

セリ科 *Ferula communis* 根の含有成分
の構造と生物活性に関する研究

2023

吉野 悠希

本論文中では、以下の略号を用いた。

Ac	acetyl
AMP	adenosine monophosphate
Ang	angeloyl
aq.	aqueous
ATP	adenosine triphosphate
calcd	calculated
CD	circular dichroism
COSY	correlation spectroscopy
ECD	electronic circular dichroism
EtOAc	ethyl acetate
exptl	experimental
extd.	extracted
fr.	fraction
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence
HPLC	high performance liquid chromatography
HRESIMS	high-resolution electrospray ionization mass spectrometry
HSQC	heteronuclear single-quantum correlation
IR	infrared
<i>J</i>	coupling constant
Me	methyl
MeCN	acetonitrile
mmu	milli mass unit
MS	mass spectrometry
<i>n</i> -	normal
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear Overhauser effect spectroscopy
ODS	octadecylsilyl
<i>p</i> -Anis	<i>p</i> -methoxybenzoyl
partit.	partitoned
rt	room temperature
<i>sec</i>	secondary
<i>tert</i>	tertiary
Tig	tigloyl
UV	ultraviolet

目次

緒言	1
第1章 序論	2
第2章 セリ科 <i>Ferula communis</i> 根の成分探索	
第1節 <i>Ferula</i> 属植物について	7
第2節 抽出・分離	12
第3節 構造解析	
第1項 新規ファルネシル化クマリン <i>communiferulin A-C</i> の構造解析	13
第2項 新規ダウカン型セスキテルペンの構造解析	22
第3項 既知化合物の同定	47
第4節 小括	50
第3章 セスキテルペンの化学修飾	
第1節 ダウカン型セスキテルペン芳香族カルボン酸エステル誘導体の合成	52
第2節 小括	53
第4章 生物活性の評価	
第1節 抗神経炎症活性の評価	54
第2節 フェロトーシス抑制活性の評価	56
第3節 AMPK リン酸化促進活性の評価	58
第4節 小括	60
結語	61
実験の部	63
参考文献	75
謝辞	78

緒言

1981 年から 2019 年の間に世界で承認された低分子医薬品のうち約半数が天然物あるいは天然物の構造に基づき開発されたものであり¹⁾、植物や海洋生物、微生物等の生物が産生する二次代謝産物は重要な医薬シーズであるといえる。日本においても、2000 年以降に承認された医薬品の約 60 %が低分子医薬品であり、天然物が医薬品の開発に大きく貢献していることがうかがえる。最近では、2021 年にクマリンをシード化合物にして開発されたエブリスディ®（一般名：risdiplam）が脊髄性筋萎縮症治療薬として承認された。エブリスディ®は、経口投与される低分子医薬品であり、他の薬剤に比べ薬価が低かったことから患者やその家族の治療の選択肢を増やすことに繋がっている。

厚生労働省の統計によれば、日本人の平均寿命は 2019 年時点で男性が 81.41 年、女性が 87.45 年であり²⁾、約 30 年間で 5 年以上延伸した。さらに今後 20 年間で約 2 年延びると推計されている。一方で、健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる期間と定義される健康寿命は、2019 年時点で男性が 72.68 年、女性が 75.38 年と平均寿命と比較して約 10 年短い。この平均寿命と健康寿命の差をできるだけ短くするための取り組みとして非感染性疾患の予防と進行抑制が挙げられる。

世界保健機関 (World Health Organization: WHO) が 2022 年に発表した統計では、世界全体の死亡者の 74 %に当たる 4,100 万人が非感染性疾患により死亡したと報告されている。心疾患がその大部分 (1,790 万人) を占め、次いでがん (930 万人)、慢性呼吸器疾患 (410 万人)、糖尿病 (200 万人) などが主な原因疾患として挙げられる。一方認知症は、現在世界で 5,500 万人が罹患し、罹患者の健康寿命を短縮する一因となっており、その患者数は 2050 年までに指数関数的に増えると予想されている。世界のさまざまな国で認知症患者の介護が問題となり、WHO は「認知症は急速に拡大している世界的な公衆衛生の課題」として危機感を表している。このような非感染性疾患の予防は世界的に重要な課題である。

上記の背景を踏まえ、著者は健康寿命の延伸に寄与する医薬シードの単離を目的に、セリ科植物の成分探索を行った。

第1章 序論

1. 平均寿命と健康寿命

平均寿命とは「0歳における平均余命」のことで、2019年の日本人の平均寿命は男性が81.41年、女性が87.45年である。2040年ごろにはさらに2年ほど伸びると言われている。一方、健康寿命は「健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる期間」のことを示し、2019年の日本人の健康寿命は男性が72.68年、女性が75.38年である (Fig. 1)²⁾。平均寿命と健康寿命は年々延伸しているが、その差に変化はなく、約10年間である。この期間は日常生活になんらかの制限がかかる「不健康な期間」であり、高齢化が進む我が国では、この期間を縮めることが喫緊の課題である。



Figure 1. 日本人の平均寿命と健康寿命の推移.

2. 非感染性疾患について

WHO の定義では、「非感染性疾患」は、遺伝や、環境等の要因が関与する慢性疾患であり、不健康な食事や運動不足、喫煙、アルコールの多量摂取などの生活習慣がリスク因子である。WHO が 2022 年に発表したデータによれば、非感染性疾患が原因で、世界全体で年間 4,100 万人が亡くなっており、これは全死者数の 74 %に相当する。非感染性疾患によって亡くなった人のうち、心血管疾患 (1,790 万人)、がん (930 万人)、慢性呼吸器疾患 (410 万人)、糖尿病 (210 万人) の 4 個の疾患が全体の 80 %を占めている。日本国内においても、年間死者数の半数以上が非感染性疾患が原因で亡くなっていることが報告されている。令和 4 年の統計では全死者数のうち、がんが約 26 %、心血管疾患が 24 %で最も高い割合を占めている³⁾。一方で、我が国では要介護となる原因のうち最も多いものが認知症である。日本では認知症は非感染性疾患として分類され、生活習慣の改善で予防可能と考えられている。認知症は、世界で約 5,500 万人が罹患している疾患であり、その患者数は 2050 年までに指数関数的に増加すると推計されている。WHO は認知症を「世界的な公衆衛生の課題」とし、認知症の予防に関するガイドラインを公表するなど、世界的にも認知症の予防は重要な課題である。

これらの統計から非感染性疾患の予防や進行抑制が平均寿命と健康寿命の差を縮めることに繋がると考えられる。著者は、健康寿命の延伸に寄与する生物活性として、以下の 3 種の活性に着目した。

3. 神経細胞の炎症について

神経炎症は脳や脊髄における免疫応答の活性化であり、グリア細胞であるミクログリアやアストロサイトが関与して発症する。ミクログリア細胞は脳における免疫担当細胞であり、正常な脳では非活性型として存在し、中枢神経系の神経回路網形成やシナプス伝達に関与している。一方で、脳虚血時や脳損傷時には神経障害をいち早く感知して活性型になり、障害部位への遊走、死細胞の貪食、炎症性サイトカインやケモカインの産生により、損傷した神経を修復する (Fig. 2)。しかしながら、ミクログリア細胞の活性化が過剰になり、炎症性サイトカインなどの生理活性物質が多量に放出されることで神経障害を引き起こすこともある。このミクログリア細胞の過剰な活性化がアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患およびうつ病や統合失調症などの精神疾患の進行に関与すること、ミクログリア細胞の活性化の抑制により病状が改善することが報告されている^{4,5)}。

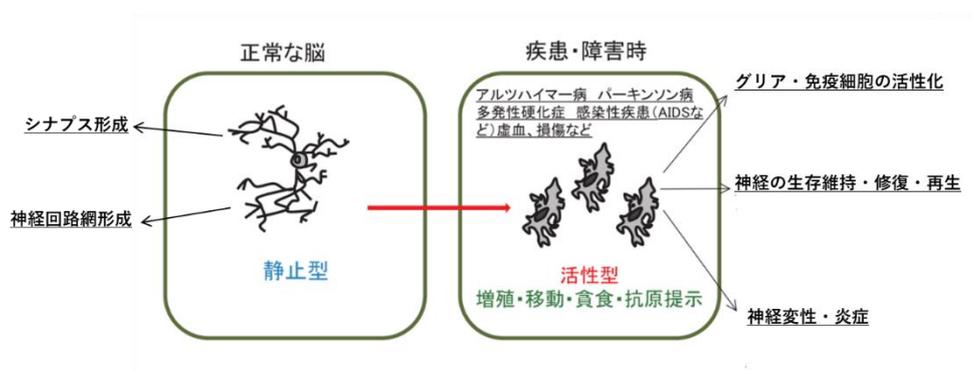


Figure 2. ミクログリアの役割.

4. フェロトーシスについて

フェロトーシスは、2012年に Stockwell らによって提唱された鉄依存性のプログラム細胞死の一種である⁶⁾。細胞内の鉄イオン (Fe^{2+}) を触媒として、多価不飽和脂肪酸 (PUFA) が膜リン脂質 (PL-PUFA) を形成し、その後膜リン脂質中の多価不飽和脂肪酸が過酸化される (PL-PUFA-OOH) ことでフェロトーシスを引き起こす (Fig. 3)⁷⁾。フェロトーシスの発現に関与する因子として、鉄の代謝と貯蓄、ROS、グルタチオン、NADH、システインなどがこれまでに報告されている。フェロトーシスは、がんや虚血性疾患、神経変性疾患、自己免疫疾患に関係することが報告されている。虚血性疾患や神経変性疾患では、フェロトーシスが疾患の発症や進行に関与し、フェロトーシスの阻害により症状が改善することが報告されている。一方で、フェロトーシスががん細胞の除去機構として働くことが報告されている⁸⁾。特に、既存の抗がん剤に耐性を持つがんや鉄分の豊富な臓器 (肝臓、膵臓、脳など) におけるがんはフェロトーシスに対して感受性が高いことから、新たながん治療の戦略として注目されている。

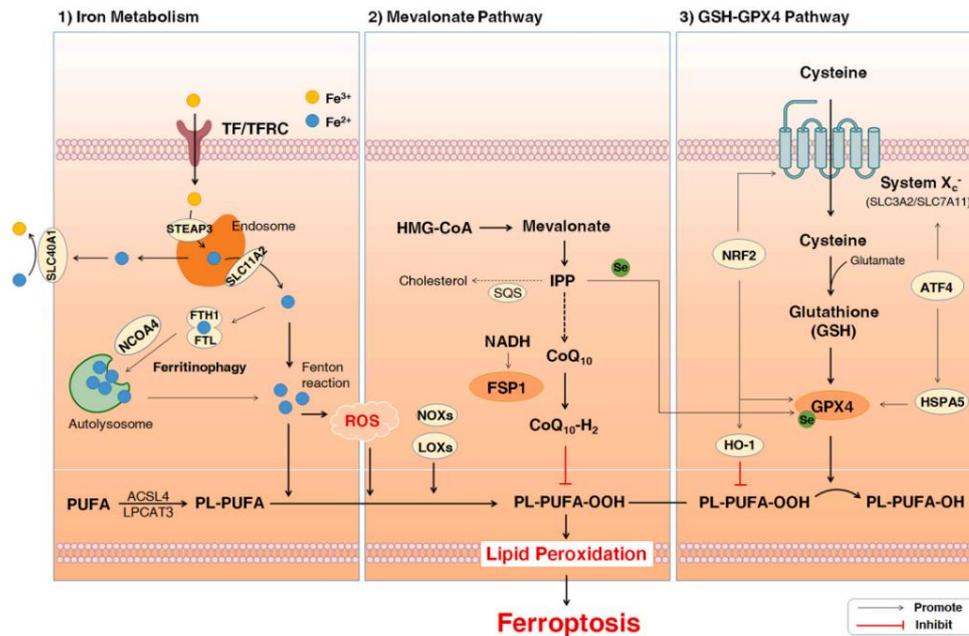


Figure 3. Molecular mechanisms of ferroptosis.

5. AMPK について

AMPK (AMP-activated protein kinase) はセリン/スレオニンキナーゼであり、触媒ユニットの α と、調節ユニットの β および γ の 3 個のサブユニットからなるヘテロ三量体構造をもつ酵素である。真核生物においては異なる遺伝子にコードされたアイソフォームの存在が明らかとなっており、ヒトでは α サブユニットに 2 個、 β サブユニットに 2 個、 γ サブユニットに 3 個のアイソフォームが存在する。

AMPK は全身のエネルギーセンサーであり、アデニンヌクレオチドに結合することで細胞内のエネルギー量を測定している。細胞内 AMP/ATP 比の増加、運動、レプチン・アディポネクチンなどの肥満関連サイトカインなどによって AMPK が活性化される⁹⁾。AMPK の活性化には α サブユニットの Thr172 のリン酸化がよく相関することが報告されている。つまり、AMPK リン酸化活性をもつ化合物は AMPK を活性化していると考えられる。

AMPK の活性化により、ATP の産生 (異化、*catabolism*) が促進され、同時に ATP の消費 (同化、*anabolism*) が抑制される。異化が促進されると、糖や脂質の分解や糖の取り込み、脂肪酸酸化などが誘導される。一方で、脂質やステロール、グリコーゲンの合成を阻害し、同化を抑制している (Fig. 4)¹⁰⁾。これは運動と同じ効果であり、AMPK 活性化剤は運動模倣薬として、肥満や 2 型糖尿病などの生活習慣病に対して有用な効果が期待される。さらに、近年 AMPK の活性化により、がん抑制遺伝子 p53 の活性化や mTORC1 シグナルの抑制が起こり、腫瘍細胞の増殖を抑制することが報告されている¹¹⁾。

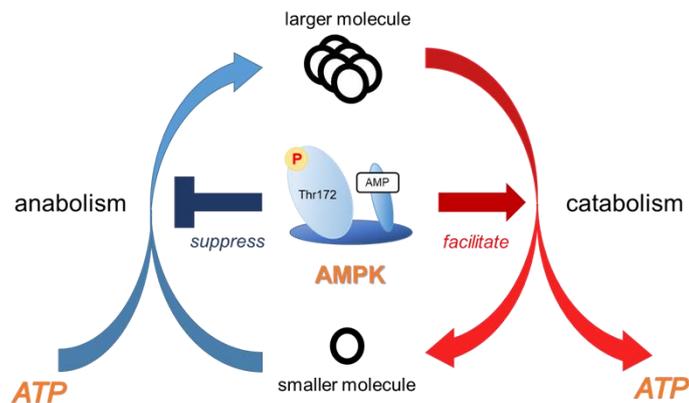


Figure 4. Metabolic regulatory effects of AMPK.

第2章 セリ科 *Ferula communis* 根の成分探索

第1節 *Ferula* 属植物について

1. *Ferula* 属植物の分布と民間薬等としての利用

セリ科 *Ferula* 属は約 170 の植物種からなり、その多くが中央アジアや地中海地方、北アフリカに分布している¹²⁾。数多くの *Ferula* 属植物が古くから民間薬として用いられている。例えば、*F. szoitsiana* は駆虫薬として¹³⁾、*F. gummosa* は強壯剤あるいはてんかん¹⁴⁾、*F. persica* は糖尿病の治療に用いられている¹⁵⁾。*F. assa-foetida* の根はスペイン風邪流行時にその治療に用いられるほか、駆虫薬や AIDS 治療薬、鎮痙薬、利尿薬、および婦人薬として用いられている¹⁶⁾。そのほか、香辛料や香料として使用される種も多い。

2. *Ferula* 属植物の含有成分について

Ferula 属植物からはオイデスマン型、グアイアン型、ダウカン型などのセスキテルペン、セスキテルペン-クマリン複合体、含硫黄化合物などの二次代謝産物が単離、報告されている¹²⁾。それらの構造と生物活性について以下に述べる。

2.1. セスキテルペン

Ferula 属植物からは、lapiferin (**II.1**) をはじめとするダウカン型、ferupennins J (**II.2**) をはじめとするグアイアン型、 $3\alpha,4\beta$ -dihydroxy- 5β H, 11α H-eudesman-6,12-olide (**II.3**) をはじめとするオイデスマン型などの多様な骨格のセスキテルペンが報告されている (Fig. 5)¹⁷⁻²⁰⁾。敷島らは *F. penninervis* の根から 15 種のグアイアン型セスキテルペンと 2 種のオイデスマン型セスキテルペンを単離した。そのうち **II.2** が LPS 刺激下におけるヒト末梢血単核細胞からの IL-2 遊離阻害作用を示すことを明らかにしている¹⁸⁾。Lhuillier らは *F. hermonis* の根から単離したダウカン型セスキテルペン (**II.4-II.6**) のヒト乳がん細胞株 MCF-7 の増殖に対する作用を評価し、**II.4** と **II.6** がその増殖を促進し、**II.5** が増殖を阻害することを報告している²⁰⁾。

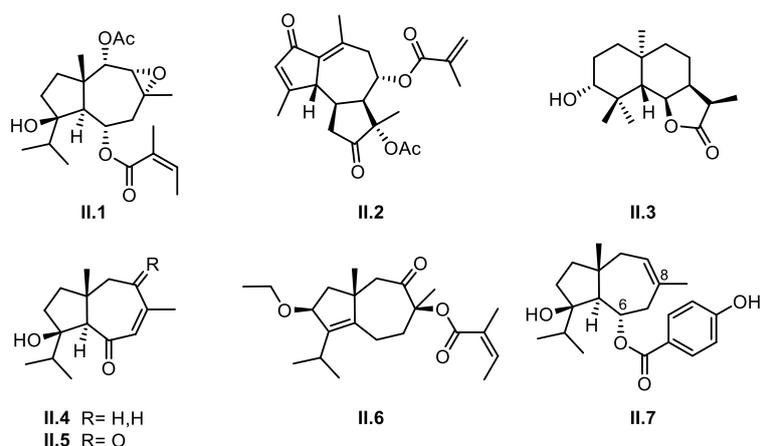


Figure 5. Sesquiterpenes (II.1–II.7) isolated from *Ferula* plants.

2.1.1. ダウカン型セスキテルペンの生物活性と構造活性相関に関する研究

5/7-二環性骨格を有するダウカン型セスキテルペンはセリ科植物、特に *Ferula* 属や *Laserpitium* 属植物に多く含まれる。これまでに、ダウカン型セスキテルペンは細胞毒性²¹⁾、抗菌活性²²⁾、AChE 阻害作用²³⁾、エストロゲン α (ER α) 受容体刺激作用^{24,25)}やカンナビノイド 1 (CB1)、あるいはカンナビノイド 2 (CB2) 受容体刺激作用²⁶⁾を示すことが報告されている。また、ER α 受容体刺激作用や CB1 あるいは CB2 受容体刺激作用に関する構造活性相関の研究が行われている。

2.1.1.1. ER α 受容体刺激作用に関する構造活性相関研究

Appendino らは fertinin (II.7, Fig. 5) の三置換オレフィン部分や 6 位のベンゾイルエステル部分の化学修飾を行い、それらの ER α 受容体刺激作用の評価を行った^{24,25)}。この化学修飾で、fertinin より強い活性を示す誘導体は得られず、三置換オレフィンの修飾は活性の低下をもたらすことが示唆された。また、6 位炭素の立体化学の違いで活性に大きな差が得られ、6 位のベンゾイルエステル部分は α 配置であることが活性の発現に必要であることが示唆された。

2.1.1.2. CB1 あるいは CB2 受容体刺激作用に関する構造活性相関研究

Osman らによるカンナビノイド受容体刺激作用に関する構造活性相関研究では、fertinin (II.7) の 6 位に結合したベンゾイルエステルの *p*-位をハロゲンなどに置換した誘導体を合成している。それら誘導体のカンナビノイド受容体に対する親和性と作用様式を評価した²⁶⁾。この結果、*p*-位に Br、I、Cl、CF₃ を導入した化合物が CB1 および CB2 受容体に対して fertinin より強い結合親和力を示すことが明らかとなった。また、受容体に対する作用様式の評価の結果から、一部の化合物については受容体選択的に作動薬として働くことが報告されている。

2.2. プレニル化クマリンおよびセスキテルペン-クマリン複合体

4-ヒドロキシクマリン及び 7-ヒドロキシクマリンにゲラニル基やファルネシル基が結合したプレニル化クマリン (**II.8** and **II.9**) や、セスキテルペンが結合したセスキテルペン-クマリン複合体 (**II.10–II.12**) が *Ferula* 属植物から単離されている (Fig. 6)^{16,27-30}。

Ferulosis は *Ferula* 属植物を摂取することで引き起こされる致死性の出血性中毒であり、牛や羊などの家畜やヒトでの発症が報告されている。Ferulenol (**II.9**) は ferulosis の原因物質の 1 つと考えられている化合物であり、抗凝固作用や細胞毒性を示すことが報告されている^{31,32}。II.10 と II.11 は *F. sinkiangensis* の根から単離された 7-ヒドロキシクマリンとセスキテルペンの複合体である。Lee らは *F. assa-foetida* がインフルエンザの治療に用いられることに着目し、本植物から単離した II.12 を含む種々の 7-ヒドロキシクマリン-セスキテルペン複合体が顕著な抗 A 型インフルエンザウイルス活性を示すことを明らかにしている¹⁶。

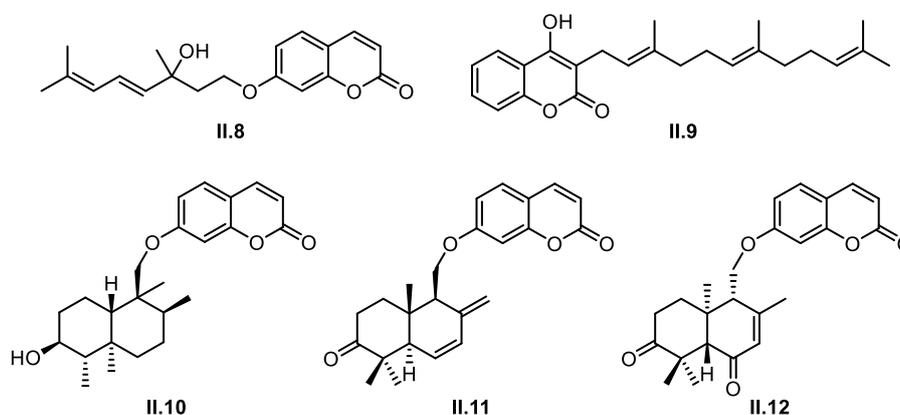


Figure 6. Prenylated coumarins (**II.8** and **II.9**) and sesquiterpene–coumarin conjugates (**II.10–II.12**) isolated from *Ferula* plants.

2.3. ファルネシル化安息香酸誘導体

Chen らは *F. kuhistanica* よりファルネシル化安息香酸誘導体 (**II.13–II.15**) を単離し (Fig. 7)、それらのサイトカイン遊離阻害作用について報告している^{33,34}。このうち、II.14 が LPS 誘導によるサイトカイン (IL-2、IL4、および IFN- γ) の遊離を 3 $\mu\text{g/mL}$ の濃度でそれぞれ 65.6%、70.3%、および 60.2% 阻害することを見出している。

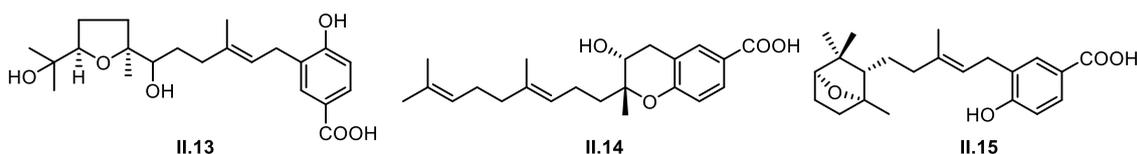


Figure 7. Farnesylated hydroxybenzoic acids (**II.13–II.15**) isolated from *F. kuhistanica*.

2.4. 含硫黄化合物

一部の *Ferula* 属植物の低極性画分からは、硫黄原子を含む二次代謝産物が単離されている (Fig. 8)^{35,36}。それらのうち、*F. latisecta* の根から単離された **II.16** と **II.17** は HeLa 細胞と HCT116 細胞に対して細胞毒性を示す硫化アリル化合物である。また、*F. foetida* の根から単離されたジヒドロチオフエン (**II.21**) はグラム陽性菌 *Bacillus cereus* に対し抗菌活性を有することが報告されている。

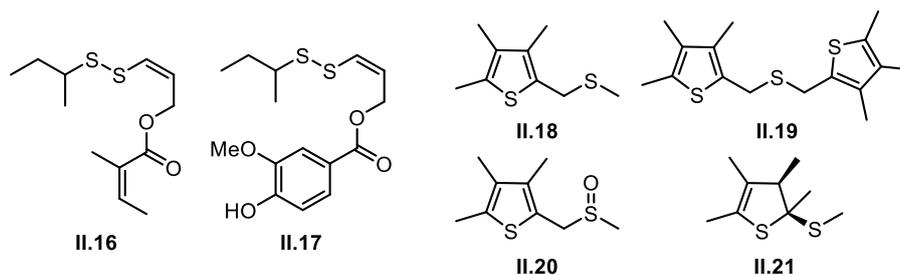


Figure 8. Sulfur containing secondary metabolites (**II.16–II.21**) isolated from *Ferula* plants.

2.5. その他の二次代謝産物

前述の二次代謝産物に加え、フェニルプロパノイド (**II.22**) やヘミテルペン (**II.23**)、モノテルペン (**II.24**)、ステロイド (**II.25** and **II.26**) などが *Ferula* 属植物から単離されている (Fig. 9)³⁷⁻³⁹。これらのうち、*F. lutea* の花部から単離されたヘミテルペン **II.23** は 5-リポキシゲナーゼを阻害することが報告されている³⁸。

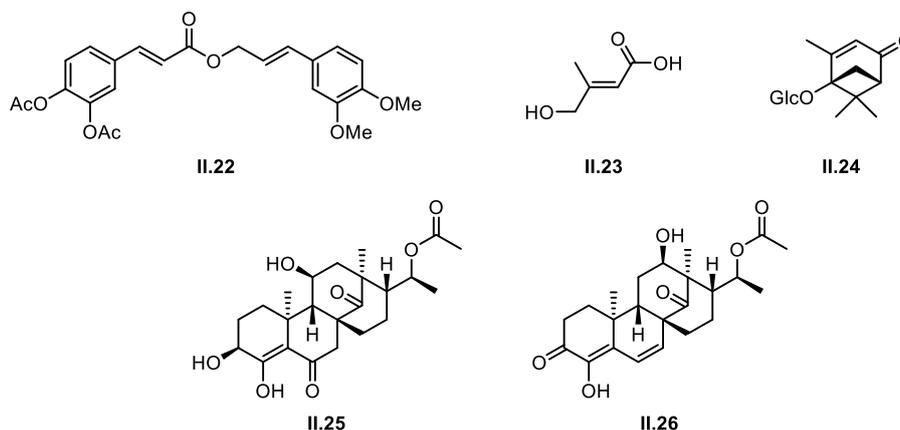


Figure 9. Other secondary metabolites (**II.22–II.26**) isolated from *Ferula* plants.

このように、多様な生物活性を示す二次代謝産物が *Ferula* 属植物から単離、報告されていることから、筆者は *Ferula* 属植物が産生する二次代謝産物に興味を持ち、健康寿命の延伸に寄与する新規二次代謝産物の単離を目的に *F. communis* の成分探索を行った。

3. *Ferula communis* について

F. communis (和名：オオウイキョウ) は、高さ約 1~2.5 m の多年草植物で、地中海地方のほか、中央アジアなどにも分布する。サウジアラビアでは本植物のつぼみが赤痢に、根茎が皮膚感染症に対する民間薬として用いられている⁴⁰⁾。

根および葉の成分について実施されたケモタキソノミー研究から、*F. communis* はファルネシル化クマリンを多く含有するケモタイプと、アシル化されたダウカン型セスキテルペンを多く含有するケモタイプの 2 種に大別されることが明らかになっている。

前者では、ferulenol (**II.9**, Fig. 6) をはじめとするファルネシル化 4-ヒドロキシクマリン類が多く含有され、家畜やヒトに対して ferulosis を引き起こすことが知られている。後者も、ferulenol を少量含有するが、主成分は lapiferin (**II.1**, Fig 5) や fertinin (**II.7**, Fig 5) などのアシル化されたダウカン型セスキテルペンである⁴¹⁾。この 2 種のケモタイプは分布域が異なることが報告されている。例えば、イタリアのサルデーニャ島では島の中央部に前者が分布し、島の沿岸部に後者が分布している⁴²⁾。また、モロッコ中央部では前者が、北部の首都近郊では後者が分布すると報告されている^{43,44)}。



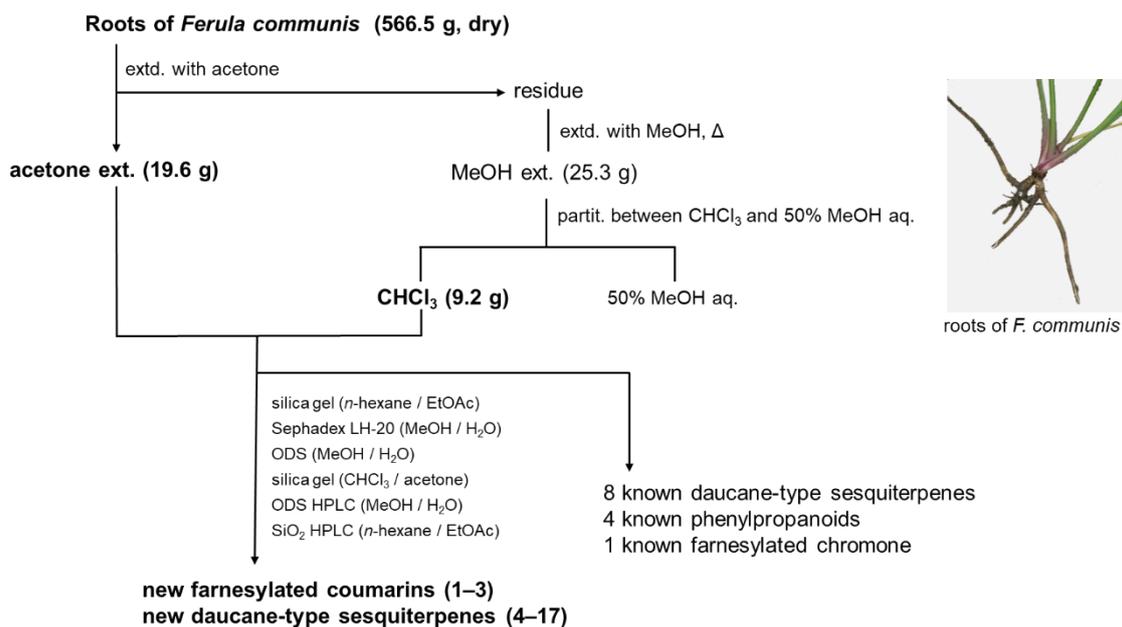
Ferula communis



Flowers of *F. communis*

第2節 抽出・分離

Ferula communis の根 (556 g, dry) をアセトンで抽出した後、残渣を MeOH で温浸抽出した。得られた MeOH 抽出エキスを CHCl_3 と 50 % MeOH aq. で分配した。この CHCl_3 可溶画分とアセトン抽出エキスを合わせて、各種クロマトグラフィーにより繰り返し分離、精製し、3 種の新規ファルネシル化クマリン **communiferulin A–C (1–3)**、14 種の新規ダウカン型セスキテルペン (**4–17**)、8 種の既知ダウカン型セスキテルペン、4 種の既知フェニルプロパノイド、1 種の既知ファルネシル化クロモンを単離した (Scheme 1)。



Scheme 1. Isolation scheme for new farnesylated coumarins (**1–3**), new daucane-type sesquiterpenes (**4–17**), and known compounds from the roots of *F. communis*.

第3節 構造解析

第1項 新規ファルネシル化クマリン communiferulin A–C の構造解析

1. Communiferulin A (1) および B (2) の構造解析

1.1. Communiferulin A (1) および B (2) の平面構造の帰属

Communiferulin A (1) は無色の非結晶性固体として得られ、HRESIMS の解析から分子式 $C_{24}H_{30}O_4$ を有することが明らかになった (m/z 405.2047 $[M+Na]^+$, $\Delta+0.5$ mmu)。Communiferulin A (1) の 1H NMR スペクトルでは、1,2-二置換ベンゼン (δ_H 7.67, 7.55, 7.37, 7.28)、2個の三置換オレフィン (δ_H 5.14, 5.07)、1個のオキシメチン (δ_H 4.97)、4個の *tert*-メチル (δ_H 1.63, 1.60, 1.56, 1.33) のシグナルが観測された (Fig. 10A)。 ^{13}C NMR スペクトルでは1個のカルボニル炭素と12個の芳香族あるいはオレフィン炭素を含む24本のシグナルが観測された (Table 1)。1のUVスペクトルでは289 nmと312 nmに吸収が観測され、共役系の存在が示唆された。以上の結果から、1はクマリンに C_{15} ユニットが結合した構造と推定された。

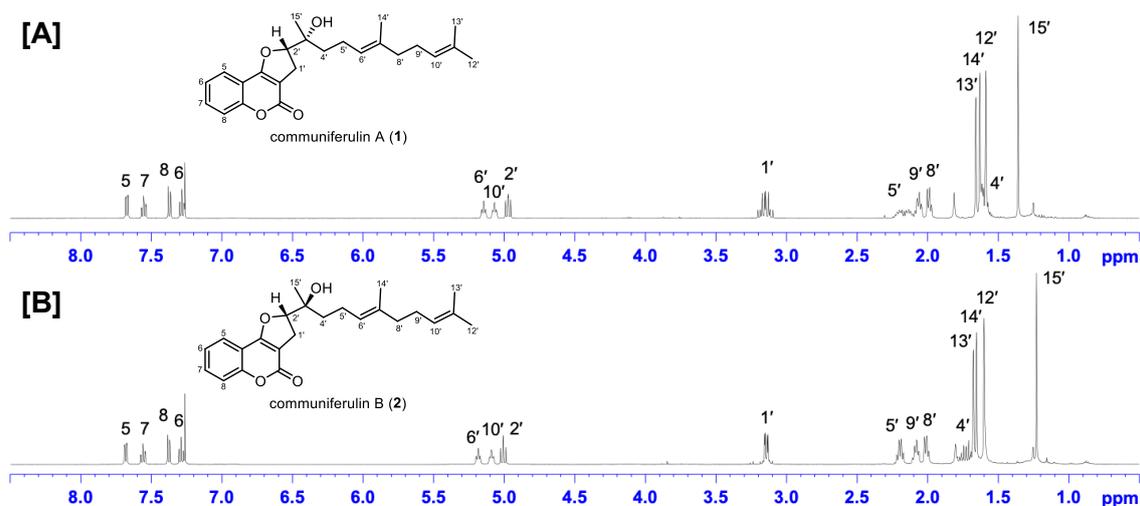


Figure 10. 1H NMR spectra of [A] communiferulin A (1) and [B] communiferulin B (2) (500 MHz, $CDCl_3$).

Communiferulin A (1) の C_{15} ユニットの構造は、各種 2D NMR スペクトルの解析から 2'位と 3'位に酸素官能基を有するファルネシル基であることが示唆された (Fig. 11)。さらに H_2 -1'/C-2、C-3、C-4 位間の HMBC 相関から C_{15} ユニットがクマリン骨格の C-3 位に結合することが判明した。また、 H -2'/C-4 間の HMBC 相関と 4 位炭素のケミカルシフト (δ_C 166.4) から C-2'/C-4 間にエーテル結合が存在し、ジヒドロフラン環を形成していることが明らかになった。以上の結果から 1 の平面構造を Fig. 11 に示す構造と帰属した。

Table 1. Experimental 1D NMR data and calculated ^{13}C NMR data for communiferulins A (**1**) and B (**2**).

position	exptl-1		exptl-2		calcd-1 (2'S*,3'R*)	calcd-2 (2'S*,3'S*)
	^{13}C	^1H (δ , J in Hz)	^{13}C (δ)	^1H (δ , J in Hz)	^{13}C	^{13}C
2	160.5	–	160.5	–	159.2	159.2
3	102.8	–	102.8	–	105.0	105.4
4	166.4	–	166.4	–	168.2	168.3
4a	112.4	–	112.4	–	114.6	114.6
5	122.5	7.67 (1H, dd, 7.8, 1.4)	122.6	7.68 (1H, dd, 7.8, 1.3)	125.3	125.4
6	123.9	7.28 (1H, brt, 7.8)	123.9	7.29 (1H, brt, 7.8)	123.8	123.8
7	132.3	7.55 (1H, brt, 7.8)	132.3	7.56 (1H, brt, 7.8)	134.1	133.8
8	117.0	7.37 (1H, d, 7.8)	117.0	7.38 (1H, d, 7.8)	117.8	117.7
8a	154.9	–	154.9	–	156.9	156.9
1'	27.6	3.12 (1H, dd, 15.3, 10.2) 3.18 (1H, dd, 15.3, 8.7)	27.8	3.14 (2H, dd, 9.6, 3.0)	30.3	29.9
2'	92.6	4.97 (1H, dd, 10.2, 8.7)	92.4	5.01 (1H, t, 9.6)	95.0	92.7
3'	73.7	–	73.8	–	74.3	74.1
4'	37.0	1.57 (2H, m)	38.4	1.74 (2H, m)	36.8	41.0
5'	21.8	2.11 (1H, m) 2.17 (1H, m)	22.1	2.19 (2H, m)	24.5	25.8
6'	123.6	5.14 (1H, brt, 6.7)	123.6	5.18 (1H, brt, 6.7)	125.5	128.8
7'	136.2	–	136.2	–	137.6	138.1
8'	39.6	1.97 (2H, m)	39.7	2.01 (2H, m)	42.1	41.7
9'	26.6	2.04 (2H, m)	26.6	2.09 (2H, m)	27.3	29.6
10'	124.1	5.07 (1H, brt, 6.8)	124.1	5.09 (1H, brt, 6.8)	127.6	126.2
11'	131.6	–	131.5	–	133.8	133.9
12'	25.6	1.63 (3H, s)	25.7	1.68 (3H, s)	25.9	26.1
13'	17.7	1.56 (3H, s)	17.7	1.60 (3H, s)	17.6	17.4
14'	16.0	1.60 (3H, s)	16.0	1.65 (3H, s)	15.5	16.3
15'	22.5	1.33 (3H, s)	21.4	1.23 (3H, s)	25.2	21.9
MAE vs exptl-1					1.68	1.84
DP4 vs exptl-1					96.8 %	3.2 %
MAE vs exptl-2					1.72	1.75
DP4 vs exptl-2					73.0 %	27.0 %

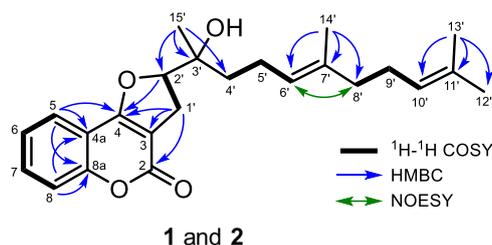


Figure 11. Selected 2D NMR correlations for **1** and **2**.

Communiferulin B (**2**) は、HRESIMS の解析から **1** と同一の分子式 $C_{24}H_{30}O_4$ を有することが明らかになった (m/z 405.2035 $[M+Na]^+$, Δ -0.7 mmu)。 **2** は **1** と類似する 1D NMR スペクトルを示したが (Fig. 10B, Table 1)、4'位と 15'位のケミカルシフト値に若干の違いが見られたことから、**2** は **1** のジアステレオマーであると推定された。2D NMR スペクトルの解析で両者が同一の平面構造をもつことが支持された。

1.2. Communiferulin A (**1**) および B (**2**) の相対立体配置の推定

Communiferulin A (**1**) および B (**2**) の NOESY スペクトルの解析を行なったが、相対立体配置の帰属に寄与する相関は得られなかった。そこで、**1** と **2** が取りうる 2 種のジアステレオマーの ^{13}C NMR ケミカルシフト値を DFT 法により計算し、**1** と **2** の実測値と比較した。しかしながら、MAE 値と DP4 probability⁴⁵⁾を用いた比較では、**1** と **2** のいずれもが ($2'S^*,3'R^*$) 配置であることを示唆する結果となり、相対立体配置の帰属が出来なかった (Table 1)。

そこで $MAE_{\Delta\Delta\delta}$ 値⁴⁶⁾を用いて **1** と **2** の相対立体配置を検討した。 $MAE_{\Delta\Delta\delta}$ 値による比較では、**1** と ($2'S^*,3'R^*$) 配置の計算値、**2** と ($2'S^*,3'S^*$) 配置の計算値を組み合わせた場合に最も実測値と計算値の誤差が小さくなった (Table 2)。したがって、Communiferulin A (**1**) および B (**2**) の相対立体配置をそれぞれ ($2'S^*,3'R^*$) および ($2'S^*,3'S^*$) であると結論した。

Table 2. ^{13}C NMR $MAE_{\Delta\Delta\delta}$ values for two experimental/calculated data sets of **1** and **2**.

	exptl 1-2 vs calcd 1-2	exptl 1-2 vs calcd 2-1
$MAE_{\Delta\Delta\delta}$	0.746	1.004

(補足 1)

DP4 probability⁴⁵⁾

Goodman らによって開発された 1D NMR ケミカルシフト値の実測値と計算値の比較方法の 1 種である。

相対立体配置が未帰属の化合物のケミカルシフト値の実測値と、取りうる立体異性体のケミカルシフト値の計算値の差 ($\delta\Delta$) を分子全体で比較して、どの立体がもっともらしいかを評価する。計算方法を以下に示す。

①計算値の補正

系統誤差 (NMR ケミカルシフト算出の際に生じる一定の方向性を持つ誤差) を取り除くために、計算値 (δ_{calcd}) を補正した値 $\{\delta_{\text{scaled}} = (\delta_{\text{calcd}} - \text{Intercept}) / \text{Slope}\}$ を求める。

Intercept (切片) および *Slope* (傾き) は計算値と実測値を xy 平面にプロットし、最小二乗法を用いて得られた一次関数から求めることができる。

②誤差と期待値の算出

実測値と補正值の絶対誤差 $|\delta\Delta|$ を原子ごとに求め、計算値が標準偏差と比較してずれた割合を、*T* 分布関数を用いて期待値 P_i に変換する。

$$P_i = \left[1 - T^v \left(\frac{|\delta\Delta|}{\sigma} \right) \right] \quad (T: \text{自由度 } v \text{ の } T \text{ 分布}, \sigma: \text{標準偏差})$$

③DP4 probability 値の算出

②で求めた原子ごとの期待値をベイズの定理に基づいて掛け合わせ、分子全体の期待値を求め、異性体間での期待値の比を百分率で求める。この値が DP4 probability 値である。

(補足 2)

MAE $_{\Delta\delta}$ 値⁴⁶⁾

NMR スペクトルの実測値と計算値を比較する際、MAE や RMS、DP4 probability を用いた比較が多用される。これらはいずれも、1 種の実測値に対して複数の計算値を比較する手法である。一方、複数のエピマーの実測値と計算値を比較する際など、複数の実測値と計算値を比較検討する際には、それらの適用が困難となる場合がある。

そこで Bifulco らは、複数の実測値と複数の計算値を比較する手法として、MAE $_{\Delta\delta}$ 値を報告した。MAE $_{\Delta\delta}$ 値は ^{13}C NMR ケミカルシフトの実測値と計算値の組み合わせのうち、どの組み合わせがもっともらしいかを求める手法である。例として、比較する実測値が 3 個の場合の計算方法を以下に示す。

実測値 (I, II, III) と計算値 (A, B, C) を比較する場合、実測値と計算値の組み合わせパターンは $3! = 6$ パターン (a~f) 存在する。①~③の計算を全てのパターンについて行い、MAE $_{\Delta\delta}$ を算出する。

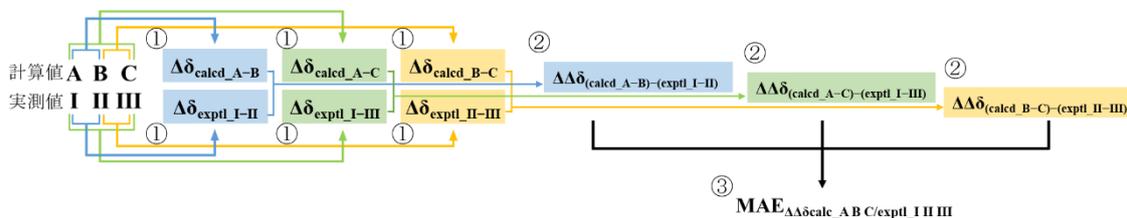
①各炭素の実測値同士の差 ($\Delta\delta_{\text{exptl}}$) および計算値同士の差 ($\Delta\delta_{\text{calcd}}$) を求める

得られる $\Delta\delta$ は、実測値と計算値についてそれぞれ $\sum_{k=1}^3(k-1) = 3$ 個ずつである

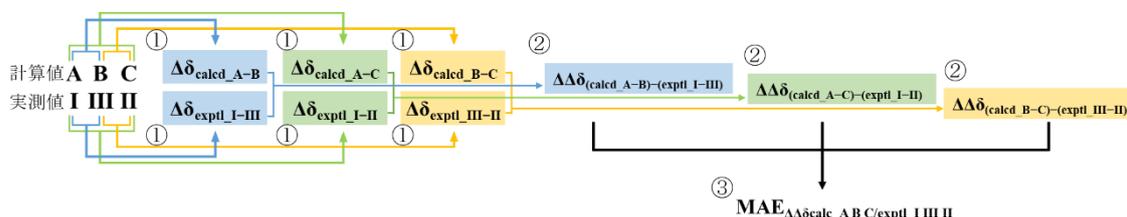
②同じペアについて、 $\Delta\delta_{\text{calcd}}$ から $\Delta\delta_{\text{exptl}}$ を引き $\Delta\Delta\delta$ を求める

③ $\Delta\Delta\delta$ の絶対値の平均 (MAE $_{\Delta\Delta\delta}$) を求める

a) 実測値と計算値のペアが (I, A)、(II, B)、(III, C) のパターン



b) 実測値と計算値のペアが (I, A)、(III, B)、(II, C) のパターン



c) 実測値と計算値のペアが (II, A)、(I, B)、(III, C) のパターン

d) 実測値と計算値のペアが (II, A)、(III, B)、(I, C) のパターン

e) 実測値と計算値のペアが (III, A)、(I, B)、(II, C) のパターン

f) 実測値と計算値のペアが (III, A)、(II, B)、(I, C) のパターン

同様に①~③の計算を行う

a)~f) のパターンのうち MAE $_{\Delta\Delta\delta}$ 値が最も小さいパターンの実測値と計算値のペアが、最適な組み合わせとなる。

1.3. Communiferulin A (1) および B (2) の光学分割と絶対立体配置の推定

Communiferulin A (1) および B (2) は旋光度を示さなかったため、いずれもラセミ体であることが示唆された。そこで両化合物をキラルカラムで光学分割し、得られた各エナンチオマーの ECD スペクトルを測定した。一方、各エナンチオマーの構造を簡素化したモデル化合物 (1a and 2a, Fig. 12) についてそれらの ECD スペクトルを計算した。すなわち、(2'S,3'R)-1a と (2'R,3'S)-1a の初期配座について MMFF 法で配座探索を行い、Boltzmann 分布が 1% 以上の配座を安定配座とした。この安定配座を DFT 法で最適化し、Boltzmann 分布が 1% 以上となる安定配座について TDDFT 法を用いて旋光強度を計算し、ECD スペクトルに変換した。それらを Boltzmann 分布に基づき加重平均し、(2'S,3'R)-1a、(2'R,3'S)-1a の計算値とした。(+) -1、(-) -1 の実測値は、それぞれ (2'S,3'R)-1a、(2'R,3'S)-1a の計算値とよく対応していたことから、(+) -1 の絶対立体配置を 2'S,3'R、(-) -1 の絶対立体配置を 2'R,3'S と推定した。同様に、(+) -2 の絶対立体配置を 2'S,3'S、(-) -2 の絶対立体配置を 2'R,3'R と推定した (Fig. 12)。

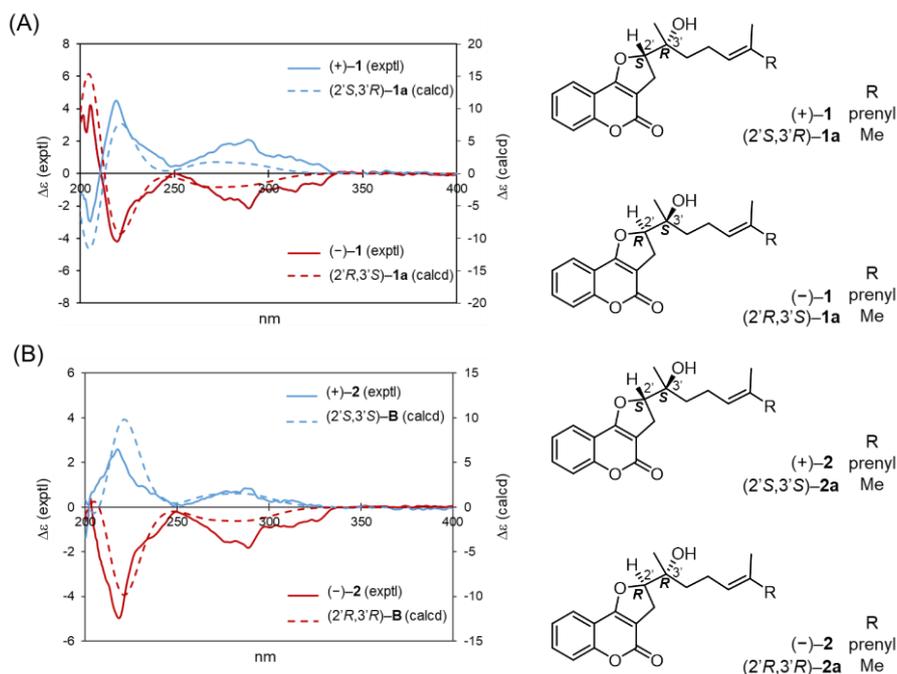


Figure 12. Experimental and calculated ECD spectra for enantiomers of (A) 1 and (B) 2 (calculated ECD spectra were red-shifted by 10 nm).

2. Communiferulin C (3) の構造解析

Communiferulin C (3) は無色非結晶性固体として得られ、その分子式は、HRESIMS の解析から $C_{24}H_{30}O_5$ と帰属した (m/z 421.2000 $[M+Na]^+$, $\Delta+0.9$ mmu)。3 の 1D NMR スペクトルは 1 のものとよく類似していたが、1 で見られたオレフィン由来のシグナル (δ_H 5.14, δ_C 136.2, 123.6) が消失し、新たにオキシメチン (δ_H 3.93, δ_C 85.0) と酸素官能基が結合した三級炭素 (δ_C 73.0) のシグナルが観測された (Fig. 13, Table 3)。上記の結果から、3 をファルネシル化クマリンと推定した。H-2'/C-4 間の HMBC 相関 (Fig. 14) から C-2'/C-4 間のエーテル結合を介したジヒドロフラン環の存在が明らかになった。また、酸素官能基が結合する炭素 (C-3', C-6', and C-7') のうち、7'位炭素にのみ重水素置換シフト⁴⁷⁾が観測された ($\Delta\delta_C+0.11$ ppm) ことから、7'位ヒドロキシ基の存在が明らかになった。上記の結果と 3 の分子式から、C-3'/C-6'間のエーテル結合を介したテトラヒドロフラン環の存在を推定した。以上の結果から、3 の平面構造を Fig. 14 に示す構造と帰属した。

NOESY スペクトルにおいて、 H_3 -15'/H-6'間の相関が観測され、15'位メチル基と 6'位プロトンがテトラヒドロフラン環の同一方向に配置することが明らかになったが、2'位炭素と 7'位炭素の相対立体配置を帰属しうる相関は得られなかった。そこで可能性がある 4 種のジアステレオマー (3a: 2'R*,3'R*,6'S*,7'R*; 3b: 2'R*,3'R*,6'S*,7'S*; 3c: 2'S*,3'R*,6'S*,7'R*; 3d: 2'S*,3'R*,6'S*,7'S*) の NMR スペクトルを DFT 法により算出し (Table 3)、DP4 probability を用いて実測値と比較した。

その結果、3c の計算値が ^{13}C NMR スペクトルの比較では 91%、 1H NMR スペクトルの比較では 100%、 1H と ^{13}C NMR スペクトルの両方を考慮した比較では 100% の値で支持された (Table 3)。以上の結果から、Communiferulin C (3) の相対立体配置を 2'S*,3'R*,6'S*,7'R* と推定した。

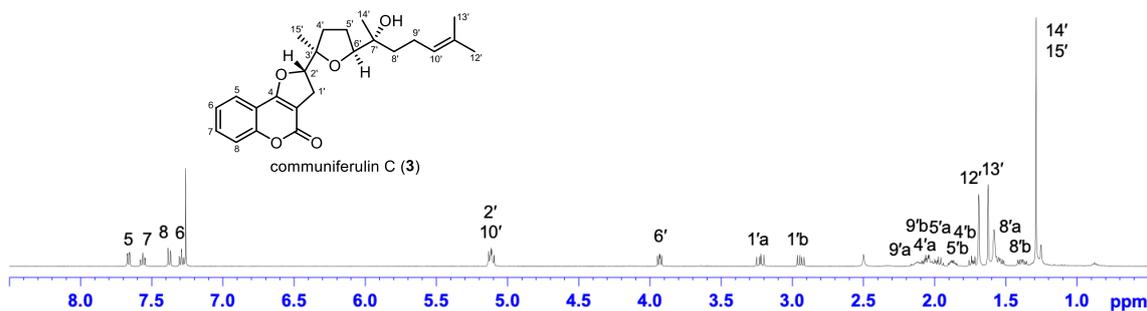


Figure 13. 1H NMR spectrum of communiferulin C (3) (500MHz, $CDCl_3$).

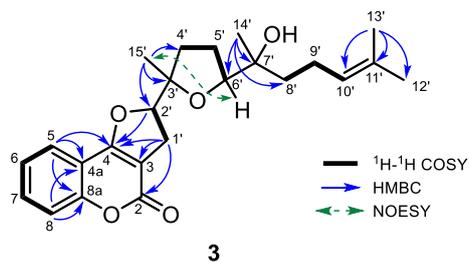


Figure 14. Selected 2D NMR correlations of **3**.

Communiferulin C (**3**) は旋光性を示さなかったことからラセミ体であることが示唆された。キラルカラムを用いて HPLC 分析を行った結果、**3** はラセミ体であることが明らかになったが、単離量が少なかったため、各エナンチオマーの分取は実施していない。そのため、各エナンチオマーの絶対立体配置は未帰属である。

Table 3. Experimental and calculated 1D NMR data for **3** and possible stereoisomers (**3a–3d**) of **3**.

position	exptl- 3		calcd- 3a		calcd- 3b		calcd- 3c		calcd- 3d	
	¹³ C (δ)	¹ H (δ, <i>J</i> in Hz)	¹³ C	¹ H						
2	160.5	–	160.2		160.1		159.5		162.1	
3	102.2	–	104.5		103.6		103.6		105.4	
4	166.7	–	166.8		167.6		166.5		167.7	
4a	112.2	–	114.2		114.6		113.2		114.1	
5	122.8	7.66 (1H, dd, 7.8, 1.4)	124.0	7.57	125.3	7.72	126.3	8.22	125.3	7.84
6	124.2	7.29 (1H, t, 7.8)	121.9	7.23	122.1	7.24	122.8	7.26	122.4	7.27
7	132.5	7.56 (1H, dd, 8.3, 1.5)	131.6	7.59	131.5	7.56	132.1	7.57	131.8	7.59
8	116.9	7.38 (1H, d, 8.3)	118.0	7.33	117.3	7.28	117.1	7.28	117.6	7.32
8a	155.0	–	156.6		155.8		156.3		155.9	
1'	29.1	2.94 (1H, dd, 15.4, 8.4)	29.9	2.97	29.8	3.05	30.7	2.77	29.3	3.02
		3.22 (1H, dd, 15.4, 10.5)		3.49		3.52		3.19		3.78
2'	91.3	5.11 (1H, overlapped)	93.9	4.84	93.1	4.81	93.1	4.91	94.0	4.93
3'	84.2	–	83.2		84.5		85.6		86.1	
4'	32.4	1.73 (1H, m)	38.2	2.03	36.8	1.88	33.2	1.75	34.8	1.79
		2.06 (1H, m)		2.50		2.49		2.13		2.05
5'	26.0	1.87 (1H, m)	29.6	1.72	28.9	1.63	28.8	1.64	26.8	1.79
		1.97 (1H, m)		2.17		2.58		2.09		2.71
6'	85.0	3.93 (1H, dd, 8.6, 6.4)	89.6	4.32	87.0	3.95	87.7	4.20	86.6	4.29
7'	73.0	–	74.2		72.8		73.5		73.4	
8'	37.8	1.39 (1H, ddd, 13.5, 11.8, 5.5)	35.1	1.16	39.4	1.37	38.1	1.50	39.6	1.50
		1.55 (1H, ddd, 13.5, 12.0, 5.0)		1.18		1.90		1.51		1.67
9'	22.2	2.04 (1H, m)	21.4	1.08	23.5	1.99	22.8	2.05	24.3	2.01
		2.13 (1H, m)		2.50		2.25		2.49		2.21
10'	124.4	5.11 (1H, overlapped)	123.9	4.58	126.2	5.48	126.4	5.66	126.8	5.62
11'	131.8	–	135.3		134.4		133.0		133.2	
12'	25.7	1.69 (3H, s)	25.4	1.82	25.4	1.88	25.6	1.74	25.6	1.52
13'	17.6	1.62 (3H, s)	16.9	1.49	17.6	1.56	17.9	1.66	17.9	1.43
14'	24.5	1.29 (3H, s)	21.1	0.78	23.5	0.78	24.4	1.25	24.9	0.94
15'	22.9	1.29 (3H, s)	25.0	1.23	24.6	1.18	24.5	1.24	24.0	1.29
DP4 (¹³ C)			0 %		3 %		91 %		6 %	
DP4 (¹ H)			0 %		0 %		100 %		0 %	
DP4 (all)			0 %		0 %		100 %		0 %	

第2項 新規ダウカン型セスキテルペンの構造解析

1. 化合物4の構造解析

化合物4は無色非結晶性固体として得られ、比旋光度 $[\alpha]_D^{24} +79.2$ (c 0.10, CHCl_3) を示した。HRESIMSの解析より、化合物4の分子式を $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_8$ と帰属した (m/z 485.2156 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $\Delta +0.5$ mmu)。 ^1H NMRスペクトルでは、1個の1,4-二置換ベンゼン、2個のオキシメチン、1個のメトキシ基、1個のアセチル基、2個の *tert*-メチル、2個の *sec*-メチルに帰属されるシグナルが観測された (Fig. 15, Table 4)。 ^{13}C NMRスペクトルでは、ケトンカルボニル1個と、エステルカルボニル2個、酸素官能基が結合した sp^3 炭素4個を含む25個のシグナルが観測されたことから (Table 5)、化合物4をアセチル基、及び *p*-メトキシベンゾイルオキシ基を有するダウカン型セスキテルペンと推定した (Fig. 15)。

^1H - ^1H COSY 及び HMBC スペクトルでは、Fig. 16 に示す相関が観測され、それらの解析により化合物4は2位にアセトキシ基、6位に *p*-メトキシベンゾイルオキシ基、10位にケトン基、4位と8位に水酸基を有するダウカン型セスキテルペンであることが明らかとなった (Fig. 16)。

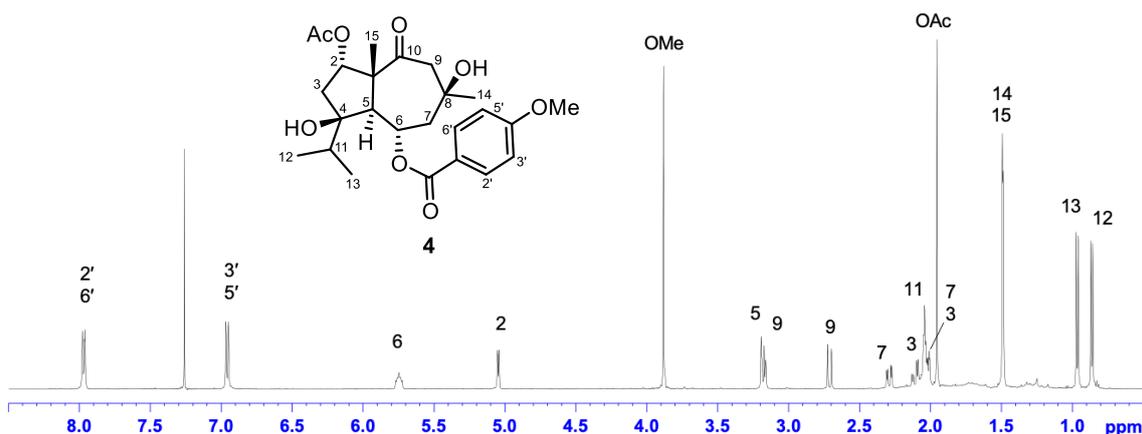


Figure 15. ^1H NMR spectrum of compound 4 (500 MHz, CDCl_3).

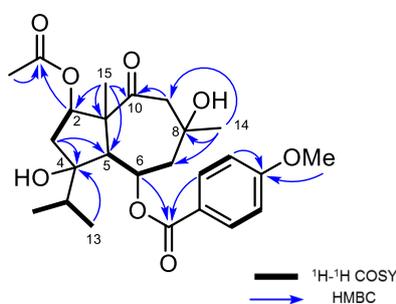


Figure 16. Selected 2D NMR correlations for 4.

化合物 **4** の相対立体配置を、NOESY スペクトルによる解析により帰属した。すなわち H₃-15/H-2、H-3 β 、H-6 間、H-5/H₃-13、H-7 α 、H-9 α 間、及び H₃-14/H-7 α 、H-7 β 間の NOESY 相関から 2 位アセトキシ基、4 位イソプロピル基、6 位 *p*-メトキシベンズイルオキシ基、8 位メチル基が α 配置であると結論した (Fig. 17A)。

以上の結果から、化合物 **4** の相対立体配置を Fig. 17B に示す構造と帰属した。

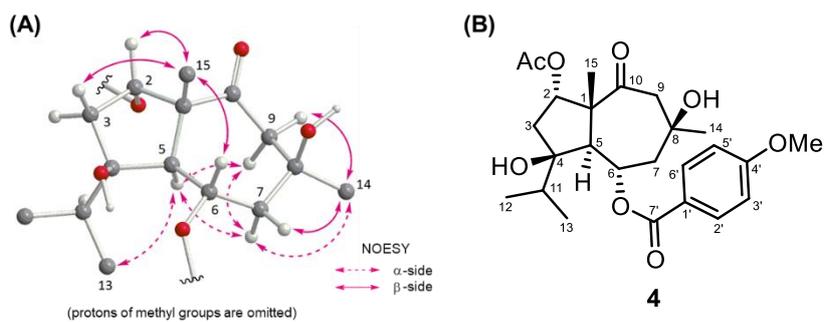


Figure 17. (A) Selected NOESY correlations and (B) relative configuration for **4**.

Table 4. ^1H NMR data (δ , J in Hz) for compounds **4–7** in CDCl_3 .

position	4	5	6	7
2	5.05 (1H, d, 5.3)	5.16 (1H, d, 5.1)	4.96 (1H, d, 5.6)	4.98 (1H, d, 5.7)
3	2.03 (1H, m)	2.01 (1H, d, 16.4)	2.09 (1H, d, 16.5)	1.94 (1H, d, 16.2)
	2.11 (1H, dd, 16.4, 5.3)	2.09 (1H, dd, 16.4, 5.1)	2.19 (1H, dd, 16.5, 5.6)	2.07 (1H, dd, 16.2, 5.7)
5	3.18 (1H, d, 10.4)	3.12 (1H, d, 9.6)	3.47 (1H, d, 10.8)	3.27 (1H, d, 10.5)
6	5.75 (1H, m)	5.87 (1H, m)	5.72 (1H, ddd, 10.8, 4.3, 1.8)	5.88 (1H, m)
7	2.01 (1H, m)	2.45 (1H, dt, 15.7, 2.0)	1.48 (1H, dd, 15.8, 4.3)	2.13 (1H, dd, 16.1, 1.5)
	2.29 (1H, dd, 14.4, 4.2)	2.88 (1H, dd, 15.7, 3.8)	2.53 (1H, brd, 15.8)	2.39 (1H, dd, 16.1, 5.5)
9	2.71 (1H, d, 13.9)	6.00 (1H, brs)	3.30 (1H, s)	5.57 (1H, m)
	3.17 (1H, d, 13.9)			
10	–	–	–	5.57 (1H, m)
11	2.04 (1H, m)	1.59 (1H, m)	1.66 (1H, m)	1.58 (1H, m)
12	0.86 (3H, d, 6.8)	0.83 (3H, d, 6.6)	0.85 (3H, d, 6.7)	0.83 (3H, d, 6.7)
13	0.96 (3H, d, 6.8)	0.84 (3H, d, 6.6)	0.93 (3H, d, 6.7)	0.89 (3H, d, 6.7)
14	1.49 (3H, s)	2.04 (3H, brs)	1.71 (3H, s)	1.36 (3H, s)
15	1.49 (3H, s)	1.37 (3H, s)	1.39 (3H, s)	1.27 (3H, s)
2',6'	7.96 (2H, d, 8.9)	7.99 (2H, d, 9.0)	7.99 (2H, d, 8.9)	7.99 (2H, d, 8.9)
3',5'	6.96 (2H, d, 8.9)	6.95 (2H, d, 9.0)	6.98 (2H, d, 8.9)	6.94 (2H, d, 8.9)
4'-OMe	3.88 (3H, s)	3.88 (3H, s)	3.90 (3H, s)	3.87 (3H, s)
Ac	1.95 (3H, s)	1.94 (3H, s)	2.03 (3H, s)	2.03 (3H, s)

Table 5. ^{13}C NMR data (δ) for compounds **4–17** in CDCl_3 .

position	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	59.4	59.1	60.0	50.1	45.8	45.7	48.5	49.3	49.5	49.2	50.7	46.8	59.7	60.7
2	83.1	81.9	82.1	81.9	82.6	82.2	73.1	73.0	74.3	81.4	81.2	36.3	220.4	222.1
3	39.7	39.1	40.5	39.2	39.8	39.7	38.2	38.2	36.0	40.1	42.8	30.9	37.8	38.7
4	85.0	83.8	83.2	85.1	85.6	85.6	81.2	81.1	81.8	84.5	85.3	86.0	48.4	40.1
5	48.8	48.3	48.1	50.0	51.7	51.8	49.3	48.7	47.4	49.3	47.1	51.2	93.8	94.2
6	70.1	70.1	69.8	71.2	72.1	71.8	70.3	70.4	70.8	70.2	70.8	71.0	35.4	37.7
7	47.9	37.6	40.0	44.8	125.9	138.0	40.4	40.4	40.1	39.5	39.4	40.5	29.8	30.1
8	70.4	149.1	57.3	71.1	139.2	135.8	138.7	138.7	136.8	136.2 ^a	136.6	137.4	147.6	147.3
9	56.8	129.1	61.9	134.2	69.2	201.0	123.7	123.6	125.9	125.4	127.1	124.3	118.9	119.0
10	212.0	206.9	208.3	136.8	43.9	52.6	70.9	71.1	69.0	73.0 ^a	73.9	74.6	76.2	76.9
11	36.8	36.2	36.4	36.4	36.7	36.6	37.0	37.0	37.2	36.9	37.2	37.3	42.5	47.5
12	17.3	17.4	17.4	17.5	17.5	17.5	17.3	17.2	17.2	17.6	17.8	17.4	111.0	107.2
13	18.4	18.3	18.2	18.3	18.2	18.1	18.3	18.2	18.4	18.2	18.4	18.4	18.3	10.1
14	33.0	27.6	22.4	33.8	23.5	21.6	27.4	27.4	27.6	26.3 ^a	26.7	27.4	26.2	26.1
15	17.6	16.1	16.9	19.4	18.2	19.0	13.4	13.4	14.5	21.0	20.4	20.5	13.0	18.9
12-OMe													56.3	56.0
1'	122.1	122.2	121.7	122.4	122.4	121.8	122.5	122.5	122.6	122.4	122.5	122.7	122.6	122.6
2',6'	131.7	131.7	131.8	131.8	131.9	132.0	131.7	131.7	131.7	131.8	131.7	131.7	131.3	131.3
3',5'	114.0	114.0	114.1	113.9	113.8	114.0	113.8	113.8	113.8	113.9	113.8	113.8	113.7	113.8
4'	163.8	163.9	164.1	163.8	163.8	164.0	163.7	163.6	163.7	163.8	163.7	163.6	163.3	163.3
7'	166.1	166.4	166.6	166.7	166.6	166.2	166.1	166.1	166.3	166.6	166.7	166.3	164.9	164.8
4'-OMe	55.5	55.5	55.6	55.5	55.5	55.5	55.5	55.5	55.5	55.5	55.5	55.5	55.4	55.4
1''							167.8	168.1	168.6	166.4 ^a		167.4		
2''							127.4	128.6	127.5	127.8		128.9		
3''							139.6	138.0	139.2	139.6		137.2		
4''							15.9	14.5	16.0	15.8		14.4		
5''							21.0	12.3	20.6	20.9		12.3		
Ac	169.5	169.6	169.2	170.7	170.4	170.0					170.4			
	21.0	21.1	21.1	21.3	21.2	21.1					21.0			

^a Detected by HMBC analysis.

2. 化合物 5、6、および 7 の構造解析

HRESIMS の解析により、化合物 **5** の分子式は $C_{25}H_{32}O_7$ と判明した (m/z 467.2020 $[M+Na]^+$, Δ -2.6 mmu)。一方、化合物 **6** の分子式は **5** より酸素原子が 1 個多い $C_{25}H_{32}O_8$ 、化合物 **7** の分子式は **5** より水素原子が 2 個多い $C_{25}H_{34}O_7$ と判明した (m/z 459.2028 $[M-H]^-$, Δ +0.9 mmu for **6**; m/z 469.2208 $[M+Na]^+$, Δ +0.6 mmu for **7**)。化合物 **5-7** の 1H NMR スペクトルは **4** のスペクトルと類似していたが、いずれの化合物でも 9 位炭素の近傍の 1H のケミカルシフト値に違いが見られた。化合物 **5-7** の 1H NMR データと分子式を考慮し、化合物 **5** は **4** の 8 位水酸基が脱水され、8(9) 位に二重結合を有する構造、化合物 **6** は 8 位と 9 位の間にエポキシ基を有する構造、化合物 **7** は **4** の 10 位ケトンが還元され、9(10) 位に二重結合をもつ構造と推定した (Fig. 18, Table 4)。

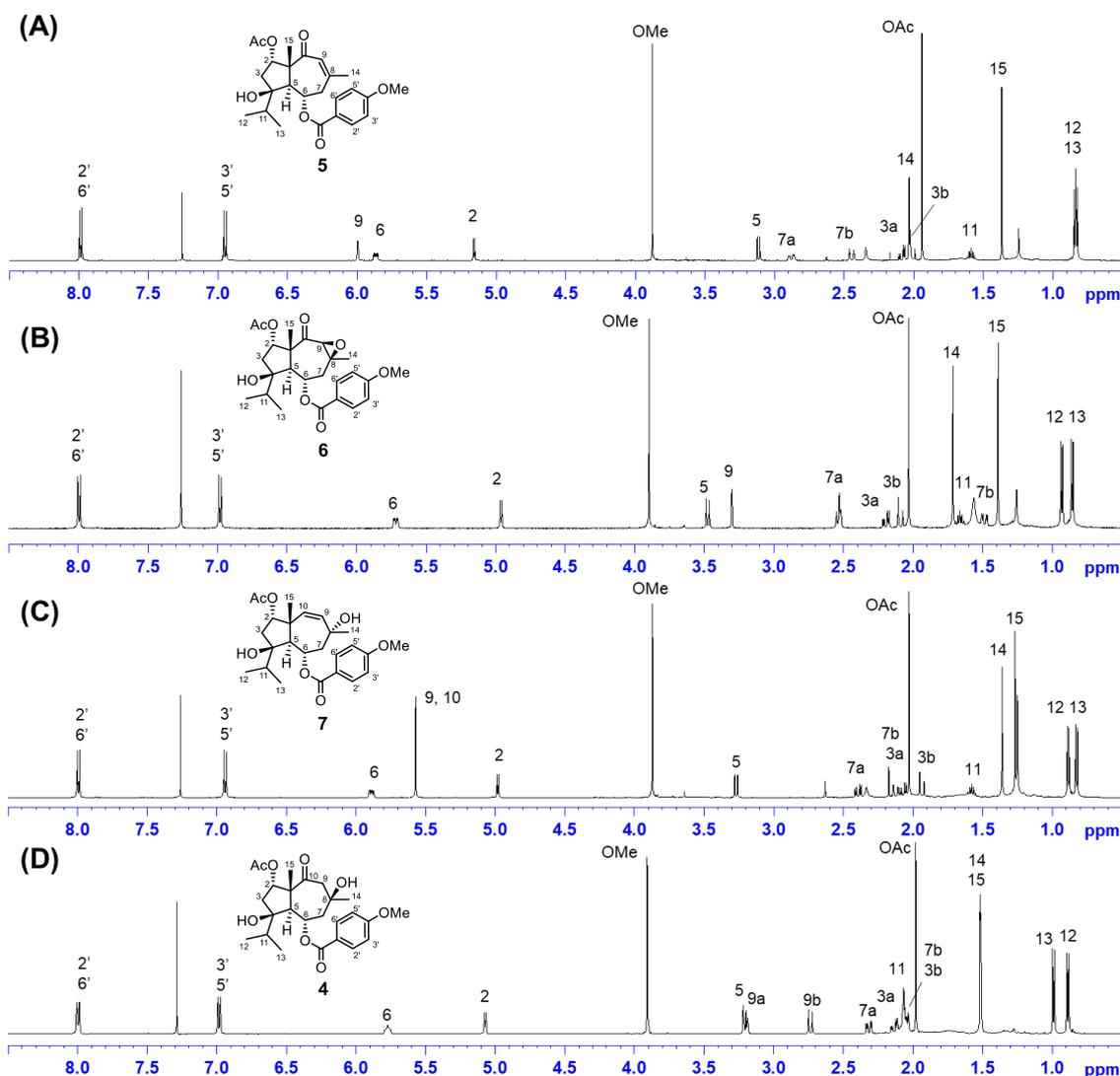


Figure 18. 1H NMR spectra of (A) compound **5**, (B) compound **6**, (C) compound **7**, and (D) compound **4** (500 MHz, $CDCl_3$).

