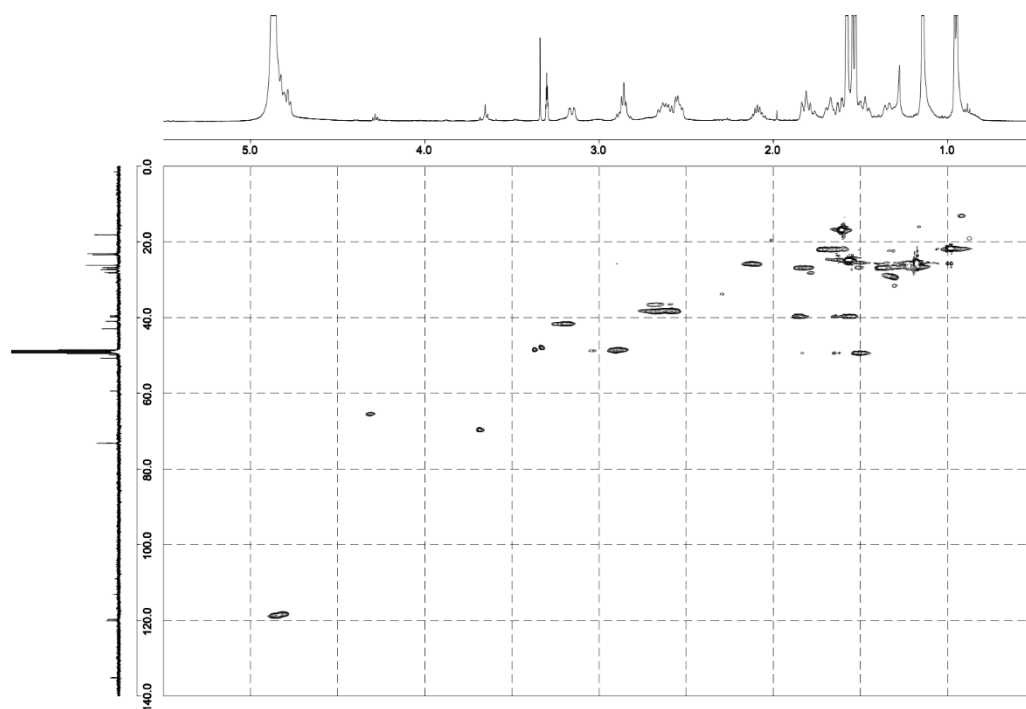


Figure S3.81. HSQC spectrum of hypascyrin D (**28**) in methanol- d_4 (500 MHz).

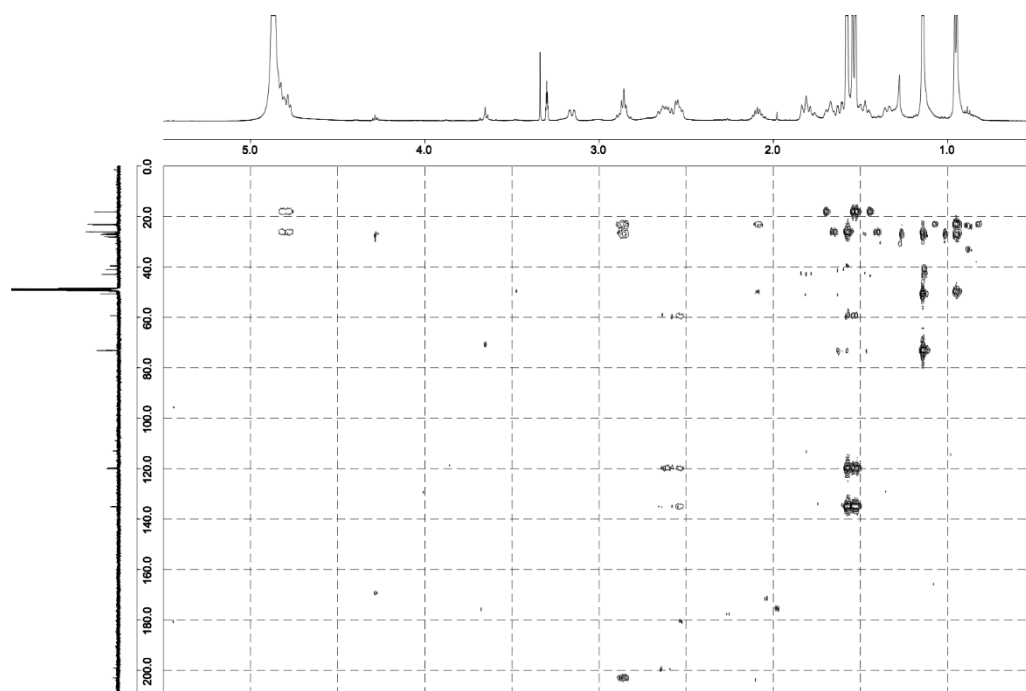


Figure S3.82. HMBC spectrum of hypascyrin D (**28**) in methanol- d_4 (500 MHz).

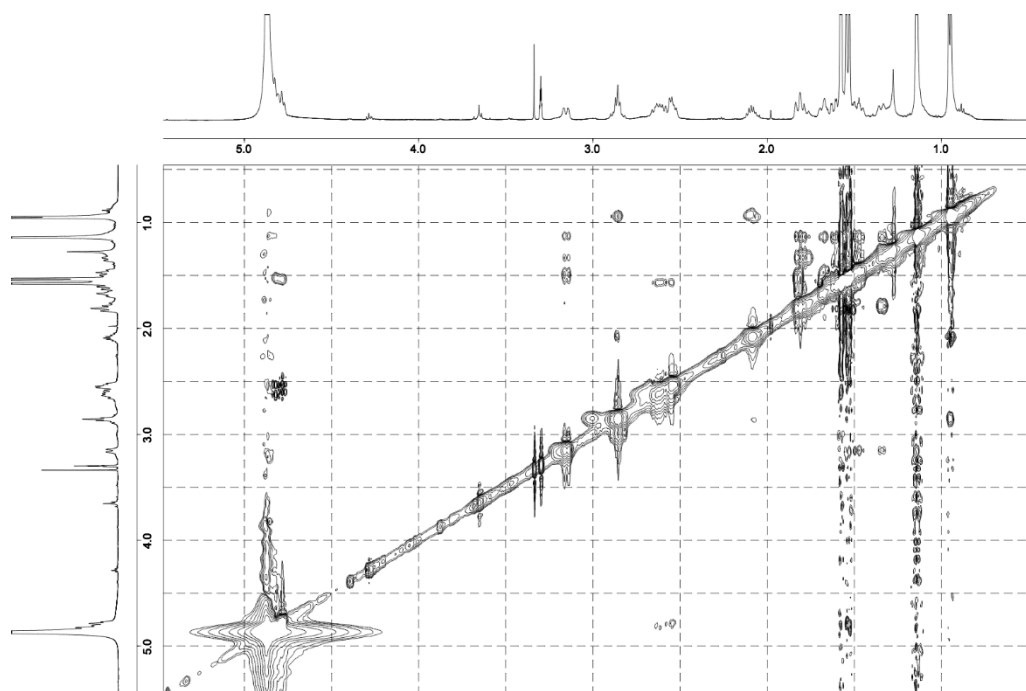


Figure S3.83. NOESY spectrum of hypascyrin D (**28**) in methanol- d_4 (500 MHz).

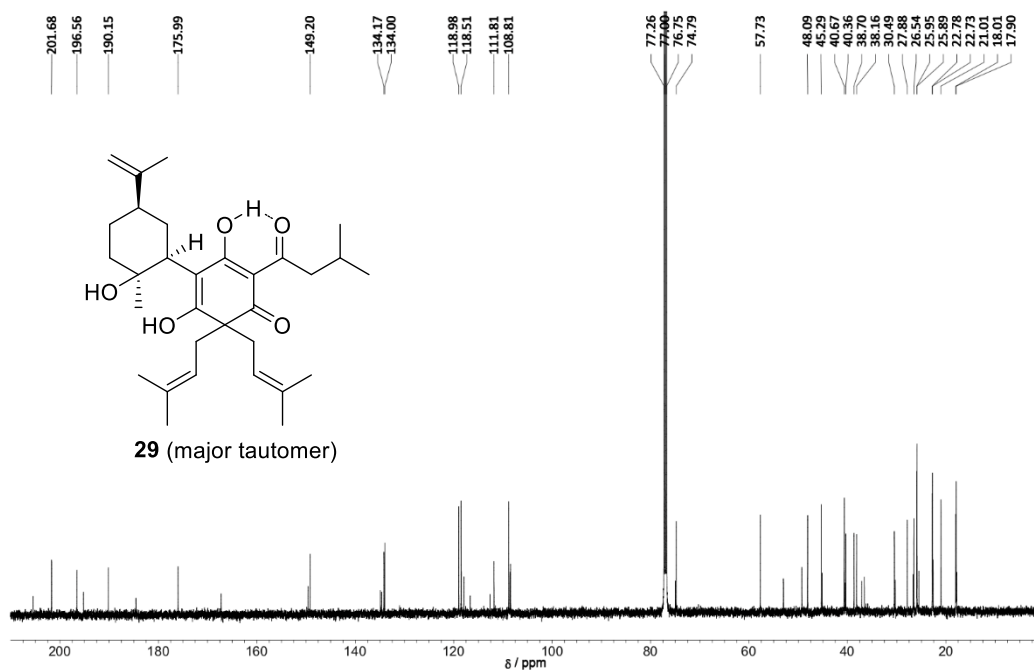


Figure S3.84. ^{13}C NMR spectrum of hypascyrin E (**29**) in CDCl_3 (125 MHz).

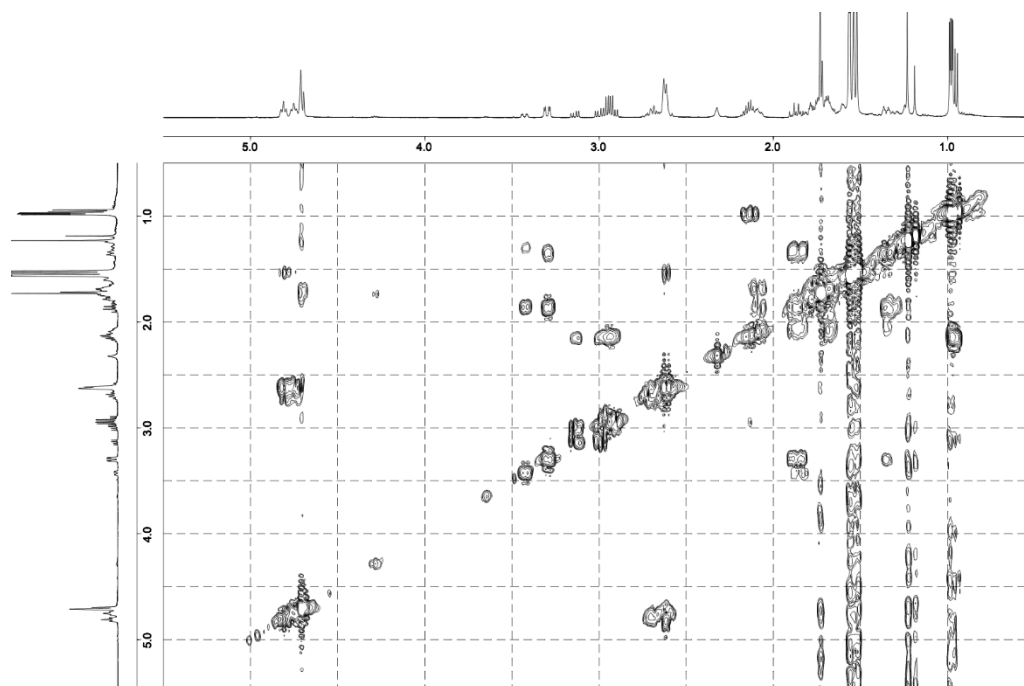


Figure S3.85. ^1H - ^1H COSY spectrum of hypascyrin E (**29**) in CDCl_3 (500 MHz).

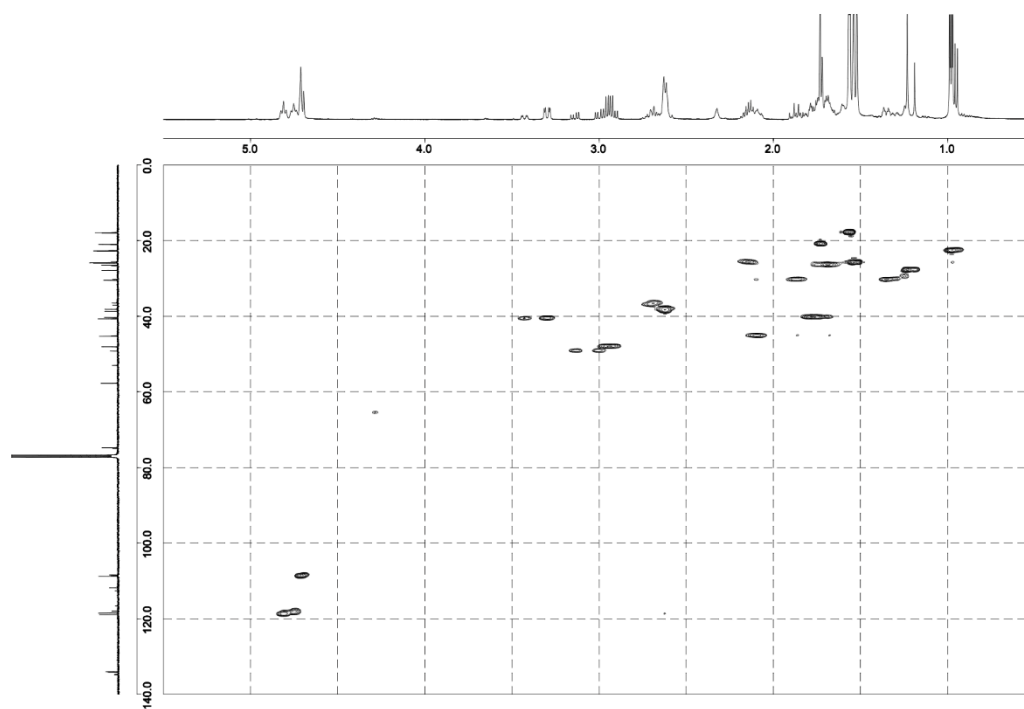


Figure S3.86. HSQC spectrum of hypascyrin E (**29**) in CDCl_3 (500 MHz).

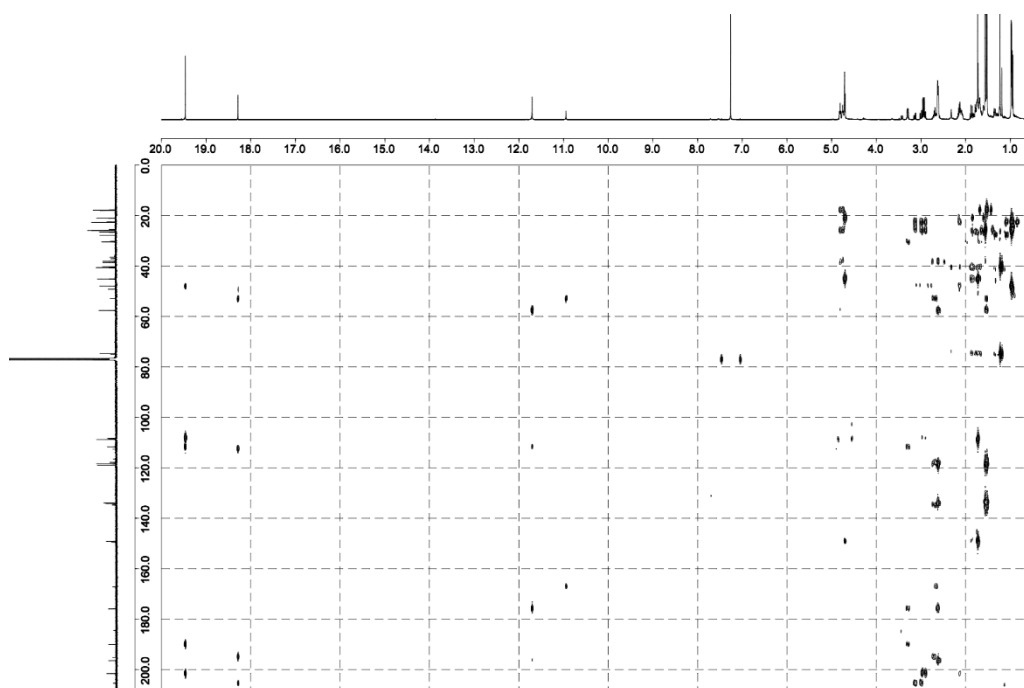


Figure S3.87. HMBC spectrum of hypascyrin E (**29**) in CDCl_3 (500 MHz).

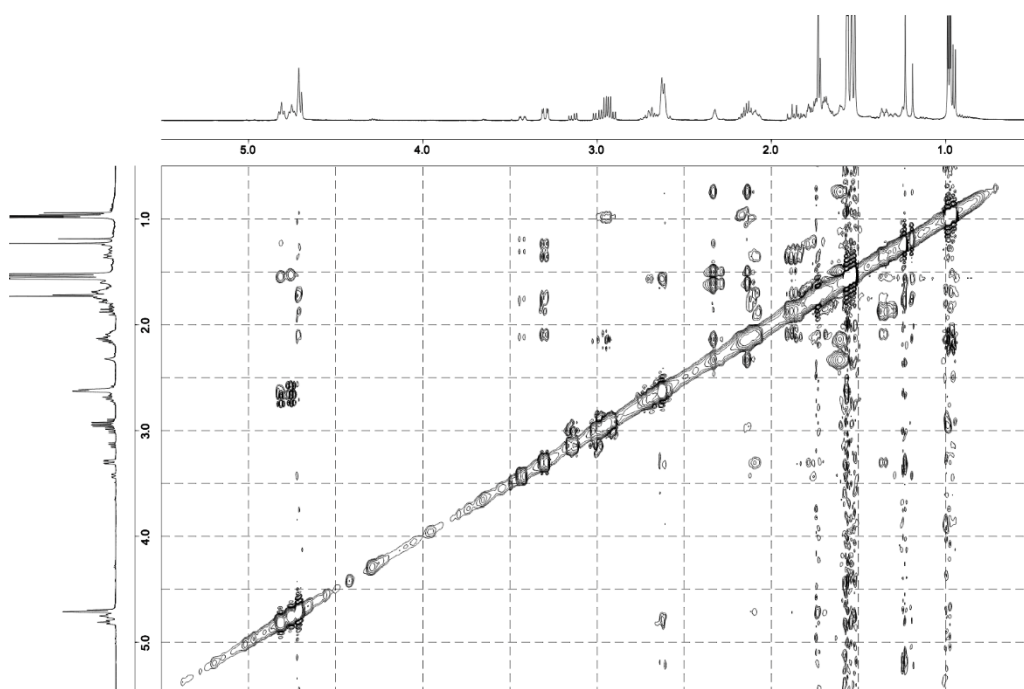


Figure S3.88. NOESY spectrum of hypascyrin E (**29**) in CDCl_3 (500 MHz).

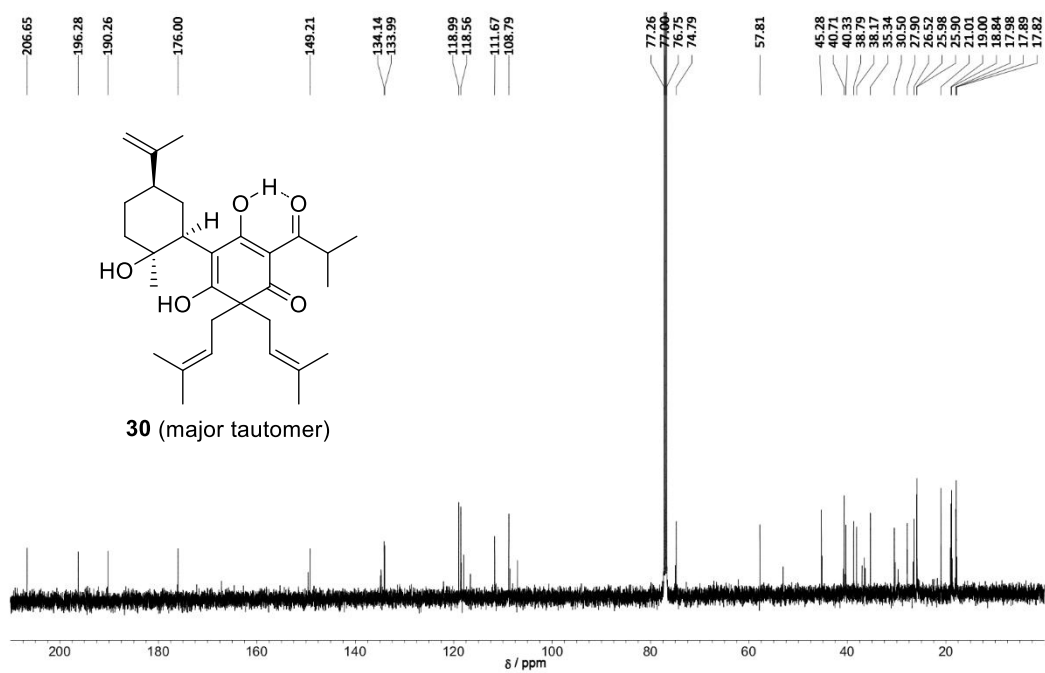


Figure S3.89. ¹³C NMR spectrum of *ent*-hyphenrone J (**30**) in CDCl₃ (125 MHz).

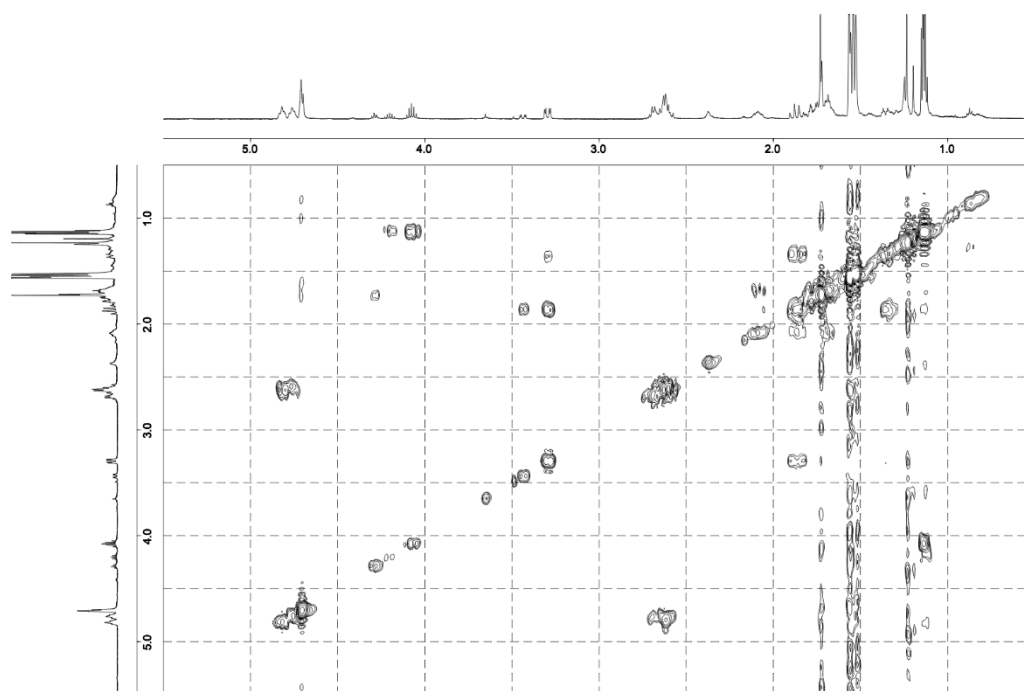


Figure S3.90. ¹H-¹H COSY spectrum of *ent*-hyphenrone J (**30**) in CDCl₃ (500 MHz).

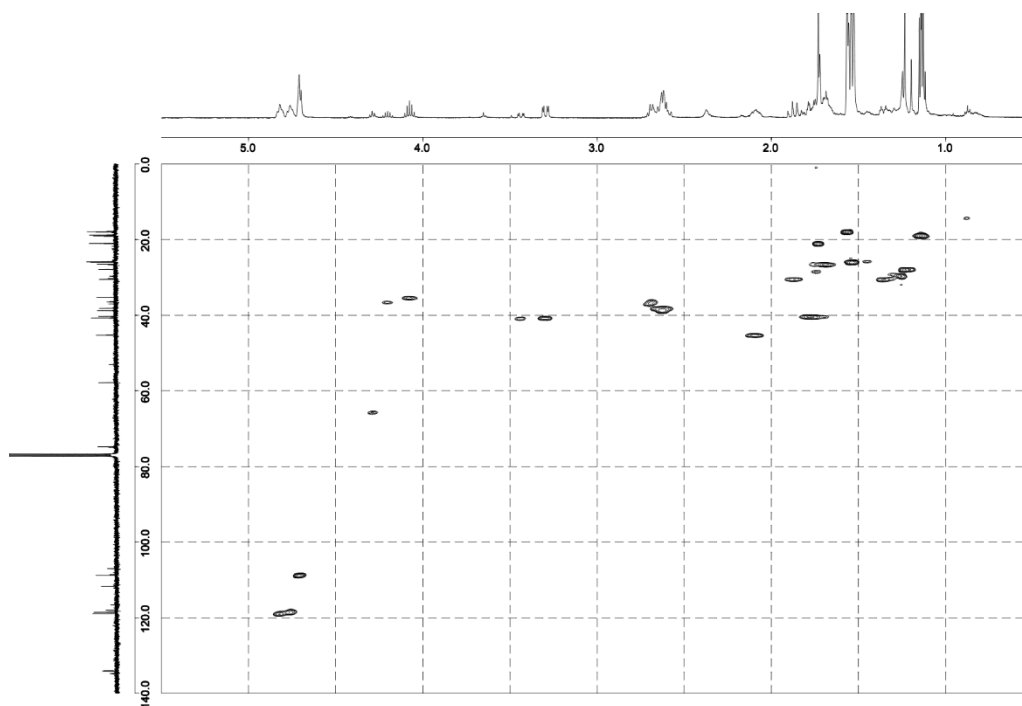


Figure S3.91. HSQC spectrum of *ent*-hyphenrone J (**30**) in CDCl₃ (500 MHz).

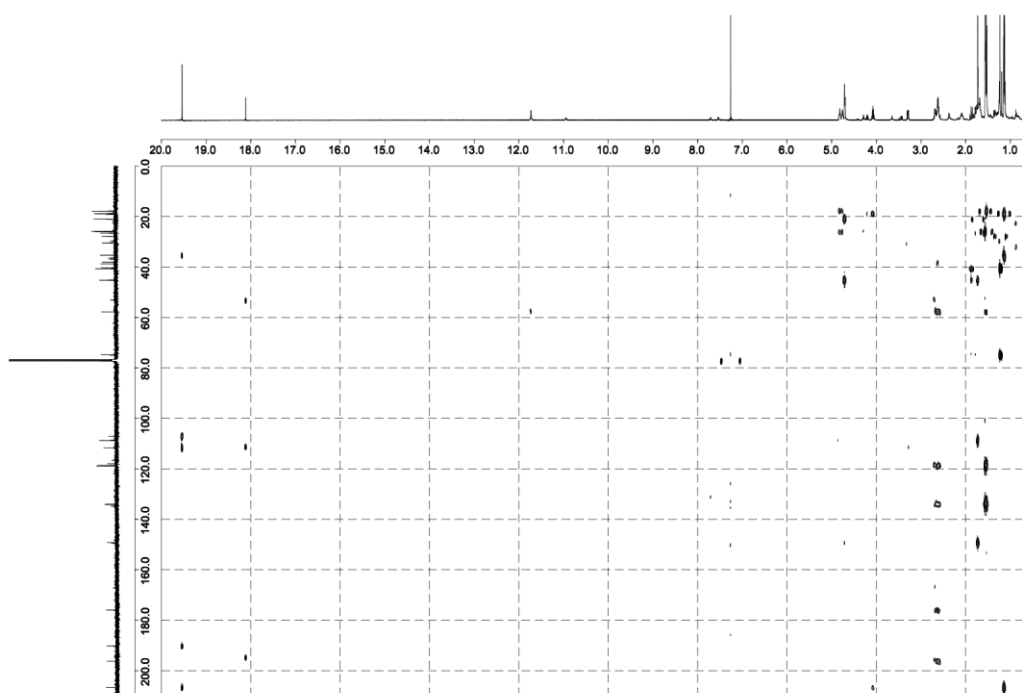


Figure S3.92. HMBC spectrum of *ent*-hyphenrone J (**30**) in CDCl₃ (500 MHz).