推定した化合物 **5-7** の平面構造を、2D NMR スペクトルの解析により確認した。すなわち、 ^1H - ^1H COSY 及び HMBC スペクトルにおいて、化合物 **5** では H_3 -15 とケトン炭素 (C-10) 間、 H_3 -14 とオレフィン炭素 (C-8 and C-9) 間に HMBC 相関が観測され、化合物 **6** では H_3 -15 とケトン炭素 (C-10) 間、 H_3 -14 とエポキシ基 (C-8 and C-9) 間に HMBC 相関が観測された。化合物 **7** では H_3 -15 とオレフィン炭素 (C-10) 間、 H_3 -14 と酸素官能基が結合した炭素 (C-8)、オレフィン炭素 (C-9) 間に HMBC 相関が観測された。これらの相関から、前述の化合物 **5-7** の推定構造が支持された (Fig. 19)。NOESY 相関の解析から化合物 **5-7** の 2 位、4 位、5 位、6 位、15 位炭素の相対立体配置は化合物 **4** と同一であることが明らかになった。化合物 **6** において H_3 -14/ H -9/ H -5 位間に NOESY 相関が観測されたことから、8、9 位間のエポキシ基は β 配置であると帰属した (Fig. 20A)。

化合物 **7** の 8 位炭素の相対立体配置は NOESY 相関では帰属できなかった。そこで ^{13}C NMR ケミカルシフト値の実測値と計算値を比較した。すなわち、**7** の 8 位炭素のエピマー **7a** ($8\alpha\text{-OH}$) および **7b** ($8\beta\text{-OH}$) について Spartan ソフトウェアを用いて DFT 法により ^{13}C NMR ケミカルシフト値を求め、DP4 probability 法を用いて実測値と比較した。その結果、99.7%の確率で **7a** の立体配置が支持された (Table 6)。

以上の結果から化合物 **5-7** の相対立体配置を Fig. 20B に示す配置と帰属した。

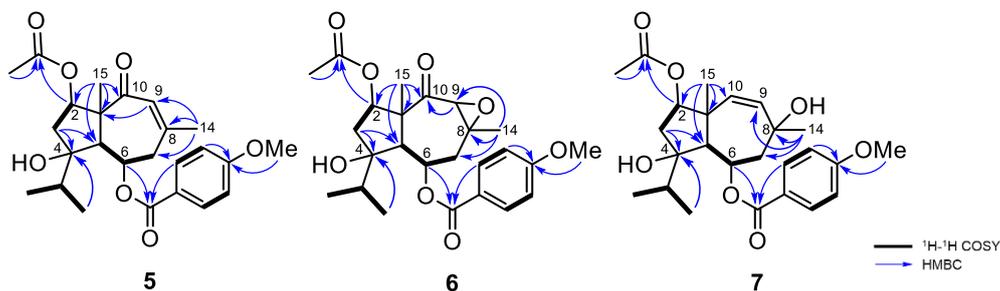


Figure 19. Selected 2D NMR correlations for **5-7**.

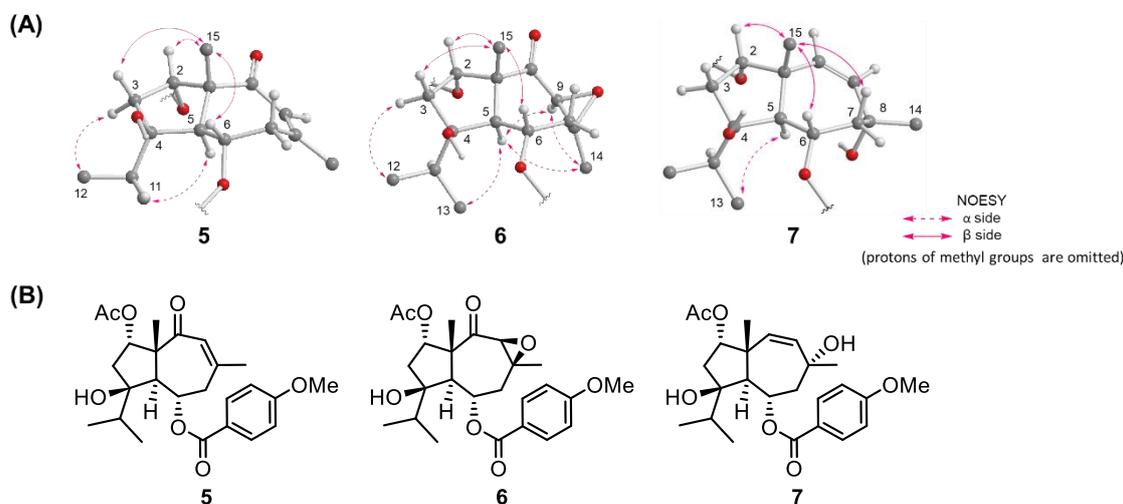


Figure 20. (A) Selected NOESY correlations and (B) relative configurations for **5-7**.

Table 6. Calculated ¹³C NMR data for possible epimers (**7a** and **7b**) of **7**.

position	calcd- 7a	calcd- 7b	exptl- 7
1	52.4	52.5	50.1
2	81.8	81.4	81.9
3	39.8	39.7	39.2
4	84.4	84.3	85.1
5	51.0	50.6	50.0
6	72.1	71.1	71.2
7	45.3	47.3	44.8
8	71.4	72.7	71.1
9	134.9	137.9	134.2
10	139.7	135.1	136.8
11	36.3	36.2	36.4
12	17.6	17.8	17.5
13	17.9	17.6	18.3
14	33.5	28.6	33.8
15	19.3	20.7	19.4
1'	122.2	121.9	122.4
2',6'	133.9	133.8	131.8
3',5'	113.0	113.0	113.9
4'	162.2	162.3	163.8
7'	170.8	170.7	166.7
4'-OMe	54.2	54.2	55.5
Ac	171.3	171.3	170.7
	21.0	20.9	21.3
MAE	1.00	1.45	
DP4	99.7 %	0.3 %	

3. 化合物 **8** および **9** の構造解析

化合物 **8** と **9** は、それぞれ比旋光度 $[\alpha]^{20}_D +55.2$ (c 0.10, CHCl_3)、および $[\alpha]^{20}_D +103.2$ (c 0.10, CHCl_3) を示す無色非結晶性固体として得られた。HRESIMS の解析により、**8** の分子式を $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_7$ (m/z 469.2173 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Δ -2.9 mmu)、**9** の分子式を **8** より水素原子が2個少ない $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_7$ と帰属した (m/z 467.2033 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Δ -1.3 mmu)。化合物 **8** の ^1H NMR スペクトルでは、1個の *p*-メキシベンゾイルオキシ基、1個の三置換オレフィン、3個のオキシメチン、1個のアセチル基、2個の *tert*-メチル、2個の *sec*-メチルに帰属されるシグナルが観測された (Fig. 21A, Table 7)。 ^{13}C NMR スペクトルでは、エステルカルボニル2個、酸素官能基が結合した sp^3 炭素4個を含む合計25個の炭素に帰属されるシグナルが観測された (Table 5)。

一方、化合物 **9** の ^1H NMR スペクトルでは、**8** で観測された H_2 -10 と H -9 に帰属されるシグナルが消失し、1個の孤立メチレンのシグナル (δ_{H} 2.88, 2.55) が観測され (Fig. 21B, Table 7)、 H -7 のシグナルが **8** のものと比較して低磁場シフトしていた。 ^{13}C NMR スペクトルでは、**8** で観測されたオキシメチン炭素のシグナル (C-9) が消滅し、代わりにケトンカルボニル炭素のシグナルが観測された (Table 5)。

化合物 **8** と **9** の平面構造を ^1H - ^1H COSY 及び HMBC スペクトルの解析により確認した。すなわち、Fig. 22 に示す相関から、化合物 **8** は C-2、C-4、C-6、C-9 に酸素官能基、C-7(8) に二重結合を有するダウカン型セスキテルペンであることが示唆された。さらに、 H -2/C-1”、

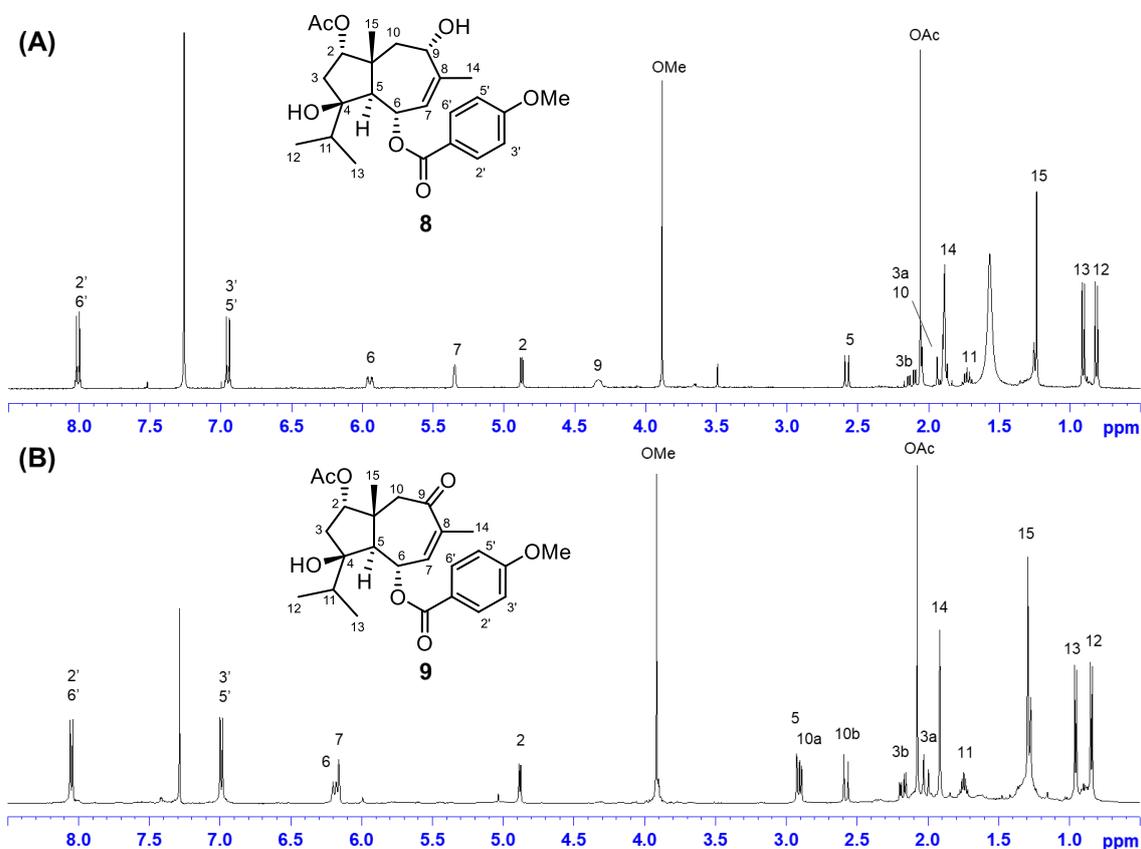


Figure 21. ^1H NMR spectra of (A) compound **8** and (B) compound **9** (400 MHz, CDCl_3).

H-6/C-7間の HMBC 相関から、化合物 **8** は 2 位にアセトキシ基、6 位に *p*-メトキシベンズイルオキシ基を有することが明らかとなった。一方、化合物 **9** の HMBC スペクトルでは、H₂-10/C-9 (δ_c 201.0)、H₃-14/C-9 間に相関が観測されたことから、化合物 **9** は 9 位がケトン基となった構造であることが明らかとなった (Fig. 22)。

化合物 **8** および **9** の相対立体配置を、NOESY スペクトルの解析から明らかにした。化合物 **8** では、H₃-15/H-2、H-3 β 、H-6、H-9 間と、H-5/H₃-13 間に NOESY 相関が観測された (Fig. 23A) ことから、相対立体配置を Fig. 23B に示す配置に帰属した。化合物 **9** の NOESY スペクトルでも化合物 **8** と同様の相関が観測されたため、化合物 **9** も **8** と同様の相対立体配置と帰属した (Fig. 23B)。

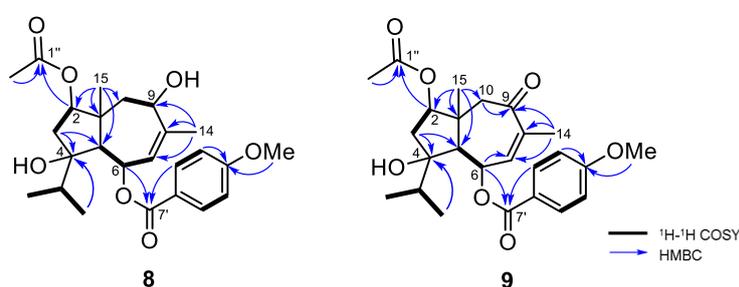


Figure 22. Selected 2D NMR correlations for **8** and **9**.

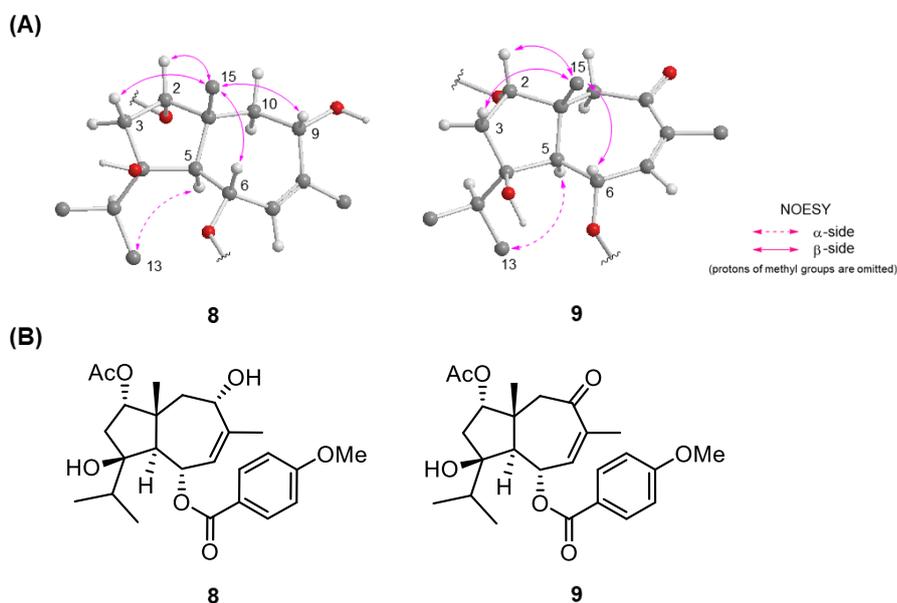


Figure 23. (A) Selected NOESY correlations and (B) relative configurations for **8** and **9**.

Table 7. ^1H NMR data (δ , J in Hz) for compounds **8–12** and **19** in CDCl_3 .

position	8	9	10	11	12	19
2	4.87 (1H, d, 6.0)	4.86 (1H, d, 6.0)	3.60 (1H, brt, 10.6)	3.58 (1H, brt, 8.5)	5.08 (1H, dd, 10.5, 8.7)	5.02 (1H, d, 5.0)
3	1.92 (1H, d, 16.2)	1.99 (1H, d, 16.2)	1.56 (1H, brd, 14.0, 10.6)	1.56 (1H, dd, 13.8, 10.9)	1.74 (1H, dd, 13.9, 10.5)	1.81 (1H, d, 16.0)
	2.12 (1H, dd, 16.2, 6.0)	2.15 (1H, dd, 16.2, 6.0)	2.24 (1H, brd, 14.0)	2.22 (1H, dd, 13.8, 8.5)	2.35 (1H, dd, 13.9, 8.7)	2.09 (1H, dd, 16.0, 5.0)
5	2.58 (1H, d, 11.2)	2.89 (1H, d, 11.0)	2.61 (1H, d, 10.9)	2.64 (1H, d, 10.9)	2.91 (1H, d, 11.0)	3.05 (1H, d, 10.8)
6	5.95 (1H, brd, 11.2)	6.17 (1H, brd, 11.0)	5.48 (1H, td, 10.9, 2.9)	5.49 (1H, td, 10.9, 3.0)	5.48 (1H, td, 11.0, 3.0)	5.54 (1H, m)
7	5.35 (1H, m)	6.14 (1H, brs)	2.24 (1H, dd, 14.1, 10.9) 2.76 (1H, brt, 14.1)	2.26 (1H, dd, 14.2, 3.0) 2.77 (1H, brt, 14.2)	2.21 (1H, dd, 14.2, 3.0) 2.86 (1H, brt, 14.2)	2.36 (1H, dd, 14.9, 4.2) 2.66 (1H, dd, 14.9, 6.8)
9	4.33 (1H, m)	–	5.76 (1H, brd, 7.8)	5.74 (1H, brd, 7.8)	5.72 (1H, brd, 7.9)	5.57 (1H, m)
10	1.87 (2H, m)	2.55 (1H, d, 14.9) 2.88 (1H, d, 14.9)	5.09 (1H, d, 7.8)	5.07 (1H, d, 7.8)	3.71 (1H, d, 7.9)	5.20 (1H, d, 6.0)
11	1.73 (1H, m)	1.72 (1H, m)	1.96 (1H, m)	1.99 (1H, m)	1.99 (1H, m)	1.70 (1H, m)
12	0.81 (3H, d, 6.8)	0.82 (3H, d, 6.8)	0.84 (3H, d, 6.8)	0.84 (3H, d, 6.8)	0.85 (3H, d, 6.8)	0.81 (1H, d, 6.8)
13	0.90 (3H, d, 6.8)	0.93 (3H, d, 6.8)	0.93 (3H, d, 6.8)	0.94 (3H, d, 6.8)	1.04 (3H, d, 6.8)	0.92 (1H, d, 6.8)
14	1.89 (3H, brs)	1.89 (3H, brs)	1.84 (3H, brs)	1.84 (3H, brs)	1.83 (3H, brs)	1.86 (3H, brs)
15	1.24 (3H, s)	1.27 (3H, s)	1.16 (3H, s)	1.16 (3H, s)	1.14 (3H, s)	1.22 (3H, s)
2',6'	8.01 (2H, d, 9.0)	8.02 (2H, d, 9.0)	7.96 (2H, d, 8.9)	7.98 (2H, d, 8.9)	7.97 (2H, 8.9)	7.99 (3H, d, 8.7)
3',5'	6.95 (2H, d, 9.0)	6.96 (2H, d, 9.0)	6.94 (2H, d, 8.9)	6.94 (2H, d, 8.9)	6.95 (2H, 8.9)	6.95 (3H, d, 8.7)
4'-OMe	3.88 (3H, s)	3.89 (3H, s)	3.87 (3H, s)	3.88 (3H, s)	3.88 (3H, s)	3.88 (3H, s)
3"			6.14 (1H, qq, 7.2, 1.4)	6.92 (1H, brq, 7.3)	6.14 (1H, qq, 7.2, 1.4)	
4"			2.04 (3H, dq, 7.2, 1.4)	1.83 (3H, brd, 7.3)	2.01 (3H, dq, 7.2, 1.4)	
5"			1.95 (3H, brs)	1.88 (3H, brs)	1.90 (3H, brs)	
2-Ac	2.06 (3H, s)	2.05 (3H, s)				2.07 ^a (3H, s)
10-Ac						2.01 ^a (3H, s)

^a Signal may be interchangeable.

4. 化合物 **10** および **11** の構造解析

化合物 **10** $\{[\alpha]_D^{24} -87.3 (c 0.10, \text{CHCl}_3)\}$ および **11** $\{[\alpha]_D^{24} -61.6 (c 0.10, \text{CHCl}_3)\}$ は、いずれも無色非結晶性固体として得られた。HRESIMS より、**10** と **11** は同一の分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_7$ を有することが示唆された (m/z 509.2512 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $\Delta -0.3$ mmu for **10**; m/z 509.2506 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $\Delta -0.6$ mmu for **11**)。両者の ^1H NMR スペクトルにより、**10** と **11** は6位に *p*-メトキシベンズイルオキシ基を有するダウカン型セスキテルペンであることが示唆された。さらに両者の ^1H NMR スペクトルでは、2個のビニルメチル基とそれらとカップリングしたオレフィンプロトンのシグナルが観測された (Fig. 24, Table 7)。 ^{13}C NMR スペクトルでは、**10** と **11** のいずれにもエステルカルボニル2個と酸素官能基が結合した sp^3 炭素4個を含む28個のシグナルが観測された。

^1H - ^1H COSY 及び HMBC 相関の解析とビニルメチル基の ^{13}C NMR ケミカルシフト値 (δ_{C} 21.0 and 15.9 for **10**; δ_{C} 14.5 and 12.3 for **11**) から、化合物 **10** はアングロイル基を、化合物 **11** はチグロイル基を有することが明らかになった⁴⁸⁾。さらに、化合物 **10** および **11** のダウカン型骨格と、2位と4位に結合する水酸基、6位に結合する *p*-メトキシベンズイルオキシ基、8(9)位の二重結合の存在が確認された (Fig. 25)。また、NOESY 相関の解析により、イソプロピル基、*p*-メトキシベンズイルオキシ基、10位アシル基が α 配置、2位水酸基が β 配置であることが明らかとなった (Fig. 26A)。以上の結果から、化合物 **10**、**11** の構造を Fig. 26B に示す構造と結論した。

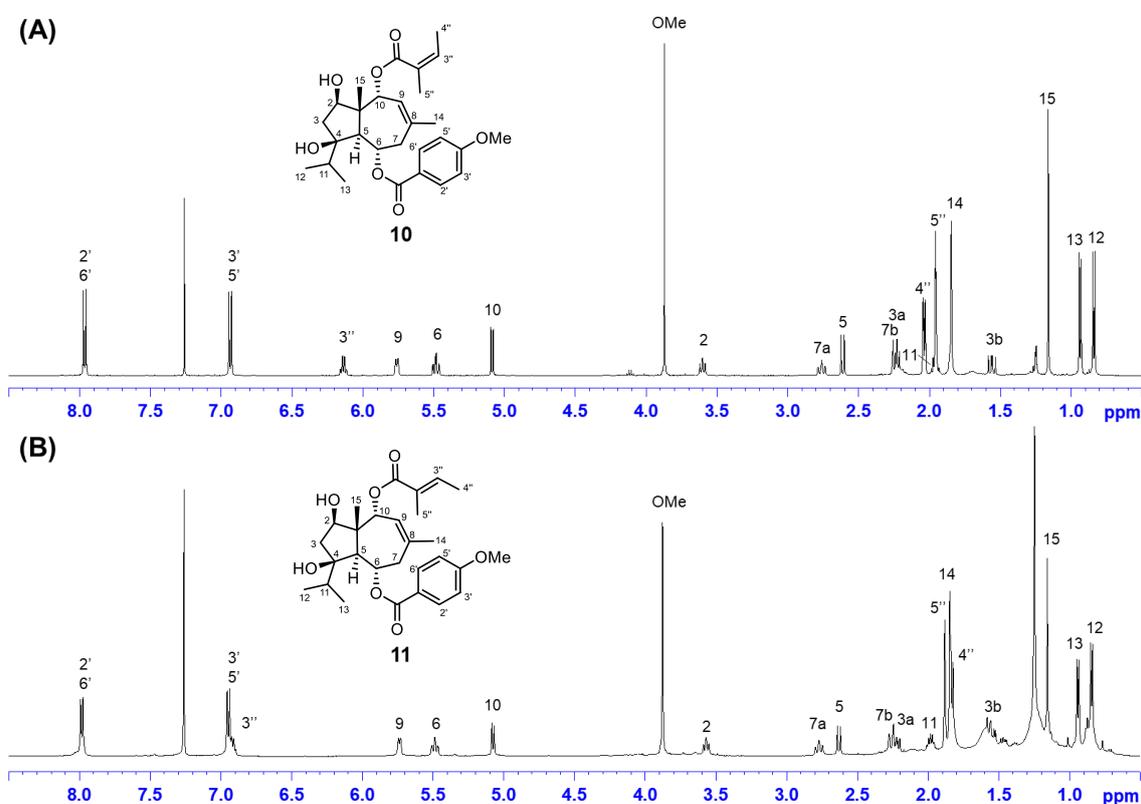


Figure 24. ^1H NMR spectra of (A) compound **10** and (B) compound **11** (500 MHz, CDCl_3).

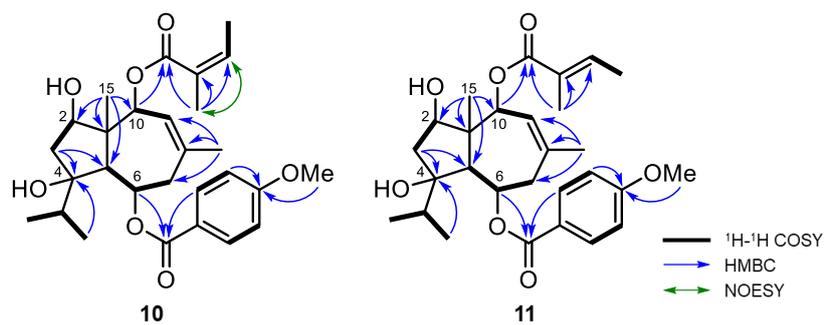


Figure 25. Selected 2D NMR correlations for **10** and **11**.

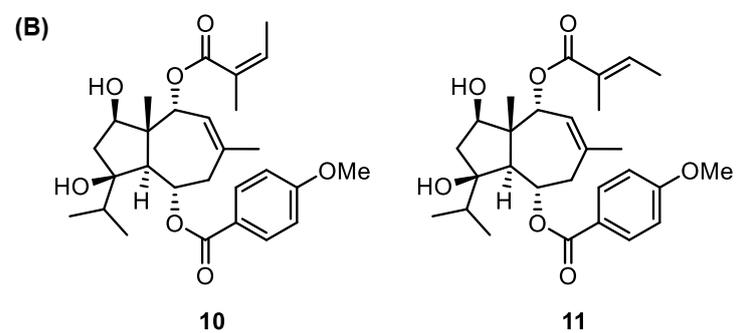
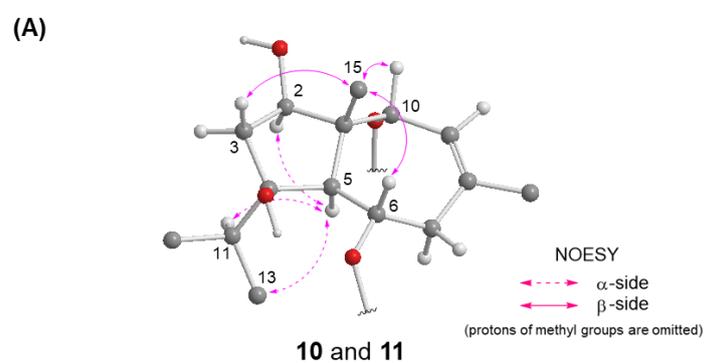


Figure 26. (A) Selected NOESY correlations and (B) relative configurations for **10** and **11**.

5. 化合物 **12** の構造解析

化合物 **12** は、化合物 **10** と同一の分子式 $C_{28}H_{38}O_7$ を有し (m/z 509.2510 $[M+Na]^+$, Δ -0.5 mmu)、その 1D NMR スペクトルは **10** のそれらとよく類似していたため、化合物 **12** は **10** と同様にアングロイル基と *p*-メトキシベンズイルオキシ基を有するダウカン型セスキテルペンであると推定した (Tables 5 and 7)。化合物 **12** の 1H NMR スペクトルでは、H-10 に帰属されるメチンプロトンが **10** のものと比較して高磁場シフトする (δ_H 3.71) 一方、H-2 に帰属されるオキシメチンは低磁場シフトして (δ_H 5.08) 観測されたことから、化合物 **12** ではアングロイルオキシ基が 2 位に結合すると推定した (Fig. 27)。

このことは 1H - 1H COSY 及び HMBC スペクトルの解析からも支持された (Fig. 28)。また、NOESY スペクトルの解析により、化合物 **12** は化合物 **10** と同一の相対立体配置を有することが明らかになった (Fig. 29A)。以上の解析から、化合物 **12** の相対立体配置を Fig. 29B に示した構造と帰属した。

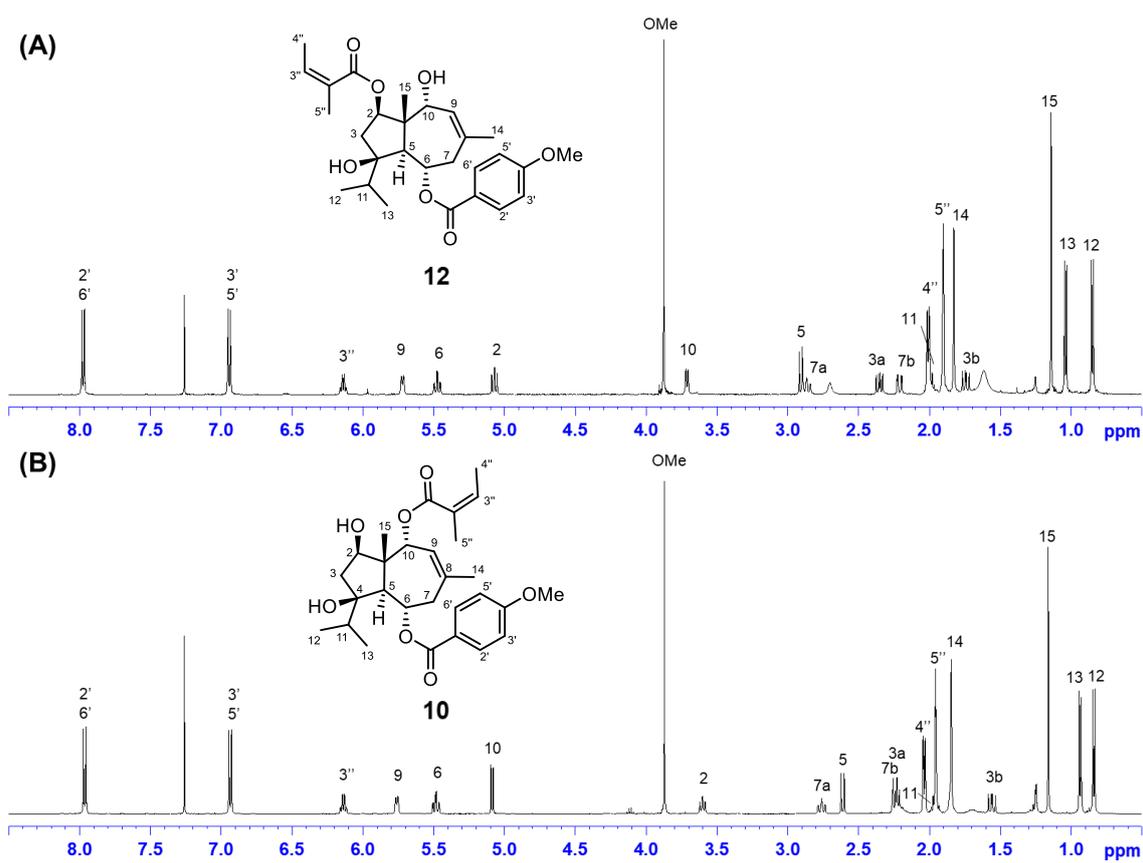


Figure 27. 1H NMR spectra of (A) compound **12** and (B) compound **10** (500 MHz, $CDCl_3$).

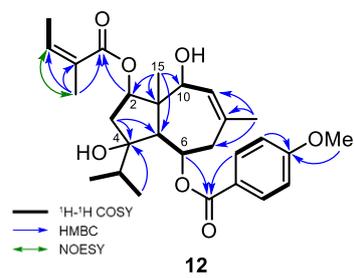


Figure 28. Selected 2D NMR correlations for **12**.

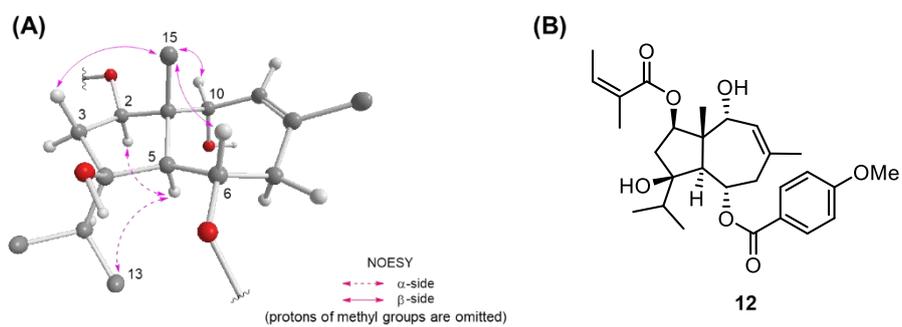


Figure 29. (A) Selected NOESY correlations and (B) relative configuration for **12**.

6. 化合物 **13** および **14** の構造解析

HRESIMS の解析より、化合物 **13** と化合物 **14** の分子式をそれぞれ $C_{30}H_{40}O_8$ と $C_{23}H_{32}O_6$ と帰属した (m/z 551.2643 $[M+Na]^+$, $\Delta+2.2$ mmu for **13**; m/z 427.2102 $[M+Na]^+$, $\Delta+0.5$ mmu for **14**)。化合物 **13** の 1H NMR スペクトルは既知ダウカン型セスキテルペン 2α -acetoxy-6-*O*-*p*-methoxybenzoyl-10 α -acetoxy-jeaschkeadiol (**19**)⁴⁹⁾ のものとよく類似していたが、**19** の 1 個のアセチル基に基づくシグナルの代わりに、**13** ではアングロイル基に帰属されるシグナルが観測された (Fig. 30, Table 8)。

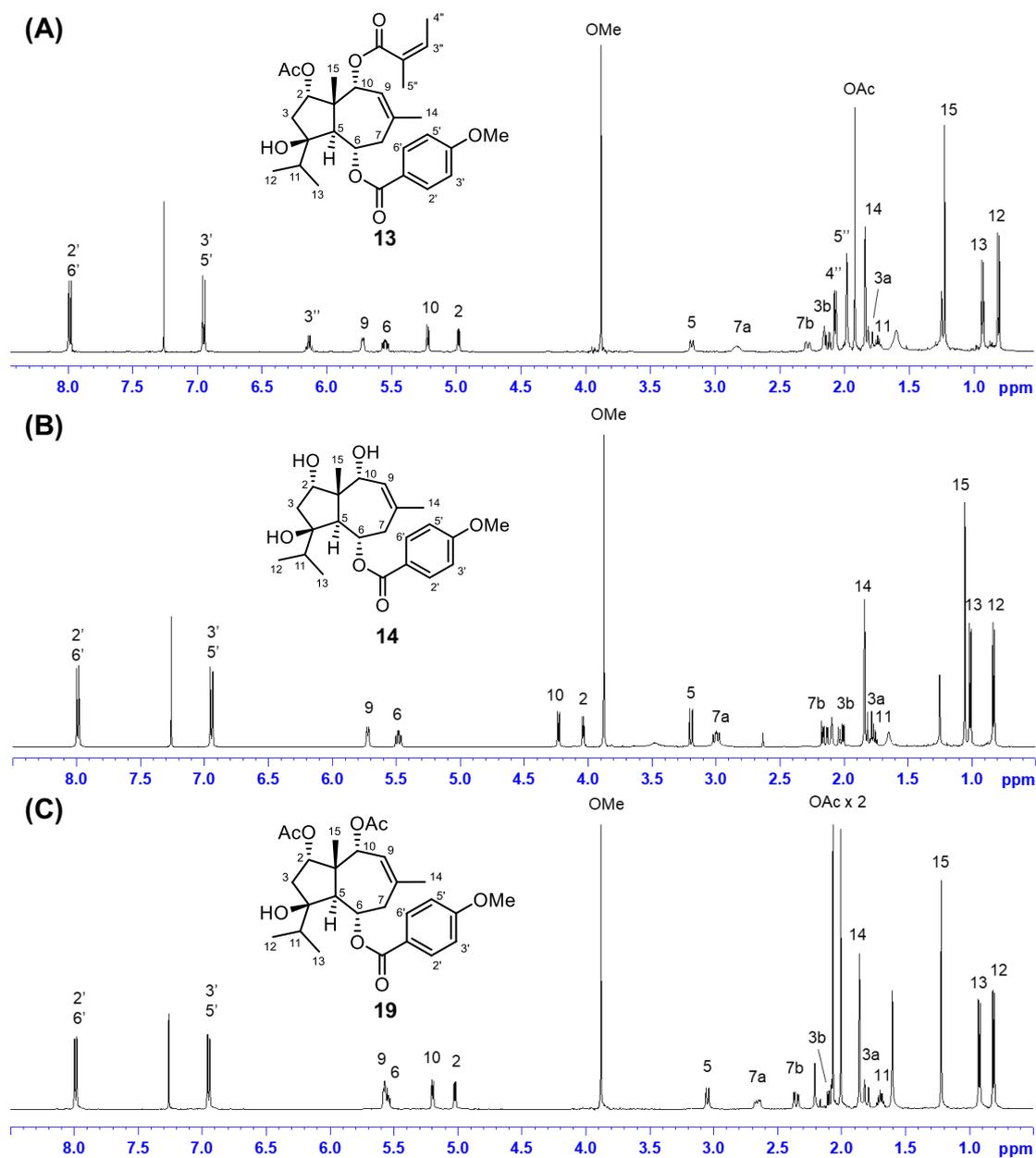


Figure 30. 1H NMR spectra of (A) compound **13**, (B) compound **14**, and (C) compound **19** (500 MHz, $CDCl_3$).

一方、化合物 **14** の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルでは、**19** の 2 個のアセチル基に基づくシグナルが消失し、H-2 と H-10 に帰属されるシグナルが高磁場シフトして観測された (Fig. 30, Table 8)。

$^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY 及び HMBC スペクトルの解析から、化合物 **13** および **14** の平面構造を帰属した。すなわち、化合物 **13** では H-10/C-1"間の HMBC 相関が観測されたことから、アングロイル基が 10 位に結合していることが判明した。一方、化合物 **14** は **19** の 2 個のアセトキシ基が水酸基となった構造と帰属した (Fig. 31)。NOESY スペクトルの解析から化合物 **13** と **14** の相対立体配置は化合物 **19** と同一であると結論した (Fig. 32A)。以上のスペクトル解析から化合物 **13** および **14** の相対立体配置を含む構造を Fig. 32B に示す構造と帰属した。

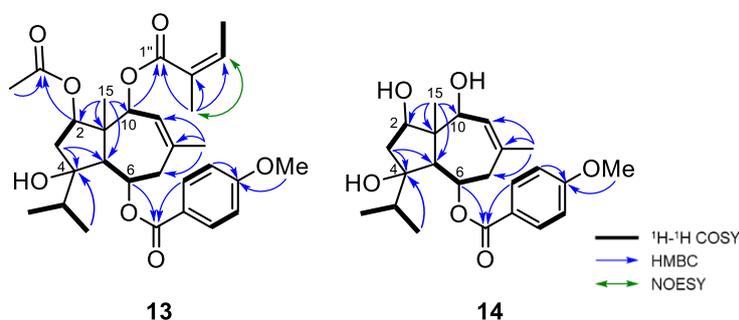


Figure 31. Selected 2D NMR correlations for **13** and **14**.

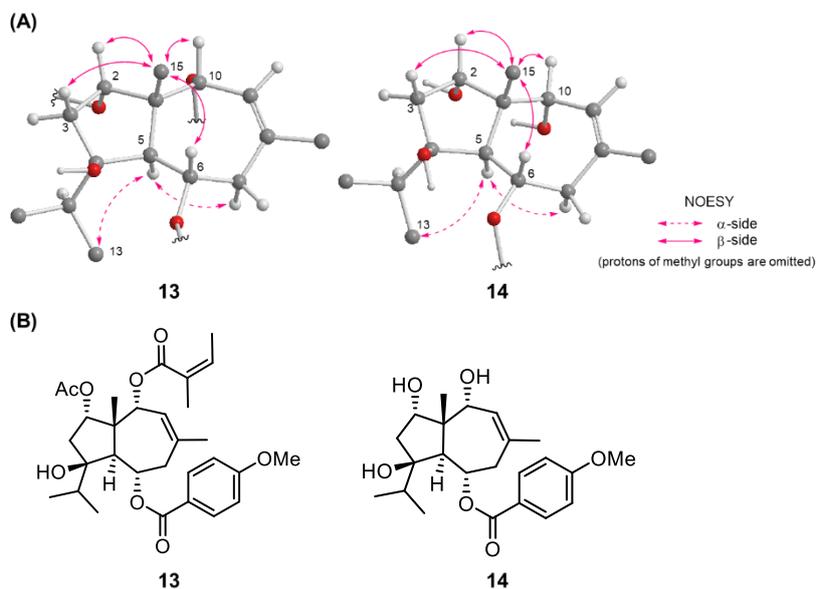


Figure 32. (A) Selected NOESY correlations and (B) relative configurations for **13** and **14**.

Table 8. ^1H NMR data (δ , J in Hz) for compounds **13–17** and **21** in CDCl_3 .

position	13	14	15	16	17	21
2	4.98 (1H, dd, 6.5, 1.4)	4.04 (1H, d, 5.5)	1.42 (1H, m) 1.56 (1H, m)	–	–	1.43 (1H, m) 1.57 (1H, m)
3	1.81 (1H, dd, 16.0, 1.4) 2.14 (1H, dd, 16.0, 6.5)	1.83 (1H, d, 15.6) 2.02 (1H, dd, 15.6, 5.5)	1.61 (1H, m) 1.93 (1H, m)	2.27 (2H, dd, 11.8, 9.8)	2.25 (1H, dd, 19.3, 10.1) 2.77 (1H, dd, 19.3, 7.6)	1.61 (1H, m) 1.91 (1H, m)
4				2.81 (1H, m)	2.64 (1H, m)	
5	3.18 (1H, d, 11.0)	3.20 (1H, d, 10.3)	2.83 (1H, d, 11.0)	–	–	2.78 (1H, d, 11.0)
6	5.55 (1H, ddd, 11.0, 9.0, 3.6)	5.50 (1H, td, 10.3, 3.3)	5.44 (1H, td, 11.0, 3.0)	2.34 (1H, m) 2.52 (1H, m)	2.02 (1H, m) 2.61 (1H, m)	5.43 (1H, td, 11.0, 3.1)
7	2.28 (1H, dd, 14.5, 3.6) 2.83 (1H, m)	2.15 (1H, dd, 14.1, 3.3) 3.00 (1H, dd, 14.1, 10.3)	2.25 (1H, dd, 14.3, 3.0) 2.76 (1H, brt, 14.3)	2.15 (1H, m) 2.54 (1H, m)	2.06 (1H, m) 2.56 (1H, m)	2.23 (1H, dd, 14.2, 3.1) 2.75 (1H, brt, 11.0)
9	5.72 (1H, brd, 6.8)	5.72 (1H, brd, 6.8)	5.76 (1H, brd, 7.4)	5.72 (1H, d, 7.8)	5.69 (1H, d, 7.8)	5.79 (1H, brd, 7.5)
10	5.22 (1H, d, 6.8)	4.23 (1H, d, 6.8)	4.91 (1H, d, 7.4)	5.42 (1H, d, 7.8)	5.35 (1H, d, 7.8)	4.93 (1H, d, 7.5)
11	1.75 (1H, m)	1.77 (1H, m)	1.98 (1H, m)	2.72 (1H, m)	2.65 (1H, m)	1.94 (1H, m)
12	0.81 (3H, d, 6.8)	0.83 (3H, d, 6.8)	0.86 (3H, d, 6.8)	4.69 (1H, d, 5.4)	4.79 (1H, d, 4.7)	0.85 (3H, d, 6.8)
13	0.93 (3H, d, 6.8)	1.01 (3H, d, 6.8)	1.00 (3H, d, 6.8)	1.16 (3H, d, 7.1)	1.08 (3H, d, 6.5)	0.97 (3H, d, 6.8)
14	1.84 (3H, brs)	1.84 (3H, brs)	1.81 (3H, brs)	1.79 (3H, s)	1.75 (3H, s)	1.82 (3H, brs)
15	1.23 (3H, s)	1.05 (3H, s)	1.21 (3H, s)	1.19 (3H, s)	1.17 (3H, s)	1.22 (3H, s)
12-OMe				3.48 (3H, s)	3.32 (3H, s)	
2',6'	7.99 (2H, d, 8.9)	7.99 (2H, d, 8.9)	7.99 (2H, d, 8.8)	7.88 (2H, d, 8.8)	7.86 (2H, d, 8.9)	7.98 (2H, d, 8.9)
3',5'	6.95 (2H, d, 8.9)	6.94 (2H, d, 8.9)	6.95 (2H, d, 8.8)	6.94 (2H, d, 8.8)	6.91 (2H, d, 8.9)	6.93 (2H, d, 8.9)
4'-OMe	3.88 (3H, s)	3.88 (3H, s)	3.88 (3H, s)	3.88 (3H, s)	3.85 (3H, s)	3.87 (3H, s)
3"	6.14 (1H, qq, 7.3, 1.3)		6.90 (1H, brq, 7.0)			6.10 (1H, qq, 7.2, 1.5)
4"	2.07 (3H, dq, 7.3, 1.3)		1.83 (3H, brd, 7.0)			2.05 (3H, dq, 7.2, 1.5)
5"	1.98 (3H, brs)		1.89 (3H, brs)			1.96 (3H, brs)
Ac	1.92 (3H, s)					

7. 化合物 **15** の構造解析

化合物 **15** の分子式は、HRESIMS の解析より $C_{28}H_{38}O_6$ と示唆された (m/z 493.2568 $[M+Na]^+$, $\Delta+0.2$ mmu)。その 1H NMR スペクトルは、既知ダウカン型セスキテルペン 6-*O*-*p*-methoxybenzoyl-10 α -angeloyloxy-jeaschkeanadiol (**21**)⁴⁹ のものとよく類似していたが、化合物 **15** の 1H NMR スペクトルでは、チグロイルオキシ基由来のシグナルが観測されたことから、化合物 **15** では 10 位に結合するアシル基がチグロイルオキシ基になった構造であると推定した (Fig. 33)。

さらに 2D NMR スペクトルの解析を行い、H-6/C-7' と H-10/C-1'' 間に観測された HMBC 相関から、6 位に *p*-メトキシベンゾイルオキシ基が、10 位にチグロイルオキシ基が結合していることが明らかとなった (Fig. 34)。また、NOESY 相関の解析から、C-1、C-4、C-5、C-6、C-10 の相対立体配置は **21** と同一であることが確認された (Fig. 34)。従って、化合物 **15** の相対立体配置を Fig. 35 に示す配置と帰属した。

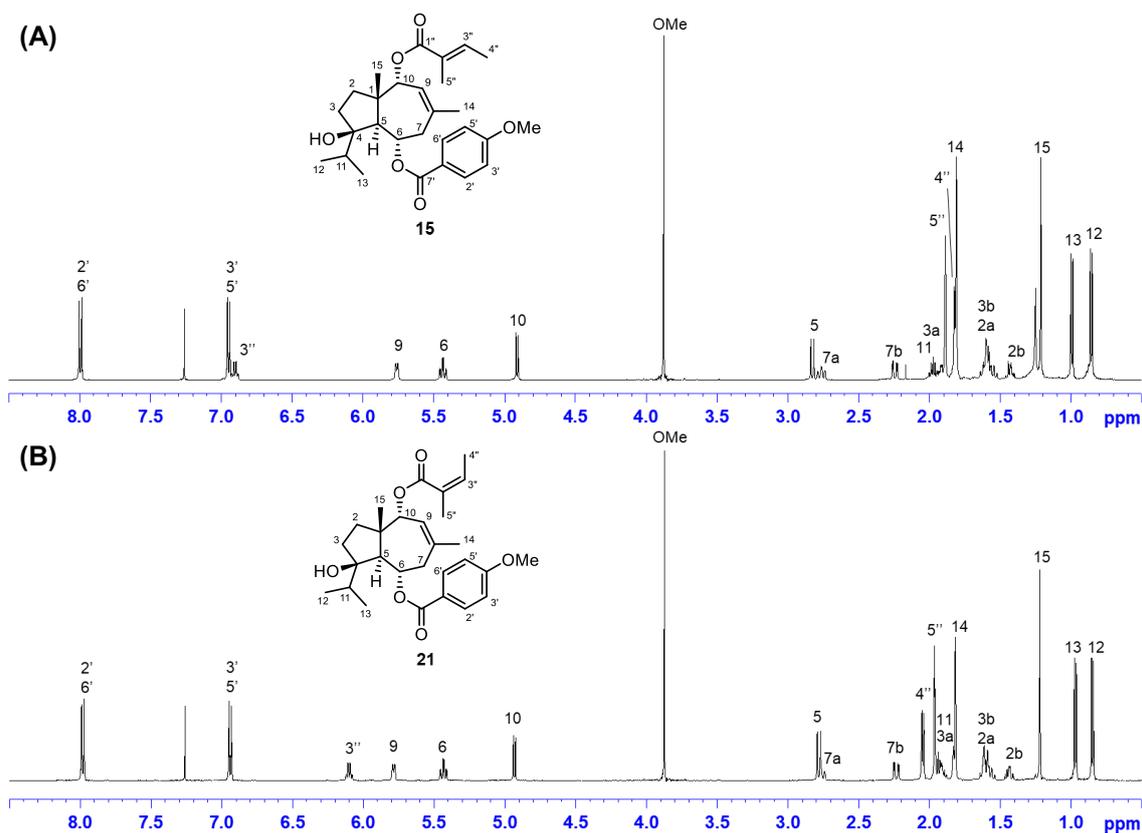


Figure 33. 1H NMR spectra of (A) compound **15** and (B) compound **21** (500 MHz, $CDCl_3$).

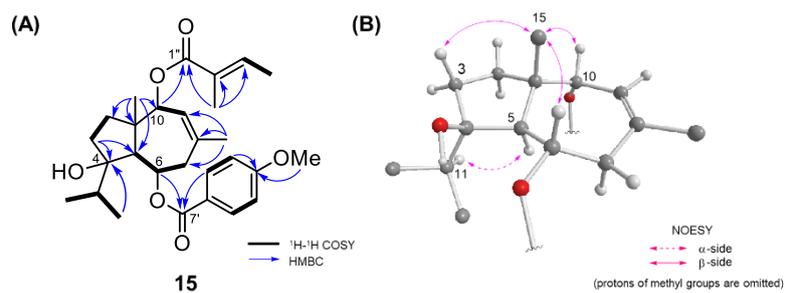


Figure 34. Selected 2D NMR correlations for **15**.

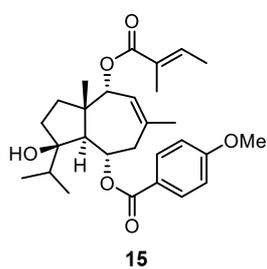


Figure 35. Relative configuration for **15**.

8. 化合物 16 および 17 の構造解析

化合物 16 および 17 はそれぞれ光学活性 $\{[\alpha]_D^{23} -151.2 (c 0.10, \text{CHCl}_3) \text{ for } \mathbf{16}; [\alpha]_D^{26} -324.0 (c 0.10, \text{CHCl}_3) \text{ for } \mathbf{17}\}$ な無色非結晶性固体として得られた。HRESIMS の解析より、16 および 17 は同一の分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$ をもつと帰属した ($m/z 437.1949 [\text{M}+\text{Na}]^+, \Delta+0.9 \text{ mmu}$ for 16; $m/z 437.1929 [\text{M}+\text{Na}]^+, \Delta-1.1 \text{ mmu}$ for 17)。16 の ^1H NMR スペクトルにおいて、1 個の *p*-メトキシベンズイルオキシ基、1 個の三置換オレフィン、2 個のオキシメチン、1 個のメトキシ基、2 個の *tert*-メチル、1 個の *sec*-メチルに基づくシグナルが (Fig. 36A, Table 8)、 ^{13}C NMR スペクトルでは 1 個のケトンカルボニル、1 個のエステルカルボニル、および 1 個のアセタール炭素のシグナルを含む 24 本のシグナルが観測され (Table 5)、16 はダウカン型セスキテルペンの *p*-メトキシベンズイルエステルと推定された。

化合物 16 の ^1H - ^1H COSY および HMBC スペクトルの解析を行った。H₃-15/C-2、H-3/C-2 間に観測された HMBC 相関から 2 位にケトン、H-9/H-10 間に観測された COSY 相関と H₃-14/C-8、C-9 間、および H₃-15/C-1、C-10 間に観測された HMBC 相関から 8(9) 位の二重結合、H-10/C-7間に観測された HMBC 相関から 10 位に *p*-メトキシベンズイルオキシ基を有していることが明らかになった。さらに δ_{H} 3.32 のメトキシ基とアセタール炭素 (C-12) 間、

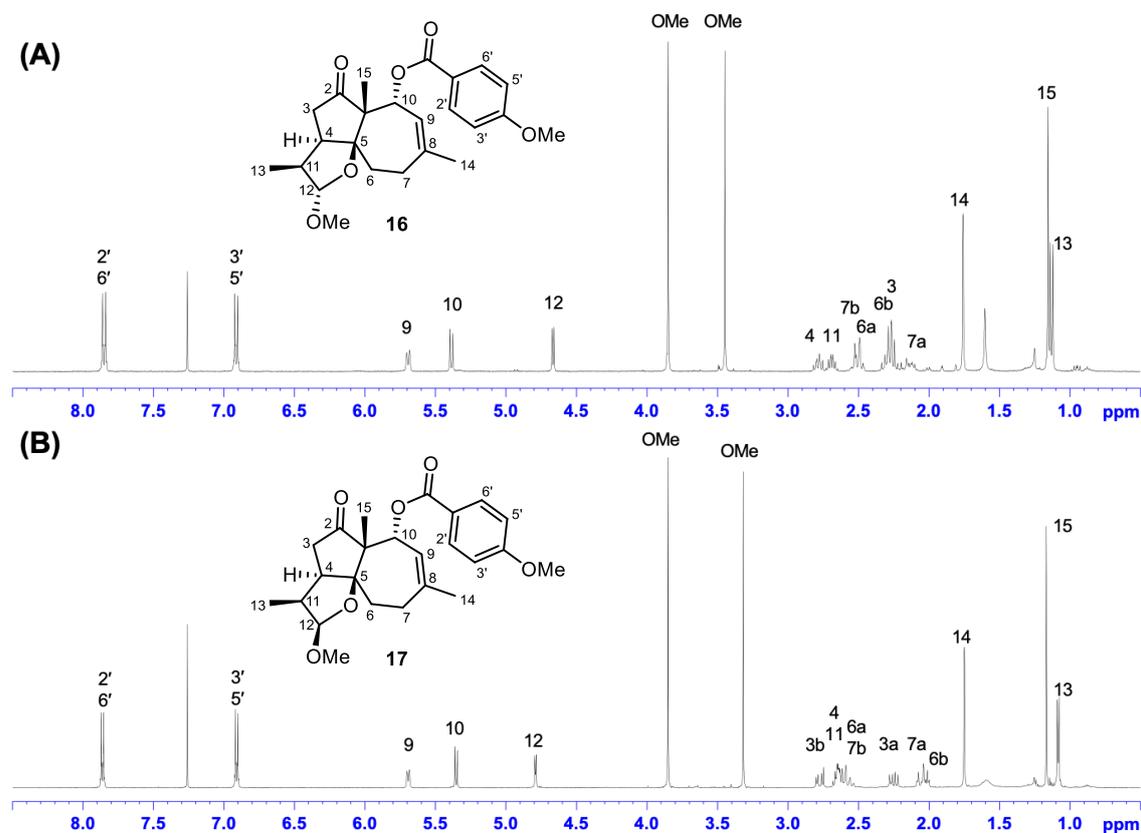


Figure 36. ^1H NMR spectra of (A) compound 16 (400 MHz, CDCl_3) and (B) compound 17 (500 MHz, CDCl_3).

及び H-12/C-5 間の HMBC 相関から 12 位と 5 位間でメトキシアセタール構造を形成した化合物であることが判明した (Fig. 37)。

化合物 **17** の ^1H NMR スペクトルは **16** とよく類似していたが、13 位メチル基が高磁場シフトし、一方 H-12 が低磁場シフトして観測された。また、H-4、H-11、12-OMe に帰属されるシグナルのケミカルシフトにも違いが見られ、12 位のヘミアセタールの立体が異なる異性体であると推定された (Fig. 36B, Table 8)。さらに、化合物 **17** の 2D NMR スペクトルにおいて、化合物 **16** と同様の相関が観測されたことから、**17** は **16** と同一の平面構造を持つ化合物であるということが明らかになった (Fig. 37)。

化合物 **16** および **17** の相対立体配置を NOESY 相関により明らかにした。H₃-15/H-3 β 、H-7 β 、H-10 間の相関と、H-4/H-6 α 間の相関からダウカン骨格の cyclopentane 環と cycloheptane 環は *cis* 配置で結合しており、*p*-メトキシベンゾイルオキシ基が α 配置であることが明らかとなった。また、H-3 β /H₃-13 の相関から 13 位メチル基は β 配置と帰属された。さらに **16** では H₃-13/H-12、一方 **17** では H-11/H-12 の NOESY 相関が観測されたことから 12 位メトキシ基の配置を **16** が α 配置、**17** が β 配置と帰属した (Fig. 38A)。したがって、化合物 **16** および **17** の相対立体配置を Fig. 38B に示す配置であると帰属した。

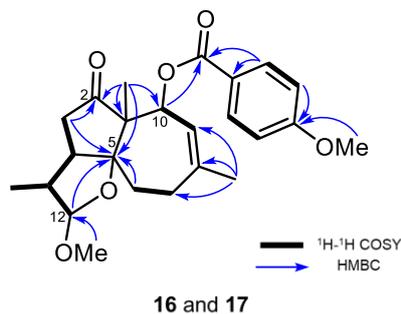


Figure 37. Selected 2D NMR correlations for **16** and **17**.

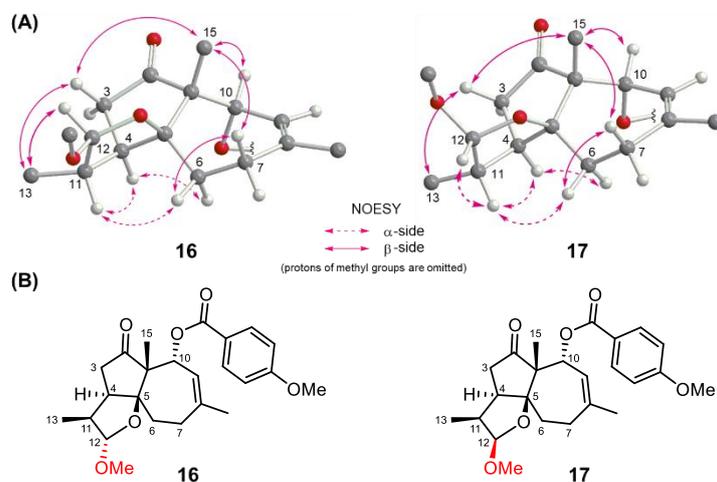


Figure 38. (A) Selected NOESY correlations and (B) relative configurations for **16** and **17**.

9. 化合物 4-17 の絶対立体配置の帰属

9.1 化合物 4-15 の絶対立体配置

Golovina らはダウカン型セスキテルペンの 6 位の芳香族エステル基の絶対立体配置について、ECD スペクトルによる解析を報告している⁵⁰⁾。すなわち、ダウカン型セスキテルペンの 6 位炭素に芳香族エステル基が α 配置で結合する場合、260 nm 付近に正の Cotton 効果が観測されるという報告である。著者が単離した新規化合物 4-15 はいずれも 6 位炭素に *p*-メトキシベンゾイルオキシ基が結合するため、それらの絶対立体配置の帰属に Golovina らの手法が適応できると考えた。

化合物 4-6 と 8-15 の ECD スペクトルでは、260 nm 付近に正の Cotton 効果が確認されたため (Fig. 39)、6 位炭素に結合する *p*-メトキシベンゾイルオキシ基は α 配置、すなわち 6 位炭素の絶対立体配置はいずれも *S* 配置と帰属した。前述の通り、化合物 4-6 と 8-15 の相対立体配置は NOESY スペクトルの解析により帰属済みであるため、これらの絶対立体配置は Fig. 40 に示す配置であることが明らかになった。

化合物 7 の ECD スペクトルでは、260 nm 付近に正の Cotton 効果が観測されなかったが、生合成的な観点から 7 のセスキテルペン部分は 4-6 と 8-15 と同一の絶対立体配置であると考えられる。

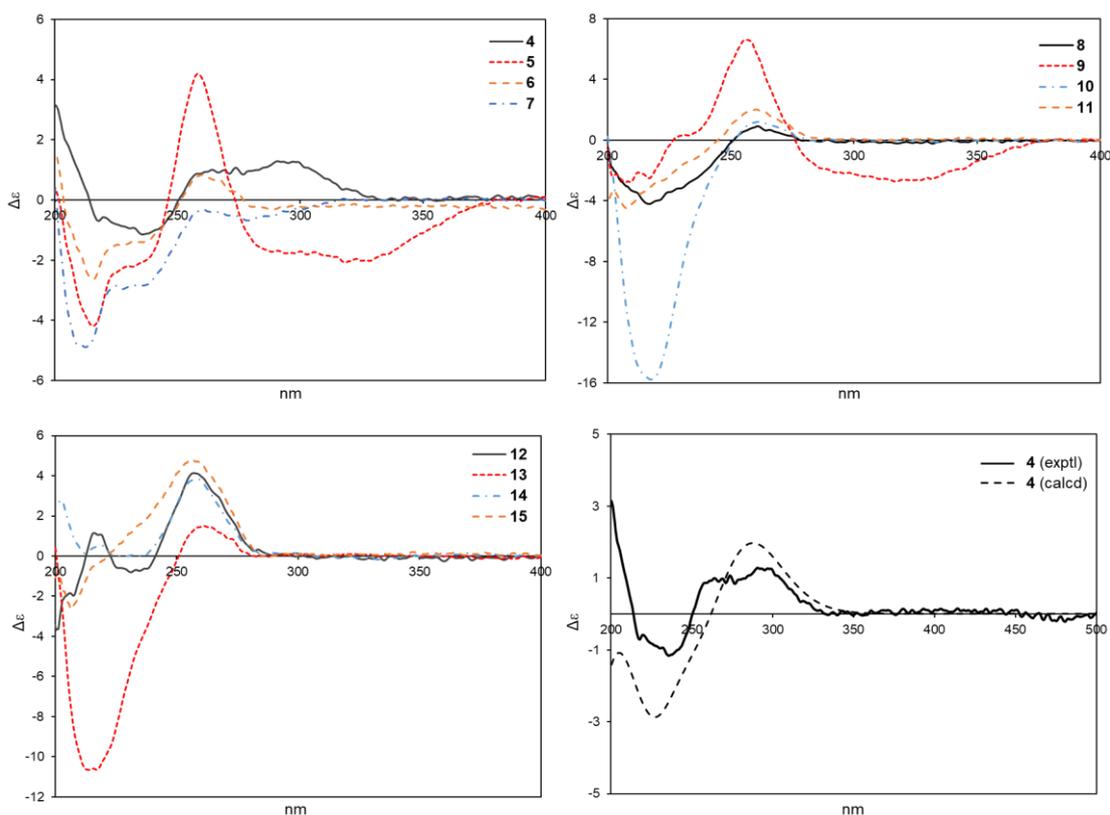


Figure 39. Experimental ECD spectra of 4-15 and calculated ECD spectrum of 4.

化合物 **4** については、ECD スペクトルを TDDFT 法を用いて計算し、実測値と比較した。その結果、実測値と計算値がよく対応していた (Fig. 39) ことから、Golovina らの手法により帰属した **4** の絶対立体配置が支持された。

一方、化合物 **5** の 6 位炭素の絶対立体配置については CD 励起子キラリティー法⁵¹⁾により確認した。すなわち、化合物 **5** の ECD スペクトルで観測された 258 nm 付近の正の Cotton 効果と、236 nm 付近に観測された負の Cotton 効果を共役エノンと *p*-メトキシベンゾイルオキシ基のカイラリティーによるものと帰属でき、共役エノンと *p*-メトキシベンゾイルオキシ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示唆されたため、6 位炭素の絶対立体配置を *S* と結論した (Fig. 41)。この結果は、前述の化合物 **5** の絶対立体配置の解析を支持するものである (Fig. 40)。

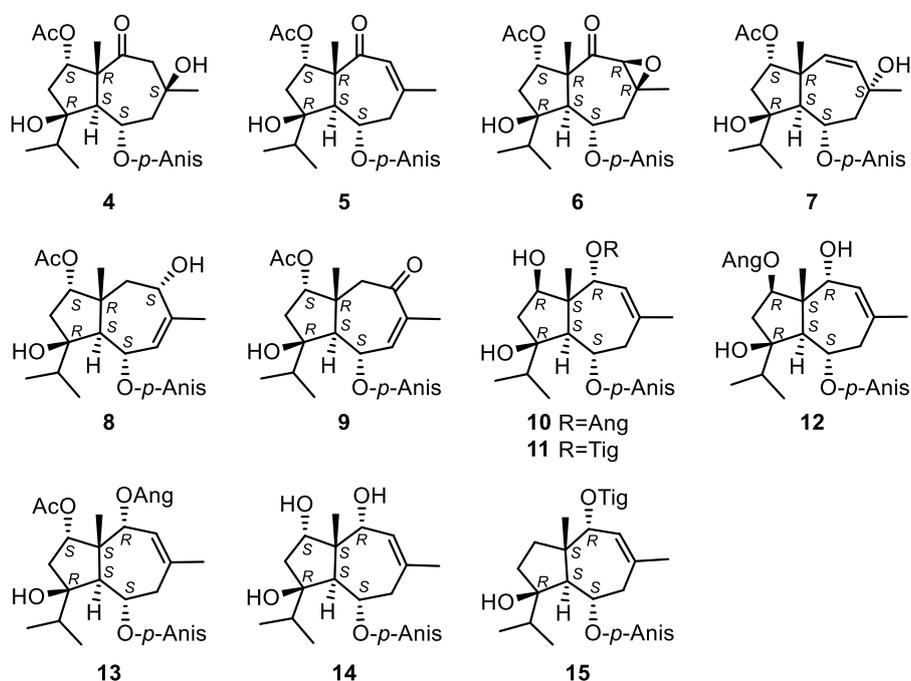


Figure 40. Absolute configurations of **4**–**15**.

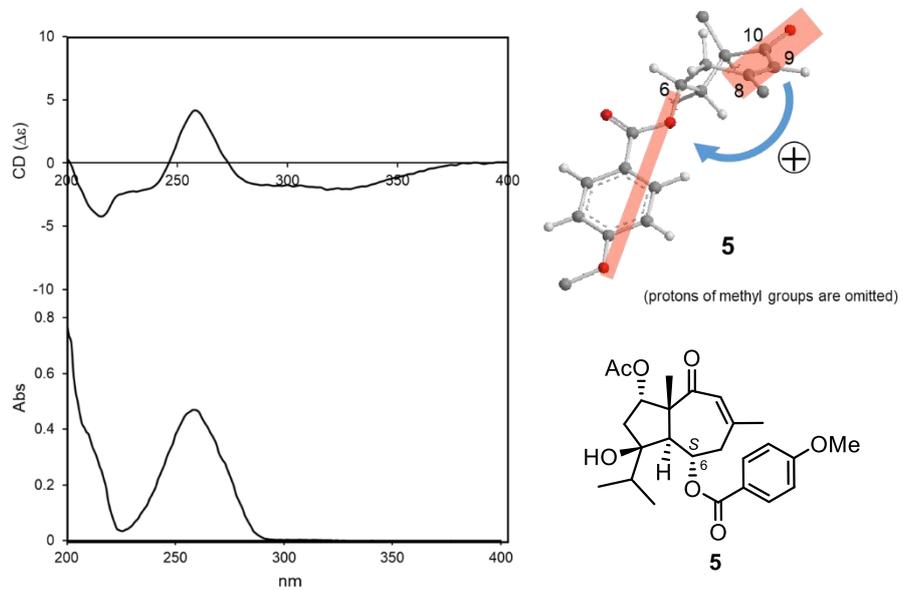


Figure 41. CD and UV spectra, and the excitation chirality for **5**.

9.2. 化合物 **16** および **17** の絶対立体配置

化合物 **16** と **17** は 6 位炭素に芳香族エステルが結合しておらず、Golovina らの手法は適応できなかったが、両者はアリルベンゾエート構造を有していたため、励起子キラリティー法により絶対立体配置を帰属した⁵¹⁾。すなわち、化合物 **16** と **17** の ECD スペクトルで、いずれも 260 nm 付近に負の Cotton 効果が観測されたことから、二重結合と 10 位炭素に結合する *p*-メトキシベンズイルオキシ基のねじれは反時計回りであることが示唆され、**16** と **17** の 10 位炭素の絶対立体配置はいずれも *R* 配置であることが判明した (Fig. 42)。以上の解析から、化合物 **16** および **17** の絶対立体配置を Fig. 43 に示した配置と帰属した。

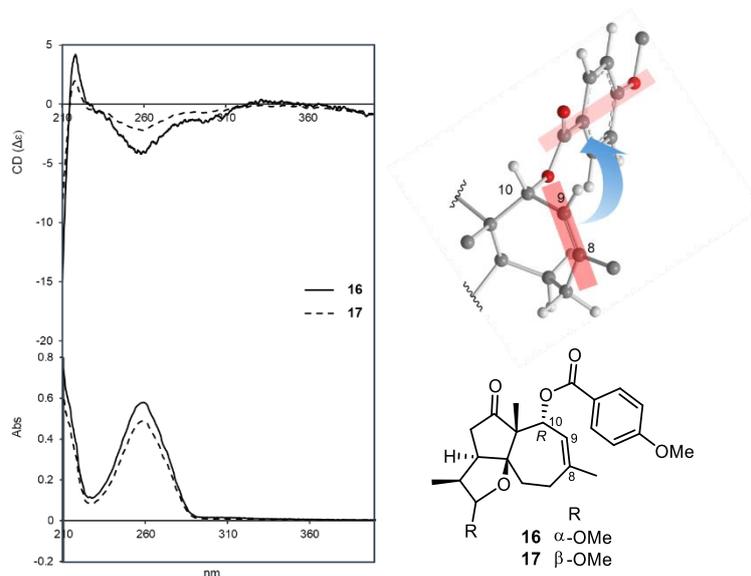


Figure 42. CD and UV spectra, and the excitation chirality for **16** and **17**.

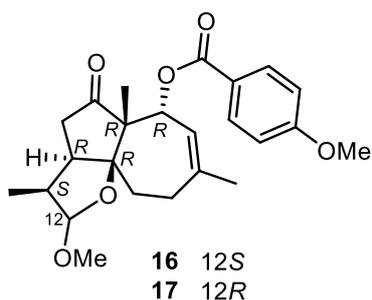


Figure 43. Absolute configurations of **16** and **17**.

第3項 既知化合物の同定

1. 既知化合物 18–29 の同定

化合物 18–29 は、各種スペクトルデータと物理化学データを文献値と比較することにより、それぞれ 2 α -acetoxy-6-*O-p*-methoxybenzoyl-jeaschkeanadiol (18)⁴⁹、2 α -acetoxy-6-*O-p*-methoxybenzoyl-10 α -acetoxy-jeaschkeanadiol (19)⁴⁹、6-*O-p*-methoxybenzoyl-10 α -hydroxy-jeaschkeanadiol (20)⁴⁹、6-*O-p*-methoxybenzoyl-10 α -angeloyloxy-jeaschkeanadiol (21)⁴⁹、6-*O-p*-methoxybenzoyl-10 α -acetoxy-jeaschkeanadiol (22)⁴⁹、6-*O*-benzoyl-10 α -angeloyloxy-jeaschkeanadiol (23)⁴⁹、6-*O*-(3,4-dimethoxybenzoyl)-10 α -angeloyloxy-jeaschkeanadiol (24)⁴⁹、fercolide (25)⁵²、laserine (26)⁵³、2-*epi*-laserine (27)⁵⁴、helmanticine (28)⁵⁵、2-*epi*-helmanticine (29)⁵⁶と同定された (Fig. 44)。

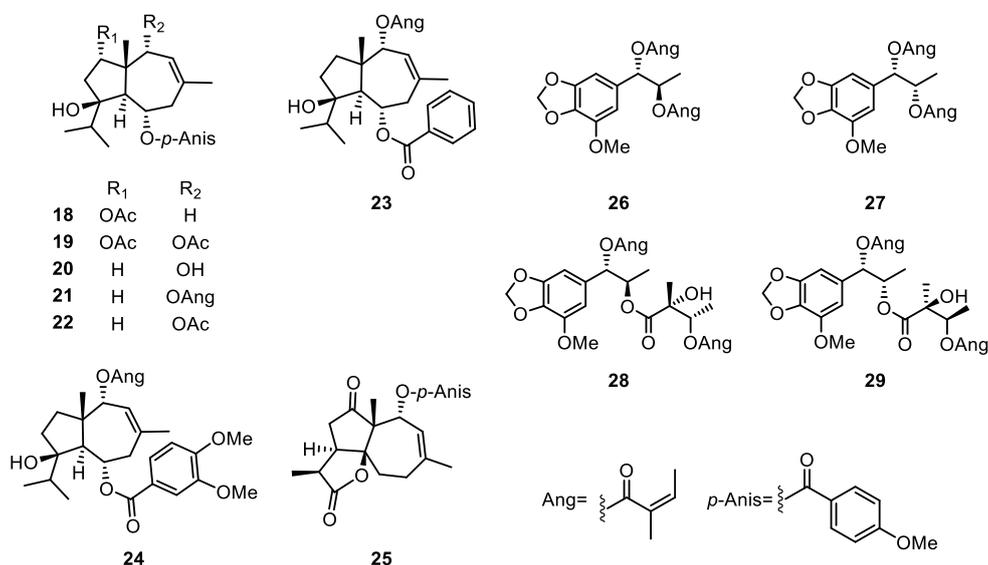


Figure 44. Known sesquiterpenes (18–25) and phenylpropanoids (26–29) from *F. communis*.

2. 既知ファルネシル化クロモン ferchromone (30) の構造訂正

Ferchromone は、Miski らにより *F. communis* の根から単離されたファルネシル化クロモンである⁵⁷⁾。化合物 **30** は、HRESIMS の解析から ferchromone と同一の分子式 $C_{24}H_{30}O_4$ を有することが示唆され (m/z 381.2076 $[M-H]^-$, $\Delta+1.0$ mmu)、その 1D NMR データは ferchromone のものと一致した。

Miski らは ferchromone の NOESY スペクトルの解析から、2'位水酸基が α 配置、15'位メチル基が β 配置と帰属している⁵⁷⁾。しかしながら、化合物 **30** の NOESY スペクトルを重クロロホルム中で測定したところ、H-1' α /H₂-4'間、H-1' β /H₃-15'間に相関が観測され、ジヒドロピラン部分が複数の安定配座をとることが示唆された。すなわち、NOESY スペクトルの解析では化合物 **30** の相対立体配置の帰属は困難であると考えられた。そこで、¹³C NMR データの実測値と計算値の比較により化合物 **30** の相対立体配置を帰属した。すなわち、実測値と (2'*R**,3'*S**) 体 (**30a**)、(2'*S**,3'*S**) 体 (**30b**) の計算値を DP4 probability で比較した結果、化合物 **30** の相対立体配置は (2'*R**,3'*S**) であると示唆された (Table 9)。以上の結果から、ferchromone (**30**) の相対立体配置を Fig. 45 に示す配置に訂正した。また、各種 2D NMR スペクトルの解析から、Miski らによるケミカルシフトのアサインを訂正した (Table 9)。

化合物 **30** はラセミ体として得られたため、光学分割を行った。得られた各エナンチオマーの CD スペクトルの実測値を構造を簡素化したモデル化合物 (**30c**) の計算値と比較することで、(+)体の絶対立体配置を (2'*S*,3'*R*)、(-)体の絶対立体配置を (2'*R*,3'*S*) と推定した (Fig. 46)。

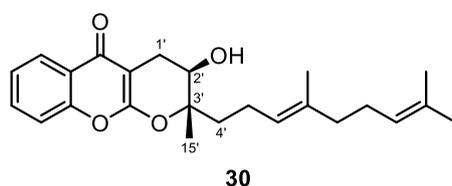


Figure 45. Correct relative configuration for ferchromone (**30**).

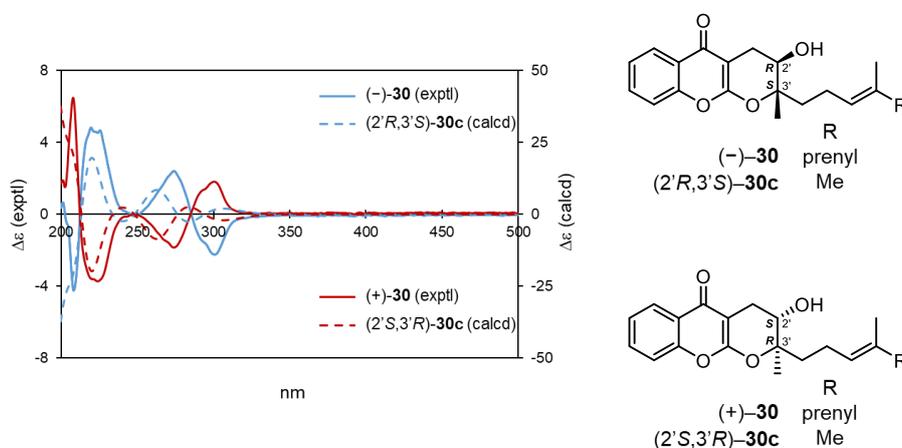


Figure 46. Experimental and calculated ECD spectra of ferchromone (**30**) (calculated ECD spectra was red-shifted by 20 nm).

Table 9. Experimental 1D NMR data and calculated ^{13}C NMR data for ferchromone (**30**).

position	30		30 (lit.) ⁵⁷⁾	calcd- 30a	calcd- 30b
	^{13}C (δ)	^1H (δ , J in Hz)	^{13}C	^{13}C	^{13}C
2	162.3		162.22	163.5	163.3
3	93.1		93.05	96.6	97.1
4	178.2		178.07	177.7	177.9
4a	122.2		122.32	124.6	124.7
5	125.6	8.13 (1H, d, 7.8)	124.98	128.7	128.7
6	124.9	7.34 (1H, t, 7.8)	125.63	123.6	123.7
7	132.8	7.57 (1H, t, 7.8)	132.87	131.7	131.8
8	117.1	7.31 (1H, d, 7.8)	117.11	116.8	116.9
8a	153.2		153.27	153.3	153.3
1'	24.7	2.71 (1H, dd, 16.5, 5.6) 2.91 (1H, dd, 16.5, 4.7)	24.73	26.1	27.9
2'	66.9	3.98 (1H, brt, 5.2)	67.06	67.2	70.5
3'	86.2		86.06	88.2	86.2
4'	37.2	1.68-1.82 (2H, m)	37.20	36.2	35.2
5'	21.5	2.18 (2H, m)	21.54	22.6	23.6
6'	123.6	5.09 (1H, brt, 6.6)	124.13	126.8	127.1
7'	136.3		136.37	136.2	136.5
8'	39.6	1.96 (2H, m)	39.60	38.9	38.9
9'	26.6	2.04 (2H, m)	26.59	25.5	26.0
10'	124.1	5.06 (1H, brt, 6.2)	122.95	124.1	123.9
11'	131.5		131.55	135.2	134.1
12'	25.7	1.66 (3H, s)	18.98	26.1	26.3
13'	17.7	1.58 (3H, s)	17.68	17.2	17.2
14'	16.0	1.60 (3H, s)	16.07	15.7	15.8
15'	19.0	1.48 (3H, s)	25.68	20.1	23.3
MAE				1.25	1.60
DP4				99 %	1 %

第4節 小括

Ferula communis の根の成分探索を行い、3 種の新規ファルネシル化クマリン **communiferulin A–C (1–3)**、14 種の新規ダウカン型セスキテルペン (**4–17**)、8 種のダウカン型セスキテルペン (**18–25**) を含む 13 種の既知化合物の計 30 種の化合物を単離した。新規化合物の構造は各種スペクトルデータの解析と計算化学的手法により明らかにした (Fig. 47)。また、既知ファルネシル化クロモン **ferchromone (30)** の立体構造を訂正した。

Communiferulin A–C (1–3) はいずれもクマリンの 3 位に結合したファルネシル基がジヒドロフラン環を形成した化合物であり、**communiferulin C (3)** は側鎖部分にさらにテトラヒドロフラン環を有していた。化合物 **1–3** はいずれもラセミ体として得られた。このうち化合物 **1** と **2** を光学分割し、得られたエナンチオマーの絶対立体配置を ECD スペクトルの実測値と計算値の比較により推定した。

化合物 **4–17** はいずれも高度に酸化されたダウカン型セスキテルペンであり、**16** と **17** は珍しい 1,5-*cis*-fused 構造を有していた。

今回成分探索を実施した植物材料はアシル化されたダウカン型セスキテルペンを数多く含有していた。単離したセスキテルペンのうち 6 位に *p*-メトキシベンゾイルオキシ基を有する化合物 **21** が主化合物として含有されており (4.9%)、他の多くのマイナー化合物も同様の置換基を有していた。これまで *F. communis* からは、*p*-ヒドロキシベンゾイルを有するダウカン型セスキテルペンが主含有成分として報告されているが⁵⁸⁾、今回研究を行った植物材料においては、それらを見出すことは出来ず、単離したセスキテルペンは酸化度が高いという特徴を有していた。

今回成分研究を行った植物材料はアメリカの種苗業者から購入したものである。これまでの成分研究報告は、ヨーロッパ原産の *F. communis*⁵⁸⁾であることから、生育栽培環境が異なるために含有成分の種類に差異が生じた可能性も考えられる。

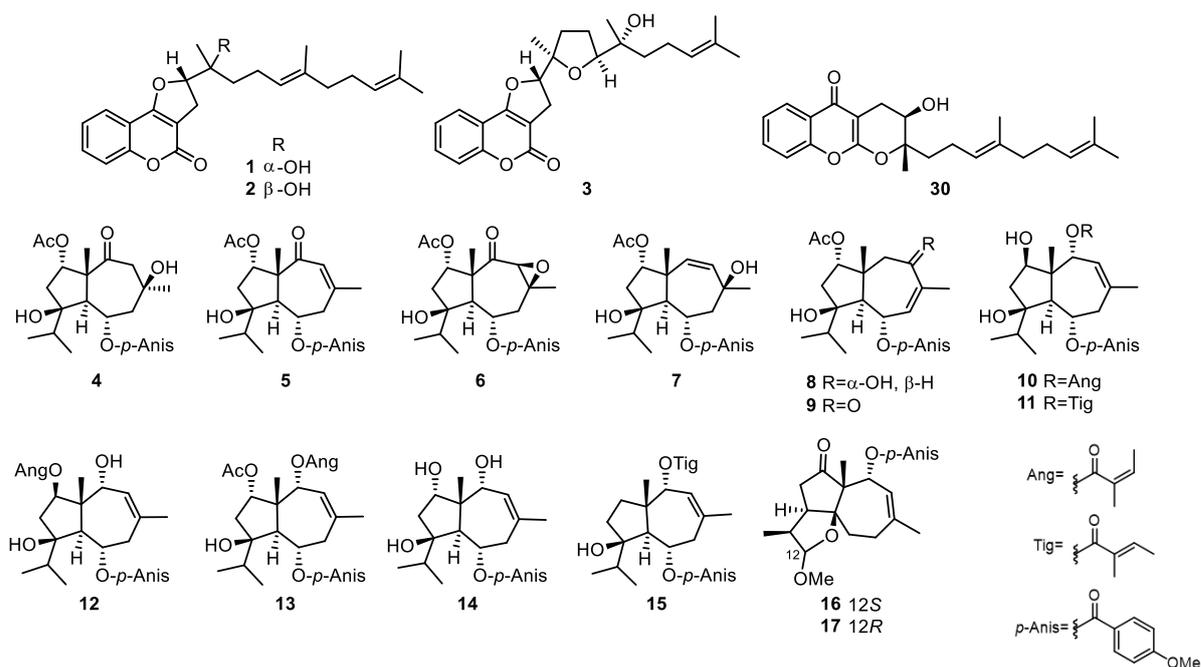


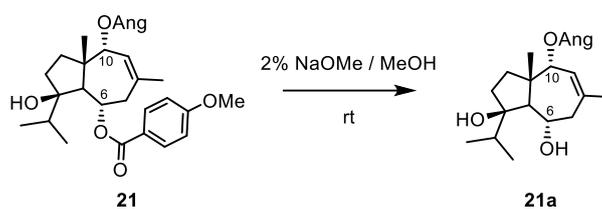
Figure 47. Isolated new farnesylated coumarins (**1–3**), new daucane-type sesquiterpenes (**4–17**), and ferchromone (**30**) from the roots of *F. communis*.

第3章 セスキテルペンの化学修飾

第1節 ダウカン型セスキテルペン芳香族カルボン酸エステル誘導体の合成

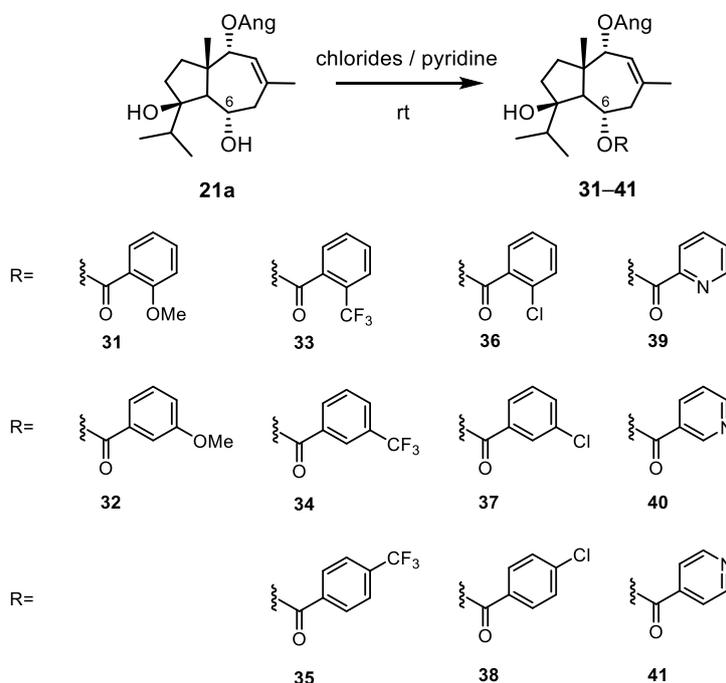
ダウカン型セスキテルペンライブラリを構築するため、*F. communis* 根の成分探索で単離量の多かった化合物 **21** の6位の置換基を化学修飾し、誘導体を合成した。

化合物 **21** を2% NaOMe/MeOH で処理し、6位の *p*-メトキシベンゾイルオキシ基が加溶媒分解された生成物 **21a** を得た (Scheme 2)。



Scheme 2. Solvolysis of **21**.

次に、化合物 **21a** の6位に種々の芳香族カルボン酸エステルを導入した。すなわち、化合物 **21a** をピリジン溶液中、各種クロライドと反応させることで誘導体11種 (**31–41**) を合成した (Scheme 3)。



Scheme 3. Chemical modification of compound **21a**.

第2節 小括

セリ科 *F. communis* の成分研究により得たダウカン型セスキテルペンのうち、単離量の多かった化合物 **21** の6位の *p*-メトキシベンゾイルオキシ基を種々の芳香族カルボン酸エステルに変換した誘導体を合成した。

化合物 **21** を2% NaOMe/MeOH で加溶媒分解し、6位の *p*-メトキシベンゾイルオキシ基が加溶媒分解された生成物 **21a** を得た。さらに **21a** に種々の芳香族カルボン酸エステルを導入し、誘導体11種 (**31–41**) を合成した (Fig. 48)。化合物 **31–41** と *F. communis* 根より単離したダウカン型セスキテルペン 22種を合わせて合計33種のセスキテルペンライブラリを構築した。

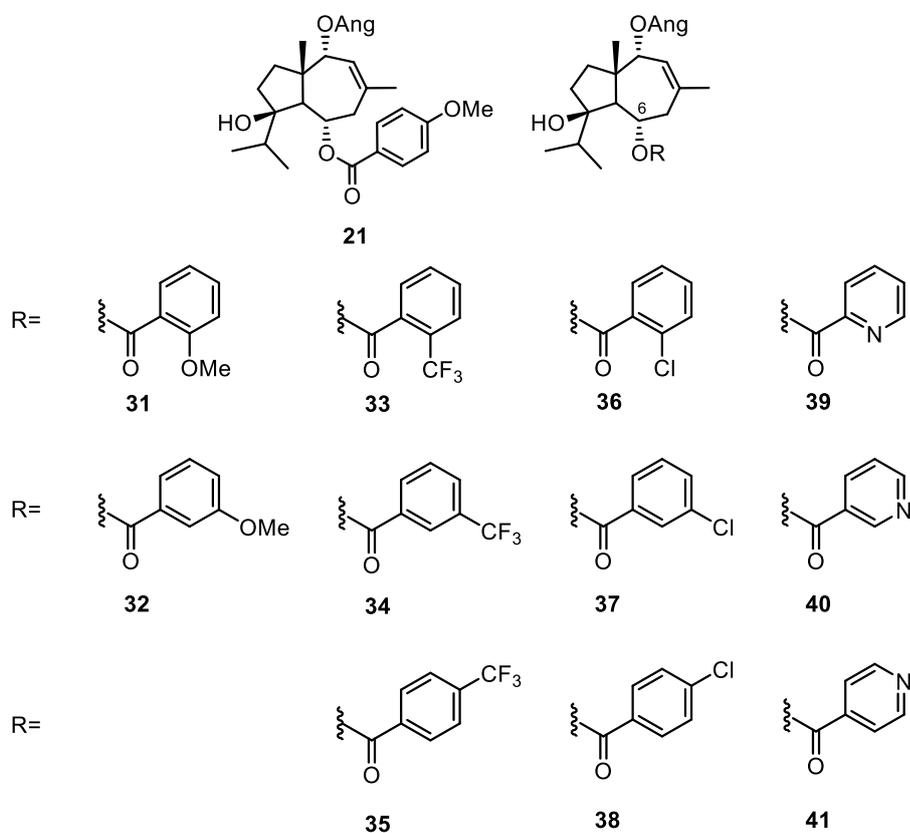


Figure 48. Structures of compounds **31–41** prepared from **21**.

第4章 生物活性の評価

F. communis より単離した化合物と合成した誘導体について、抗神経炎症活性、フェロトリーシス抑制活性、および AMPK リン酸化促進活性を評価した。

第1節 抗神経炎症活性の評価

セスキテルペンライブラリ (**4–15**, **18**, **19**, **21**, **22**, and **31–41**) とファルネシル化クマリン (**1** and **2**)、ファルネシル化クロモン (**30**) (Fig. 49) について、LPS 刺激下におけるマウスミクログリア細胞からの IL-1 β 遊離阻害活性を評価した。その結果、化合物 **9** (EC₅₀ 2.6 μ M)、**13** (2.5 μ M)、および **30** (3.1 μ M) が顕著な IL-1 β 遊離阻害活性を示した (Table 10)。化合物 **9** は9位に α,β -不飽和ケトン基を有するが、9位が水酸基に還元された化合物 **8** では活性が低下した。化合物 **13** は2位にアセトキシ基、10位にアングロイルオキシ基を有している。10位に置換基がない化合物 (**18**) では活性が著しく低下した。また、天然物 **21** は活性を示さなかったが、**21** の6位の *p*-メトキシベンゾイルオキシ基を化学修飾した誘導体のうちいくつかは活性が向上し、特に2-クロロベンゾイル基を有する **36** (EC₅₀ 8.7 μ M) は誘導体のうち最も低濃度で IL-1 β 遊離阻害活性を示した。

なお、セスキテルペンライブラリの化合物は評価した濃度では細胞毒性を示さなかったが、ファルネシル化クマリン **1** (IC₅₀: 92.5 μ M) と **2** (56.4 μ M)、ファルネシル化クロモン **30** (30.6 μ M) には細胞毒性がみられた。

Table 10. Inhibitory effect of **1**, **2**, **4–15**, **18**, **19**, **21**, **22**, **30**, and **31–41** against IL-1 β release from LPS-stimulated murine microglial cells.

	1	2	4	5	6	7	8	9	10	11
EC ₅₀ (μ M)	26.6	19.4	45.5	>50	22.0	37.8	44.1	2.6	16.3	31.7
	12	13	14	15	18	19	21	22	30	31
EC ₅₀ (μ M)	16.2	2.5	17.4	11.8	>50	31.8	>50	>50	3.1	>50
	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
EC ₅₀ (μ M)	>50	25.1	36.9	17.0	8.7	8.9	27.7	18.6	28.1	28.0

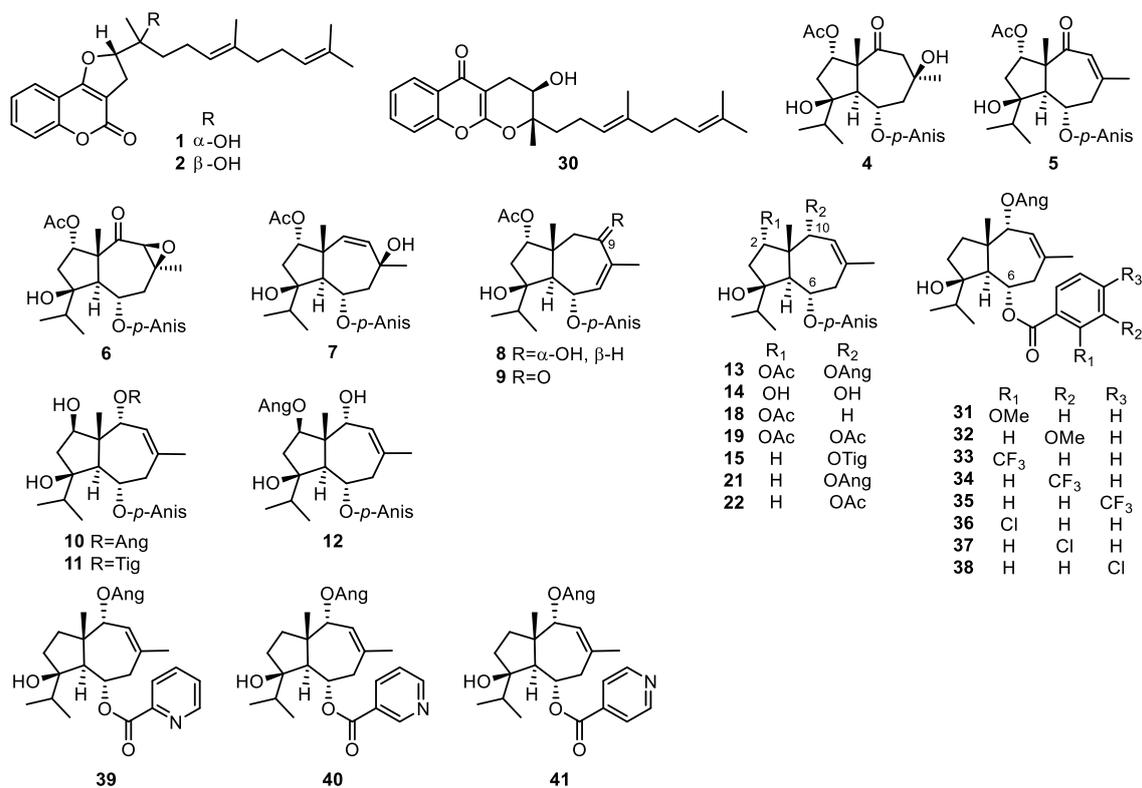


Figure 49. Compounds evaluated their inhibitory effect against IL-1 β release from LPS-stimulated murine microglial cells.

第2節 フェロトーシス抑制活性の評価

セスキテルペンライブラリ (4–15, 18, 19, 21, 22, and 31–41, Fig. 51) について、ヒト肝がん Hep3B 細胞を用いてエラスチンにより誘導されるフェロトーシスに対する抑制活性を 10 μM の濃度で評価した。その結果、化合物 10、18、および 35 を除く化合物にフェロトーシス抑制活性が見出された。特に天然物 12、15、および 19 は最も強いフェロトーシス抑制活性を示し、細胞生存率が約 70% まで回復した (Fig. 50)。化合物 10 と 11、および 15 と 21 を比較すると、10 位の置換基がアングロイルオキシ基よりもチグロイルオキシ基の方が強い活性を示していた。天然物 21 とその誘導体 31–41 では活性に大きな差が見られなかったことから、6 位の芳香族カルボン酸エステルの構造はフェロトーシス抑制活性の発現に大きな影響を与えないことが示唆された。

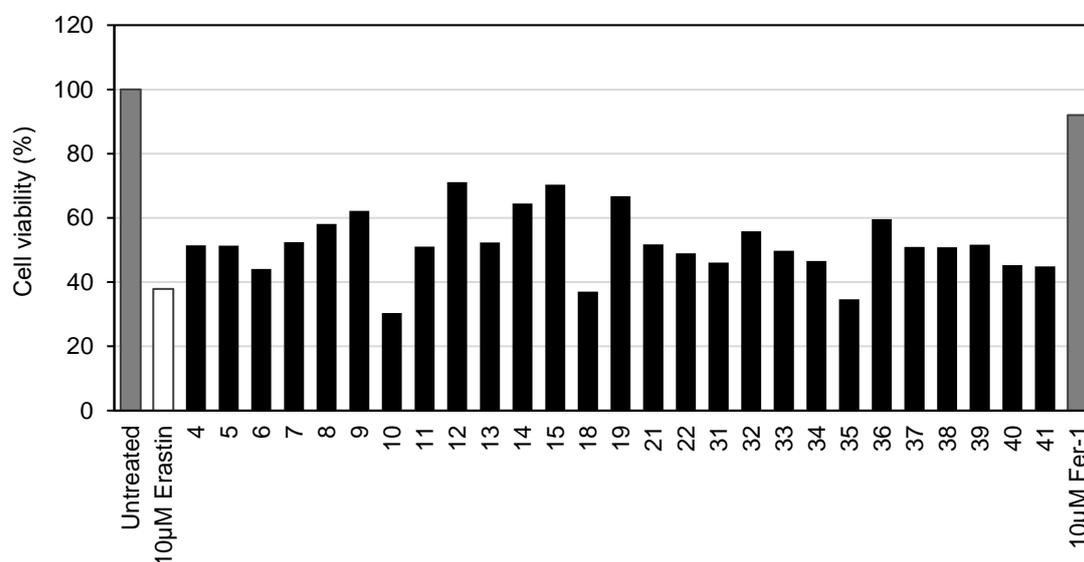


Figure 50. Anti-ferroptosis activity of 4–15, 18, 19, 21, 22, and 31–41 at 10 μM on erastin-treated hepatoma Hep3B cells.

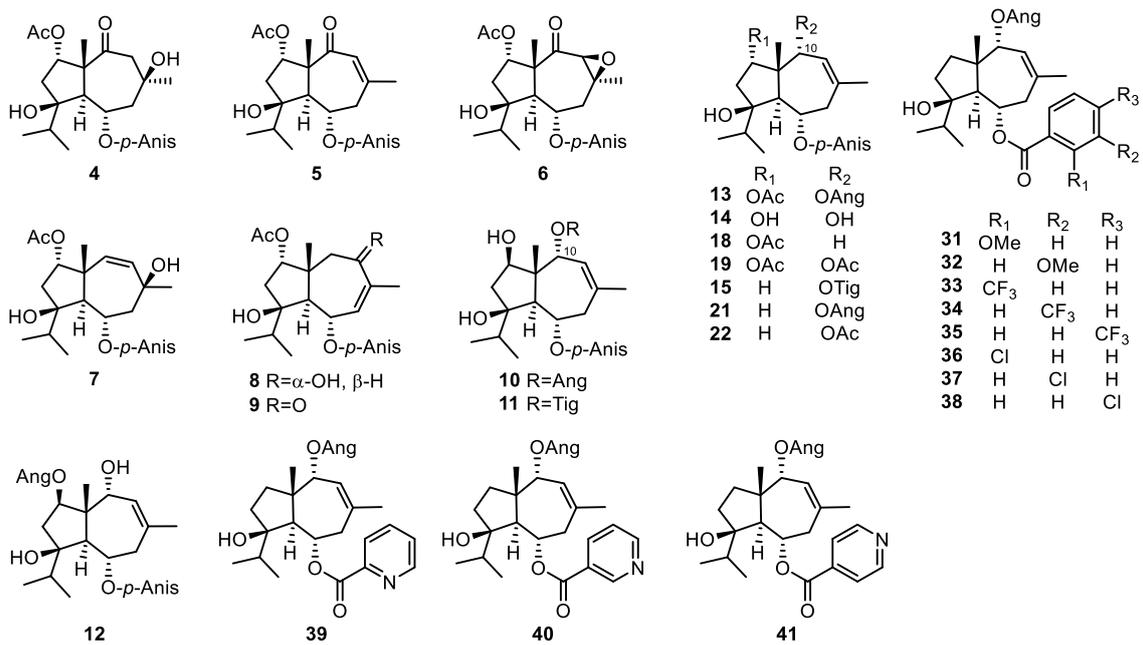


Figure 51. Sesquiterpenes evaluated their anti-ferroptosis activity.

第3節 AMPK リン酸化促進活性の評価

セスキテルペンライブラリ (**12**, **13**, **15**, **18–22**, **25**, **21a**, and **31–41**) とフェニルプロパノイド **27–29** (Fig. 53) について、ヒト肝がん HepG2 細胞を用いて AMPK リン酸化促進活性を 10 μ M でスクリーニングした。その結果、誘導体 **34**、**35**、および **39** に AMPK のリン酸化を促進する傾向が確認された (Fig. 52)。そこで誘導体 **34**、**35**、および **39**、ならびにそれらの誘導化の出発物質である天然物 **21** について、さらに検討した。

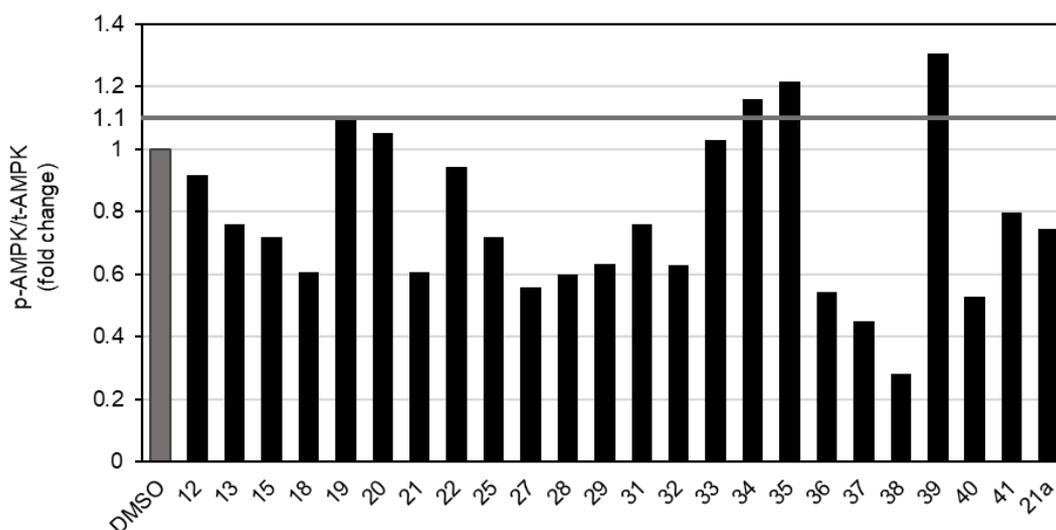


Figure 52. AMPK phosphorylation activity of **12**, **13**, **15**, **18–22**, **25**, **27–29**, **31–41**, and **21a**.

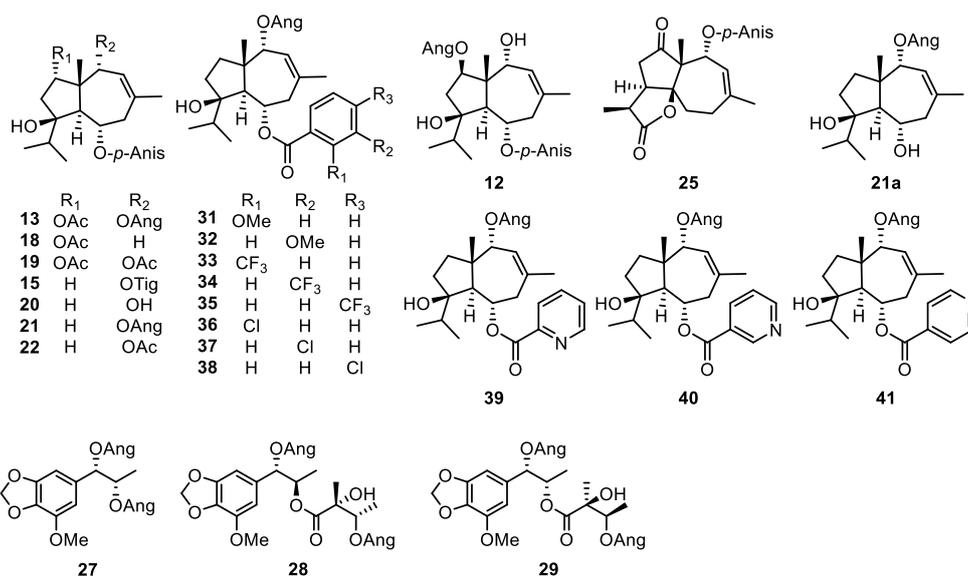


Figure 53. Sesquiterpenes and phenylpropanoids evaluated their AMPK phosphorylation activity in HepG2 cells.

天然物 **21** と誘導体 **34**、**35**、および **39** について、ヒト肝がん HepG2 細胞に対する AMPK リン酸化促進活性を 30 μ M の濃度で評価した。ポジティブコントロールとして AICAR を用いた。ウエスタンブロット法で検出したバンド (Fig. 54A) の濃さを数値化し、t 検定もしくは tukey 法で検定した結果、化合物 **35** が有意に AMPK のリン酸化を促進することが明らかになった (Fig. 54B and 54C)。なお、化合物 **21**、**34**、**35**、および **39** は 30 μ M の濃度では HepG2 細胞に対して細胞毒性を示さなかった。

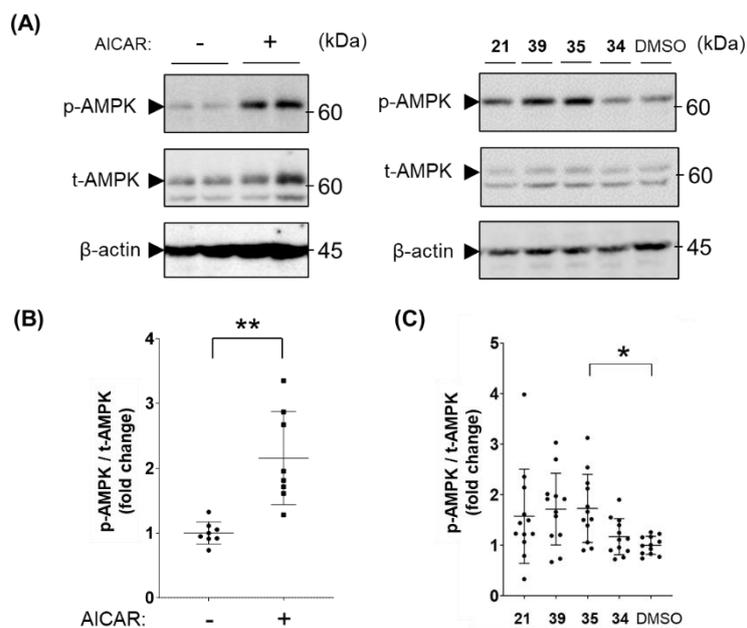


Figure 54. AMPK phosphorylation induced by compounds **21**, **34**, **35**, **39** and AICAR (positive control) in HepG2 cells. (A) Representative immunoblot images of p-AMPK, t-AMPK and β -actin. (B) Densitometric analysis of AICAR (n=8). Statistical significance was assessed by Student's t-test. Means \pm SD, **P<0.01. (C) Densitometric analysis of compounds **21**, **34**, **35** and **39** (n=12). Statistical significance was assessed by Tukey's multiple comparisons test. Means \pm SD, *P<0.05.

第4節 小括

Ferula communis 根部の抽出物から作成したセスキテルペンライブラリとファルネシル化クマリン等の抗神経炎症活性、フェロトーシス抑制活性、および AMPK リン酸化促進活性を評価した。

抗神経炎症活性の評価では、LPS 刺激下におけるマウスミクログリア細胞において化合物 **9**、**13**、および **30** が LPS 刺激によるマウスミクログリア細胞からの IL-1 β の遊離を顕著に阻害した。また、セスキテルペンの 6 位に結合した芳香族エステルの構造変換により一部の化合物に阻害活性の向上が見られた。

Hep3B 細胞を用いたフェロトーシス抑制活性の評価では、化合物 **10**、**18**、および **35** を除く化合物が、エラスチンにより誘導されるフェロトーシスを阻害することが見出された。このうち、化合物 **12**、**15**、および **19** が中程度フェロトーシスを阻害し、細胞生存率が約 70% まで回復した。

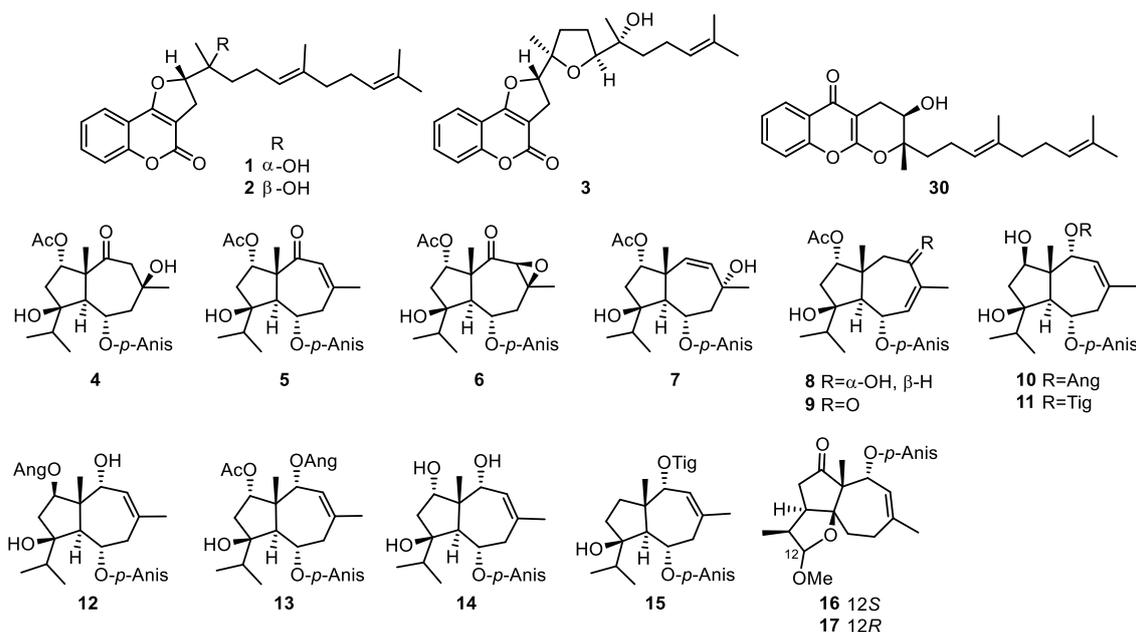
HepG2 細胞を用いた AMPK リン酸化促進活性の評価では、10 μ M の濃度におけるスクリーニングで、誘導體 **34**、**35**、および **39** に AMPK のリン酸化を促進する傾向が確認された。これらの誘導體と誘導化の出発物質である天然物 **21** について、30 μ M の濃度でさらに検討したところ、誘導體 **35** が有意に AMPK のリン酸化を促進することが明らかになった。

結語

健康寿命に寄与する医薬シードの単離を目的に、セリ科薬用植物 *F. communis* の根の成分探索を行い、3 種の新規ファルネシル化クマリン **communiferulin A–C (1–3)** と 14 種の新規ダウカン型セスキテルペン (**4–17**) を含む計 30 種の化合物を単離し、新規化合物の構造を各種スペクトルデータの解析と計算化学的手法を用いて明らかにした。また、既知ファルネシル化クロモン **ferchromone (30)** の立体構造を訂正した。

Communiferulin A–C (1–3) は、4-ヒドロキシクマリンの 3 位にファルネシル基が結合した構造である。**1** と **2** はジアステレオマーの関係であったが、連続する不斉炭素の相対立体配置が NMR スペクトルの解析では帰属できなかった。そこで計算化学的手法を用いて ^{13}C NMR スペクトルの実測値と計算値を比較し、**1** と **2** の相対立体配置を推定した。また、**1** と **2** はラセミ体であったため、光学分割した後、各エナンチオマーの絶対立体配置を ECD スペクトルの計算により推定した。

14 種の新規ダウカン型セスキテルペン (**4–17**) はいずれも *p*-メトキシベンズイル基を有し、セスキテルペンの酸化度が高いという特徴を有していた。**4–17** の構造は各種スペクトルデータの解析により明らかにした。



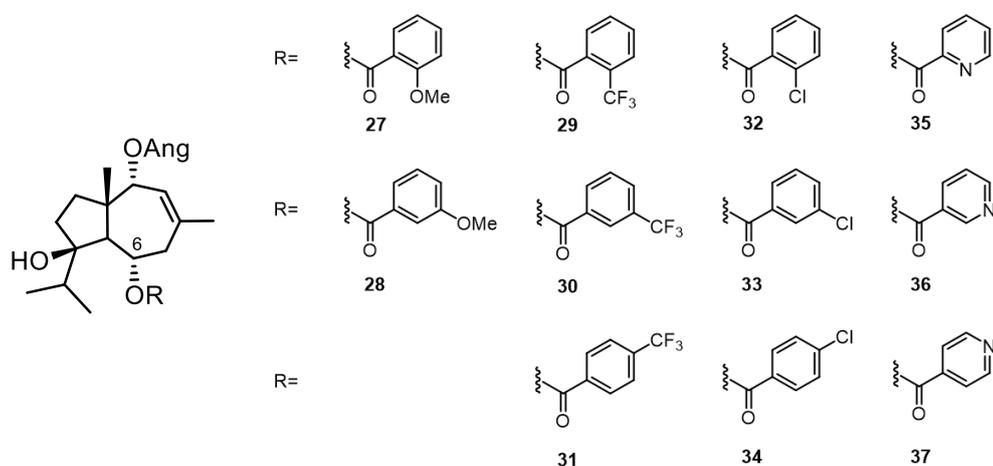
単離したダウカン型セスキテルペンのうち、**21**の化学修飾を行い、6位に種々の芳香族カルボン酸エステルを導入した誘導体 (**31–41**) を合成した。単離したセスキテルペンと合成した誘導体を合わせてセスキテルペンライブラリを構築した。

このライブラリに対して、抗神経炎症活性、フェルトーシス抑制活性、および AMPK リン酸化促進活性を評価した。その結果、化合物 **9** と **13** が抗神経炎症活性を、化合物 **12** と **15**、**19** がフェルトーシス抑制活性を、誘導体 **35** が AMPK リン酸化促進活性を示した。以上の結果から、これらの化合物が健康寿命の延伸に寄与する可能性が示唆された。

中国最古の薬物書である神農本草経では、生薬をその薬効や毒性の強弱によって上品、中品、下品の3種類に分類している。そのなかでも上品は「命を養う」薬とされ、長期間服用しても害がなく、健康を保つ、不老長寿の薬とされている。すなわち、上品生薬は疾病の治療ではなく、健康の維持（未病の治療）を目的として用いられるものであり、その含有成分は健康を維持するなんらかの作用を有していると考えられる。

神農本草経の観点から現在医薬品として使用される天然物を考えた場合、ペニシリン G やストレプトマイシンなどの抗生物質やドキソルビシンやブレオマイシンなどの抗がん剤を筆頭に、下品的（疾患の治療が目的）な作用を示すものが多い。一方、穏やかな生物活性で副作用を示さず、長期服用が可能な、上品的な生物活性を有する天然物はこれまで医薬リードとしてはあまり注目されていなかった。だが、高齢者を含む現代人の健康のサポートに、上品的な作用を有する天然物が大きく貢献できると考えられる。

本研究により、薬用植物 *Ferula communis* から単離した二次代謝産物に健康寿命の延伸に貢献しうる生物活性を見出すことができた。今後さらに、「健康を維持する」ことを目的とした天然資源からの医薬シーズ探索研究が発展していくことを期待する。



実験の部

General Experimental Procedures.

Optical rotations and IR spectra were recorded on a JASCO P-2200 digital polarimeter and a JASCO FT/IR-6200 spectrophotometer (JASCO Corp., Japan), respectively. UV spectra were recorded using a Hitachi UV U-3900H spectrophotometer (Hitachi High-Tech Science Corp., Japan). CD spectra were recorded on a JASCO J-1500 spectrophotometer (JASCO Corp.). NMR spectra were measured by Bruker Avance 500 spectrometer and Bruker Avance 400 spectrometer (Bruker, USA). The resonances of residual chloroform (δ_{H} 7.26 and δ_{C} 77.0), methanol (δ_{H} 3.30 and δ_{C} 49.0), pyridine (δ_{H} 8.71), and benzene (δ_{H} 7.15) were used as internal references for the ^1H and ^{13}C NMR spectra. HRESIMS spectra were recorded on a Waters LCT PREMIER 2695 (Waters Corp., USA). Column chromatographies were performed with Sephadex LH-20 (25-100 μm , GE Health Care Bio-Sciences AB, Sweden), YMC gel ODS-A (YMC Co. Ltd., Japan), and silica gel 60N (63-210 μm , Kanto Chemical Co., Inc. Japan). HPLCs were performed on Cosmosil 5C₁₈-AR-II (ϕ 10 x 250 mm, Nacalai Tesque, Inc., Japan), Cosmosil 5SL-II (ϕ 20 x 250 mm and ϕ 10 x 250 mm), YMC-Triart C18 (ϕ 20 x 250 mm, YMC CO., Ltd.), YMC-Chiral Art Cellulose-SC (ϕ 4.6 x 250 mm), and Mightysil Si60 (ϕ 10 x 250 mm, Kanto Chemical Co., Inc.).

Chapter 2

2.1 Plant material.

Potted plants of *Ferula communis* 'cretan Gold' (FEC201507) were purchased from the Plant Delight Nursery, North Carolina, USA.

2.2 Extraction and Isolation.

The dried roots of *Ferula communis* (556 g) were crushed, and then extracted with acetone for three times to give the extract. The residues were further extracted with MeOH at 55 °C. The MeOH extract (25.3 g) was partitioned between CHCl_3 and 50 % aqueous MeOH. The CHCl_3 -soluble material was combined with the acetone extract and subject to silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 9:1 to 3:2) to yield 15 fractions (frs. 1–15). Compound **24** (27.4 mg) was isolated from fr. 3 (1.2 g) by silica gel column chromatography (toluene/EtOAc, 60:1 to 5:1). Fractionation of fr. 4 by silica gel column chromatography (toluene/EtOAc, 40:1 to 5:1) gave eight fractions (frs. 4.1–8). Fractionation of fr. 4.3 by silica gel column chromatography (toluene/acetone, 120:1 to 10:1) gave six fractions (frs. 4.3.1–6). Purification of fr. 4.3.4 by silica gel HPLC (Cosmosil 5SL-II, ϕ 20 x 250 mm, flow rate 6.0 mL/min; UV detection 254 nm; *n*-hexane/EtOAc, 97:3) afforded laserine (**26**, 2.6 mg) and 2-*epi*-laserine (**27**, 8.7 mg). Silica gel column chromatography (toluene/acetone, 100:1 to 30:1) of fr. 4.6

gave compound **23** (161.2 mg). Separation of fr. 5 on a Sephadex LH-20 column (MeOH) and a silica gel column (toluene/EtOAc, 20:1 to 2:1) afforded 16 fractions (frs. 5.1–16) including compound **21** (2.2 g, fr.5.6). Fr. 5.4 was applied to silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 15:1 to 6:1) to yield compound **23** (31.4 mg). Fr.5.7 was separated by a silica gel column (*n*-hexane/acetone, 10:1 to 3:1) and purified by silica gel HPLC (Cosmosil 5SL-II, ϕ 20 x 250 mm, flow rate 6.0 mL/min; UV detection 254 nm; *n*-hexane/EtOAc, 92:8) to give compound **15** (14.3 mg). Fr. 5.8 was applied to silica gel column chromatography (*n*-hexane/acetone, 10:1 to 4:1) and ODS HPLC (YMC-Triart C18, ϕ 20 x 250 mm, flow rate 5.0 mL/min; UV detection 254 nm; MeOH/H₂O, 80:20) to give compound **18** (7.0 mg). Fr. 5.11 was purified by silica gel HPLC (Cosmosil 5SL-II, ϕ 20 x 250 mm, flow rate 6.0 mL/min; *n*-hexane/EtOAc, 87:13) to furnish compound **20** (1.3 mg). Fr. 5.13 was separated by silica gel column chromatography eluting with *n*-hexane/EtOAc (10:1 to 5:5) and then CHCl₃/acetone (98:2 to 95:5) to give five subfractions (frs. 5.13.1–5.13.5). HPLC separation of fr. 5.13.3 on COSMOSIL 5SL-II with *n*-hexane/EtOAc (75:25) furnished communiferulins A (**1**, 4 mg), B (**2**, 2 mg), and C (**3**, 1 mg). Fr. 5.15 was applied to silica gel column chromatography with CHCl₃/MeOH (1:0 to 9:1), and then purified by ODS HPLC (YMC-Triart C18, ϕ 20 x 250 mm, flow rate 5.0 mL/min; UV detection 254 nm; MeCN/H₂O, 80:20) to give ferchromone (**30**, 10 mg).

Fractionation of fr. 6 (461 mg) by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 40:1 to 5:1) gave six fractions (frs. 6.1–6). Fr. 6.4 was separated by silica gel column chromatography (*n*-hexane/acetone, 12:1 to 3:1) to give five fractions including helmanticine (**28**, 56.1 mg) as fr. 6.4.3. Compound **22** (10.6 mg) was isolated from fr. 6.4.2 by silica gel column chromatography (toluene/acetone, 40:1 to 10:1). Separation of fr. 6.5 on a silica gel column (toluene/EtOAc, 10:1 to 2:1) afforded 11 fractions (frs. 6.5.1–11). Purification of fr. 6.5.4 by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 6:1 to 3:1) gave compound **9** (2.9 mg), while compound **8** (0.9 mg) was purified from fr. 6.5.8 by ODS HPLC (Cosmosil 5C₁₈ AR-II, ϕ 10 x 250 mm, flow rate 3.0 mL/min; UV detection 254 nm; MeOH/H₂O, 75:25). Fractionation of fr. 8 by silica gel column chromatography (toluene/EtOAc, 20:1 to 6:1) gave 11 fractions (frs. 8.1–8.11) including compound **13** (53.4 mg, fr. 8.8), of which fr 8.3 was further separated by silica gel HPLC (Cosmosil 5SL-II, ϕ 20 x 250 mm, flow rate 5.0 mL/min; UV detection 254 nm; *n*-hexane/isopropanol, 99:1) to isolate helmanticine (**28**, 9.3 mg), 2-*epi*-helmanticine (**29**, 13.5 mg), and compound **12** (25.6 mg). Compound **19** (268.2 mg) was isolated from fr. 11 by recrystallized (MeOH). Separation of fr. 13 on a silica gel column (CHCl₃/acetone, 1:0 to 8:2) afforded eight fractions (frs. 13.1–8). Compound **25** (77.8 mg) was isolated from fr. 13.2 by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 4:1 to 1:1). Purification of fr. 13.2.2 by silica gel HPLC (Mightysil Si60, ϕ 10 x 250 mm, flow rate 3.0 mL/min; UV detection 220 nm; *n*-hexane/EtOAc, 85:15) afforded compound **17** (0.3 mg). In the same way, compound **16** (1.9 mg) was obtained from fr. 13.2.3. Fr. 14 was subjected to silica gel column chromatography (CHCl₃/acetone, 1:0 to 7:3) to afford 11 fractions (frs. 14.1–11). Purification of fr. 14.2 by silica gel

HPLC (Mightysil Si60, ϕ 10 x 250 mm, flow rate 3.0 mL/min; UV detection 254 nm; *n*-hexane/EtOAc, 8:2) afforded compounds **16** (2.4 mg) and **17** (2.6 mg). Fr. 14.4 was further separated by silica gel column chromatography (toluene/EtOAc, 8:1 to 2:1) and fr. 14.4.2 was purified by silica gel HPLC (Cosmosil 5SL-II, ϕ 20 x 250 mm, flow rate 5.0 mL/min; UV detection 254 nm; *n*-hexane/EtOAc, 8:2) to give compound **6** (1.5 mg). Purification of fr. 14.4.4 by silica gel HPLC (Cosmosil 5SL-II, ϕ 20 x 250 mm, flow rate 5.0 mL/min; UV detection 254 nm; *n*-hexane/EtOAc, 75:25) gave compounds **5** (5.7 mg) and **7** (3.7 mg). Fractionation of fr. 14.6 by ODS column chromatography eluting with MeOH/H₂O (6:4 to 1:0) gave 8 fractions (frs. 14.6.1–8). Purification of fr. 14.6.6 by silica gel HPLC (Mightysil Si60, ϕ 10 x 250 mm, flow rate 3.0 mL/min; UV detection 254 nm; *n*-hexane/EtOAc, 6:4) yielded compound **14** (3.5 mg). Purification of fr. 14.6.7 by silica gel HPLC (Cosmosil 5SL-II, ϕ 20 x 250 mm, flow rate 5.0 mL/min; UV detection 254 nm; *n*-hexane/isopropanol, 97:3) afforded compounds **10** (19.5 mg) and **11** (2.9 mg). Compound **4** (12.8 mg) was isolated from fr. 14.7 by ODS column chromatography (MeOH/H₂O, 6:4 to 1:0).

2.3.1 communiferulin A (1): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{27} \approx 0$ (*c* 0.49, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3442, 2925, 1707, 1646, and 1417 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 227 (ϵ 16,300 sh), 289 (11,400 sh), and 312 (12,000 sh) nm; ¹H and ¹³C NMR (Table 1); HRESIMS *m/z* 405.2047 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₄H₃₀O₄Na, 405.2042).

2.3.2 communiferulin B (2): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{27} \approx 0$ (*c* 0.19, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3443, 2934, 1707, 1645, and 1419 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 227 (ϵ 14,600 sh), 289 (10,300 sh), and 312 (10,400 sh) nm; ¹H and ¹³C NMR (Table 1); HRESIMS *m/z* 405.2035 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₄H₃₀O₄Na, 405.2042).

2.3.3 communiferulin C (3): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{27} \approx 0$ (*c* 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3444, 2928, 1725, 1648, and 1416 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 228 (ϵ 8,600 sh), 290 (7,500 sh), and 313 (7,900 sh) nm; ¹H and ¹³C NMR (Table 3); HRESIMS *m/z* 421.2000 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₄H₃₀O₅Na, 421.1991).

2.3.4 compound 4: colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{24} +79.2$ (*c* 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3443, 1698, 1605, and 1512 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 255 (ϵ 11,600) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) +1.3 (291) and -1.2 (236); ¹H and ¹³C NMR (CDCl₃, Tables 4 and 5), ¹H NMR (C₆D₆) δ_H 8.12 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2' and H-6'), 6.67 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3' and H-5'), 6.02 (1H, m, H-6), 5.35 (1H, m, *J* = 3.0 Hz, H-2), 3.18 (1H, d, *J* = 10.3 Hz, H-5), 3.15 (3H, s, OMe), 2.97 (1H, d, *J* = 13.9 Hz, H-9a), 2.74 (1H, d, *J* = 13.9 Hz, H-9b), 2.21 (1H, m, H-11), 2.19 (1H, dd, *J* = 10.7, 4.4 Hz, H-7a), 2.02 (2H, m, *J* = 3.0 Hz, H-3), 1.78 (1H, dd, *J* = 10.7, 7.3 Hz, H-7b), 1.63 (3H, s, H₃-15), 1.59 (3H, s, OAc), 1.15 (3H, s, H₃-14), 0.92

(3H, d, $J = 6.6$ Hz, H₃-13), 0.79 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H₃-12); HRESIMS: m/z 485.2156 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₅H₃₄O₈Na, 485.2151).

2.3.5 compound 5: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{25}_D +85.8$ (c 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3487, 1703, 1606, and 1514 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 257 (ϵ 7,600) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) -2.3 (318), +4.1 (258), and -4.3 (215); ¹H and ¹³C NMR (Tables 4 and 5); HRESIMS: m/z 467.2020 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₅H₃₂O₇Na, 467.2046).

2.3.6 compound 6: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{25}_D +33.7$ (c 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3460, 1719, 1606, and 1512 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 259 (ϵ 10,800) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) -0.2 (288), +1.0 (260), and -2.6 (216); ¹H and ¹³C NMR (Tables 4 and 5); HRESIMS: m/z 459.2028 [M-H]⁻ (calcd for C₂₅H₃₁O₈, 459.2019).

2.3.7 compound 7: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{25}_D -24.7$ (c 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3484, 1716, 1606, and 1512 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 257 (ϵ 11,800) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) -0.8 (279), -0.4 (260), and -4.9 (213); ¹H and ¹³C NMR (Tables 4 and 5); HRESIMS: m/z 469.2208 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₅H₃₄O₇Na, 469.2202).

2.3.8 compound 8: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{25}_D +55.2$ (c 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3448, 1711, 1608, and 1511 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 258 (ϵ 8,900) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) +0.9 (261) and -4.2 (217); ¹H and ¹³C NMR (Tables 5 and 7); HRESIMS: m/z 469.2173 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₅H₃₄O₇Na, 469.2202).

2.3.9 compound 9: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{20}_D +103.2$ (c 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3406, 1716, 1606, and 1510 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 258 (ϵ 18,000) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) -2.7 (317), +6.6 (256), and -2.8 (210); ¹H and ¹³C NMR (Tables 5 and 7); HRESIMS: m/z 467.2033 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₅H₃₂O₇Na, 467.2046).

2.3.10 compound 10: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{24}_D -87.3$ (c 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3470, 1703, 1606, and 1511 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 257 (ϵ 14,000) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) +1.2 (261) and -15.8 (218); ¹H and ¹³C NMR (Tables 5 and 7); HRESIMS: m/z 509.2512 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₈H₃₈O₇Na, 509.2515).

2.3.11 compound 11: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{24}_D -61.6$ (c 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3476, 1708, 1606, and 1512 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 258 (ϵ 10,000) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) +2.0 (260) and -4.5 (207); ¹H and ¹³C NMR (Tables 5 and 7); HRESIMS: m/z 509.2506 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₈H₃₈O₇Na,

509.2515).

2.3.12 compound 12: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{21}_D +30.0$ (*c* 0.05, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3470, 1692, 1607, and 1512 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 257 (ϵ 8,200) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) +4.1 (257), -0.8 (231), +1.1 (216), and -2.0 (207); ¹H and ¹³C NMR (Tables 5 and 7); HRESIMS: *m/z* 509.2510 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₈H₃₈O₇Na, 509.2515).

2.3.13 compound 13: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{25}_D -63.8$ (*c* 0.05, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3476, 1715, 1606, and 1512 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 258 (ϵ 8,100) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) +1.5 (261) and -10.7 (214); ¹H and ¹³C NMR (Tables 5 and 8); HRESIMS: *m/z* 551.2643 [M+Na]⁺ (calcd for C₃₀H₄₀O₈Na, 551.2621).

2.3.14 compound 14: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{24}_D +34.9$ (*c* 0.10, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3460, 1692, 1606, and 1511 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 257 (ϵ 11,500) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) +3.8 (259), 0.0 (228), +0.5 (219), and +0.2 (212); ¹H and ¹³C NMR (Tables 5 and 8); HRESIMS: *m/z* 427.2102 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₃H₃₂O₆Na, 427.2097).

2.3.15 compound 15: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{25}_D -93.7$ (*c* 0.05, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3443, 1706, 1606, and 1512 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 257 (ϵ 6,400) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) +4.8 (257) and -2.7 (207); ¹H and ¹³C NMR (Tables 5 and 8); HRESIMS: *m/z* 493.2568 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₈H₃₈O₆Na, 493.2566).

2.3.16 compound 16: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{26}_D -151.2$ (*c* 0.10, CHCl₃); UV (MeOH) λ_{\max} 259 (ϵ 11,600) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) -2.2 (260), +2.0 (218), and -23.0 (202); ¹H and ¹³C NMR (CDCl₃, Tables 5 and 8), ¹H NMR (pyridine) δ_H 8.16 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-2' and H-6'), 6.98 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-3' and H-5'), 5.86 (2H, m, H-9 and H-10), 4.75 (1H, d, *J* = 5.5 Hz, H-12), 3.65 (3H, s, 12-OMe), 3.48 (3H, s, 4'-OMe), 3.04 (1H, m, H-4), 2.74 (1H, m, H-11), 2.66 (1H, m, H-6a), 2.60 (1H, m, H-7a), 2.45 (2H, d, *J* = 9.7 Hz, H-3), 2.41 (1H, dd, *J* = 12.9, 7.2 Hz, H-6b), 2.10 (1H, dd, *J* = 16.8, 6.3 Hz, H-7b), 1.66 (3H, brs, H₃-14), 1.34 (3H, s, H₃-15), 1.05 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H₃-13); HRESIMS: *m/z* 437.1949 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₄H₃₀O₆Na, 437.1940).

2.3.17 compound 17: colorless amorphous solid; $[\alpha]^{23}_D -324.0$ (*c* 0.10, CHCl₃); UV (MeOH) λ_{\max} 259 (ϵ 12,600) nm; ECD $\Delta\epsilon$ (nm) -2.6 (260), +2.5 (218), and -24.8 (202); ¹H and ¹³C NMR (CDCl₃, Tables 5 and 8), ¹H NMR (pyridine) δ_H 8.16 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2' and H-6'), 7.01 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3' and H-5'), 5.87 (1H, brd, *J* = 7.6 Hz, H-9), 5.82 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-10), 4.81 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-12), 3.67 (3H, s, 4'-OMe), 3.4 (3H, s, 12-OMe), 2.95 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3a), 2.90 (1H,

m, H-4), 2.75 (1H, m, H-6a), 2.68 (1H, m, H-7a), 2.59 (1H, m, H-11), 2.45 (1H, m, H-3b), 2.08 (1H, m, H-6b), 2.05 (1H, m, H-7b), 1.66 (3H, brs, H₃-14), 1.34 (3H, s, H₃-15), 1.02 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13); HRESIMS: m/z 437.1929 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₄H₃₀O₆Na, 437.1940).

2.3.18 ferchromone (30): colorless amorphous solid; $[\alpha]^{27}_D \approx 0$ (c 0.28, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3393, 2921, 1614, 1561, 1468 and 1429 cm⁻¹; UV (MeOH) λ_{\max} 226 (ϵ 22,100 sh), 277 (12,600 sh), and 299 (9,300 sh) nm; ¹H and ¹³C NMR (Table 9); HRESIMS m/z 381.2076 [M-H]⁻ (calcd for C₂₄H₂₉O₄, 381.2066).

2.4 Chiral HPLC analyses and optical resolutions of 1–3 and 30.

Optical resolutions of communiferulins A (**1**) and B (**2**), and ferchromone (**30**) with YMC-Chiral Art Cellulose-SC {flow rate 0.8 mL/min for **1**; 1.0 mL/min for **2** and **30**, UV detection 254 nm, *n*-hexane/EtOAc (85:15 for **1**; 1:1 for **2**; 7:3 for **30**), at rt} gave their enantiomers in the integral ratio of ca 1:1. Analysis of communiferulin C (**3**) was carried out with YMC-Chiral Art Cellulose-SC {flow rate 0.8 mL/min, UV detection 254 nm, *n*-hexane/EtOAc (8:2) at rt} to give peaks of (+)-**3** (t_R 60.0) and (–)-**3** (t_R 62.0) in the integral ratio of ca 1:1.

(+)-**1**: t_R 20.7 min; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) +2.1 (290), +0.5 (251), and +4.5 (219); $[\alpha]^{25}_D +43.6$ (c 0.04, CHCl₃).

(–)-**1**: t_R 21.5 min; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) –2.1 (290), –0.02 (251), and –4.2 (220); $[\alpha]^{25}_D -51.1$ (c 0.04, CHCl₃).

(+)-**2**: t_R 6.8 min; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) +0.8 (287), +0.1 (248), +2.6 (218); $[\alpha]^{25}_D +24.3$ (c 0.10, CHCl₃).

(–)-**2**: t_R 5.8 min; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) –2.8 (289), –0.4 (249), –7.6 (218); $[\alpha]^{25}_D -36.5$ (c 0.10, CHCl₃).

(+)-**30**: t_R 19.2 min; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) +1.5 (301), –2.4 (274), –0.8 (248), –4.7 (224), +5.4 (208); $[\alpha]^{25}_D +30.6$ (c 0.023, CHCl₃).

(–)-**30**: t_R 17.1 min; ECD (MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) –2.1 (301), +2.5 (274), 0 (248), +4.9 (225), –4.1 (208); $[\alpha]^{25}_D -18.6$ (c 0.025, CHCl₃).

2.5 Calculation of ¹³C NMR chemical shifts for 1 and 2.

Conformational searches and DFT calculations were carried out on Spartan 20 program (Wavefunction Inc., Irvine, CA, USA) and Gaussian 16 program⁵⁹, respectively. Conformational searches of **1** and **2** were conducted at Molecular Mechanics with MMFF to give initial conformers, which were optimized by the DFT method at the B3LYP/6-31G(d) level in the presence of MeOH with a polarizable continuum model (PCM). The stable conformers with Boltzmann distributions over 1 % of **1** and **2** were subjected to DFT calculations with the CAM-B3LYP/6-31G(d,p) in CHCl₃ (PCM)

to afford the magnetic shielding values. Then, the ^{13}C chemical shifts were computed using a multi-standard approach⁶⁰). The calculated ^{13}C chemical shifts were constructed after corrections based on the Boltzmann distributions of the stable conformers. DP4 probability scores were estimated according to the Goodman's report⁶¹). The DP4 probability scores were calculated according to the Goodman's parameter (σ : 2.306 ppm, ν : 11.38).

2.6 Calculation of ^{13}C NMR chemical shifts for 7.

NMR calculations of **7a** and **7b** were subjected to the chemical shift calculation protocol with a default setting on Spartan 20. This protocol automatically performed the conformational search with MMFF94x, conformer narrowing employing Hartree-Fock/3-21G, energy calculation using $\omega\text{B97X-D/6-31G}^*$, structural re-optimization with $\omega\text{B97X-D/6-31G}^*$, energy calculation applying $\omega\text{B97X-V/6-311+G (2df,2p) [6-311G}^*]$, chemical shift calculation using $\omega\text{B97X-D/6-31G}^*$. The obtained chemical shifts were directly subjected to the statistical and DP4 analysis without corrections based on the slopes and intercepts which have been suggested to perform in Goodman's report⁶¹).

2.7 Calculation of ECD spectra for enantiomers of 1a, 2a, and 30c.

Conformational searches and optimizations of possible enantiomers $\{(2'S,3'R)\text{-1a}, (2'R,3'S)\text{-1a}, (2'S,3'S)\text{-2a}, (2'R,3'R)\text{-2a}, (2'S,3'R)\text{-30c}, \text{ and } (2'R,3'S)\text{-30c}\}$ of **1a**, **2a**, and **30c** were done in the identical procedure as described above. Rotatory strengths of the stable conformers with Boltzmann distributions over 1 % were calculated by the TDDFT method at the CAM-B3LYP/6-31G+(d) level with PCM (MeOH). 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) by SpecDis v1.71 program⁶²). The ECD spectra were composed after corrections based on the Boltzmann distributions of the stable conformers. The calculated ECD spectra for enantiomers of **1a**, **2a**, and **30c** were shifted by +10, +10, and +20 nm, respectively.

2.8 Calculation of ECD spectrum for of 4.

ECD calculation of (1*R*, 2*S*, 4*R*, 5*S*, 6*S*, 8*S*)-**4** was almost same with above. The conditions of DFT and TDDFT methods were changed to the B3LYP/6-31G(d) level in a vacuum and the CAM-B3LYP/6-31G+(d,p) level with PCM (MeOH), respectively.

Chapter 3

3.1 Alkaline hydrolysis of compound 21.

Compound **21** (638.5 mg) was treated with 2 % NaOMe/MeOH (200 mL) at rt for 4 hr. After neutralization by cation-exchange resin (Dowex 50WX8-100), the reaction mixture was concentrated to a residue. The residue was purified by silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 6:1 to

3:1) to give **21a** (450.8 mg) as a colorless amorphous solid.

21a: $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -149.1$ (*c* 0.10, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ_{H} 6.03 (1H, qq, $J = 6.9, 1.1$ Hz, H-3"), 5.71 (1H, brd, $J = 7.6$ Hz, H-9), 4.91 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-10), 5.43 (1H, td, $J = 10.7, 2.9$ Hz, H-6), 2.53 (1H, brt, $J = 14.1$ Hz, H-7a), 2.45 (1H, d, $J = 10.7$ Hz, H-5), 2.18 (1H, m, H-11), 2.16 (1H, dd, $J = 14.1, 2.9$ Hz, H-7b), 1.99 (3H, dq, $J = 6.9, 1.1$ Hz, H₃-4"), 1.95 (1H, m, H-3a), 1.89 (3H, brs, H₃-5"), 1.89 (3H, brs, H₃-14), 1.61 (1H, m, H-3b), 1.58 (1H, m, H-2a), 1.44 (1H, m, H-2b), 1.22 (3H, s, H₃-15), 0.94 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13), 0.92 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12).; HRESIMS: m/z 335.2212 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{O}_4$, 335.2222).

3.2 General procedure for preparation of compounds 31–41.

A solution of **21a** (20 mg, 0.059 mmol) and appropriate chloride (10~60 equiv.) in anhydrous pyridine (1 mL) was stirred at room temperature for 2-10 hr. The reaction mixture was diluted with ice-water and extracted with CHCl_3 . The organic layer was concentrated and purified on silica gel column chromatography (*n*-hexane/EtOAc, 6:0 to 0:1).

3.3.1 Compound 31 (starting from **21a** and 2-methoxybenzoyl chloride): colorless amorphous solid; $[\alpha]^{26}_{\text{D}} -145.6$ (*c* 0.10, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3); δ_{H} 7.60 (1H, dd, $J = 7.5, 1.7$ Hz, H-6'), 7.47 (1H, ddd, $J = 8.4, 7.5, 1.7$ Hz, H-4'), 7.01 (1H, brt, $J = 7.5$ Hz, H-5'), 6.98 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3'), 6.08 (1H, qq, $J = 7.2, 1.5$ Hz, H-3"), 5.79 (1H, brd, $J = 7.6$ Hz, H-9), 5.29 (1H, td, $J = 10.9, 2.7$ Hz, H-6), 4.93 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-10), 3.90 (3H, s, OMe), 2.75 (H-5, d, $J = 10.9$ Hz, H-5), 2.69 (1H, brt, $J = 14.0$ Hz, H-7a), 2.41 (1H, dd, $J = 14.0, 2.7$ Hz, H-7b), 2.04 (1H, m, H-11), 2.03 (3H, dq, $J = 7.2, 1.5$ Hz, H₃-4"), 1.93 (3H, brs, H₃-5"), 1.93 (1H, m, H-3a), 1.86 (3H, brs, H₃-14), 1.63 (1H, m, H-3b), 1.55 (1H, m, H-2a), 1.39 (1H, m, H-2b), 1.25 (3H, s, H₃-15), 0.90 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13), 0.90 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12). HRESIMS: m/z 493.2574 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_6\text{Na}$, 493.2566).

3.3.2 Compound 32 (starting from **21a** and 3-methoxybenzoyl chloride): colorless amorphous solid; $[\alpha]^{27}_{\text{D}} -135.8$ (*c* 0.10, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3); δ_{H} 7.62 (1H, brd, $J = 7.9$ Hz, H-6'), 7.56 (1H, brs, H-2'), 7.37 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-5'), 7.13 (1H, dd, $J = 7.9, 2.6$ Hz, H-4'), 6.10 (1H, qq, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H-3"), 5.79 (1H, brd, $J = 7.4$ Hz, H-9), 5.45 (1H, td, $J = 10.9, 3.0$ Hz, H-6), 4.94 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-10), 3.86 (3H, s, OMe), 2.80 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-5), 2.76 (1H, brt, $J = 14.2$ Hz, H-7a), 2.25 (1H, dd, $J = 14.2, 3.0$ Hz, H-7b), 2.05 (3H, dq, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H₃-4"), 2.01 (1H, m, H-11), 1.96 (3H, brs, H₃-5"), 1.94 (1H, m, H-3a), 1.83 (3H, brs, H₃-14), 1.62 (1H, m, H-3b), 1.59 (1H, m, H-2a), 1.44 (1H, m, H-2b), 1.22 (3H, s, H₃-15), 0.99 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13), 0.86 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12). HRESIMS: m/z 493.2567 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_6\text{Na}$, 493.2566).

3.3.3 Compound 33 (starting from **21a** and 2-(trifluoromethyl)benzoyl chloride): colorless

amorphous solid; $[\alpha]_D^{21} -156.6$ (*c* 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃); δ_H 7.76 (1H, brd, *J* = 6.0 Hz, H-6'), 7.72 (1H, brd, *J* = 6.0 Hz, H-3'), 7.61 (2H, m, H-4', H-5'), 6.07 (1H, qq, *J* = 7.2, 1.3 Hz, H-3''), 5.80 (1H, brd, *J* = 7.5 Hz, H-9), 5.47 (1H, td, *J* = 11.0, 3.0 Hz, H-6), 4.96 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-10), 2.76 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, H-5), 2.76 (1H, brt, *J* = 14.3 Hz, H-7a), 2.37 (1H, dd, *J* = 14.3, 3.0 Hz, H-7b), 2.03 (3H, dq, *J* = 7.2, 1.3 Hz, H₃-4''), 1.97 (1H, m, H-3a), 1.93 (3H, brs, H₃-5''), 1.88 (1H, m, H-11), 1.86 (3H, brs, H₃-14), 1.57 (1H, m, H-3b), 1.57 (1H, m, H-2a), 1.42 (1H, m, H-2b), 1.22 (3H, s, H₃-15), 0.83 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H₃-13), 0.82 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H₃-12). HRESIMS: *m/z* 531.2338 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₈H₃₅O₅F₃Na, 531.2334).

3.3.4 Compound 34 (starting from **21a** and 3-(trifluoromethyl)benzoyl chloride): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{27} -114.2$ (*c* 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃); δ_H 8.28 (1H, brs, H-2'), 8.22 (1H, brd, *J* = 7.8 Hz, H-6'), 7.83 (1H, brd, *J* = 7.8 Hz, H-4'), 7.61 (1H, t, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.09 (1H, qq, *J* = 7.0, 1.3 Hz, H-3''), 5.81 (1H, brd, *J* = 7.4 Hz, H-9), 5.50 (1H, td, *J* = 10.8, 2.9 Hz, H-6), 4.97 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-10), 2.83 (1H, d, *J* = 10.8 Hz, H-5), 2.77 (1H, brt, *J* = 14.2 Hz, H-7a), 2.29 (1H, dd, *J* = 14.2, 2.9 Hz, H-7b), 2.04 (3H, dq, *J* = 7.0, 1.3 Hz, H₃-4''), 2.02 (1H, m, H-11), 1.98 (1H, m, H-3a), 1.97 (3H, brs, H₃-5''), 1.84 (3H, brs, H₃-14), 1.62 (1H, m, H-3b), 1.59 (1H, m, H-2a), 1.46 (1H, m, H-2b), 1.22 (3H, s, H₃-15), 1.01 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H₃-13), 0.85 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H₃-12). HRESIMS: *m/z* 531.2328 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₈H₃₅O₅F₃Na, 531.2334).