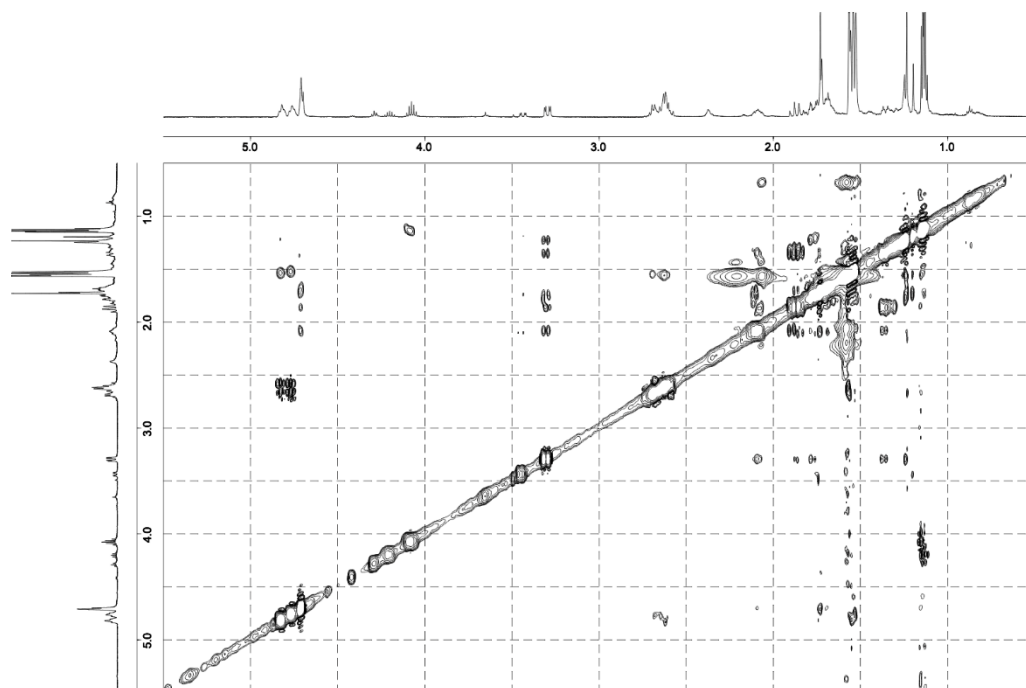


Figure S3.93. NOESY spectrum of *ent*-hiphenrone J (**30**) in CDCl₃ (500 MHz).

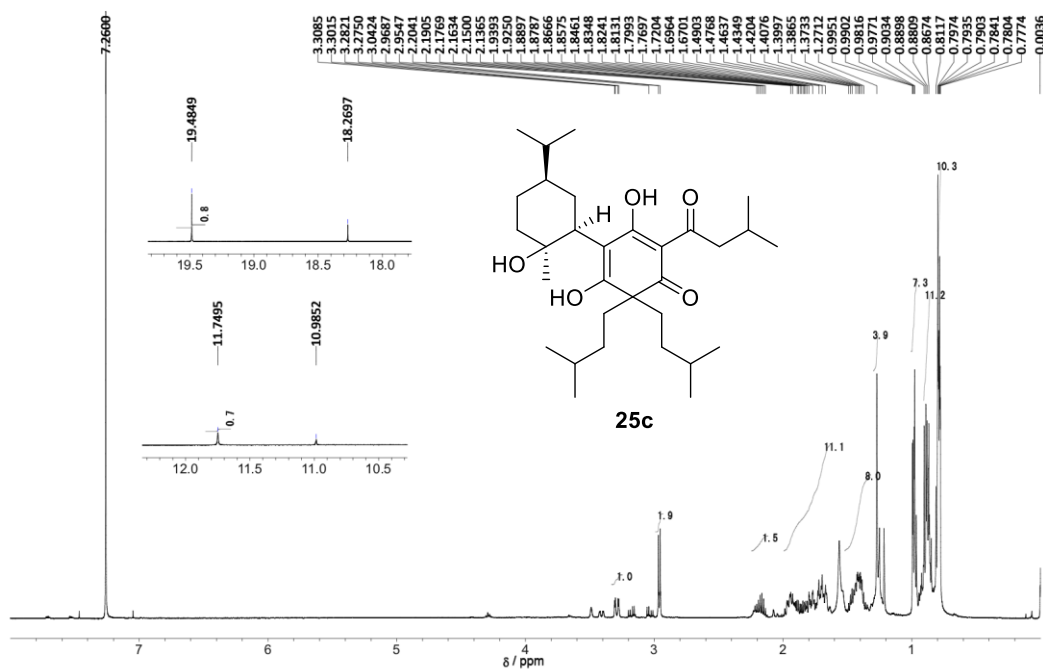


Figure S3.94. ¹H NMR spectrum of hexahydroypascyrin A (**25c**) in CDCl₃ (500 MHz).

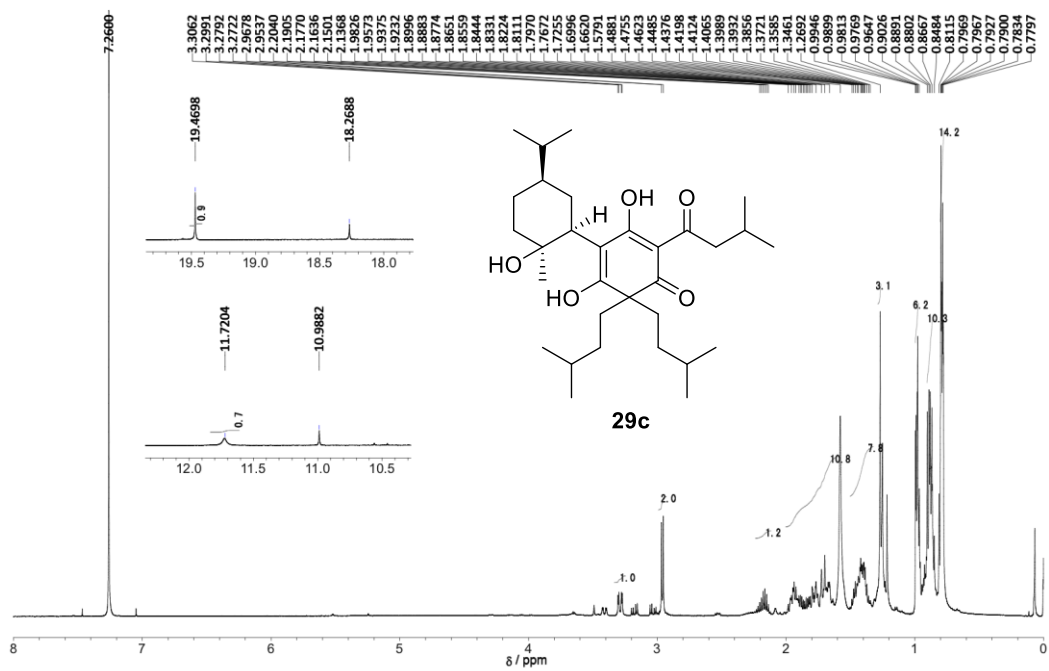
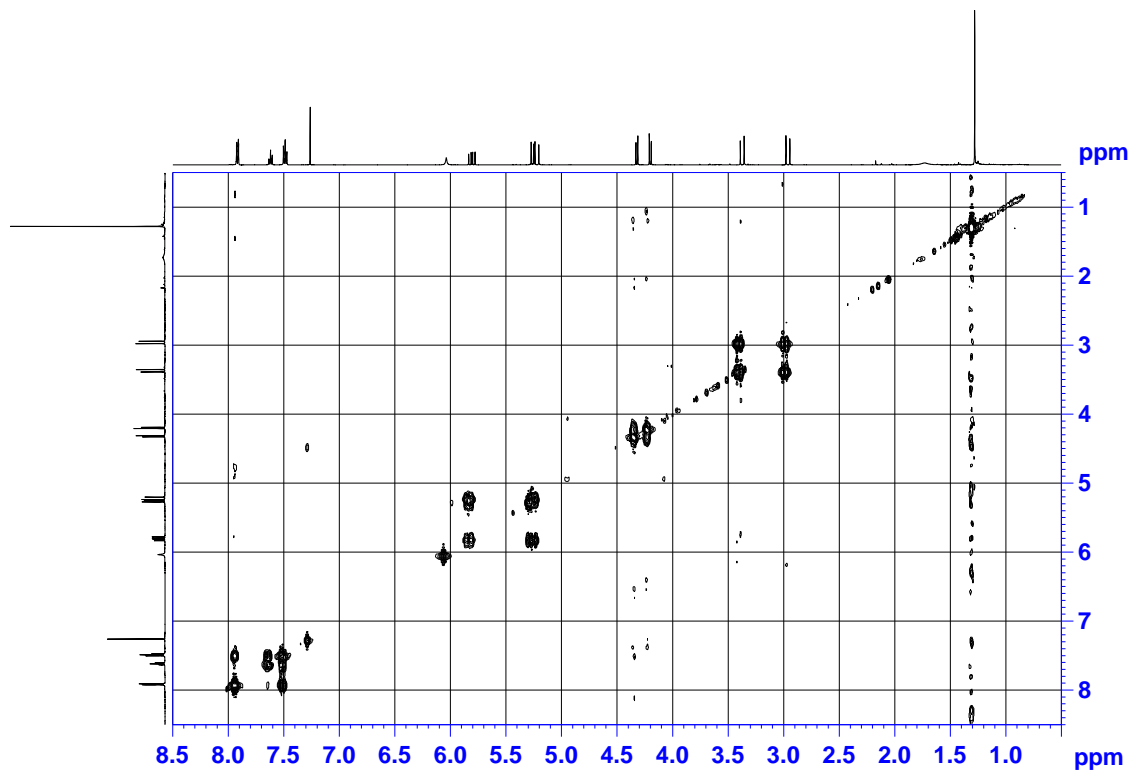
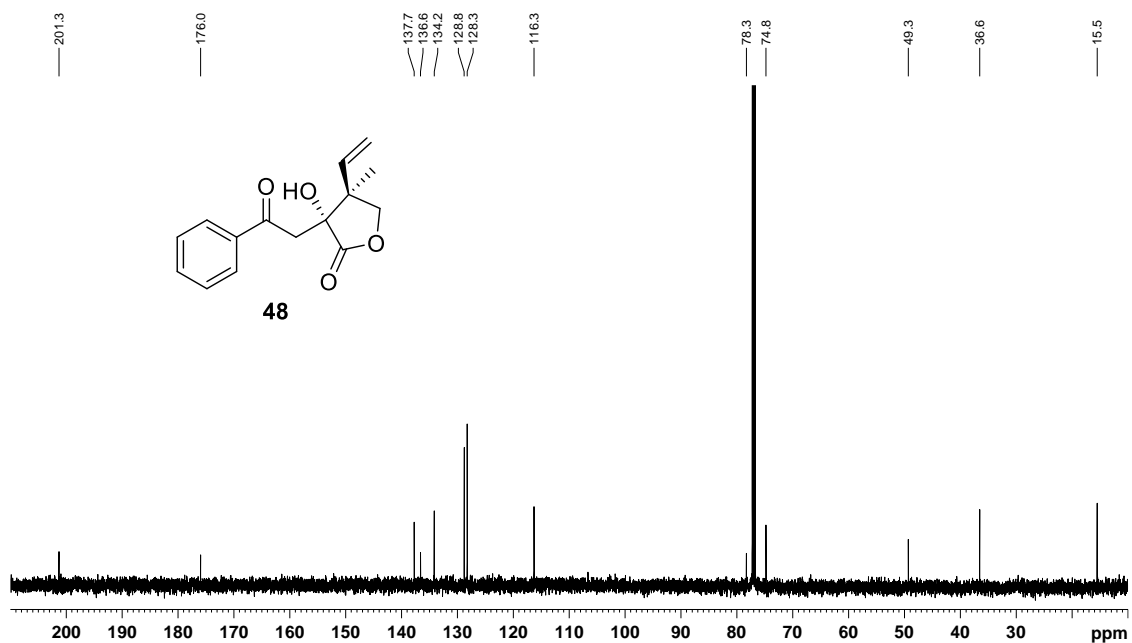


Figure S3.95. ¹H NMR spectrum of hexahydrohyascyrin E (**29c**) in CDCl₃ (500 MHz).



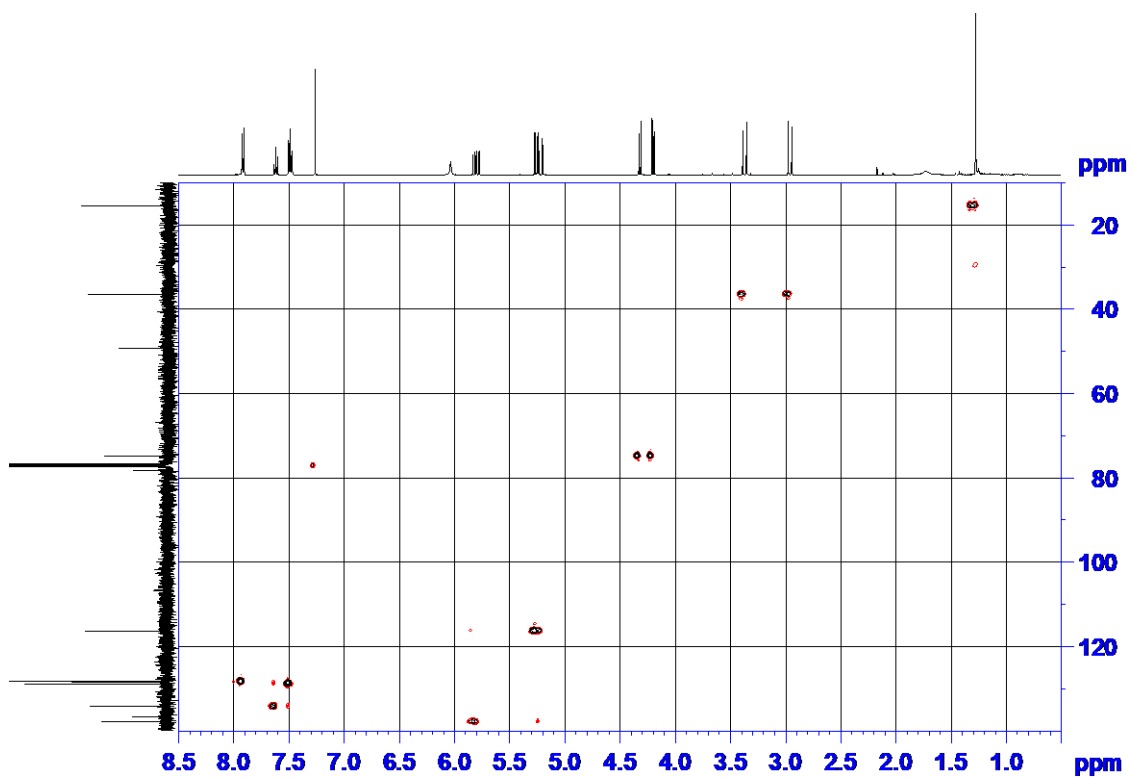


Figure S3.98. HSQC spectrum of merohyperin A (**48**) in CDCl_3 (500 MHz).

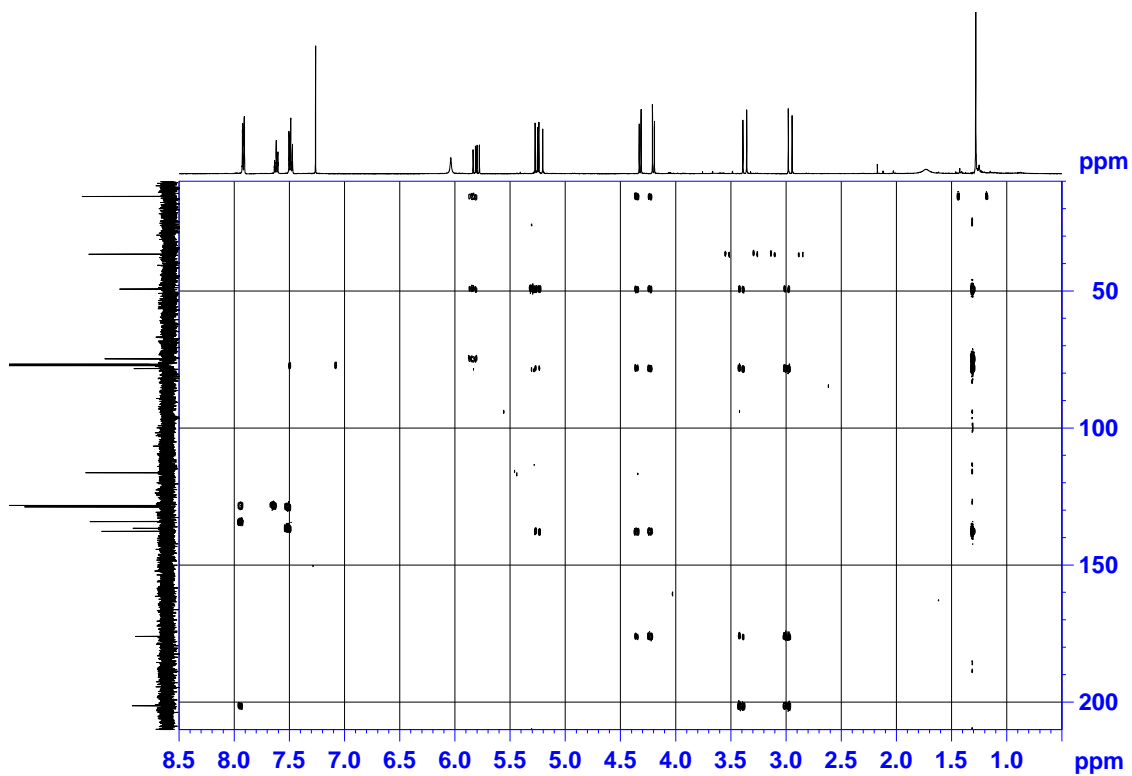


Figure S3.99. HMBC spectrum of merohyperin A (**48**) in CDCl_3 (500 MHz).

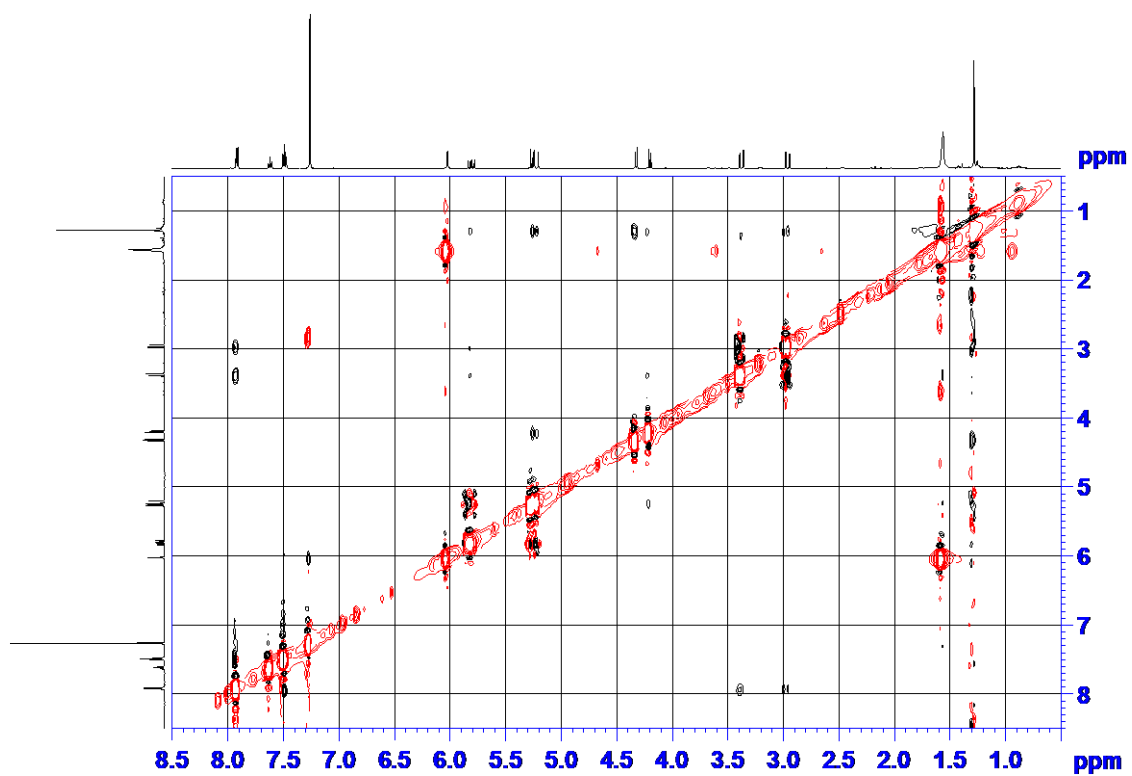


Figure S3.100. NOESY spectrum of merohyperin A (**48**) in CDCl_3 (500 MHz).

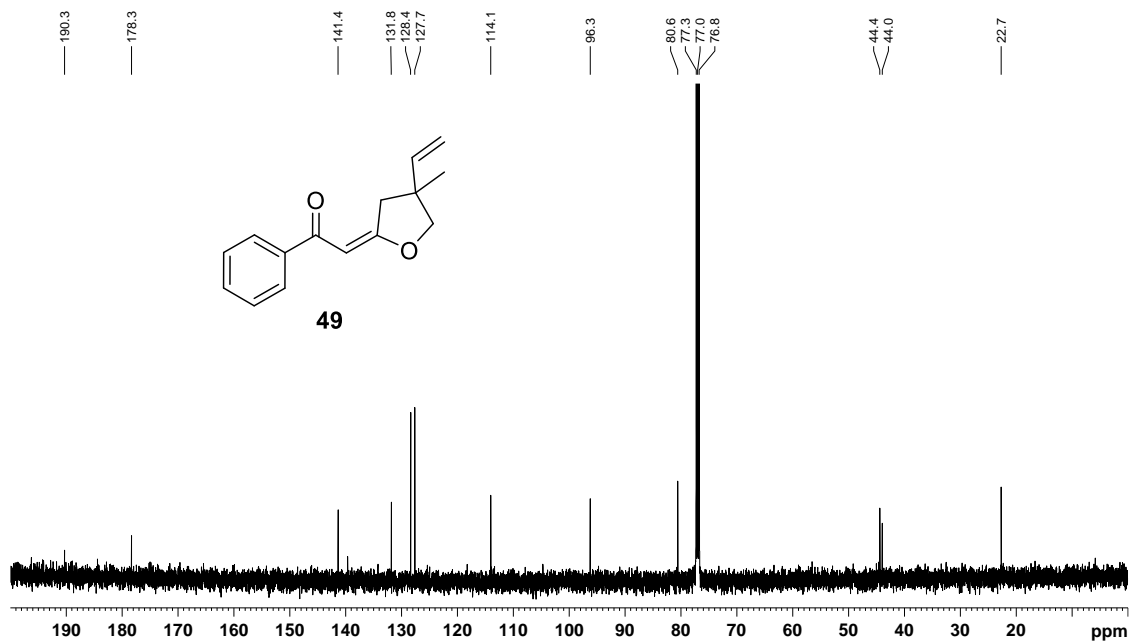


Figure S3.101. ^{13}C NMR spectrum of merohyperin B (**49**) in CDCl_3 (125 MHz).

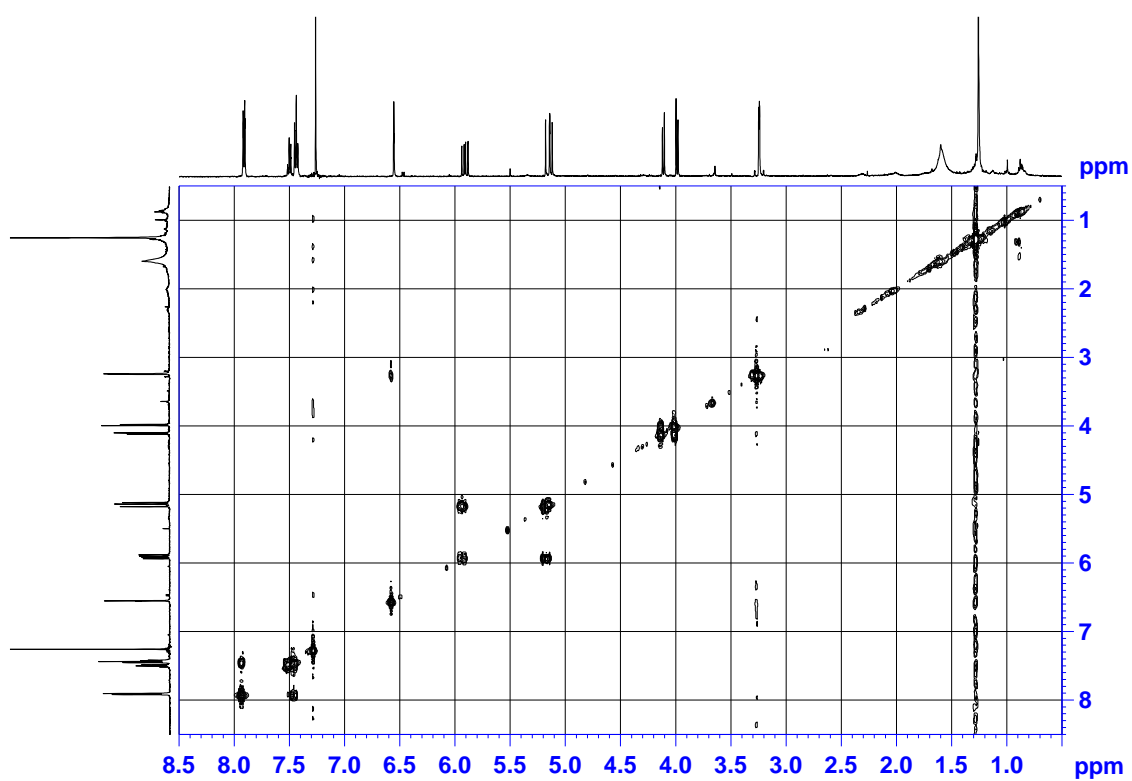


Figure S3.102. ^1H - ^1H COSY spectrum of merohyperin B (**49**) in CDCl_3 (500 MHz).