3.3.5 Compound 35 (starting from **21a** and 4-(trifluoromethyl)benzoyl chloride): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{27} -107.2$ (*c* 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃); δ_H 8.14 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-2' and H-6'), 7.73 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-3' and H-5'), 6.11 (1H, brq, *J* = 7.2 Hz, H-3''), 5.80 (1H, brd, *J* = 7.4 Hz, H-9), 5.50 (1H, td, *J* = 10.9, 3.0 Hz, H-6), 4.95 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-10), 2.82 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-5), 2.77 (1H, brt, *J* = 14.3 Hz, H-7a), 2.25 (1H, dd, *J* = 14.3, 3.0 Hz, H-7b), 2.05 (3H, brd, *J* = 7.2 Hz, H₃-4''), 1.98 (1H, m, H-11), 1.97 (3H, brs, H₃-5''), 1.94 (1H, m, H-3a), 1.83 (3H, brs, H₃-14), 1.62 (1H, m, H-3b), 1.59 (1H, m, H-2a), 1.46 (1H, m, H-2b), 1.22 (3H, s, H₃-15), 0.99 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H₃-13), 0.85 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H₃-12). HRESIMS: *m/z* 531.2334 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₈H₃₅O₅F₃Na, 531.2334).

3.3.6 Compound 36 (starting from **21a** and 2-chlorobenzoyl chloride): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{21} -92.6$ (*c* 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃); δ_H 7.73 (1H, brd, *J* = 7.7 Hz, H-6'), 7.46 (1H, brd, *J* = 7.7 Hz, H-3'), 7.43 (1H, brt, *J* = 7.7 Hz, H-4'), 7.33 (1H, brt, *J* = 7.7 Hz, H-5'), 6.09 (1H, qq, *J* = 7.4, 1.1 Hz, H-3''), 5.80 (1H, brd, *J* = 7.5 Hz, H-9), 5.45 (1H, td, *J* = 10.9, 2.9 Hz, H-6), 4.94 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-10), 2.82 (1H, brt, *J* = 14.1 Hz, H-7a), 2.77 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-5), 2.34 (1H, dd, *J* = 14.1, 2.9 Hz, H-7b), 2.03 (3H, dq, *J* = 7.4, 1.1 Hz, H₃-4''), 1.95 (1H, m, H-3a), 1.93 (3H, brs, H₃-5''), 1.92 (1H, m, H-11), 1.85 (3H, brs, H₃-14), 1.61 (1H, m, H-3b), 1.57 (1H, m, H-2a), 1.42 (1H, m, H-

2b), 1.22 (3H, s, H₃-15), 0.89 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13), 0.86 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12). HRESIMS: m/z 497.2071 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₇H₃₅O₅Cl³⁵Na, 497.2071).

3.3.7 Compound 37 (starting from **21a** and 3-chlorobenzoyl chloride): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{26} -118.4$ (c 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃); δ_H 7.99 (1H, brs, H-2'), 7.91 (1H, brd, $J = 7.9$ Hz, H-6'), 7.55 (1H, brd, $J = 7.9$ Hz, H-4'), 7.41 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-5'), 6.11 (1H, qq, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H-3''), 5.80 (1H, brd, $J = 7.4$ Hz, H-9), 5.46 (1H, td, $J = 10.9, 3.1$ Hz, H-6), 4.94 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-10), 2.80 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-5), 2.77 (1H, brt, $J = 14.3$ Hz, H-7a), 2.24 (1H, dd, $J = 14.3, 3.1$ Hz, H-7b), 2.05 (3H, dq, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H₃-4''), 1.97 (3H, brs, H₃-5''), 1.95 (1H, m, H-3a), 1.94 (1H, m, H-11), 1.83 (3H, brs, H₃-14), 1.60 (1H, m, H-3b), 1.60 (1H, m, H-2a), 1.45 (1H, m, H-2b), 1.22 (3H, s, H₃-15), 0.99 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13), 0.86 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12). HRESIMS: m/z 497.2079 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₇H₃₅O₅ Cl³⁵Na, 497.2071).

3.3.8 Compound 38 (starting from **21a** and 4-chlorobenzoyl chloride): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{27} -140.9$ (c 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃); δ_H 7.96 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2' and H-6'), 7.44 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3' and H-5'), 6.09 (1H, brq, $J = 7.2$ Hz, H-3''), 5.80 (1H, brd, $J = 7.4$ Hz, H-9), 5.48 (1H, td, $J = 10.8, 3.0$ Hz, H-6), 4.97 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-10), 2.80 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-5), 2.76 (1H, brt, $J = 14.3$ Hz, H-7a), 2.25 (1H, dd, $J = 14.3, 3.0$ Hz, H-7b), 2.04 (3H, brd, $J = 7.2$ Hz, H₃-4''), 1.96 (3H, brs, H₃-5''), 1.94 (1H, m, H-3a), 1.94 (1H, m, H-11), 1.83 (3H, brs, H₃-14), 1.61 (1H, m, H-3b), 1.58 (1H, m, H-2a), 1.45 (1H, m, H-2b), 1.23 (3H, s, H₃-15), 0.98 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13), 0.85 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12). HRESIMS: m/z 497.2083 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₇H₃₅O₅ Cl³⁵Na, 497.2071).

3.3.9 Compound 39 (starting from **21a** and pyridine-2-carbonylchloride hydrochloride): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{27} -121.8$ (c 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃); δ_H 8.72 (1H, ddd, $J = 4.7, 1.6, 1.2$ Hz, H-6'), 8.03 (1H, dt, $J = 7.6, 1.2$ Hz, H-3'), 7.85 (1H, td, $J = 7.6, 1.6$ Hz, H-4'), 7.33 (1H, ddd, $J = 7.6, 4.7, 1.2$ Hz, H-5'), 6.06 (1H, qq, $J = 7.2, 1.4$ Hz, H-3''), 5.80 (1H, brd, $J = 7.5$ Hz, H-9), 5.37 (1H, td, $J = 10.9, 2.9$ Hz, H-6), 4.96 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-10), 2.84 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-5), 2.77 (1H, brt, $J = 14.2$ Hz, H-7a), 2.45 (1H, dd, $J = 14.2, 2.9$ Hz, H-7b), 2.34 (1H, m, H-11), 2.02 (3H, dq, $J = 7.2, 1.4$ Hz, H₃-4''), 1.96 (1H, m, H-3a), 1.93 (3H, brs, H₃-5''), 1.86 (3H, brs, H₃-14), 1.61 (1H, m, H-3b), 1.57 (1H, m, H-2a), 1.40 (1H, m, H-2b), 1.22 (3H, s, H₃-15), 0.99 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13), 0.90 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12). HRESIMS: m/z 464.2411 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₆H₃₅NO₅Na, 464.2413).

3.3.10 Compound 40 (starting from **21a** and pyridine-3-carbonylchloride hydrochloride): colorless amorphous solid; $[\alpha]_D^{26} -124.0$ (c 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃); δ_H 9.18 (1H, brs, H-2'), 8.78 (1H, brd, $J = 4.9$ Hz, H-6'), 8.28 (1H, dt, $J = 7.9, 1.9$ Hz, H-4'), 7.41 (1H, dd, $J = 7.9, 4.9$ Hz, H-5'), 6.10 (1H, qq, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H-3''), 5.79 (1H, brd, $J = 7.4$ Hz, H-9), 5.50 (1H, td, $J = 10.9, 3.1$ Hz, H-6),

4.94 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-10), 2.81 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-5), 2.76 (1H, brt, $J = 14.3$ Hz, H-7a), 2.24 (1H, dd, $J = 14.3, 3.1$ Hz, H-7b), 2.04 (3H, dq, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H₃-4"), 1.97 (1H, m, H-11), 1.95 (3H, brs, H₃-5"), 1.95 (1H, m, H-3a), 1.82 (3H, brs, H₃-14), 1.59 (1H, m, H-3b), 1.58 (1H, m, H-2a), 1.43 (1H, m, H-2b), 1.21 (3H, s, H₃-15), 0.99 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13), 0.84 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12). HRESIMS: m/z 464.2419 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₆H₃₅NO₅Na, 464.2413).

3.3.11 Compound 41 (starting from **21a** and pyridine-4-carbonylchloride hydrochloride): colorless amorphous solid; [α]_D²⁷ -130.0 (*c* 0.10, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃); δ_{H} 8.80 (2H, d, $J = 6.0$ Hz, H-2' and H-6'), 7.82 (2H, d, $J = 6.0$ Hz, H-3' and H-5'), 6.11 (1H, qq, $J = 7.3, 1.4$ Hz, H-3"), 5.81 (1H, brd, $J = 7.5$ Hz, H-9), 5.51 (1H, td, $J = 10.9, 3.1$ Hz, H-6), 4.95 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-10), 2.82 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-5), 2.76 (1H, brt, $J = 14.2$ Hz, H-7a), 2.24 (1H, dd, $J = 14.2, 3.1$ Hz, H-7b), 2.05 (3H, dq, $J = 7.3, 1.4$ Hz, H₃-4"), 1.99 (1H, m, H-3a), 1.97 (1H, m, H-11), 1.96 (3H, brs, H₃-5"), 1.83 (3H, brs, H₃-14), 1.60 (1H, m, H-3b), 1.59 (1H, m, H-2a), 1.45 (1H, m, H-2b), 1.22 (3H, s, H₃-15), 1.00 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-13), 0.85 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12). HRESIMS: m/z 464.2412 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₆H₃₅NO₅Na, 464.2413).

Chapter 4

4.1 Evaluation of inhibitory effect of IL-1 β release from LPS stimulated microglia cells.

The inhibitory effect of the IL-1 β release by LPS stimulation of the microglia cells was evaluated as follows. Thus, microglia cells (wildtype mouse derived microglia cells)⁶³ were seeded at 2×10^4 cells/well in 96 well plate, and incubated for 24 h. After addition of LPS (final concentration 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), followed by test compounds (1.25, 2.5, 5 μM for **13**; 2.5, 5, 10 μM for **9** and **36**; 5, 10, 20 μM for **14**, **33**, **37**, and **38**; 10, 20, 40 μM for **10–12**, **15**, **19**, **34**, **35**, and **39–41**; 12.5, 25, 50 μM for **4–8**, **18**, **21**, **22**, **31**, and **32**; 11, 33, 100 μM for **1**, **2**, and **30**), cells were further incubated 24 h. The culture medium was collected, and the amount of IL-1 β in the medium was quantified using Mouse IL-1 β /IL-1F2 Quantikine ELISA Kit (R & D systems). Recombinant mouse IL-1 β protein (R&D Systems) was used as a standard. The absorbance of the samples was measured at 450 nm using a microplate reader.

4.2 Evaluation of ferroptosis inhibitory activity.

Human hepatoma Hep3B cells (1×10^4) were plated on 96 well plate and incubated with DMEM containing 10 % FBS for a day. The medium was replaced with DMEM 10 % containing compounds (10 μM) and 10 μM of a ferroptosis inducer, erastin. After simultaneous treatment of erastin and compounds at 37 °C with 5 % CO₂ for 24 h, the cells were treated with the Cell Counting Kit-8 (WST-8, Dojindo) according to the manufacturer's instructions. Briefly, the WST-8 reagent solution (10 μL) was added to each well of a 96 well microplate containing 100 μL of cells in the culture medium, and the plate was incubated for 2 h at 37 °C. Absorbance was measured at 450 nm using a microplate

reader. Ferrostatin-1 (10 μ M) was used as positive controls for ferroptosis inhibitor.

4.3 Evaluation of the AMPK phosphorylation effect and cell viability in HepG2 cells.

HepG2 cells were incubated at 4.0×10^5 cells/well in 12well plates with DMEM containing 10 % FBS for 1day, and changed the medium to serum-free one. After incubated for 16 h, the cells were treated with 10 or 30 μ M compounds or 2 mM AICAR and further incubated for 6h. The stimulated cells were washed with iced-cold PBS and lysed in lysis buffer. 30 μ g of protein per each sample was subjected to sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) using 10 % polyacrylamide gel and electrotransferred to polyvinylidene difluoride membranes. The membranes were blocked in phosphate-buffer saline with 0.1 % Tween-20 (PBS-T) containing 5 % skim milk for 1h at rt. Then membranes were incubated with primary anti-bodies overnight at 4 °C or rt. Membranes were incubated with the relevant secondary anti-bodies for 1h at rt. ECL reagents, a LAS-4000 image analyzer (GE Healthcare) and imageJ 1.53k software (National Institutes of Health, USA) were used for detection and quantification. β -actin was served as an internal control protein. Anti-bodies were detected p-AMPK (#2535S, Cell Signaling Technology Inc., USA), t-AMPK (#2532S, Cell signaling Technology Inc.), β -actin (sc-47778, Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) at 1:500 or 1:1000 dilution. Anti-rabbit IgG, HRP-linked antibody (#7074S, Cell signaling Technology Inc.) and anti-mouse IgG, HRP-linked antibody (#7076S, Cell signaling Technology Inc.) were used at 1:2000 dilution.

Cell viability was assessed by MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay. 5.0×10^4 cells were incubated in 24-well plates with DMEM containing 10 % FBS for 1day, then the medium was changed to serum-free one and further incubated in 16h. 1 μ L of compounds in DMSO (final concentration 10 or 30 μ M) were added and incubated for 12 h. MTT was added at 0.5 mg/ml and further incubated for 4h. After removed the medium, formazan formed in the cells was dissolved in DMSO and absorbance at 538 nm. Cell viability was calculated according to the standard values of wells without compounds as 100 %.

参考文献

- 1) Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **2020**, *83*, 770-803.
- 2) 厚生労働省, 第16回健康日本21(第二次)推進専門委員会資料3-1, **2021**.
- 3) 厚生労働省, 令和4年版厚生労働白書 資料編, **2022**.
- 4) Shigemoto-Mogami, Y.; Sato, K. *Folia Pharmacol. Jpn.* **2012**, *140*, 216-220.
- 5) Sanagi, T.; Kohsaka, S. *Japanese Journal of Biological Psychiatry* **2017**, *28*, 69-75.
- 6) Dixon, S. J.; Lemberg, K. M.; Lamprecht, M. R.; Skouta, R.; Zaitsev, E. M.; Gleason, C. E.; Patel, D. N.; Bauer, A.; Cantley, A. M.; Yang, W. S.; Morrison 3rd, B.; Stockwell, B. R. *Cell* **2012**, *149*, 1060-1072.
- 7) Zheng, K.; Dong, Y.; Yang, R.; Liang, Y.; Wu, H.; He, Z. *Pharmacol. Res.* **2021**, *168*, 105580.
- 8) Nishizawa, H.; Matsumoto, M.; Chen, G.; Ishii, Y.; Tada, K.; Onodera, M.; Kato, H.; Muto, A.; Tanaka, K.; Igarashi, K. *Cell Death Dis.* **2021**, *12*, 332.
- 9) Herzig, S.; Shaw, R. J. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2018**, *19*, 121-135.
- 10) Miyamoto, L. *Yakugaku Zasshi*, **2018**, *138*, 1291-1296.
- 11) Hardie, D. G. *Diabetes* **2013**, *62*, 2164-2172.
- 12) Akaberi, M.; Iranshahy, M.; Iranshahi, M. *Iran. J. Basic Med. Sci.* **2015**, *18*, 1050-1062.
- 13) Paydar, M.; Wong, Y. L.; Moharam, B. A.; Movahed, E.; Wong, W. F.; Looi, C. Y. *J. Med. Sci.* **2013**, *13*, 236-243.
- 14) Mohammadhosseini, M.; Venditti, A.; Sarker, S. D.; Nahar, L.; Akbarzadeh, A. *Ind. Crops Prod.* **2019**, *129*, 350-394.
- 15) Afifi, F. U.; Abu-Irmaileh, B. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *72*, 101-110.
- 16) Lee, C.-L.; Chiang, L.-C.; Cheng, L.-H.; Liaw, C.-C.; El-Razek, M. H. A.; Chang, F.-R.; Wu, Y.-C. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1568-1572.
- 17) Golovina, L. A.; Saidkhodzhaev, A. I.; Abdullaev, N. D.; Malikov, V. M.; Yagudaev, M.R. *Chem. Nat. Compd.* **1983**, *19*, 281-285.
- 18) Shikishima, Y.; Takaishi, Y.; Honda, G.; Ito, M.; Takeda, Y.; Tori, M.; Takaoka, S.; Kodzhimatov, O. K.; Ashurmetov, O. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1897-1903.
- 19) Ahmed, A. A.; Abfel-Razek, M. H.; Nassar, M. I.; Izumi, S.; Ohta, S.; Hirata, T. *Phytochemistry* **2001**, *57*, 513-515.
- 20) Lhuillier, A.; Fabre, N.; Cheble, E.; Oueida, F.; Maurel, S.; Valentin, A.; Fourasté, I.; Moulis, C. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 468-471.
- 21) Dall'Acqua, S.; Linardi, M. A.; Maggi, F.; Nicoletti, M.; Petitto, V.; Innocenti, G.; Basso, G.; Viola, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 5876-5885.
- 22) Tamemoto, K.; Takaishi, Y.; Chen, B.; Kawazoe, K.; Shibata, H.; Higuti, T.; Honda, G.; Ito, M.; Takeda, Y.; Kodzhimatov, O. K.; Ashurmetov, O. *Phytochemistry* **2001**, *58*, 763-767.

- 23) Dall'Acqua, S.; Maggi, F.; Minesso, P.; Salvagno, M.; Papa, F.; Vittori, S.; Innocenti, G. *Fitoterapia* **2010**, *81*, 1208-1212.
- 24) Appendino, G.; Spagliardi, P.; Sterner, O.; Milligan, S. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1557-1564.
- 25) Appendino, G.; Spagliardi, P.; Cravotto, G.; Pocock, V.; Milligan, S. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1612-1615.
- 26) Osman, A. M.; Abourashed, E. A.; Slade, D.; Ahmed, S. A.; Gul, W.; Khan, S. I.; Elfadl, T. A.; Dale, O. R.; Husni, A. S.; Cutler, S. J.; Elsohly, M. A. *Med. Chem. Res.* **2015**, *24*, 2670-2678.
- 27) El-Razek, M. H. A.; Ohta, S.; Ahmed, A. A.; Hirata, T. *Phytochemistry* **2001**, *57*, 1201-1203.
- 28) Valle, M. G.; Appendino, G.; Nano, M. G.; Picci, V. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 253-256.
- 29) Yang, J. R.; An, Z.; Li, Z. H.; Jing, S.; Qin, H. L. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 1595-1598.
- 30) Bashir, S.; Alam, M.; Adhikari, A.; Shrestha, R. L.; Yousuf, S.; Ahmad, B.; Parveen, S.; Aman, A.; Iqbal, C. M. *Phytochem. Lett.* **2014**, *9*, 46-50.
- 31) Boulmeltout, M.; Zellagui, A.; Benguedouar, L.; Barratt, G.; Lahouel, M. *Pharmacogn. Mag.* **2018**, *14*, 333-337.
- 32) Monti, M.; Pinotti, M.; Appendino, G.; Dallucchio, F.; Bellini, T.; Antognoni, F.; Poli, F.; Bernardi, F. *Biochem. Biophys. Acta* **2007**, *1770*, 1437-1440.
- 33) Chen, B.; Kawazoe, K.; Takaishi, Y.; Honda, G.; Itoh, M.; Takeda, Y.; Kodzhimatov, O. K.; Ashurmetov, O. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 362-365.
- 34) Chen, B.; Takaishi, Y.; Kawazoe, K.; Tanemoto, K.; Honda, G.; Ito, M.; Takeda, Y.; Kodzhimatov, O. K.; Ashurmetov, O. *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, *49*, 707-710.
- 35) Soltani, S.; Amin, G. R.; Salehi-sourmaghi, M. H.; Schneider, B.; Lorenz, S.; Iranshahi, M. *Fitoterapia* **2018**, *124*, 108-112.
- 36) Chitsazian-Yazdi, M.; Agnolet, S.; Lorenz, S.; Schneider, B.; Es'Haghi, Z.; Kasaian, J.; Khameneh, B.; Iranshahi, M. *Pharm. Biol.* **2015**, *53*, 710-714.
- 37) El-Razek, M. H. A. *Biosci. Biotechnol. biochem.* **2007**, *71*, 2300-2303.
- 38) Znati, M.; Jannet, H. B.; Cazaux, S.; Souchard, J. P.; Skhiri, F. H.; Bouajila, J. *Molecules* **2014**, *19*, 16959-16975.
- 39) Li, G.; Li, X.; Cao, L.; Shen, L.; Zhu, J.; Zhang, J.; Wang, J.; Zhang, L.; Si, J. *Fitoterapia*, **2014**, *97*, 247-252
- 40) Al-Yahya, M. A.; Muhammad, I.; Mirza, H. H.; El-Ferally, F. S. *Phytother. Res.* **1998**, *12*, 335-339.
- 41) Appendino, G.; Tagliapietra, S.; Gariboldi, P.; Nano, M. G.; Picci, V. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 3619-3624.
- 42) Marchi, A.; Appendino, G.; Pirisi, Ivo.; Ballero, M.; Loi, M.C. *Biochrm. Syst. Ecol.* **2003**, *31*, 1397.
- 43) Lamnaouer, D.; Bodo, B.; Martin, M.-T.; Molho, D. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 1613-1615.
- 44) Lamnaouer, D.; Martin, M.-T.; Molho, D.; Bodo, B. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 2711-2716.

- 45) Smith, S. G.; Goodman, J. M. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 4597-4607.
- 46) Lauro, G.; Das, P.; Riccio, R.; Reddy, D. S.; Bifulco, G. *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 3297–3306.
- 47) Pfeffer, P. E.; Valentine, K. M.; Parrish, F. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1265–1274.
- 48) Joseph-Nathan, P.; Wesener, J. R.; Günther, H. *Org. Magn. Reson.* **1984**, *22*, 190–191.
- 49) Miski, M.; Mabry, T. J. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 1735-1741.
- 50) Moiseeva, G. P.; Yusupova, M. I.; Saidkhodzhaev, A. I.; Golovina, L. A. *Chem. Nat. Compd.* **1984**, *20*, 42-45.
- 51) 原田宣之, 中西香爾, 円二色性スペクトル-有機立体化学への応用, 東京化学同人, 1982.
- 52) Miski, M.; Mabry, T. J. *Phytochemistry* **1986**, *25*, 1673-1675.
- 53) Schmiech, L.; Uemura, D.; Hofmann, T. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 10252-10260.
- 54) Barrero, A. F.; Herrador, M. M.; Arteaga, P. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 203-207.
- 55) Teresa, J. P.; Pascual, M. D.; Arias, A.; Hernandez, J. M.; Moran, J. R.; Grande, M. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 1773-1778.
- 56) Iranshahi, M.; Arfa, P.; Ramezani, M.; Jaafari, M. R.; Sadeghian, H.; Bassarello, C.; Piacente, S.; Pizza, C. *Phytochemistry* **2007**, *68*, 554-561.
- 57) Miski, M.; Jakupovic, J. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 1995–1998.
- 58) Appendino, G.; Cravotto, G.; Sterner, O.; Ballero, M. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 393-395.
- 59) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Li, X.; Caricato, M.; Marenich, A. V.; Bloino, J.; Janesko, B. G.; Gomperts, R.; Mennucci, B.; Hratchian, H. P.; Ortiz, J. V.; Izmaylov, A. F.; Sonnenberg, J. L.; Williams-Young, D.; Ding, F.; Lipparini, F.; Egidi, F.; Goings, J.; Peng, B.; Petrone, A.; Henderson, T.; Ranasinghe, D.; Zakrzewski, V. G.; Gao, J.; Rega, N.; Zheng, G.; Liang, W.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Throssell, K.; Montgomery, J. A.; Peralta Jr. J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M. J.; Heyd, J. J.; Brothers, E. N.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T. A.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A. P.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Millam, J. M.; Klene, M.; Adamo, C.; Cammi, R.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Fox, D. J. *Gaussian 16*, Revision C.01; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2019.
- 60) Sarotti, A. M.; Pellegrinet, S. C. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7254-7260.
- 61) Smith, S. G.; Goodman, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12946-12959.
- 62) Bruhn, T.; Schaumlöffel, A.; Hemberger, Y.; Pescitelli, G. SpecDis, Version 1.71. Berlin, Germany, 2017, <http://specdis-software.jimdo.com>.
- 63) Kawashita, E.; Tsuji, D.; Kawashima, N.; Nakayama, K.; Matsuno, H.; Itoh, K. *J. Neurochem.* **2009**, *109*, 1215–1224.

謝辞

終わりに臨み、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。

本研究において種々の有益なる御教示・御指導を賜りました、徳島大学 柏田 良樹 名誉教授に心より感謝の意を表します。

AMPK リン酸化活性の評価にご協力いただきました、徳島大学院医歯薬学研究部 今西 正樹 博士、神奈川工科大学 宮本 理人 准教授、徳島大学院医歯薬学研究部 土屋 浩一郎 教授に感謝いたします。

抗炎症活性ならびにフェロトシス抑制活性の評価にご協力いただきました、安田女子大学 辻 大輔 博士、徳島大学 伊藤 孝司 名誉教授、安田女子大学 赤木 玲子 教授に感謝いたします。

植物の入手にご協力いただきました、ノースカロライナ大学エッセルマン薬学部 故 Kuo-Hsiung Lee 教授に感謝いたします。

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。

2023年7月

吉野悠希

Supporting Information

Contents

- Figure S1. ^{13}C NMR spectrum of communiferulin A (**1**) in CDCl_3 .
- Figure S2-5. 2D NMR spectra of communiferulin A (**1**) in CDCl_3 .
- Figure S6. ^{13}C NMR spectrum of communiferulin B (**2**) in CDCl_3 .
- Figure S7-10. 2D NMR spectra of communiferulin B (**2**) in CDCl_3 .
- Figure S11. ^1H NMR spectrum of communiferulin C (**3**) in CD_3OD .
- Figure S12. ^{13}C NMR spectrum of communiferulin C (**3**) in CDCl_3 .
- Figure S13. ^{13}C NMR spectrum of communiferulin C (**3**) in CD_3OD .
- Figure S14. ^{13}C NMR spectrum of communiferulin C (**3**) in CD_3OH .
- Figure S15-17. 2D NMR spectra of communiferulin C (**3**) in CDCl_3 .
- Figure S18. NOESY spectrum of communiferulin C (**3**) in CD_3OD .
- Figure S19. ^1H NMR spectrum of compound **4** in C_6D_6 .
- Figure S20. ^{13}C NMR spectrum of compound **4** in CDCl_3 .
- Figure S21-23. 2D NMR spectra of compound **4** in CDCl_3 .
- Figure S24. NOESY spectrum of compound **4** in C_6D_6 .
- Figure S25. ^{13}C NMR spectrum of compound **5** in CDCl_3 .
- Figure S26-29. 2D NMR spectra of compound **5** in CDCl_3 .
- Figure S30. ^{13}C NMR spectrum of compound **6** in CDCl_3 .
- Figure S31-34. 2D NMR spectra of compound **6** in CDCl_3 .
- Figure S35. ^{13}C NMR spectrum of compound **7** in CDCl_3 .
- Figure S36-39. 2D NMR spectra of compound **7** in CDCl_3 .
- Figure S40. ^{13}C NMR spectrum of compound **8** in CDCl_3 .
- Figure S41-44. 2D NMR spectra of compound **8** in CDCl_3 .
- Figure S45. ^{13}C NMR spectrum of compound **9** in CDCl_3 .
- Figure S46-49. 2D NMR spectra of compound **9** in CDCl_3 .
- Figure S50. ^{13}C NMR spectrum of compound **10** in CDCl_3 .
- Figure S51-54. 2D NMR spectra of compound **10** in CDCl_3 .
- Figure S55. ^{13}C NMR spectrum of compound **11** in CDCl_3 .
- Figure S56-59. 2D NMR spectra of compound **11** in CDCl_3 .
- Figure S60. ^{13}C NMR spectrum of compound **12** in CDCl_3 .
- Figure S61-64. 2D NMR spectra of compound **12** in CDCl_3 .
- Figure S65. ^{13}C NMR spectrum of compound **13** in CDCl_3 .
- Figure S66-69. 2D NMR spectra of compound **13** in CDCl_3 .
- Figure S70. ^{13}C NMR spectrum of compound **14** in CDCl_3 .
- Figure S71-74. 2D NMR spectra of compound **14** in CDCl_3 .
- Figure S75. ^{13}C NMR spectrum of compound **15** in CDCl_3 .

Figure S76-79. 2D NMR spectra of compound **15** in CDCl₃.
Figure S80. ¹H NMR spectrum of compound **16** in C₆D₅N.
Figure S81. ¹³C NMR spectrum of compound **16** in CDCl₃.
Figure S82-84. 2D NMR spectra of compound **16** in CDCl₃.
Figure S85. NOESY spectrum of compound **16** in C₆D₅N.
Figure S86. ¹H NMR spectrum of compound **17** in C₆D₅N.
Figure S87. ¹³C NMR spectrum of compound **17** in CDCl₃.
Figure S88-90. 2D NMR spectra of compound **17** in CDCl₃.
Figure S91. NOESY spectrum of compound **17** in C₆D₅N.
Figure S92. ¹³C NMR spectrum of ferchromone (**30**) in CDCl₃.
Figure S93. ¹³C NMR spectrum of ferchromone (**30**) in CD₃OD.
Figure S94. ¹³C NMR spectrum of ferchromone (**30**) in CD₃OH.
Figure S95-98. 2D NMR spectra of ferchromone (**30**) in CDCl₃.
Figure S99-110. ¹H NMR spectra of compounds **21a** and **31–41** in CDCl₃.

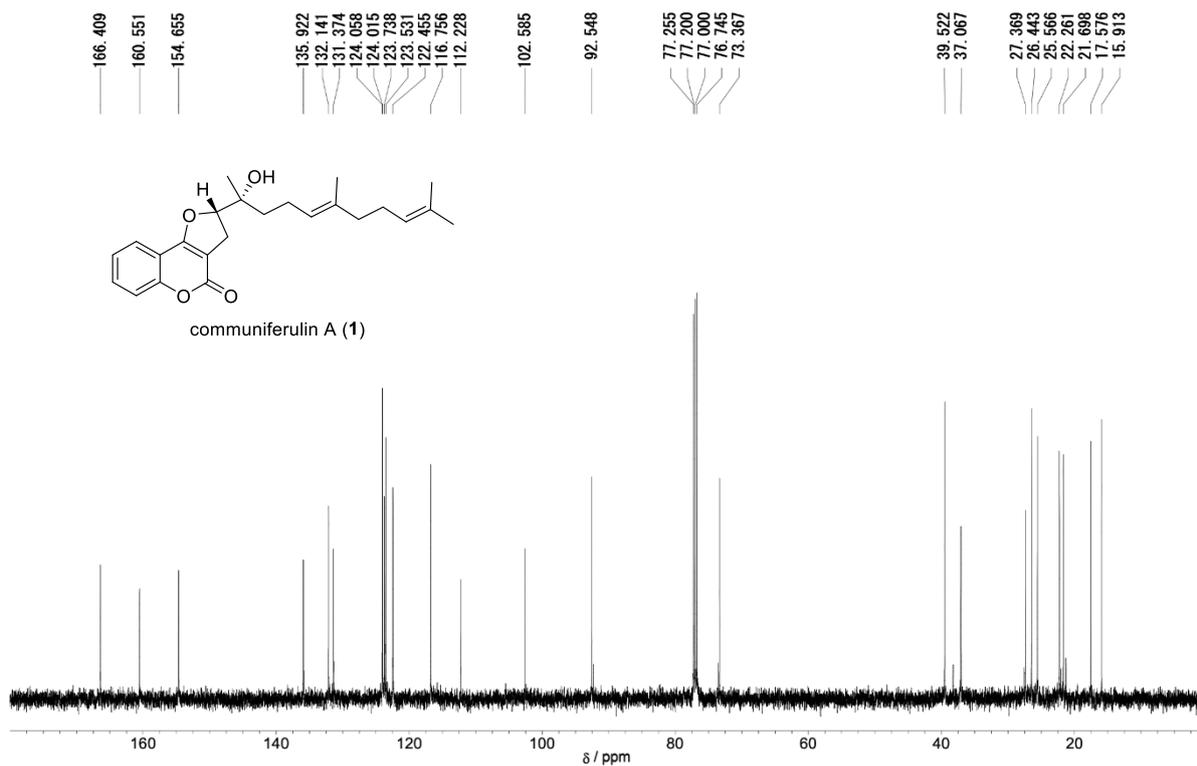


Figure S1. ^{13}C NMR spectrum of communiferulin A (1) in CDCl_3 (125 MHz).

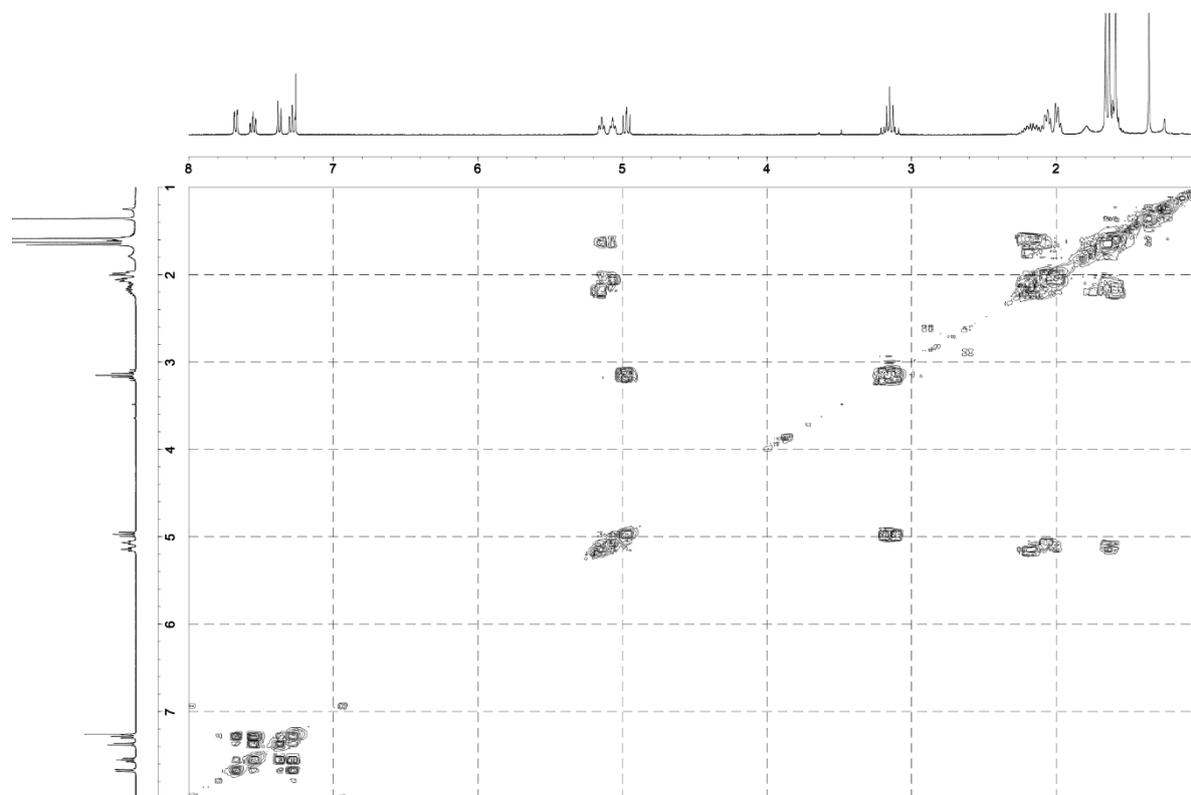


Figure S2. ^1H - ^1H COSY spectrum of communiferulin A (1) in CDCl_3 (500 MHz).

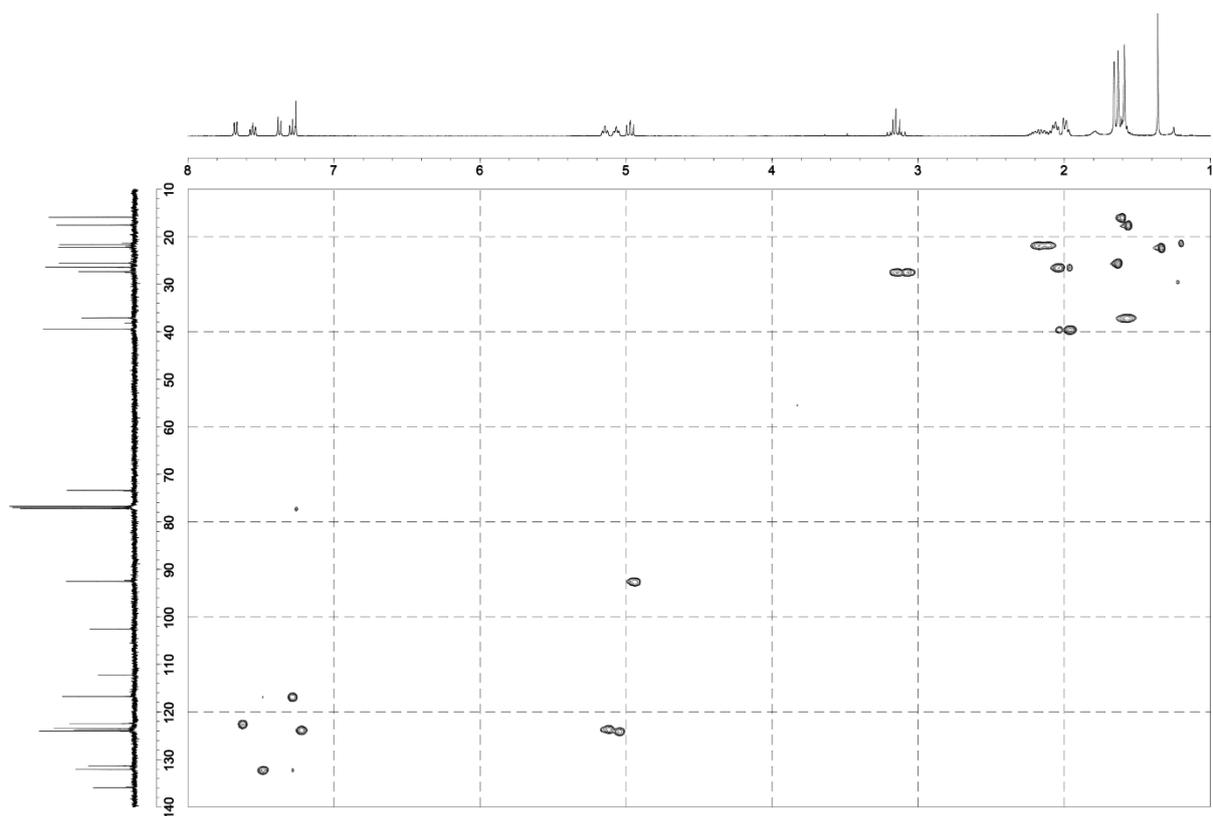


Figure S3. HSQC spectrum of communiferulin A (**1**) in CDCl_3 (500 MHz).

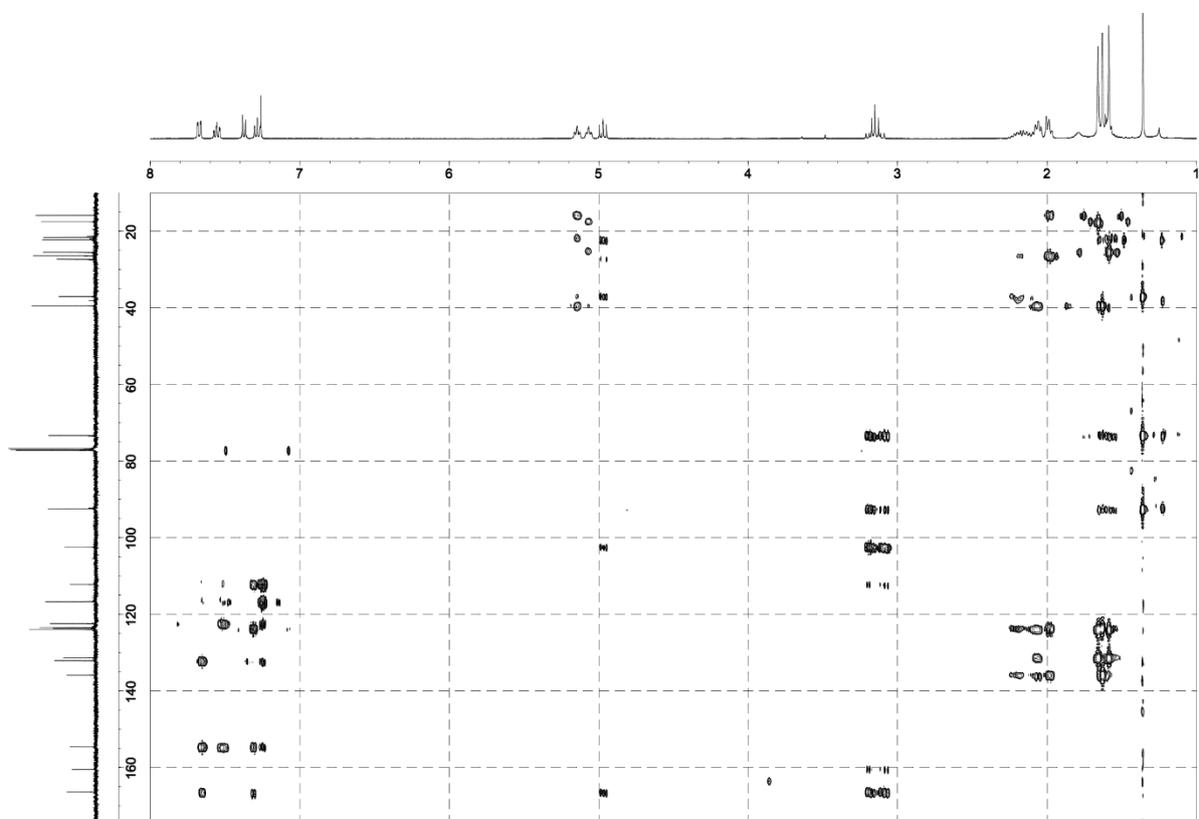


Figure S4. HMBC spectrum of communiferulin A (**1**) in CDCl_3 (500 MHz).

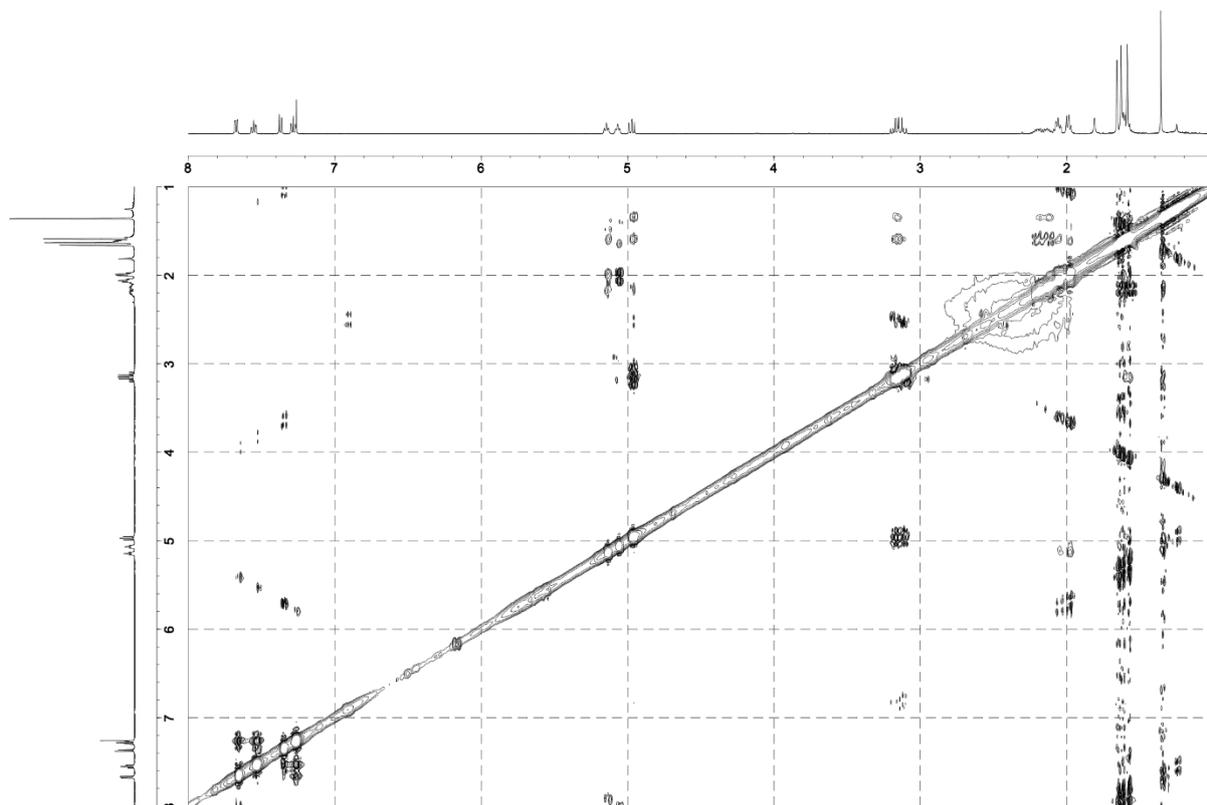


Figure S5. NOESY spectrum of communiferulin A (**1**) in CDCl_3 (500 MHz).

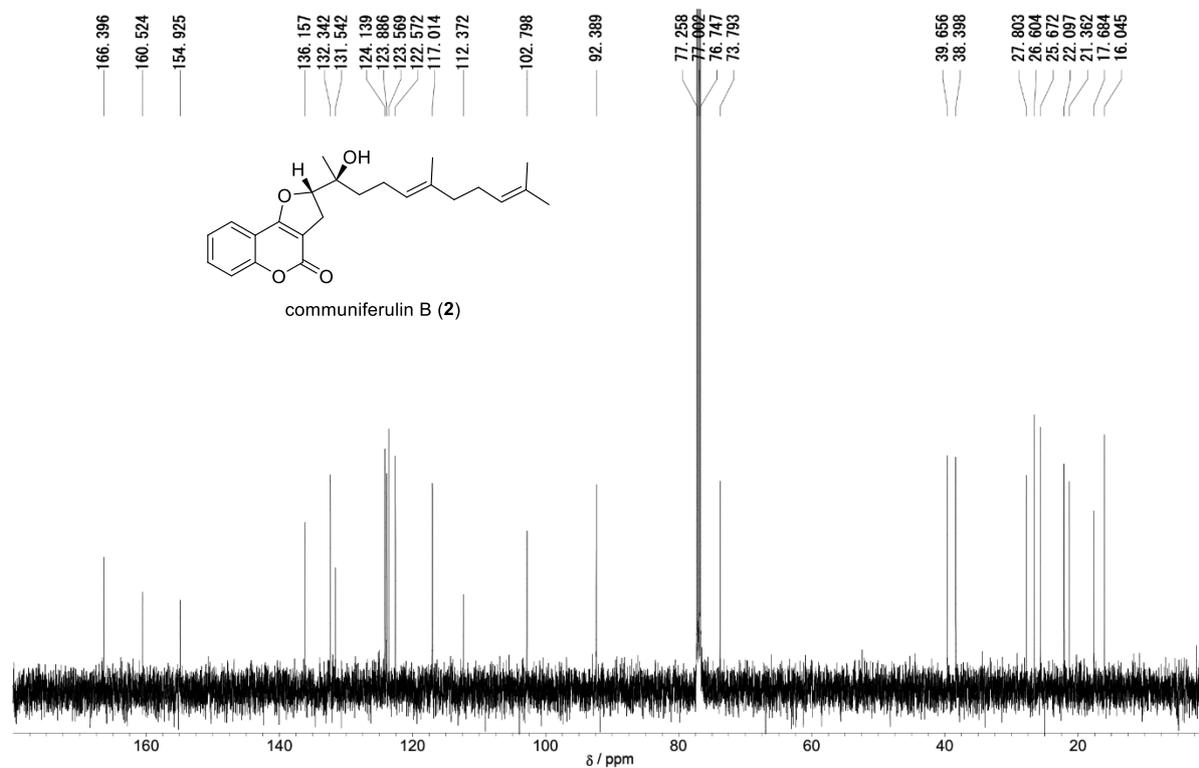


Figure S6. ^{13}C NMR spectrum of communiferulin B (**2**) in CDCl_3 (125 MHz).

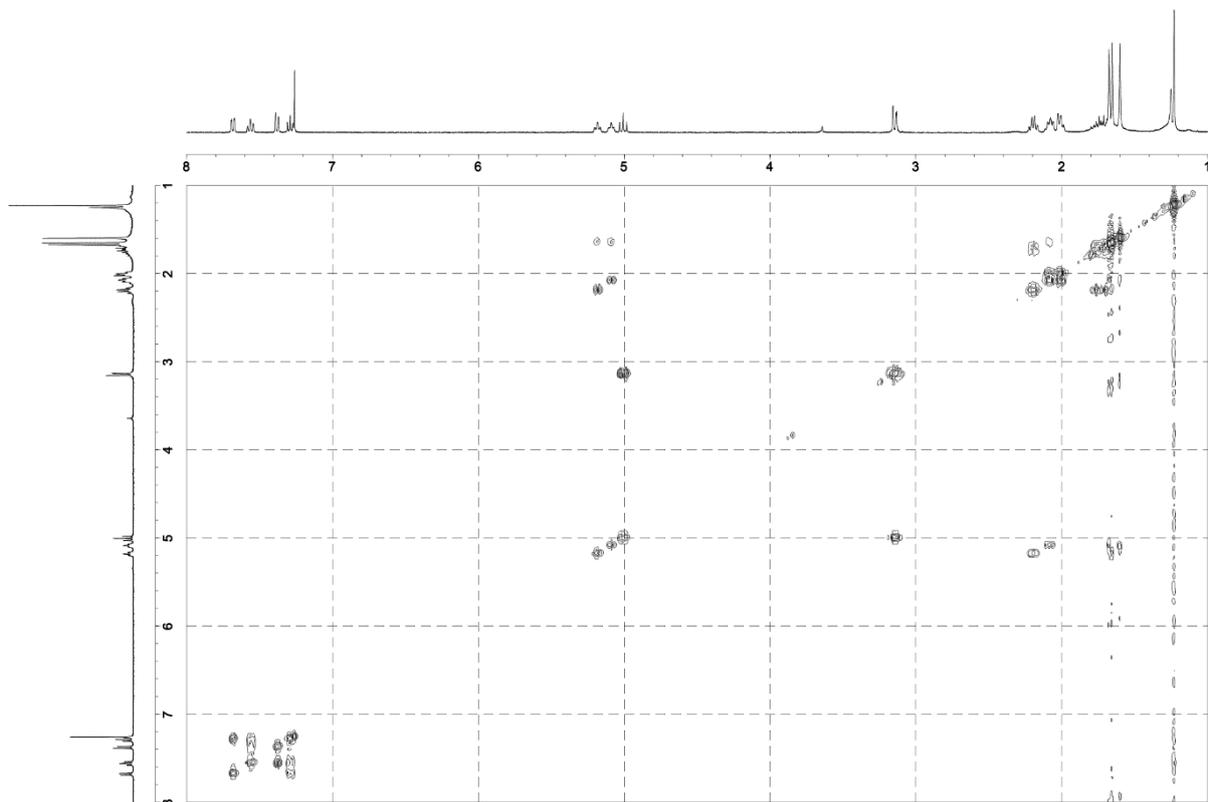


Figure 7. ^1H - ^1H COSY spectrum of communiferulin B (**2**) in CDCl_3 (500 MHz).

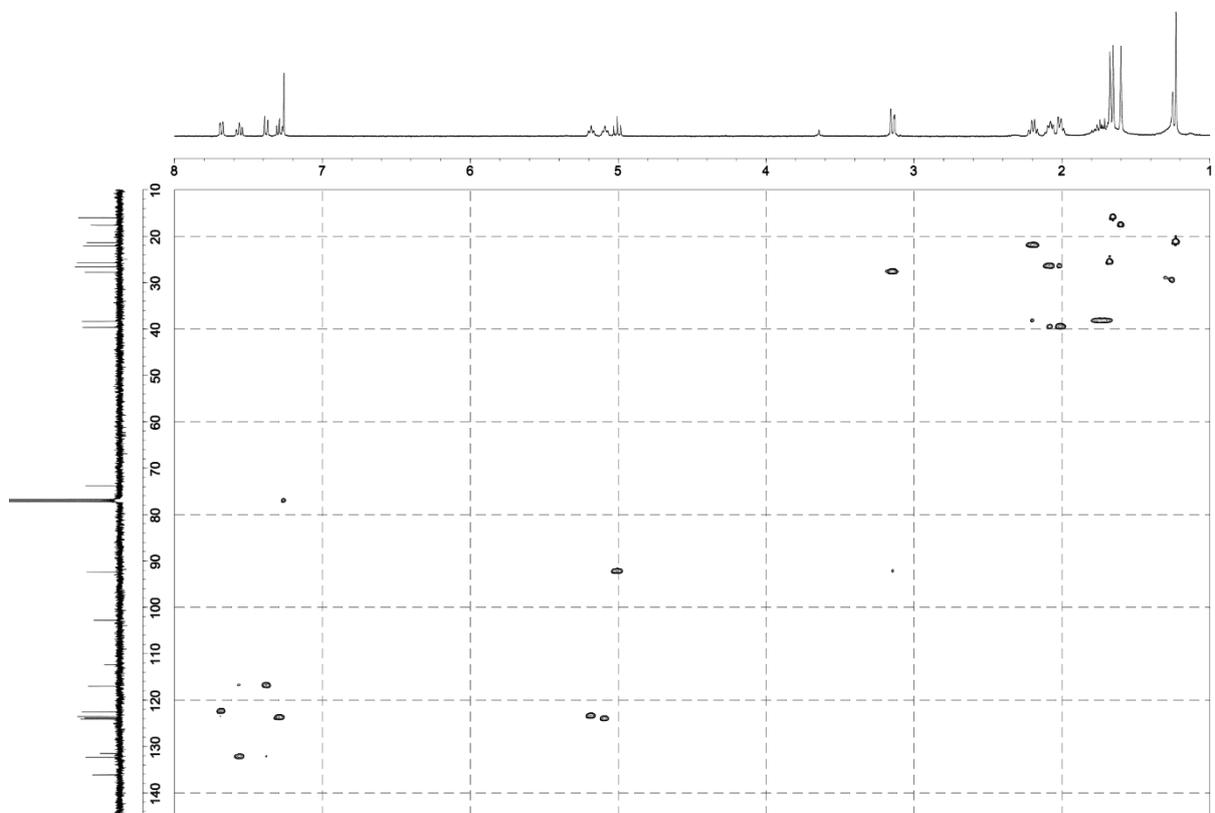


Figure S8. HSQC spectrum of communiferulin B (**2**) in CDCl_3 (500 MHz).

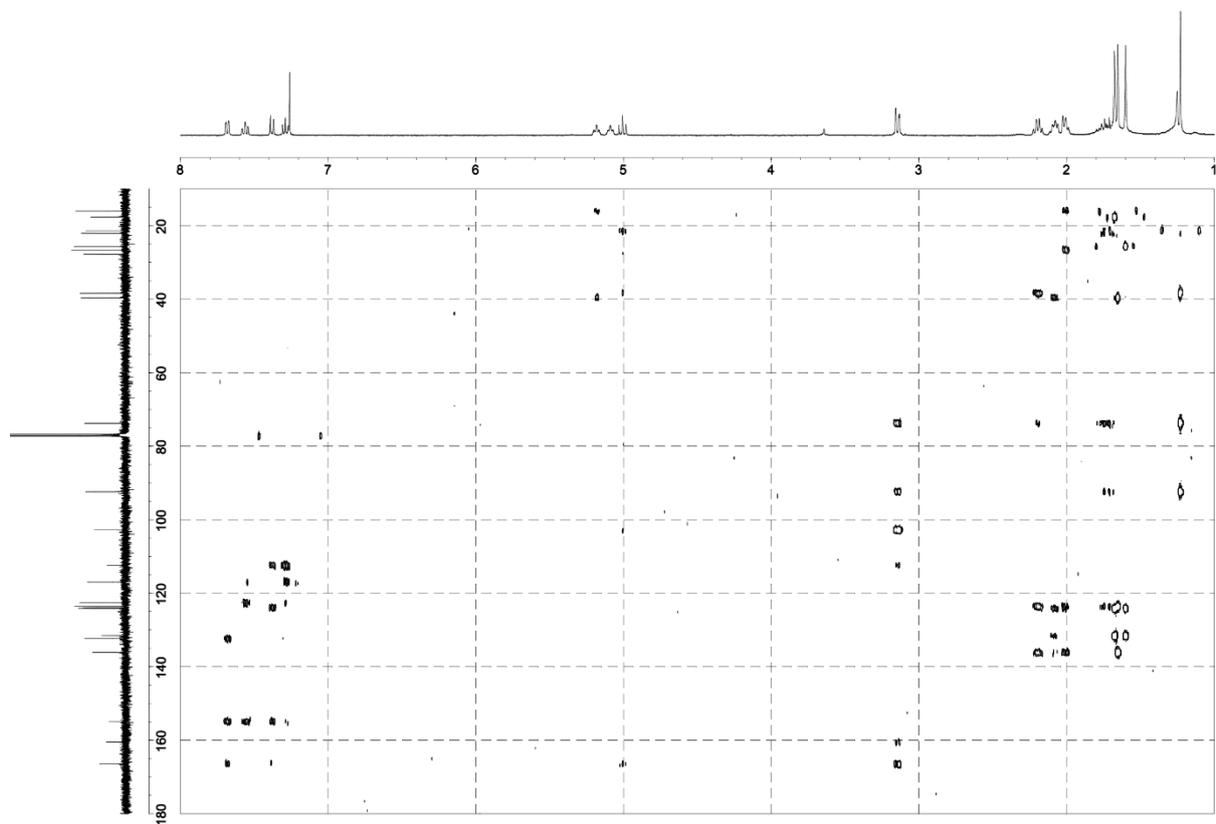


Figure S9. HMBC spectrum of communiferulin B (**2**) in CDCl₃ (500 MHz).

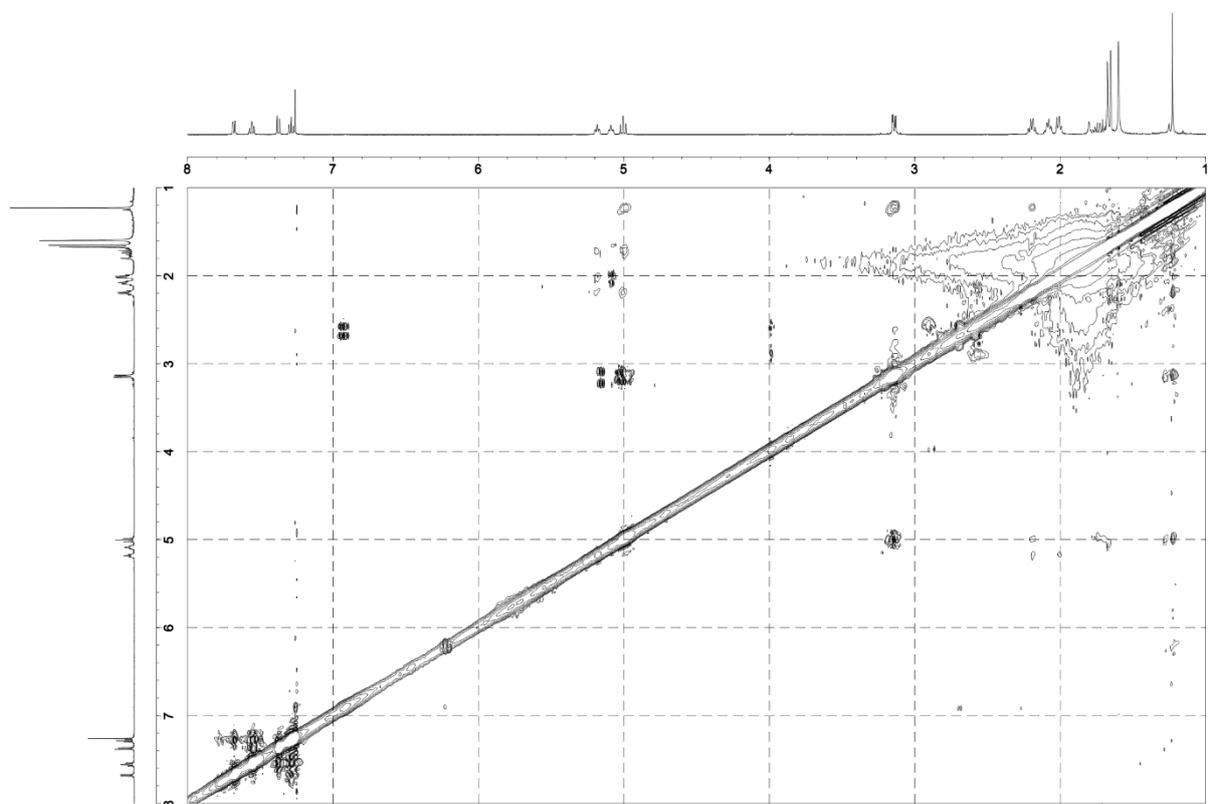


Figure S10. NOESY spectrum of communiferulin B (**2**) in CDCl₃ (500 MHz).

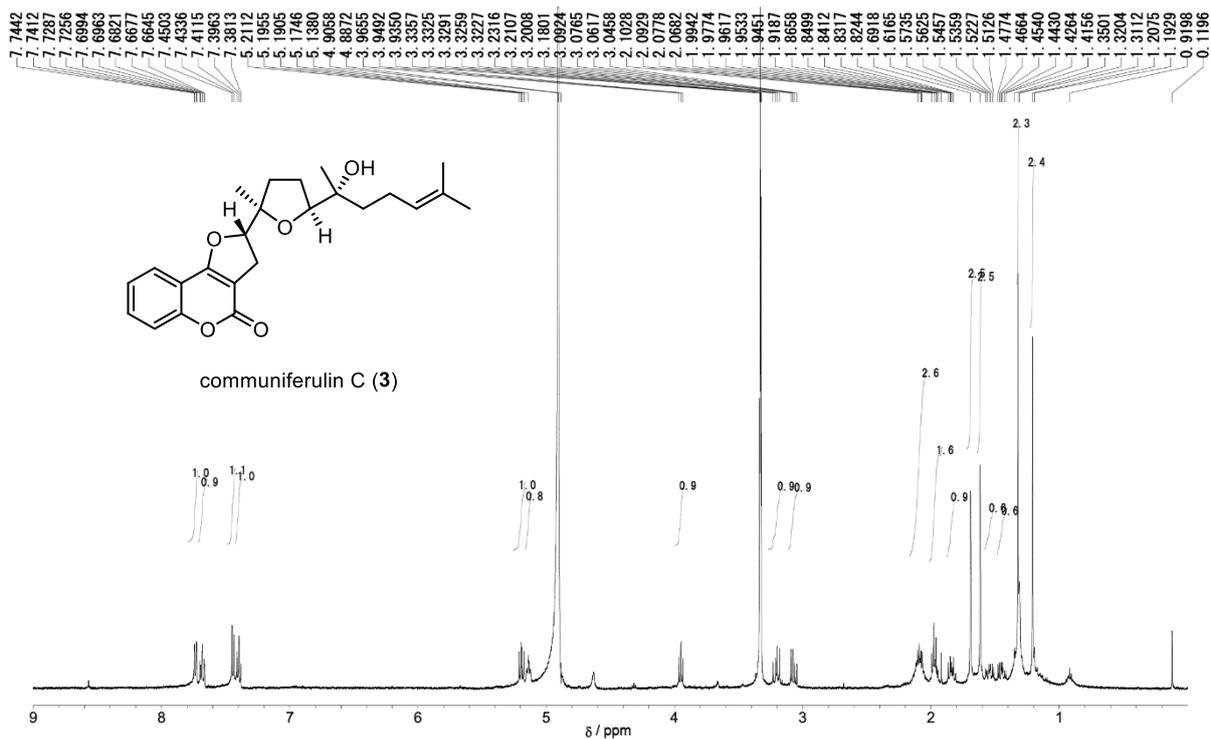


Figure S11. ¹H NMR spectrum of communiferulin C (3) in CD₃OD (500 MHz).

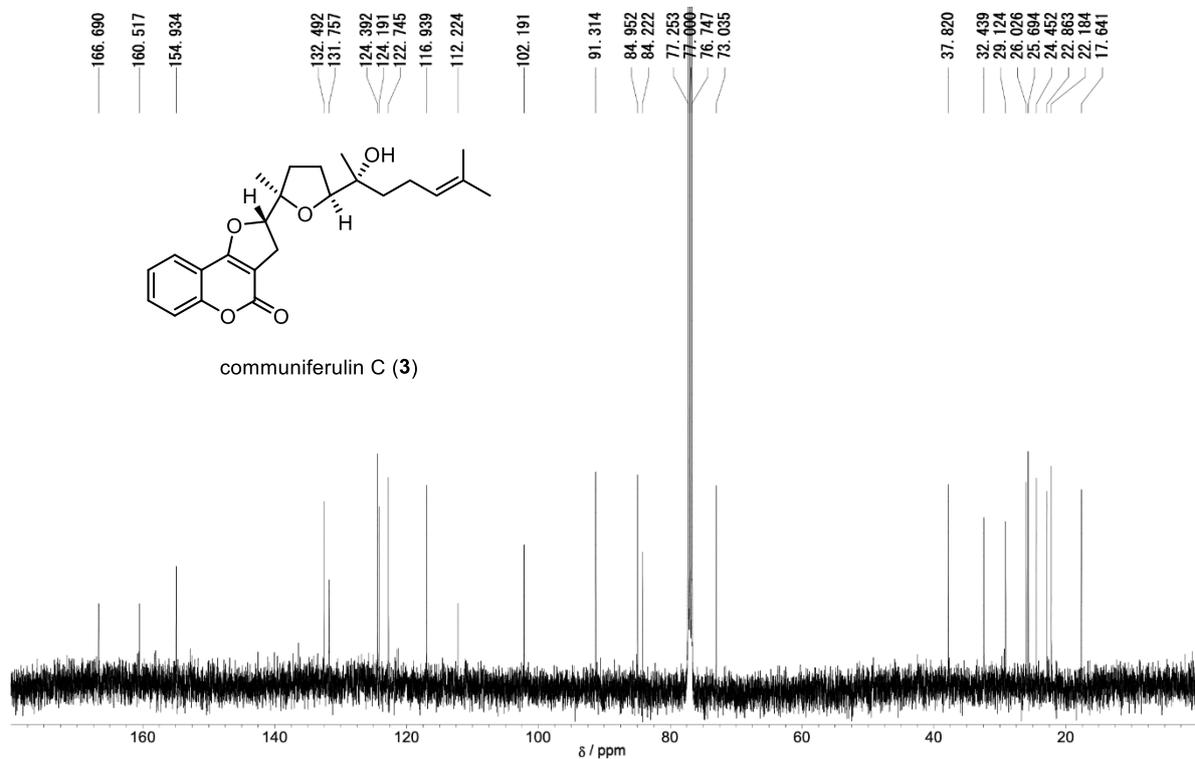


Figure S12. ¹³C NMR spectrum of communiferulin C (3) in CDCl₃ (125 MHz).

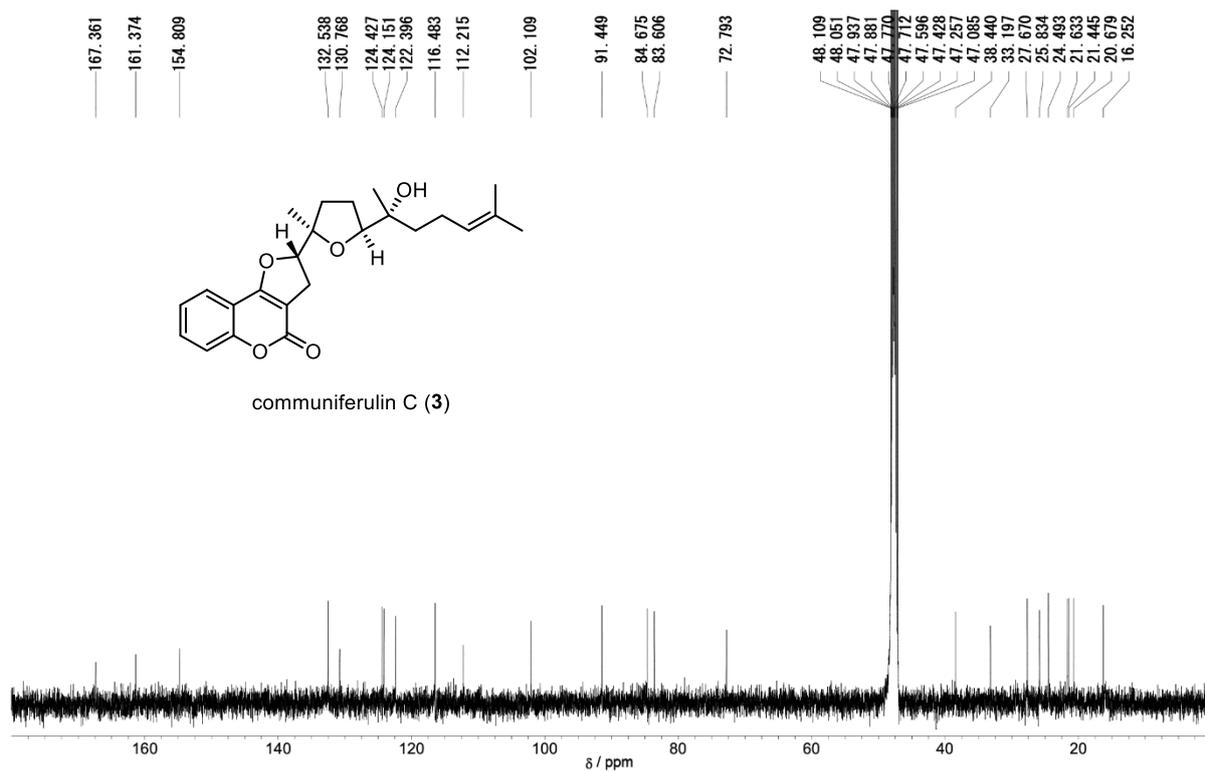


Figure S13. ^{13}C NMR spectrum of communiferulin C (3) in CD_3OD (125 MHz).

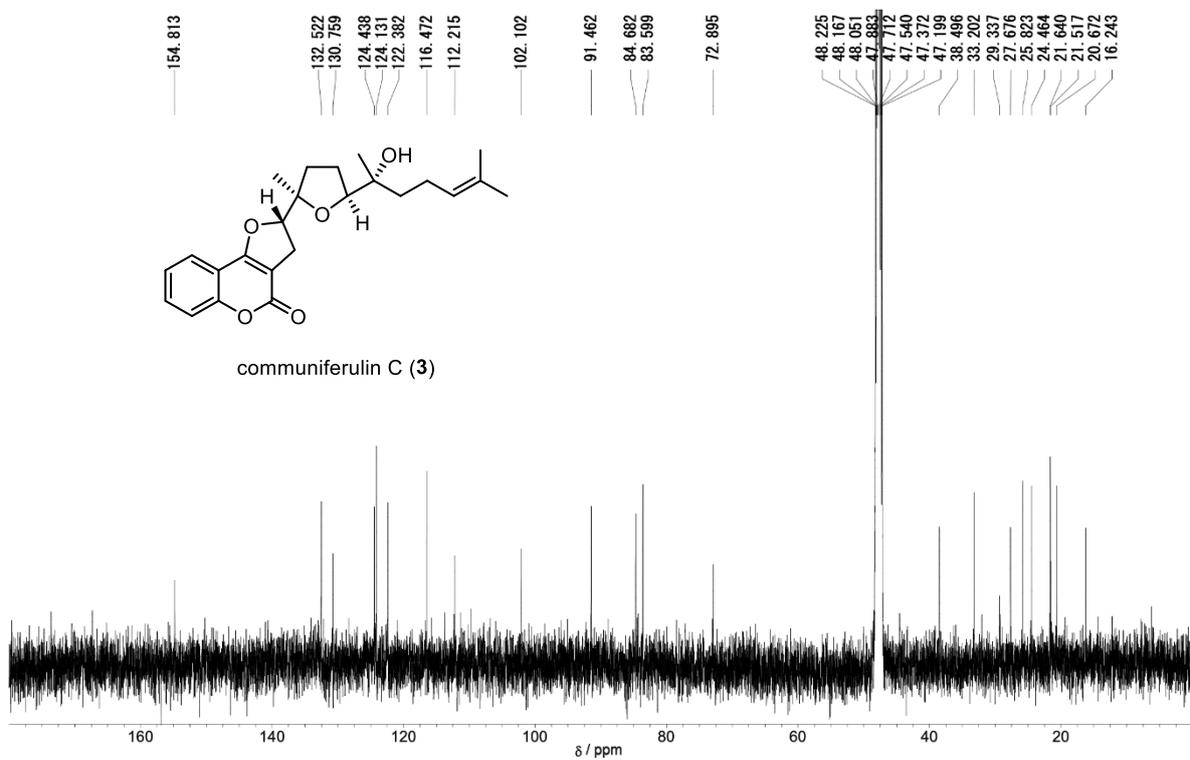


Figure S14. ^{13}C NMR spectrum of communiferulin C (3) in CD_3OH (125 MHz).