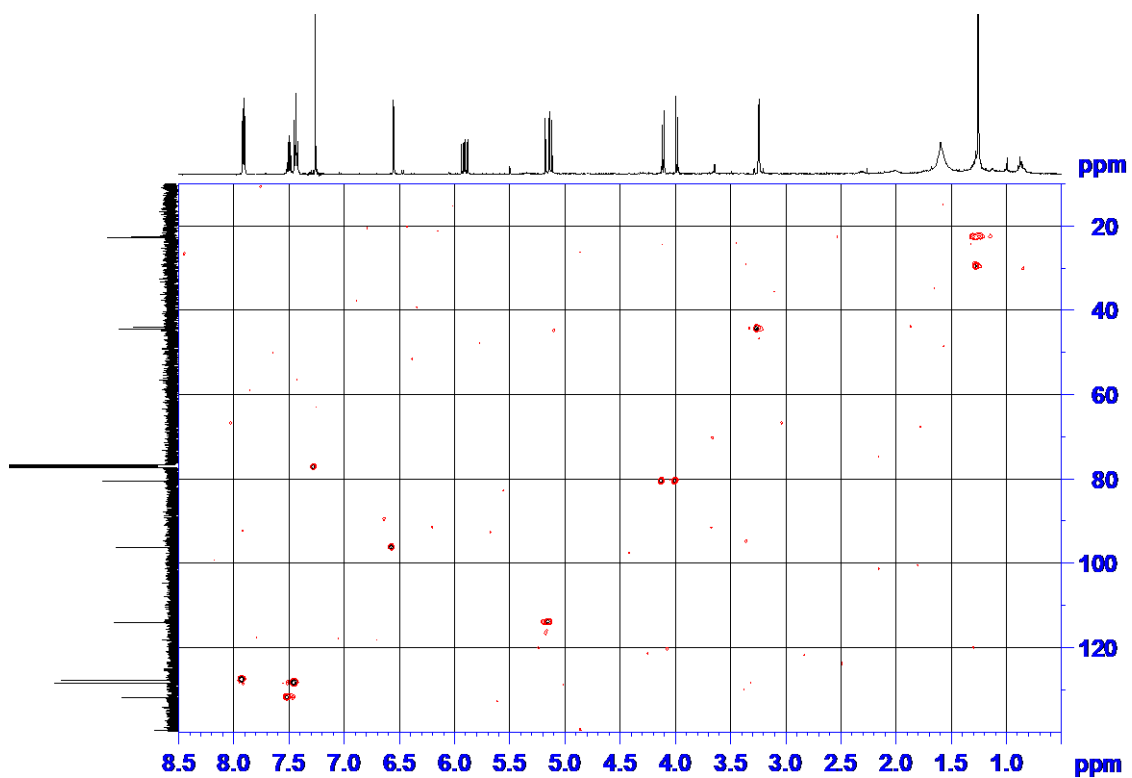


Figure S3.103. HSQC spectrum of merohyperin B (**49**) in CDCl_3 (500 MHz).

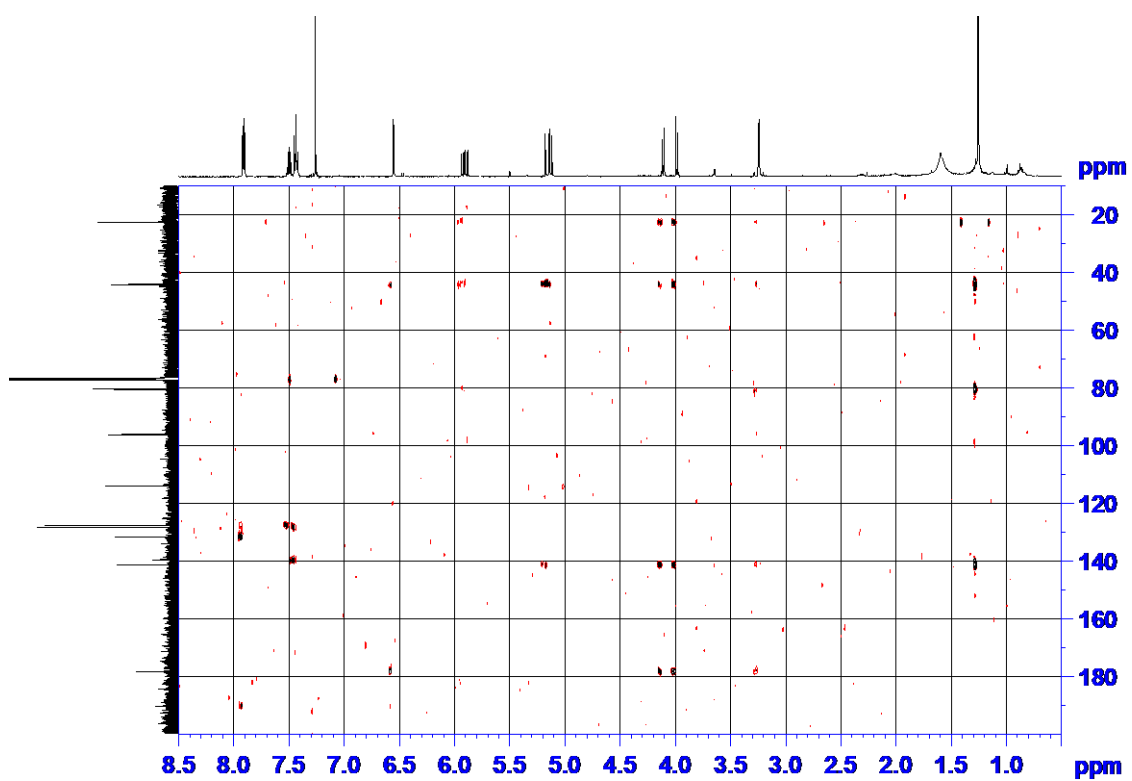


Figure S3.104. HMBC spectrum of merohyperin B (**49**) in CDCl_3 (500 MHz).

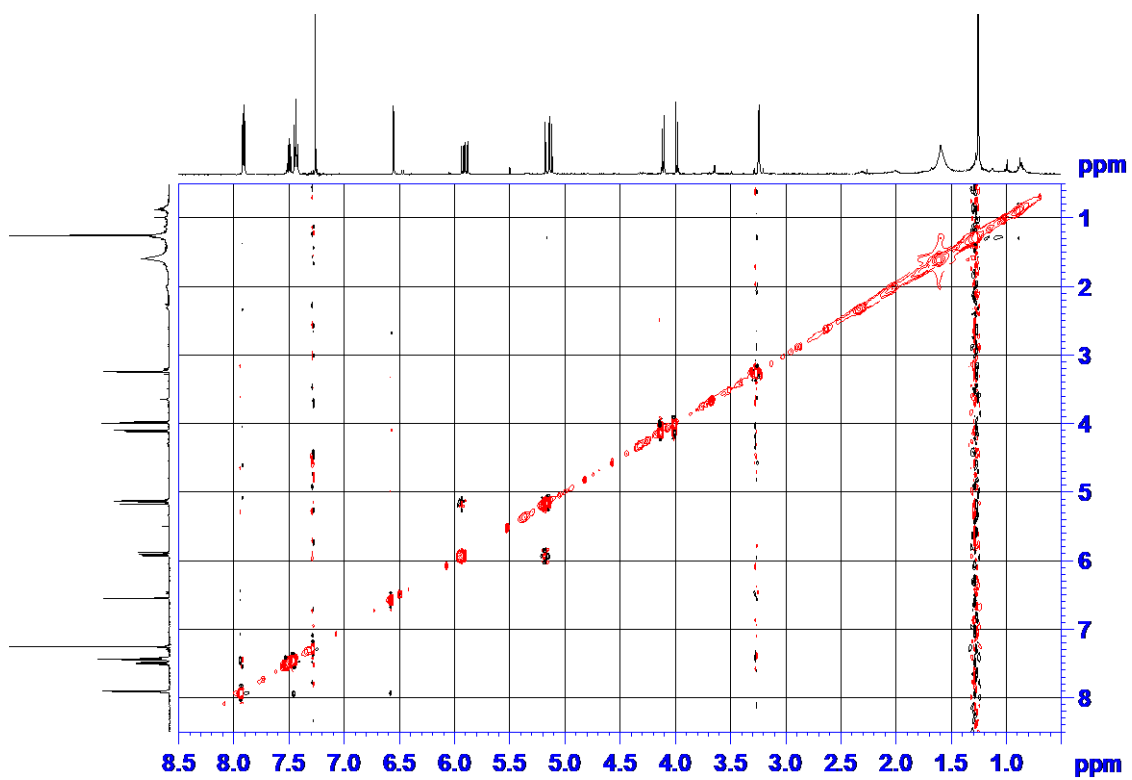


Figure S3.105. NOESY spectrum of merohyperin B (**49**) in CDCl_3 (500 MHz).

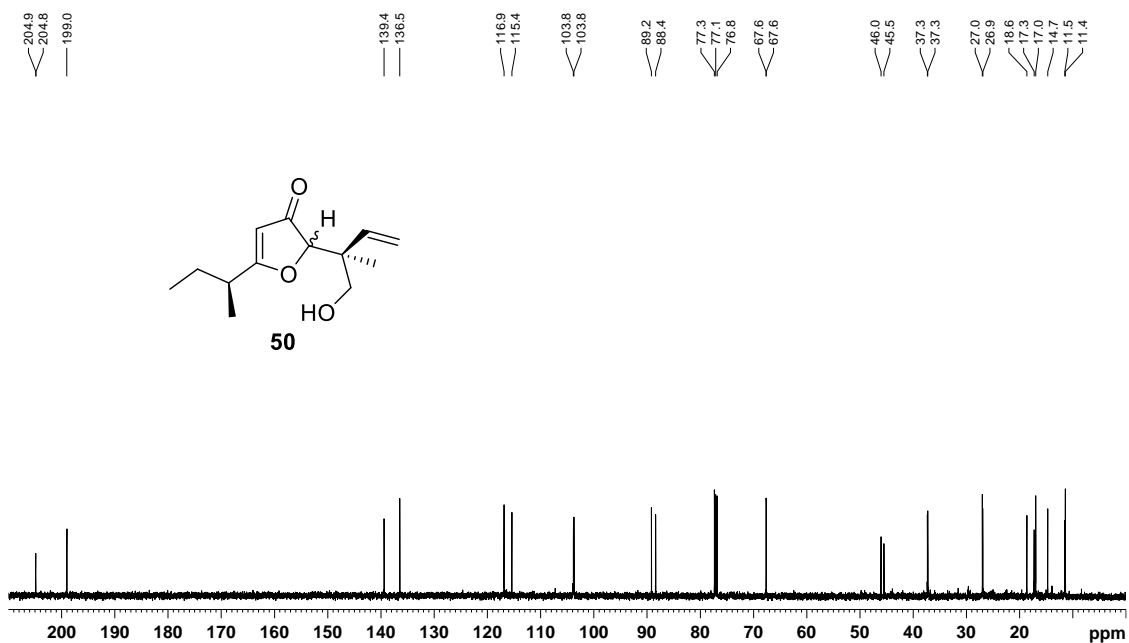


Figure S3.106. ¹³C NMR spectrum of merohyperin C (**50**) in CDCl₃ (125 MHz).

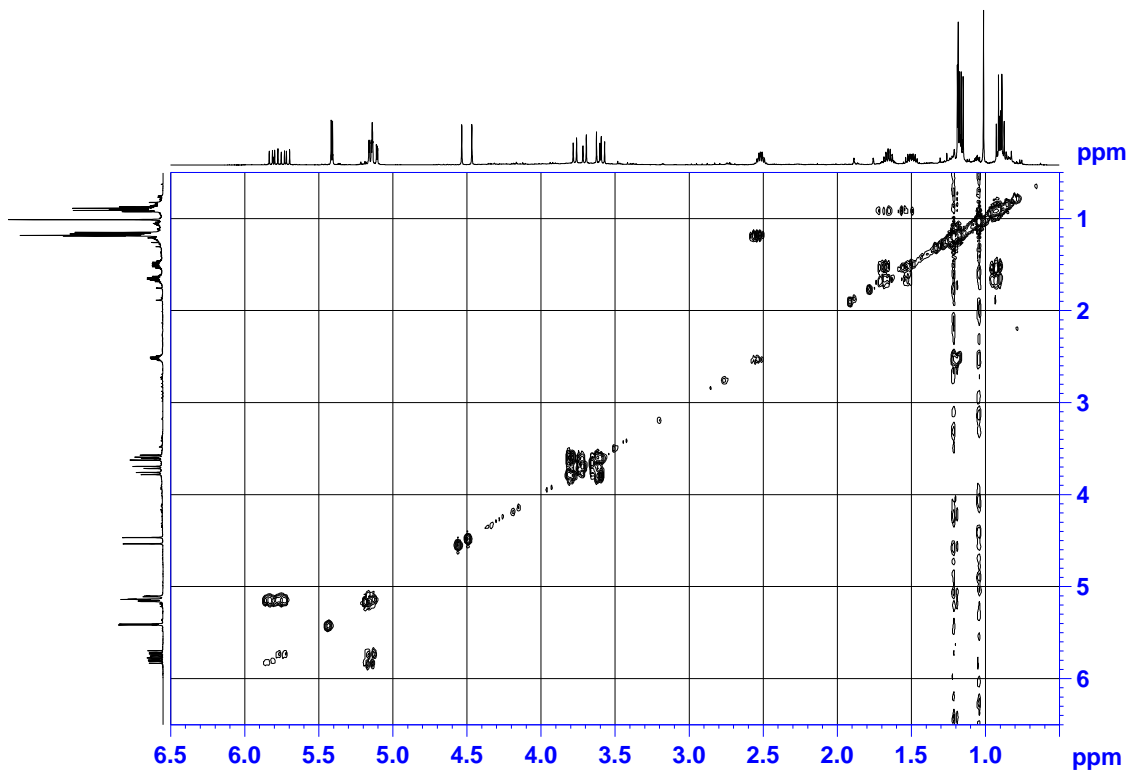


Figure S3.107. ¹H-¹H COSY spectrum of merohyperin C (**50**) in CDCl₃ (500 MHz).

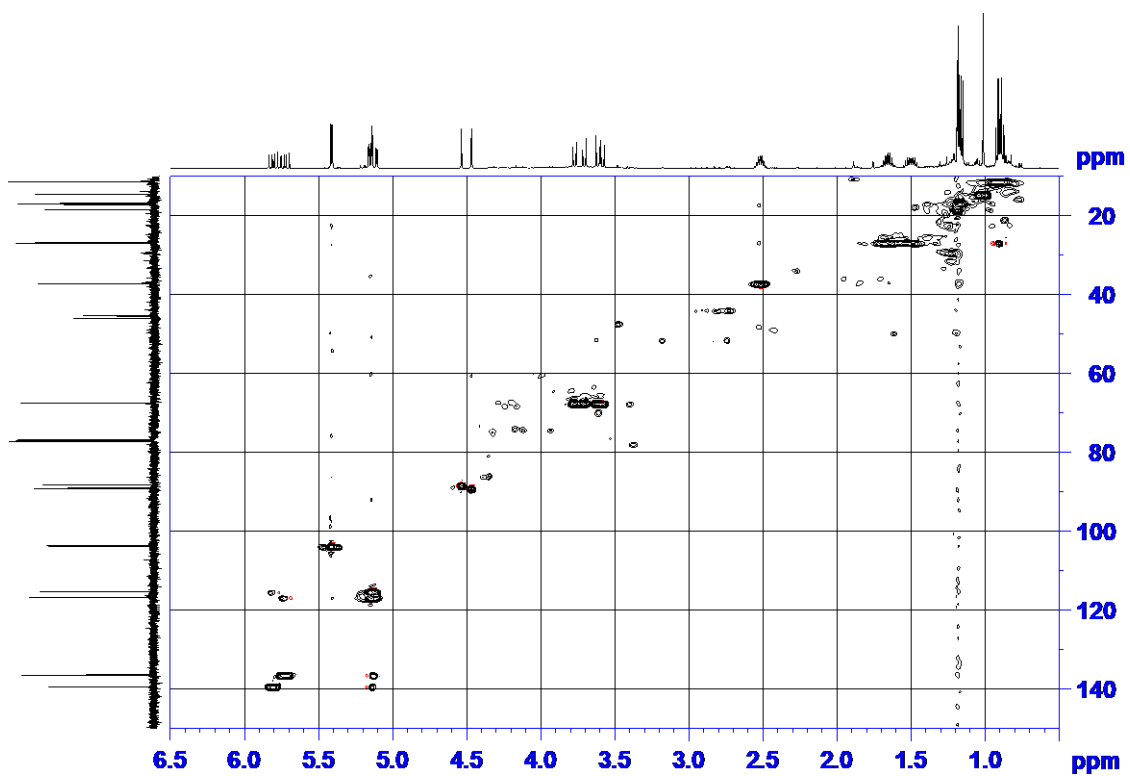


Figure S3.108. HSQC spectrum of merohyperin C (**50**) in CDCl_3 (500 MHz).

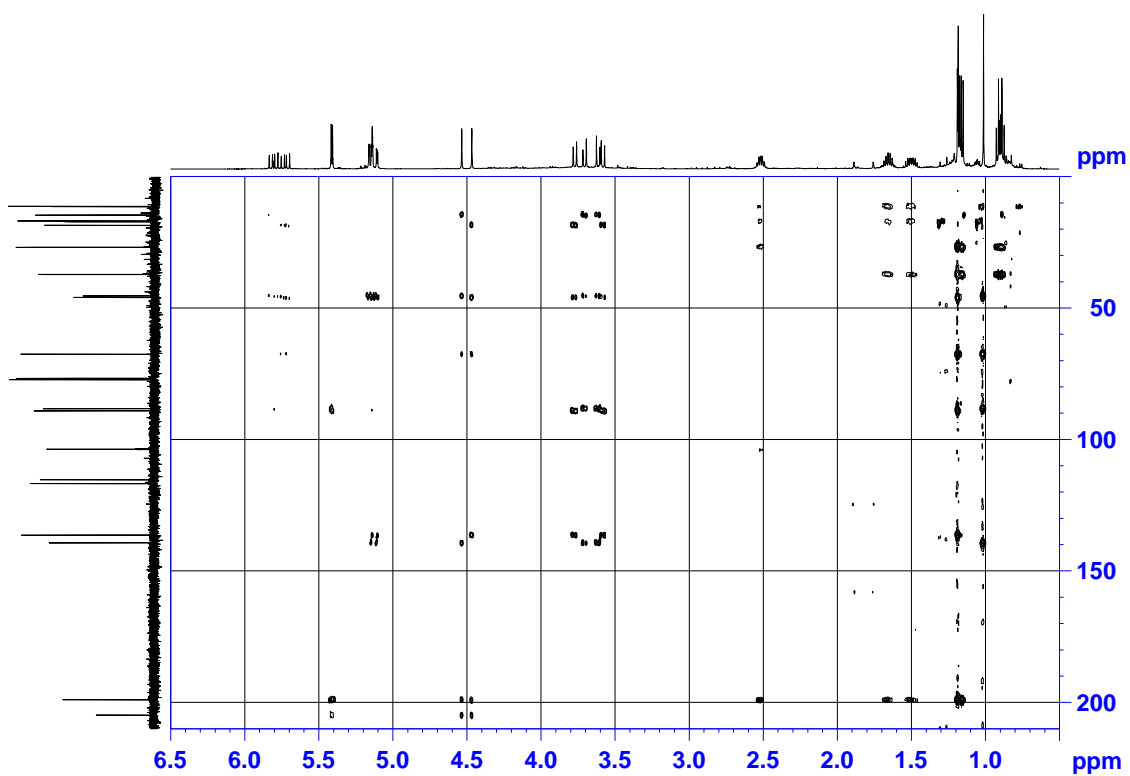


Figure S3.109. HMBC spectrum of merohyperin C (**50**) in CDCl_3 (500 MHz).

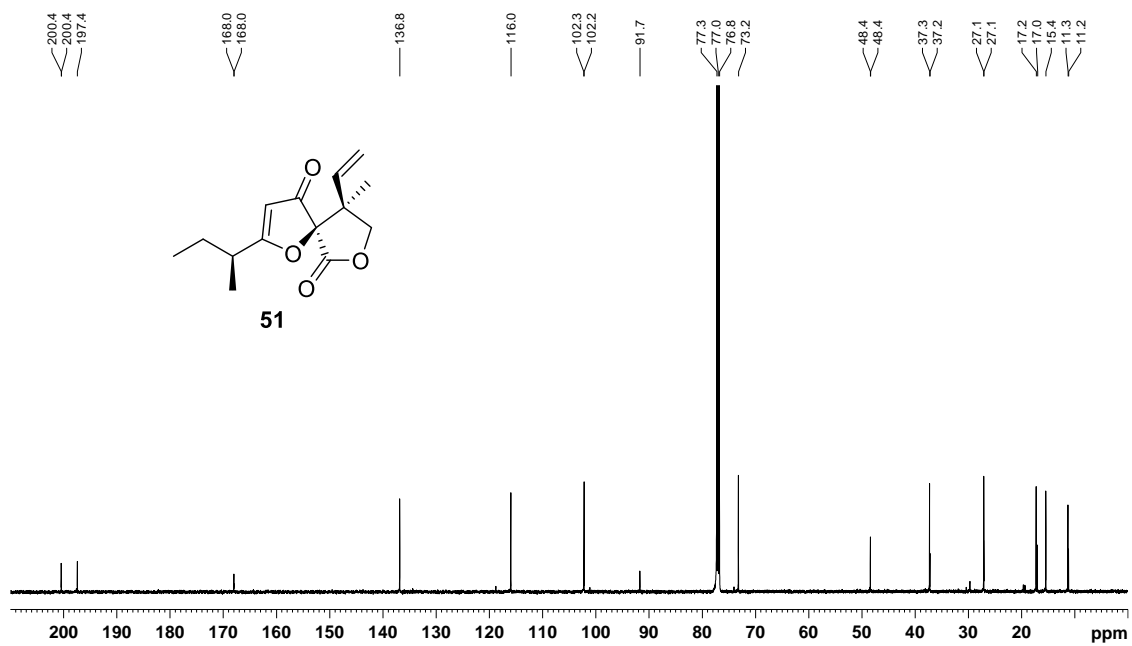


Figure S3.110. ¹³C NMR spectrum of 4-*epi*-hyperolactone A (**51**) in CDCl₃ (125 MHz).

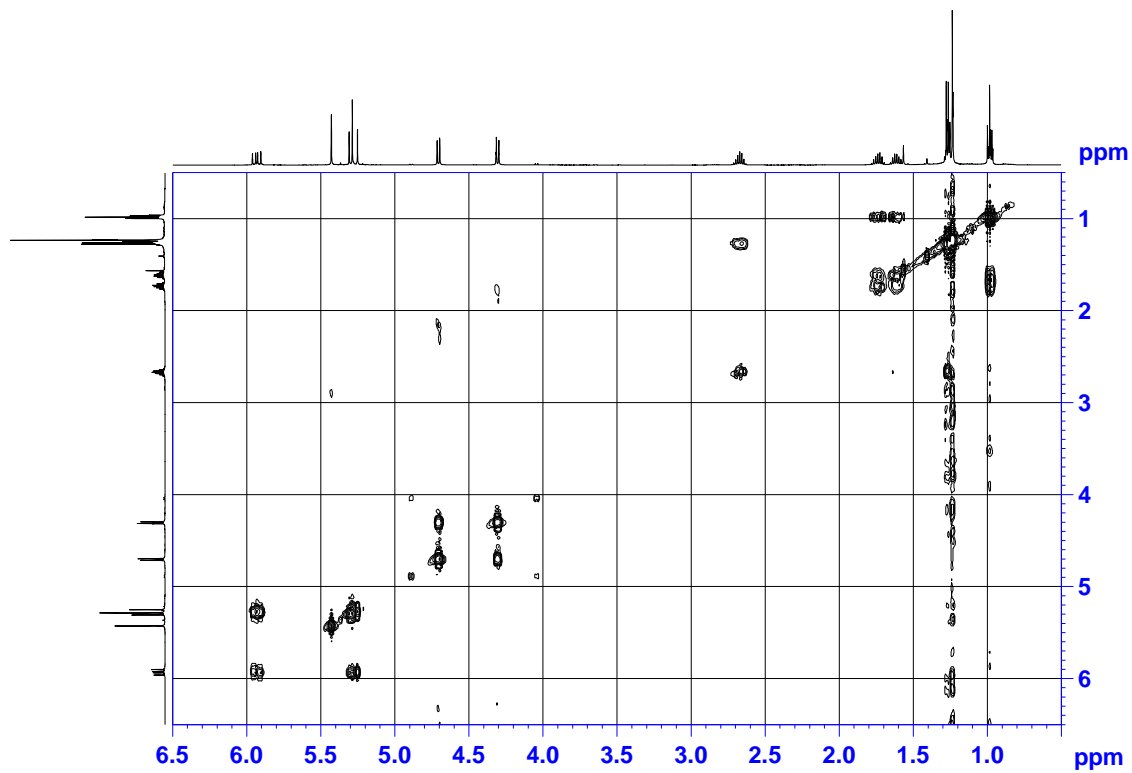


Figure S3.111. ¹H-¹H COSY spectrum of 4-*epi*-hyperolactone A (**51**) in CDCl₃ (500 MHz).

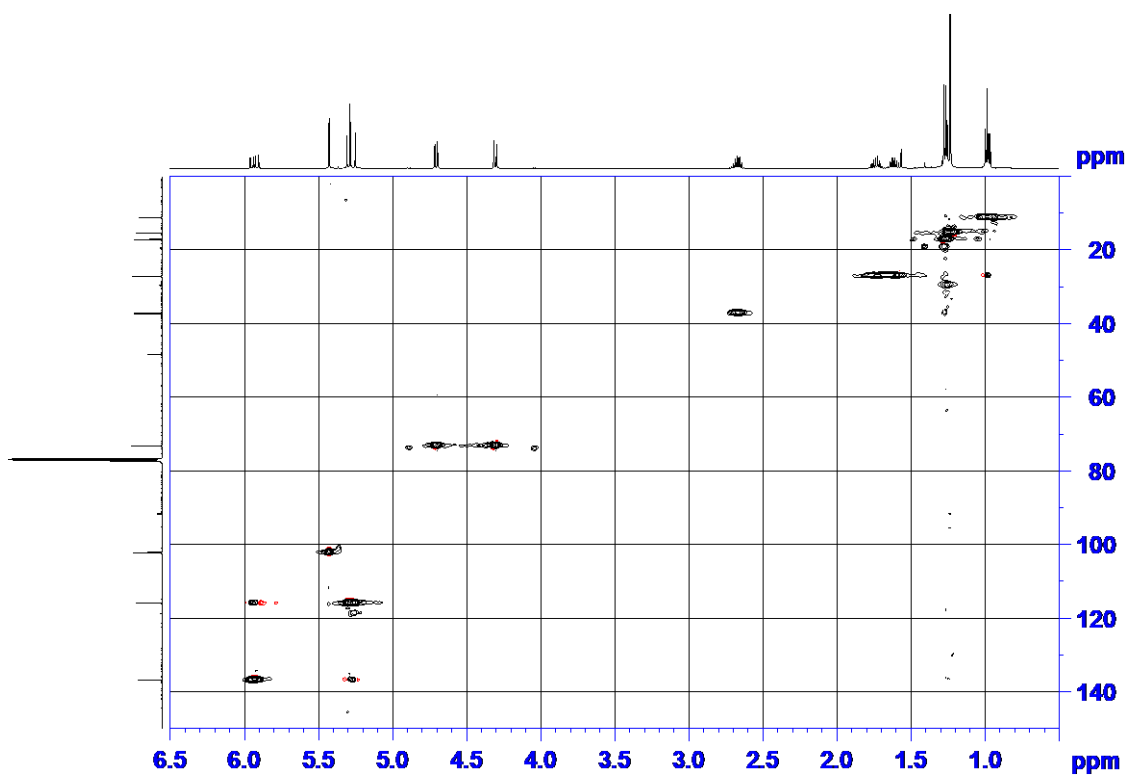


Figure S3.112. HSQC spectrum of 4-*epi*-hyperolactone A (51) in CDCl₃ (500 MHz).

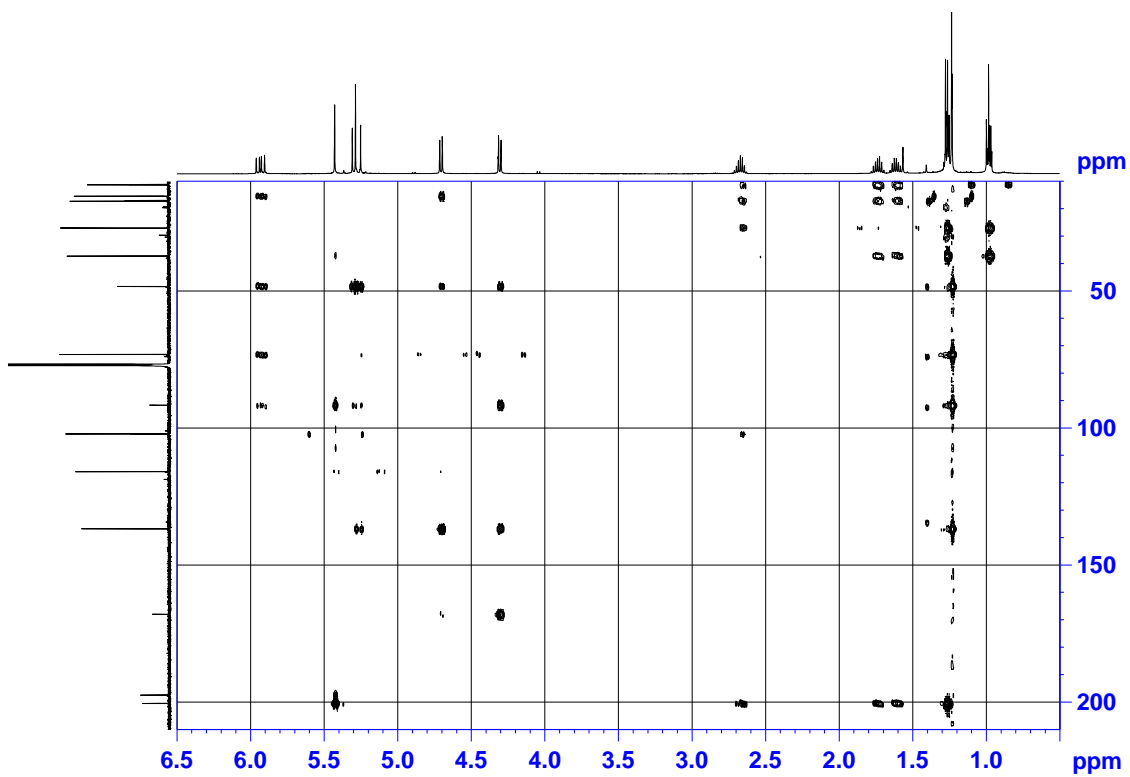


Figure S3.113. HMBC spectrum of 4-*epi*-hyperolactone A (51) in CDCl₃ (500 MHz).

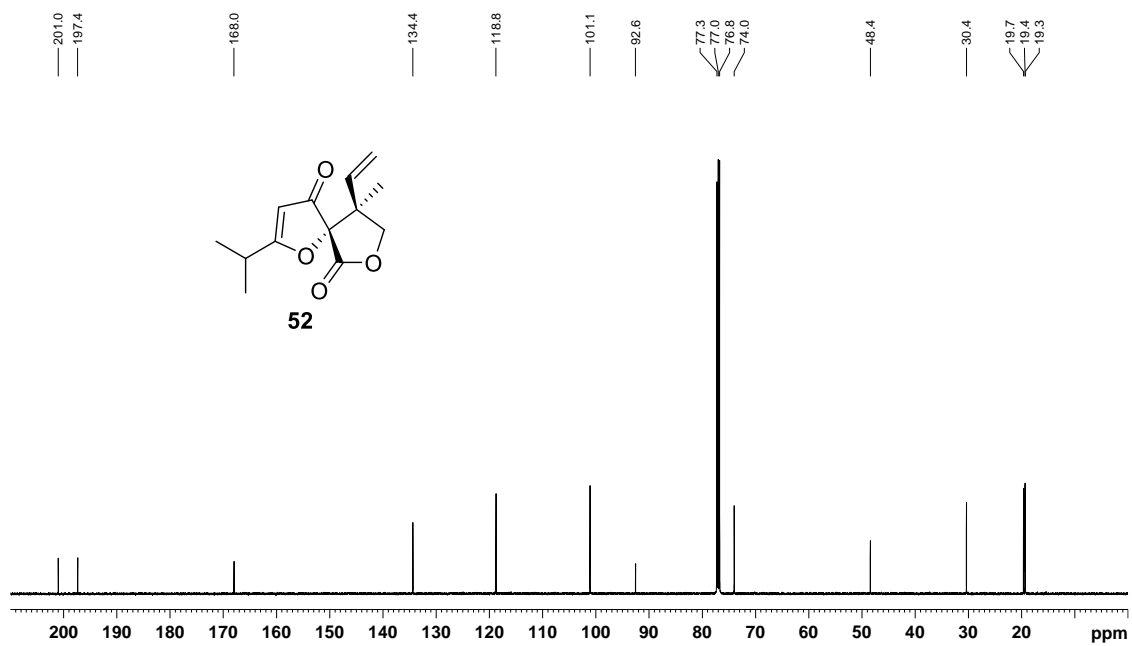


Figure S3.114. ¹³C NMR spectrum of 4-*epi*-hyperolactone B (**52**) in CDCl₃ (125 MHz).

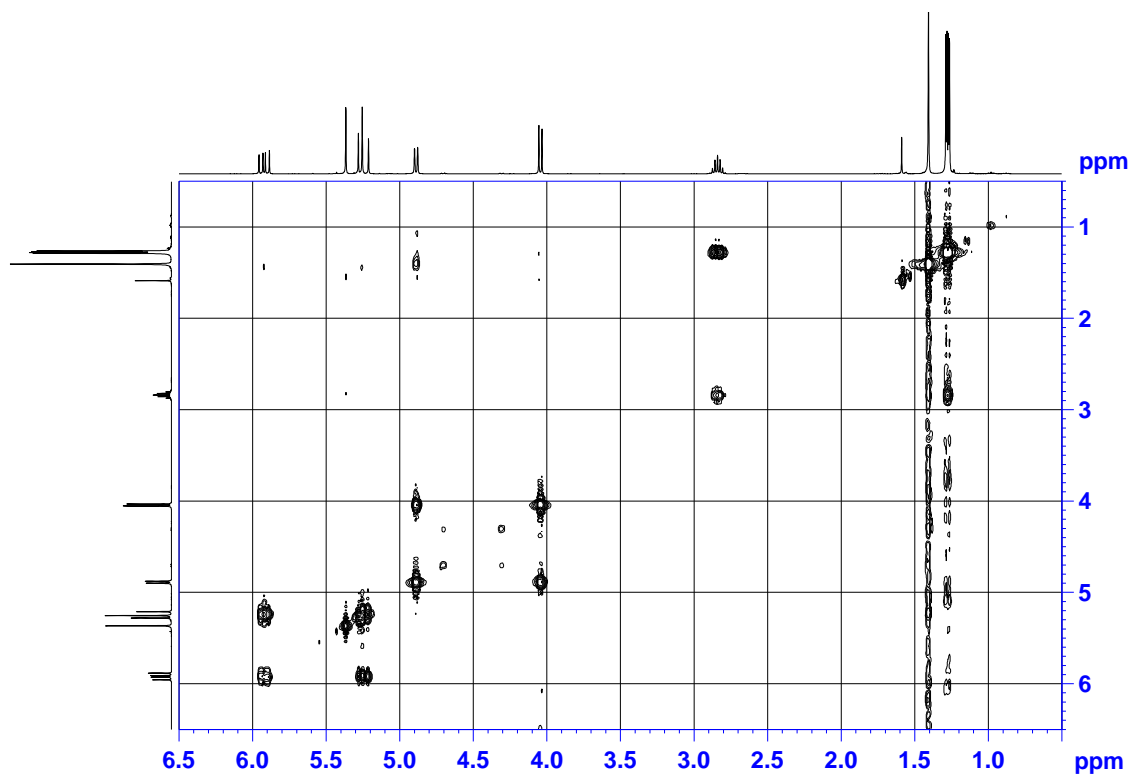


Figure S3.115. ¹H-¹H COSY spectrum of 4-*epi*-hyperolactone B (**52**) in CDCl₃ (500 MHz).

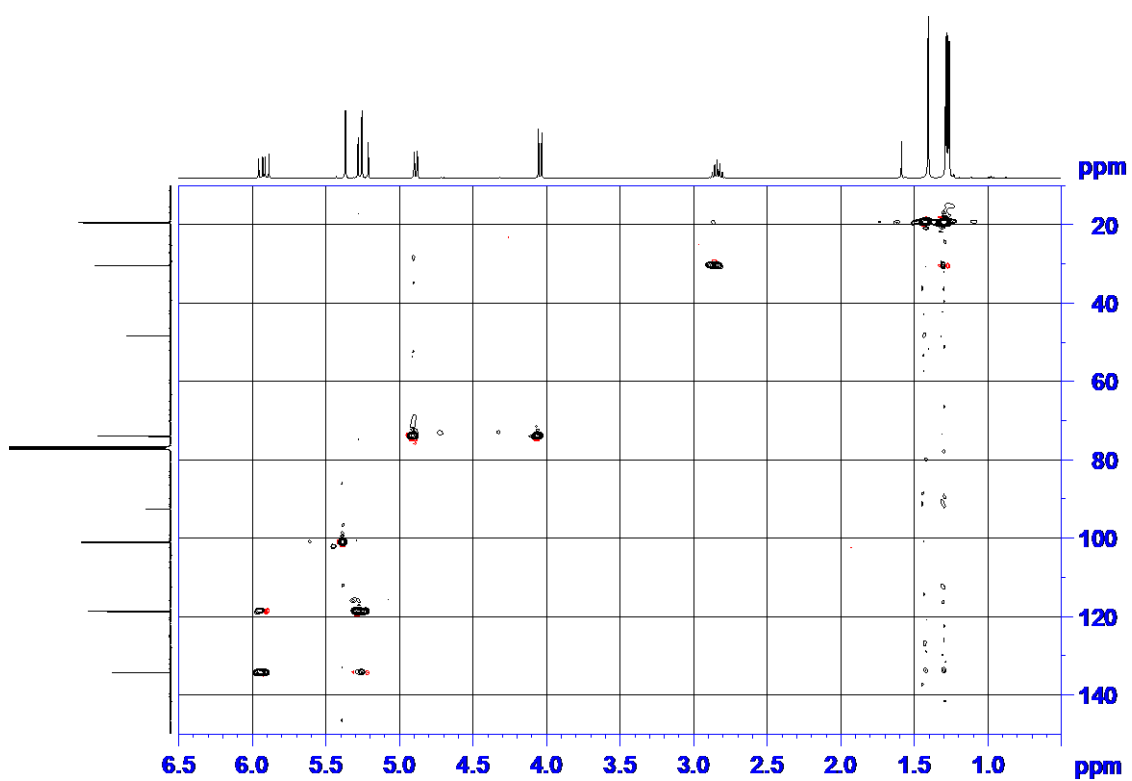


Figure S3.116. HSQC spectrum of 4-*epi*-hyperolactone B (**52**) in CDCl_3 (500 MHz).

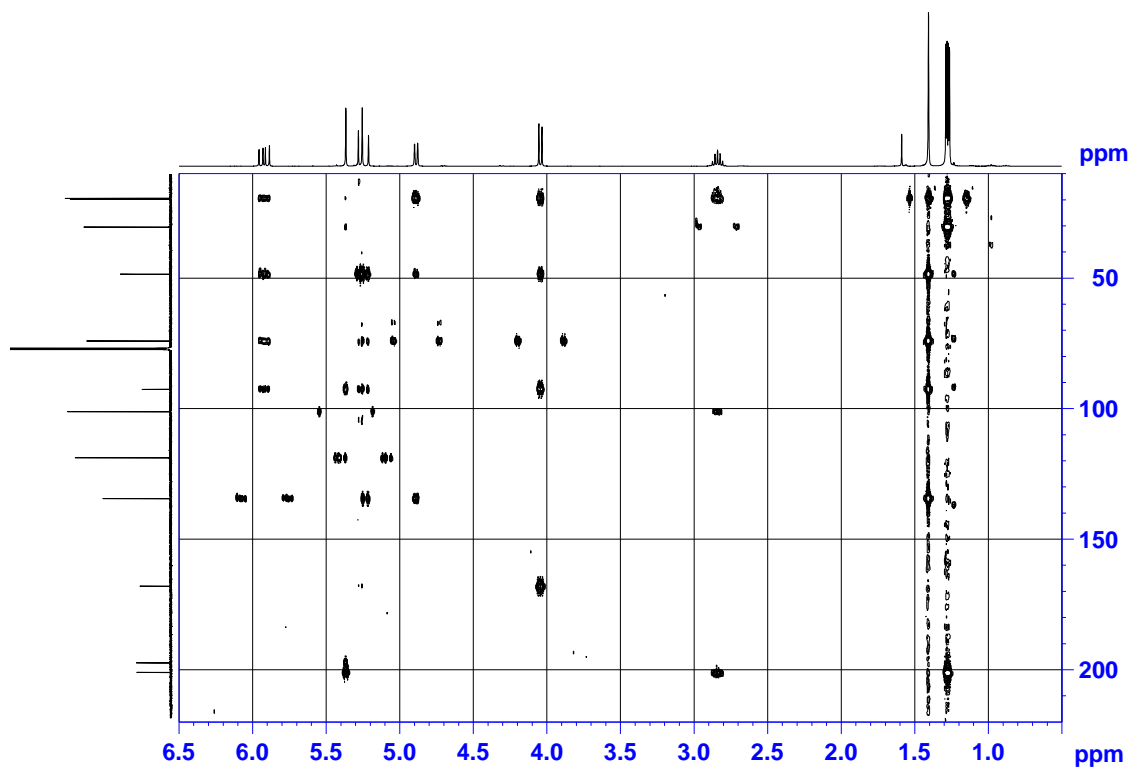


Figure S3.117. HMBC spectrum of 4-*epi*-hyperolactone B (**52**) in CDCl_3 (500 MHz).

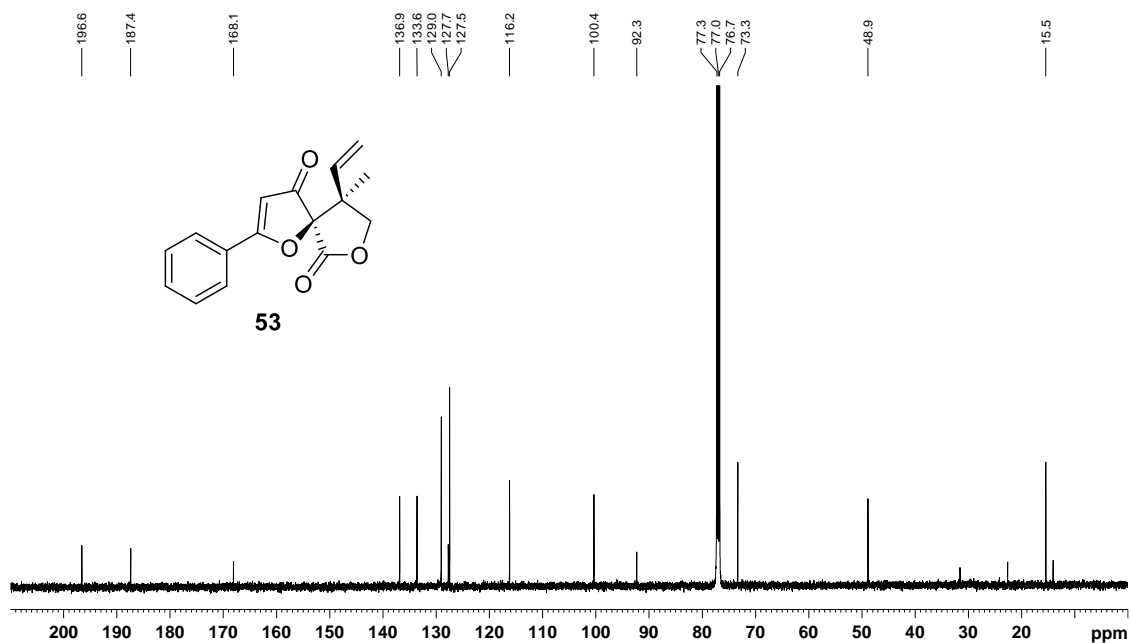


Figure S3.118. ¹³C NMR spectrum of 4-*epi*-hyperolactone C (**53**) in CDCl₃ (125 MHz).

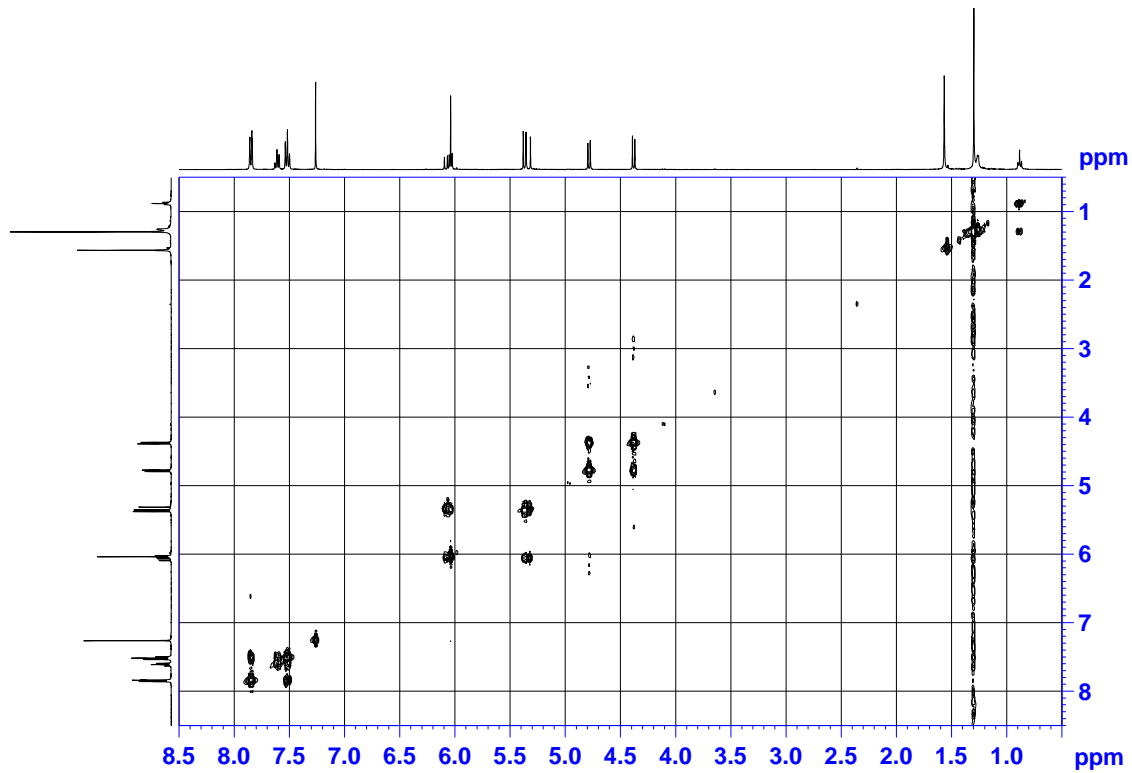


Figure S3.119. ¹H-¹H COSY spectrum of 4-*epi*-hyperolactone C (**53**) in CDCl₃ (500 MHz).

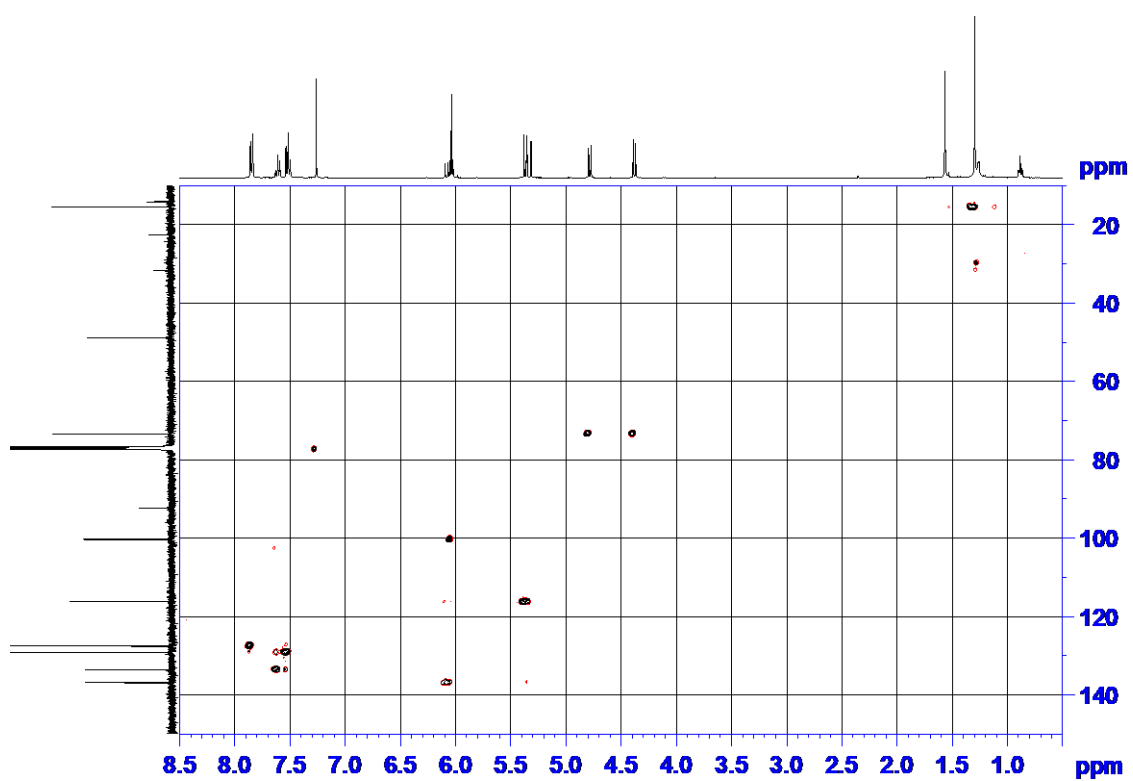


Figure S3.120. HSQC spectrum of 4-*epi*-hyperolactone C (**53**) in CDCl₃ (500 MHz).

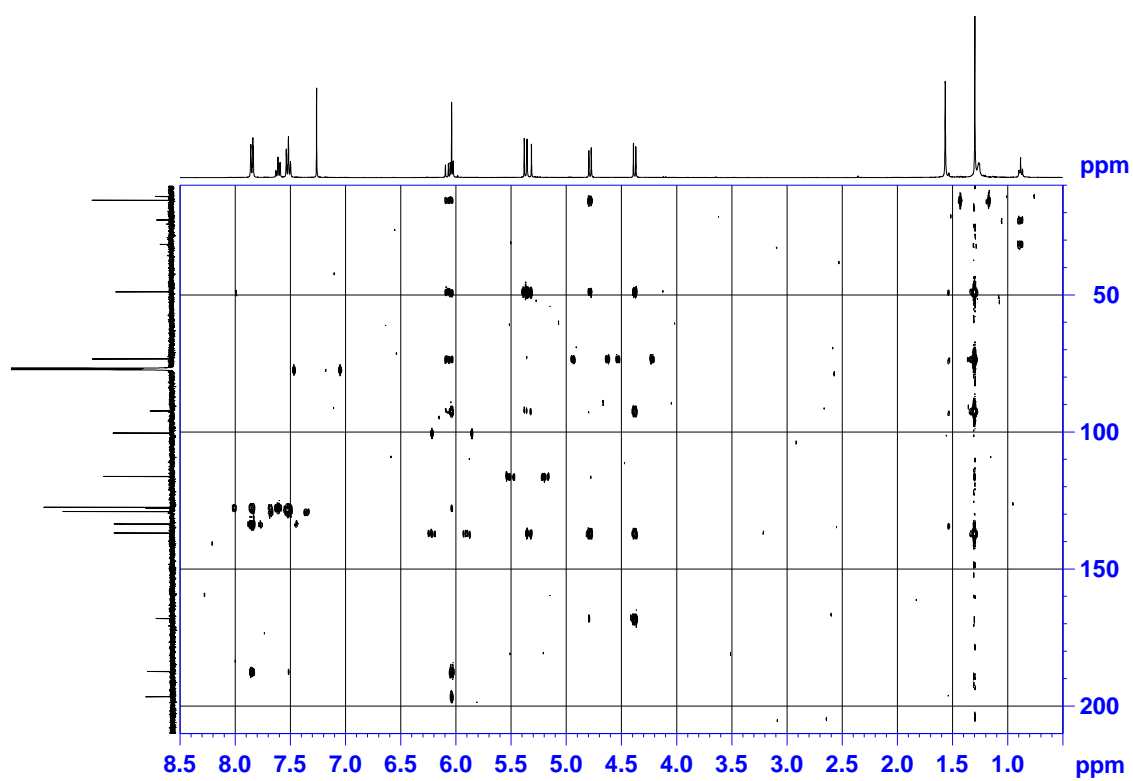


Figure S3.121. HMBC spectrum of 4-*epi*-hyperolactone C (**53**) in CDCl₃ (500 MHz).

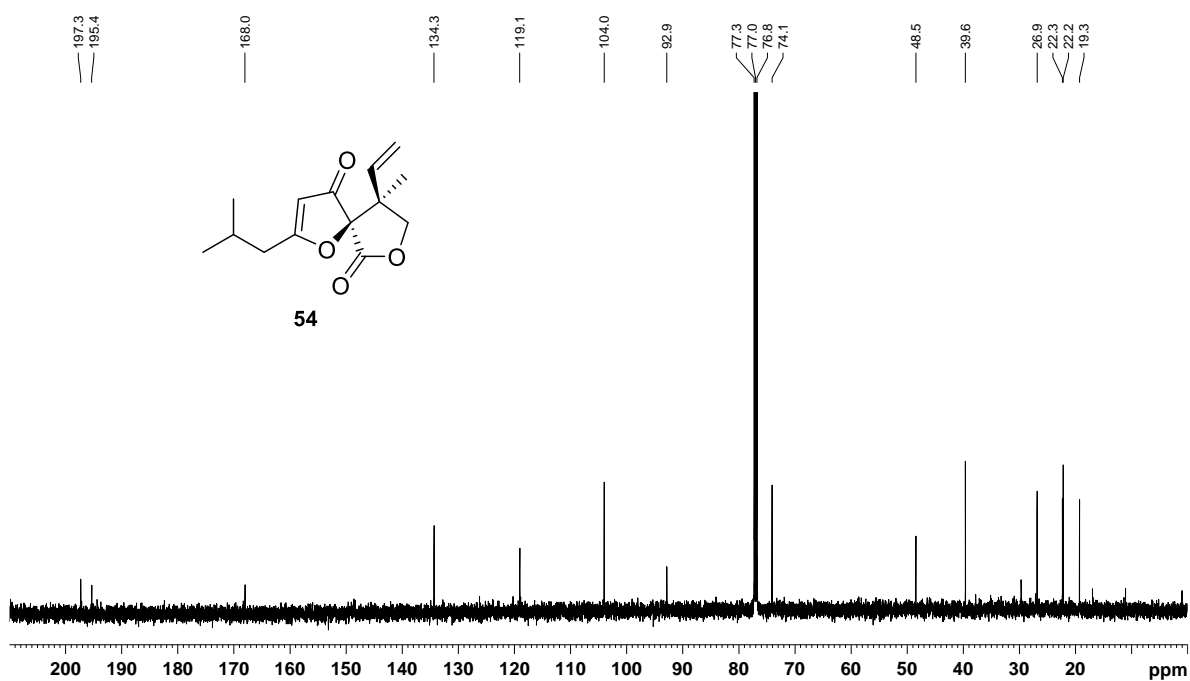


Figure S3.122. ¹³C NMR spectrum of hyperolactone E (54) in CDCl₃ (125 MHz).