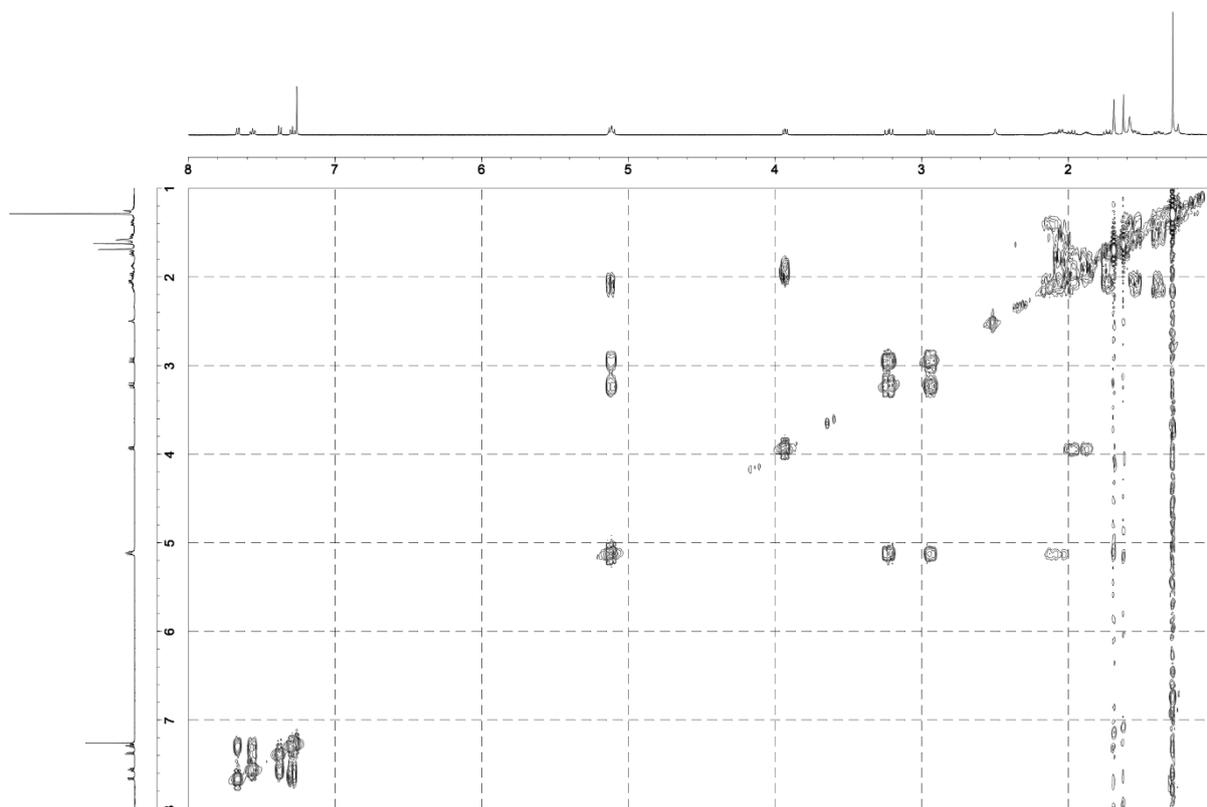


Figure S15. ^1H - ^1H COSY spectrum of communiferulin C (**3**) in CDCl_3 (500 MHz).

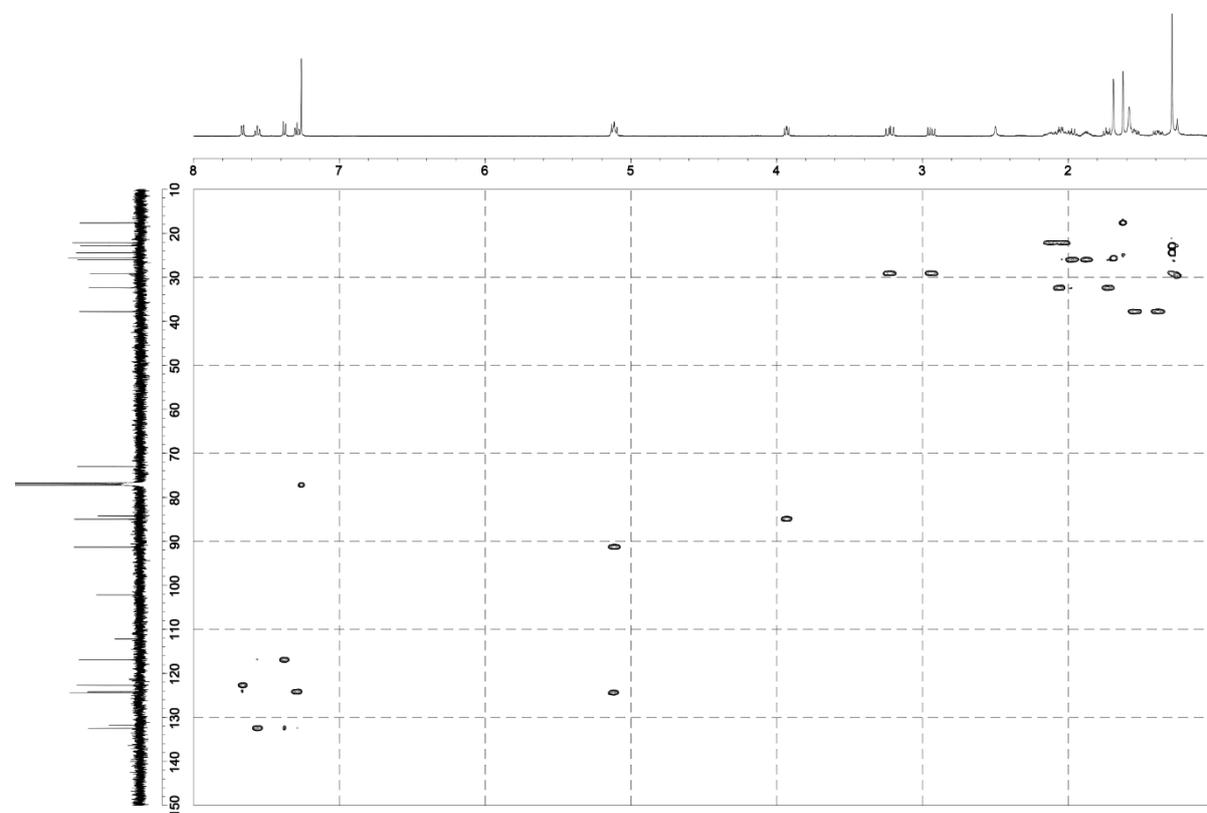


Figure S16. HSQC spectrum of communiferulin C (**3**) in CDCl_3 (500 MHz).

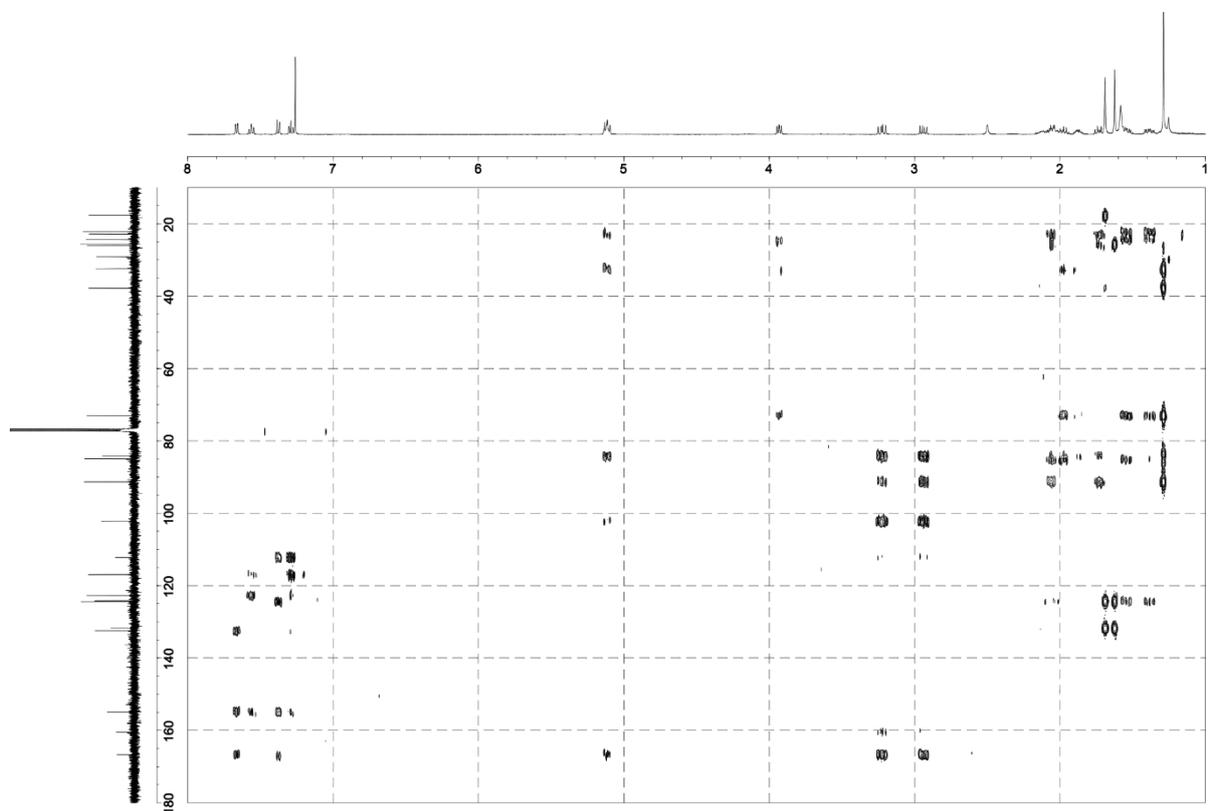


Figure S17. HMBC spectrum of communiferulin C (**3**) in CDCl_3 (500 MHz).

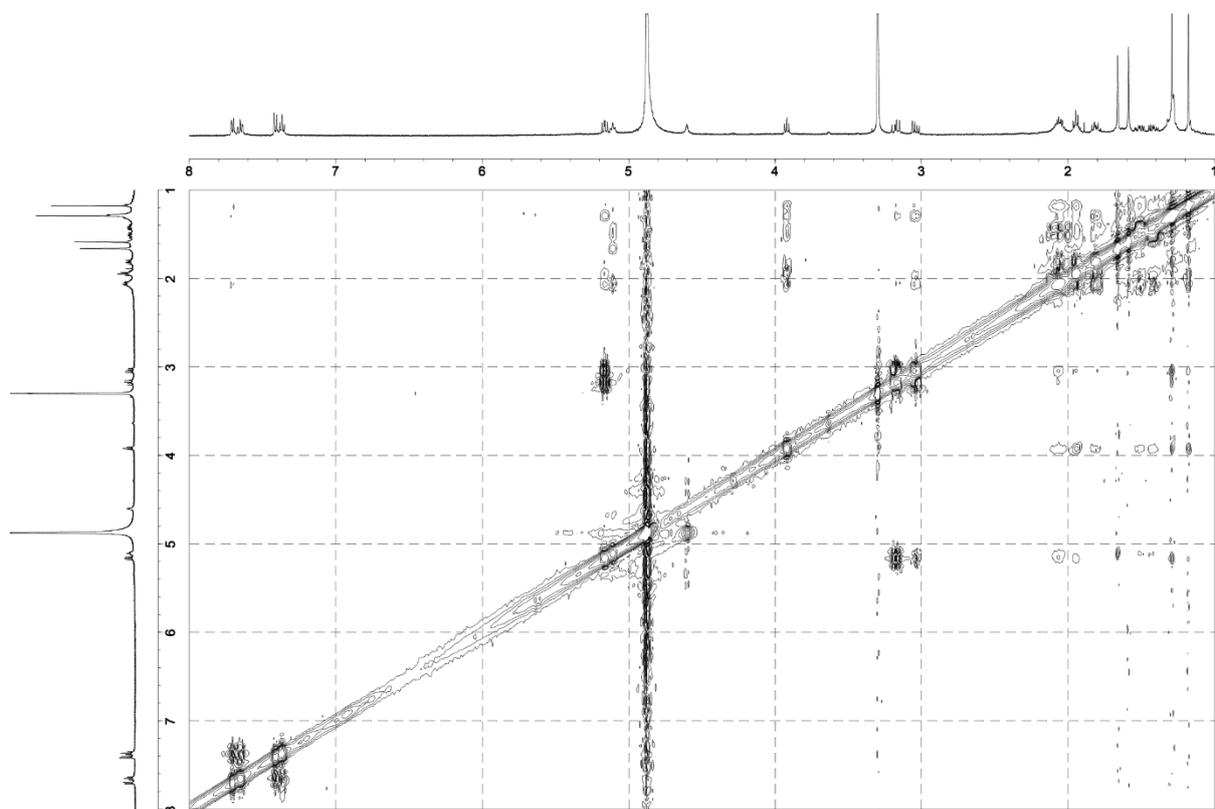


Figure S18. NOESY spectrum of communiferulin C (**3**) in CD_3OD (500 MHz).

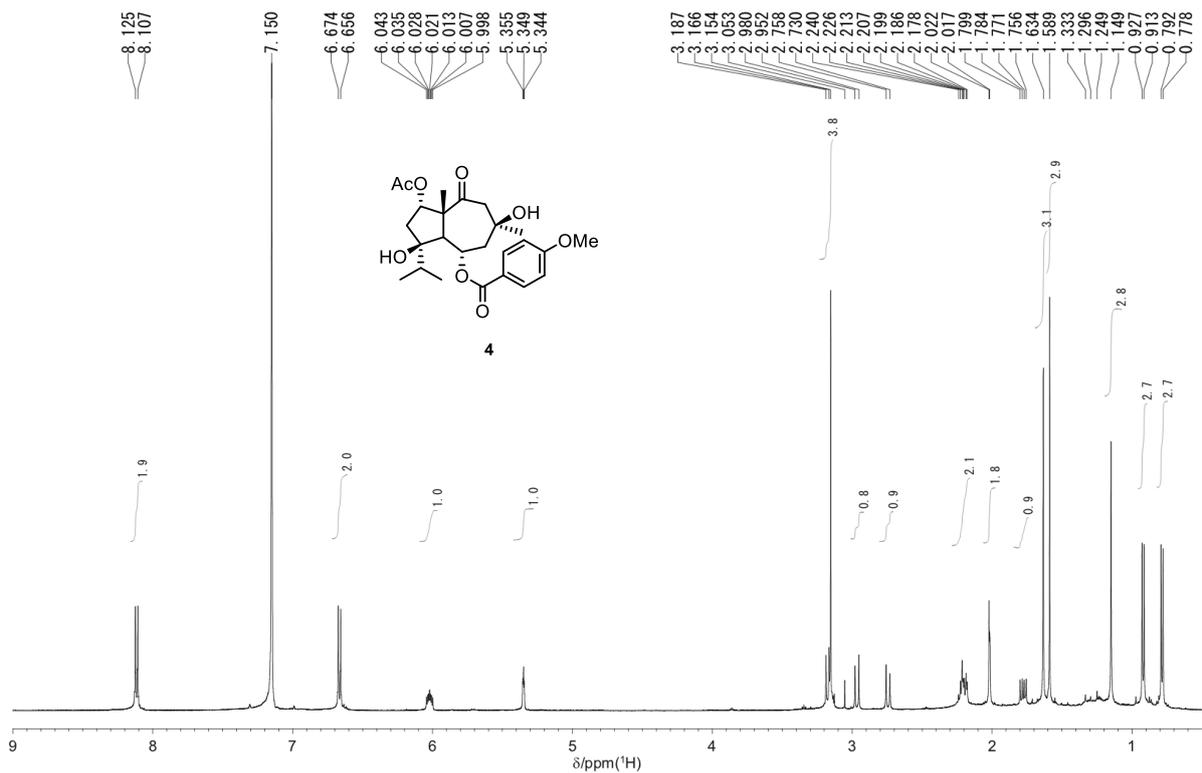


Figure S19. ¹H NMR spectrum of compound 4 in C₆D₆ (500 MHz).

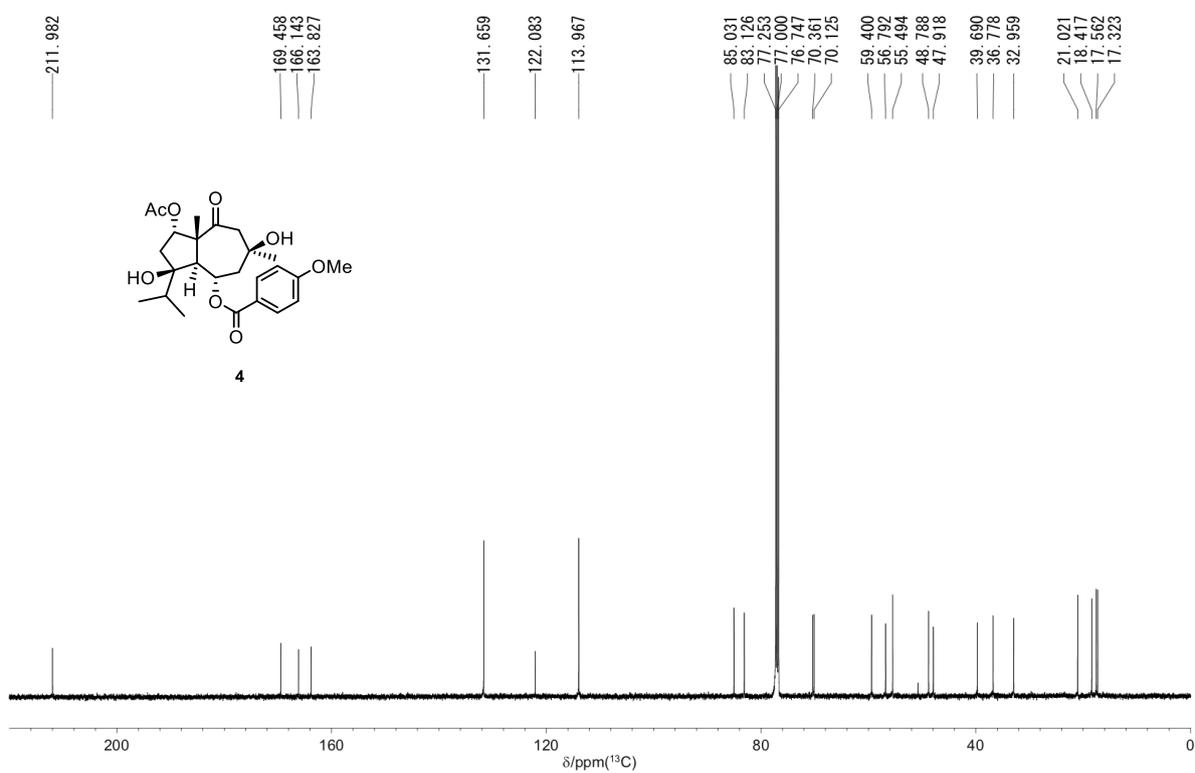


Figure S20. ¹³C NMR spectrum of compound 4 in CDCl₃ (125 MHz).

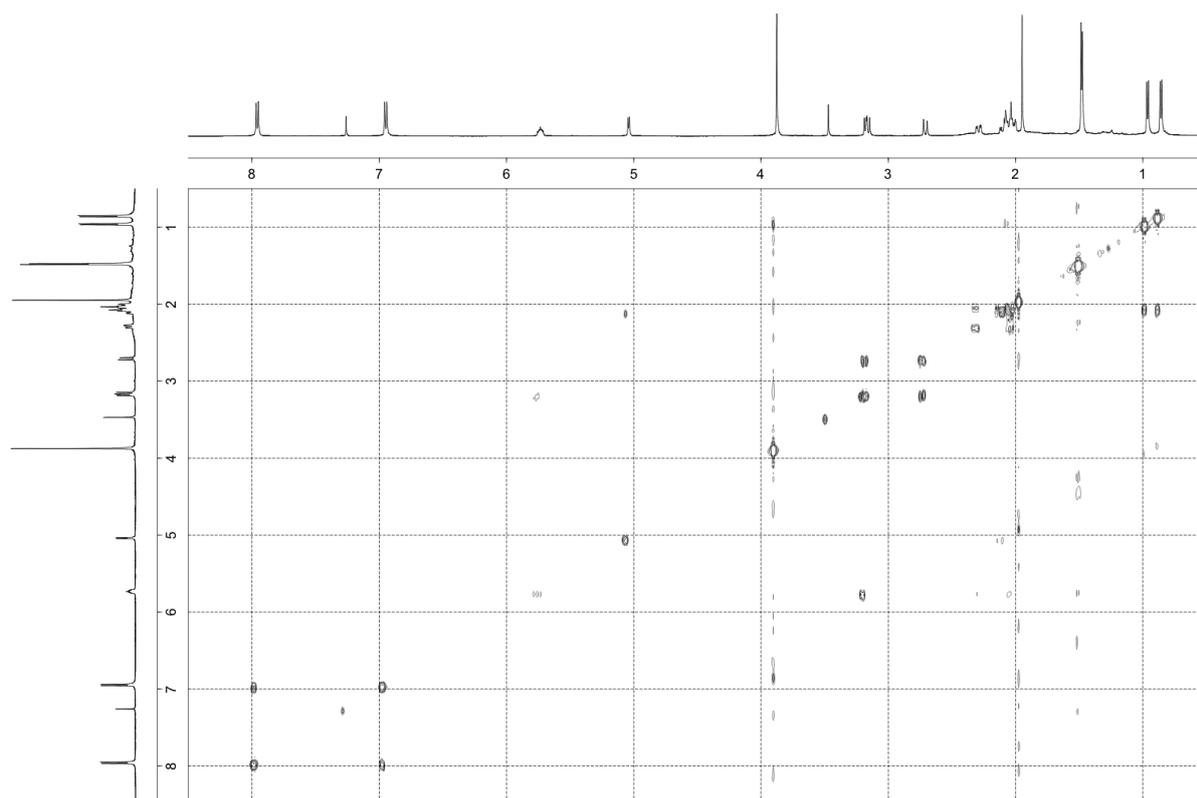


Figure S21. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **4** in CDCl_3 (500 MHz).

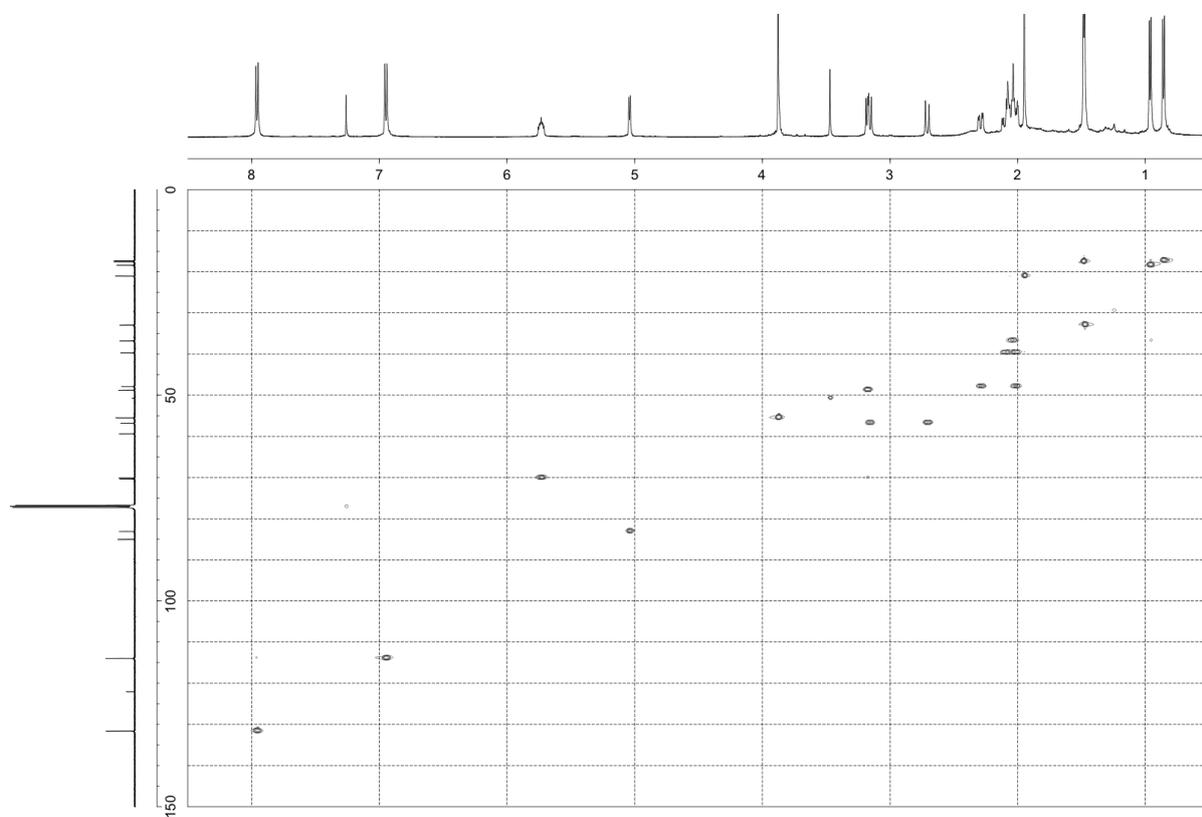


Figure S22. HSQC spectrum of compound **4** in CDCl_3 (500 MHz).

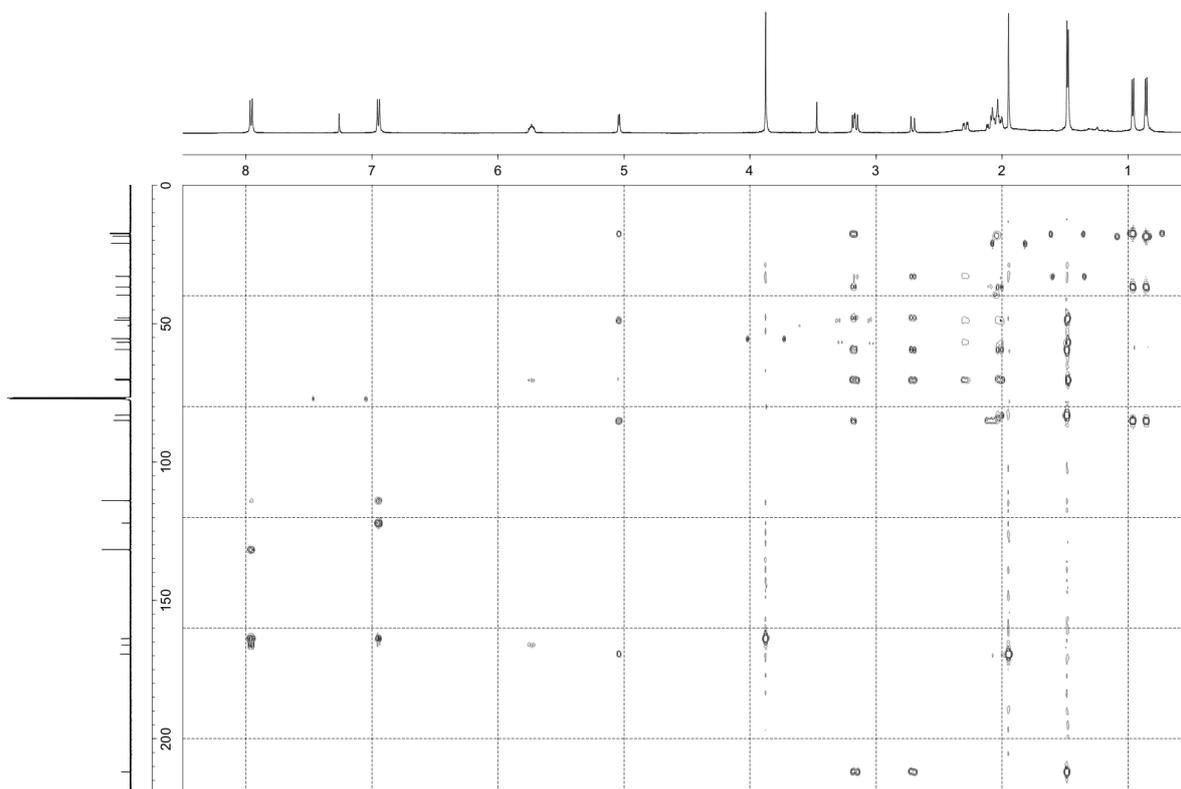


Figure S23. HMBC spectrum of compound **4** in CDCl_3 (500 MHz).

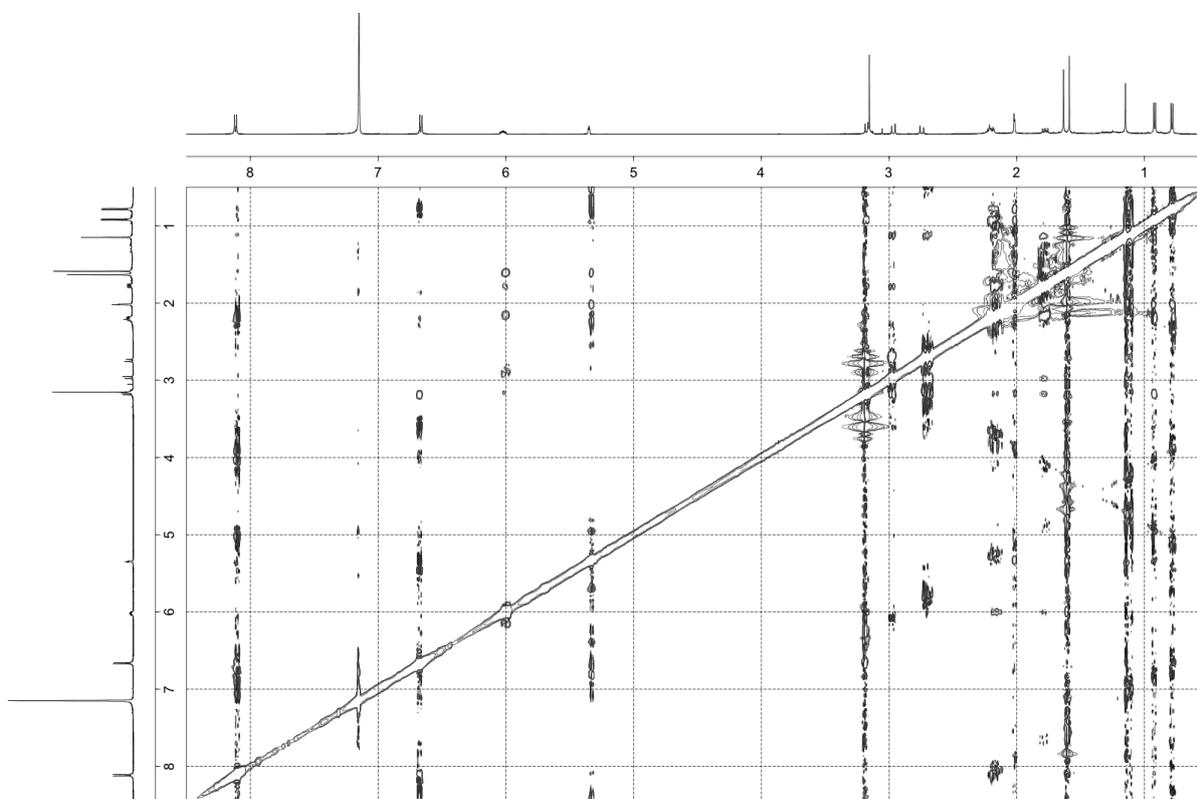


Figure S24. NOESY spectrum of compound **4** in C_6D_6 (400 MHz).

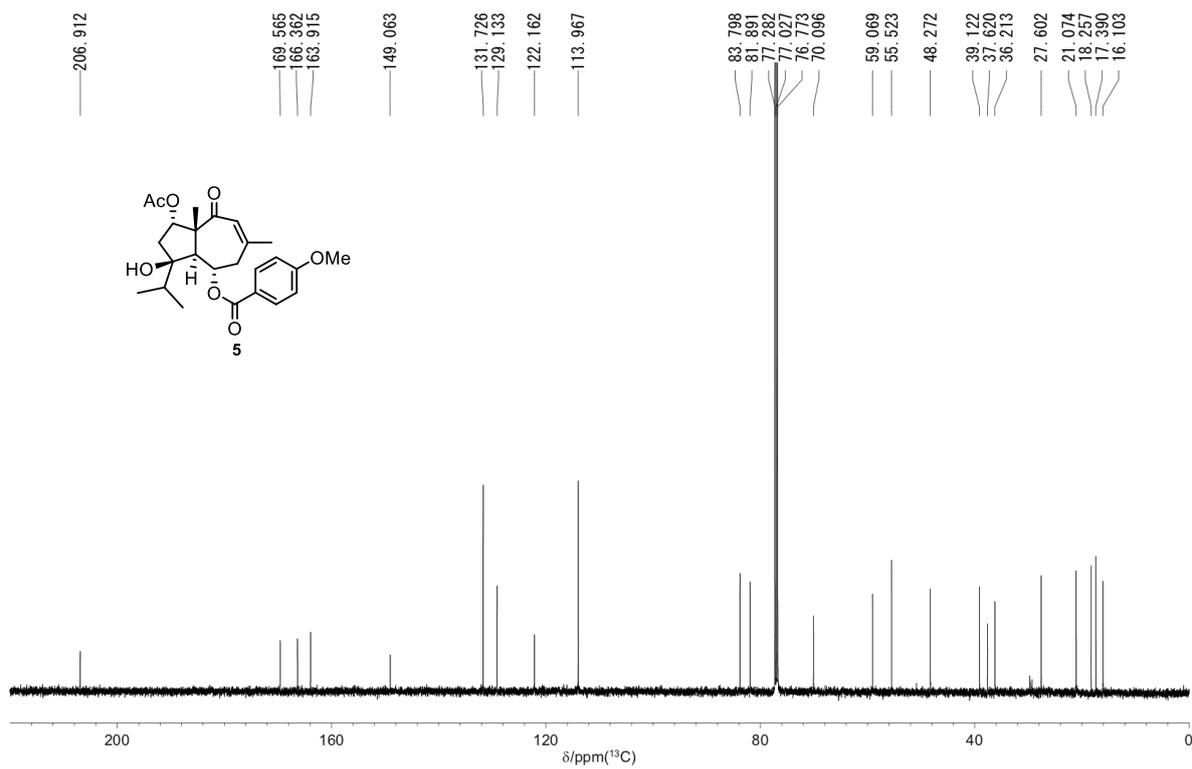


Figure S25. ^{13}C NMR spectrum of compound **5** in CDCl_3 (125 MHz).

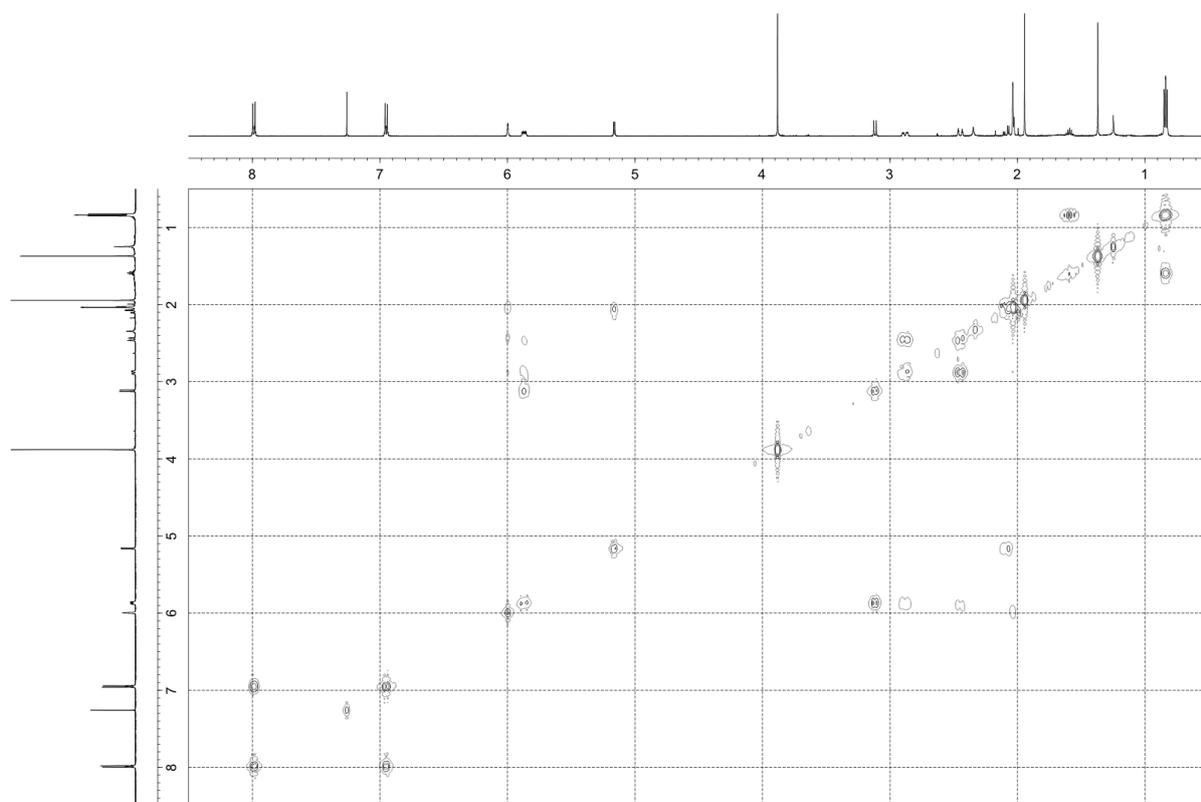


Figure S26. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **5** in CDCl_3 (400 MHz).

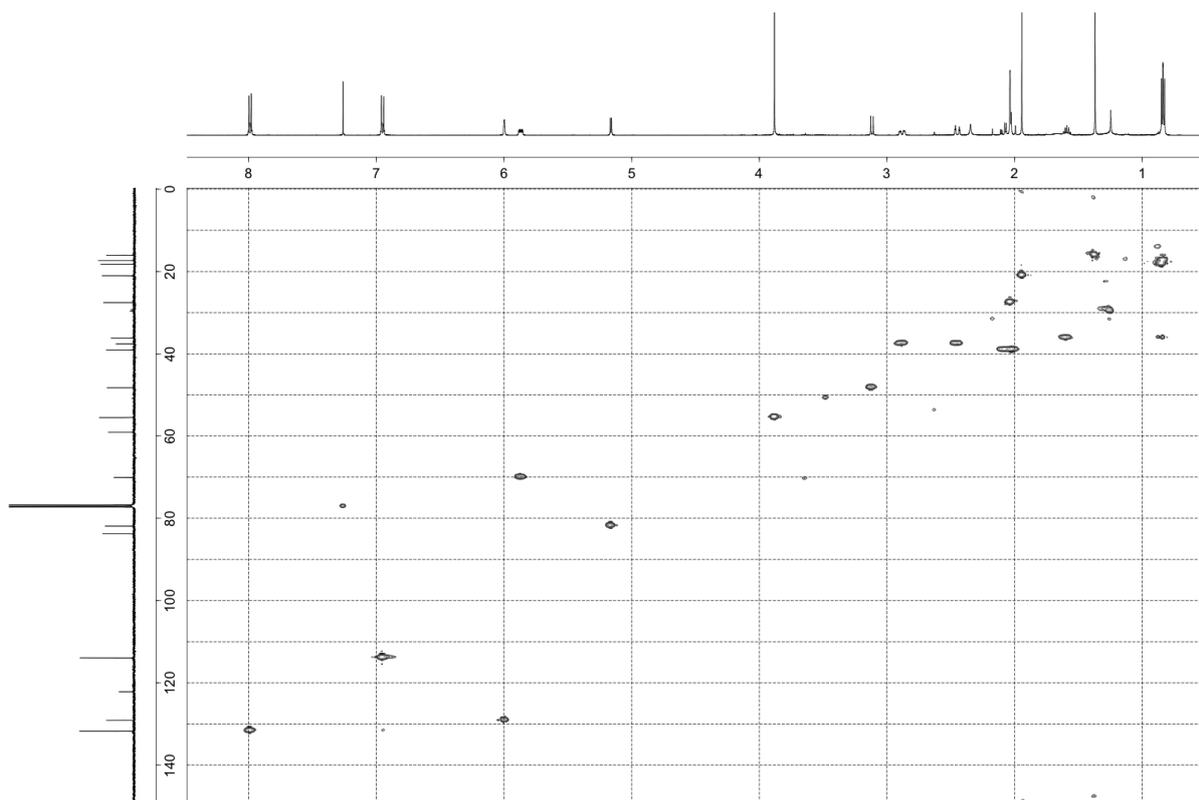


Figure S27. HSQC spectrum of compound **5** in CDCl₃ (500 MHz).

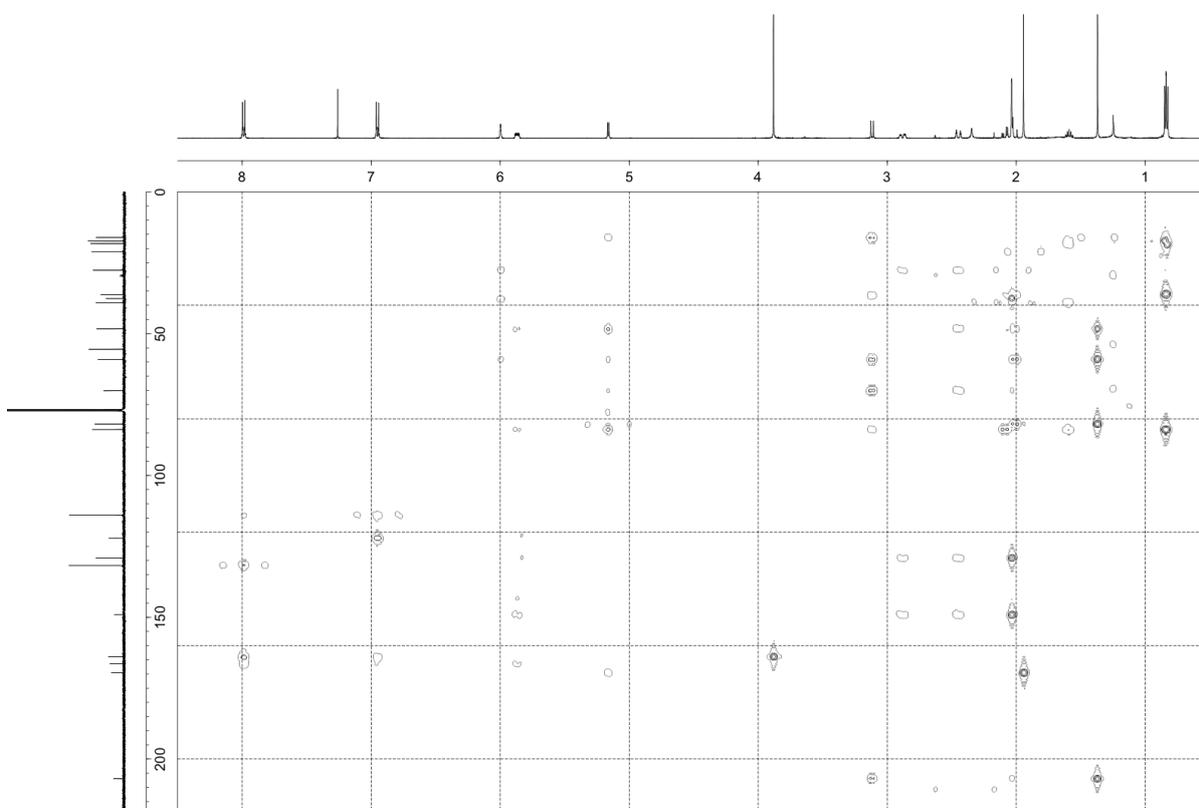


Figure S28. HMBC spectrum of compound **5** in CDCl₃ (500 MHz).

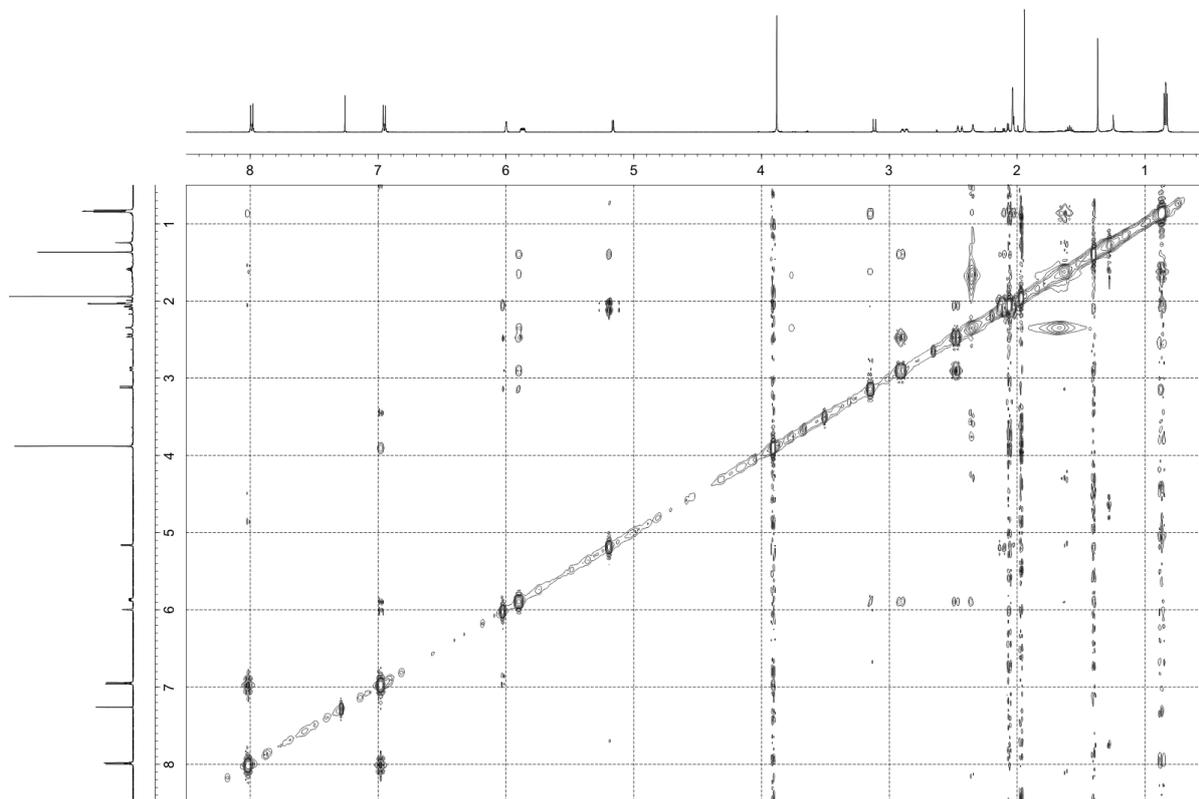


Figure S29. NOESY spectrum of compound **5** in CDCl_3 (500 MHz).

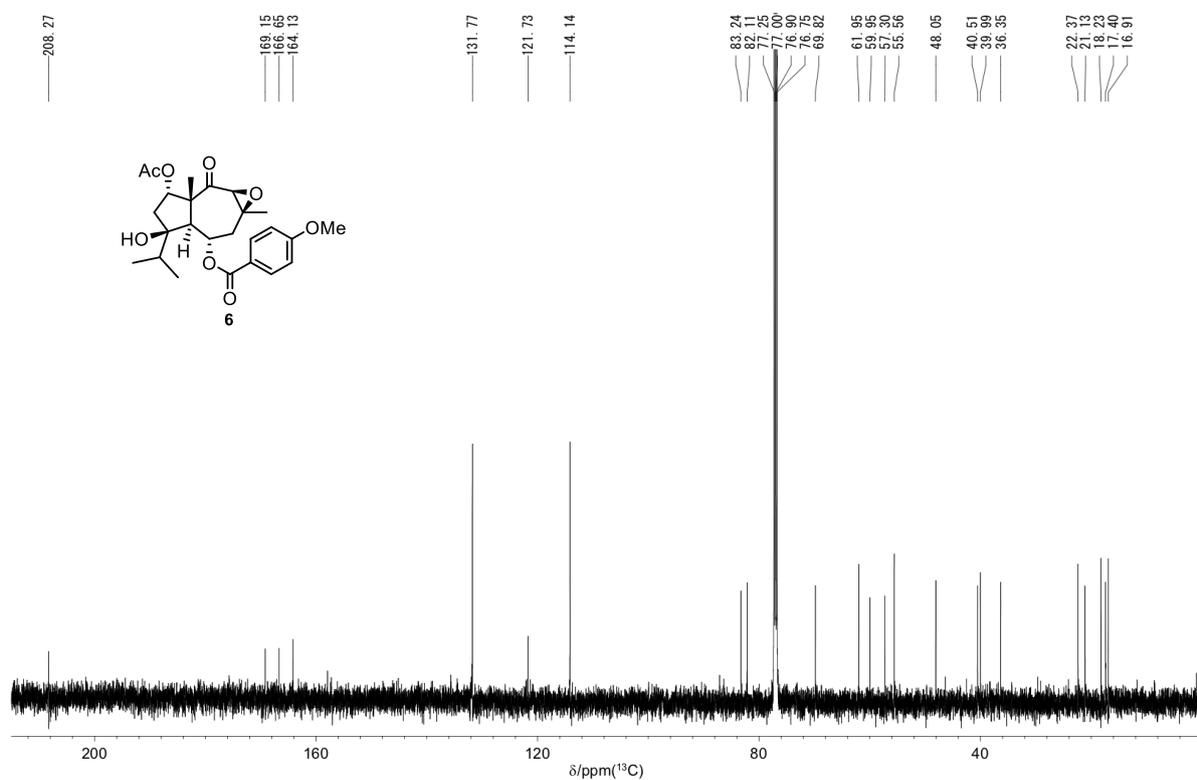


Figure S30. ^{13}C NMR spectrum of compound **6** in CDCl_3 (125 MHz).

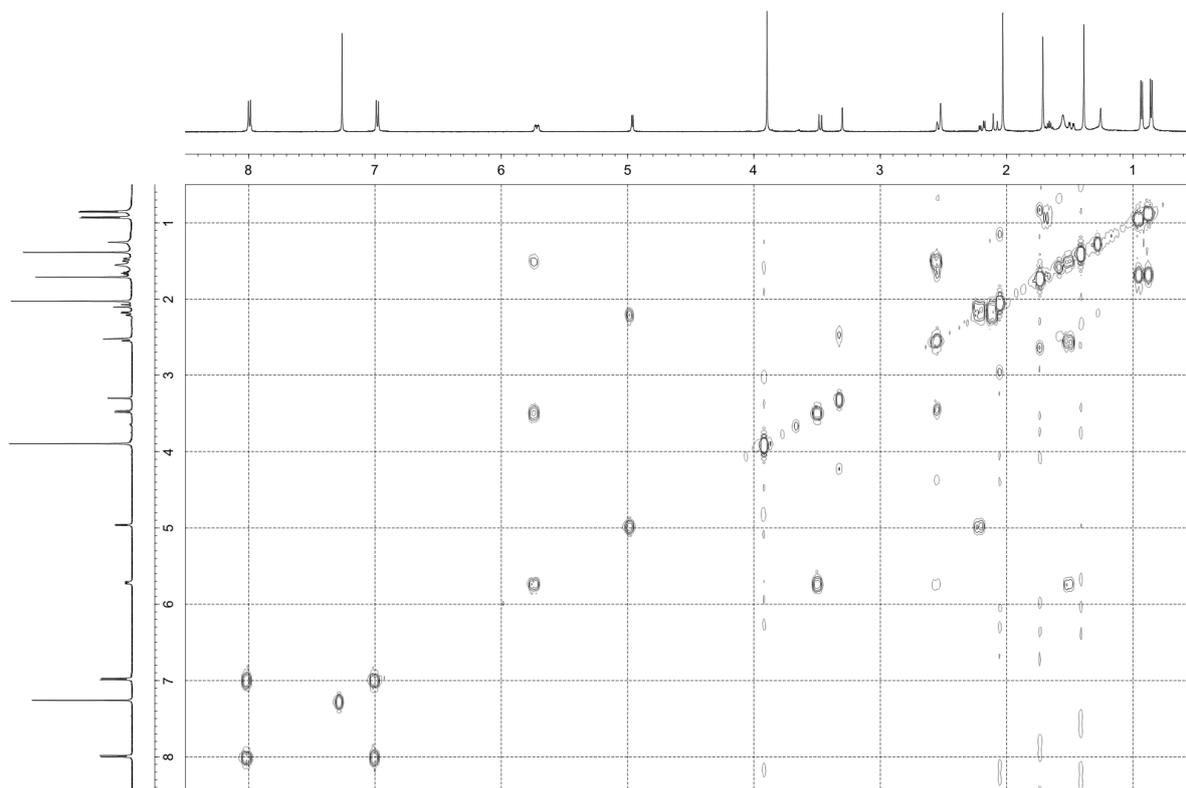


Figure S31. ¹H-¹H COSY spectrum of compound **6** in CDCl₃ (500 MHz).

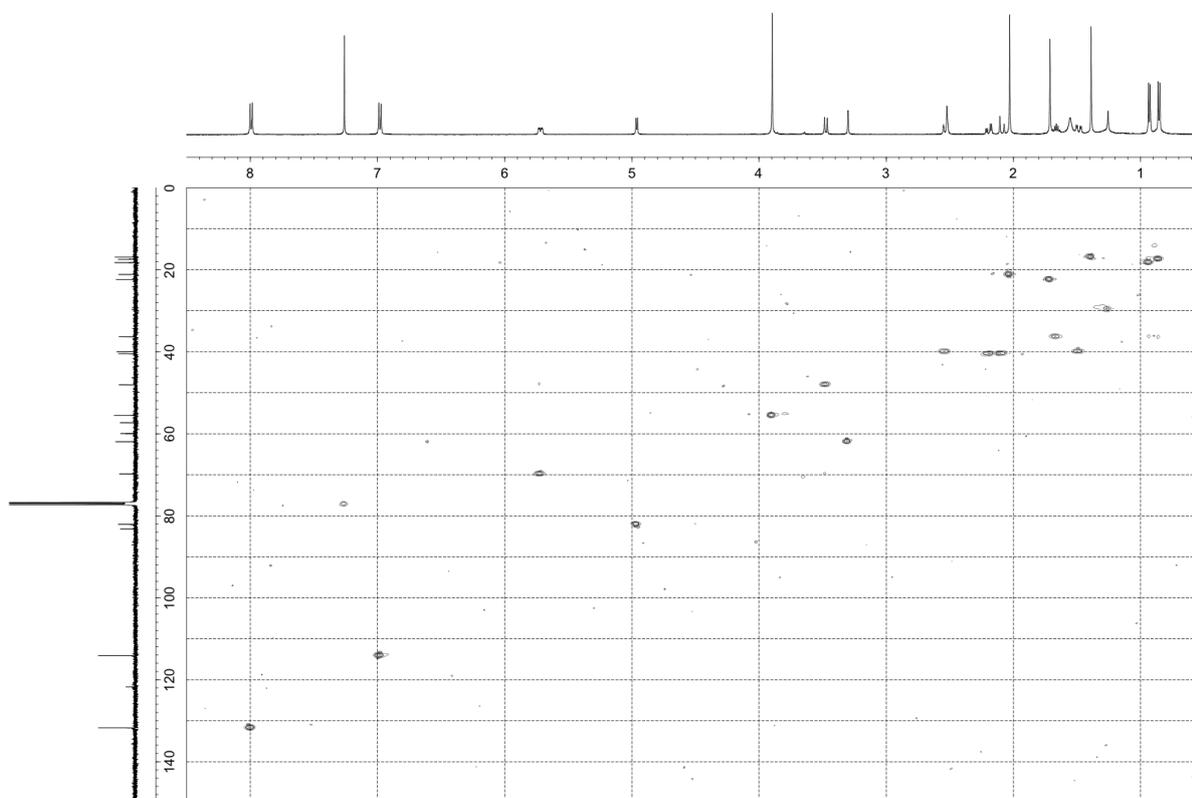


Figure S32. HSQC spectrum of compound **6** in CDCl₃ (500 MHz).

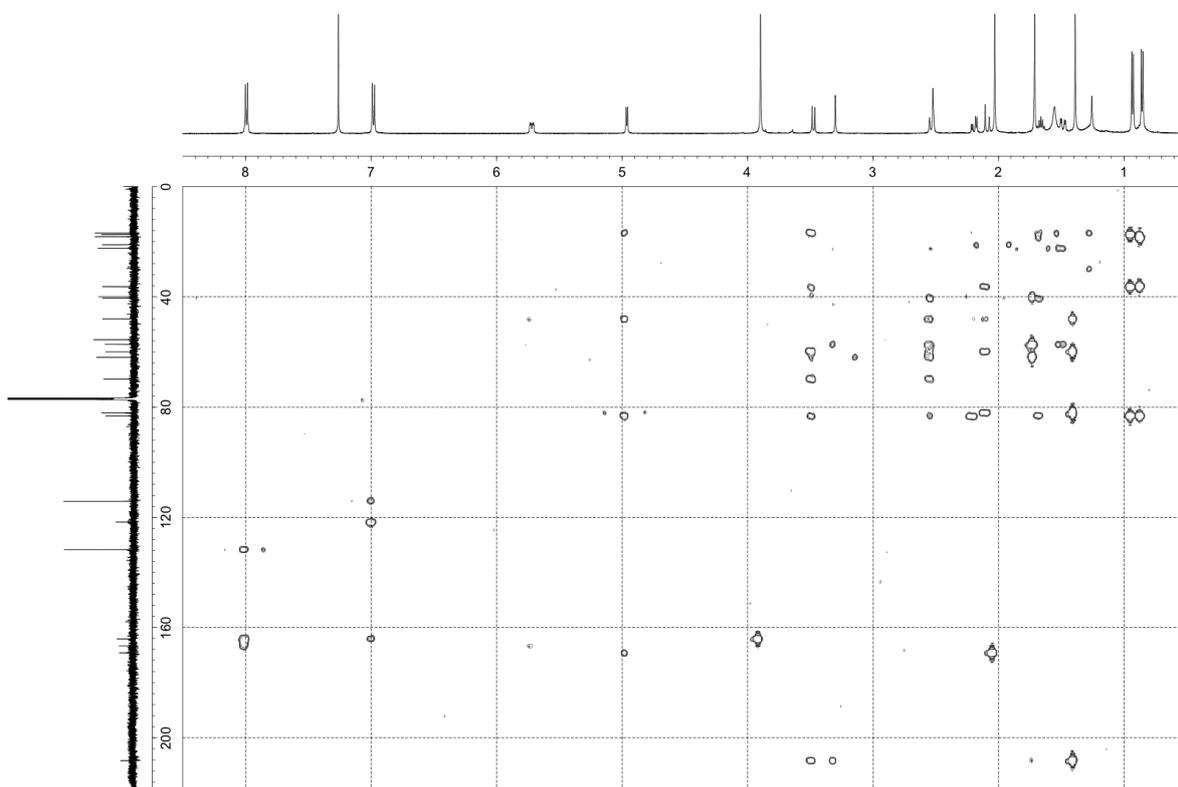


Figure S33. HMBC spectrum of compound **6** in CDCl₃ (500 MHz).

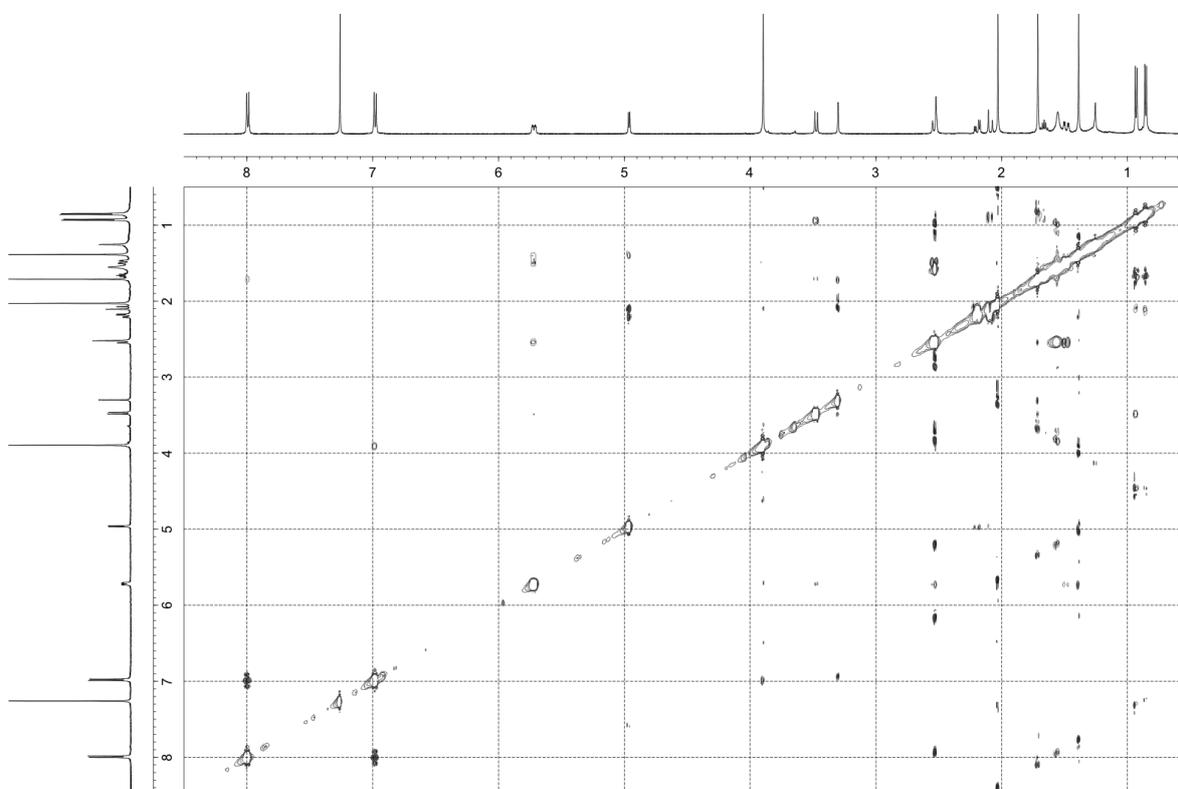


Figure S34. NOESY spectrum of compound **6** in CDCl₃ (500 MHz).

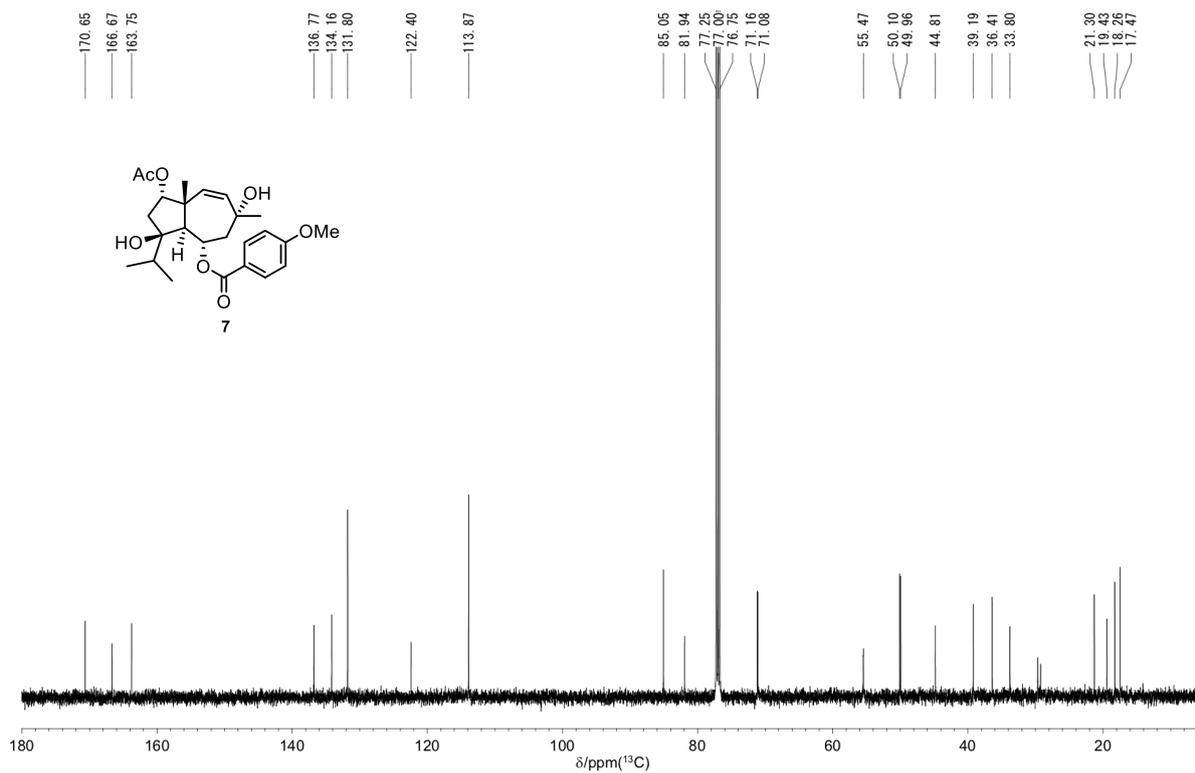


Figure S35. ^{13}C NMR spectrum of compound 7 in CDCl_3 (125 MHz).

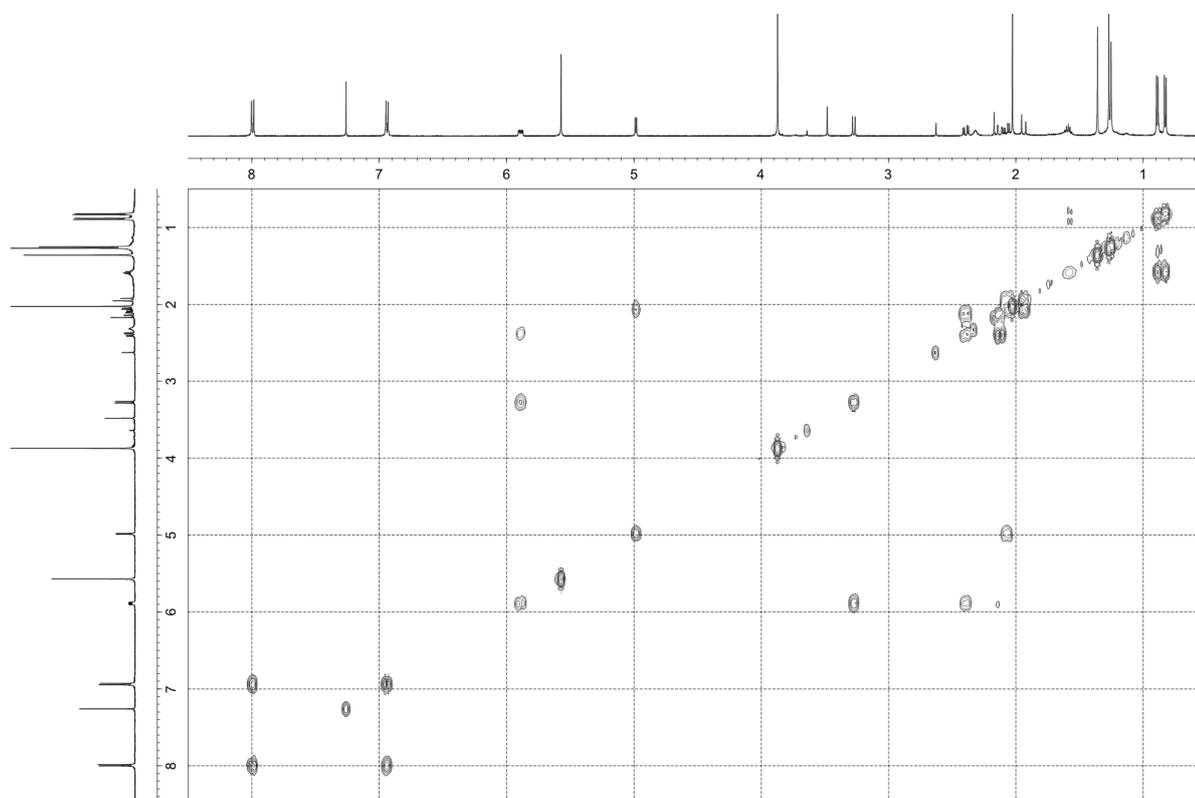


Figure S36. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound 7 in CDCl_3 (500 MHz).

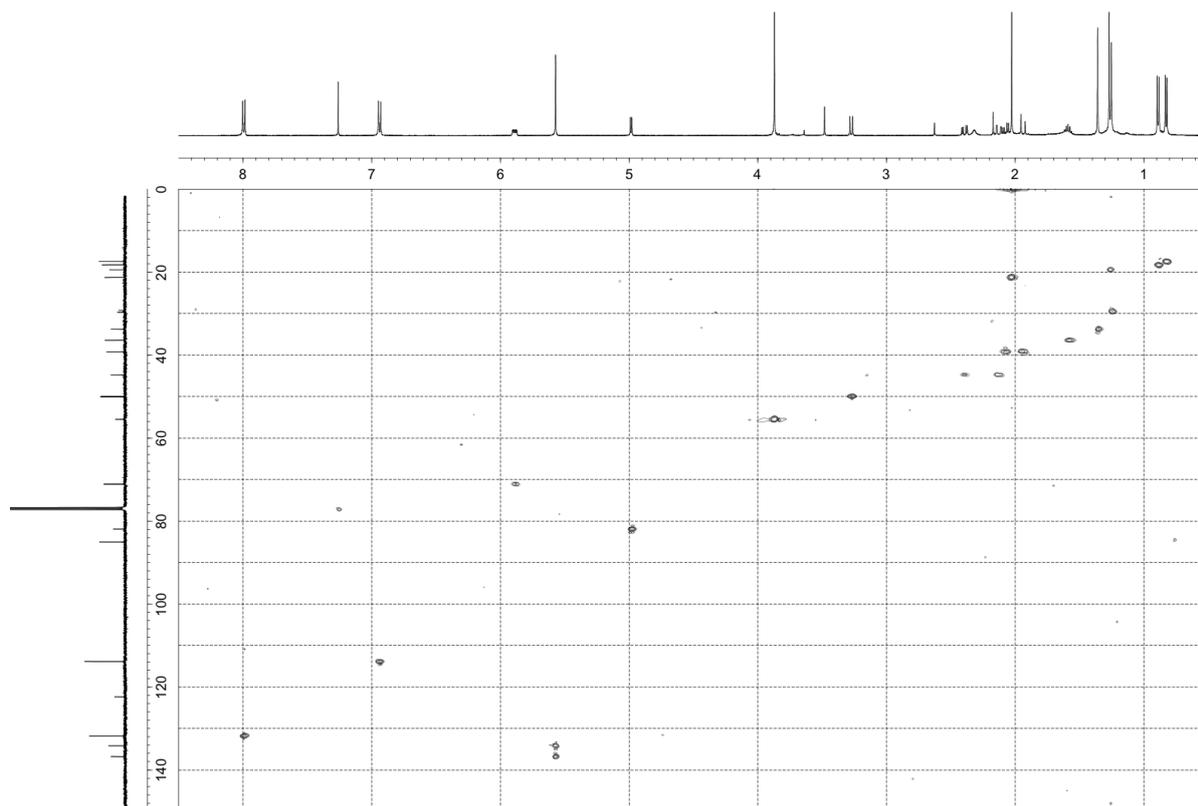


Figure S37. HSQC spectrum of compound **7** in CDCl_3 (500 MHz).

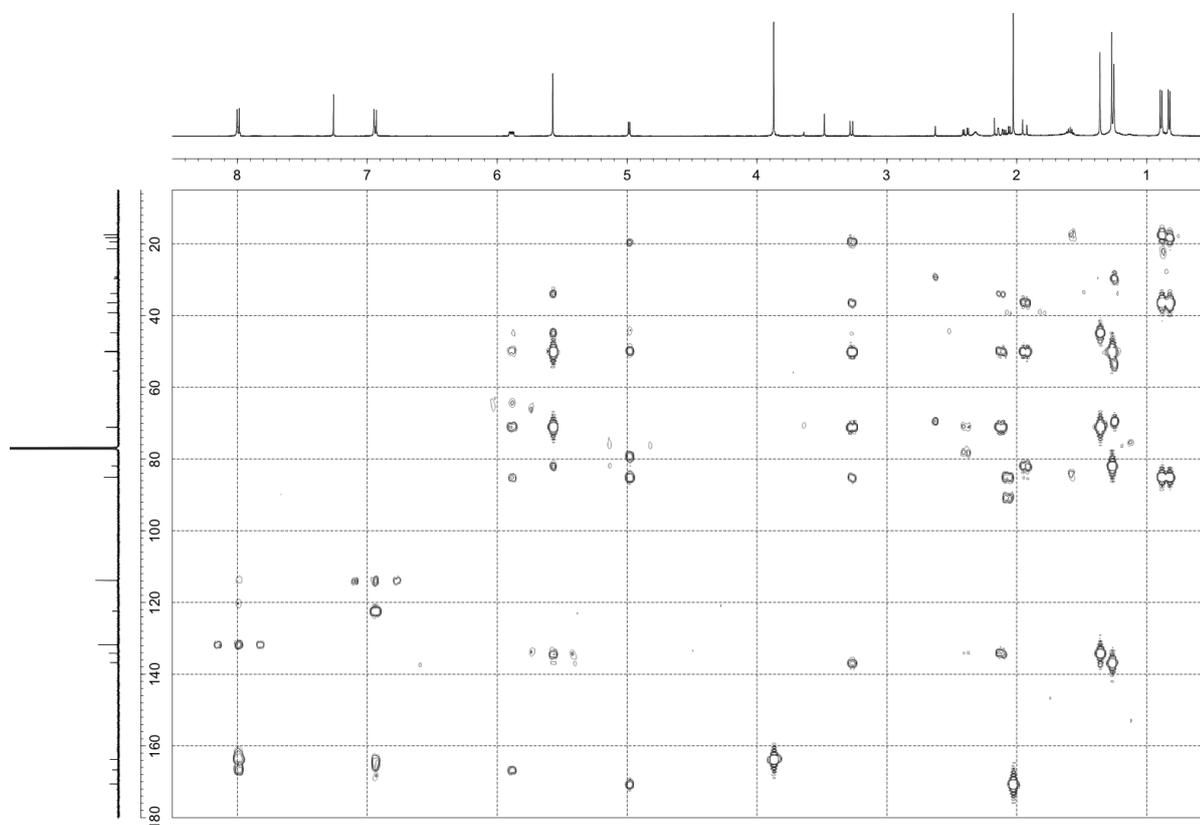


Figure S38. HMBC spectrum of compound **7** in CDCl_3 (500 MHz).