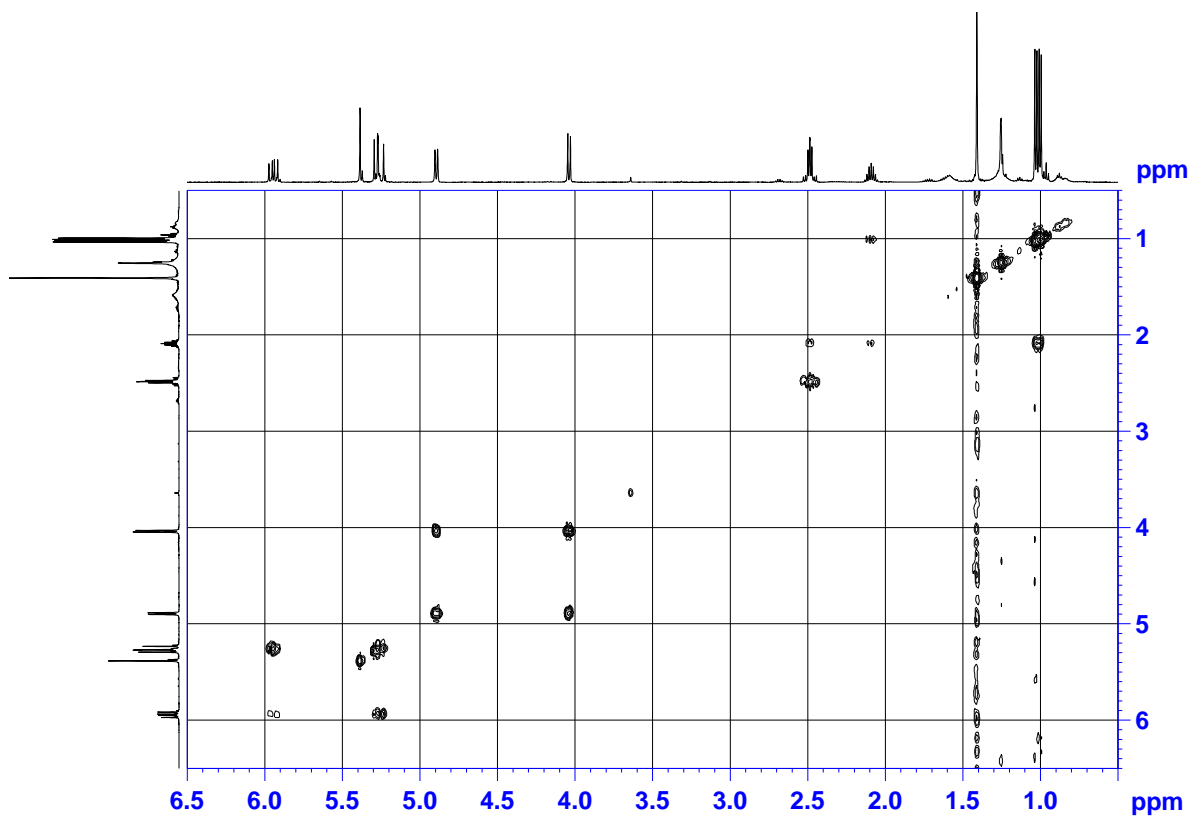


Figure 3.123. ¹H-¹H COSY spectrum of hyperolactone E (54) in CDCl₃ (500 MHz).

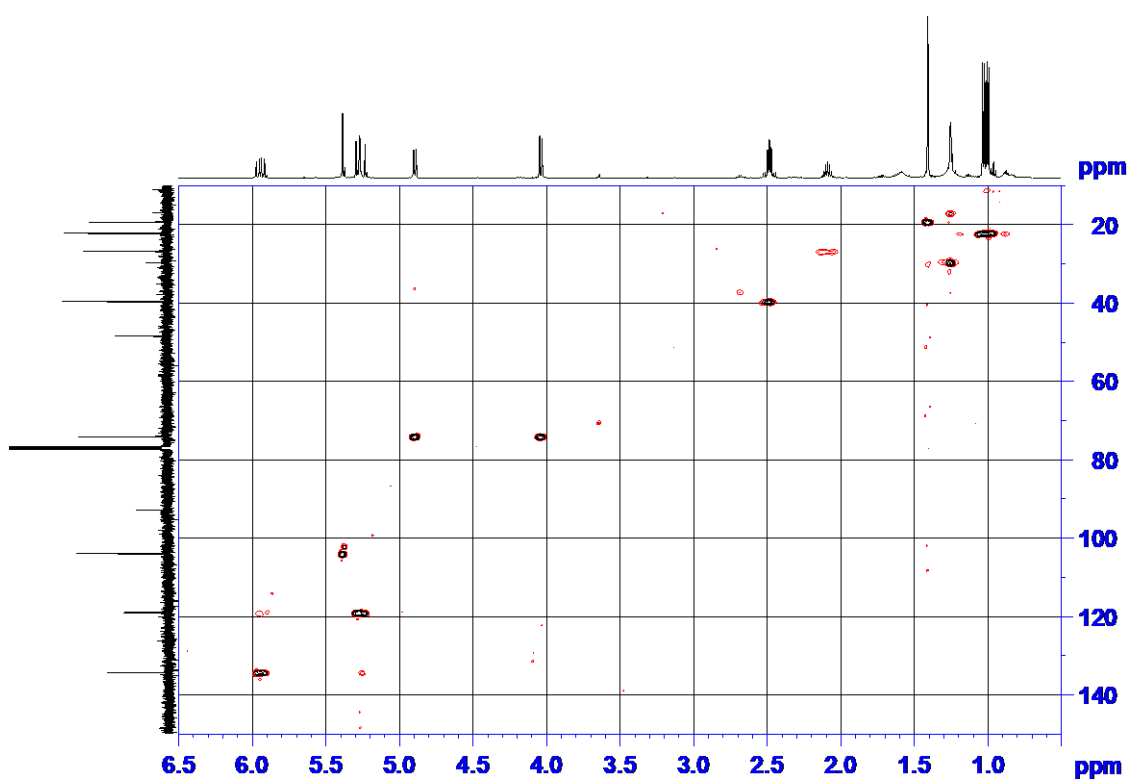


Figure S3.124. HSQC spectrum of hyperolactone E (**54**) in CDCl₃ (500 MHz).

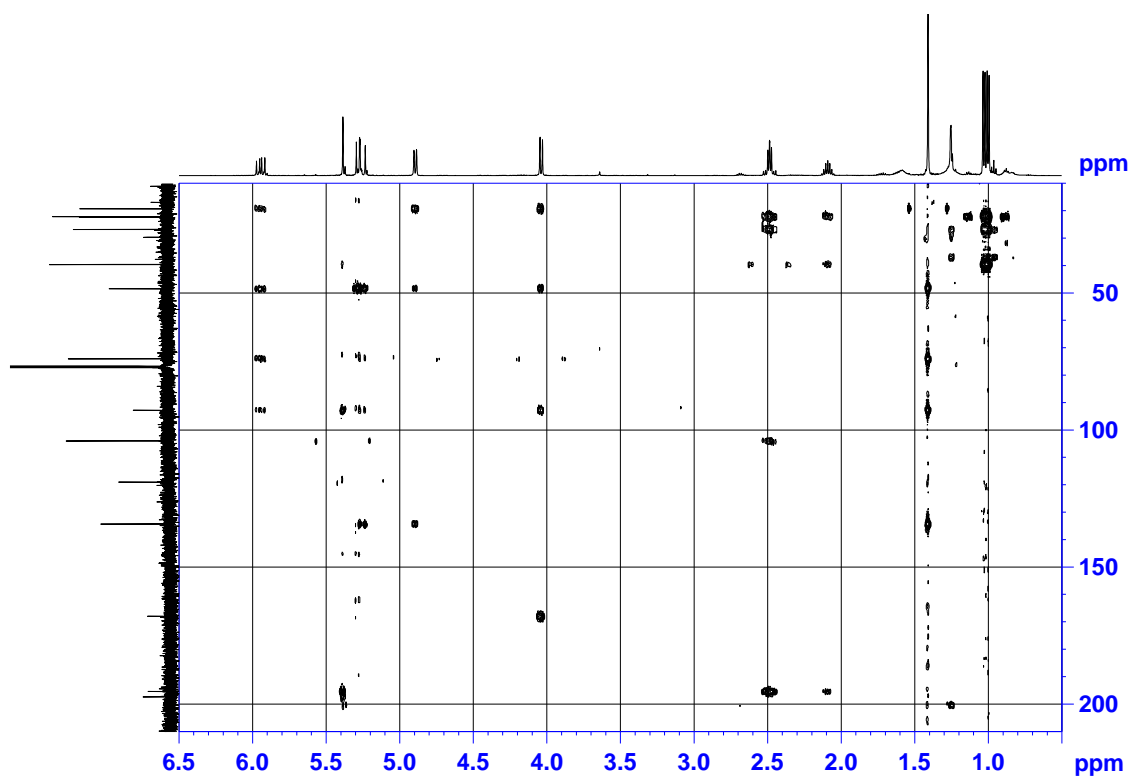


Figure S3.125. HMBC spectrum of hyperolactone E (**54**) in CDCl₃ (500 MHz).

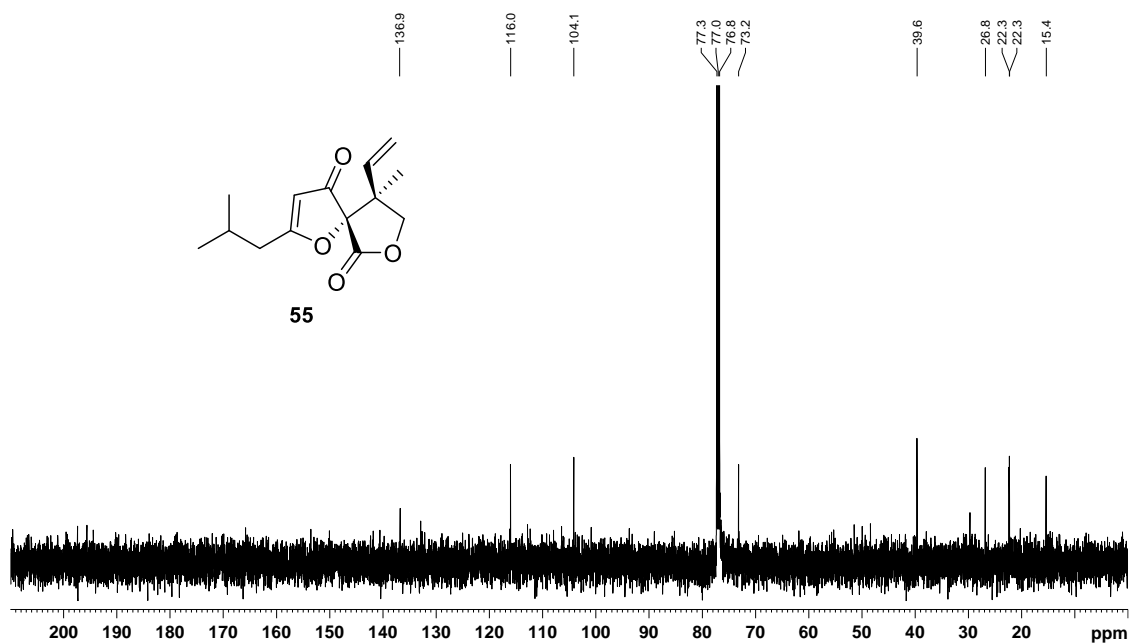


Figure S3.126. ¹³C NMR spectrum of 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) in CDCl₃ (125 MHz).

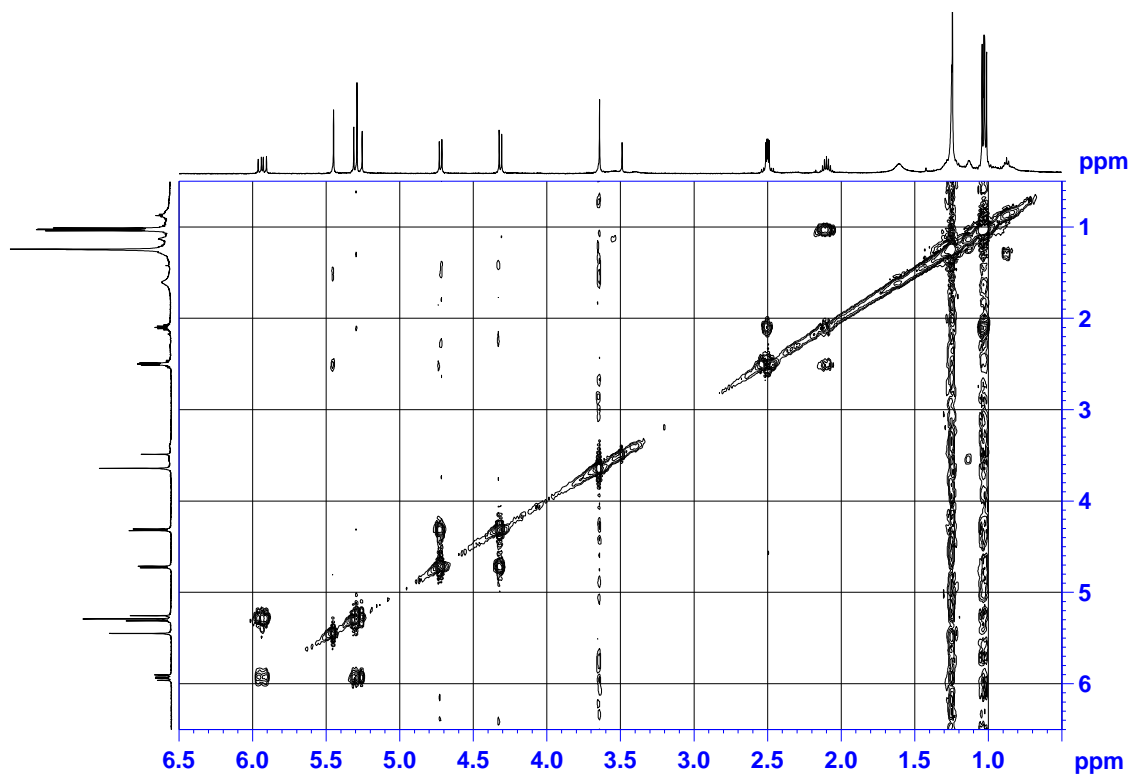


Figure S3.127. ¹H-¹H COSY spectrum of 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) in CDCl₃ (500 MHz).

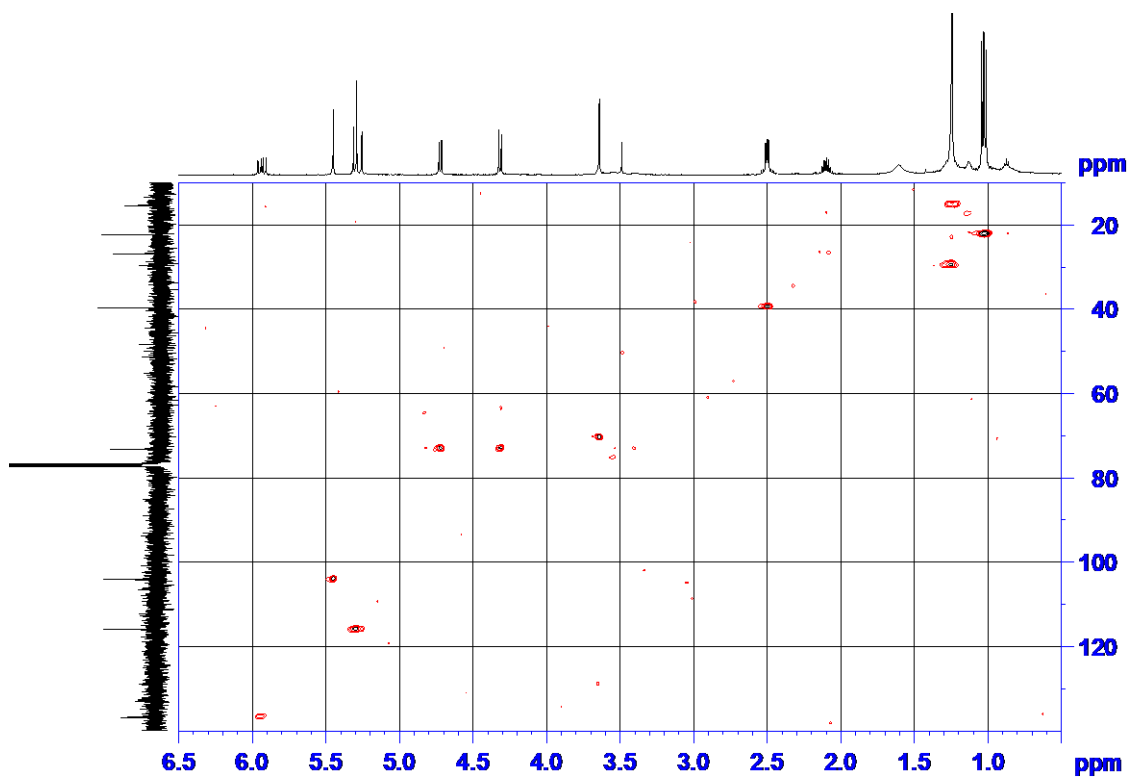


Figure S3.128. HSQC spectrum of 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) in CDCl_3 (500 MHz).

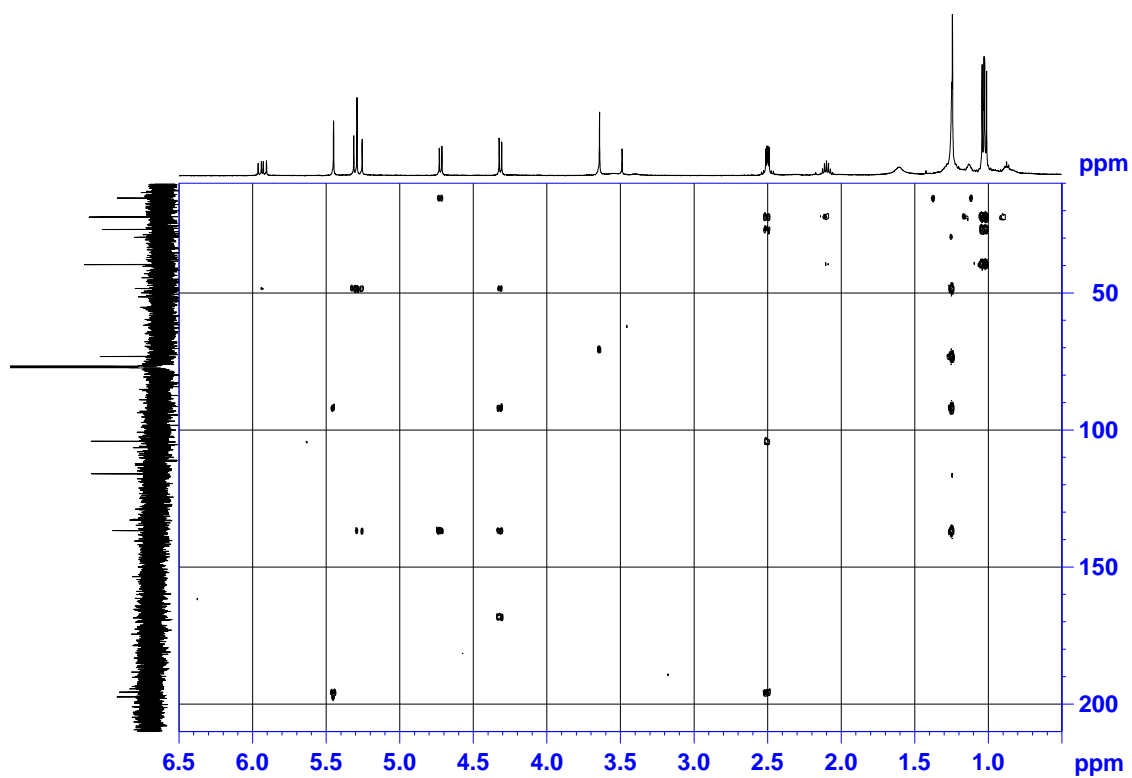


Figure S3.129. HMBC spectrum of 4-*epi*-hyperolactone E (**55**) in CDCl_3 (500 MHz).

Supplementary Data (Chapter 4)

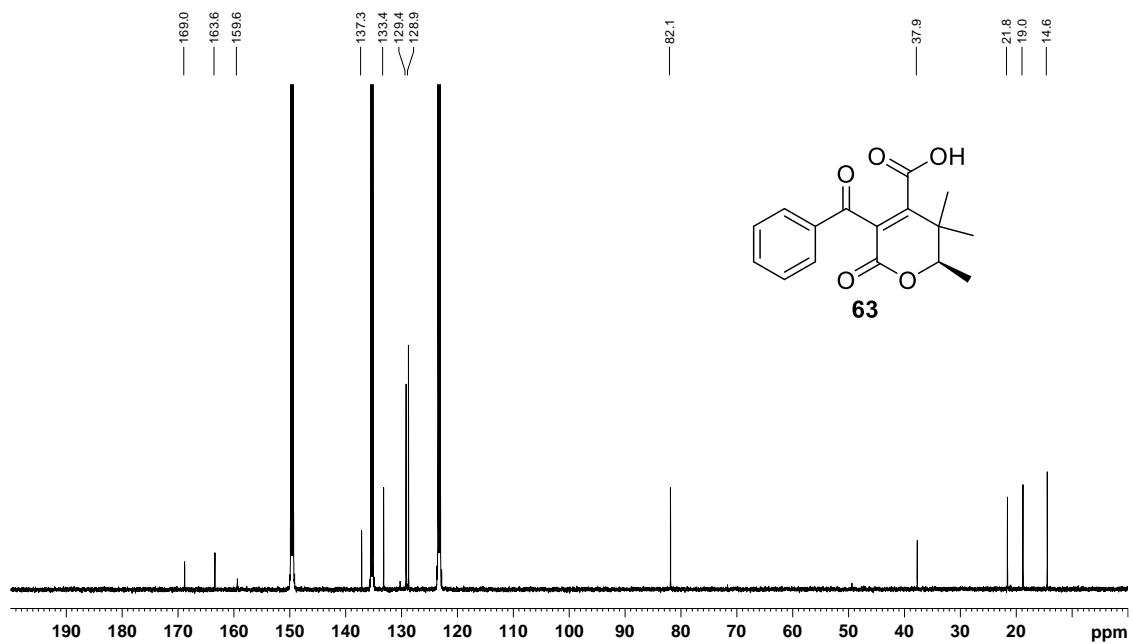


Figure S4.1. ^{13}C NMR spectrum of frondhyperin A (**63**) in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (125 MHz).

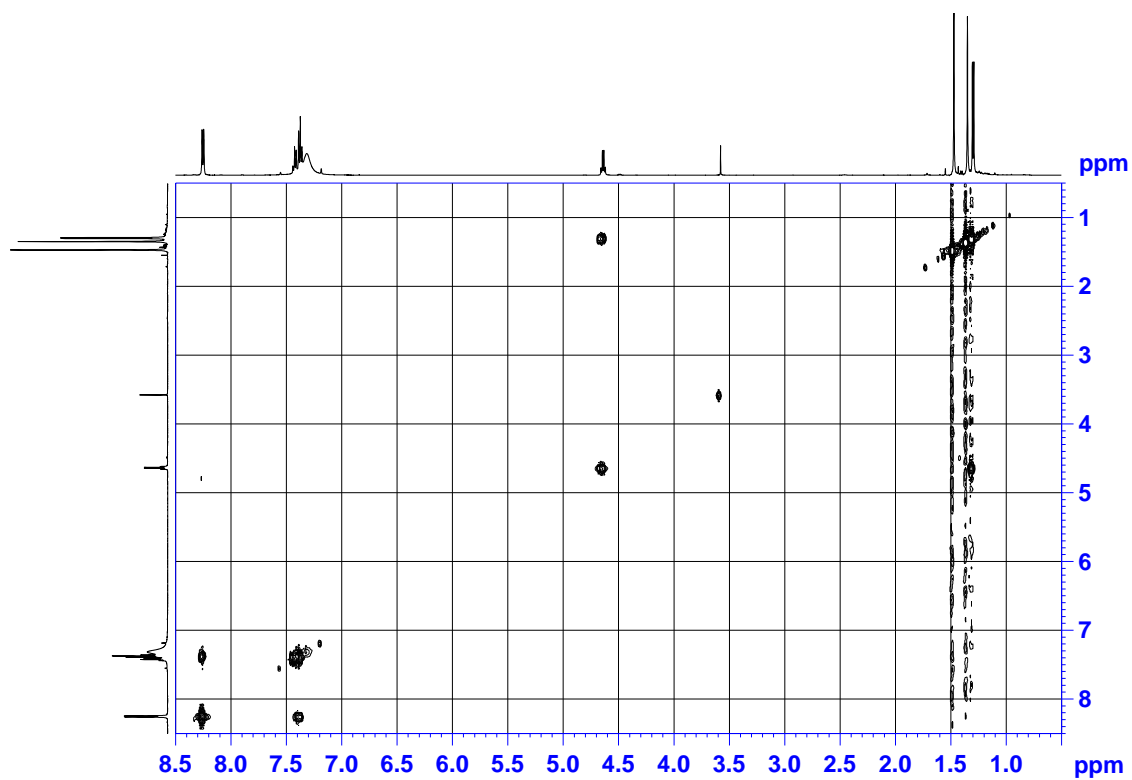


Figure S4.2. ^1H - ^1H COSY spectrum of frondhyperin A (**63**) in $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (500 MHz).

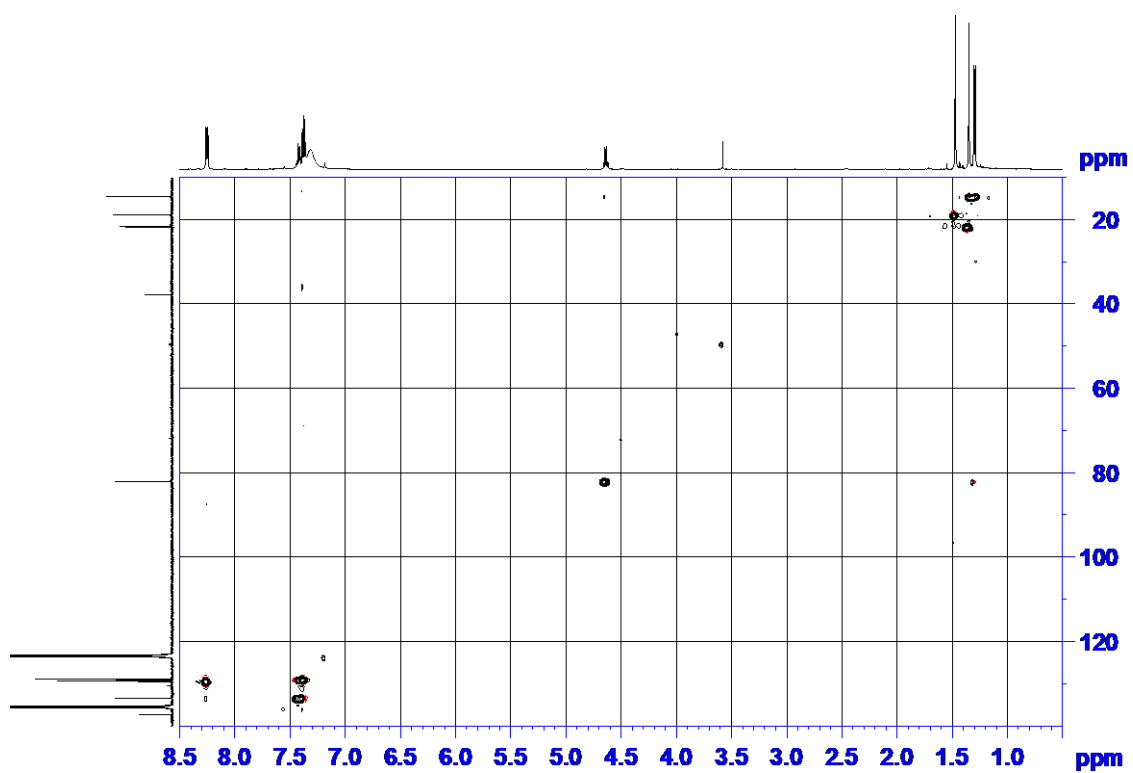


Figure S4.3. HSQC spectrum of frondhyperin A (**63**) in C₅D₅N (500 MHz).

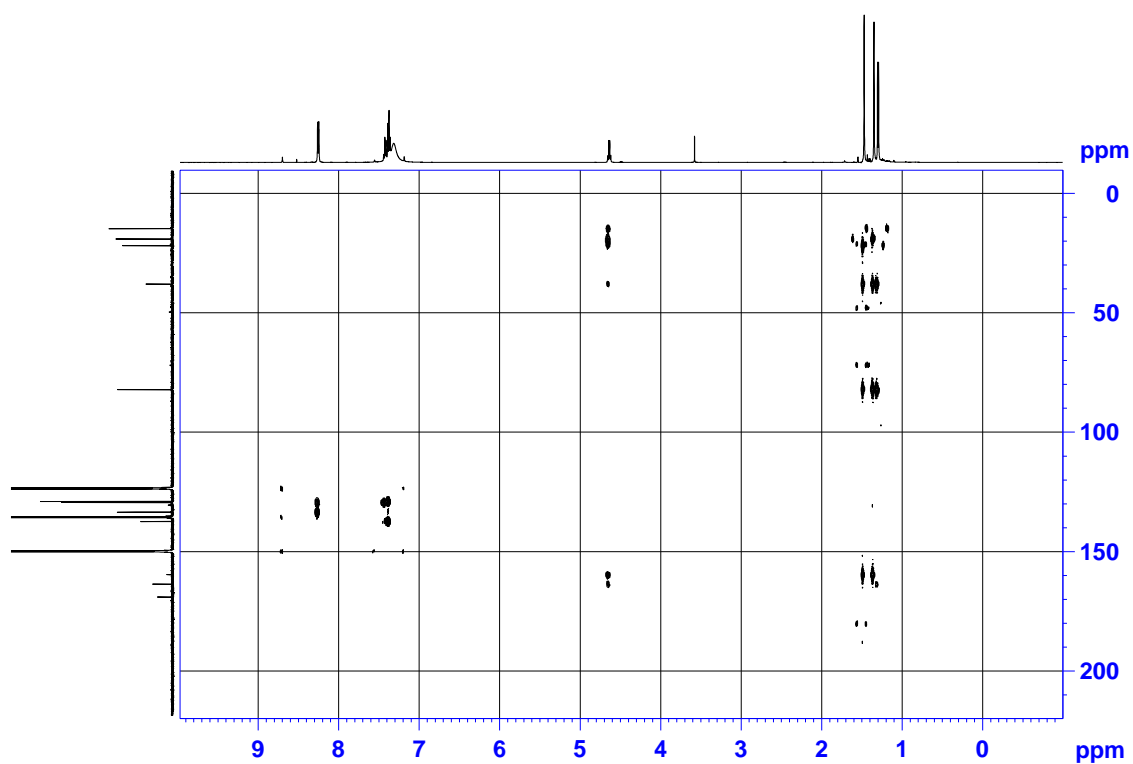


Figure S4.4. HMBC spectrum of frondhyperin A (**63**) in C₅D₅N (500 MHz).

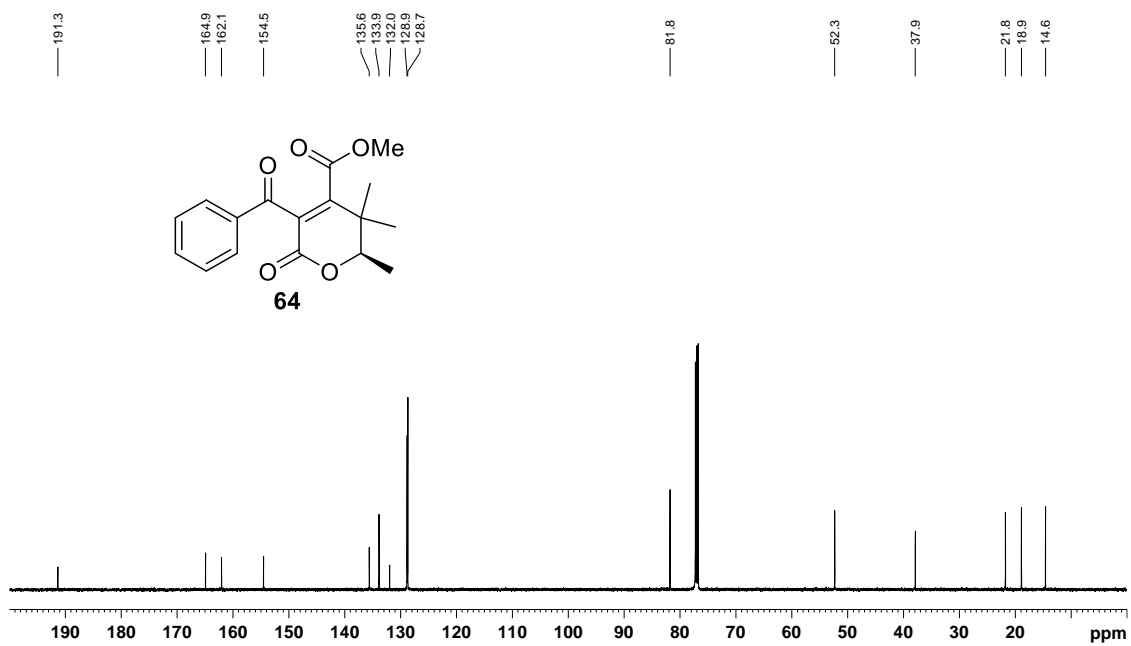


Figure S4.5. ¹³C NMR spectrum of frondhyperin B (**64**) in CDCl₃ (125 MHz).

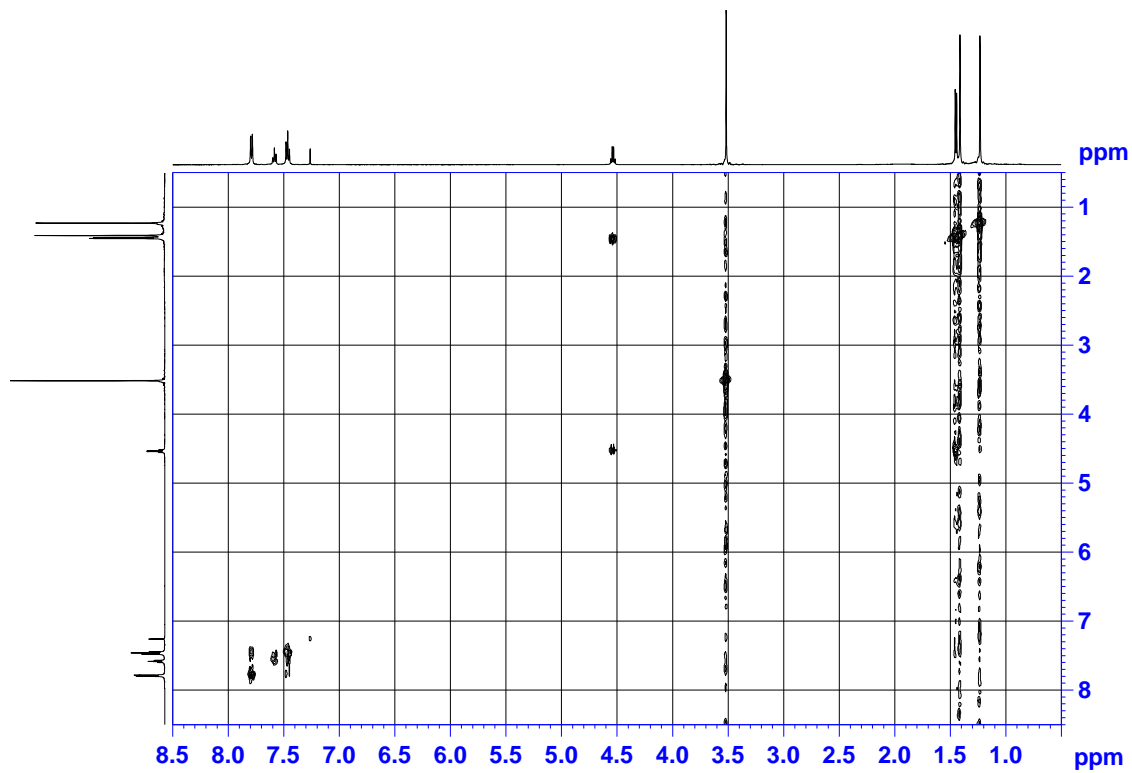


Figure S4.6. ¹H-¹H COSY spectrum of frondhyperin B (**64**) in CDCl₃ (500 MHz).

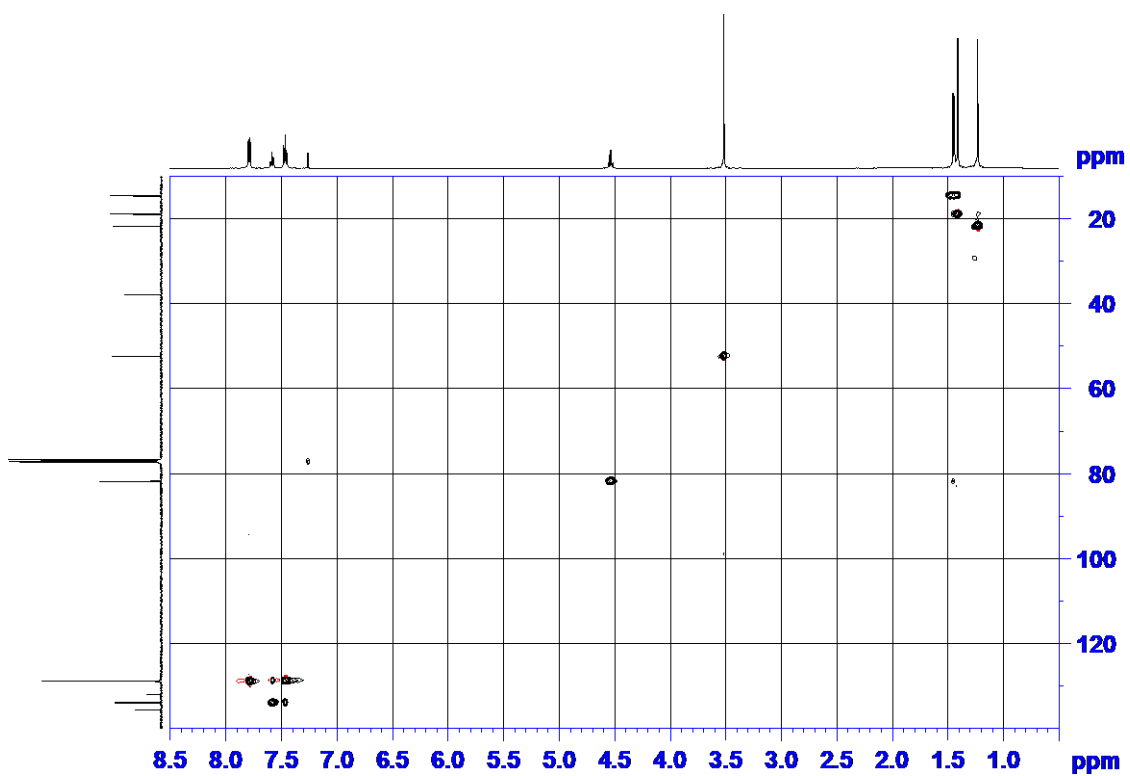


Figure S4.7. HSQC spectrum of frondhyperin B (**64**) in CDCl₃ (500 MHz).

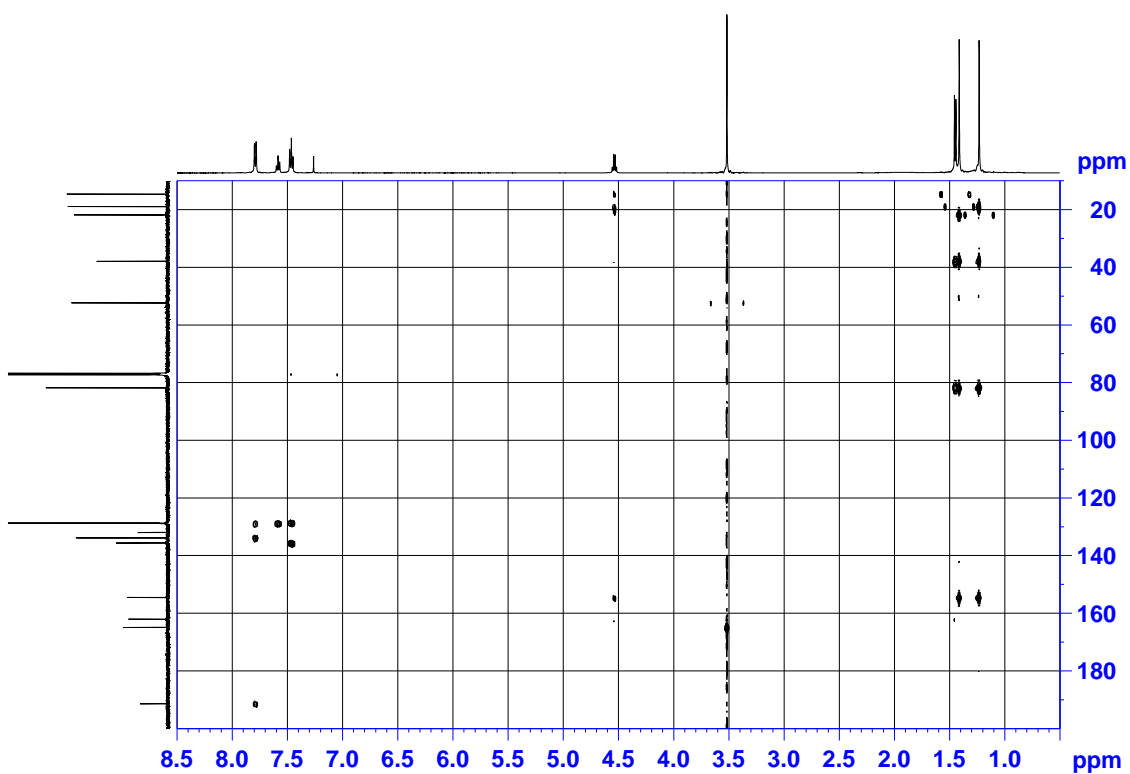


Figure S4.8. HMBC spectrum of frondhyperin B (**64**) in CDCl₃ (500 MHz).

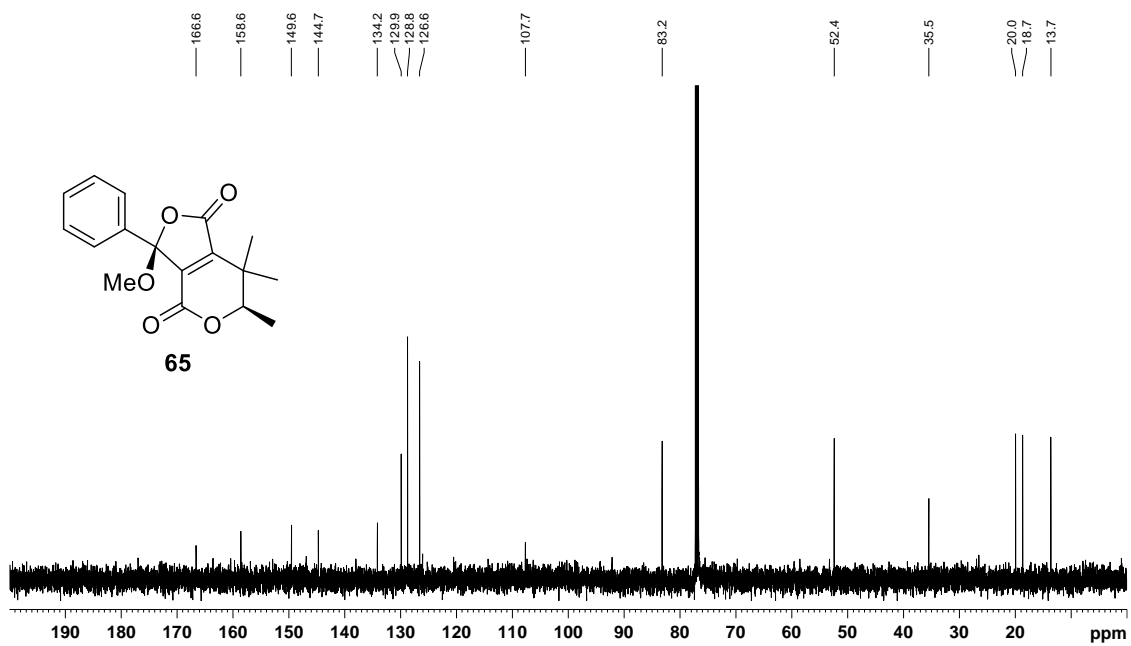


Figure S4.9. ¹³C NMR spectrum of frondhyperin C (**65**) in CDCl₃ (125 MHz).

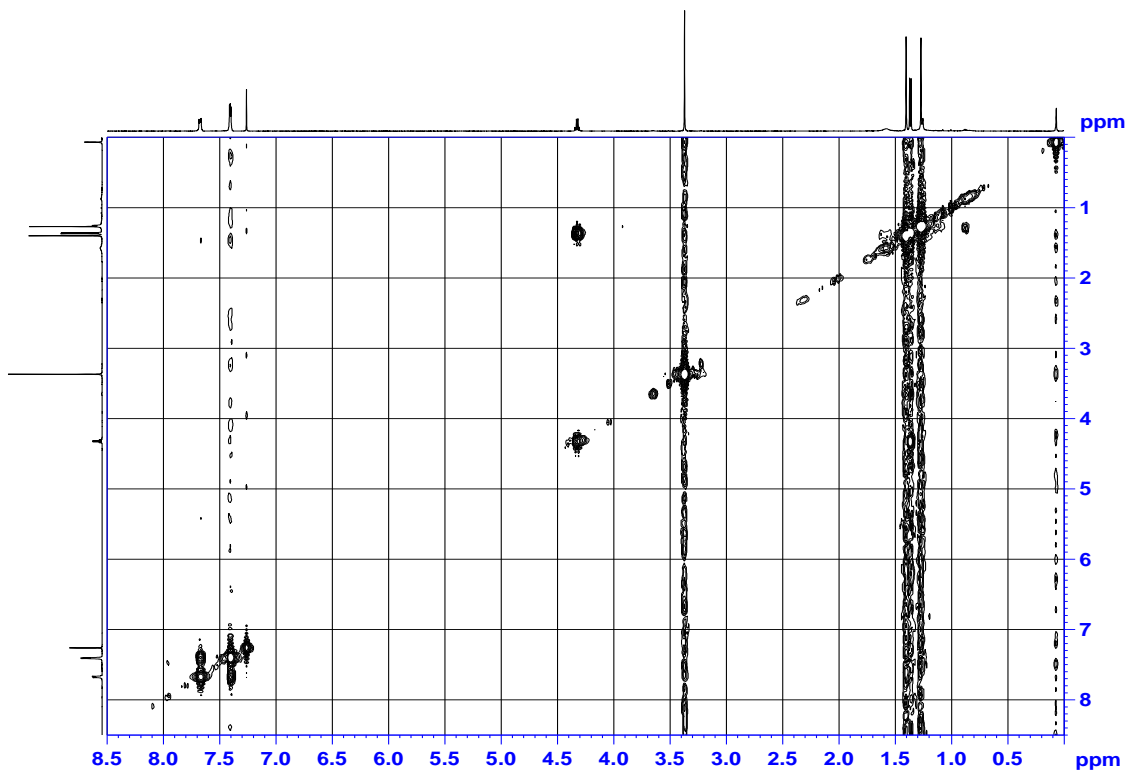


Figure S4.10. ¹H-¹H COSY spectrum of frondhyperin C (**65**) in CDCl₃ (500 MHz).

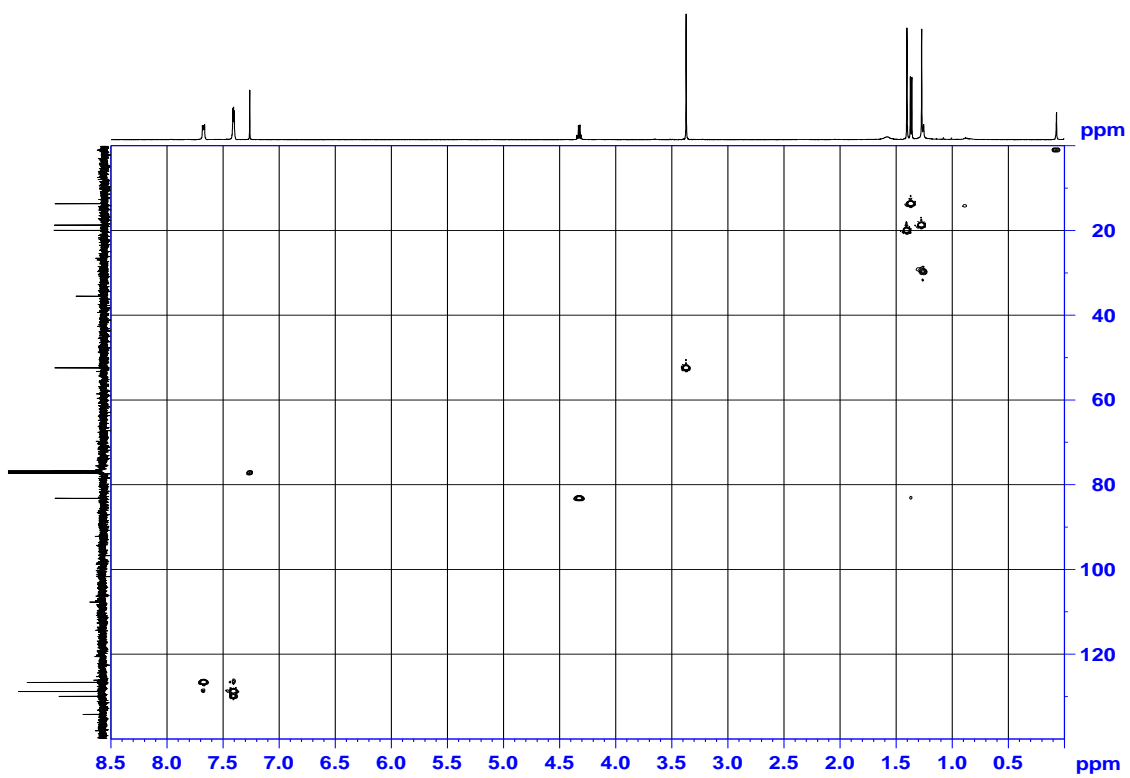


Figure S4.11. HSQC spectrum of frondhyperin C (**65**) in CDCl_3 (500 MHz).

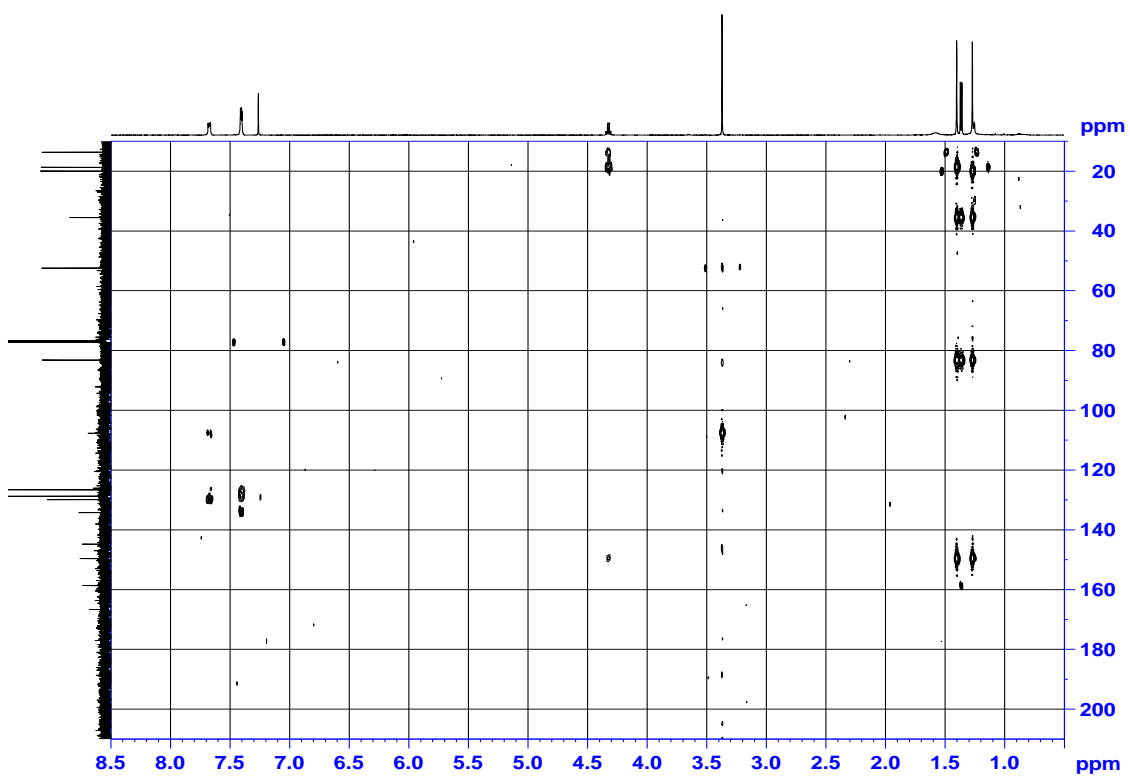


Figure S4.12. HMBC spectrum of frondhyperin C (**65**) in CDCl_3 (500 MHz).

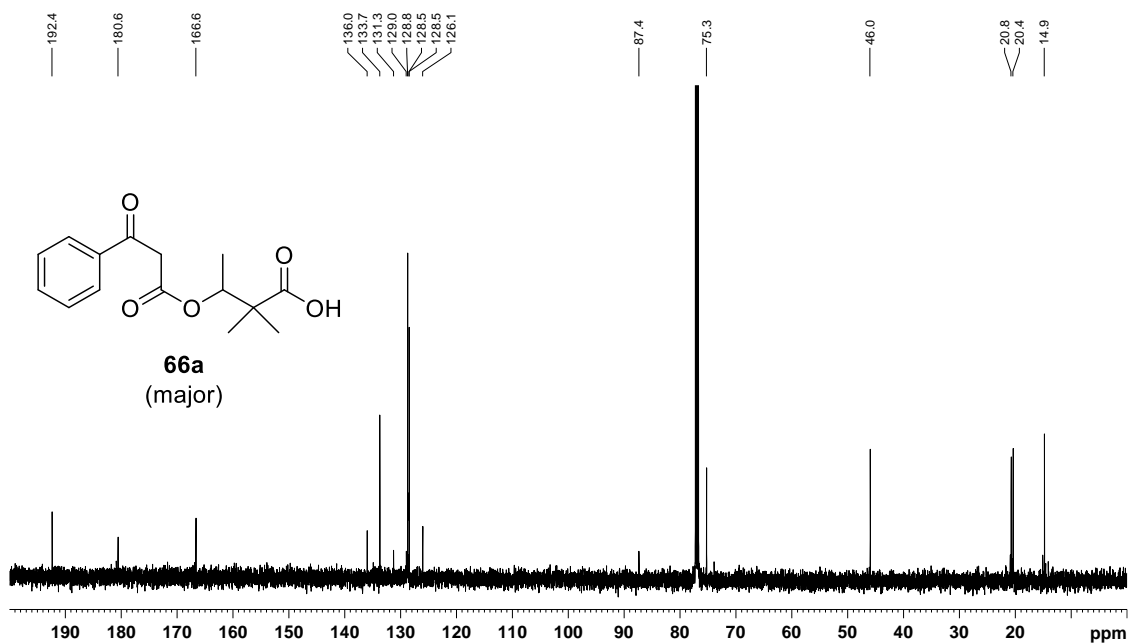


Figure S4.13. ¹³C NMR spectrum of frondhyperin D (**66**) in CDCl₃ (125 MHz).