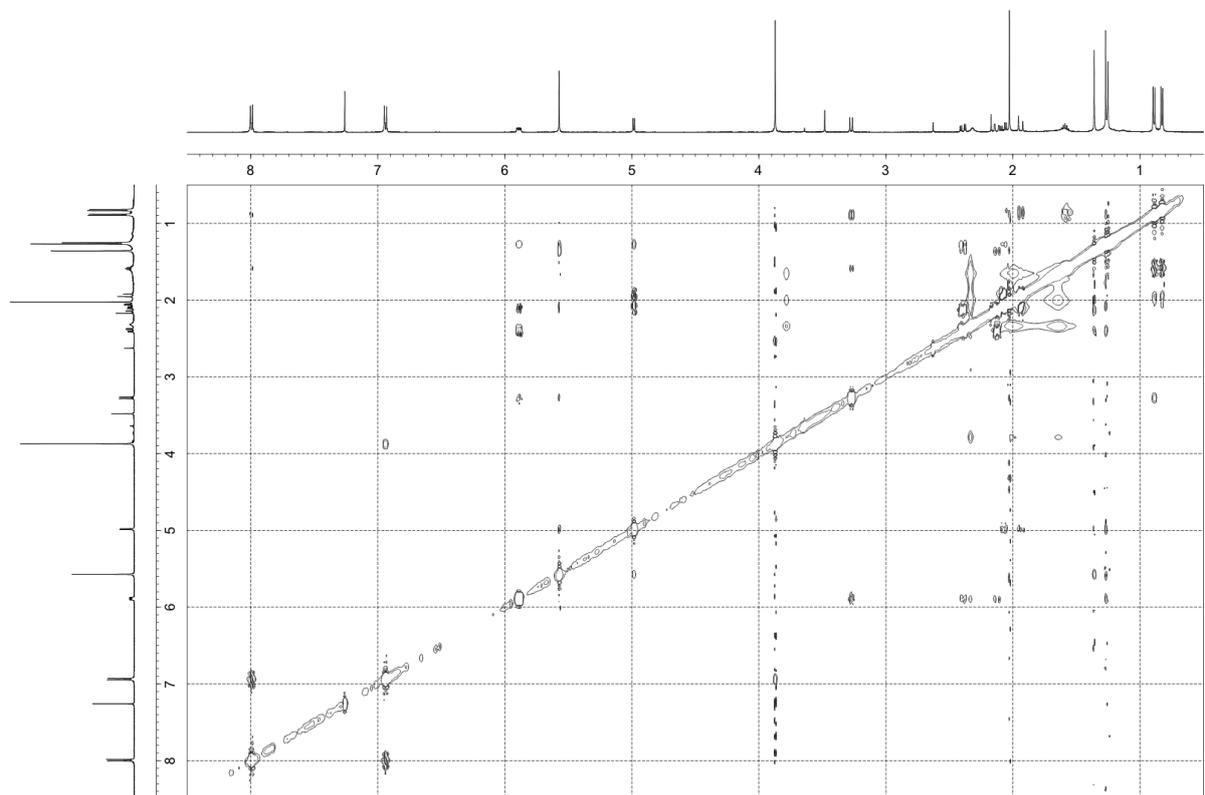


Figure S39. NOESY spectrum of compound **7** in CDCl_3 (500 MHz).

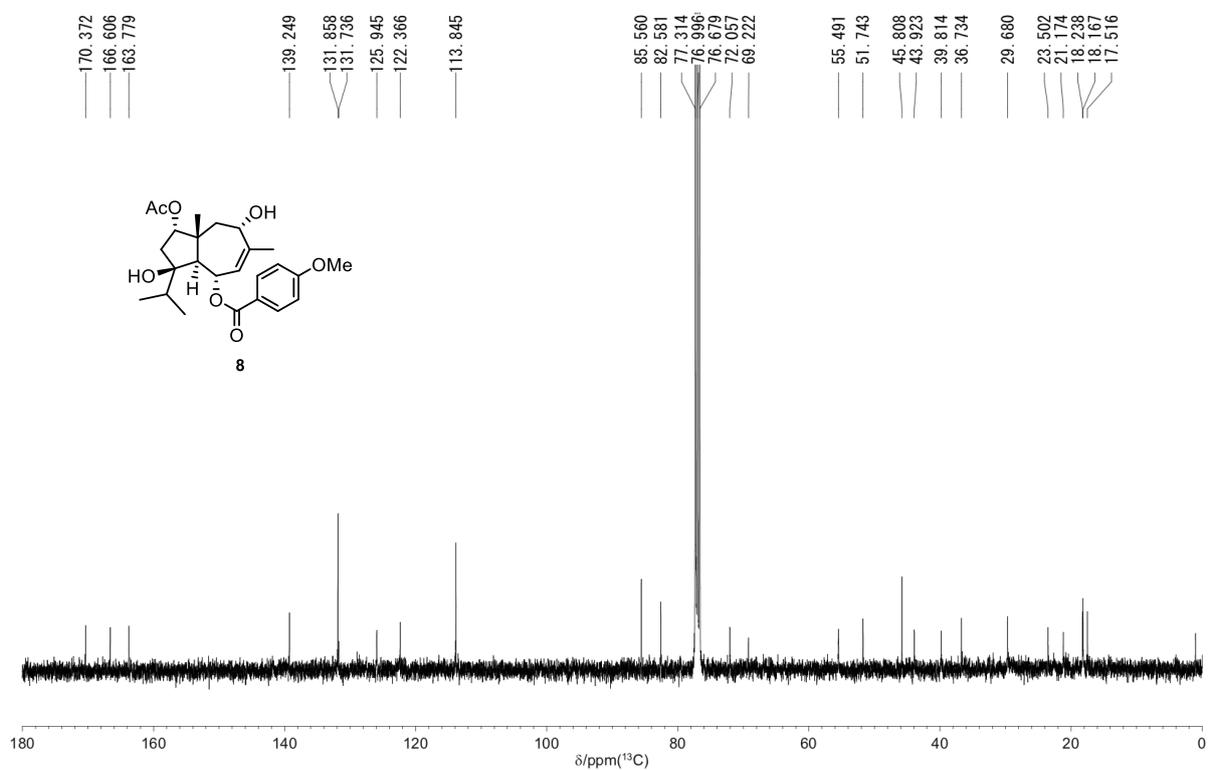


Figure S40. ^{13}C NMR spectrum of compound **8** in CDCl_3 (100 MHz).

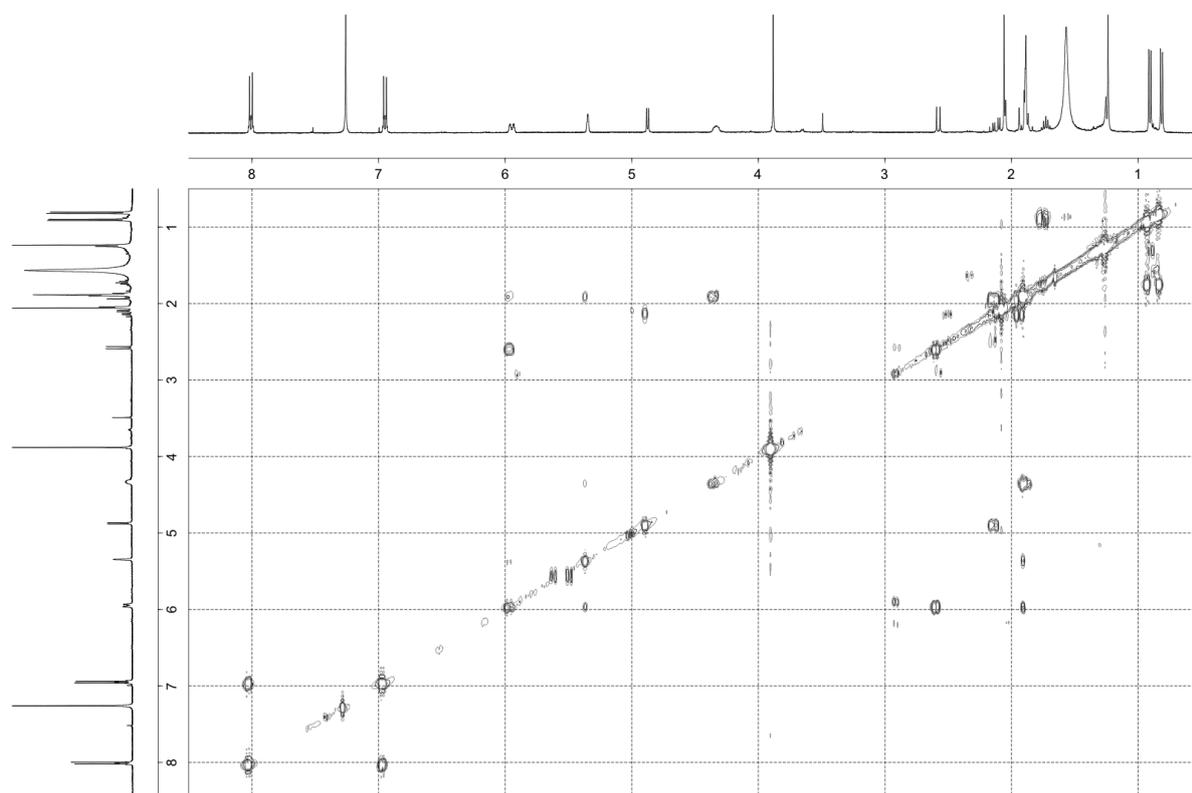


Figure S41. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **8** in CDCl_3 (400 MHz).

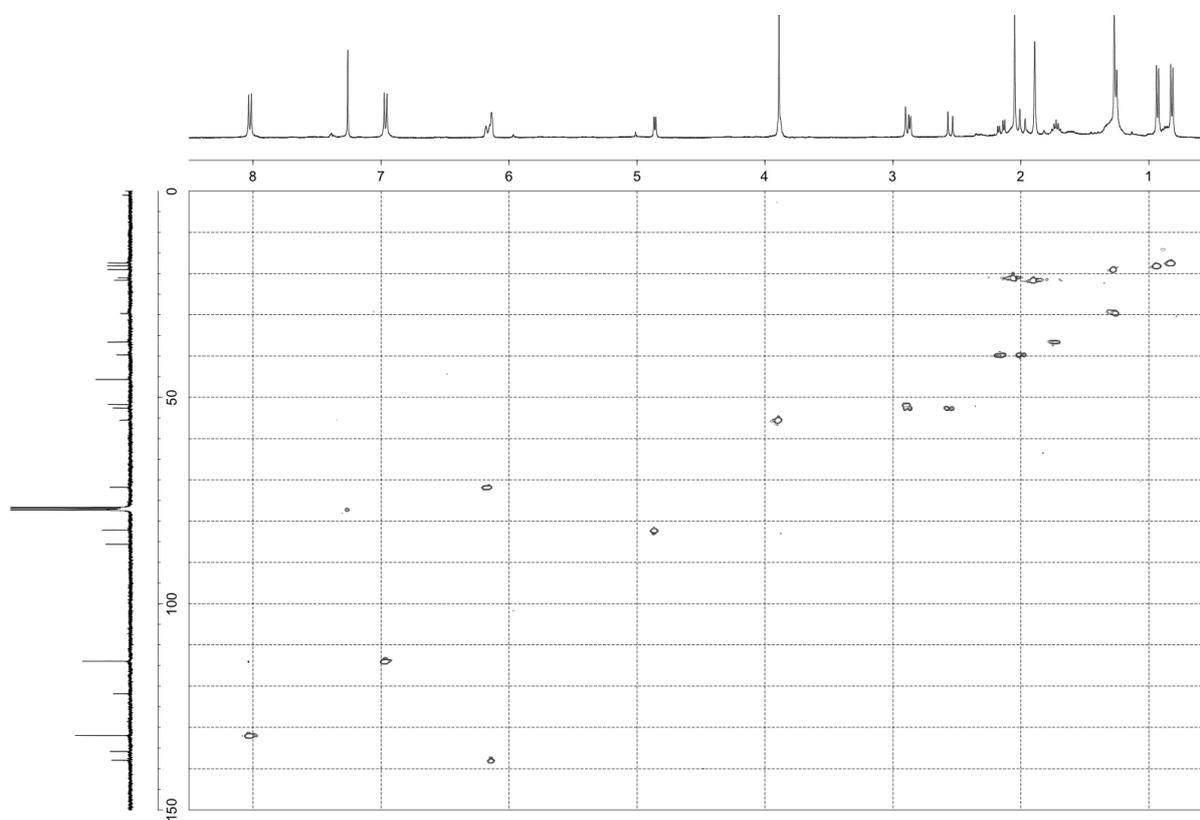


Figure S42. HSQC spectrum of compound **8** in CDCl_3 (400 MHz).

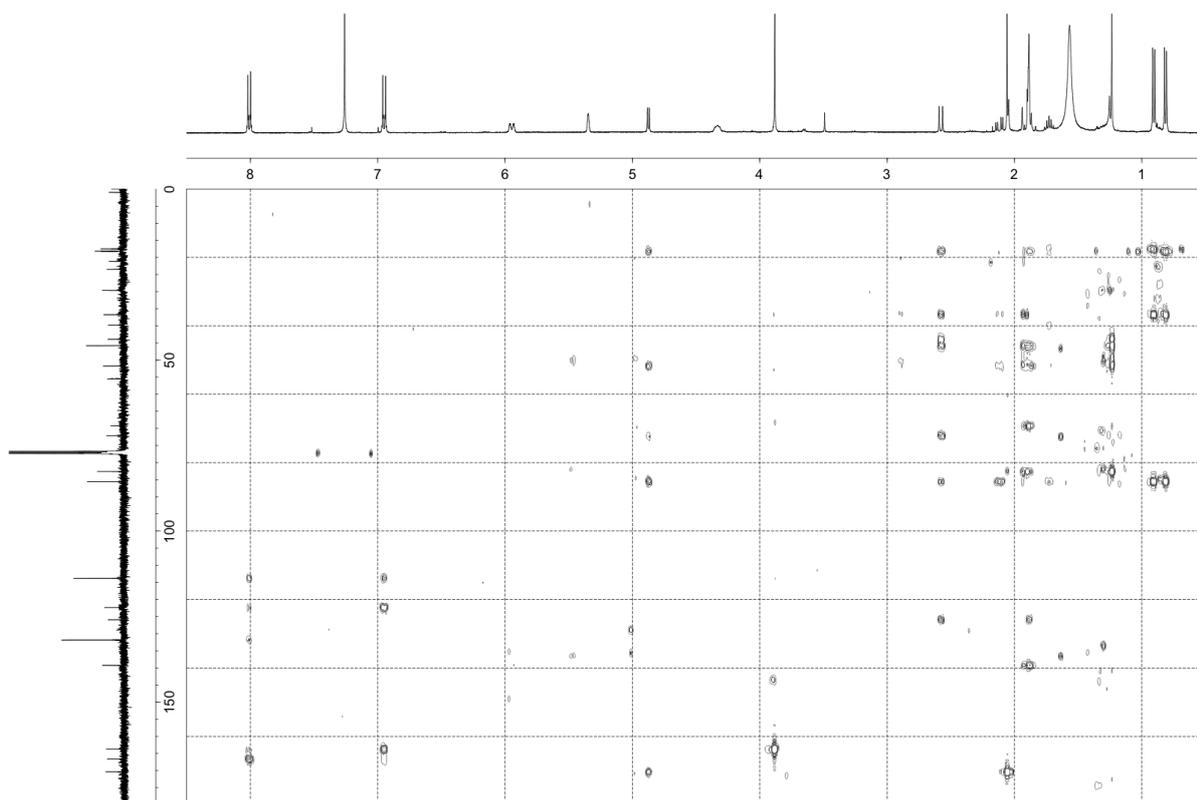


Figure S43. HMBC spectrum of compound **8** in CDCl₃ (400 MHz).

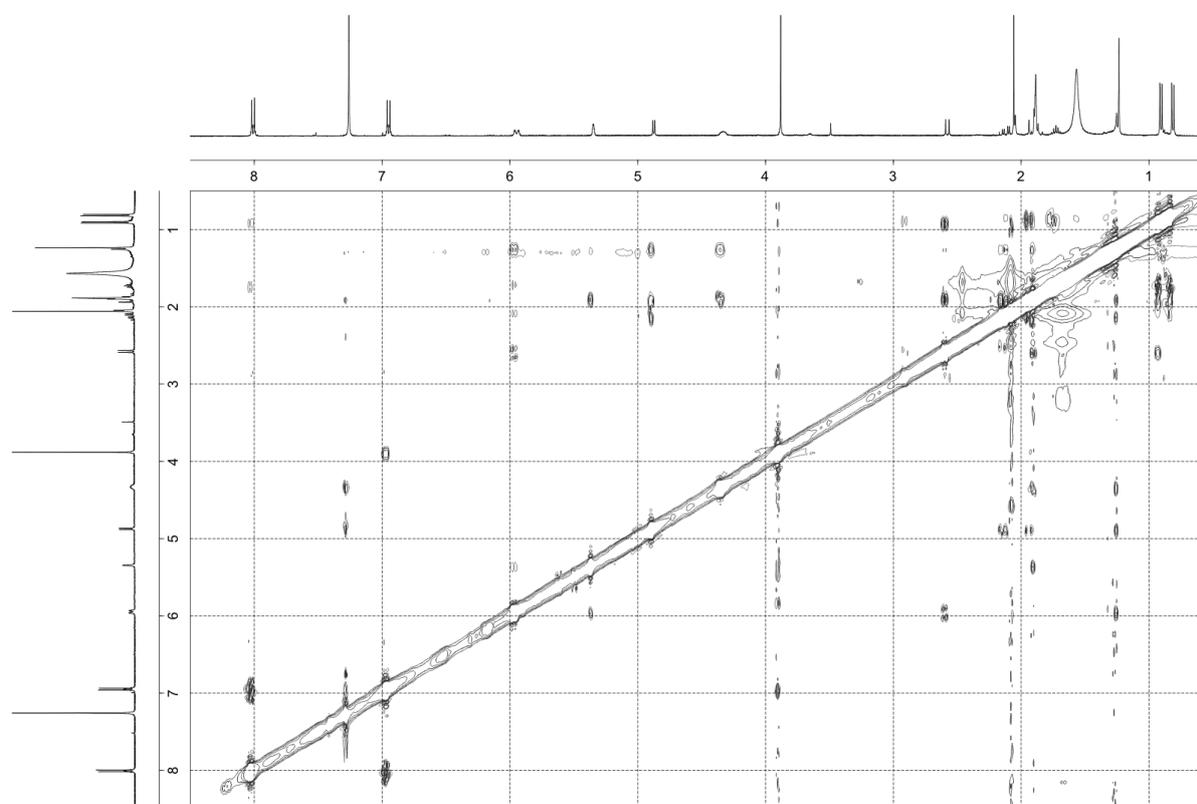


Figure S44. NOESY spectrum of compound **8** in CDCl₃ (400 MHz).

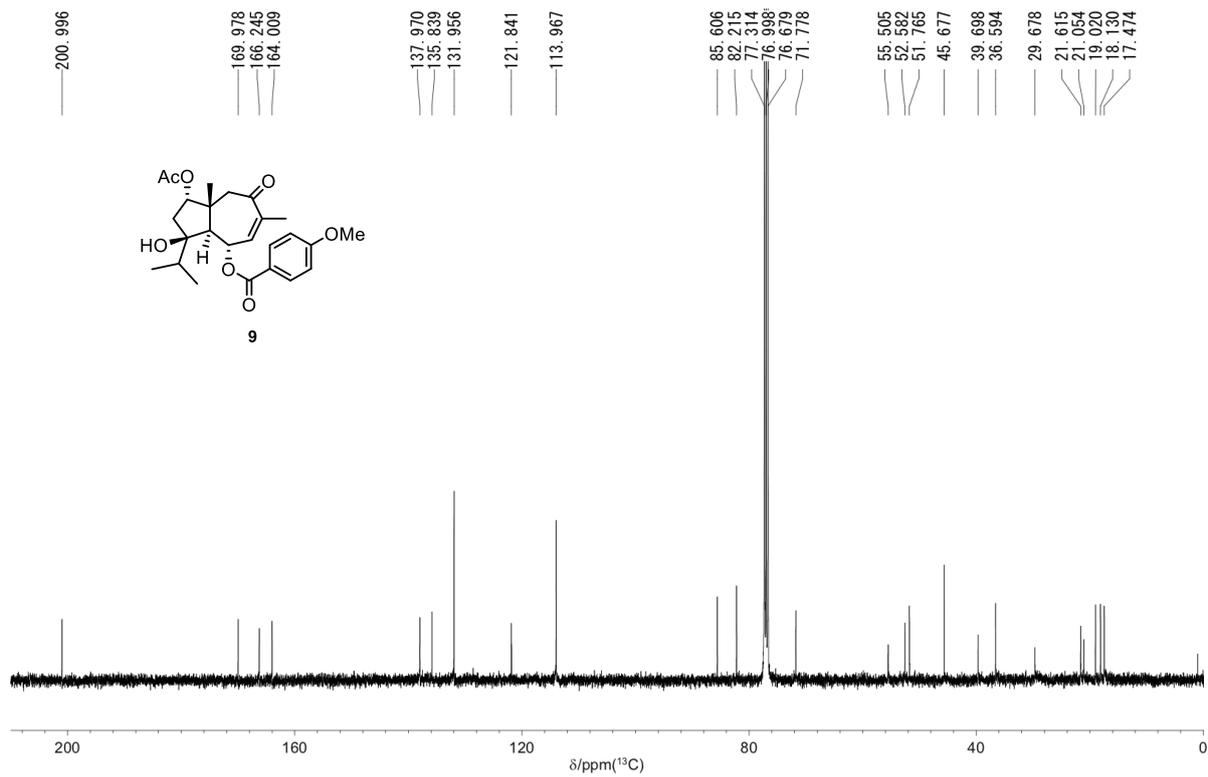


Figure S45. ^{13}C NMR spectrum of compound **9** in CDCl_3 (100 MHz).

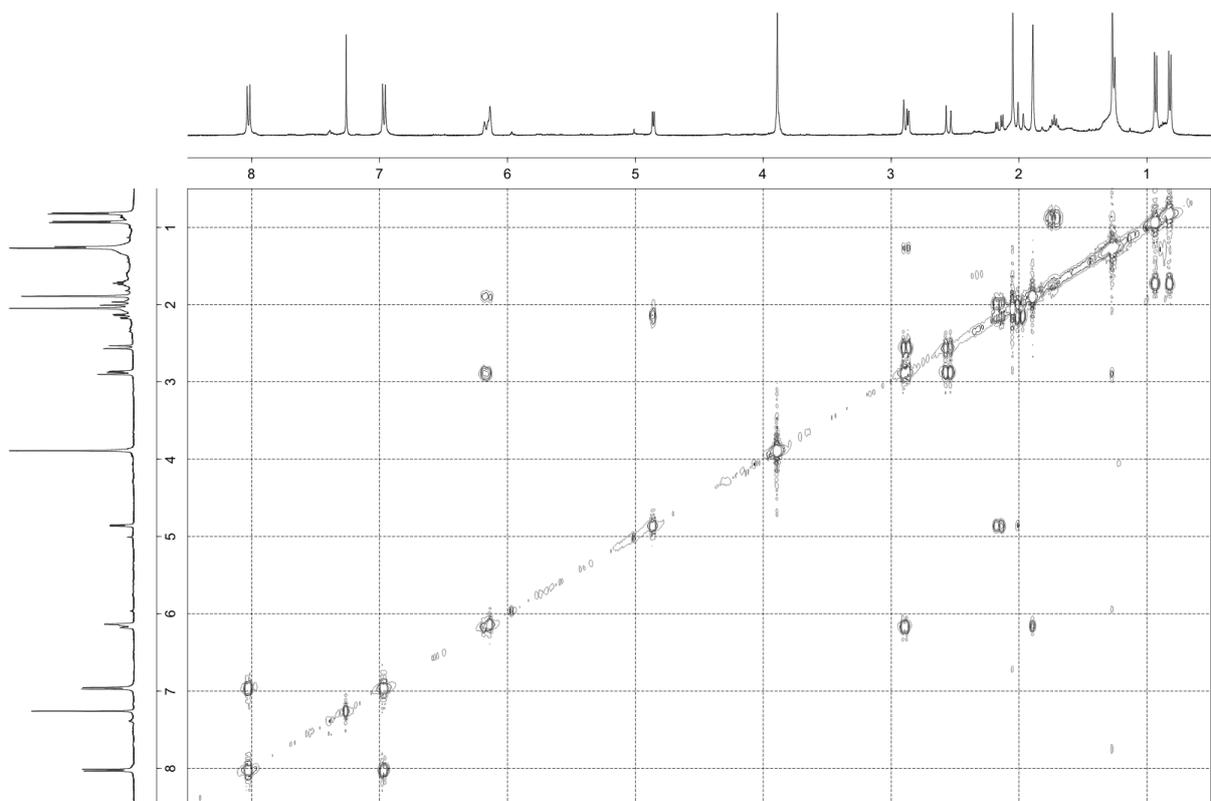


Figure S46. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **9** in CDCl_3 (400 MHz).

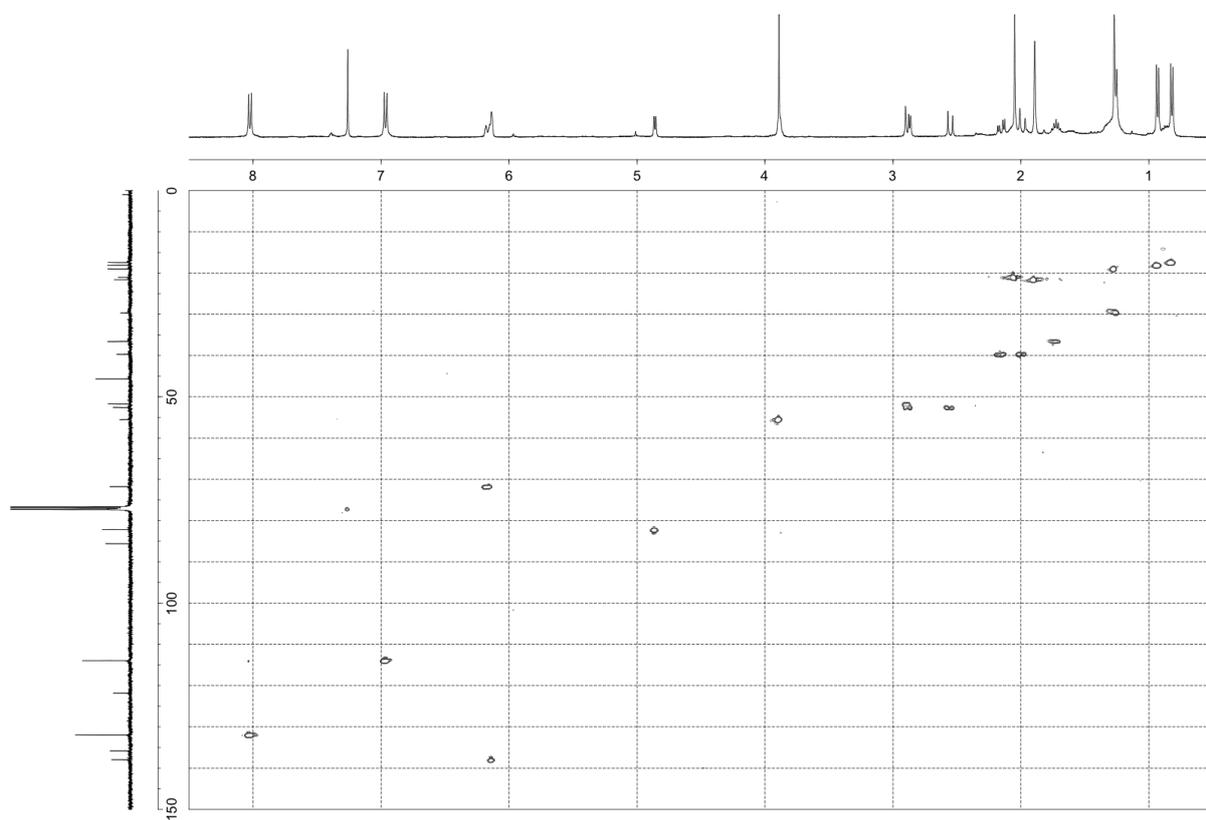


Figure S47. HSQC spectrum of compound **9** in CDCl_3 (400 MHz).

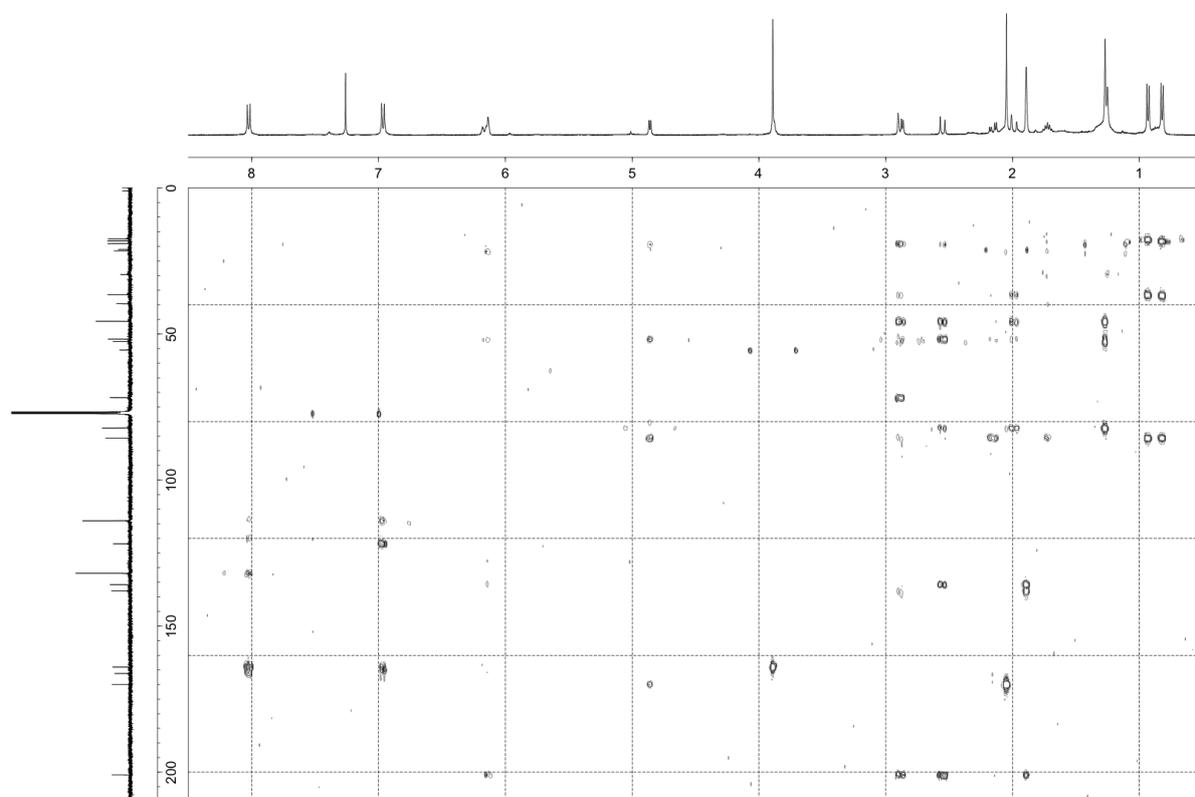


Figure S48. HMBC spectrum of compound **9** in CDCl_3 (400 MHz).

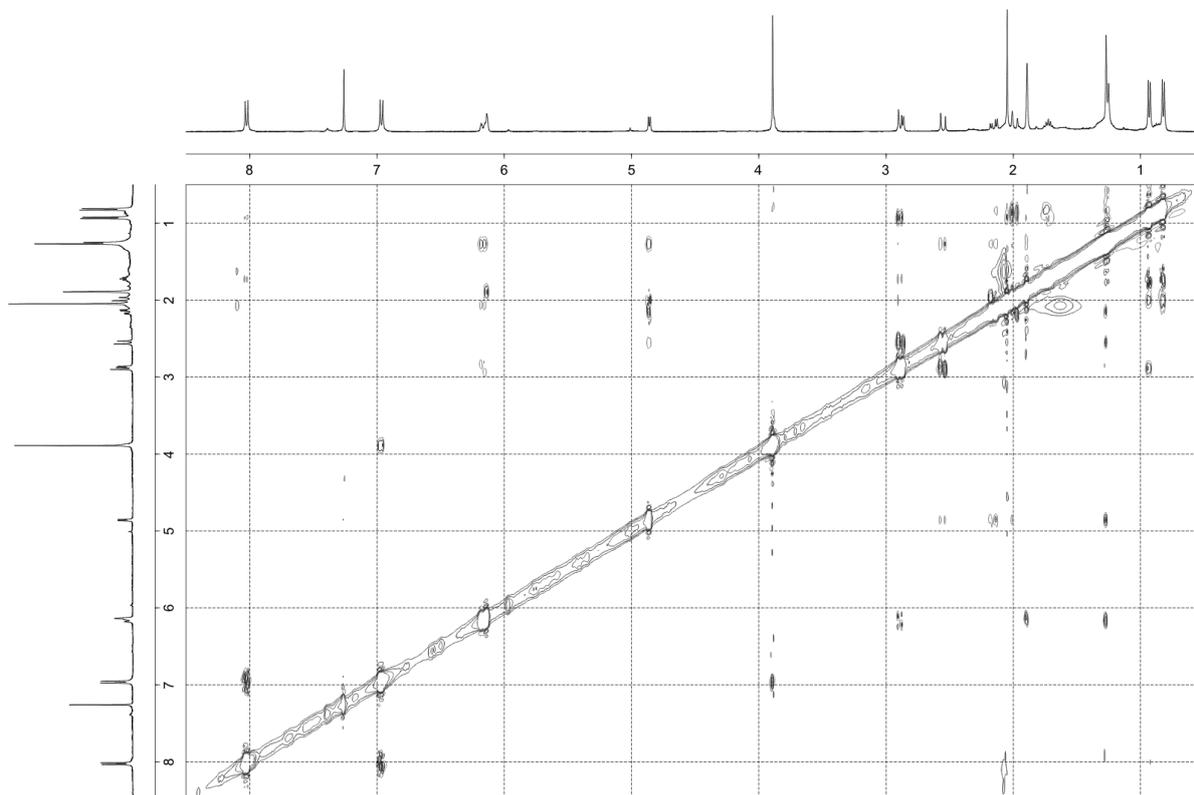


Figure S49. NOESY spectrum of compound **9** in CDCl_3 (400 MHz).

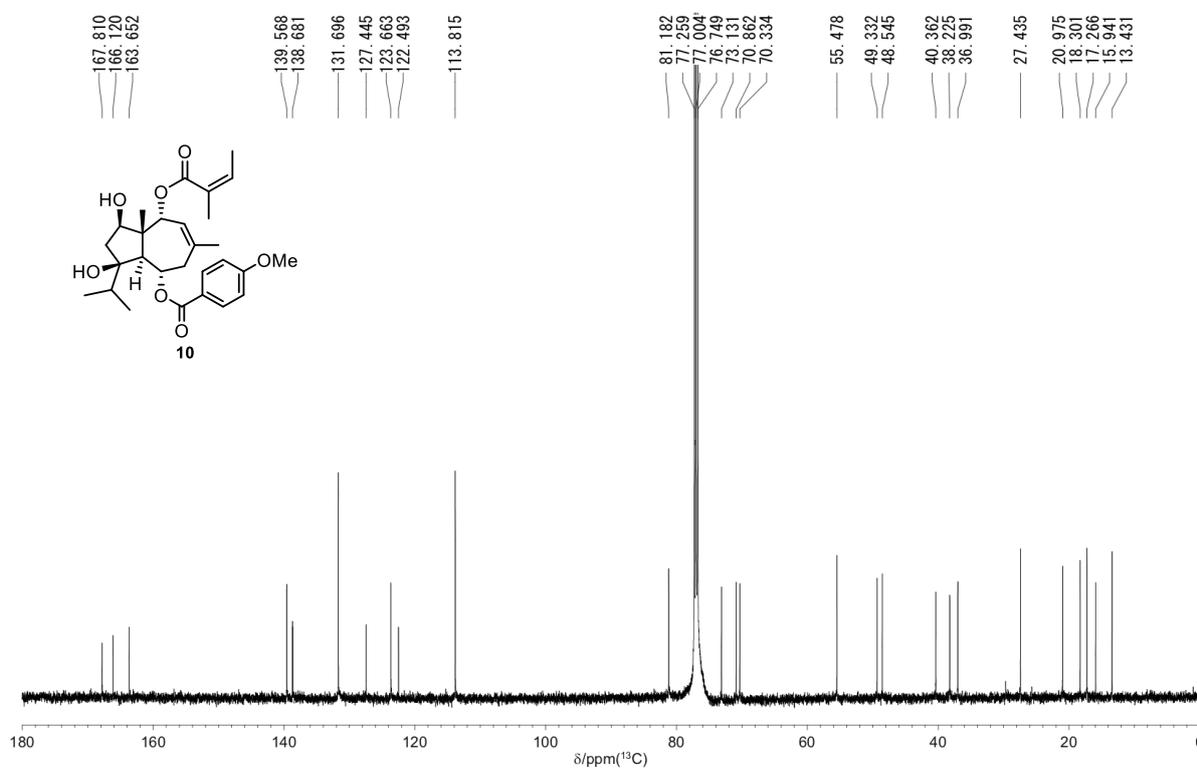


Figure S50. ^{13}C NMR spectrum of compound **10** in CDCl_3 (125 MHz).

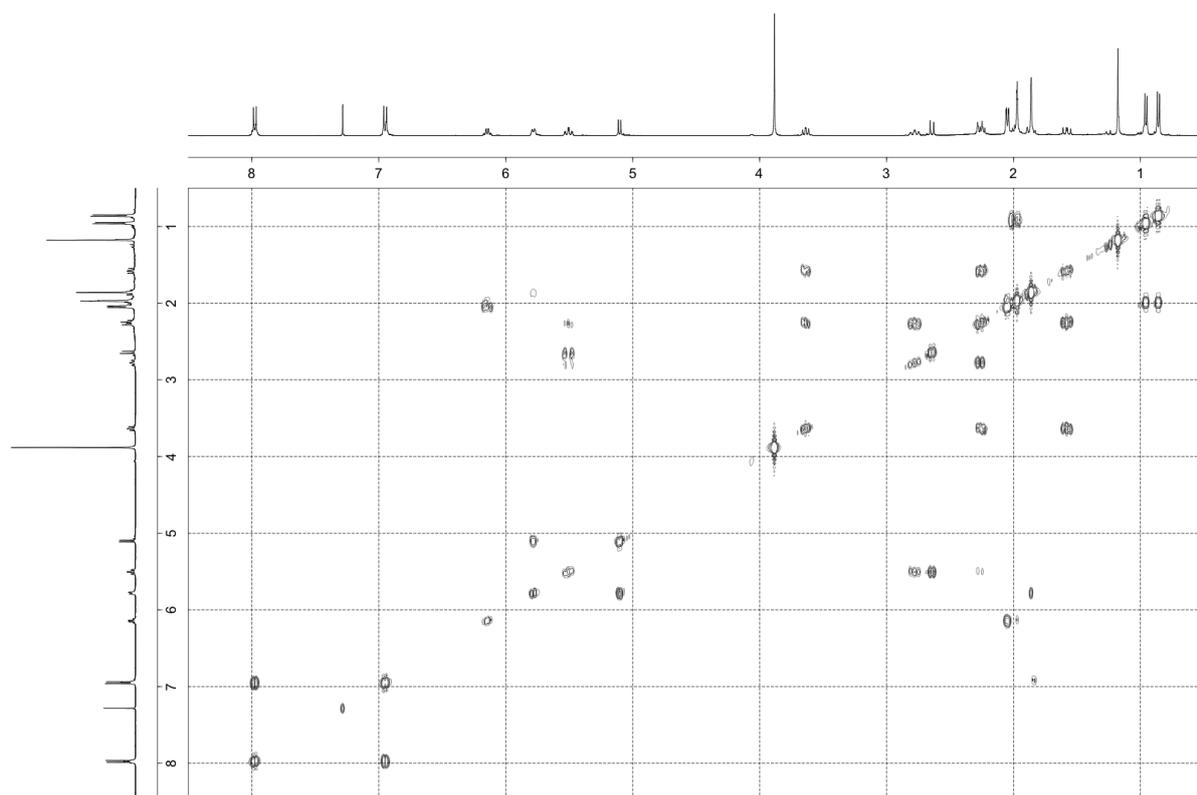


Figure S51. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **10** in CDCl_3 (400 MHz).

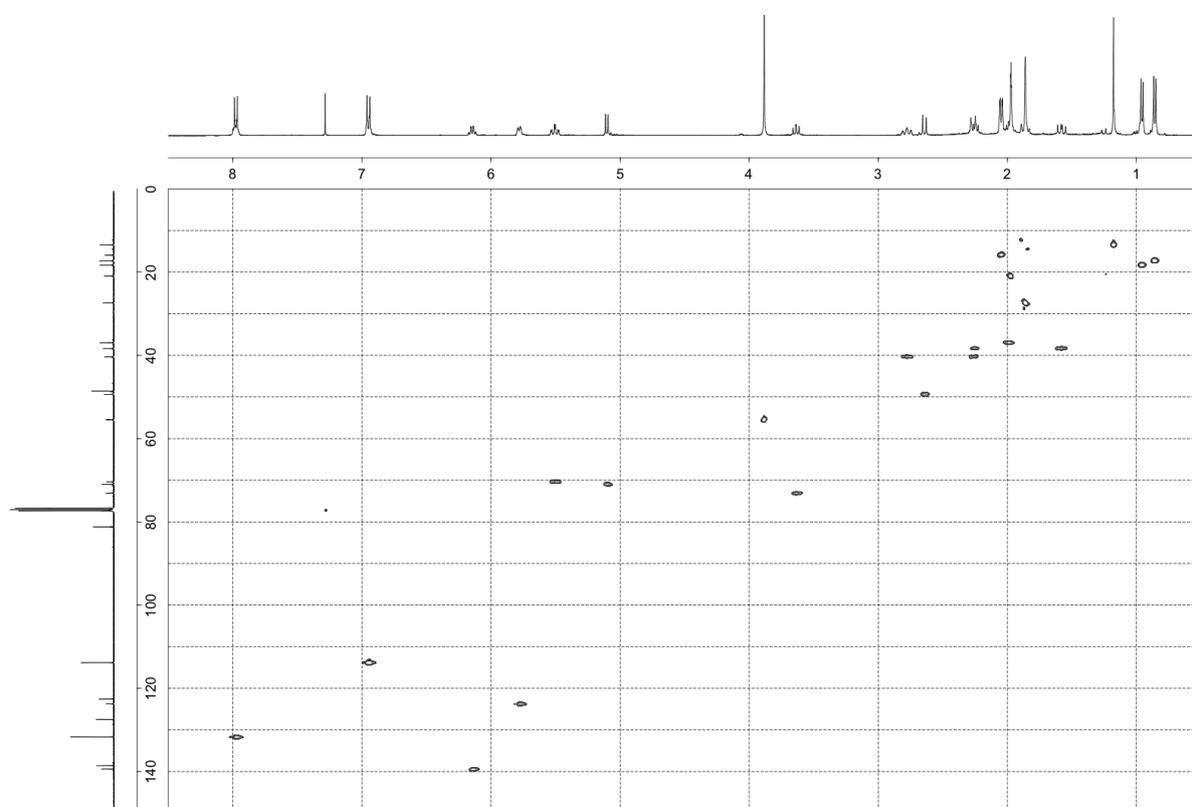


Figure S52. HSQC spectrum of compound **10** in CDCl_3 (400 MHz).

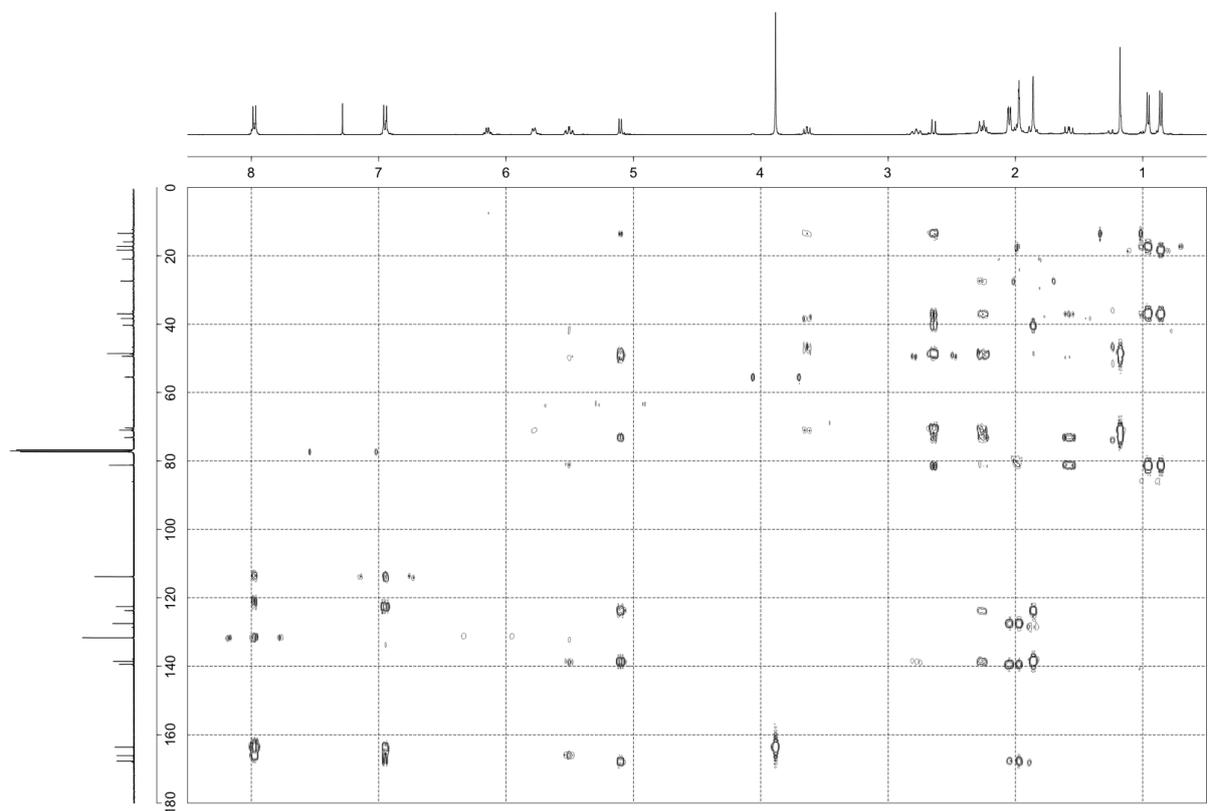


Figure S53. HMBC spectrum of compound **10** in CDCl₃ (400 MHz).

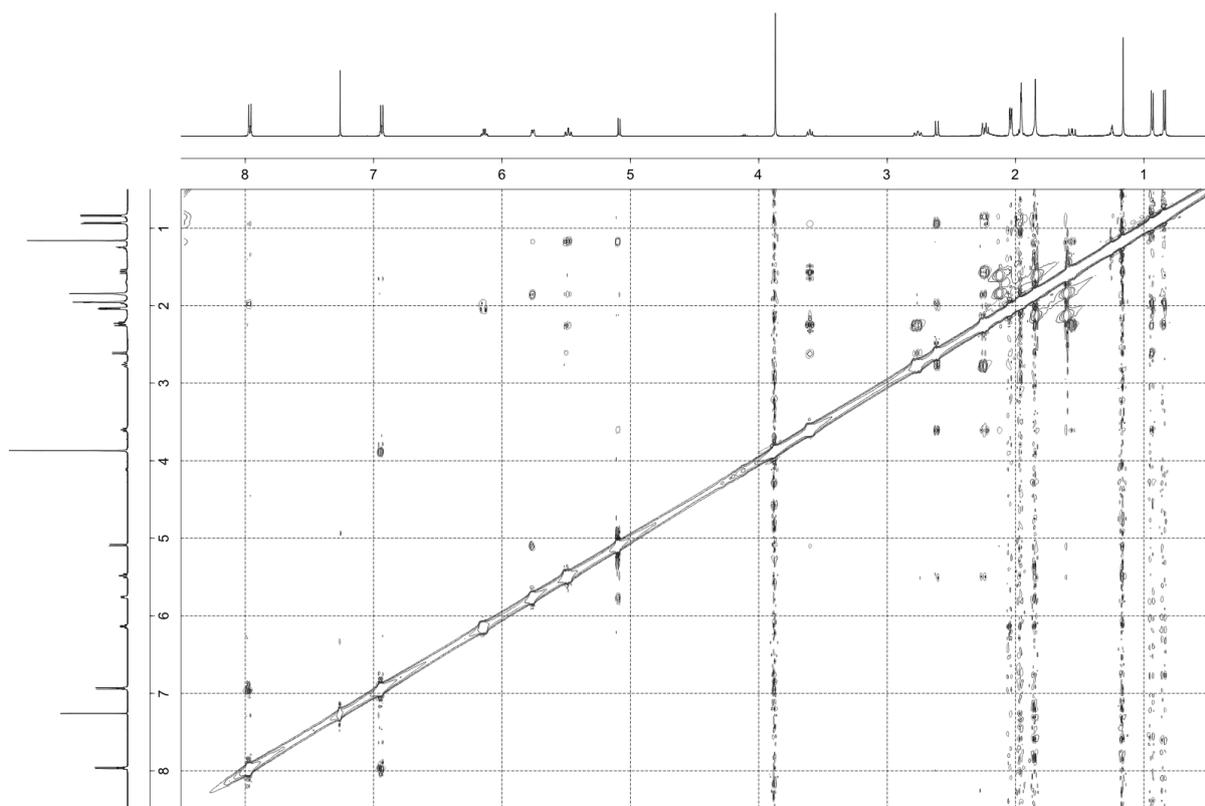


Figure S54. NOESY spectrum of compound **10** in CDCl₃ (500 MHz).

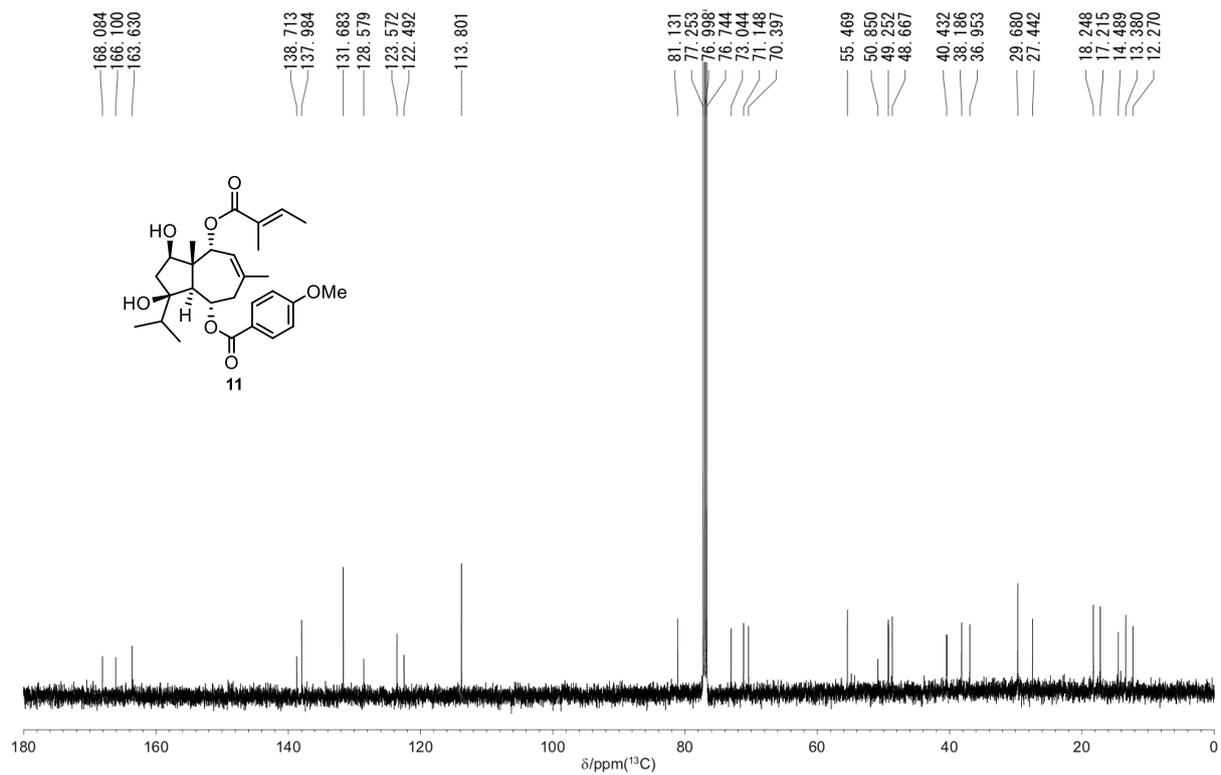


Figure S55. ^{13}C NMR spectrum of compound **11** in CDCl_3 (125 MHz).

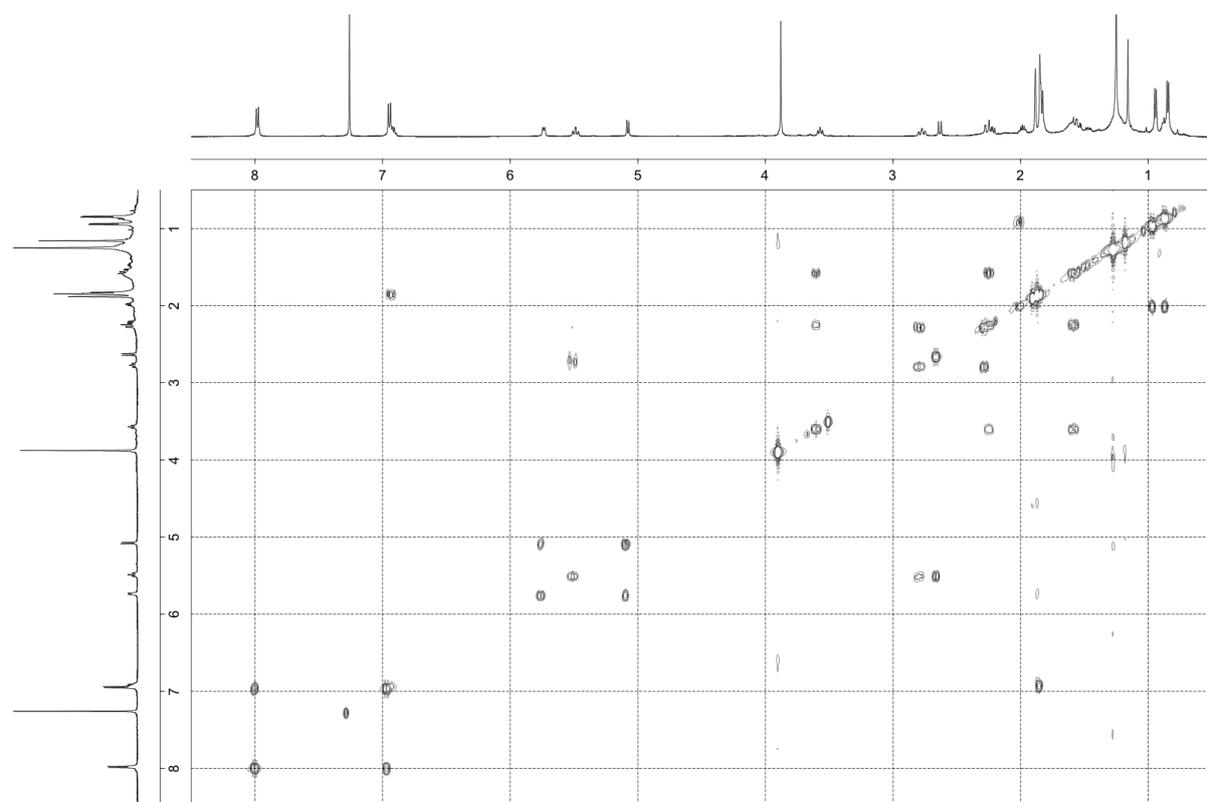


Figure S56. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **11** in CDCl_3 (500 MHz).

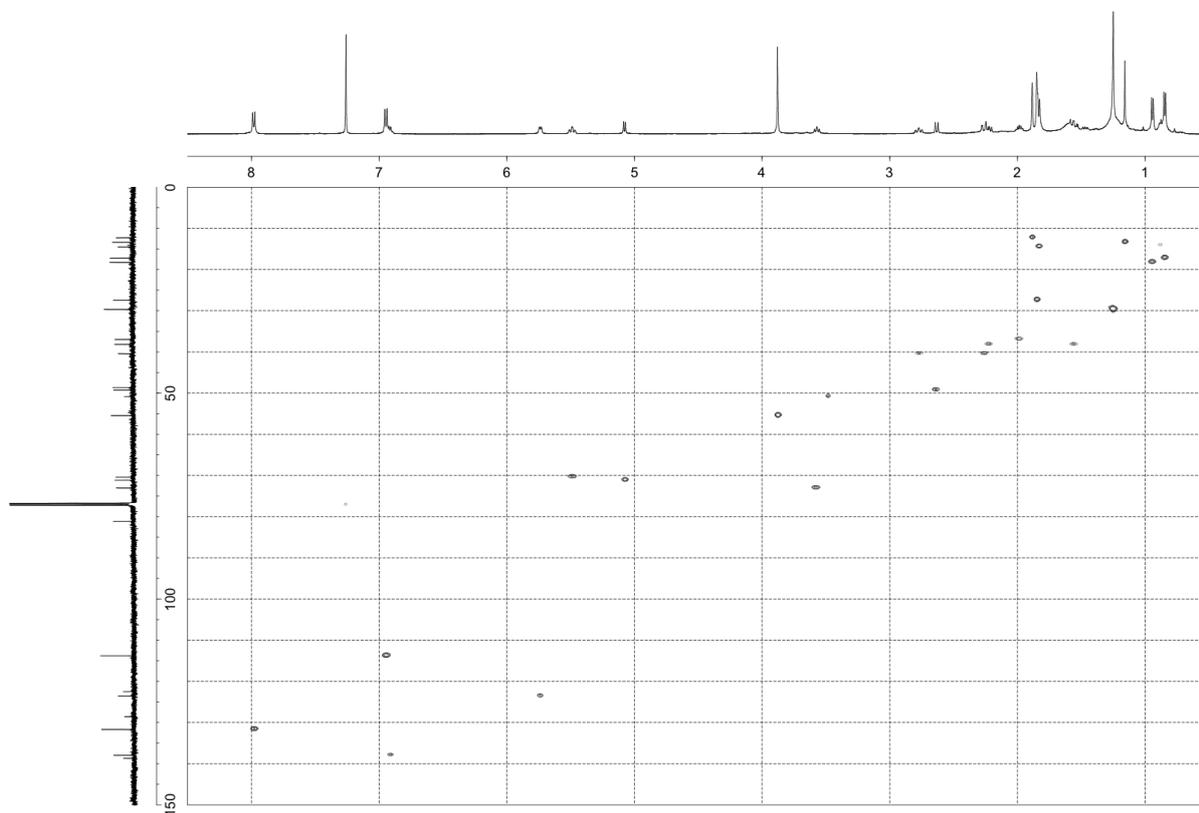


Figure S57. HSQC spectrum of compound **11** in CDCl₃ (500 MHz).

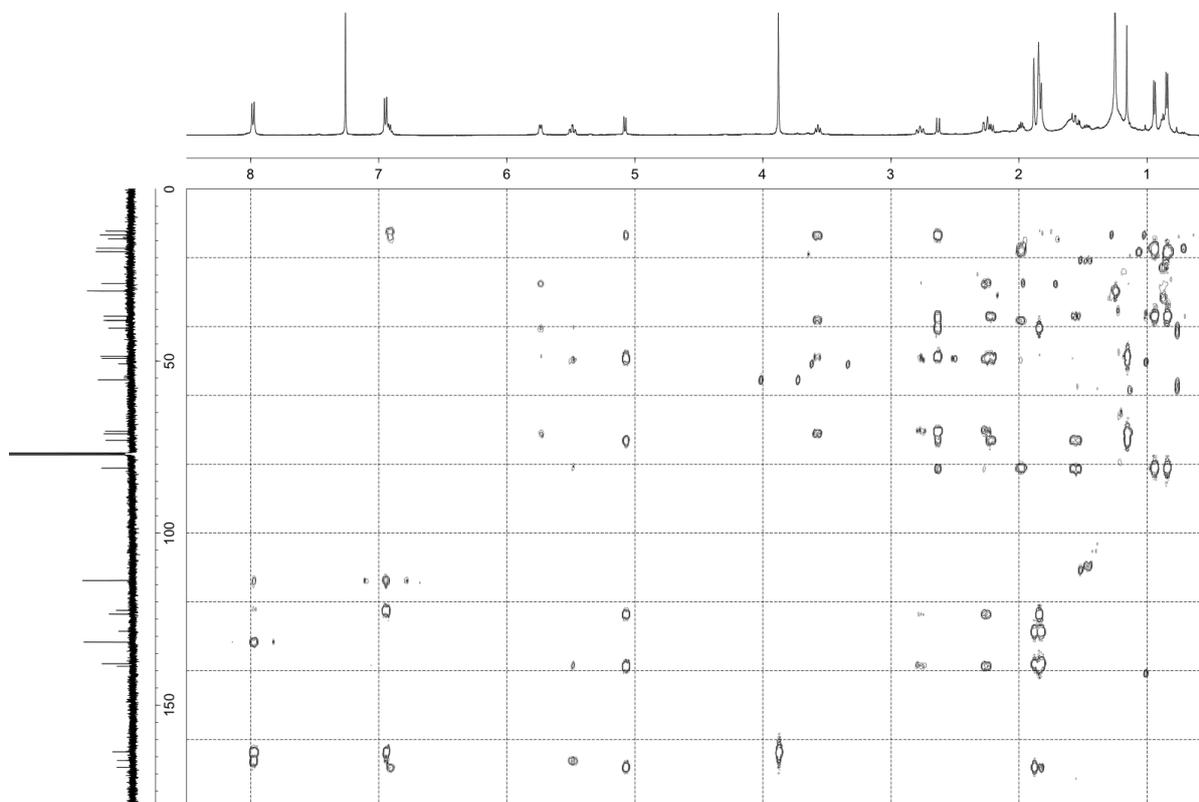


Figure S58. HMBC spectrum of compound **11** in CDCl₃ (500 MHz).

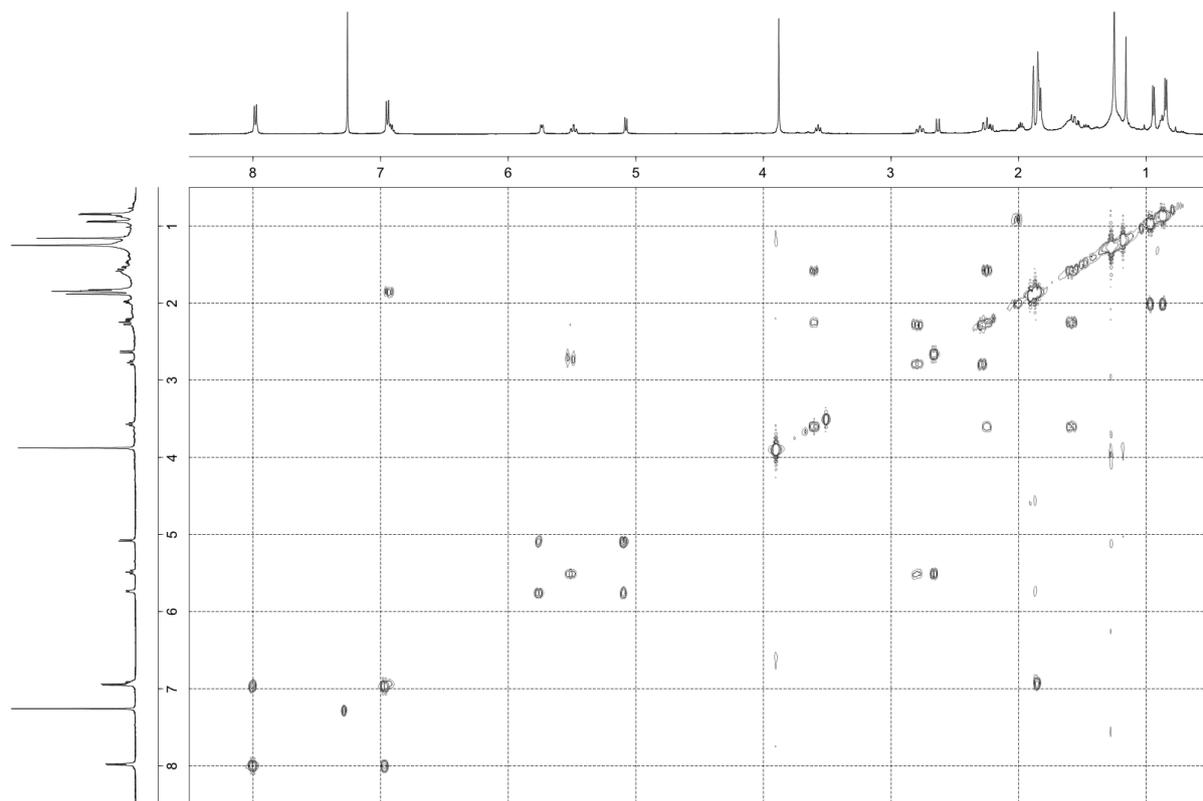


Figure S59. NOESY spectrum of compound **11** in CDCl_3 (500 MHz).

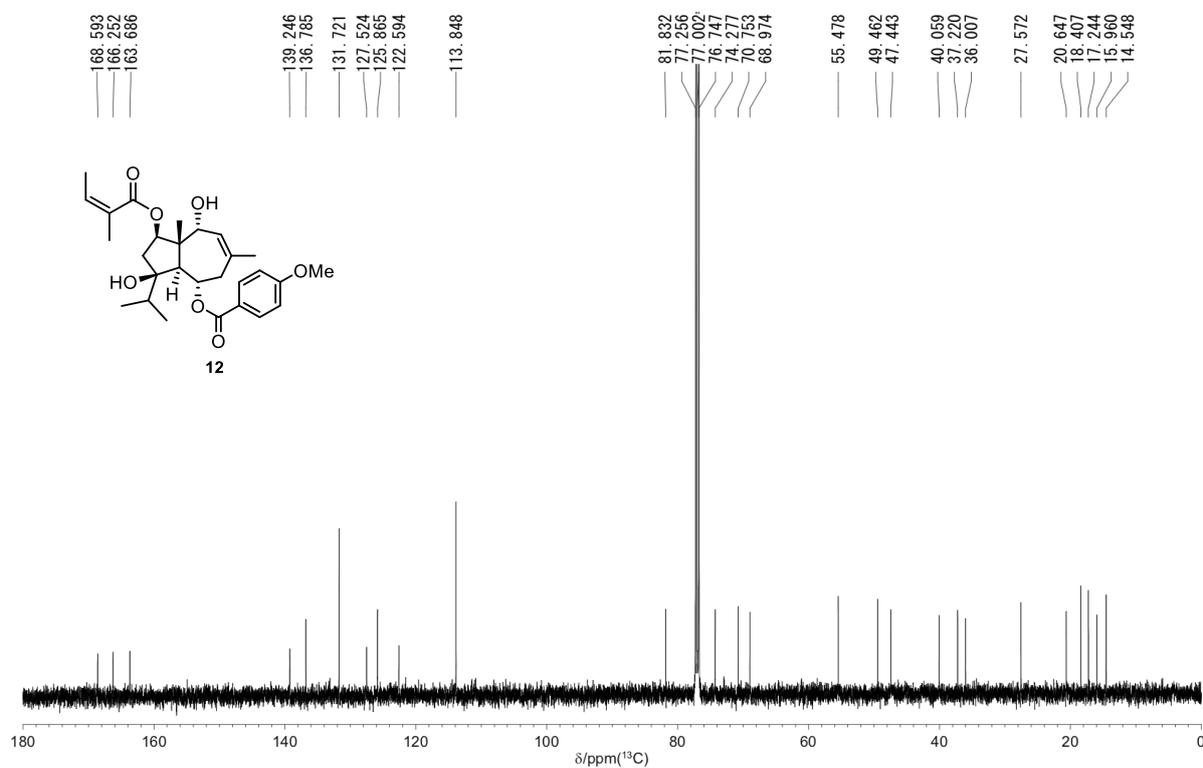


Figure S60. ^{13}C NMR spectrum of compound **12** in CDCl_3 (125 MHz).

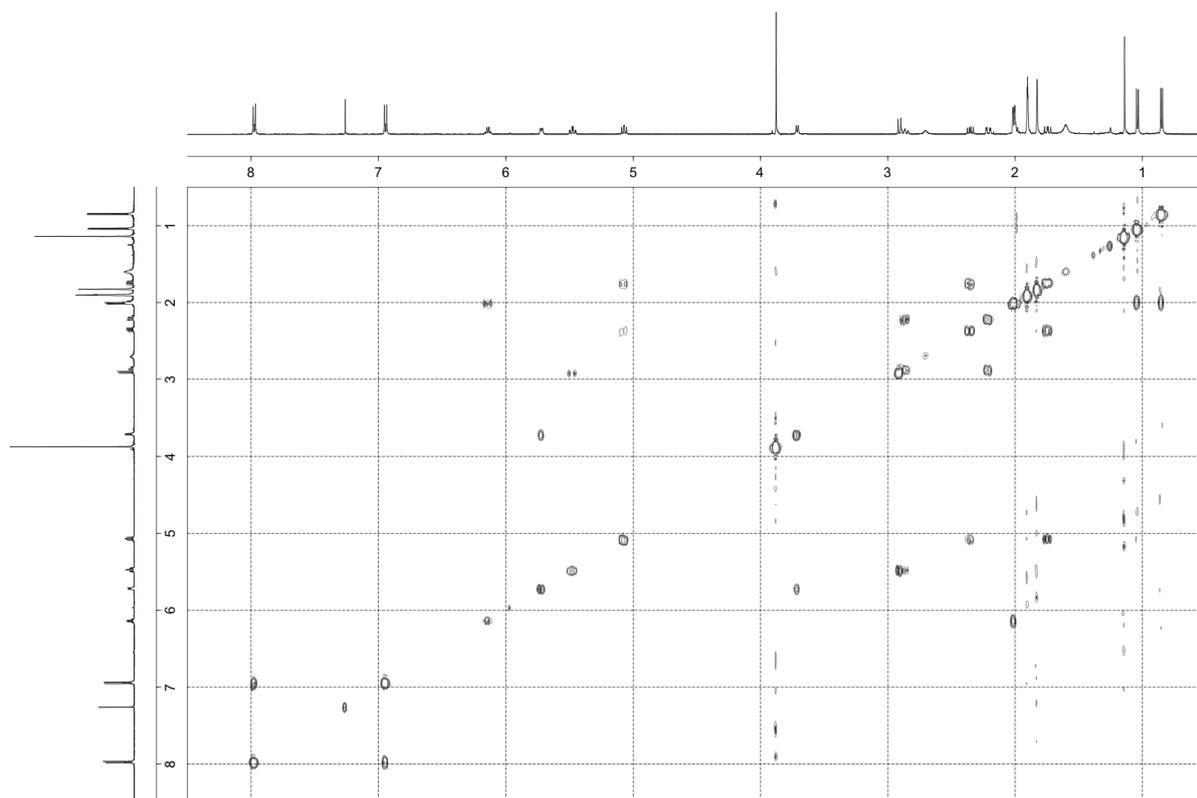


Figure S61. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **12** in CDCl_3 (500 MHz).

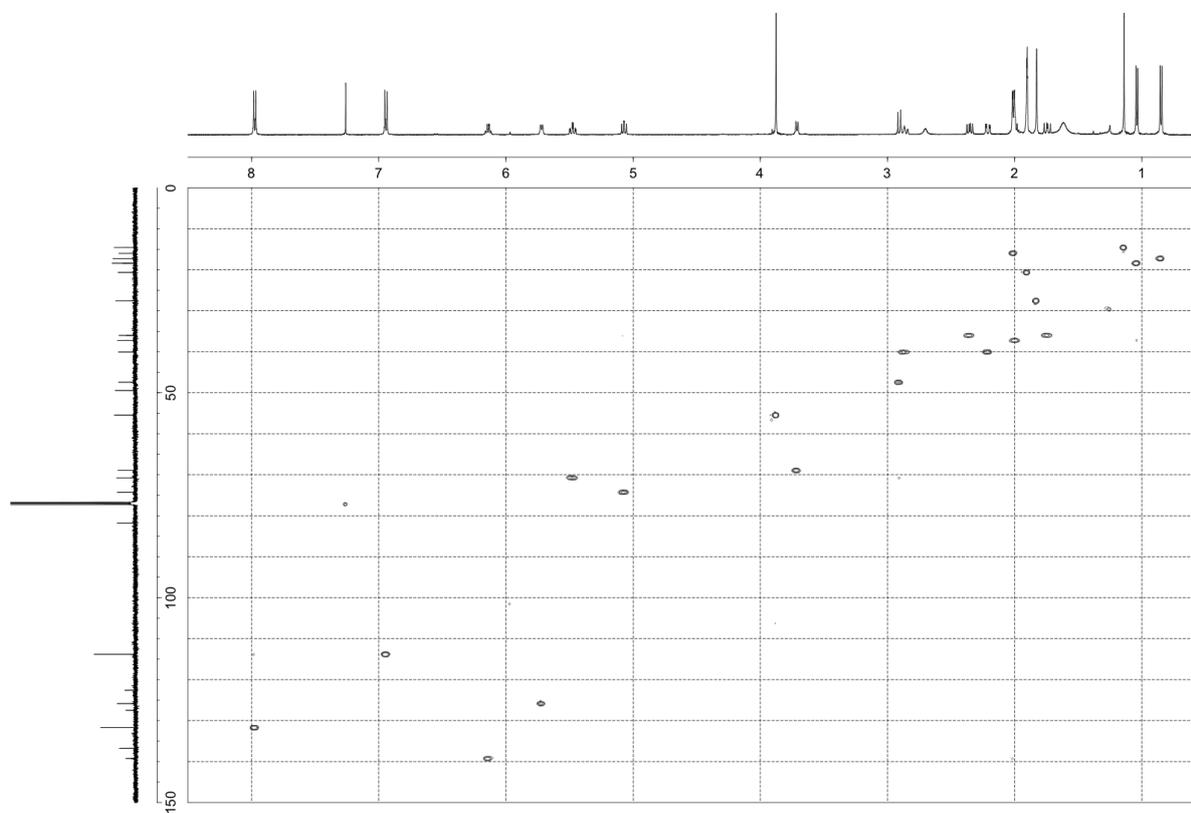


Figure S62. HSQC spectrum of compound **12** in CDCl_3 (500 MHz).