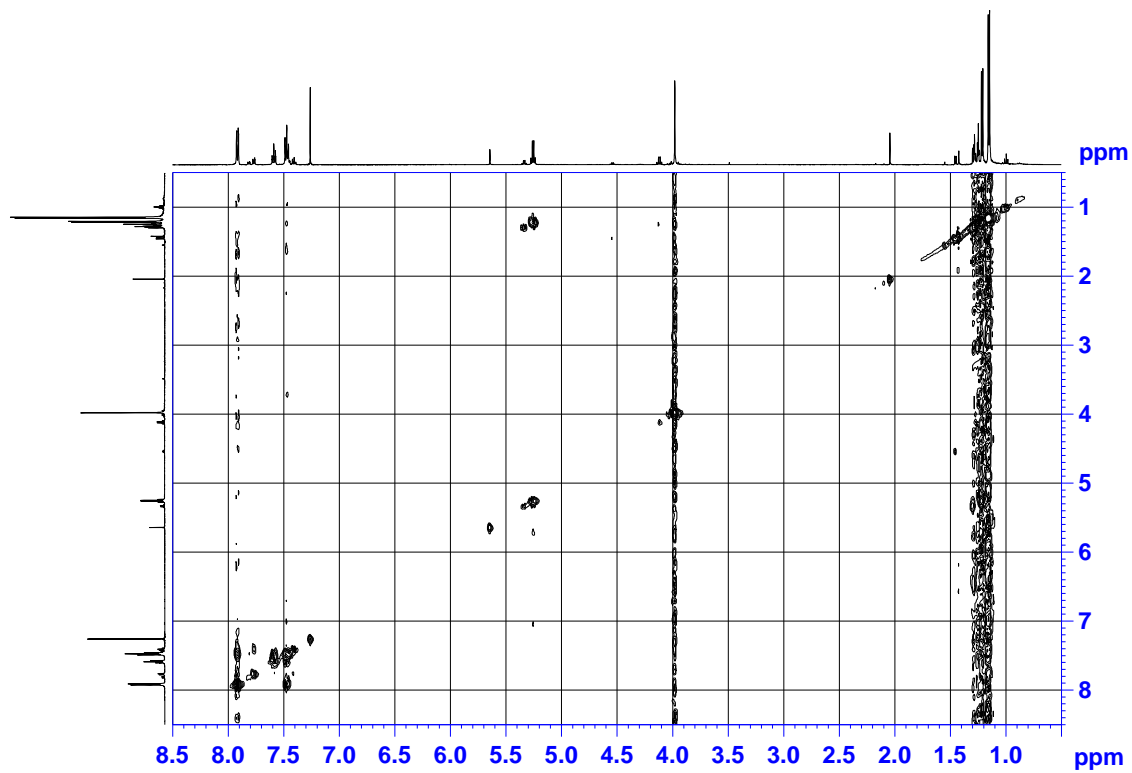


Figure S4.14. ¹H-¹H COSY spectrum of frondhyperin D (**66**) in CDCl₃ (500 MHz).

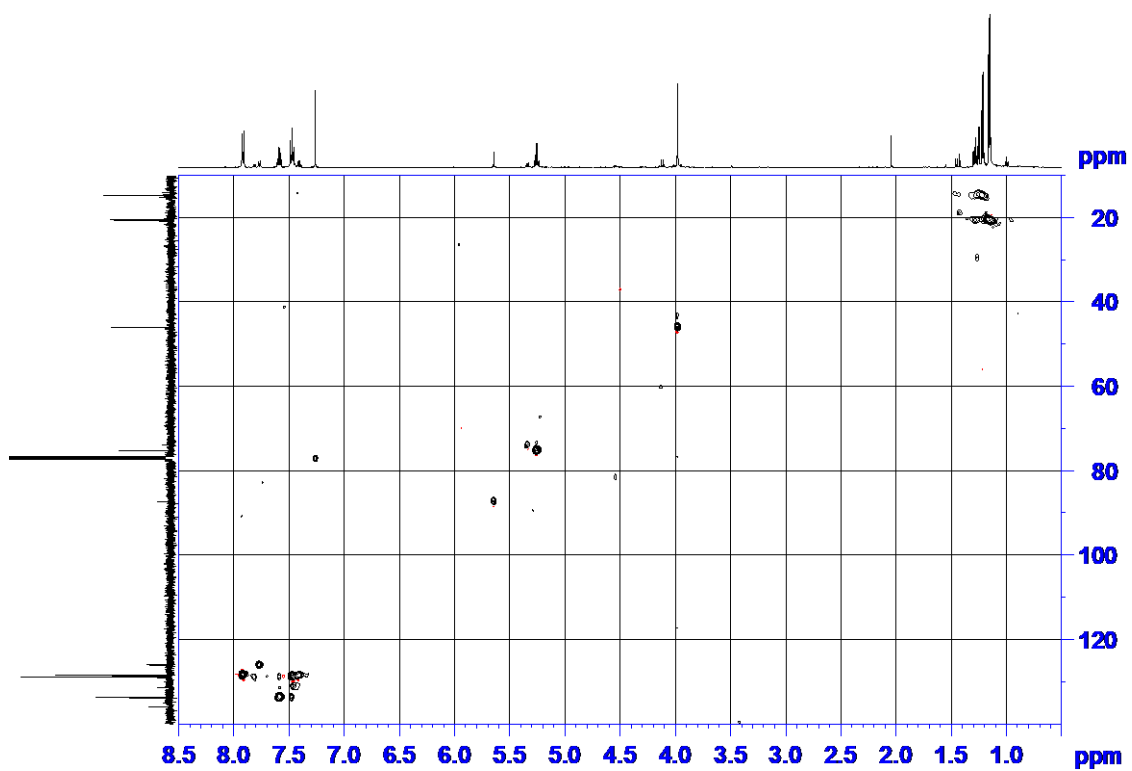


Figure S4.15. HSQC spectrum of frondhyperin D (**66**) in CDCl_3 (500 MHz).

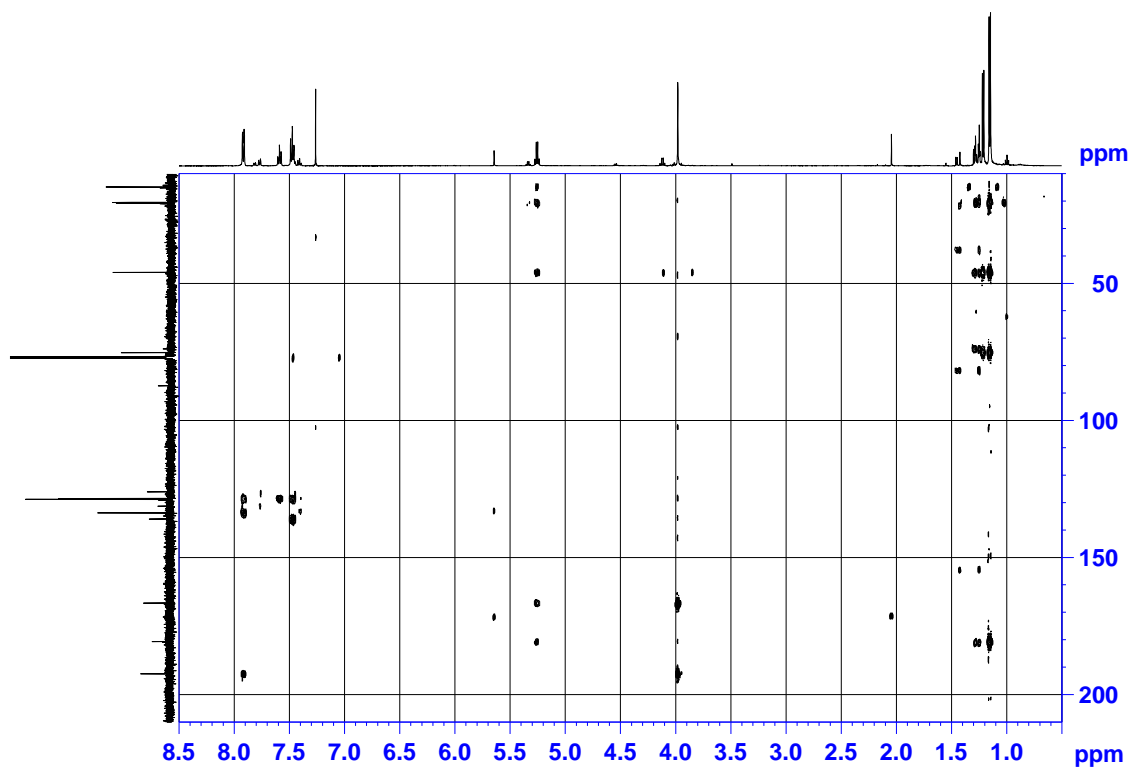


Figure S4.16. HMBC spectrum of frondhyperin D (**66**) in CDCl_3 (500 MHz).

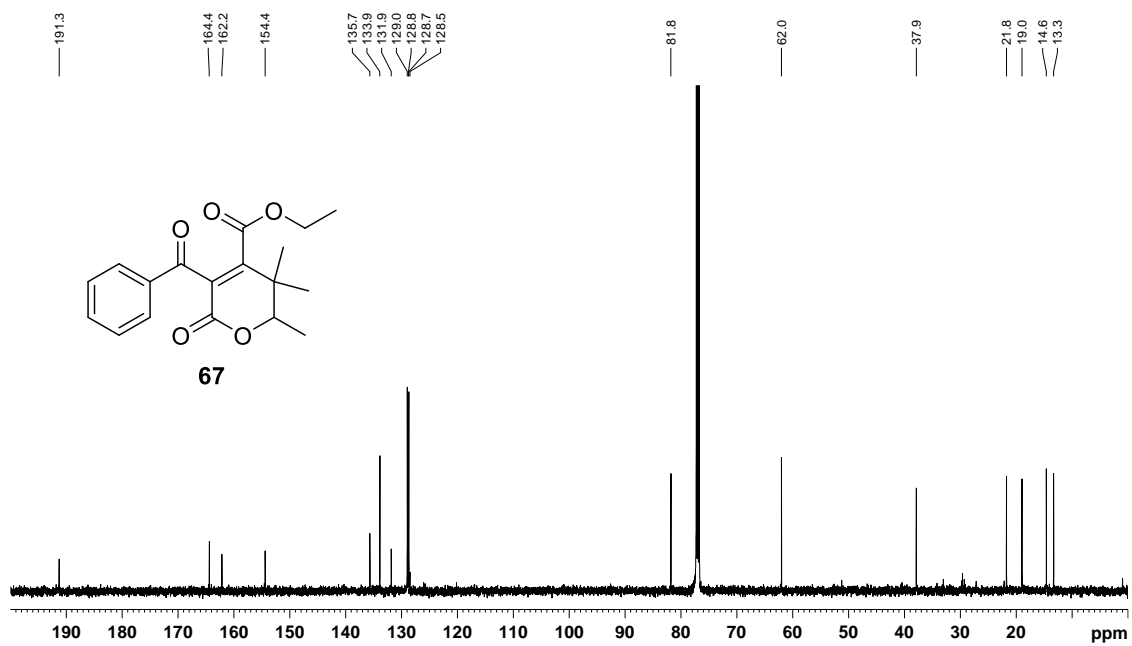


Figure S4.17. ¹³C NMR spectrum of frondhyperin E (67) in CDCl₃ (125 MHz).

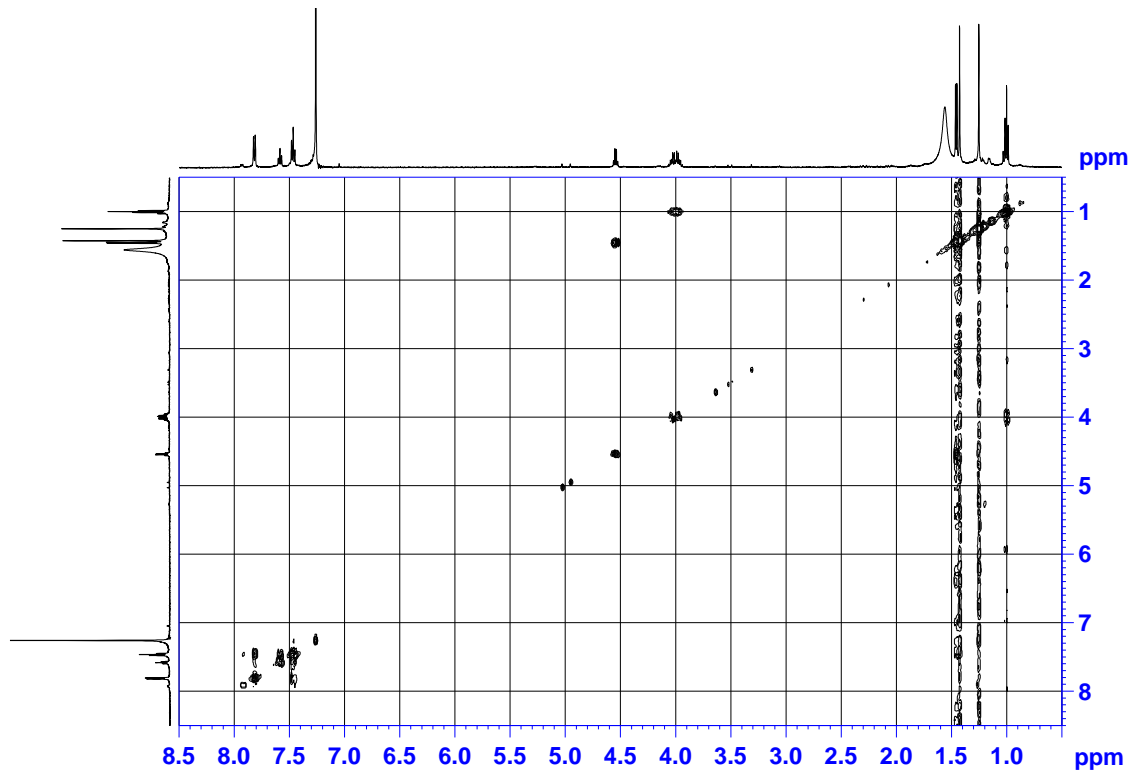


Figure S4.18. ¹H-¹H COSY spectrum of frondhyperin E (67) in CDCl₃ (500 MHz).

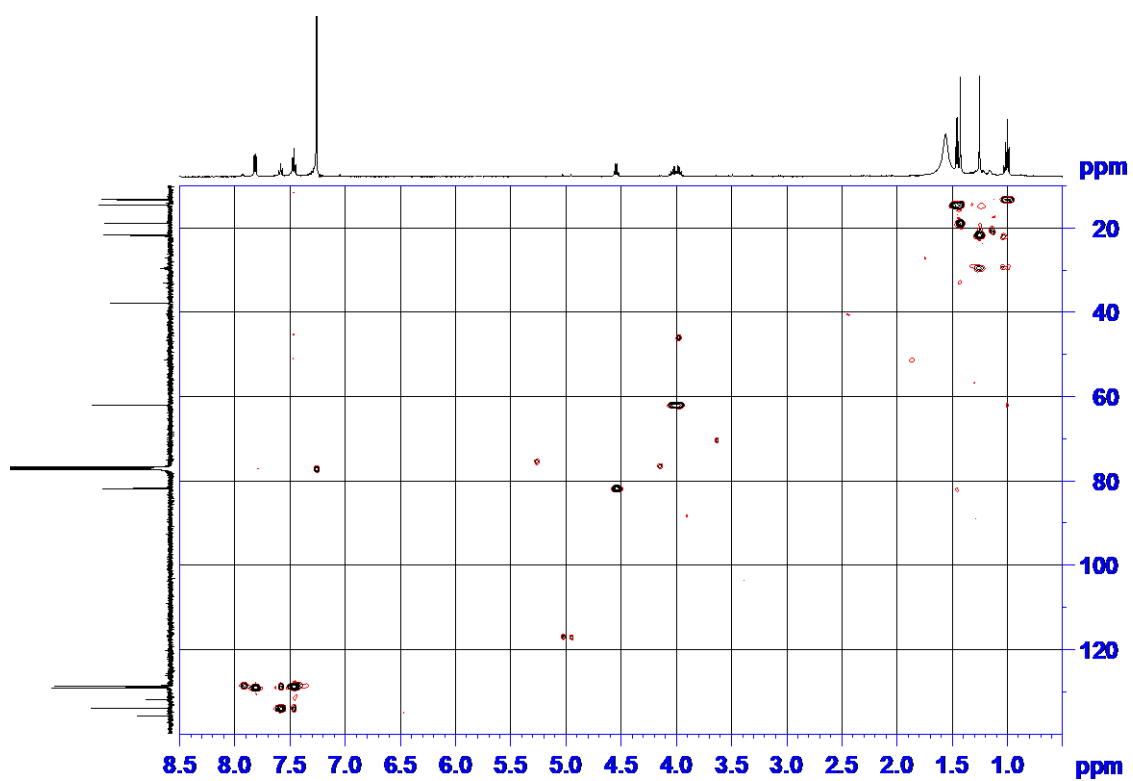


Figure S4.19. HSQC spectrum of frondhyperin E (**67**) in CDCl_3 (500 MHz).

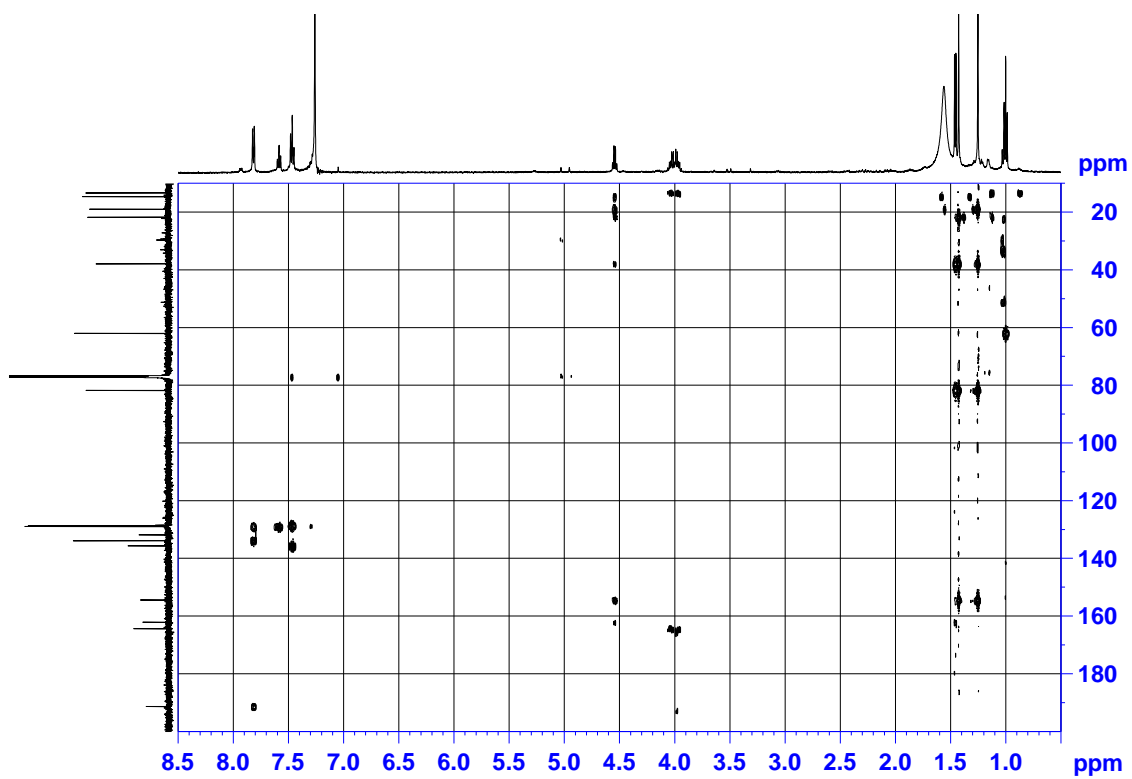


Figure S4.20. HMBC spectrum of frondhyperin E (**67**) in CDCl_3 (500 MHz).

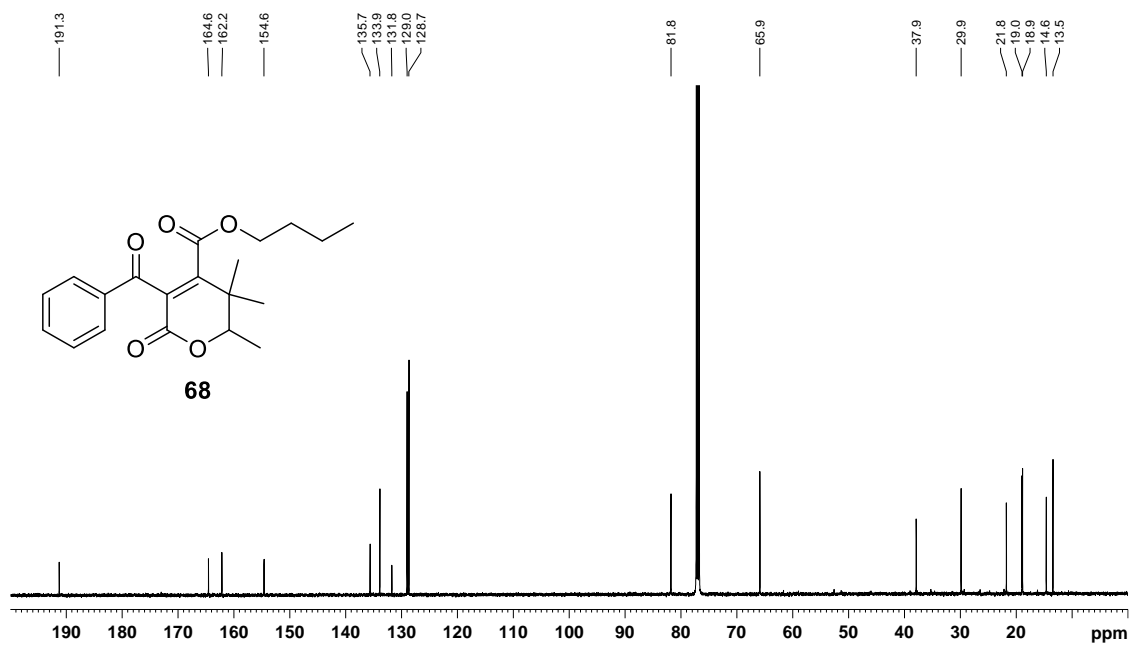


Figure S4.21. ¹³C NMR spectrum of frondhyperin F (**68**) in CDCl₃ (125 MHz).

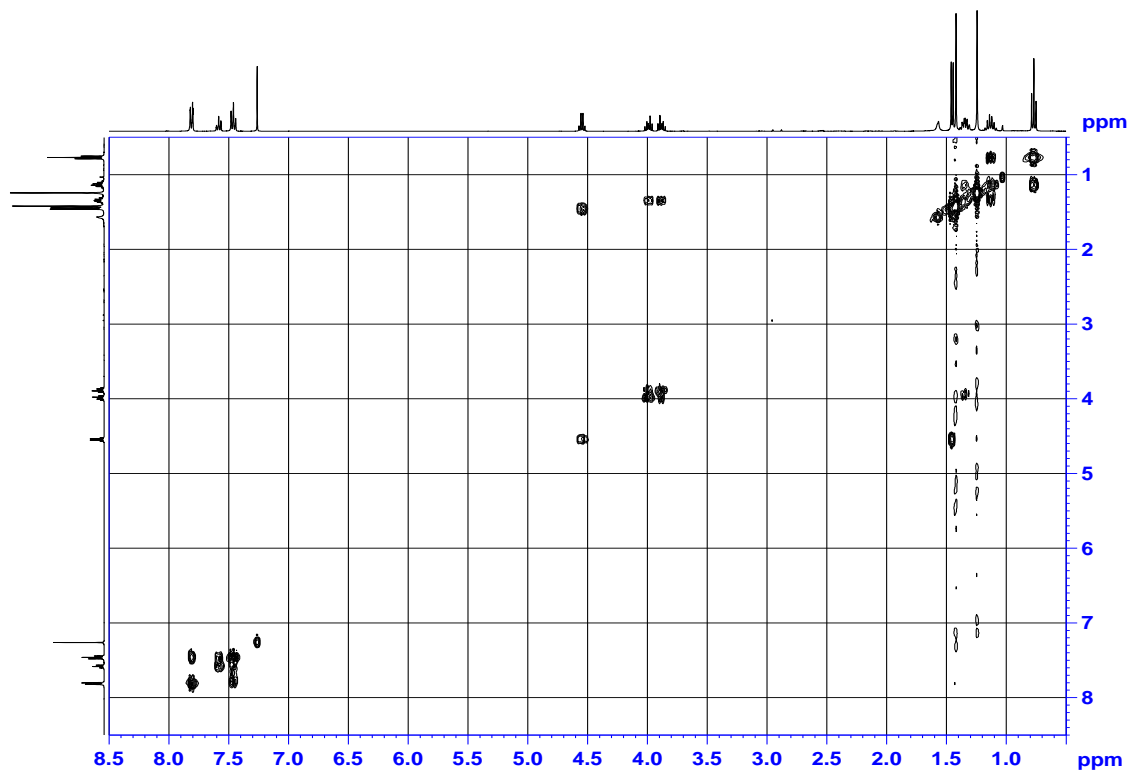


Figure S4.22. ¹H-¹H COSY spectrum of frondhyperin F (**68**) in CDCl₃ (500 MHz).

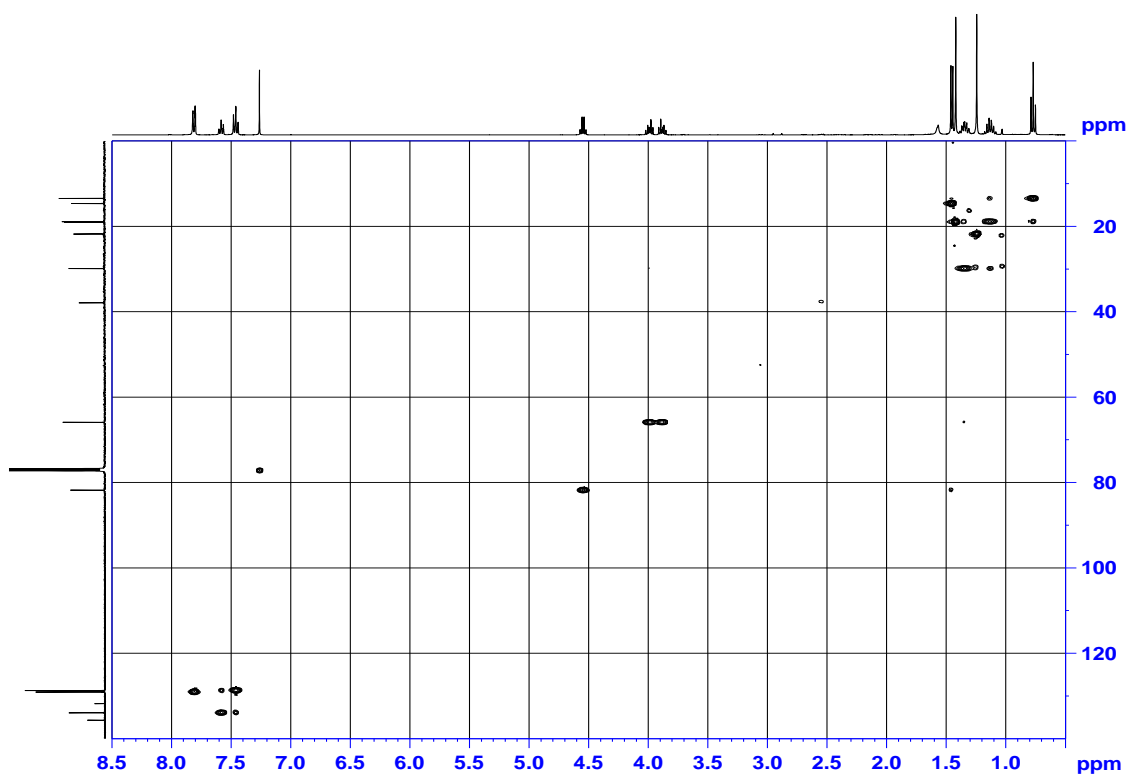


Figure S4.23. HSQC spectrum of frondhyperin F (**68**) in CDCl_3 (500 MHz).