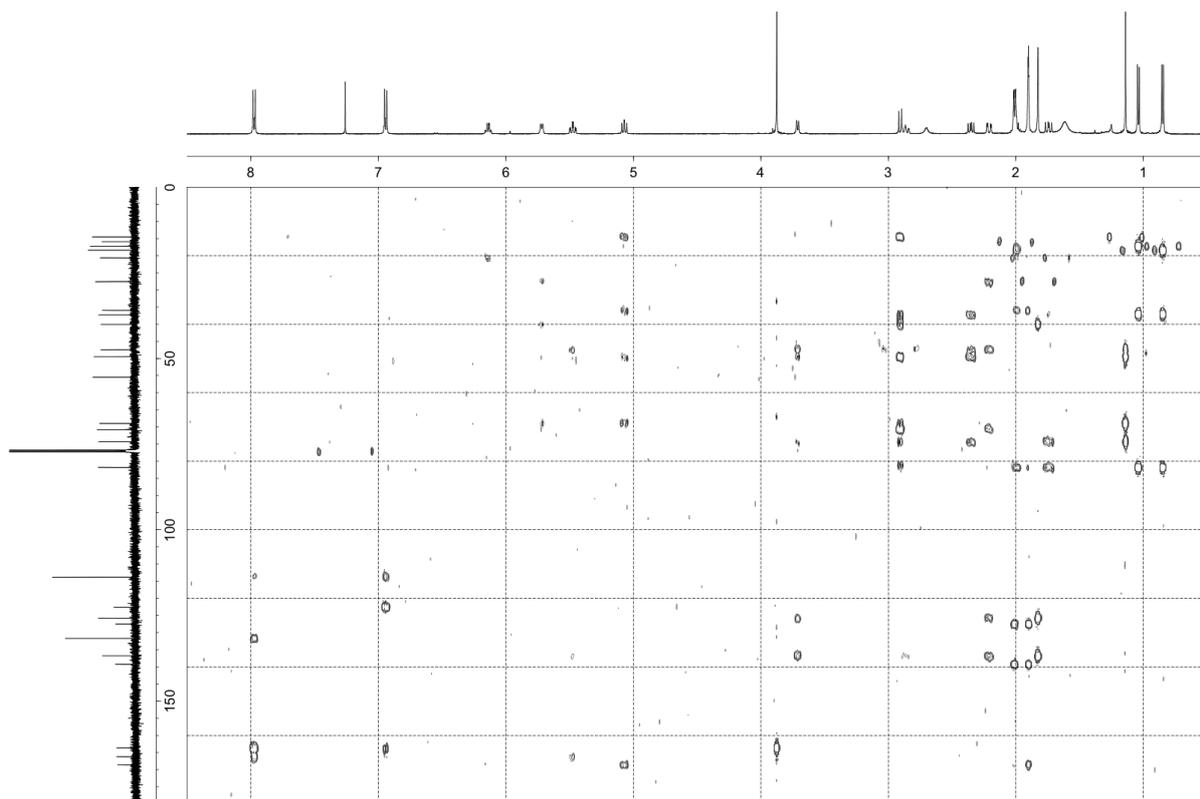


Figure S63. HMBC spectrum of compound **12** in CDCl₃ (500 MHz).

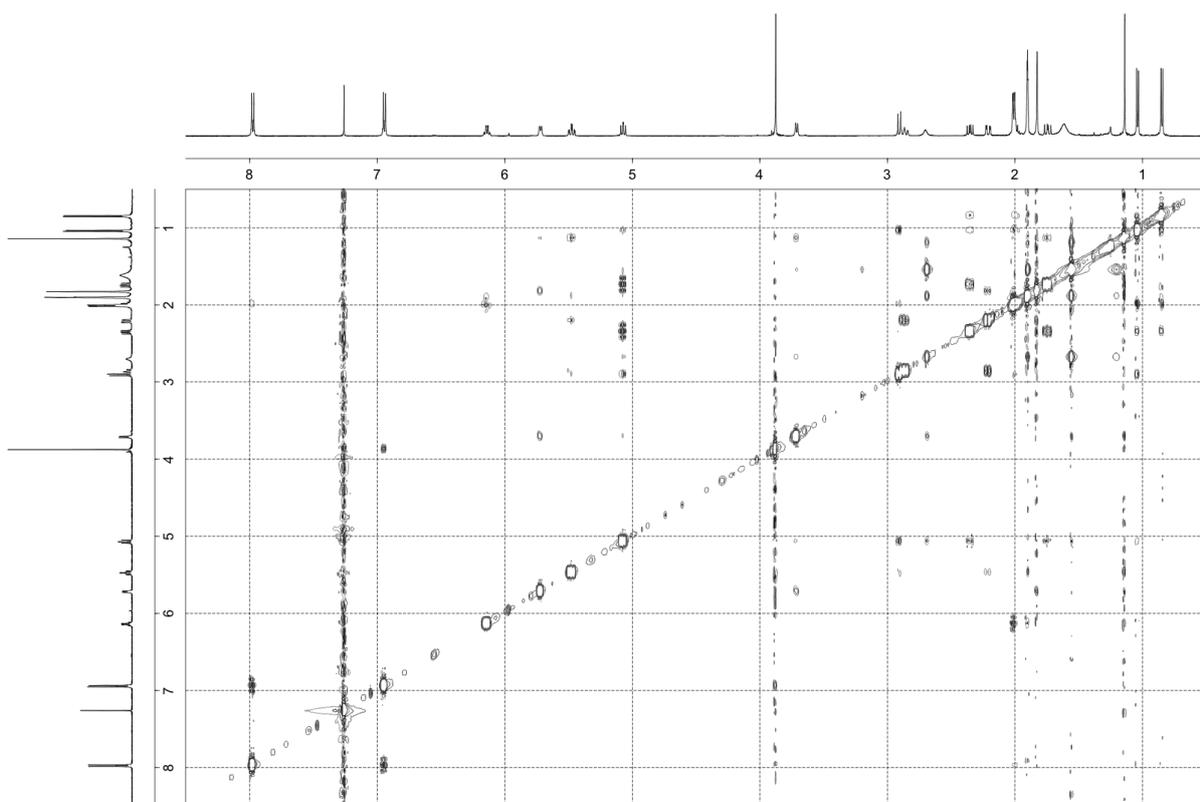


Figure S64. NOESY spectrum of compound **12** in CDCl₃ (500 MHz).

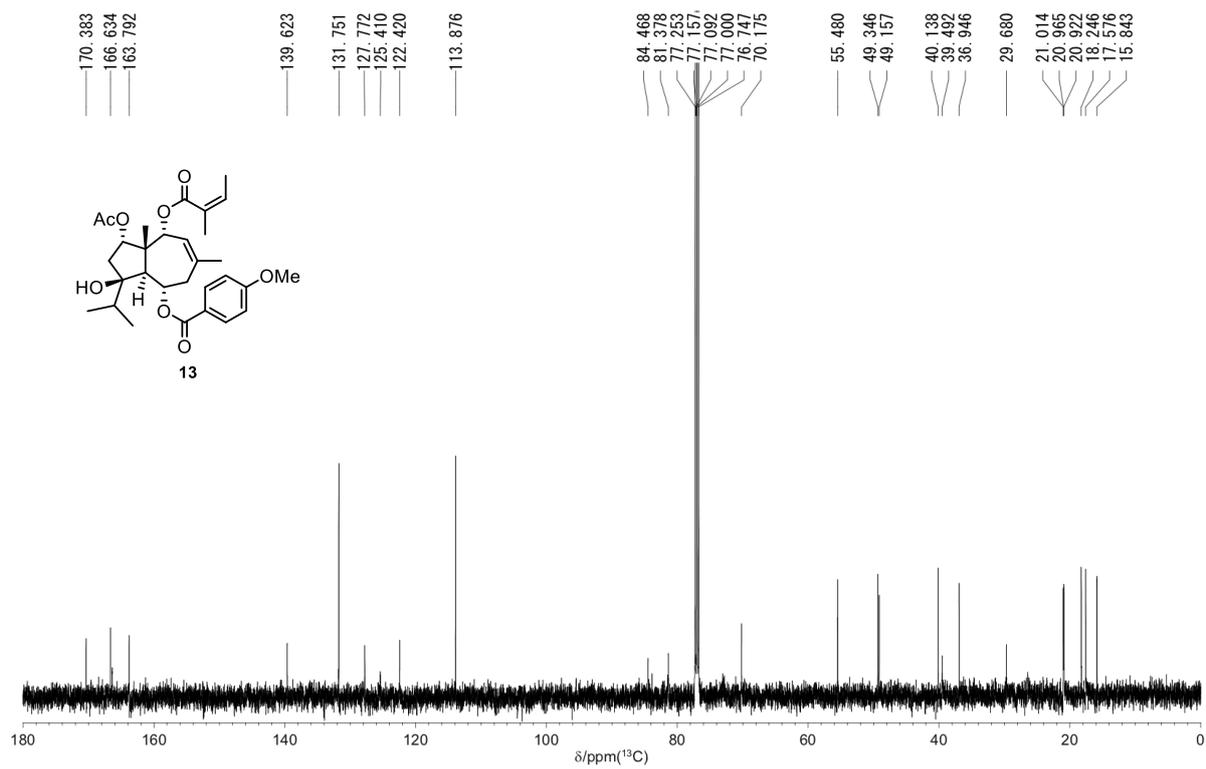


Figure S65. ^{13}C NMR spectrum of compound **13** in CDCl_3 (500 MHz).

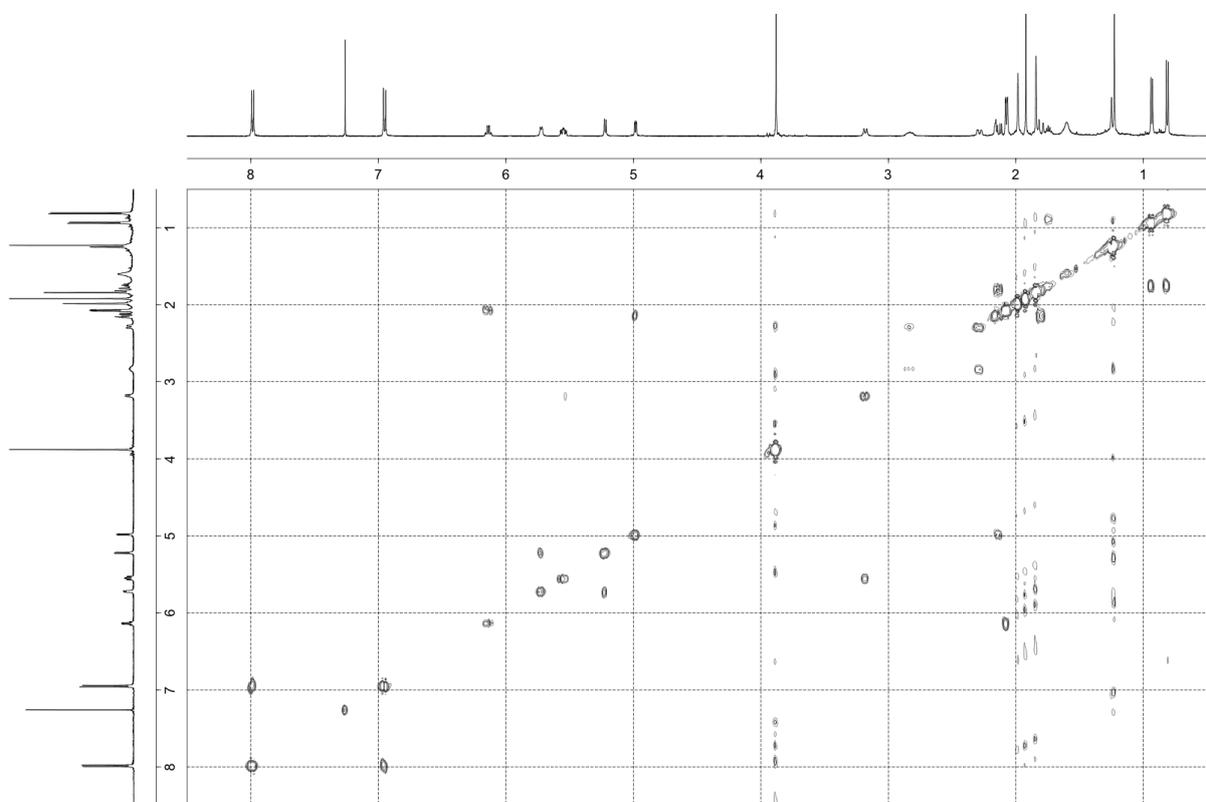


Figure S66. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **13** in CDCl_3 (500 MHz).

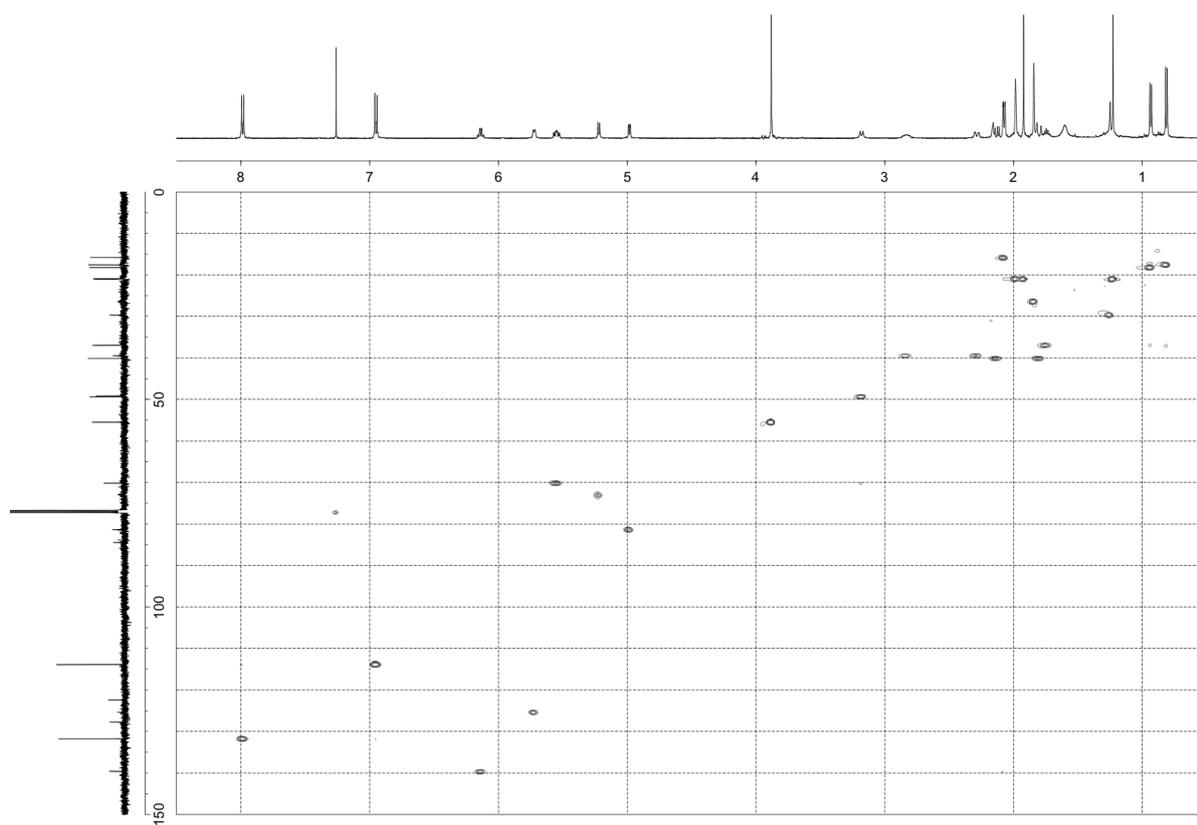


Figure S67. HSQC spectrum of compound **13** in CDCl₃ (500 MHz).

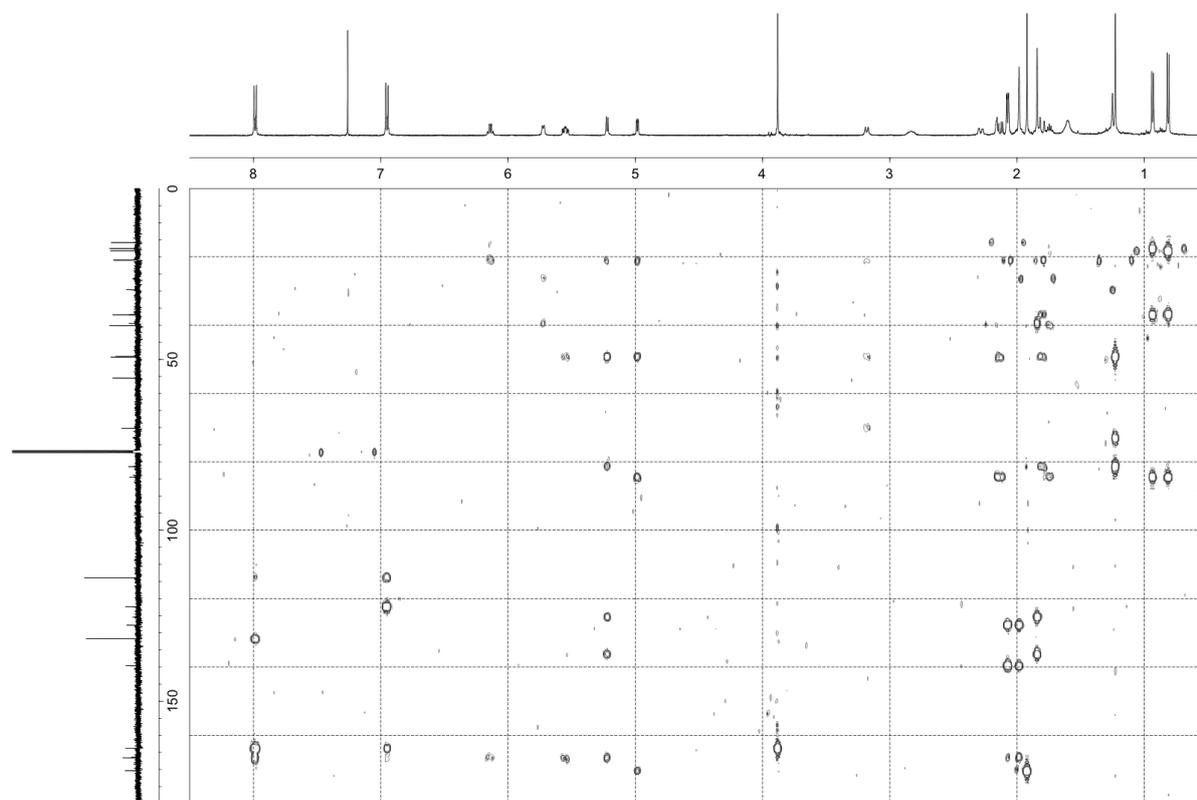


Figure S68. HMBC spectrum of compound **13** in CDCl₃ (500 MHz).

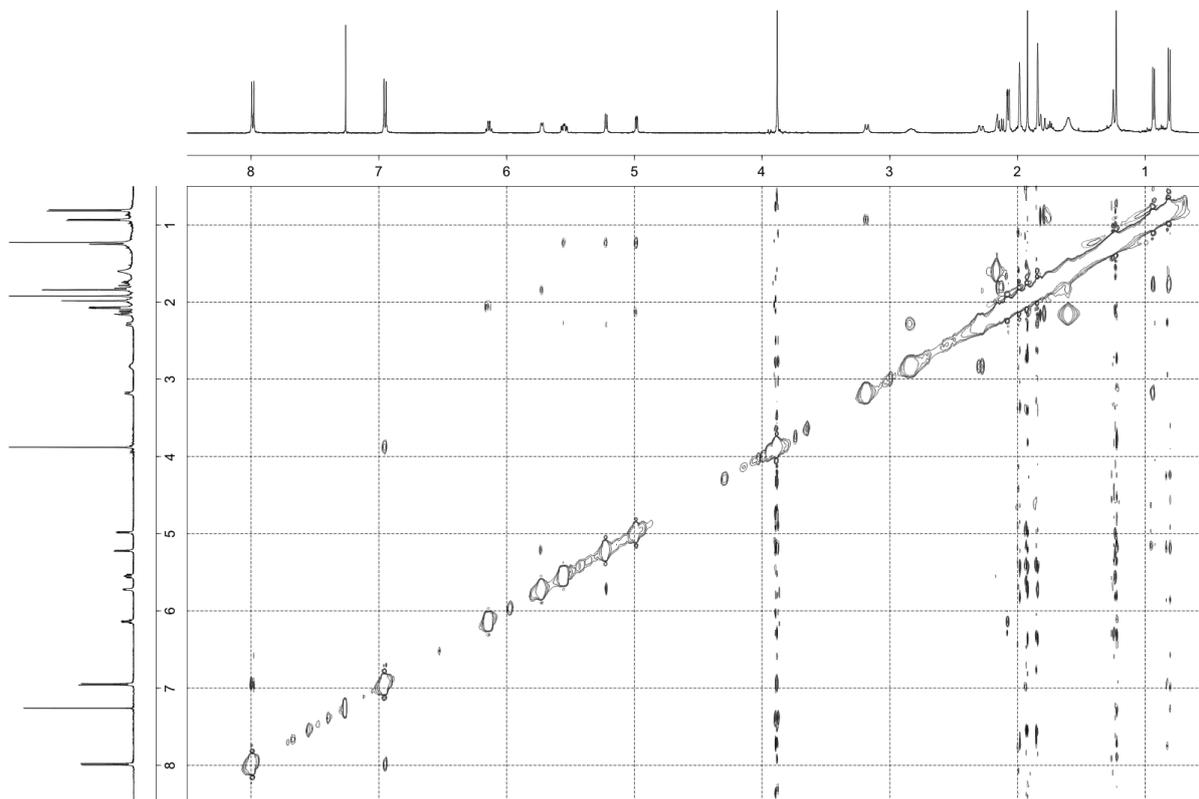


Figure S69. NOESY spectrum of compound **13** in CDCl_3 (500 MHz).

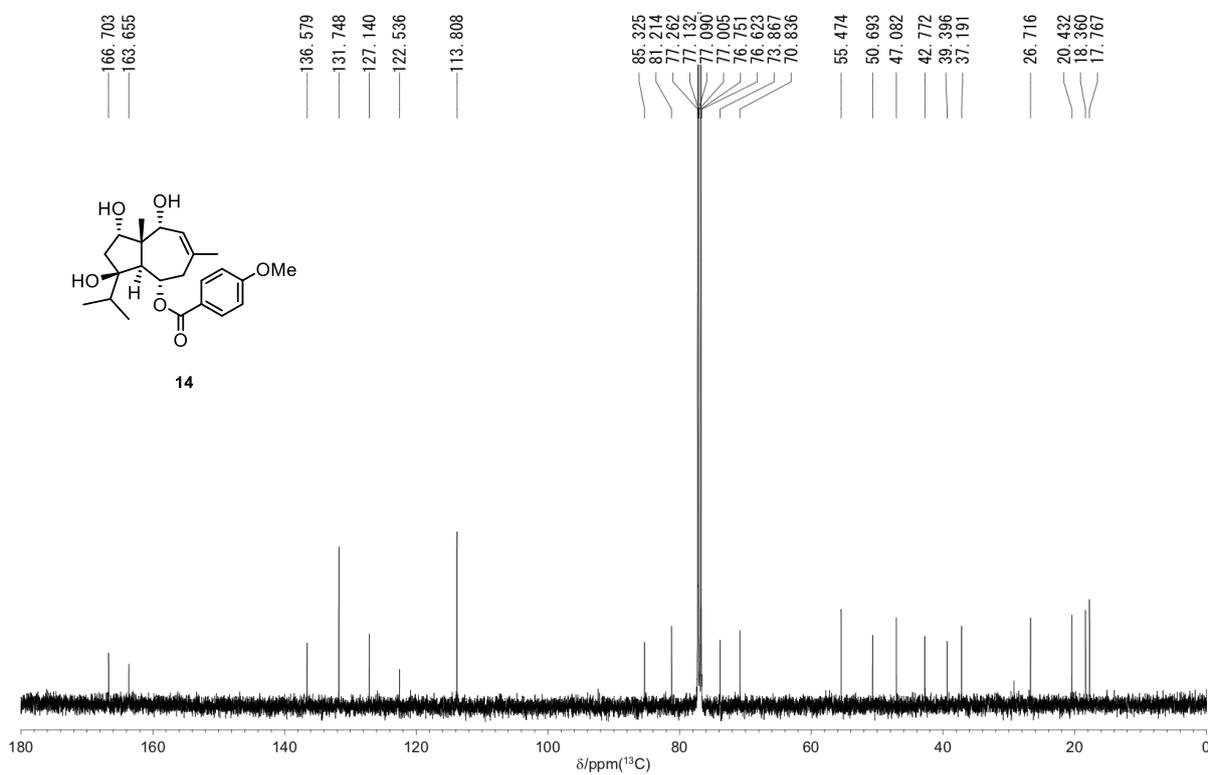


Figure S70. ^{13}C NMR spectrum of compound **14** in CDCl_3 (125 MHz).

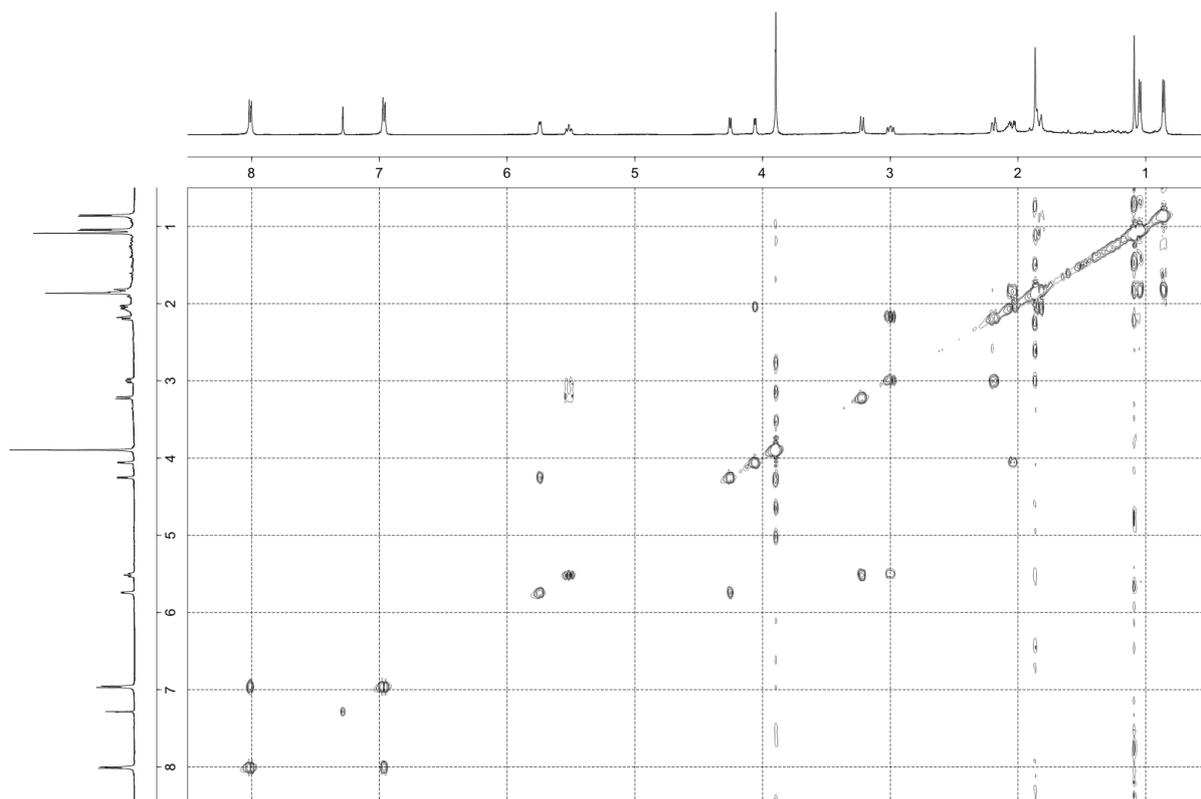


Figure S71. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **14** in CDCl_3 (500 MHz).

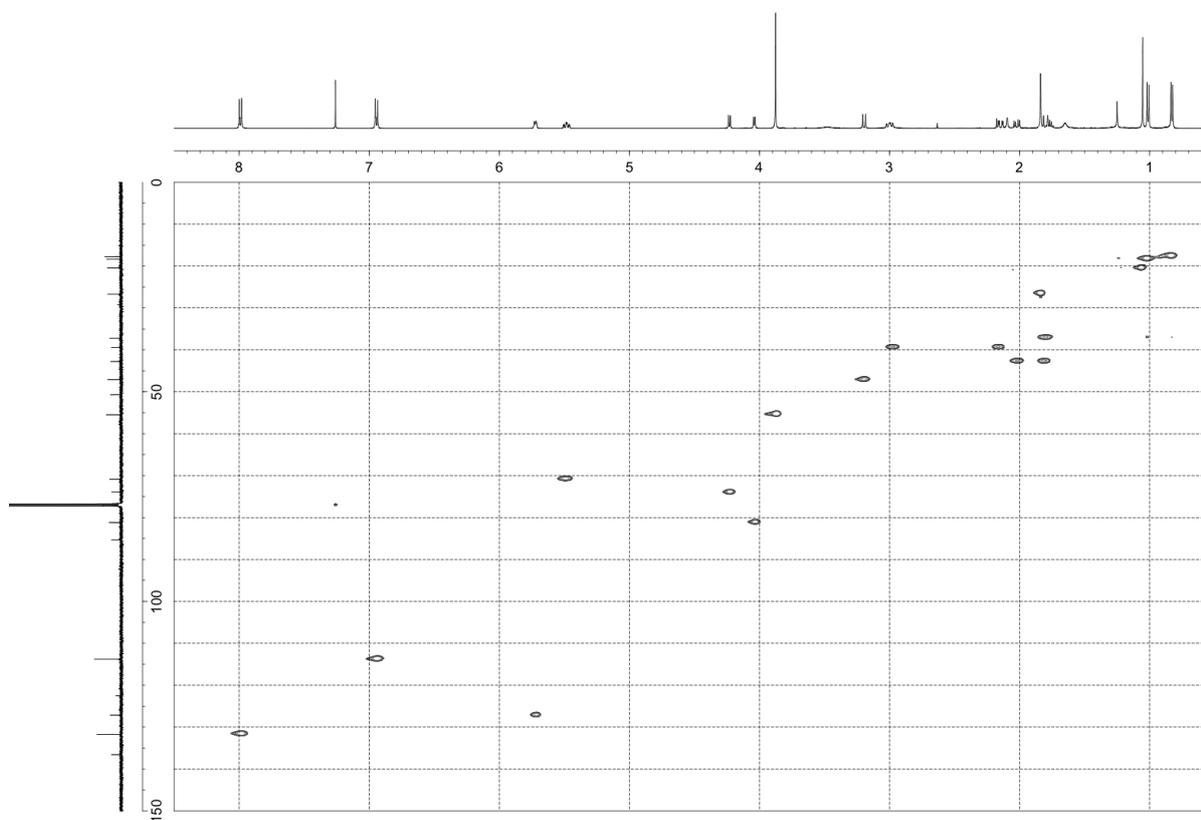


Figure S72. HSQC spectrum of compound **14** in CDCl_3 (500 MHz).

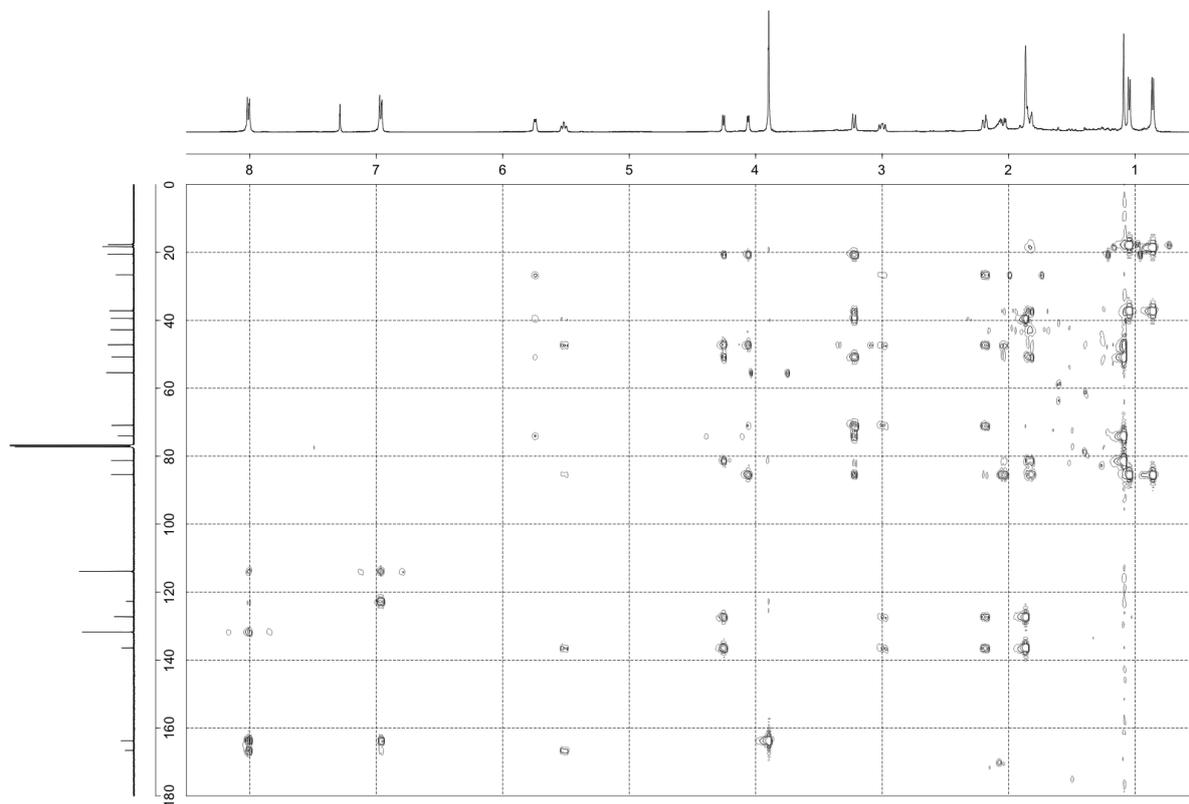


Figure S73. HMBC spectrum of compound **14** in CDCl₃ (500 MHz).

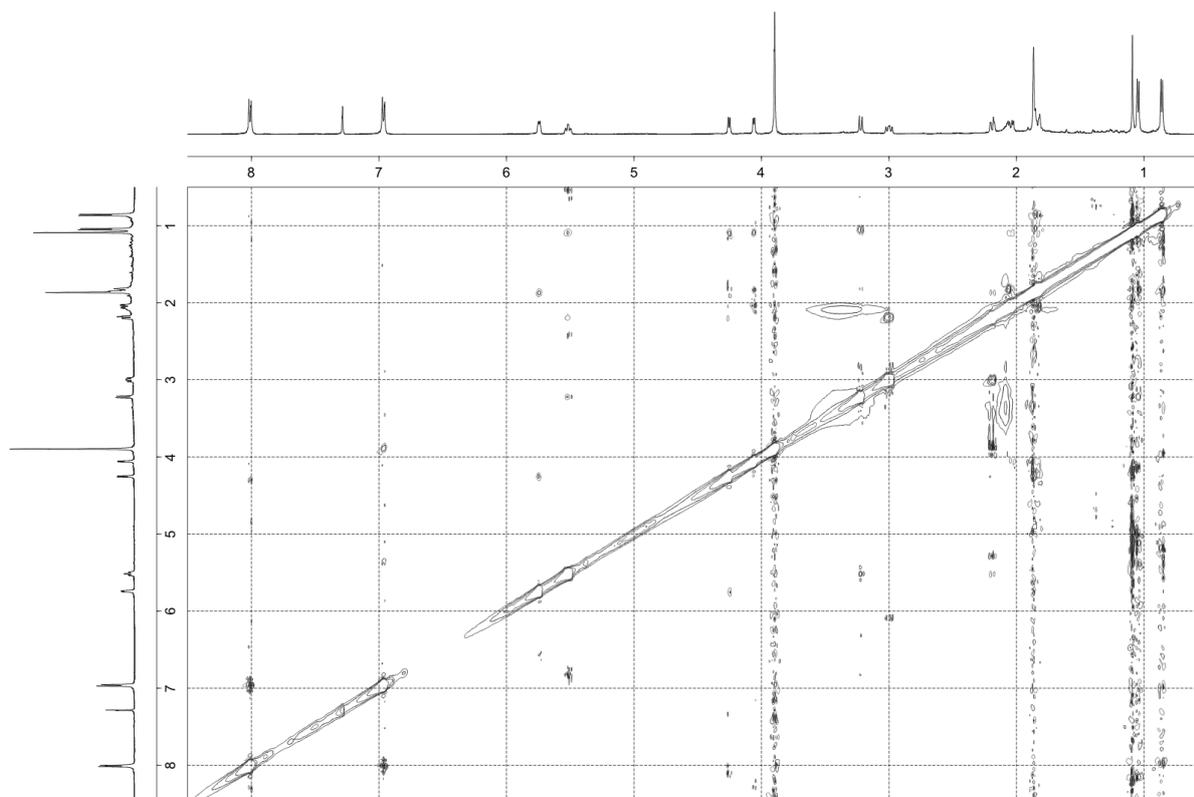


Figure S74. NOESY spectrum of compound **14** in CDCl₃ (500 MHz).

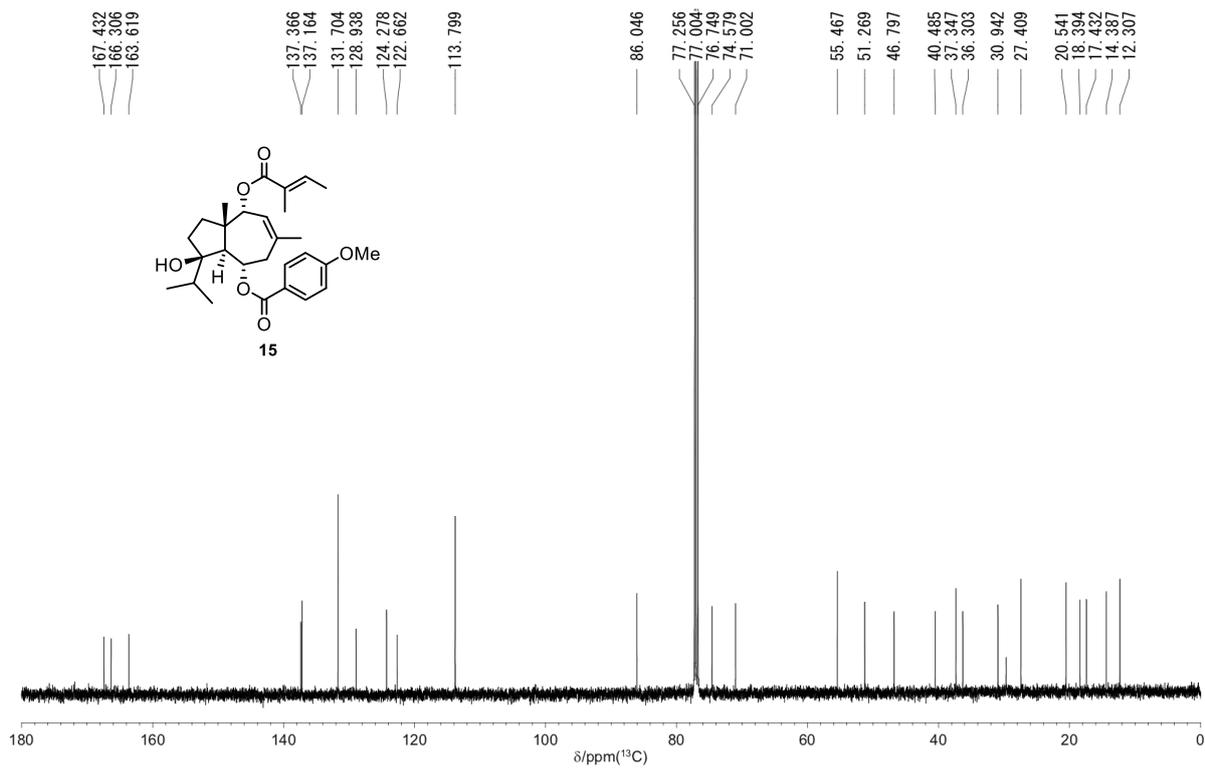


Figure S75. ^{13}C NMR spectrum of compound **15** in CDCl_3 (125 MHz).

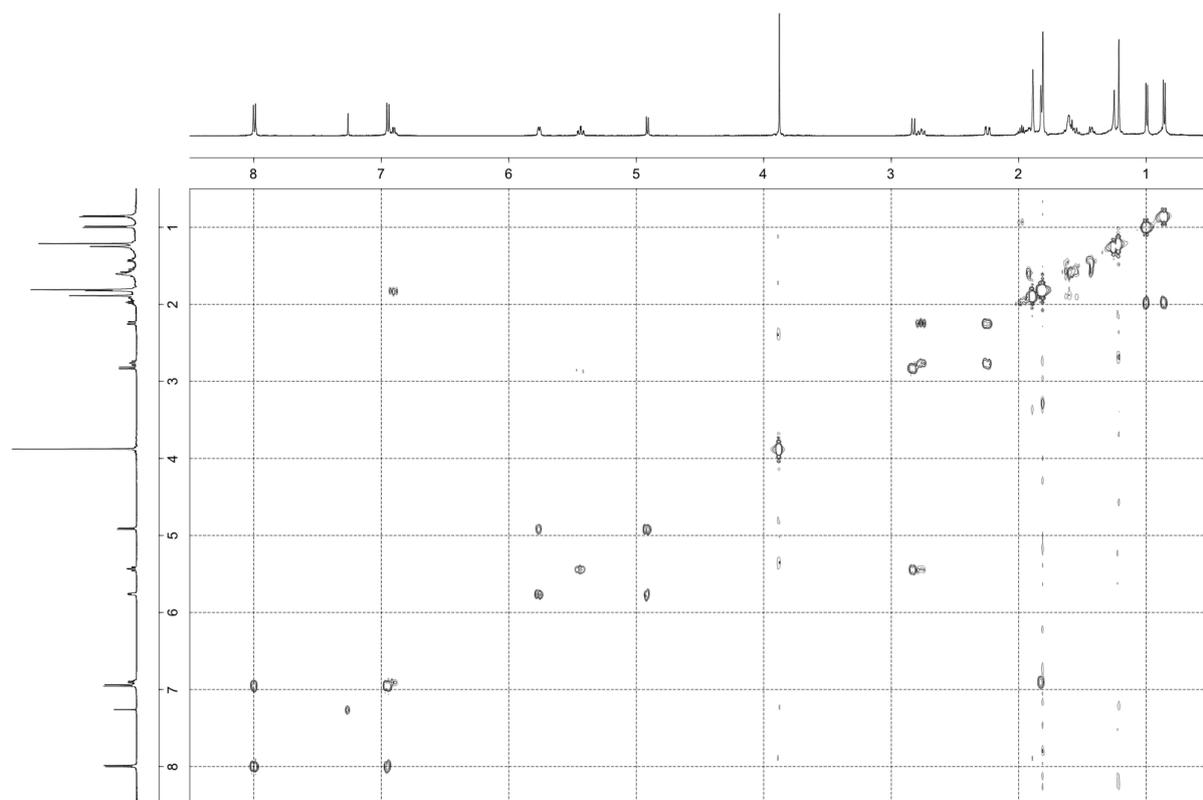


Figure S76. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound **15** in CDCl_3 (500 MHz).

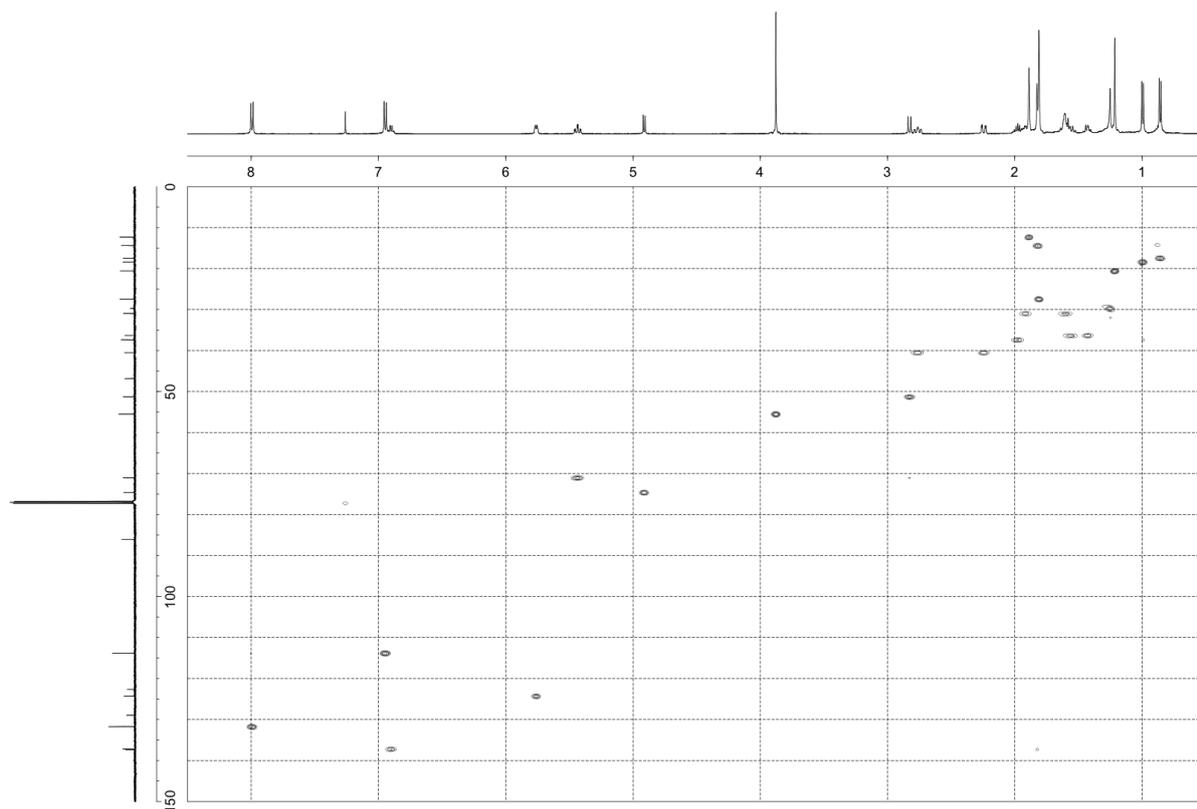


Figure S77. HSQC spectrum of compound **15** in CDCl_3 (500 MHz).

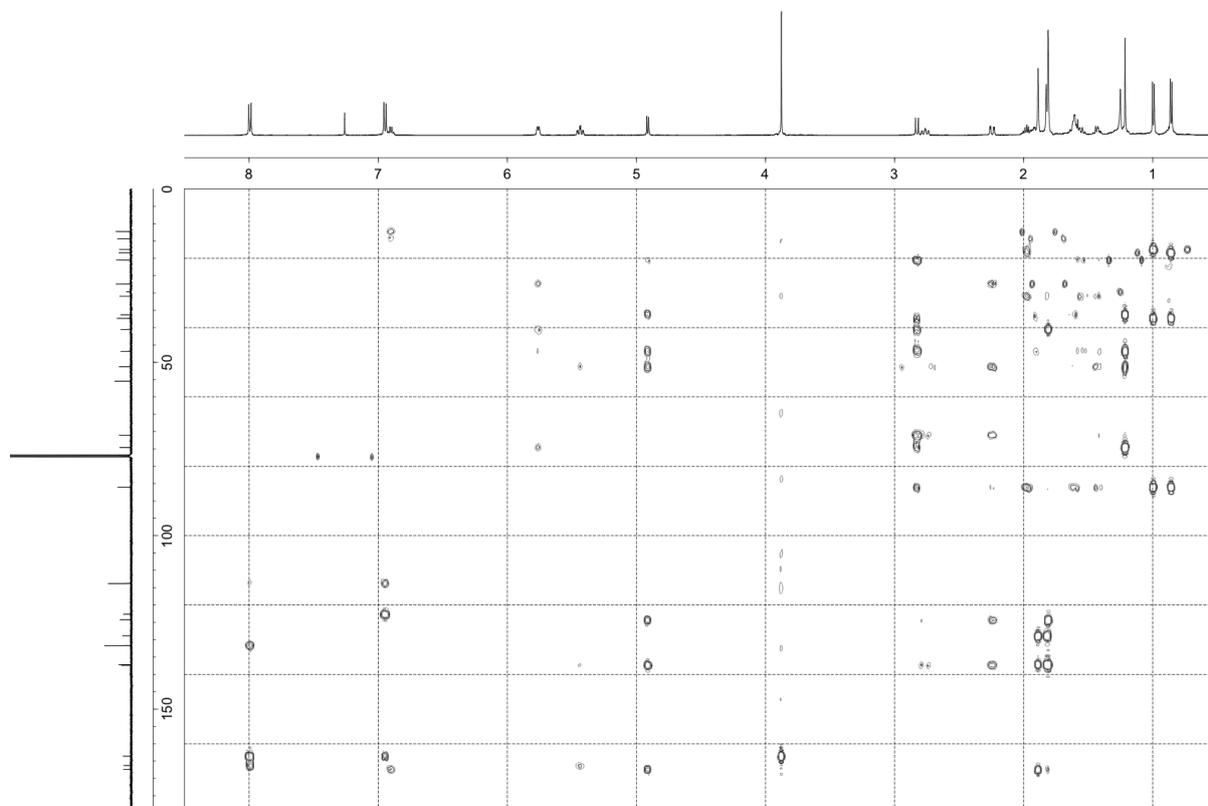


Figure S78. HMBC spectrum of compound **15** in CDCl_3 (500 MHz).

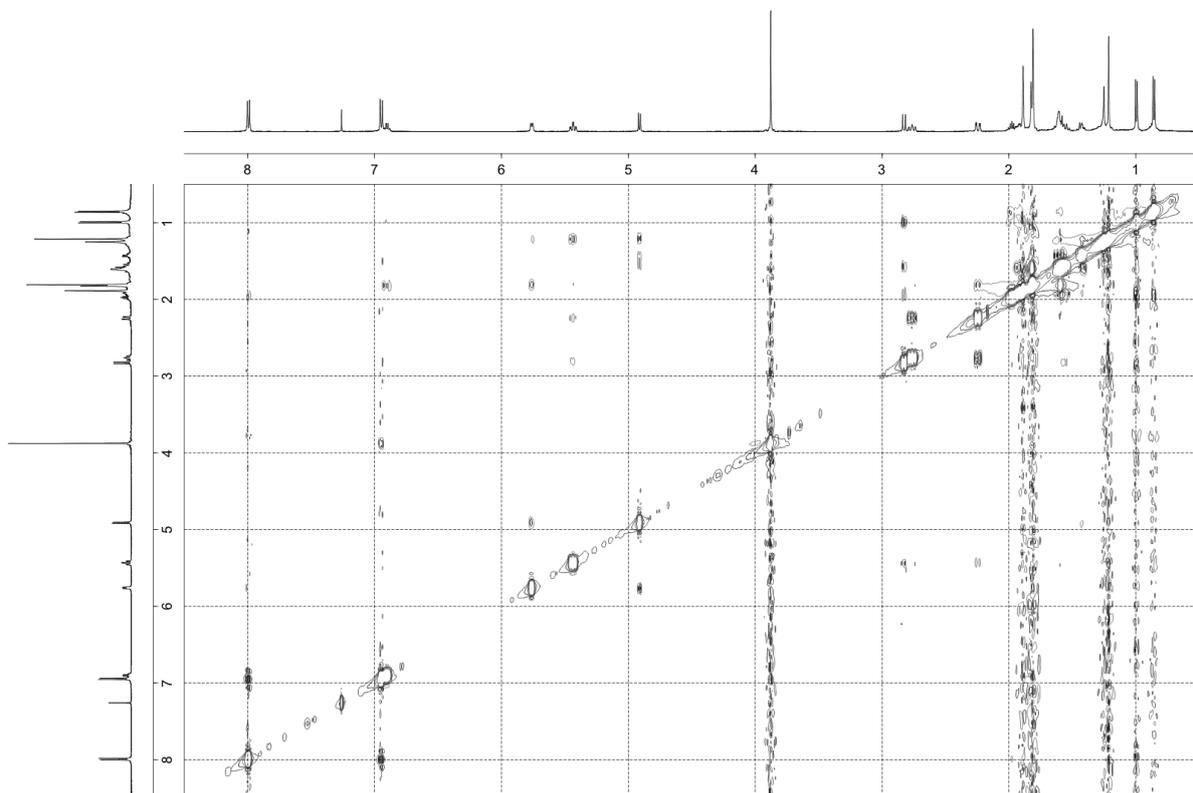


Figure S79. NOESY spectrum of compound **15** in CDCl_3 (500 MHz).

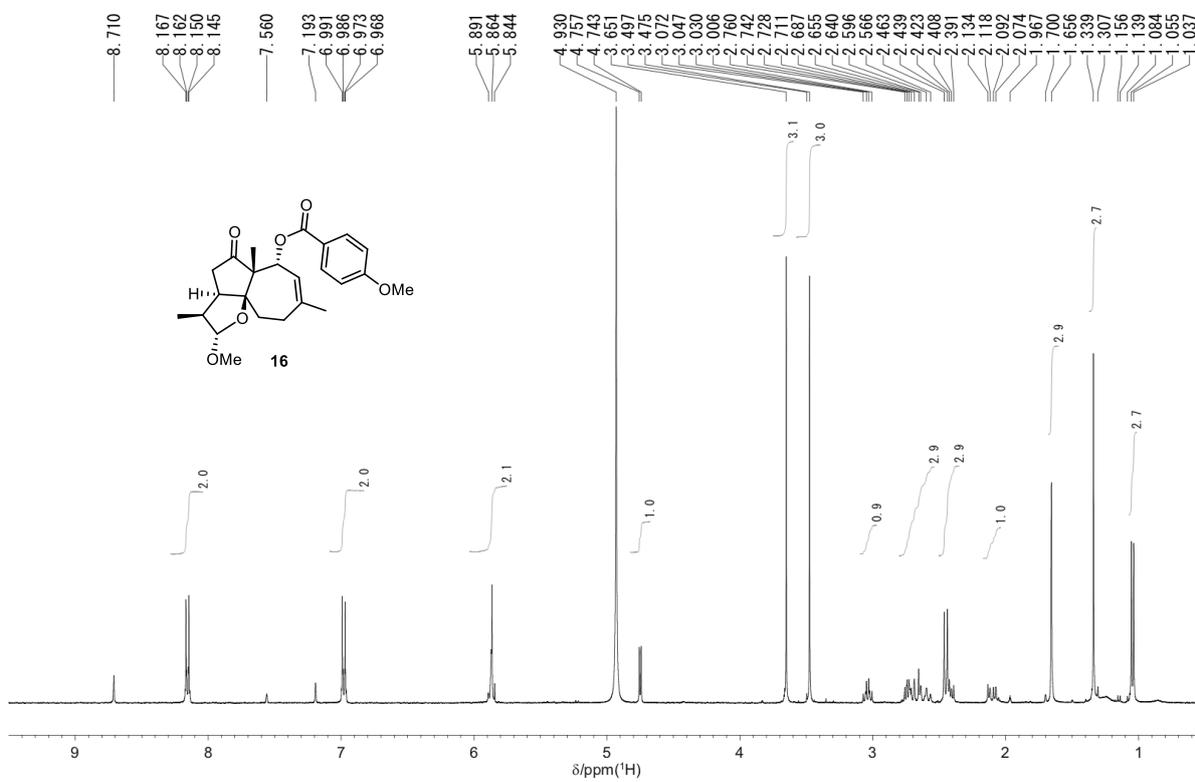


Figure S80. ^1H NMR spectrum of compound **16** in $\text{C}_6\text{D}_5\text{N}$ (400 MHz).

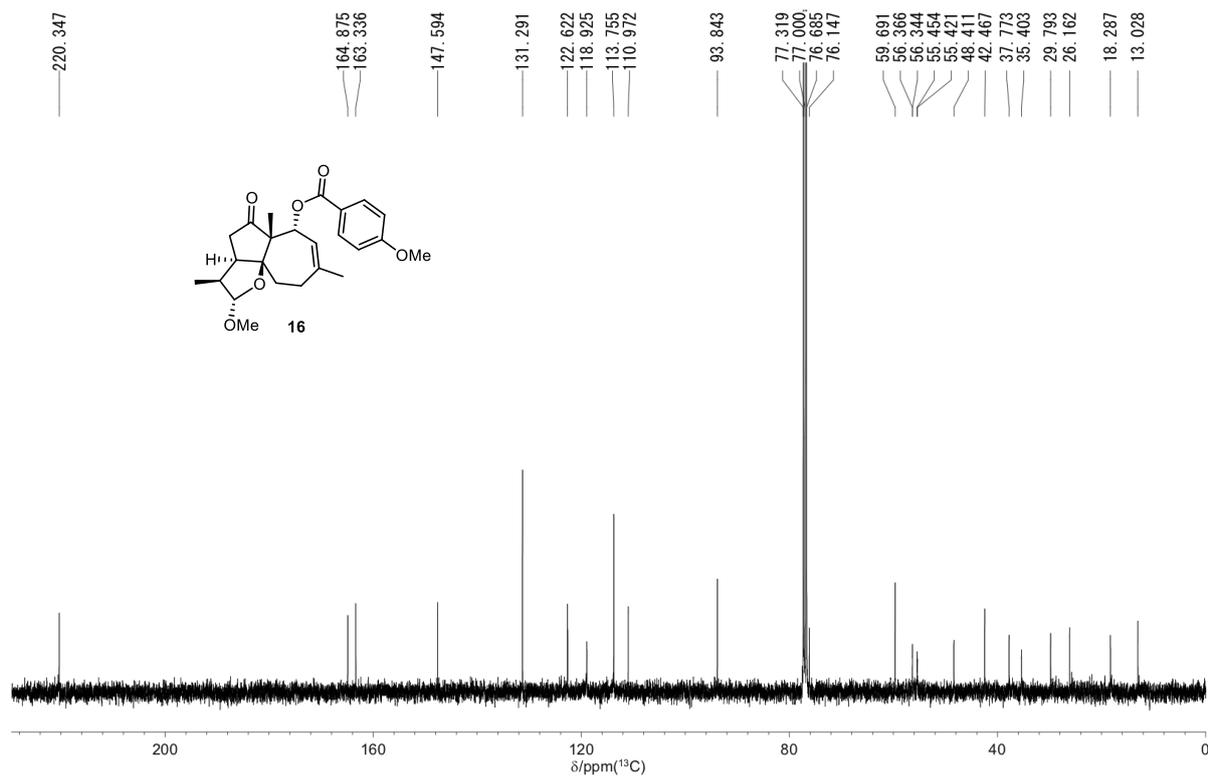


Figure S81. ^{13}C NMR spectrum of compound 16 in CDCl_3 (100 MHz).

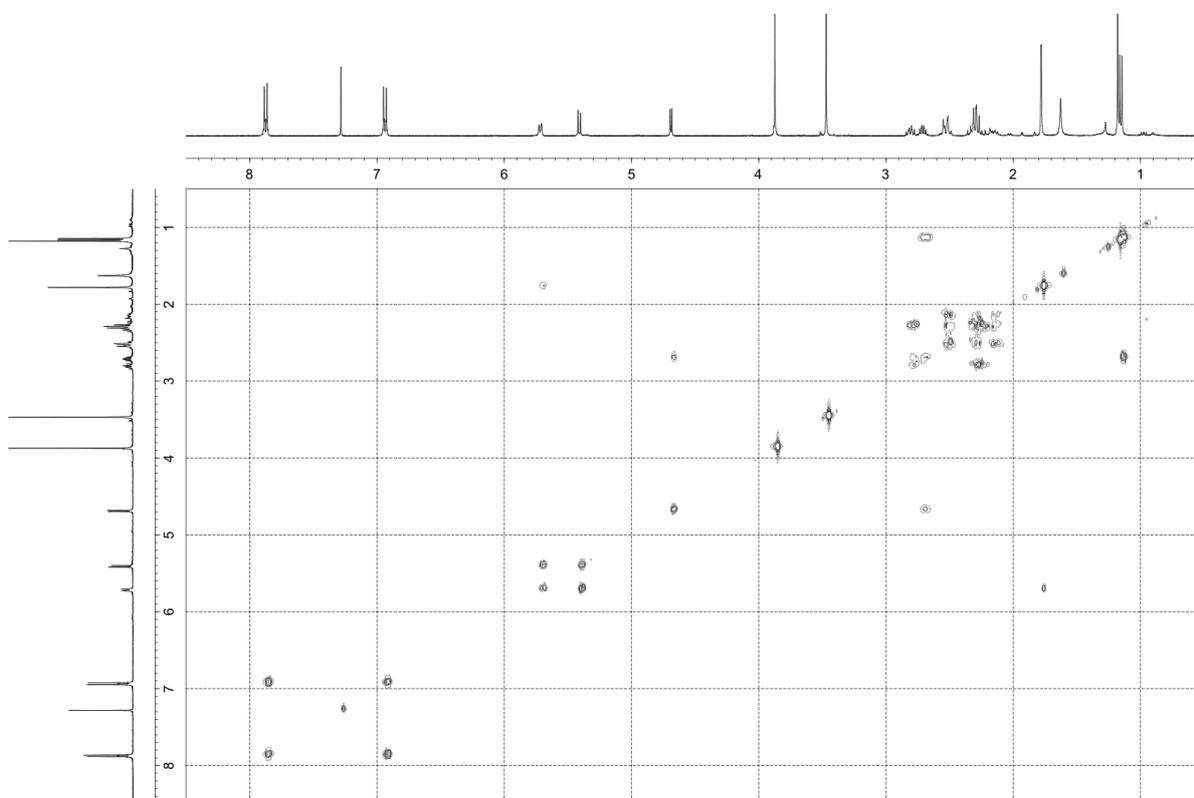


Figure S82. ^1H - ^1H COSY spectrum of compound 16 in CDCl_3 (400 MHz).

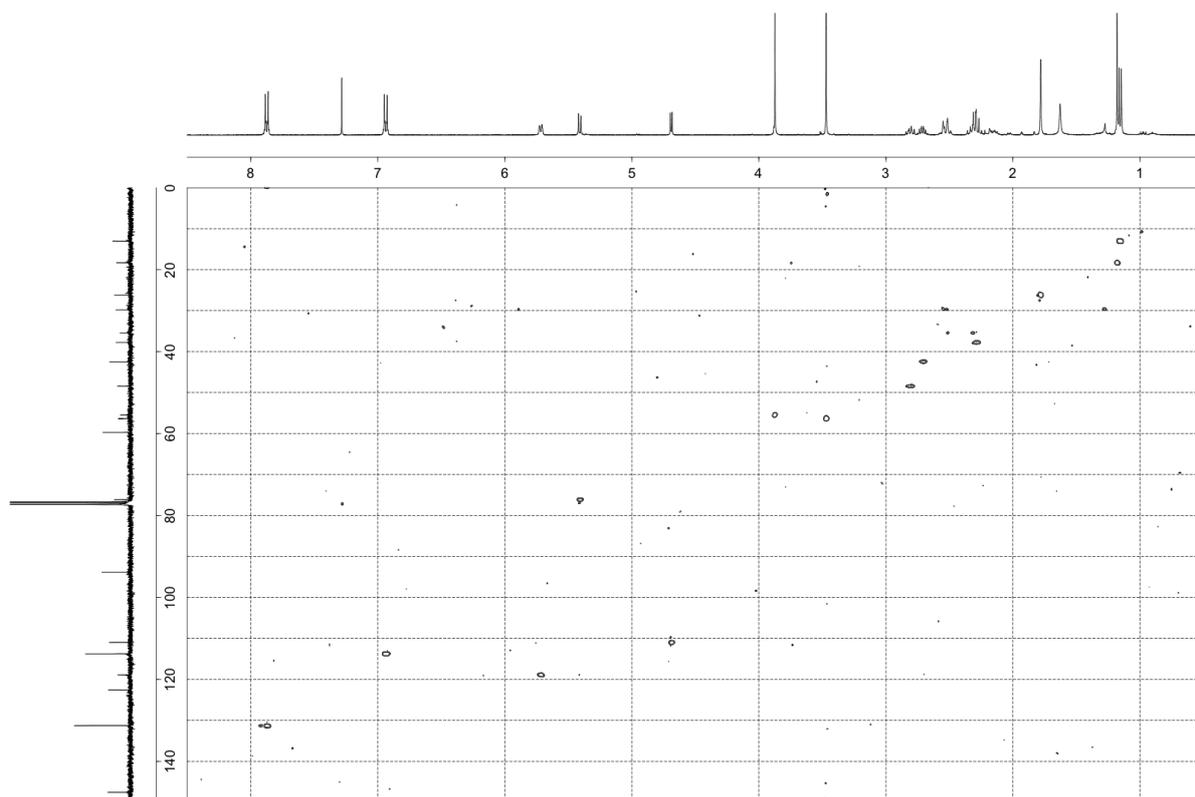


Figure S83. HSQC spectrum of compound **16** in CDCl₃ (400 MHz).

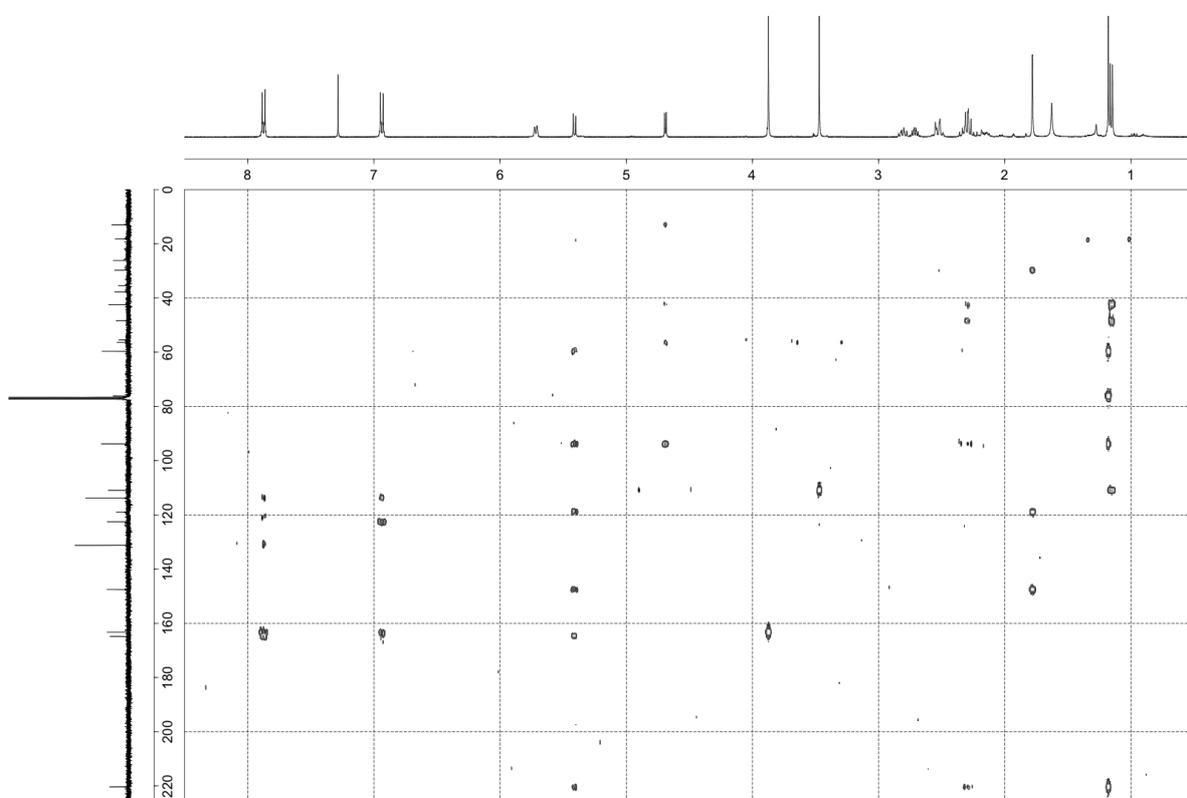


Figure S84. HMBC spectrum of compound **16** in CDCl₃ (400 MHz).

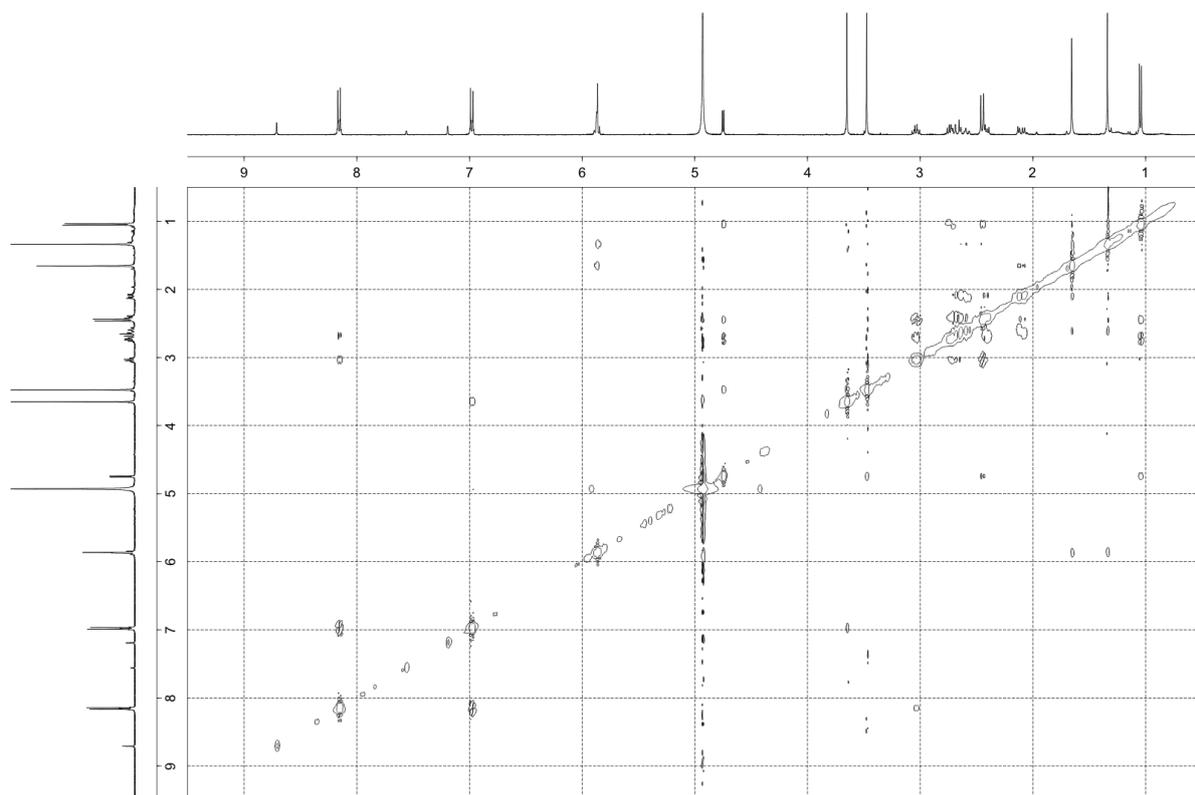


Figure S85. NOESY spectrum of compound **16** in C_6D_5N (400 MHz).

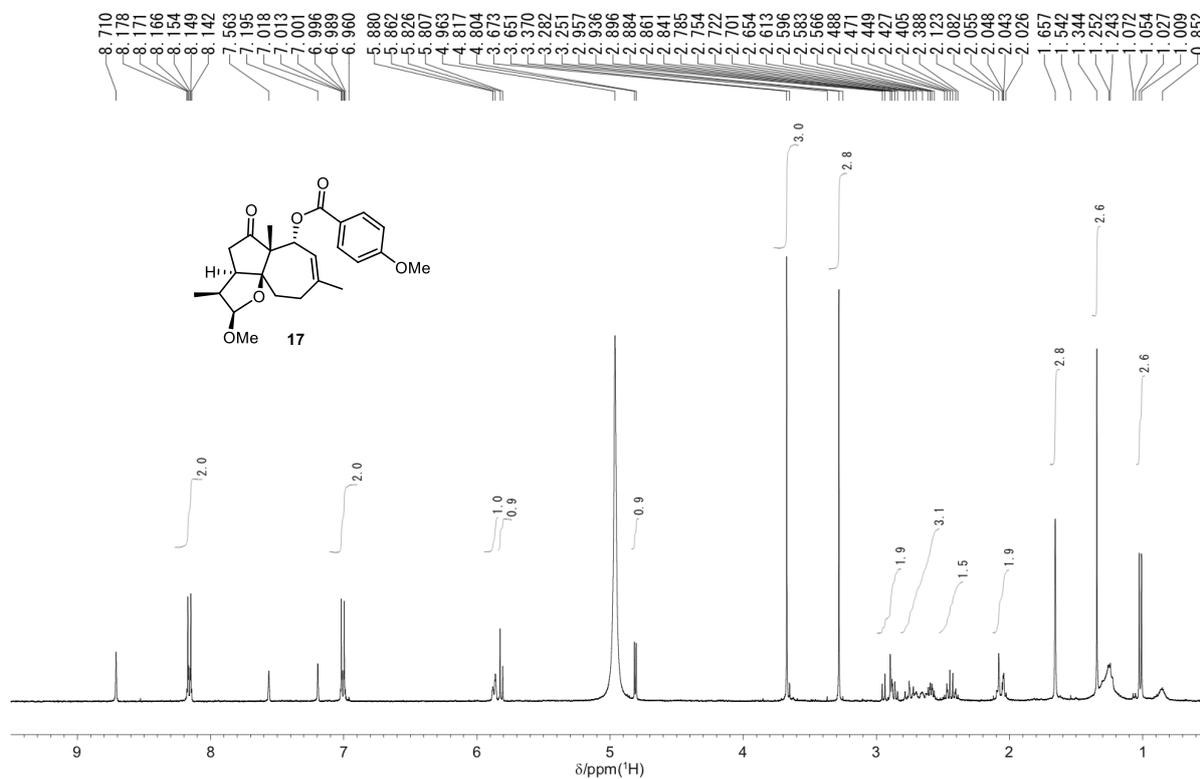


Figure S86. 1H NMR spectrum of compound **17** in C_6D_5N (400 MHz).

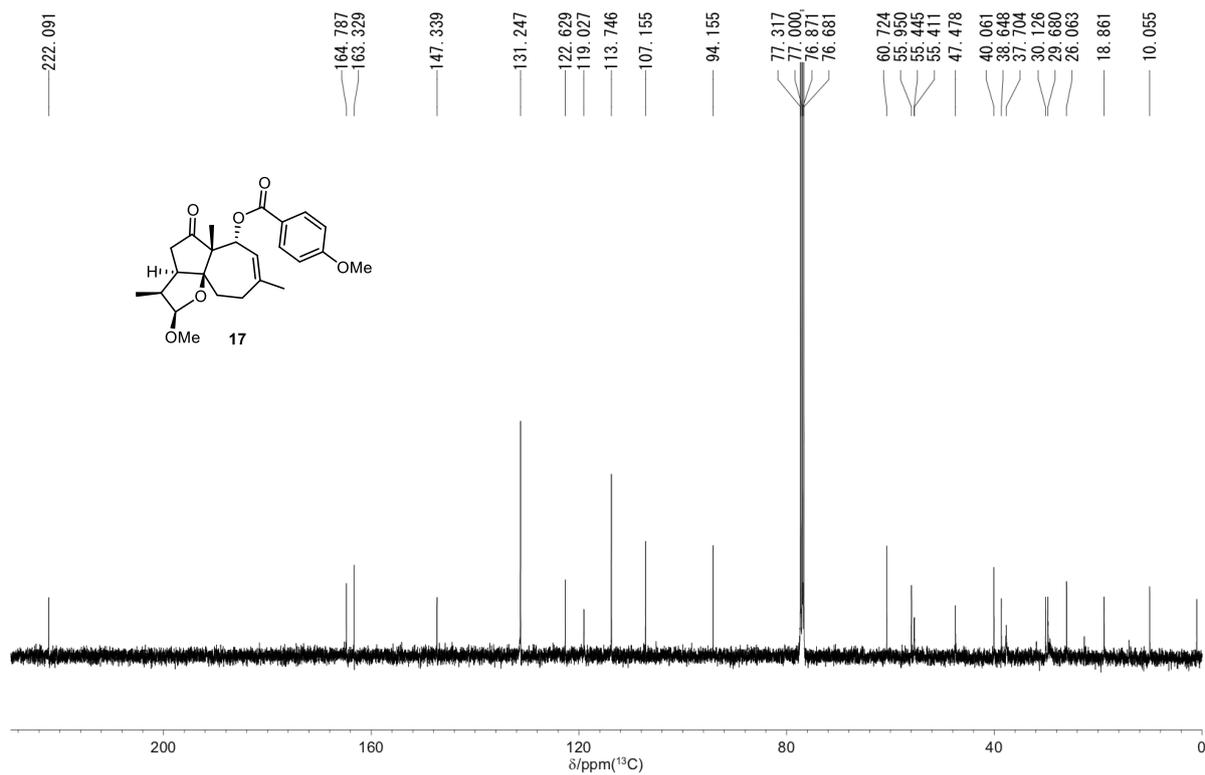


Figure S87. ¹³C NMR spectrum of compound 17 in CDCl₃ (400 MHz).

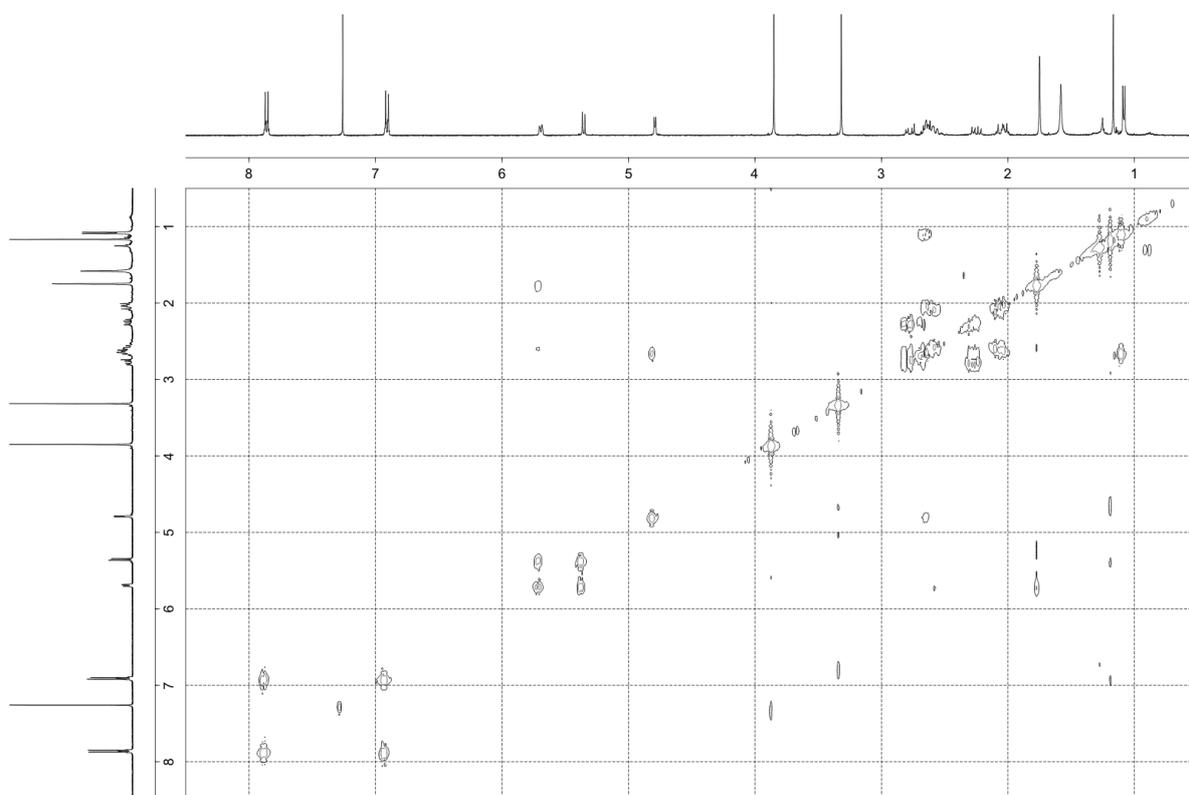


Figure S88. ¹H-¹H COSY spectrum of compound 17 in CDCl₃ (400 MHz).

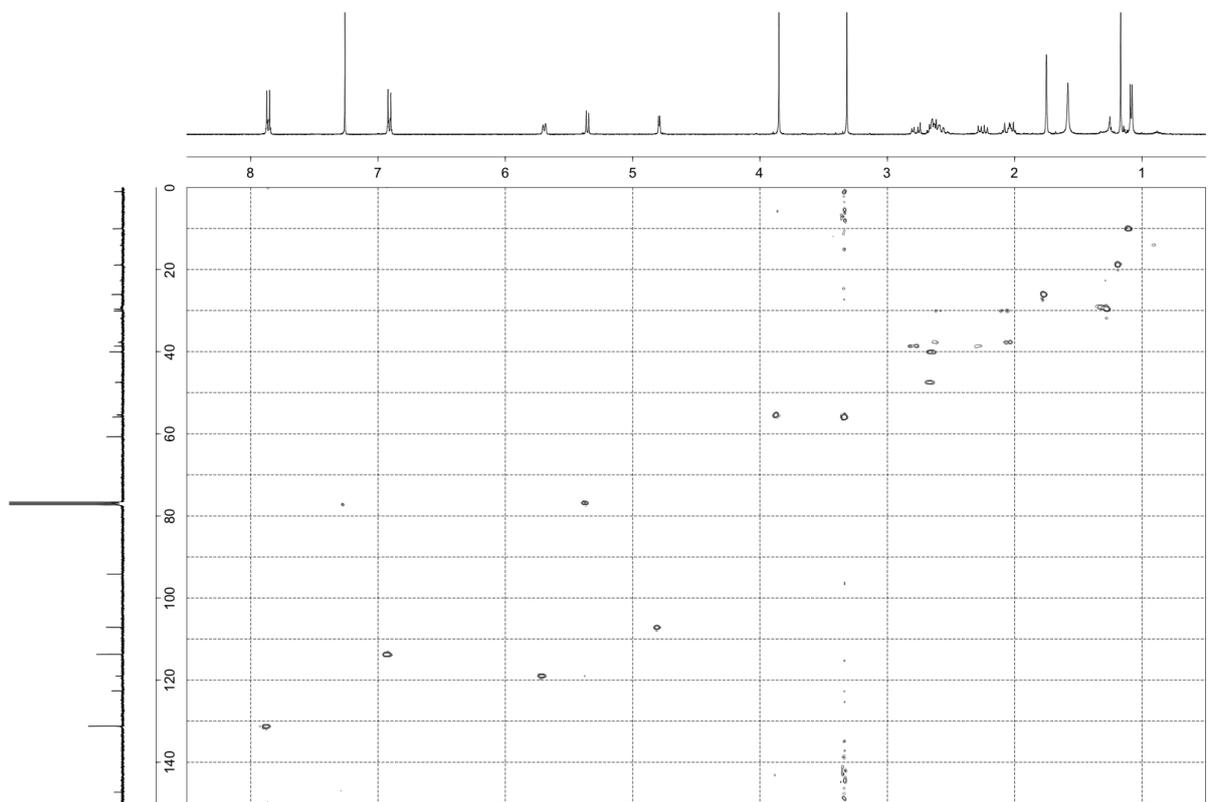


Figure S89. HSQC spectrum of compound **17** in CDCl_3 (400 MHz).

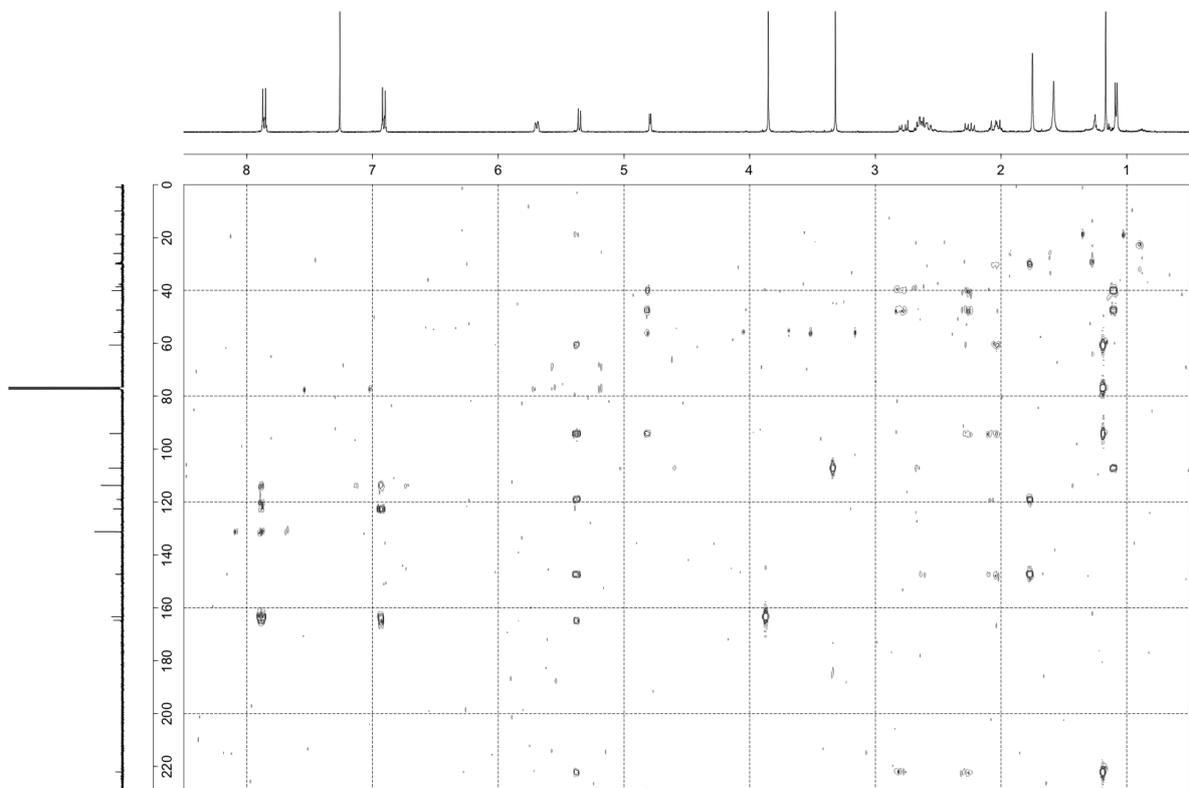


Figure S90. HMBC spectrum of compound **17** in CDCl_3 (400 MHz).

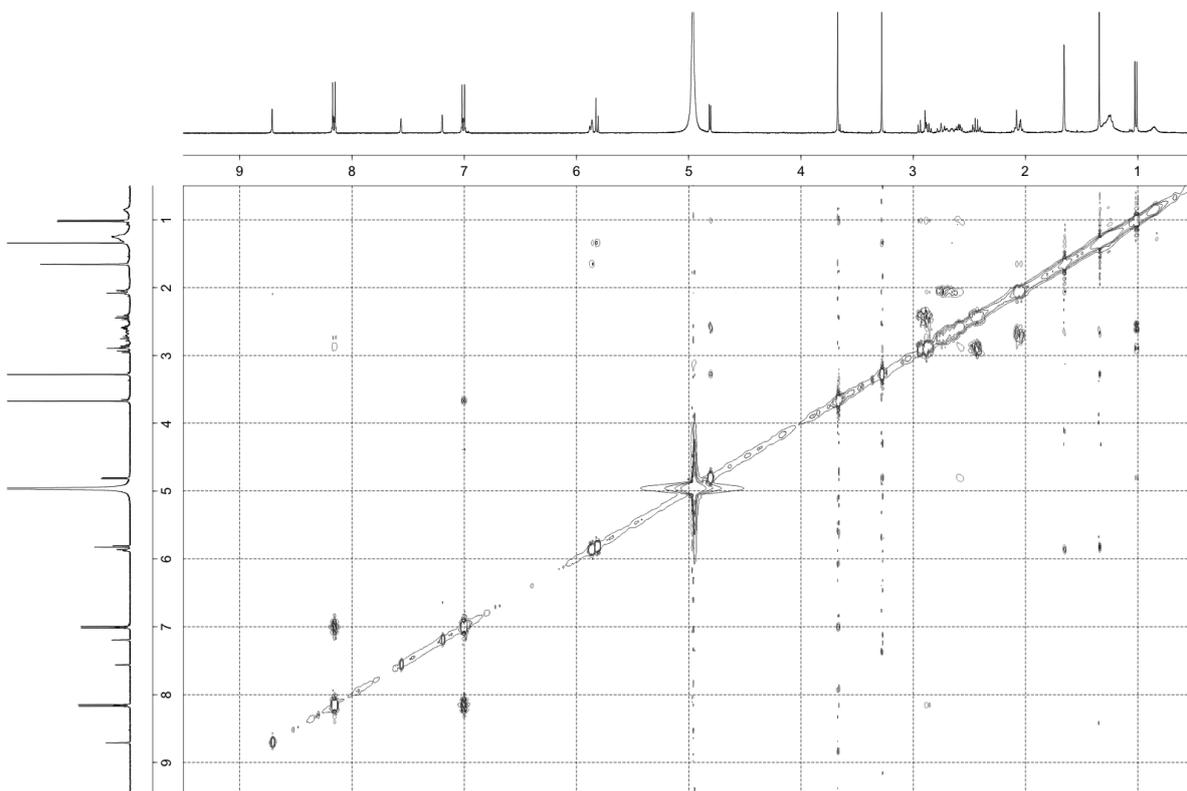


Figure S91. NOESY spectrum of compound **17** in C_6D_5N (400 MHz).

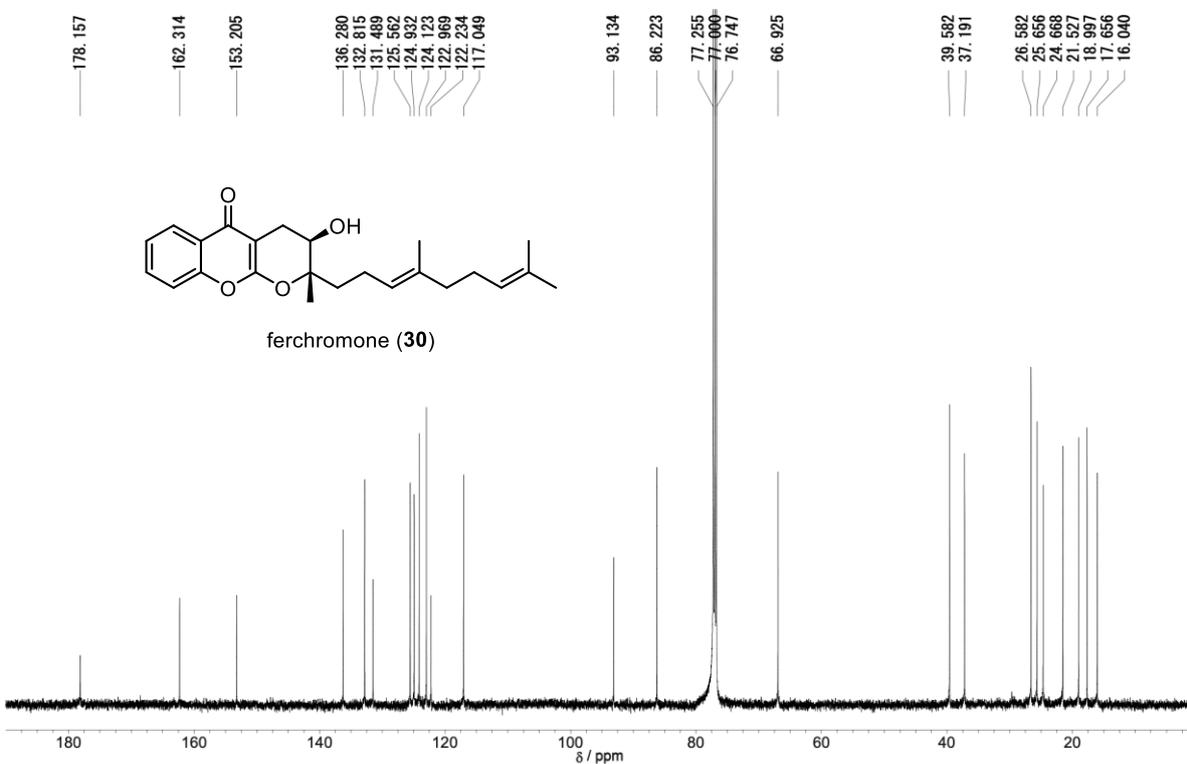


Figure S92. ^{13}C NMR spectrum of ferchromone (**30**) in $CDCl_3$ (125 MHz).

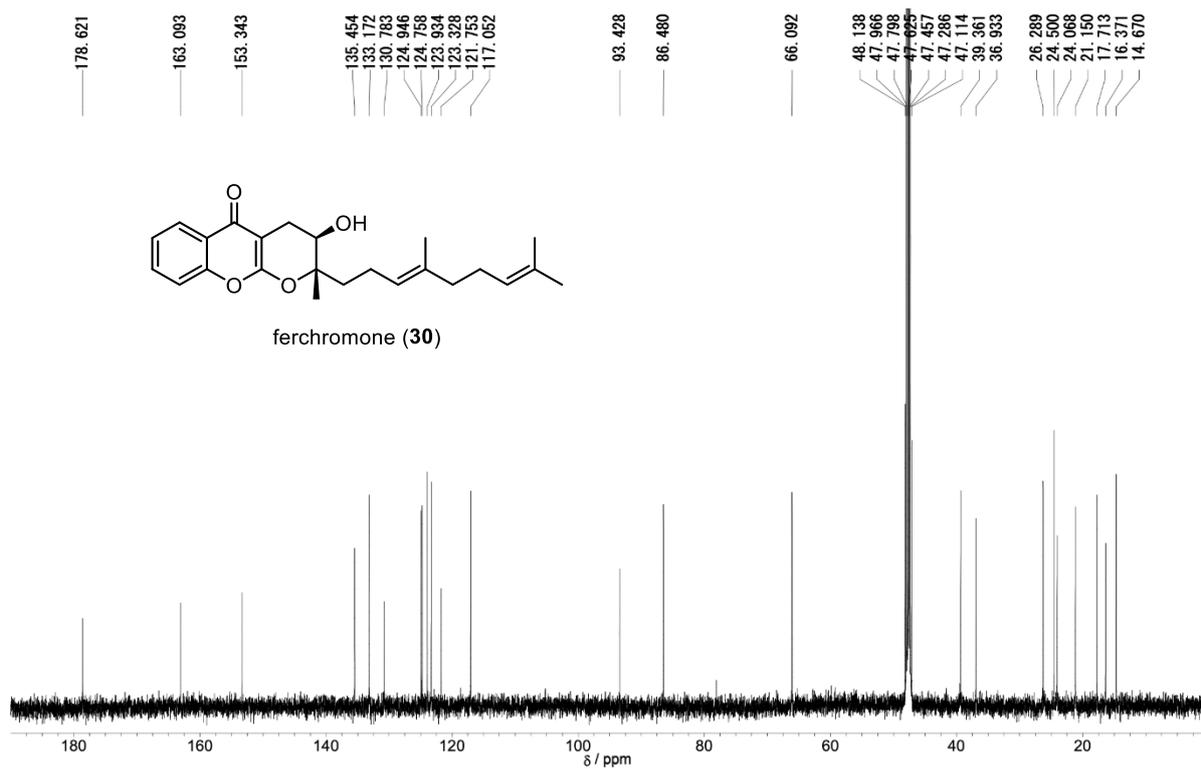


Figure S93. ^{13}C NMR spectrum of ferchromone (30) in CD_3OD (125 MHz).

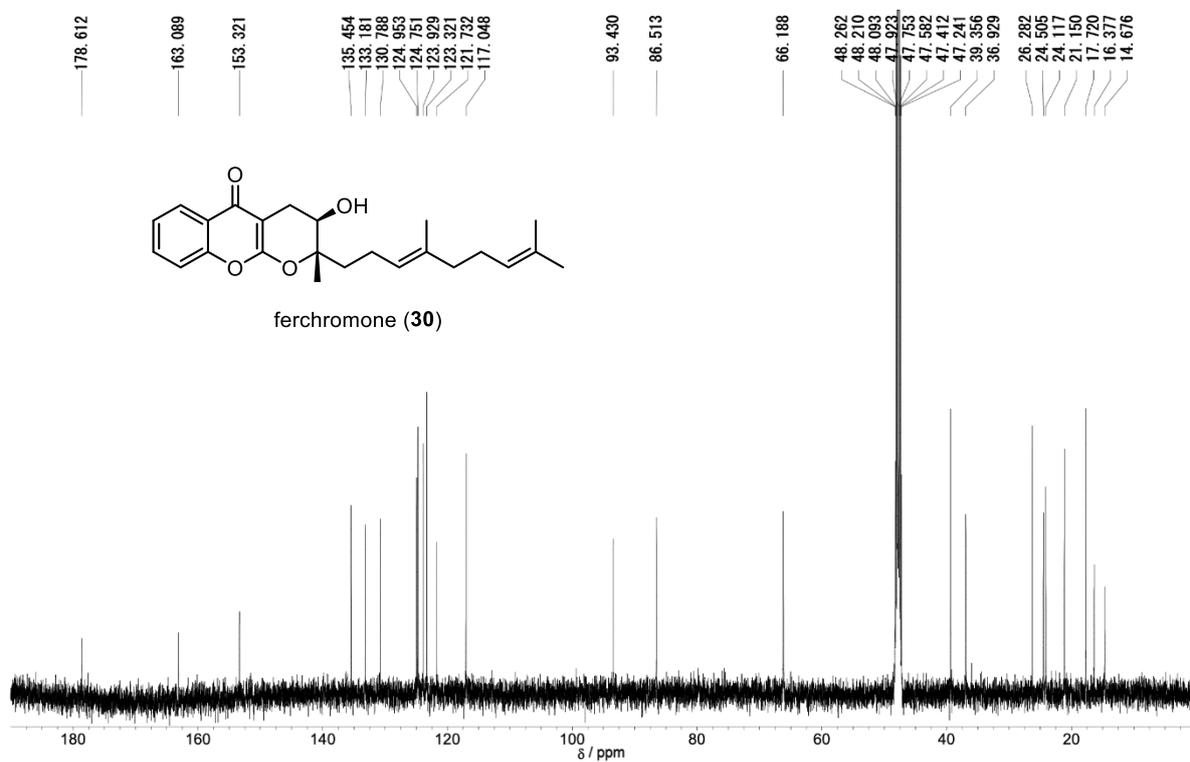


Figure S94. ^{13}C NMR spectrum of ferchromone (30) in CD_3OH (125 MHz).

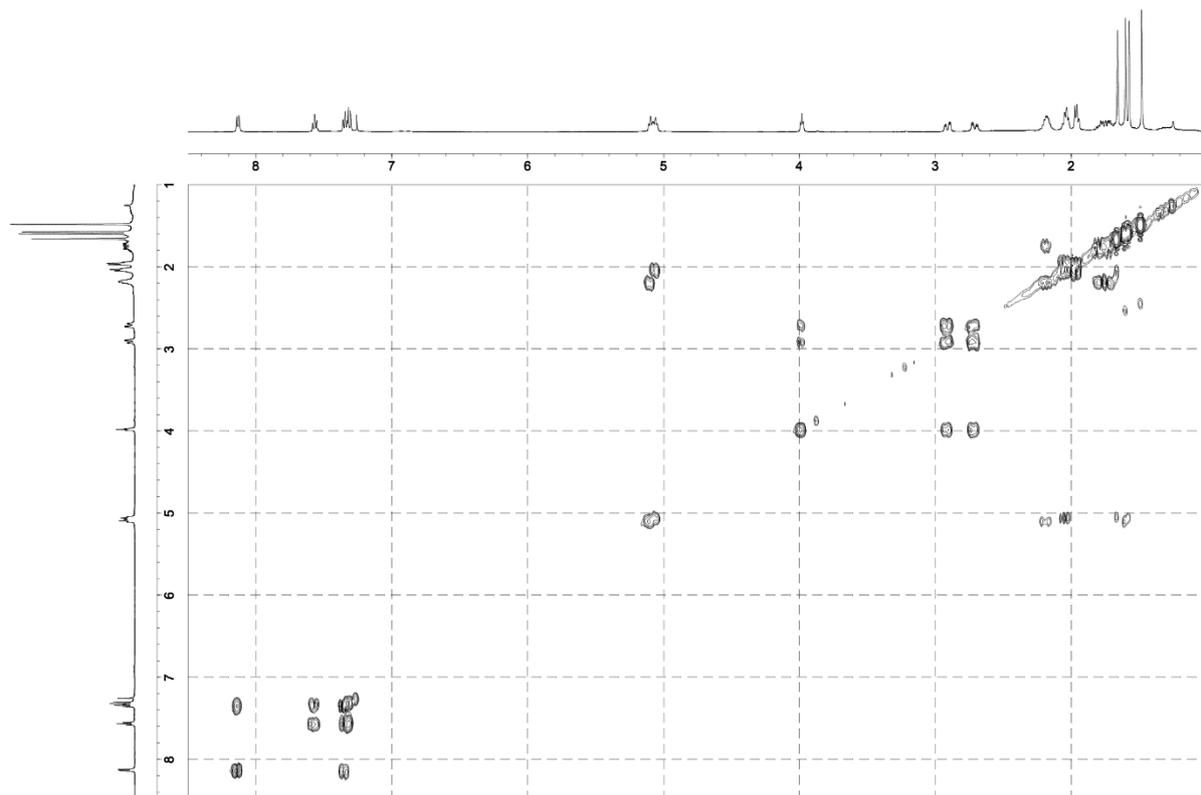


Figure S95. ^1H - ^1H COSY spectrum of ferchromone (**30**) in CDCl_3 (500 MHz).

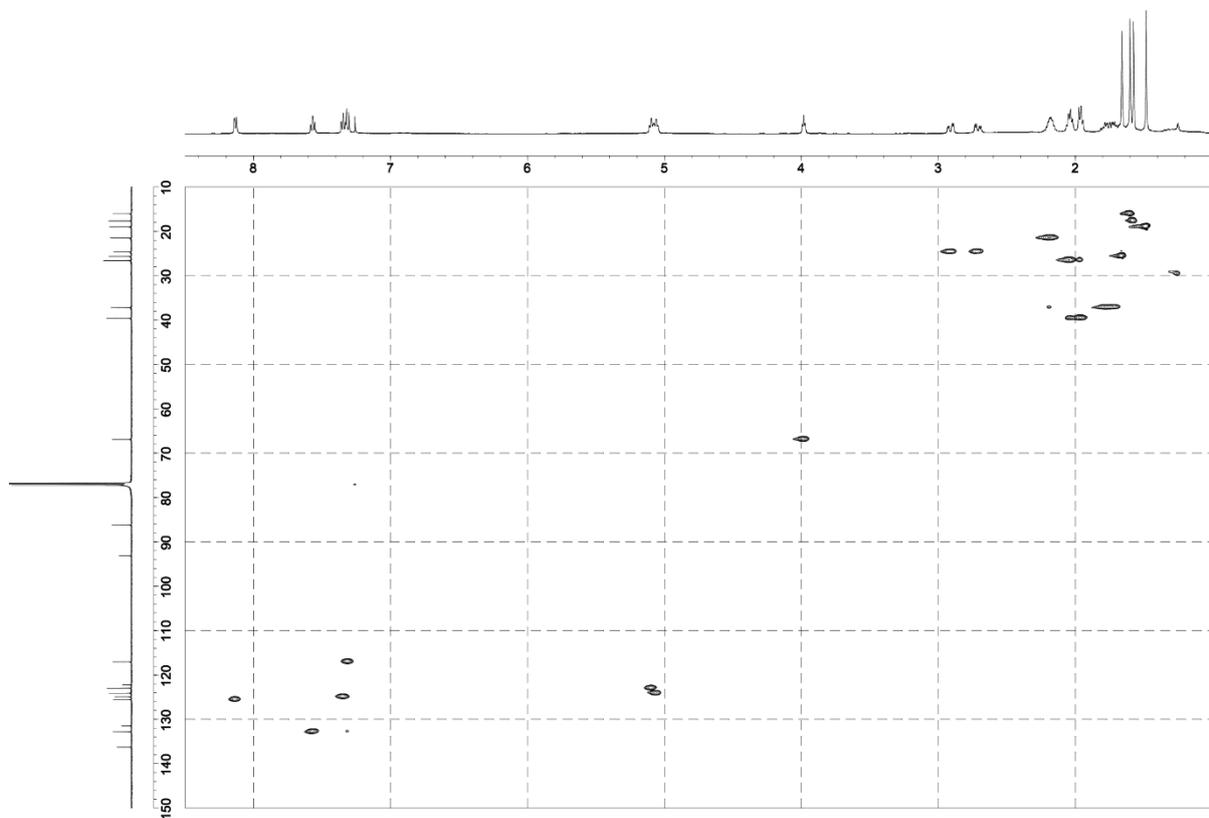


Figure S96. HSQC spectrum of ferchromone (**30**) in CDCl_3 (500 MHz).

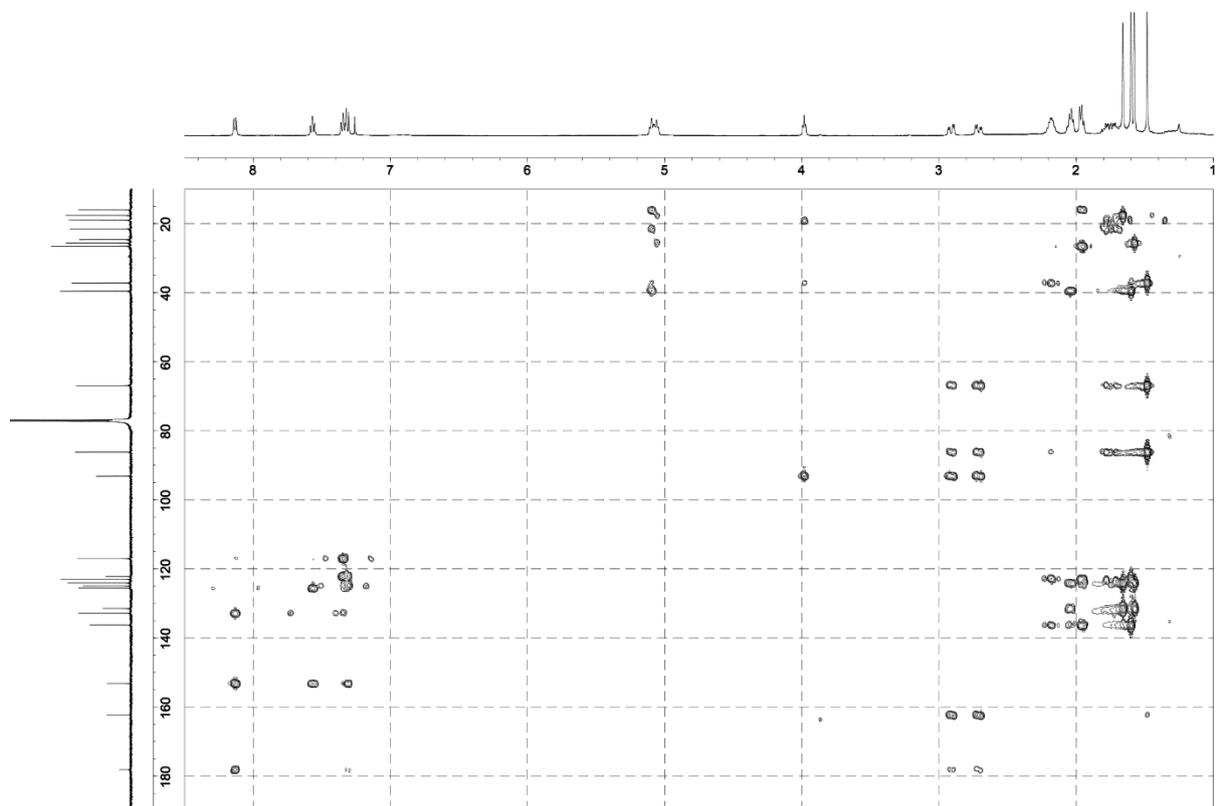


Figure S97. HMBC spectrum of ferchromone (**30**) in CDCl_3 (500 MHz).

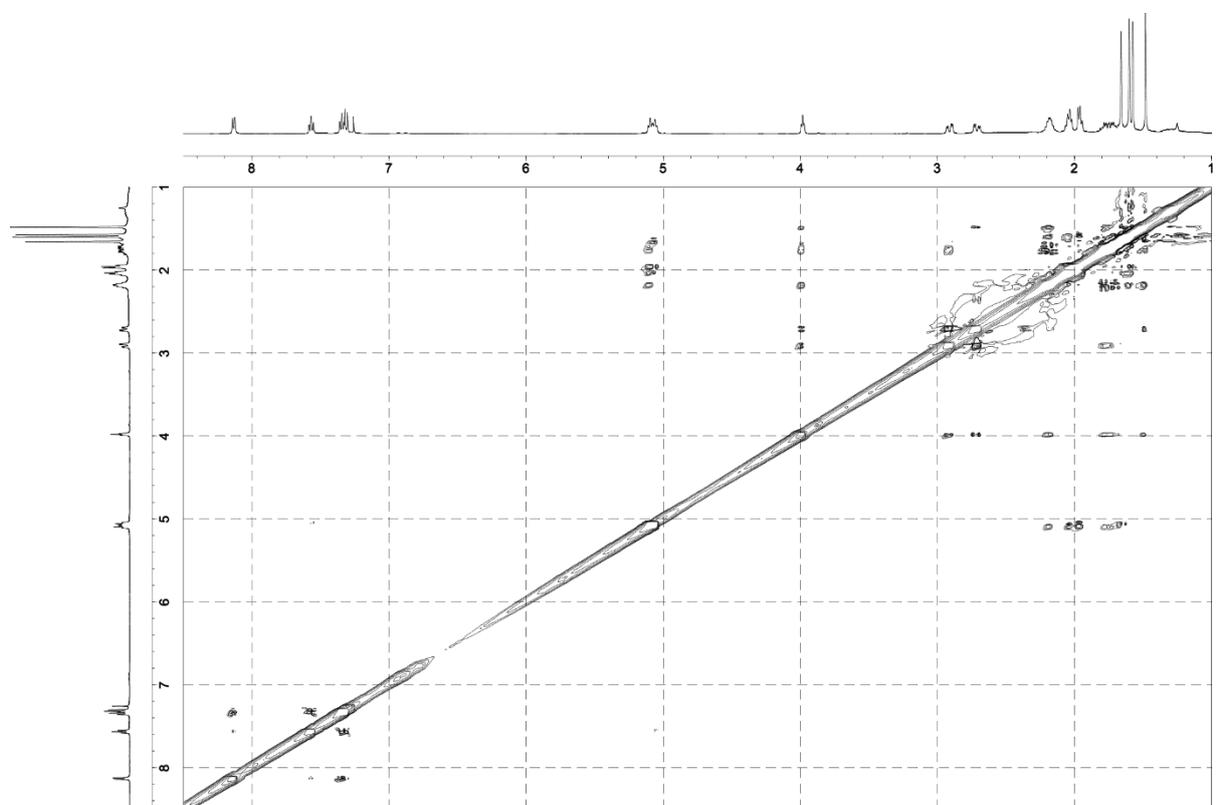
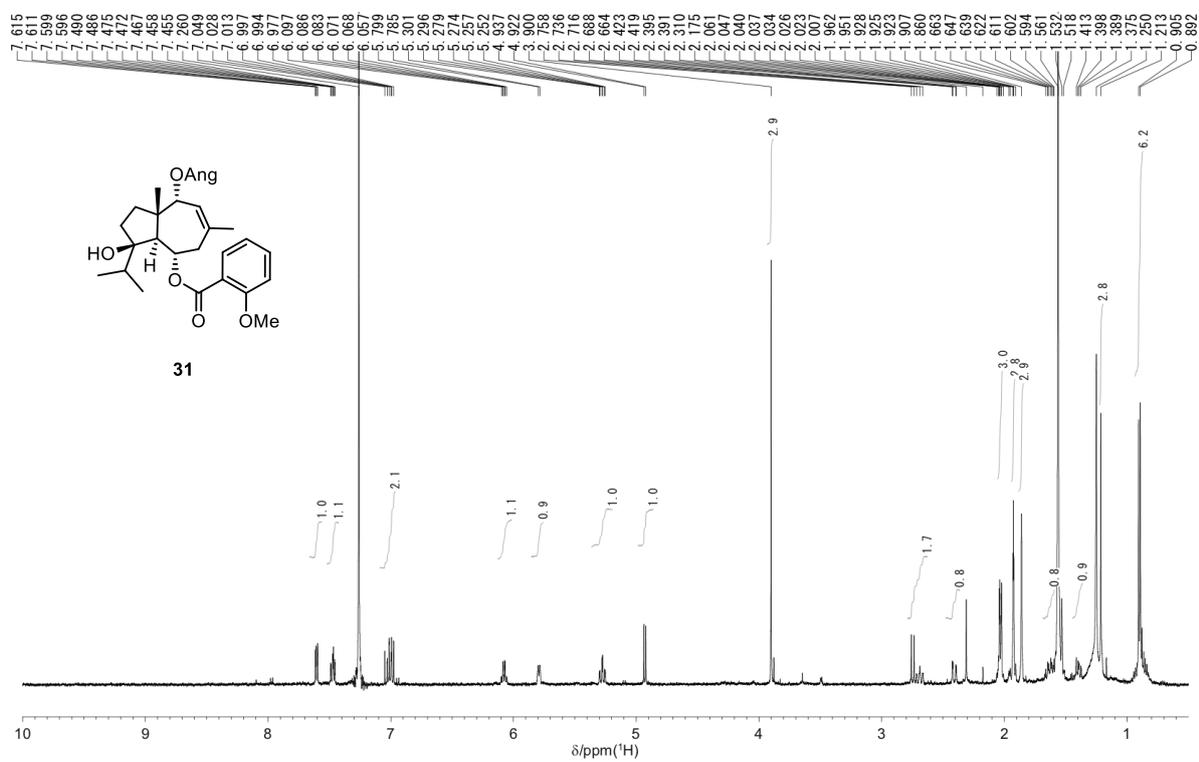
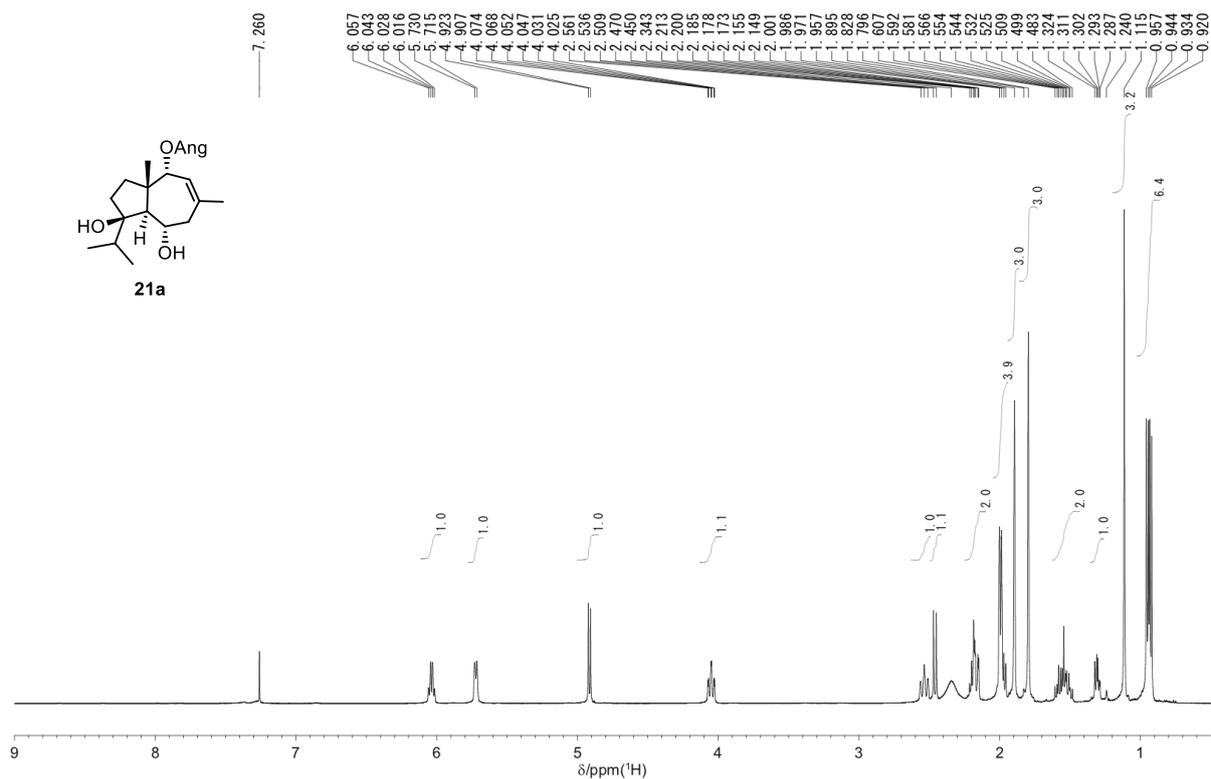


Figure S98. NOESY spectrum of ferchromone (**30**) in CDCl_3 (500 MHz).



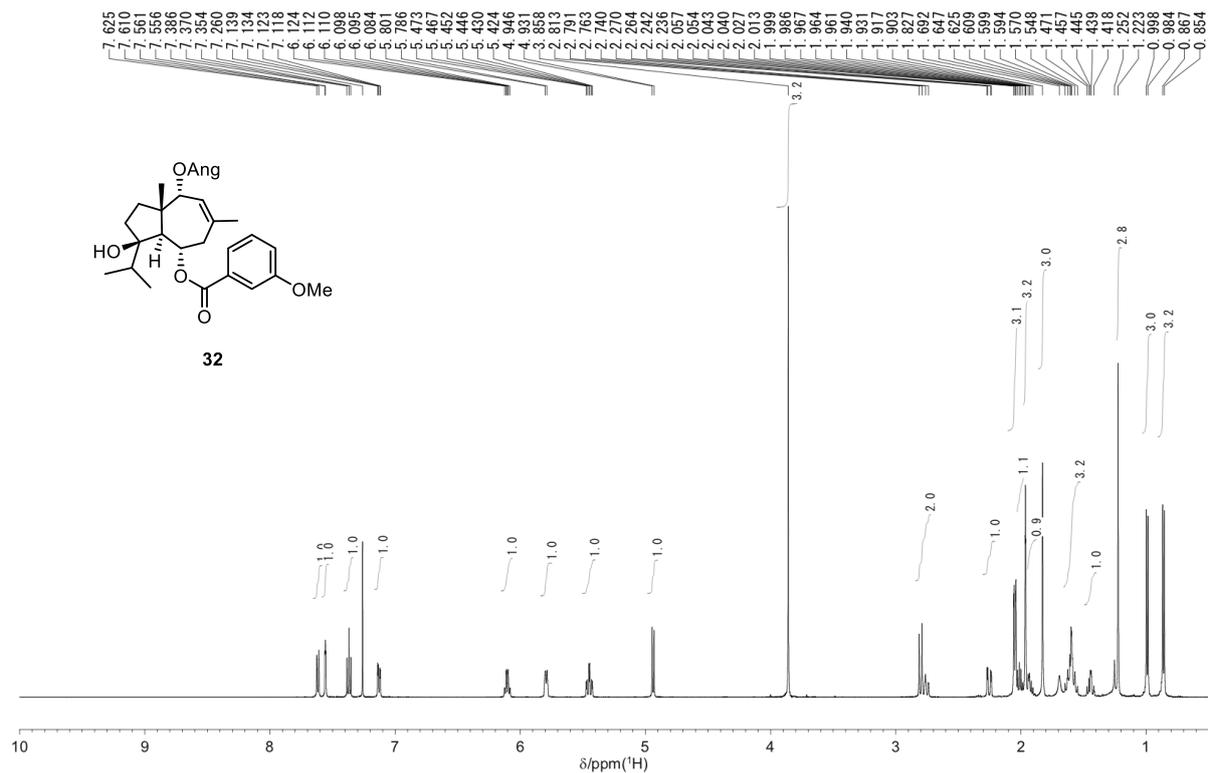


Figure S101. ¹H NMR spectrum of compound **32** in CDCl₃ (500 MHz).

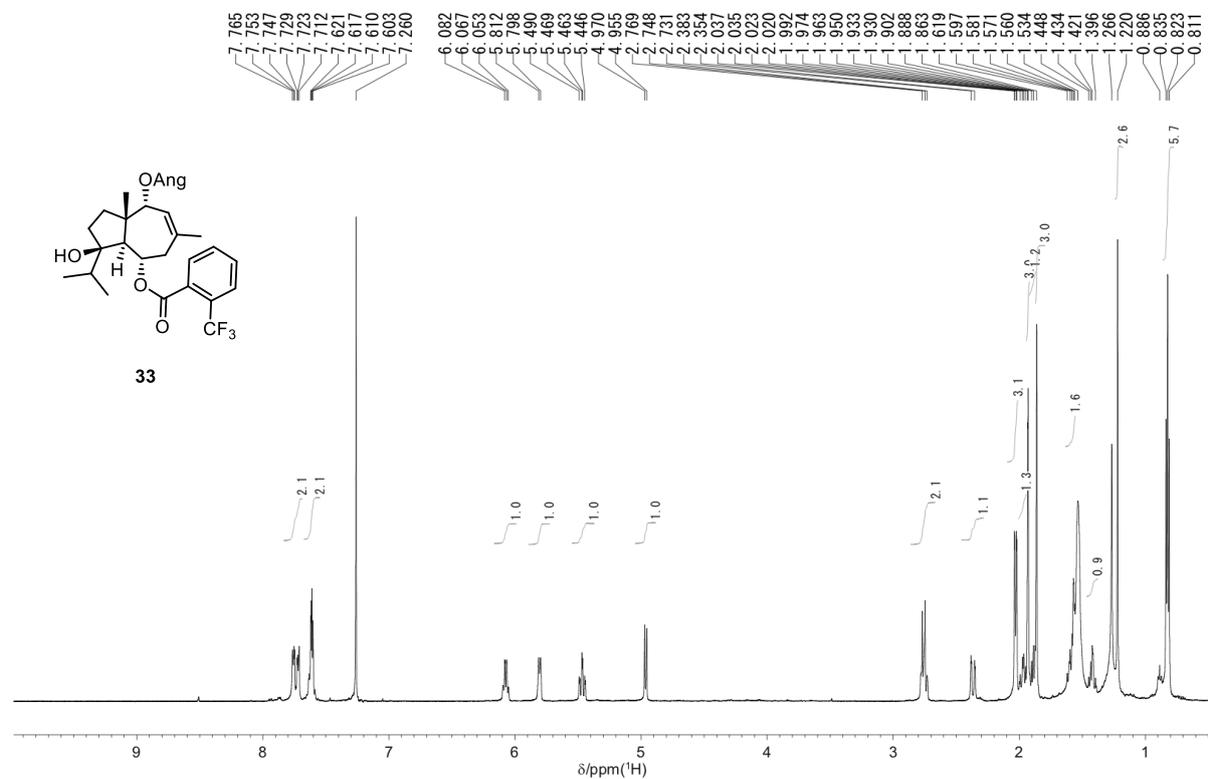
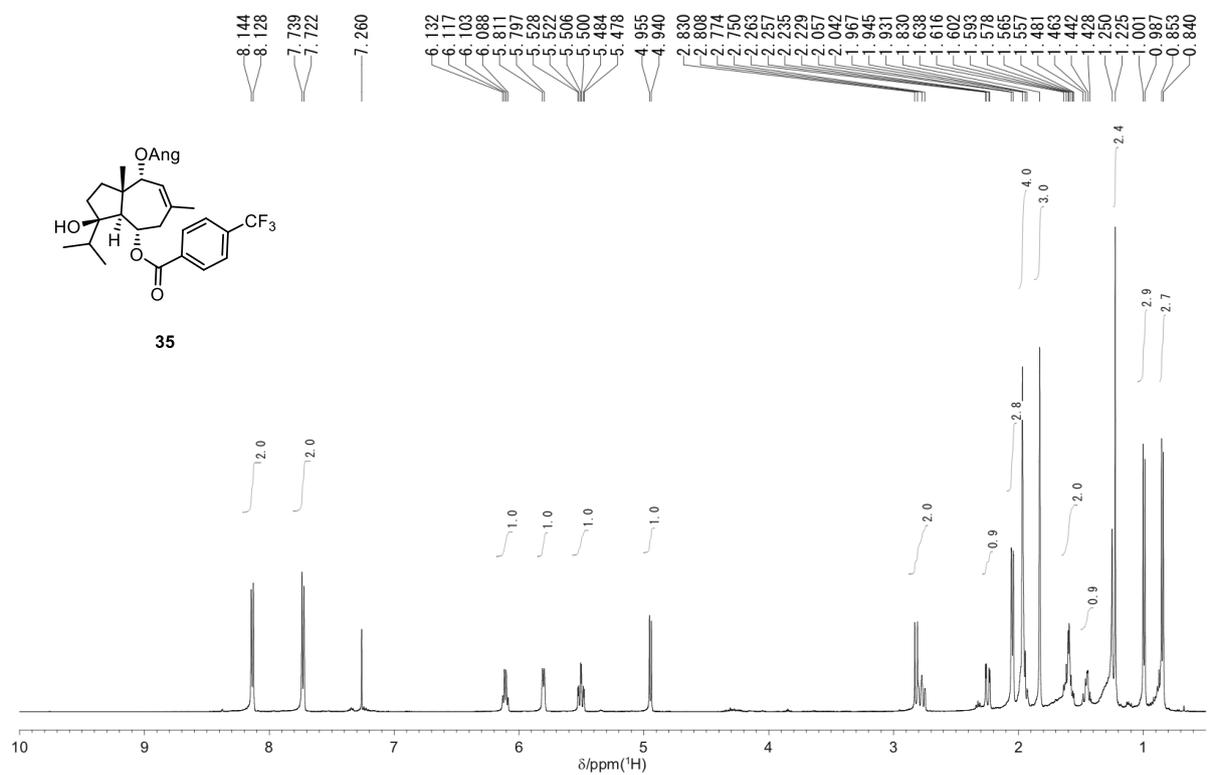
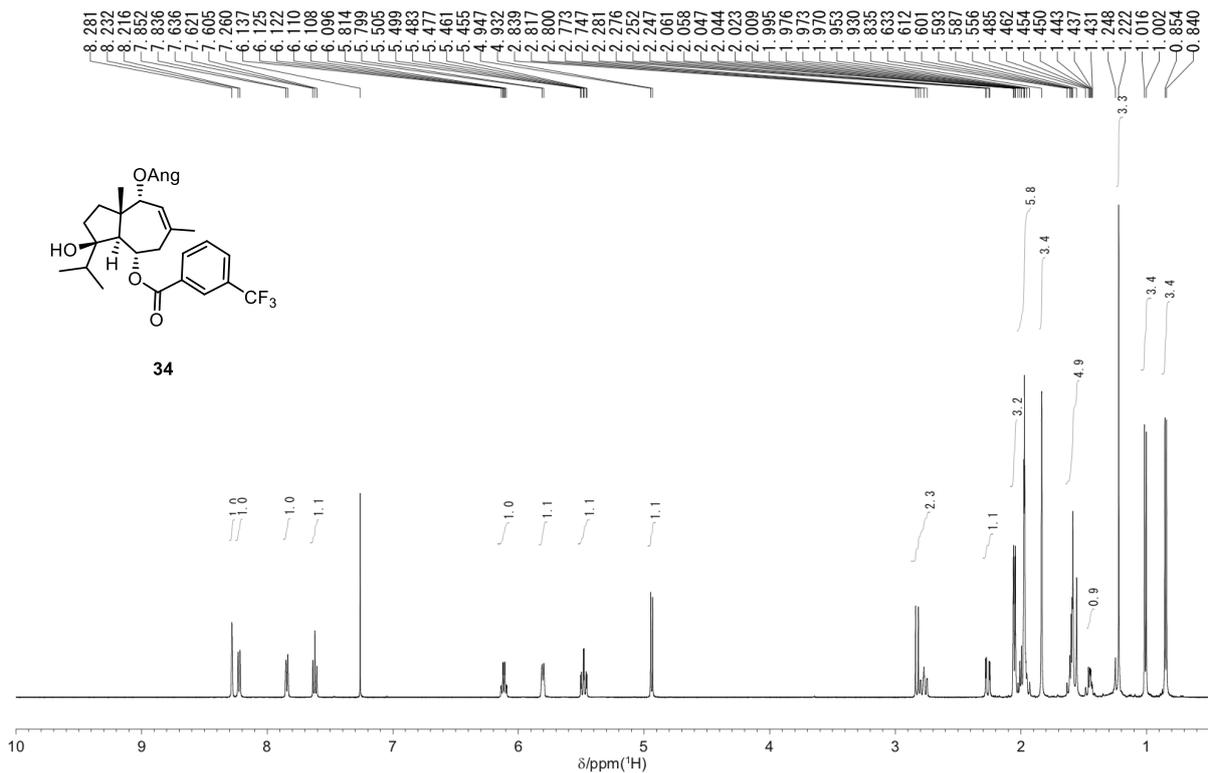


Figure S102. ¹H NMR spectrum of compound **33** in CDCl₃ (500 MHz).



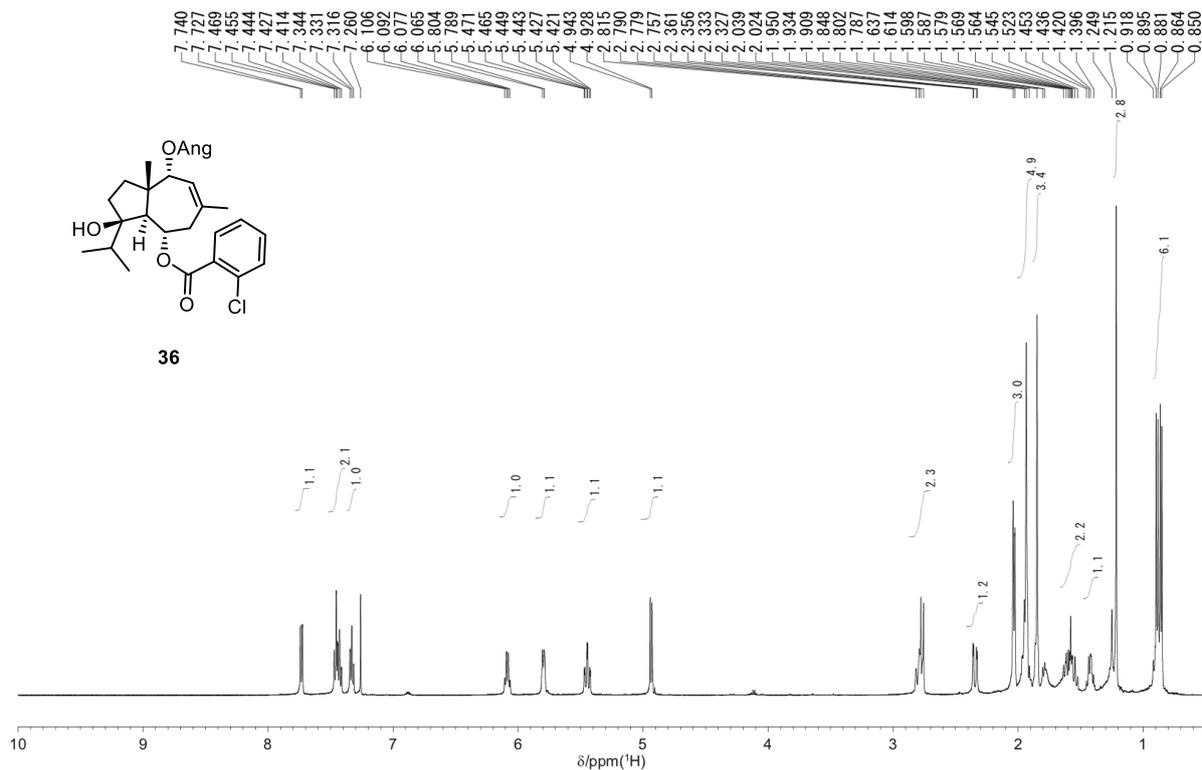


Figure S105. ^1H NMR spectrum of compound **36** in CDCl_3 (500 MHz).

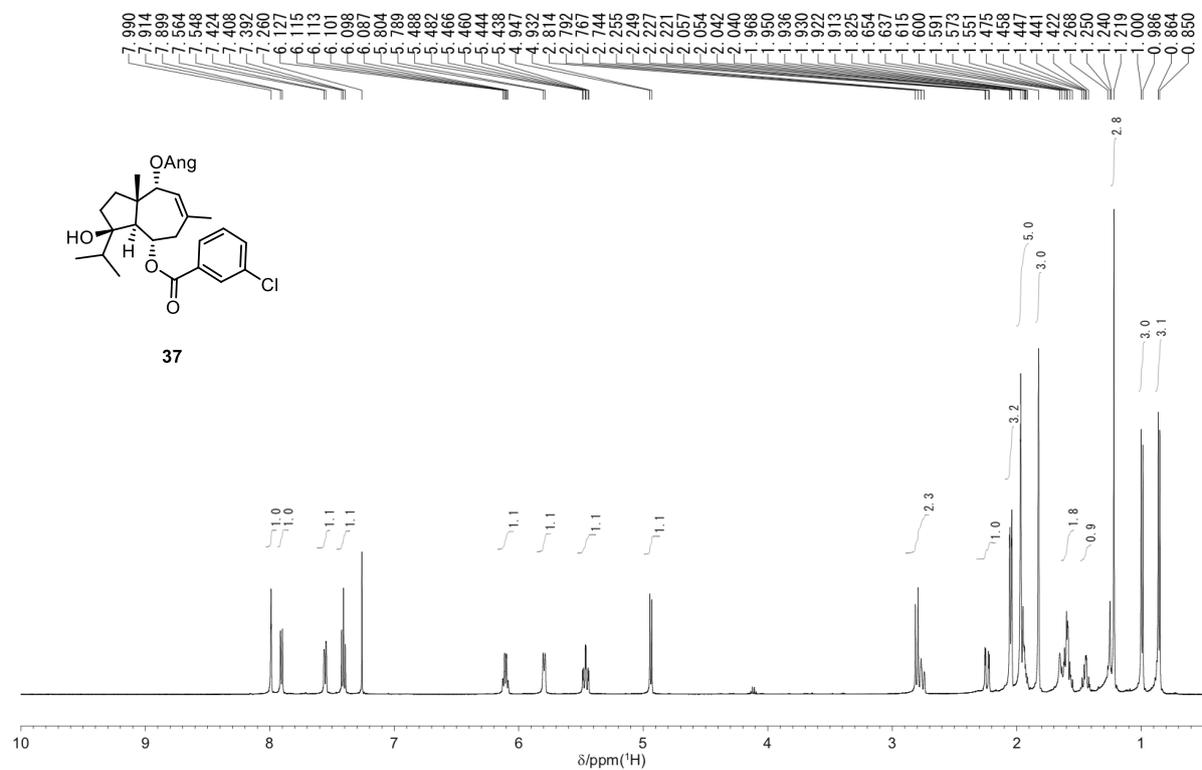


Figure S106. ^1H NMR spectrum of compound **37** in CDCl_3 (500 MHz).

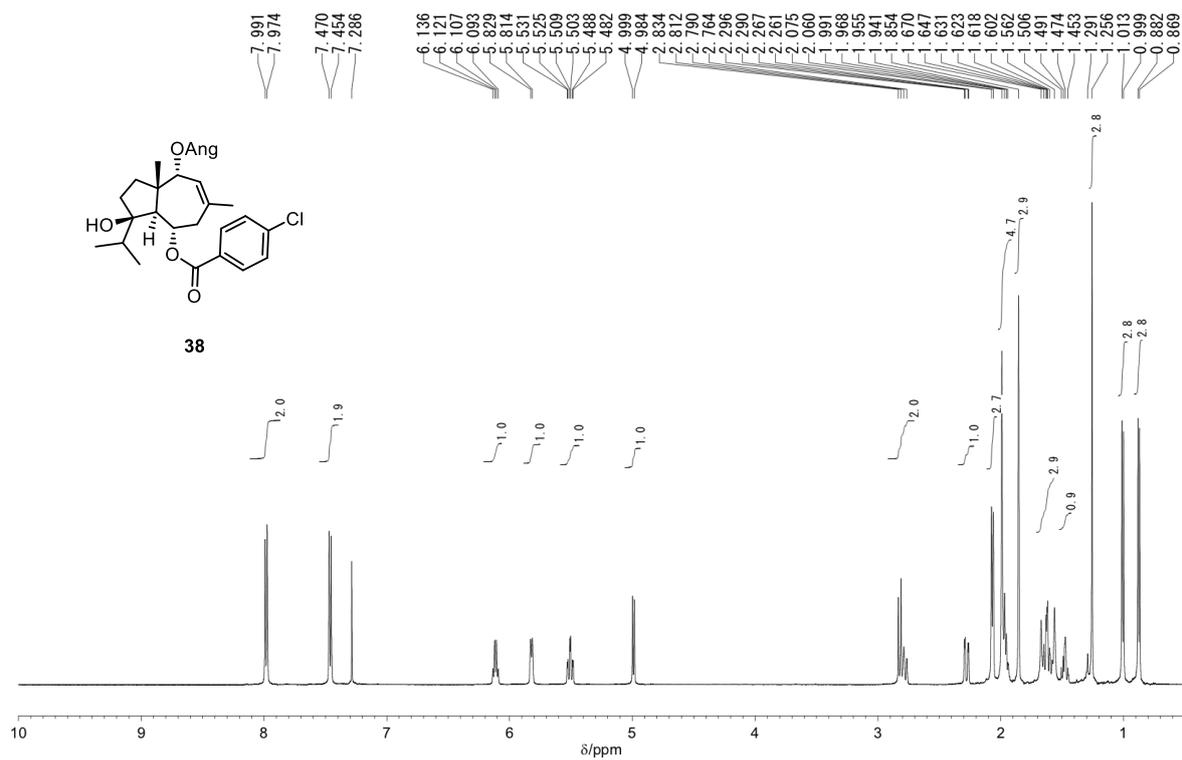


Figure S107. ¹H NMR spectrum of compound **38** in CDCl₃ (500 MHz).

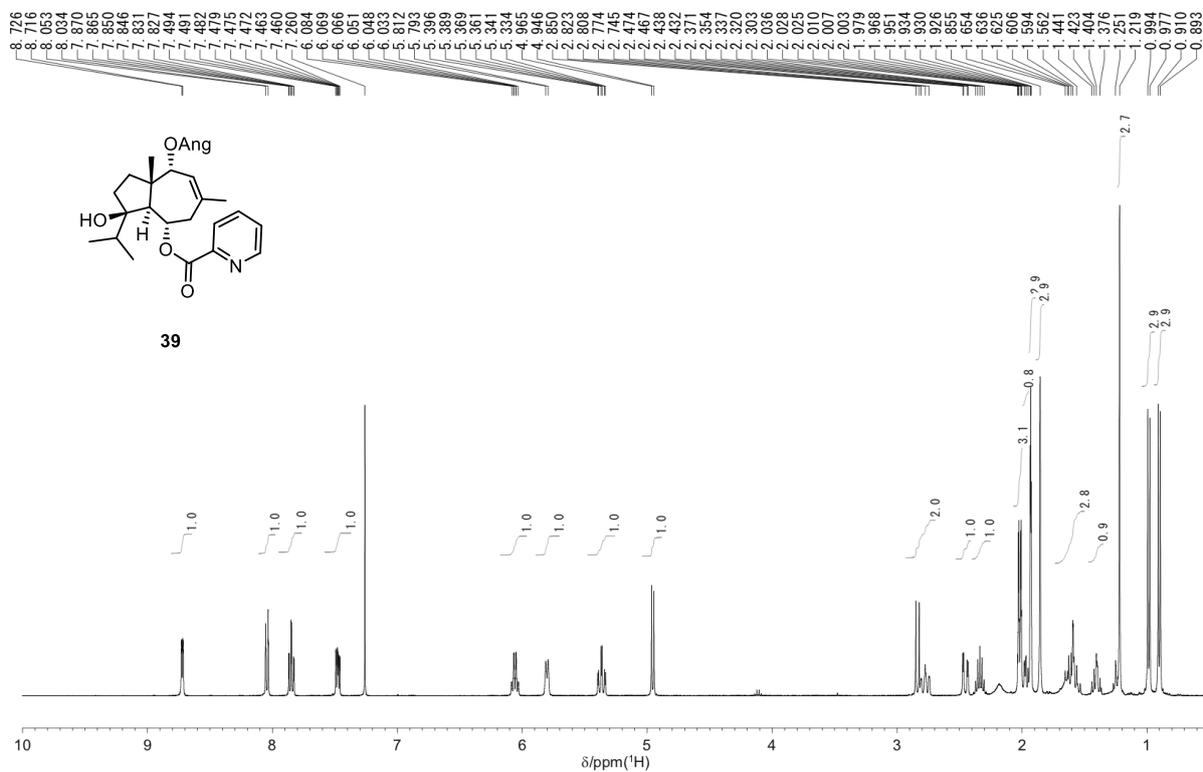


Figure S108. ¹H NMR spectrum of compound **39** in CDCl₃ (400 MHz).

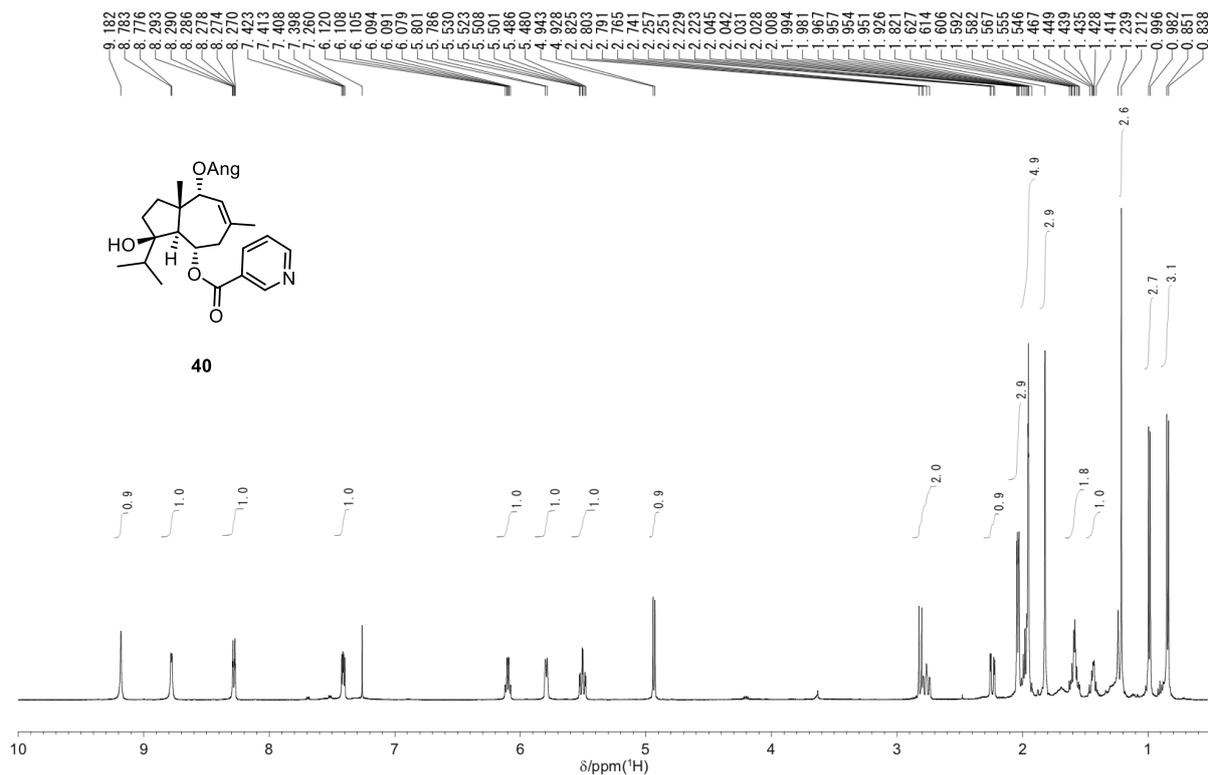


Figure S109. ¹H NMR spectrum of compound 40 in CDCl₃ (500 MHz).

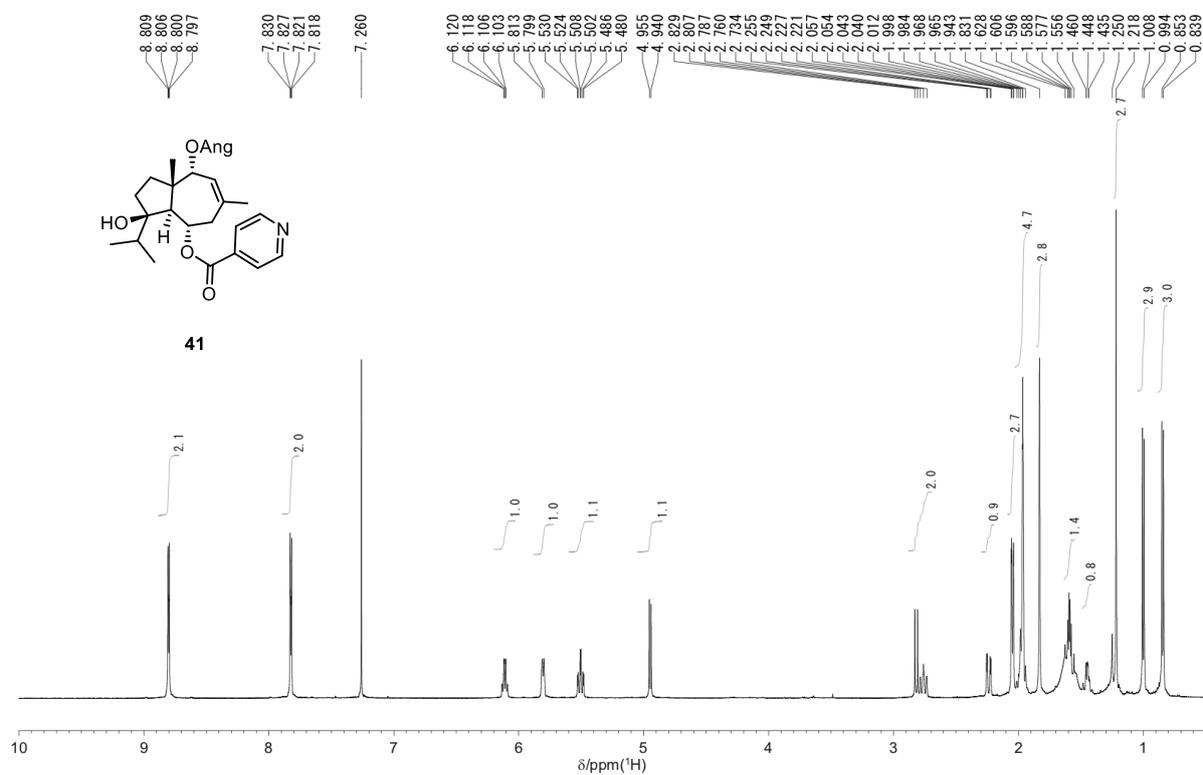


Figure S110. ¹H NMR spectrum of compound 41 in CDCl₃ (500 MHz).