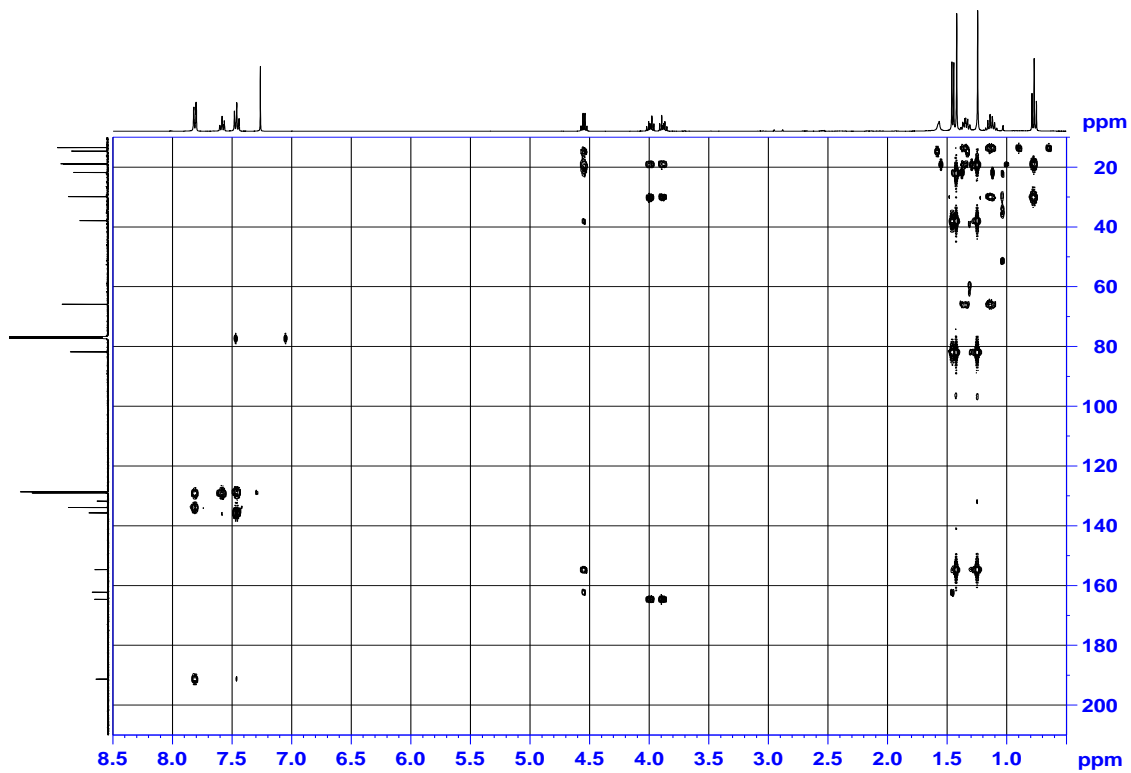


Figure S4.24. HMBC spectrum of frondhyperin F (**68**) in CDCl_3 (500 MHz).

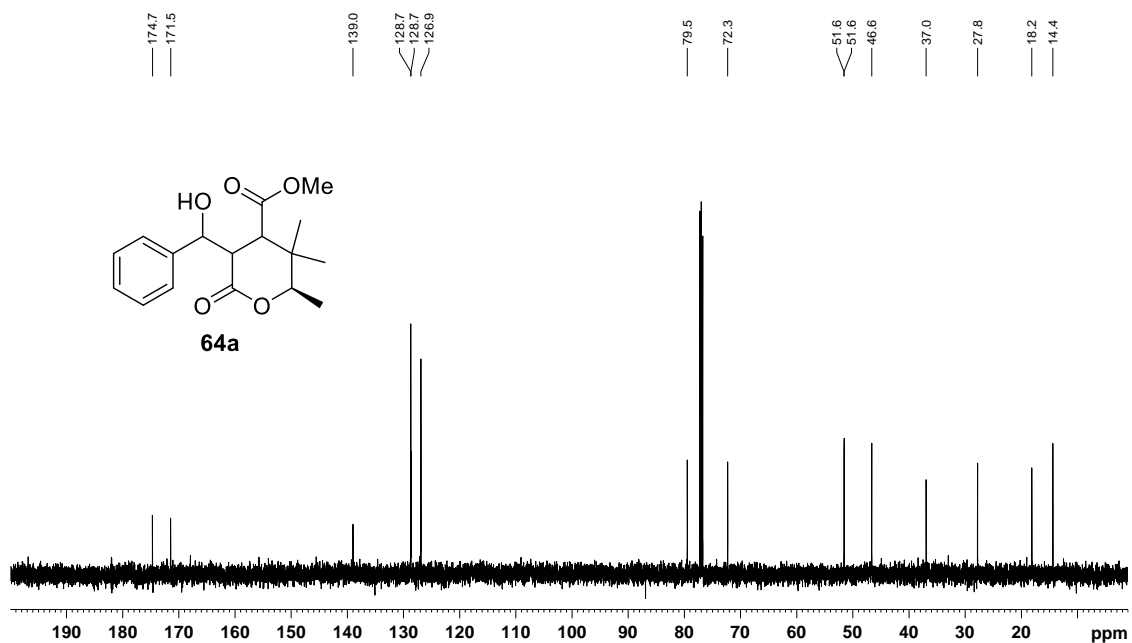


Figure S4.25. ¹³C NMR spectrum of tetrahydro derivative (**64a**) of frondhyperin B (**64**) in CDCl₃ (125 MHz).

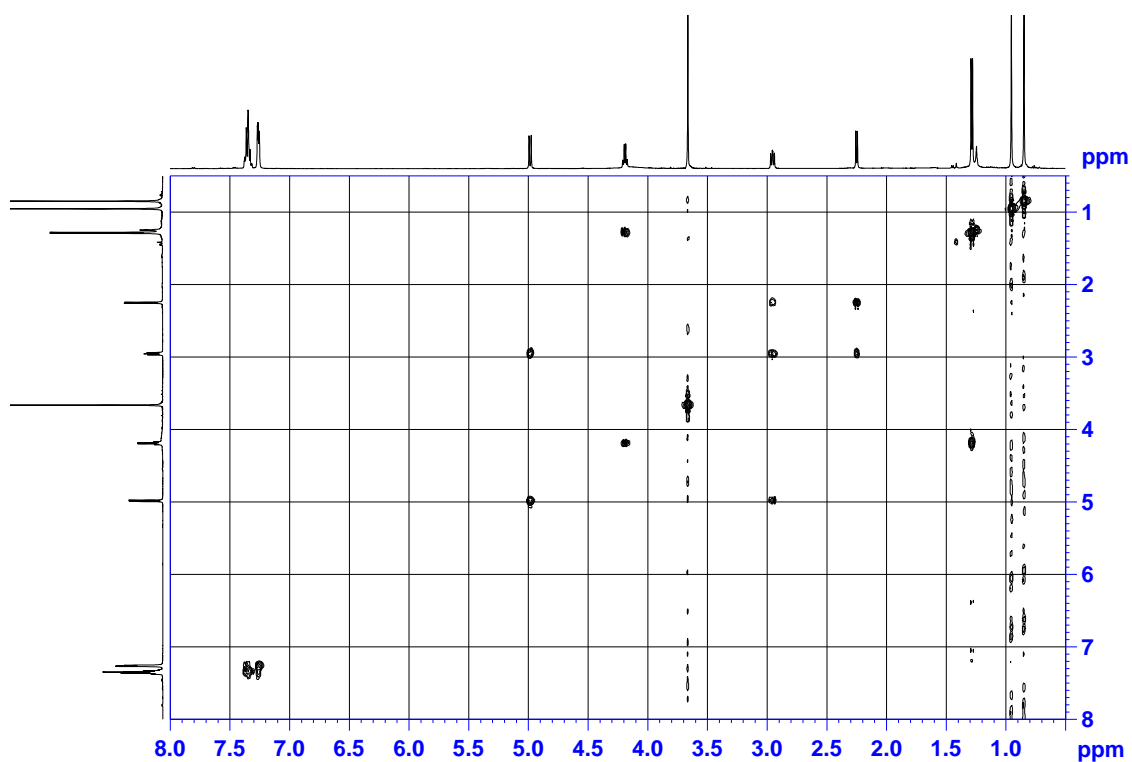


Figure S4.26. ¹H-¹H COSY spectrum of tetrahydro derivative (**64a**) of frondhyperin B (**64**) in CDCl₃ (500 MHz).

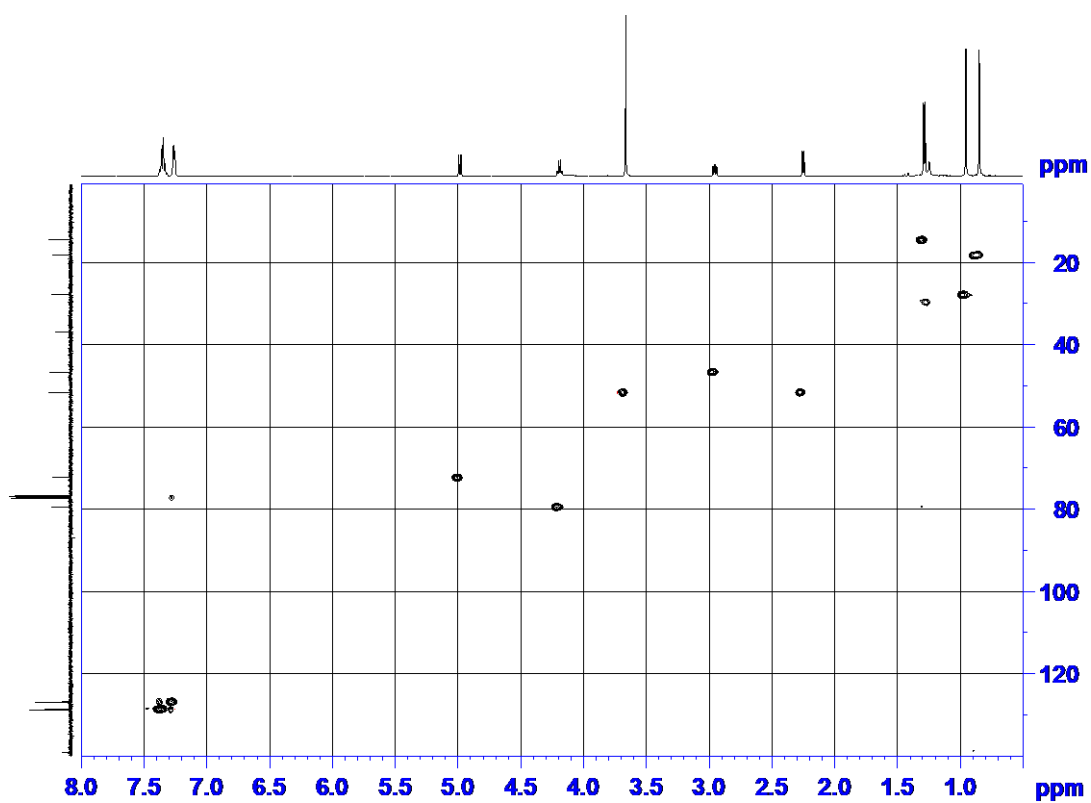


Figure S4.27. HSQC spectrum of tetrahydro derivative (**64a**) of frondhyperin B (**64**) in CDCl_3 (500 MHz).

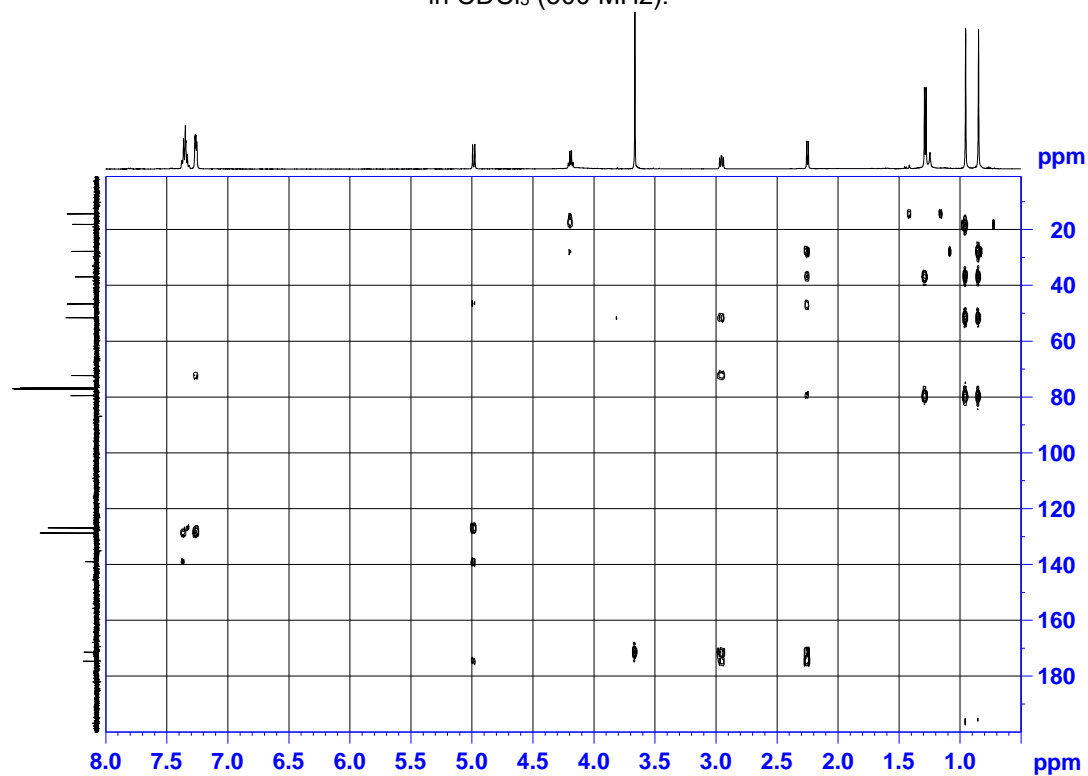


Figure S4.28. HMBC spectrum of tetrahydro derivative (**64a**) of frondhyperin B (**64**) in CDCl_3 (500 MHz).

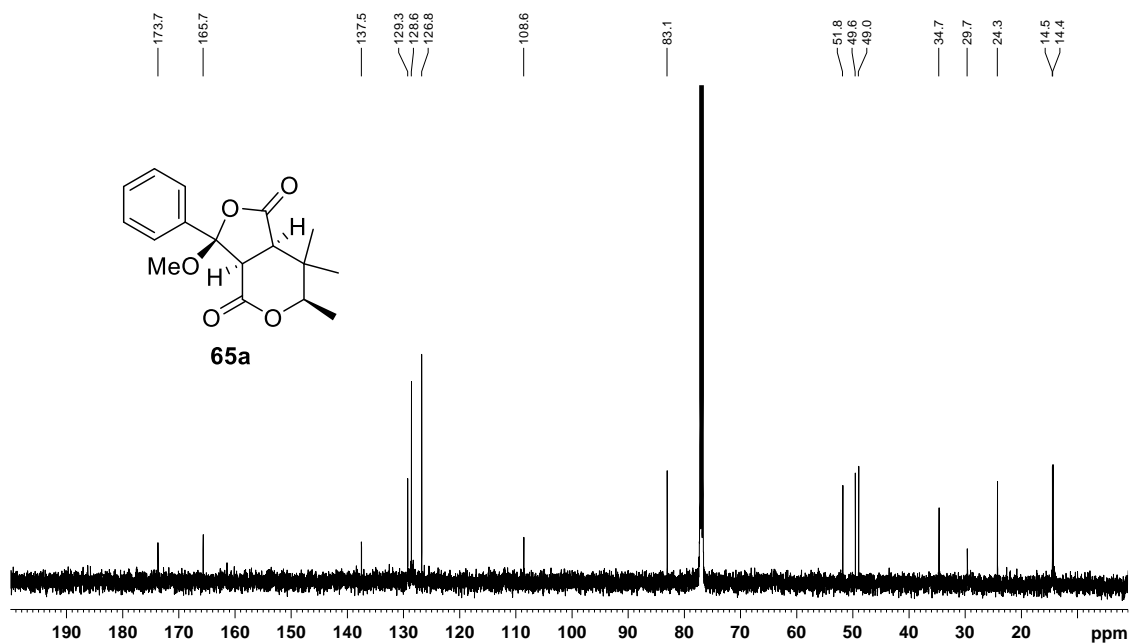


Figure S4.29. ¹³C NMR spectrum of dihydro derivative (**65a**) of frondhyperin C (**65**) in CDCl₃ (125 MHz).

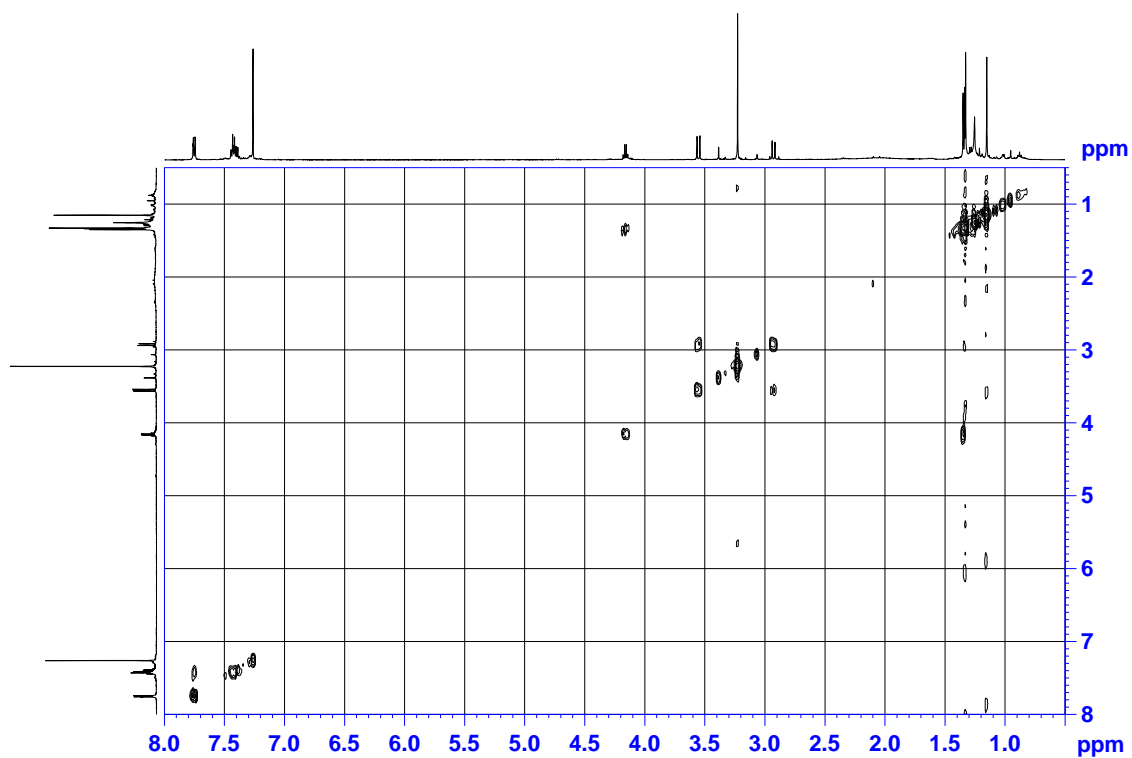


Figure S4.30. ¹H-¹H COSY spectrum of dihydro derivative (**65a**) of frondhyperin C (**65**) in CDCl₃ (500 MHz).

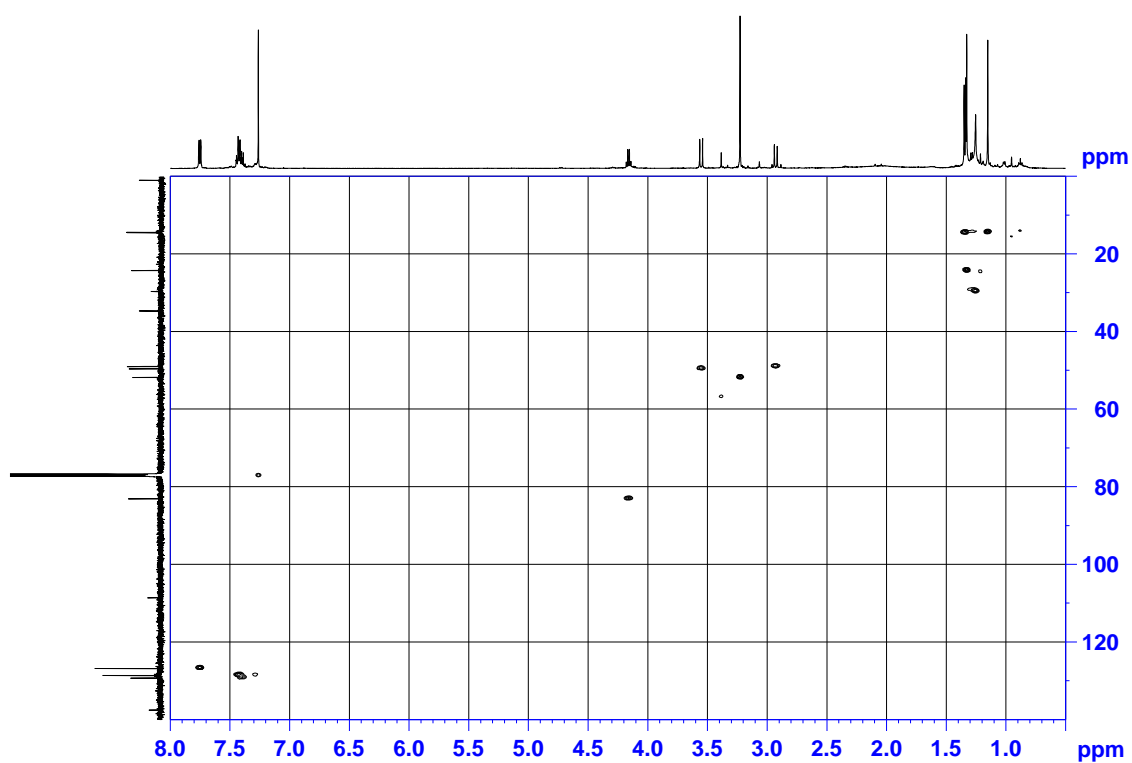


Figure S4.31. HSQC spectrum of dihydro derivative (**65a**) of frondhyperin C (**65**) in CDCl_3 (500 MHz).

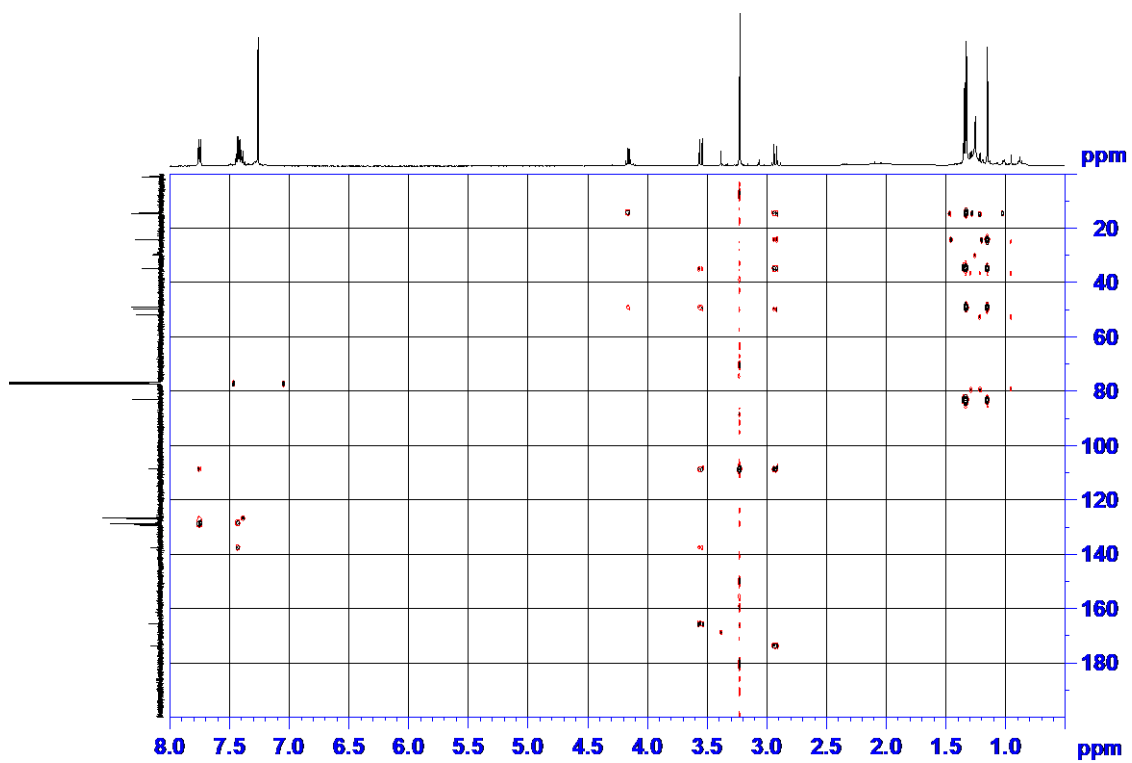


Figure S4.32. HMBC spectrum of dihydro derivative (**65a**) of frondhyperin C (**65**) in CDCl_3 (500 MHz).

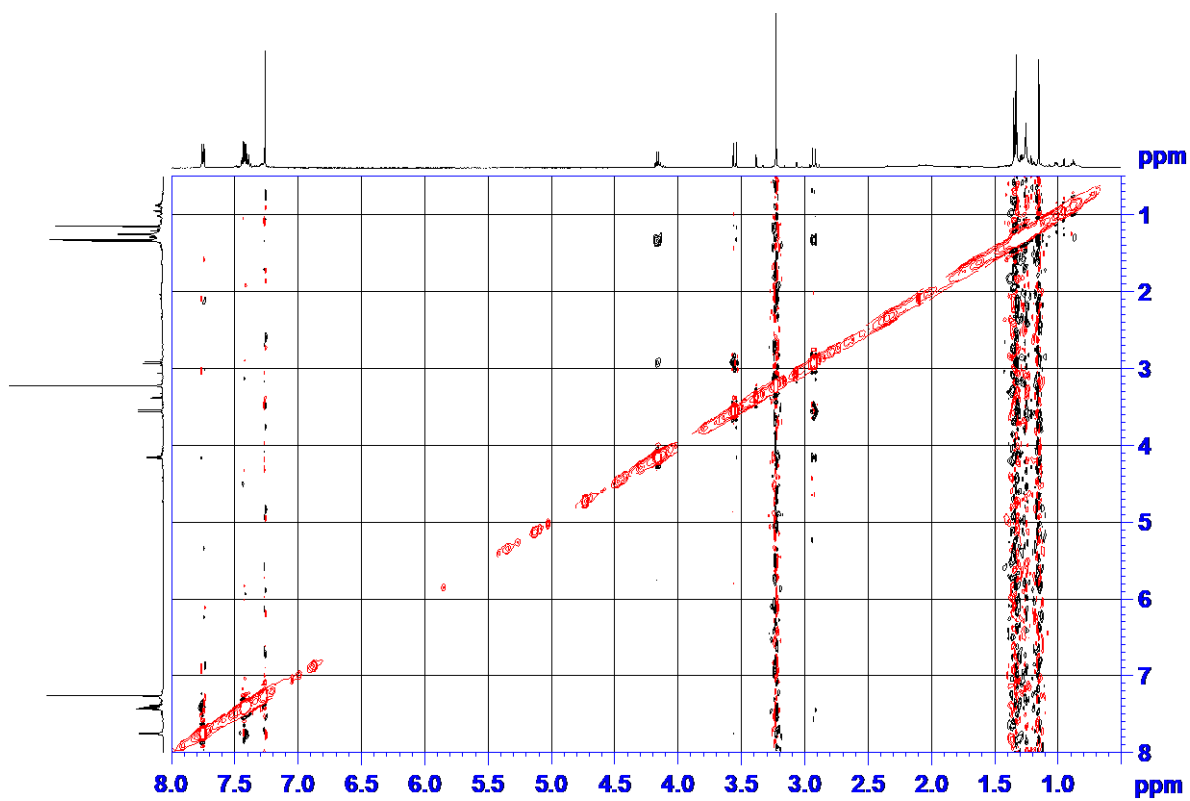


Figure S4.33. NOESY spectrum of dihydro derivative (**65a**) of frondhyperin C (**65**) in CDCl_3 (500 MHz).